

Lomonosov MSU and IBCH RAS

Scientific School

Cell
Reports

Volume 23
Number 4
April 24, 2018
 Isonic

SCIENCE

3 April 1998
Vol. 280 • Pages 1-164

\$7.00

International school on ion
channels and integrative
structural biology

B. A. Doyle, J. H. Estral, R. A. Plazner, A. Kuhl,
J. M. Gulbis, S. L. Cohen, B. T. Chait, R. MacKinnon
"The Structure of the Potassium Channel:
Molecular Basis of K⁺ Conduction and Selectivity"

JOURNAL OF
BIOLOGICAL
CHEMISTRY

HANDBOOK OF
ION CHANNELS

Biophysical
Journal

The Premier Journal of Quantitative Biology

13 November 2020, Moscow

ASBMB

MATTHEW C. TRUDEAU

Biophysical Society

CRC Press

Cell

ORGANIZING COMMITTEE

Prof. Zakhar Shenkarev (chairman)

Prof. Olga Sokolova (chairman)

Dr. Konstantin Mineev

Dr. Grigoriy Glukhov

Dr. Sergey Goncharuk

PARTNERS AND SPONSORS



Russian Science
Foundation



Russian Foundation
For Basic Research



Lomonosov MSU



IBCh RAS

CONTACTS

+7 (926) 567-15-40

ms.goncharuk@gmail.com

Sergey Goncharuk

CONTENTS

ABOUT SCHOOL.....	4
ABOUT RSF GRANT.....	5
ABOUT RFBR GRANT.....	6
PROGRAM.....	7
ORAL PRESENTATIONS.....	9
Клиническое и генетическое разнообразие сердечных каналопатий	
Заклязьминская Е.В.....	9
Мутации в гене SCN5A при синдроме Бругада	
Русинова В.С.....	10
Дисбаланс ионных токов I _{Na} и I _{K1} – главная причина гибели рыб при гипертермии	
Абрамочкин Д.В., Vornanen M.....	11
От генетической конструкции до прогнозирования лекарств	
Лугинина А.П.....	12
How voltage-sensor movement transfers to gate opening in several voltage-gated channels	
Gildas Loussouarn.....	13
Структурные исследования каналов семейства P-loop: какие данные мы можем получить, используя различные методы	
Шенкарев З.О.....	14
Single-pass cell receptors: mechanisms of action and spatial structure	
Konstantin Mineev.....	15
Temperature sensor TRPV1: computational and biochemical insights	
Chugunov A.O., Lubova K.I., Volynsky P.E., Krylov N.A., Nolde D.E., Andreev Ya.A., Efremov R.G.....	16
The use of lipodiscs for structural studies of human voltage-dependent ion channels	
Olga Sokolova.....	17
Моделирование структуры и функции ионных каналов	
Новоселецкий В.Н.....	18
Структурная биология: вчера, сегодня, завтра. Новая магистерская программа биологического факультета МГУ	
Люкманова Е.Н.....	19

ABOUT SCHOOL

Ion channels are a wide class of membrane proteins, taking part in a majority of physiological processes in the organism. This school is devoted to the studies of various aspects characterizing the ion channels, starting from the specific features of their functioning in the cell, and finishing with their molecular structures. Special attention is paid to the approaches of structural biology used to elucidate the structure of ion channels and other membrane proteins.

The school is supported by the grant of the Russian Science Foundation (RSF) № 19-74-30014 "Structural biology of membrane proteins for the development of new drugs and diagnostics"; Head: Doctor of Chemical Sciences, Professor Alexander Arseniev, and by the grant from the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) № 20-54-15004, "Structure and physiology of ion channels, responsible for the heart arrhythmias", Head: Doctor of biological Sciences. Professor of RAS, Olga Sokolova.

Ионные каналы представляют собой обширный класс мембранных белков, принимающих участие в большинстве физиологических процессов в живом организме. Данная школа посвящена изучению различных аспектов характеризующих ионные каналы, начиная от особенностей функционирования в клетке и заканчивая их молекулярной структурой. Особое внимание уделено подходам структурной биологии, которые используются для исследования структуры ионных каналов и других мембранных белков.

Школа поддержана грантом Российского научного фонда (РНФ) № 19-74-30014 «Структурная биология мембранных белков для создания новых лекарственных и диагностических средств»; руководитель: доктор химических наук, профессор Арсеньев А.С., а также грантом РФФИ № 20-54-15004, «Структура и физиология ионных каналов, ответственных за сердечные аритмии»; руководитель: доктор биологических наук, профессор РАН, Соколова Ольга Сергеевна.

ABOUT RSF GRANT



Russian Science Foundation grant for support of world-class laboratories under the Presidential Research Funding Program
STRUCTURAL BIOLOGY OF MEMBRANE PROTEINS FOR THE DEVELOPMENT OF NEW DRUGS AND DIAGNOSTICS

Grant RSF 19-74-30014

The project Lead: Prof. Alexander Arseniev, IBCH RAS

Membrane is one of the main components of a living cell. It is involved in a variety of vital processes; and integral and peripheral membrane proteins, such as receptors, transporters, ion channels are responsible for its major functions. Therefore, it is not surprising that membrane proteins are among the most important objects for the development of modern "targeted" drugs and early diagnostics. On the other hand, rational design of biologically active compounds requires a deep understanding of the structural organization and functioning of their protein targets. Main achievements in this area are provided by the X-ray crystallography and Cryo-electron microscopy, however, both methods suffer from several problems, which often are not overcome.

The grant from the Russian science foundation (project 19-74-30014) is devoted to the study of several important classes of membrane proteins, including the single-pass cell receptors, ion channels, membrane penetrating ribosome-inactivating protein toxins and luciferases. The complex approach, including the NMR spectroscopy, optical microscopy, protein engineering and computer simulations will be applied. As a project goal, we intend to use the structural data to develop novel antitumor drugs and their delivery systems, potassium channel blockers and luciferin-based test systems. Additionally, the obtained data will lie in the basement of our understanding of major principles of the folding and functioning of membrane proteins.

Мембрана является одним из основных компонентов живой клетки. Она вовлечена в широкий круг важнейших процессов, при этом интегральные и периферические мембранные белки, такие как рецепторы, транспортеры и ионные каналы, отвечают за большую часть ее функций. Неудивительно, что мембранные белки - одни из наиболее важных объектов для разработки современных лекарств направленного действия и средств ранней диагностики. С другой стороны, направленный поиск биологически активных соединений требует глубокого понимания структурной организации и функционирования их белков-мишеней. Основные достижения в данной области сделаны методами рентгеноструктурного анализа и криоэлектронной микроскопии, однако, оба подхода сталкиваются с рядом проблем, которые не всегда преодолимы.

В рамках гранта для лабораторий мирового уровня Президентской программы исследовательских проектов Российского научного фонда (проект № 19-74-30014) планируется применить комплексный подход, включающий в себя ЯМР-спектроскопию, оптическую микроскопию, белковую инженерию и компьютерное моделирование. Планируется изучить нескольких важнейших классов мембранных белков, а именно: клеточные рецепторы с одним трансмембранным сегментом, ионные каналы, рибосом-инактивирующие белки, способные проникать через мембрану, и люциферазы. В качестве конечной цели проекта планируется использовать структурные данные для разработки новых противоопухолевых агентов и систем их доставки, блокаторов калиевых каналов и основанных на люциферинах тест-систем. Полученные результаты лягут в основу понимания базовых принципов фолдинга и функционирования мембранных белков.

ABOUT RFBR GRANT



RFBR and the National Center for Scientific Research of France

THE STRUCTURE AND PHYSIOLOGY OF THE ION CHANNELS, RESPONSIBLE FOR CARDIAC ARRHYTHMIAS

Grant RFBR 20-54-15004

The project Lead: Prof. Olga Sokolova Arseniev, MSU

Особенности трехмерного строения ионных каналов в норме и при генетических изменениях лежат в основе изменений электрических свойств мембраны кардиомиоцита, нарушений продолжительности фаз потенциала действия, и, в конечном итоге, являются субстратом развития нарушений сердечного ритма. Структурные и динамические конформационные изменения субъединиц ионных каналов являются потенциальной мишенью для разработки новых антиаритмических препаратов. Целью настоящего исследования является изучение электрофизиологических характеристик нормальных и мутантных сердечных катионных каналов, а также подробное исследование взаимодействия линкера S4-S5 с внутриклеточным концом поровой спирали S6 ионного канала. В запланированном совместном исследовании будут впервые исследованы физиологические проявления новых мутаций в ионных каналах, найденные у больных с сердечной аритмией. Данные позволят впервые связать мутации в каналах с поставленным диагнозом и в будущем оправданно планировать лечение таких больных. Также будет впервые изучена структура закрытого канала Kv11.1 (HERG), кодируемого геном KCNE2. Для закрытия каналов HERG *in vitro* мы планируем применить оригинальный подход, предложенный нашими французскими партнерами, который включает ко-экспрессию белков каналов с внешним пептидом, аналогом линкера S4-S5. Изучив связь между S4-S5 и S6 мы сможем обосновать молекулярный механизм двухступенчатой активации каналов. Учитывая оригинальность предсказанного механизма закрытия каналов и тот факт, что он, вероятно, применим к различным каналам с замедленной активацией, ожидаемые результаты в долгосрочной перспективе смогут применяться для разработки новых неселективных блокаторов ионных каналов, для использования в фармакологии и сельском хозяйстве.

PROGRAM

13 November 2020 (Friday)

9:30 REGISTRATION

9:45 SCHOOL OPENING (Welcome to small conference hall)

10:00 – 10:15 Prof. Olga Sokolova, MSU Greeting

10:15 – 10:45 Dr. Elena Zaklyazminskaya,
Head of Laboratory of
medical genetics, RSCS Клиническое и генетическое
разнообразие сердечных каналопатий

10:45 – 11:15 Dr. Valeriya Rusinova,
Research Fellow of
Laboratory of medical
genetics, RSCS Мутации в гене SCN5A при синдроме
Бругада

11:15 – 11:45 Prof. Denis Abramochkin,
Senior Research Fellow,
MSU Дисбаланс ионных токов INa и IK1 –
главная причина гибели рыб при
гипертермии

11:45 – 12:15 Dr. Alexandra Luginina,
Senior Research Fellow of
Laboratory of structural
biology of GPCR, MIPT Структурные исследования GPCR: от
генетической конструкции до
прогнозирования лекарств

12:15 – 12:35 *Coffee-break*

12:35 – 13:05 Prof. Gildas Loussouarn,
CNRS Research Director of
Institut du Thorax How voltage-sensor movement transfers
to gate opening in several voltage-gated
channels

13:05 – 13:35 Prof. Ekaterina Lyukmanova,
Head of Laboratory of
bioengineering of Структурная биология: вчера, сегодня,
завтра. Новая магистерская программа
биологического факультета МГУ.

neuromodulators and
neuroreceptors, IBCH RAS

13:35 – 14:05 Prof. Zakhar Shenkarev,
Head of Group of structural
biology of ion channels,
IBCH RAS Структурные исследования каналов
семейства P-loop: какие данные мы
можем получить, используя различные
методы

14:05 – 15:00 *Lunch Time*

15:00 – 15:30 Dr. Anton Chugunov, Head
of Group of in silico analysis
of membrane proteins
structure, IBCH RAS Temperature sensor TRPV1:
computational and biochemical insights

15:30 – 16:00 Prof. Olga Sokolova, Head
of Structural biology group,
Department of
bioengineering, Faculty of
biology, MSU The use of lipodiscs for structural studies
of human voltage-dependent ion channels

16:00 – 16:30 Dr. Valeriy Novoseletsky,
Department of
bioengineering, Faculty of
biology, MSU Моделирование структуры и функции
ионных каналов

16:30 – 17:00 Dr. Konstantin Mineev,
Senior Research Fellow of
Laboratory of biomolecular
NMR-spectroscopy, IBCH
RAS Single-pass cell receptors: mechanisms
of action and spatial structure

17:00 SCHOOL CLOSING

ORAL PRESENTATIONS



КЛИНИЧЕСКОЕ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СЕРДЕЧНЫХ КАНАЛОПАТИЙ

Заклязьминская Е.В.

*Лаборатория медицинской генетики ФГБНУ «РНЦХ
им.акад.Б.В.Петровского»*

Молекулярно-генетические исследования в области аритмологии значительно расширили представления о механизмах аритмогенеза, взаимодействиях мембранных белков, избирательности и проницаемости ионных каналов, механизмах, лежащих в основе индивидуальной чувствительности к лекарственным препаратам. Первые достижения в области молекулярной генетики аритмий были связаны с изучением больших семей с моногенными аритмическими синдромами, такими, как синдром удлиненного интервала QT. Картирование и идентификация генов, ответственных за заболевание, выявление в них мутаций, приводящих к нарушениям проводимости ионных каналов, предоставили новые данные для фундаментальной и клинической электрофизиологии, понимания природы электрофизиологических нарушений, привели к расширению диагностических возможностей, разработке новых подходов к терапии.

В последнее время большое внимание уделяется наследственным заболеваниям, не сопровождающимся выраженными структурными изменениями миокарда, и проявляющимся преимущественно или исключительно электрофизиологическими нарушениями в кардиомиоците. Для этой группы состояний характерным является высокий риск внезапной смерти вследствие развития жизнеугрожающих нарушений ритма и/или проводимости. В основе этих заболеваний лежат мутации генов, кодирующих белки ионных каналов, экспрессирующихся в миокарде, а также их модуляторов. Это явилось основанием для объединения этих заболеваний в группу «каналопатий». К первичным каналопатиям относят синдромы удлиненного интервала QT (LQTS), укороченного интервала QT (SQTS), синдром Бругада, наследственное прогрессирующее нарушение проводимости, семейные формы синдрома Вольфа-Паркинсона-Уайта, идиопатическая и катехоламинергическая желудочковые тахикардии, семейные формы фибрилляции предсердий и синдрома слабости синусового узла, синдром детской внезапной смерти, и список сердечных каналопатий продолжает расширяться.

Нормальные амплитуда и продолжительность сердечного потенциала действия (ПД) обеспечиваются тонко сбалансированным взаимодействием многих ионных каналов и регуляторов их активности, каждый из которых кодируется отдельным геном. Количество белков и кодирующих их генов, способных привести к нарушениям электрогенеза, потенциально оценивается несколькими десятками. В настоящее время картированы более 20, по-видимому, ключевых генов, мутации в которых приводят к развитию типичных клинических проявлений этих заболеваний.

Соотношение последовательных фаз потенциала действия поддерживается многими каналами, но лишь небольшая часть из них открыта в одно и то же время. Таким образом, даже небольшие изменения в скорости открытия и закрытия ограниченного числа белковых субъединиц могут нарушить нормальное течение процессов деполяризации и реполяризации.

Изучение молекулярно-генетических основ редких аритмических синдромов привело не только к идентификации многих генов, ответственных за первичные нарушения сердечного ритма, и описанию в них спектра мутаций. Параллельно накапливалось большое количество данных о структуре и функции ионных каналов, их взаимозависимой работе, канал-ассоциированных белках. Изучение молекулярного патогенеза аритмий позволяет влиять на нарушенную проводимость ионных каналов. Эти данные в настоящее время легло в основу разработки направленной лекарственной терапии наследственных аритмогенных синдромов.

МУТАЦИИ В ГЕНЕ SCN5A ПРИ СИНДРОМЕ БРУГАДА

Русинова В.С.

*Лаборатория медицинской генетики ФГБНУ «РНЦХ
им.акад.Б.В.Петровского»*



SCN5A-ген, кодирующий альфа-субъединицу Nav1.5 сердечных ионных натриевых каналов (локус 3p21, 28 экзонов). Данный канал способствует поступлению ионов натрия в клетку, обеспечивает проведение сердечного сокращения, координацию и поддержание нормального сердечного ритма. Альфа-субъединица Nav1.5 натриевого канала состоит из 4 гомологичных доменов и представляет собой трансмембранный белок массой 227 кДа. Наиболее высокая экспрессия гена SCN5A представлена в миокарде. Мутации в гене SCN5A нередко приводят к различным сердечным заболеваниям, одним из которых является синдром Бругада. Синдром Бругада-наследственное нарушение ритма сердца, характеризующееся специфическим паттерном на ЭКГ, синкопальными состояниями, а также высоким риском внезапной сердечной смерти вследствие развития полиморфной желудочковой тахикардии или фибрилляции желудочков. Уменьшение числа или ускоренная инактивация натриевых каналов в клетках эпикарда правого желудочка, приводящая к снижению плотности потока натрия и преждевременной реполяризации эпикарда, представляют собой механизм развития синдрома Бругада при обнаруженных мутациях в гене SCN5A. Степень выраженности клинических проявлений синдрома Бругада пропорционально зависит от степени повреждения Na-каналов. Мутации в SCN5A могут быть связаны с утратой или с усилением функции белка. На сегодняшний день известно около 736 различных мутаций (в т.ч. мутации сплайсинга, миссенс-мутации) в гене SCN5A. На примере клинических случаев пациентов с синдромом Бругада мы рассмотрим различные типы мутаций в гене SCN5A (p.Y87C; c.1233del; c.999-1G>A; p.E1574*).



ДИСБАЛАНС ИОННЫХ ТОКОВ I_{Na} И I_{K1} – ГЛАВНАЯ ПРИЧИНА ГИБЕЛИ РЫБ ПРИ ГИПЕРТЕРМИИ

Абрамочкин Д.В., Vornanen M.

МГУ им. М.В. Ломоносова

Долгое время считалось, что причина смерти рыбы при повышении температуры заключается в неспособности поддерживать возрастающие потребности клеток в кислороде в условиях снижения его растворимости в воде. Согласно нашей альтернативной гипотезе смерть животного связана с потерей возбудимости миокарда, непосредственно обусловленной повышением температуры. В кардиомиоцитах рыб способность к генерации потенциала действия (ПД)

зависит от соотношения базального калиевого тока входящего выпрямления I_{K1} и быстрого натриевого тока I_{Na} . В то время как I_{K1} обеспечивает поддержание потенциала покоя, I_{Na} обеспечивает фазу деполяризации в рабочих кардиомиоцитах. При нормальной температуре жизни рыбы соотношение I_{K1} и I_{Na} таково, что небольшого деполяризующего тока, приходящего к желудочковым миоцитам от клеток атриовентрикулярного узла достаточно, чтобы сдвинуть мембранный потенциал до порогового уровня, когда активируется достаточное для запуска самоподдерживающейся деполяризации число натриевых каналов. При повышении температуры I_{K1} только увеличивается, в то время как амплитуда I_{Na} растет лишь до температуры перелома, специфической для разных видов рыб, а при дальнейшем повышении температуры начинает снижаться. При определенной температуре I_{Na} становится слишком мал, чтобы преодолеть гиперполяризующее влияние растущего при нагревании I_{K1} и запустить деполяризацию по принципу «все или ничего». Наступает частичная, а вскоре и полная блокада проведения возбуждения от атриовентрикулярного узла к рабочему миокарду желудочка, что и приводит к остановке сердечной деятельности и гибели рыбы. В докладе будут рассмотрены основные экспериментальные доказательства нашей гипотезы, полученные на различных видах пресноводных и морских рыб.



ОТ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОНСТРУКЦИИ ДО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВ

Лугинина А.П.

Московский Физико-Технический Институт

Доклад будет описывать общие свойства рецепторов, сопряженных с G-белком, схему получения их пространственных структур: подбор стабилизирующих модификаций белка, выделение GPCR, кристаллографические и криоэлектронные структуры, а также применение структурной биологии в фармакологии.



HOW VOLTAGE-SENSOR MOVEMENT TRANSFERS TO GATE OPENING IN SEVERAL VOLTAGE-GATED CHANNELS

Gildas Loussouarn

Institut du Thorax

Voltage-gated channels are crucial in excitable as well as non-excitable cells and mutations in these ion channels are associated with muscular, neuronal and cardiac channelopathies in human. Voltage-gated potassium (KV) channels and prokaryotic NaV channels are tetramers of subunits containing six transmembrane segments (S1 to S6). Each of the four subunits consists of one voltage-sensor domain (S1 to S4) and a pore domain (S5-S6). The four pore domains tetramerize to form a single pore module, which is regulated by the four voltage sensor domains. Despite intensive work on the voltage-gating of KV and NaV channels, we still lack a clear picture describing the coupling between S4 voltage-sensor movement and S6 pore gating. The results presented here shed light on a molecular mechanism of this coupling, for two cardiac and one neuronal KV channels, but also for a bacterial NaV channel.



СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КАНАЛОВ СЕМЕЙСТВА P-LOOP: КАКИЕ ДАННЫЕ МЫ МОЖЕМ ПОЛУЧИТЬ, ИСПОЛЬЗУЯ РАЗЛИЧНЫЕ МЕТОДЫ

Шенкарев З.О.

*Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН*

Катионселективные (K^+ , Na^+ , Ca^{2+}) ионные каналы семейства P-loop составляют одно из самых больших семейств мембранных белков. В геноме человека закодировано более 140 представителей этого семейства, которое включает потенциал-зависимые ионные каналы, каналы, управляемые циклическими нуклеотидами, двупоровые калиевые каналы, каналы, управляемые ионами кальция, и другие, а также хемо-, температуро- и механо-чувствительные рецепторы семейства TRP. Эти ионные каналы играют важную роль в работе многих систем организма, отвечая за проведение нервного импульса (потенциал-зависимые K_v , Na_v , Ca_v каналы), рецепцию химических раздражителей (рецепторы TRP), регуляцию уровня кальция в клетке и мышечные сокращения (рианодиновый RyR рецептор), секрецию гормонов и нейротрансмиттеров (K^+ каналы) и т.д. Нарушение работы этих каналов приводит к развитию ряда заболеваний, сердечно-сосудистой, нервно-мышечной и иммунной систем организма. Кроме того, некоторые из P-loop каналов вовлечены в развитие онкологических заболеваний.

Мембранные домены P-loop каналов имеют гомологичное модульное строение и состоят из четырех одинаковых субъединиц (например, K_v , RyR и TRP), двух субъединиц (двупоровые K^+ каналы), или четырех псевдо-субъединиц в составе слитной полипептидной цепи (например, α -субъединица Na_v и $\alpha 1$ -субъединица Ca_v), окружающих ионную пору. Каждая из псевдо-субъединиц может включать в себя S1-S4 или потенциал-чувствительный домен (ПЧД), сформированный четырьмя трансмембранными (ТМ) спиралями (S1-S4), и фрагмент (S5-S6), участвующий в формировании поры и селективного фильтра. В потенциал-зависимых каналах функцию датчика ТМ потенциала выполняет спираль S4, которая содержит несколько (обычно 4) консервативных положительно заряженных остатка (Arg или Lys), и может значительно изменять свое положение в мембране под действием электрического поля. Особенное строение имеет потенциалозависимый протонный канал фагоцитов (H_v), который образован двумя ПЧД, каждый из которых способен осуществлять потенциалозависимую проводимость ионов H^+ , в отсутствие порового домена (S5-S6). В лекции рассказывается о результатах исследования каналов семейства P-loop тремя основными методами структурной биологии: рентгеновская кристаллография, криоэлектронная микроскопия и ЯМР-спектроскопия.



SINGLE-PASS CELL RECEPTORS: MECHANISMS OF ACTION AND SPATIAL STRUCTURE

Konstantin Mineev

Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS

Cell receptors are an extremely important class of objects for modern structural biology. They regulate essential processes, such as cell cycle, cell differentiation, and migration, take part in olfactory, touch, and taste sensing. single-pass membrane proteins constitute an important class of cell receptors, which includes receptor tyrosine kinases, tumor necrosis factor receptors, toll-like receptors, B-cell and T-cell receptors, and many others. These proteins share a peculiar architecture: they have massive extra- and intracellular domains, while their transmembrane part is represented by a single hydrophobic helical segment. Such a spatial organization hinders their studies by conventional means of structural biology as full-size proteins. The present talk will overview the structural data and approaches to the studies of single-pass cell receptors and discuss how the data obtained help with the understanding of receptor functioning and activation mechanisms.



TEMPERATURE SENSOR TRPV1: COMPUTATIONAL AND BIOCHEMICAL INSIGHTS

Chugunov A.O.^{1,2}, Lubova K.I.¹, Volynsky P.E.¹, Krylov N.A.¹,
Nolde D.E.¹, Andreev Ya.A.^{1,3}, Efremov R.G.^{1,2}

¹*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS*

²*National Research University Higher School of Economics*

³*Sechenov First Moscow State Medical University, Institute of
Molecular Medicine*

Sensor of noxious heat — TRPV1 ion channel — is one of the most studied temperature-sensitive proteins. When heated above 43 °C, it reversibly opens Ca²⁺-permeable pore and initiates action potential in neurons. Underlying molecular mechanisms are not completely understood, despite of availability cryo-EM structures of open (O) and closed (C) states: accompanying spatial reorganizations are yet to be revealed.

We used all-atom molecular dynamics (MD) simulations of TRPV1 channel in a “neuronal” model membrane to discover peculiarities and interconversions between O- and C-states, which were observed depending on starting conformation and modeling temperature. Different temperatures and several replicas yielded >10 μs of MD. It turned out that the pore domain undergoes temperature-dependent reorganization, which is asymmetric — one of the four protomers initiates movements, following which others may join. This differs from the conventional “diaphragm” model of ion channels gating [1]. Structural and dynamic analysis of hydrophobic parameters of the pore during channel activation has shown entropic growth, which coincides with the current vision of temperature sensation by proteins [1].

Next, we studied roles of several residues of the pore and TRP domains: G643 (the “bottleneck” of the channel’s upper gate), I679/A680 (lower gate) and K688 (conjunction of the pore and TRP domains). Predicted in the initial calculations, their roles were confirmed biochemically in recombinant mutant channels during temperature- and capsaicin-initiated activation experiments. Corresponding mechanisms were studied in the additional MD simulations of mutant channels [2].

Joint biochemical and computational experiments gave us realistic TRPV1 model, which is suitable for further study of this temperature sensor.

References:

1. Chugunov A.O., Volynsky P.E., Krylov N.A., Nolde D.E., Efremov R.G. (2016). Temperature-sensitive gating of TRPV1 channel as probed by atomistic simulations of its trans- and juxtamembrane domains. *Sci. Rep.* 6, 33112;
2. Lubova K.I., Chugunov A.O., Volynsky P.E., Korolkova Y.V., Mosharova I.V., Kozlov S.A., Andreev Ya.A., Efremov R.G. (2020). Probing Temperature and Capsaicin-Induced Activation of TRPV1 Channel via Computationally Guided Point Mutations in its Pore and TRP domains. *Int. J. Biol. Macromol.* 158, 1175-1183.



THE USE OF LIPODISCS FOR STRUCTURAL STUDIES OF HUMAN VOLTAGE-DEPENDENT ION CHANNELS

Olga Sokolova

Lomonosov Moscow State University

Amphiphilic maleic acid-containing copolymers account for a recent methodical breakthrough in the study of membrane proteins. Their application enables a detergent-free extraction of membrane proteins from lipid bilayers, yielding stable water-soluble, discoidal lipid bilayer particles with incorporated proteins, which are wrapped with copolymers. Although many studies confirm the potential of this approach for membrane protein research, the interactions between the maleic acid-containing copolymers and extracted lipids, as well as possible

effects of the copolymers on lipid-embedded proteins deserve further scrutinization. Styrene-maleic acid (SMA) copolymers are used to extract lipid-encased membrane proteins from lipid bilayers in a detergent-free manner, yielding SMA lipid particles (SMALPs). Recently, the use of polymer nanodiscs for protein purification became a hot topic. Here, we report the application of SMALPs to the solubilization of full-length human Kv channels: pore forming α -subunits hKCNQ1 and hKCNH5, as well as the complex of the α -subunit hKCNQ1 with its auxiliary subunit hKCNE1. The importance of the studied channels is justified by the fact that hKCNQ1 belongs to cardiac voltage-dependent potassium channels, while hKCNH5 is found in the central nervous system.



МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ ИОННЫХ КАНАЛОВ

Новоселецкий В.Н.

МГУ им. М.В. Ломоносова

Расшифровка человеческого генома позволила выявить новые мишени для разработки лекарственных препаратов. Последовавшее за этим улучшение методик очистки белков и определения их структуры методами рентгеновской кристаллографии, спектроскопии ЯМР и крио-электронной микроскопии позволило определить структуры большого количества белков и их комплексов, включая комплексы с низкомолекулярными соединениями. Применение методов компьютерного моделирования позволяет получать

информацию о деталях структурной организации ионных каналов и их комплексов, механизмах их функционирования, влиянии на них мутаций в аминокислотной последовательности каналов, изучать эффекты модуляторов работы каналов на их функционирование, оценивать энергии связывания с модуляторами. В докладе будет рассмотрено применение таких методов моделирования как моделирование структуры по гомологии, моделирование молекулярной динамики, молекулярный докинг и другие.



СТРУКТУРНАЯ БИОЛОГИЯ: ВЧЕРА, СЕГОДНЯ, ЗАВТРА.
НОВАЯ МАГИСТЕРСКАЯ ПРОГРАММА
БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА МГУ

Люкманова Е.Н.

*Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН, МГУ им. М.В. Ломоносова*

Структурная биология – быстро развивающаяся область наук о живом, объединяющая в себе молекулярную биологию, физику, химию, фармакологию, биоинформатику, компьютерное моделирование и программирование. Именно структурные исследования позволяют проследить работу отдельных компонентов живой клетки – белков, липидов, нуклеиновых кислот на молекулярном и атомном уровне.

Знание пространственной структуры различных клеточных мишеней: рецепторов, ионных каналов и супрамолекулярных комплексов, а также понимание механизмов их взаимодействия с лигандами и биологическими мембранами позволяет решать задачи по рациональному дизайну новых лекарственных препаратов.

В 2020 году на базе Биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова была открыта новая магистерская программа «Структурная биология и биотехнология» под патронажем Нобелевского лауреата, почётного доктора и советника ректора МГУ профессора Курта Вютриха. В 2002 году Курт Вютрих был удостоен Нобелевской премии по химии за разработку метода применения ЯМР-спектроскопии для определения трёхмерной структуры биологических макромолекул в растворе. Он известен своими работами в области прионных белков, рецепторов семейства GPCR, разработки структурных методов для исследования больших молекул. Курт Вютрих в настоящий момент возглавляет лабораторию в Швейцарской высшей технической школе (ETH, Цюрих) и является профессором структурной биологии в институте Скриппса (TSRI), Ла-Хойя, Сан-Диего (Калифорния).

В докладе будет представлен небольшой очерк о развитии структурной биологии и рассказывается об основных дисциплинах и лекторах программы «Структурная биология и биотехнология».