

**Количественная оценка липидной специфичности сайта VBP канала TRPV1:  
данные молекулярного моделирования**

**Научный руководитель – Ефремов Роман Гербертович**

***Ванцев Василий Витальевич***

*Студент (магистр)*

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

*E-mail: vantsev.vv@gmail.com*

Ионный канал TRPV1 экспрессируется в сенсорных нейронах, участвуя в термочувствительности и ноцицепции. Его активность модулируется липидами через взаимодействие с ванилоид-связывающим сайтом (VBP). Согласно данным криоэлектронной микроскопии (крио-ЭМ), VBP конститутивно занят фосфатидилинозитолом (PI), который стабилизирует закрытое состояние канала; при активации капсаицином или температурой ( $>42^{\circ}\text{C}$ ) PI вытесняется из VBP [1]. Однако молекулярные основы взаимодействия VBP с липидами и механизмы его селективности к PI остаются малоизученными. Цель работы — разработать протокол расчета относительной свободной энергии связывания липидов с белком ( $\Delta\Delta G$ ) методами молекулярной динамики, и применить на примере пары липидов PI и фосфатидилсерина (PS) в сайте VBP.

В качестве модельной системы рассматривали полноатомную структуру TRPV1 в закрытом состоянии, встроенную в бислой из липидов фосфатидилхолина. В VBP и бислой помещали PI и PS соответственно.  $\Delta\Delta G$  рассчитывали методом возмущения свободной энергии (FEP) [2] по схеме «две системы – одна ячейка» (DSSB), включающей одновременные превращения PI $\rightarrow$ PS в VBP и PS $\rightarrow$ PI в мембране. Результатом такого DSSB-расчета является свободная энергия перехода PI из сайта VBP в мембрану относительно энергии аналогичного перехода PS. Также применение схемы DSSB обеспечивает неизменность полного заряда системы и сокращает объем необходимых вычислений. Расчет проводили в 14  $\lambda$ -окнах длиной 2 нс каждое, также использовали обмен репликами по гамильтониану (H-REMD) [3]. Финальную оценку  $\Delta\Delta G$  получали методом множественного отношения правдоподобия Беннетта MBAR [4].

Полученное среднее значение  $\Delta\Delta G$  составило  $+5.3 \pm 0.4$  ккал/моль, что подтверждает термодинамическую предпочтительность PI в VBP и согласуется с его ролью стабилизатора неактивного состояния канала, а также с данными крио-ЭМ о конститутивном связывании PI.

Разработанный протокол FEP/DSSB с H-REMD эффективен для количественной оценки липид-белковых взаимодействий. Планируется применить его для других липидов и каналов семейства TRPV с целью построения профилей липидной специфичности, что важно для дизайна мутантных форм TRPV и разработки новых модуляторов, перспективных для терапии болевых синдромов.

### **Источники и литература**

- 1) Gao Y. [et al]. TRPV1 structures in nanodiscs reveal mechanisms of ligand and lipid action // Nature. 2016. V. 534 (7607). P. 347–351. DOI: 10.1038/nature17964.
- 2) Gapsys, V. [et al] Calculation of Binding Free Energies. In: Kukol, A. (eds) Molecular Modeling of Proteins. // Methods in Molecular Biology 2015. V. 1215. DOI: 10.1007/978-1-4939-1465-4\_9

- 3) Meng Y. [et al.]. Computing Alchemical Free Energy Differences with Hamiltonian Replica Exchange Molecular Dynamics (H-REMD) Simulations // J Chem Theory Comput. 2011. V. 7(9). P. 2721-2727. DOI: 10.1021/ct200153u.
- 4) Shirts M.R. [et al.]. Statistically optimal analysis of samples from multiple equilibrium states // J Chem Phys. 2008. V. 129(12). P. 124,105. DOI: 10.1063/1.2978177.