

УДК:577:51-7

## Экспериментальные и теоретические методы изучения ионных каналов

©2013 Турченков Д.А.<sup>1,2</sup>, Быстров В.С.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Институт математических проблем биологии РАН, Россия, Пущино, 142290,  
ул. Институтская, д.4

<sup>2</sup>НИЦ «БиоСим», Россия, Москва, 115211, Каширское ш., д. 55/3

<sup>3</sup>Центр исследования керамики и композитов (ЦИКЕКО), Университет Авейро,  
3810-193, Авейро, Португалия

**Аннотация.** В данной работе проводится обзор основных типов и свойств ионных каналов, существующих экспериментальных, теоретических подходов и моделей описания их функционирования. В статье рассмотрены конфигурации методов фиксации потенциала, patch-clamp методика, особое внимание уделено математическим моделям ионных каналов на примере применения методов молекулярной и броуновской динамики, решения уравнения Пуассона–Нернста–Планка, а также современных комбинированных подходов. Существующие ab initio методы квантовой химии представлены теорией функционала плотности (DFT). Для каждой из методик приводятся характерные задачи, решаемые в ее рамках, основные преимущества и недостатки.

**Ключевые слова:** ионные каналы, моделирование, молекулярная динамика, уравнение Ланжевена, DFT.

### ВВЕДЕНИЕ

Ионные каналы являются высокомолекулярными компонентами биологических мембран нервных и мышечных клеток живых организмов, ответственных прежде всего за проведение нервного и мышечного импульса. Встроенные в непроводящий фосфолипидный бислой, ограничивающий клетку и разделяющий водную среду внутри и снаружи клетки, эти большие молекулы гликопротеина выступают в качестве «потенциал-зависимых переключателей» электрического напряжения (или разности потенциала) на мембране. В ответ на изменения электрического напряжения на мембране в них происходят конформационные переходы между двумя состояниями («закрытым» и «открытым»). В «открытом» состоянии они становятся проницаемыми для конкретного набора ионов (например,  $\text{Na}^+$  или  $\text{K}^+$ ) [1, 2] и способны пропускать около  $10^6 - 10^8$  ионов в секунду [3–5]. В «закрытом» непроводящем состоянии преобладает конформация, при которой мембрана в целом (и на молекулах ее каналов) находится вблизи или ниже ее потенциала покоя, с напряжением на внутренней ее части около  $-70$  мВ относительно внешней. При средней толщине мембраны порядка 5 нм напряженность электрического поля, обусловленная потенциалом покоя, достигает  $10^7$  В/м и направлено внутрь.

<sup>1</sup>08jimmy91@gmail.com

<sup>2</sup>vsbys@mail.ru

Таким образом, в «закрытом» состоянии мембрана поляризована и держит довольно высокое внутреннее электрическое поле. В «открытой» конформации, возникающей при деполяризации потенциала покоя до некоторого определенного порогового уровня, ионные каналы становятся высокоселективными ионными проводниками. Все эти свойства аналогичны поведению сегнетоэлектриков в окрестности фазового перехода, когда происходит переход из поляризованного состояния в неполярное [6, 7]. Такая аналогия и привела к появлению идеи и модели такой «сегнетоэлектрической канальной единицы» (ferroelectric channel unit), предложенная впервые Ричардом Лейчтагом (R. Leuchtag) [1, 2, 8], а позже была развита В. Быстровым [9] и постепенно превратилась в модель на основе сегнетоэлектрических жидких кристаллов [2, 9–11] для ионных каналов возбудимых биологических мембран.

С точки зрения макроскопических измерений, такие потенциал-зависимые ионные каналы, сильно различаются друг от друга по характеру упорядоченной последовательности ионов, которые они пропускают (избирательность пропускания ионов или селективная последовательность ионов), по временным константам кинетики процесса прохождения ионов, их реакции на различные фармакологические вещества (токсичность, в том числе наличие или отсутствие инактивации), спонтанный переход в «закрытое» состояние во время длительного деполяризующего импульса, и т. д. Благодаря селективности ионных каналов, они пропускают только определенные типы из присутствующих в данной водной среде ионов. Особый интерес представляют  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  каналы, которые являются членами больших семейств потенциал-активируемых ионных каналов [12–17]. Здесь следует отметить, что существует также класс ионных каналов, которые активируются другими способами: например, механо-активируемые каналы [18, 19], семейство лиганд-зависимых рецепторов [20], фактически являющиеся химически-активируемыми ионными каналами. Все эти ионные каналы играют ключевую роль в формировании и прохождении потенциала действия по нервному волокну (нервного импульса) в нейронах (нервных клетках), а также участвуют во всех процессах сигнализации внутри и между клетками, в процессах мышечного сокращения и других.

Исследование структуры и функций этих различных ионных каналов, а также процессов, происходящих в них, требует привлечения различных современных и во многом междисциплинарных научных дисциплин, методов и подходов. В этой связи отметим, что еще в [21] было указано на то, что, например, физика конденсированных состояний и нелинейных явлений может дать ответы на вопросы молекулярной биологии. Здесь важно создать общий язык и надежный мост между биологами, физиками и математиками. В частности, развитие нового физически мотивированного подхода, необходимо на разных уровнях — феноменологическом (макроскопическом), микроскопическом и молекулярном. На феноменологическом уровне мы имеем в виду, во-первых, измерения на площади мембраны, содержащей большое число каналов, создающий на выходе гладкий ответный сигнал. Во-вторых, применение теорий основанных на феноменологическом подходе, таких как например, теория Ландау—Гинзбурга—Девоншира [6, 7], описывающая широкий спектр нелинейных явлений при изменении (скачке) упорядочения в системе, в том числе и сегнетоэлектрических, сегнетоактивных и родственных системах, в которых поляризация является параметром порядка системы. Именно такой подход и применил впервые Р. Лейчтаг, который развил классическую электродиффузионную модель с постоянным значением диэлектрической проницаемости, введя в нее нелинейную зависимость величины диэлектрической проницаемости от электрического поля [22, 23], что приводит в итоге к ее характерному изменению по закону Кюри—Вейсса в

окрестности точки фазового перехода. Это и привело к созданию сегнетоэлектрической модели ионного канала [1, 2, 8, 23], а также модели кинка для прохождения возбуждения (нервного импульса) вдоль нервного волокна [24, 25].

Микроскопический уровень имеет дело, как правило, с измерениями малого числа каналов, так что открытие и закрытие индивидуального канала может быть зарегистрировано методами классической техники patch-clamp (подробнее об этом в разделе «Фиксация потенциала»). Во-вторых, сейчас развиваются современные подходы, основанные на методах и технике атомно-силовой и пьезо-силовой микроскопии [26–31], которые могут позволить зафиксировать смещение мембраны и отдельных компонент макромолекулы ионного канала

При этом на молекулярном уровне мы имеем дело с событиями, происходящими на отдельной молекуле: конформационные изменения, формирование и разрыв связей, движение ионов от сайта к сайту, межмолекулярные силы и поля. Важно, что все эти характеристики и их параметры в настоящее время возможно исследовать с применением современных методов компьютерного моделирования: ab initio методы квантовой химии [32, 33], методы комбинированной молекулярной динамики, основанной на разумном сочетании классической и квантовой механики [34–45]. Отметим, что исследования подобных систем, состоящих из огромного числа атомов и электронов, стали возможными только в последнее время благодаря развитию компьютерных технологий и созданию специальных вычислительных кластеров, систем на графических процессорах и суперкомпьютеров.

Таким образом, данный обзор призван ознакомить читателя с актуальными на сегодняшний день методами изучения ионных каналов и оценить перспективные направления дальнейших исследований для решения насущных фундаментальных и прикладных проблем в различных областях биологии и медицины.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ИОННОЙ ПРОВОДИМОСТИ КАНАЛОВ

### Фиксация потенциала

Начало изучения ионных каналов было положено в экспериментальных работах Ходжкина, Каца [46, 47] и Коле, Мура [48, 49] с гигантским аксоном кальмара. Согласно их исследованиям, эквивалентная электрическая схема аксона может быть представлена [50] в следующем виде (рис. 1).

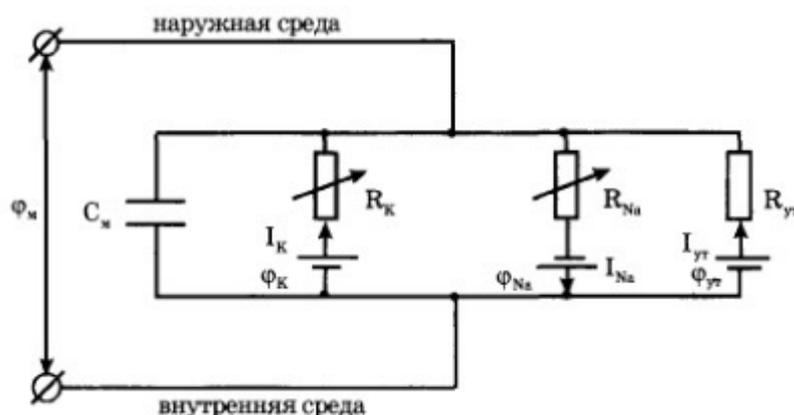


Рис. 1. Эквивалентная электрическая схема возбудимой мембраны клетки [50].

На рисунке 1  $C_m$  – емкость мембраны,  $I_i$  – ионные токи,  $R_i$  задает сопротивление (проводимость) мембраны для отдельного иона, а  $\phi_i$  – равновесный нернстовский потенциал создаваемый  $i$ -ым ионом. Тогда полный ток, протекающий через мембрану, будет суммой емкостного  $I_c$  и ионных  $I_i$  токов:

$$I_m = I_c + \sum_i I_i = C_m \frac{d\phi_m}{dt} + I_K + I_{Na} + I_{yt}. \quad (1)$$

Таким образом, для анализа исключительно ионных токов необходимо полностью убрать емкостную составляющую [4] – иными словами, зафиксировать потенциал:

$$\frac{d\phi_m}{dt} = 0.$$

Для этих целей была впервые применена [46] методика двухэлектродной [51, 52] фиксации потенциала (TEVC, рис. 2).

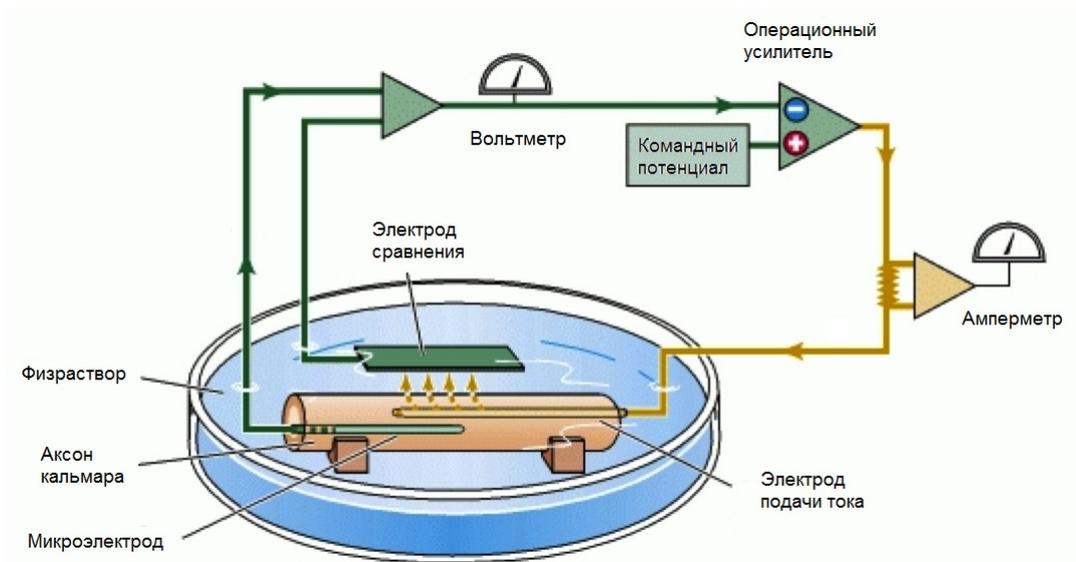


Рис. 2. Двухэлектродная фиксация потенциала [52].

Разность потенциалов между электродом сравнения, помещенным в физраствор, и измерительным электродом подается на вход операционного усилителя, где сравнивается с командным потенциалом, задаваемым экспериментатором. В случае различия этих потенциалов через другой электрод происходит компенсирующая данную разность инъекция тока, которая измеряется амперметром. Данная величина будет равняться суммарной величине всех ионных токов через мембрану. В случае необходимости можно выделить отдельные составляющие данного тока, используя различные блокаторы [4, 53] ионных каналов (тетраэтиламмоний (ТЕА) –  $K^+$  каналы, нифедипин – блокатор  $Ca^{2+}$  каналов, тетродоксин (ТТХ) –  $Na^+$  и др.).

Существенным недостатком данного метода является необходимость двойного прокалывания электродами, что сужает применимость данного подхода для клеток, размер которых превышает 20 мкм [53] (ооцит, аксон кальмара и др.).

В качестве решения этой проблемы было предложено [54, 55] использовать один электрод и для измерения потенциала, и для инъекций тока – так называемый метод одноэлектродной фиксации потенциала (SEVC) [56]. Это возможно благодаря быстрому переключению между режимами работы (2 – 20 кГц), однако такая система

легко может войти в неконтролируемые осцилляции [56]. В силу большей по сравнению с двухэлектродной фиксацией задержкой выравнивания мембранного потенциала после инъекции тока наблюдается увеличение шумов и времени эксперимента [57]. SEVC в основном применяется в случае невозможности образования гигаомного контакта и необходимости сохранения цитоплазменного состава клетки [56]. С развитием метода «perforated patch» последняя причина становится все менее актуальной.

Дальнейшее развитие их идей привело к созданию основного на данный момент экспериментального метода изучения свойств ионных каналов — метода локальной фиксации потенциала (Patch clamp).

### Метод локальной фиксации потенциала

Данный метод был разработан в начале 80-х годов XX века немецкими исследователями Неером и Сакманом [58] и позволяет регистрировать амплитуду ионных токов одиночных каналов за счет образования [59] гигаомного ( $10^9$  Ом) контакта между стеклянным электродом и клеточной стенкой [60]. Таким образом, фрагмент мембраны, заключенный в микропипетке диаметром  $\sim 0.5 \div 2$  мкм [61, 62], оказывается изолированным от внешней среды, что уменьшает шумы снимаемого сигнала.

Основным элементом электрической схемы (рис. 3) данного метода является наличие операционного усилителя с обратной связью [4]. Сопротивление  $R_f$  подбирается таким образом, чтобы фиксировать характерные амплитуды токов, и лежит в диапазоне  $10 \div 100$  гОм [59].

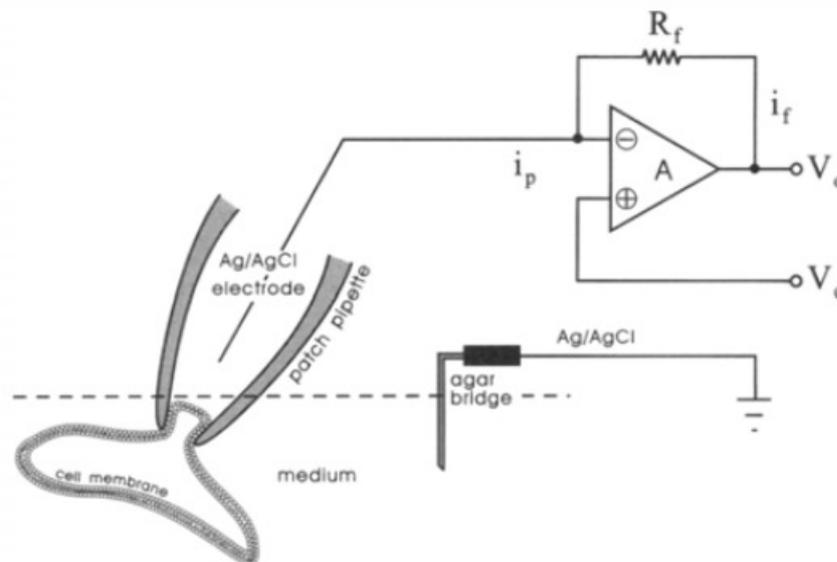


Рис. 3. Схема фиксации потенциала с использованием операционного усилителя [4].

Существуют следующие разновидности [52] данного метода (рис. 4), в зависимости от которых подбирают необходимый электролитный состав в микропипетке:

**Whole-cell.** В пипетку подают давление таким образом, чтобы нарушить целостность изолированного сегмента мембраны. После этого состав цитоплазмы выравнивается с электролитным составом микропипетки. Принципиальная схема [56] изображена на рисунке ниже (рис. 5). С точки зрения схемы, разрушение патча эквивалентно  $R_{patch} \rightarrow 0$  (оно переходит в сопротивление среды  $R_{access}$ ). Особенностью данного метода является регистрация интегрального тока в клетке. Для этого достаточно, чтобы сопротивление мембраны  $R_m > R_{patch} + R_{access}$  было наибольшим в

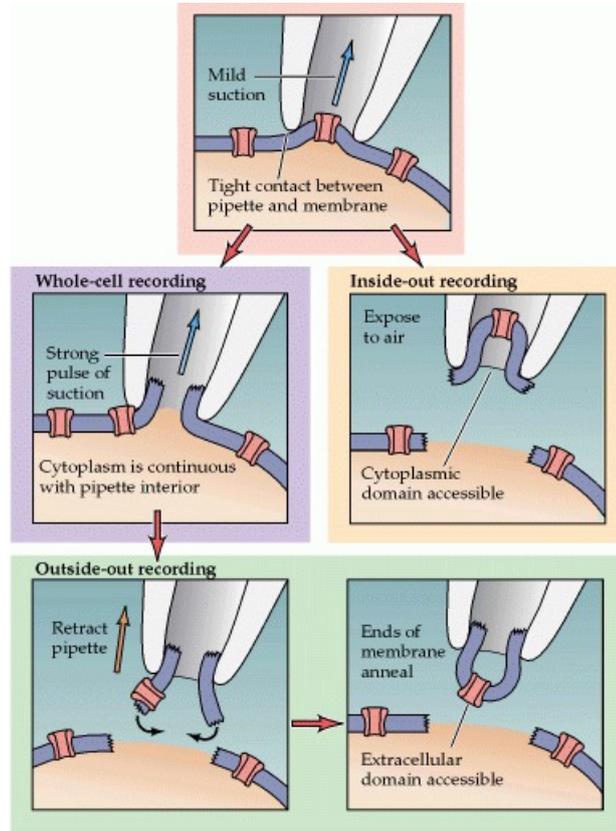


Рис. 4. Различные разновидности метода patch clamp [52].

цепи. Как и в случае cell-attached, сопротивление утечки  $R_{leak}$  должно быть велико для минимизации потерь.

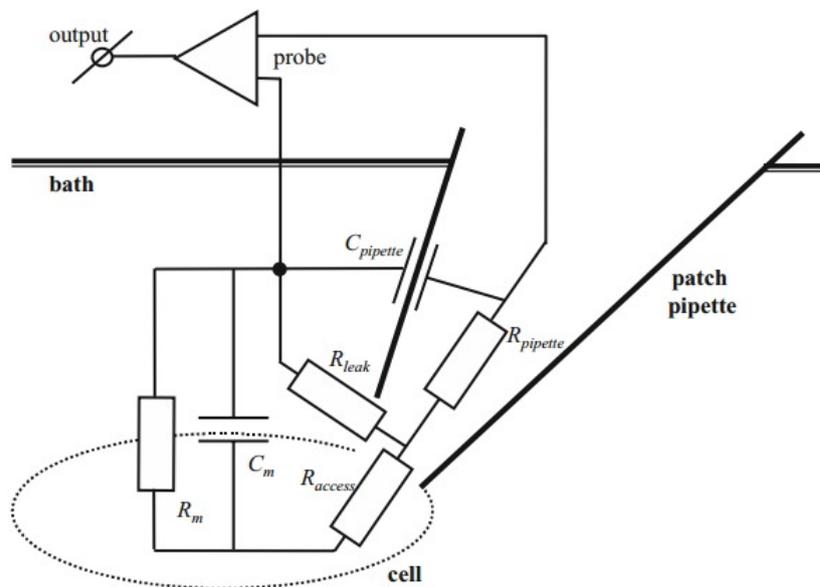


Рис. 5. Эквивалентная электрическая схема конфигурации «whole-cell» [56].

**Cell-attached.** Данная конфигурация отличается только лишь возникновением гигаомного контакта с незначительной деформацией мембраны без явного

нарушения целостности. Оба электрода находятся в по одну сторону мембраны [56]. Принципиальная схема изображена ниже (рис. 6). Сопротивление утечки  $R_{leak}$  указывает на качество плотного контакта, и для минимизации потерь  $R_{leak}$  должно быть относительно велико ( $> 10^{10}$  Ом [56]). Для задания трансмембранной разности потенциалов (внешний – пипеточный электрод) необходимо использовать омывающие растворы, что создает дополнительные трудности в силу многокомпонентности цитоплазменного состава.

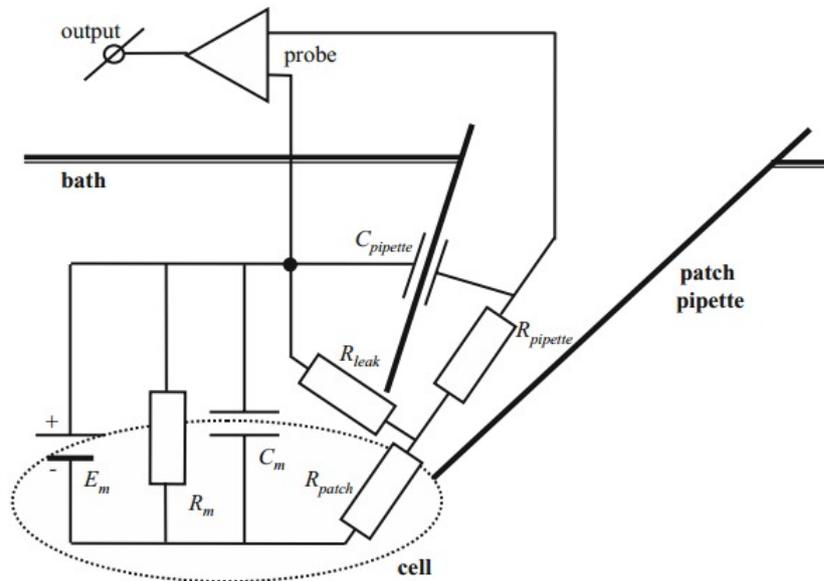


Рис. 6. Эквивалентная электрическая схема конфигурации «cell-attached» [56].

**Inside-out.** Изолированный участок мембраны отрывают от клетки, и данную систему погружают в омывающий раствор, близкий по содержанию к цитоплазме. Тогда разность потенциалов на мембране строго равна разности потенциалов между электродами. Принципиальная схема изображена ниже (рис. 7). Особенностью данной конфигурации является возможность регистрации единичного канала.

**Inside-in.** Осуществляется переходом от конфигурации «Whole-cell» медленным отведением микропипетки, за счет чего, после разрыва неизолированных участков, мембрана смыкается в вывернутом виде [56]. Принципиальная схема аналогична конфигурации «inside-out» (рис. 7). Теперь цитоплазматический раствор – раствор микропипетки. Как и в «Inside-out», можно проводить исследования одиночных каналов.

**Perforated patch.** Когда объект исследования предполагает наличие внутриклеточной сигнализации, применение конфигурации «Whole-cell» может привести к нежелательному размытию цитоплазматического состава (вещества с молекулярной массой в диапазоне  $100 \div 500$  [63]) содержимым пипетки [56]. Примером могут служить потенциал-зависимые кальциевые каналы (VDCC): устойчивый кальциевый ток  $I_{Ca}$  через VDCC требует фосфорилирования канала [53], а нарушение целостности мембраны в области контакта приводит к размытию субстратов и веществ, участвующих [64] в фосфорилировании – сАМР [65], протеинкиназа А [66], и дефосфорилировании (щелочная фосфатаза [67]). Вместе с дефосфорилированием, еще одной причиной уменьшения измеряемых токов является протеолитическая

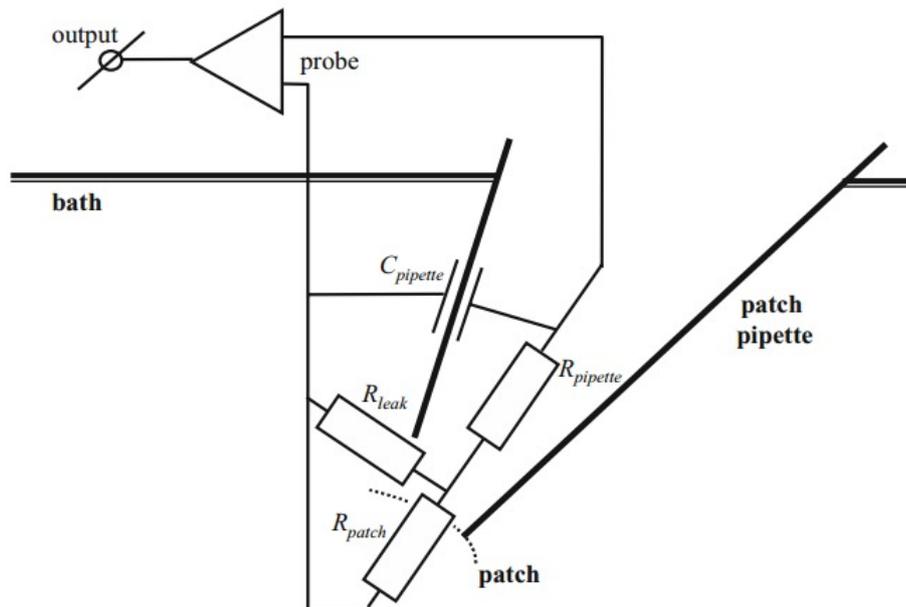


Рис. 7. Эквивалентная электрическая схема конфигураций «Inside-in» и «Inside-out» [56].

деградация каналов [68, 69]. Помимо снижения тока, диализ может влиять на воротные свойства [70], а также пороги активации [71] и инактивации отдельных потенциал-зависимых  $K^+$  каналов [67].

Решение проблемы в виде добавления в раствор микропипетки специфических ингибиторов протеолиза, таких как леупептин [72], а также факторов поддержки фосфорилирования (АТФ, цАМФ, цАМФ-зависимая протеинкиназа [53]), если и приводило к уменьшению падения измеряемых токов [68, 69, 73, 74], то возникал вопрос о возможном непредсказуемом влиянии данных веществ на сигнальную систему клетки, что может сказаться на функционировании изучаемых в эксперименте каналов [64].

Применение метода «perforated patch» позволяет избежать данного эффекта, а также сохраняет легкость доступа к внутриклеточному содержимому. Данная методика основана [63, 75] на применении специальных полиеновых антибиотиков, способных формировать в толще мембраны клетки специфические поры, пропускающие небольшие частицы, преимущественно моновалентные ионы [53, 56], и препятствующие прохождению больших молекул (рис. 8). Дополнительным преимуществом является их независимость от мембранного потенциала [53]. Особенностью применения данной методики является введение антибиотика после образования гигаомного контакта — в противном случае возникнут большие токи утечки [56]. Наиболее известными антибиотиками такого действия являются амфотерицин В [76, 77] и нистатин [63, 78], образующие поры диаметром около 0.8 нм [79] и 0.4 нм [80] соответственно с характерным временем жизни в несколько минут [81]. Использование в качестве каналобразующего агента грамицидина D [56, 82], благодаря непроницаемости ионов хлора  $Cl^-$  [83], позволяет избежать характерного для полиеновых соединений нежелательного перераспределения ионов хлора [82], и, как следствие, возникновения доннановского потенциала, величина которого может достигать более 10 мВ [77].

Однако у данного метода есть ряд проблем, связанных в первую очередь с большей технической сложностью и затратностью проведения эксперимента. В отличие от «whole-cell», конфигурация «perforated-patch» обладает большим сопротивлением  $R_{patch}$  в области контакта, приводя к дополнительным потерям

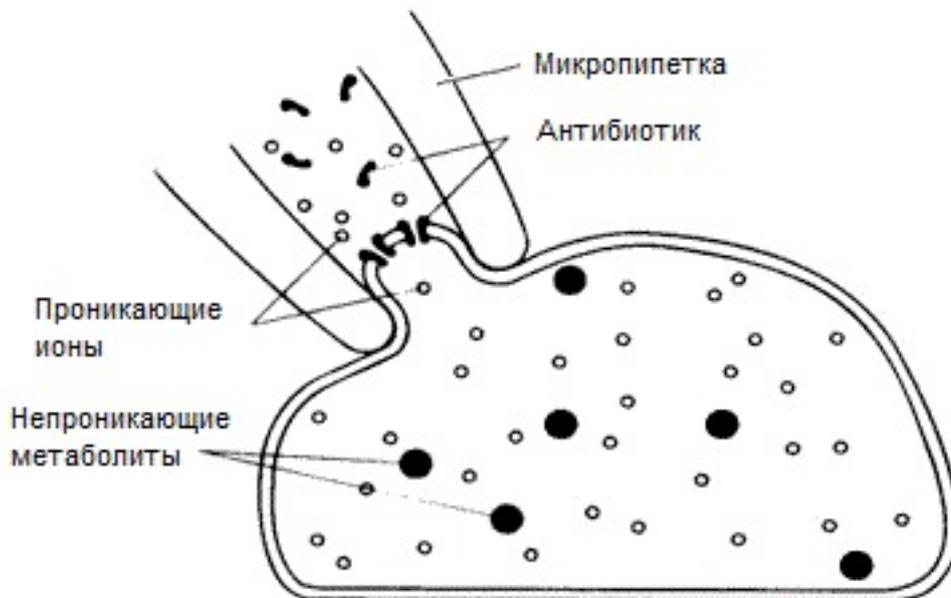


Рис. 8. Схема конфигурации «perforated patch».

напряжения [53]. Данную проблему пытаются решить благодаря использованию в качестве ионофоров сапонинов – безазотистых гликозидов с поверхностно-активными свойствами (например, бета-эсцин [84]). Однако в связи с образованием достаточно больших пор (диаметром около 8 нм [85]) применение данных веществ сильно затруднено [86].

Ниже (табл. 1) представлен характерный состав внутри- и внеклеточных растворов, применяемых в patch-clamp экспериментах [56, 59, 76].

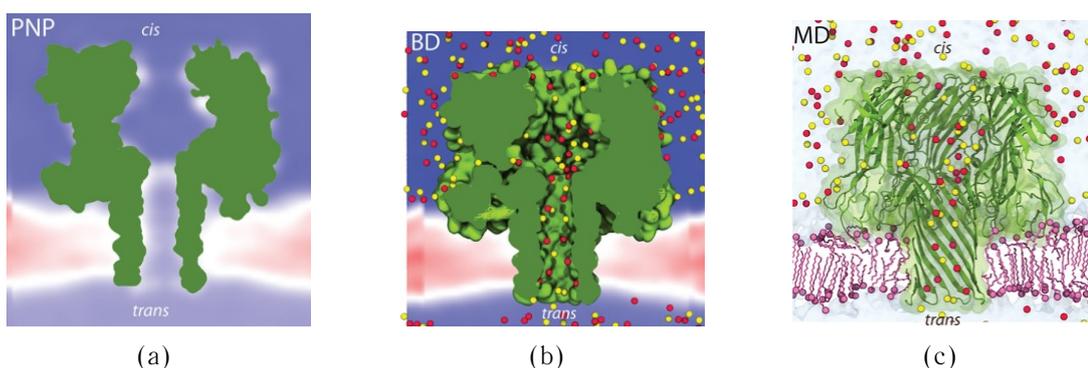
Таблица 1. Состав внутри- и внеклеточных растворов, применяемых в patch-clamp экспериментах

Вещество	Раствор, мМ	
	Внеклеточный	Внутриклеточный
$Na^+$	126	5
$K^+$	6	147
$Mg^{2+}$	2.5	1.2
$Ca^{2+}$	1.2	0
$Cl^-$	125	150
$GTP$	0	0.1
$ATP$	0	5
Глюкоза	11	11
Сахароза	67	0

## ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К МОДЕЛИРОВАНИЮ ИОННОЙ ПРОВОДИМОСТИ

Вместе с развитием экспериментальных методов исследования ионных каналов разрабатывались и теоретические модели функционирования ионных каналов.

Среди большого числа вычислительных подходов, разработанных для изучения ионных каналов, можно выделить 3 основные категории [5]: полноатомная молекулярная динамика (МД), рассматривающая систему явным образом; броуновская динамика (БД), явным образом оперирующая только растворенными ионами и отдельными молекулами, растворитель задается неявным образом; теория Пуассона–Нернста–Планка (PNP), в которой система описывается на макро-уровне, а ионный состав рассматривается непрерывным. Каждый из данных подходов обладает своими преимуществами и недостатками. Метод МД наиболее точен, но требует больших вычислительных мощностей. Подходы БД и ПНП позволяют обойти данное ограничение за счет меньшей детальности моделируемой системы. В то же время, МД имеет наименьшее временное и пространственное разрешение (после БД и PNP соответственно). Ниже (рис. 9) представлена схематичная иллюстрация данных методов на примере единой системы.



**Рис. 9.** Схематичная иллюстрация применения различных методов к системе ионного канала, погруженного в липидный бислой и окруженный раствором электролита [5]: теория Пуассона–Нернста–Планка (a) – ионы, вода, ионный канал и липидная мембрана представлены непрерывной средой со своими диэлектрическими свойствами. БД (b) – ионное окружение моделируется явным образом. Полноатомная МД (c) – система полностью представлена в явном виде.

Однако данная классификация является весьма приближенной. Уровень вычислительной сложности зависит от степени детализации системы. Любые, самые сложные вычисления МД основаны на соответствующих силовых полях, выбор которых существенным образом зависит от исследуемой проблемы. В связи с этим, применение *ab initio* методов квантовой/молекулярной механики (QM/MM), в принципе, может обеспечить наивысшую точность вычислений. Однако, если говорить о пространственно-временном разрешении, то на данный момент QM/MM-методы только начинают привлекаться к задачам моделирования макроскопических биосистем [87, 88] и проблемам ионного транспорта [89]. С другой стороны, ведутся работы по объединению методов BD и PNP [90, 91].

### Методы молекулярной динамики

Широкое применение методов молекулярной динамики связано с увеличением компьютерных вычислительных мощностей и развитием экспериментальных методов и технологий пространственной реконструкции атомистических структур биомолекул (рентгеноструктурный анализ, ЯМР, электронная микроскопия). До недавнего времени единственным [92] объектом изучения МД являлся грамицидиновый канал [93], он и на данный момент является модельной системой при тестировании новых

методов моделирования [5]. Однако уже к началу XXI века были получены различные структуры бактериальных каналов: порины [94, 95], механочувствительные [96] и  $Ca^{2+}$  ионные каналы [97]. Знаменательным событием являлось получение в 2001 году пространственной структуры прокариотического  $K^+$  канала [98], чувствительного к pH среды [97] с пространственным разрешением в 2 Å.

Молекулярная динамика основана на уравнении II-ого закона Ньютона [99, 100]. Если на  $i$ -ую частицу массы  $m_i$ , с координатами  $\vec{r}_i$  в момент времени  $t$  действует сила  $\vec{F}_i$ , то уравнение движения запишется в виде:

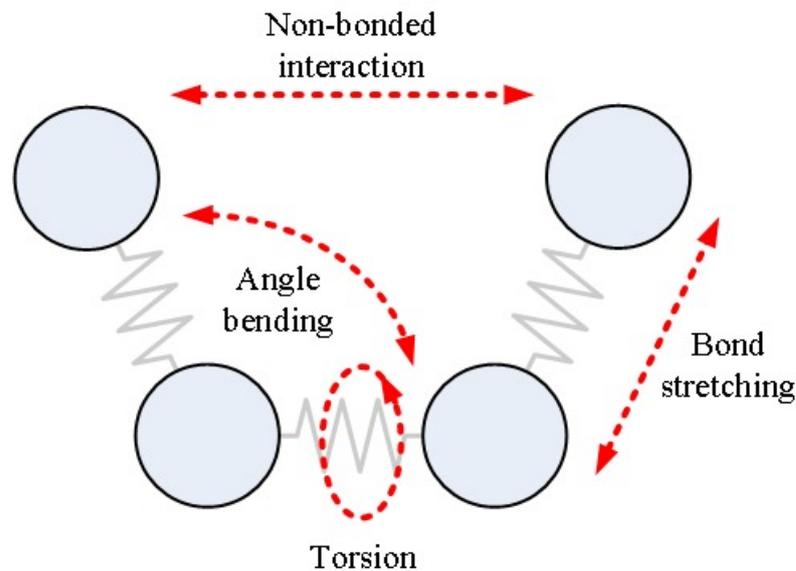
$$m_i \frac{d^2 \vec{r}_i}{dt^2} = \vec{F}_i. \quad (2)$$

Сила  $\vec{F}_i$ , действующая на частицу, определяется как градиент потенциальной энергии системы:

$$\vec{F}_i(\vec{r}) = -\frac{\partial U(\vec{r})}{\partial r}. \quad (3)$$

В методах МД атомы рассматриваемой системы представляются точечными частицами, часть которых связана различными атомными связями (рис. 10). Потенциал такой системы можно представить в виде суммы потенциальной энергии связей и взаимодействий, не зависящих от наличия химической связи:

$$U(\vec{r}) = \underbrace{U_{str} + U_{angle} + U_{tors}}_{\text{bonded}} + \underbrace{U_{LD} + U_{elect} + U_{hh}}_{\text{non-bonded}}. \quad (4)$$



**Рис. 10.** Химическая связь двух атомов (bond stretching), угловая связь (angle bending) трех атомов, торсионная связь (torsion), а также несвязанное взаимодействие (non-bonding interaction).

Потенциальная энергия внутримолекулярной [101] связи  $U_{str}$  атомов записывается в виде:

$$U_{str}(r) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{N_b} K_{b,i} (r_i - r_{0,i})^2, \quad (5)$$

где  $K_{b,i}$  — эффективная жесткость связи,  $i$  — номер связи,  $r_i$  — длина связи,  $r_{0,i}$  — равновесная длина связи,  $N_b$  — полное число валентных связей.

Аналогично записывается потенциал угловой  $U_{angle}$  гармонической связи:

$$U_{angle}(\alpha) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{N_a} K_{a,i} (\alpha_i - \alpha_{0,i})^2. \quad (6)$$

Здесь  $K_{a,i}$  – эффективная упругость валентного угла,  $i$  – номер угла,  $\alpha_i$  – валентный угол,  $\alpha_{0,i}$  – равновесное значение валентного угла,  $N_b$  – полное число валентных углов.

Потенциальная энергия торсионных углов, плоских групп и псевдоторсионных углов  $U_{tors}$  задается [102] через ряд Фурье [103]:

$$U_{tors}(\alpha) = \frac{1}{2} \sum_{\varphi=1}^{\Phi} \sum_{l=1}^L K_{\varphi,l} [1 + g_{\varphi,l} \cos(n_{\varphi,l} \alpha_{\varphi})], \quad (7)$$

$K_{a,l}$  – константа,  $\varphi$  – номер угла,  $l$  – номер гармоники,  $g_{\varphi,l}$  – вклад гармоники в потенциал торсионного угла,  $n_{\varphi,l}$  – кратность гармоники.

Отметим, что иногда для описания энергии внутримолекулярных связей используется потенциал Морзе [101]:

$$U_{str}(r_{ij}) = E_0 \left\{ [1 - \exp^{-k(r_{ij}-r_0)}]^2 - 1 \right\}, \quad (8)$$

где  $E_0$  – амплитуда потенциала,  $k$  – жесткость связи. Однако замена на параболический потенциал (5) оправдана малыми колебаниями валентных связей при комнатных температурах [102].

Энергия взаимодействия заряженных атомов описывается электростатическим потенциалом:

$$U_{elect} = \frac{1}{4\pi\epsilon\epsilon_0} \sum_{i=1}^{N_{atom}} \sum_{j \neq i} \frac{q_i q_j}{r_{ij}}. \quad (9)$$

Парный потенциал взаимодействия описывается потенциалом Леннард–Джонса:

$$U_{LD} = \sum_{i=1}^{N_{atom}} \sum_{j \neq i} 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right], \quad (10)$$

где  $\epsilon$  – глубина потенциальной ямы,  $\sigma$  – значение  $r$ , при котором  $U(r) = 0$ . Параметры  $\epsilon_{ij}$  и  $\sigma_{ij}$  рассчитываются по правилу Лоренца–Бертло [104]:

$$\epsilon_{ij} = \sqrt{\epsilon_i \epsilon_j}, \quad \sigma_{ij} = \frac{\sigma_i + \sigma_j}{2}.$$

Характерные значения данных констант [105–107] при  $T = 298^\circ K$  для основных типов ионов, наиболее распространенных в клетке, приведены ниже (табл. 2).

За притяжение отвечает [108] слагаемое  $\sim r^{-6}$ , которое обусловлено индукционным диполь-дипольным взаимодействием. Отталкивание на малых расстояниях осуществляется за счет обменного взаимодействия, чему соответствует член  $\sim r^{-12}$ . Необходимо отметить, что по сравнению с другими полуэмпирическими потенциалами парных взаимодействий Букингема, Борна–Хаггинса–Мейера, потенциал Леннард–Джонса более предпочтителен с точки зрения вычислительной затратности благодаря отсутствию слагаемых с экспонентами и выбор степени 12 обусловлен исключительно удобством математических расчетов.

**Таблица 2.** Параметры потенциала Леннард–Джонса для некоторых ионов при 298°К

Тип иона	$\sigma_i$ , нм	$\epsilon_i/k_B$ , К
$Na^+$	0.235	65.42
$K^+$	0.340	50.38
$Li^+$	0.151	83.12
$Ca^{2+}$	0.287	50.32
$Cl^-$	0.440	50.32
$F^-$	0.312	90.68

Энергия водородных связей напоминает потенциал (10) с точностью до феноменологического слагаемого, отвечающего за дисперсионное диполь-дипольное взаимодействие [102]:

$$U_{hh} = \sum_{i=1}^{N_{hh}} \sum_{j \neq i} \left[ \left( \frac{A}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{B}{r_{ij}} \right)^{10} \right]. \quad (11)$$

Однако в ряде силовых полей потенциал (11) не используется в данной форме [102].

Интегрирование уравнения движения (2) для каждой частицы рассматриваемой системы и представляет основной подход МД. Оно осуществляется с использованием разностных схем, основанных на алгоритме Верле [109], где приращение координаты для  $i$ -ой частицы за каждый момент времени  $\delta t$  записывается в виде:

$$\vec{r}_i(t + \delta t) = 2\vec{r}_i(t) - \vec{r}_i(t - \delta t) + \frac{\vec{f}_i(t)}{m_i} \delta t^2 \quad (12)$$

где сила  $f_i$ , действующая на  $i$ -ую частицу, находится из выражения (3).

Набор параметров, задействованных при расчете потенциальных энергий системы (5)–(10), состоящий из равновесных значений длин связей, валентных углов, величин парциальных зарядов, силовых констант и Ван-дер-Ваальсовских параметров, называется силовым полем. В настоящее время существует несколько биомолекулярных силовых полей, которые могут быть разделены по учету атомов системы [5]. Так, полноатомные силовые поля CHARMM (Chemistry at HARvard Molecular Mechanics) [110], OPLS-AA (Optimized Potential for Liquid Simulations) [111, 112] и AMBER (Assisted Model Building and Energy Refinement) [113] учитывают все атомы системы. Для ускорения расчетов иногда пренебрегают неполярными атомами водорода. Такой подход реализован в GROMOS (GROningen MOlecular Simulation package) [114, 115]). В последних версиях данных силовых полей (CHARMM36 [116], GAFF – General AMBER Force Field [117] [118]), за исключением OPLS, включены параметры взаимодействия с липидами, необходимые для моделирования ионных каналов на мембране [5]. В частности, крупнозернистое силовое поле MARTINI [119] было специально разработано для молекулярной динамики липидов и активно применяется для моделирования мембранных процессов [120, 121].

Основным недостатком большинства существующих силовых полей является то, что они не учитывают поляризационные эффекты, которые могут играть ключевую роль в селективности ионных каналов на микроскопическом уровне [122, 123].

Для решения данной проблемы разрабатываются различные силовые поля с учетом поляризационных эффектов [124, 125], такие как АМОЕВА (Atomic Multipole Optimized Energetics for Biomolecular Applications [126]), Gaussian Electrostatic Model (GEM [127]) и др.

Подход молекулярной динамики имеет ряд ограничений. В первую очередь, относительно малая временная эволюция системы ( $10^{-9}$ ), недостаточная для наблюдения отдельных биологических эффектов [92]. Это обусловлено необходимостью выбора временного шага системы в 1 фс, соответствующего десятой части периода молекулярных колебаний [102], для обеспечения стабильности системы. Только в последнее время, благодаря развитию вычислительных технологий и появлению суперкомпьютеров (MDGrave-3 [128], Blue-Gene [129], Anton [130, 131]), удается дойти до миллисекундного рубежа [132]. Другим не менее важным фактором является необходимость наличия полноатомной реконструкции моделируемого белка. Учитывая трудность кристаллизации мембранных белков, часто применяется метод моделирования по гомологии [133, 134], благодаря их относительно высокой схожести в аминокислотной последовательности [5]. Большие надежды по решению данной проблемы возлагаются на открытие в 2015 году нового рентгеновского лазера на свободных электронах XFEL. Длина волны подобного излучения ( $0.05 \div 6$  нм) позволит получать рентгенограммы высокого разрешения, а необходимость кристаллизации исследуемого вещества пропадет благодаря использованию технологии мелкодисперсного впрыска [135].

## Методы броуновской динамики

### Уравнение Ланжевена

Основным подходом броуновской динамики (БД) является упрощение моделируемой системы за счет замены внешнего растворителя на однородную среду. В такой системе на броуновскую частицу действуют диссипативные силы трения и случайные «тычки» со стороны других молекул. Находясь в тепловом равновесии, в среднем все молекулы системы обладают одной энергией, однако из-за неоднородности массы обладают разными скоростями, что обуславливает некоторое распределение по квадрату скорости (распределение Максвелла в термодинамике). В силу малости размеров броуновской частицы и неоднородности импульса окружающих частиц по величине и направлению, соударения не будут точно скомпенсированы.

Запишем теперь все вышесказанное в виде уравнения Ланжевена:

$$m \frac{dV}{dt} = -\zeta V + F_e(t) + F_s(t), \quad (13)$$

где  $\zeta$  — коэффициент трения броуновской частицы,  $F_e(t)$  — внешнее поле сил,  $F_s(t)$  — стохастическая сила, обладающая следующими основными свойствами [136]:

- Среднее по ансамблю частиц в произвольный момент времени обращается в 0, гарантируя среднюю сбалансированность флуктуаций

$$\langle F_s(t) \rangle = 0.$$

- Столкновения, разделенные во времени, статистически независимы — корреляция отлична от нуля для интервалов порядка длительности столкновения (иными словами, автокорреляционная функция стохастической силы — дельта-функция Дирака)

$$\langle F_s(t_1) F_s(t_2) \rangle = \alpha \delta(t_1 - t_2).$$

Учитывая вышеуказанные свойства, становится очевидно, что стохастическая сила  $F_s(t)$  это фактически стационарный белый шум. Теперь можно записать уравнение Ланжевена (13) в более распространенном виде [137]:

$$dV = -\gamma V dt + \sigma dW(t) \quad (14)$$

Отсюда несложно получить общее решение:

$$V(t) = V_0 e^{-\gamma t} + \sigma \int_0^t e^{-\gamma(t-t')} dW(t'). \quad (15)$$

(аналитическое решение уравнения (13) более подробно будет рассмотрено ниже).

Исходя из свойств интеграла Ито [138] можно получить окончательное выражение для скорости в произвольный момент времени:

$$V(t) = V_0 e^{-\gamma t} + N \left( 0, \frac{\sigma^2 (1 - e^{-2\gamma t})}{2\gamma} \right). \quad (16)$$

Нормировочную константу  $\sigma$  найдем из предположения того, что система находится в термодинамическом (тепловом) равновесии [136]:

$$\sigma = \sqrt{\frac{2\gamma kT}{m}}. \quad (17)$$

Тогда из (15) нетрудно получить выражение для эволюции координаты броуновской частицы во времени:

$$X(t) = X_0 + V_0 \frac{1 - e^{-\gamma t}}{\gamma} + N \left( 0, \frac{\sigma^2}{\gamma^3} \left[ \gamma t - \frac{3}{2} + 2e^{-\gamma t} - \frac{e^{-2\gamma t}}{2} \right] \right). \quad (18)$$

Найдем теперь средний по ансамблю квадрат перемещения частицы в момент времени  $t$ :

$$\langle X^2 \rangle = V_0^2 \frac{(1 - e^{-\gamma t})^2}{\gamma^2} + \frac{\sigma^2}{\gamma^3} \left[ \gamma t - \frac{3}{2} + 2e^{-\gamma t} - \frac{e^{-2\gamma t}}{2} \right]. \quad (19)$$

Рассмотрим различные предельные случаи:

- Стремление системы к термодинамическому равновесию осуществляется в предельном переходе при  $t \rightarrow \infty$ :

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \langle X^2 \rangle = \frac{\sigma^2}{\gamma^2} t = 2 \frac{kT}{6\pi\eta R} t = 2Dt. \quad (20)$$

Получаем классическое выражение, которое получил Эйнштейн в рамках своей молекулярно-кинетической теории [139]. Таким образом, при  $t \rightarrow \infty$  будет работать «диффузионное» приближение.

- В начальный момент времени ( $t \rightarrow 0$ )

$$\lim_{t \rightarrow 0} \langle X^2 \rangle = V_0^2 t^2,$$

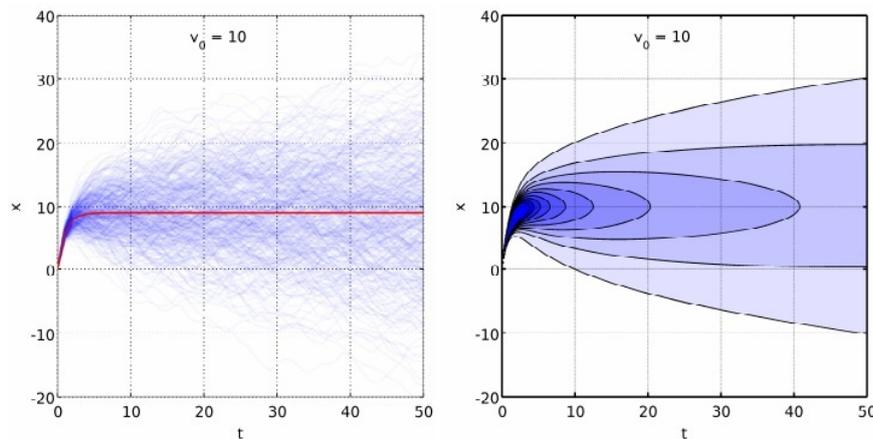
т.е. начальные стадии эволюции броуновской системы не описываются винеровским процессом ( $\langle X^2 \rangle \sim t$ ), а значит начинает проявляться память

частицы о своей начальной скорости и координате в предыдущий момент времени (т.н. «баллистический режим»). Существование этого режима на малых временах (рис. 11) обусловлено тем, что самоподобный характер винеровского процесса на практике должен исчезнуть [140], так как иначе потребовались бы бесконечные импульсы силы. В последнее время баллистический режим удалось наблюдать непосредственно [141]. На временах порядка  $1/\gamma$  влияние начальной скорости пропадает, отсюда следует еще один смысл  $\gamma$  — это время автокорреляции скорости [142, 143].

Отсюда следует существующее ограничение уравнения (13): в любой момент времени жидкость должна мгновенно восстанавливать свое равновесное состояние, соответствующее данной скорости — иными словами отсутствует эффект памяти прежней динамики частицы, что существенно для малых  $t$ . Для решения данной проблемы вводят [144] специфическую «функцию памяти»  $\kappa(t - \tau)$ , получая обобщенное уравнение Ланжевена:

$$m \frac{d\vec{V}}{dt} = - \int_0^t \vec{V}(\tau) \kappa(t - \tau) d\tau + \vec{F}_e(t) + \vec{F}_s(t). \quad (21)$$

Однако, учитывая область применения БД и возможность моделирования относительно продолжительной эволюции системы ( $10^{-6} \div 10^{-3}$  с [5]), характерный временной шаг, выбираемый при данных экспериментах [145–147], позволяет рассматривать броуновские блуждания в пространстве скоростей и координат как марковский процесс без учета функции памяти [148, 149].



**Рис. 11.** Зависимость смещения от времени (слева), а также плотность распределения смещения (справа) для точного решения (18).

В качестве внешней силы, действующей на броуновские частицы системы, как правило [5], выбирается суперпозиция электростатического (9) и парного потенциала взаимодействия типа Леннард–Джонса (10). При расчете электростатических сил растворитель, липидный бислой и белок приближаются однородной средой с постоянной диэлектрической проницаемостью (78 [150],  $3 \div 7$  [151, 152],  $8 \div 10$  [153, 154] при 298°K соответственно).

Основным параметром уравнения Ланжевена (13), определяющим успешность применения методов броуновской динамики для описания различных диффузионных процессов, является коэффициент трения  $\zeta$  частицы. Рассмотрим основные приближения, позволяющие явным образом определить коэффициент трения, исходя из свойств частицы, такие как радиус, масса, заряд и т.д.

## Закон Стокса

Если представить броуновскую частицу идеальным шаром с массой  $m$  и радиусом  $R$ , то при ее движении в непрерывной вязкой жидкости с динамической вязкостью  $\eta$  коэффициент гидродинамического трения [155]

$$\zeta_V = 6\pi\eta R \frac{1 + \frac{2\eta}{\beta R}}{1 + \frac{3\eta}{\beta R}}. \quad (22)$$

Отметим, что данное соотношение справедливо только в приближении лобового сопротивления среды, и в нем не учитываются вращательная и диэлектрическая сила трения, что является существенным ограничением применимости соотношения Стокса–Эйнштейна для расчета коэффициента диффузии исследуемого вещества. Также стоит учесть, что при диффузии сферически симметричных частиц, размер которых соизмерим с размерами молекул растворителя, коэффициент трения скольжения между жидкостью и частицей  $\beta \rightarrow 0$  [155], что приводит к другому предельному выражению для коэффициента трения, которое применяется для описания процесса самодиффузии:

$$\zeta_V = 4\pi\eta R.$$

Как было сказано выше, приближение Стокса тем лучше описывает движение броуновской частицы, чем больше ее размер. Однако из соотношения Стокса–Эйнштейна очевидно, что коэффициент диффузии будет стремиться к бесконечности при уменьшении радиуса броуновской частицы, что, естественно, не соответствует реальным физическим экспериментам. К тому же, остается открытым вопрос о корректной оценке радиуса частицы в различном окружении.

## Гидратная оболочка

В силу того, что вода — полярный растворитель, при наличии в растворе произвольных заряженных (или полярных) частиц молекулы воды создают вокруг них достаточно прочный экранирующий слой — гидратную оболочку. Поэтому без ограничения общности можно в качестве броуновской частицы рассматривать совокупность частицы и ее гидратной оболочки.

Размер и свойства гидратной оболочки в основном зависит от заряда (дипольного момента) и геометрии частицы. В свою очередь гидратная оболочка может содержать несколько слоев, что существенно усложняет определение параметров этой структуры, таких как масса, размер, распределение заряда и др. Размер гидратной оболочки возможно оценить в случае предельно разбавленного раствора электролита, используя уравнение Стокса–Эйнштейна:

$$r_s = \frac{|z|q_e^2 N_A}{4\pi\eta\lambda_0},$$

где  $z$  — валентность,  $q_e$  — заряд электрона,  $\lambda_0$  — предельная эквивалентная электропроводность (подвижность) иона в растворе при определенной температуре. В качестве сравнения ниже (табл. 3) приведены результаты компьютерных расчетов гидратированных радиусов различных ионов, а также их радиусы Стокса. Как видно, диапазон размеров броуновских частиц достаточно велик, поэтому выбор конкретного радиуса гидратной оболочки неоднозначен.

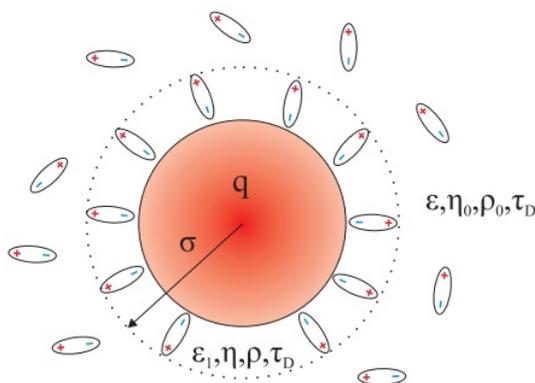
**Таблица 3.** Гидратированные и гидродинамические радиусы различных ионов при 298°K

Ион	$Li^+$	$Na^+$	$K^+$	$Ca^{2+}$	$F^-$	$Cl^-$	$I^-$
$\lambda_0$	38.6	50.1	73.5	59.5	55.4	76.4	77.8
$r_h, \text{Å}$	3.0–3.8	2.8–3.6	2.3–3.3	3.0–4.0	2.8–3.5	2.3–3.3	2.4–3.3
$r_s, \text{Å}$	3.2	2.5	1.7	4.1	2.2	1.6	1.6
Лит.		[156–158]		[157, 158]	[156, 158]		[158]

### Диэлектрическое трение

В случае сольватации диэлектрическая природа растворителя учитывалась лишь в электростатическом экранировании заряда и образовании гидратной оболочки, которая по ходу движения иона считалась постоянной. Т.е. фактически никаких дополнительных поправок к коэффициенту трения не внесено, меняется лишь геометрия броуновской частицы (в нашем случае ее радиус). Все потери энергии связаны лишь только с поступательным движением броуновской частицы, но с несколько измененным радиусом.

Однако, помимо таких короткодействующих сил, возникающих при непосредственной коллизии заряженной частицы с молекулами растворителя, необходимо учитывать ион-дипольные и диполь-дипольные взаимодействия, которые приводят к изменению микровязкости раствора вблизи броуновской частицы, диэлектрической проницаемости среды и плотности растворителя (рис. 12).



**Рис. 12.** Природа диэлектрического трения. Сольватация броуновской частицы.

Данное обстоятельство позволяет говорить о дополнительной, помимо стоковской (22), диссипации энергии в виде диэлектрического трения. Тогда полный коэффициент трения имеет вид:

$$\zeta = \zeta_V + \zeta_D.$$

Наиболее полно данная теория была представлена в работе [159], согласно которой коэффициент диэлектрического трения выражается формулой:

$$\zeta_D = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q^2 (\epsilon - \epsilon_\infty) \tau_D}{2\epsilon (1 + 2\epsilon) R^4} \times \frac{\frac{\rho_0}{\rho} \delta + \left(\frac{R}{\sigma}\right)^4 \left[1 + 4\delta \left(\frac{\sigma}{R} - 1\right) - \left(\frac{4\sigma}{R} - 3\right) \frac{\rho_0}{\rho} \delta\right]}{1 + \delta \left(\frac{\sigma}{R} - 1\right)} \quad (23)$$

где  $q$  – заряд частицы,  $R$  – радиус,  $\epsilon$  – диэлектрическая проницаемость среды,  $\epsilon_\infty$  – высокочастотная диэлектрическая проницаемость (78.36 и 4.49 для воды при 298° K соответственно [160]),  $\tau_D$  – время релаксации (время Дебая,  $8.3 \cdot 10^{-12}$  с [161]). Если

положить, что у частицы будет всего одна гидратная оболочка, то  $\sigma = R + 2R_s$ , где  $R_s$  – эффективный радиус молекулы растворителя, а  $\delta$  – специфическая функция десольватации, которая определяется как

$$\delta = \frac{\eta_0 \rho}{\eta_{eff} \rho_0},$$

где

$$\eta_{eff} = \eta + \frac{\tau}{6m} \left[ \left( \frac{\rho}{\rho_0} \right)^2 - 1 \right] \left( \frac{\sigma}{R} - 1 \right) \left[ \sigma \frac{dU(r)}{dr} \right]_{r=\sigma}.$$

Здесь  $m$  – масса молекулы растворителя, а  $U(r)$  – усредненный по всем направлениям молекулы растворителя потенциал взаимодействия иона с раствором.

Как видно, данное точное описание требует знания большого числа дополнительных параметров, которые сложно определить. Однако ситуация существенно упрощается, когда мы рассматриваем приближение отсутствия сольватации, т.е.  $\delta \rightarrow 1$ . Переходя к пределу, получим упрощенное выражение для коэффициента диэлектрического трения:

$$\zeta_D = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{3q^2 (\epsilon - \epsilon_\infty) \tau_D}{4R^3 \epsilon^2}. \quad (24)$$

Для моновалентных ионов характерный радиус Онзагера [163]  $K \approx 1.5 \text{ \AA}$ , где

$$K = \sqrt[4]{\frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q^2 (\epsilon - \epsilon_\infty)}{16\pi\eta\epsilon^2}}.$$

В заключение отметим, что в настоящее время комбинированное использование методов молекулярной и броуновской динамики представляет собой наилучший подход к моделированию ионных каналов с известной атомной структурой [92]. МД моделирование позволяет определить локальный коэффициент диффузии ионов в канале. Данные значения затем используются в диффузионной модели БД с фиксированной пептидной структурой [164, 165]. Также методами МД удастся рассчитать полную 3-D карту потенциала средней силы (PMF) и использовать ее для броуновской динамики [90].

### Уравнение Пуассона–Нернста–Планка

Следующим упрощением моделируемой системы является замена точного расчета взаимодействий между ионами на некоторое среднее поле, усредненное по всем возможным положениям ионов в системе [92]. Таким образом, теперь в качестве однородной среды со своей диэлектрической проницаемостью будет выступать растворитель, белок и сами ионы [5]. Тогда, используя уравнение Пуассона [166], можно найти потенциал  $\Psi(\vec{r})$ , создаваемый данной системой в точке с радиус-вектором  $\vec{r}$ :

$$\delta\Psi(\vec{r}) = -\frac{\rho(\vec{r})}{\epsilon\epsilon_0}, \quad (25)$$

где  $\delta$  – лапласиан,  $\epsilon$  – диэлектрическая проницаемость среды,  $\rho(\vec{r})$  – плотность заряда в точке с радиус-вектором  $\vec{r}$ . Уравнение (25) – наиболее популярная теоретическая модель, используемая для описания электростатического поля вокруг заряженной биомолекулы в ионном растворе [5].

Далее положим, что атомная структура белка и его распределение заряда  $\rho_P(\vec{r})$  нам известно. Тогда, зная концентрации растворенных в воде ионов, можно найти плотность заряда  $\rho_S(\vec{r})$ :

$$\rho_S(\vec{r}) = e \sum_i z_i c_i(\vec{r}), \quad (26)$$

где  $c_i(\vec{r})$  и  $z_i$  – концентрация в точке  $\vec{r}$  и заряд в элементарных единицах  $i$ -ого типа иона соответственно,  $e$  – заряд электрона.

С учетом (26), а также принимая во внимание, что в общем случае  $\epsilon = \epsilon(\vec{r})$ , уравнение Пуассона (25) примет вид:

$$\vec{\nabla} \cdot [\epsilon(\vec{r}) \vec{\nabla} \Psi(\vec{r})] = -\frac{1}{\epsilon_0} \left( \rho_S(\vec{r}) + e \sum_i z_i c_i(\vec{r}) \right). \quad (27)$$

В случае нахождения системы в термодинамическом равновесии из равенства электрохимических потенциалов можно получить, что концентрации ионов подчиняются распределению Больцмана:

$$c_i(\vec{r}) = c_i^\infty \exp \frac{z_i e \Psi(\vec{r})}{k_B T}, \quad (28)$$

$c_i^\infty$  – концентрация  $i$ -ого типа иона в точке, где потенциал  $\Psi(\vec{r}) = 0$ ,  $k_B$  и  $T$  – константа Больцмана и температура системы соответственно.

Тогда из (27), согласно (28), получим уравнение Пуассона–Больцмана (ПБ) [167]:

$$\vec{\nabla} \cdot [\epsilon(\vec{r}) \vec{\nabla} \Psi(\vec{r})] = -\frac{1}{\epsilon_0} \left( \rho_S(\vec{r}) + e \sum_i z_i c_i^\infty \exp \frac{z_i e \Psi(\vec{r})}{k_B T} \lambda(\vec{r}) \right) \quad (29)$$

Здесь введен параметр  $\lambda(\vec{r})$ , описывающий «доступность» для ионов положения с радиус-вектором  $\vec{r}$ . Например, внутри биомакромолекулы  $\lambda = 0$  [5].

Решение уравнения (29) аналитически может быть получено для ряда частных случаев [168, 169]. Так, для бинарного электролита и малых потенциалов ( $< 25$  мВ) может быть получено уравнение двойного электрического слоя Гуи–Чепмена, описывающее изменение потенциала с расстоянием от поверхности твердой фазы вглубь раствора [170].

Так как уравнение (29) приводит к приближению среднего поля, пренебрегая неэлектростатическими ион-ионными взаимодействиями (Ван-дер-Ваальсовы, водо-индуцируемые [171, 172]), то его применение затруднено при описании электростатики сильно-заряженных молекул, таких как ДНК, в высококонцентрированных ионных растворах [173]. Однако для ионных каналов, для которых не характерны столь высокие плотности заряда, теория Пуассона–Больцмана находит широкое применение при расчете свободной энергии перехода иона из раствора в полость канала [174], характеристики ион-белковых взаимодействий [175, 176], вычислении распределения трансмембранного электростатического потенциала [177, 178] и определения стабильности протонированных и непротонированных состояний радикалов аминокислот в канале [179]. В силу широкой области применения теории Пуассона–Больцмана были разработаны специальные вычислительные алгоритмы для численного решения уравнения (29): APBS (Adaptive Poisson–Boltzmann Solver [180]), DelPhi [181].

Моделирование самих ионных токов требует рассмотрения системы в неравновесном состоянии. Для этого используют уравнение Нернста–Планка, применяемое для описания электродиффузионной теории транспорта. Предполагается, что ионные

потоки обусловлены свободной диффузией и миграцией в электрическом поле, создаваемом всей системой:

$$\vec{J}_i(\vec{r}, t) = -D_i(\vec{r}) \left[ \nabla c_i(\vec{r}, t) + \frac{c_i(\vec{r}, t)}{k_B T} \nabla W_i^{eff}(\vec{r}) \right], \quad (30)$$

где  $D_i$  и  $c_i$  — коэффициент диффузии и концентрация  $i$ -ого типа иона соответственно,  $W_i^{eff}$  — эффективный потенциал, состоящий из электростатического  $\Psi(\vec{r})$  и  $U_P(\vec{r})$  потенциалов, описывающих ион-ионные и белок-ионные взаимодействия [5], причем  $\Psi(\vec{r})$  рассчитывается по уравнению Пуассона без учета равновесного распределения концентраций (27). Совокупность уравнений (27) и (30) и представляет собой теорию Пуассона–Нернста–Планка (PNP).

За счет решения проблемы многочастичных взаимодействий аппроксимацией средним полем, использование подхода PNP к задаче моделирования ионных каналов [182] вычислительно менее затратно по сравнению с методами МД и БД. Как следствие такого подхода, модель PNP пренебрегает конечностью размера ионов, ион-ионными корреляциями и диэлектрическим откликом системы на ионное окружение [5], что приводит к значительным различиям в проводимости (до 50% [164]) при моделировании узких ионных пор методами БД и PNP [183, 184]. В последнее время уравнения PNP были адаптированы для учета размерных эффектов с использованием теории функционала плотности (DFT), для описания многочастичного взаимодействия модели твердых сфер между ионами и молекулами растворителя [185, 186]. Так же, как и в БД, игнорируются тепловые флуктуации липидного бислоя и пептида. Тем не менее, данная проблема может быть решена комбинированием методов МД, Монте–Карло с системой уравнений PNP [187].

### Методы квантовой химии

На протяжении развития химии было создано множество концепций эмпирических параметров: валентность, кратность связи, электроотрицательность, энергия ионизации, родство к электрону, химическая активность. С появлением квантовой механики они стали находить свое уточнение и переформулировку в виде тех или иных особенностей решения уравнения Шредингера. Попутно разрабатывались упрощенные подходы для понимания происходящего в атомах и молекулах на квантовом уровне: понятие атомной орбитали, гибридизация, связывающие и разрыхляющие молекулярные орбитали.

Теоретически, с написанием уравнения Шредингера в химии практически не осталось явлений, которые бы не могли бы быть объяснены его решением. Однако вычислительная сложность его аналитического решения слишком высока. Методы же численного решения уравнения совершенствовались, но на сегодняшний день точное аналитическое решение возможно лишь для самых простых систем. Однако применение определенных упрощений приводит к удовлетворительному описанию систем с большим числом атомов, вплоть до белковых систем. Речь идет о теории функционала плотности [188] (DFT), в которой преодолевается избыточность волновой функции, зависящей от координат всех электронов, и вводится понятие электронной плотности — скалярного поля, которое варьируется для минимизации энергии модельной системы, в том числе и вместе с координатами ядер для получения энергетически выгодной геометрии и электронной плотности. В разных вариантах DFT является одним из наиболее широко используемых методов вычислительной квантовой химии и применяется как для расчета отдельных молекул, так и для периодических систем в физике конденсированного состояния.

Аналогично методам Хартри–Фока, в DFT проводится антисимметризация волновой функции, однако в силу особого учета кинетической энергии трактовка полученных собственных значений, аналогичных энергиям и орбиталям Хартри, немного отличается.

Несмотря на успехи, имеются проблемы при описании межмолекулярных сил, а также трудности при расчете запрещенной зоны в полупроводниках. Важным фактом является и то, что на сегодняшний день невозможно оценить даже погрешность методов, не сравнивая полученные значения с результатами других экспериментов. Согласие с экспериментом критично для всех теорий, но тут речь именно об отсутствии возможности оценить априорную ошибку. Отдельной слабостью теории является поиск переходных состояний, в силу того, что теоретические допущения работают вблизи основного состояния, а переходное является седловой точкой между локальными минимумами.

В целом, с момента создания в 1970-х, теория, первоначально считавшаяся довольно неточной, к 1990-м достигла успеха в решении проблем с обменной и корреляционной энергией. Одним из корней проблем, несмотря на абсолютную теоретическую точность обменно-корреляционного функционала, является его заведомая сложность и чудовищная неаналитичность, ставящая под вопрос все текущие его аналитические параметризации с множеством поправок.

В рамках теории конденсированного состояния DFT применяется успешно в локальном приближении, в базисе плоских волн. Делокализованные электроны обеспечивают применимость такого подхода. Множество программ работает в базисе плоских волн, включая коммерческий CASTEP, открытые ABINIT, Quantum ESPRESSO, а также пакеты с академической лицензией CPMD [189].

Для непериодических систем и органических молекул применяются базисы атомных орбиталей, как численные, так и аналитические гауссовы. Реализованы в пакетах PC GAMESS, GAUSSIAN, SIESTA [190], HyperChem [191] и многих других. Для описания возбужденных состояний разрабатывается временно-зависимая теория функционала плотности, TDDFT, реализованная в программе OCTOPUS [192].

## Основы DFT

Приближение неподвижных ядер (приближение Борна–Оппенгеймера) является отправной точкой. Его обоснованием служит разница масс электрона и нуклона, которая позволяет считать, что электронное облако, обладая намного меньшей инерцией, успевает подстраиваться под движение ядер. Точность такого приближения составляет порядка 1%.

Концептуальный предшественник DFT – модель Томаса–Ферми, рассчитавших в приближении Борна–Оппенгеймера энергию атома как сумму его кинетической и потенциальных энергий взаимодействия электронов с ядром и друг с другом, впервые используя выражение для энергии в виде функционала электронной плотности:

$$E_{TF}[\rho(\vec{r})] = \frac{3}{10}(3\pi^2)^{2/3} \int \rho^{5/3}(\vec{r}) d\vec{r} - Z \int \frac{\rho(\vec{r})}{r} d\vec{r} + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r}_1)\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2. \quad (31)$$

Недостатки модели Томаса–Ферми устранены с развитием DFT, под концепцию электронной плотности подведен теоретический базис, сформулированный на основании вариационного принципа в виде двух теорем Хоэнберга–Кона.

Оператор энергии  $\hat{H}$  системы  $N$  частиц позволяет определить значение энергии в любом состоянии  $\Psi_N$ :

$$E[\Psi_N] = \langle \Psi_N | \hat{H} | \Psi_N \rangle. \quad (32)$$

Заметим, что  $N$  входит в косвенном виде не только в  $\Psi_N$ , но и в  $\hat{H}$  в виде предела суммирования. Однако волновая функция основного состояния электронов в любом внешнем потенциале такова, что любая другая функция даст лишь большее значение энергии системы

$$E_0 = \min E[\Psi_N].$$

Тут речь идет о невырожденных состояниях, что является почти всегда уместным, так как вырождение можно снять сколь угодно малой добавкой асимметрии.

Оператор  $\hat{H}$  содержит три слагаемых:  $\hat{T}$  — оператор кинетической энергии,  $\hat{V}_{ext}$  — оператор потенциальной энергии набора частиц во внешнем потенциале, и  $\hat{U}$  — оператор взаимодействия электронов друг с другом. Именно из-за того, что в  $\hat{U}$  переменные разных частиц не разделены, систему нельзя свести к одночастичным уравнениям.

Первая теорема Хоэнберга—Кона гласит, что внешний потенциал, определенный с точностью до константы,  $\hat{V}_{ext}$ , является функционалом электронной плотности основного состояния. Вывод часто формулируется как: энергия основного состояния является функционалом электронной плотности основного состояния. Однако ясно, что вывод следует гораздо шире. Внешний потенциал определяет гамильтониан целиком, со всеми возбужденными состояниями. Поэтому на самом деле энергетический спектр целиком является функционалом электронной плотности основного состояния, а не только энергия основного состояния.

Так как для каждой плотности стоящей за ней волновой функции можно сопоставить кинетическую, потенциальную во внешнем поле и потенциальную энергию взаимодействия, то и в итоговом функционале можно выделить три части:

$$E_0[\rho_0] = T_0[\rho_0] + V_0[\rho_0] + U_0[\rho_0]. \quad (33)$$

Принято говорить, что в таком разбиении информация о конкретной системе находится лишь в  $V_0$ . При этом  $T_0[\rho_0]$  и  $U_0[\rho_0]$  — универсальные функционалы, на зависящие явно от конкретной системы — данная зависимость находится уже в самой плотности основного состояния. Последние два принято выделять в т.н. функционал Хоэнберга—Кона (34), позволяющий определить внешний потенциал и все параметры системы, в т.ч. энергию основного состояния, за вычетом электростатической во внешнем потенциале:

$$F_{HK}[\rho_0] = T_0[\rho_0] + U_0[\rho_0]. \quad (34)$$

Подобным же образом из функционала энергии взаимодействия отнимается классическая кулоновская часть, явно зависящая от плотности и представляющая собой обычную энергию облака заряда, а то, что осталось, объявляется (35) неклассическим вкладом:

$$U_0[\rho_0] = \int \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{2} + E_{non-classical}[\rho]. \quad (35)$$

Вторая теорема Хоэнберга—Кона гласит [193], что для любой другой плотности, тоже являющейся чьим-то основным состоянием, энергия, как функционал, будет больше:

$$E_0[\rho_0] \leq E_0[\tilde{\rho}].$$

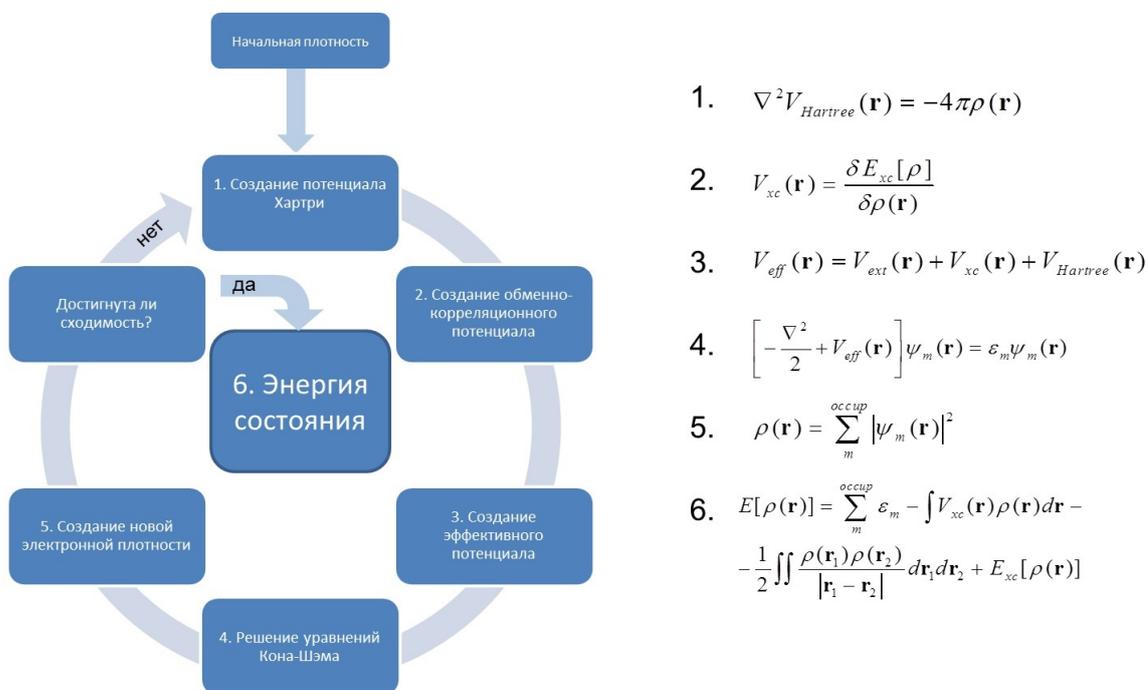
Теоремы Хоэнберга—Кона являются теоретической основой, и не дают конкретных практических методов нахождения энергии по заданной плотности. Вообще электронная плотность без таких строгих обоснований уже использовалась ещё в модели Томаса—Ферми. Эта модель знаменита тем, что предсказывала отсутствие какой бы

то ни было химической связи. Дирак уточнил модель, но отсутствие химической связи продолжало быть досадной проблемой.

В рамках DFT, строго говоря, отсутствует понятие волновой функции. Теоретически, используя процедуру ограниченного поиска Levy, можно для электронной плотности основного состояния найти искомую волновую функцию. Но это мало связано с реальной практикой, так как требует перебора всех возможных волновых функций для данной электронной плотности, причем при условии, что найденная плотность отвечает основному состоянию. Также существенным отличием DFT от других теорий, использующих вариационный принцип, является и то, что в отличие от последних, меньшее значение энергии не является показателем большей близости к истинному значению.

Кон и Шэм показали, как теоремы Хоэнберга–Кона могут быть применены на практике. Основным моментом стало осознание того, что главные проблемы модели Томаса–Ферми (а также уточненной Дираком модели) было неточное определение кинетической энергии. Метод Хартри–Фока в этом плане имеет преимущество. Взяв его за основу, Кон и Шэм ввели вспомогательную воображаемую систему из невзаимодействующих электронов. Кинетическая энергия такой системы может быть рассчитана с хорошей точностью.

Ниже (рис. 13) схематично представлена общая процедура метода DFT.



1.  $\nabla^2 V_{Hartree}(\mathbf{r}) = -4\pi\rho(\mathbf{r})$
2.  $V_{xc}(\mathbf{r}) = \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta\rho(\mathbf{r})}$
3.  $V_{eff}(\mathbf{r}) = V_{ext}(\mathbf{r}) + V_{xc}(\mathbf{r}) + V_{Hartree}(\mathbf{r})$
4.  $\left[-\frac{\nabla^2}{2} + V_{eff}(\mathbf{r})\right]\psi_m(\mathbf{r}) = \varepsilon_m\psi_m(\mathbf{r})$
5.  $\rho(\mathbf{r}) = \sum_m^{occ up} |\psi_m(\mathbf{r})|^2$
6.  $E[\rho(\mathbf{r})] = \sum_m^{occ up} \varepsilon_m - \int V_{xc}(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r})d\mathbf{r} - \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\mathbf{r}_1)\rho(\mathbf{r}_2)}{|\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2|} d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 + E_{xc}[\rho(\mathbf{r})]$

Рис. 13. Схематичное представление общей процедуры метода DFT.

### Полуэмпирические методы

Несмотря на большую точность ab initio методов квантовой химии, они редко применяются для моделирования систем, состоящих более чем из 10 атомов, в силу большой вычислительной трудности (время расчета зависит от числа атомных орбиталей и растет как  $n_a^4$ ) [194]. Поэтому вместе с развитием неэмпирических методов решения уравнения Шредингера отдельное внимание уделялось полуэмпирическим подходам, призванным расширить применение методов квантовой химии на реальные

прикладные задачи — оценка теплот образования, геометрическая оптимизация макромолекул, распределение электростатического потенциала и др.

Это становится возможным благодаря численной оценке некоторых электронных интегралов и интегралов перекрытия на основе существующих экспериментальных данных, что увеличивает скорость расчета на несколько порядков, а использование валентного приближения приводит к зависимости только от числа валентных орбиталей ( $\sim n_v^3$ ).

К настоящему моменту создано большое число полуэмпирических методов, решающих задачи для систем, состоящих более чем из 200 атомов. Однако успех применения данных подходов зависит от конкретного понимания заложенных в них физико-химических основ упрощений и схем параметризаций, что существенно сужает круг решаемых задач и требует четкого знания специфики конкретного метода [195].

Рассмотрим существующие полуэмпирические методы более подробно [194].

- **CNDO (Complete Neglect of Differential Overlap)**. Один из первых полуэмпирических методов [196], позволивший изучать органические соединения. На данном методе основаны все дальнейшие подходы полуэмпирических методов. В его основе лежат приближение линейной комбинации локальных орбиталей (ЛКАО) [197] и предположение о необходимости учета только валентных электронов (валентное приближение). По сравнению с другими полуэмпирическими методами, CNDO имеет большую скорость расчета, что обосновывает его применение в настоящее время для больших систем для вычислений дипольных моментов, оптимальной геометрии и распределения электронной плотности [194]. Из недостатков надо отметить неудовлетворительную оценку потенциалов ионизации и теплот образования [194].
- **INDO (Intermediate Neglect of Differential Overlap)**. Модификация CNDO, отказывающаяся от приближения нулевого дифференциального перекрытия [198] (NDO). Данное обстоятельство позволяет применять метод INDO для расчета молекул в возбужденном состоянии, но сохраняет все недостатки CNDO.
- **MINDO (Modified INDO)**. В ней не вводятся дополнительных приближений [199], меняется только схема параметризации [194]. Известны 3 основные модификации данного метода, наиболее распространенным в настоящее время является MINDO/3, позволяющий рассчитать основные параметры макромолекул. Однако расчет водородных связей является одним из существенных недостатков метода.
- **PM3 (Parameter Model 3)**. Наиболее точный и быстрый полуэмпирический метод в квантовой химии, что обеспечило ему наибольшую популярность в широком диапазоне решаемых задач [200]. Основан на методе MNDO, в котором реализовано приближение двухатомного дифференциального перекрытия (NDDO). Наиболее предпочтительный метод при расчете распределения заряда, а так же полярных свойств макромолекул. В настоящее время продолжается активное развитие данной модели: в PM6 были оптимизированы параметры для расчета актиноидов и лантаноидов [201], а PM7 более заточен на органические соединения [202].

### Особенности для моделирования ионной проводимости

Ab initio моделирование таких сложных систем, как ионные каналы, представляет собой задачу на порядок более сложную. Незнание точных параметров тех или иных

функциональных групп, особенно включающих атомы металлов, может оказаться существенным недостатком модели, если эти группы играют ключевую роль во взаимодействии с ионами. Также точный учет электрохимических параметров растворителя может оказаться существенным для успеха/неудачи модели. Существующие дисперсионные взаимодействия в органических системах имеют равноправный порядок с другими типами взаимодействий, но поддаются моделированию *ab initio* намного сложнее. Приближение локальной плотности плохо описывает водородные связи, во многом определяющие свойства органических молекул.

Расчеты биологических систем фокусируются в основном на методах молекулярной динамики и эмпирических механистических параметров связей в органических молекулах. Разумеется, модели DFT постоянно согласовываются и уточняются как с экспериментальными данными, так и с расчетами моделей молекулярной динамики. Важно, что в таких случаях речь идет о больших временных интервалах, нежели может покрыться методами молекулярной динамики *ab initio*, поэтому упрощения неизбежны.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совершенно очевидно, что в ближайшие годы методы моделирования таких больших биологических макросистем, как ионные каналы, а также самого процесса ионного транспорта, будут развиваться в сторону интеграции различных подходов к численному моделированию. Надо отметить, что подобные работы по объединению методов QM/ММ, молекулярной и броуновской динамики активно ведутся в последнее время. Данная тенденция подтверждается и вручением Майклу Левитту, Мартину Карплусу и Ариэ Виршелю Нобелевской премии 2013 года по химии «За создание многоуровневых моделей сложных химических систем». Именно в данном русле представляется возможным рассмотреть процесс ионного переноса через мембрану с точки зрения не только отдельного белка, но и всей клетки в целом, что существенно расширит не только знание о сопряженных биофизических процессах в организме, но и откроет возможность создания узкоспециализированных лекарственных форм. Поэтому разработка подобной методологии — одна из важнейших задач биофизики на ближайшее время.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Leuchtag H.R. *Voltage-Sensitive Ion Channels: Biophysics of Molecular Excitability*. Springer, 2008. 545 p.
2. Leuchtag H.R., Bystrov V.S. Theoretical models of conformational transitions and ion conduction in voltage-dependent ion channels: bioferroelectricity and superionic conduction. *Ferroelectrics*. 1999. V. 220. N. 1. P. 157–204.
3. Gennis R.B. *Biomembranes*. Springer, 1989. 553 p.
4. Sperelakis N. *Cell Physiology Source Book*. Elsevier Science, 2001. 996 p.
5. Maffeo C., Bhattacharya S., Yoo J., Wells D., Aksimentiev A. Modeling and simulation of ion channels. *Chemical Reviews*. 2012. V. 112. N. 12. P. 6250–6284.
6. Lines M.E., Glass A.M. *Principles and Applications of Ferroelectrics and Related Materials*. Oxford University Press, 1977. 680 p.
7. Smolenskiy G. *Ferroelectrics and Related Materials. Ferroelectricity and Related Phenomena*. Gordon and Breach Science Publishers, 1984. 770 p.
8. Leuchtag H.R. Fit of the dielectric anomaly of squid axon membrane near heat-block temperature to the ferroelectric Curie–Weiss law. *Biophysical Chemistry*. 1995. V. 53. N. 3. P. 197–205.
9. Bystrov V.S. Ferroelectric liquid crystal models of ion channels and gating phenomena

- in biological membranes. *Ferroelectrics Letters Section*. 1997. V. 23. N. 3-4. P. 87–93.
10. Bystrov V.S., Leuchtag H.R. Bioferroelectricity: Modeling the transitions of the sodium channel. *Ferroelectrics*. 1994. V. 155. N. 1. P. 19–24.
  11. Leuchtag H., Bystrov V. Ferroelectricity in liquid crystals, films, microtubules and voltage-gated ion channels. *Biophysical Journal*. 1999. V. 76. N. 1. P. A330–A330.
  12. Hille B. *Ion Channels of Excitable Membranes*. Sinauer Sunderland, 2001. 814 p.
  13. North R.A. *Ligand and Voltage Gated Ion Channels*. CRC Press, 1995. 365 p.
  14. Peracchia C. *Handbook of Membrane Channels: Molecular and Cellular Physiology*. Academic Press, 1994. 591 p.
  15. Jan L.Y., Jan Y.N. Voltage-sensitive ion channels. *Cell*. 1989. V. 56. N. 1. P. 13–25.
  16. Eisenman G., Dani J. An introduction to molecular architecture and permeability of ion channels. *Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry*. 1987. V. 16. N. 1. P. 205–226.
  17. Stevens C.F. Sodium channel structure-function relations. *Society of General Physiologists Series*. 1986. V. 41. P. 99–108.
  18. Coste B., Xiao B., Santos J.S., Syeda R., Grandl J., Spencer K.S., Kim S.E., Schmidt M., Mathur J., Dubin A.E., et al. Piezo proteins are pore-forming subunits of mechanically activated channels. *Nature*. 2012. V. 483. N. 7388. P. 176–181.
  19. Kim S.E., Coste B., Chadha A., Cook B., Patapoutian A. The role of Drosophila Piezo in mechanical nociception. *Nature*. 2012. V. 483. N. 7388. P. 209–212.
  20. Hucho F., Weise C. Ligand gated ion channels. *Angewandte Chemie International Edition*. 2001. V. 40. N. 17. P. 3100–3116.
  21. Peyrard M. *Nonlinear Excitations in Biomolecules*. Springer, 1995. 426 p.
  22. Leuchtag H.R. Indications of the existence of ferroelectric units in excitable-membrane channels. *Journal of Theoretical Biology*. 1987. V. 127. N. 3. P. 321–340.
  23. Leuchtag H.R. Phase transitions and ion currents in a model ferroelectric channel unit. *Journal of Theoretical Biology*. 1987. V. 127. N. 3. P. 341–359.
  24. Bystrov V.S., Lakhno V.D., Molchanov A.M. Ferroelectric active models of ion channels in biomembranes. *Journal of Theoretical Biology*. 1994. V. 168. N. 4. P. 383–393.
  25. Gordon A., Vugmeister B., Rabitz H., Dorfman S., Felsteiner J., Wyder P. A ferroelectric model for the generation and propagation of an action potential and its magnetic field stimulation. *Ferroelectrics*. 1999. V. 220. N. 1. P. 291–304.
  26. Bystrov V.S., Bdikin I.K., Heredia A., Pullar R.C., Mishina E.D., Sigov A.S., Kholkin A.L. Piezoelectricity and ferroelectricity in biomaterials: from proteins to self-assembled peptide nanotubes. In: *Piezoelectric Nanomaterials for Biomedical Applications Nanomedicine and Nanotoxicology*. Springer, 2012. P. 187–211.
  27. Gruverman A., Rodriguez B.J., Kalinin S.V. Electromechanical behavior in biological systems at the nanoscale. In: *Scanning Probe Microscopy. Electrical and Electromechanical Phenomena at the Nanoscale*. Eds. Kalinin S.V., Gruverman A. Springer, 2007. P. 615–633.
  28. Liu Y., Zhang Y., Chow M.J., Chen Q.N., Li J. Biological ferroelectricity uncovered in aortic walls by piezoresponse force microscopy. *Physical Review Letters*. 2012. V. 108. N. 7. P. 078103.
  29. Kalinin S.V., Gruverman A. *Scanning Probe Microscopy*. Springer, 2007. 1024 p.
  30. Kalinin S.V., Rodriguez B.J., Shin J., Jesse S., Grichko V., Thundat T., Baddorf A.P., Gruverman A. Bioelectromechanical imaging by scanning probe microscopy:

- Galvani's experiment at the nanoscale. *Ultramicroscopy*. 2006. V. 106. N. 4. P. 334–340.
31. Kalinin S.V., Jesse S., Rodriguez B.J., Seal K., Baddorf A.P., Zhao T., Chu Y., Ramesh R., Eliseev E.A., Morozovska A.N., et al. Recent advances in electromechanical imaging on the nanometer scale: Polarization dynamics in ferroelectrics, biopolymers, and liquid imaging. *Japanese Journal of Applied Physics*. 2007. V. 46. P. 5674–5685.
  32. Znamenskiy V.S., Green M.E. Quantum calculations on hydrogen bonds in certain water clusters show cooperative effects. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2007. V. 3. N. 1. P. 103–114.
  33. Riahi S., Roux B., Rowley C.N. QM/MM molecular dynamics simulations of the hydration of Mg (II) and Zn (II) ions. *Canadian Journal of Chemistry*. 2013. V. 91. N. 7. P. 552–558.
  34. Быстров В.С. *Компьютерное моделирование молекулярных структур. Биосегнетоэлектричество: пептидные нанотрубки*. Lambert Academic Publishing, 2013. 124 с.
  35. Kariev A.M., Green M.E. Quantum calculations on potassium channel selectivity and gating. *Biophysical Journal*. 2009. V. 96. N. 3. P. 192a.
  36. Bucher D., Rothlisberger U., Guidoni L., Carloni P. QM/MM Car-Parrinello molecular dynamics study of selectivity in a potassium channel. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*. V. 228. P. 309.
  37. Papazian D.M., Shao X.M., Seoh S.A., Mock A.F., Huang Y., Wainstock D.H. Electrostatic interactions of S4 voltage sensor in shaker K<sup>+</sup> channel. *Neuron*. 1995. V. 14. N. 6. P. 1293–1301.
  38. Sapronova A., Bystrov V., Green M.E. Ion channel gating and proton transport. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*. 2003. V. 630. N. 1. P. 297–307.
  39. Sapronova A., Bystrov V.S., Green M.E. Water, proton transfer, and hydrogen bonding in ion channel gating. *Frontiers in Bioscience*. 2003. V. 8. P. 1356–1370.
  40. Green M.E. A possible role for phosphate in complexing the arginines of S4 in voltage gated channels. *Journal of Theoretical Biology*. 2005. V. 233. N. 3. P. 337–341.
  41. Pradhan P., Ghose R., Green M.E. Voltage gating and anions, especially phosphate: a model system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2005. V. 1717. N. 2. P. 97–103.
  42. Yu W., Lopes P.E., Roux B., MacKerell A.D. Six-site polarizable model of water based on the classical Drude oscillator. *The Journal of Chemical Physics*. 2013. V. 138.
  43. Whitfield T.W., Varma S., Harder E., Lamoureux G., Rempe S.B., Roux B. Theoretical study of aqueous solvation of K<sup>+</sup> comparing ab initio, polarizable, and fixed-charge models. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2007. V. 3. N. 6. P. 2068–2082.
  44. Chowdhary J., Harder E., Lopes P.E., Huang L., MacKerell Jr A.D., Roux B. A polarizable force field of dipalmitoylphosphatidylcholine based on the classical drude model for molecular dynamics simulations of lipids. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2013. V. 117. N. 31. P. 9142–9160.
  45. Yigzawe T.M., Sadus R.J. Thermodynamic properties of liquid water from a polarizable intermolecular potential. *The Journal of Chemical Physics*. 2013. V. 138. P. 044503.
  46. Hodgkin A., Katz B. The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *The Journal of Physiology*. 1949. V. 108. N. 1. P. 37–77.
  47. Hodgkin A., Huxley A. The components of membrane conductance in the giant axon of Loligo. *The Journal of Physiology*. 1952. V. 116. N. 4. P. 473–496.
  48. Cole K., Moore J. Ionic current measurements in the squid giant axon membrane. *The*

- Journal of General Physiology*. 1960. V. 44. N. 1. P. 123–167.
49. Cole K., Moore J. Potassium ion current in the squid giant axon: dynamic characteristic. *Biophysical Journal*. 1960. V. 1. N. 1. P. 1–14.
  50. Антонов В.Ф., Черныш А.М., Пасечник В.И., Вознесенский С.А., Козлова Е.К. *Биофизика*. Владос, 2003. 228 с.
  51. Ogden D. *Microelectrode Techniques: the Plymouth Workshop Handbook*. Cambridge, UK: Company of Biologists, 1994. 448 p.
  52. Purves D. *Neuroscience*. Sinauer Associates, 2012. 759 p.
  53. Walz W. *Patch-Clamp Analysis: Advanced Techniques*. Neuromethods Series. Humana Press, 2007. 475 p.
  54. Brennecke R., Lindemann B. Theory of a membrane-voltage clamp with discontinuous feedback through a pulsed current clamp. *Review of Scientific Instruments*. 1974. V. 45. N. 2. P. 184–188.
  55. Wilson W., Goldner M. Voltage clamping with a single microelectrode. *Journal of Neurobiology*. 1975. V. 6. N. 4. P. 411–422.
  56. Molleman A. *Patch Clamping: An Introductory Guide to Patch Clamp Electrophysiology*. Wiley, 2002. 186 p.
  57. Smith T.G., Lecar H., Redman S.J., Gage P.W. *Voltage and Patch Clamping With Microelectrodes*. American Physiological Society Washington, 1985. 260 p.
  58. Hamill O., Marty A., Neher E., Sakmann B., Sigworth F. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflugers Archiv*. 1981. V. 391. N. 2. P. 85–100.
  59. Windhorst U., Johansson H. *Modern Techniques in Neuroscience Research: 33 Tables*. Springer, 1999. 1325 p.
  60. Penner R. A practical guide to patch clamping. In: *Single Channel Recording*, Eds. Sakmann B., Neher E. Springer, 1995. P. 3–30.
  61. Zhao Y., Inayat S., Dikin D., Singer J., Ruoff R., Troy J. Patch clamp technique: Review of the current state of the art and potential contributions from nanoengineering. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part N: Journal of Nanoengineering and Nanosystems*. 2008. V. 222. N. 1. P. 1–11.
  62. Fertig N., Blick R.H., Behrends J.C. Whole cell patch clamp recording performed on a planar glass chip. *Biophysical Journal*. 2002. V. 82. N. 6. P. 3056–3062.
  63. Horn R., Marty A. Muscarinic activation of ionic currents measured by a new whole-cell recording method. *The Journal of General Physiology*. 1988. V. 92. N. 2. P. 145–159.
  64. Korn S., Horn R. Influence of sodium-calcium exchange on calcium current rundown and the duration of calcium-dependent chloride currents in pituitary cells, studied with whole cell and perforated patch recording. *The Journal of General Physiology*. 1989. V. 94. N. 5. P. 789–812.
  65. Chad J., Kalman D., Armstrong D. The role of cyclic AMP-dependent phosphorylation in the maintenance and modulation of voltage-activated calcium channels. *Society of General Physiologists Series*. 1987. V. 42. p. 167.
  66. Becq F. Ionic channel rundown in excised membrane patches. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes*. 1996. V. 1286. N. 1. P. 53–63.
  67. Tang X.D., Hoshi T. Rundown of the hyperpolarization-activated KAT1 channel involves slowing of the opening transitions regulated by phosphorylation. *Biophysical journal*. 1999. V. 76. N. 6. P. 3089–3098.
  68. Belles B., Hescheler J., Trautwein W., Blomgren K., Karlsson J. A possible physiological role of the Ca-dependent protease calpain and its inhibitor calpastatin

- on the Ca current in guinea pig myocytes. *Pflügers Archiv*. 1988. V. 412. N. 5. P. 554–556.
69. Belles B., Malecot C., Hescheler J., Trautwein W. “Run-down” of the Ca current during long whole-cell recordings in guinea pig heart cells: role of phosphorylation and intracellular calcium. *Pflügers Archiv*. 1988. V. 411. N. 4. P. 353–360.
  70. Bezanilla F., Caputo C., DiPolo R., Rojas H. Potassium conductance of the squid giant axon is modulated by ATP. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1986. V. 83. N. 8. P. 2743–2745.
  71. Fernandez J., Fox A., Krasne S. Membrane patches and whole-cell membranes: a comparison of electrical properties in rat clonal pituitary (GH3) cells. *The Journal of Physiology*. 1984. V. 356. N. 1. P. 565–585.
  72. Cepeda C., Colwell C.S., Itri J.N., Chandler S.H., Levine M.S. Dopaminergic modulation of NMDA-induced whole cell currents in neostriatal neurons in slices: contribution of calcium conductances. *Journal of Neurophysiology*. 1998. V. 79. N. 1. P. 82–94.
  73. Horn R., Korn S.J. Prevention of rundown in electrophysiological recording. *Methods in Enzymology*. 1992. V. 207. P. 149–155.
  74. Armstrong D., Eckert R. Voltage-activated calcium channels that must be phosphorylated to respond to membrane depolarization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1987. V. 84. N. 8. P. 2518–2522.
  75. Marty A., Neher E. Tight-seal whole-cell recording. In: *Single Channel Recording*, Eds. Sakmann B., Neher E. Springer. 1995. P. 31–52.
  76. Boulton A., Baker G., Walz W. *Patch-Clamp Applications and Protocols*. Humana Press Incorporated, 1995. 316 p.
  77. Rae J., Cooper K., Gates P., Watsky M. Low access resistance perforated patch recordings using amphotericin B. *Journal of Neuroscience Methods*. 1991. V. 37. N. 1. P. 15–26.
  78. Korn S., Marty A., Connor J., Horn R. Perforated patch recording. *Methods Neuroscience*. 1991. V.4. N. 26. P. 264–273.
  79. De Kruijff B., Demel R. Polyene antibiotic-sterol interactions in membranes of *Acholeplasma laidlawii* cells and lecithin liposomes. III. Molecular structure of the polyene antibiotic-cholesterol complexes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 1974. V. 339. N. 1. P. 57–70.
  80. Akaike N., Harata N. Nystatin perforated patch recording and its applications to analyses of intracellular mechanisms. *The Japanese Journal of Physiology*. 1994. V. 44. N. 5. P. 433–473.
  81. Zeidler U., Barth C., Stark G. Radiation-induced and free radical-mediated inactivation of ion channels formed by the polyene antibiotic Amphotericin B in lipid membranes: effect of radical scavengers and single-channel analysis. *International Journal of Radiation Biology*. 1995. V. 67. N. 2. P. 127–134.
  82. Kyrozis A., Reichling D.B. Perforated-patch recording with gramicidin avoids artifactual changes in intracellular chloride concentration. *Journal of Neuroscience Methods*. 1995. V. 57. N. 1. P. 27–35.
  83. Hladky S., Haydon D. Ion movements in gramicidin channels. *Current Topics in Membranes and Transport*. 1984. V. 21. P. 327–372.
  84. Fan J.S., Palade P. Perforated patch recording with  $\beta$ -escin. *Pflügers Archiv*. 1998. V. 436. N. 6. P. 1021–1023.
  85. Launikonis B.S., Stephenson D.G. Effects of  $\beta$ -escin and saponin on the transverse-tubular system and sarcoplasmic reticulum membranes of rat and toad

- skeletal muscle. *Pflügers Archiv*. 1999. V. 437. N. 6. P. 955–965.
86. Ishibashi H., Moorhouse A.J., Nabekura J. Perforated whole-cell patch-clamp technique: a user's guide. In: *Patch Clamp Techniques. Springer Protocols Handbooks*, Ed. Okada Y. Springer. 2012. P. 71–83.
  87. Gao J., Truhlar D.G. Quantum mechanical methods for enzyme kinetics. *Annual Review of Physical Chemistry*. 2002. V. 53. N. 1. P. 467–505.
  88. Kamerlin S.C., Vicatos S., Dryga A., Warshel A. Coarse-grained (multiscale) simulations in studies of biophysical and chemical systems. *Annual Review of Physical Chemistry*. 2011. V. 62. P. 41–64.
  89. Modi N., Winterhalter M., Kleinekathöfer U. Computational modeling of ion transport through nanopores. *Nanoscale*. 2012. V. 4. N. 20. P. 6166–6180.
  90. Comer J., Aksimentiev A. Predicting the DNA sequence dependence of nanopore ion current using atomic-resolution Brownian dynamics. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2012. V. 116. N. 5. P. 3376–3393.
  91. Carr R., Comer J., Ginsberg M.D., Aksimentiev A. Atoms-to-microns model for small solute transport through sticky nanochannels. *Lab on a Chip*. 2011. V. 11. N. 22. P. 3766–3773.
  92. Levitt D.G. Modeling of ion channels. *The Journal of General Physiology*. 1999. V. 113. N. 6. P. 789–794.
  93. Mackay D., Berens P., Wilson K., Hagler A. Structure and dynamics of ion transport through gramicidin A. *Biophysical Journal*. 1984. V. 46. N. 2. P. 229–248.
  94. Kreusch A., Schulz G.E. Refined structure of the porin from *Rhodospseudomonas Blastica*: comparison with the porin from *Rhodobacter Capsulatus*. *Journal of Molecular Biology*. 1994. V. 243. N. 5. P. 891–905.
  95. Schirmer T. General and specific porins from bacterial outer membranes. *Journal of Structural Biology*. 1998. V. 121. N. 2. P. 101–109.
  96. Chang G., Spencer R.H., Lee A.T., Barclay M.T., Rees D.C. Structure of the MscL homolog from *Mycobacterium tuberculosis*: a gated mechanosensitive ion channel. *Science*. 1998. V. 282. N. 5397. P. 2220–2226.
  97. Doyle D.A., Cabral J.M., Pfuetzner R.A., Kuo A., Gulbis J.M., Cohen S.L., Chait B.T., MacKinnon R. The structure of the potassium channel: molecular basis of K<sup>+</sup> conduction and selectivity. *Science*. 1998. V. 280. N. 5360. P. 69–77.
  98. Zhou Y., Morais-Cabral J.H., Kaufman A., MacKinnon R. Chemistry of ion coordination and hydration revealed by a K<sup>+</sup> channel–Fab complex at 2.0 Å resolution. *Nature*. 2001. V. 414. N. 6859. P. 43–48.
  99. *International Workshop: Molecular Simulation Studies in Material and Biological Sciences*, Ed. Kholmurodov K. Nova Science Publishers, 2007. 187 p.
  100. Allen M.P., Tildesley D.J. *Computer Simulation of Liquids*. Oxford University Press, 1989. 385 p.
  101. Kholmogorov K.T., Altaisky M.V., Puzynin I.V., Darden T., Filatov F.P. Molecular dynamics methods for simulation of physical and biological processes. *Physics of Elementary Particles and Atomic Nuclei*. 2003. V. 34. N. 2.
  102. Шайтан Қ.В., Терешкина К.Б. *Молекулярная динамика белков и пептидов*. Ойкос, 2004. 245 с.
  103. Полторак О.М. *Термодинамика в физической химии*. Высшая школа, 1991. 319 с.
  104. Никольский Б.П. *Физическая химия. Теоретическое и практическое руководство*. Химия, 1987. 880 с.
  105. Koneshan S., Rasaiah J. Computer simulation studies of aqueous sodium chloride

- solutions at 298° K and 683° K. *The Journal of Chemical Physics*. 2000. V. 113. N. 18. P. 8125–8137.
106. Uchida H., Matsuoka M. Molecular dynamics simulation of solution structure and dynamics of aqueous sodium chloride solutions from dilute to supersaturated concentration. *Fluid Phase Equilibria*. 2004. V. 219. N. 1. P. 49– 54.
  107. Koneshan S., Rasaiah J.C., Lynden-Bell R., Lee S. Solvent structure, dynamics, and ion mobility in aqueous solutions at 25° C. *The Journal of Physical Chemistry B*. 1998. V. 102. N. 21. P. 4193–4204.
  108. Каплан И.Г. *Введение в теорию межмолекулярных взаимодействий*. Наука, 1982. 312 с.
  109. Verlet L. Computer "experiments" on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules. *Physical Review*. 1967. V. 159. N. 1. P. 98.
  110. MacKerell A.D., Bashford D., Bellott M., Dunbrack R., Evanseck J., Field M.J., Fischer S., Gao J., Guo H., Ha S.a., et al. All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins. *The Journal of Physical Chemistry B*. 1998. V. 102. N. 18. P. 3586–3616.
  111. Kaminski G.A., Friesner R.A., Tirado-Rives J., Jorgensen W.L. Evaluation and reparametrization of the OPLS-AA force field for proteins via comparison with accurate quantum chemical calculations on peptides. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2001. V. 105. N. 28. P. 6474–6487.
  112. Jorgensen W.L., Maxwell D.S., Tirado-Rives J. Development and testing of the OPLS AA force field on conformational energetics and properties of organic liquids. *Journal of the American Chemical Society*. 1996. V. 118. N. 45. P. 11225–11236.
  113. Cornell W.D., Cieplak P., Bayly C.I., Gould I.R., Merz K.M., Ferguson D.M., Spellmeyer D.C., Fox T., Caldwell J.W., Kollman P.A. A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *Journal of the American Chemical Society*. 1995. V. 117. N. 19. P. 5179–5197.
  114. Riniker S., Christ C.D., Hansen H.S., Hunenberger P.H., Oostenbrink C., Steiner D., van Gunsteren W.F. Calculation of relative free energies for ligand-protein binding, solvation, and conformational transitions using the GROMOS software. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2011. V. 115. N. 46. P. 13570–13577.
  115. Hermans J., Berendsen H.J., Van Gunsteren W.F., Postma J.P. A consistent empirical potential for water–protein interactions. *Biopolymers*. 1984. V. 23. N. 8. P. 1513–1518.
  116. Klauda J.B., Venable R.M., Freites J.A., O'Connor J.W., Tobias D.J., Mondragon-Ramirez C., Vorobyov I., MacKerell Jr A.D., Pastor R.W. Update of the CHARMM all-atom additive force field for lipids: validation on six lipid types. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2010. V. 114. N. 23. P. 7830–7843.
  117. Liu Y., Chipot C., Shao X., Cai W. The effects of 7-dehydrocholesterol on the structural properties of membranes. *Physical Biology*. 2011. V. 8. N. 5. P. 056005.
  118. Daura X., Mark A.E., Van Gunsteren W.F. Parametrization of aliphatic CH<sub>n</sub> united atoms of GROMOS96 force field. *Journal of Computational Chemistry*. 1998. V. 19. N. 5. P. 535–547.
  119. Marrink S.J., Risselada H.J., Yefimov S., Tieleman D.P., de Vries A.H. The MARTINI force field: coarse grained model for biomolecular simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2007. V. 111. N. 27. P. 7812–7824.
  120. Davis R.S., Sunil Kumar P., Sperotto M.M., Laradji M. Predictions of phase separation in three-component lipid membranes by the MARTINI force field. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2013. V. 117. N. 15. P. 4072–4080.

121. Shinoda W., DeVane R., Klein M.L. Zwitterionic lipid assemblies: molecular dynamics studies of monolayers, bilayers, and vesicles using a new coarse grain force field. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2010. V. 114. N. 20. P. 6836–6849.
122. Tai K., Fowler P., Mokrab Y., Stansfeld P., Sansom M.S. Molecular modeling and simulation studies of ion channel structures, dynamics and mechanisms. *Methods in Cell Biology*. 2008. V. 90. P. 233–265.
123. Arning K. Mathematical modelling and simulation of ion channels. *Radon Institute for Computational and Applied Mathematics*. 2009. P. 139–142.
124. Harder E., MacKerell A.D., Roux B. Many-body polarization effects and the membrane dipole potential. *Journal of the American Chemical Society*. 2009. V. 131. N. 8. P. 2760–2761.
125. Lamoureux G., Roux B. Modeling induced polarization with classical drude oscillators: Theory and molecular dynamics simulation algorithm. *The Journal of Chemical Physics*. 2003. V. 119. P. 3025.
126. Piquemal J.P., Perera L., Cisneros G.A., Ren P., Pedersen L.G., Darden T.A. Towards accurate solvation dynamics of divalent cations in water using the polarizable amoeba force field: from energetics to structure. *The Journal of Chemical Physics*. 2006. V. 125. N. 5. P. 054511–054511.
127. Cisneros G.A., Piquemal J.P., Darden T.A. Generalization of the Gaussian electrostatic model: extension to arbitrary angular momentum, distributed multipoles, and speedup with reciprocal space methods. *The Journal of Chemical Physics*. 2006. V. 125. P. 184101–184112.
128. Narumi T., Ohno Y., Okimoto N., Koishi T., Suenaga A., Futatsugi N., Yanai R., Himeno R., Fujikawa S., Taiji M., et al. A 55 TFLOPS simulation of amyloid-forming peptides from yeast prion Sup35 with the special-purpose computer system MDGRAPE-3. In: *Proceedings of the 2006 ACM/IEEE Conference on Supercomputing*. New York, NY, USA: ACM. 2006. P. 1–13.
129. Kumar S., Huang C., Zheng G., Bohm E., Bhatele A., Phillips J.C., Yu H., Kalé L.V. Scalable molecular dynamics with NAMD on the IBM Blue Gene/L system. *IBM Journal of Research and Development*. 2008. V. 52. N. 1.2. P. 177–188.
130. Shaw D.E., Deneroff M.M., Dror R.O., Kuskin J.S., Larson R.H., Salmon J.K., Young C., Batson B., Bowers K.J., Chao J.C., et al. Anton, a special-purpose machine for molecular dynamics simulation. *Communications of the ACM*. 2008. V. 51. N. 7. P. 91–97.
131. Dror R.O., Jensen M.O., Borhani D.W., Shaw D.E. Exploring atomic resolution physiology on a femtosecond to millisecond timescale using molecular dynamics simulations. *The Journal of General Physiology*. 2010. V. 135. N. 6. P. 555–562.
132. Pierce L.C., Salomon-Ferrer R., Augusto F. de Oliveira C., McCammon J.A., Walker R.C. Routine access to millisecond time scale events with accelerated molecular dynamics. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2012. V. 8. N. 9. P. 2997–3002.
133. Law R.J., Henchman R.H., McCammon J.A. A gating mechanism proposed from a simulation of a human  $\alpha$ -7 nicotinic acetylcholine receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005. V. 102. N. 19. P. 6813–6818.
134. Capener C.E., Shrivastava I.H., Ranatunga K.M., Forrest L.R., Smith G.R., Sansom M.S. Homology modeling and molecular dynamics simulation studies of an inward rectifier potassium channel. *Biophysical Journal*. 2000. V. 78. N. 6. P. 2929–2942.
135. Gaffney K., Chapman H. Imaging atomic structure and dynamics with ultrafast X-ray

- scattering. *Science*. 2007. V. 316. N. 5830. P. 1444–1448.
136. Balescu R. *Equilibrium and Non-Equilibrium Statistical Mechanics*. Wiley, 1975. 742 p.
  137. Evans L. *An Introduction to Stochastic Differential Equations*. American Mathematical Society, 2013. 133 p.
  138. Степанов С.С. *Стохастический мир*: электронная книга. 2012. 376 с. URL: <http://synset.com/pdf/ito.pdf> (дата обращения 11.02.2014).
  139. Einstein A. Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *Annalen der physik*. 1905. V. 322. N. 8. P. 549–560.
  140. Турченков Д.А., Турченков М.А. Анализ упрощения разностных схем для уравнения Ланжевена, влияние учета корреляции приращений. *Компьютерные исследования и моделирование*. 2012. Т. 4. С. 325–338.
  141. Pusey P.N. Brownian motion goes ballistic. *Science*. 2011. V. 332. N. 6031. P. 802–803.
  142. Turq P., Lantelme F., Friedman H.L. Brownian dynamics: Its application to ionic solutions. *The Journal of Chemical Physics*. 1977. V. 66. N. 7. P. 3039–3044.
  143. Gunsteren W., Berendsen H. Algorithms for Brownian dynamics. *Molecular Physics*. 1982. V. 45. N. 3. P. 637–647.
  144. March N., Tosi P. *Introduction to Liquid State Physics*. World Scientific, 2002. 300 p.
  145. Song C., Corry B. Ion conduction in ligand-gated ion channels: Brownian dynamics studies of four recent crystal structures. *Biophysical Journal*. 2010. V. 98. N. 3. P. 404–411.
  146. Krishnamurthy V., Chung S.H. Large-scale dynamical models and estimation for permeation in biological membrane ion channels. *Proceedings of the IEEE*. 2007. V. 95. N. 5. P. 853–880.
  147. Singer A., Schuss Z. Brownian simulations and unidirectional flux in diffusion. *Physical Review E*. 2005. V. 71. N. 2. P. 026115–026122.
  148. Chung S.H., Allen T.W., Hoyles M., Kuyucak S. Permeation of ions across the potassium channel: Brownian dynamics studies. *Biophysical Journal*. 1999. V. 77. N. 5. P. 2517–2533.
  149. Li S.C., Hoyles M., Kuyucak S., Chung S.H. Brownian dynamics study of ion transport in the vestibule of membrane channels. *Biophysical Journal*. 1998. V. 74. N. 1. P. 37–47.
  150. Barthel J., Bachhuber K., Buchner R., Hetzenauer H. Dielectric spectra of some common solvents in the microwave region. Water and lower alcohols. *Chemical Physics Letters*. 1990. V. 165. N. 4. P. 369–373.
  151. Kimura Y., Ikegami A. Local dielectric properties around polar region of lipid bilayer membranes. *The Journal of Membrane Biology*. 1985. V. 85. N. 3. P. 225–231.
  152. Plant A.L., Gueguetchkeri M., Yap W. Supported phospholipid/alkanethiol biomimetic membranes: insulating properties. *Biophysical Journal*. 1994. V. 67. N. 3. P. 1126–1133.
  153. Gillespie D., Boda D. The anomalous mole fraction effect in calcium channels: a measure of preferential selectivity. *Biophysical Journal*. 2008. V. 95. N. 6. P. 2658–2672.
  154. Schutz C.N., Warshel A. What are the dielectric “constants” of proteins and how to validate electrostatic models? *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2001. V. 44. N. 4. P. 400–417.

155. Erdey-Grúz T. *Transport Phenomena in Aqueous Solutions*. Willey, 1974. 512 p.
156. Yang Z.Z., Li X. Ion solvation in water from molecular dynamics simulation with the ABEM/MM force field. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2005. V. 109. N. 16. P. 3517–3520.
157. Obst S., Bradaczek H. Molecular dynamics study of the structure and dynamics of the hydration shell of alkaline and alkaline-earth metal cations. *The Journal of Physical Chemistry*. 1996. V. 100. N. 39. P. 15677–15687.
158. Nightingale E.R. Phenomenological theory of ion solvation. Effective radii of hydrated ions. *The Journal of Physical Chemistry*. 1959. V. 63. N. 9. P. 1381–1387.
159. Chen J.H., Adelman S.A. Macroscopic model for solvated ion dynamics. *The Journal of Chemical Physics*. 1980. V. 72. N. 4. P. 2819–2831.
160. Barthel J., Bachhuber K., Buchner R., Hetzenauer H. Dielectric spectra of some common solvents in the microwave region. Water and lower alcohols. *Chemical Physics Letters*. 1990. V. 165. N. 4. P. 369–373.
161. Bollinger J.C., Yvernault T. Ionic solvation from conductivity data: Application and extension of the Chen-Adelman model. *Journal of Solution Chemistry*. 1985. V. 14. P. 605–619.
162. Turchenkov D., Boronovsky S., Nartsissov Y. Model of ion diffusion in synaptic cleft based on stochastic integration of Langevin equation at dielectric friction approximation. *Biophysics*. 2013 V. 58. N. 6. P. 796–803.
163. Lee S.H., Rasaiah J.C. Molecular dynamics simulation of ionic mobility. I. Alkali metal cations in water at 25° C. *The Journal of Chemical Physics*. 1994. V. 101. N. 8. P. 6964–6974.
164. Im W., Roux B. Ion permeation and selectivity of OmpF porin: a theoretical study based on molecular dynamics, Brownian dynamics, and continuum electrodiffusion theory. *Journal of Molecular Biology*. 2002. V. 322. N. 4. P. 851–869.
165. Marreiro D., Saraniti M., Aboud S. Brownian dynamics simulation of charge transport in ion channels. *Journal of Physics: Condensed Matter*. 2007. V. 19. N. 21. P. 215203.
166. Ohshima H. Potential and Charge of a Hard Particle. *Biophysical Chemistry of Biointerfaces*. P. 1–46.
167. Fogolari F., Brigo A., Molinari H. The Poisson–Boltzmann equation for biomolecular electrostatics: a tool for structural biology. *Journal of Molecular Recognition*. 2002. V. 15. N. 6. P. 377–392.
168. D'yachkov L. Analytical solution of the Poisson–Boltzmann equation in cases of spherical and axial symmetry. *Technical Physics Letters*. 2005. V. 31. N. 3. P. 204–207.
169. Liu X., Li H., Li R., Tian R. Analytical solutions of the nonlinear Poisson–Boltzmann equation in mixture of electrolytes. *Surface Science*. 2013. V. 607. N. 0. P. 197–202.
170. Schoch R.B., Han J., Renaud P. Transport phenomena in nanofluidics. *Rev. Mod. Phys.* 2008. V. 80. P. 839–883.
171. O'Brien E.P., Dima R.I., Brooks B., Thirumalai D. Interactions between hydrophobic and ionic solutes in aqueous guanidinium chloride and urea solutions: lessons for protein denaturation mechanism. *Journal of the American Chemical Society*. 2007. V. 129. N. 23. P. 7346–7353.
172. Sabarinathan R., Aishwarya K., Sarani R., Vaishnavi M.K., Sekar K. Water-mediated ionic interactions in protein structures. *Journal of Biosciences*. 2011. V. 36. N. 2. P. 253–263.
173. Maffeo C., Schöpflin R., Brutzer H., Stehr R., Aksimentiev A., Wedemann G., Seidel

- R. DNA-DNA interactions in tight supercoils are described by a small effective charge density. *Physical Review Letters* 2010. V. 105. P. 158101–158112.
174. Jogini V., Roux B. Electrostatics of the intracellular vestibule of K<sup>+</sup> channels. *Journal of Molecular Biology*. 2005. V. 354. N. 2. P. 272–288.
175. Corry B., Kuyucak S., Chung S.H. Dielectric self-energy in Poisson–Boltzmann and Poisson–Nernst–Planck models of ion channels. *Biophysical Journal*. 2003. V. 84. N. 6. P. 3594–3606.
176. Noskov S.Y., Im W., Roux B. Ion permeation through the  $\alpha$ -hemolysin channel: theoretical studies based on Brownian dynamics and Poisson–Nernst–Planck electrodiffusion theory. *Biophysical Journal*. 2004. V. 87. N. 4. P. 2299–2309.
177. Grabe M., Lecar H., Jan Y.N., Jan L.Y. A quantitative assessment of models for voltage-dependent gating of ion channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004. V. 101. N. 51. P. 17640–17645.
178. Roux B., Allen T., Berneche S., Im W. Theoretical and computational models of biological ion channels. *Quarterly Reviews of Biophysics*. 2004. V. 37. N. 01. P. 15–103.
179. Aguilera V.M., Queralt-Martín M., Aguilera-Arzo M., Alcaraz A. Insights on the permeability of wide protein channels: measurement and interpretation of ion selectivity. *Integrative Biology*. 2011. V. 3. N. 3. P. 159–172.
180. Baker N.A., Sept D., Joseph S., Holst M.J., McCammon J.A. Electrostatics of nanosystems: application to microtubules and the ribosome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001. V. 98. N. 18. P. 10037–10041.
181. Rocchia W., Alexov E., Honig B. Extending the applicability of the nonlinear Poisson–Boltzmann equation: Multiple dielectric constants and multivalent ions. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2001. V. 105. N. 28. P. 6507–6514.
182. Coalson R.D., Kurnikova M.G. Poisson–Nernst–Planck theory approach to the calculation of current through biological ion channels. *NanoBioscience*. 2005. V. 4. N. 1. P. 81–93.
183. Moy G., Corry B., Kuyucak S., Chung S.H. Tests of continuum theories as models of ion channels. I. Poisson–Boltzmann theory versus Brownian dynamics. *Biophysical Journal*. 2000. V. 78. N. 5. P. 2349–2363.
184. Kuyucak S., Bastug T. Physics of ion channels. *Journal of Biological Physics*. 2003. V. 29. N. 4. P. 429–446.
185. Gillespie D., Nonner W., Eisenberg R.S. Density functional theory of charged, hard-sphere fluids. *Physical Review E*. 2003. V. 68. N. 3. P. 031503.
186. Roth R. Fundamental measure theory for hard-sphere mixtures: a review. *Journal of Physics: Condensed Matter*. 2010. V. 22. N. 6. P. 063102.
187. Simakov N.A., Kurnikova M.G. Soft wall ion channel in continuum representation with application to modeling ion currents in  $\alpha$ -hemolysin. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2010. V. 114. N. 46. P. 15180–15190.
188. Koch W., Holthausen M.C. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*. Wiley-VCH, 2001. 313 p.
189. Gonze X., Beuken J.M., Caracas R., Detraux F., Fuchs M., Rignanese G.M., Sindic L., Verstraete M., Zerah G., Jollet F., et al. First-principles computation of material properties: the ABINIT software project. *Computational Materials Science*. 2002. V. 25. N. 3. P. 478–492.
190. O'boyle N.M., Tenderholt A.L., Langner K.M. cclib: A library for package-independent computational chemistry algorithms. *Journal of Computational Chemistry*. 2008. V. 29. N. 5. P. 839–845.

191. Froimowitz M. HyperChem: a software package for computational chemistry and molecular modeling. *Biotechniques*. 1993. V. 14. N. 6. P. 1010–1013.
192. Castro A., Appel H., Oliveira M., Rozzi C.A., Andrade X., Lorenzen F., Marques M., Gross E., Rubio A. A tool for the application of time-dependent density functional theory. *Physica Status Solidi (b)*. 2006. V. 243. N. 11. P. 2465–2488.
193. Kohn W., Sham L.J. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Physical Review* 1965. V. 140. P. 1133–1138.
194. Блатов В.А., Шевченко А.П., Пересыпкина Е.В. *Полуэмпирические расчетные методы квантовой химии*. Универс-групп, 2005. 32 с.
195. Sadlej J. *Semi-Empirical Methods of Quantum Chemistry: CNDO, INDO, NDDO*. Polish Scientific Publ, 1985. 386 p.
196. Pople J.A., Beveridge D.L. *Approximate Molecular Orbital Theory*. McGraw-Hill, 1970. 230 p.
197. Aruldas G. *Quantum Mechanics*. Prentice-Hall Of India Pvt, 2008. 506 p.
198. Krogh-Jespersen K. *The Intermediate Neglect of Differential Overlap (Indo) Model Hamiltonian and Its Application to Certain Ground- and Excited- State Properties of Organic Molecules*. New York: Graduate School of Arts and Science, 1976. 202 p.
199. Anderson C.P. *A Modification of the Intermediate Neglect of Differential Overlap Procedure for Interpretation of Photoelectron Spectra and the Photoelectron Spectra of Some Halogen Containing Compounds*. USA: University of Tennessee, 1973. 74 p.
200. Bystrov V.S., Paramonova E.V., Bdikin I.K., Bystrova A.V., Pullar R.C., Kholkin A.L. Molecular modeling of the piezoelectric effect in the ferroelectric polymer poly (vinylidene fluoride, PVDF). *Journal of Molecular Modeling*. 2013. P. 1–12.
201. Stewart J. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *Journal of Molecular Modeling*. 2007. V. 13. N. 12. P. 1173–1213.
202. Hostaš J., Řezáč J., Hobza P. On the performance of the semiempirical quantum mechanical PM6 and PM7 methods for noncovalent interactions. *Chemical Physics Letters*. 2013. P. 161–166.

Материал поступил в редакцию 17.10.2013, опубликован 11.03.2014.