

УДК: 543.42 + 577.352.4 + 591.181 + 612.014.421

КОРРЕЛЯЦИОННАЯ ПАТЧ-КЛАМП-СПЕКТРОМЕТРИЯ ИОННЫХ КАНАЛОВ – СОЧЕТАНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ОТКЛИКА КАНАЛОМА В НЕЖЕСТКОМ РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ И МЕТОДОВ СПЕКТРОСКОПИИ ИОННЫХ КАНАЛОВ КАК КООРДИНАЦИОННЫХ (КОМПЛЕКСНЫХ) СТРУКТУР

Ф.К. Орехов

*Институт Химической Физики
им Н.Н. Семенова РАН, г. Москва*

О.В. Градов

*Институт Энергетических Проблем Химической Физики
им. В.Л. Тальрозе РАН, г. Москва, Россия*

Ионные каналы клеточных мембран работают в соответствии с принципами координационной химии. Известна доминирующая роль координационного числа в определении ионоселективности калиевых и натриевых каналов. Изучены лиганд-зависимые и лиганд-управляемые ионные каналы, работающие по принципу координационной супрамолекулярной фиксации. Каналообразующие ионофоры (т.н. «каналоформеры») формируют структуры, в которых катионы фиксируются связями координационного характера, в ходе чего меняется конформация комплекса; происходит подстройка координационных архитектур под селективность канала. Подобные нековалентные системы лежат в основе электрогенных функций мембран и регулируемых потенциалом систем трансмембранного переноса ионов. Эти системы могут быть охарактеризованы методами патч-кламп, т.е. локальной фиксации потенциала на мембране – известны техники «anion clamp», применяемые в корреляции с анализом геометрии координации ионов металлов ионными каналами. Однако эти техники не регистрируют конформационное состояние канала *in situ* – в момент координации иона – с точностью до молекулярной структуры канала. В связи с этим возникает потребность создания динамических методов анализа, позволяющих одновременно регистрировать конформационные и металлные / элементные характеристики координации и электрофизиологическую активность при координации. Нами предлагается создание спектроскопических систем для данных целей, при использовании которых электрофизиология и отклик отдельных каналов регистрируется методами локальной фиксации потенциала (patch-clamp / voltage-clamp) с расширенной спектральной обработкой (и data mining-ом результатов), а их состояние как координационных конформационно лабильных структур – спектроскопическими методами, причем в результате обработки получаются не спектры как таковые, но их характеристические для опознавания машинными методами коррелограммы.

Ключевые слова: патч-кламп, локальная фиксация потенциала, спектральный анализ в реальном времени, координационная химия, ионные каналы, QSAR, QSPR, SBGN

**CORRELATIONAL PATCH-CLAMP SPECTROMETRY OF
THE ION CHANNELS: COMBINATION OF THE SPECTRAL
ANALYSIS OF THE REAL-TIME CHANNELOME
ELECTROPHYSIOLOGICAL RESPONSE AND THE
SPECTROSCOPIC STUDY OF THE ION CHANNELS
AS THE COMPLEX STRUCTURES**

Orekhov F.K.

*Semenov Institute of Chemical Physics,
Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

O.V. Gradov

*V.L. Tal'rose Institute for the Energy Problems of Chemical Physics,
Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

Membrane ion channels operate in accordance with the main principles of coordination chemistry. Coordination number is known to determine the ion selectivity of the sodium and potassium channels. There are known both ligand-dependent and ligand-controlled ion channels operating within the supramolecular coordination fixation principles. The channel-forming ionophores form the structures which bind cations via coordination bonds leading to the conformational changes with the adjustment of the whole supramolecular architecture providing the ion channel selectivity. Such kind of non-covalent systems underlie the electrogenic membrane functions and the potential-controlled transmembrane ion transfer systems. They can be studied by means of the patch-clamp method (i.e. the local membrane potential fixation), such as the «anion clamp», applied together with the analysis of the metal ion coordination geometry with the ion channels. However, such methods are not capable to register the ion channel conformational state *in situ* – during the ion coordination – with the molecular resolution of the ion channel structure. In this regard there is a need to develop dynamical methods capable of the simultaneous registration of the conformational and metallomic / elementomic coordination parameters and the electrophysiological response to the ion coordination. We propose to develop for this purpose a special kind of spectroscopic systems providing registration of the electrophysiological parameters and the single ion channel response by means of the local potential fixation techniques (patch-clamp / voltage-clamp) with the advanced spectral processing and the subsequent data mining, with the simultaneous spectral detection of the ion channel state as a coordination and conformationally labile supramolecular structure, with the final data processing results presented not as the single spectra, but as the spectral correlogram.

Keywords: patch-clamp, voltage-clamp, real time spectral analysis, coordination chemistry, biocoordination chemistry, ion channels, QSAR, QSPR, SBGN

Постановка проблематики: координационная каналомика и спектродимия конформационных состояний мембранных каналов в ионной биофизике

Ионные каналы клеточных мембран функционируют в соответствии с принципами координационной химии. Общеизвестна доминирующая роль координационного числа в определении ионоселективности как калиевых, так и натриевых каналов [1,2].

Изучены лиганд-зависимые и лиганд-управляемые ионные каналы, работающие по принципу координационной супрамолекулярной фиксации [3,4]. В анализе ионной проводимости биомембран представляют парадокс факты отсутствия координации в каналоме [5], но не её наличия. Случаи координации цвиттерионов [6] представляют особый интерес, но также вписываются в общую структуру координационной химии каналомы. Каналообразующие ионофоры (т.н. «каналомформеры») формируют структуры, в которых катионы фиксируются связями координационного характера, в ходе чего меняется конформация комплекса; происходит подстройка координационных архитектур под селективность канала [7]. Подобные нековалентные системы лежат в основе электрогенных функций мембран и регулируемых потенциалом систем трансмембранного переноса ионов [8].

Эти системы могут быть охарактеризованы методами патч-кламп, т.е. локальной фиксации потенциала на мембране – известны техники «anion clamp», применяемые в корреляции с анализом геометрии координации ионов металлов ионными каналами [9]. Но патч-кламп не регистрирует конформационное состояние канала *in situ* – в момент координации иона – с точностью до молекулярной структуры канала (эти задачи реализуются, как правило, другими методами [10], причем – не в реальном времени, несовместимо с изучением электрофизической активности канала). В связи с этим возникает потребность создания динамических методов анализа, позволяющих в пространственной колокализации синхронно фиксировать конформационные и металломные или элементомные [11] характеристики координации и электрофизиологическую активность при координации.

Нами предлагается создание спектроскопических систем для данных целей, при использовании которых электрофизиология и отклик отдельных каналов регистрируется методами локальной фиксации потенциала (patch-clamp / voltage-clamp) с расширенной спектральной обработкой (и «data mining»-ом результатов), а состояние каналов как координационных и как конформационно лабильных структур – спектроскопическими методами, причем в результате обработки получается не только спектр и патч-кламп-регистраграмма, а их специфичная для данного класса объектов каналомы коррелограмма.

Получение комплексных дескрипторов QSAR / QSPR путем интеграции и “data mining”-а мультиспектральных данных.

Очевиден вопрос: какое практическое значение может иметь данный подход, существенно усложняющий задачу исследования активности ионных каналов? Очевиден также следующий из него вопрос: за счет чего (за счет каких алгоритмов свертки информации и концептов расшифровки данных) возможно достижение упрощения анализа, результатом которого будет являться отсутствие увеличения трудоёмкости обработки результата при качественном увеличении информации о биохимической структуре и её отклике?

В настоящее время общепризнано, что проблема управления и координационно-химической регуляции активности каналов (*in vivo*, *in situ* и *in vitro*), равно как и проблема металлоной терапии в фармакохимии [12], представляет проблематику применимости подходов количественного соотношения структуры и свойств, структуры и биологической активности (QSPR и QSAR соответственно).

Известна улучшенная проникающая способность металлокомплексов через мембрану по отношению к свободным лигандам / фармакофорам: координационное соединение с эндогенным лигандом проходит в клетку по ионным каналам или порам эффективнее, чем свободный ион металла. Поэтому основной проблемой анализа эффективности и оптимизации функции ионных каналов является определение тех QSAR-дескрипторов и тех первичных физико-химических QSPR-дескрипторов, которые лежат в основе функции ионных каналов; однако регистрировать эти данные в режиме реального времени *in situ* в настоящее время не представляется возможным.

Необходим сбор данных с нескольких спектральных источников и автоматический корреляционный анализ диапазонных спектров (с учетом нелинейного отклика [13]), чтобы результирующие «паттерны отклика» отвечали на вопрос о взаимно-однозначном или же нечетком соответствии различных QSAR-релевантных дескрипторов функциональной активности каналов в том или ином конформационном состоянии при координации определяемых (по формируемым базам данных отклика) ионов или лигандов с выдачей химической структуры из данных базы QSPR в режиме мягкого реального времени и далее.

При этом источниками данных могут быть физически и технически различные средства и методы спектроскопии, а корреляционные паттерны (двумерные корреляционные спектры) формироваться в наиболее общем («генерализованном») формате в едином GUI, независимо от источника данных (при соответствии осей координат системы экспериментальных данных и системы опорной базы данных) [14], унифицировано по порядку [15,16], достигая единым комплексом обработки увеличения спектральной

селективности, подавления помех и шумов, определения и «эквализации» релевантных дескрипторов [17]. Нами разработана автоматическая система независимой от диапазона спектральных данных метрологической оценки многих спектральных, спектроподобных дескрипторов (дескриптометрия [18-20]), которая может быть, в частности, применена для этого.

Понимая под спектроскопией (в широком смысле слова – *lato sensu*) физически-имплементируемые либо математические (т.е. опосредованные вычислительной машиной) способы разделения сигнала по длине волны / частоте etc., можно генерализовать проблему спектроскопии координации ионов в ионных каналах до уровня абстрагирования от источника сигнала и типа анализа спектроподобных распределений как таковых [21], включая спектральные обработки адекватных им временных окон / фреймов / бинов электрофизи(ологи)ческих записей с отдельных групп каналов.

Это соответствует расширенной идеологии ставших классическими экспериментов по синхронизированному (иногда – и скоррелированному) биоэлектрометрическому и спектральному анализу активности модельных ионных каналов [22], а также – современному тренду на комбинированное исследование на уровне одиночных молекул электрометрических записей и спектроскопии (также на уровне одиночных молекул) ионных каналов [23].

Перечисление технологий спектроскопии, потенциально реализуемых в гибридизации с локальной фиксацией потенциала, необходимо в целях «инвентаризации» полного пула совокупности QR-дескрипторов, которые могут быть извлечены, а также – синтеза полной корреляционной картины обратимого координационного процесса как такового.

В качестве источника электрофизических данных, коррелирующих с патч-кламп-регистраграммами и спектрами, целесообразно использование в совокупности: спектроскопии электрохимического импеданса [24, 25], мембранно-конформационного анализа на базе Раман-спектроскопии [26], синхронизированного флуоресцентного / люминесцентного спектрального (микроспектрального) анализа при применении реагирующих на инфлюкс отдельных ионов (или изменения в редокс-статусе) *in situ* агентов [27,28].

Методы скрининга, которые не активны в реальном времени, хотя и используются в аналитике ионных каналов (напр., атомно-абсорбционная спектроскопия [29] etc.) не являются методами неразрушающего контроля координации в реальном времени и, как следствие этого, не могут быть использованы в роли корреляционных критериев для клэмп-регистраграмм реального времени при локальной фиксации потенциала. Очевидно, что методы, которые (в перспективе) будут применяться для преκлинических исследований и диагностики [30], должны разрабатываться с учетом всех факторов воздействия на клетку, которые могут стать источниками многих критических артефактов.

Классический пример: ЯМР-опосредованная патч-кламп-спектроскопия.

Одним из источников структурных QSPR-дескрипторов в лигандном картировании для QSAR является комплекс алгоритмов анализа спектров ядерного магнитного резонанса [31,32]. Методами спектроскопии ЯМР с использованием изотопных меток изучены цитоплазматические домены отдельных каналов [33] и равновесия топологий пептидов, формирующих ионные каналы [34]. Этим же методом изучались конформационные изменения каналформеров при координационных взаимодействиях [35]. Классические работы Ю.А. Овчинникова с соавторами по исследованиям грамицидина А как ионного канала выполнены с использованием методов ^1H -ЯМР [36].

Будучи формализованным, структурно-функциональный подход Ю.А. Овчинникова к изложению функций ионных каналов [37] дал направление к QSPR- и QSAR- анализу ионных каналов, что может быть реализовано с применением гибридизации методов и подходов, анализирующих вместе структуру и функцию, взятые в отдельности.

Идеология генерализации корреляционного анализа химструктуры и функции в спектральной обработке может быть реализована также на базе ЯМР-спектроскопии [38]: если открытому состоянию канала соответствует ЯМР-спектр X_n и патч-кламп-регистрограмма X_n (и её Фурье-спектр), его а закрытому состоянию – ЯМР-спектр X_{n+1} и патч-кламп-регистрограмма (и её спектр) X_{n+1} , то ясно, что можно установить однозначное соответствие между состояниями каналов и коррелограммами в БД в координатах патч-кламп-отклика и ЯМР-фиксируемого отклика. Это можно производить в форматах витальных (и суправитальных) локализованных измерений [39-40], в т.ч. при комнатной температуре [41] с установлением локализации и колокализации источников / зон мембранной фиксации ионных каналов в ходе экспериментов по локальной фиксации потенциала, в том числе – с дискриминацией по отдельным ионным каналам [42].

Переход от дескрипторов QSPR к предикторам QSAR координационных / супрамолекулярных фармакофоров каналов

Теоретической и прикладной сверхзадачей в синтезе координационно-эффективных, согласно QSPR, блокаторов к тем или иным каналам [43], докинге соответствующих фармакофоров [44], является переход от систем дескрипторов, получаемых с использованием спектральных и др. методов, к предикторам, позволяющим прогнозировать качество и селективность координационных эффектов, следовательно – их фармакохимическую эффективность [45].

Взаимосвязи лигандной реактивности, координации, конформации молекул, электронной плотности [46] и её разрывов во внешних полях [47]

позволяют сейчас конструировать магнитоуправляемые, фотоуправляемые и т.п. регулируемые регулирующими координацию полями среды с теми или иными активными фармакофорами, производя доставку последних к конкретным анатомическим структурам. В то же время отсутствует метод цитофизиологического контроля в режиме реального времени для таких манипуляций с синхронной характеристикой изменений координационных структур в клетке.

Место вакантного подхода может занять корреляционная патч-кламп-спектроскопия, содержащая источники информации о мембране / каналома как в электродинамическом, так и в координационном и конформационном аспектах.

Это позволит изучать активность не только связывания блокаторов [48], но и модуляторов каналов [49], обладающих небинарной логикой действия, нечеткость которой задается количеством вероятных устойчивых состояний каналов в их присутствии, определяемым с использованием теории функционала плотности, следовательно, дескрипторов электронной плотности, выполняющих роль предиктора свойств многих фармакофоров каналомных препаратов [50].

Как систематические примеры возможно привести координационные эффекты в присутствии жесткого антибиотика валиномицина, стерически адекватного дегидратированному иону K^+ : при формировании комплекса K^+ -валиномицин реализуется нейтрализация внутримолекулярных зарядов в ионофоре положительным зарядом калия – комплекс становится более гидрофобным и, поэтому, легче проходит через мембрану, транспортируя ион калия в режиме облегченной диффузии. Этот процесс происходит в связи с тем, что валиномицин связывается с ионом калия (K^+), образуя комплекс типа “гость-хозяин”. В формате заряженного комплекса система под действием электрического поля мигрирует через мембрану. Удельное сопротивление всего бислоя падает при этом в 10^4 раз. Вполне очевидно, что металлная активность подобного фармакофора будет различаться в зависимости от заряда и констант комплексообразования катионов Me.

Координационная химия как базовый принцип интерпретации данных корреляционной патч-кламп-спектроскопии.

Несмотря на большое множество публикаций по QSAR-исследованию биохимических свойств каналомы и сопряженных с ним координационных соединений [51-54], работ, рассматривающих координационную химию каналов (и проникающих сквозь них соединений / структур [55]) с позиций QSAR/QSPR – крайне мало [56]. Между тем, комплексные фармакофоры и координирующие каналоформеры широко распространены, но их QSAR-исследование идет не как исследование координационной химии и QSAR-

опосредованной координационной миметики ионных каналов, но как фармакохимический скрининг (или докинг) узко-утилитарного назначения.

Это вступает в противоречие с подходами, объединяющими методики хемометрического анализа и построения «системно-биологических карт» процессов (алгоритмика SBGN) [57] с анализом подобия биологических свойств (т.н. «biosimilarity studies») [19], то есть – миметики, в том числе – каналомиметики [58,59].

Основой их внедрения в каналомике являются представления о роли ионофоров как агентов каналомы [60,61] и координационных механизмах активности каналов (известно, что, осуществляя транспорт положительно заряженных ионов щелочных и щелочно-земельных металлов, ионофоры образуют комплексы с ними, фиксируя их атомами полярных групп поры / канала). При этом критерием структурной эквивалентности или аналогии и источником информации о подобии систем может быть энергетика сборки канала [62] (аналогично тому, как координация ионов в водных системах может быть охарактеризована через поверхность свободной энергии [63]), а любые химические замещения будут сказываться на данной энергетике. Существующие методы QSAR для ионов металлов [64] применимы и для их транспорта в ионных каналах (равно как гидрофобные взаимодействия – гидрофобные боковые группы, благодаря которым ионофоры, такие, как валиномицин, хорошо растворяются в неполярных углеводородных слоях мембран, вследствие чего становится возможным транспорт щелочных и щелочно-земельных металлов сквозь мембрану; см. спр. «3D QSAR in Drug Design», Vol. 1, стр. 633). Общность координационного механизма между процессами в ионных каналах и ферментативными процессами показывает в случае ионофоров верность редуционистской трактовки каналомики как науки о совокупности координационно-химических процессов в мембране – науки об обратимых процессах комплексообразования, коррелирующих с типами рецептора и субстрата в терминологии супрамолекулярной химии [4, 8, 65, 66]. Наличие исключений из стандартной модельной трактовки, в частности – потенциал-зависимая динамика ионных каналов, не имеющих атрибутов сенсора потенциала [67], только подтверждает «редуционизм» координационно-химической трактовки.

Возможность электрофизиологической регистрации динамики ионных каналов и активности ионофоров, обусловленная электрофизикой переноса в процессах фиксации (например: ионофор, фиксированный на мембране, взаимодействуя с ионом и образуя комплекс с ним, перемещает последний на другую сторону мембраны под действием электрического поля или им же поддерживаемого градиента концентрации, перед диссоциацией этого комплекса), говорит в пользу электрокаталитической трактовки механики переноса (известно, что ионофор валиномицин понижает энергетический барьер трансмембранного переноса катионов калия, будучи чрезвычайно,

как фермент, специфичным / селективным к нему, и действуя в архималых – каталитических количествах). Однако требуется совмещение измерений электрофизиологической активности каналов на мембране и спектральных либо спектрозональных измерений, говорящих о колокализации функций биокаталитического и электрофизиологического пула на мембране. Нашей группой в 2014 году были начаты разработки подобной техники реального времени [68-70], затормозившиеся и приостановленные впоследствии из-за отсутствия средств на аппаратное обеспечение программы исследований и кадровых ставок. Эти исследования предвещали создание идеологии патч-кламп-спектроскопии по многим переменным [71], разрабатывавшейся как способ анализа сигнальных путей, ассоциированных с ионными каналами в нотациях SBGN [72]. После ввода дополнительных дескрипторов в патч-кламп-спектроскопию, вплоть до фиксации радиоизотопных ионных токов со спектральной дискриминацией по энергии частиц в эВ [73], открылась возможность говорить о корреляционной патч-кламп-спектроскопии, для которой характерен не только многофакторный анализ патч-кламп-сигнала в режиме реального времени, но и корреляция спектральных дескрипторов физико-химического плана (эвристически ценных при расшифровке также в псевдо-реальном времени) со спектральными «фингерпринтами» отклика каналом, получаемыми при обработке временных фреймов или окон патч-кламп-регистрограмм при патч-кламп-спектроскопии.

Ранее аналогичная метрологическая идеология была применена нами в методиках граммометрии на чипе на изолированном мышечном волокне с рентгеноструктурным анализом ткани в реальном времени *in situ* и MEMS-опосредованной спектроскопией времен возбуждения [74] (2010-2011, на DIY-базе). В данном случае физиологические и «электробиомеханические» измерения производились синхронно с рентгенографией тканей по Катцу – рентгеноструктурным, по существу, методом – а затем данные измерений и рентгенограммы сопоставлялись друг другу и коррелировались в ПО для статистического анализа (по дискретным значениям, без распознавания). В принципе, реализуемо совмещение любых методов анализа осцилляций, в том числе – не основанных на преобразовании Фурье – в фингерпринтинге сигнала биофизического происхождения [75]. Поэтому совмещение Фурье-фингерпринтинга и / или не-Фурье-фингерпринтинга в любых диапазонах – в том числе в оптическом (известно оптическое разложение излучения по Фурье-компонентам, лежащее в основе пулов методов спектроскопии) – не представляет существенной концептуальной (или физико-математической) проблемы для комплексирования потенциального инструментария методов патч-кламп-спектроскопии в единые программно-аппаратные комплексы.

В множестве оптических методов Фурье-разложения и спектроскопии в оптическом диапазоне на установках многофакторной корреляционной патч-кламп-спектроскопии, вероятно, представляет интерес применение не

только цифровых, но и аналоговых – оптических вычислительных машин, внедряемых по ходу оптического тракта, идущего от микропипетки патч-кламп, являющейся также оптическим волноводом или световодом пучка, анализируемого впоследствии оптической вычислительной машины (если патч-кламп с лазерным возбуждением или «laser assisted patch-clamping» [76] – то, очевидно, когерентные оптические вычислительные машины [77, 78]). В случае использования троичной логики, кодирующей амплитуду в оптической измерительно-вычислительной системе на тракте с клеткой, на которой осуществляется локальная фиксация потенциала, можно добиться различных по уровню (и связанным параметрам) статистических амплитуд открытий ионных каналов (по троичной логике в оптических компьютерах см., напр.: [79]), которым будут соответствовать различные по амплитуде и согласованным параметрам графики оптических спектров, коррелируемых и взаимно-однозначно идентифицируемых с временными окнами (бинами) патч-кламп-регистраграмм в точках лазерного микропучкового облучения. Учитывая различие степени ионизации и параметров многозарядных ионов при их лазерно-опосредованной десорбции и ионизации, можно полагать, что возможно совмещение методов лазерно-опосредованного патч-клампа [76] с методами масс-анализа супрамолекулярной сборки ионных каналов [65], интегрируя их в программно-аппаратные комплексы МС-патч-клампа [80,81]. Данные МС-патч-клампа могут рассматриваться как частый случай корреляционной патч-кламп-спектрометрии в тех случаях, когда обработка данных эксперимента подразумевает не только идентификацию химизма в рамках программных пакетов МС-анализа, но и спектральную обработку и идентификацию кинетических режимов на патч-кламп-регистраграммах (в соответствии с автоматизированными протоколами, интегрирующими оба подхода).

Таким образом, в идеальном случае, корреляционная спектроскопия в патч-кламп-измерениях сводится к синхронизированному с патч-клампом процессу структурно-кинетической идентификации состояний соединений, работающих в каналоме, частным (т.е. необходимым, но не достаточным) элементом которой является компьютерная идентификация, основанная на совмещенном поиске по базам данных разных спектральных методов [82].

Следует отметить, что при интерпретации функции каналоме с точки зрения координатной химии (а, следовательно, и расшифровке данных корреляционной патч-кламп-спектроскопии в рамках данного положения), существенно упрощается задача нахождения закономерностей QSAR – так как они становятся напрямую выводимыми из QSPR или тождественными критериям QSPR. Кроме того, перестают быть формально разделяемыми и феноменологически трактуемыми противоопухолевые, антибиотические и «каналомные» свойства многих препаратов. Например, для грамицидина и аналогов количественные соотношения «структура – антибактериальная

активность» и «структура – гидрофобность» коррелируют и определяются на уровне морфизмов достаточно жестко [83] (напомним, что грамицидин А рассматривается как каналформер, т.е. – агент, способный образовывать ионные каналы), а валиномицин, для которого соотношения структуры и антимикробной / антибиотической активности были выявлены ещё в 1960-х гг. [84], реализует каналомную функцию посредством координационных эффектов и гидрофобных элементов структуры. Как правило, оказывается, что, несмотря на то, что естественные ионофоры обладают в большинстве случаев чрезвычайно высокой ионной избирательностью, определяющейся соответствием молекулярных координат лиганда размерам фиксируемого / координируемого иона, в рамках координационного подхода реализуемы и альтернативные по координируемому атому формы каналомного трафика сквозь мембрану.

Данное явление проявляется в том, что координируются ионы других элементов (примеры координационной имплементации – координация Cu^{2+} на глициновых рецепторах [85], координация кадмия в зонах ВК-каналов / ВК-пор [86] – аналогично возможности координации Ca^{2+} в них [87]; часто процессы координации неспецифичных ионов порой или каналом носят не тот же стерический характер и обладают не той же кинетикой, что процесс фиксации «специфичного» иона, так как фиксация имеет менее жесткий и / или «эктопический» характер, коррелирующий с её малой селективностью по отношению к данному иону [88]). В классической мембранологии – ещё до возникновения каналомики – была широко развита проблема замещения ионного состава окружающей среды и замещающих ионов, при внедрении которых ионные каналы продолжают работать, несмотря на то что ионы не являются специфичными для данного канала в его нативном состоянии. На данный момент имеются десятки статей по: замещающему действию ионов Rb^+ на калиевые каналы (см., напр.: [88-102]), а также синхронизированной эффективности воздействия ионов Cs^+ на Rb^+ на данные каналы [103-108]; автономному действию ионов Cs^+ на указанные каналы [109-124] (включая действие как блокаторов и ингибиторов) и многие каналформеры – такие, как грамицидин [108, 125-127]; совместному воздействию Ba^{2+} и Cs^+ [128-130] или Ba и Sr [131, 132] на электрофизиологическую функцию мембран (контролем к ним могут быть работы по установлению воздействия ионов Ba^{2+} как таковых на ионные каналы, стандартно функционально связанные с калиевой и кальциевой проводимостью [133-144]); каналомному эффекту Tl^+ [145-155], Li^+ (в том числе – в контртранспорте / антипорте с ионами Na^+) [154, 156-165] и др. металлов. Таким образом, можно явно говорить о том, что, являясь координационно-химическим процессом, биофизическая функция каналомы, включая регулируемый ионами биоэлектrogenез, имеет достаточно широкий диапазон физико-химических характеристик агентов, способных выполнять функции координации (это относится к металлу в

функции мембран в целом, а не только к стандартным специфическим для каналов ионам). Так как для каждого из металлов характерны собственные токсикологические, фармакохимические, фармакокинетические свойства и специфика встраивания в метаболические пути (отображаемые в metabolic pathways в нотации SBGN), для данного пула ионных агентов действия на мембрану необходимо и реализуемо синхронизированное представление в формате SBGN их каналомной, антибиотической / антиопухоловой [166] и других – фармакохимических и токсикологических, по сути, функций. При этом объединяющим концептом должна являться координационная химия (и естественно вытекающая из неё супрамолекулярная химия), а методами исследования, синхронизируемыми с исследованием электрофизиологии и рецепторной функции мембран, должны являться методы спектроскопии (с локальным разрешением, соответствующем разрешению патч-кламп-а как локальной фиксации потенциала – по пространственному аргументу).

Литература

1. Thomas M. et al. The predominant role of coordination number in potassium channel selectivity // *Biophys. Journ.* 2007. V. 93. № 8. P. 2635-2643.
2. Bucher D. et al. Coordination numbers of K^+ and Na^+ ions inside the selectivity filter of the KcsA potassium channel // *Biophys. Journ.* 2010. V. 98. № 10. P. L47-L49.
3. Young J.D. et al. Role for mouse macrophage IgG Fc receptor as ligand-dependent ion channel // *Nature.* 1983. № 5939. P. 186-189.
4. Muraoka T. et al. Reversible ion transportation switch by a ligand-gated synthetic supramolecular ion channel // *J. Amer. Chem. Soc.* 2014. V. 136. № 44. P. 15584-15595.
5. Ko Y.J., Jo W.H. Chloride ion conduction without water coordination in the pore of ClC protein // *Journ. Comput. Chem.* 2010. V. 31. № 3. P. 603-611.
6. Kowdley G.C. et al. Anion, cation, and zwitterion selectivity of phospholemman channel molecules // *Biophys. Journ.* 1997. V. 72. № 1. P. 141-145.
7. Varma S., Rempe S.B. Tuning ion coordination architectures to enable selective partitioning // *Biophys. Journ.* 2007. V. 93. № 4. P. 1093-1099.
8. Dai S. et al. Supramolecular assemblies and localized regulation of voltage-gated ion channels // *Physiol. Rev.* 2009. V. 89. № 2. P. 411-452.
9. Wang M. et al. "Anion clamp" allows flexible protein to impose coordination geometry on metal ions // *Chem. Com.* 2015. V. 51. P. 7867-7870.
10. Zhou Y. Chemistry of ion coordination and hydration revealed by a K^+ channel-Fab complex at 2.0 Å resolution // *Nature.* 2001. № 6859. P. 43-48.

11. Nies D.H. The biological chemistry of the transition metal "transportome" of *Cupriavidus metallidurans* // *Metallomics*. 2016. V. 8. № 5. P. 481-507.
12. Connors T.A. et al. Structure-activity relationships of the anti-tumor platinum coordination complexes // *Canc. Treat. Rep.* 1979. V. 63. №9-10. P. 1499-1502.
13. Millonas M., Hanck D. Nonequilibrium response spectroscopy of voltage-sensitive ion channel gating // *Biophys. Journ.* 1998. V. 74. № 1. P. 210-229.
14. Ma L. et al. Insight into resolution enhancement in generalized two-dimensional correlation spectroscopy // *Appl. Spectrosc.* 2013. V. 67. № 3. P. 283-290.
15. Jia Q et al. An insight into sequential order in two-dimensional correlation spectroscopy // *Appl. Spectrosc.* 2009. V. 63. № 3. P. 344-353.
16. Huang H. "Sequential order" rules in generalized two-dimensional correlation spectroscopy // *Anal. Chem.* 2007. V. 79. № 21. P. 8281-8292.
17. Jung Y.M. et al. New approach to generalized two-dimensional correlation spectroscopy {Part II}-{Part IV} // *Appl. Spectrosc.* 2003. V. 57. № 5. P. 557-570; *Ibid.* № 7. P. 850-857.
18. Orehov T.C., Gradov O.V. Hybridization of COBAC, QSPR / QSAR and SBGN technologies: The unity of theory and practice for biomedical technique design and biochemical diagnostic information analysis // *Journ. Med. Bioeng.*, 2016. V. 5, № 2. P. 128–132.
19. Orehov F., Gradov O. In situ / real time analysis in frame of COBAC, QSPR, QSAR & SBGN as a novel tool for the biosimilarity studies and physiochemical prognostics in the biomedicine-assisted screening & experimental toxicology & allergology // *Journ. Bioanal. & Biomed.* 2015. V. 7. № 5. P. 95.
20. Orehov F. C., Gradov O. V. On-line/real time compatibility of COBAC analysis, QSPR, QSAR and SBGN big data mining as a novel tool for physiochemical prognostics in the biomedicine-assisted screening and experimental toxicology and allergology // *Journal of data mining in genomics & proteomics*, 2015. V. 6, №. 4. P. 64.
21. Злоказов В.Б. Математические методы анализа экспериментальных спектров и спектроподобных распределений // *ФЭЧАЯ*. 1985. Т. 16. №5. С. 1126-1163.
22. Reid D.G. et al. An electrophysiological and spectroscopic study of the properties and structure of biological calcium channels // *Biochim. Biophys. Acta.* 1992. V. 1106. № 2. P. 264-272.
23. Lu H.P. Combined single-molecule electrical recording and single-molecule spectroscopy studies of ion channel conformational dynamics // *Meth. Cell Biol.* 2008. V. 90. P. 435-451.

24. Han A., Frazier A.B. Ion channel characterization using single cell impedance spectroscopy // *Lab Chip*. 2006. V. 6. № 11. P. 1412-1414.
25. Huang W. et al. Ion channel behavior of amphotericin B in sterol-free and cholesterol- or ergosterol-containing supported phosphatidylcholine bilayer model membranes investigated by electrochemistry and spectroscopy // *Biophys. Journ.* 2002. V. 83. № 6. P. 3245-3255.
26. Aslanian D. et al. A Raman spectroscopic study on the interaction of an ion-channel protein with a phospholipid in a model membrane system (gramicidin A/L-alpha-lysophosphatidylcholine) // *Eur. Journ. Biochem.* 1986. V. 160. № 2. P. 395-400.
27. Liu J. Mechanism of interaction between the general anesthetic halothane and a model ion channel protein, II: Fluorescence and vibrational spectroscopy using a cyanophenylalanine probe // *Biophys. Journ.* 2009. V. 96. № 10. P. 4176-4187.
28. Rusinova R. et al. Regulation of ion channel function by the host lipid bilayer examined by a stopped-flow spectrofluorometric assay // *Biophys. Journ.* 2014. V. 106. № 5. P. 1070-1078.
29. Stankovich L. et al. Atomic absorption spectroscopy in ion channel screening // *Assay Drug Dev. Tech.* 2004. № 5. P. 569-574.
30. Градов О.В. Патч-кламп-спектроскопия как потенциальный инструмент диагностирования в молекулярной онкологии и анализе активности ионных каналов как вероятных молекулярных мишеней // *Успехи молекулярной онкологии*, Т. 2. № 4. С. 66.
31. Yao H. et al. Chemical proteomic tool for ligand mapping of CYP antitargets: an NMR-compatible 3D QSAR descriptor in the Heme-Based Coordinate System // *Journ. Chem. Inform. Comp. Sci.* 2004. V. 44. № 4. P. 1456-1465.
32. Reily M.D. et al. Nuclear magnetic resonance spectroscopy of peptide ion channel ligands: cloning and expression as aid to evaluation of structural and dynamic properties // *Meth. Enzymol.* 1999. V. 294. P. 92-117.
33. Abarca-Heidemann K. Isotope labeling strategies for analysis of an ion channel cytoplasmic domain by NMR spectroscopy // *Meth. Mol. Biol.* 2013. V. 998. P. 289-300.
34. Sudheendra U.S., Bechinger B. Topological equilibria of ion channel peptides in oriented lipid bilayers revealed by ¹⁵N solid-state NMR spectroscopy // *Biochemistry*. 2005. V. 44. № 36. P. 12120-12127.
35. Luo W., Hong M. Conformational changes of an ion channel detected through water-protein interactions using solid-state NMR spectroscopy // *Journ. Amer. Chem. Soc.* 2010. V. 132. № 7. P. 2378-2384.

36. Arseniev A.S. et al. $^1\text{H-NMR}$ study of gramicidin A trans-membrane ion channel. Head-to-head right-handed, single-stranded helices // *FEBS Lett.* 1985. V. 186. № 2. P. 168-174.
37. Ovchinnikov Yu.A. Ion channels: structure and function // *Biochem. Soc. Symp.* 1981. № 46. P. 103-137.
38. Eads C.D., Noda I. Generalized correlation NMR spectroscopy // *Journ. Amer. Chem. Soc.* 2002. V. 124. № 6. P. 1111-1118.
39. Allen P.S. et al. Metabolite-specific NMR spectroscopy in vivo // *NMR Biomed.* 1997. V. 10. № 8. P. 435-444.
40. Frahm J. et al. Localized NMR spectroscopy in vivo. Progress and problems // *NMR Biomed.* 1989. V. 2. № 5-6. P. 188-195.
41. Soncini A., Calvello S. Room Temperature Chiral Discrimination in Paramagnetic NMR Spectroscopy // *Phys. Rev. Lett.* 2016. V. 116. № 16. 163001.
42. Höfeler H. et al. Sodium transport and phosphorus metabolism in sodium-loaded yeast: simultaneous observation with sodium-23 and phosphorus-31 NMR spectroscopy *in vivo* // *Biochemistry.* 1987. V. 26. № 16. P. 4953-4962.
43. Cheung E.Y. et al. Polymorphism of a novel sodium ion channel blocker. *Journ. Pharm. Sci.* 2003. V. 92. № 10. P. 2017-2026.
44. Iman M. et al. Docking studies of phthalimide pharmacophore as a sodium channel blocker // *IJBMS.* 2013. V. 16. № 9. P. 1016-1021.
45. Sheridan R.P. Global quantitative structure-activity relationship models vs selected local models as predictors of off-target activities for project compounds // *Journ. Chem. Inf. Model.* 2014. V. 54. № 4. P. 1083-1092.
46. Jones M.M., Conner W.E. Coordination, Ligand Reactivity, and Catalysis // *Ind. Eng. Chem.*, 1963, V. 55. № 9, P. 14–28.
47. Zhu Y. et al. Effect of electron-density discontinuity on magnetotransport in multiprobe narrow-channel structures // *Phys. Rev. B: Cond. Mat.* 1990. V. 41. № 12. P. 8509-8512.
48. Tikhonova I.G. et al. 3D-model of the ion channel of NMDA receptor: qualitative and quantitative modeling of the blocker binding // *Dokl Biochem. Biophys.* 2004. V. 396. P. 181-186.
49. Li Y. et al. A review of molecular modeling approaches to pharmacophore models and structure-activity relationships of ion channel modulators in CNS // *Curr. Pharm. Des.* 2002. V. 8. № 2. P. 99-110.
50. Matta C., Arabi A. Electron-density descriptors as predictors in quantitative structure-activity/property relationships and drug design // *Fut. Med. Chem.* 2011. V. 3. № 8. P. 969-994.

51. Moriello A.S. et al. Chalcone derivatives activate and desensitize the transient receptor potential ankyrin 1 cation channel, subfamily A, member 1 TRPA1 ion channel: structure-activity relationships *in vitro* and antinociceptive and anti-inflammatory activity *in vivo* // CNS Neur. Dis. Drug. Targ. 2016 {in press}.

52. Varkevisser R. et al. Structure-activity relationships of pentamidine-affected ion channel trafficking and dofetilide mediated rescue // Br. Journ. Pharm. 2013. V. 169. №6. P.1322-1334.

53. Arias H.R. et al. Noncompetitive antagonist binding sites in the torpedo nicotinic acetylcholine receptor ion channel. Structure-activity relationship studies using adamantane derivatives // Biochemistry. 2003. V. 42. № 24. P. 7358-7370.

54. Albuquerque E.X. et al. Structure-activity relationship of reversible cholinesterase inhibitors: activation, channel blockade and stereospecificity of the nicotinic acetylcholine receptor-ion channel complex // Br. Journ. Med. Biol. Res.1988. V. 21. № 6. P. 1173-1196.

55. Riviere J.E., Brooks J.D. Predicting skin permeability from complex chemical mixtures: dependency of quantitative structure permeation relationships on biology of skin model used // Toxic. Sci. 2011. V. 119. № 1. P. 224-232.

56. Rayne S, Forest K. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) studies for predicting activation of the ryanodine receptor type 1 channel complex (RyR1) by polychlorinated biphenyl (PCB) congeners // J. Envir. Sci. Heal. A. 2010. V. 45. № 3. P. 355-362.

57. Орехов Ф.К., Градов О.В. Гибридизация COBAC, QSPR/QSAR и SBGN: единство теории и практики в анализе данных и проектировании спектрально-биохимического лабораторно-диагностического и биомедицинского оборудования // Биотехносфера. 2014. Т. 33, Вып. 3, С. 29-31.

58. Zhu J. et al. Magnesium-selective ion-channel mimetic sensor with a traditional calcium ionophore // Anal. Chem. 2010. V. 82. № 1. P. 436-440.

59. Guo W. et al. Asymmetric ion transport through ion-channel-mimetic solid-state nanopores // Acc. Chem. Res. 2013. V. 46. № 12. P. 2834-2846.

60. Aoki H. et al. Ion-channel sensors based on ETH 1001 ionophore embedded in charged-alkanethiol self-assembled monolayers on gold electrode surfaces // Anal. Sci. 2006. V. 22. № 12. P. 1581-1584.

61. Reith M.E., O'Reilly C.A. Inhibition of serotonin uptake into mouse brain synaptosomes by ionophores and ion-channelagents // Brain Res. 1990. V. 521. № 1-2. P. 347-351.

62. Durkin J.T. et al. Energetics of gramicidin hybrid channel formation as a test for structural equivalence. Side-chain substitutions in the native sequence // *J. Mol. Biol.* 1990. V. 211. №1. P. 221-234.

63. Brancato G., Barone V. Free energy landscapes of ion coordination in aqueous solution // *J. Phys. Chem B.* 2011. V. 115. №44. P. 12875-12878.

64. Walker J.D. et al. Fundamental QSARs for Metal Ions // “CRC Press”, Boca Raton – London – New York, 2012 г., 302 p.

65. Bühler S. et al. Mass spectrometric mapping of ion channel proteins (porins) and identification of their supramolecular membrane assembly // *Proteins.* 1998. Suppl. 2. P. 63-73.

66. Sánchez-Quesada J. et al. Modulating ion channel properties of transmembrane peptide nanotubes through heteromeric supramolecular assemblies // *J. Am. Chem. Soc.* 2002. V. 124. №34. P. 10004-10005.

67. Kurata H.T. et al. Voltage-dependent gating in a "voltage sensorless" ion channel // *PLoS Biol.* 2010. V. 8. № 2. Art. No. e1000315. [DOI: 10.1371/journal.pbio.1000315].

68. Zaytsev E.V. et al. Conventional patch-clamp techniques for multi-channel lab-on-a-chip signal registration from cell culture using real time target machine interfaces and in situ real-time digital signal processing // *Proc. Int. Workshop “Structure and Functions of Biomembranes”*, Dolgoprudny, 2014, P. 158-159.

69. Alexandrov P. et al. Simultaneous in situ detection of the optical fluorescence, fluorescence recovery kinetics after photobleaching & membrane ion flux on the electrophysiological lab-on-a-chip // *American Journal of Optics and Photonics.* 2015. V. 3. №5. P. 118-122.

70. Александров П. Л., Градов О. В. Конвенционные патч-кламп-автоматы с обратной связью для многофакторных лабораторий на чипе с использованием интерфейсов вычислительных машин реального времени // *Биотехносфера.* 2014. Т. 3, № 33. С. 13-17.

71. Градов О.В. "Многофакторная патч-кламп-спектроскопия" как метод анализа процессов сигнализации и регуляции клеточных функций ионными каналами // *Цитология.* 2015. Т. 57, № 9, С. 625-626

72. Градов О.В. Многофакторная патч-кламп-спектроскопия как метод характеристики сигнальных систем растений и источник комплементарных систематических дескрипторов для биохимической таксономии с привязкой к биогеографическим картам и данным корреляционной феноспектральной ауксанометрии // *Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма.* — Изд-во Санкт-Петербургского государственного университета СПб, 2016. — С. 79–81.

73. Градов О.В. Радиоавтографически-детектирующий локальный патч-кламп как метод онкоцитологического анализа (на примере HeLa) // *IX Съезд онкологов и радиологов СНГ и Евразии.* — 2016. - P66.

74. Градов О.В. Графмометрические лаборатории на чипе и синхронизация графмометрии на чипе на изолированном мышечном волокне с рентгеноструктурным анализом ткани *in situ* и MEMS-опосредованной спектроскопией времен возбуждения // Вестник новых медицинских технологий. 2015. Т. 22. № 3. С. 153-160.

75. Adamovič E.D., Gradov O.V. Joint Fourier and non-Fourier spectral / pseudo-spectral approach to the lung bioacoustics and biomedical signal fingerprinting as a way to increase the quality of the lung diagnostics using supercomplex hybridization of different DSP methods // Journal of Biomedical Technologies. 2015. № 1. С. 35-38.

76. Henriksen G.H., Assmann S.M. Laser-assisted patch clamping: a methodology // Pflugers Arch. 1997. V. 433. № 6. P. 832-841.

77. Престон К. Когерентные оптические вычислительные машины // М., «Мир», 1974. – 402 с.

78. Акаев А.А., Майоров С.А. Когерентные оптические вычислительные машины // Л., «Машиностроение», 1977. - 440 с.

79. Datta A.K. et al. Arithmetic operations in optical computations using a modified trinary number system // Opt. Lett. 1989. V. 14. № 9. P. 426-428.

80. Gradov O.V., Gradova M.A. On the possibility of "MS-patch-clamp" or mass spectrometry hybridization with patch-clamp setups for single cell metabolomics and channelomics // Proc. Int. Workshop "Structure and Functions of Biomembranes" Dolgoprudny, 2014, P. 105.

81. Gradov O., Gradova M. "MS-patch-clamp" or the possibility of mass spectrometry hybridization with patch-clamp setups for single cell metabolomics and channelomics // Advances in Biochemistry. — 2015. — Vol. 3. — P. 66–71

82. Вершинин В.И. и др. Компьютерная идентификация органических соединений // М., «Академкнига», 2002. 197 с.

83. Katayama T. et al. Quantitative structure-hydrophobicity and structure-activity relationships of antibacterial gramicidin S analogs // J. Pharm. Sci. 1994. T. 83. № 9. P. 1357-1362.

84. Shemyakin M.M. et al. The structure-antimicrobial relation for valinomycin depsipeptides // Experientia. 1965. V. 21. № 9. P. 548-552.

85. Ruthstein S. et al. Pulsed electron spin resonance resolves the coordination site of Cu(2+) ions in α 1-glycine receptor // Biophys. Journ. 2010. V. 99. № 8. P. 2497-2506.

86. Zhou Y. et al. Cadmium-cysteine coordination in the BK inner pore region and its structural and functional implications // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2015. V. 112. № 16. P. 5237-5242.

87. Tang Q.Y. et al. Structural determinants of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP2) regulation of BK channel activity through the RCK1 Ca²⁺ coordination site // J. Biol. Chem. 2014. V. 289. № 27. P. 18860-18872.

88. Liu K. et al. Rb⁺ efflux assay for assessment of non-selective cation channel activities // *Ass. Drug Dev. Tech.* 2010. V. 8. № 3. P. 380-388.
89. Sackin H. et al. A conserved arginine near the filter of Kir1.1 controls Rb/K selectivity // *Channels.* 2010. V. 4. № 3. P. 203-214.
90. Marshall A.T., Clode P.L. X-ray microanalysis of Rb⁺ entry into cricket Malpighian tubule cells via putative K⁺ channels // *J. Exp. Biol.* 2009. V. 212. № 18. P. 2977-2982.
91. Kuras Z., Grissmer S. Effect of K⁺ and Rb⁺ on the action of verapamil on a voltage-gated K⁺ channel, hKv1.3: implications for a second open state? // *Br. J. Pharmac.* 2009. V. 157. № 5. P. 757-768.
92. Ohsaga A. et al. Asymmetry of Rb⁺ conduction emerged under bi-ionic conditions in epithelial maxi-K⁺ channels // *J. Physiol. Sci.* 2008. V. 58. № 6. P. 363-369.
93. Vereninov A.A et al. Pump and channel K (Rb⁺) fluxes in apoptosis of human lymphoid cell line U937 // *Cell Physiol. Biochem.* 2008. V. 22. № 1-4. P. 187-194.
94. Boccaccio A. et al. Binding of kappa-conotoxin PVIIA to Shaker K⁺ channels reveals different K⁺ and Rb⁺ occupancies within the ion channel pore // *J. Gen. Physiol.* 2004. V. 124. № 1. P. 71-81.
95. Gusev G.P. et al. Potassium channels of the lamprey erythrocyte membrane exhibit a high selectivity to K⁺ over Rb⁺: a comparative study of 86Rb and 41K transport // *Gen. Physiol. Biophys.* 1997. V. 16. № 3. P. 273-284.
96. Pennefather P.S., DeCoursey T.E. A scheme to account for the effects of Rb⁺ and K⁺ on inward rectifier K channels of bovine artery endothelial cells // *J. Gen. Physiol.* 1994. V. 103. № 4. P. 549-581.
97. Silver M.R. et al. Effects of external Rb⁺ on inward rectifier K⁺ channels of bovine pulmonary artery endothelial cells // *J. Gen. Physiol.* 1994. V. 103. № 4. P. 519-524.
98. Kirsch G.E. et al. A single nonpolar residue in the deep pore of related K⁺ channels acts as a K⁺:Rb⁺ conductance switch // *Biophys J.* 1992. V. 62. № 1. P. 136-144.
99. Sala S., Matteson D.R. Voltage-dependent slowing of K channel closing kinetics by Rb⁺ // *J. Gen. Physiol.* 1991. V. 98. № 3. P. 535-554.
100. Longmore J. et al. The contribution of Rb-permeable potassium channels to the relaxant and membrane hyperpolarizing actions of cromakalim, RP49356 and diazoxide in bovine tracheal smooth muscle // *Br. J. Pharmacol.* 1991. V. 102. № 4. P. 979-985.
101. Otero A.S., Szabo G. Role of the sodium pump and the background K⁺ channel in passive K⁺(Rb⁺) uptake by isolated cardiac sarcolemmal vesicles // *J. Membr. Biol.* 1988. V. 104. № 3. P. 253-263.
102. Swenson R.P., Armstrong C.M. K⁺ channels close more slowly in the presence of external K⁺ and Rb⁺ // *Nature.* 1981. V. 291. № 5814. P. 427-429.

103. Thompson G.A. et al. Residues beyond the selectivity filter of the K⁺ channel kir2.1 regulate permeation and block by external Rb⁺ and Cs⁺ // *J. Physiol.* 2000. V. 526. Pt 2. P. 231-240.
104. Matsuda H. Rb⁺, Cs⁺ ions and the inwardly rectifying K⁺ channels in guinea-pig ventricular cells // *Pflug. Arch.* 1996. 432. № 1. P. 26-33.
105. Mitra R.L., Morad M. Permeance of Cs⁺ and Rb⁺ through the inwardly rectifying K⁺ channel in guinea pig ventricular myocytes // *J. Membr. Biol.* 1991. V. 122. № 1. P. 33-42.
106. Hadley R.W., Hume J.R. Permeability of time-dependent K⁺ channel in guinea pig ventricular myocytes to Cs⁺, Na⁺, NH₄⁺, and Rb⁺ // *Am. Journ. Physiol.* 1990. V. 259. 5. Pt 2. P. H1448-H1454.
107. Matsuda H. et al. Triple-barrel structure of inwardly rectifying K⁺ channels revealed by Cs⁺ and Rb⁺ block in guinea-pig heart cells // *J. Physiol.* 1989. V. 413. P. 139-157.
108. Caffier G., Shvinka N.E. The effect of Rb⁺, Cs⁺, and Tl⁺ on the gramicidin A-induced conductance changes of the skeletal muscle cell membrane // *Acta Biol. Med. Ger.* 1982. V. 41. № 11. P. 1087-1090.
109. Broadley M.R. et al. Influx and accumulation of Cs(+) by the akt1 mutant of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. lacking a dominant K(+) transport system // *J. Exp. Bot.* 2001. V. 52. № 357. P. 839-844.
110. Dibb K.M. et al. Cs⁺ block of the cardiac muscarinic K⁺ channel, GIRK1/GIRK4, is not dependent on the aspartate residue at position 173 // *Pflug. Arch.* 2000. V. 440. № 5. P. 740-744.
111. Ichida A.M. et al. Expression of a Cs(+)-resistant guard cell K⁺ channel confers Cs(+)-resistant, light-induced stomatal opening in transgenic *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 1997. V. 9. № 10. P. 1843-1857.
112. Trequatrini C. et al. Characterization of a neuronal delayed rectifier K current permeant to Cs and blocked by verapamil // *J. Membr. Biol.* 1996. V. 154. № 2. P. 143-153.
113. Maathuis F.J., Sanders D. Characterization of csi52, a Cs⁺ resistant mutant of *Arabidopsis thaliana* altered in K⁺ transport // *Plant J.* 1996. V. 10. № 4. P. 579-589.
114. Becker D. et al. Changes in voltage activation, Cs⁺ sensitivity, and ion permeability in H5 mutants of the plant K⁺ channel KAT1 // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. № 15. P. 8123-8128.
115. Erostequi C. et al. Acetylcholine activates a K⁺ conductance permeable to Cs⁺ in guinea pig outer hair cells // *Hear Res.* 1994. V. 81. № 1-2. P. 119-129.
116. Draber S., Hansen U.P. Fast single-channel measurements resolve the blocking effect of Cs⁺ on the K⁺ channel // *Biophys. J.* 1994. V. 67. № 1. P. 120-129.

117. De Biasi M. et al. Histidine substitution identifies a surface position and confers Cs⁺ selectivity on a K⁺ pore // *Biophys. J.* 1993. V. 65. № 3. P. 1235-1242.
118. De Wolf I., Van Driessche W. Current-voltage relations of Cs⁺-inhibited K⁺ currents through the apical membrane of frog skin // *Pflug. Arch.* 1988. V. 413. № 2. P. 111-117.
119. Cecchi X. et al. Mechanisms of Cs⁺ blockade in a Ca²⁺-activated K⁺ channel from smooth muscle // *Biophys. J.* 1987. V. 52. № 5. P. 707-716.
120. Senyk O. External [K⁺] and the block of the K⁺ inward rectifier by external Cs⁺ in frog skeletal muscle // *Biophys. J.* 1986. V. 50. № 4. P. 677-683.
121. Cukierman S. et al. The K⁺ channel of sarcoplasmic reticulum. A new look at Cs⁺ block // *Biophys. J.* 1985. V. 48. № 3. P. 477-484.
122. Clay J.R. Comparison of the effects of internal TEA⁺ and Cs⁺ on potassium current in squid giant axons // *Biophys. J.* 1985. V. 48. № 6. P. 885-892.
123. Argibay J.A. et al. Block by Cs of K current iK₁ and of carbachol induced K current iC_{ch} in frog atrium // *Pflug. Arch.* 1983. V. 397. № 4. P. 295-299.
124. Gay L.A., Stanfield P.R. Cs(+) causes a voltage-dependent block of inward K currents in resting skeletal muscle fibres // *Nature.* 1977. V. 267. № 5607. P. 169-170.
125. Quigley E.P. et al. Gating and permeation in ion channels formed by gramicidin A and its dioxolane-linked dimer in Na(+) and Cs(+) solutions // *J. Membr. Biol.* 2000. V. 174. № 3. P. 207-212.
126. Etchebest C., Pullman A. Energy profile of Cs⁺ in gramicidin A in the presence of water. Problem of the ion selectivity of the channel // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1988. V. 5. № 5. P. 1111-125.
127. Etchebest C. et al. The gramicidin A channel: comparison of the energy profiles of Na⁺, K⁺ and Cs⁺. Influence of the flexibility of the ethanolamine end chain on the profiles // *FEBS Lett.* 1984. V. 173. № 2. P. 301-316.
128. O'Connell A.D. et al. Selectivity and interactions of Ba²⁺ and Cs⁺ with wild-type and mutant TASK1 K⁺ channels expressed in *Xenopus* oocytes // *J. Physiol.* 2005. V. 562. Pt 3. P. 687-696.
129. Bolter C.P. et al. Failure of Ba²⁺ and Cs⁺ to block the effects of vagal nerve stimulation in sinoatrial node cells of the guinea-pig heart // *Auton. Neurosci.* 2001. V. 94. № 1-2. P. 93-101.
130. Van Driessche W., De Wolf I. Microelectrode study of voltage-dependent Ba²⁺ and Cs⁺ block of apical K⁺ channels in the skin of *Rana temporaria* // *Pflug. Arch.* 1991. V. 418. № 4. P. 400-407.

131. Baba K. et al. Effects of verapamil on the contractions of guinea-pig tracheal muscle induced by Ca, Sr and Ba // *Br. J. Pharmacol.* 1985. V. 84. № 1. P. 203-211.
132. Hagiwara S. et al. Membrane currents carried by Ca, Sr, and Ba in barnacle muscle fiber during voltage clamp // *J. Gen. Physiol.* 1974. V. 63. № 5. P. 564-578.
133. Hsieh C.P. et al. Driving force-dependent block by internal Ba(2+) on the Kir2.1 channel: Mechanistic insight into inward rectification // *Biophys. Chem.* 2015. V. 202. P. 40-57.
134. Kehl S.J. et al. External Ba(2+) block of Kv4.2 channels is enhanced in the closed-inactivated state // *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.* 2013. V. 304. № 4. P. C370-C381.
135. Murata Y. et al. Identification of a site involved in the block by extracellular Mg(2+) and Ba(2+) as well as permeation of K(+) in the Kir2.1 K(+) channel // *J. Physiol.* 2002. V. 544. Pt 3. P. 665-677.
136. Alagem N. et al. Mechanism of Ba(2+) block of a mouse inwardly rectifying K+ channel: differential contribution by two discrete residues // *J. Physiol.* 2001. V. 534. Pt. 2. P. 381-393.
137. Wang X.Y. et al. Ba(2+)-sensitive K+ channels in basal membrane of confluent Madin-Darby canine kidney cells // *Am. Journ. Physiol.* 1994. V. 267. №6. Pt 2. P. F1007-F1014.
138. Zeiske W., Marin H. K+ current stimulation by Cl- in the midgut epithelium of tobacco hornworm (*Manduca sexta*). II. Analysis of Ba(2+)-induced K+ channel conduction noise // *J. Comp. Physiol. B.* 1992. V. 162. №4. P. 340-344.
139. Klöckner U. et al. L-type Ca-channels: similar Q10 of Ca-, Ba- and Na-conductance points to the importance of ion-channel interaction // *Pflug. Arch.* 1990. V. 415. № 5. P. 638-641.
140. Miller C. et al. Coupling of voltage-dependent gating and Ba⁺⁺ block in the high-conductance, Ca⁺⁺-activated K⁺ channel // *J. Gen. Physiol.* 1987. V. 90. № 3. P. 427-449.
141. Cens T. et al. Molecular determinant for specific Ca/Ba selectivity profiles of low and high threshold Ca²⁺ channels // *J. Gen. Physiol.* 2007. V. 130. № 4. P. 415-425.
142. Lopin K.V. et al. Evaluation of a two-site, three-barrier model for permeation in Ca(V)_{3.1} (α1G) T-type calcium channels: Ca (2+), Ba (2+), Mg (2+), and Na (+) // *J. Membr. Biol.* 2010. V. 235. № 2. P. 131-143.
143. Li Z. et al. A single amino acid change in Ca(v)_{1.2} channels eliminates the permeation and gating differences between Ca(2+) and Ba(2+) // *J. Membr. Biol.* 2010. V. 233. № 1-3. P. 23-33.
144. Serrano J.R. et al. Mg(2+) block unmasks Ca(2+)/Ba(2+) selectivity of α1G T-type calcium channels // *Biophys. J.* 2000. V. 79. № 6. P. 3052-3062.

145. Korotkov S.M. et al. Closure of mitochondrial potassium channels favors opening of the Tl(+)-induced permeability transition pore in Ca(2+)-loaded rat liver mitochondria // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2015. V. 47. № 3. P. 243-254.
146. Jørgensen S. et al. A high-throughput screening campaign for detection of Ca(2+)-activated K(+) channel activators and inhibitors using a fluorometric imaging plate reader-based Tl(+)-influx assay // *Assay Drug Dev. Technol.* 2013. V. 11. № 3. P. 163-172.
147. Bowman A.M. et al. Analysis of plasma membrane integrity by fluorescent detection of Tl(+)-uptake // *J. Membr. Biol.* 2010. V. 236. № 1. P. 15-26.
148. Jørgensen S. et al. Fluorescence-based Tl(+)-influx assays as a novel approach for characterization of small-conductance Ca(2+)-activated K(+) channel modulators // *Meth. Mol. Biol.* 2008. V. 491. P. 257-266.
149. Brismar T. et al. Mechanism of high K⁺ and Tl⁺ uptake in cultured human glioma cells // *Cell Mol. Neurobiol.* 1995. V. 15. № 3. P. 351-360.
150. Zeiske W., Van Driessche W. Impairment of Na⁺ transport across frog skin by Tl⁺: effects on turnover, area density and saturation kinetics of apical Na⁺ channels // *Pflug. Arch.* 1986. V. 407. № 2. P. 145-152.
151. Sessler M.J. et al. New aspects of cellular thallium uptake: Tl⁺-Na⁺-2Cl⁻-cotransport is the central mechanism of ion uptake // *Nuklearmedizin.* 1986. V. 25. № 1. P. 24-27.
152. Fox J., Ciani S. Experimental and theoretical studies on Tl⁺ interactions with the cation-selective channel of the sarcoplasmic reticulum // *J. Membr. Biol.* 1985. V. 84. № 1. P. 9-23.
153. Edwards C., Vyskocil F. The effects of the replacement of K⁺ by Tl⁺, Rb⁺, and NH₄⁺ on the muscle membrane potential // *Gen. Physiol. Biophys.* 1984. V. 3. № 3. P. 259-264.
154. Dani J.A., Levitt D.G. Binding constants of Li⁺, K⁺, and Tl⁺ in the gramicidin channel determined from water permeability measurements // *Biophys. J.* 1981. V. 35. № 2. P. 485-499.
155. Hagiwara S. et al. Anomalous permeabilities of the egg cell membrane of a starfish in K⁺-Tl⁺ mixtures // *J. Gen. Physiol.* 1977. V. 70. № 3. P. 269-281.
156. Thompson A.N. et al. Mechanism of potassium-channel selectivity revealed by Na⁺ and Li⁺ binding sites within the KcsA pore // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2009. V. 16. № 12. P. 1317-1324.
157. Manthey A.A. Weakening of ion-channel interactions of Na⁺ and Li⁺ in acetylcholine-receptor channels of frog skeletal muscle with an increase in agonist concentration // *Pflug. Arch.* 1998. V. 435. № 6. P. 818-826.
158. Beblo D.A., Veenstra R.D. Monovalent cation permeation through the connexin40 gap junction channel. Cs, Rb, K, Na, Li, TEA, TMA, TBA, and

effects of anions Br, Cl, F, acetate, aspartate, glutamate, and NO₃ // J. Gen. Physiol. 1997. V. 109. № 4. P. 509-522.

159. Hansen G., Ulbricht W. Influence of Na⁺ and Li⁺ ions on the kinetics of sodium channel block by tetrodotoxin and saxitoxin // Pflug. Arch. 1991. V. 419. № 6. P. 588-595.

160. Palmer L.G., Frindt G. Conductance and gating of epithelial Na channels from rat cortical collecting tubule. Effects of luminal Na and Li // J. Gen. Physiol. 1988. V. 92. № 1. P. 121-138.

161. Ussing H.H. Odd behaviour of Li⁺ in frog skin ion transport // Comp. Biochem. Physiol. A: Comp. Physiol. 1988. V. 90. № 4. P. 525-529.

162. Kahn A.M. Difference between human red blood cell Na⁺-Li⁺ countertransport and renal Na⁺-H⁺ exchange // Hypertension. 1987. V. 9. № 1. P. 7-12.

163. Hannaert P.A., Garay R.P. A kinetic analysis of Na-Li countertransport in human red blood cells // J. Gen. Physiol. 1986. V. 87. № 3. P. 353-368.

164. Nagata C., Aida M. Ab initio molecular orbital study of the interaction of Li⁺, Na⁺ and K⁺ with the pore components of ion channels: consideration of the size, structure and selectivity of the pore of the channels // J. Theor. Biol. 1984. V. 110. № 4. P. 569-585.

165. Bernhardt J., Neumann E. Single channel gating events in tracer flux experiments. III. Acetylcholine receptor-controlled Li⁺ efflux from sealed *Torpedo marmorata* membrane fragments // Biophys. Chem. 1982. V. 15. № 4. P. 327-341.

166. Pereira F. et al. QSAR-assisted virtual screening of lead-like molecules from marine and microbial natural sources for antitumor and antibiotic drug discovery // Molecules. 2015. V. 20. № 3. P. 4848-4873.