

Исследование взаимодействия агитоксина 2 и его производных с гибридными калиевыми каналами

Научный руководитель – Феофанов Алексей Валерьевич

Багаева Диана Фановна

Выпускник (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия

E-mail: bagaeva_dina@mail.ru

Разработка пептидных блокаторов калиевых каналов является одним из перспективных направлений создания лекарственных препаратов для лечения многих аутоиммунных, неврологических и онкологических заболеваний, связанных с нарушением функционирования $K_v1.x$ каналов ($x=1,3,6$), но именно канал $K_v1.3$ является признанной мишенью в лечении аутоиммунных заболеваний. Поэтому конструирование новых мутантов AgTx2 было направлено на дальнейшее усиление селективности взаимодействия пептидных токсинов с каналом $K_v1.3$. Обеспечить такую селективность возможно путем направленного введения мутаций в известные высокоаффинные пептидные блокаторы, но алгоритм выбора этих мутаций требует детальной разработки.

Агитоксин 2 (AgTx2), выделенный из яда скорпиона *Leiurus quinquestriatus hebraeus*, является высокоаффинным пептидным блокатором сразу нескольких калиевых каналов $K_v1.x$. Введение точечных мутаций в токсин позволяет внести существенные изменения в его аффинность и усилить селективность к поровому домену одного из каналов $K_v1.x$. Ранее были получены мутанты AgTx2, содержащие точечные аминокислотные замены с измененной аффинностью/селективностью в отношении сайтов связывания каналов, и определены константы диссоциации этих мутантов с калиевыми каналами $KcsA-K_v1.x$. В данной работе мы предположили, что попарное объединение двух мутаций в один пептид приведет к еще большему усилению селективности к каналу $K_v1.3$.

С помощью биоинженерной флуоресцентной тест-системы на основе клеток *E.coli* [1], экспрессирующих гибридные калиевые каналы $KcsA-K_v1.x$ в своей плазматической мембране [2,3], была исследована активность производных AgTx2 по способности связываться с гибридными каналами $KcsA-K_v1.x$. Методом конкурентного ингибирования связывания были определены значения констант диссоциации.

Полученные данные позволили уточнить интерфейс взаимодействия AgTx2 с $K_v1.x$ -каналами и охарактеризовать влияние введенных мутаций на профиль взаимодействия сконструированных пептидных блокаторов с поровой областью каналов $K_v1.x$ ($x=1,3,6$).

Источники и литература

- 1) Kuzmenkov A.I. et al. Variability of Potassium Channel Blockers in Mesobuthus eupeus Scorpion Venom with Focus on $Kv1.1$: an Integrated Transcriptomic and Proteomic Study // J. Biological Chemistry, 290, 12195-12209 (2015).
- 2) Kudryashova K.S et al. Fluorescent system based on bacterial expression of hybrid $KcsA$ channels designed for $Kv1.3$ ligand screening and study // Analytical and Bioanalytical Chemistry 405, 2379-2389 (2013).
- 3) Nekrasova O.V., et al. Recombinant Kv channels at the membrane of Escherichia coli bind specifically agitoxin2 // J. Neuroimmune Pharmacology 4, 83-91 (2009).