

**Изучение пептидных блокаторов Kv1 каналов из яда скорпиона *Centruroides elegans*: Ce1, Ce4 и Ce5**

**Научный руководитель – Феофанов Алексей Валерьевич**

**Орлов Никита Александрович**

*Аспирант*

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

*E-mail: n.orlov858@yandex.ru*

Потенциал-зависимые калиевые каналы ( $K_v$ ) играют ключевую роль во многих физиологических процессах: мышечное сокращение, секреция гормонов, регуляция работы сердца и нейронов, модуляция функции Т-клеток и др. Как следствие, дисфункция  $K_v$  является причиной ряда заболеваний, включая рак, аутоиммунные и нейродегенеративные заболевания [5, 6]. Яды скорпионов - богатый источник высоко-аффинных и селективных пептидных блокаторов  $K_v$ , которые находят широкое применение для структурного и функционального изучения каналов, анализа их экспрессии и локализации, а также в качестве терапевтических агентов [4].

В ходе работы нами были получены рекомбинантные пептидные блокаторы Ce1, Ce4 и Ce5 [2], а также их близкие гомологи hongotoxin1 (HgTx) и margatoxin (MgTx). Для изучения их аффинности к  $K_v1.1$  и  $K_v1.3$  мы использовали биоинженерную аналитическую систему на основе гибридных каналов KcsA- $K_v1.x$  ( $x = 1, 3$ ), обладающих характерными для эукариотических  $K_v1.x$  внешними сайтами связывания [1]. Эти каналы, экспрессированные в мембране клеток *E. coli*, становятся доступными для взаимодействия с блокаторами после трансформации клеток в сферопласты. Измерение аффинности пептидов было проведено методом конкурентного связывания в присутствии охарактеризованного нами ранее [3] флуоресцентного аналога HgTx - Atto488-HgTx (A-HgTx), с использованием конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.

Полученные данные позволяют сравнить аффинность изучаемых пептидов к  $K_v1.3$  при измерении разными методами, а также впервые охарактеризовать аффинность Ce1, Ce4 и Ce5 к  $K_v1.1$ . Результаты работы помогут глубже понять возможные причины разницы в аффинности между высоко-гомологичными пептидами. В дальнейшем эти данные могут быть использованы для рационального дизайна пептидных блокаторов, перспективных для разработки лекарственных средств.

Работа проведена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН.

### **Источники и литература**

- 1) Kudryashova, K. S. et al. 2013: 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.
- 2) Nekrasova, O. et al. 2017: Straightforward approach to produce recombinant scorpion toxins—Pore blockers of potassium channels. *Journal of Biotechnology.*, 241, 127–135.
- 3) Orlov, N.; Nekrasova, O.; Feofanov, A., 2019: Fluorescent Ligands of Kv1 Channels on the Basis of Hongotoxin: Atto488-Hongotoxin. *Microscopy and Microanalysis.*, 25, 1278–1279.
- 4) Peigneur, S.; Tytgat, J., 2018: Toxins in drug discovery and pharmacology. *Toxins.*, 10, 10–13.

- 5) Pérez-Verdaguer, M. et al. 2016: The voltage-gated potassium channel Kv1.3 is a promising multitherapeutic target against human pathologies. *Expert Opinion on Therapeutic Targets.*, 20, 577–591.
- 6) Wulff, H.; Castle, N. A.; Pardo, L. A., 2009: Voltage-gated potassium channels as therapeutic targets. *Nature Reviews Drug Discovery.*, 8, 982–1001.