

**Структура и динамика токсина  $\text{Ph}\alpha 1\beta$  паука *Phoneutria nigriventer*,  
модулятора канала TRPA1**

**Миронов Павел Андреевич**

*Студент (магистр)*

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

*E-mail: pavel.mironov@student.msu.ru*

В ядах животных обнаружено большое разнообразие пептидных токсинов, которые специфически связываются с мембранными рецепторами и являются потенциальным источником лекарств. Некоторые токсины из ядов пауков показывают высокую эффективность при лечении различных заболеваний человека. Особый интерес представляет яд бразильского странствующего паука *Phoneutria nigriventer*, демонстрирующий антиноцицептивный эффект. Обезболивающее действие яда обусловлено его компонентом  $\text{Ph}\alpha 1\beta$ , который способен одновременно блокировать потенциал-зависимые кальциевые каналы N-типа [1] и TRPA1 [2]. Благодаря своим свойствам  $\text{Ph}\alpha 1\beta$  является потенциальным кандидатом для разработки антиноцицептивных препаратов нового поколения, однако пространственная структура  $\text{Ph}\alpha 1\beta$ , а также механизм взаимодействия с каналами на данный момент остаются неизвестными.

В работе исследовали пространственную структуру и внутримолекулярную динамику токсина  $\text{Ph}\alpha 1\beta$  методом ЯМР спектроскопии. Немеченый и  $^{15}\text{N}$ -меченый аналог токсина получали путем рекомбинантной продукции в бактериях *E.coli* в составе слитной конструкции с тиоредоксином. По данным ЯМР, получено практически полное отнесение сигналов ядер  $^1\text{H}$  и  $^{15}\text{N}$  и частичное для ядер  $^{13}\text{C}$  основной и боковых цепей токсина и определена его пространственная структура в растворе при pH 4,5. Динамику основной цепи  $\text{Ph}\alpha 1\beta$  определяли по данным релаксации ядер  $^{15}\text{N}$ , используя модель-независимый (*model free*) подход.

Структура токсина  $\text{Ph}\alpha 1\beta$  представлена мотивом цистинового узла (ICK), включающим антипараллельный  $\beta$ -лист, и примыкающей к нему C-концевой  $\alpha$ -спиралью (Asn41-Lys51). Пептид стабилизирован шестью дисульфидными связями. Из них: Cys2-Cys16, Cys9-Cys22, Cys15-Cys37 соответствуют консервативному мотиву ICK, Cys24-Cys35 стабилизирует удлиненную петлю между  $\beta$ -тяжами мотива, а Cys18-Cys45 и Cys13-Cys52 ограничивают положение C-концевой  $\alpha$ -спирали. В молекуле токсина наблюдаются мкс-мс флуктуации, соответствующие движению C-концевой спирали относительно остальной части пептида. Положительно и отрицательно заряженные остатки располагаются на разных сторонах молекулы  $\text{Ph}\alpha 1\beta$  и формируют несколько кластеров, разделенных большим гидрофобным поясом. Подобное распределение характерно для гомологичных токсинов, связывающихся с S1-S4 доменами каналов.

Представленная структура  $\text{Ph}\alpha 1\beta$  является первой структурой с шестью дисульфидными связями среди пептидов с мотивом цистинового узла. На основе структуры  $\text{Ph}\alpha 1\beta$  можно моделировать структуры других токсинов семейства ктенитоксинов.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №22-14-00326.

**Источники и литература**

- 1) Silva, J., Binda, N., Pereira, E., Lavor, M., Vieira, B., Hubner de Souza, A., Rigo, F., Tenza-Ferrer, H., Junior, C.J.D., Ferreira, J., Gomez, M., 2021. Analgesic effects of  $\text{Ph}\alpha 1\beta$  toxin: a review of mechanisms of action involving pain pathways. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 27.

- 2) Tonello, R., Fusi, C., Materazzi, S., Marone, I.M., De Logu, F., Benemei, S., Gonçalves, M.C., Coppi, E., Castro-Junior, C.J., Gomez, M.V., Geppetti, P., Ferreira, J., Nassini, R., 2017. The peptide Ph $\alpha$ 1 $\beta$ , from spider venom, acts as a TRPA1 channel antagonist with antinociceptive effects in mice. *Br J Pharmacol* 174, 57–69.