

Изменение специфичности  $\alpha$ -подобного токсина скорпиона ВеМ9

Н.А. Кульдюшев<sup>1,2</sup>, А.А. Беркут<sup>1,2</sup>, А.А. Василевский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет)

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

РАН

В рамках данной работы мы сосредоточились на изучении  $\alpha$ -токсинов скорпионов – ингибиторов инактивации потенциал-чувствительных натриевых каналов. Эти полипептиды имеют длину около 60-70 аминокислотных остатков и  $\beta\alpha\beta\beta$  укладку, стабилизированную четырьмя дисульфидными мостиками.  $\alpha$ -Токсины скорпионов делят на группы по селективности действия [1]:

- i. млекотоксины, которые высокотоксичны для млекопитающих, а также высокоаффинны к потенциал-чувствительным натриевым каналам мозга млекопитающих и слабо воздействуют на каналы насекомых по сравнению с каналами млекопитающих.
- ii. инсектотоксины, которые высокотоксичны для насекомых и гораздо менее токсичны по отношению к млекопитающим в сравнении с млекотоксинами, а также высокоаффинны к каналам насекомых.
- iii.  $\alpha$ -подобные токсины, действующие и на насекомых, и на млекопитающих, но не воздействующие на потенциал-чувствительные натриевые каналы мозга млекопитающих.

$\alpha$ -Токсины скорпионов состоят из двух динамических модулей: консервативного сердцевинного модуля, который отвечает за распознавание натриевого канала и определяет эффект токсина, и варибельного модуля специфичности, топология которого, как считается, ответственна за таксономическую селективность  $\alpha$ -токсинов скорпионов. Недавние исследования показывают, что не только рельеф варибельного модуля определяет специфичность действия  $\alpha$ -токсинов. Модули специфичности токсинов трех разных групп отличаются также распределением гидрофобности и подвижностью. Так, варибельный модуль у млекотоксинов подвижнее и гидрофильнее, чем у инсектотоксинов, а у  $\alpha$ -подобных токсинов имеет промежуточное значение гидрофобности [2].

Для получения лигандов, избирательных к различным изоформам потенциал-чувствительных натриевых каналов, мы использовали  $\alpha$ -подобный токсин ВеМ9 из яда скорпиона *Mesobuthus eupeus*, который обладает широким профилем селективности. Были сконструированы семь производных ВеМ9; аминокислотные замены вносили таким образом, чтобы изменить гидрофобность модуля специфичности, его подвижность или топологию. Мутанты ВеМ9 получали в бактериальной системе экспрессии; для

увеличения выхода производных токсина были подобраны оптимальные условия культивирования бактерий и индукции экспрессии трансгенов.

Мы протестировали активность полученных мутантов ВеМ9 на трех потенциал-чувствительных натриевых каналах млекопитающих rNa<sub>v</sub>1.4, hNa<sub>v</sub>1.5 и mNa<sub>v</sub>1.6 (встречающихся в скелетных мышцах крысы, сердечной мускулатуре человека и нервной системе мыши соответственно) и на канале таракана *Blattella germanica* BgNa<sub>v</sub>. Полученные данные свидетельствуют о том, что каждый из рассмотренных нами факторов (гидрофобность модуля специфичности, его подвижность и топология) вносит важный, но не определяющий вклад в избирательность действия токсина.

Авторы выражают благодарность Стиву Пеньёру и Яну Титгату (Католический Университет г. Лёвен, Бельгия) за помощь в тестировании активности токсинов.

#### Литература

1. *Gordon, D. [et al].* The differential preference of scorpion alpha-toxins for insect or mammalian sodium channels: implications for improved insect control. // *Toxicon*. – 2007. – V. 49 N 4. – pp. 452-72.
2. *Chugunov, A.O. [ et al].* Modular organization of alpha-toxins from scorpion venom mirrors domain structure of their targets, sodium channels. // *J Biol Chem*. – 2013. – V. 288 N 26. – pp. 19014-27.