

ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КАНАЛА K_v1.1 С ПЕПТИДНЫМИ БЛОКАТОРАМИ: ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ НА КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

**Н. А. Орлов^{1,2}, Е. А. Крюкова¹, А. В. Ефременко¹, С. А. Якимов¹, В. А. Топорова¹,
М. П. Кирпичников^{1,2}, О. В. Некрасова¹, А. В. Феофанов^{1,2}**

*¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Российская Федерация*

*²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва,
Российская Федерация*

Потенциал-зависимый калиевый канал K_v1.1 широко распространён в центральной и периферической нервной системе, контролирует возбудимость нейронов, нервно-мышечную передачу сигналов, а также участвует в различных физиологических процессах в невозбудимых клетках [1]. Патогенез некоторых заболеваний тесно связан с изменением уровня экспрессии и/или активности канала K_v1.1 в определённых типах клеток. Соединения, способные специфически и с высокой аффинностью связываться с каналом K_v1.1 и подавлять его активность, являются перспективными кандидатами для создания на их основе лекарственных средств для лечения заболеваний нервной, сердечно-сосудистой и иммунной системы.

Мы разработали на основе флуоресцентного метода (конфокальной микроскопии) аналитическую систему для изучения пептидных лигандов, способных блокировать ионную проводимость канала K_v1.1 [2]. Система основана на анализе конкурентного связывания исследуемых соединений и флуоресцентного зонда Atto488-HgTx с каналом человека K_v1.1 (S369T), меченным флуоресцентным белком mKate2. Подобранный для системы флуоресцентный зонд Atto488-HgTx обладает субнанолярным сродством к каналу ($K_d=0,7\pm0,2$ нМ) и применим для скрининга лигандов, а также для визуализации канала K_v1.1 в живых клетках.

Разработанная система была валидирована путём измерения аффинности известных блокаторов канала K_v1.1, таких как агитоксин 2, калиотоксин 1, хонготоксин 1 и маргатоксин. Была определена аффинность к каналу K_v1.1 пептида Ce1 из яда скорпиона *Centruroides elegans* ($K_{ap}=11\pm5$ нМ). При помощи разработанной системы было обнаружено, что на взаимодействие канала K_v1.1 с исследуемыми пептидными блокаторами не влияет переход канала из закрытого состояния в открытое. Структурные перестройки, сопровождающие переход канала в открытое состояние, не изменяют конформацию Р-петли (включая селективный фильтр), участвующей в формировании сайта связывания пептидных блокаторов.

Разработанная методика расширяет возможности изучения ионных каналов и их лигандов. Она подходит для решения задач, связанных с поиском специфичных блокаторов в природных ядах, сравнительного анализа мутированных или химерных пептидов в ходе разработки лекарств, изучения интерфейса взаимодействия лиганд-канал, поиска и разработки блокаторов каналов с аффинностью, зависящей от состояния канала, а также разработки флуоресцентных лигандов канала K_v1.1.

Работа поддержана грантом РНФ (проект N 22-14-00406).

Библиографические ссылки

1. K_v1.1 Channelopathies: pathophysiological mechanisms and therapeutic approaches / M. C. D'Adamo [et al.] // Int. J. Mol. Sci. 2020. Vol. 21. P. 2935.
2. Orlov N.A., Kryukova E.V., Efremenko A.V. et al. Interactions of the K_v1.1 channel with peptide pore blockers: a fluorescent analysis on mammalian cells // Membranes. 2023. Vol. 13, iss. 7. P. 645.