

Генокодируемый флуоресцентный лиганд калиевого канала Kv1.3 на основе маргатоксина и зеленого флуоресцентного белка

Научный руководитель – Феофанов Алексей Валерьевич

Денисова Кристина Руслановна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: tina.denisova2000@gmail.com

Многие пептиды из ядов скорпионов являются высокоаффинными блокаторами калиевых каналов. Они могут использоваться в качестве основы для разработки лекарств против некоторых аутоиммунных и неврологических заболеваний. В нашей лаборатории разрабатываются генетически кодируемые флуоресцентные пептидные блокаторы, с помощью которых ведется поиск, конструирование и изучение новых селективных пептидных блокаторов фармакологически-значимых потенциал зависимых калиевых каналов. На основе флуоресцентного белка GFP и пептида маргатоксина (MgTx) из яда скорпиона *Centruroides margaritatus*, который широко применяется в физиологических исследованиях канала Kv1.3, нами была создана молекулярная конструкция GFP-MgTx и изучены ее свойства [1]. Была сконструирована плазида, кодирующая GFP-MgTx, оптимизированная для экспрессии целевого белка в бактериальной системе. GFP был помещен на N-конец пептидного токсина и отделен от последовательности MgTx гибким линкером длиной 51 аминокислотный остаток, содержащим гексагистидиновый таг. Лиганд GFP-MgTx экспрессировали в клетках *E. coli* и выделяли с помощью Ni-аффинной хроматографии. Выход функционально активного GFP-MgTx составил 30 мг с 1 л культуры клеток. Установлено, что комплекс GFP-MgTx с сайтом связывания канала Kv1.3 имеет константу диссоциации 11 ± 2 нМ. Показано, что GFP-MgTx как компонент аналитической системы на основе гибридного канала KcsA-Kv1.3 применим для распознавания поровых блокаторов канала Kv1.3 пептидного происхождения и оценки их аффинности к этому каналу. GFP-MgTx может использоваться при скрининге и предварительном отборе блокаторов Kv1.3 канала для последующего изучения их свойств в качестве потенциальных кандидатов для разработки лекарств.

Источники и литература

- 1) Denisova KR, Orlov NA, Yakimov SA, Kryukova EA, Dolgikh DA, Kirpichnikov MP, Feofanov AV, Nekrasova OV. GFP–Margatoxin, a Genetically Encoded Fluorescent Ligand to Probe Affinity of Kv1.3 Channel Blockers. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(3):1724.