

Изучение взаимодействия токсина VSTx1 из яда паука и потенциал-чувствительного домена калиевого канала KvAP методами ЯМР-спектроскопии и молекулярного моделирования

Н.С. Петросян^{1,2}, А.О. Чугунов¹, А.С. Парамонов¹, А.С. Арсеньев^{1,2}, Р.Г. Ефремов^{1,3}, З.О. Шенкарев^{1,2}

¹Московский Физико-Технический Институт, Долгопрудный, Россия.

²Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия.

³Высшая школа экономики, Москва, Россия.

Потенциал-зависимые K^+ калиевые каналы (Kv) играют важную роль в механизмах клеточного возбуждения и распространения нервного импульса. Токсин VSTx1, из яда паука *Grammostola spatulata*, ингибирует инактивацию калиевого канала KvAP, из археобактерии *Aeropyrum pernix*, путем блокирования его потенциалочувствительного домена (ПЧД). Токсин блокирует ПЧД в его деполаризованной (*Up*) конформации и тормозит возвращение ПЧД в гиперполяризованное (*Down*) состояние.

В работе взаимодействие между токсином VSTx1 и ПЧД калиевого канала KvAP (ПЧД-KvAP), в *Up*-конформации, изучали методами ЯМР-спектроскопии и молекулярного моделирования. ЯМР исследование показало, что токсин связывается с поверхностью мицелл DPC/LDAO (2:1), с участием ярко выраженного гидрофобного участка, который окружен положительно заряженными остатками (Lys4, Lys8, Arg24 и Lys26). Однако, результаты молекулярной динамики (МД), с использованием мембран различного липидного состава (POPC/POPG 3:1 и POPC), а также компьютерное моделирование методом Монте-Карло, в неявно заданной мембране, указали на возможную гетерогенность взаимодействия пептид/мембрана. Во всех случаях различные сайты связывания токсина с мембраной были сформированы гидрофобными и положительно заряженными остатками.

Расчет взаимодействия между токсином VSTx1 и ПЧД-KvAP, проводился с применением алгоритмов белок-белкового докинга и МД. Кластеризация траекторий, полученных в ходе отдельных МД расчетов токсина и ПЧД с липидным бислоем, позволила получить 11 различных структур VSTx1 и 19 структур ПЧД-KvAP. 11×19 расчетов белок-белкового докинга с алгоритмом ZDOCK позволили получить 20 000 возможных решений комплекса. Полученные структуры были ранжированы с использованием экспериментальных данных ЯМР, а также учитывая количество «благоприятных» контактов и комплементарность гидрофобных/гидрофильных поверхностей взаимодействующих молекул. Применение всех фильтров позволило сократить количество решений докинга до двух. Расчеты МД (250 нс) показали что только одна из полученных структур стабильна (RMSD=0.25±0.05). В полученном комплексе VSTx1 взаимодействует с трансмембранными спиралью S1 и S4 ПЧД-KvAP. При этом N-концевой участок молекулы токсина взаимодействует с петлей S1-S2 домена, тогда как C-концевой участок связывается с ПЧД в области спирали S4. Следует отметить, что в *Down*-конформации ПЧД спираль S4 погружена в мембрану и не доступна для взаимодействия с токсином.

Суммируя полученные результаты мы можем сделать вывод о возможном механизме действия VSTx1 на ПЧД канала KvAP. Токсин связывается с липидным бислоем и формирует комплекс с ПЧД в области петли S1-S2. После деполаризации мембраны и перехода ПЧД в *Up*-конформацию, токсин VSTx1 связывает спираль S4, что блокирует ПЧД в деполаризованном состоянии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №14-04-01270