

Новый флуоресцентный зонд для детекции кальциевых каналов

Научный руководитель – Кузьменков Алексей Игоревич

Прудникова Дарья Алексеевна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: pda.prudnikova@gmail.com

Семейство потенциал-зависимых кальциевых каналов (Ca_v) включает в себя трансмембранные белки, отвечающие за ток ионов Ca^{2+} при деполяризации мембраны, и принимают участие в инициации различных клеточных процессов, таких как синаптическая передача нервного импульса, регуляция экспрессии генов и секреция гормонов.

Одним из важнейших направлений в современной нейробиологии является разработка молекулярных инструментов для изучения структурных и динамических характеристик этих интегральных белков. Большинство высокоселективных лигандов на Ca_v -каналы представляют собой полипептидные нейротоксины из различных источников. Модификация таких соединений, например, с использованием флуоресцентных или изотопных меток, позволяет создавать молекулярные зонды, подходящих для визуализации ионных каналов [1].

Ранее в нашей лаборатории [2] был разработан метод получения химерных молекул, состоящих из флуоресцентного белка и полипептидного лиганда. В данной работе для создания нового молекулярного зонда был использован фотоконвертируемый флуоресцентный белок mEos3.2 и блокатор кальциевых каналов - ω -конотоксин MVIIIC из яда морской улитки *Conus magus*.

Получение химерных молекул с N- и C-концевым расположением флуоресцентного белка (mEos3.2-MVIIIC и MVIIIC-mEos3.2) осуществлялось с использованием гетерологической системы экспрессии на базе *Escherichia coli*. Гибридные белки были выделены методом аффинной хроматографии, а для финальной очистки применялась гель-фильтрация. С помощью конфокальной микроскопии удалось установить специфическое связывание химер с Ca_v -каналами N-типа. В итоге нами были получены два флуоресцентных зонда, которые могут быть использованы для визуализации Ca_v .

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 20-34-70031).

Источники и литература

- 1) Kuzmenkov, A.I., and Vassilevski, A.A. Labelled animal toxins as selective molecular markers of ion channels: Applications in neurobiology and beyond. *Neurosci. Lett.* 2018;679: 15–23.
- 2) Kuzmenkov, A.I., Nekrasova, O.V., Kudryashova, K.S., Peigneur, S., Tytgat, J., Stepanov, A.V., Kirpichnikov, M.P., Grishin, E.V., Feofanov, A.V., and Vassilevski, A.A. Fluorescent protein-scorpion toxin chimera is a convenient molecular tool for studies of potassium channels. *Sci. Rep.* 2016;6: 33314.