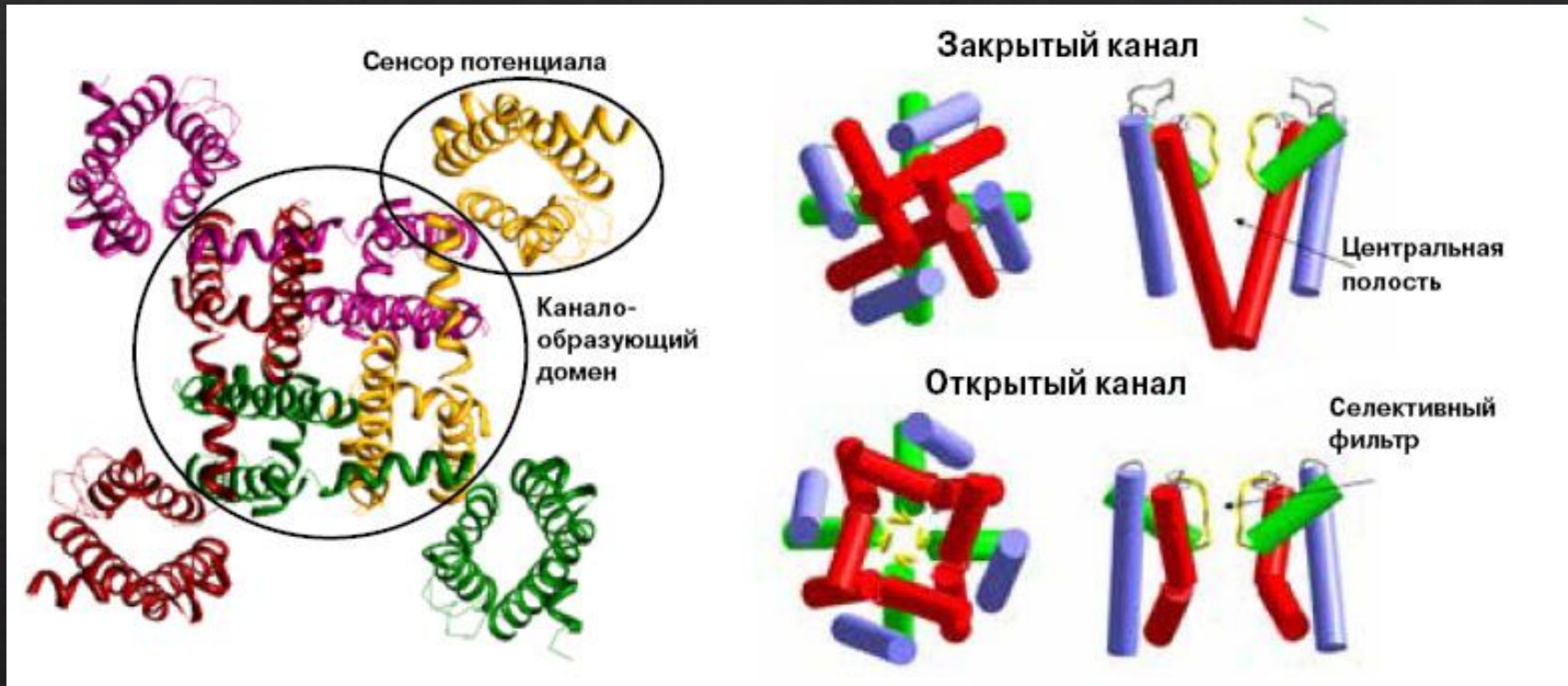


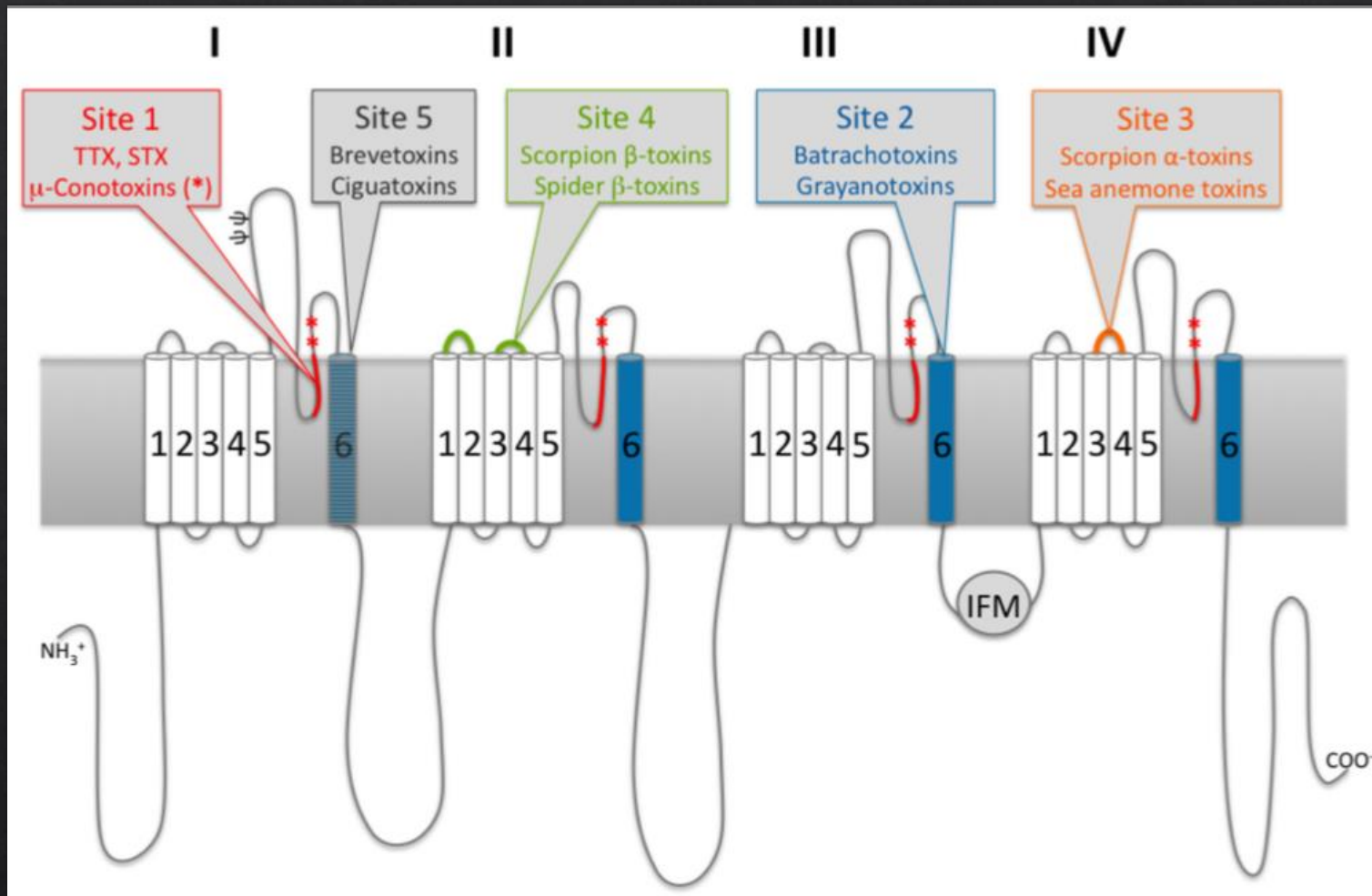
Анализ специфичности
взаимодействия токсина ВеМ9
с потенциал-чувствительными
натриевыми каналами

Черных Михаил

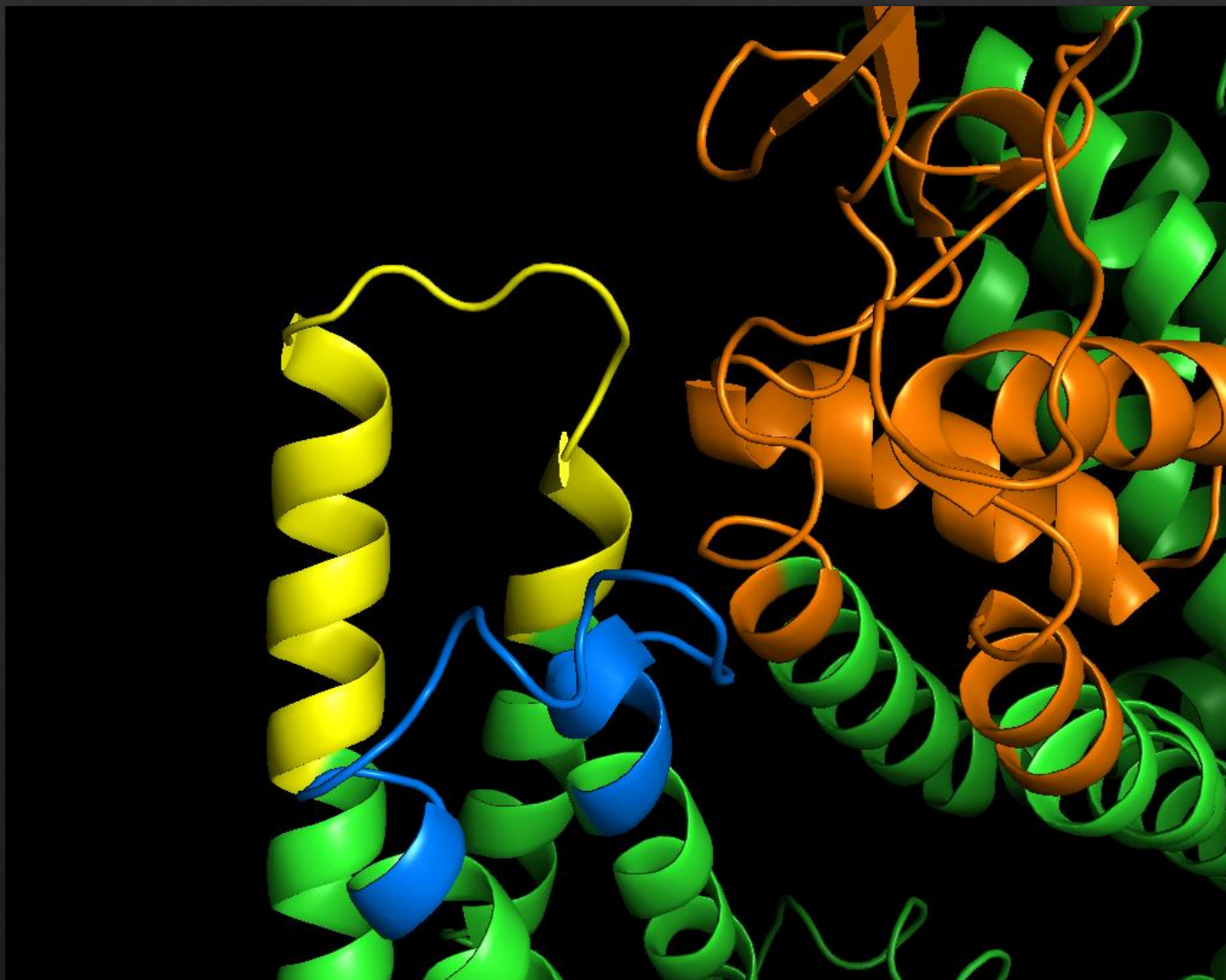
Потенциал-чувствительные натриевые каналы



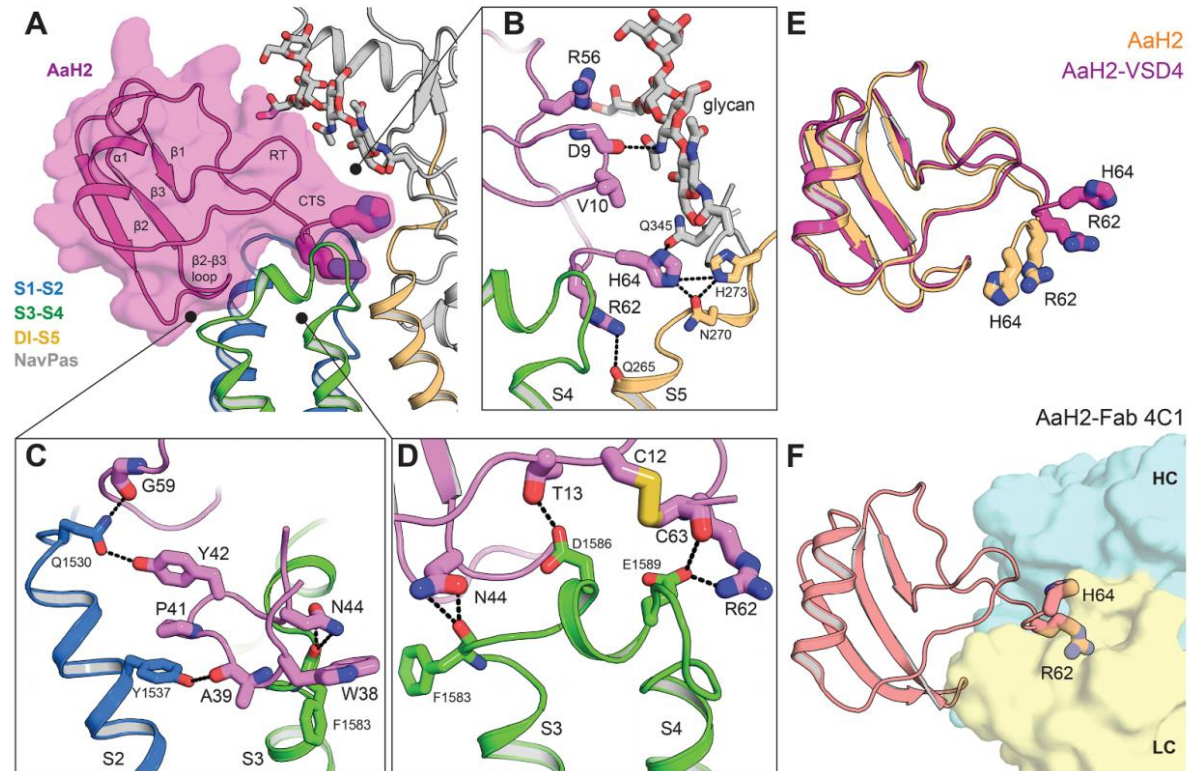
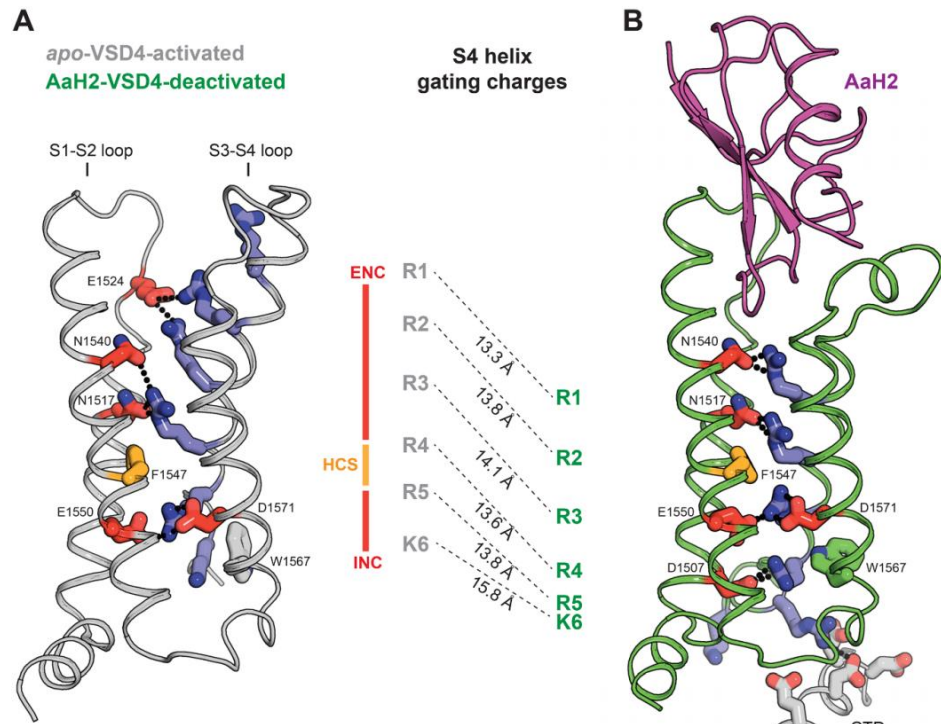
Токсины ПЧНК



Сайт 3



α -ТОКСИНЫ СКОРПИОНОВ



Классификация по специфичности

	α-подобные токсины	млекотоксины	инсектотоксины
Взаимодействие с ПЧНК млекопитающих	+	+	-
Взаимодействие с ПЧНК насекомых	+	-	+

Классификация по специфичности



Цели работы

Выявить зависимости свойств α -подобного токсина BeM9 и его мутантного варианта (8K $\rightarrow$ E, 17Y $\rightarrow$ G) от их аминокислотного состава и найти механизмы, объясняющие изменения в специфичности.

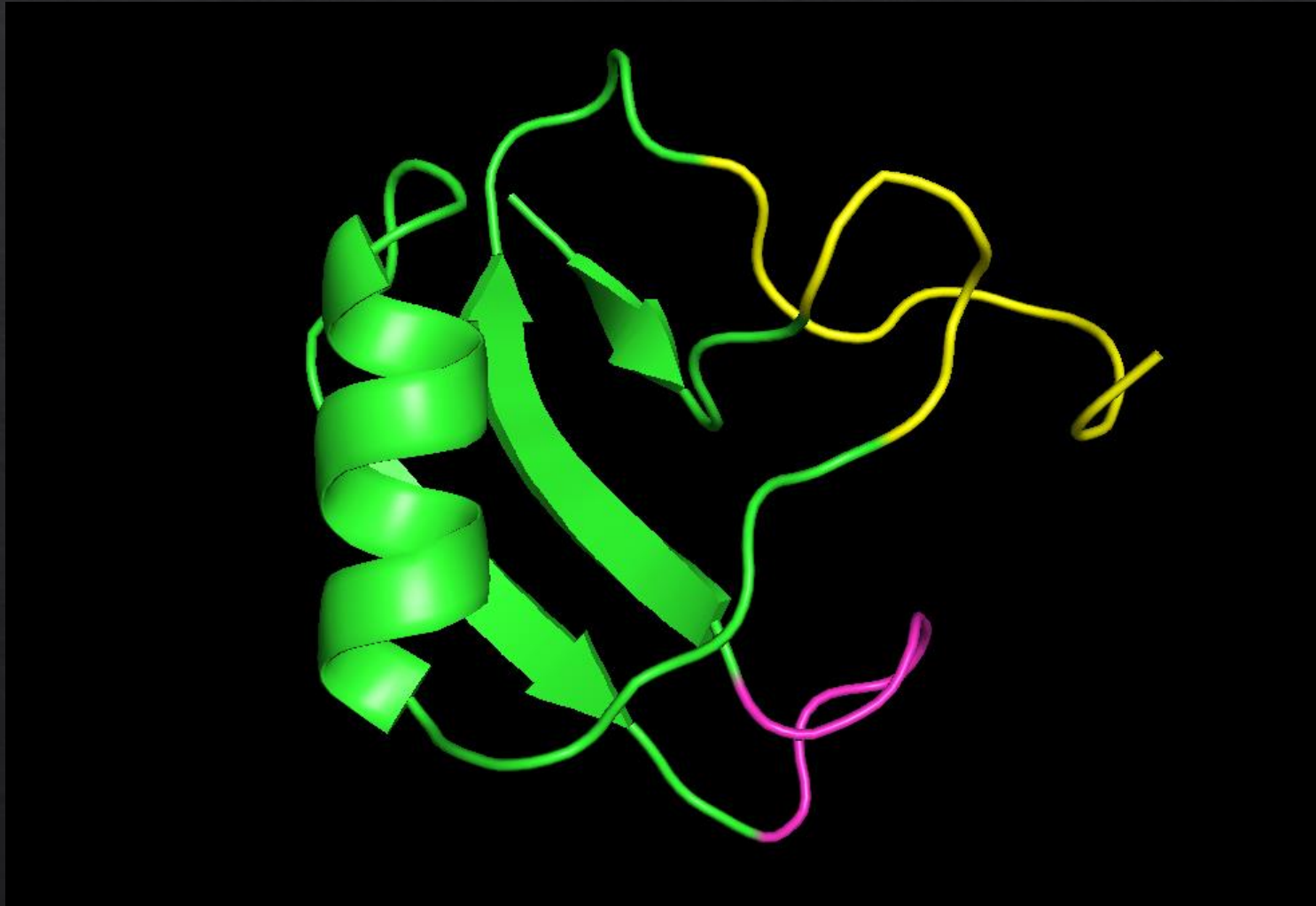
Aah2	VKDG [*] YIVDD [*] VNCTYFCG--RNAYCNEECTKLKGESGYCQWASPYGNACYCYKLPDHVRTKGPGRCH	64	mammal
BeM9	ARDAYIAKPHNCVYECYNPKGSYCNDLCTENGAESGYCQILGKYGNACWC [*] IQLPD [*] NVPIRIPGKCH	66	alpha-like
BeM9-EG	ARDAYIAE [*] PHNCVYECGNPKGSYCNDLCTENGAESGYCQILGKYGNACWC [*] IQLPD [*] NVPIRIPGKCH	66	insect
BjaIT	GRDAYIADNLNCA [*] YT [*] CG--SNSYCNT [*] ECTKNGAVSGYCQWL [*] GKYGNACWCINLPDKVPIRIPGACR	64	insect

The diagram illustrates the structural organization of the protein domains. It features four blue arrows pointing to the right, labeled $\beta 1$, α , $\beta 2$, and $\beta 3$ from left to right. A red horizontal bar is positioned above the α label, spanning the width of the $\beta 1$ and α regions.

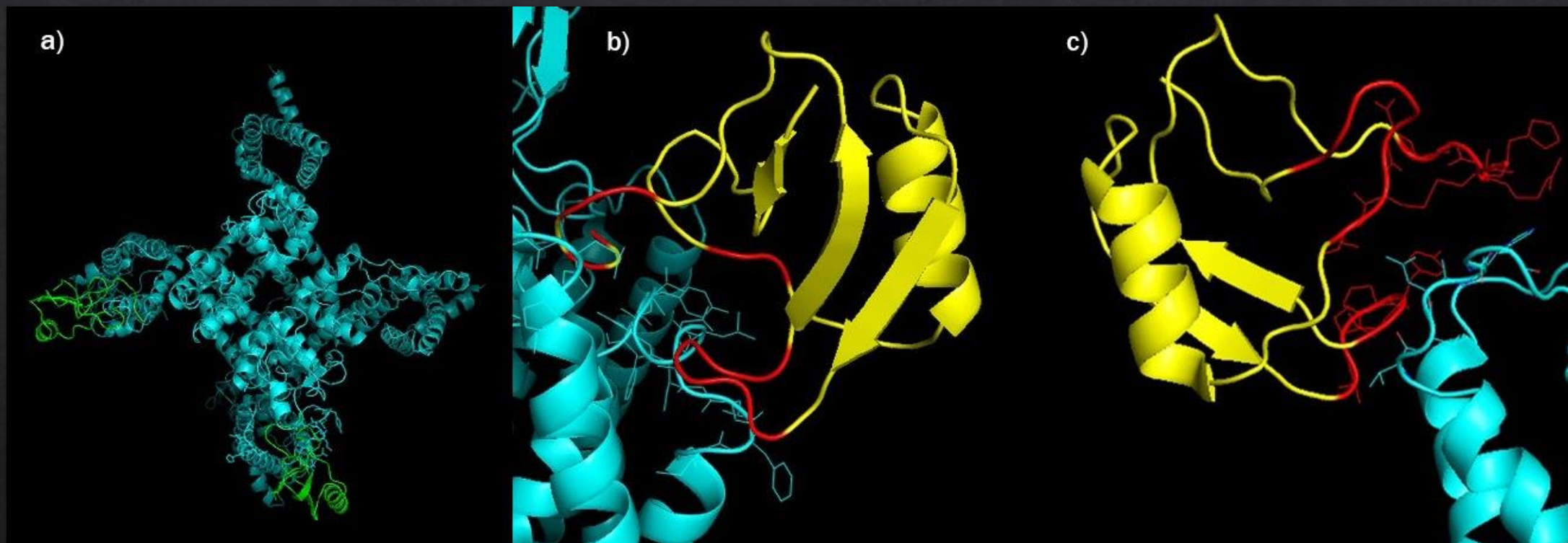
Задачи

- ◆ Построить модели исследуемых токсинов и их комплексов с ПЧНК
- ◆ Проанализировать отличия в траекториях молекулярной динамики токсинов по параметрам внутримолекулярной динамики и внутримолекулярным контактам
- ◆ Построить картографические проекции поверхности токсинов
- ◆ Рассчитать и систематизировать межмолекулярные контакты в комплексах токсин-канал
- ◆ Выявить вероятные механизмы, стоящие за различиями в специфичности

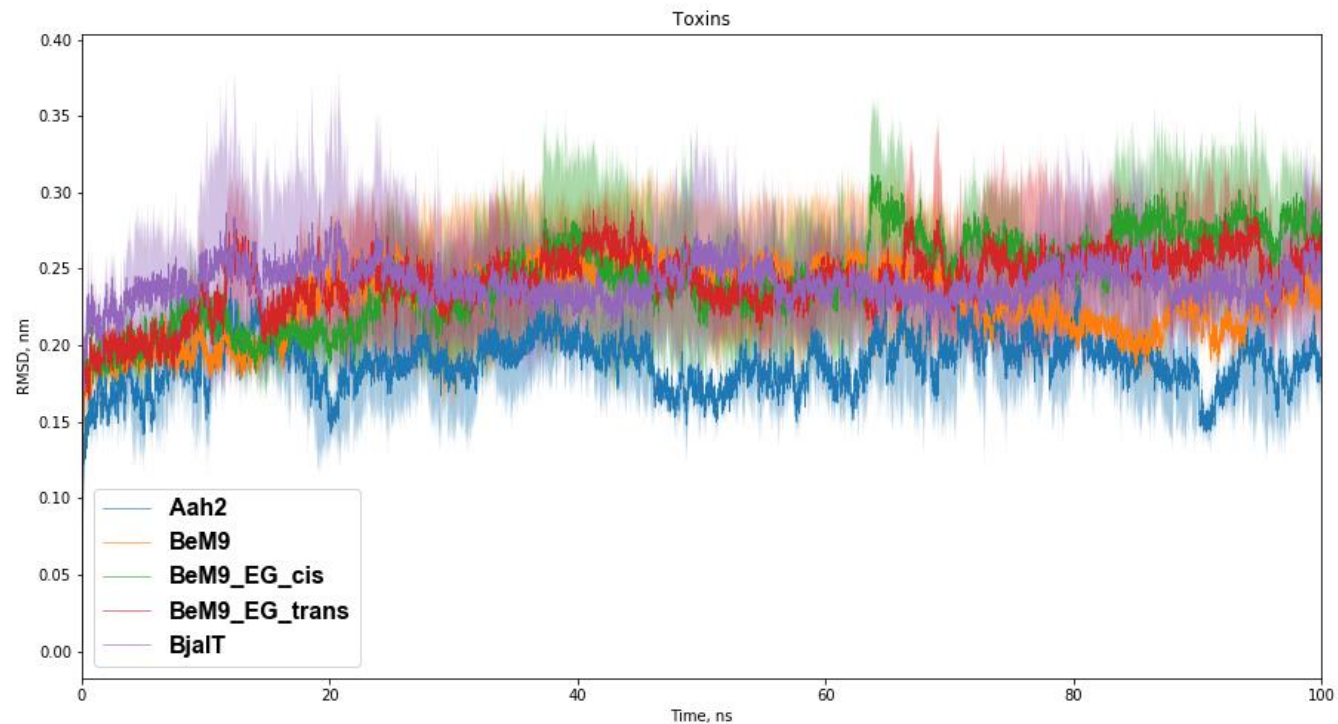
Структура токсина



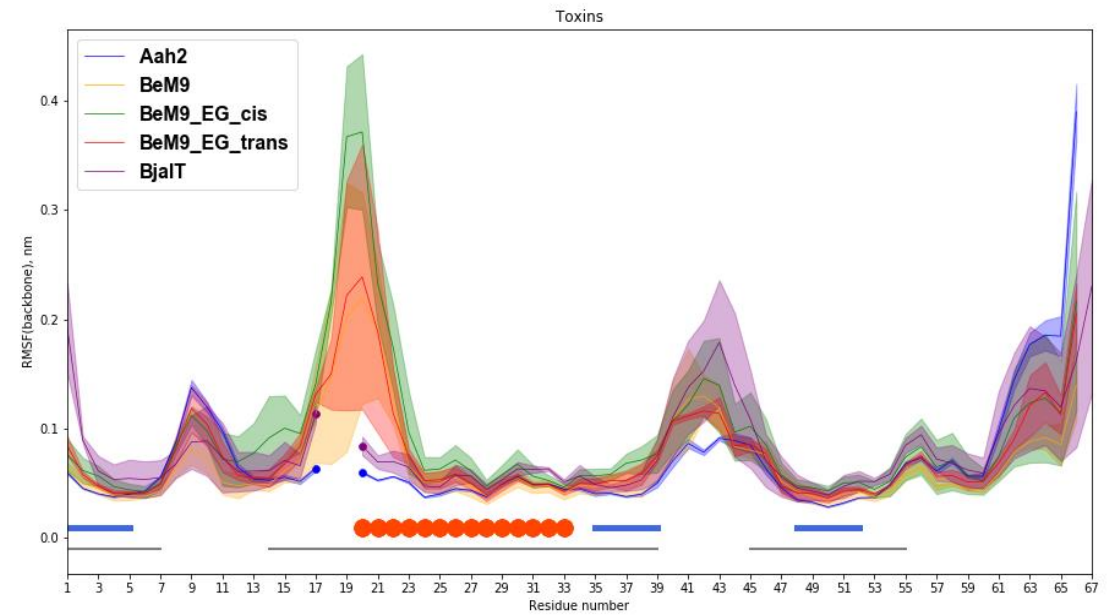
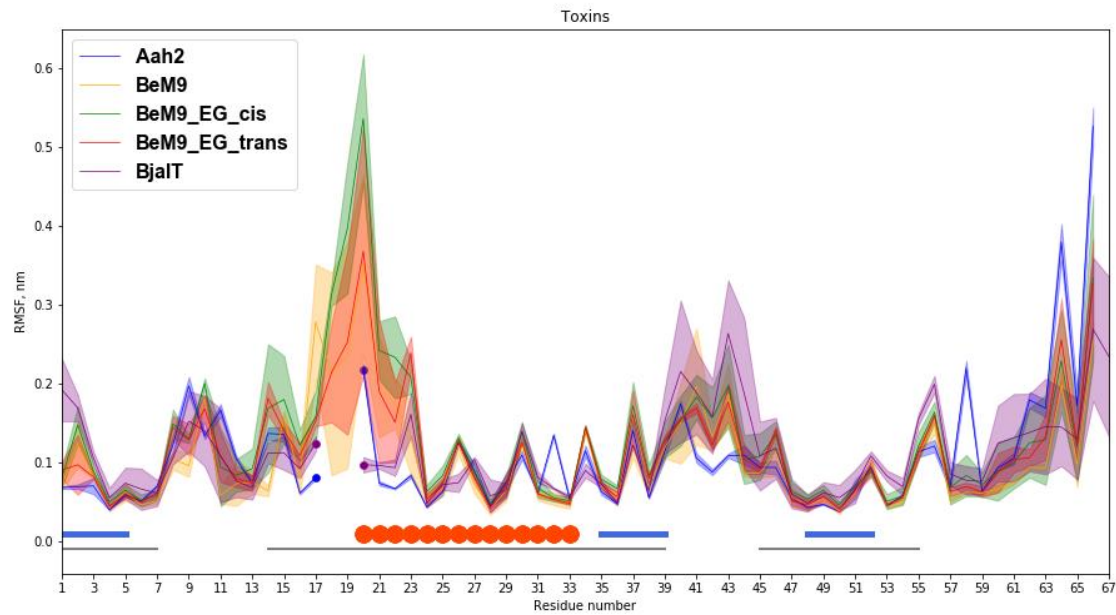
Структура комплекса



Анализ траекторий токсинов (RMSD)

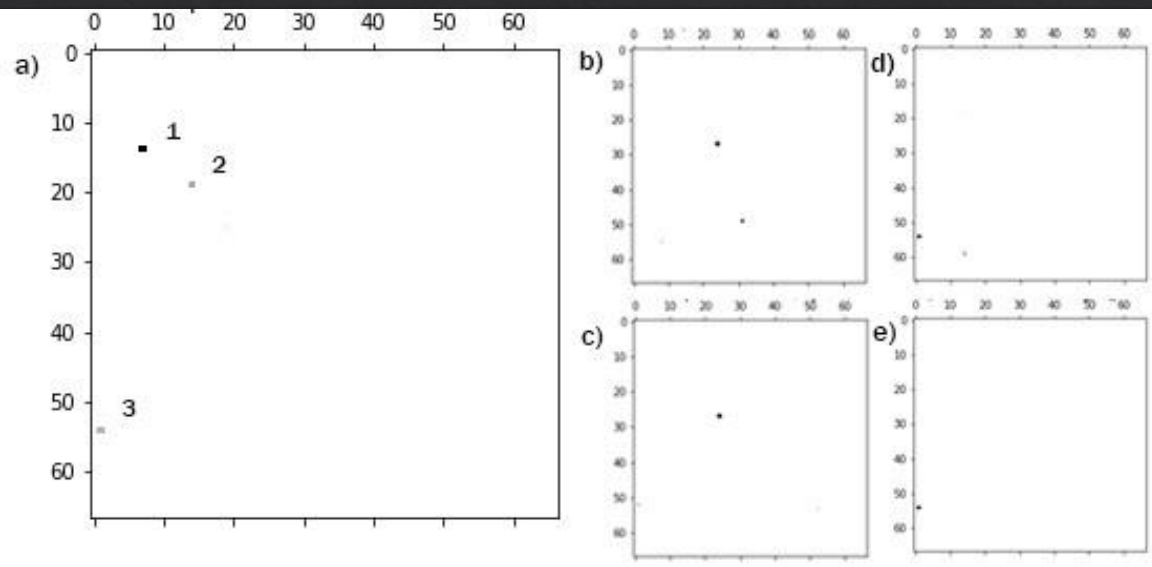


Анализ траекторий токсинов (RMSF)

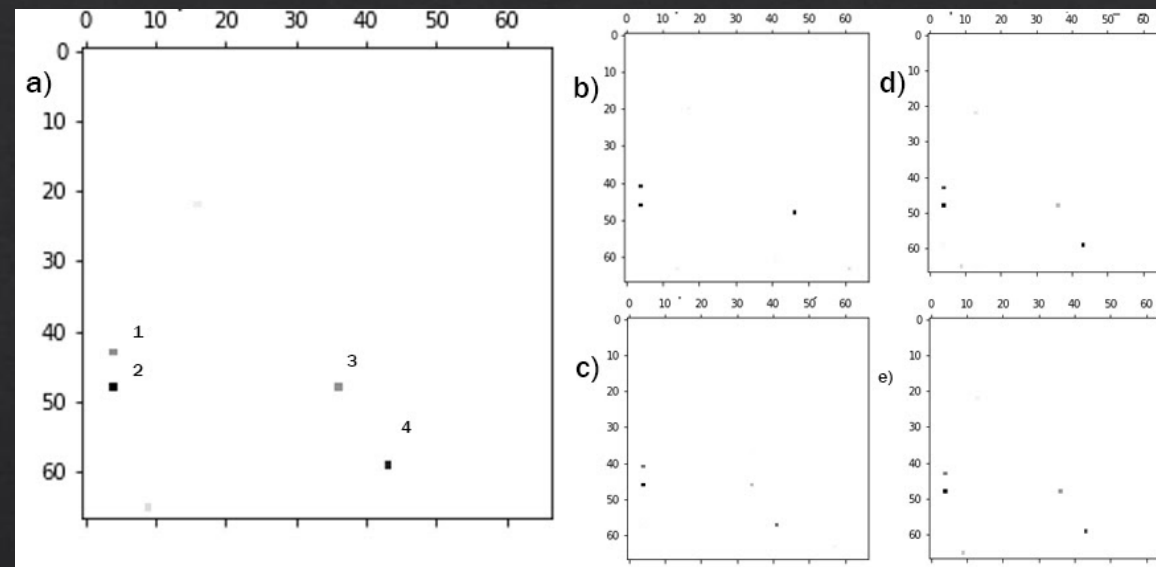


Внутримолекулярные контакты

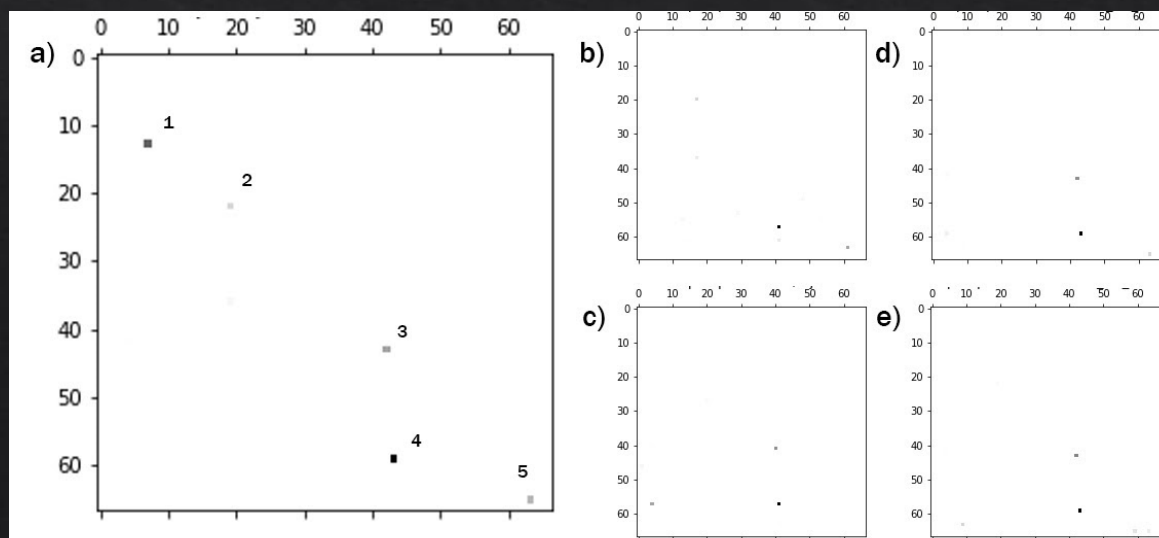
Солевые мостики



Параллельный стэкинг

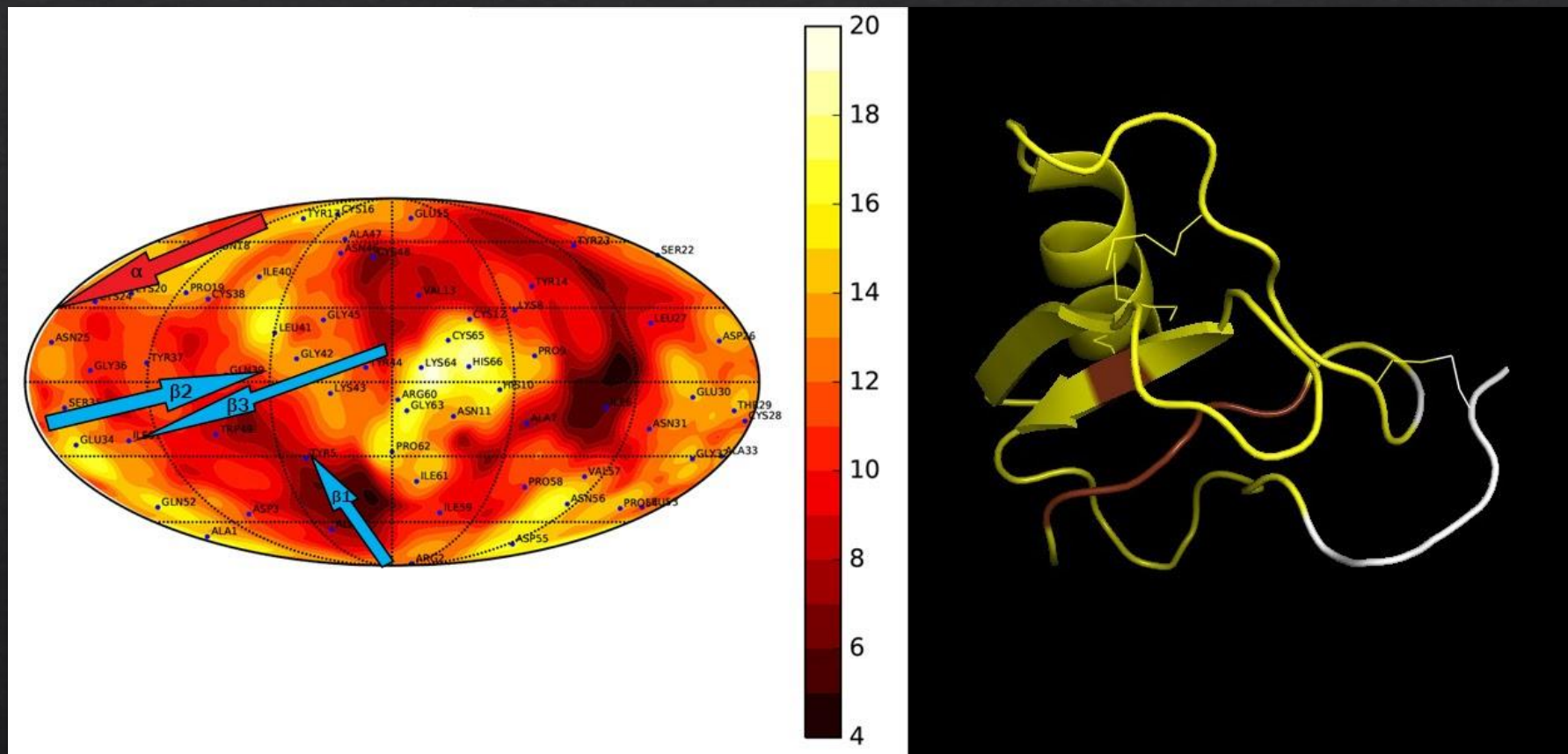


π -катионные взаимодействия

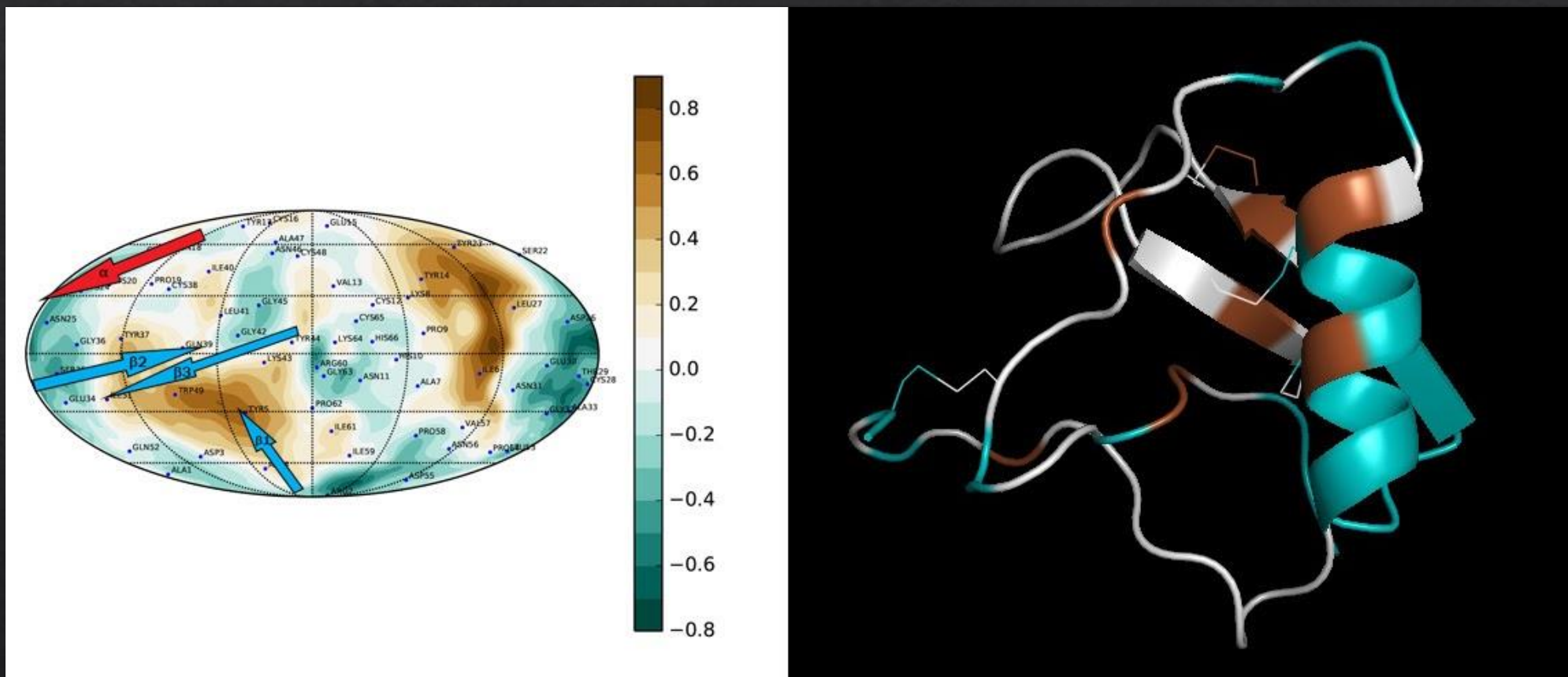


Буквенные обозначения:
а) ВеМ9 (нативный),
б) млекотоксин Aah2,
с) инсектотоксин VjaIT,
d) ВеМ9-мутант(цис-),
е) ВеМ9-мутант (транс).

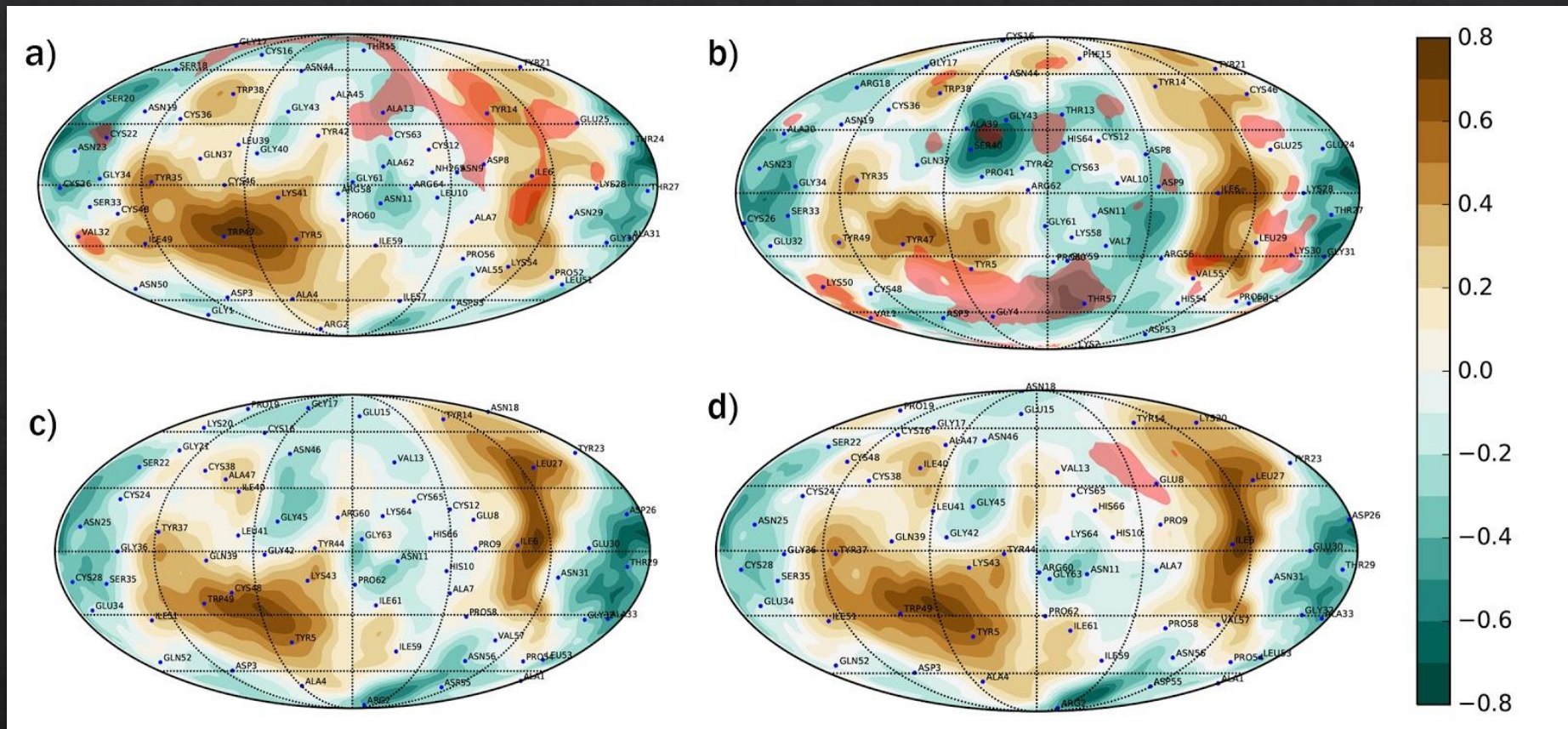
Картографические проекции рельефа



Картографические проекции молекулярного гидрофобного потенциала (МГП)

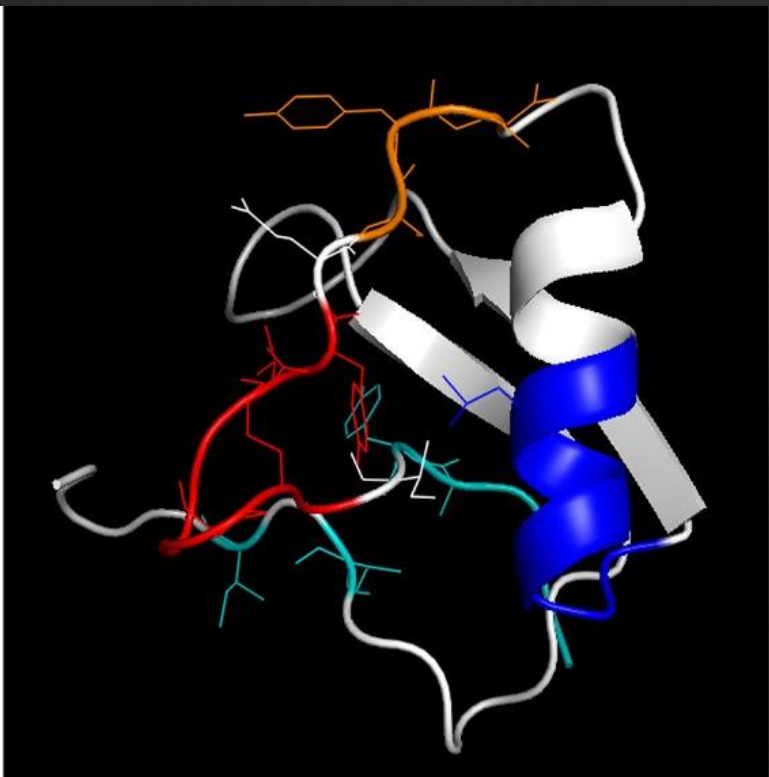


Сравнительные картографические проекции



Сравнительные по BeM9 карты (МГП) : а) VjaIT, б) Aah2, в) BeM9 мутанта (цис-), г) BeM9 мутанта (транс-)

MГП



Анализ межмолекулярных контактов

Остаток токсина	Канал			
	Chimera (Nav1.7-BgNav)		Nav1.4	NavBg
	6nt4(4)	6nt3(4)		
<u>Aah2</u>				
T13	<u>Asp1252 (h)</u>	<u>Glu1255 (h)</u>	<u>Asp1434 (h)</u>	<u>Asp1190 (h)</u>
F15		<u>Glu1255 (h)</u>		
A39				
P41			<u>Ser1434(h)</u>	
Y42			<u>Asp1435 (h)</u>	
N44			<u>Ala1432 (h)</u>	
<u>Lys58</u>				<u>Asp1190 (i)</u> <u>Lys1134 (h)</u>
G61	<u>Gln1194 (h)</u>			
R62	<u>Ser1260 (h)</u> <u>Glu1255 (h)</u>	<u>Phe1264 (π)</u> <u>Arg1265 (s)</u> <u>Arg1268 (s)</u> <u>Gln278 (h)</u>		<u>Glu1193 (h)</u> <u>Ser1198 (h)</u>
H64	<u>Asn283 (h)</u>	<u>Arg1265 (s, π)</u> <u>Met281 (h)</u>	<u>Asn275 (h)</u> <u>Lys377 (π)</u>	

Выводы

- ♦ Основные отличия токсинов по молекулярной подвижности сосредоточены в регионе петли перед α -спиралью и в её начале
- ♦ Карты внутримолекулярных контактов по солевым мостикам и π -катионным взаимодействиям свидетельствуют об изменении динамики модели ВеМ9 после внесения мутаций
- ♦ Метод сравнительных картографических проекций поверхности позволил выявить 4 основных региона различий, отличия между нативным токсином ВеМ9 и мутантами располагаются в 2 из них
- ♦ Вероятно, что за инсектоспецифичность токсинов скорпиона отвечает петля между $\beta 2$ и $\beta 3$, однако предварительные расчёты энергии взаимодействия этого не подтверждают
- ♦ Наиболее вероятный механизм потери ВеМ9 его сродства к ПЧНК млекопитающих связан с внесением мутации Y17G, которая изменяет структуру корового модуля, приближая модуль специфичности к таковому у инсектотоксинов