



УДК 591.145.2.088

**ФОТОАКТИВИРУЕМЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ПЕПТИДНО-БЕЛКОВЫХ  
ЛИГАНДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ СТРУКТУРЫ НЕЙРОРЕЦЕПТОРОВ**© 2000 г. Ю. Н. Уткин<sup>#</sup>*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

Поступила в редакцию 24.03.99 г. Принята к печати 03.09.99 г.

В обзоре рассматривается применение фотоактивируемых производных для исследования различных типов нейрорецепторов, принадлежащих к двум суперсемействам: G-белок-зависимым рецепторам и лигандуправляемым ионным каналам. Представлена также информация о структуре потенциал- и ионуправляемых ионных каналов, полученная с использованием фотоактивируемых производных нейротоксинов, взаимодействующих с этими белками. Обсуждаются возможности и перспективы использования фотоактивируемых лигандов для установления пространственной структуры нейрорецепторов.

*Ключевые слова:* нейрорецепторы; фотоаффинная модификация; пептидно-белковые лиганды; нейротоксины.

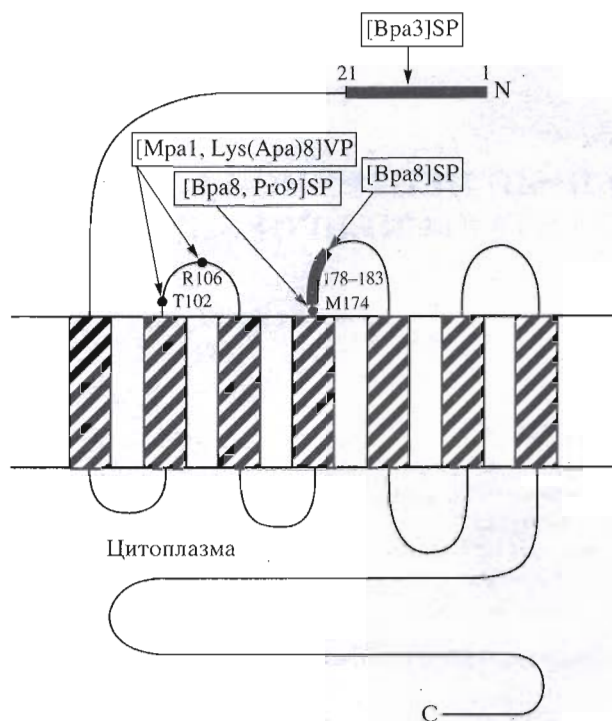
Нейрорецепторы (НР), представляющие собой трансмембранные белки, участвующие в передаче сигнала от одной нервной клетки к другой, могут быть разделены на два основных семейства: лигандуправляемые ионные каналы и G-белок-зависимые рецепторы [1]. К НР можно отнести также потенциал- и ионуправляемые ионные каналы. Последние по своей природе не имеют лигандов в строгом смысле слова, однако, существует целый ряд соединений, в том числе белков и пептидов, взаимодействующих с потенциал- и ионуправляемыми каналами. Взаимодействие последних с такими соединениями может быть рассмотрено как лиганд-рецепторное взаимодействие. Знание пространственной организации НР и, в особенности, структуры лигандсвязывающих участков является ключевым моментом в установлении механизма их функционирования. К настоящему времени большой объем информации о структуре НР получен с использованием методов иммунохимии, генетической инженерии (направленный мутагенез и конструирование химерных белков) и аффинной модификации. Фотоаффинная модификация, при проведении которой высокореакционные соединения генерируются непосредственно в комплексе лиганд-рецептор, позволяет в принципе идентифицировать не только определенные фрагменты аминокислотной последовательности НР, формирующие его функциональные домены, но также установить отдельные аминокислотные остатки, принимающие участие

в связывании лиганда. При использовании фотоактивируемых производных низкомолекулярных лигандов непептидной природы в ряде случаев удалось установить расположение функциональных доменов в аминокислотной последовательности НР, однако такие лиганды доступны не для всех типов рецепторов и более рациональным является использование для этих целей пептидно-белковых лигандов (ПЛ).

Фотоактивируемые производные ПЛ используются в основном для идентификации субъединиц рецепторов, участвующих в их связывании. Исследование механизма лиганд-рецепторного взаимодействия помимо идентификации субъединиц включает в себя и другие этапы, среди которых следует отметить установление взаимоотношений между участками связывания различных лигандов, а также определение фрагментов аминокислотной последовательности и отдельных аминокислот, принимающих участие в формировании активного центра рецептора. В настоящее время в белковой химии в качестве фотоактивируемых применяются соединения на основе арилазидов (генерирующие при облучении нитрен), диазосоединения и диазирины, дающие при фотоактивации карбены, а также производные бензофенона, облучение которых приводит к образованию триплетного бирадикала. Высокореакционные промежуточные соединения (нитрены, карбены и триплетные бирадикалы) имеют разные времена жизни и разную реакционную способность, что следует учитывать при интерпретации результатов, полученных с помощью разных методов.

Сокращения: НР – нейрорецепторы; ПЛ – пептидно-белковые лиганды.

<sup>#</sup> Тел.: (095) 330-73-74; e-mail: utkin@ibch.siohc.ras.ru.



**Рис. 1.** Идентифицированные с использованием фотоактивируемых производных ПЛ фрагменты, формирующие лигандсвязывающие участки в G-белок-зависимых рецепторах. VP – вазопрессин; Mpa – меркаптопропионил; Apa – *n*-азидофениламидино; SP – вещество P; Bra – *n*-бензоил-*L*-фенилаланил. Стрелками показаны остатки, образующие ковалентные связи с лигандами.

В настоящее время фотоактивируемые производные ПЛ используются для исследования НР различных семейств и типов, однако, результаты экспериментов зависят от многих факторов: доступности ПЛ и их биологически активных фотопроизводных, природы НР и его содержания в органе или ткани, типа используемой метки и ее расположения в молекуле и некоторых других условий. Поскольку в рамках одного обзора не представляется возможным охватить все имеющиеся данные, мы рассмотрим лишь наиболее интересные результаты, полученные при изучении рецепторов различных типов.

**G-белок-зависимые рецепторы нейропептидов.** Рецепторы этого семейства состоят из одной полипептидной цепи, включающей семь предположительно  $\alpha$ -спиральных гидрофобных фрагментов, пронизывающих мембрану. На начальных этапах исследования фотоактивируемые производные нейропептидов использовались и используются для идентификации рецепторов этого типа в тканях организма. Так, в частности, с применением фотопроизводных холецистокинина [2], вазопрессина [3] и вещества P [4, 5] определены молекулярные массы полипептидов, взаимодействующие

с этими лигандами. Фотоактивируемые аналоги холецистокинина [2] и вещества P [6] позволили установить высокую степень гликозилирования соответствующих рецепторов.

Несмотря на то что к настоящему времени описано большое число фотоактивируемых производных нейропептидов, лишь некоторые из них были использованы для мечения рецепторов и только для нескольких производных идентифицированы аминокислотные остатки в лигандсвязывающих участках рецепторов, образующие фотоиндуцированные сшивки с лигандом. Так, Arg106, расположенный в экстрацеллюлярной петле, соединяющей трансмембранные фрагменты 2 и 3 вазопрессинового V2-рецептора, с применением фотопроизводного вазопрессина идентифицирован как основное место ковалентного включения метки [7]. Это было первым прямым доказательством участия экстрацеллюлярного домена в связывании пептидного лиганда G-белок-зависимым рецептором.

Несколько работ [8–10] посвящено локализации аминокислотных остатков, формирующих лигандсвязывающий участок в G-белок-зависимом рецепторе NK-1 вещества P. Так, с использованием вещества P, содержащего остаток *n*-бензоил-*L*-фенилаланина вместо Phe8, показано, что участок связывания этого нейропептида в NK-1-рецепторах мозга крысы и моноцитарной клеточной линии P388D<sub>1</sub> мыши включает фрагмент 178–183 второй экстрацеллюлярной петли [8, 9]. Дополнительное введение биотинильного остатка по N-концевой  $\alpha$ -аминогруппе вещества P позволило установить аминокислотный остаток рецептора, с которым лиганд образует ковалентную сшивку [10]. Однако им оказался остаток Met174, не входящий в указанный выше фрагмент 178–183. Возможной причиной расхождения результатов могут быть различия как в структуре использованных производных, так и в структуре самого рецептора, поскольку работы выполнены на NK-1-рецепторах крысы [9] и человека [10]. Показано также, что производное вещества P, содержащее остаток *n*-бензоилфенилаланина в положении 3, сшивается с N-концевым экстрацеллюлярным фрагментом 1–21 рецептора [8]. Таким образом, введение фотометок в различные положения молекулы нейропептидных лигандов G-белок-зависимых рецепторов позволило установить экстрацеллюлярные фрагменты рецепторов, формирующие лигандсвязывающие участки (рис. 1). Очевидно, что для более полной характеристики этого участка потребуются производные лигандов, содержащие фотоактивируемые группы в различных положениях.

**Потенциал- и ионуправляемые ионные каналы.** В отличие от G-белок-зависимых рецепторов потенциал- и ионуправляемые ионные каналы яв-

ляются олигомерными белками, в состав которых входит несколько субъединиц с различными молекулярными массами. Все эти белки содержат основную субъединицу ( $\alpha$  или  $\alpha_1$ ), отвечающую за их ионную проводимость, и одну или несколько вспомогательных субъединиц, модулирующих свойства основной субъединицы. Так, потенциалзависимые калиевые каналы мозга имеют одну дополнительную  $\beta$ -субъединицу, потенциалзависимые натриевые каналы мозга – две дополнительные субъединицы  $\beta_1$  и  $\beta_2$ , а кальциевые каналы – до четырех дополнительных субъединиц ( $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\delta$ ) [11].

ПЛ потенциал- и ионуправляемых ионных каналов представлены в основном нейротоксинами, выделенными из ядов различных животных (пчел, скорпионов, анемон, змей и др.). При этом в некоторых случаях на одном белке имеется несколько неперекрывающихся участков связывания разных токсинов. Так, потенциалзависимый натриевый канал имеет четыре участка связывания нейротоксинов, три из них связывают белково-пептидные нейротоксины:  $\alpha$ - и  $\beta$ -токсины скорпионов, токсины морских анемон и  $\mu$ -коконотоксины [12].

С использованием фотоактивируемых производных  $\alpha$ -токсинов скорпионов в составе натриевого канала впервые была идентифицирована  $\beta_1$ -субъединица [13, 14], при этом наблюдалось мечение и  $\alpha$ -субъединицы. Фотоаналоги  $\beta$ -токсинов также метили обе субъединицы [14, 15], что позволило авторам этих работ сделать вывод о расположении участков связывания токсинов скорпионов в месте контакта субъединиц. Фотопроизводные  $\alpha$ - и  $\beta$ -токсинов скорпионов использовались также для анализа биосинтеза натриевых каналов в первичной культуре нейронов мозга крысы [16]. Радиоактивные фотоактивируемые производные  $\mu$ -коконотоксина GIIA специфически метили потенциалзависимый натриевый канал угря, который содержит только  $\alpha$ -субъединицу с молекулярной массой 260 кДа [17, 18]. С помощью производного  $\alpha$ -токсина V из яда скорпиона *Leiurus quinquestriatus* идентифицирован фрагмент канала (включающий остатки 335-378), который принимает участие в формировании токсинсвязывающего участка [19] (рис. 2). Однако вследствие сложной структуры канала и его низкого содержания в ткани более точную локализацию участка связывания токсинов провести не удалось.

Функции калиевых каналов могут блокироваться токсинами, содержащимися в ядах змей ( $\beta$ -бунгаротоксин, дендротоксины), пчел (апамин, MCD-пептид), скорпионов, морских анемон (каликлудины) и морских улиток ( $\kappa$ -коконотоксины). Фотоаффинное мечение мембран мозга цыпленка производными  $\beta$ -бунгаротоксина позволило впервые экспериментально установить молеку-

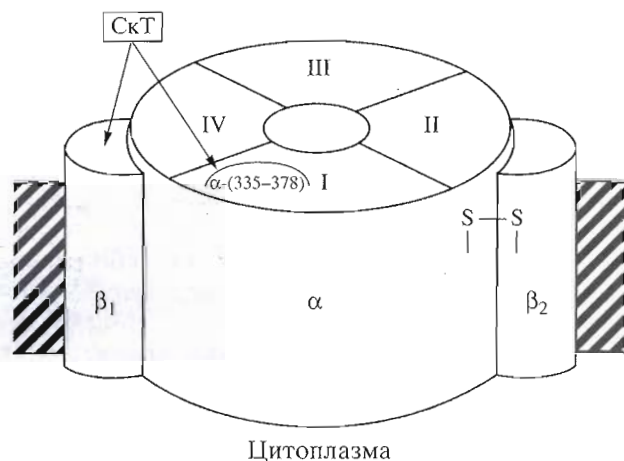


Рис. 2. Схематическое представление структуры потенциалзависимого натриевого канала с указанием (стрелками) участков мечения фотоактивируемыми производными скорпионовых токсинов. СкТ – скорпионовый токсин; I–IV – гомологичные домены  $\alpha$ -субъединицы.

лярные массы субъединиц, формирующих потенциалзависимый калиевый канал (75 и 28 кДа) [20]. Несмотря на наличие большого числа ПЛ потенциалзависимых калиевых каналов, применение фотоактивируемых производных этих лигандов исчерпывается цитированной выше работой.

Из всех кальцийактивируемых калиевых каналов лишь каналы малой проводимости связывают апамин. Фотоактивируемые производные этого токсина были неоднократно использованы для изучения структуры каналов малой проводимости ( $SK_{Ca}$ ) [21–23]. При этом в зависимости от химической природы фотометки или ее расположения в молекуле токсина наблюдали мечение полипептидов с молекулярными массами 86, 59, 44, 33 и 22 кДа. Высказывалось предположение, что лишь полипептиды 86 и 33 кДа представляют собой субъединицы  $SK_{Ca}$ , а остальные – продукты их протеолиза. Однако результаты тщательной выполненной работы [24], в которой использовано несколько производных апамина, содержащих различные метки в идентифицированных положениях молекулы, свидетельствуют об олигомерной структуре  $SK_{Ca}$ , включающих субъединицы с массой 86, 59 и ~30 кДа.

Фотоактивируемые производные ПЛ кальциевых каналов, представленные к настоящему времени производными  $\omega$ -коконотоксинов, использовались лишь для идентификации субъединиц, входящих в состав канала [25–27]. При этом обнаружено, что в состав кальциевого канала N-типа из мозга крысы входят субъединицы с молекулярными массами 310, 240 и 34 кДа.

*Лигандуправляемые ионные каналы.* Это суперсемейство рецепторов включает множество

олигомерных трансмембранных белков, характерной особенностью структуры которых является наличие поры или ионного канала, проницаемость которого регулируется связыванием определенного лиганда. Наиболее хорошо охарактеризованным в структурном отношении является семейство пентамерных рецепторов, включающее глициновые, 5-НТЗ серотониновые, GABA<sub>A</sub>-рецепторы и никотиновые холинергические рецепторы. Успехи в исследовании рецепторов этого семейства не в последнюю очередь обусловлены наличием высокоспецифических ПЛ никотиновых холинорецепторов:  $\alpha$ -нейротоксинов змей и  $\alpha$ -конотоксинов морских улиток. Вместе с тем до сих пор не обнаружены ПЛ глициновых и GABA<sub>A</sub>-рецепторов и лишь совсем недавно найден полипептидный токсин ( $\sigma$ -конотоксин), блокирующий серотониновый 5-НТЗ-рецептор [28].

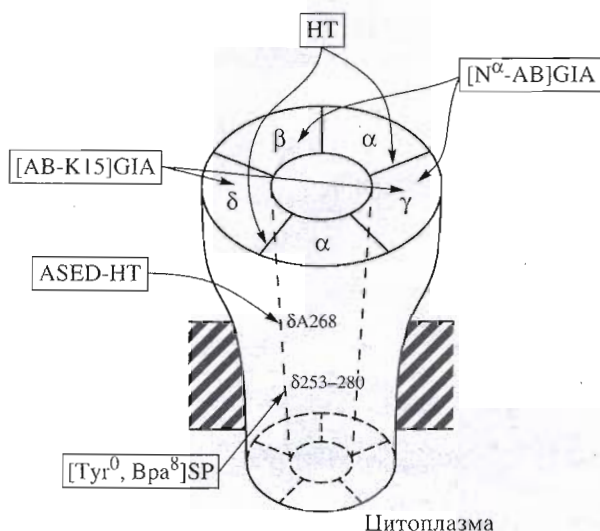
Молекула никотинового холинорецептора состоит из 5 субъединиц ( $\alpha_2\beta\gamma\delta$ ) и содержит два лигандсвязывающих участка, с которыми взаимодействуют пептидные и белковые нейротоксины. Впервые фотоактивируемые производные  $\alpha$ -нейротоксинов змей использованы для мечения холинорецептора 20 лет тому назад [29, 30]. В этих же работах впервые обнаружено взаимодействие  $\alpha$ -нейротоксинов с не- $\alpha$ -субъединицами, но несмотря на это, довольно долго считалось, что лигандсвязывающие участки расположены исключительно на  $\alpha$ -субъединицах [31]. Лишь около 10 лет тому назад с использованием фотоактивируемых производных  $\alpha$ -нейротоксинов, содержащих метки в определенных положениях аминокислотной последовательности, было убедительно показано участие в формировании токсинсвязывающих участков, кроме  $\alpha$ -, также  $\gamma$ - и  $\delta$ -субъединиц [32, 33]. Дальнейшее исследование мечения рецептора производными нейротоксина II яда *Naja oxiana*, содержащими метки различной химической природы, показало, что картина мечения зависит как от положения метки в молекуле токсина, так и от химической природы самой метки [34–36]. Полученные при этом результаты могут быть интерпретированы в рамках принятой модели [33]: один из участков связывания нейротоксинов включает  $\alpha$ - и  $\gamma$ -субъединицы, а другой участок –  $\alpha$ - и  $\delta$ -субъединицы. В то же время эти участки должны иметь достаточно сложную конфигурацию, охватывая относительно плоскую молекулу токсина с противоположных сторон. Обнаруженная нами совсем недавно эффективная сшивка петли I нейротоксина II с  $\beta$ -субъединицей [37], по-видимому, свидетельствует о том, что и эта субъединица принимает участие в формировании токсинсвязывающих участков.

Следует отметить, что два лигандсвязывающих участка в холинорецепторе не эквивалентны. Пришивку различных фотопроизводных нейротоксина II в присутствии *d*-тубокурарина в из-

меняющихся концентрациях позволила сделать вывод о том, что в формировании участка, обладающего высоким сродством к *d*-тубокурарину и, возможно, низким к нейротоксину, принимают участие одна из  $\alpha$ -субъединиц,  $\gamma$ - и, по-видимому,  $\beta$ -субъединицы [32, 35]. В то же время в состав участка, связывающего *d*-тубокурарин с низким, а нейротоксин – с высоким сродством, входят другая  $\alpha$ -субъединица и  $\delta$ -субъединица. Расчеты, проведенные с учетом кристаллической структуры кобратоксина, показали, что расстояния между  $\alpha$ - и  $\delta$ - или  $\alpha$ - и  $\gamma$ -субъединицами в этих участках не должны превышать 1.3 нм [36].

Аналогичный эксперимент с использованием в качестве вытеснителя  $\alpha$ -конотоксина GI позволил установить наличие в рецепторе двух участков связывания конотоксина, имеющих разное сродство к этому лиганду [38]. При этом  $\alpha/\gamma$ -участок имеет более высокое сродство к конотоксину по сравнению с  $\alpha/\delta$ -участком. Фотоактивируемые производные самих конотоксинов также использовались для мечения рецептора [37, 39]. Показано что, азидное фотопроизводное конотоксина GIA сшивалось в основном с  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединицами, если метка находилась на *N*-концевой  $\alpha$ -аминогруппе, в то время как производное с замещенной  $\epsilon$ -аминогруппой Lys15 в основном метило  $\gamma$ - и  $\delta$ -субъединицы [39]. Интересно, что при этом  $\alpha$ -субъединица практически не затрагивалась. Фотоаналог конотоксина GI, содержащий остаток бензоилфенилаланина в положении II, с низким выходом сшивался со всеми субъединицами рецептора [37]. Эти данные свидетельствуют о том, что, по-видимому, все субъединицы холинорецептора вовлечены в формирование участка связывания конотоксинов, при этом основная роль принадлежит не- $\alpha$ -субъединицам.

К настоящему времени только для одного из фотопроизводных нейротоксинов идентифицирован аминокислотный остаток рецептора, с которым образуется ковалентная сшивка. Это производное нейротоксина II, содержащее метку на Lys25 и образующее сшивку с остатком Ala268  $\delta$ -субъединицы [40]. Остаток Ala268 расположен в верхней части предполагаемого каналобразующего трансмембранного фрагмента M2. Это означает, что центр токсинсвязывающего участка расположен на расстоянии около 4 нм от экстрацеллюлярной поверхности рецептора. Расположение лигандсвязывающих участков в областях контакта субъединиц и в достаточной близости к каналобразующей части рецептора является, вероятно, ключевым элементом структуры, облегчающим протекание аллостерических превращений, в результате которых связывание лигандов приводит к открыванию канала и физиологическому ответу.



**Рис. 3.** Мечение никотинового холинорецептора фотоактивируемыми производными токсинов и вещества Р. НТ – нейротоксин; АСЕД – *n*-азидосалициламидоэтил-1,3'-дителиопропионил; АВ – *n*-азидосалицил; GIA – конотоксин GIA; Вра – *n*-бензоил-*L*-фенилаланил; SP – вещество Р.

Еще для одного пептидного лиганда холинорецептора локализован участок связывания с использованием фотоактивируемого производного. Это вещество Р, ундекапептид – неконкурентный антагонист холинорецептора. Фотопроизводное вещества Р, имеющее остаток бензоилфенилаланина в положении 8, образует в присутствии агониста ковалентную сшивку с δ-субъединицей рецептора в области Ser253–Glu280 [41], включающей трансмембранный фрагмент М2. Связывание вещества Р в этой области может, по-видимому, объяснить его действие как неконкурентного антагониста.

Данные о структурной организации холинорецептора, полученные с использованием фотоактивируемых производных токсинов и вещества Р, схематически представлены на рис. 3.

Таким образом, использование фотоактивируемых производных ПЛ позволило установить существенные особенности структурной организации НР. Однако, несомненно, возможности фотоактивируемых производных реализованы далеко не полностью. Возможно, по мере дальнейшего совершенствования аналитических методов белковой химии, которое позволит проводить анализ структуры белков на пикомольном или даже фемтомольном уровне, будет получена более подробная информация о структуре лигандсвязывающих участков. Большие возможности здесь имеются у метода масс-спектрометрии, в частности MALDI-MS. Другим направлением развития метода может быть поиск новых типов фотоактивируемых меток. Особые надежды здесь возла-

гаются на метки бензофенонового типа, в частности недавно была предложена модификация этой метки, позволяющая вводить радиоактивный йод непосредственно в саму метку [42].

Автор благодарит профессора В.И. Цетлина за ценные советы и помощь, оказанную при подготовке данной публикации, а также А.Н. Некрасова за помощь в подготовке иллюстраций.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hucho F., Tsetlin V.I. // *J. Neurochem.* 1996. V. 66. P. 1781–1792.
2. Thiele C., Fahrenholz F. // *Biochemistry.* 1993. V. 32. P. 2741–2746.
3. Barbeau D., Bouley R., Escher E. // *Int. J. Pept. Protein Res.* 1996. V. 48. P. 364–373.
4. Boyd N.D., White C.F., Cerpa R., Kaiser E.T., Lee-man S.E. // *Biochemistry.* 1991. V. 30. P. 336–342.
5. Kasheverov I.E., Utkin Yu.N., Franke P., Tsetlin V.I. // *J. Peptide Res.* 1997. V. 50. P. 408–414.
6. Kage R., Hershey A.D., Krause J.E., Boyd N.D., Lee-man S.E. // *J. Neurochem.* 1995. V. 64. P. 316–321.
7. Kojro E., Eich P., Gimpl G., Fahrenholz F. // *Biochemistry.* 1993. V. 32. P. 13537–13544.
8. Li Y.-M., Marnerakis M., Stimson E.R., Maggio J.E. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 1213–1220.
9. Boyd N.D., Kage R., Dumas J.J., Krause J.E., Lee-man S.E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. P. 433–437.
10. Girault S., Sagan S., Bolbach G., Lavielle S., Chassaign G. // *Eur. J. Biochem.* 1996. V. 240. P. 215–222.
11. Isom L.L., De Jongh K.S., Catterall W.A. // *Neuron.* 1994. V. 12. P. 1183–1194.
12. Catterall W.A. // *Annu. Rev. Biochem.* 1995. V. 64. P. 493–531.
13. Beneski D.A., Catterall W.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1980. V. 77. P. 639–643.
14. Darbon H., Jover E., Couraud F., Rochat H. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1983. V. 115. P. 415–422.
15. Sharkley R.G., Beneski D.A., Catterall W.A. // *Biochemistry.* 1984. V. 23. P. 6078–6086.
16. Jover E., Massacrier A., Cau P., Martin M.-F., Couraud F. // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. P. 1542–1548.
17. Becker S., Liebe R., Gordon R.D. // *FEBS Lett.* 1990. V. 272. P. 152–154.
18. Hatanaka Y., Nakayama H., Kanaoka Y. // *Chem. Pharm. Bull.* 1992. V. 40. P. 2537–2539.
19. Tejedor F.J., Catterall W.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1988. V. 85. P. 8742–8746.
20. Schmidt R.R., Betz H. // *Biochemistry.* 1989. V. 28. P. 8346–8350.
21. Seagar M.J., Labbe-Jullie C., Granier C., van Rietschoten J., Couraud F. // *J. Biol. Chem.* 1985. V. 260. P. 3895–3898.
22. Seagar M.J., Labbe-Jullie C., Granier C., Goll A., Glassmann H., van Rietschoten J., Couraud F. // *Biochemistry.* 1986. V. 25. P. 4051–4057.

23. *Auguste P., Hugues M., Lazdunski M.* // FEBS Lett. 1989. V. 248. P. 150–154.
24. *Wadsworth J.D.F., Doorty K.B., Ganellin C.R., Strong P.N.* // Biochemistry. 1996. V. 35. P. 7917–7927.
25. *Abe T., Saisu H.* // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. P. 9877–9882.
26. *Ahlijanian M.R., Stressnig J., Catterall W.A.* // J. Biol. Chem. 1991. V. 266. P. 20192–20197.
27. *Leveque C., el Far O., Martin-Moutot N., Sato K., Kato R., Takahashi M., Seagar M.J.* // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 6306–6312.
28. *England L.J., Imperial J., Jacobsen R., Craig A.G., Gulyas J., Akhtar M., Rivier J., Julius D., Olivera B.M.* // Science. 1998. V. 281. P. 575–578.
29. *Hucho F.* // FEBS Lett. 1979. V. 103. P. 27–32.
30. *Witzemann V., Muchmore D., Raftery M.A.* // Biochemistry. 1979. V. 18. P. 5511–5518.
31. *Gershoni J.M., Hawrot E., Lentz T.L.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1983. V. 80. P. 4973–4977.
32. *Kreienkamp H.-J., Utkin Y.N., Weise C., Machold J., Tsetlin V.I., Hucho F.* // Biochemistry. 1992. V. 31. P. 8239–8244.
33. *Herve M., Pillet L., Humbert P., Tremeau O., Dcancel F., Hirth C., Menez A.* // Eur. J. Biochem. 1992. V. 208. P. 125–131.
34. *Utkin Y.N., Hatanaka Y., Franke P., Machold J., Hucho F., Tsetlin V.I.* // J. Prot. Chem. 1995. V. 14. P. 197–203.
35. *Machold J., Weise C., Utkin Y.N., Franke P., Tsetlin V.I., Hucho F.* // Eur. J. Biochem. 1995. V. 228. P. 947–954.
36. *Utkin Y.N., Krivoshein A.V., Davydov V.L., Kasheverov I.E., Franke P., Maslennikov I.V., Arseniev A.S., Hucho F., Tsetlin V.I.* // Eur. J. Biochem. 1998. V. 253. P. 229–235.
37. *Kasheverov I., Zhmak M., Chivilyov E., Saez-Briones P., Utkin Yu., Hucho F., Tsetlin V.* // J. Recept. Signal Transduct. Res. 1999. V. 19. P. 559–571.
38. *Utkin Y.N., Kobayashi Y., Hucho F., Tsetlin V.I.* // Toxicol. 1994. V. 32. P. 1153–1157.
39. *Myers R.A., Zafaralla G.C., Gray W.R., Abbott J., Cruz L.J., Olivera B.M.* // Biochemistry. 1991. V. 30. P. 9370–9377.
40. *Machold J., Utkin Y., Kirsch D., Kaufmann R., Tsetlin V., Hucho F.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. P. 7282–7286.
41. *Blanton M.P., Li Y.-M., Stimson E.R., Maggio J.E., Cohen J.B.* // Mol. Pharmacol. 1994. V. 46. P. 1048–1055.
42. *Wilson C.J., Husain S.S., Stimson E.R., Dangott L.J., Miller K.W., Maggio J.E.* // Biochemistry. 1997. V. 36. P. 4542–4551.

## Photoactivatable Derivatives of Peptide and Protein Ligands in the Study of Neuroreceptor Structure

Yu. N. Utkin<sup>#</sup>

*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,  
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

The application of photoactivatable derivatives for studies of different types of neuroreceptors belonging to two superfamilies, G-protein dependent receptors and ligand-gated ionic channels, is discussed. Studies of the structure of voltage-gated and ion-gated channels with the use of specific photoactivatable derivatives of neurotoxins are also described. Possibilities and prospects for the application of photoactivatable ligands in studies of the spatial structure of neuroreceptors are reviewed.

*Key words: neuroreceptors, photoaffinity modification, peptide and protein ligands, neurotoxins*

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 330-7374; e-mail: [utkin@ibch.siobc.ras.ru](mailto:utkin@ibch.siobc.ras.ru).

For the full text of English translation of this article, see *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2000, vol. 26, no. 1. It is also available (free) in PDF format through the Web Site <http://www.maik.rssi.ru/>.