



УДК 615.919:595.46-114.52

## ХЛОРОТОКСИН И РОДСТВЕННЫЕ ПЕПТИДЫ – КОРОТКИЕ ИНСЕКТОТОКСИНЫ ИЗ ЯДА СКОРПИОНОВ

© 2014 г. А. А. Арзамасов<sup>#</sup>, А. А. Василевский, Е. В. Гришин

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 25.12.2013 г. Принята к печати 11.02.2014 г.

Яд скорпионов представляет собой сложную многокомпонентную смесь биологически активных веществ, некоторые из которых обладают весьма интересными свойствами и находят свое применение в совершенно неожиданных областях. Примером служит семейство хлоротоксин (СТХ)-подобных пептидов. Это токсины, обладающие инсектицидной активностью, однако их молекулярный механизм действия на организм насекомых пока не установлен. Тем не менее, СТХ-подобные пептиды оказались объектом пристального изучения, поскольку они специфично взаимодействуют с клетками злокачественных опухолей мозга – глиом. В перспективе данные соединения могут существенно упростить лечение опухолевых заболеваний. В обзоре суммируются результаты, накопленные за сорокалетний период изучения СТХ-подобных пептидов. Рассмотрены аспекты их природной функции, а также область применения, связанная с глиомами.

*Ключевые слова:* инсектотоксины, нейротоксины, яд скорпионов, глиомы, лечение опухолевых заболеваний.

DOI: 10.7868/S0132342314040010

### ВВЕДЕНИЕ

Данная обзорная статья посвящена семейству хлоротоксин (СТХ)-подобных пептидов из яда скорпионов.

Скорпионы представляют собой одну из древнейших групп наземных членистоногих, возраст которой составляет примерно 400 миллионов лет. Хотя за это время морфология скорпионов изменились лишь незначительно [1], недавно опубликованные результаты секвенирования генома скорпиона *Mesobuthus martensii* показывают, что их генетический материал менялся достаточно быстро [2]. В ходе эволюции состав яда скорпионов совершенствовался для выполнения своей основной функции – парализации и убийства жертвы, а также для защиты от агрессоров. Яд скорпионов содержит множество разнообразных компонентов, многие из которых действуют на различные системы мембранного транспорта, главным образом ионные каналы. Кроме того, яд скорпионов можно рассматривать как своеобразную комбинаторную библиотеку, отредактированную мил-

лионами лет эволюции, поскольку для родственных компонентов яда характерен единый остов и многочисленные и разнообразные модификации.

Что интересно, для некоторых биологически активных веществ из такой библиотеки обнаруживаются совершенно необычные области применения. Примером служит семейство СТХ-подобных пептидов, обладающих инсектицидной активностью. Молекулярная мишень данных токсинов не установлена, однако неожиданно они нашли свое применение в области, связанной со злокачественными опухолями мозга – глиомами.

### МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СОСТАВ ЯДА СКОРПИОНОВ

В настоящий момент известно около 1500 видов скорпионов, их систематика постоянно обновляется. Только ~50 из этих видов представляют опасность для человека. Почти все они, кроме скорпионов рода *Hemiscorpius*, принадлежат к семейству Buthidae [1]. К сожалению, тщательно молекулярный состав яда был исследован лишь у немногих видов, так как чаще всего для исследований выбираются те скорпионы, ареал обитания которых наиболее удобен для работы. Это обстоятельство несколько затрудняет получение сведений об общих для всех скорпионов особенностях.

Сокращения: СТХ – хлоротоксин; ChTX – харибдотоксин; CS $\alpha$ / $\beta$  – мотив “цистеин-стабилизированных- $\alpha$ -спираль- $\beta$ -слоя”; ЛД<sub>50</sub> – полулетальная доза; ПЭ – паралитический эффект; МГБ – мультиформная глиобластома; ММР-2 – матриксная металлопротеиназа 2.

<sup>#</sup> Автор для связи (тел.: +7(495) 336-65-40; эл. почта: modeus-x@hotmail.com).

Яд скорпионов представляет собой крайне сложную смесь различных компонентов. В их число входят мукополисахариды, пептиды, низкомолекулярные соединения, такие как соли, нуклеотиды, биогенные амины [3]. Кроме того, в состав яда некоторых скорпионов входят ферменты, например фосфолипазы [4, 5] и гиалуронидазы [6], а также различные металлопротеазы [7, 8].

Главными компонентами яда скорпионов являются разнообразие пептиды, которые в зависимости от наличия дисульфидных мостиков можно разделить на две группы.

К первой группе относятся пептиды длиной ~10–50 а.о. без внутримолекулярных дисульфидных связей. Пептиды этой группы обладают антимикробной и гемолитической активностью. Кроме того, к этой группе относятся токсины с брадикининпотенцирующей активностью [9].

Ко второй, наиболее изученной группе, относятся пептиды, содержащие внутримолекулярные дисульфидные связи. Большинство пептидов этой группы являются нейротоксинами, специфичными к определенным ионным каналам электровозбудимых мембран. Они предназначены для обезвреживания жертвы, а также для защиты от хищников.

На самых ранних этапах изучения нейротоксинов их в основном классифицировали по длине полипептидной цепи и специфичности действия на различные группы организмов. Поэтому появились такие понятия как длинные (~60–75 а.о.) и короткие (~25–40 а.о.) токсины. Кроме того, оказалось, что одни токсины оказывают действие только на млекопитающих (млекотоксины), вторые – только на насекомых (инсектотоксины), третьи – на обе группы. Позднее к критериям классификации добавились тип пространственной укладки и молекулярная мишень действия. Комбинируя вышеперечисленные параметры, можно выделить следующие группы токсинов.

Так, в одну группу выделяют длинные токсины, содержащие ~60–75 а.о. с 4 дисульфидными мостиками, и действующие на потенциал-зависимые натриевые каналы мышечных и нервных клеток. В зависимости от эффекта их подразделяют на  $\alpha$ - и  $\beta$ -токсины.  $\alpha$ -Токсины блокируют инактивацию натриевых каналов. Токсины с  $\beta$ -эффектом модулируют активность канала, сдвигая порог активации в более отрицательную область мембранного потенциала. Такой сдвиг провоцирует спонтанную активацию каналов, вызывая деполяризацию электровозбудимой мембраны. Различие в эффектах  $\alpha$ - и  $\beta$ -токсинов объясняется тем, что они взаимодействуют с разными участками натриевого канала:  $\alpha$ -токсины связываются с так называемым рецепторным сайтом 3, а  $\beta$ -токсины – с сайтом 4 [10, 11].

Другую большую группу составляют токсины, специфично воздействующие на потенциал-зависимые и кальций-активируемые калиевые каналы. Они содержат ~20–40 а.о. с 3–4 дисульфидными мостиками. Классификация токсинов, действующих на калиевые каналы, достаточно сложна и основывается на типе их пространственной укладки и сходстве аминокислотных последовательностей [12].

Остальные группы нейротоксинов относительно малочисленны: это токсины, специфично действующие на кальциевые каналы [13], а также группа так называемых коротких инсектотоксинов, или СТХ-подобных пептидов, являющихся предметом рассмотрения данного обзора.

#### *История изучения СТХ-подобных пептидов*

Наиболее известный пептид данного семейства, хлоротоксин (СТХ), был выделен из яда скорпиона *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus* [14]. Свою известность СТХ во многом получил благодаря “говорящему” названию – он был преподнесен миру как первый специфичный ингибитор хлоридных каналов пептидной природы.

Однако СТХ был далеко не первым выделенным пептидом настоящего семейства. Так, в середине 70-х годов XX века в ИБХ АН СССР из яда скорпиона *Mesobuthus eupeus* был выделен инсектотоксин II, состоящий из 36 а.о. [15]. По своему аминокислотному составу, а также по расположению остатков цистеина он заметно отличался от ранее выделенного длинного (около 60 а.о.) инсектотоксина из яда *Androctonus australis* [16]. Столь сильные различия аминокислотных последовательностей позволили отнести II к новому структурному классу токсинов скорпионов – так называемых коротких инсектотоксинов [15]. Позднее из яда *M. eupeus* были выделены и охарактеризованы гомологи II: I3, I4, I5, I5A [17–19]. Кроме этого, токсин I5A стал первым членом семейства, для которого была установлена пространственная структура методом ЯМР [20, 21]. К сожалению, установить механизм инсектотоксичности, а именно определить молекулярную мишень данных токсинов не удалось. Стоит отметить, что с конца 80-х годов инсектицидная активность СТХ-подобных пептидов практически не исследовалась.

Вторая волна исследований коротких инсектотоксинов началась после открытия СТХ в начале 90-х годов. Сообщалось, что он специфически ингибирует хлоридные токи в клетках астроцитов [22]. Позднее было показано, что он специфично присоединяется к клеткам глиом [23]. С тех пор и до настоящего времени область, связанная с действием СТХ-подобных пептидов на глиомы, бурно развивалась. И, в первую очередь,

Таблица 1. Сравнение аминокислотных последовательностей СТХ-подобных пептидов

Пептид	Аминокислотная последовательность*	Степень подобия СТХ, %	Ссылка
СТХ	M C M P C F T T D H O M A R K C D D C C G G K G R G K C Y G P Q C L C R ---	100	[14]
Bs8	R C K P C F T T D P O M S K K C A D C C G G K G K G K C Y G P Q C L C ---	82	[26]
I4	M C M P C F T T D H N M A K K C R D C C G G N G -- K C F G P Q C L C N R --	80	[19]
I3	M C M P C F T T D H O T A R R C R D C C G G R G - R K C F G - Q C L C G Y D -	80	[19]
Lqh 8/6	R C S P C F T T D Q O M T K K C Y D C C G G K G K G K C Y G P Q C I C A P Y -	79	[27]
I5A	M C M P C F T T D P N M A K K C R D C C G G N G -- K C F G P Q C L C N R --	77	[20]
MeuClTx	M C M P C F T T D H N M A K K C R D C C G G N G -- K C F G Y Q C L C N R --	77	P86401#
I5	M C M P C F T T D P N M A N K C R D C C G G G K -- K C F G P Q C L C N R --	77	[18]
GaTx1	- C G P C F T T D H O M E O K C A E C C G G I G -- K C Y G P Q C L C N R --	76	[25]
BmKCT	G C G P C F T T D A N M A R K C R E C C G G I G -- K C F G P Q C L C N R I -	74	[30]
I1	M C M P C F T T R P D M A Q Q C R A C C K G R G -- K C F G P Q C L C G Y D -	71	[15]
MeuClTx-1	M C M P C F T T R P D M A Q Q C R D C C G G N G -- K C F G Y Q C L C N R --	69	P86402#
P2	- C G P C F T T D P Y T E S K C A T C C G G R G -- K C V G P Q C L C N R I -	68	[29]
BTCh12	R C G P C F T T D P Q T Q A K C S E C C G R K G - G V C K G P Q C I C G I O Y	65	[31]
AaCtx	M C I P C F T T N P N M A A K C N A C C G S R R - G S C R G P Q C I C ---	63	[28]
Bs14	- C G P C F T K D P E T E K K C A T C C G G I G -- R C F G P Q C L C N R G Y	62	[26]
Консенсус	M C M P C F T T D P N M A K K C R D C C G G K G -- K C F G P Q C L C N R --		

\* Светло-серым цветом отмечены остатки цистеина, темно-серым – отличающиеся от общей формулы. В консенсусной последовательности показано расположение дисульфидных связей.

# Номер в базе белковых последовательностей UniProt.

это обусловлено возможным практическим применением данных пептидов. Важно, однако, отметить, что при дальнейших исследованиях [24, 25] было показано, что СТХ-подобные пептиды не являются ингибиторами хлоридных каналов различных типов.

*Характеристика семейства СТХ-подобных пептидов*

В настоящее время определены аминокислотные последовательности порядка 15 СТХ-подобных пептидов (табл. 1). Для всех пептидов данного семейства характерно наличие 8 остатков цистеина, образующих 4 внутримолекулярные дисульфидные связи.

Пространственная структура пептидов I5A [20, 21] и СТХ [32] была установлена методом ЯМР. Кроме того, опубликованы данные о пространственной структуре пептида Lqh-8/6 [27], однако в Protein Data Bank соответствующая запись отсутствует. В общем виде структуру СТХ-подобных пептидов можно представить как ди-

сульфид-стабилизированный α/β-мотив (CSα/β). Особенностью данной структуры является высокая степень компактизации.

Несмотря на 40-летнее изучение СТХ-подобных пептидов, крайне мало известно об их природной биологической активности. Большинство полученных данных указывает на то, что эти пептиды являются инсектотоксинами. Так, было показано, что пептиды I1, I3 и I5 вызывают устойчивый паралич у тараканов *Nauphoeta cinerea* в дозе 3 мкг/особь, а пептид I4 – в дозе 5 мкг/особь [15, 17, 18]. Для СТХ был продемонстрирован паралитический эффект (ПЭ) в отношении американских тараканов *Periplaneta americana* в дозе 4.5 мкг/особь. Также было установлено его ПЭ и на других членистоногих – речных раков *Procambarus clarkii* в дозе 0.5 мкг/г [14]. Кроме этого, недавно была показана летальная активность СТХ на тлях *Acyrtosiphon pisum*. Для них полулетальная доза (ЛД<sub>50</sub>) составила 2 мкг/г [33]. Для пептида BTCh12 была установлена активность в отношении чешуекрылых, а именно личинок хлопковой совки *Heliothis virescens* [31]. К сожалению, для остальных токси-

**Таблица 2.** Активность СТХ-подобных токсинов на различных членистоногих

Токсин	Из яда какого скорпиона выделен	Объект тестирования	Эффект	Источник
I1 I3 I4 I5	<i>Mesobuthus eupeus</i>	тараканы <i>Nauphoeta cinerea</i>	ПЭ в дозе 3.0 мкг/особь ПЭ в дозе 3.0 мкг/особь ПЭ в дозе 5.0 мкг/особь ПЭ в дозе 3.0 мкг/особь	[15] [17] [17] [18]
СТХ	<i>Leiurus quinquestriatus quinquestriatus</i>	тараканы <i>Periplaneta americana</i> речные раки <i>Procambarus clarkii</i> тли <i>Acyrtosiphon pisum</i>	ПЭ в дозе 4.5 мкг/особь ПЭ в дозе 0.5 мкг/г ЛД <sub>50</sub> = 2.0 мкг/г	[14] [14] [33]
BTChI2	<i>Mesobuthus tamulus</i>	личинки хлопковой совки <i>Heliothis virescens</i>	ЛД <sub>100</sub> = 3.0 мкг/г	[31]

нов семейства в настоящее время не исследована активность по отношению к насекомым. Сводные результаты по активности СТХ-подобных токсинов в отношении различных членистоногих представлены в табл. 2.

Многие СТХ-подобные пептиды, а именно I1, I3, I4, I5, СТХ, BTChI2, AaСТХ, не активны в отношении млекопитающих [15, 17, 18, 28, 31, 34]. Однако для пептида BmKCT показано токсическое действие на мышей при внутрибрюшном введении, при этом ЛД<sub>50</sub> составила 4.3 мг/кг [30]. По всей видимости, этот результат является следствием ошибки, поскольку очищенный рекомбинантный BmKCT имел массу 18 кДа, не соответствующую ранее установленной для BmKCT 36-членной аминокислотной последовательности [30].

В настоящее время молекулярный механизм инсектотоксичности СТХ-подобных пептидов далек от понимания. Ранее С.М. Антоновым и Л.Г. Магазаником в Институте эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова АН СССР в электрофизиологических экспериментах на нервно-мышечном соединении личинки мясной мухи было показано, что инсектотоксин I5 в концентрации 10<sup>-5</sup> г/мл уменьшает на 50% чувствительность постсинаптических рецепторов к глутамату [18]. Отсутствие других данных позволяет размышлять на тему о предполагаемой мишени СТХ-подобных пептидов в насекомых. Одна из подобных возможностей – сравнение их последовательностей с токсинами с уже известной молекулярной мишенью. Сходной пространственной структурой с СТХ-подобными пептидами (C $\alpha$ / $\beta$ ) обладают другие токсины из яда скорпионов – разнообразные активаторы натриевых каналов и ингибиторы калиевых каналов, относящиеся соответственно к длинным и коротким токсинам.

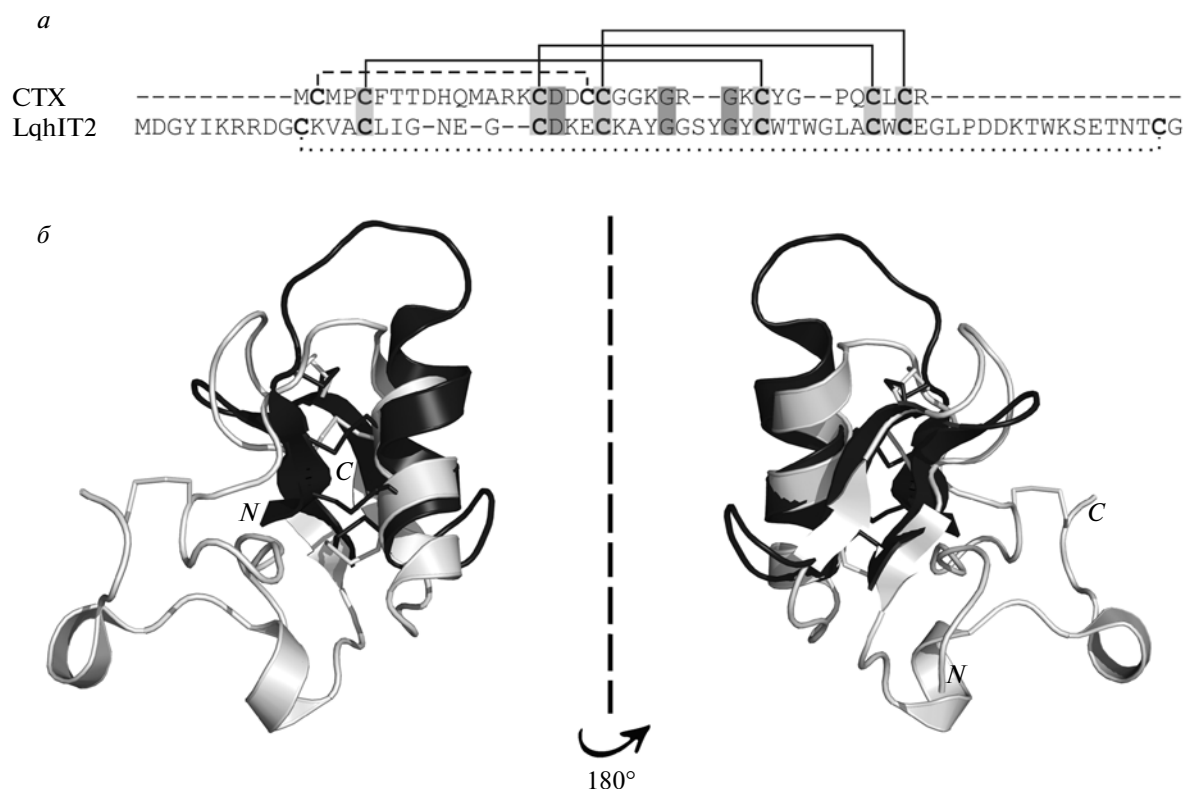
К наиболее изученным длинным инсектотоксинам относится LqhIT2, принадлежащий к группе  $\beta$ -токсинов [35, 36]. Последовательность СТХ

заметно отличается от последовательности LqhIT2 (рис. 1а). Сравнивая их пространственную структуру, можно отметить, что коровые части C $\alpha$ / $\beta$ -мотивов, а именно  $\alpha$ -спираль и два  $\beta$ -тяжа, схожи, однако петли у LqhIT2 намного длиннее (рис. 1б). Кажется маловероятным, чтобы натриевые каналы оказались мишенью СТХ-подобных пептидов.

Наиболее близкой к СТХ-подобным пептидам по строению является группа токсинов, действующих на калиевые каналы. При сравнении аминокислотных последовательностей СТХ и харибдо-токсина (ChTX), одного из самых известных блокаторов кальций-активируемых калиевых каналов, обнаруживается несколько интересных фактов (рис. 2а). Остаток Lys27 у СТХ соответствует лизину функциональной диады Lys27/Tyr36 у ChTX [37, 38]. Трехмерные структуры СТХ и ChTX имеют много общего, особенно интересно подобие С-концевых  $\beta$ -тяжей, поскольку считается, что именно в них находятся остатки, отвечающие за активность, токсинов, действующих на калиевые каналы (рис. 2б). Основное различие этих структур – четвертый дисульфидный мостик у СТХ.

Следует упомянуть, что ранее предпринимались попытки создать химерную молекулу на основе СТХ, которая была бы способна блокировать калиевые каналы. Для этого в последовательности СТХ производилась замена трех аминокислотных остатков в тяже  $\beta$ -структуры, который является функционально важным для блокаторов калиевых каналов. Однако, получить полноразмерную химерную молекулу в итоге не удалось [39].

В настоящий момент данных, позволяющих судить о действии СТХ-подобных пептидов на калиевые каналы, нет. В описании одного из гомологов СТХ – токсина MeuCTx, в базе белковых последовательностей UniProt без ссылок на статью указано, что этот пептид ингибирует калиевые каналы Kv1.2. С другой стороны, известно, что СТХ в концентрации 25 мкМ не ингибирует Kv1.3 [39]. Другой пептид из семейства СТХ-по-



**Рис. 1.** Сравнение аминокислотных последовательностей (*a*) и пространственных структур токсинов СТХ (черный) [32] и LqhIT2 (светло-серый) [40] (*b*). *a* – Светло-серым цветом отмечены совпадающие остатки цистеина, темно-серым – другие совпадающие аминокислотные остатки. Сплошными линиями показаны совпадающие у обоих токсинов дисульфидные связи; четвертый дисульфидный мостик у СТХ показан штриховой линией, у LqhIT2 – пунктирной. *b* – Отмечены *N*- и *C*-концы полипептидной цепи СТХ (слева) и LqhIT2 (справа).

добных токсинов GaTx1 не ингибирует каналы Kv1.1 в концентрации порядка 100 нМ [25]. Стоит отметить, что в литературе в настоящее время данные о токсинах, действующих на калиевые каналы и при этом являющихся исключительно инсектотоксинами, ограничены.

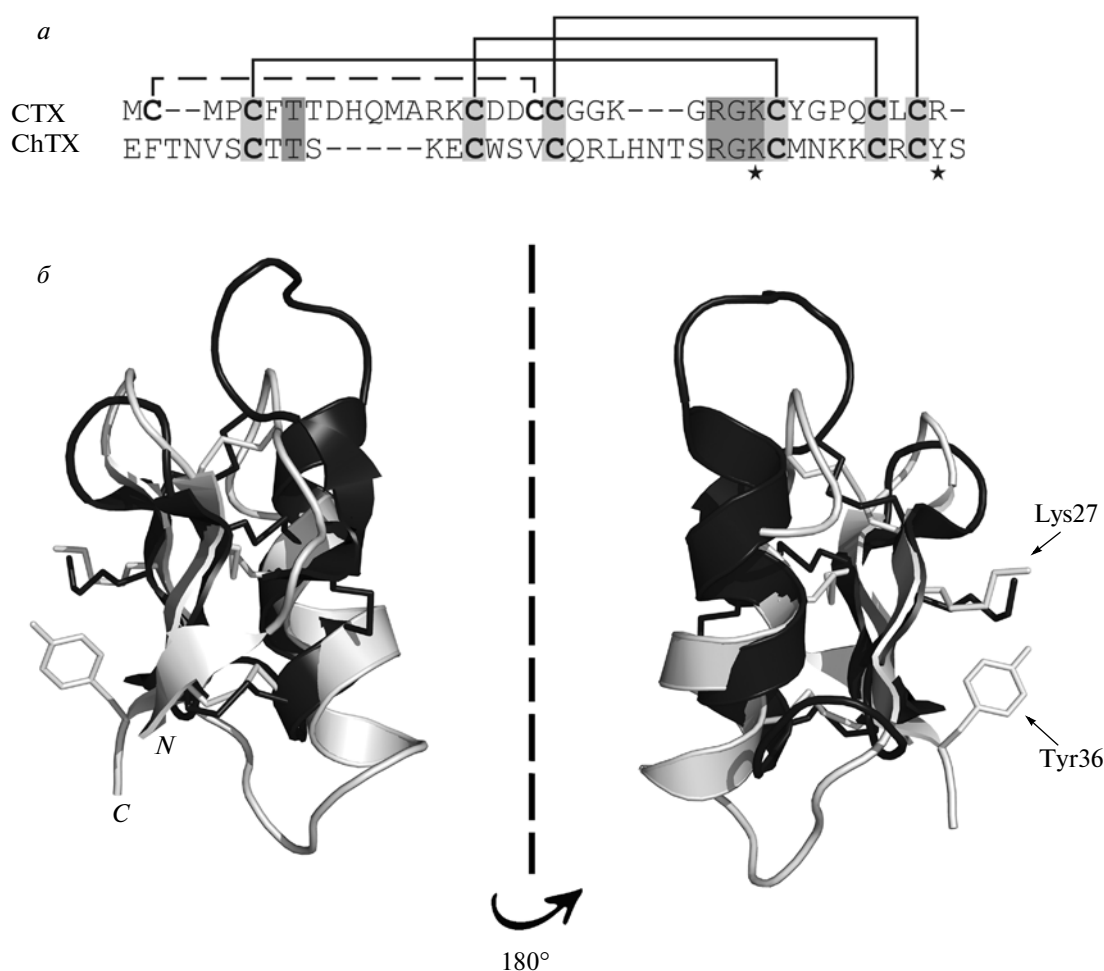
#### Особенности биологии глиом

Как уже было сказано ранее, в настоящее время основная область изучения СТХ-подобных пептидов связана с глиомами. Для начала необходимо рассмотреть некоторые особенности биологии этого типа опухолей.

Глиомы представляют собой гетерогенную группу опухолей, развивающихся в центральной нервной системе. Около 50% всех глиом относятся к наиболее злокачественной форме – мультиформной глиобластоме (МГБ), которая входит в список самых смертоносных типов опухолевых заболеваний [42]. Так, менее 30% пациентов с МГБ живут

более года после постановки диагноза, и лишь 3% переживают пятилетний рубеж [43].

Такие устрашающие цифры связаны, прежде всего, со сложностью терапии данного вида опухолевых заболеваний. Существует три основных причины этого феномена. Во-первых, большинство типов глиом отличаются крайне высокой инвазивностью, затрудняющей полное хирургическое удаление опухолевых клеток [44]. Во-вторых, некоторые типы глиом оказываются нечувствительны к темозоломиду – алкилирующему агенту, применяемому в химиотерапии. Причиной устойчивости является повышенная активность гена *MGMT*, кодирующего *O*-6-алкилгуанин-ДНК-алкил-трансферазу. Избыток данного белка практически полностью нивелирует эффективность алкилирующих агентов [45]. Наконец, при стрессовых ситуациях в глиомах начинает экспрессироваться транспортер SXC, доставляющий цистин в клетку в обмен на глутамат. Цистин используется клеткой как предшественник глутатиона, а тот, в свою очередь, создает вос-



**Рис. 2.** Сравнение аминокислотных последовательностей (*a*) и пространственных структур токсинов СТХ (черный) [32] и ChTX (светло-серый) [41] (*б*). *a* – Светло-серым цветом отмечены совпадающие остатки цистеина, темно-серым – другие совпадающие остатки; сплошными линиями обозначены совпадающие у обоих токсинов дисульфидные связи, пунктиром – четвертый дисульфидный мостик СТХ; звездочками – остатки Lys27 и Tyr36 функциональной диады ChTX. *б* – Отмечены *N*- и *C*-концы полипептидной цепи ChTx. Стрелки указывают на остатки Lys27 и Tyr36 функциональной диады ChTX.

становительный потенциал и защищает клетку как от внутренних, так и от внешних повреждающих агентов свободнорадикальной природы [46]. Поэтому глиомы также устойчивы к радиотерапии.

Уникальность биологии глиом в первую очередь обусловлена их развитием в ограниченном внутричерепном пространстве. В отличие от других типов злокачественных опухолей, мигрирующих в другие органы при помощи кровотока, глиомы мигрируют только в пределах мозговой ткани [47]. Поэтому опухолевые клетки выработали особый механизм для уничтожения нативных клеток мозга, тем самым создавая пространство для дальнейшей экспансии. Предполагается, что он заключается в секреции клетками глиом глутамата за счет действия системы антипорта SXC [46]. Повышенная концентрация глутамата токсична для нейронов [48]. Для успешной инва-

зии клеткам глиом приходится изменять свою форму и объем, чтобы найти себе место для роста. Существует модель, согласно которой основная роль в этих процессах принадлежит ионным каналам. Было показано, что у мембран клеток разных типов глиом повышена проницаемость для  $\text{Cl}^-$ -ионов. Из этого был сделан вывод, что у клеток глиом повышена экспрессия хлоридных каналов [22]. Позднее было обнаружено, что в глиомах экспрессируется сразу несколько типов хлоридных каналов, наиболее интересным из которых является  $\text{ClC-3}$ . В норме данный канал находится только во внутриклеточных везикулах, однако за счет повышенной экспрессии в глиомах его можно найти и на поверхности клетки [49]. Предполагается, что при активации канала  $\text{ClC-3}$ , вызванной фосфорилированием  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулин-зависимой киназой II, а также при активации  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемых калиевых каналов, вместе с током ионов из клетки

происходит значительная потеря воды [50, 51]. За счет этого сильно уменьшается объем клетки, и она может протиснуться в узкие пространства. Стоит отметить, что движущей силой для ионов хлора служит градиент концентрации, формирующийся благодаря повышенной концентрации ионов хлора в клетках глиом (100–140 мМ) в результате работы котранспортера NKCC1 [52].

Наконец, говоря об инвазии глиом, важно упомянуть, что для успешной миграции им необходимо разрушать внеклеточный матрикс. Это наблюдение подтверждается тем, что в глиомах повышена экспрессия матриксных металлопротеиназ – ферментов из суперсемейства цинк-зависимых эндопептидаз, разрушающих компоненты внеклеточного матрикса [53].

Еще одним интересным фактом является недавно открытая гетерогенность клеточного состава определенных типов глиом. Оказывается, что некоторые опухолевые клетки при ангиогенезе дифференцируются и могут образовывать выстилку сосудов, наподобие эндотелиальных клеток [54, 55].

#### *Действие СТХ-подобных пептидов на глиомы*

Специфическое присоединение СТХ к клеткам глиом впервые было продемонстрировано с использованием меченого [<sup>125</sup>I]СТХ и метода радиоавтографии [23]. На основании полученных данных был сделан вывод, что существует два сайта связывания СТХ, имеющие разную аффинность. В настоящее время получены данные, что СТХ специфично присоединяется и к ряду других типов опухолей [56].

Следующим ключевым экспериментом стало исследование влияния СТХ на клеточную подвижность глиом различных типов. Для этого обычно используют тесты *in vitro*, такие как метод “заживающей раны” или тест на инвазивность через поры, заполненные средой, имитирующей внеклеточный матрикс. Установлено, что СТХ в концентрации 5 мкМ снижает подвижность клеток человеческой глиобластомы линии U251MG на 55% [57]. Ингибирование подвижности было также показано и для других пептидов семейства. Так, VmKCT в концентрации 0.15–2.4 мкМ значительно ингибирует подвижность клеток глиомы С6 в тесте “заживающей раны” [58]. AaСТХ в концентрации 5 мкМ ингибирует на 30% подвижность клеток линии глиомы человека U87 в тесте, аналогичном проведенному для СТХ [28].

Важно подчеркнуть, что сами СТХ-подобные пептиды не оказывают цитостатического или цитотоксического действия ни на здоровые, ни на опухолевые клетки. Это было показано для СТХ [56] и I5A (не опубликовано). Исключением является пептид VmKCT, который ингибировал рост

клеток глиомы SHG-44 на 50% при концентрации 0.28 мкМ. В то же время данный пептид ингибировал и рост астроцитов с 50%-й ингибирующей концентрацией (IC<sub>50</sub>), равной 8 мкМ [59].

В настоящее время существует несколько кандидатов на роль акцептора СТХ на поверхности клеток глиом: хлоридные каналы семейства ClC [49], матриксная металлопротеиназа 2 (ММП-2) [60] и аннексин А2 [61].

#### *Хлоридные каналы как кандидаты на роль акцептора*

История изучения действия СТХ-подобных пептидов очень тесно связана с хлоридными каналами. Ранее говорилось, что СТХ был представлен как ингибитор хлоридных каналов. Было продемонстрировано, что он ингибирует токи через слабопроводящие хлоридные каналы из эпителия толстого кишечника крысы, реконструированные в липидный бислой [14]. Важно отметить, что ингибирование наблюдалось только при добавлении СТХ с цитоплазматической стороны. Из этого можно сделать вывод, что хлоридные каналы данного типа не являются природной мишенью токсина.

Совокупность результатов, полученных в электрофизиологических исследованиях на клетках астроцитомы [22], а также в тестах *in vitro* на ингибирование подвижности глиом, позволили выдвинуть следующую гипотезу. По мнению авторов, ингибирование хлоридных каналов хлоротоксином мешает опухолевой клетке изменять свой объем, что приводит к снижению ее инвазивности [57]. Ингибирование тока через хлоридные каналы глиом линии SHG-44 также было показано в электрофизиологических экспериментах методом локальной фиксации потенциала в конфигурации целой клетки (whole-cell patchclamp) для VmKCT [59].

Однако со временем стали появляться свидетельства того, что СТХ не является ингибитором хлоридных каналов. Так, в работе [24] методом локальной фиксации потенциала в конфигурации целой клетки было показано, что СТХ не воздействует на хлоридные каналы различных типов, в том числе специфичных для глиомы. Аналогичные данные были получены для пептида GaTx1, в частности он не ингибировал ток через каналы ClC-3 [25]. Поэтому в настоящее время можно с большой долей уверенности сказать, что СТХ-подобные пептиды не являются ингибиторами хлоридных каналов.

Результаты, полученные на глиомах, могут быть объяснены по-другому. Так, выдвинута гипотеза, что при взаимодействии с поверхностью клетки СТХ вызывает рецептор-опосредованный эндоцитоз (интернализацию) крупного белково-

го комплекса, в состав которого входят хлоридные каналы CIC-3. Таким образом, ингибирование тока при действии СТХ связано с его неспецифичным действием на хлоридные каналы, и, по-видимому, причиной этого является повышенная экспрессия CIC-3 в глиомах [62].

Для одного из гомологов СТХ, пептида GaTx1 из яда скорпиона *Leiurus quinquestriatus hebraeus*, обнаружено, что он модулирует активность регулятора трансмембранной проводимости при муковисцидозе (CFTR) [25]. Белок CFTR принадлежит к супер семейству ABC-транспортеров и участвует в транспорте ионов хлора и тиоцианата через мембрану эпителиальных клеток. Мутации в аминокислотной последовательности CFTR влекут за собой развитие муковисцидоза [65]. Показано, что GaTx1 специфично взаимодействует с CFTR, находящимся в закрытом состоянии, затрудняя открытие канала. Стоит отметить, что ингибирование происходит только при взаимодействии пептида с CFTR с цитоплазматической стороны, таким образом, маловероятно, что данный транспортер являлся естественной мишенью GaTx1 [25].

#### *MMP-2 как кандидат на роль акцептора*

В работе [23] с помощью электрофореза в ПААГ было показано, что несущий радиоактивную метку СТХ специфично связывается с белком с молекулярной массой около 72 кДа. Природа данного белка была позднее охарактеризована с помощью комбинации методов аффинной хроматографии, электрофореза и масс-спектрометрии. Оказалось, что этим белком является MMP-2 [60]. СТХ ингибирует активность рекомбинантной человеческой MMP-2, а также понижает поверхностную желатиназную активность клеток человеческой глиомы D54-MG [60].

MMP-2 принадлежит к суперсемейству цинк-зависимых эндопептидаз. Она секретируется в виде неактивной формы с  $M$  72 кДа, а затем превращается в активную форму с  $M$  62 кДа [64]. Активная форма MMP-2 играет важную роль в деградации внеклеточного матрикса, разрушая коллаген IV типа (желатин). Высокий уровень экспрессии MMP-2 характерен для многих опухолевых клеток, а для глиом она является мажорной матриксной металлопротеиназой. Нормальные же клетки нервной ткани не синтезируют MMP-2. Предположение, что MMP-2 является основным рецептором для СТХ, позволяет объяснить факт его специфичного связывания только с опухолевыми клетками.

Стоит отметить, что другой группе исследователей не удалось показать прямого взаимодействия между СТХ, несущим цианиновую метку Cy5.5, и MMP-2 [34]. По всей видимости, их вза-

имодействие не является высокоспецифичным. В пользу этого свидетельствует достаточно слабое (максимум ~40–45%) ингибирование хлоротоксина рекомбинантной MMP-2 [60]. Интересно, что MMP-2 входит в состав крупного, связанного с мембраной комплекса из металлопротеиназы MT1-MMP, принимающей участие в активации MMP-2, тканевого ингибитора MMP-2 (TIMP-2), а также интегрин  $\alpha_v\beta_3$ . Вероятно, что остальные компоненты комплекса имеют определенное значение для взаимодействия СТХ и MMP-2.

Необходимо также упомянуть феномен снижения поверхностной экспрессии MMP-2 под действием СТХ [60]. В настоящее время механизм этого явления остается до конца не изученным. Вначале предполагали, что этот механизм — кавеоллин-опосредованный (рафт/кавеола-зависимый) путь эндоцитоза. Такой вывод был сделан на основе данных с использованием стерол-связывающего агента филипина, блокирующего кавеоллин-опосредованный эндоцитоз. В результате при добавлении филипина происходило ингибирование интернализации MMP-2 под действием СТХ [60]. Однако в недавно опубликованной статье представлены противоположные данные: предположено, что интернализация СТХ происходит путем клатрин-опосредованного эндоцитоза, а филипин не влияет на нее [65]. Понимание механизма интернализации СТХ чрезвычайно важно для его практического применения.

Интересным также представляется изучение активности по отношению к MMP-2 других СТХ-подобных пептидов. Судя по данным зимографии, BmKCT так или иначе ингибирует активность MMP-2 [58]. Полученные с помощью направленного мутагенеза производные BmKCT с единичными заменами аргинина и лизина на гидрофобную аминокислоту гораздо слабее снижают желатиназную активность. Таким образом, положительно заряженные остатки пептида, по предположению авторов, играют важную роль во взаимодействии с каталитическим центром MMP-2.

#### *Аннексин A2 как кандидат на роль акцептора*

В сравнительно недавно опубликованной статье [66] показано, что СТХ способен специфично присоединяться к эндотелиальным клеткам. Эти данные весьма неожиданны, так как ранее документированных случаев присоединения пептида к неопухолевым клеткам не существовало. Было выдвинуто предположение, что СТХ может обладать антиангиогенными свойствами.

Затем на основании полученных результатов был предложен другой кандидат на роль акцептора СТХ — аннексин A2 [61]. Этот кальций-зависимый белок с молекулярной массой 39 кДа имеет много функций в клетке, в том числе он участвует



в экзоцитозе, регулировании активности тканевого активатора плазминогена (tPA) и ангиогенезе [67]. Для многих опухолей, в том числе глиом, характерен повышенный уровень аннексина А2. Показано, что подавление синтеза этого белка методом РНК-интерференции оказывает ингибирующий эффект на подвижность клеток человеческих глиом U87-MG и U373-MG *in vitro* [68]. Предполагается, что связывание СТХ с аннексином А2 модулирует активность tPA, в результате ингибируется активность тромбоцитарного фактора роста С (PDGF-CC), что влечет за собой подавление способности клеток к инвазии [61].

#### *Кандидаты на роль акцептора СТХ: заключение*

Суммируя вышеизложенные данные, следует отметить, что точный молекулярный механизм взаимодействия СТХ с предполагаемыми акцепторами в настоящее время остается до конца не изученным. Ситуация дополнительно осложняется тем, что перечисленные акцепторные молекулы находятся в составе сложных белковых комплексов, и влияние окружения необходимо также учитывать. Другим нерешенным вопросом является механизм интернализации СТХ после связывания с рецептором. Наконец, интересным представляется изучение специфичности СТХ по отношению к особым типам клеток глиом (в частности, к опухолевым клеткам, формирующим выстилку сосудов при ангиогенезе).

#### *Практическое применение СТХ-подобных пептидов*

В настоящее время удаление хирургическим путем является основным методом терапии глиом. Для предотвращения рецидивов, возникающих после лечения, хирургу, проводящему операцию, необходимо удалить как можно больший массив опухолевых клеток. В действительности же отличить нормальную ткань от опухолевой бывает крайне тяжело. Особенно сильно это проявляется в случае глиом, обладающих крайне высокой инвазивностью. Гибель даже малого числа здоровых клеток мозга может иметь катастрофические последствия для больного. Существование агентов, специфически метящих опухолевые клетки и позволяющих качественно отличать их от здоровых, в будущем позволит существенно облегчить процедуры и повысить эффективность хирургического удаления. Уникальная селективность СТХ по отношению к злокачественным клеткам позволяет рассматривать его как перспективное средство для диагностики и лечения глиом и других типов опухолей. Основной вопрос заключается в том, метку какого типа необходимо присоединить к пептиду, для того чтобы обеспечить максимально удобное и эффективное картирование опухолевых клеток *in vivo*.

Первым типом используемых меток стали радиоактивные изотопы йода:  $^{125}\text{I}$  и  $^{131}\text{I}$  [23]. В настоящее время синтетический СТХ (коммерческое название – Tm-601), меченный йодом-131, проходит вторую фазу клинических испытаний. Показано, что несущий метку СТХ достаточно длительное время остается в опухолевых клетках [56, 69]. Минусом данного типа меток является вред, который радиоактивные изотопы могут нанести здоровым клеткам мозга, намного более чувствительным к ионизирующим излучениям в сравнении с опухолевыми.

Популярными для *in vivo*-картирования становятся флуоресцентные метки, излучающие в области ближнего инфракрасного света (600–900 нм). Их основным преимуществом является сильно уменьшенное по сравнению с другими типами флуоресцирующих меток поглощение излучения тканями [70]. Получены конъюгаты СТХ с цианиновой меткой Cy5.5, а также с инфракрасной меткой IRDye 800CW [34, 71]. Продемонстрировано, что конъюгат СТХ-Cy5.5 селективно окрашивает клетки не только глиобластом, но и медуллобластомы, саркомы, рака простаты и толстого кишечника [34]. Одной из проблем использования Cy5.5-меченых продуктов является контроль по получению строго монопроизводных (результаты синтеза плохо воспроизводятся). Так как присоединение Cy5.5-меток идет по свободным аминокетильным группам, были получены мутантные и циклические варианты СТХ с заменами лизина в 15-м и 23-м положениях на аланин или аргинин. Все полученные производные сохранили свою активность [72].

Интересным представляется также сравнение активности Cy5.5-биоconъюгатов различных СТХ-подобных пептидов, в первую очередь для нахождения наиболее эффективной и устойчивой комбинации пептид-метка. В настоящее время также были получены меченные цианином химеры VmKCT и СТХ с глутатион-S-трансферазой (GST), сохранившие селективность к клеткам глиомы крысы С6. При этом активность конъюгата GST-VmKCT существенно не отличалась от активности GST-СТХ [73].

Принципиально другим типом меток являются так называемые суперпарамагнитные наночастицы, применяемые в методе магнитно-резонансной томографии (МРТ) как контрастирующие агенты. Непосредственно для терапии глиом было предложено использовать частицы на основе гадолиния (Gd). Подобные метки оказались довольно эффективными для картирования клеток глиом. Однако, в тестах *in vivo* подобные частицы не проходили гемато-энцефалический барьер [74]. Поэтому перспективным является создание наночастиц, содержащих частицы металла и СТХ, используемый в качестве специфич-

ной “системы наведения”. Кроме этого, к наночастице может быть прикреплен реагент для химиотерапии, обладающий цитотоксическим действием, например, малая интерферирующая РНК. Структурным каркасом, необходимым для связывания всех компонентов вместе, служат различные полимеры, например, полиэтиленгликоль (ПЭГ) [70]. Попадание наночастиц в клетки опухолей происходит в результате рецептор-опосредованного эндоцитоза. Преимуществом меток данного типа является долгий период их нахождения в клетках глиом (до двух недель) [75]. Указанное направление работ является в настоящее время наиболее бурно развивающимся. Так, были получены наночастицы с СТХ на основе оксида железа, комплексов платины-IV, а также липосом [75–78].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на все успехи фармакологии и прикладной медицины, до сих пор не удалось победить многие болезни, в том числе опухолевые заболевания. Силы многих научных коллективов по всему миру направлены на изучение природы опухолевых клеток, но, к сожалению, несмотря на огромные труды, поистине больших успехов в терапии некоторых видов опухолевых заболеваний в настоящее время нет. Одной из основных причин данной ситуации является слишком позднее диагностирование заболевания. Перспективным направлением является поиск агентов, селективно взаимодействующих с опухолевыми клетками и служащих основой для создания диагностических средств и противоопухолевых препаратов нового поколения. Вопрос заключается лишь в том, где искать такие соединения.

Обычно яды различных организмов служат в первую очередь как источник нейротоксинов, используемых в качестве инструментов для изучения ионных каналов и других систем мембранного транспорта. Тем не менее, использование ядов для поиска опухолево-селективных соединений может быть оправдано, если рассматривать яд как комбинаторную библиотеку. Ведь помимо своей основной функции вещества из яда могут иметь совершенно удивительные свойства. Примером подобной случайности служат объекты рассмотрения настоящей статьи, семейство СТХ-подобных пептидов, обладающих специфичным действием на опухолевые клетки.

На данный момент еще не решено много вопросов, связанных с механизмом взаимодействия СТХ и его рецепторов в опухолевых клетках. Пролить свет на эти вопросы поможет изучение активности гомологов СТХ. СТХ уже сейчас может использоваться как средство для диагностики опухолевых заболеваний и служить своеобразной платформой для создания противоопухолевых средств нового типа.

Не стоит также забывать про изучение природной функции СТХ-подобных пептидов. Исследование механизма их инсектоксичности имеет самостоятельную ценность и в будущем может помочь в создании новых инсектицидов.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана программой Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”, РФФИ (грант № 12-04-01813), грантом Президента РФ по государственной поддержке ведущих научных школ (НШ-1924.2014.4) и стипендией Президента РФ.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Fet V., Sissom W.D., Lowe G., Braunwalder M.E.* Catalog of the Scorpions of the World (1758–1998). N.Y.: New York Entomological Society, 2000. 690 p.
2. *Cao Z., Yu Y., Wu Y., Hao P., Di Z., He Y., Chen Z., Yang W., Shen Z., He X., et al.* // Nat. Commun. 2013. V. 4. P. 2602.
3. *Goudet C., Chi C.W., Tytgat J.* // Toxicon. 2002. V. 40. P. 1239–1258.
4. *Conde R., Zamudio F.Z., Becerril B., Possani L.D.* // FEBS Lett. 1999. V. 460. P. 447–450.
5. *Incamnoi P., Patramanon R., Thammasirirak S., Chaveerach A., Uwonggul N., Sukprasert S., Rungsa P., Daduang J., Daduang S.* // Toxicon. 2013. V. 61. P. 62–71.
6. *Pessini A.C., Takao T.T., Cavalheiro E.C., Vichnewski W., Sampaio S.V., Giglio J.R., Arantes E.C.* // Toxicon. 2001. V. 39. P. 1495–1504.
7. *Fletcher P.L., J., Fletcher M.D., Weninger K., Anderson T.E., Martin B.M.* // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. P. 7405–7416.
8. *Seyedian R., Pipelzadeh M.H., Jalali A., Kim E., Lee H., Kang C., Cha M., Sohn E.T., Jung E.S., Rahmani A.H., Mirakabady A.Z.* // Toxicon. 2010. V. 56. P. 521–525.
9. *Zeng X.C., Corzo G., Hahin R.* // IUBMB Life. 2005. V. 57. P. 13–21.
10. *Bosmans F., Tytgat J.* // Toxicon. 2007. V. 49. P. 142–158.
11. *Gurevitz M., Karbat I., Cohen L., Ilan N., Kahn R., Turkov M., Stankiewicz M., Stühmer W., Dong K., Gordon D.* // Toxicon. 2007. V. 49. P. 473–489.
12. *Zhu S., Peigneur S., Gao B., Luo L., Jin D., Zhao Y., Tytgat J.* // Mol. Cell Proteomics. 2011. V. 10. P. M110.002832.
13. *Chuang R.S., Jaffe H., Cribbs L., Perez-Reyes E., Swartz K.J.* // Nat. Neurosci. 1998. V. 1. P. 668–674.
14. *DeBin J.A., Maggio J.E., Strichartz G.R.* // Am. J. Physiol. 1993. V. 264. P. C361–C369.
15. *Жданова Л.Н., Адамович Т.Б., Назимов И.В., Гришин Е.В., Овчинников Ю.А.* // Биоорганическая химия. 1977. Т. 3. С. 485–493.
16. *Zlotkin E., Rochat H., Kopeyan, Miranda F., Lissitzky S.* // Biochimie. 1971. V. 53. P. 1073–1078.
17. *Гришин Е.В., Солдатов Н.М., Таимухамедов Б.А., Атакузиев Б.У.* // Биоорганическая химия. 1978. Т. 4. С. 450–460.

18. Гришин Е.В., Волкова Т.М., Солдатова Л.Н. // Биоорган. химия. 1982. Т. 8. С. 155–164.
19. Tytgat J., Debont T., Rostoll K., Müller G.J., Verdonck F., Daenens P., van der Walt J.J., Possani L.D. // FEBS Lett. 1998. V. 441. P. 387–391.
20. Арсеньев А.С., Кондаков В.И., Майоров В.Н., Волкова Т.М., Гришин Е.В., Быстров В.Ф., Овчинников Ю.А. // Биоорган. химия. 1983. Т. 9. С. 768–793.
21. Arseniev A.S., Kondakov V.I., Maiorov V.N., Bystrov V.F. // FEBS Lett. 1984. V. 165. P. 57–61.
22. Ullrich N., Gillespie G.Y., Sontheimer H. // Neuroreport. 1995. V. 7. P. 343–347.
23. Soroceanu L., Gillespie Y., Khazaeli M.B., Sontheimer H. // Cancer Res. 1998. V. 58. P. 4871–4879.
24. Maertens C., Wei L., Tytgat J., Droogmans G., Nilius B. // Br. J. Pharmacol. 2000. V. 129. P. 791–801.
25. Fuller M.D., Thompson C.H., Zhang Z.R., Freeman C.S., Schay E., Szakács G., Bakos E., Sarkadi B., McMaster D., French R.J., Pohl J., Kubanek J., McCarty N.A. // J. Biol. Chem. 2007. V. 282. P. 37545–37555.
26. Ali S.A., Stoeva S., Schütz J., Kayed R., Abassi A., Zaidi Z.H., Voelter W. // Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol. 1998. V. 121. P. 323–332.
27. Adjadj E., Naudat V., Quiniou E., Wouters D., Sautière P., Craescu C.T. // Eur. J. Biochem. 1997. V. 246. P. 218–227.
28. Rjeibi I., Mabrouk K., Mosrati H., Berenguer C., Mejdoub H., Villard C., Laffitte D., Bertin D., Ouafik L., Luis J., Elayeb M., Srairi-Abid N. // Peptides. 2011. V. 32. P. 656–663.
29. Rosso J.P., Rochat H. // Toxicon. 1985. V. 23. P. 113–125.
30. Fu Y.J., Yin L.T., Wang W., Chai B.F., Liang A.H. // Biotechnol. Lett. 2005. V. 27. P. 1597–1603.
31. Wudayagiri R., Inceoglu B., Herrmann R., Derbel M., Choudary P.V., Hammock B.D. // BMC Biochem. 2001. V. 2. P. 11–16.
32. Lippens G., Najib J., Wodak S.J., Tartar A. // Biochemistry. 1995. V. 34. P. 13–21.
33. Pal N., Yamamoto T., King G.F., Waine C., Bonning B. // Toxicon. 2013. V. 70. P. 114–122.
34. Veiseh M., Gabikian P., Bahrami S.B., Veiseh O., Zhang M., Hackman R.C., Ravanpay A.C., Stroud M.R., Kusuma Y., Hansen S.J., Kwok D., Munoz N.M., Sze R.W., Grady W.M., Greenberg N.M., Ellenbogen R.G., Olson J.M. // Cancer Res. 2007. V. 67. P. 6882–6888.
35. Zlotkin E., Eitan M., Bindokas V.P., Adams M.E., Moyer M., Burkhart W., Fowler E. // Biochemistry. 1991. V. 30. P. 4814–4821.
36. Benkhalifa R., Stankiewicz M., Lapied B., Turkov M., Zilberberg N., Gurevitz M., Pelhate M. // Life Sci. 1997. V. 61. P. 819–830.
37. Miller C., Moczydlowski E., Latorre R., Phillips M. // Nature. 1985. V. 313. P. 316–318.
38. MacKinnon R., Miller C. // J. Gen. Physiol. 1988. V. 91. P. 335–349.
39. Huys I., Waelkens E., Tytgat J. // J. Chromatogr. B. Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 2004. V. 803. P. 67–73.
40. Karbat I., Turkov M., Cohen L., Kahn R., Gordon D., Gurevitz M., Frolow F. // J. Mol. Biol. 2007. V. 366. P. 586–601.
41. Bontems F., Roumestand C., Gilquin B., Ménez A., Toma F. // Science. 1991. V. 254. P. 1521–1523.
42. Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K., Burger P.C., Jouvett A., Scheithauer B.W., Kleihues P. // Acta. Neuropathol. 2007. V. 114. P. 97–109.
43. Ohgaki H., Kleihues P. // Acta. Neuropathol. 2005. V. 109. P. 93–108.
44. Cheng L., Wu Q., Guryanova O.A., Huang Z., Huang Q., Rich J.N., Bao S. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2011. V. 406. P. 643–648.
45. Hegi M.E., Diserens A.C., Gorlia T., Hamou M.F., de Tribolet N., Weller M., Kros J.M., Hainfellner J.A., Mason W., Mariani L., Bromberg J.E., Hau P., Mirimanoff R.O., Cairncross J.G., Janzer R.C., Stupp R. // N. Engl. J. Med. 2005. V. 352. P. 997–1003.
46. Ogunrinu T.A., Sontheimer H. // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. P. 37716–37724.
47. Watkins S., Sontheimer H. // Trends Neurosci. 2012. V. 35. P. 546–556.
48. Ye Z.C., Sontheimer H. // Cancer Res. 1999. V. 59. P. 4383–4391.
49. Sontheimer H. // Exp. Biol. Med. 2008. V. 233. P. 779–791.
50. Weaver A.K., Liu X., Sontheimer H. // J. Neurosci. Res. 2004. V. 78. P. 224–234.
51. Cuddapah V.A., Habela C.W., Watkins S., Moore L.S., Barclay T.T., Sontheimer H. // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2012. V. 302. P. C527–C538.
52. Habela C.W., Ernest N.J., Swindall A.F., Sontheimer H. // J. Neurophysiol. 2009. V. 101. P. 750–757.
53. Sawaya R.E., Yamamoto M., Gokaslan Z.L., Wang S.W., Mohanam S., Fuller G.N., McCutcheon I.E., Stetler-Stevenson W.G., Nicolson G.L., Rao J.S. // Clin. Exp. Metastasis. 1996. V. 14. P. 35–42.
54. Ricci-Vitiani L., Pallini R., Biffoni M., Todaro M., Invernici G., Cenci T., Maira G., Parati E.A., Stassi G., Larocca L.M., De Maria R. // Nature. 2010. V. 468. P. 824–828.
55. Sottoriva A., Spiteri I., Piccirillo S.G., Touloumis A., Collins V.P., Marioni J.C., Curtis C., Watts C., Tavaré S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2013. V. 110. P. 4009–4014.
56. Mamelak A.N., Jacoby D.B. // Expert Opin. Drug Deliv. 2007. V. 4. P. 175–186.
57. Soroceanu L., Manning Jr. T.J., Sontheimer H. // J. Neurosci. 1999. V. 19. P. 5942–5954.
58. Fu Y.J., An N., Chan K.G., Wu Y.B., Zheng S.H., Liang A.H. // Biotechnol. Lett. 2011. V. 33. P. 1309–1317.
59. Fu Y.J., Yin L.T., Liang A.H., Zhang C.F., Wang W., Chai B.F., Yang J.Y., Fan X.J. // Neurosci. Lett. 2007. V. 412. P. 62–67.
60. Dshane J., Garner C.C., Sontheimer H. // J. Biol. Chem. 2003. V. 278. P. 4135–4144.
61. Kesavan K., Ratliff J., Johnson E.W., Dahlberg W., Asara J.M., Misra P., Frangioni J.V., Jacoby D.B. // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. P. 4366–4374.
62. McFerrin M.B., Sontheimer H. // Neuron. Glia Biol. 2006. V. 2. P. 39–49.
63. Gadsby D.C., Vergani P., Csanady L. // Nature. 2006. V. 440. P. 477–483.

64. Strongin A.Y., Collier I., Bannikov G., Marmer B.L., Grant G.A., Goldberg G.I. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 5331–5338.
65. Wiranowska M., Colina L.O., Johnson J.O. // *Cancer Cell Int.* 2011. V. 11. P. 27.
66. Jacoby D.B., Dyskin E., Yalcin M., Kesavan K., Dahlberg W., Ratliff J., Johnson E.W., Mousa S.A. // *Anticancer Res.* 2010. V. 30. P. 39–46.
67. Ling Q., Jacovina A.T., Deora A., Febbraio M., Simantov R., Silverstein R.L., Hempstead B., Mark W.H., Hajjar K.A. // *J. Clin. Invest.* 2004. V. 113. P. 38–48.
68. Tatenhorst L., Rescher U., Gerke V., Paulus W. // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2006. V. 32. P. 271–277.
69. Mamelak A.N., Rosenfeld S., Bucholz R., Raubitschek A., Nabors L.B., Fiveash J.B., Shen S., Khazaeli M.B., Colcher D., Liu A., Osman M., Guthrie B., Schade-Bijur S., Hablitz D.M., Alvarez V.L., Gonda M.A. // *J. Clin. Oncol.* 2006. V. 24. P. 3644–3650.
70. Stroud M.R., Hansen S.J., Olson J.M. // *Curr. Pharm. Des.* 2011. V. 17. № 38. P. 4362–4371.
71. Kovar J.L., Curtis E., Othman S.F., Simpson M.A., Olive D.M. // *Anal. Biochem.* 2013. V. 440. P. 212–219.
72. Akcan M., Stroud M.R., Hansen S.J., Clark R.J., Daly N.L., Craik D.J., Olson J.M. // *J. Med. Chem.* 2011. V. 54. P. 782–787.
73. Fan S., Sun Z., Jiang D., Dai C., Ma Y., Zhao Z., Liu H., Wu Y., Cao Z., Li W. // *Cancer Lett.* 2010. V. 291. P. 158–166.
74. Essig M., Weber M.A., von Tengg-Kobligk H., Knopp M.V., Yuh W.T., Giesel F.L. // *Top. Magn. Reson. Imaging.* 2006. V. 17. P. 89–106.
75. Sun C., Fang C., Stephen Z., Veiseh O., Hansen S., Lee D., Ellenbogen R.G., Olson J., Zhang M. // *Nanomedicine (Lond).* 2008. V. 3. P. 495–505.
76. Graf N., Mokhtari T.E., Papayannopoulos I.A., Lip-pard S.J. // *J. Inorg. Biochem.* 2012. V. 110. P. 58–63.
77. Costa P.M., Cardoso A.L., Mendonça L.S., Serani A., Custódia C., Conceição M., Simões S., Moreira J.N., Pereira de Almeida L., Pedrosa de Lima M.C. // *Mol. Ther. Nucleic Acids.* 2013. V. 2. P. e100.
78. Kievit F.M., Veiseh O., Fang C., Bhattarai N., Lee D., Ellenbogen R.G., Zhang M. // *ACS Nano.* 2010. V. 4. P. 4587–4594.

## Chlorotoxin and Related Peptides Are Short Insect Toxins from Scorpion Venom

A. A. Arzamasov<sup>#</sup>, A. A. Vassilevski, E. V. Grishin

<sup>#</sup>Phone: +7 (495) 336-65-40; e-mail: modeus-x@hotmail.com

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences,  
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia*

Scorpion venom is a complex multicomponent mixture of biologically active substances, some of which possess very interesting properties and are used in quite unexpected fields. The family of chlorotoxin (CTX)-like peptides serves a good example. These toxins exhibit insecticidal activity, however, their molecular mechanism of action on insect organism remains elusive. Nevertheless, CTX-like peptides attracted considerable research effort due to their ability to specifically interact with cells of brain tumors, i.e. gliomas. In the future these compounds may considerably aid anticancer therapy. This review summarizes the results obtained during the past 40 years of CTX-like peptides investigation. Both biological function aspects and the applied field related to gliomas are considered.

*Keywords: insect toxink, neurotoxin, scorpion venom, glioma, cancer therapy*