

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 535.372+547.92+547.814

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-5-558-566>

Поступило в редакцию 07.07.2020

Received 07.07.2020

Я. В. Диченко¹, М. С. Хорецкий², Я. В. Фалетров², А. В. Янцеви́ч¹,
член-корреспондент В. М. Шкуматов², член-корреспондент С. А. Усанов¹

¹Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

²Научно-исследовательский институт физико-химических проблем
Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

IN SILICO АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ФОТОАКТИВИРУЕМЫЕ ГРУППЫ, С ФЕРМЕНТАМИ CYP7 ЧЕЛОВЕКА

Аннотация. С целью выявления структурных особенностей взаимодействия ферментов CYP7 человека с производными бордипирометена (BODIPY) и стероидов, содержащих фотоактивируемые сшивающие группы, проведен *in silico* анализ комплексов «белок–лиганд». Показано, что модифицированные молекулы BODIPY, а также производное дегидроэпиандростерона с диазириновой группой способны связываться в активном центре стероид-гидроксилаз человека с аффинностью, сравнимой с соответствующими величинами, рассчитанными для природных субстратов этих ферментов. При этом геометрия комплекса «фермент–лиганд» для модифицированного стероида в активном центре также соответствует геометрии комплексов CYP7 со своими природными лигандами, что указывает на возможность образования гидроксильированных продуктов реакции – меченых аналогов биометаболитов. Показано, что наличие одновременно диазириновой и 7-нитробензофуразановой групп значительно снижает сродство лиганда к активному центру CYP7A1 и, в особенности, CYP7B1. Идентифицированы аминокислотные остатки, расположенные вблизи фотоактивируемых групп и способные образовывать с ними ковалентные аддукты. Полученные результаты представляют интерес для объяснения механизма взаимодействия соединений, содержащих фотоактивируемые сшивающие группы с рекомбинантными ферментами CYP7 человека *in vitro*, а также для идентификации продуктов ковалентной модификации аминокислотных остатков белка, образующихся при фотоактивации исследованных молекул.

Ключевые слова: цитохром P450, CYP7A1, CYP7B1, диазирин, фотоаффинное мечение, BODIPY, докинг

Для цитирования. *In silico* анализ взаимодействия соединений, содержащих фотоактивируемые группы, с ферментами CYP7 человека / Я. В. Диченко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 5. – С. 558–566. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-5-558-566>

Yaraslau U. Dzichenka¹, Matvey S. Horetski², Yaroslav V. Faletrov², Aliaksei V. Yantsevich¹,
Corresponding Member Vladimir M. Shkumatov², Corresponding Member Sergei A. Usanov¹

¹Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

IN SILICO ANALYSIS OF INTERACTION OF COMPOUNDS, CONTAINING PHOTOACTIVATABLE GROUPS, WITH HUMAN CYP7 ENZYMES

Abstract. *In silico* analysis of “protein–ligand” complexes of human CYP7 enzymes with modified borondipyrromethene (BODIPY) and steroids, containing photo-activated crosslinking groups, was performed in order to identify structural peculiarities of their interaction. It was found that BODIPY molecules and DHEA derivative with diazine group are able to bind tightly with human steroid-hydroxylases. Binding affinity is comparable with corresponding values for essential ligands of the enzymes. Binding mode of the modified steroid corresponds to the binding mode of essential CYP7 ligands, so formation of hydroxylated products is possible. It was found that presence of both diazine and NBD groups in a molecule significantly increases affinity of the compound in case of CYP7A1 and, especially, CYP7B1. Amino acid residues, located in a close proximity with photo-activated groups were detected, that can form covalent adducts with them. The obtained results can shed light on the mechanism of interaction of the compounds with recombinant human CYP7 enzymes *in vitro*. The results can also be used for the identification of modified amino acids of the proteins that are formed under photoactivation of the compounds *in vitro*.

Keywords: cytochrome P450, CYP7A1, CYP7B1, diazine, photoaffinity labeling, BODIPY, docking

For citation: Dzichenka Y. U., Horetski M. S., Faletrov Y. V., Yantsevich A. V., Shkumatov V. M., Usanov S. A. *In silico* analysis of interaction of compounds, containing photoactivatable groups, with human CYP7 enzymes. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 5, pp. 558–566 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-5-558-566>

Введение. Фотоаффинное мечение, или фотосшивка – современный подход биохимических исследований, заключающийся в использовании соединений, модифицированных группами, способными при облучении ультрафиолетом генерировать высокореакционные радикальные частицы, ковалентно присоединяющиеся к тому или иному биообъекту [1]. В частности, в литературе описаны производные стероидов различных классов, содержащие фотоактивируемые сшивающие (ФАС) группы, способные вызывать фотоиницируемые ковалентные сшивки: бензофеноновые [1], арилазидные [2; 3] и диазириновые [4; 5], для которых показано наилучшее сочетание фотофизических свойств (активируются ближним ультрафиолетовым светом 350–380 нм, небольшой размер, возможность фотоприсоединения к С–Н и О–Н связям) [6].

Использование известных лигандов конкретных мишеней для синтеза молекул, содержащих ФАС группы, позволяет создавать новые соединения, способные с высокой аффинностью связываться в активном центре исследуемых белков, что показано, например, в [5]. Помимо этого в качестве основы для синтеза соединений, в состав которых включена ФАС метка, можно использовать различные флуоресцентные соединения. Например, в литературе имеются сведения касательно ФАС-содержащих производных планарных гидрофобных бордипиррометеновых красителей (BODIPY) [7]. Способность к фотоаффинному связыванию при этом появляется за счет бензофеноноподобной структуры соединения.

Известно, что способностью к фотоиндуцированному образованию свободных радикалов, фотодимеризации и фотосшивкам обладают фенольные и индольные группы остатков Туг и Тгр [8]. Это позволяет рассматривать другие молекулы, содержащие такие фрагменты, в качестве перспективных кандидатов на роль соединений-зондов. В частности, такими соединениями являются производные стероидов, содержащие NBD-, или индольный фрагмент в боковой цепи [9].

Использование лигандов, в структуре которых присутствует ФАС группа, обладает рядом неоспоримых преимуществ. Главное среди них заключается в том, что синтез молекул, мимикрирующих «естественные» лиганды и содержащих ФАС метку, позволит получать новые «меченные» аналоги биометаболитов, что, в первую очередь, важно для установления механизма работы определенного белка и стероидной сигнализации в целом, а также открывает перспективы применения таких модифицированных лигандов для поиска конкретных мишеней белковой природы в составе клетки или органелл. Особенно это актуально в случае, когда пространственная структура белка или белок-лигандного комплекса не разрешена.

В данной работе методом компьютерного моделирования проведено исследование взаимодействия производных стероидов и BODIPY, содержащих ФАС группы, с ферментами человека CYP7A1 и CYP7B1. Данные белки принадлежат к суперсемейству цитохромов P450 – гемсодержащих монооксигеназ – и участвуют в метаболизме холестерина, его гидроксипроизводных (22R-, 25-, 27-гидроксихолестерин), а также ряда стероидных гормонов (дегидроэпиандростерон, эпиандростерон, прегненолон). Мутации в соответствующих генах приводят к возникновению тяжелых летальных заболеваний (спастическая параплегия типа 5, гиперхолестеринемия, врожденный дефект синтеза желчных кислот), молекулярные механизмы которых до конца так и не выяснены.

Материалы и методы исследования. Пространственные структуры флуоресцентных производных стероидов конструировали исходя из их структурных формул с использованием онлайн сервиса MolView. Модели подвергали процедуре минимизации методом молекулярной механики (силовое поле UFF) и использовали для молекулярной стыковки (докинга) с ферментами CYP7.

Докинг осуществляли с использованием программы AutoDock Vina v 1.1.2. Оптимальные параметры области активного центра ферментов (длину, ширину, высоту, а также углы поворота относительно базисных векторов декартовой прямоугольной системы координат) для каждой из протестированных молекул рассчитывали используя экспериментально определенные структуры комплексов белок–лиганд, представленные в базе данных PDB. Пространственные структуры флуоресцентных соединений сравнивали с известными лигандами CYP7A1, используя бинарную меру сходства Сёренсена. При совпадении структур более, чем на 90 % в качестве размеров области докинга использовали геометрические параметры, рассчитанные для известного

лиганда +5 %. Во всех остальных случаях размеры соответствовали параметрам, вычисленным для тестируемого соединения.

В процессе докинга генерировали 10 различных положений лиганда в активном центре соответствующего фермента с параметром избыточности 256, при этом разница в величине энергии связывания между различными положениями составляла не менее 4 ккал/моль. Результаты стыковки анализировали путем ранжирования полученных положений лиганда в соответствии с их среднеквадратичным отклонением относительно структур комплексов CYP7A1 с 7-кетохолестероном (PDB ID: 3V8D) и 4-холестерин-3-оном (PDB ID: 3SN5), определенных экспериментально, а также согласно значениям оценочной функции, рассчитанной программой AutoDock Vina.

Модель фермента CYP7B1 человека строили методом гомологичного моделирования (программа Modeller 9.4) с использованием пространственных структур CYP7A1, представленных в базе данных Protein Data Bank (PDB) (идентификаторы в базе данных: 3DAX, 3SN5) в качестве шаблонов. В случае CYP7A1 для *in silico* эксперимента использовали структуру из базы данных Protein Data Bank: PDB ID 3SN5.

Параметры силового поля для производных стероидов (NBD-Dz и DAM-Dz) рассчитывали с помощью утилиты antechamber, входящей в состав программного пакета Amber16. Частичные заряды на атомах определяли методом AM1-BCC. Параметры силового поля для производных BODIPY рассчитывали путем полуэмпирических квантово-химических расчетов с помощью программного комплекса MOPAC (метод параметризации PM7).

Молекулярную динамику моделировали с использованием функционала программного пакета Amber16.

Перед проведением молекулярной динамики (МД) систему подвергали процедуре оптимизации: минимизация полной энергии с наложением пространственных ограничений (силовая константа – 10 ккал/(моль · Å²)) на движения атомов белка и минимизация без ограничений на движения атомов. В обоих случаях протокол минимизации включал в себя 1500 шагов с использованием метода градиентного спуска и 500 шагов с использованием метода сопряженных градиентов. Нагрев осуществляли в течение 1 нс до температуры 298,15 К (NVT ансамбль). На следующем шаге уравнивали моделируемую систему в течение 1 нс при 298,15 К при постоянном давлении. Моделирование свободной динамики осуществляли на временном промежутке 50 нс (NPT ансамбль).

Постоянное давление в системе поддерживали при помощи внешнего баростата (время релаксации – 2 пс). Постоянную температуру поддерживали с использованием термостата Ланжевена (частота столкновений – 2 пс⁻¹).

На всех этапах моделирования граничный радиус невалентных взаимодействий принимали равным 10,0 Å. Расчет осуществляли в явном растворителе (вода, модель TIP3P, размеры области моделирования – 10,0 Å от поверхности белка).

Компьютерное моделирование осуществляли на вычислительном комплексе ИБОХ НАН Беларуси (2 x Opteron 6378 2,4 GHz (32 ядра); 256 GB RAM; 2 x NVIDIA GeForce GTX TITAN).

Результаты и их обсуждение. Докинг рассматриваемых в данной работе лигандов в активный центр стероид-гидроксилаз человека показал следующее: для всех соединений, кроме случая CYP7B1 и NBD-Dz, энергия связывания, рассчитанная с использованием оценочной функции программы Autodock Vina, имеет отрицательные значения, что свидетельствует о возможности образования комплексов белков с соединениями, содержащими ФАС группу (табл. 1). Взаимодействие же NBD-Dz с CYP7B1, согласно проведенным расчетам, энергетически невыгодно. Возможная причина этого кроется в том, что данное соединение содержит два больших полярных заместителя при C₃ и C₁₇, и в результате дополнительных стерических ограничений уменьшается число возможных положений лиганда внутри активного центра фермента. Согласно результатам анализа траектории молекулярной динамики, наиболее энергетически выгодное положение молекулы таково, что диазириновый фрагмент направлен наружу белка вдоль канала доступа в активный центр, а NBD-фрагмент локализуется в гидрофобном кармане, сформированном аминокислотными остатками, принадлежащими α-спиралям В', С, I. При этом плоскость стероида повернута вокруг своей продольной оси на 180°, по сравнению с известными лигандами CYP7 (рис. 1).

Таблица 1. Результаты молекулярного докинга лигандов стероид-гидроксилаз человека и соединений, содержащих ФАС группы

Table 1. Results of molecular docking of ligands with photoactivated crosslinker groups toward human sterol-hydroxylases

Соединение Compound	Структура Structure	Энергия связывания, ккал/моль Binding energy, kcal/mol	
		СYP7A1	СYP7B1
5-андростен-3 β -ол-17-он (ДГЭА)		–*	–8,0
4-холестен-3-он**		–10,5	–**
BD-1		–10,0	–10,0
BD-2		–9,6	–10,4
NBD-Dz		–5,8	1,0
DAM-Dz		–9,6	–4,6

Примечание: * – ДГЭА – природный лиганд СYP7B1; ** – 4-холестен-3-он – природный лиганд СYP7A1.

Note: ДГЭА – natural ligand for СYP7B1; 4-холестен-3-он – natural ligand for СYP7A1.

Примечательно, что аналогичное расположение лиганда получено и в результате докинга NBD-Dz в активный центр СYP7A1. В этом случае взаимодействие лиганда с рецептором энергетически выгодно, однако в то же время энергия связывания ниже, чем для природного лиганда (табл. 1). В процессе молекулярной динамики NBD-группа лиганда разворачивается атомом кислорода в сторону α -спирали В', но относительная локализация стероидного ядра молекулы и гема при этом практически не меняется. Следует отметить, что геометрия комплекса «NBD-Dz-белок», полученная в результате МД, достаточно стабильна для обоих ферментов: среднеквадратичное отклонение атомов молекулы не превышает 1,6 Å (рис. 2).

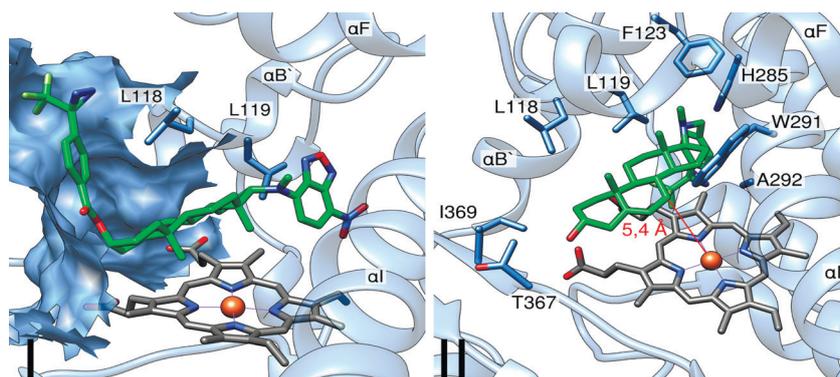


Рис. 1. Фрагмент полости активного центра CYP7B1 в комплексе с NBD-Dz (I) и DAM-Dz (II)

Fig. 1. Fragment of human CYP7B1 active site in a complex with NBD-Dz (I) and DAM-Dz (II)

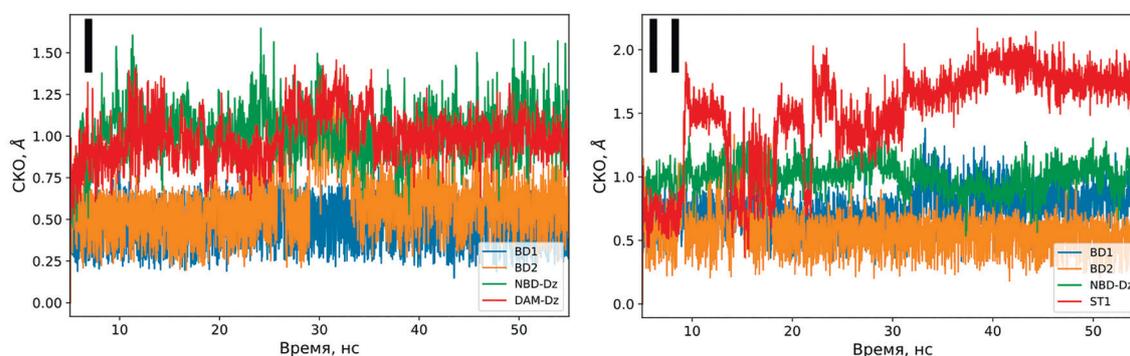


Рис. 2. Среднеквадратичное отклонение атомов лигандов для соответствующих комплексов с CYP7A1 (I) и CYP7B1 (II) в процессе 50 нс молекулярной динамики

Fig. 2. Root mean square deviation of atoms of the ligands in a complex with CYP7A1 (I) and CYP7B1 (II) during 50 ns molecular dynamics simulation

Согласно результатам докинга, среди исследованных производных стероидов только DAM-Dz располагается в полости активного центра CYP7B1 в соответствии с локализацией природного субстрата данного фермента (ДГЭА), а также лигандов гомологичного фермента CYP7A1 (4-холестен-3-он и 7-кетохолестерин): плоскости стерана и гема параллельны, расстояние от 7 атома углерода до атома Fe^{3+} гема составляет 5,4 Å. При таком положении лиганда боковой заместитель при C_{17} располагается в кармане, сформированном остатками, принадлежащими α -спиралям B', C, I, и образуется водородная связь между β -ОН группой стероида и Thr367, принадлежащим одному из сайтов распознавания молекулы субстрата (SRS-5) фермента CYP7B1 (рис. 1, II). Однако такая геометрия лиганда в активном центре не является достаточно устойчивой. На это указывают значительные различия в энергии взаимодействия «лиганд–белок» для ферментов CYP7 (табл. 1). Аналогичные выводы можно сделать на основании результатов 50 нс МД (рис. 2, II), согласно которым наиболее энергетически выгодное положение молекулы такое, при котором продольная ось стероидного ядра направлена в сторону канала доступа в активный центр фермента, аналогично диазириновому фрагменту в случае соединения NBD-Dz (рис. 1, I).

В случае CYP7A1 оптимальное положение лиганда DAM-Dz, согласно результатам докинга, не совпадает с таковым для холестерона или 7-кетохолестерина: плоскость стероида наклонена под углом 60° относительно плоскости гема. Диазириновый фрагмент при этом расположен в полости, образованной остатками, принадлежащими α -спиралям B', C, I, но в отличие от CYP7B1 он локализуется вдоль α -спирали I. Это связано с тем, что у ферментов CYP7 значительно различаются физико-химические свойства аминокислотных остатков указанных выше элементов вторичной структуры, что определяет селективность данных белков по отношению к лигандам, содержащим у C_{17} атома углерода заместители с различным пространственным положением полярных фрагментов. В частности, в α -спирали B' на месте Leu118 и Leu119 (CYP7B1) у CYP7A1

локализованы Thr104 и Ser105. Интересно, что в ходе 50 нс МД стероидное ядро соединения DAM-Dz располагается в активном центре CYP7A1 аналогично природным субстратам белка (рис. 3, I).

Докинг производных BODIPY показал, что в случае CYP7B1 положения обоих соединений в активном центре практически совпадают. Молекула располагается метильным заместителем к атому Fe^{3+} (расстояния от метильного заместителя составляют 4,7 Å для BD1 и 4,2 Å для BD2 соответственно), при этом плоскость бордипиррометена параллельна плоскости гема, а бензольный фрагмент локализуется в полости активного центра, упомянутой выше (рис. 4). Согласно результатам 50 нс МД, данное положение является стабильным для обеих молекул (рис. 2, II).

Наличие в α -спирали В' CYP7A1 аминокислотных остатков с гидрофильными боковыми цепями накладывает дополнительные стерические ограничения на положение молекул в активном центре. Поэтому бензольное кольцо в случае соединения BD1 располагается в канале доступа, а в случае соединения BD2 – в полости активного центра, но так, что кето-группа взаимодействует с аминокислотными остатками, принадлежащими α -спирали В', а плоскость BODIPY-фрагмента перпендикулярна плоскости гема (рис. 4). Анализ траекторий молекулярной динамики показал, что более устойчив комплекс CYP7A1 с BD1 (рис. 2, I), в то время как соединение BD2 может менять свое положение относительно гема и ключевых аминокислотных остатков.

Анализ траекторий молекулярной динамики также позволил идентифицировать аминокислотные остатки белка, с которыми могут ковалентно связываться исследуемые соединения, содержащие ФАС группы. Для этого рассчитывали частоту встречаемости атомов белка на рассто-

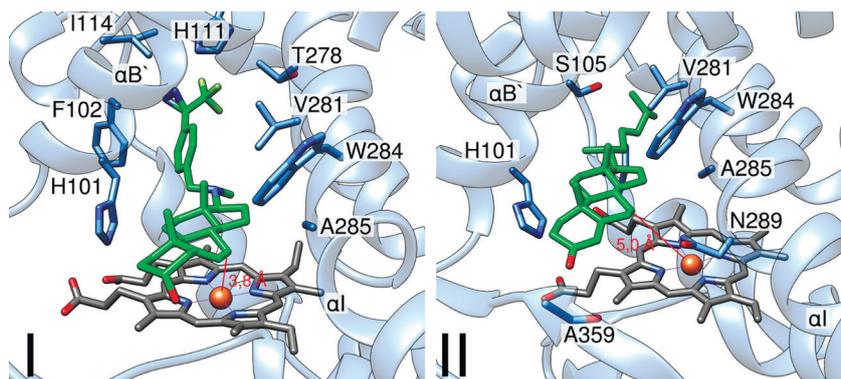


Рис. 3. Фрагмент полости активного центра CYP7A1 в комплексе с DAM-Dz (I) и холестереном (PDB ID: 3SN5) (II)

Fig. 3. Fragment of human CYP7A1 active site in a complex with DAM-Dz (I) and 4-cholestene-3-one (PDB ID: 3SN5) (II)

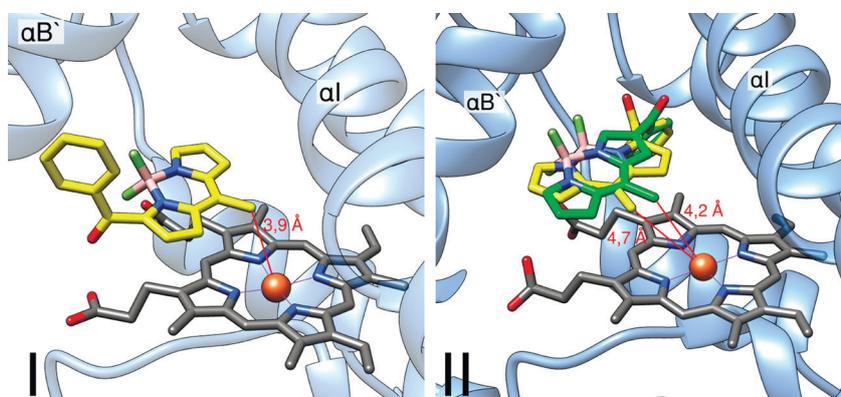


Рис. 4. Фрагмент полости активного центра CYP7A1 (I) и CYP7B1 (II) в комплексе с производными BODIPY. Лиганды BD1 и BD2 окрашены в желтый и зеленый цвет соответственно

Fig. 4. Fragment of human CYP7A1 (I) and CYP7B1 (II) active site in a complex with BODIPY derivatives. Compounds BD1 and BD2 are colored by yellow and green

янии не более 4,0 Å от атома углерода, непосредственного связанного с атомами азота диазиринового фрагмента (для производных стероидов), и атома углерода, образующего двойную связь с атомом кислорода (для производных BODIPY). Результаты проведенных расчетов приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Частота встречаемости аминокислотных остатков вблизи ФАС групп протестированных соединений

Table 2. Occurrence frequency of amino acid residues near photoactivated crosslinking groups of tested compounds

Соединение Compound	Аминокислотный остаток (% от общего времени 50 нс МД) Amino acid residue (% of total time of 50 ns molecular dynamics simulation)	
	CYP7A1	CYP7B1
BD1	Leu486 (100 %) Ser360 (99 %) Leu361 (100 %)	Leu119 (91 %) Leu138 (76 %)
BD2	Ser105 (69 %) Phe109 (60 %)	Trp291 (66 %) Ala292(54 %)
NBD-Dz	Thr104 (88 %) Phe100 (63 %) Ile363 (65 %)	Ile369 (87 %) Ile90 (60 %) Phe489 (52 %) Phe114 (85 %)
DAM-Dz	Ile125 (91 %) Phe129 (69 %) Phe102 (62 %)	His285 (90 %) Gly288 (78 %) Glu137 (57 %)

Согласно полученным данным, вероятность образования ковалентных модификаций с консервативными аминокислотными остатками активного центра достаточно высока как для одного, так и для второго белка. Среди них есть остатки, играющие важную роль в процессе катализа, стабилизации молекулы лиганда в активном центре (например, Thr104, Ser105, Leu361 для CYP7A1, Phe114, Leu119, His285, Trp291, Ala292 для CYP7B1). Следовательно, данные соединения могут быть использованы для исследования структурных и каталитических особенностей стероид-гидроксилаз человека в норме и при наличии мутаций, связанных с возникновением заболеваний.

Заключение. Таким образом, в результате моделирования докинга и молекулярной динамики соединений, содержащих ФАС группы, с ферментами CYP7 человека установлено, что производные BODIPY и диазиририн-содержащее производное ДГЭА способны образовывать «прочные» комплексы со стероид-гидроксилазами. Показано, что соединение DAM-Dz локализуется в активном центре белков аналогично природным субстратам ферментов, что указывает на возможность гидроксирования молекулы по 7 положению и образованию меченного аналога метаболита. Выявлено, что в ходе молекулярной динамики ФАС группы локализуются вблизи консервативных аминокислотных остатков CYP7, способных образовывать ковалентные аддукты с интермедиатами, формирующимися при фотоактивации бензофенонов и, особенно, диазиринов.

Полученные результаты будут использованы в дальнейшем для объяснения механизма взаимодействия рассмотренных в работе производных стероида и BODIPY, содержащих ФАС группы, с рекомбинантными ферментами CYP7 человека *in vitro*, а также для идентификации продуктов ковалентной модификации аминокислотных остатков белка, образующихся при фотоактивации исследованных молекул.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (проект № X19PM-062).

Acknowledgments. This work was supported by BRFFR (project no. X19PM-062).

Список использованных источников

1. Photo-affinity labeling (PAL) in chemical proteomics: a handy tool to investigate protein-protein interactions (PPIs) / D. P. Murale [et al.] // *Proteome Science*. – 2016. – Vol. 15, N 1. <https://doi.org/10.1186/s12953-017-0123-3>
2. Labeling of the nicotinic acetylcholine receptor by a photoactivatable steroid probe: effects of cholesterol and cholinergic ligands / A. M. Fernandez [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*. – 1993. – Vol. 1149, N 1. – P. 135–144. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(93\)90034-w](https://doi.org/10.1016/0005-2736(93)90034-w)

3. Kym, P. R. Evaluation of a highly efficient aryl azide photoaffinity labeling reagent for the progesterone receptor / P. R. Kym, K. E. Carlson, J. A. Katzenellenbogen // *Bioconjugate Chemistry*. – 1995. – Vol. 6, N 1. – P. 115–122. <https://doi.org/10.1021/bc00031a014>
4. Lysosomal cholesterol activates mTORC1 via an SLC38A9–Niemann-Pick C1 signaling complex / B. M. Castellano [et al.] // *Science*. – 2017. – Vol. 355, N 6331. – P. 1306–1311. <https://doi.org/10.1126/science.aag1417>
5. Photoaffinity labeling with cholesterol analogues precisely maps a cholesterol-binding site in voltage-dependent anion channel-1 / M. M. Budelier [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 2017. – Vol. 292, N 22. – P. 9294–9304. <https://doi.org/10.1074/jbc.m116.773069>
6. Current advances of carbene-mediated photoaffinity labeling in medicinal chemistry / S.-S. Ge [et al.] // *RSC Advances*. – 2018. – Vol. 8, N 51. – P. 29428–29454. <https://doi.org/10.1039/c8ra03538e>
7. Rational design of a photo-crosslinking BODIPY for *in situ* protein labeling / D. P. Murale [et al.] // *Chemical communications*. – 2015. – Vol. 51, N 30. – P. 6643–6646. <https://doi.org/10.1039/c5cc01068c>
8. Formation and detection of oxidant-generated tryptophan dimers in peptides and proteins / L. Carroll [et al.] // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2017. – N 113. – P. 132–142. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.09.020>
9. Effect of the NBD-group position on interaction of fluorescently-labeled cholesterol analogues with human steroidogenic acute regulatory protein STARD1 / K. V. Tugaeva [et al.] // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2018. – Vol. 497, N 1. – P. 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.02.014>

References

1. Murale D. P., Hong S. C., Haque M. M., Lee J.-S. Photo-affinity labeling (PAL) in chemical proteomics: a handy tool to investigate protein-protein interactions (PPIs). *Proteome Science*, 2016, vol. 15, no. 1. <https://doi.org/10.1186/s12953-017-0123-3>
2. Fernandez A. M., Fernandez-Ballester G., Ferragut J. A., Gonzales-Ros J. M. Labeling of the nicotinic acetylcholine receptor by a photoactivatable steroid probe: effects of cholesterol and cholinergic ligands. *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, 1993, vol. 1149, no. 1, pp. 135–144. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(93\)90034-w](https://doi.org/10.1016/0005-2736(93)90034-w)
3. Kym P. R., Carlson K. E., Katzenellenbogen J. A. Evaluation of a highly efficient aryl azide photoaffinity labeling reagent for the progesterone receptor. *Bioconjugate Chemistry*, 1995, vol. 6, no. 1, pp. 115–122. <https://doi.org/10.1021/bc00031a014>
4. Castellano B. M., Thelen A. M., Moldavski O., Feltes M., van der Welle R. E. N., Mydock-McGrane L., Jiang X., van Eijkeren R. J., Davis O. B., Louie S. M., Perera R. M., Covey D. F., Nomura D. K., Ory D. S., Zoncu R. Lysosomal cholesterol activates mTORC1 via an SLC38A9–Niemann-Pick C1 signaling complex. *Science*, 2017, vol. 355, no. 6331, pp. 1306–1311. <https://doi.org/10.1126/science.aag1417>
5. Budelier M. M., Cheng W., Bergdoll L., Chen Z. W., Janetka J. W., Abramson J., Krishnan K., Mydock-McGrane L., Covey D. F., Whitelegge J. P., Evers A. S. Photoaffinity labeling with cholesterol analogues precisely maps a cholesterol-binding site in voltage-dependent anion channel-1. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, vol. 292, no. 22, pp. 9294–9304. <https://doi.org/10.1074/jbc.m116.773069>
6. Ge S.-S., Chen B., Wu Y.-Y., Long Q.-S., Zhao Y.-L., Wang P.-Y., Yang S. Current advances of carbene-mediated photoaffinity labeling in medicinal chemistry. *RSC Advances*, 2018, vol. 8, no. 51, pp. 29428–29454. <https://doi.org/10.1039/c8ra03538e>
7. Murale D. P., Hong S. C., Yun J., Yoon C. N., Lee J. S. Rational design of a photo-crosslinking BODIPY for *in situ* protein labeling. *Chemical communications*, 2015, vol. 51, no. 30, pp. 6643–6646. <https://doi.org/10.1039/c5cc01068c>
8. Carroll L., Pattison D. I., Davies J. B., Anderson R. F., Lopez-Alarcon C., Davies M. J. Formation and detection of oxidant-generated tryptophan dimers in peptides and proteins. *Free Radical Biology and Medicine*, 2017, no. 113, pp. 132–142. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.09.020>
9. Tugaeva K. V., Faletrov Y. V., Allakhverdiev E. S., Shkumatov V. M., Maksimov E. G., Sluchanko N. N. Effect of the NBD-group position on interaction of fluorescently-labeled cholesterol analogues with human steroidogenic acute regulatory protein STARD1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, vol. 497, no. 1, pp. 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.02.014>

Информация об авторах

Диченко Ярослав Владимирович – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: dichenko@iboch.by.

Хорецкий Матвей Сергеевич – мл. науч. сотрудник. НИИ физико-химических проблем БГУ (ул. Ленинградская, 14, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: matvey.horetski@gmail.com.

Фалетров Ярослав Вячеславович – канд. хим. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. НИИ физико-химических проблем БГУ (ул. Ленинградская, 14, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: yaroslav82@tut.by.

Information about the authors

Dzichenka Yaroslau U. – Ph. D. (Chemistry), Senior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dichenko@iboch.by.

Horetski Matvey S. – Junior researcher. Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: matvey.horetski@gmail.com.

Faletrov Yaroslav V. – Ph. D. (Chemistry), Senior Researcher, Associate professor. Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yaroslav82@tut.by.

Янцевич Алексей Викторович – канд. хим. наук, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: al.yantsevich@gmail.com.

Шкуматов Владимир Макарович – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. НИИ физико-химических проблем БГУ (ул. Ленинградская, 14, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vlad.shkumatov@tut.by.

Усанов Сергей Александрович – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: usanov@iboch.by.

Yantsevich Aliaksei V. – Ph. D. (Chemistry), Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: al.yantsevich@gmail.com.

Shkumatov Vladimir M. – Corresponding Member, D. Sc. (Biology), Professor, Chief Researcher. Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vlad.shkumatov@tut.by.

Usanov Sergei A. – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Professor, Chief Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: usanov@iboch.by.