

Влияние сигнальных последовательностей KDEL и REDLK на цитотоксичность HER2-специфичного токсина DARPIn-LoPE40

Научный руководитель – Прошкина Галина Михайловна

Киселева Дарья Владимировна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: Darkiseleva@mail.ru

Благодаря прогрессу в изучении молекулярных основ канцерогенеза, в последние годы все бóльшую роль в лечении онкологических заболеваний играет таргетная (направленная) терапия. Этот подход основан на использовании адресных бифункциональных агентов, способных избирательно связываться с маркером-мишенью на поверхности опухолевых клеток и вызывать их гибель.

Данная работа посвящена созданию адресного токсина на основе таргетного модуля DARPIn и цитотоксического модуля на основе фрагмента псевдомонадного токсина PE40. Адресный модуль DARPIn (Designed Ankyrin Repeat Protein) является молекулой неиммуноглобулиновой природы на основе искусственного белка с анкириновыми повторами, способного узнавать онкомаркер HER2 с высокой аффинностью ($K_D=3.8$ нМ) [1]. Цитотоксический модуль представляет собой низкоиммуногенный вариант фрагмента псевдомонадного экзотоксина А (LoPE), в котором удалены эпитопы узнавания Т- и В-клеток.

В ходе работы нами получено два варианта токсина DARPIn-LoPE: один в С-концевом домене молекулы содержит сигнальную последовательность для ретроградного транспорта REDLK (как в природном токсине), другой - KDEL. С помощью МТТ теста была проведена оценка цитотоксической активности целевых белков на трех клеточных линиях с различным уровнем экспрессии онкомаркера HER2. Цитотоксическая активность HER2-специфичного DARPIn-LoPE40 с сигнальной последовательностью KDEL выше в 63 раза (IC_{50}), чем с REDLK для HER2-гиперэкспрессирующих клеток (SKBR-3) и в 66 раз (IC_{50}) для клеток со средним уровнем экспрессии HER2 (HeLa). Методом конфокальной микроскопии установлено, что обе С-концевые аминокислотные последовательности REDLK и KDEL токсического модуля PE40 обеспечивают его транслокацию из аппарата Гольджи в ЭПР, однако эффективность этого процесса оказывается выше у белка с KDEL сигналом.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант №14-14-00813).

Источники и литература

- 1) Steiner D, Forrer P, Plückthun A. Efficient selection of DARPins with sub-nanomolar affinities using SRP phage display // J Mol Biol. 2008, Vol. 382. P. 1211-1227.