

Бактерии, трансформированные соответствующими плазмидами, выращивали в автоиндукционных средах [8]. Рекombинантные штаммы дарпинов характеризовались высокими выходами целевого продукта – не менее 100 мг с литра. Был разработан метод выделения и очистки белков, включающий металлхелатную аффинную и анионообменную хроматографии. При разработке метода очистки дарпинов особое внимание уделялось таким параметрам, как содержание в белковых препаратах эндотоксинов и хозяйских белков.

Правильная молекулярная масса и гомогенность препаратов мутантных дарпинов была подтверждена при помощи тандемной масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением. Кинетику связывания мутантных дарпинов измеряли при помощи прибора LigandTracer [9]. Было установлено, что на мембранах клеток имело место быть два типа взаимодействия – низкоаффинное (в наномолярном диапазоне) и высокоаффинное (в пикомолярном диапазоне) [10].

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (научные проекты № 18-34-00899 мол_а и № 18-29-08030мк

ЛИТЕРАТУРА

- [1] C.N. Jost, et al. (2013) Structure, 21: 1979–1991
- [2] M.T. Stumpp, P. Amstutz (2007) Curr. Opin. Drug Discov. Devel. 10:153–159.
- [3] G.L. Sennhauser, et al. (2006) PLoS Biol. 5:106–113.
- [4] N.E. Hynes, H.A. Lane (2005) Nat. Rev. Cancer. 5:341–354
- [5] H.K. Binz, et al. (2004) Nat. Biotechnol. 22:575–582
- [6] N.A. Stefan, et al. (2011) Mol. Biol. 413(4):826–843
- [7] M.P. Malakhov, et al., J. Struct. Funct. Genomics, 5: 75–86
- [8] F.W. Studier (2005) Protein Expression Purif., 41: 207–234
- [9] S.M. Deyev, et al. (2019) Mol. Pharm., 16: 995–1008
- [10] A.G. Vorobyeva, et al. (2018) Contrast Media Mol. Imaging, 6930425

УДК 616–006–092.9

ИНГИБИРОВАНИЕ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ SET7/9 ПОВЫШАЕТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ РАКОВЫХ КЛЕТОК К ГЕНОТОКСИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

А.А. Дакс, О.М. Семенов, А.В. Жарова, О.Ю. Шувалов, О.А. Федорова, А.В. Петухов, Н.А. Барлев

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

Метилтрансфераза Set7/9, продукт гена *setd7*, представляет собой фермент, осуществляющий метилирование гистонов H3 и H3, а также множества транскрипционных факторов, таких как p53, E2F1, YAP, эстрогеновый рецептор ER, NFκB и других. На основании того, что субстраты Set7/9 играют ключевую роль в регуляции клеточного ответа на генотоксический стресс, клеточного цикла и апоптоза, мы предположили и доказали, что при ингибировании экспрессии или активности Set7/9 повышается чувствительность раковых клеток к ДНК-повреждающим агентам доксорубину и метилнитрозогуанидину (МНГ). Доксорубин является ингибитором топоизомеразы II и приводит к активации систем репарации двуцепочечных разрывов, таких как гомологичная рекомбинация и негомологичное соединение концов, в то время как МНГ обладает сходным с цисплатином действием, вызывая точечные модификации пуриновых оснований и активацию ошибочно спаренных нуклеотидов. Соответственно, Set7/9 опосредует устойчивость клеток к основным генотоксическим химиопрепаратам. В ходе наших исследований мы обнаружили, что повышенный уровень данного белка наблюдается при наиболее агрессивных формах рака легкого и рака молочной железы. Так, мы продемонстрировали, что для немелкоклеточного рака легкого с мутациями в гене KRAS, а также для HER2-позитивного подтипа рака молочной железы характерно повышение экспрессии Set7/9. Кроме того мы показали, что подавление экспрессии Set7/9, а также применение специфического ингибитора данного фермента (R) – PFI-2 повышает чувствительность клеток рака легкого и рака молочной железы к генотоксическим препаратам доксорубину и цисплатину, широко применяемым в онкологии в настоящее время. Таким образом, метилтрансфераза может рассматриваться в качестве онкобиомаркера и перспективной мишени для разработки противораковой терапии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19–75–10059.