

Исследование влияния мутаций Noxa на таргетирование анти-апоптотического белка Mcl-1L

Научный руководитель – Копейна Гелина Сергеевна

Зуев Антон Петрович

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, Кафедра химии природных соединений, Москва, Россия

E-mail: anzuev98@gmail.com

Лаборатория исследования механизмов апоптоза, Факультет фундаментальной медицины, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Белки семейства Bcl-2 являются ключевыми регуляторами апоптоза, одного из наиболее изученных типов программируемой клеточной гибели. Данное семейство и связанные с ним белки содержат более 30 членов, которые обладают как про-, так и анти-апоптотическими свойствами. Баланс и взаимодействие между этими типами белков регулируют смерть и выживание клеток. Изменение этого взаимодействия, например, повышение уровня анти-апоптотических белков, часто используются раковыми клетками в качестве механизма устойчивости к гибели, что играет важную роль в процессе возникновения опухоли [1]. Для контроля апоптоза клетки регулируют белки Bcl-2 семейства через посттрансляционные модификации, которые влияют на стабильность, локализацию и взаимодействие этих белков. Анти-апоптотический белок Mcl-1 играет решающее значение для выживания различных опухолевых клеток и поэтому представляет собой привлекательную мишень для терапии. Уровень этого белка контролируется через механизм убиквитин-зависимой протеасомной деградации. Другим важным регулятором уровня Mcl-1 является его взаимодействие с про-апоптотическим белком Noxa, который направляет Mcl-1 на деградацию, однако этот механизм остается до конца неясным [2].

Целью данной работы являлось исследование роли различных аминокислотных остатков в Noxa во взаимодействии с Mcl-1. С помощью молекулярного моделирования был произведен анализ и сравнение кристаллических структур комплексов Noxa/Mcl-1 и Vim/Mcl-1. В результате было выявлено различие ВНЗ-доменов в про-апоптотических белках Noxa и Vim, что может быть ключевым фактором в функции этих белков в апоптозе. В отличие от Noxa Vim не влияет на уровень Mcl-1, но блокирует его анти-апоптотические функции. С помощью сайт-направленного мутагенеза были получены конструкции, кодирующие варианты Noxa с заменами Leu36Phe, Gln40Tyr, Lys35Glu в ВНЗ-домене. Далее эти конструкции были введены в клетки линий карциномы яичника HeLa и аденокарциномы легкого H23. Методом Вестерн-блота было продемонстрировано, что в клетках HeLa оверэкспрессия любой мутантной формы повышала уровень Mcl-1 в отличие от оверэкспрессии Noxa wt (контроль), тогда как генотоксический стресс приводил к более выраженному падению уровня Mcl-1 по сравнению с контролем. В клетках H23 оверэкспрессия любого мутанта даже в отсутствие генотоксического стресса вела к деградации белка Mcl-1 и усилению апоптоза по сравнению с контролем. Более того, оверэкспрессия данных мутантов вызывала снижение уровня Vim в клетках H23 и HeLa. Такой результат свидетельствует о том, что выявленные аминокислотные остатки играют существенную роль в формировании и/или стабилизации комплекса Noxa-Mcl-1 и могут быть ключевыми факторами, влияющими на функции белка Noxa.

Работа выполнена за счет гранта РФФИ № 17-75-20-102

Источники и литература

- 1 Senichkin V.V. et al. Saga of Mcl-1: regulation from transcription to degradation // Cell Death Differ, 2020 V.27 P. 405-419
- 2 Czabotar P.E. et al. Structural insights into the degradation of Mcl-1 induced by BH3 domains // PNAS, 2007, V.104, P.6217-22