

**Nrf2-систему клеток можно активировать модульными нанотранспортерами,
содержащими моноподи к Кеар1**

Научный руководитель – Храмцов Юрий Викторович

Бунин Егор Сергеевич

Студент (бакалавр)

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

E-mail: bunin.e.001@gmail.com

Активация Nrf2-системы клеток необходима для защиты клеток от окислительного стресса [1]. Она происходит путем высвобождения транскрипционного фактора Nrf2 из комплекса с белком-ингибитором Кеар1, что приводит к поступлению Nrf2 в ядро и активации нескольких сотен генов, вовлеченных в системы детоксикации и ответа клетки на окислительный стресс. Данную систему можно активировать принудительно, за счет использования молекул, конкурирующих с Nrf2 за связывание с Кеар1. Для этих целей хорошо подходят разработанные в нашей лаборатории модульные нанотранспортеры (МНТ) [2]. Они представляют собой химерные белковые молекулы, состоящие из отдельных модулей. Для связывания с рецепторами клеток-мишеней используется лигандный модуль. В данных МНТ это аффибоди к рецептору эпидермального фактора роста (EGFR). Выход МНТ из эндосом обеспечивает эндосомолитический модуль, представленный транслокационным доменом дифтерийного токсина. Модулем, конкурирующим с Nrf2 за связывание с Кеар1, выбрано моноподи к Кеар1. Связывает все модули воедино модуль-носитель - гемоглобиноподобный белок НМР.

С помощью метода проточной цитофлуориметрии было показано, что МНТ, меченный AlexaFluor488, взаимодействует с EGFR и быстро накапливается в клетках AML12. Методом резонансного переноса энергии по Фёрстеру, регистрируемого с помощью микроскопии времени жизни флуоресценции (FLIM-FRET) было показано, что МНТ, меченный AlexaFluor568, находится в пределах нескольких нанометров от белка Кеар1, слитого с зеленым флуоресцентным белком, eGFP, уже через 15 минут инкубации МНТ с клетками. При этом, наблюдалось достоверное уменьшение среднего времени жизни донора - eGFP. Взаимодействие МНТ с Кеар1 показано также с помощью клеточного анализа теплового сдвига (CETSA). Этим же методом было показано, что МНТ вытесняет Nrf2 из комплекса с Кеар1. При этом активация Nrf2-системы происходит в интервале 20-30 минут после добавления МНТ к клеткам. При активации Nrf2-системы определенная с помощью метода CETSA доля свободного Nrf2 становится близка к единице. Причем, даже спустя сутки МНТ продолжает взаимодействовать с Кеар1.

Данная работа показала, что разработанные МНТ способны проникать в клетки AML12, взаимодействовать с Кеар1 и приводить к высвобождению Nrf2 из комплекса с Кеар1. Иными словами, в работе представлен новый класс так называемых «ныряющих» антител, т.е. антителоподобных молекул, способных взаимодействовать с внутриклеточными мишенями и приводить к желаемому биологическому ответу.

Работа выполнена за счет гранта РФФ № 22-24-00035.

Источники и литература

- 1) Al-Sawaf O., Clarner T., Fragoulis A., Kan Y.W., Pufe T., Streetz K., & Wruck C.J. // Clinical Science. 2015. V. 129. № 12. P. 989-999.
- 2) Sobolev A.S. // Acta Naturae. 2020. V. 12. № 4. P. 47-56.