

Использование лейциновой молнии для присоединения транскрипционного фактора Nrf2 к модульному нанотранспортеру

Научный руководитель – Уласов Алексей Валентинович

Сабуров Александр Сергеевич

Студент (магистр)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: saburovwh@gmail.com

Транскрипционный фактор Nrf2 является частью сигнального пути Nrf2/ARE, который координирует экспрессию широкого спектра цитозащитных генов. В частности, он регулирует транскрипцию компонентов глутатионовой и тиоредоксиновой антиоксидантных систем, ферментов, участвующих в I и II фазах детоксикации, метаболизме гема, липидов, регенерацию NADPH [1]. Nrf2 вовлечен в патогенез многих заболеваний, связанных с окислительным стрессом: нейродегенеративные заболевания, диабет, сердечно-сосудистые болезни [1]. Активация Nrf2/ARE системы низкомолекулярными индукторами приводит к терапевтическому эффекту на различных клеточных и животных моделях. С другой стороны, эти соединения отличаются высокой реактивностью и, как следствие, неспецифичностью действия [1]. Альтернативным подходом является доставка полноразмерного Nrf2 в клетки-мишени. Для этой цели мы планируем использовать модульные нанотранспортеры (МНТ), рекомбинантные белковые структуры, ранее успешно опробованные для доставки низкомолекулярных соединений и регуляторных белков в клетки. Однако, размер получаемого слитого белка МНТ-Nrf2 значительно превышает 100 кДа, что в ряде работ приводится в качестве ограничения для бактериального синтеза. В связи с этим возникает задача посттрансляционного соединения рекомбинантных Nrf2 и МНТ, наработанных в *E. coli*. Для этой цели мы выбрали белковый мотив лейциновой молнии, который обеспечивает высокоаффинное соединение этих белков в комплекс за счет амфифильных взаимодействий её доменов [2].

В рамках настоящей работы на N-конец Nrf2 и C-конец МНТ были клонированы фрагменты лейциновой молнии Ze/Zr. Белки были наработаны в *E. coli*, выделены и очищены. Образование комплекса МНТ с Nrf2 проводили при соотношениях 1:1, 2:1 и 4:1, температуре 4°C и в течение 18-21 часов. После чего образовавшийся комплекс МНТ:Nrf2 был очищен с помощью Ni-NTA аффинной хроматографии за счет гис-тага в составе МНТ. Образование комплекса было подтверждено методом иммуноблоттинга с антителами на МНТ и Nrf2.

Проведенная работа продемонстрировала возможность посттрансляционного присоединения к МНТ крупных белков посредством высокоаффинной лейциновой молнии Ze/Zr.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект № 17-14-01304).

Источники и литература

- 1) Li Q. et al. Reasonably activating Nrf2: A long-term, effective and controllable strategy for neurodegenerative diseases //European journal of medicinal chemistry. – 2019. – С. 111862.
- 2) Moll J. R. et al. Designed heterodimerizing leucine zippers with a ranger of pIs and stabilities up to 10– 15 M //Protein Science. – 2001. – Т. 10. – №. 3. – С. 649-655.