

## Изучение транспортной активности мутантных форм натрий-зависимого фосфатного транспортера NaPi2b

Научный руководитель – Киямова Рамзия Галлямовна

Савенкова Д.В.<sup>1</sup>, Решетникова Д.Д.<sup>2</sup>, Булатова Л.Ф.<sup>3</sup>, Богданов М.В.<sup>4</sup>

1 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия, *E-mail: darina.sava1@gmail.com*; 2 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия, *E-mail: reshetnikovaddm@gmail.com*; 3 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия, *E-mail: minigulovalf@gmail.com*; 4 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия, *E-mail: mikhail.v.bogdanov@uth.tmc.edu*

Натрий-зависимый фосфатный транспортер NaPi2b-это интегральный мембранный белок, экспрессируемый на поверхности клеток карциномы яичника, легкого, молочной железы и других видов рака [1, 2]. NaPi2b был идентифицирован в качестве мишени для терапевтических моноклональных антител [3], распознающих эпитоп в составе экстра-мембранного домена 4 (ЭМД4) транспортера.

Целью данного исследования является изучение влияния конформации ЭМД4, обусловленной дисульфидными связями между цистеинами в положениях 303, 322, 328 и 350 на транспортную активность NaPi2b.

Были созданы мутантные формы NaPi2b с заменами четырех цистеинов на аланин с помощью сайт-направленного мутагенеза. Транспортную активность мутантных форм NaPi2b оценивали по способности трансфицированных рекомбинантными плазмидами, клеток OVCAR-8 переносить дигидроортофосфат калия, содержащий 50  $\mu$ Ci/ml радиоактивного фосфора [<sup>32</sup>P]. В качестве положительного контроля использовали клетки OVCAR-8, трансфицированные плазмидой pcDNA 3.1(+)/NaPi2b с геном транспортера дикого типа. В качестве отрицательного контроля использовали не трансфицированные клетки OVCAR-8.

Показано, что транспортная активность мутантных форм NaPi2b с заменой С303А сохранялась на уровне активности дикого типа транспортера, а при замене С322А была выше (Рис.1). При замене С328А наблюдали снижение транспортной активности по сравнению с диким типом NaPi2b. Транспортная активность мутантной формы NaPi2b с заменой С350А оказалась намного ниже по сравнению с диким типом NaPi2b и другими мутантными формами транспортера.

Таким образом, мы показали, что цистеин в положении 350 является критичным для сохранения конформации ЭМД4 важной для осуществления транспортной активности NaPi2b. Мы предполагаем, что цистеины 303, 322, 328 и 350 могут принимать участие в регуляции транспортной активности транспортера вследствие изменения конформации ЭМД4, возможно, за счет образования альтернативных дисульфидных связей между собой.

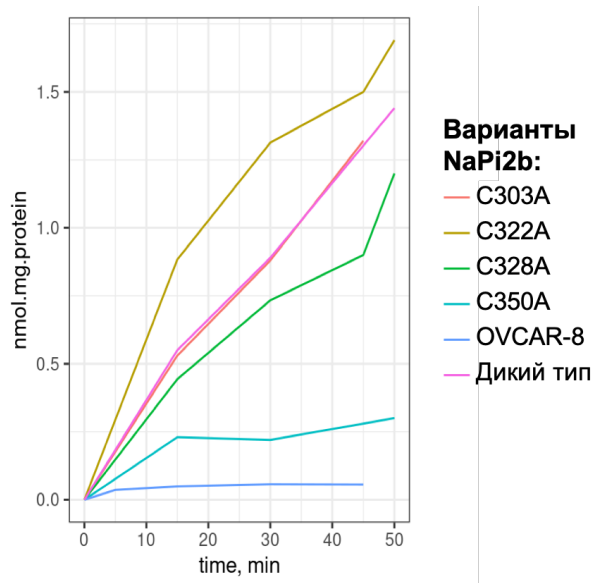
Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (№ 20-14-00166).

### Источники и литература

- 1) The study of phosphate transporter NaPi2b expression in different histological types of epithelial ovarian cancer / V. Gryshkova, I. Goncharuk, V. Gurtovyy, Yu. Khozhayenko, S. Nespryadko, L. Vorobjova, V. Usenko, I. Gout, V. Filonenko, R. Kiyamova // *Experimental oncology*. – 2009. – Vol. 31, № 1. – P. 37-42.

- 2) Kiyamova R, Shyian M, Lyzogubov VV, Usenko VS, Gout T, Filonenko V. Immunohistochemical analysis of NaPi2b protein (MX35 antigen) expression and subcellular localization in human normal and cancer tissues. *Exp Oncol.* 2011 Sep;33(3):157-61. PMID: 21956469.
- 3) Yin BW, Kiyamova R, Chua R, Caballero OL, Gout I, Gryshkova V, Bhaskaran N, Souchelnytskyi S, Hellman U, Filonenko V, Jungbluth AA, Odunsi K, Lloyd KO, Old LJ, Ritter G. Monoclonal antibody MX35 detects the membrane transporter NaPi2b (SLC34A2) in human carcinomas. *Cancer Immun.* 2008 Feb 6;8:3. PMID: 18251464; PMCID: PMC2935786.

### Иллюстрации



**Рис. 1.** Рисунок 1. Анализ транспортной активности мутантных форм фосфатного транспортера NaPi2b с заменами остатков цистеина в положениях 303, 322, 328 и 350 на остатки аланина и экспрессированных в клетках рака яичника человека OVCAR-8.