

Исследование особенностей ингибирования цистеиновых катепсинов пептидными ингибиторами

Родионов Иван Владимирович

Студент (специалист)

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

E-mail: ivan1rodionov@gmail.com

Цистеиновые катепсины - протеолитические ферменты, обладающие пептидазной активностью, которые содержат в активном центре каталитическую триаду Cys-His-Asp [1]. Их основной функцией является расщепление внутриклеточных белков в лизосомах. Однако катепсины были обнаружены и в других органоидах клетки, а также во внеклеточной среде. Находясь во внеклеточном матриксе, катепсины могут воздействовать на межклеточные контакты, молекулы клеточной адгезии и антиангиогенные факторы, что может приводить к развитию патологических состояний, в частности, новообразованиям и метастазированию. Известно, что катепсины B, S, L и X вносят наибольший вклад в развитие опухолевого процесса [1]. Онкологические заболевания являются одной из наиболее частых причин смертности и представляют собой актуальную проблему современного здравоохранения [3].

Нарушение работы эндогенных ингибиторов (цистатинов) в опухолях приводит к избыточной активности катепсинов, поэтому поиск экзогенных ингибиторов катепсинов является перспективным направлением в разработке новых противоопухолевых средств.

В данной работе исследовались параметры ингибирования рекомбинантных катепсинов S и L. В качестве ковалентного ингибитора катепсина L был использован пептидный субстрат Ac-QLLR-FMK, содержащий реактивную группу FMK; в качестве нековалентного ингибитора катепсина S - пептид с последовательностью FFSFGGAL, являющийся частью последовательности белка Bcl-xL. Данные пептиды были выбраны на основе ранее показанной их ингибирующей эффективности по отношению к некоторым катепсинам [2].

В бактериальной системе экспрессии были получены проферменты, содержащие 6 гистидиновых остатков на С-конце, и очищены с использованием никелевой агарозы с последующим обессоливанием растворов с помощью Sephadex G-25. Далее были подобраны оптимальные условия для активации ферментов (инкубация при 37 °С в ацетатном буфере). Для анализа ингибирования комплексов активированных катепсинов с их специфическими ингибиторами были использованы пептидные субстраты, сшитые с флуоресцентным красителем (Ac-PLVQ-AMC и Ac-QLLR-AMC), которые эффективно расщепляются папаин-подобными протеиназами. После протеолитического расщепления флуорогенный хромофор испускает регистрируемый сигнал.

В результате экспериментов было показано эффективное ингибирование исследуемых катепсинов выбранными ингибиторами. Были вычислены параметры ингибирования: константа Михаэлиса, максимальная скорость реакции, константа ингибирования и скорость инактивации фермента.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00648.

Источники и литература

- 1) Петушкова А.И., и др. Цистеиновые катепсины: перспективы применения в диагностике и терапии злокачественных опухолей // Биохимия. 2019. Т. 84. № 7. С. 746-761.

- 2) Rudzińska, M., et al. Cysteine Cathepsins Inhibition Affects Their Expression and Human Renal Cancer Cell Phenotype // *Cancers*. 2020, №12(5). P 1310-1330.
- 3) <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (ВОЗ).