Кноттины - семейство сверхстабильных белков, обнаруженных в

самых разных организмах. Они характеризуются наличием как минимум

трех дисульфидных мостиков, образующих внутримолекулярный узел и

придающих им структурную и функциональную устойчивость к

высокой температуре, ферментативной деградации, экстремальным

значениям рН и механическим нагрузкам. Кноттины имеют длину

примерно 30–50 аминокислот, что упрощает их химический синтез.

Кноттины рассматриваются исследователями, прежде всего, как

каркас для разработки лекарств, благодаря их высокой гибкости и

стабильности.

Наиболее перспективным направлением использования кноттинов

является молекулярная трансплантация, когда участок аминокислотной

последовательности натурального кноттина заменяется на

последовательность терапевтического пептида, либо целевая

последовательность просто вставляется в кноттин.

Другим подходом является разработка кноттина с заданными

терапевтическими свойствами биоинформационными методами и

методами комбинаторных библиотек.

Целью данной работы стало исследование возможности применения

кноттина в составе терапевтического препарата с противораковой

активностью.

Для исследования были отобраны кноттины, выделенные из яда пауков U1-theraphotoxin-Pc1a, U5-scytotoxin-Sth1a и Lambda-theraphotoxin-Ec2b, в которые, после первого цистеинового остатка, был вставлен терапевтический пептид, тропный рецептору бомбезина.

Указанные последовательности были синтезированы методом

твердофазного синтеза на пептидном синтезаторе ResPep SL (Intavis).

Контроль синтеза и очистка пептидов осуществлялись

хроматографическим методом.

Исследования проводились на культурах клеток рака предстательной железы LNCaP.

Для исследования синтезированные пептиды

были помечены флуоресцентной меткой 6-FAM-NHS, после чего

добавлялись в клеточную среду в концентрации 0,5 мкм и инкубировались с клеточной культурой в течении 3 часов. Связывание пептидов оценивалось по флуоресценции с помощью мультимодального планшетного ридера CLARIOstar (BMG).

На графике видно, чтонаибольшее связывание с культурой клеток показывает исходный пептид, тропный бомбезину и комбинированный пептид с кноттином Lambda-theraphotoxin-Ec2b. Заметно, что комбинированный пептид показывает большее связывание, чем исходный пептид, тропный бомбезину.

Таким образом, проведенное исследование что применение кноттина в составе терапевтического препарата может способствовать усилению связывающих свойств терапевтической молекулы и увеличивать время связывания молекулы с целевым рецептором.