

Использование репортерных конструкций, содержащих пару фермент-субстрат, для оценки субстратной специфичности изоформ HIF-пролилгидроксилазы

Научный руководитель – Полозников Андрей Александрович

Христиченко Анна Юрьевна

Аспирант

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: hristik14@gmail.com

Естественный ответ организма на гипоксию осуществляется за счет стабилизации фактора, индуцируемого гипоксией (hypoxia inducible factor, HIF). На сегодняшний день известны три изоформы транскрипционного фактора HIF - HIF 1-3. Их стабильность регулируется тремя изоферментами HIF-пролилгидроксилазами (PHD 1-3). Исследование субстратной специфичности с помощью измерения активности рекомбинантных изоформ HIF-пролилгидроксилаз по отношению к изоформам HIF не привело к однозначному ответу на вопрос о предпочтительном субстрате для каждой из изоформ фермента [1]. В представляемой работе предлагается новый подход к проблеме субстратной специфичности, основанный на использовании клеточных репортеров, экспрессирующих пару, содержащую фермент и меченный люциферазой субстрат с одного ДНК-вектора. При этом клетка выступает в роли биореактора для проведения и мониторинга реакции между оверэкспрессируемым ферментом и субстратом [2]. Данный подход позволил показать, что HIF3 не является субстратом изоформы HIF-пролилгидроксилазы PHD3. Кроме того, в представленной работе показано, что использование клеточных репортеров, содержащих пару фермент-субстрат для оценки ингибиторного действия разветвленных оксихинолиновых ингибиторов HIF-пролилгидроксилаз позволяет с высокой точностью определить структурный мотив оптимальный для ингибирования отдельных изоформ фермента. Таким образом, разработанные репортеры могут далее быть использованы для оптимизации структуры ингибиторов HIF-пролилгидроксилаз.

Источники и литература

- 1) Ivan, M., and Kaelin, W.G., Jr. (2017) The EGLN-HIF O₂-sensing system: multiple inputs and feedbacks, *Mol. Cell*, 66, 772–779
- 2) Osipyants AI, Smirnova NA, Khristichenko AY, Hushpulian DM, Nikulin SV, Chubar TA, Zakhariants AA, Tishkov VI, Gazaryan IG, Poloznikov AA. (2018) Enzyme–substrate reporters for evaluation of substrate specificity of HIF prolyl hydroxylase isoforms, *Biochemistry (Mosc)*, 83, 78-86