

Разработка модельной системы для анализа молекулярных кандидатов-ингибиторов STAT-сигнального пути

Е. П. Коняева¹, К. В. Куликова^{1,2,3}, С. С. Ларин^{1,2,3}

¹Московский физико-технический институт (государственный университет)

²ФГБУ "ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева" Минздрава России

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук

С каждым годом заболеваемость злокачественными опухолями растет. На данный момент существует множество способов лечения опухолевых заболеваний. Одним из свойств раковых клеток является их способность избегать иммунного надзора. Известно, что в некоторых случаях стимуляция опухолевых клеток интерфероном гамма (IFN- γ) приводит к увеличению на их поверхности количества лигандов ингибиторных рецепторов для клеток иммунной системы.

На молекулярном уровне IFN- γ активирует в клетке STAT-сигнальный путь (Signal transducer and activator of transcription), вызывая фосфорилирование транскрипционного фактора STAT-1. Далее образовывается гомодимер, который транслоцируется в ядро и активирует транскрипцию GAS-зависимых генов. В раковых клетках активность IFN- γ /STAT-сигнального пути часто нарушена. Для того, чтобы исследовать IFN- γ -активируемый STAT-сигнальный путь и эффективно искать молекулярные модуляторы STAT-зависимого сигнального пути необходимо наличие модельной системы, позволяющей получать воспроизводимые результаты. В связи с этим целью данной работы было создание и изучение характеристик модельной системы для тестирования ингибиторов STAT-сигнального пути.

В ходе данной работы была создана модельная система, представляющая из себя клеточную линию со стабильно интегрированной в геном репортерной экспрессионной кассетой. Основой для модельной системы выбрана клеточная линия меланомы человека MelP. В ее клетках присутствуют все значимые для активации IFN- γ -сигнального каскада транскрипционные факторы STAT. Интегрированная генетическая конструкция содержит репортерный ген люциферазы светлячка (FFly) под контролем STAT-зависимого промотора. Таким образом, при стимуляции клеток модельной системы IFN- γ активируется экспрессия гена люциферазы FFly.

В исследуемой модельной системе были подобраны оптимальные концентрация и время воздействия IFN- γ на клетки, а так же проверена специфичность к стимуляции IFN- γ . Показана эффективность использования данной модельной системы для тестирования ингибиторов STAT-сигнального пути.

Работа была поддержана грантом РФФИ №14-04-01918.