

Fág könyvtárból kiválasztott irányító peptid szerkezetének optimalása célzott tumorterápiához

Kiss Krisztina, V. évf. kémia BSc

ELTE TTK Kémiai Intézet, Szerves Kémiai Tanszék, MTA-ELTE Peptidkémiai
Kutatócsoport

Témavezetők: **Dr. Mező Gábor** tudományos tanácsadó
MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport

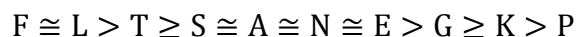
A vastagbélrák napjaink egyik leggyakoribb rákos megbetegedése. 2012-ben 1,4 millió új esetet regisztráltak világszerte.[1] Az esetszámok kimagaslóan magasak a közép-európai régióban. Magyarország a harmadik ebben a rangsorban. Ezért különösen fontosak a vastagbél daganatok gyógyítására irányuló kutatások. Az utóbbi időben egyre nagyobb figyelem irányul az irányított tumorterápiára, amely azon alapul, hogy tumorelleses hatású hatóanyagokat kapcsolnak olyan irányító molekulához, amely nagy szelektivitással ismeri fel a tumorsejteket.

Zhang és munkatársai fágbemutatás során véletlenszerűen választottak ki 50 fág-klónt, melyek közül a VHLGYAT szekvenciájú heptapeptidet találták a HT-29 sejtekhez legnagyobb szelektivitással kötődő irányító molekulának.[2] Ugyanakkor a véletlenszerűségéből adódóan lehetőséget láttunk a peptid szerkezetének további optimalásra még hatékonyabb irányító molekula előállítására érdekében.

Kutató munkám során, a korábbi eredményeim alapján kiválasztott, HT-29 vastagbél tumorra specifikus (Dau=Aoa-LRRY-VHLGYAT-NH₂) peptid-hatóanyag konjugátum szerkezetének optimalásával foglalkoztam. Az aminooxiecetsavval (Aoa) meghosszabbított LRRY enzimlabilis tetrapeptid spacer megtartottam a továbbiakban is a szekvenciában. Az aminooxiecetsav lehetővé teszi, hogy a daunomicint (hatóanyagot) oxim-kötésen keresztül kapcsoljam a peptidhez.

Elsőként az irányító peptid (VHLGYAT) klasszikus alanin-szkenelését végeztem el, tehát egyesével minden aminosavat alaninra cseréltem a szekvenciában. A konjugátumokat HPLC-vel és tömegspektrometriával jellemeztem, citosztatikus hatásukat MTT teszt segítségével határoztuk meg, sejtbejutásukat pedig áramlási citometriával vizsgáltuk. Az alanin-szkenelés eredményei alapján kiválasztott konjugátum esetében további pozíciós-szkenelést hajtottam végre. Az eredmények alapján az eredeti szekvencia Gly-je bizonyult cserélhetőnek, így a helyére különböző karakterű (savas, bázikus, poláros, apoláros) aminosavakat (Lys, Glu, Ser, Thr, Asn, Leu, Phe, Pro) építettem be. A konjugátumokat ez esetben is HPLC-vel és tömegspektrometriával jellemeztem, citosztatikus hatásukat pedig MTT teszt segítségével határoztuk meg.

A pozíciós-szkenelés eredményei azt mutatták, hogy a nagy térkitöltésű hidrofób karakterű aminosavak beépítése esetén jobb a konjugátumok *in vitro* citosztatikus hatása. A konjugátumok citosztatikus hatásának sorrendje a beépített aminosavak alapján a következőként alakult:



Ugyanakkor megfigyeléseink alapján a leghatásosabb konjugátumok (Dau=Aoa-LRRY-VHLXYAT-NH₂, ahol X = F, L, T)) oldhatósága a legnagyobb koncentrációkban nem volt olyan jó a sejt tenyésztő médiumban, mint a többi konjugátumé.

A kapott eredmények alapján, a későbbiekben érdemes foglalkozni a peptid-hatóanyag konjugátumok további szerkezet optimalálásával más aminosavak (pl. Ile, Trp, Tyr) illetve oldékonyságot növelő spacer (pl. oligo(etilén-glikol)) beépítésével még hatékonyabb, a célzott tumorterápiára alkalmas vegyületek előállítására érdekében.

[1] http://www.wcrf.org/cancer_statistics/data_specific_cancers/colorectal_cancer_statistics.php

[2] Y. Zhang, J. Chen, Y. Zhang, Z. Hu, D. Hu, Y. Pan, S. Ou, G. Liu, X. Yin, J. Zhao, L. Ren, J. Wang; *J. Biomol. Screen.*, 12, 429-435 (2007)