

Vergleich von versch. mdm2 Targeting Strategien mittels PROTAC und Stimulation der mdm2 Auto-Ubiquitinierungsaktivität in Mammakarzinomzellen

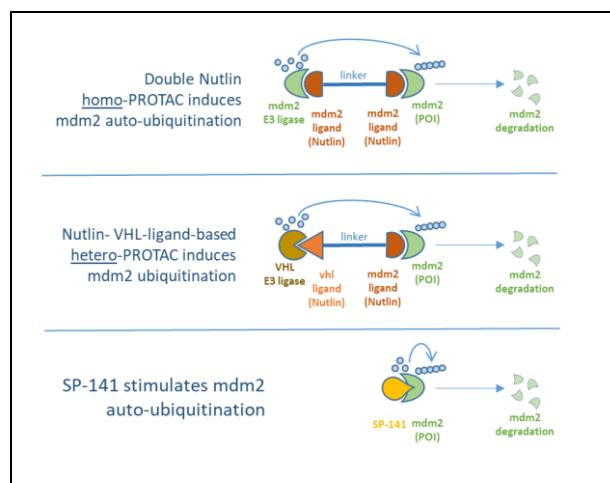
Hintergrund

In 6 - 20% aller Malignome ist das mdm2 Gen amplifiziert. Dies, aber auch eine starke mdm2 Gentranskription führen zu einer erhöhten mdm2 Proteinexpression. Mdm2 agiert als Onkogen/Onkoprotein, da es als Ubiquitinligase den Abbau des Tumorsuppressors p53 initiiert. Ein unkontrollierte Zellproliferation, und eine verminderte Kapazität betroffener Zellen einen apoptotischen Zelltod einzuleiten, sind die Folge.

Die gezielte mdm2 Degradierung mittels PROTAC ist ein vielversprechender Therapieansatz. Die AG verfügt über ein sog. homo-PROTAC, für das mdm2 einerseits das Zielprotein darstellt, anderseits aber auch als funktionelle, vom PROTAC rekrutierte Ubiquitin Ligase dient.

Wenn mdm2 als *protein of interest (POI)*, also das Therapietarget darstellt, dann müsste die Behandlungseffizienz mittels PROTAC nicht nur von der mdm2 Expression abhängig sein, sondern auch davon ob ein PROTAC entweder das mdm2, oder einer andere E3-Ligase (z. B. VHL oder CRB) als agierende Ubiquitin-Ligase rekrutiert.

Aber auch Behandlungseffizienzen anderer mdm2 Targeting-Strategien dürften vom mdm2 Gehalt in den Tumorzellen beeinflusst sein, wie zum Beispiel der Einsatz eines mdm2-Inhibitors, der spezifisch (oder zumindest bevorzugt) die mdm2 Autoubiquitinierung „stimuliert“. Das Haupt-Ubiquitinierungstarget von mdm2 ist p53, aber mdm2 initiiert auch die eigene Ubiquitinierung. Die dadurch hervorgerufen Selbstdegradierung kann offensichtlich durch ein Molekül namens „SP-141“ stimuliert werden. (Trotz dieser spezifischen Stimulation der Autoubiquitinierung durch „SP-141“ spricht man von einer „Inhibition“, weil damit die Aktivität des mdm2 durch Degradierung ausgeschaltet wird.)



Die genannten Behandlungsstrategien basieren auf unterschiedlichen Mechanismen (siehe Abbildung), wirken aber alle als (direkte) Negativregulatoren von mdm2. Wegen des direkten Angriffs auf mdm2 sollte die Effektivität der jeweilige Behandlung vom intrinsischen mdm2 Gehalt abhängig sein und damit auch im Zusammenhang mit der mdm2 Gendosis (zwei vs. zahlreiche Genkopien) stehen. In dieser Arbeit soll dies experimentell verifiziert, bzw. falsifiziert werden.

Zu verwendende Methoden:

- Zellkultur (vergleichend eine mdm2 wt Linie, eine Linie mit erhöhter mdm2 Genkopienzahl)
- Durchflusszytometrie (versch. *read-out assays* für die Behandlungen)
- Proteinchemie (Western Blotting)
- Ggf. weitere Techniken, Tests

Beginn: So bald wie möglich.

Bei Interesse kontaktieren Sie bitte:

Prof. Dr. Gero Brockhoff (Gero.Brockhoff@ukr.de)

Mehr Informationen zur Arbeitsgruppe finden Sie unter:

www.forschung-fhk-regensburg.de