

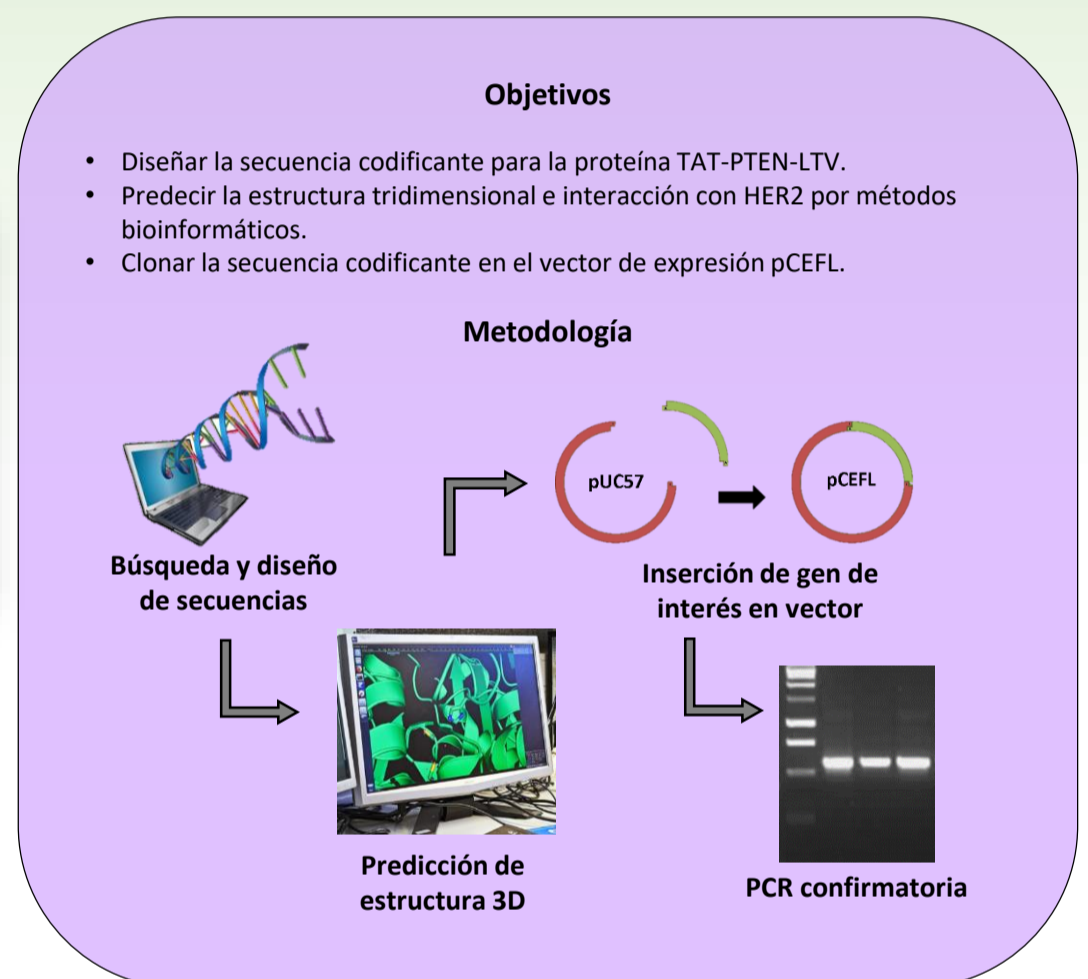
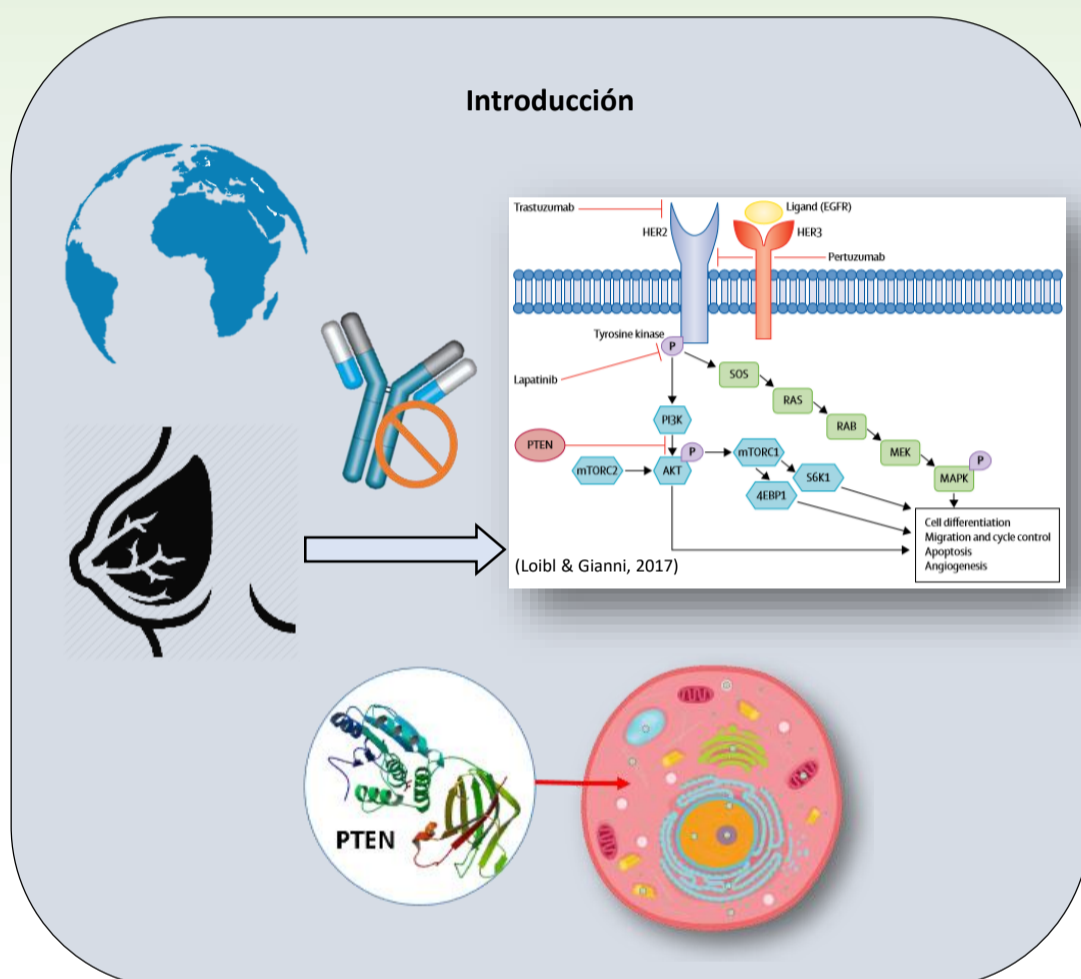
Aldo O. González Cruz¹, Marcos J. Guerrero-Muñoz¹, Isaías Balderas-Rentería¹, Mónica A. Ramírez-Cabrera¹, Eder Arredondo-Espinoza¹.

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Farmacología Molecular y Modelos Biológicos, Monterrey, Nuevo León, México.

Resumen

Actualmente, el cáncer de mama es aquel con mayor incidencia en la población femenina a nivel mundial y destaca como la primera causa de muerte por tumores malignos en México, causando cerca de 8 mil fallecimientos en el año 2020. Alrededor del 20% de los cánceres de mama sobreexpresan el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2), por lo tanto, tienden a ser más agresivos debido a la desregulación del control del ciclo celular, diferenciación, migración y apoptosis. Por ello, se han desarrollado terapias contra cáncer de mama dirigidas al receptor HER2, sin embargo estas terapias no son completamente efectivas, y algunas pueden provocar graves efectos adversos al paciente. Para resolver estas problemáticas, la implementación de péptidos penetrantes de células (CPP), puede potenciar la efectividad de las terapias actuales. De igual manera, el acoplamiento de péptidos *tumor-homing*, que permiten reconocer biomarcadores específicos de la célula cancerosa, mejoraría la selectividad, reduciendo efectos adversos. Por lo antes mencionado, se propone como alternativa en el desarrollo de nuevos fármacos dirigidos a cáncer de mama HER2-positivo: a la proteína quimérica TAT-PTEN-LTV. Conformada por el CPP TAT, el péptido *tumor-homing* LTV (específico para HER2) y la proteína supresora de tumor PTEN, capaz de inhibir la vía PI3K-AKT-mTOR: regulando negativamente la proliferación celular, supervivencia y metabolismo. En el presente proyecto, se obtuvieron las secuencias correspondientes a los péptidos TAT, LTV y la proteína PTEN a través de la base de datos GenBank®. Se realizó la construcción de la secuencia codificante y un análisis predictivo de la estructura de la proteína quimérica por medio de recursos bioinformáticos. El gen se integró en el vector pCEFL para su posterior producción en células HEK293T. Los resultados obtenidos en el desarrollo de la proteína TAT-PTEN-LTV sugieren un gran potencial anticancerígeno biodirigido a células de cáncer de mama HER2-positivo.

Palabras clave: TAT-PTEN-LTV, Cáncer de mama, HER2.



Resultados

En este trabajo se logró realizar el diseño racional de la proteína quimérica TAT-PTEN-LTV y su secuencia codificante (Fig 1-A). Se obtuvieron los datos correspondientes a su predicción estructural con el objetivo de corroborar que se mantenga la propiedad supresora de tumor de PTEN, puesto que la estructura predictiva de la proteína quimérica comparte las mismas estructuras secundarias reportadas para PTEN (Fig 1-B). Además de conservar su actividad antitumoral, se realizó el análisis de *docking* para identificar la posible interacción del segmento *tumor-homing* con HER2. Este modelo propone una interacción principalmente por medio de puentes de hidrógeno entre los residuos de Val436 y Trp439 (del péptido LTV) con Arg316 y Glu325 (de HER2) respectivamente (Fig 1-C).

Una vez obtenidos todos los datos de análisis de secuencia y predicciones bioinformáticas, se realizó la construcción recombinante pCEFL-TatPtenLtv, se clonó en *Escherichia coli* DH5α y se confirmó por medio de PCR (Fig 1-D). Esto con el objetivo de transfectar células HEK293T para producir la proteína TAT-PTEN-LTV y evaluar su actividad anticancerígena sobre células de cáncer de mama HER2-positivo.

Conclusiones

Los resultados de este trabajo demuestran de manera preliminar que la proteína TAT-PTEN-LTV conserva la estructura 3D original y por ende su efecto supresor de tumor, asimismo, sería capaz de reconocer el receptor HER2 de manera específica. Sin embargo, aun falta obtener resultados experimentales para confirmar su efectividad en una futura aplicación clínica.

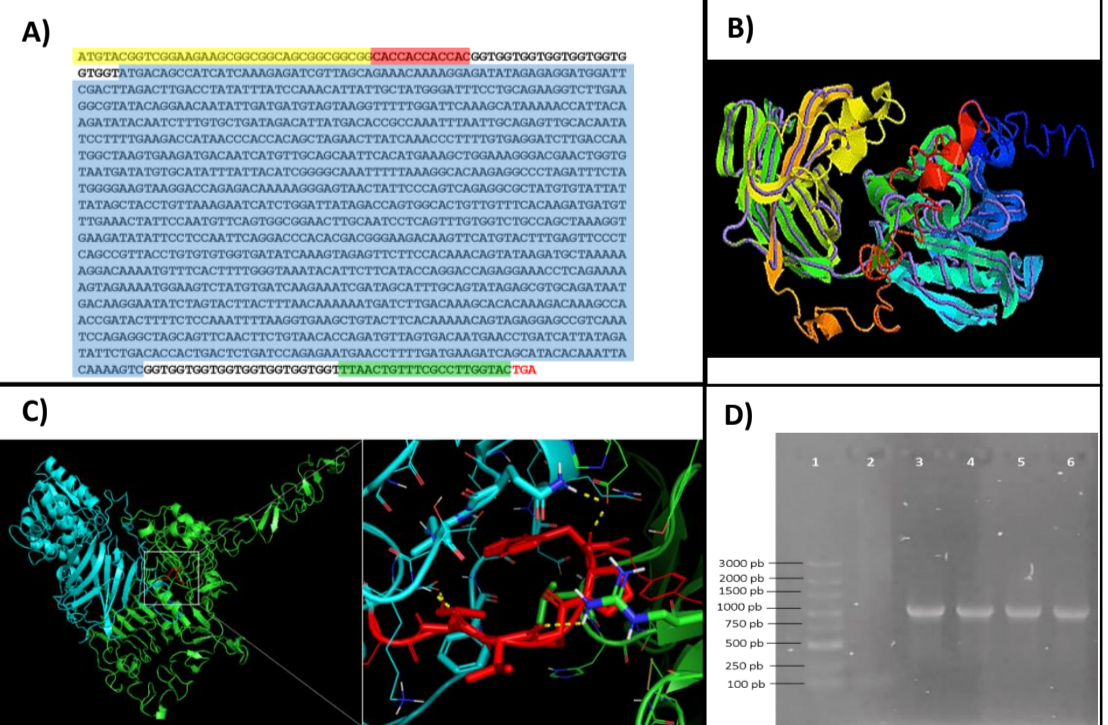


Fig 1. A) Secuencia codificante para la proteína TAT-PTEN-LTV. B) Predicción de estructura 3D de TAT-PTEN-LTV y su alineamiento con la estructura reportada de PTEN. C) Docking Proteína-HER2. D) Confirmación de construcción pCEFL-TatPtenLtv por PCR (Carril 1: Marcador de peso molecular. 2: Control negativo. 3: Control positivo. 4 – 6: Productos de amplificación positivos para pCEFL-TatPtenLtv).

Referencias

- Loibl S, Gianni L. Breast cancer 2 HER2-positive breast cancer. *Lancet*. 2017;389(10087):2415-2429. doi:10.1016/S0140-6736(16)32417-5
- Nahta R, Yu D, Hung M, Hortobagyi GN, Esteva FJ. Mechanisms of Disease: understanding resistance to HER2-targeted therapy in human breast cancer. 2006;3(5):269-280. doi:10.1038/ncponc0509
- Yang J, Nie J, Ma X, Wei Y, Peng Y, Wei X. Targeting PI3K in cancer: Mechanisms and advances in clinical trials 06 Biological Sciences 0601 Biochemistry and Cell Biology. *Mol Cancer*. 2019;18(1):1-28.
- Lee Y, Chen M, Pandolfi PP. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor: new modes and prospects. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2018. doi:10.1038/s41580-018-0015-0