

## Поиск молекулярных партнеров белка LPAP (Lymphocyte Phosphatase-Associated Phosphoprotein)

Научный руководитель – Филатов Александр Васильевич

*Круглова Наталья Андреевна*

*Аспирант*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия

*E-mail: natalya.a.kruglova@yandex.ru*

При активации лимфоцитов через антиген-специфический рецептор развивается внутриклеточный каскад реакций, в котором участвуют киназы и фосфатазы, а также адаптерные белки, лишенные каталитической активности, но необходимые для работы ферментов и сборки макромолекулярных комплексов. Трансмембранный белок лимфоцитов LPAP (Lymphocyte phosphatase-associated phosphoprotein) претендует на роль такого адаптерного белка.

LPAP был впервые описан как партнер фосфатазы CD45, играющей важную роль в активации лимфоцитов [2]. LPAP не имеет гомологов в протеоме человека и его функция до сих пор неизвестна. В литературе имеются лишь косвенные данные о его роли в активации Т-клеток и в развитии В-клеток. Однако тесная связь LPAP с фосфатазой CD45 и его множественное фосфорилирование позволяют предположить, что этот белок - один из участников активационного каскада [1].

Кроме фосфатазы CD45, молекулярные партнеры LPAP неизвестны. Их исследование важно с двух точек зрения. Во-первых, определение белков-партнеров LPAP является необходимым шагом на пути к пониманию функции этого белка. Во-вторых, LPAP может связывать молекулу CD45 с еще не описанными белками, изучение которых откроет новые детали активации лимфоцитов.

В данной работе мы поставили перед собой цель - исследовать интерактом белка LPAP. Поиск белков-партнеров вели в клетках Jurkat с помощью нескольких методов. Для поиска прочных комплексов использовали метод голубого нативного электрофореза (Blue native PAGE) и метод ко-иммунопреципитации с последующим масс-спектрометрическим анализом (co-IP/MS). Для детекции слабых взаимодействий образцы перед co-IP/MS предварительно стабилизировали с помощью кросс-линкеров. Результаты серии экспериментов не позволили выявить новых партнеров, но подтвердили взаимодействие LPAP с молекулой CD45. Чтобы более детально исследовать роль этого взаимодействия, мы проанализировали экспрессию обоих белков в клетках Jurkat, лишенных соответствующего белка-партнера. Нокаутирование LPAP и CD45 вели с помощью технологии CRISPR/Cas9. В отсутствие CD45, уровень LPAP падал на 90%, а уровень CD45 в отсутствие LPAP - на 75%. При возвращении LPAP в клетки уровень CD45 восстанавливался.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что экспрессия LPAP и CD45 связана, и подкрепляют гипотезу о том, что LPAP способен регулировать уровень CD45.

Исследование поддержано грантом РФФИ №18-34-00705 мол\_а.

### Источники и литература

- 1) Kruglova N.A. et al. Constitutive and activation-dependent phosphorylation of lymphocyte phosphatase-associated phosphoprotein (LPAP) // PLoS One. 2017. Vol. 12, № 8. P. e0182468.

- 2) Schraven B. et al. A functional complex is formed in human T lymphocytes between the protein tyrosine phosphatase CD45, the protein tyrosine kinase p56lck and pp32, a possible common substrate // Eur. J. Immunol. 1991. Vol. 21, № 10. P. 2469–2477.