

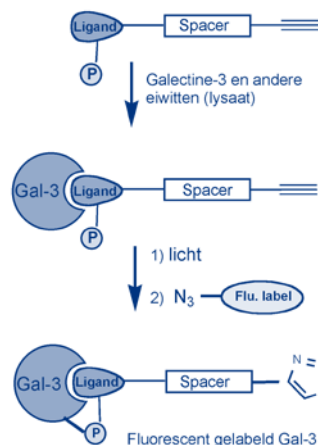
# Detectie van kanker-gerelateerde galectine-eiwitten met synthetische probes

Door: Roland Pieters

De oorzaak van een ziekte wordt steeds vaker gezocht in het al dan niet aanwezig zijn van bepaalde eiwitten. Het detecteren van bepaalde eiwitten in complexe mengsels, als in cellen, is in dit verband van belang voor biomedisch onderzoek maar ook voor diagnose van patiënten. Vaak spelen antilichamen een rol in de detectiemethode, waarbij van hun specificiteit gebruik wordt gemaakt. Echter de interactie van een eiwit met een klein molecuul verloopt veelal ook met grote specificiteit waar ook gebruik van te maken is voor detectiedoeleinden. Onze interesse ligt o.a. in het detecteren van eiwitten met behulp van kleine moleculen ofwel chemische probes. De eiwitklasse van de galectines staat met jaarlijks ca. 400 publicaties enorm in de belangstelling.<sup>1</sup> Deze groep eiwitten komen in veel organismen voor, zo zijn er ook 15 galectines bekend bij de mens. De galectines vervullen meerdere fysiologische rollen, maar worden in toenemende mate in verband gebracht met kanker. Aangezien dit bij galectine-3 het sterkst het geval is richt ons onderzoek zich op het detecteren van galectine-3 in complexe eiwitmengsels, met als hoofddoel de simpele en nauwkeurige detectiemethode van galectine-3 in kankerweefsels, gezonde weefsels en lichaamsvloeistoffen.

Hoe is dit doel te bereiken met een klein molecuul? Galectines zijn lectines, d.w.z. eiwitten die binden aan koolhydraten, in dit geval  $\beta$ -galactosides. Echter de binding is niet sterk genoeg om de eiwitten op basis daarvan uit een complex mengsel te kunnen isoleren. Daarom hebben wij aan het koolhydraat een foto-actieve groep gezet die bij het bestralen met licht zich covalent 'vastbijt' in nabijgelegen aminozuren van het eiwit. De binding van galectine-3 is net als bij de meeste eiwit-koolhydraat interacties te zwak om met deze aanpak zonder meer te slagen. Doorslaggevend was in ons geval dat de foto-active groep geplaatst werd op een plek van het suikerligand die leidde tot een belangrijke affiniteitsverhoging. Hierdoor was het mogelijk voldoende van het eiwit covalent te labelen en kwam detectie binnen bereik.

Om detectie mogelijk te maken moet je het gelabelde eiwit fluorescent maken zodat het is te herkennen in een eiwitgel. Je kunt natuurlijk een fluorescente groep in je probe inbouwen, maar veelal hebben zul-



*Een probe molecuul wordt geïncubeerd met een eiwitmengsel, waaronder galectine-3. De probe bindt aan galectine-3 en door licht vormt de foto-actieve groep P hiermee een covalente binding. Vervolgens wordt een fluorescent label gekoppeld aan de driefoudige alkyngroep van de probe. Op deze manier zijn alleen de galectine-3 moleculen fluorescent geworden en kunnen deze in een eiwitgel aangetoond worden.*

ke grote en hydrofobe groepen een verstoring effect. Om dat te voorkomen wordt er na afloop van het labelen een fluorescente groep covalent aan de probe gezet met behulp van een chemische reactie die pas enkele jaren bekend is, maar die selectief met de op de probe aanwezige alkyngroep reageert aangezien deze in eiwitten niet voorkomt. Op deze manier worden de gelabelde probes zichtbaar gemaakt zodat ze in de gel te zien zijn (zie de figuur).

Het project is begonnen door Dr. Lluís Ballell en wordt inmiddels voortgezet door AIO Monique van Scherpenzeel met steun van het NPC binnen de discipline-groep Medicinal Chemistry & Chemical Biology. Met het beschreven procédé zijn we inmiddels in staat galectine-3 te zien in een cel lysaat van kankercellen.<sup>2</sup> Dit is een bemoedigend resultaat en met beoogde verbeteringen en optimalisaties van alle stappen in het protocol hebben we goede hoop dat we echt concurrerend kunnen zijn met de dure antilichamen voor de detectie.

Belangrijker is wellicht dat de methode breder toepasbaar is dan alleen voor deze klasse van eiwitten. Er zijn zeer veel eiwitten waarvan de concentratie bepaald moet worden in de context van een complex mengsel. Voor velen hiervan is een goed bindende ligandstructuur een uitstekend uitgangspunt voor het ontwikkelen van een klein molecuul voor de selectieve detectie.

<sup>1</sup> 'Inhibition and Detection of Galectins', R. J. Pieters, ChemBioChem, 2006, 7, 721-728.

<sup>2</sup> 'A New Chemical Probe for the Detection of the Cancer-Linked Galectin-3', Ballell, L.; van Scherpenzeel, M.; Buchalova, K.; Liskamp, R. M. J.; Pieters, R. J. Org. Biomol. Chem. 2006, 4, 4387-4394. ■