

Molekylærbiologi: Ja
Molekylær medicin: Ja
Bioteknologi: Ja

Molekylær medicin Claus Oxvig

Øvrige medarbejdere: 2 postdocs, 1 TAP, 2 ph.d.-studerende,
2 bachelor-/specialestuderende



co@mbg.au.dk
30360 2460
kontor 4.2.02
(Forskerparken)

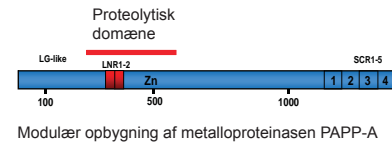
Baggrund

Proteolytisk kløvning af proteiner er ofte en del af regulatoriske mekanismer i biologiske systemer; 2% af menneskets gener koder for proteaser. Vi interesserer os især for at forstå ekstracellulære proteolytiske systemer, som regulerer cellulære processer - både normalt og i forbindelse med sygdomsudvikling.

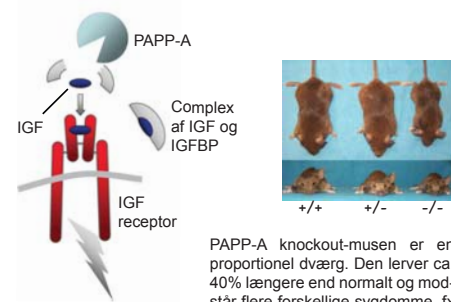
Eksempel på et proteolytisk system: Proteinase PAPP-A kløver proteinet IGF, hvorved vækstoffaktoren insulin-like growth factor (IGF) *frisættes* (se figuren til højre). IGF stimulerer IGF-receptoren og er nødvendig for de fleste mammale cellers vækst. Sammen med andre makromolekyler udgør PAPP-A, IGFBP-4, IGF og IGF-receptoren et regulatorisk system. PAPP-A virker væksthæmmende. IGFBP-4 og potentielle inhibitorer af PAPP-A virker dæmpende på vækst. PAPP-A *knockout*-musen (-/-) er kraftigt væksthæmmet.

Eksempler på biologiske systemer, hvor cellulær vækst kontrolleres af PAPP-A og IGF: Human reproduktion, proliferation af celler.

Eksempler på sygdomsmekanismer, der kan involvere PAPP-A/IGF: Åreforkalkning, cancer.



Modulær opbygning af metalloproteinase PAPP-A



PAPP-A knockout-musen er en proportional dværg. Den lever ca. 40% længere end normalt og modstår flere forskellige sygdomme, fx cancer og åreforkalkning.

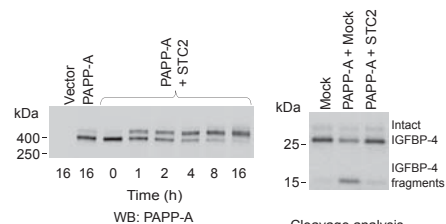
Metoder

Molekylærbiologiske metoder inkluderer alle almindelige teknologier for manipulation og analyse af DNA, herunder recombinant ekspression i mammale celler. Vi praktiserer desuden flere forskellige metoder med henblik på fremstilling af fx antistoffer til brug i dyremodeller som prototype lægemidler.

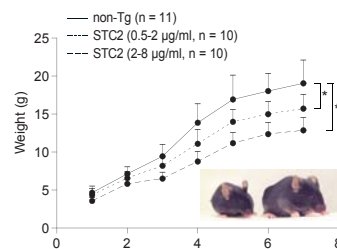
Biokemiske metoder inkluderer bl.a. oprensning og karakterisering af proteiner, peptidseparation og peptidanalyse, bestemmelse af posttranslateriske modifikationer, enzymkinetisk analyse og ELISA. Vi praktiserer også rutinemæssigt fx massespektrometri og Biacore-analyse.

Cellebiologiske metoder inkluderer kultivering af cellelinier og primære kulturer samt kloning med henblik på rekombinant ekspression. Vi praktiserer mange celle-baserede assays, herunder adhæsiions-analyse og flowcytometri, og vi gør ofte brug af fluorescens-teknologi, fx kinetisk analyse baseret på quenched fluorescence og analyse af receptor-stimulering i real-time via bioluminescence resonance energy transfer (BRET).

Vi anvender både zebrafisk og mus som modelorganismer.



For nylig har vi opdaget en naturlig hæmmer af PAPP-A's proteolytiske aktivitet: Protein STC2. STC2 danner et kovalent kompleks med PAPP-A, når de to proteiner blandes in vitro (gelen til venstre). Gelen til højre viser fravær af aktivitet efter kompleksdannelse.



En transgen mus, som udtrykker STC2 har samme fænotype, som PAPP-A knockout-musen. Eksperimentet viser, at STC2 fungerer in vivo som en regulator af PAPP-A's aktivitet.

Repræsentative publikationer

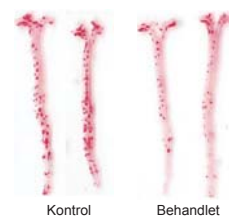
Review:
Oxvig, C. (2015) The role of PAPP-A in the IGF system: location, location, location. J. Cell Comm. Signal (in press, available online)

Udvikling af target-strategi/discovery:
Mikkelsen, J. H., Gyru, C., Kristensen, P., Overgaard, M. T., Poulsen, C. B., Laursen, L. S., and Oxvig, C. (2008) Inhibition of the proteolytic activity of pregnancy-associated plasma protein-A by targeting substrate exosite binding. J. Biol. Chem. 283, 16772-16780

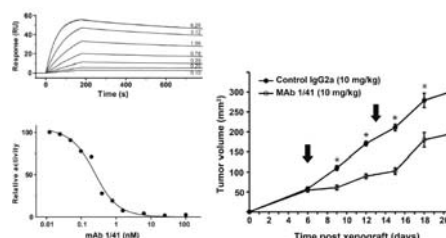
Jepsen, M. R., Kloverpris, S., Mikkelsen, J. H., Pedersen, J. H., Fuchtbauer, E. M., Laursen, L. S., and Oxvig, C. (2015) Stanniocalcin-2 inhibits mammalian growth by proteolytic inhibition of the insulin-like growth factor axis. J. Biol. Chem. 290, 3430-3439

Proof-of-principle, cancer treatment:
Becker, M. A., Haluska, P., Jr., Bale, L. K., Oxvig, C., and Conover, C. A. (2015) A novel neutralizing antibody targeting pregnancy-associated plasma protein-A inhibits ovarian cancer growth and ascites accumulation in patient mouse tumorgrafts. Molecular Cancer Therapeutics (in press, available online)

Mikkelsen, J. H., Resch, Z. T., Kalra, B., Savjani, G., Kumar, A., Conover, C. A., and Oxvig, C. (2014) Indirect targeting of IGF receptor signaling in vivo by substrate-selective inhibition of PAPP-A proteolytic activity.



Behandling af åreforkalkning. Udvikling af kolesterolholdige "plaques" ses som røde pletter på musens aorta (skåret op på langs). De to kar til højre stammer fra mus, som er behandlet med en inhibitor af PAPP-A's proteolytiske aktivitet. Kontrolmusene (de to kar til venstre) har fået saltvand.



Behandling af cancer - udvikling af et højaffint inhibitorisk antistof imod PAPP-A. Til venstre vises biacore-eksperiment for bestemmelse af KD (97 pM) og kinetisk analyse (Ki = 135 pM). Figuren til højre illustrerer brug af inhibitoren i en simpel musemodel for tumor-vækst (xenograft-model). Tumorer i behandlede mus vokser langsommere som følge af to injektioner.