

P18

Desarrollo y evaluación de KIT NAPPA Array para su uso como plataforma de screening de fármacos

María Jara-Acevedo¹, Ricardo Jara-Acevedo², María González-González¹, Alberto Orfao*¹, Manuel Fuentes*¹.

¹Servicio de Citometría. Centro de Investigación del Cáncer, Universidad de Salamanca-CSIC, Salamanca; ²Immunostep S.L. and Centro de Investigación del Cáncer, Universidad de Salamanca-CSIC, Salamanca

mariajara@usal.es

Introducción: KIT humano es un oncogen que codifica para un receptor transmembrana (cKit) con actividad Tirosin-quinasa intrínseca y que funciona como receptor para *Stem Cell Factor* (SCF). La expresión de la proteína cKit se detecta en una amplia variedad de células, incluyendo los mastocitos, precursores hematopoyéticos o melanocitos. Las alteraciones de la expresión o de la actividad de Kit se asocian a varias enfermedades hematológicas y tumores gastrointestinales (GIST), entre otras enfermedades. En la actualidad se han descrito una gran cantidad de mutaciones de KIT, muchas de ellas asociadas a fosforilación constitucional de la proteína, independiente de la unión al ligando.

Objetivo: En la actualidad, los ensayos para obtener nuevos fármacos suponen una gran inversión económica, mucho tiempo y en muchas ocasiones no se dispone de las muestras adecuadas para el desarrollo de una terapia dirigida útil en la enfermedad. Por esta razón, en el presente trabajo, proponemos un modelo de “*screening*” rápido y de alta densidad para testar las posibles moléculas que pudieran usarse como inhibidores de Kit.

Material y métodos: Se ha diseñado un NAPPA Array donde están todas las mutaciones de KIT, con relevancia clínica, así como la forma silvestre del gen, que mediante un protocolo de expresión *in situ* de proteínas (empleando un sistema de expresión libre de células), disponiendo de esta forma rápidamente de las proteínas de interés para posteriores ensayos.

Resultados: Podemos testar la capacidad de autofosforilación/ defosforilación de la proteína para determinar si la actividad quinasa puede verse afectada por el inhibidor seleccionado. En este momento se está testando la capacidad inhibitoria de fármacos con actividad descrita así como de nuevos compuestos (pequeñas moléculas) que pudieran tener un efecto sobre la proteína Kit.

Agradecimientos

Este proyecto está financiado por el Ministerio de Sanidad y Política social Ref. TRA-023, Consejería de Sanidad de Junta Castilla-León