

Nagymihály Bence, ÁOK V. évfolyam

SZTE SZAOK, Orvosi Vegytani Intézet

Nehezen támadható fehérje-fehérje kölcsönhatási felszínek feltérképezése UV-reaktív felszín fragmensek segítségével a KRas G12D fehérjén

Bevezetés: A fragmens alapú hatóanyagfejlesztés az egyik leghatékonyabb stratégia a gyógyszerkutatásban. A kismolekulás fragmensek szűrése, majd a célfehérjéhez gyengén kötődő fragmensek összekapcsolása olyan fehérje célpontok esetén lehet sikeres megközelítés, melyek kötőzsebbel rendelkeznek, tehát képesek a kismolekulás hatóanyagok megkötésére. A humán proteom 80%-a azonban nehezen támadható fehérje, melyek nagy és oldószernek kitett felszínük miatt nem képesek a kismolekulákat megkötni.

Célkitűzés: Célunk volt, hogy fehérje felszín utánzó foldamer fragmensekkel nehezen támadható célpontok felszínét feltérképezzük, majd a megfelelő foldamer építőelemeket összeépítve nagyobb affinitású foldamert hozunk létre, így kiterjesztve a fragmens alapú hatóanyagfejlesztést a kötőzsebbel nem rendelkező célpontokra.

Módszerek: Vizsgálatainkat az egyik legnagyobb gyógyszerkémiai kihívást jelentő fehérjén, a KRas G12D-n végeztük. Egy 100-tagú foldamer könyvtárat teszteltünk, melyek UV-reaktív csoportot tartalmaztak, így a kötődő foldamerek a célpontot kovalensen jelölték. A szűrést HPLC-MS-sel végeztük. A leghatékonyabb fragmensek kötődési helyét proteomikai tömegspektrometriás módszerrel, illetve ^{15}N HSQC NMR titrálással határoztuk meg. Dinamikus kovalens könyvtár (DCL) kísérletekben nagyobb affinitású foldamer dimereket hoztunk létre. A legjobbnak bizonyuló dimereket karakterizáltuk.

Eredmények: A felszín fragmensek két proteinogén aminosav oldalláncukkal képesek voltak a célfehérje felszínét felismerni és a célponthoz kötődni. Számos foldamer fragmens találatunk volt, melyek kötődése oldallánc-függő mintázatot mutatott. Az UV-reaktív jelölő a szűrést hatékonyra tette és a foldamer fragmensek kötőhelyét lokalizálni tudtuk. A foldamerek felismerték a KRas fehérje-fehérje kölcsönhatási felszíneit, továbbá felderítettek új, potenciálisan támadható régiókat is. Fehérje-templátolt DCL kísérletekben a fragmensek affinitását növelni tudtuk.

Megbeszélés: A létrehozott UV-reaktív foldamer fragmens könyvtár alkalmazása, majd az építőelemek összekötése általános megoldást jelenthet a nehezen támadható fehérje célpontok ellen.

Támogatók: NKFIH K134754, TKP2021-EGA-32

A jelen közlemény alapjául szolgáló kutatást a Nemzeti Orvosbiológiai Alapítvány Nemzeti Tudósképző Akadémia Programja támogatta a Kulturális és Innovációs Minisztérium pénzügyi hozzájárulásával.

A KULTURÁLIS ÉS INNOVÁCIÓS MINISZTERIUM EGYETEMI KUTATÓI ÖSZTÖNDÍJ PROGRAMJÁNAK A NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI ÉS INNOVÁCIÓS ALAPBÓL FINANSZÍROZOTT SZAKMAI TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.