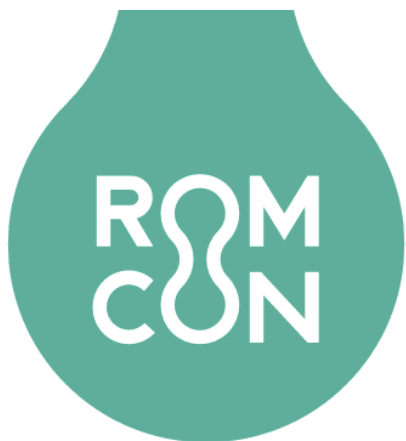
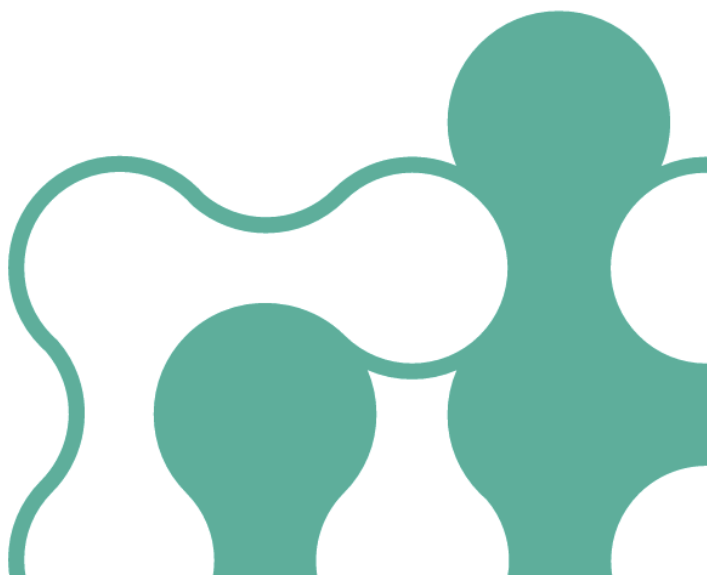




Absz PÉCS 2025 trakt füzet



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

Témavezető: Prof. Dr. Martinek Tamás¹ | Társtémavezető: Dr. Wéber Edit¹

¹ – SZTE SZAOK Orvosi Vegytani Intézet

Bevezetés

A fragmens alapú hatóanyagfejlesztés az egyik leghatékonyabb stratégia a gyógyszerkutatásban. Viszont, 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 oldószernak kitett felszínük miatt nem képesek a kismolekulákat megkötni. Célunk volt, hogy fehérje felszínt utánzó foldamer fragmensekkel nehezen támadható célpontok felszínét feltérképezzük, majd a megfelelő foldamer építőelemeket összeépítve nagyobb affinitású foldamert hozzunk létre, így kiterjesztve a fragmens alapú hatóanyagfejlesztést a kötőzsebbel nem rendelkező célpontokra.

Módszerek

Vizsgálatainkat az egyik legnagyobb gyógyszerkémiai kihívást jelentő KRas G12D, fehérjén 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 15N 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 hatékonyvá 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, majd a dimereket karakterizáltuk.

Megbeszélés

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

Támogatás

EKÖP-24-2-SZTE-301, 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.