

Jelátviteli fehérjék szerepe daganatos megbetegedésekben: a mutáns RAS allélspecifikus viselkedése

Tímár József

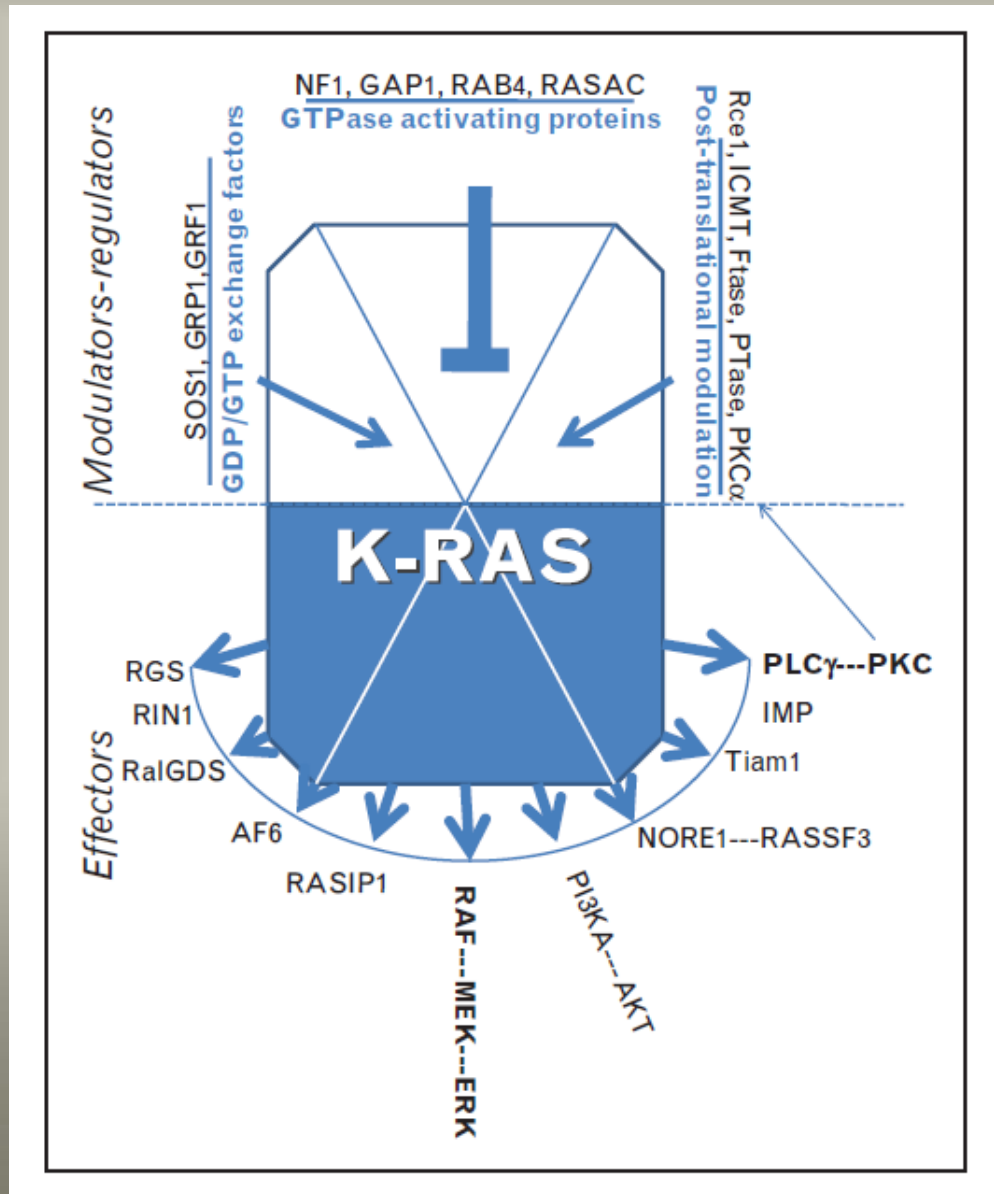
**Semmelwesi Egyetem, 2.sz. Patológiai Intézet, MTA-SE
Molekuláris Onkológia kutatócsoport**

Czirók András

ELTE, Biológiai Fizika Tanszék

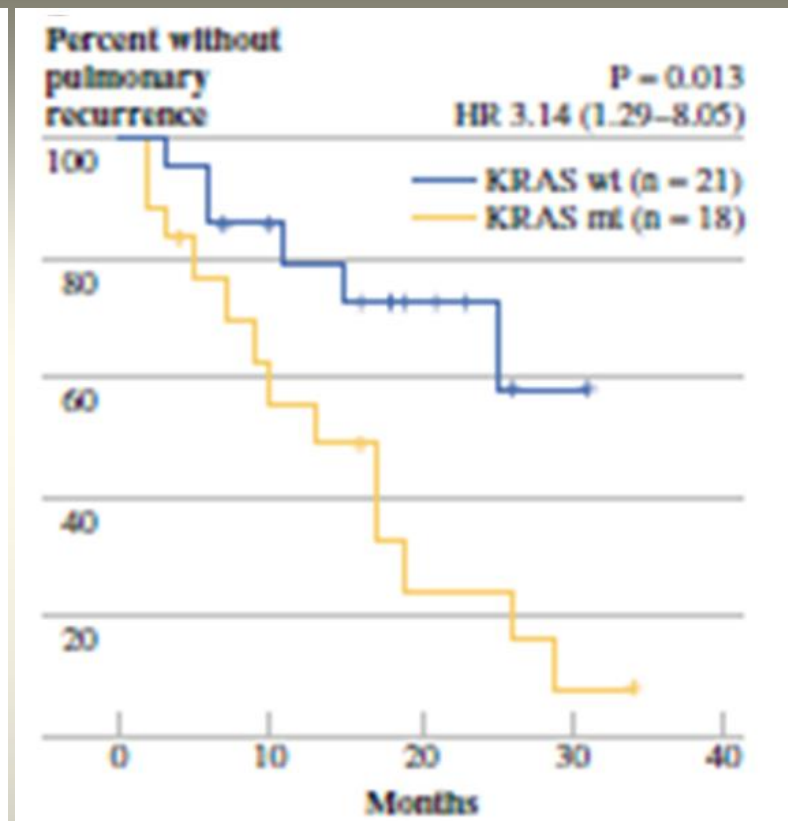
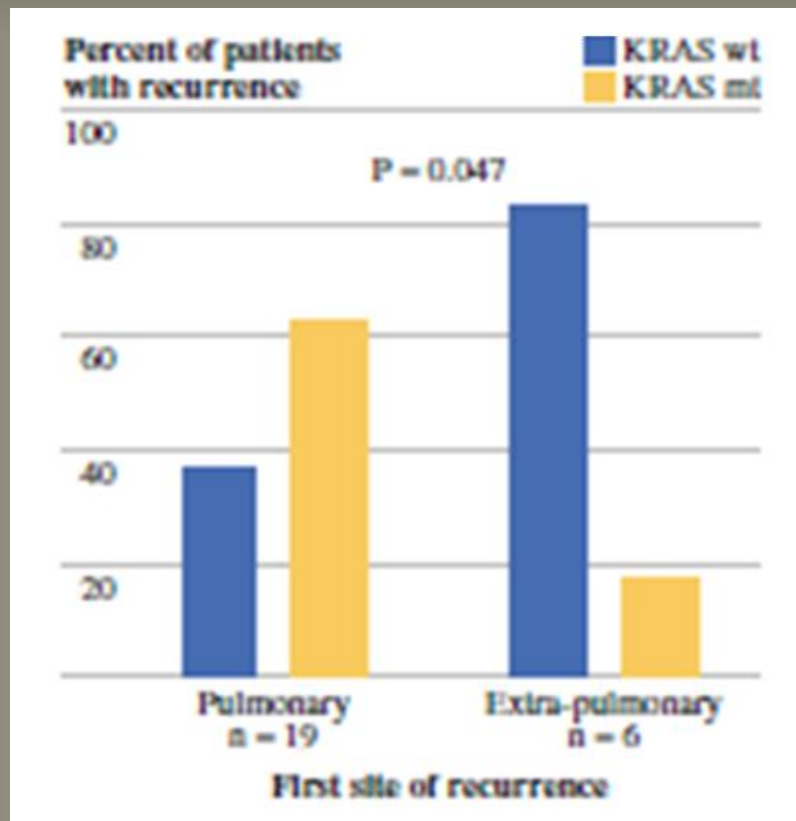


A K-RAS fehérje szabályozási mintázata



Mutáns KRAS allél-specifikus viselkedése

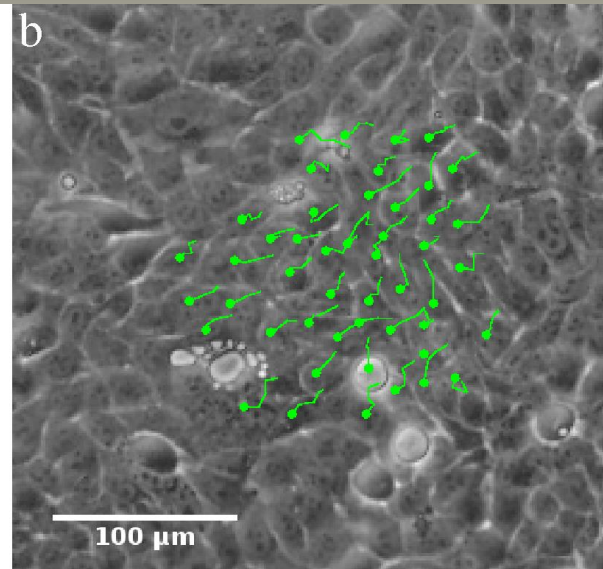
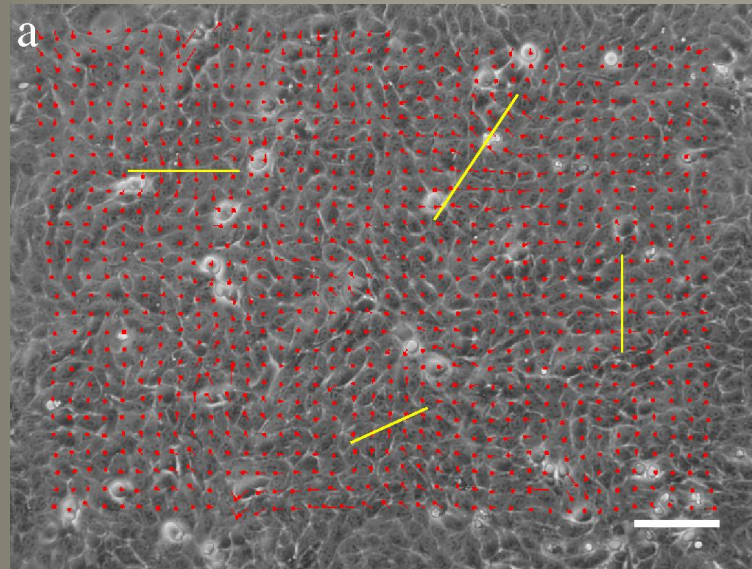
	Aminosav változás			
codon	G12V	G13D	Q61L	Q61L
Funkcionális következmény				
GDP/GTP exchange	csökkent	fokozott	fokozott	fokozott
GEF érzékenység	csökkent	megtartott	megtartott	megtartott
GAP érzékenység	hiányzik	fokozott	fokozott	fokozott
GTPáze aktivitás	minimális	csökkent	minimális	minimális



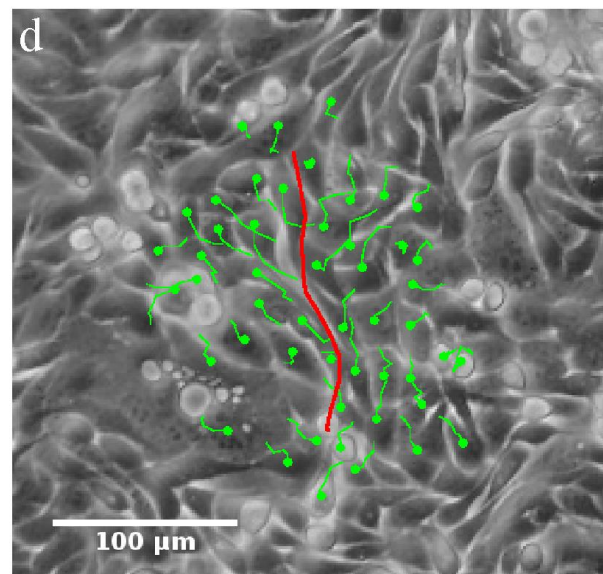
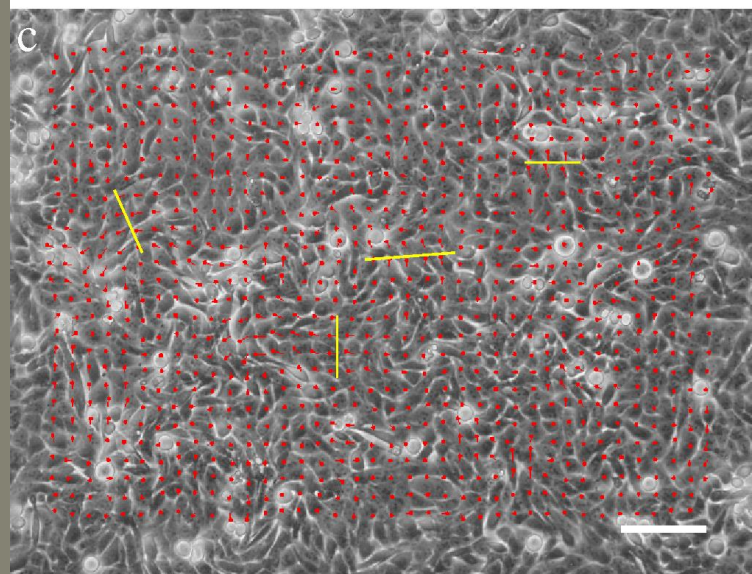
A KRAS mutációt hordozó kolorektális daganatok nagyobb valószínűséggel adnak áttétet a tüdőbe, és áttéteik rosszabb prognózisúak.

Schweiger et al. (2014). EGFR, BRAF and KRAS status in patients undergoing pulmonary metastasectomy from primary colorectal carcinoma: a prospective follow-up study. *Ann Surg Oncol*, 21(3), 946-954.

Kollektív sejtáramlás epitél monolayerekben

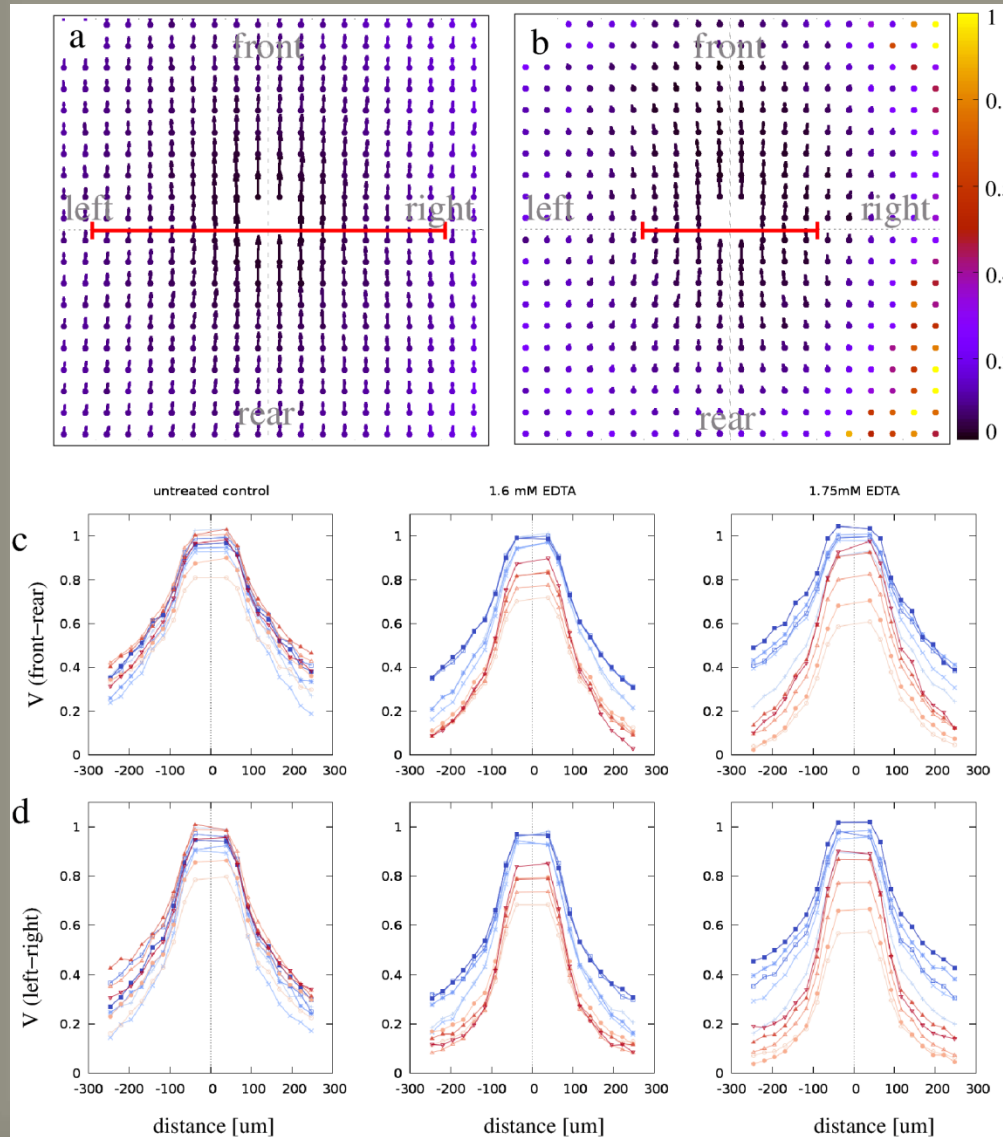


HaCaT



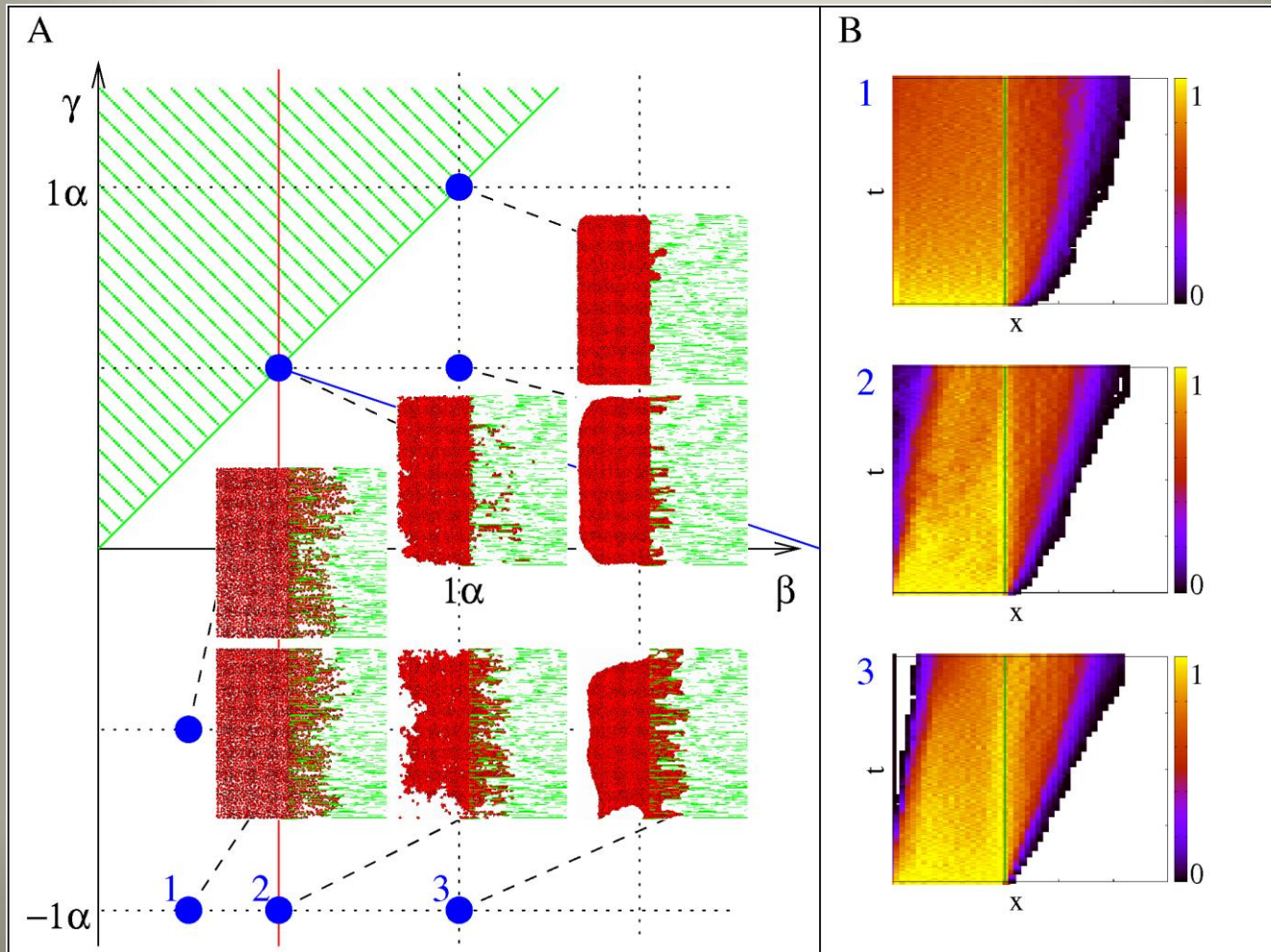
HaCaT +
EDTA

Czirok et al. (2013) Collective cell streams in epithelial monolayers depend on cell adhesion. New J Phys, 15. 075006



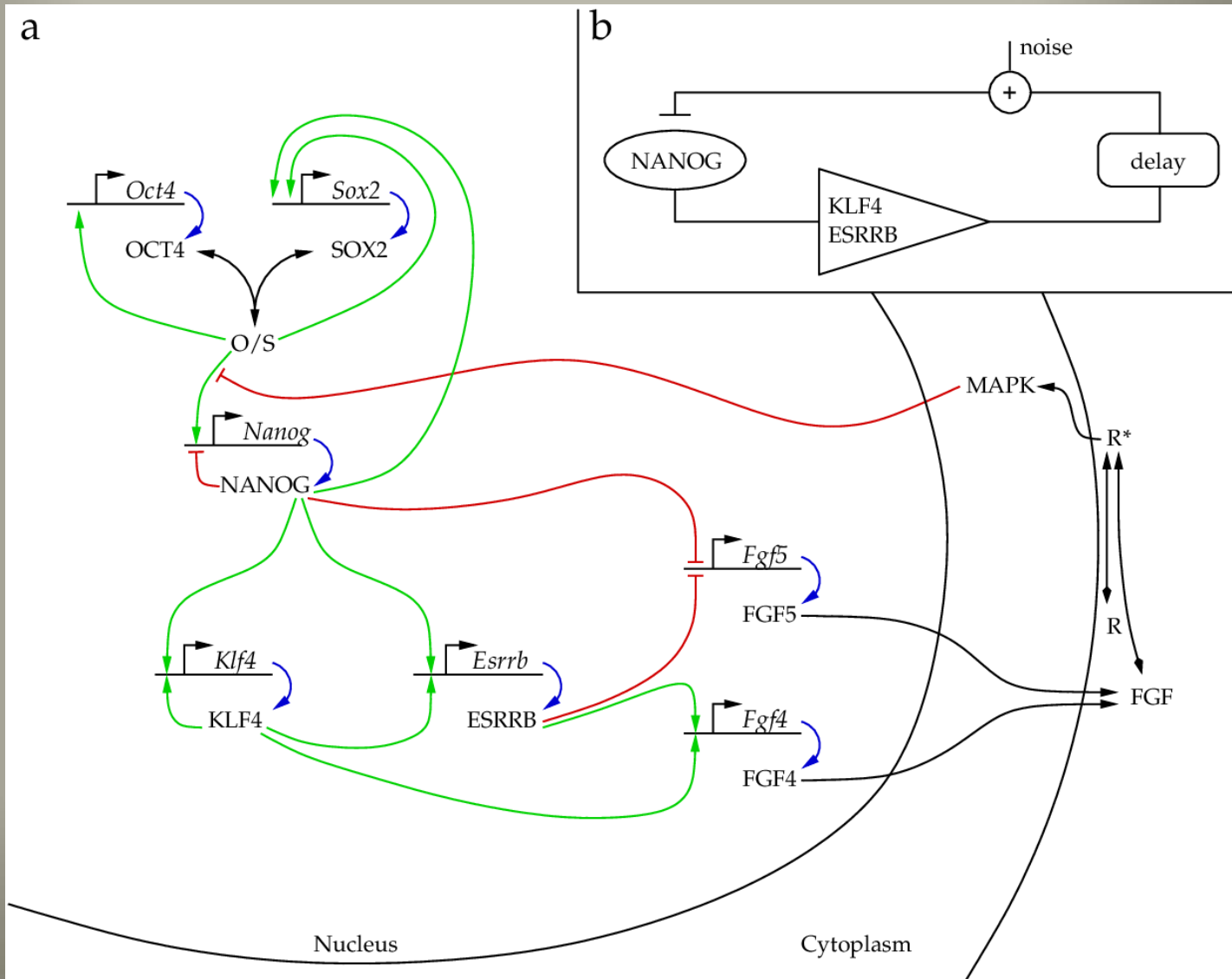
Kollektíven
mozgó sejtek
áramlásprofilja,
natív és EDTA-
kezelt HACaT
tenyészetekben

Kollektívan áramló sejtek inváziója ECM környezetben -- számítógépes szimuláció



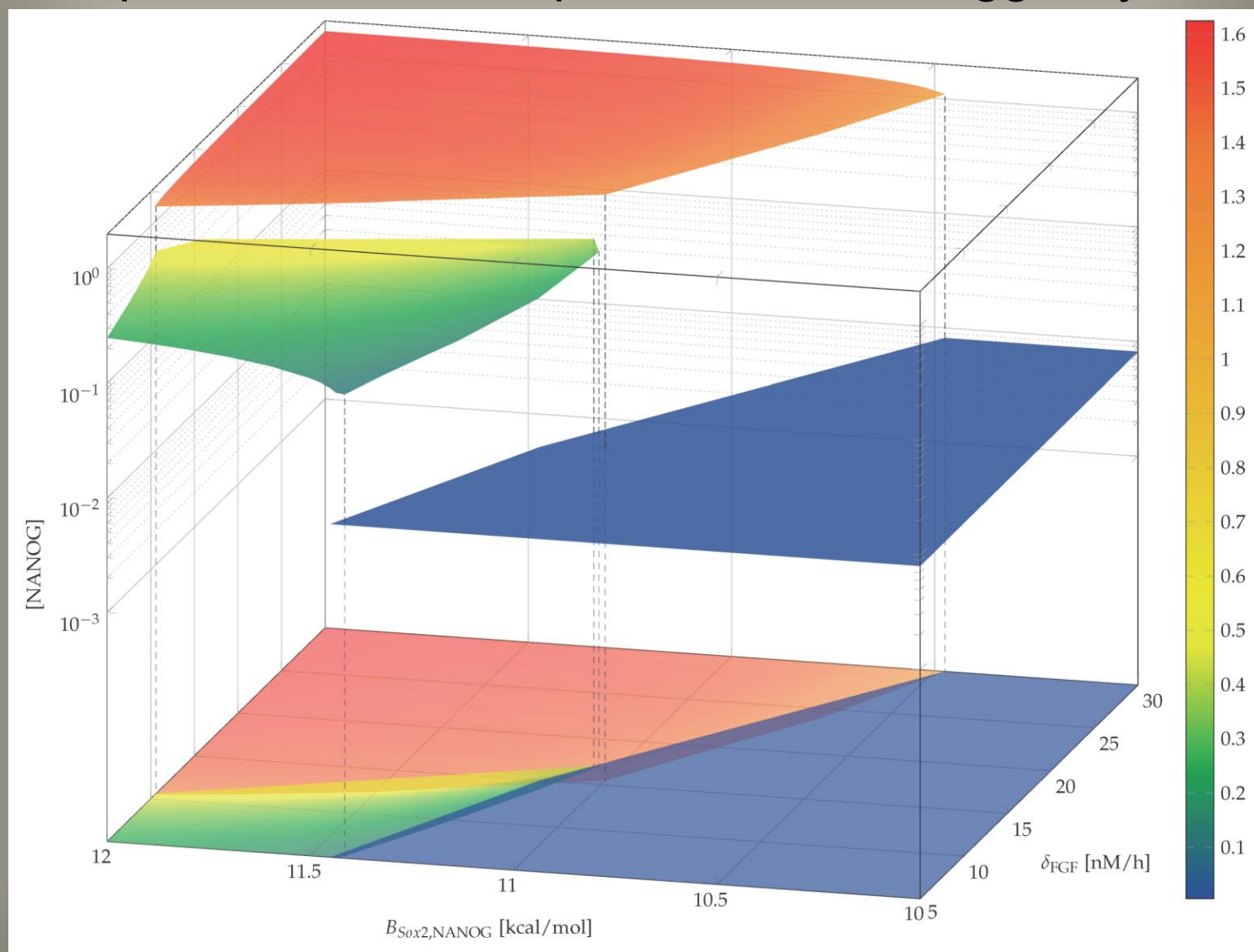
Szabo et al. (2012) Invasion from a cell aggregate--the roles of active cell motion and mechanical equilibrium. *Phys. Biol.* 9:016010

Össejtdifferenciációt szabályzó jelátviteli és transzkripció faktor hálózatának vázlata



Lakatos et al. (2014). Autocrine FGF feedback can establish distinct states of Nanog expression in pluripotent stem cells: a computational analysis. *BMC Syst Biol*, 8, 112.

A pluripotenciát fenntartó Nanog transzkripciós faktor diszkrét állapotai a modell két paraméterének függvényében

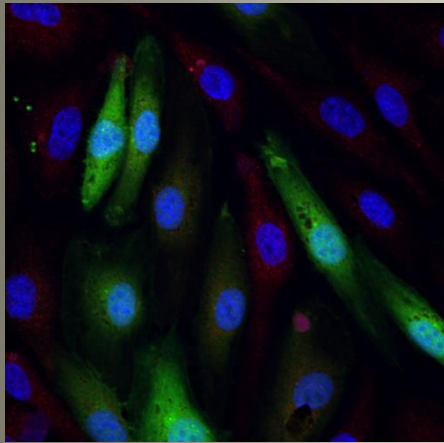


Lakatos et al. (2014). Autocrine FGF feedback can establish distinct states of Nanog expression in pluripotent stem cells: a computational analysis. *BMC Syst Biol*, 8, 112.

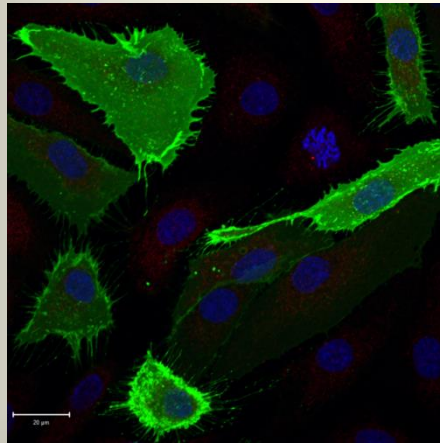
Munkaterv

- Emberi G12C, G12D, G12V mutáns KRAS gén transzfekciója vad KRAS kifejező emberi vastagbélrák és tüdőrák sejtvonalakba. A gén expressziójának ellenőrzése RTPCR-rel
- Mutáns KRAS-t expresszáló emberi daganatsejtvonalak (8) viselkedésének tesztelése in vitro (proliferáció, apoptózis, migráció)
- Mutáns KRAS variánsokat expresszáló emberi daganatsejtvonalak (8) RAS-függő jelpályái (3) működésének elemzése, Sejtszignalizációs modell kidolgozása
- Humán rekombináns KRAS fehérje mutáns variánsainak előállítása baktériumokban a kódoló régió és egy MBP-KRAS fúziós vektor segítségével. A expresszió mRNA és fehérje szintű ellenőrzése

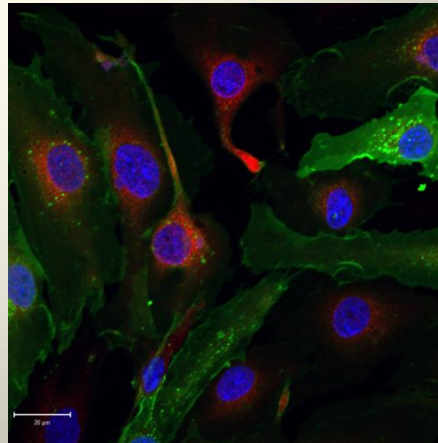
Első eredményeink: mutáns Ras bejuttatása sejtekbe, és annak igazolása, hogy a bejuttatott mutáns fehérje aktiválja a jelátviteli hálózatot.



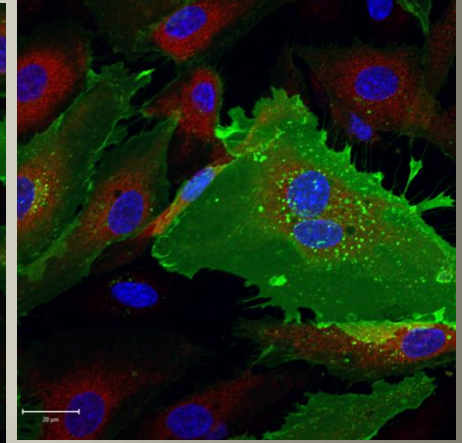
pEGFP-C3



pEGFP-CTH



pEGFP-
Ras G12V



pEGFP-
Ras wt

green: EGFP

red: phospho-ERK

blue: chromatin