

ONKOGÉN K-RAS MUTÁCIÓK: SZERKEZET ALAPÚ ALLÉL SPECIFIKUS INHIBITOR TERVEZÉS



HOGYAN KEZDŐDÖTT?

MEDINPROT KONFERENCIA, 2015. NOVEMBER 14.





Biostruct Laboratórium

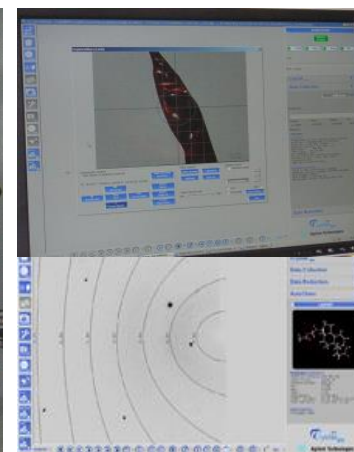
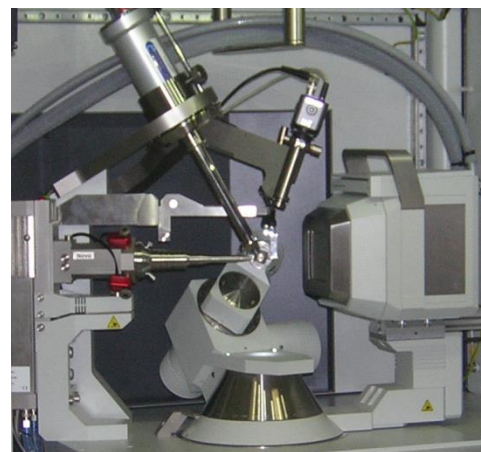
Kristályosítás és röntgenkristallográfia
-kis- és makromolekuláris/komplexek-



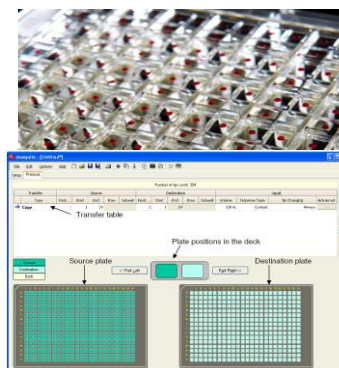
BME CH épület
Biostruct laboratórium
Budapest, 1113 Szt Gellért tér 4
E-mail: vertessy@enzim.hu,
leveles@enzim.hu

www.biostruct.org

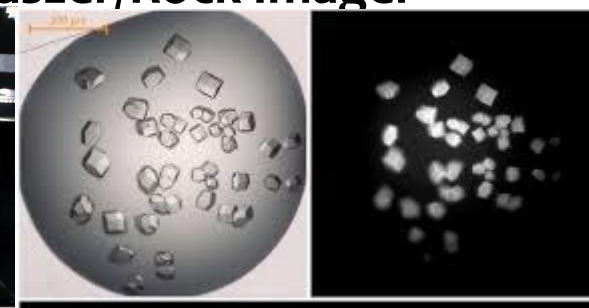
SuperNova egykristály diffraktométer



Mosquito kristályosító robot 96 csepp/2 per



Képalkotó rendszer/Rock Imager



Visible and UV Imaging subsystem

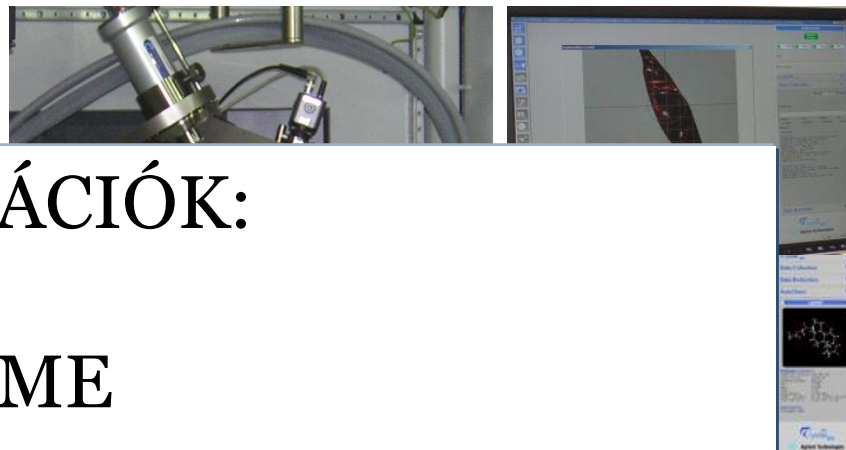


Biostruct Laboratórium

Kristályosítás és röntgen
-kis- és makromolekulák



SuperNova egykristály diffraktométer



KOLLABORÁCIÓK:

ELTE, SE, BME

Debrecen

Szeged

Hamburg

Lisszabon

London

Granada

HOZZÁFÉRHETŐ!

op/2 per



www.biostruct.org



Visible and UV Imaging subsystem



Rasopátia projekt: NKFIH NVKP_16-1-2016-0020

BME : Vértessy G. Beáta

SE : Tímár József

ELTE : Perczel András

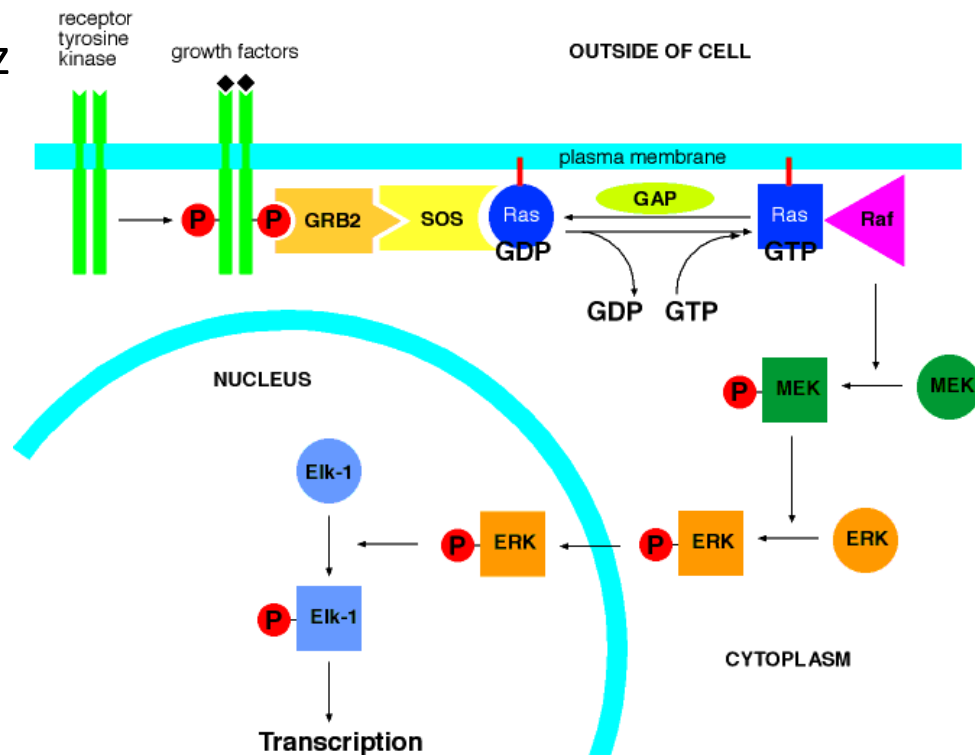
Kinetolab Kft : Tóvári József

Fototronic Kft : Csokonay Péter

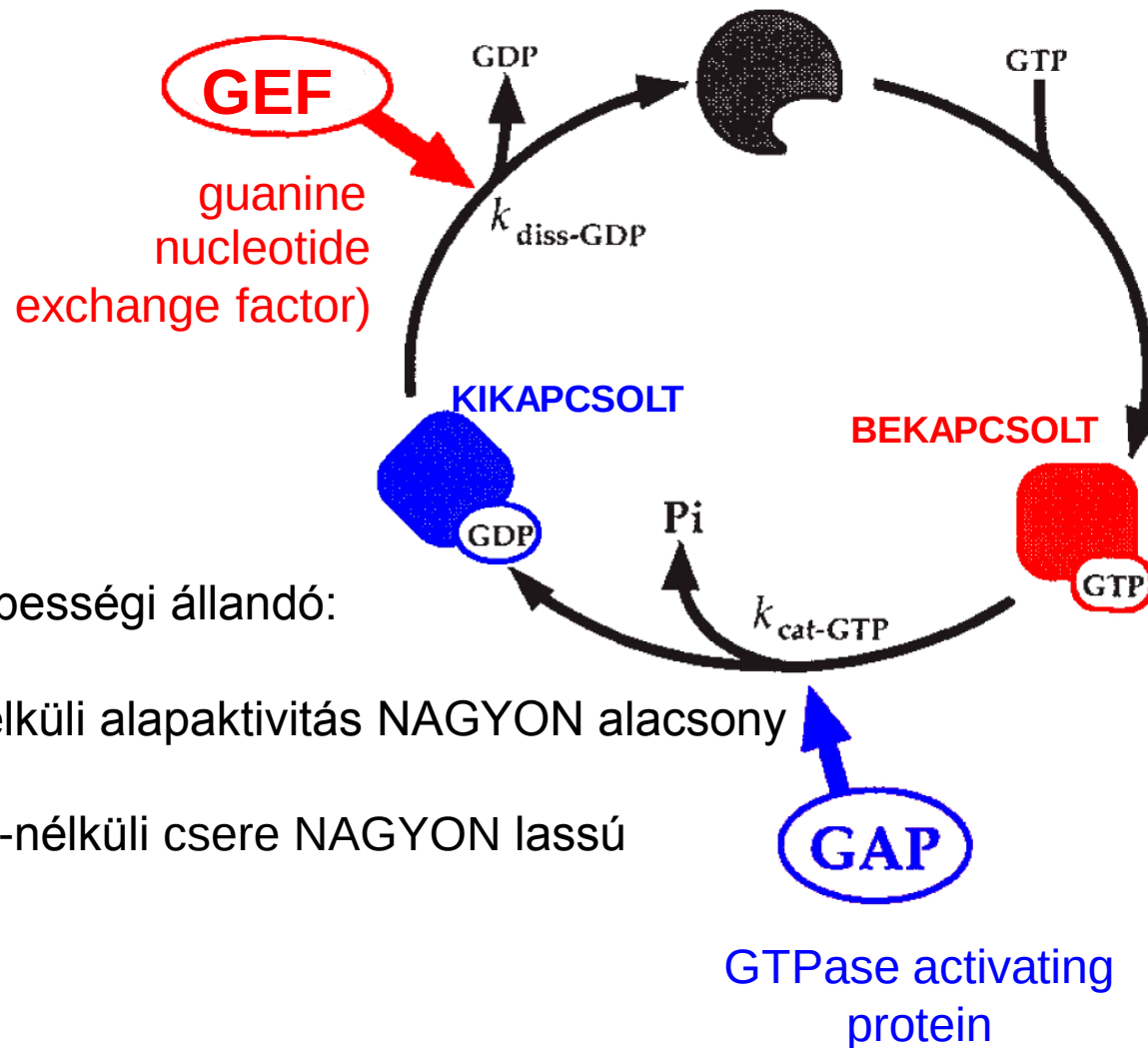
Keserű György

RAS fehérjék

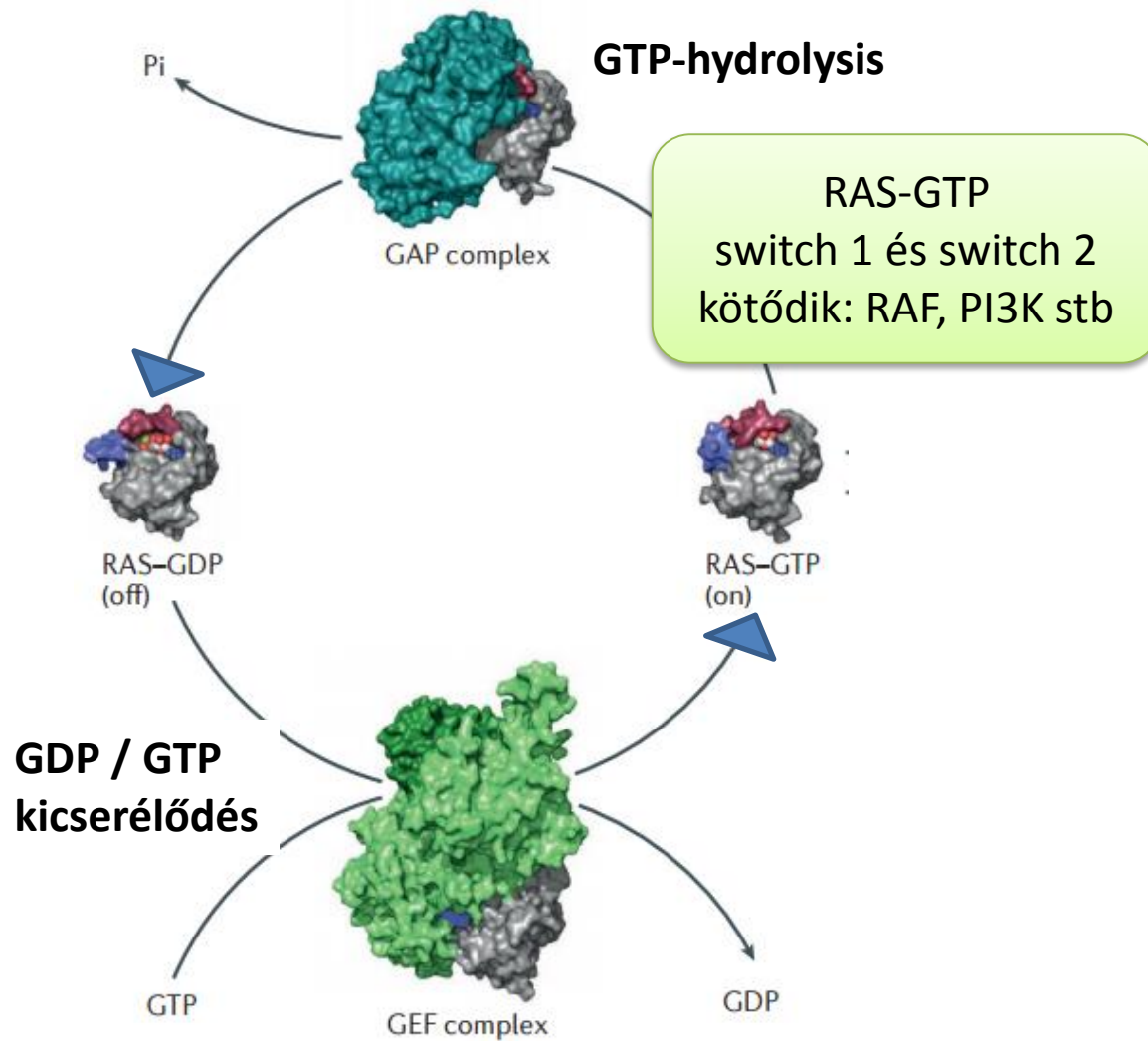
- G proteinek családjába tartozó GTPáz fehérje
- A sejtmembrán belső oldalához rögzített (preniláció)
- Sejtnövekedést, sejtciklust, szabályozó jelátviteli folyamatok jeltovábbító molekulája
- Molekuláris kapcsoló: GTP-kapcsolt (aktív) és GDP-kapcsolt (inaktív) forma



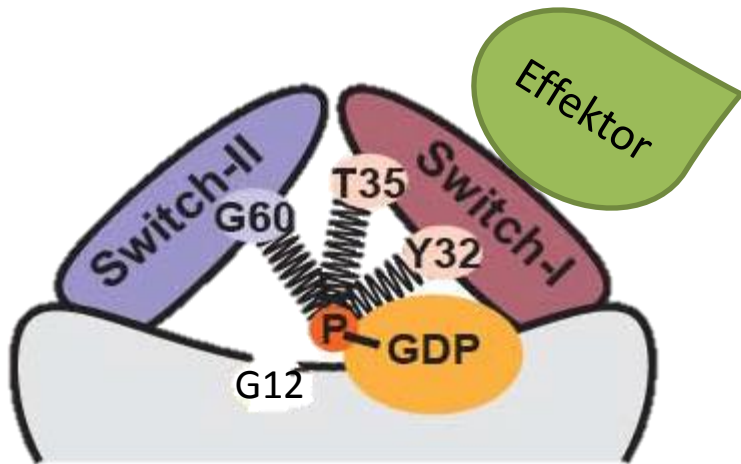
G-fehérjék működése általános molekuláris mechanizmus



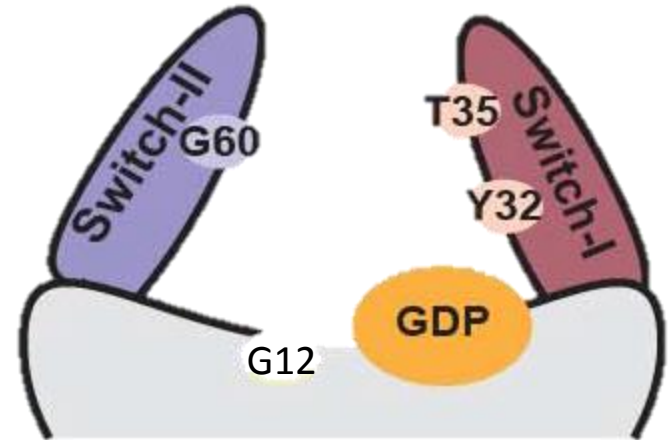
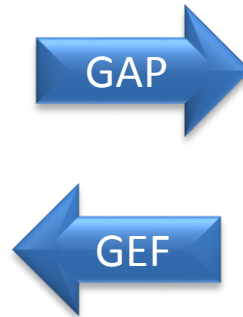
KRAS működése



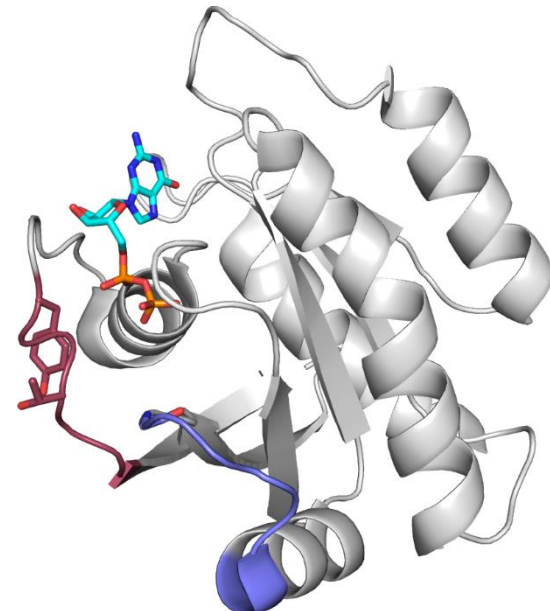
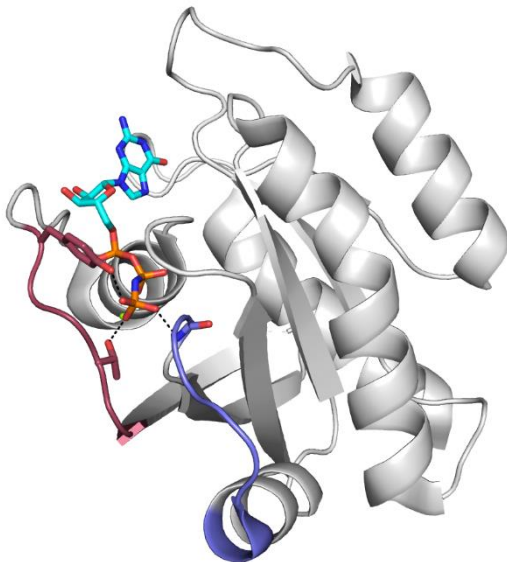
KRAS On / off



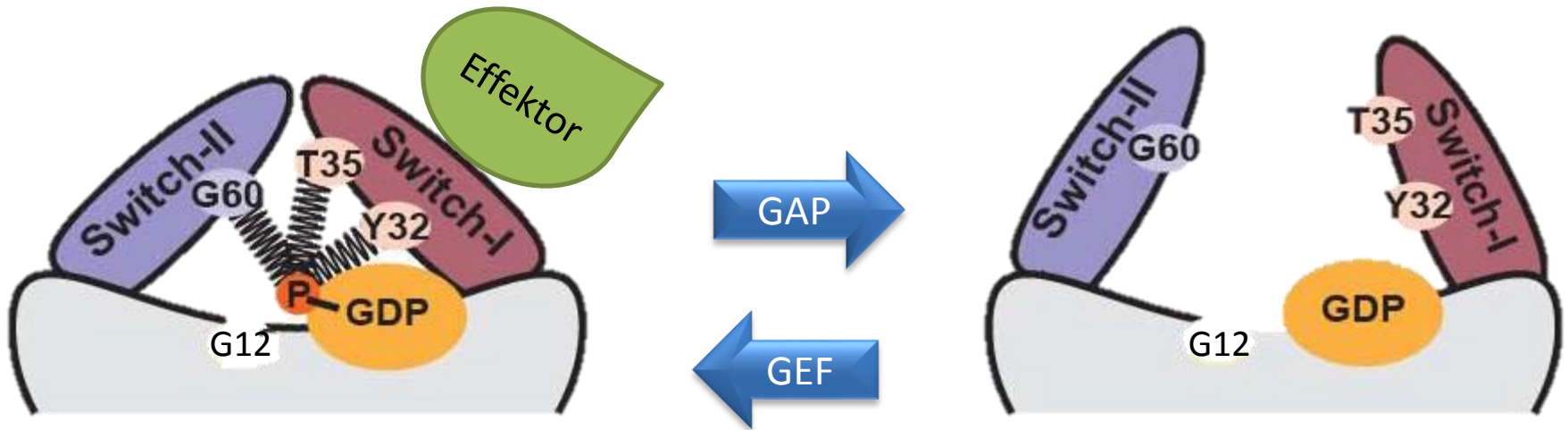
GTP (GDP-P) kötött (ON)



GDP kötött (OFF)

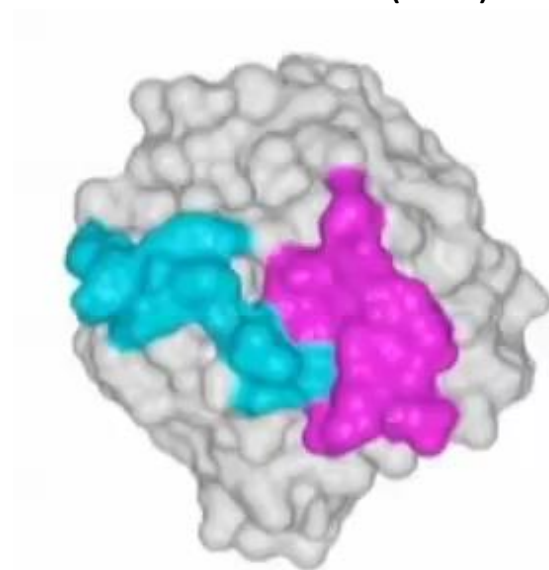


KRAS On / Off

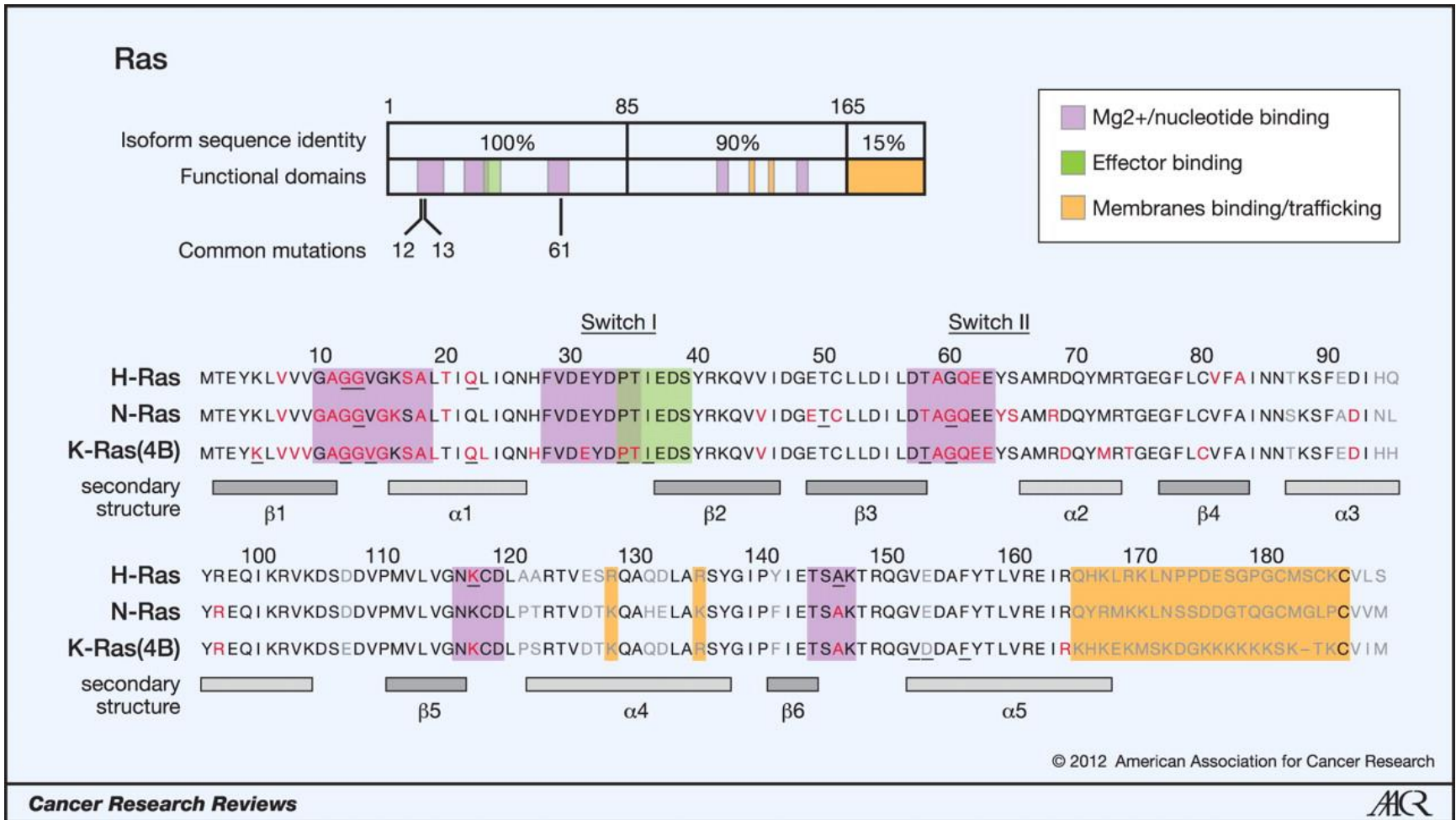


GTP (GDP-P) kötött (ON)

GDP kötött (OFF)



RAS Izoformák



- Cancer Res. 2012 May 15;72(10):2457-67. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2612.
- A comprehensive survey of Ras mutations in cancer.
- Prior IA, Lewis PD, Mattos C.
- PMID: 22589270 PMCID: PMC3354961 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2612



G12 pozíció

KRAS izoformák: G12 – C, D, V



Switch I

Switch II

```

KRAS_4A MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHFVDEYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDIIDTAGQEEY
KRAS_4B MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHFVDEYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDIIDTAGQEEY
*****
  
```

```

KRAS_4A SAMRDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHHYREQIKRVKDSVDPMVLVGNKCDLPSRTVDTK
KRAS_4B SAMRDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHHYREQIKRVKDSVDPMVLVGNKCDLPSRTVDTK
*****
  
```

```

KRAS_4A QAQDLARSYGIPFIETSAKTRQRVEDAFYTLVREIRQYRLKKISKEEKTPGCVKIKKCIIM
KRAS_4B QAQDLARSYGIPFIETSAKTRQGVDDAFYTLVREIRKHK-EKMSKDGKKKKKSKTKCVIM
*****
  
```



Nukleotid ill Mg^{2+} kötés

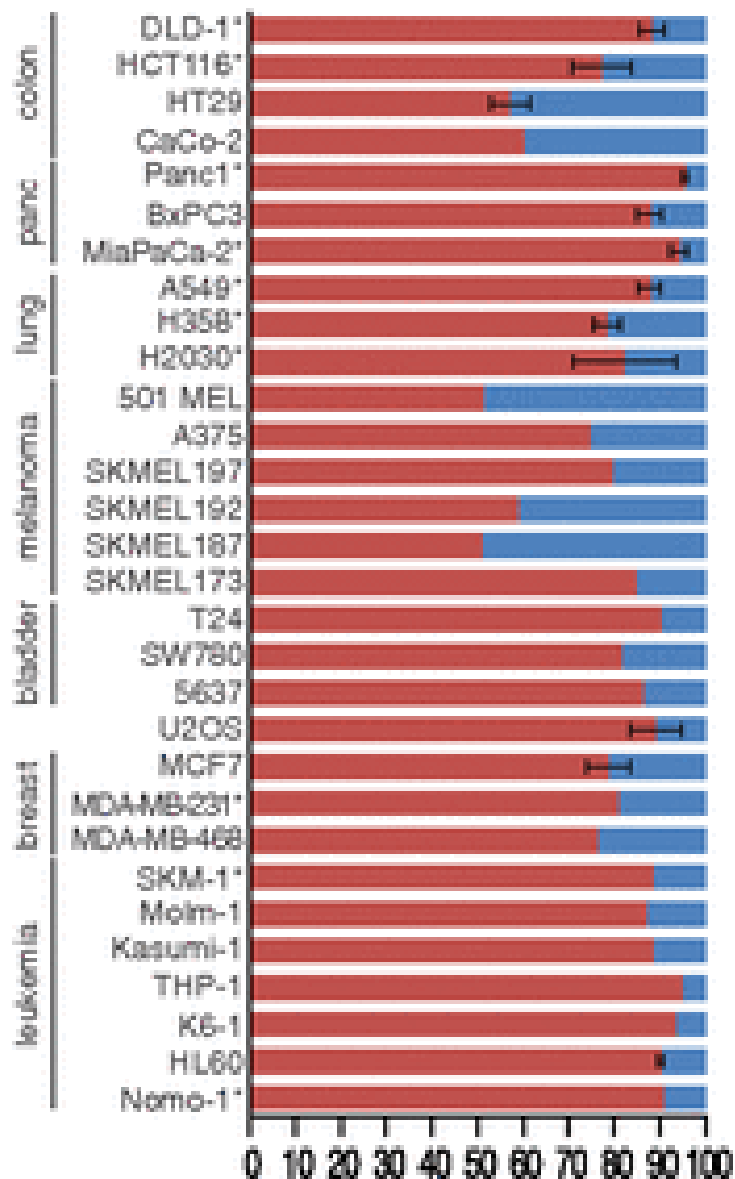


Membrán kötés ill transzport



Effektor kötés

Cancer Res. 2012 May 15;72(10):2457-67. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2612.
 A comprehensive survey of Ras mutations in cancer.
 Prior IA, Lewis PD, Mattos C.
 PMID: 22589270 PMCID: PMC3354961 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2612
 Alapján sk.



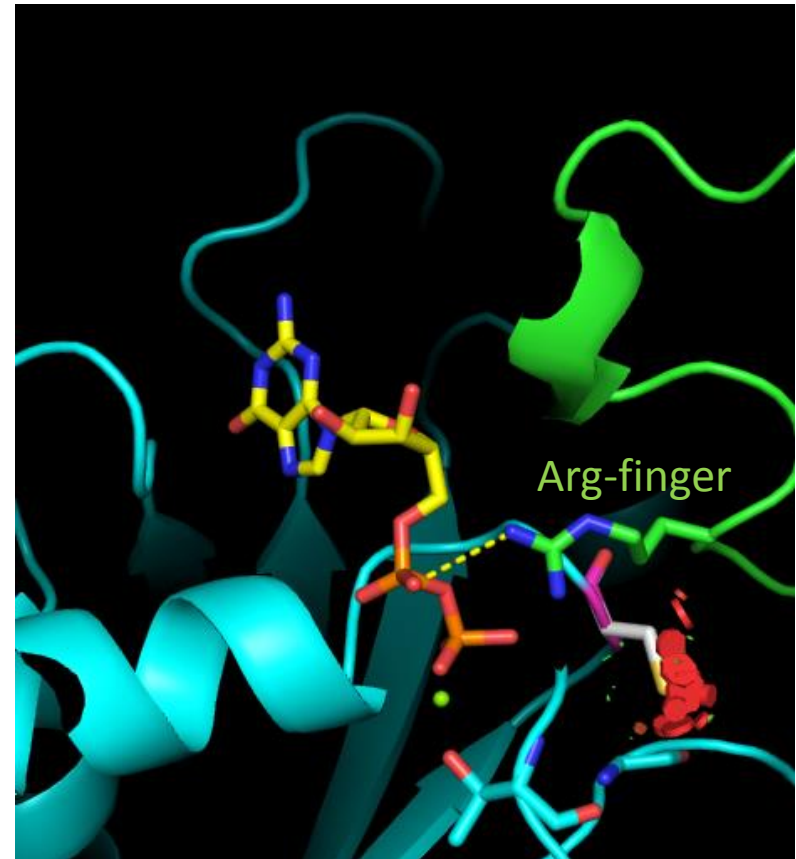
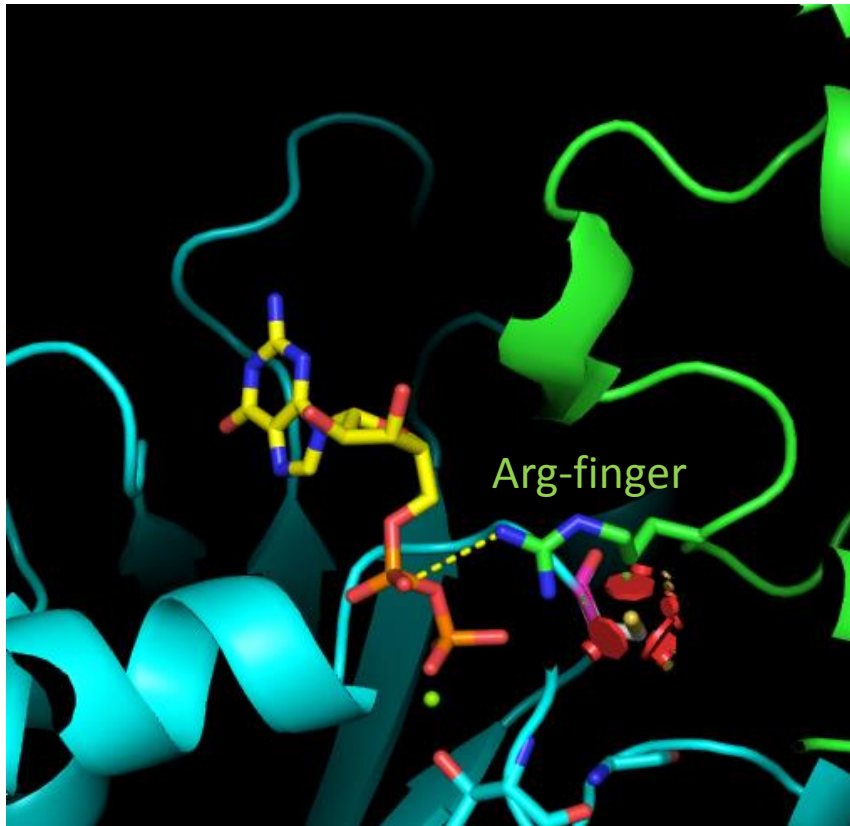
K-Ras4B

K-Ras4A

Izoformák előfordulási gyakorisága különböző tumorokban

- Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Jan 20;112(3):779-84. doi: 10.1073/pnas.1412811112. Epub 2015 Jan 5.
- K-Ras4A splice variant is widely expressed in cancer and uses a hybrid membrane-targeting motif.
- Tsai FD, Lopes MS, Zhou M, Court H, Ponce O, Fiordalisi JJ, Gierut JJ, Cox AD, Haigis KM, Philips MR.
- PMID: 25561545 PMCID: PMC4311840 DOI: 10.1073/pnas.1412811112

C12 mutáció RAS-GAP szerkezetre



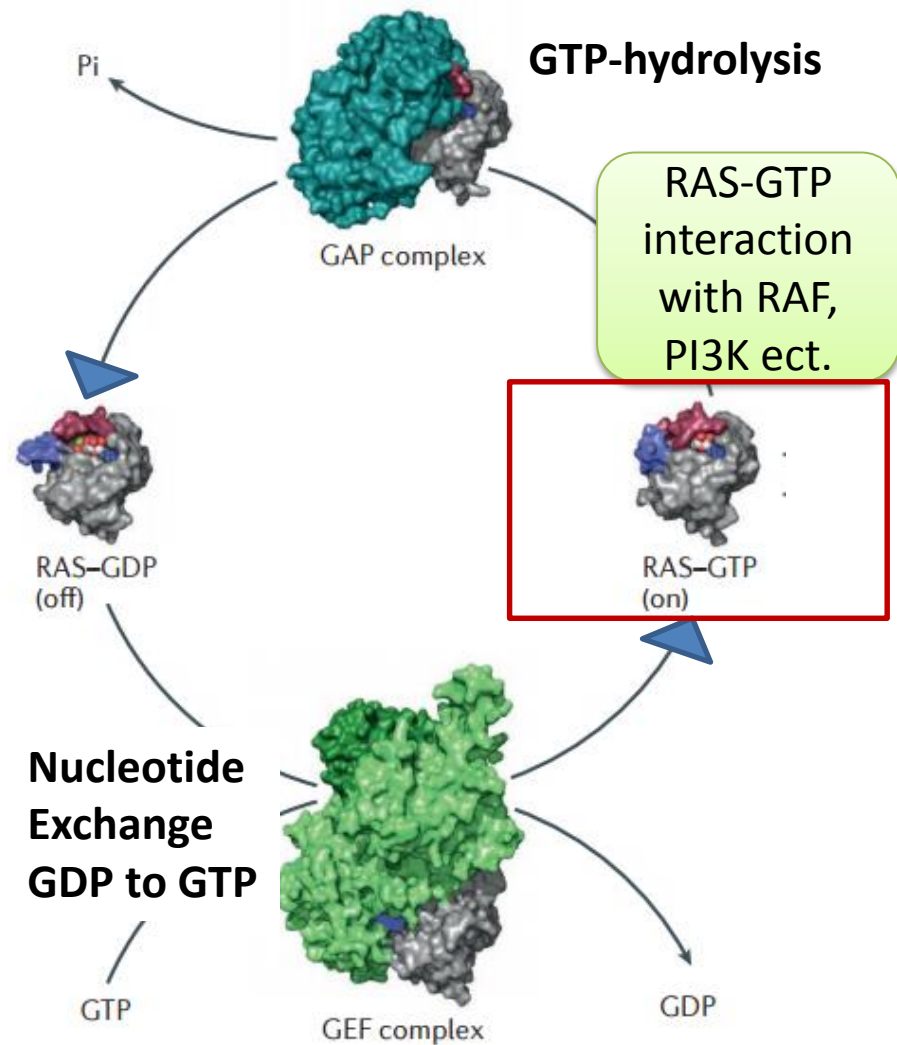
G12 pozíció a RAS fehérjében

Cisztein mutáns (mindkét konformer) –

piros korongok sztérikus ütközés **GAP**-pal

Bármilyen, ami glicinnel nagyobb, ugyanezt fogja eredményezni

KRAS működése és a G12 mutáció hatása



A GTP foszfátot koordináló P-loopban lévő G12-es pozíciójának mutációja



KRas-GAP kölcsönhatás sztérikus gátlás következtében nem tud létre jönni

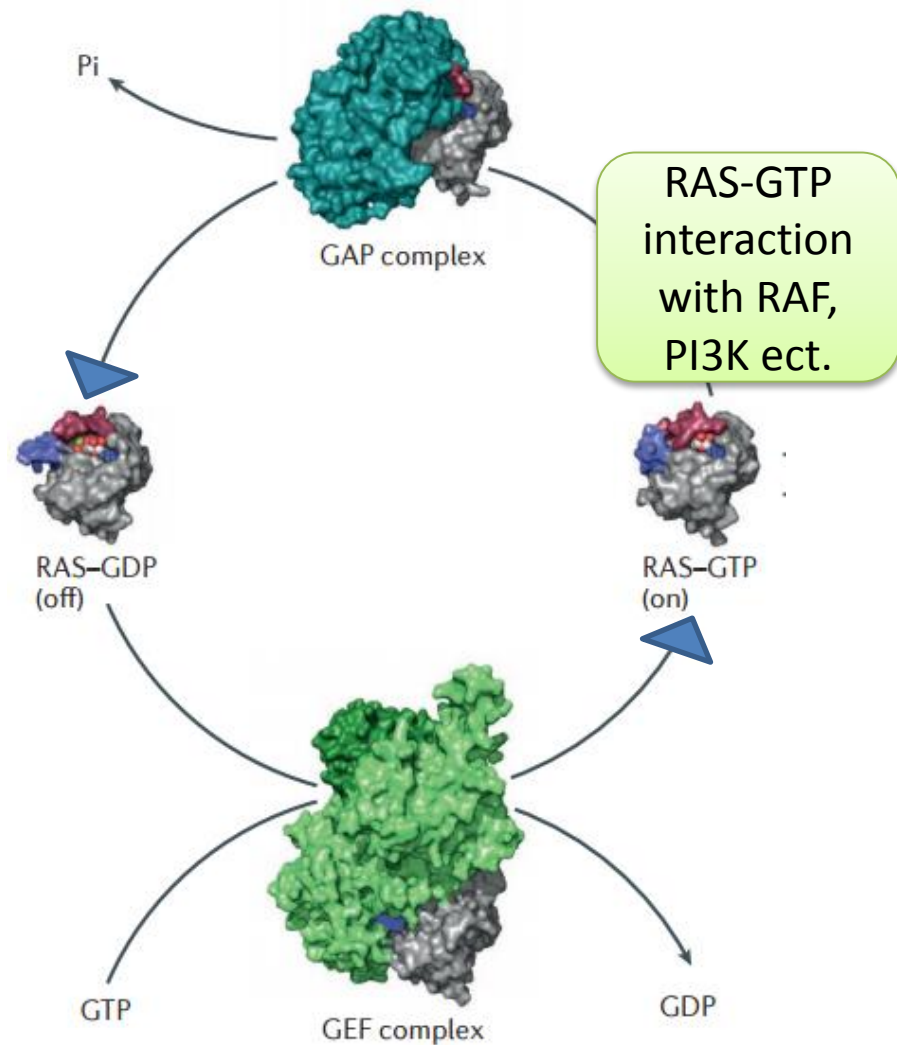


jelentősen csökken a GTP hidrolízis sebessége, mivel nincs ott a GAP reakciót elősegítő Arg-fingere.



A kapcsoló bekapcsolt állapotban marad onkogén transzformáció

KRAS-inhibitor tervezési stratégiák



1) Az allosztérikus inhibitorok, melyek gátolják az effektor kötődést
a rendszer sajátosságai miatt nem kecsegtet sikerrel.

(flexibilis kötőhely, és a nagy felületen bekötődő fehérje partnerrel nehezen konkurrál egy kis molekula, ráadásul mivel allosztérikus nehezen lehet mutáns-specifikus)

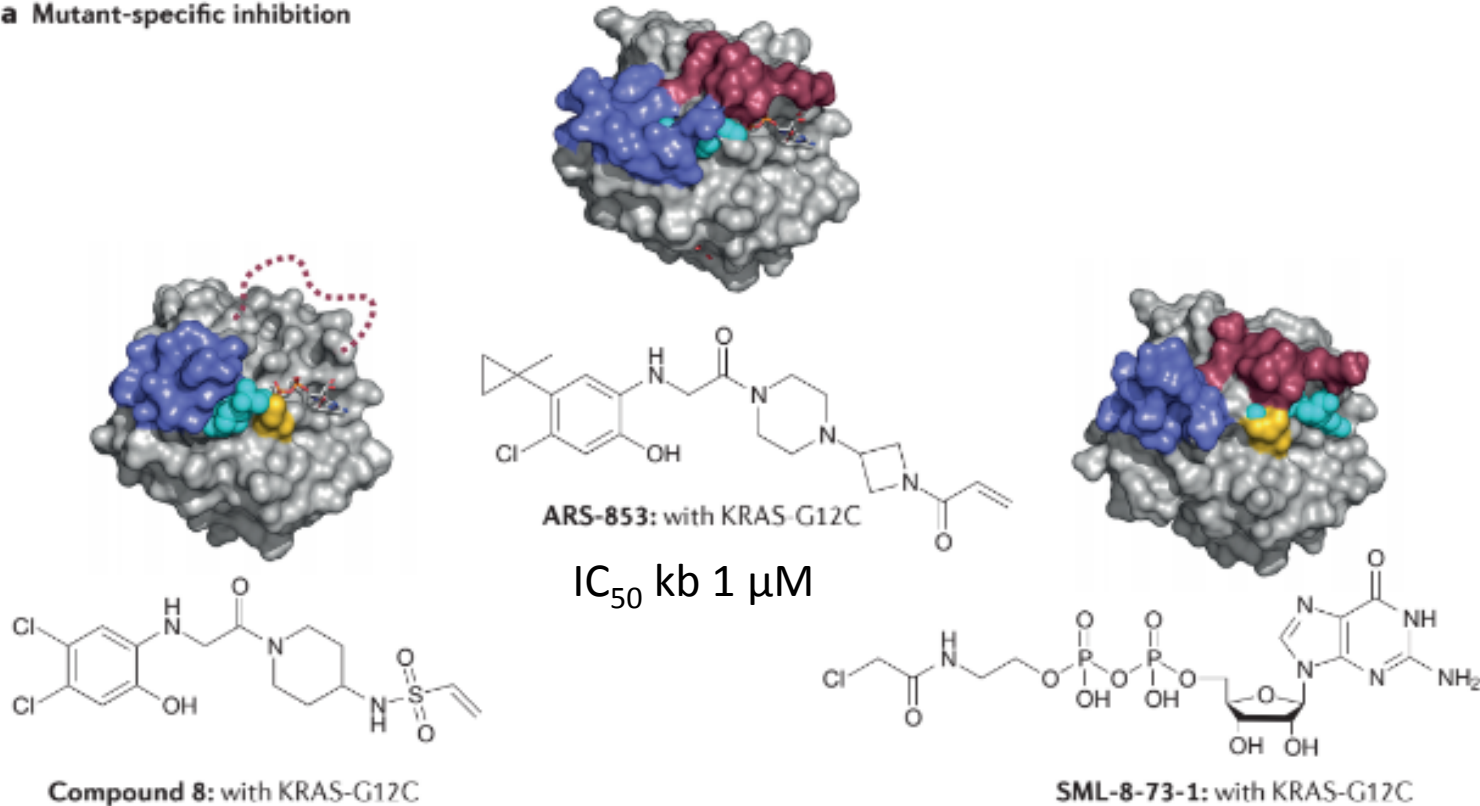
2) a GTP-t nem lehet kiszorítani mert nagyon kicsi a K_d-ja,
A GDP kötött Ras lesz tehát a target, ezért olyan mutánst kell vizsgálni aminek van GTPáz aktivitása (G12C közel wt aktivitás, G12D csökkent aktivitás, G12V praktikusán inaktív?)

3) G12C-re kovalens inhibitor ARS853
GDP kötött Ras-t stabilizálja

IC₅₀ ARS853 kb 1 μM
Lenne itt még mit javítani!

G12C KRAS jelenlegi kovalens inhibitorok

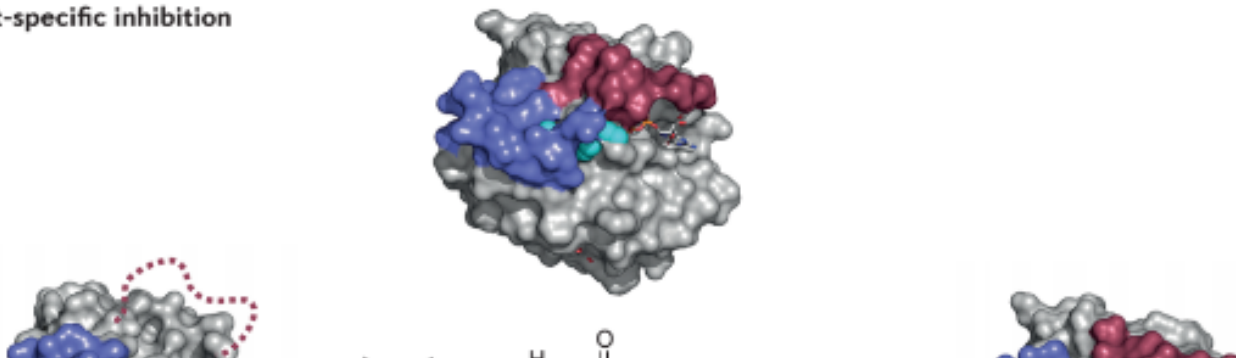
a Mutant-specific inhibition



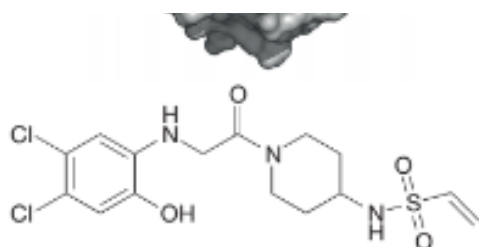
elektrofil GDP analóg

Biztos, hogy csak a 12-es C-hez köt? - között szerkezetben összes többi C el van mutálva
Alacsony a kötési erősség
Aszpartátra is kell megoldás

a Mutant-specific inhibition



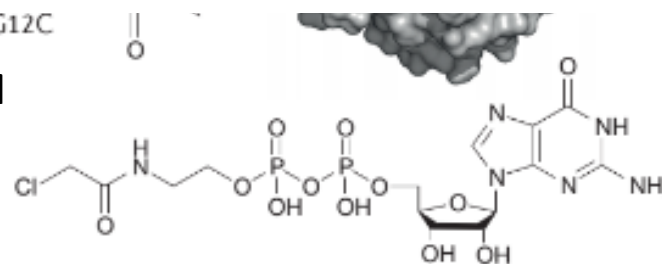
A coeur vaillant rien d'impossible ☺



Compound 8: with KRAS-G12C

ARS-853: with KRAS-G12C

IC_{50} kb 1 μ M



SML-8-73-1: with KRAS-G12C

elektrofil GDP analóg

ONKOGÉN K-RAS MUTÁCIÓK: SZERKEZET ALAPÚ ALLÉL SPECIFIKUS INHIBITOR TERVEZÉS



Nyíri Kinga
Pálinkás Hajnalka
Leveles Ibolya
Nagy Kinga
Surányi Éva

Matejka Judit
Koppány Gergely
Stéger Anett

