

Napjainkban a rákos megbetegedések sikeres gyógyítása továbbra is nagy kihívást jelent. A molekuláris alapokon nyugvó diagnosztika és terápia jelent ígéretet arra, hogy klinikailag hasznos új eljárások kerüljenek bevezetésre. A jelen projekt ezen nagy célkitűzésen belül a KRas fehérjék onkogén mutációihoz társítható megbetegedésekre fókuszált. A Ras fehérje, és ennek KRas izoformája a jelátvitelben lényegi szereplő, azonban egyes pontmutációi onkogén elváltozásokhoz vezetnek. A projekt három egyetem (BME, Semmelweis Egyetem és ELTE) és két innovatív vállalkozás (KinetoLab és Fototronic) sikeres együttműködése révén számok előremutató eredményt értünk el. Ezek között kiemelendő, hogy kidolgoztuk a vad típusú és mutáns KRas fehérjekonstruktok termelését és tisztítását olyan léptékben, ami a projektben tervezett munka számára elegendő mennyiségű és funkcionálisan aktív minőségű fehérje előállítását biztosítja. Fehérjeszerkezet vizsgálatainkkal megállapítottuk számos inhibitor jelölt molekula kötődési paramétereit, és jellemeztük a kötődés körülményeit. Ígéretes ligandumokat terveztünk, melyek allél-specifikus KRas gátló hatását elkezdjük vizsgálni. Megállapítottuk, hogy számos új vegyület képes a G12C KRas mutánshoz kovalensen kötődni. Diagnosztikai panel assay-t hoztunk létre. Nagyáteresztő képességű kötődési és tiol-assay-eket fejlesztettünk ki. KRas funkcionális assay-t fejlesztettünk ki. In vivo modellrendszereket alakítottunk ki, és sikeres toxikológiai vizsgálatok végeztünk mind in vitro, mind in vivo rendszerekben. In silico dokkolási szimulációkkal számos ígéretes allélspecifikus inhibitor jelöltet azonosítottunk a KRAS G12C, G12D G12V variánsaira. Ezen vegyületeket racionális vizsgálatára komplex szűrési protokollt alakítottunk ki az in vitro rendszerektől az állatmodellekig. A rekonstituált tisztított fehérje – ligandum komplexeket számos biokémiai, biofizikai és enzimkinetikai módszerrel vizsgáltuk. Az ígéretes ligandum molekulák KRAS mutánsokkal való kölcsönhatását több dimenziós NR vizsgálatokkal és röntgenkrisztallográfiai vizsgálatokkal elemeztük. Különböző KRAS mutáns és vad típusú sejtvonalakon analizáltuk az inhibitor jelöltek allélspecifikus hatását. Egér modellen vizsgáltuk az inhibitor vegyületek tumorellenes hatását. 409 emberi vastagbélrák és 25 tüdő adenocarcinoma mintából DNS alapú KRAS 2, 3, 4 exon és NRAS 2,3,4 exon mutáció analízist végeztünk, részben a klasszikus gold standard Sanger szekvenálással részben pedig újgenerációs technológiával. Célunk volt az új technológia beállítása és érzékenységének validálása. A jelentési periódusban a vastagbélrákban a KRAS 2 exon mutációs rátája 32%-nak míg a tüdőrákban 40%-nak adódott, hasonlóan egy korábbi periódusban lefolytatott elemzés eredményéhez. A kialakított Splicing-Chip új lehetőséget jelent a RAS mintázatának mérésére. Itt egy új prototípust dolgoztunk ki, amelyet jelenleg egy RUO (research use only) terméké kívánunk fejleszteni a NanoString technologies-el együttműködésben. Eredményeinket több nemzetközi folyóiratcikkben publikáltuk, és magyarországi és EU szabadalmat nyújtottunk be.