

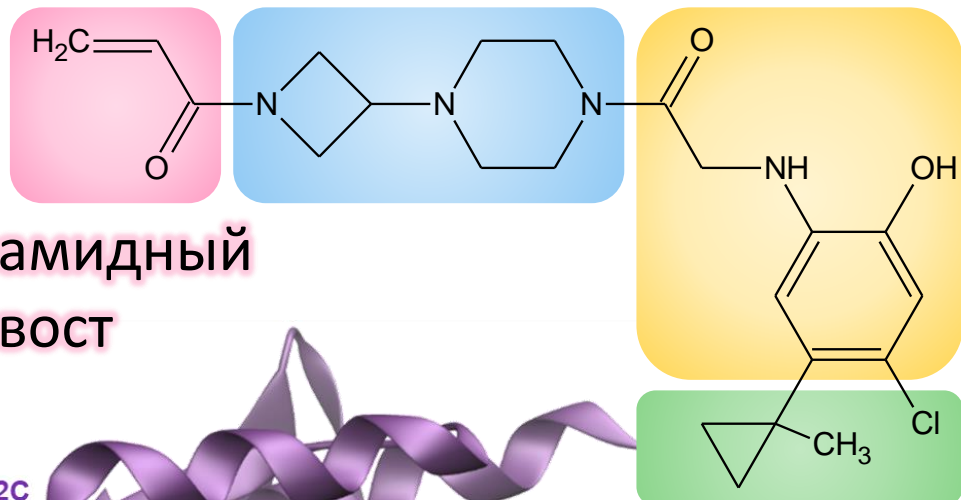


Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова
Химический факультет

Молекулярное моделирование кинетики
ингибирования фермента KRAS с онкогенной
мутацией G12C соединением ARS-853

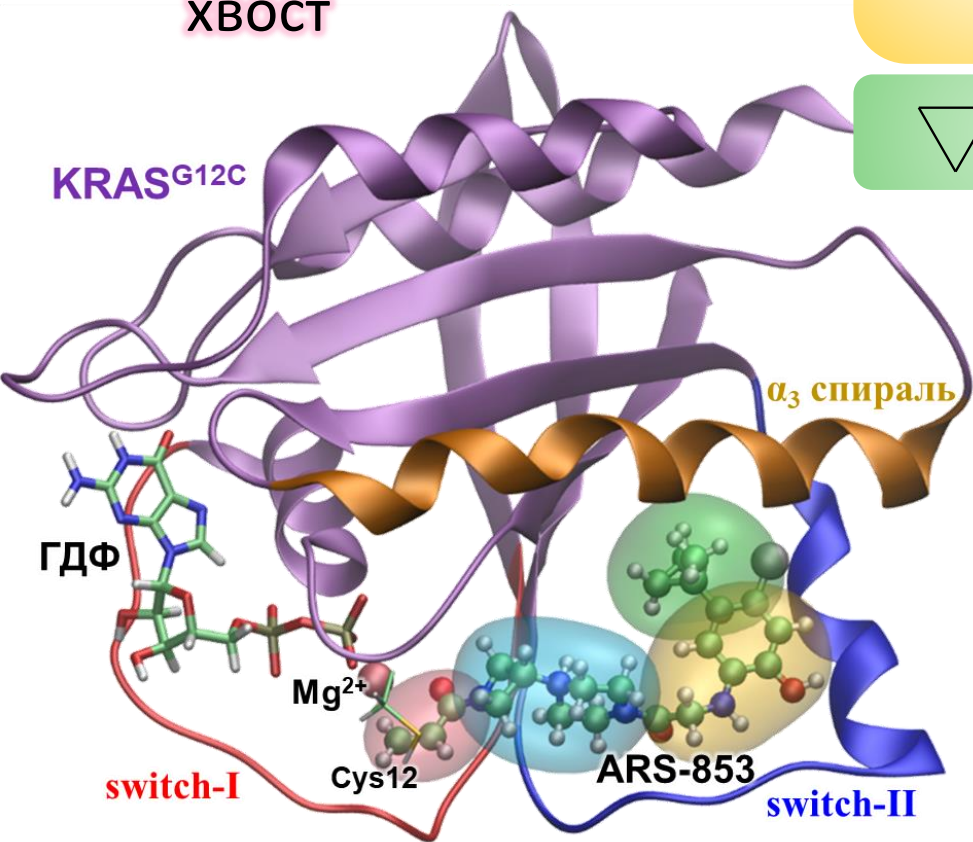
Кулакова Анна Михайловна

Ингибитор ARS-853 белка KRAS^{G12C}



Акриламидный
ХВОСТ

KRAS^{G12C}



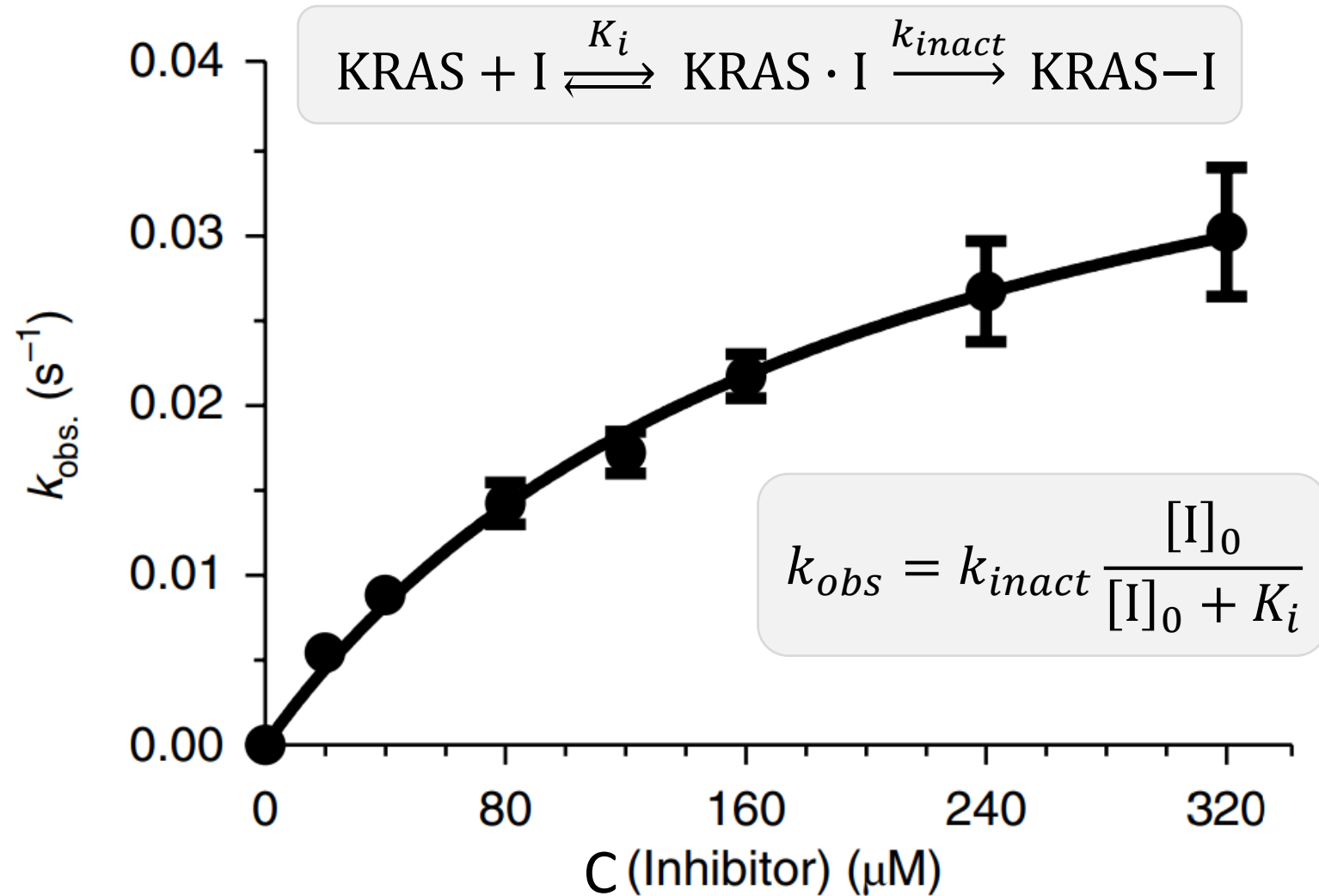
Белки семейства RAS:

- Малые ГТФазы
- Участвуют в передаче клеточного сигнала
- Мутации в белках RAS встречаются в 30% случаев рака у человека (в 86% из них в белке KRAS)

Соединение ARS-853:

- Селективно связывается с KRAS^{G12C}.ГДФ
- Не влияет на клеточные сигналы в клетках без KRAS^{G12C}

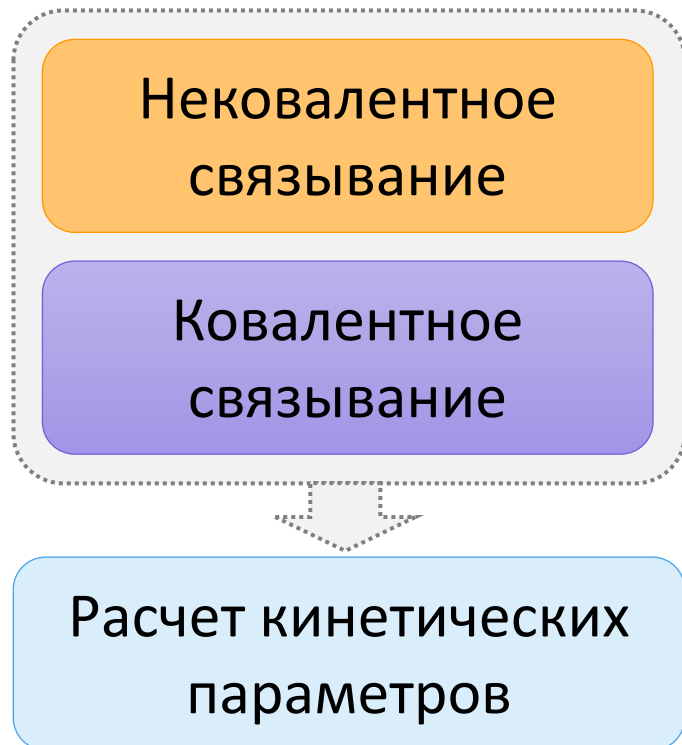
Кинетика образования ковалентного аддукта ингибитора ARS-853 и белка KRAS^{G12C}



- Плохое связывание с $K_i = 0,20 \times 10^{-3} \pm 0,09 \times 10^{-3} \text{ M}$
- Активация ингибитора после связывания обеспечивает быструю химическую реакцию с $k_{inact} = 0,050 \pm 0,023 \text{ s}^{-1}$

Цель работы

С использованием современных методов молекулярного моделирования определить механизм образования ковалентного аддукта соединения ARS-853 с остатком Cys12 в белке KRAS^{G12C} и оценить кинетические параметры этого процесса.



Метод: H-REUS/WHAM

Программный пакет: NAMD 2.11

Метод: КМ/ММ. КМ: PBE0-D3/cc-pvdz, ММ: Amber99

Программный пакет: NwChem 6.5

Метод: Численное решение систем дифф. уравнений

Программный пакет: KINET

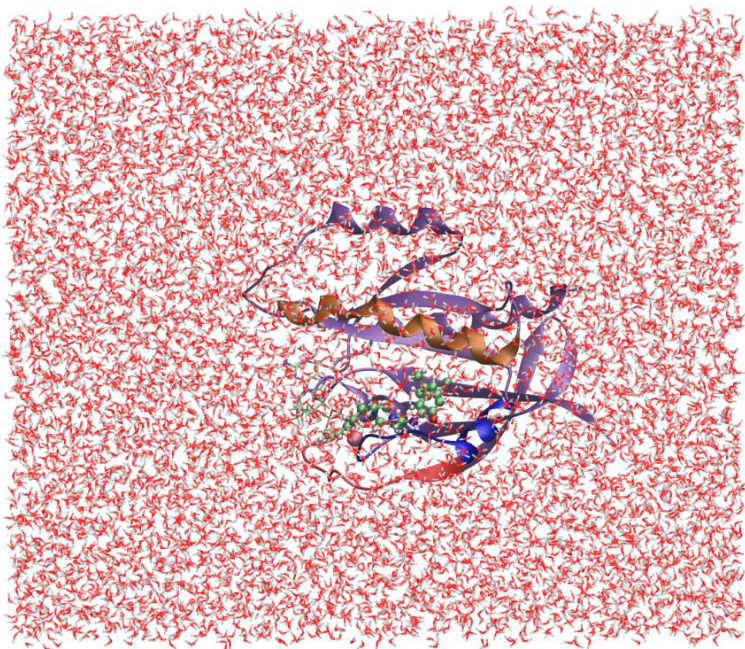
Моделирование нековалентного связывания (классическая молекулярная динамика)

Программа: NAMD

Метод: US/H-REMD - 21*15 нс = 315 нс

MM: CHARMM

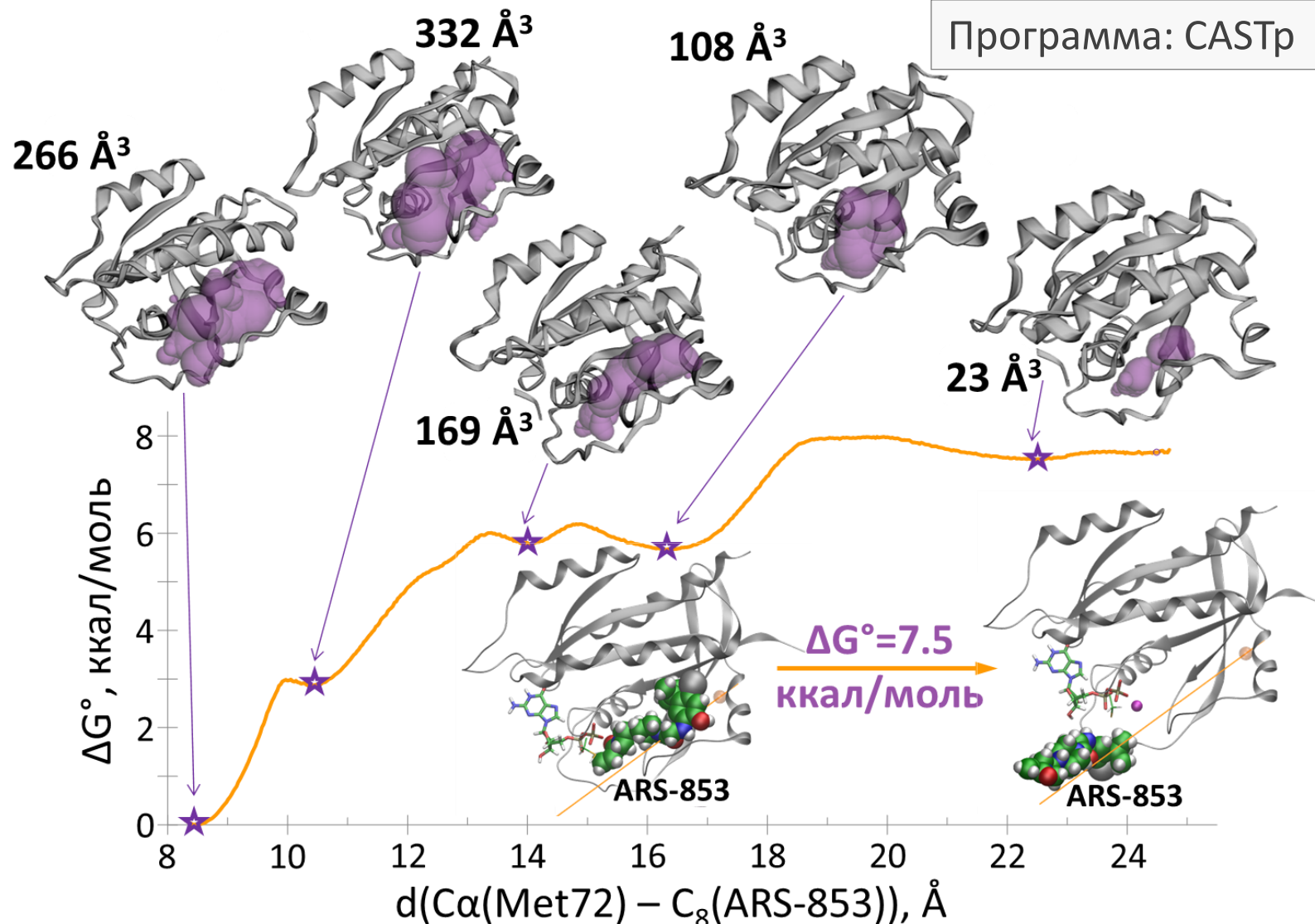
MD: NPT ($p = 1$ атм; $T = 300$ К)



Модельная система:

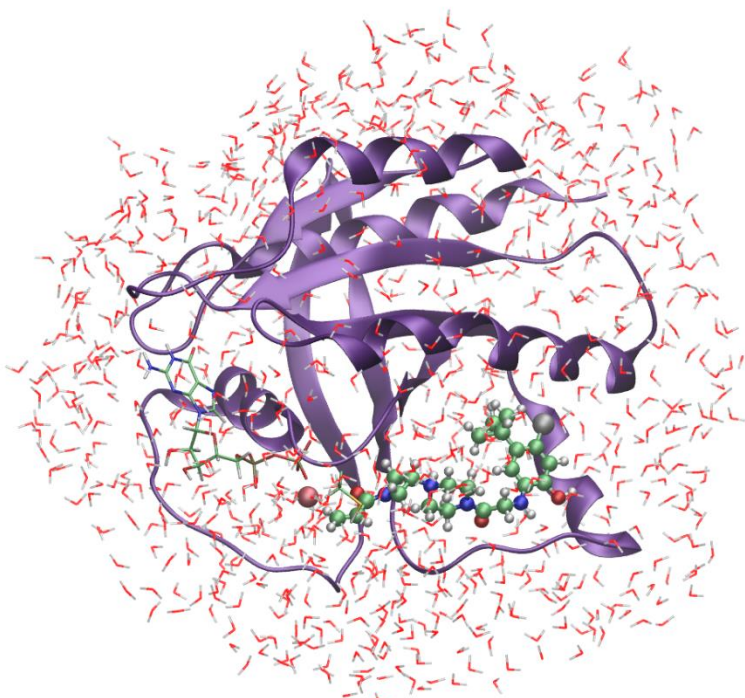
KRAS^{G12C} + 11187 H₂O

65•62•66 Å³ (36335 атомов)

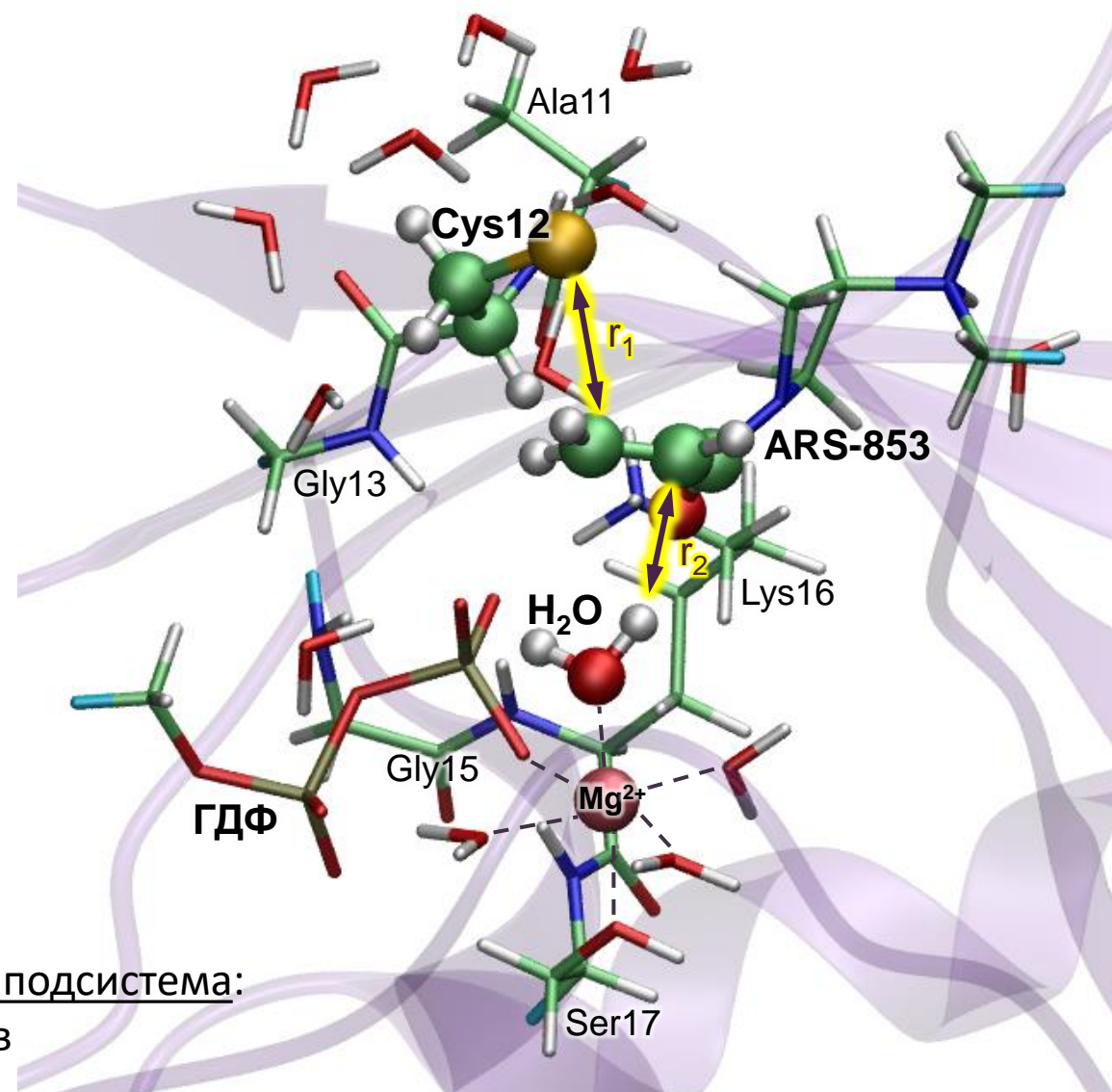


Образование ковалентного аддукта (метод квантовой механики / молекулярной механики)

Программа: NWChem
Метод: QM: PBE0-D3/сс-pVDZ
MM: AMBER

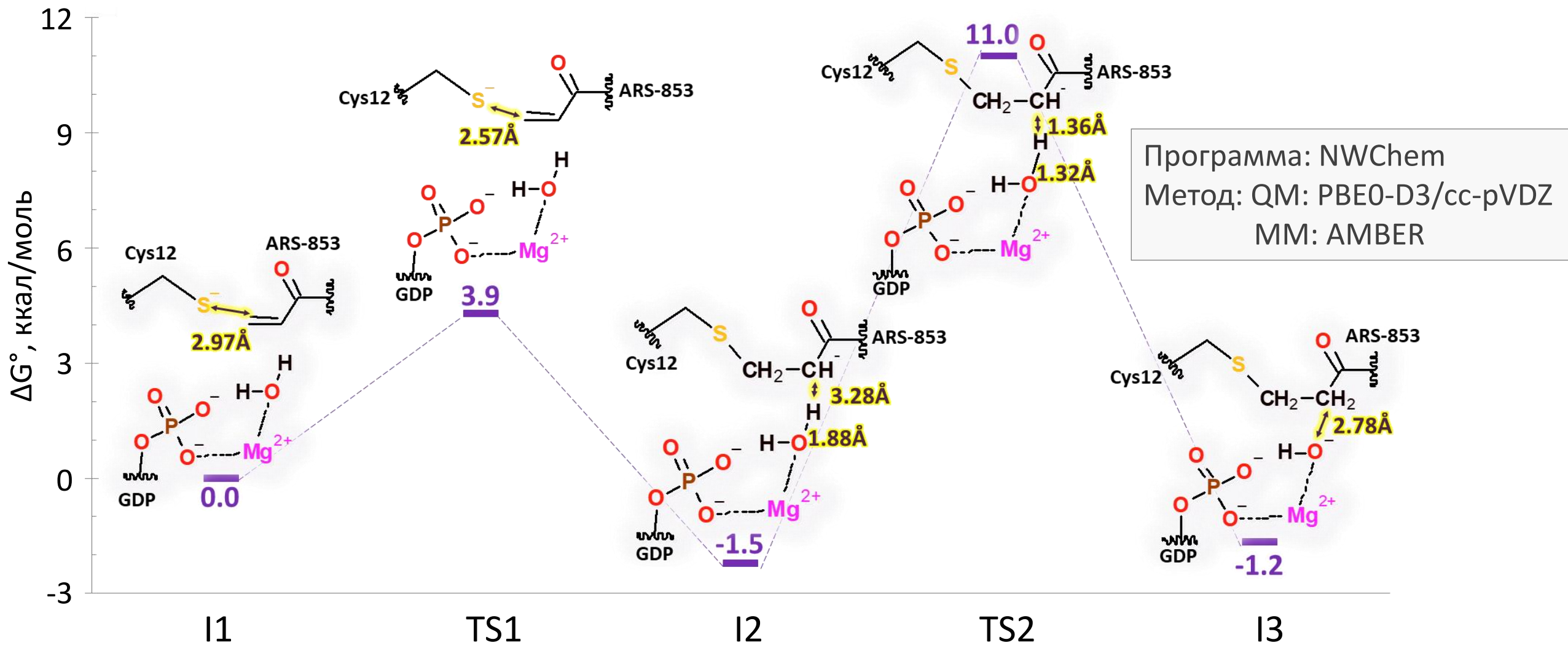


Модельная система:
KRAS^{G12C} + 916 H₂O
52•47•47 Å³ (5512 атомов)

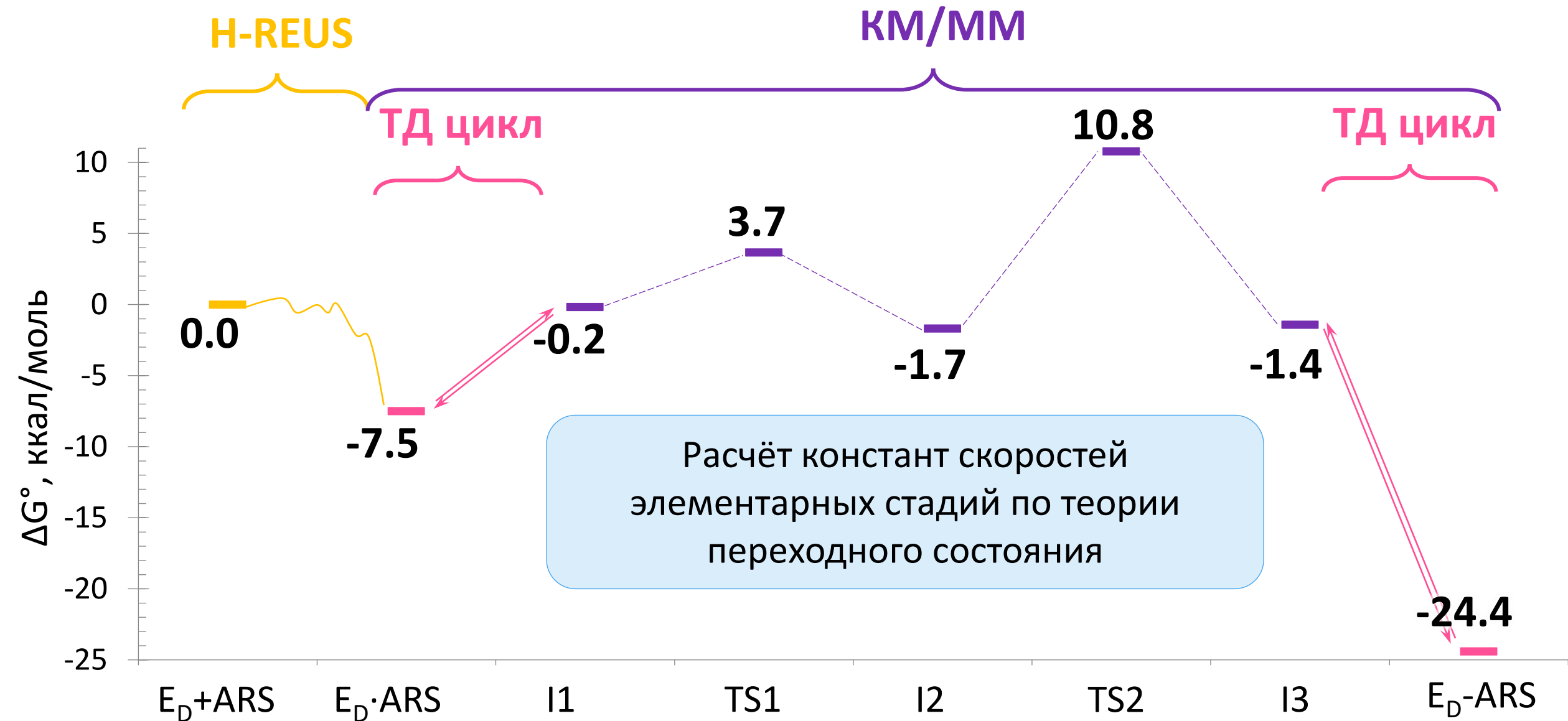


Квантовая подсистема:
147 атомов

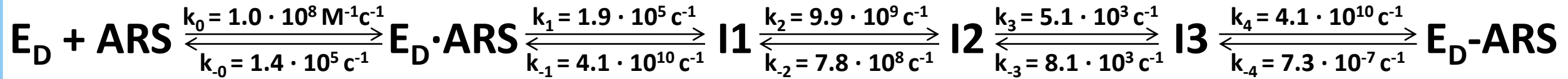
Образование ковалентного аддукта (метод квантовой механики / молекулярной механики)



Энергетический профиль



Расчет кинетических параметров



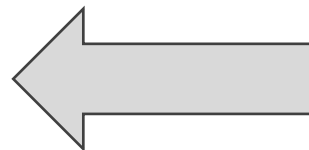
Начальные условия:

$$[E_D]_0 = 1 \text{ мкМ}$$

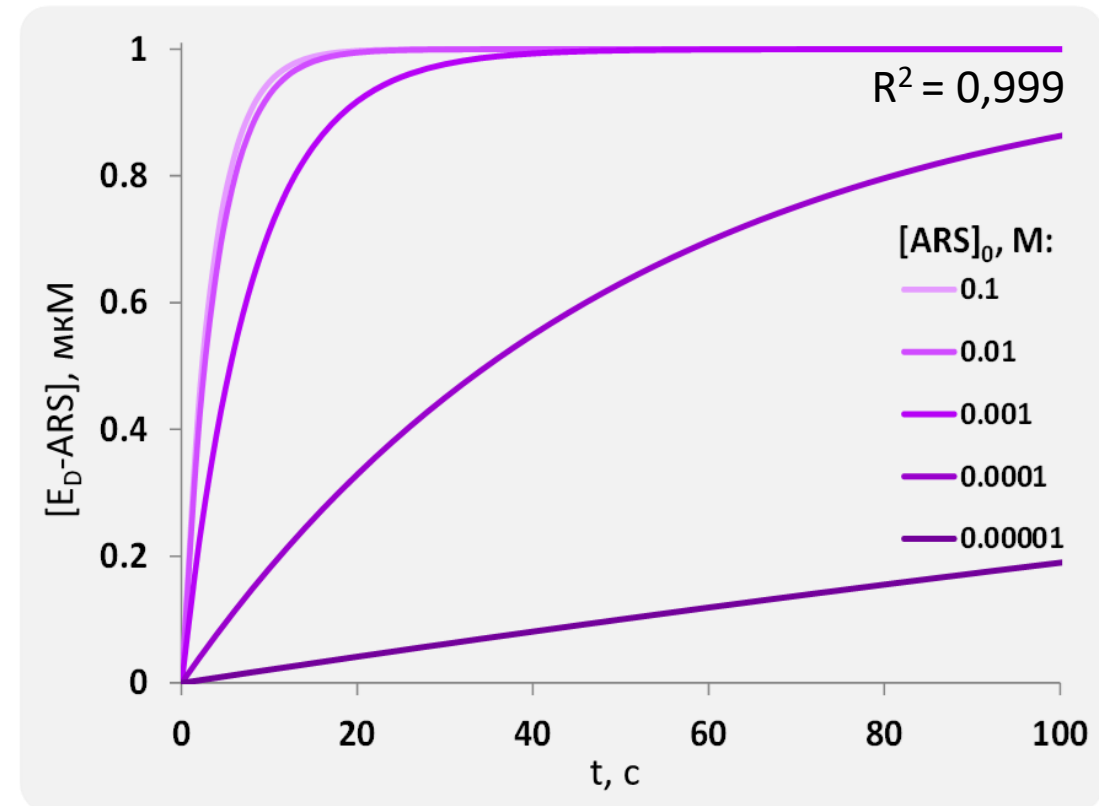
$$[ARS]_0 = 10^{-5} - 10^{-1} \text{ М}$$

$$[E_D - ARS] = [E_D]_0 \times (1 - e^{-k_{obs}t})$$

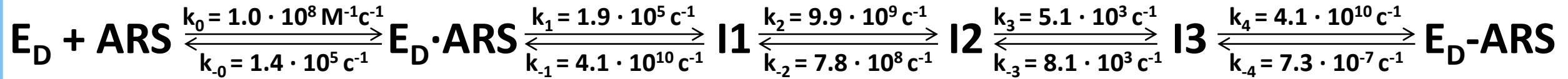
k_{obs}	$[ARS]_0$
•	•
•	•
•	•
•	•
•	•



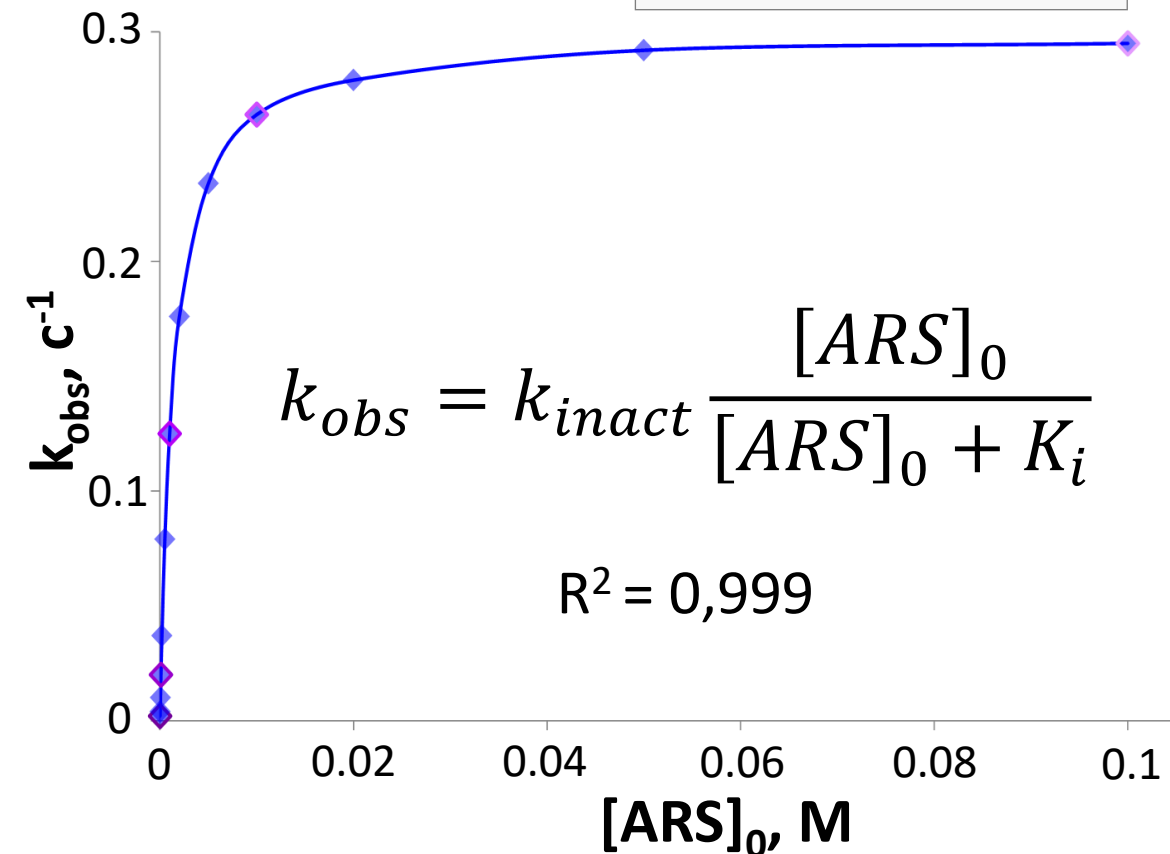
Программа: KINET



Расчет кинетических параметров



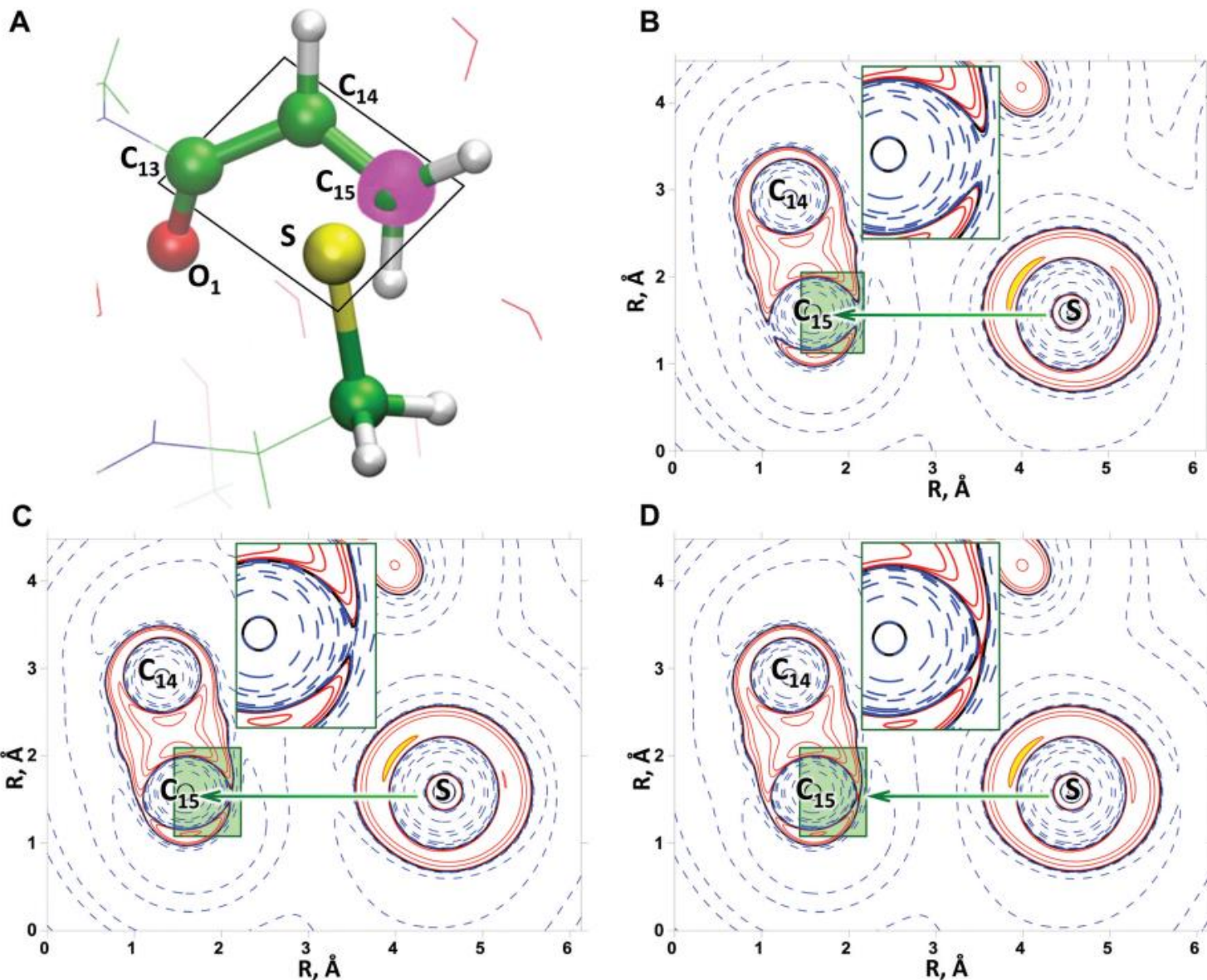
Программа: KINET



	Расчет	Эксперимент*
$k_{inact}, \text{ c}^{-1}$	0,3	$0,050 \pm 0,023$
$K_i, \text{ M}$	$1,4 \times 10^{-3}$	$0,20 \times 10^{-3} \pm 0,09 \times 10^{-3}$
$k_{inact} / K_i, \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$	213	250 ± 30

* Hansen R. et al. // Nature Struct. Mol. Bio. 2018, 25, 454.

Активация ингибитора



Карты лапласиана электронной плотности:

- A. Трехмерный (на атоме C₁₅)
- B. Двумерный (для квантовой подсистемы из 147 атомов)
- C. Двумерный (урезанная квантовая часть, содержащая помимо основных участников реакции, остатки связанные водородными связями с Cys12 или ARS-853)
- D. Двумерный (урезанная квантовая часть, содержащая только основных участников реакции Cys12 и ARS-853)

Выводы

1. Для корректного сопоставления результатов молекулярного моделирования с макроскопическими наблюдаемыми параметрами исследуемых систем построены полные кинетические схемы и проведено последующее численное решение систем кинетических уравнений.
2. Наблюдаемая зависимость эффективной константы скорости образования ковалентного аддукта соединения ARS-853 с белком KRAS^{G12C} от концентрации соединения обусловлена слабым связыванием и последующей быстрой химической стадией реакции в результате активации двойной связи белком.

A 3D molecular model of a protein structure. The protein backbone is shown as a purple ribbon, and the surface is represented by a light purple, semi-transparent mesh. A ligand molecule is bound in the protein's active site, shown as a stick model with atoms colored by element: carbon in green, nitrogen in blue, oxygen in red, and phosphorus in orange. A single orange sphere is also visible near the ligand. The text "Спасибо за внимание!" is overlaid in the center of the image.

Спасибо за внимание!