

Odkrycie małowcząsteczkowych inhibitorów interfejsu punktu kontrolnego LAG-3/FGL1

Abstrakt: Receptory hamujące na komórkach układu odpornościowego są kluczowymi regulatorami ucieczki immunologicznej w raku.

CTLA-4, LAG-3 i PD-1 to jedne z najważniejszych poznanych receptorów, które regulują homeostazę, aktywację i różnicowanie

limfocytów T. Hamowanie interakcji związanych z LAG-3 pozwala limfocytom T odzyskać zdolność cytotoksyczną i zmniejszyć funkcję

regulujących limfocyty T, co wzmacnia efekt niszczenia guzów. Pomimo sukcesu przeciwciał blokujących LAG-3 w badaniach

przedklinicznych i klinicznych dla wielu typów raka, obecnie nie istnieją małe cząsteczki, które hamowałyby interakcje zależne od LAG3.

Problem badawczy: Mimo klinicznego sukcesu terapii blokujących punkty kontrolne układu immunologicznego, wielu pacjentów z

rakiem nie reaguje na leczenie ze względu na oporność. Wykorzystanie alternatywnych punktów kontrolnych układu

immunologicznego, takich jak LAG-3, w terapiach skojarzonych może zapobiec ucieczce nowotworu przed układem odpornościowym.

LAG-3, wyrażane na różnych komórkach układu immunologicznego, oddziałuje z kompleksem MHCII oraz FGL1, hamując aktywację

limfocytów T. Trwają badania kliniczne nad terapiami opartymi na LAG-3, które wykazują obiecujące rezultaty w połączeniu z

leczeniem przeciwciałami anti-PD-1. Jednakże nie odnotowano w literaturze silnych inhibitorów małowcząsteczkowych białka LAG-3, co

ze względu na ich zalety w porównaniu z przeciwciałami monoklonalnymi (tanie w produkcji, potencjalnie podawanie doustne zamiast

dożylnego, ze względu na mały rozmiar lepiej penetrują lite guzy), ma potencjał klinicznej translacji jako skuteczne immunoterapie dla

wielu guzów litych, zwłaszcza w połączeniu z inhibitorami anti-PD-L1.

Cele projektu: Celem projektu jest zidentyfikowanie potencjalnych inhibitorów małowcząsteczkowych wiązania LAG-3/FGL-1 z

dostępnych bibliotek komercyjnych, który wykorzystany zostanie jako dane wstępne dla wniosku o grant Sonata NCN w celu dalszej

optymalizacji. Zastosowane zostaną in-silico skryning (bioinformatyka) do wychwycenia „hitów” z dostępnych bibliotek, badania

wiązania (HTRF) (biochemia) w celu potwierdzenia ich wiązania, krystalizacja (biofizyka) do określenia mechanizmu działania oraz

testy oparte na komórkach (biologia) do oceny aktywności biologicznej (Rysunek).

Koncepcja badawcza: Wykorzystując doświadczenie aplikanta w projektowaniu leków na PD-L1 (J. Med. Chem. 2020, 63, 19, 11271–

11285, ostatni autor korespondencyjny) oraz dostępne dane krystalograficzne struktury kompleksu LAG-3 z przeciwciałem anti-LAG3, zostaną wygenerowane farmakofory (opisy cech molekularnych) umożliwiające przesiew milionów potencjalnych „scaffoldów” chemicznych z baz związków takich jak ZINC. Wybrane związki i ich bliskie pochodne zostaną pozyskane od dostawców komercyjnych

(ich synteza byłaby zbyt droga i czasochłonna). Ich potencjał w blokowaniu kompleksu LAG-3/FGL-1 zostanie przetestowany za

pomocą dostępnego komercyjnie zestawu opartego na metodzie HTRF (aplikant stosuje tę metodę regularnie w projektach PD-L1 z

wykorzystaniem Tecan Spark), a najsukuteczniejsze związki zostaną wykrystalizowane z białkiem LAG-3. Białko LAG-3 zostanie

wyprodukowane w systemach owadzych wg protokołu (Nat Immunol. 2022, 23: 1031-1041) wykorzystując platformę ekspresji Bac-toBac™ Baculovirus Expression System, którą aplikant zaadaptował do projektu Opus 22, w którym jest obecnie zatrudniony.

Krystalizacja oraz czas synchrotronowy jest dostępny przez Laboratorium Biologii Strukturalnej, UJ, jako usługa wewnętrzna. Aplikant

ma doświadczenie w krystalizowaniu i rozwiązywaniu struktur białko/ligand. Testy komórkowe zostaną wykonane we współpracy z dr.

Łukaszem Skalniakiem, kierownikiem laboratorium aplikanta, który ma doświadczenie w testach opartych na komórkach, w tym na

zestawie Promega do PD-1/PD-L1.