Synteza małocząsteczkowych sond chemicznych oraz charakterystyka strukturalna ich oddziaływania na szlak sygnałowy receptora programowanej śmierci (PD-1) i jego liganda (PD-L1)

Celem proponowanych przez mnie badań jest odnalezienie małocząsteczkowych sond chemicznych dla ludzkiego białka PD-L1**.** Oddziaływania pomiędzy białkami (z ang. *protein-protein interactions*) wpływają na kontrolowanie niemal wszystkich funkcji komórek w żywych organizamch, dlatego też niezwykle ważne jest poznanie ich mechanizmów. Obiektem moich zainteresowań jest transbłonowe białko PD-L1, którego nadekspresja jest obserwowana w komórkach układu odpornościowego oraz w przypadku przebiegu chorób nowotworowych. Białko PD-L1 poprzez oddziaływanie ze swoim ligandem; receptorem programowanej śmierci PD-1 wpływa na hamowanie: proliferacji limfocytów T, wydzielania cytokin oraz funkcji cytotoksycznych limfocytów. Szlak sygnałowy PD-1/ PD-L1 jest często wykorzystywany przez wirusy oraz komórki nowotworowe, w celu osłabienia naturalnej odpowiedzi immunologicznej organizmu. Badania wykazały zablokowanie oddziaływania tych białek może przywrócić funkcje cytotoksyczne limfocytom T, powodując tym samym normalizację odpowiedzi immunologicznej organizmu. Szlak sygnałowy PD-1/PD-L1 może zostać zahamowany zarówno przez zablokowanie białka PD-L1 lub jego liganda, jednak doniesienia literaturowe opisują głównie zastosowanie w tym celu przeciwciał monoklonalnych. Dlatego też, odnalezienie sond chemicznych wiążacych się z białkiem PD-L1, pozwoliłoby nie tylko na zrozumienie mechanizmu oddziaływań małych cząsteczkek z białkiem, lecz także lepsze poznanie sposobu oddziaływań białek PD-1 oraz PD-L1.

Pierwszym z celów proponowanych badań, jest synteza biblioteki potencjalnych sond chemicznych dla białka PD-L1, która została zaprojektowana w oparciu o rezultaty badań przesiewowych z zastosowaniem spektroskopii NMR oraz zaproponowany przez naszą grupę model miejsca wiązania się cząsteczek do białka PD-L1. W celu syntezy zaprojektowanych połączeń organicznych planuję wykorzystać metody klasycznej syntezy liniowej oraz chemię reakcji wieloskładnikowych W ramach projektu planuję także zbadanie aktywności otrzymanych związków względem białka PD-L1 oraz ich zdolności do zdysocjowania kompleksu białak PD1/PD-L1. Aktywnośc otrzymanych związków zostanie zbadana poprzez pomiar widm SOFAST-HMQC dla znakowanego izotopowo białka PD-L1. Zmiany w przesunięciach chemicznych w widmie NMR białka po dodaniu związku pozwalają na monitorowanie oddziaływania. Otrzymane sondy zostaną także przetestowane pod katem zdolności dysocjacji kompleksu białek PD-1/PD-L1 z zastosowaniem metody AIDA-NMR (z ang. *Antagonist Induced Dissociation Assay-NMR*).W dalszej części prowadzonych badań planuje krystalizację aktywnych związków w kompleksie z białkiem PD-L1 w celu charakteryzacji mechanizmu ich oddziaływań.

Badania dotyczące projektowania sond chemicznych dla białka PD-L1, są we wczesnym stadium ze względu na brak informacji o podstawach strukturalnych oddziaływania tych białek i małych cząsteczek organicznych. Dlatego też, znalezienie małocząsteczkowych sond chemicznych wiążacych się selektywnie z białkiem PD-L1 otwarłoby nowe możliwości badania szlaku sygnałowego PD-1/PD-L1 w szerszym kontekście biologicznym (komórki i organizmy). Rezultaty proponowanych przeze mnie badań pozwolą na lepsze poznanie mechanizmów oddziaływań białek PD oraz oddziaływań małych cząsteczek z białkiem PD-L1.