

Strukturalna charakterystyka ADPGK i GPD2 - enzymów zaangażowanych w zmodyfikowany metabolizm glukozy intensywnie proliferujących komórek

Dr Przemysław Grudnik

Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Na początku XX wieku, niemiecki fizjolog Otto Warburg odkrył, że komórki nowotworowe, a także inne szybko mnożące się komórki wytwarzają energię głównie w procesie fermentacji nawet w warunkach dostępności tlenu, choć zazwyczaj fermentacja występuje przede wszystkim w warunkach beztlenowych. Paradoks ten został nazwany o nazwiska odkrywcy *efektem Warburga*. Ostatnio opublikowane badania wykazały powiązanie aktywacji limfocytów T - komórek układu odpornościowego - oraz występowanie efektu Warburga z produkcją reaktywnych form tlenu (ROS) przez mitochondria. ROS aktywacje czynników transkrypcyjnych wpływają na produkcję białek niezbędnych do procesów mnożenia, różnicowania i przeżywalności komórek. Dokładny szlak molekularny prowadzący od aktywacji limfocytów do zwiększonego poziomu ROS jest wciąż niejasny jednakże zidentyfikowano dwa kluczowe dla tego procesu białka: **ADP-zależną glukokinazę (ADPGK)** oraz mitochondrialną **dehydrogenazę glicerolo-3-fosforanową (GPD2)**.

Głównym celem naukowym proponowanego projektu jest **strukturalna charakterystyka ludzkich enzymów ADPGK i GPD2** w kompleksach z inhibitorami oraz opracowanie nowych wysoce specyficznych inhibitorów tych białek.

METODOLOGIA: Ludzkie białka ADPGK i GPD2 zostaną otrzymane dzięki użyciu inżynierii genetycznej i bakteryjnych systemów produkcji białek. Do identyfikacji potencjalnych inhibitorów wykorzystamy metody biochemiczne i badania przesiewowe związków chemicznych będących analogami typowych substratów tych białek. Najsilniejsze inhibitory zostaną użyte do prób krystalizacyjnych. Planujemy otrzymać kryształy białek ze związanymi inhibitorami, co przyczyni się do poznania **struktury atomowej** badanych enzymów dzięki wykorzystaniu metod krystalografii rentgenowskiej.

ZNACZENIE PROJEKTU: Jednym z najbardziej intrygujących zagadnień dotyczących badań nad ludzkimi ADPGK i GPD2 jest ich rola w procesie nadmiernego mnożenia się komórek. Ponieważ podwyższony poziom ekspresji ADPGK opisano dla komórek nowotworów krwi farmakologiczna blokada aktywności ADPGK może mieć decydujący wpływ na chłoniaka i białaczkę. Ponadto aktywność ADPGK i do pewnego stopnia GPD2 jest niezbędna dla aktywacji limfocytów co sprawia, że białka te mogą być potencjalnym celem związków modulujących odporność. Takie *modulatory* aktywności mogłyby znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób, w których pośredniczą komórki T (np. AIDS, stwardnienie rozsiane, reumatoidalne zapalenie stawów, cukrzyca).

Zwiększona aktywność ADPGK i GPD2 prowadzi do wytwarzania ROS i w konsekwencji stymuluje produkcję białek biorących udział w procesie zapalenia. Podniesiona produkcja mitochondrialnych ROS jest często obserwowana wśród różnych typów nowotworów złośliwych, w chorobach autoimmunologicznych oraz w chorobach układu sercowo-naczyniowego. W związku z tym, strategie inhibicji produkcji ROS mogą mieć szczególne znaczenie kliniczne i przyczynić się do opracowania nowych metod terapeutycznych. Zaplanowane badania wykorzystujące analogi substratów i inhibitory, w połączeniu z badaniami na płaszczyźnie biologii komórki przyczynią się do identyfikacji i rozwoju takich specyficznych modulatorów immunologicznych. Opracowane przez nas inhibitory ADPGK i GPD2 będą przede wszystkim wykorzystywane w badaniach szlaków metabolicznych pozwalając na specyficzne blokowanie poszczególnych etapów glikolizy. Podsumowując, wyniki przedstawionego projektu pozwolą na wyjaśnienie mechanizmów leżących u podstaw kluczowych procesów biorących udział w odpowiedzi immunologicznej, nowotworzeniu i zapaleniu.