

Opracowanie nowych małowcząsteczkowych regulatorów (inhibitorów, aktywatorów) aktywności katalitycznej kinaz adenylanowych. Molekularne podstawy mechanizmów działania tych regulatorów.

Kinazy adenylanowe (AK) są fosfotransferazami, które przeprowadzają odwracalną reakcję przeniesienia wysokoenergetycznych grup fosforanowych między nukleotydami. Enzymy te uczestniczą w kontroli wielu procesów m.in. różnicowania i nowotworzenia komórek, reakcji zapalnych czy też adaptacji do warunków stresowych. W efekcie kinazy adenylanowe mają istotne znaczenie w rozwoju niektórych stanów patologicznych i chorób. Z tego powodu zasadne jest poszukiwanie nowych związków regulujących ich aktywność, tym bardziej, że dotychczas zidentyfikowano tylko jeden skuteczny regulator (inhibitor) AK. Celem projektu jest zbadanie właściwości i mechanizmów regulujących aktywność AK przez następujące grupy związków: statyny, analogi substratów oraz nowe modulatory zsyntetyzowane w oparciu o budowę statyn i analogów. Analizując dane literaturowe oraz nasze badania zauważyliśmy, że w zależności od klasyfikacji filogenetycznej, lokalizacji tkankowej oraz budowy AK, związki o budowie podobnej do substratów (analogi substratów) z różną wydajnością hamują lub aktywują te enzymy. Wiadomo również, że jednym z istotnych etapów reakcji katalizowanej przez AK jest zmiana położenia jednej z domen AK, tzw. domeny LID. Dlatego **główną hipotezą** stawianą w projekcie jest stwierdzenie, że mechanizm i efekt regulacji aktywności kinaz adenylanowych zależy od budowy AK, a w szczególności od długości domeny LID. W związku z tym, do badań wybrane zostały dwie kinazy adenylanowe różniące się długością domeny LID. Kinaza adenylanowa uczestniczy w kontroli wchłaniania cholesterolu HDL przez komórki wątroby. W kardiologii, lekami stosowanymi do obniżania poziomu cholesterolu we krwi są statyny, które posiadają wspólny łańcuch β -hydroksykwasy, mogący naśladować oddziaływanie wiążące grup fosforanowych substratów AK. Nasze wstępne badania wykazały, że rozuwastatyna wydajnie hamuje aktywność kinazy z krótką domeną LID, natomiast nie wpływa znacząco na aktywność kinazy typu długiego. Dlatego **dotatkowa hipoteza** projektu zakłada, że statyny są inhibitorami kinaz adenylanowych o mechanizmie działania innym niż analogi substratów, a sam efekt hamowania (inhibicji) również zależy od budowy domeny LID.

W celu weryfikacji obu hipotez zostanie określony wpływ innych wybranych statyn, analogów substratów i nowych regulatorów na aktywność katalityczną badanych kinaz. Następnie przeprowadzimy współkryształizację i badania strukturalne najbardziej skutecznych modulatorów z enzymami, by zbadać mechanizmy tej regulacji. Uzyskane wyniki stworzą podstawę do dalszej racjonalnej modyfikacji architektury regulatorów, które zostaną zsyntezowane i scharakteryzowane w ramach projektu. Charakterystyka nowych modulatorów AK będzie również polegać na określeniu ich potencjalnych właściwości cytotoksycznych względem ludzkich komórek oraz ich stabilności w osoczu krwi. Określimy również wpływ najbardziej efektywnych statyn i nowych regulatorów na aktywność zewnątrzkomórkowej AK i jej udział w regulacji endocytozy cholesterolu HDL.

Oczekujemy, że wyniki naszych badań pozwolą wytłumaczyć różnice w efekcie regulacji AK przez ten sam regulator w zależności od różnej budowy (długości) domeny LID. Umożliwi to w przyszłości projektowanie modulatorów dedykowanych tylko dla kinaz danego typu (formy długiej lub krótkiej). Otrzymanie nowej grupy efektywnych inhibitorów i aktywatorów kinaz adenylanowych może odegrać istotną rolę w rozwoju terapii chorób cywilizacyjnych, takich jak miażdżyca i zawał serca. Poznanie sposobu regulacji AK przez nowe różnorodne związki pozwoli również stworzyć bazę ligandów, która umożliwi zbudowanie modelu farmakoforu, który to określa przestrzenne rozmieszczenie atomów oraz grup funkcyjnych niezbędnych do związania się regulatora z enzymem. Nasze badania wskażą także istnienie dodatkowych mechanizmów wielokierunkowego działania statyn (hamowanie AK) oraz konieczność dalszych badań nad znaczeniem tych związków w regulacji innych funkcji AK.