

## POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

### Modelowanie reakcji fosforylacji katalizowanej ludzką kinazą tymidynową 1. Konieczny element racjonalnego projektowania radiouczulających analogów tymidyny.

Radioterapia, choć często nieodzowna, wykorzystywana w terapii nowotworów od dziesięcioleci, jest przyczyną wielu efektów ubocznych, będących wynikiem działania promieniowania jonizującego na otaczające napromieniany region zdrowe tkanki. Sytuacja przedstawia się jeszcze gorzej w przypadku występowania charakterystycznej dla nowotworów litych hipoksji. Niedotlenienie komórki powoduje, że jest ona nawet trzykrotnie bardziej oporna na działanie promieniowania, a w konsekwencji wymaga większych dawek do osiągnięcia efektu terapeutycznego. Jedną z metod wykorzystywanych do modyfikowania tego zjawiska jest użycie radiosensybilizatorów w ramach kombinowanej chemioradioterapii, między innymi 5-podstawionych pochodnych uracylu (5-XU), które mają zdolność zarówno do selektywnego uwrażliwiania komórek nowotworowych na promieniowanie jonizujące, jak i działania w warunkach hipoksji.

Należące do tej grupy 5-jodo i 5-bromo-2'-deoksyurydyna (5-IU, 5-BrU) były badane już od dawna w kontekście radiosensybilizacji, również w ramach testów klinicznych. 5-XU działają po wbudowaniu w nić DNA i przyłączeniu powstałego w trakcie radiolizy wody solwatowanego elektronu. Prowadzi to do dysocjacji pochodnej, a powstający reaktywny rodnik zlokalizowany na zasadzie azotowej, jest zdolny do indukowania uszkodzeń w znakowanym DNA. Znajomość tego mechanizmu pozwoliła nam zaproponować przy użyciu metod komputerowych, szereg nowych, obiecujących radiosensybilizatorów ulegających efektywnie dysocjacyjnemu przyłączeniu elektronu (DEA, ang. Dissociative Electron Attachment).

Korzystna charakterystyka DEA jest jednak jedynie warunkiem koniecznym, umożliwiającym działanie sensybilizatorów typu 5-XU. Jak wspomniano powyżej, aby działać 5-XU musi wbudować się do nici DNA. Innymi słowy, może zdarzyć się tak, że choć nowo proponowany związek ma pożądany profil DEA, nie ulegnie włączeniu do DNA nowotworu, pozostając bezużytecznym z punktu widzenia radiosensybilizacji. Pierwszym etapem na drodze do efektywnego radiouczulania *in vivo* jest fosforylacja 5-XU. Fosforany dodawane są najpierw przez ludzką kinazę tymidynową 1 (hTK1), a następnie kinazę tymidylanową i kinazę difosforanową nukleozydów. Dopiero w postaci trifosforanu pochodna 5-XU może zostać wbudowana w DNA przez odpowiednie polimerazy. Efektywny radiosensybilizator musi być więc dobrym substratem dla kinaz i polimeraz. Ze względu na wyjątkową specyficzność substratową hTK1 z dużą dozą pewności można założyć, że jeśli 5-XU będzie przez nią fosforylowany, to będzie też dobrym substratem dla pozostałych enzymów – pierwszy etap jest powszechnie uważany za wąskie gardło całego procesu i dlatego to on będzie tematem niniejszego projektu.

Naszym celem jest konstrukcja wiarygodnego pełnoatomowego modelu hTK1, który zostanie użyty do sprawdzenia czy proponowane 5-XU są jego dobrymi substratami, wyznaczenia barier kinetycznych i bodźców termodynamicznych związanych z fosforylacją oraz ostatecznie zdecydowania czy synteza nowych związków i ich badania eksperymentalne są warte wysiłku. Projekt będzie składał się z trzech głównych części, które zostaną wykonane przy użyciu metod obliczeniowych. Pierwsza część to budowa wstępnego modelu z dostępnych danych eksperymentalnych oraz poddanie go symulacji dynamiki molekularnej dla osiągnięcia odpowiedniej konformacji. Następnie ustalony zostanie mechanizm działania enzymu z wykorzystaniem hybrydowych metod łączących mechanikę kwantową i mechanikę molekularną, by w ostatniej części projektu sprawdzić czy wybrane 5-XU, obiecujące pod względem ich profilu DEA, mogą być fosforylowane przez hTK1.

To podejście pozwoli nam nie tylko na lepsze zrozumienie ważnej biologicznie reakcji, której szczegóły mechanistyczne są dotąd nieznanne, ale także na zbadanie szeregu potencjalnych radiosensybilizatorów pod względem ich zdolności do fosforylacji przez hTK1. Dodatkowo umożliwi to ograniczenie czasochłonnych i kosztowych syntez i badań komórkowych tylko do tych pochodnych nukleozydów, które okażą się dobrymi substratami hTK1.