

Obecnie nowotwory piersi, a zwłaszcza potrójnie negatywny rak piersi, stanowią bardzo poważne wyzwanie w obszarze zdrowia publicznego. Co więcej proces powrotu do zdrowia po chorobie nowotworowej jest zależny od kilku czynników, w tym wczesnej diagnozy, dokładnej klasyfikacji nowotworu oraz wyboru spersonalizowanego leczenia. Aby lepiej radzić sobie z nowotworami, potrzebujemy bardziej szczegółowej analizy jego biomarkerów, tak aby dokładniej zrozumieć ich rolę w tej chorobie. Większość takich biomarkerów zostało odkrytych poprzez analizę genomu, proteomu i metabolomu komórek nowotworowych, ale ten obraz nie jest kompletny. Uważamy, że brakującym elementem tego systemu jest AKTYWOM, czyli zestaw katalitycznie aktywnych białek. I właśnie wokół tych białek, a w szczególności wokół enzymów proteolitycznych (proteaz) skupia się nasz projekt naukowy. Nadrzędnym celem tego multidyscyplinarnego projektu jest stworzenie nowocześniejszej strategii analizy pojedynczych komórek nowotworowych w kontekście aktywności poszczególnych proteaz przy użyciu cytometrii masowej oraz wykorzystanie tej wiedzy do otrzymania nowych proleków przeciwnowotworowych w postaci koniugatów przeciwciało-lek (*ang. ADC, antibody-drug conjugates*). W związku z tym nasz projekt opiera się na trzech filarach.

Pierwszy filar to analiza komórek nowotworowych za pomocą cytometrii masowej. Cytometria masowa jest rewolucyjną technologią, która wykorzystuje atomową spektrometrię masową połączoną z cytometrią przepływową. Doskonałość tej metody polega na tym, że każdy izotop metalu ma swój własny pik na spektrum masowym, co eliminuje problem nakładania się sygnałów, a tym samym pozwala na jednoczesne monitorowanie ponad 50 parametrów na poziomie pojedynczych komórek. Większość narzędzi wykorzystywanych w cytometrii masowej to przeciwciała połączone z polimerami zawierającymi metale. Jednak my do tego projektu opracujemy i zastosujemy markery chemiczne znakowane metalami (*ang. TOF-probes, Time-Of-Flight*), które są kompatybilne z cytometrią masową, i które zostały niedawno wynalezione przez naszą grupę badawczą. W odróżnieniu od przeciwciał, nasze markery TOF pozwolą na detekcję tylko aktywnych enzymów, a więc takich, które można wykorzystać jako swoiste nożyce molekularne do aktywacji proleków. Co więcej, zastosowanie markerów TOF w połączeniu z przeciwciałami znakowanymi metalowymi pozwoli na stworzenie bardzo szczegółowego obrazu proteolitycznego komórek nowotworowych.

Uzyskany „odcisk palca komórek nowotworowych” będzie wykorzystany w drugim filarze do opracowania koniugatów przeciwciało-lek, które będą selektywnie aktywowane przez wybrane proteazy. Taki system umożliwi precyzyjne dostarczenie i aktywację leku w komórkach nowotworowych. Koniugaty przeciwciało-lek są obecnie jednym z najszybciej rozwijających się segmentów onkologii, jednak zdecydowana większość koniugatów, które dotarły do badań klinicznych, wykazywały znaczną toksyczność, przez co nie zostały dopuszczone do obrotu. W tym projekcie staramy się opracować nową generację bardzo selektywnych koniugatów przeciwciało-lek, które będą aktywowane wyłącznie przez proteazy związane z rakiem, dlatego też ich ogólnoustrojowa toksyczność zostanie znacznie ograniczona. Selektywność nowej generacji koniugatów przeciwciało-lek zostanie osiągnięta poprzez wykorzystanie bardzo selektywnych łączników peptydowych, które połączą przeciwciało z lekiem. Planujemy ocenić skuteczność terapeutyczną tych proleków w ramach panelu doświadczeń począwszy od badań *in vitro* na ludzkich i mysich liniach komórek nowotworowych do badań *in vivo* na żywych myszach.

Trzecim filarem w naszym projekcie będzie wykorzystanie markerów TOF w analizie MRI (*ang. Magnetic Resonance Imaging*) w celu dokładnej wizualizacji zmian nowotworowych w modelu mysim. Z uwagi na to, że nasze markery TOF zawierają metale (głównie stabilne izotopy metali przejściowych, jak np. gadolin), postanowiliśmy je wykorzystać nie tylko do cytometrii, ale także do wizualizacji nowotworów, co pozwoli nam monitorować efektywność terapeutyczną naszych koniugatów przeciwciało-lek.

Aby osiągnąć cele naszego projektu, niezbędne są szczegółowe badania w kilku dyscyplinach: chemii, biochemii, biologii chemicznej, biologii nowotworów, cytometrii masowej i rezonansie magnetycznym. Dlatego nasze doświadczenie badawcze, wiedza naukowa i infrastruktura stawiają nasze grupy badawcze w wyjątkowej pozycji do realizacji tego wysoce innowacyjnego projektu badawczego. Wreszcie, nasza nowa koncepcja dotycząca badania aktywomu nowotworów, która wykracza poza obecnie stosowane metody, tworzy nowy obszar badawczy, który może okazać się bardzo pomocny przy opracowywaniu nowych terapii przeciwnowotworowych.