

Enzymy są naturalnymi białkowymi katalizatorami, które przyspieszają przekształcanie substratów w produkty. W zależności od typu katalizowanej reakcji chemicznej, enzymy dzielą się na kilka grup, wśród których wyróżniamy np. **proteazy** – odpowiedzialne na hydrolizę (rozszczepianie) wiązania peptydowego w substratach peptydowych czy białkowych lub **kinazy** – odpowiedzialne za przenoszenie grupy fosforanowej z jednej cząsteczki na drugą, którą bardzo często jest białko. Tak zróżnicowana aktywność katalityczna enzymów sprawia, że uczestniczą one we wszystkich procesach zachodzących w żywych organizmach. Aby organizm mógł prawidłowo funkcjonować od poziomu pojedynczej komórki do współdziałania poszczególnych narządów, wszystkie enzymy muszą poprawnie działać. Niestety, czasami na skutek ich podwyższonej lub obniżonej aktywności dochodzi do rozwoju chorób, np. nowotworów, cukrzycy, chorób o podłożu autoimmunologicznym czy chorób neurodegeneracyjnych. Aby lepiej zrozumieć patogenezę choroby oraz jej przebieg należy poznać działanie enzymów, które są za tę chorobę współodpowiedzialne. Sprawę komplikuje fakt, że aktywność enzymatyczna tych enzymów jest regulowana na kilku poziomach, zaczynając od ilości ich genów i transkrypty (DNA i RNA), poprzez proteom (ilość/stężenie białka obecnego w komórce) aż po tzw. modyfikacje potranslacyjne (np. inhibicja, degradacja, etc). W związku z tym, aby poznać funkcję białka nie można badać tylko jego poziomu mRNA czy jego stężenia, ale należy również, a może przede wszystkim, poznać jego **aktywność**. Metody badania aktywności poszczególnych enzymów znane są od lat (np. fluorescencyjne sondy aktywności), jednak problemem jest badanie aktywności wielu enzymów jednocześnie, w dodatku na poziomie pojedynczych komórek. W naszym projekcie planujemy stworzyć nowe narzędzia chemiczne, opierające się na sondach aktywności, które w swojej strukturze będą miały wbudowany **stabilny izotop metali przejściowych** (z grupy lantanowców). Tak skonstruowane związki chemiczne, będą następnie wykorzystane w **cytometrii masowej**, nowoczesnej technice analitycznej, która umożliwia równoczesne badanie ponad 50 biomarkerów (np. białek/enzymów) w pojedynczych komórkach. Obecnie cytometria masowa jest wykorzystywana na całym świecie w immunologii czy onkologii do badania stężenia/ilości białek w różnych próbkach biologicznych. My planujemy iść krok dalej i wykorzystać tę technologię **do badania aktywności** poszczególnych enzymów na poziomie pojedynczych komórek.

Jako model kliniczny w naszym projekcie wykorzystamy próbki (komórki szpiku kostnego) pochodzące od pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną (acute lymphoblastic leukemia, ALL). ALL to najczęstszy typ białaczki u dzieci, ponieważ aż 75% najmłodszych z rozpoznaniem ma tę postać choroby. Co więcej ALL to najczęstszy nowotwór wieku dziecięcego. Ostra białaczka limfoblastyczna to nowotwór szpiku kostnego czyli układu, który zajmuje się produkcją i dojrzewaniem komórek krwi od licznych erytrocytów i płytek krwi, aż po bardzo wyspecjalizowane limfocyty i granulocyty. W ALL zdrowe komórki krwiotwórcze wypierane są przez zmutowane komórki nowotworowe, co w konsekwencji prowadzi do upośledzenia funkcji szpiku kostnego. Dokładne rozpoznanie tej choroby polega na pobraniu szpiku kostnego i zbadaniu jego profilu immunologicznego (obecność określonych białek na powierzchni komórek) oraz cytogenetycznego (obecność określonych chromosomów i ich mutacji). Obecnie znanych jest kilka typów i kilkanaście podtypów molekularnych ALL. Mimo że wyleczalność dzieci z ostrej białaczki limfoblastycznej wynosi ponad 90%, to jednak prawie co dziesiąty mały pacjent nie odpowiada na leczenie. **W naszym projekcie chcemy sprawdzić skąd się bierze taka oporność na leczenie.** W tym celu będziemy analizować aktywność wybranych enzymów z grupy proteaz i kinaz białkowych, gdyż te enzymy (w profilowaniu proteomicznym i genetycznym) najczęściej powiązane są z nowotworami. Ciągłe jednak niewiele wiadomo w jaki sposób ich aktywność wpływa na oporność lekową komórek białaczki, a zwłaszcza ALL u dzieci. Co więcej analiza enzymatyczna na poziomie pojedynczych komórek będzie skorelowana z podtypem molekularnych ALL u danego pacjenta, dzięki czemu **sprawdzimy czy dane podtypy różnią się między sobą na poziomie aktywności enzymów.** A jeśli tak, to jakie są tego konsekwencje kliniczne w zakresie diagnostyki, leczenia i dalszych rokowań pacjentów. Badania będziemy prowadzić wspólnie z prof. Wojciechem Młynarskim, kierownikiem Katedry Pediatrii, Onkologii i Hematologii przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi. Prof. Młynarski jest światowym autorytetem w dziedzinie diagnostyki i leczenia ALL u dzieci, ale jest również biologiem molekularnym, więc jego wkład w ten projekt będzie nieoceniony. Uważamy, że jeśli ten projekt zakończy się sukcesem, nasza technologia równoległego badania aktywności enzymów będzie miała zastosowanie również w innych typach nowotworów, zarówno tych hematologicznych, jak i w litych guzach.