

- 2017/27/B/ST4/00108 [2018-2021] Badania oddziaływania nanorurek węglowych z telomerycznym DNA przy użyciu metod dynamiki molekularnej – prof. T. Pańczyk

Rozwój komórek rakowych wymaga współistnienia kilku niezależnych od siebie procesów biochemicznych. Jednym z nich jest tzw. niekończony potencjał replikacyjny związany z obecnością enzymu telomerazy i dysfunkcją końcówek chromosomów – telomerów. Ludzkie telomery złożone są z bogatej w guaninę oraz bogatej w cytozynę nici DNA z charakterystycznym przedłużeniem pojedynczej, bogatej w guaninę nici DNA. Ta nitka DNA może tworzyć różnorodne struktury przestrzenne m.in. czteroniciową strukturę tzw. kwadrupleksu G., zaś komplementarna do niej nitka bogatej w cytozynę nici DNA może, w pewnych warunkach, tworzyć mało zbadaną dotychczas strukturę tzw. i-motif. Formowanie się i-motifu w obrębie bogatej w cytozynę nitki telomeru obserwuje się w kwaśnym środowisku. Badania *in vitro* sugerują, że powstawanie i-motifu ułatwia, w sposób pośredni, formowanie się tetrapleksu G i prowadzi do zatrzymania aktywności telomerazy. To, z kolei, zatrzymuje nieskończony potencjał replikacyjny komórek nowotworowych. Z tego względu, cząsteczki mające zdolność blokowania aktywności telomerazy są intensywnie badane jako nowe leki antynowotworowe.

Wykazano, że jednościenne nanorurki węglowe, funkcjonalizowane grupami karboksylowymi, w sposób selektywny stabilizują strukturę i-motif w warunkach fizjologicznego pH. Nanorurki węglowe to nanostrukturalna forma węgla o charakterystycznym kształcie pustej w środku rurki. Mają one szereg ciekawych właściwości i zastosowań. Są one badane m.in. jako nośniki leków, czyli obiekty mające zdolność przenoszenia cząsteczek aktywnych w określone miejsce e organizmie a nawet uwolnienie tych cząsteczek w ściśle określonej lokalizacji. Pozwala to na zredukowanie skutków ubocznych terapii i uzyskanie silniejszego efektu terapeutycznego przy mniejszej ilości zastosowanego leku.

Wykazano, że stabilizacja i-motifu przez karboksylowane nanorurki węglowe (tj. z przyłączonymi grupami karboksylowymi) może blokować aktywność telomerazy. Obserwowano również rozplątanie pętli telomeru oraz uruchomienie mechanizmów odpowiedzi na destrukcję DNA. Przewidujemy, że karboksylowane nanorurki węglowe wywołują lokalne obniżenie pH wewnątrzkomórkowego co, jak wiadomo, ułatwia formowanie się i-motifu. Ponieważ mikrośrodowisko nowotworu wykazuje obniżone pH, przypuszczamy, że nanorurki węglowe funkcjonalizowane innymi grupami funkcyjnymi mogą również stabilizować i-motif, który, jak wiadomo ma zdolność do spontanicznego formowania się w środowisku kwaśnym.

W projekcie rozważamy funkcjonalizację grupami aminowymi, hydroksylowymi, glikolem etylenowym i zasadami azotowymi (w szczególności komplementarnymi do cytozyny). Ze względu na wysoce specyficzne oddziaływanie nanorurek węglowych ze strukturą i-motif, przewidujemy, że utworzenie kompleksu nanorurka-i-motif może prowadzić do znacznych zmian strukturalnych w obrębie funkcjonalizowanych nanorurek. To zjawisko może być wykorzystane do selektywnego uwalniania cząsteczek leków z wnętrza nanorurki węglowej precyzyjnie wewnątrz jądra komórki nowotworowej.

Badania będą prowadzone z zastosowaniem dynamiki molekularnej. Metoda ta polega na stworzeniu modelu komputerowego danego układu i obserwacji jego zachowania na poziomie molekularnym. Taka analiza pozwoli rozpoznać mechanizm tworzenia kompleksu oraz zidentyfikować oddziaływania odpowiedzialne za jego stabilność jak też zidentyfikować zmiany struktury molekularnej funkcjonalizowanych nanorurek węglowych zachodzące wskutek tworzenia się kompleksu nanorurka-i-motif. Właściwa analiza tych efektów pozwoli wybrać taką strategię funkcjonalizacji nanorurki aby po utworzeniu kompleksu nanorurka-i-motif możliwe było uwolnienie cząsteczek leku zamkniętych w jej wnętrzu. Szczegóły techniczne zakładanej metodyki badawczej to: zastosowanie programu lammps do wielkoskalowych obliczeń równoległych, wykorzystanie empirycznych pól siłowych do właściwego opisu nanorurki węglowej (potencjał ai Rebo) oraz klasycznego pola siłowego Amber do opisu składników DNA i leków antynowotworowych.

Wyniki realizacji projektu dostarczą przede wszystkim wiedzy o charakterze fundamentalnym dotyczącej struktury, mechanizmu tworzenia i stabilności termodynamicznej kompleksu nanorurka-i-motif. Aktualne dane literaturowe, dotyczące tego ważnego biologicznie układu sugerują, że może on być wysoce selektywnym wobec komórek nowotworowych. Dlatego zrozumienie jego funkcji oraz zbadanie możliwości selektywnego uwalniania cząsteczek leków w odpowiedzi na zaistnienie tej struktury stwarza możliwość zaprojektowania niebadanych dotychczas, wielofunkcyjnych nośników leków antynowotworowych.