

Streszczenie

Kinazy białkowe są największą grupą enzymów kodowanych przez ludzki genom. Przeprowadzają one najbardziej powszechną modyfikację posttranslacyjną białek – fosforylację. Szacuje się, że podlega jej około 50% wszystkich białek. Procesy, w których biorą udział kinazy białkowe są związane ze wszystkimi aspektami życia komórki, takimi jak metabolizm, kontrola cyklu komórkowego, proliferacja, różnicowanie i apoptoza oraz komunikacja międzykomórkowa. Kinazy odgrywają ponadto rolę w funkcjonowaniu układu nerwowego i immunologicznego. Co więcej, zaburzenia ekspresji kinaz mogą prowadzić do wielu chorób, między innymi artretyzmu, chorób układu krążenia, chorób neurodegeneracyjnych, zaburzeń hormonalnych oraz nowotworów. Największe zainteresowanie wzbudza powiązanie kinaz z tymi ostatnimi. Wiele ważnych genów zaangażowanych w onkogenezę stanowią geny kinaz białkowych. Z tego powodu enzymy te stały się jednym z głównych celów terapii przeciwnowotworowych. Od czasu wprowadzenia na rynek farmaceutyczny pierwszego inhibitora kinazy białkowej – imatinibu, stosowanego w terapii przewlekłej białaczki szpikowej – FDA (Agencja ds. Żywności i Leków, ang. *Food and Drug Administration*) zatwierdziła 62 inhibitory kinaz mające zastosowanie w onkologii.

Niniejsza praca doktorska koncentruje się na kilku przedstawicielach grupy kinaz o istotnej roli w procesie nowotworzenia. Pierwsza z badanych grup - kinazy PIM - charakteryzują się wyjątkową budową regionu zawiasowego. Dodatkowe reszty aminokwasowe w tym rejonie kinazy PIM1 poszerzają kieszeń wiążącą ATP, a przez to umożliwiają projektowanie selektywnych inhibitorów. W pracy opisano uzyskane struktury kompleksów kinazy PIM1 z trzema inhibitorami małowymiarowymi. Podjęto także próby charakterystyki strukturalnej blisko spokrewnionego białka PIM2.

Innym przedstawicielem kinaz białkowych o istotnej roli w procesach nowotworowych jest kinaza MELK. Odgrywa ona rolę w regulacji cyklu komórkowego, proliferacji, mitozie oraz splicingu pre-mRNA, a także organogenezie. Uzyskanie nadekspresji, a następnie oczyszczenie MELK do homogenności umożliwiło kolejny etap badań – poznanie struktury kinazy z dorsomorfina. Analiza strukturalna tego kompleksu umożliwia przyszłe projektowanie silniejszych, bardziej specyficznych inhibitorów.

Jako cele terapii przeciwnowotworowej istotne są także kinazy biorące udział w procesach metabolicznych. W pracy opisano próby charakterystyki należącej do tej grupy heksokinazy 3 (HK3). Heksokinazy katalizują pierwszą reakcję szlaku glikolizy - fosforylację

h.h. 

glukozy do glukozy-6-fosforanu. Wzmożony metabolizm glukozy jest charakterystyczny dla komórek nowotworowych - odpowiedzialna jest za to między innymi zwiększona ekspresja heksokinaz. Także w tym przypadku opracowywanie specyficznych inhibitorów jest bardzo istotne. Poznawanie modeli wiązania kolejnych małowczątkowych inhibitorów umożliwia projektowanie bardziej specyficznych związków.

Podsumowując, wyniki uzyskane w niniejszej pracy poszerzają wiedzę na temat wiązania inhibitorów małowczątkowych w obrębie kinaz istotnych w procesach nowotworowych. Badania te mogą w szerszej perspektywie przyczynić się do opracowania związków mających zastosowanie w onkologii.

g.l. 

Abstract

Protein kinases are the largest group of enzymes encoded by the human genome. The kinases carry out the most common post-translational modification of proteins - phosphorylation. It is estimated that about 50% of all proteins undergoes this modification. Processes involving protein kinases are related to all aspects of cell life - metabolism, cell cycle control, proliferation, differentiation, apoptosis, and intercellular communication. These enzymes also play a role in functioning of the nervous and immune systems. Moreover, kinase expression disorders can lead to many diseases, including arthritis, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, hormonal disorders and cancer. Of greatest interest is the association of kinases with the latter. Many of the important genes involved in oncogenesis are protein kinase genes. For this reason, these enzymes have become one of the main targets of cancer therapies. Since the launch of the first protein kinase inhibitor - imatinib, used in the treatment of chronic myelogenous leukemia - the FDA (Food and Drug Administration) has approved 62 kinase inhibitors for use in oncology.

This doctoral thesis focuses on several representatives of the group of kinases with an important role in the process of carcinogenesis. The first of the studied groups - PIM kinases - are characterized by a unique structure of the hinge region. Additional amino acid residues of the PIM1 kinase broaden the ATP-binding pocket of this protein and thus enable the design of selective inhibitors. The structures of PIM1 kinase complexes with three small molecule inhibitors are described. Structural characterization of the closely related PIM2 kinase was also attempted.

Another representative of protein kinases with an important role in neoplastic processes is the MELK kinase. It plays a role in the regulation of the cell cycle, proliferation, mitosis and pre-mRNA splicing, as well as organogenesis. Obtaining overexpression and then purification of MELK to homogeneity enabled the next stage of research – solving the structure of its complex with dorsomorphin. Structural analysis of this complex enables the design of more potent and specific inhibitors.

Kinases involved in metabolic processes are also important as targets of anticancer therapy. The thesis describes attempts to characterize hexokinase 3 (HK3), a representative of the group. Hexokinases catalyze the first reaction of the glycolysis pathway, which is the phosphorylation of glucose to glucose-6-phosphate. Increased glucose metabolism is characteristic of cancer cells - the increased expression of hexokinases is one factor which

h.l. P

significantly contributes. The development of specific inhibitors is important pharmacologically, and learning about the binding modes of new compounds makes it possible to design better next generation molecules.

Overall, the results communicated within this thesis extend the knowledge on the binding of small molecule inhibitors with kinases of important role in tumorigenesis. These studies may, in a broader perspective, contribute to the development of compounds applicable in oncology.

g.h. 