

STRESZCZENIE

G-kwadrupeksy (G-quadruplexes, G4 DNAs) są formami DNA, tworzącymi się na skutek charakterystycznego zwinięcia jednej lub wielu nici DNA bogatych w reszty guanozynowe. Struktury te zbudowane są z kwartetów guaninowych – cztery pierścienie guaniny ułożone są w jednej płaszczyźnie i połączone 8 wiązaniami wodorowymi Hoogsten'a, gdzie każda z guanin w kwartecie bierze udział w tworzeniu dwóch wiązań o charakterze donorowym oraz dwóch o charakterze akceptorowym. G-tetrazy ułożone jedna nad drugą stabilizowane są w obecności niektórych jonów metali (m. in. K^+ oraz Na^+) lub cząsteczek związków organicznych zwanych ligandami. Protoonkogeny ludzkie c-MYC, c-KIT oraz BCL-2 odgrywają istotną rolę w takich procesach jak podziały komórkowe, replikacja, proliferacja, czy apoptoza. Wymienione odcinki protoonkogenowe są bogate w zasady guaninowe, dzięki czemu możliwe jest tworzenie struktur G-kwadrupeksowych. Doniesienia naukowe sugerują, że stabilizacja tych struktur poprzez oddziaływanie z ligandami może prowadzić do regulacji genów. Stabilizacja G-kwadrupeksów na odcinkach protoonkogenowych jest więc istotnym celem badawczym, a otrzymane wyniki mogą być w przyszłości wykorzystywane w nowoczesnych terapiach przeciwnowotworowych.

Celem rozprawy doktorskiej było zbadanie oddziaływań pomiędzy G-kwadrupeksami tworzonymi na odcinkach protoonkogenowych i trzema

STRESZCZENIE

ligandami karbazolowymi z ugrupowaniem benzotiazoliowym i podstawnikiem na atomie azotu karbazolu. z zastosowaniem mechaniki kwantowej oraz modelownia molekularnego. Szczegółowa analiza uzyskanych wyników miała na celu lepsze zrozumienie, prowadzonych w tym samym zakresie, badań eksperymentalnych. Obliczenia kwantowo-mechaniczne z zastosowaniem trzech funkcyjałów B3LYP, DFT oraz M06 pozwoliły określić swobodę konformacyjną ligandów. W tym celu obliczone zostały wartości RMSD dla 10 konformerów każdego liganda oraz analiza kątów torsyjnych. Dla wybranego liganda zdecydowałam się na obliczenie energii rotacji dla kąta, który determinował czy ligand przyjmuje konformację trans lub cis. Wyniki potwierdziły obserwacje pochodzące z eksperymentów, iż ligandy te występują w konformacji trans. Symulacje dynamiki molekularnej zostały przeprowadzone dla lepszego wyjaśnienia przebiegu oddziaływań badanych ligandów z receptorem. Do eksperymentów obliczeniowych wybrałam z bazy PDB (Protein Data Bank) G-kwadrupeksy DNA o sekwencji protoonkogenów c-KIT (PDB id: 2O3M), c-MYC (PDB id: 2L7V) oraz BCL-2 (PDB id: 2F8U), których struktury zostały opisane dzięki zastosowaniu eksperymentów NMR. Poprzez dokowanie ligandów karbazolowych z zastosowaniem oprogramowania ICM Molsoft otrzymałam dziewięć kompleksów, które następnie posłużyły mi za struktury początkowe do przeprowadzenia symulacji dynamiki molekularnej. Symulacje o długości 1000ns przeprowadziłam z zastosowaniem pakietu AMBER i pola siłowego AMBER ff99sb z parmbsc z zastosowaniem modyfikacji χ OL3+OL15 w obecności cząsteczek wody i kontrajonów. Symulacje zostały przeprowadzone dla

STRESZCZENIE

otrzymanych 9 kompleksów oraz dla struktur G-kwadrupleksów bez ligandów. Następnie przeprowadziłam szczegółową analizę symulacji poprzez obliczenie wartości RMSD, RMSF, analizę tworzonych wiązań wodorowych, analizę położenia liganda względem zewnętrznych tetrad, klastrowanie, analizę stabilności wiązań wodorowych Hoogstena w G-tetradach oraz obliczenia energii wiązania dzięki zastosowaniu pakietu VINA z funkcją X-score, oraz analizie SASA (Solvent Accessible Surface Area). Analiza uzyskanych wyników pozwoliła mi określić stabilność otrzymanych kompleksów w czasie, siłę oddziaływania G-kwadrupleksów z badanymi ligandami, jak również dokonać oceny czy dany ligand poprawia stabilność badanego G-kwadrupleksu. Uzyskane rezultaty wskazują, iż badane ligandy karbazolowe stabilizują G-kwadrupleksy tworzące się na odcinkach protoonkogenowych, czyniąc je atrakcyjnymi strukturami do dalszych prac w celu poprawy tych właściwości.
