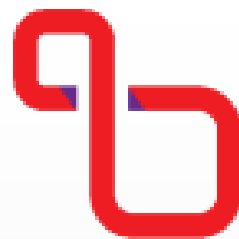




UNIWERSYTET  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU

Wydział Nauk Biologicznych  
i Weterynaryjnych



UCZELNIA  
BADAWCZA

INICJATYWA DOSKONAŁOŚCI



## ***Kontrola sygnalizacji purynergicznej z udziałem kinazy adenylanowej jako potencjalny kierunek terapii przeciwnowotworowych***

Bartosz Szymczak\* <sup>(1)</sup>, Joanna Czarnecka <sup>(1)</sup>, Anna Hetmann <sup>(1)</sup>, Katarzyna Roszek <sup>(1)</sup>,

<sup>(1)</sup> Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Nauk Biologicznych  
i Weterynaryjnych, Katedra Biochemii, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń

\* [b\\_szymczak@umk.pl](mailto:b_szymczak@umk.pl)



# Wstęp

- Sygnalizacja purynergiczna to kompleksowy system złożony z receptorów rozpoznających nukleotydy adeninowe i ich pochodne oraz ektoenzymów metabolizujących te ligandy.
- System ten kontroluje wiele procesów biologicznych m.in. proliferację, apoptozę, migrację komórek.
- Kinaza adenylanowa 1 to zewnątrzkomórkowy enzym katalizujący reakcję:



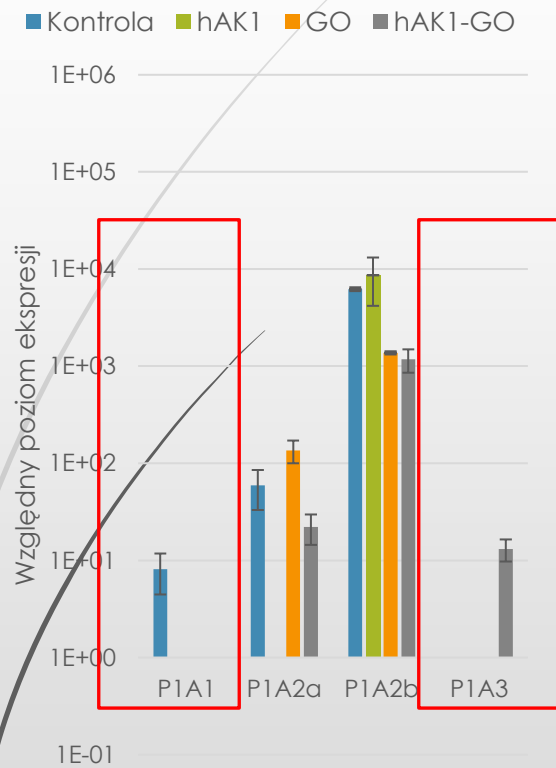
- **Celem prezentowanych badań było scharakteryzowanie wpływu kinazy adenylanowej 1, na poziom ekspresji elementów sygnalizacji purynergicznej (receptorów oraz zewnątrzkomórkowych enzymów metabolizujących nukleotydy) oraz na stężenie puryn w środowisku guza.**

# Materiały i metody

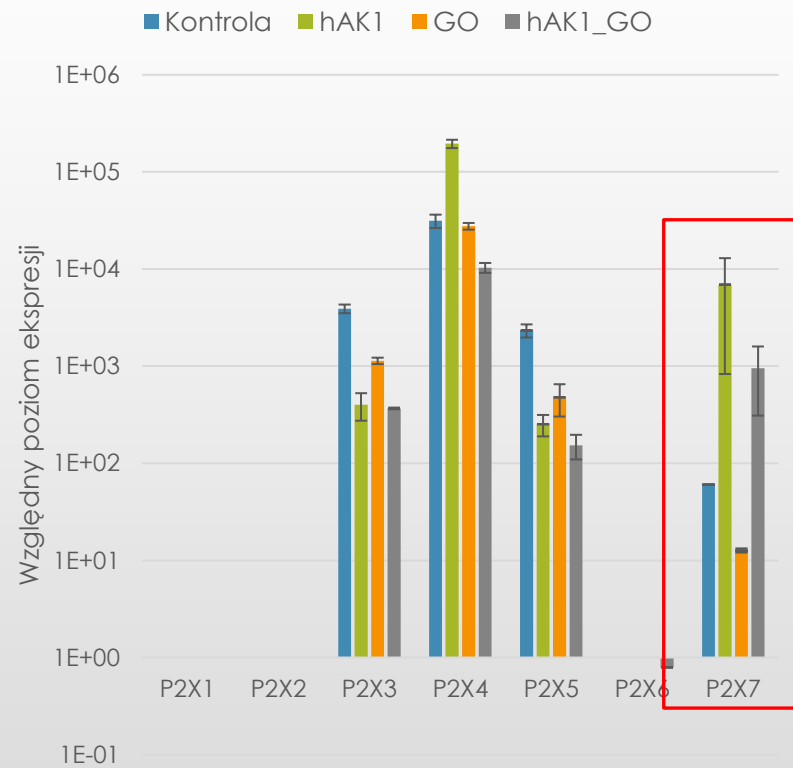
- Komórki A549 (nabłonkowego raka płuc) były hodowane z wolną kinazą adenylanową (hAK1); tlenkiem grafenu (GO) lub kinazą adenylanową immobilizowaną na tlenku grafenu (hAK1-GO).
- Zmiany ilościowe w poziomie ekspresji receptorów z klasy P1 oraz podklas P2X i P2Y jak również zewnątrzkomórkowych enzymów metabolizujących nukleotydy adeninowe oznaczono metodą Real-Time PCR.
- Zmiany stężeń zewnątrzkomórkowych nukleotydów (AMP, ADP, ATP) oraz adenozyiny w medium pochodowlanym oznaczono metodą SPE-HPLC.



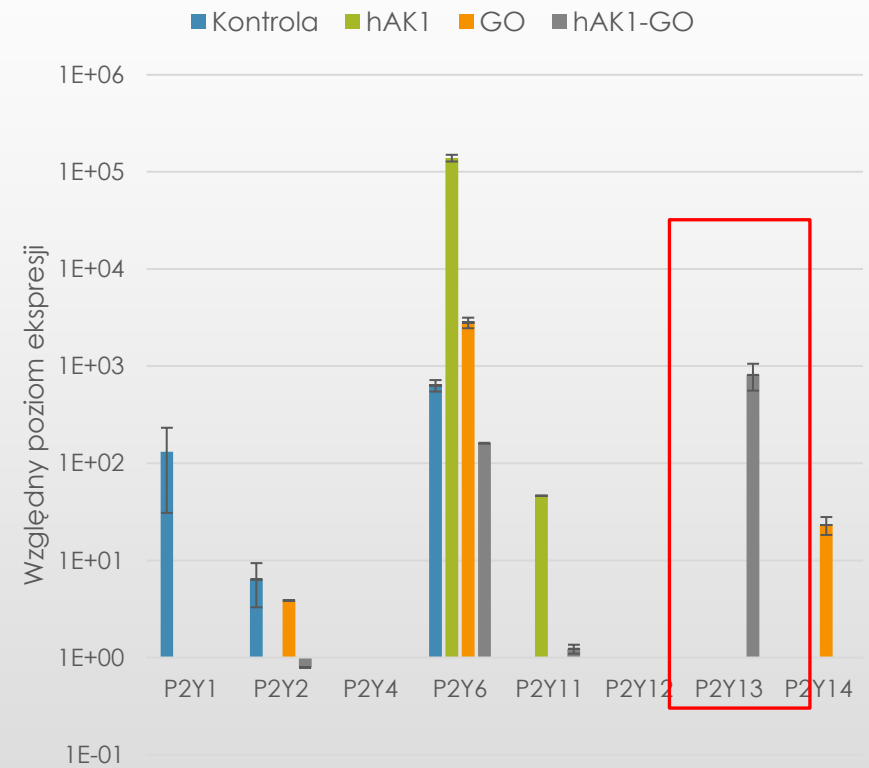
# Rezultaty



Ryc. 1. Zmiany poziomu ekspresji genów receptorów P1 komórek kontrolnych A549 oraz traktowanych hAK1, GO i hAK1-GO.



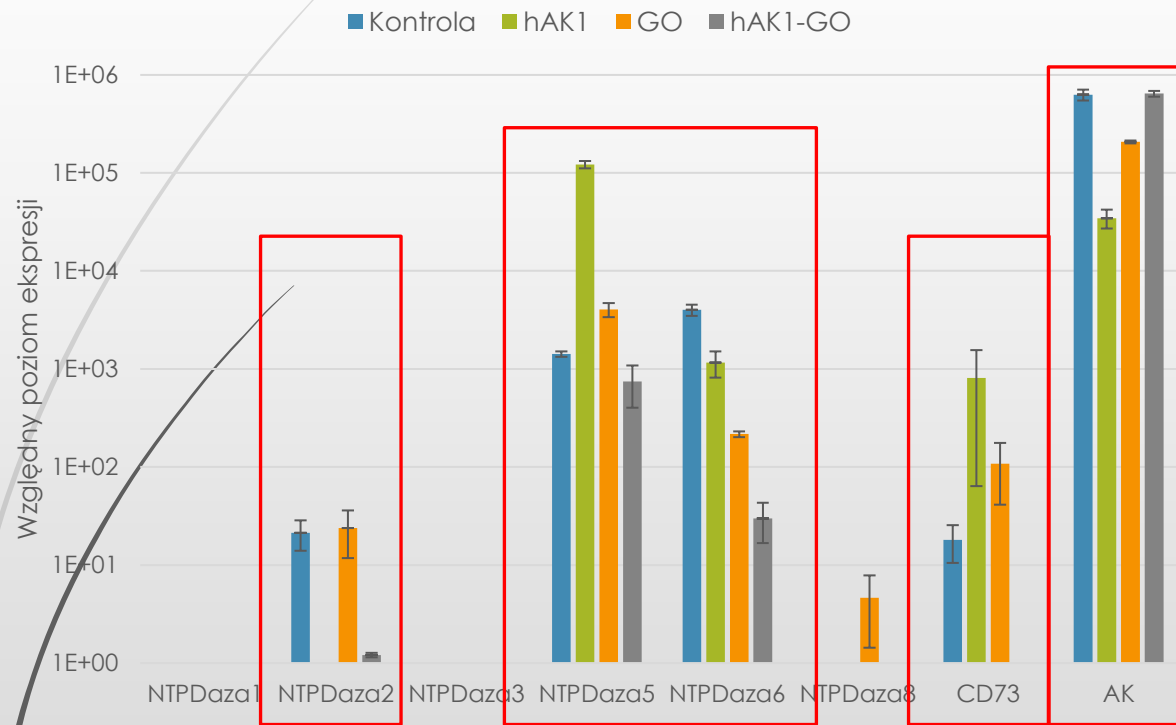
Ryc. 2. Zmiany poziomu ekspresji genów receptorów P2X komórek kontrolnych A549 oraz traktowanych hAK1, GO i hAK1-GO.



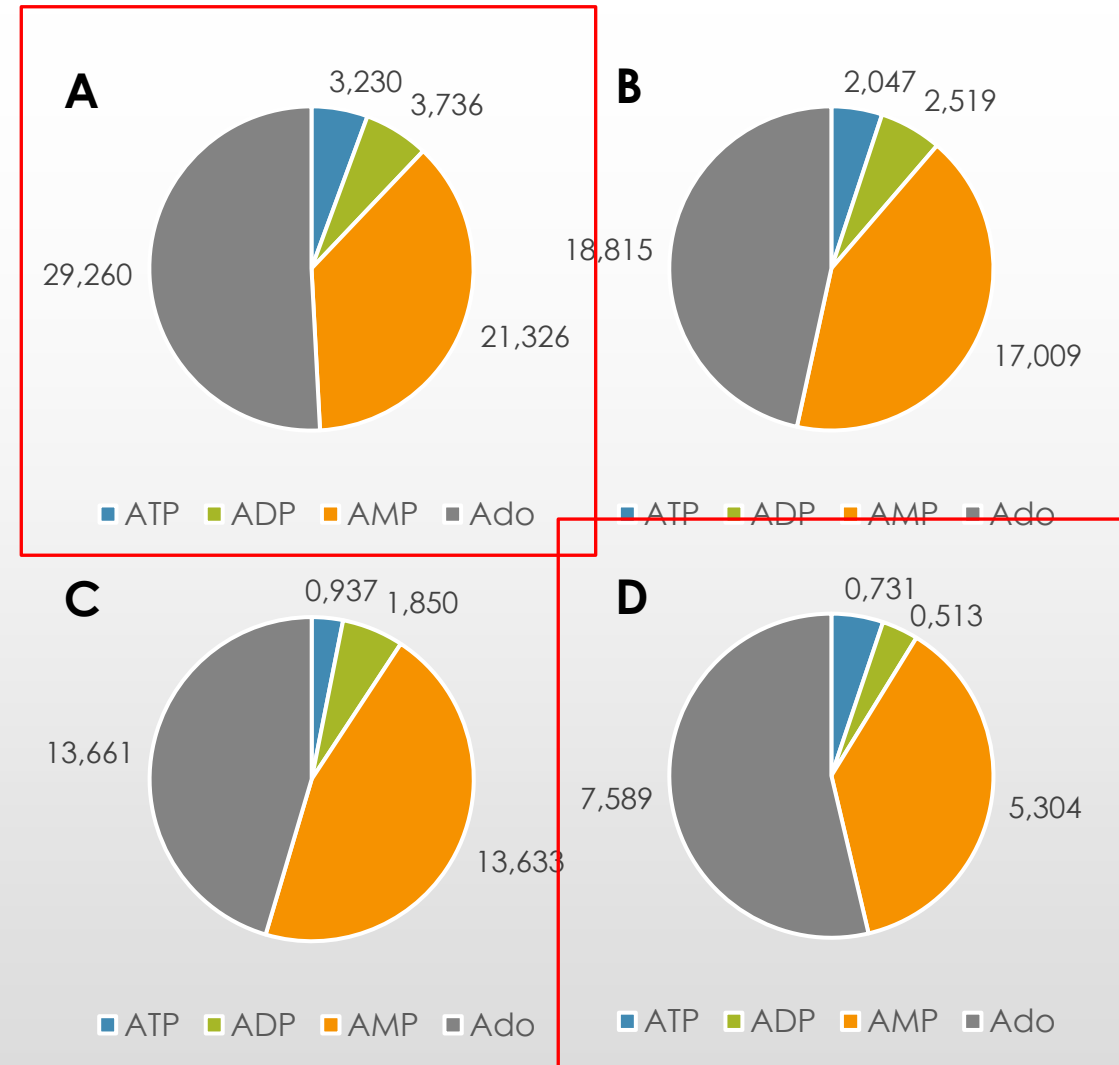
Ryc. 3. Zmiany poziomu ekspresji genów receptorów P2Y komórek kontrolnych A549 oraz traktowanych hAK1, GO i hAK1-GO.



# Rezultaty



Ryc. 1. Zmiany poziomu ekspresji genów ektoenzymów komórek kontrolnych A549 oraz traktowanych hAK1, GO i hAK1-GO.



Ryc. 2. Zmiany stężeń zewnątrzkomórkowych nukleotydów w komórkach kontrolnych A549 (A) oraz traktowanych hAK1 (B), GO (C) i hAK1-GO (D).



# Wnioski

- Obniżenie stężenia nukleotydów adeninowych w mediach hodowlanych suplementowanych hAK1 oraz hAK1-GO jest niezależne od zewnątrzkomórkowych hydrolaz i może być efektem obniżenia poziomu egzocytozy lub zwiększenia wychwytu zwrotnego adenozyiny.
- Komórki hodowane w obecności hAK1 oraz hAK1-GO wykazują wyższą ekspresję proapoptotycznych receptorów P2X7 i P1A3 oraz obniżoną ekspresję proliferacyjnego receptora P1A1, co wskazuje na obiecujący kierunek terapeutyczny.
- Immobilizowana hAK1, w odróżnieniu od wolnej formy enzymu, zmienia wzajemne proporcje zewnątrzkomórkowych ATP/ADP na korzyść ATP, który może działać cytotoksycznie na komórki za pośrednictwem receptora P2X7.

## Literatura

Abbraccio, Burnstock (1994) *Pharmacol. Ther.* 64: 445-475; Bolibok et al. (2017) *Sci. Nat.* 104.3-4: 36; Burnstock (1978) *Cell Membrane Receptors for Drugs and Hormones: A Multidisciplinary Approach* 107-118; Hetmann et al. (2018) *Mat Sci Eng.* 88: 130-139; Homaei et al., (2013) *J. Chem. Biol.* 6.4: 185-205; Manica et al. (2019) *Cell Signal.* 59: 122-130; Panayiotou et al., (2014) *Int J Biochem Cell B.* 49: 75-83; Schneider et al. (2015) *Mol Cancer.* 24: 201;

