

Transformacja 5'-O-monotiofosforanów nukleozydów do odpowiednich 5'-O-monofosforanów w warunkach komórkowych - możliwa droga metaboliczna tiofosforanowych leków i proleków.

Kierownik grantu dr hab. Agnieszka Krakowiak

Grant NCN, OPUS nr 2013/09/B/ST5/03612 (2014-2017)

Opis projektu

Stwierdzono, że desulfuracja AMPS może zachodzić z udziałem komórkowego enzymu Hint1, obecnego w ekstraktach białkowych frakcji cytozolowej (obecna jest całkowita pula białek aktywnych enzymatycznie) pozyskanych z linii komórkowych A549 i Hela. Zaobserwowano także, że wyniku elektroporacji zachodzi efektywny transport AMPS i GMPS do wnętrza komórek, a metoda może być stosowana do wszystkich typów linii komórkowych w warunkach in vitro. Stwierdzono, że po wprowadzeniu (d)NMPS (AMPS, GMPS, dGMPS) do wnętrza komórek (A549, Hela, K562) wydzielą się siarkowodor, co świadczy o desulfuracji tych związków w stosowanych komórkach. Ponadto, po wprowadzeniu ApsApsA i dApsdApsdA (PS-oligo RNA i PS-oligo DNA) do wnętrza komórek Hela również wydzielą się H₂S, co świadczy, że związki te są najpierw hydrolizowane przez komórkowe nukleazy odpowiednio do AMPS i dAMPS, a następnie dalej desulfurowane w warunkach komórkowych, prawdopodobnie przez enzym Hint1.

Publikacje:

Krakowiak Agnieszka, Pawłowska Róża, Kocoń-Rębowska Beata, Dolot Rafał, Stec Wojciech J., Interactions of cellular histidine triad nucleotide binding protein 1 with nucleosides 5'-O-monophosphorothioate and their derivatives - Implication for desulfuration process in the cell. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, **2014**; 1840: 3357-3366.

Krakowiak Agnieszka, Kocoń-Rębowska Beata, Dolot Rafał, Piotrkowska Danuta, New interactions between tumor suppressor Fhit protein and a non-hydrolyzable analog of its AP4A substrate. *FEBS Letters*, **2017**; 591: 548-559.

Krakowiak A*, Piotrkowska D, Kocoń-Rębowska B, Kaczmarek R, Maciaszek A., The role of the Hint1 protein in the metabolism of phosphorothioate oligonucleotides drugs and prodrugs, and the release of H₂S under cellular conditions. *Biochemical Pharmacology*, **2019**; 163: 250-259.