

## **Modelowanie wiązania allosterycznego i sprzężenia między miejscem allosterycznym i ortosterycznym w receptorze CB1**

### **Cel projektu**

Receptory sprzężone z białkiem G (GPCR, ang. G-protein coupled receptors) są biologicznymi czujnikami, odpowiedzialnymi za rozpoznawanie różnorodnych bodźców chemicznych (takich jak hormony czy neuroprzekaźniki) oraz za przekazywanie sygnału do wnętrza komórki, za pośrednictwem białka G. Receptory GPCR są celem farmakologicznym dla 30% - 50% obecnie stosowanych leków. Jest to spowodowane ich obecnością w szlakach sygnałowych związanych z wieloma różnorodnymi chorobami takimi jak choroby metaboliczne, immunologiczne wliczając zakażenia wirusowe, zaburzenia psychiczne, choroby sercowo-naczyniowe, procesy zapalne oraz nowotworowe. Ligandy tych receptorów dzieli się na trzy podstawowe grupy, ze względu na wpływ, jaki wywierają na dany receptor: 1) Agonista - ligand wiążący się do receptora i zwiększający poziom jego aktywności, 2) Odwrotny agonista - ligand wiążący się do receptora i zmniejszający poziom jego aktywności, 3) Antagonista - ligand wiążący się do receptora bez zmiany podstawowego poziomu jego aktywności, lecz ograniczając możliwość wiązania innych ligandów do tego receptora. Wszystkie powyższe typy ligandów wiążą się w tym samym miejscu receptora, nazywanym miejscem głównym lub ortosterycznym. Istnieją też cząsteczki, które wpływają na działanie receptora w sposób niezależny od miejsca ortosterycznego. Wiążą się one w innym miejscu receptora, nazywanym miejscem allosterycznym - takie ligandy nazywamy modulatorami allosterycznymi bowiem modulują aktywność ligandów w miejscu głównym. W zależności czy dany modulator allosteryczny przejawia dodatni czy ujemny wpływ na aktywność receptora nazywamy go odpowiednio pozytywnym lub negatywnym modulatorem allosterycznym.

Celem projektu jest otrzymanie struktury receptora kanabinoidowego CB1 wraz z jego N-końcową domeną, zawierającą allosteryczne miejsce wiązania kannabidiolu (CBD), negatywnego modulatora CB1 występującego w konopiach. Naszym celem jest identyfikacja tego miejsca wiążącego, opis mechanizmu allosterycznej modulacji oraz ustalenie czy w tym miejscu wiążą się też inne ligandy allosteryczne (np. pozytywny modulator Lipoxyna A4).

### **Badania realizowane w projekcie**

Ponieważ struktura receptora CB1 która została ostatnio wyznaczona metodą krystalografii nie zawiera domeny N-końcowej, zamierzamy ją uzupełnić o ten brakujący choć niezwykle istotny fragment. Planujemy wymodelować N-koniec receptora CB1 za pomocą metody *ab initio* oraz symulacji dynamiki molekularnej. Istnieją doniesienia o znajdującym się w tym obszarze allosterycznym miejscu wiązania cannabidiolu. Dlatego też wykonamy mutagenezę *in silico* reszt opisanych jako istotne dla allosterycznego wiązania CBD. Zamierzamy zbadać również wpływ N-końcowej domeny na funkcjonowanie receptora (w tym na wiązanie ligandów i na ilość wody przedostającej się do miejsca wiążącego). Do ortosterycznego miejsca wiążącego receptora CB1 zadokowane zostaną cząsteczki agonistów (THC i HU-210), oraz antagonisty (THCV). Do potencjalnych miejsc allosterycznych modelu A zadokujemy cząsteczki allosterycznych modulatorów: 1) negatywnego (CBD) oraz 2) pozytywnego (Lipoksyna A4). Pełnoatomowe symulacje dynamiki molekularnej receptorów umieszczonych w błonie POPC (1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) zostaną przeprowadzone dla wszystkich skonstruowanych kompleksów ligand-receptor, oraz dla modeli receptora formie APO (bez ligandu).

### **Powody wyboru danej tematyki**

Receptor kanabinoidowy CB1 występuje w najwyższym stężeniu w obrębie OUN (ośrodkowego układu nerwowego), gdzie uczestniczy w regulacji procesów poznawczych, pamięciowych, ruchowych i metabolicznych. Układ endokanabinoidowy jest również zaangażowany w naturalne procesy neuroprotektoryjne, w związku z czym jest on potencjalnym celem farmakologicznym w leczeniu takich schorzeń jak choroba Alzheimer, choroba Huntingtona, choroba Parkinsona, stwardnienie zanikowe boczne (ALS), stwardnienie rozsiane (SM) oraz innych chorób neurodegeneracyjnych. Najlepiej rozpoznawalnym agonistą receptora CB1 jest bez wątpienia THC występujący w konopiach, roślinie używanej w celach leczniczych od tysięcy lat. Zrozumienie mechanizmu allosterycznej modulacji receptora CB1 przyczyni się w znaczący sposób do projektowania nowych leków działających na zasadzie allosterycznej modulacji tego receptora, o mniej licznych i mniej nasilonych działaniach niepożądanych w porównaniu z ortosterycznymi ligandami CB1.