

## **Mechanizmy molekularne allosterycznej modulacji receptora GABA poprzez poziom pH.**

Miejsca połączeń pomiędzy komórkami nerwowymi oraz glejowymi w układzie nerwowym nazywamy synapsami. Ponieważ stanowią one punkty połączeń pomiędzy m.in. neuronami czuciowym odbierającymi bodźce a neuronami projekcyjnymi, dostarczającymi informacje o tych bodźcach do mózgu, mechanika ich działania będzie mieć olbrzymi wpływ na funkcjonowanie mózgu. Wyróżniamy dwa typy synaps: elektryczne, w których sygnał przekazywany jest niemal bezpośrednio przez połączenia szczelinowe oraz chemiczne, w których komórki oddzielone są szczeliną synaptyczną a do przekazania informacji przez tą przerwę niezbędny jest neuroprzebieżnik. Neuroprzebieżnik to niewielka molekula, wydzielana jest przez komórkę presynaptyczną a odbierana przez receptory na komórkę postsynaptycznej. Kluczowym dla transmisji sygnału hamującego w mózgu neurotransmiterem jest kwas gamma aminomasłowy (GABA), a białkiem odbierającym go na komórkę postsynaptycznej jest receptor GABA<sub>A</sub> (GABA<sub>A</sub>R). Sam GABA<sub>A</sub>R jest dużym białkiem, złożonym z pięciu podjednostek, a w obrębie każdej z nich można wyróżnić trzy domeny: zewnątrzkomórkową (ECD), transmembranową (TMD) i wewnątrzkomórkową (ICD). Celem projektu jest zbadanie molekularnych interakcji pomiędzy cząsteczką GABA oraz GABA<sub>A</sub>R w warunkach różnego poziomu pH (kwaśne, obojętne, zasadowe). Miejsca wiążące cząsteczki znajdują się w obrębie ECD na styku poszczególnych podjednostek. Przeprowadzone badania oparte zostaną na technikach obliczeniowych oraz pomiarach elektrofizjologicznych. Zbudowane zostaną modele strukturalne GABA<sub>A</sub>R do których zadokowane zostaną cząsteczki neurotransmitera. Jako wzorce dla budowy wykorzystane zostaną struktury podobnych receptorów pozyskane techniką krystalografii rentgenowskiej oraz mikroskopii krio-elektronowej. Powstałe w ten sposób systemy zostaną wprowadzone w ruch z pomocą symulacji dynamiki molekularnej, techniki obliczeniowej symulującej ruch białka w oparciu o obliczenia kwantowe z korekcjami i przybliżeniami wynikającymi z obserwacji eksperymentalnych. Otrzymane z badań obliczeniowych rezultaty zostaną wykorzystane do zaprojektowania eksperymentów elektrofizjologicznych techniką patch-clamp. Celem symulacji będzie zaprojektowanie receptora z mutacjami które obniżą jego zależność jego funkcjonowania od poziomu pH. Zbadane zostaną receptory typu dzikiego oraz z mutacjami w wybranych punktach zbadanych podczas symulacji. Obserwacje zachowania białka w warunkach in vivo umożliwi weryfikację wyników obliczeniowych oraz dostarczy nowych informacji dotyczących badanych oddziaływań. Wyniki pozyskane w ramach realizacji przedstawionego projektu będą cennym wkładem w aktualny stan wiedzy o białkach receptorowych w układzie nerwowym. Analiza przedstawionych oddziaływań umożliwi lepsze zrozumienie fizjologicznie obserwowalnych zjawisk, zarówno w zdrowym organizmie jak i podczas stosowania leków np. antydepresyjnych, których celem działania jest modulacja działania GABA<sub>A</sub>R.