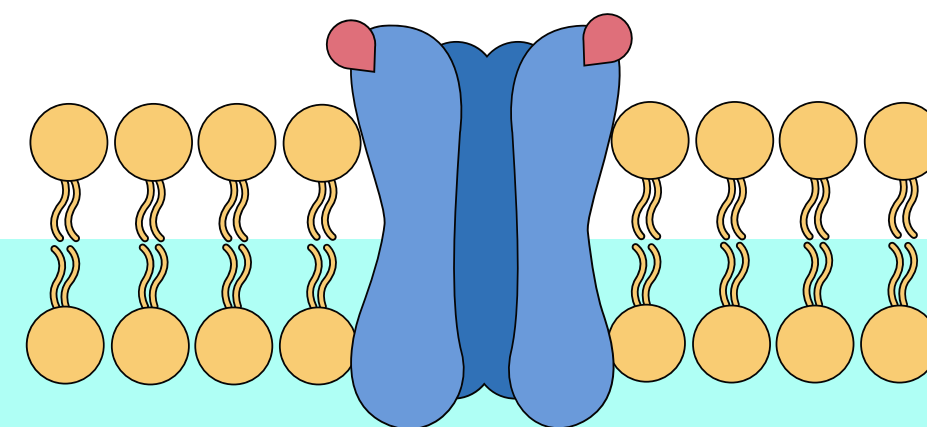




STRUCTURAL IDENTIFICATION OF A HOTSPOT ON CFTR FOR POTENTIATION

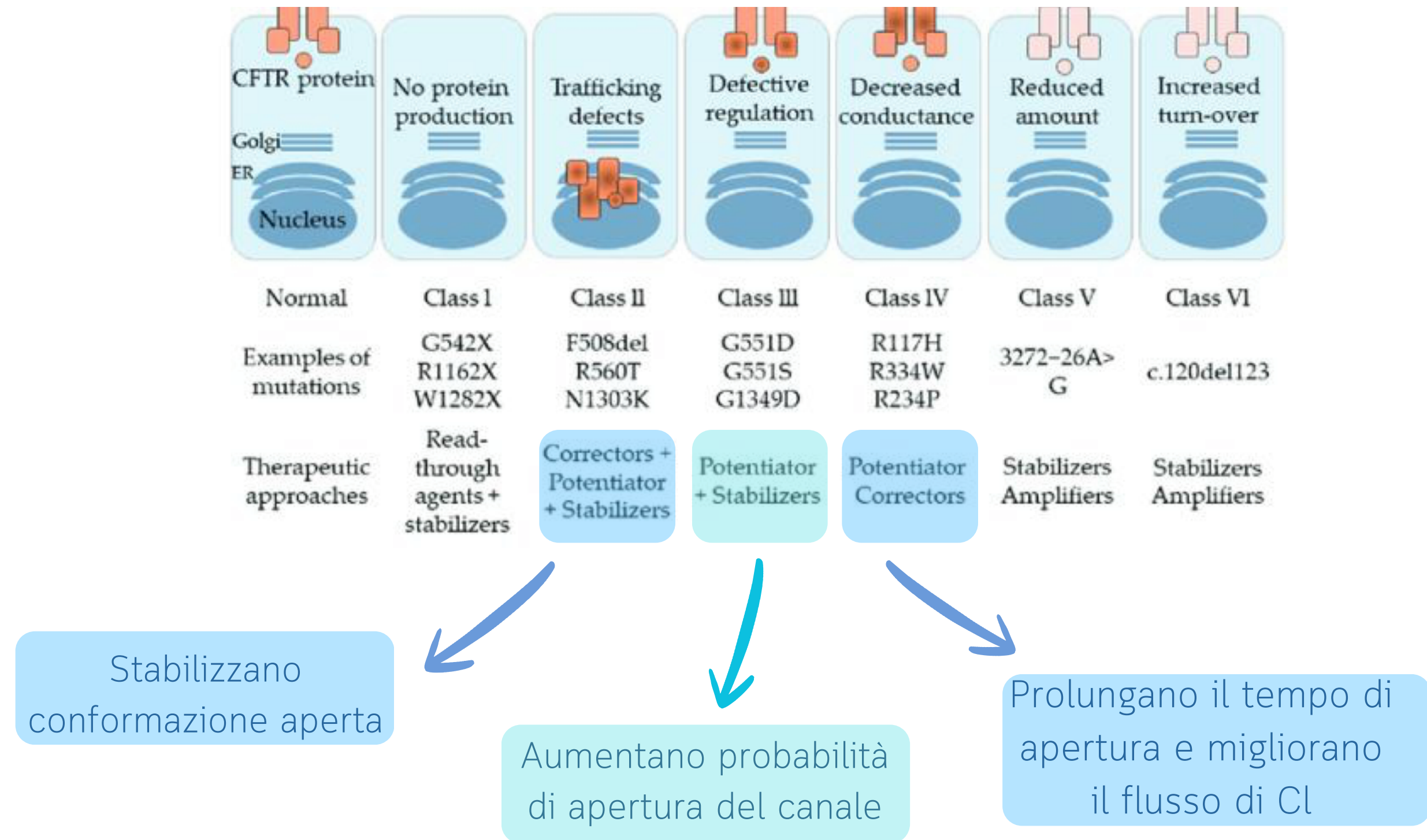
Dove e come agiscono i potenziatori del CFTR?

BARCA V., CRIPPA V., GHEZZI V., IEZZI C., MUZIO B.



1) INTRODUZIONE: PERCHÈ SERVONO I POTENZIATORI?

- Stabilizzano la conformazione attiva/aperta del CFTR
- Potenziano la sua attività



Ivacaftor (principio attivo)
Kalydeco (nome commerciale)

GLPG1837, composto sperimentale

2) STRUTTURA CFTR

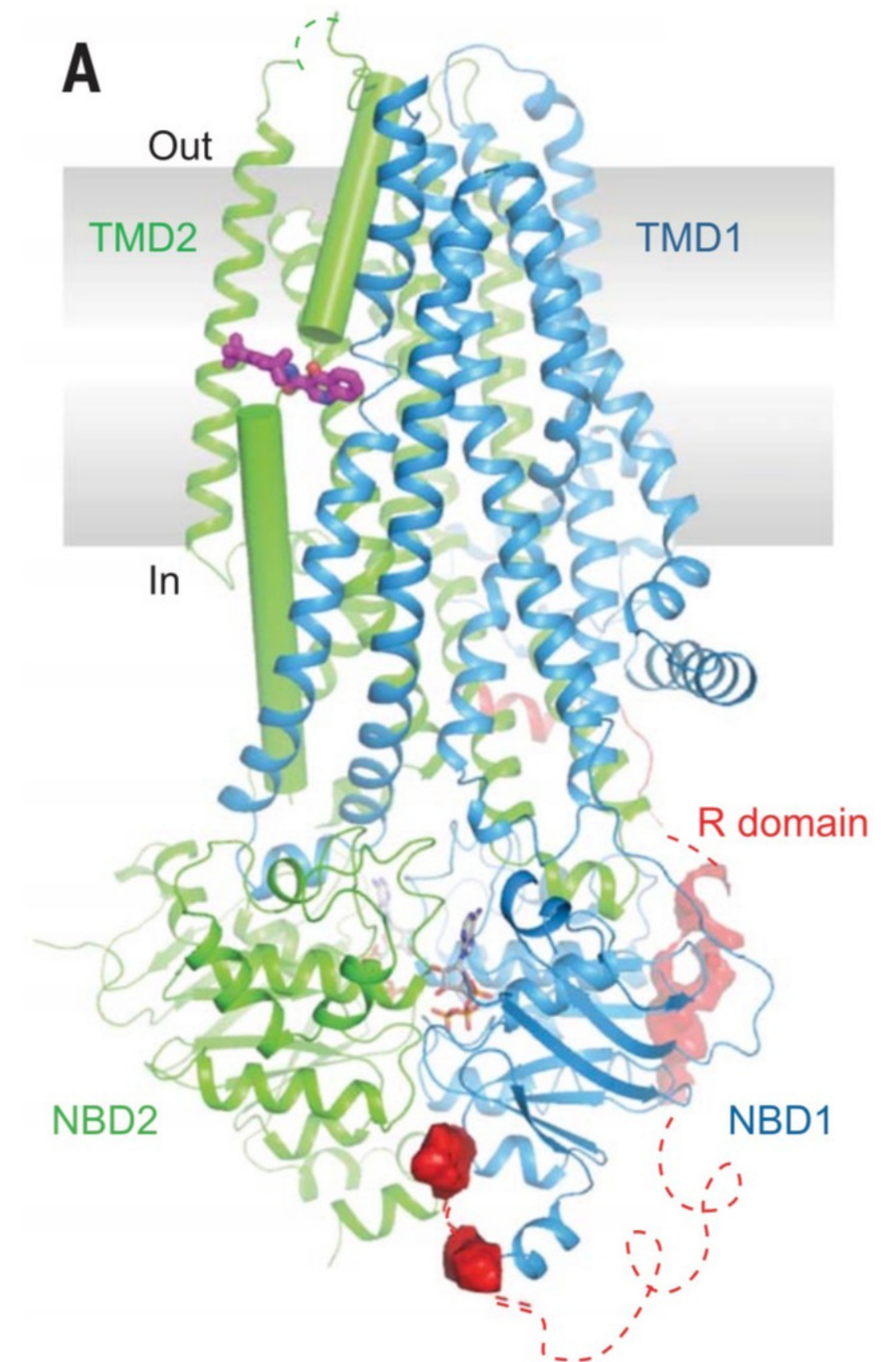
- Proteina di membrana che funziona come **canale per gli ioni Cl⁻**
- Appartiene alla **famiglia degli ABC transporters**, ma funziona come **canale ionico ATP-dipendente**

La **STRUTTURA** è composta da:

- **2 domini transmembrana (TMD1, TMD2)**
→ Formati da 6 segmenti ciascuno
- **2 siti di binding (NBD1, NBD2):**
→ Siti di legame per l'ATP
- **1 dominio regolatorio R :**
→ Fosforilato dalla PKA

Peculiarità rispetto agli ABC transporters

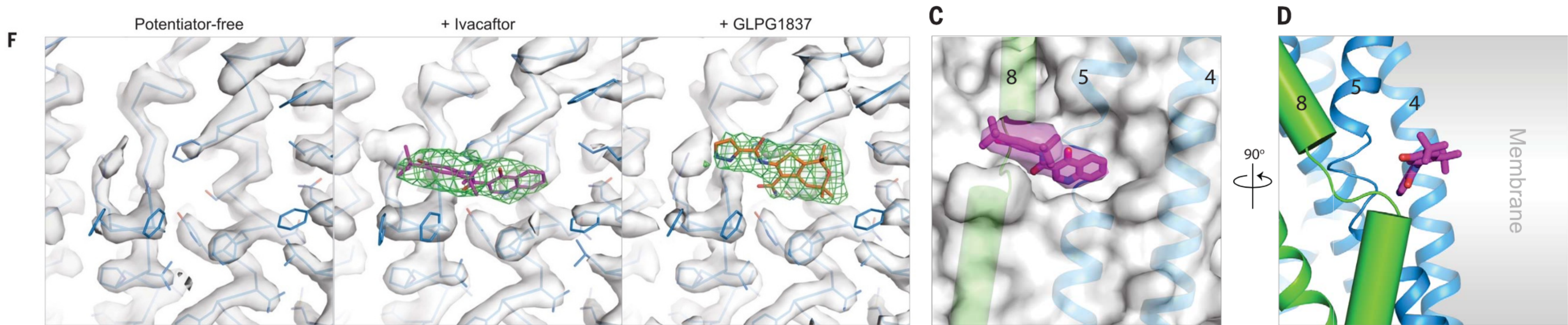
- ATP e dominio R regolano l'apertura/chiusura del canale
- L'ATP non viene usato per il trasporto, ma per il gating del CFTR



3) STRUTTURA: DOVE E COME SI LEGANO I POTENZIATORI AL CFTR?

Tramite **cryo-EM** si è visto che il binding site:

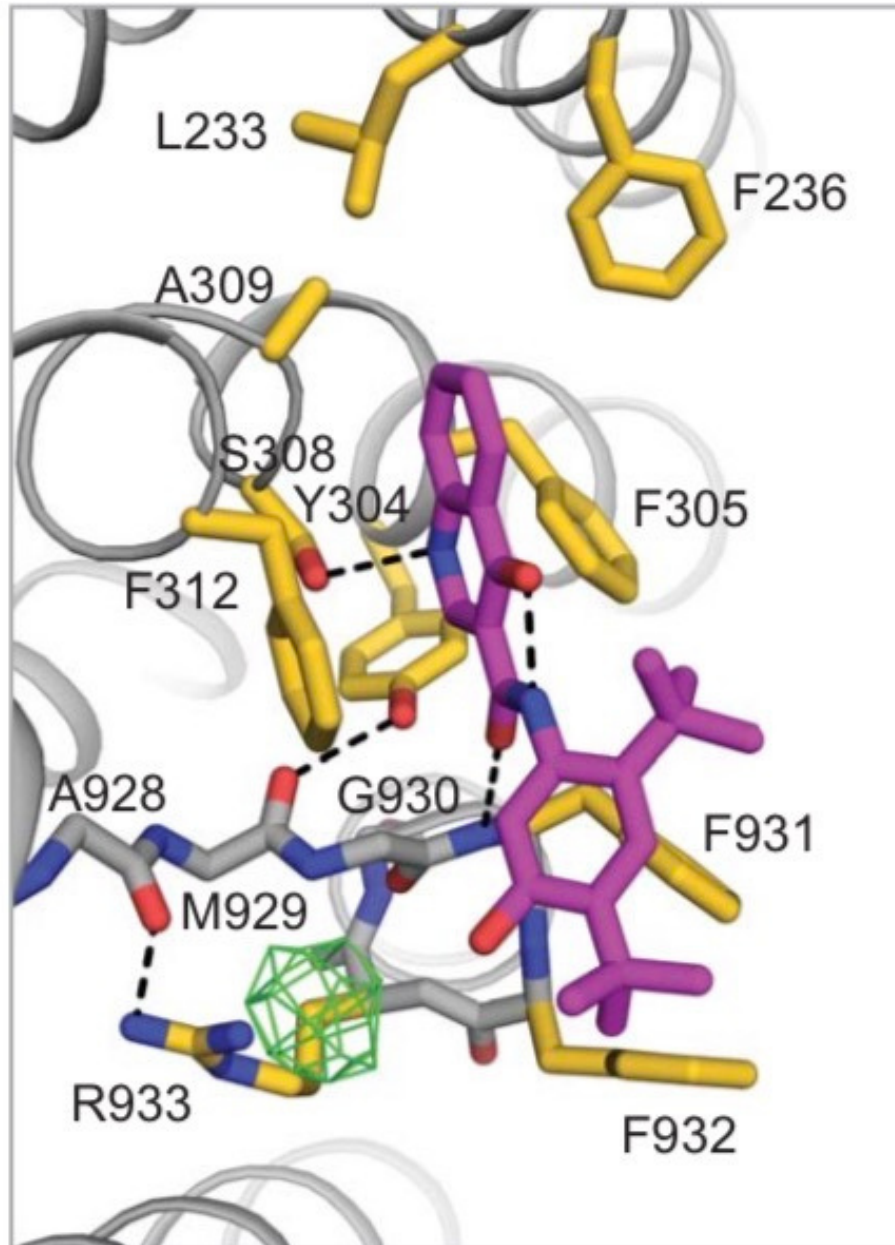
- è tra l'interfaccia tra proteina e membrana lipidica
- coinvolge regioni delle TMDs cruciali per il gating
- agisce come hotspot allosterico → i potenziatori non agiscono direttamente sugli NBDs ma si legano ad un sito allosterico nelle regioni transmembrana



I potenziatori si legano ad uno specifico **hotspot strutturale localizzato nelle TMDs** del CFTR → in una tasca idrofobica (binding pocket) situata all'interfaccia tra le eliche transmembrana: TM4, TM5 e TM8

4)QUALI INTERAZIONI MOLECOLARI FANNO?

Ivacaftor



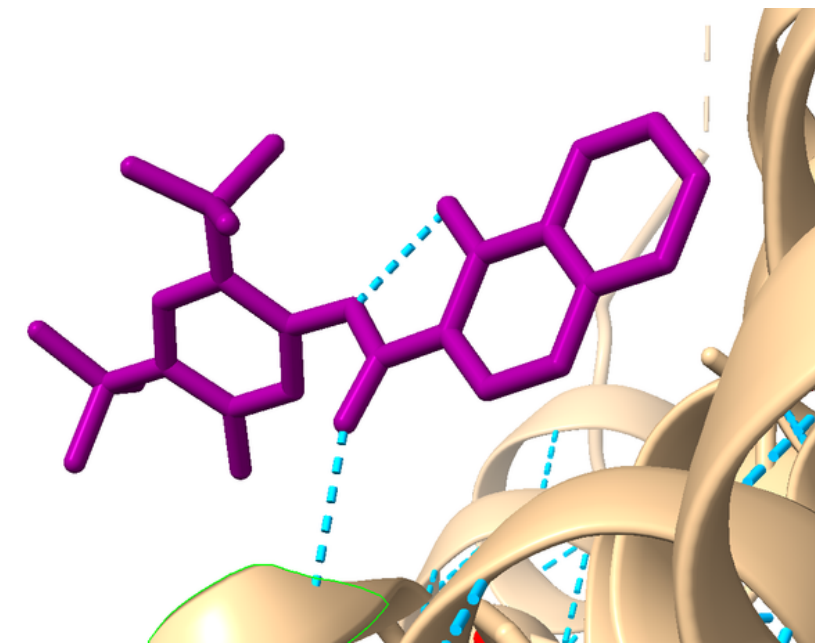
A) 3 legami idrogeno (S308, R933, Y304)

B) 2 interazioni aromatiche (F312, F931)

- F312 fa interazione π - π stacking con Ivacaftor
- F931 stabilizza il gruppo fenolico

C) 6 interazioni idrofobiche (L233, F236, F305, A309, F931)

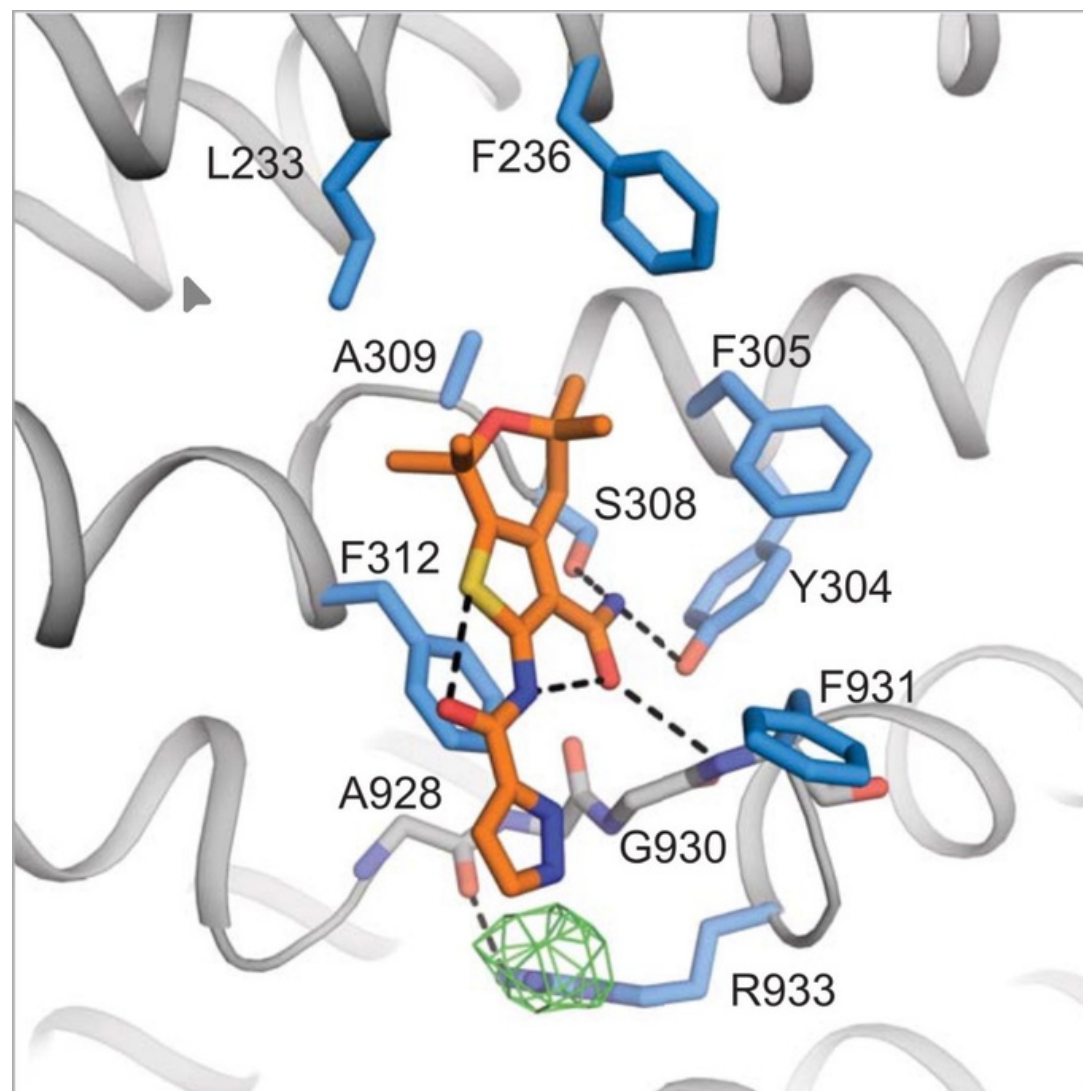
☆ Mutazioni S308A e F312A quasi aboliscono il legame



Primo farmaco modulatore ad essere commercializzato

4) QUALI INTERAZIONI MOLECOLARI FANNO?

GLPG1837

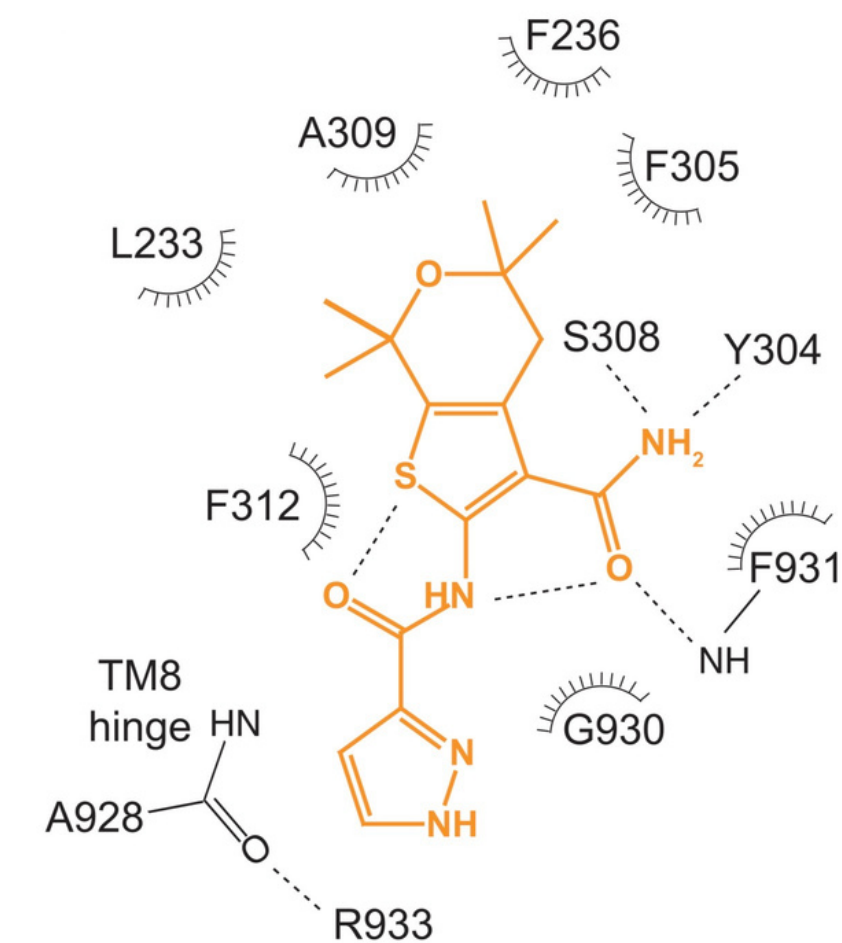


A) Legami idrogeno: Y304, S308

B) Interazioni idrofobiche (L233, F236, F305, A309, F312)

☆ Mutazioni Y304A e S308A

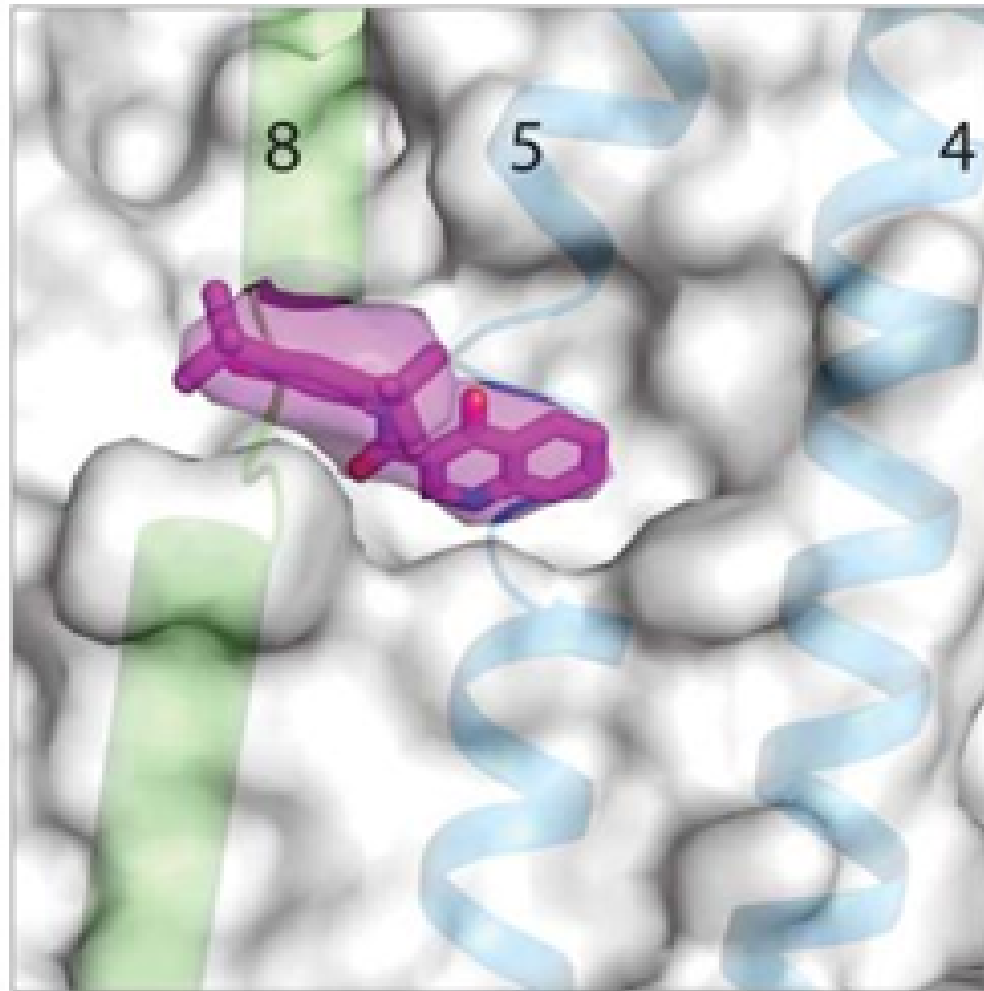
- Aumentano EC50 di 57× e 34×
- Riducono l'efficacia del farmaco



5) DATI FUNZIONALI: COME I POTENZIATORI AUMENTANO L'ATTIVITÀ DEL CANALE?

- **Interazioni specifiche** con la binding pocket TM4-TM5-TM8

C



Conformazione aperta del CFTR
stabilizzata



Flusso ionico più efficiente

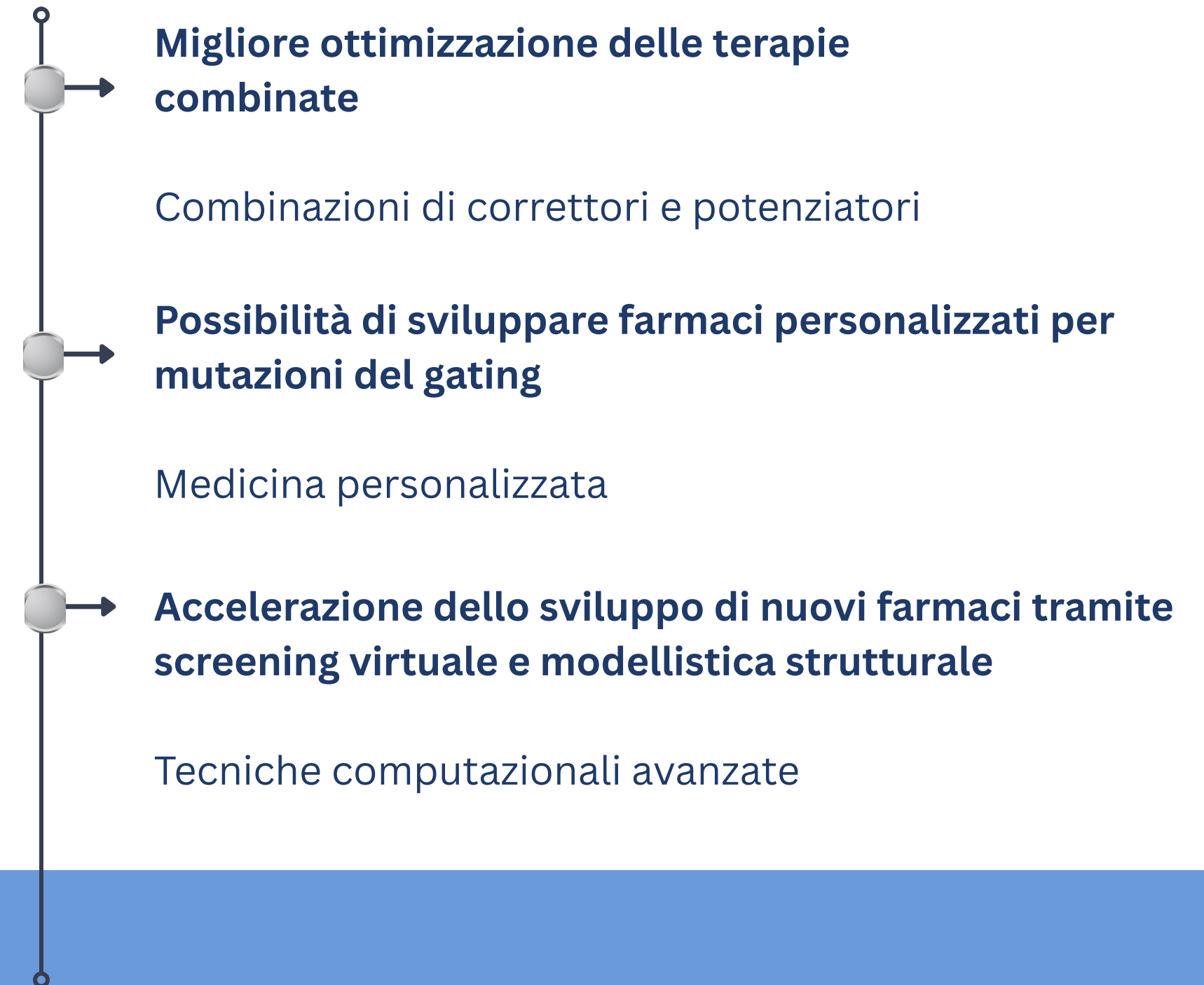
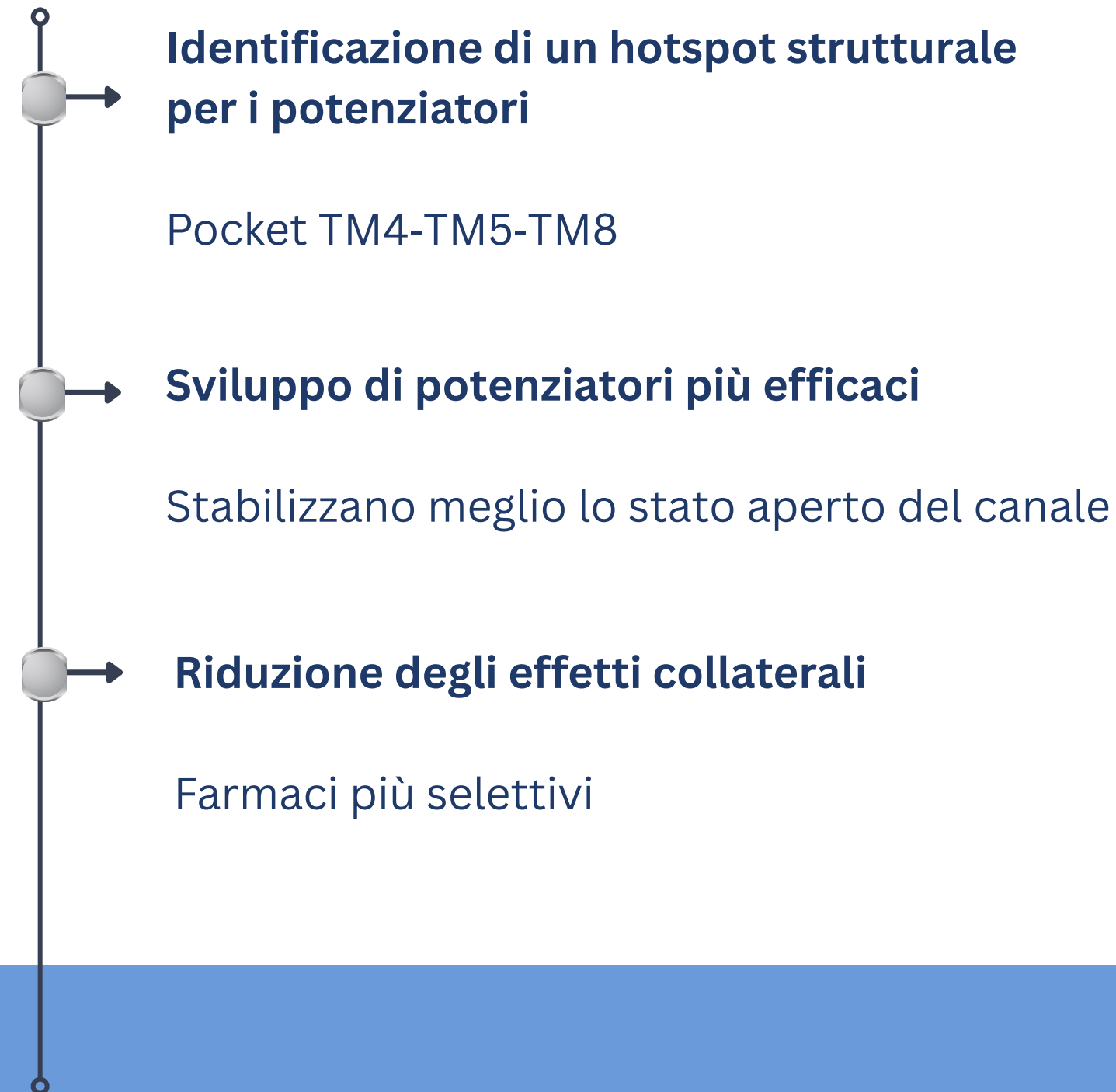
- Ivacaftor rinforza e stabilizza il movimento dell'**hinge di TM8**



Essenziale per il **gating**

(C) Vista ingrandita del sito di legame di Ivacaftor. Il CFTR è mostrato come un modello di superficie trasparente con TM4, 5 e 8 indicati.

6) IMPLICAZIONI: COME QUESTA SCOPERTA PUÒ MIGLIORARE LE TERAPIE?





GRAZIE PER L'ATTENZIONE!

