

Рецепторні протеїни на мембрані клітин. Навіщо вони організмам?



Багато невиліковних нині хвороб буде подолано, й, можливо, давня мрія людства про вічну молодість і безсмертя виявиться не такою вже й нездійсненою



Сергій КОМИСАРЕНКО,
директор Інституту біохімії
імені Палладіна
Національної академії наук
України,
академік НАН України



Світлана РОМАНЮК,
старший науковий співробітник,
кандидат біологічних наук

52

У наш час найцікавіші та найперспективніші наукові роботи виконуються зазвичай на стику, або, правильніше, «на перекриттях» традиційних дисциплін, однак Нобелівські премії досі присуджують у жорстко розмежованих галузях медицини або фізіології, фізики та хімії. Так, 10 жовтня 2012 року було оголошено, що цьогорічну Нобелівську премію з хімії отримали два американські професори – Роберт Лефковіц із університету Дьюка в Північній Кароліні та Брайан Кобілکا зі Стенфордського університету в Каліфорнії – за дослідження рецепторів, пов'язаних із G-протеїнами (*GPCR* – *G-protein-coupled receptors*). Обидва вчені мають медичну освіту. А за відкриття та вивчення самих G-протеїнів Нобелівську премію з фізіології та медицини 1994 року було присуджено Альфреду Гілману та Мартину Родбеллу.

Роберт **ЛЕФКОВІЦ** (*Robert Lefkowitz*) народився 1943 року в Нью-Йорку в родині єврейських емігрантів із Польщі. У 1962 році він здобув ступінь бакалавра мистецтв у Колумбійському коледжі при Колумбійському університеті Нью-Йорка, а в 1966-му – ступінь доктора медицини в Коледжі загальної терапії та хірургії при тому ж університеті. З 1968-го по 1970 рік працював у системі національних інститутів здоров'я та Головному госпіталі Массачусетсу в Бостоні. У 1973–1976 роках працював у Американській кардіологічній асоціації. З 1973 року він співробітник Університету Дьюка, а з 1976-го – Медичного інституту Говарда Х'юза. Лефковіца удостоєно Національної медалі на-

уки (2007 р.), яку вручають за указом Президента США. Він отримав також премію Шоу (*Shaw Prize*) – азіатський аналог Нобелівської.

Брайан **КОБІЛКА** (*Brian Kobilka*) народився 1955 року в штаті Міннесота в родині з німецько-польським корінням. Здобув ступінь бакалавра з біології та хімії в Міннесотському університеті, потім – ступінь доктора медицини на медичному факультеті Ельського університету. Після інтернатури у Вашингтонському університеті Кобілка перейшов до лабораторії Лефковіца. У 1987–2003 роках працював у Медичному інституті Говарда Х'юза. Нинішня лабораторія Кобілки знаходиться в Стенфордському університеті. 2007 року журнал *Science* назвав його дослідження структури *GPCR* одним із проривів року.

GPCR – це ціла родина схожих за структурною організацією та функцією рецепторів мембран еукаріотичних клітин, які мають сім трансмембранних доменів і передають усередину відповідної клітини сигнал завдяки активації G-протеїнів. Це запускає каскад внутрішньоклітинних реакцій, наслідком яких є відповідь клітини на певний подразник (чи певний фізіологічний ефект). *GPCR* називають іще серпентинними рецепторами, бо на схемі перетинання плазматичної мембрани клітини протеїнами розташування доменів *GPCR* має «змієподібний» характер. У геномі людини знайдено близько 800 генів, що кодують різні *GPCR*. Функція 150 з них залишається невідомою, решта – «розпізнають», тобто специфічно взаємодіють

із різноманітними лігандами: гормонами, нейромедіаторами, біологічно активними пептидами, іонами тощо. Зокрема, ці рецептори реагують на такі біологічно активні речовини, як хемокіни, гістамін, серотонін, адреналін, дофамін, опіоїди, канабіноїди, кофеїн і багато інших. Тобто рецептори на поверхні спеціалізованих клітин відіграють роль структур розпізнавання специфічних сигналів із прилеглої середовища. Велика кількість найважливіших для функціонування організму процесів контролюються такими рецепторами, як, наприклад, регулювання кров'яного тиску та серцебиття, регулювання на небезпеку, відчуття болю або ейфорії, сприйняття зорових образів або запахів, ембріональний розвиток, навчання та пам'ять тощо. Порушення у функціонуванні *GPCR* спостерігаються в разі багатьох тяжких захворювань, наприклад, діабету, сліпоти, алергії, депресії, серцево-судинних дефектів і деяких форм злоякісного росту. На фармацевтичному ринку від третини до половини кількості всіх ліків становлять препарати, дія яких спрямована на *GPCR*. Тому дослідження структури цих рецепторів і механізмів передачі ними сигналів у клітинах-мішенях є важливими для глибшого розуміння причин багатьох захворювань і створення ефективних ліків із мінімальними побічними ефектами.

Вивчення *GPCR* розпочалося ще в XIX столітті, коли німецький учений Вільгельм Кюне 1870 року виявив і виділив рецептор, що реагує на світло, – родопсин. Подальше вивчення



Роберт Лефковіц



Брайан Кобілка

механізму регулювання скорочення м'язових клітин під впливом певних речовин дало змогу на початку 70-х років ХХ століття дійти висновку, що існує деяка рецепторна субстанція, яка реагує на позаклітинні молекули й передає сигнали всередину клітини.

Метою роботи Роберта Лефковіца й став пошук цієї рецепторної субстанції, для чого він використав радіоактивно мічений адреналін. На той момент про клітинні рецептори було відомо вже чимало. У 1960-х роках виявили, що дія адреналіну на клітини опосередковується особливим типом протеїнів – G-протеїнами, здатними викликати в клітині певні каскади реакцій. Але як саме це відбувається, було невідомо. На початку 70-х років кілька рецепторів *GPCR* ідентифікували, проте виділити й дослідити їхню структуру (за винятком родопсину) було неможливо через украй малу їхню кількість на клітинах.

Після десяти років рутинних експериментів із радіоактивно міченим адреналіном Лефковіц і його команда у 1980 році запропонували найімовірніший механізм дії адреналінових рецепторів – «теорію трійчастого комплексу». Для того, щоб з'ясувати, як адреналіновий рецептор зв'язується з лігандом, як відбувається активація G-білка, необхідно було одержати рецептор у великій кількості, знайшовши і клонувавши його ген. Це дуже складне на той час завдання Лефковіц поставив перед Брайаном Кобілкою – молодим співробітником його лабораторії. 1986 року Кобілка разом із колегами по частинах розшифрував амінокислотну послідовність β-адренорецептора, по шматочках зібрав цілий ген, зміг його клонувати й навчився виділяти рецептор у великих кількостях. Виявилось, що адренорецептор складається із семи трансмембранних α-спіралей і дуже подібний до родопсину, структура якого була досліджена завдяки роботам декількох

лабораторій, зокрема радянських учених під керівництвом академіка Ю. Овчиннікова. Це дало змогу припустити, що за принципом трійчастого комплексу працюють не тільки β-адренорецептор і родопсин, а й більша частина інших відомих на той час рецепторів. Припущення пізніше підтвердилося, і стало зрозуміло, що передача сигналів за допомогою *GPCR* є універсальним механізмом спілкування клітин з іншими клітинами та навколишнім середовищем.

Для вивчення механізму роботи *GPCR* необхідно було одержати інформацію про їхню просторову структуру за допомогою рентгеноструктурного аналізу. Однак тривалий час це не вдавалося зробити, попри наполегливу працю багатьох лабораторій світу, бо рецептори *GPCR* є жиророзчинними й за звичайних умов не піддаються кристалізації.

2000 року Кшиштоф Пальчевський та його співробітник Тетсуї Окада з Університету «Кейс вестерн резерв» у Клівленді (США) успішно здійснили рентгеноструктурний аналіз родопсину, але Брайану Кобілці та Рею Стівенсу вдалося вперше одержати структуру адренергічного рецептора людини лише в 2007 році. Вагомий внесок у цю справу зробив Вадим Черезов із лабораторії Рея Стівенса, який оптимізував умови для кристалізації рецептора в ліпідній кубічній фазі з використанням холестерину. У 2007–2012 роках у лабораторіях Кобілки та Стівенса визначили структуру п'ятнадцяти різних *GPCR*, що відкривало можливість для розроблення нових лікарських препаратів: знеболювальних засобів, антидепресантів, ліків для боротьби з наркозалежністю та відчуттям тривоги. Однак Брайан Кобілка мріяв одержати структуру комплексу активованого β-адренорецептора з G-протеїном на момент його активації, щоб мати цілковите уявлення про механізм дії цього рецептора.

І ось 2011 року завдяки застосуванню методів молекулярної інженерії та стабілізації протеїну антитілами Кобілці вдалося кристалізувати сигнальний комплекс між активованим β-адренорецептором і G-протеїном, а також у співпраці з Роджером Сунахарою з Мічиганського університету в Енн-Арборі визначити структуру комплексу, що дало можливість докладніше розглянути процес передачі сигналу від рецептора до G-протеїну.

Отже, завдяки багаторічним зусиллям Лефковіца, Кобілки та інших учених людство дізналося про існування унікального сімейства рецепторів, пов'язаних із G-протеїнами, які контролюють більшість життєво важливих процесів в організмі людини і тварин. Однак, як завжди буває в науці, визначне відкриття, даючи відповідь на одне запитання, породжує низку інших. Ученим іще належить з'ясувати відмінності в будові цих рецепторів, що дають їм змогу розпізнавати різні ліганди, особливості сигнальних каскадів тощо. Тому до рецепторів *GPCR* нині прикута увага багатьох дослідників у всьому світі.

Лабораторія Брайана Кобілки вивчає фізіологічну роль і механізм дії різних типів адренергічних рецепторів із використанням ліній нокаутних мишей, у яких штучно видалений ген, що кодує той чи інший тип рецептора, і тому відсутній відповідний рецептор. Одержані дані можуть стати в пригоді під час розроблення нових підходів до лікування серцевої недостатності у людей. Лабораторія Роберта Лефковіца вивчає механізми зміни функціонування рецепторів під впливом лігандів, з якими вони взаємодіють (гормонів, ліків тощо), тобто природу явища, що зумовлює стійкість до дії ліків або зниження з часом їхньої ефективності. Лефковіц із співробітниками відкрив низку протеїнів (зокрема, арестинів), які спричинюють десенсибілізацію рецепторів і, крім цього, виконують функції сигнальних протеїнів, запускаючи каскад реакцій під час блокування активації G-протеїну рецептором. Значення цього каскаду невідоме й потребує подальших досліджень.

Розуміння механізмів регуляції *GPCR* може забезпечити розроблення нових ліків і нових методів лікування захворювань людини. Нині для лікування серцево-судинних захворювань найчастіше використовують блокатори двох типів *GPCR*: β-адренергічних та ангіотензінових рецепторів, які запобігають небезпечній гіперстимуляції цих рецепторів і виникненню внаслідок цього гіпертонії, стенокардії або серцевої недостатності. Однак такі блокатори цілковито гальмують активність рецепторів, що спричинює небажані побічні ефекти. Натомість запуск каскаду арестинів дає змогу досягти гнучкішої регуляції їхньої активності.