

## Долгий путь к трехмерной структуре и механизмам действия

Нобелевская премия по химии 2012 года присуждена профессору Медицинского центра Дюкского университета Роберту Лефковицу и профессору Медицинской школы Стэнфордского университета Брайану Кобилке «за исследования G-белоксопряженных рецепторов». Именно «за исследования», а не за открытие, установление или расшифровку чего-либо. Такая формулировка объясняется тем, что эти исследования продолжаются почти 40 лет, практически – от нулевого уровня до тех вершин, которые были покорены за последние несколько лет.

**Н**ачало 80-х годов прошлого века: как и для мембранных рецепторов других классов, еще только предстояло получить G-белоксопряженные рецепторы (GPCR) в виде индивидуальных белков, а затем и клонировать. Здесь следует отдать должное Р. Лефковицу, который для очистки и выделения адренергических рецепторов использовал синтез новых лигандов, аффинные модификации и другие методы. В 1987 году в лаборатории Р. Лефковица при активном участии его тогдашнего молодого сотрудника Б. Кобилки были получены клоны и проведена экспрессия  $\beta$ -адренергического рецептора человека. С тех пор Р. Лефковиц лидер в детальном изучении функционирования адренергических рецепторов и в выяснении общих принципов клеточной сигнализации с участием GPCR. Так, например, им открыта киназа  $\beta$ -адренергического рецептора, выяснены многообразные функции  $\beta$ -аррестина, детально охарактеризованы процессы фосфорилирования и десенситизации GPCR. Эти функциональные исследования Р. Лефковица всегда были тесно связаны с медициной, учитывая многообразие физиологических функций адренерги-

ческих рецепторов, в частности, регуляцию сердечной деятельности.

Деятельность Б. Кобилки за последние 20 лет была четко сфокусирована на установлении пространственной структуры GPCR. Не следует забывать, что все GPCR являются мембранными белками, кристаллизация которых, как и любых других мембранных белков, все еще считается чрезвычайно сложной задачей. Первые представления о пространственной структуре GPCR («семь столбов») дала электронная микроскопия бактериородопсина (Henderson, Unwin, 1975). Хотя этот белок представляет собой светоактивируемый протонный насос, а не GPCR, наличие связанного ретиналя и гомология первичных структур позволяли предположить наличие такой же структуры и в истинном GPCR – родопсине. В конце прошлого – начале этого века была получена электронно-микроскопическая структура бактериородопсина высокого разрешения (Henderson, 1998), а также установлена кристаллическая структура родопсина (Palczewski, 2000). Здесь уместно отметить, что первичные структуры бактериородопсина и родопсина были установлены в нашей стране школой акаде-

мика Ю.А. Овчинникова (1982), что потребовало разработки методов выделения и анализа мембранных белков. До установления кристаллической структуры родопсина в качестве модели для анализа пространственной организации GPCR использовали бактериородопсин, затем тем же целям служил родопсин, хотя вполне очевидны ограниченность такого подхода и необходимость знания детальной пространственной организации индивидуальных GPCR. Именно ради этой цели Б. Кобилка с сотрудниками настойчиво совершенствовали весь арсенал методов солюбилизации, стабилизации и кристаллизации мембранных белков, включая синтез новых детергентов, анализ комплексов GPCR с антителами или химеризацию с хорошо кристаллизующимися чужеродными белками, которые однако не нарушают функцию GPCR. Итог – в 2007 году они публикуют кристаллическую структуру  $\beta$ 2-адренергического рецептора с высоким разрешением. Затем появляются структуры комплексов этого рецептора с различными лигандами, что открывает возможности для конструирования новых лекарственных препаратов. При этом был накоплен громадный опыт и разработана



Chris Hildreth/Duke Photography/Duke University



Linda A. Cicero / Stanford News Service

Лауреаты Нобелевской премии по химии 2012 года Роберт Лефковиц и Брайан Кобилка

общая методология, поскольку за последние несколько лет Б. Кобилка и сотрудники установили кристаллические структуры двух индивидуальных подтипов мускариновых ацетилхолиновых рецепторов и  $\mu$ -опиатного рецептора, при этом практически одновременно пространственные структуры еще трех подтипов опиатных рецепторов были установлены в других американских лабораториях. Во всех случаях это не только структуры свободных GPCR-рецепторов, но и их комплексов с фармакологически важными лигандами, что открывает путь к выяснению фармакологических различий для рецепторов одного и того же семейства.

Б. Кобилка и сотрудники установили и структуру комплекса  $\beta 2$ -адренергического рецептора с G-белком. Таким образом, расшифрованные кристаллические структуры не только облегчают создание новых лекарственных препаратов, но и открывают путь к детальному выяснению молекулярных механизмов процессов клеточной сигнализации с участием этих рецепторов.

GPCR – самый распространенный класс мембранных рецепторов, и именно они являются мишенями более чем для 30% имеющихся на рынке лекарств. Но не следует думать, что другие классы мембранных рецепторов не заслуживают внимания или их

пространственные структуры представляют меньший интерес. Хочется напомнить, что в 2003 году Нобелевская премия по химии была присуждена Р. Агре и Р. МакКиннону, по сути, за установление пространственных структур аквапорина и потенциал-зависимого  $K^+$ -канала. В последние несколько лет установлены кристаллические структуры ряда лиганд-управляемых каналов, вовлеченных в формирование памяти, передачу болевых сигналов и участвующих в других важнейших физиологических процессах. ●

**В.И. Цетлин,**  
член-корреспондент РАН