НОБЕЛЕВСКАЯ ПРЕМИЯ ПО ХИМИИ — 2012

11.10.12 |

Лауреаты Нобелевской премии по химии 2012 года Роберт Лефковиц (Robert Joseph Lefkowitz) и Брайан Кобилка (Brian Kobilka). Фото с сайтов dukecheck.com и www.zimbio.com

В среду, 10 октября, Нобелевский комитет объявил лауреатов Нобелевской премии по химии. Ими стали американцы Роберт Лефковиц (Robert Joseph Lefkowitz) и Брайан Кобилка (Brian Kobilka) — за работы по исследованию рецепторов, сопряженных с G-белком (или семиспиральных рецепторов). Непосвященному человеку может показаться, что премию дали за какую-то очень узкую область исследований, но благодаря этим уникальным молекулам, семью белковыми спиралями пронизывающими клеточную мембрану, мы можем чувствовать, реагировать на внешние раздражители и многое другое.

Выбор этого года подтвердил две тенденции, связанные с Нобелевской премией по химии. Во-первых, как обычно, те, кого эксперты и букмекеры называли самыми вероятными кандидатами на премию, ее не получили. («Химического нобеля» прочили Луису Брюсу — за квантовые точки, Акире Фудзисиме — за открытие новых свойств диоксида титана, Масатаке Харуте и Грэму Хатчингсу — за каталитические свойства наночастиц золота.) И во-вторых, в очередной раз вместо премии по химии можно было бы ровно с тем же успехом дать премию по физиологии и медицине. Об этом говорит и специализация обоих лауреатов: Роберт Лефковиц имеет диплом кардиолога, а Брайан Кобилка — выпускник медицинского факультета Йеля. К тому же за открытие и изучение самих G-белков Нобелевская премия была присуждена как раз по физиологии или медицине (ее получили в 1994 году Альфред Гилман и Мартин Родбелл).

Роберт Лефковиц (Robert Lefkowitz) родился в 1943 году в Нью-Йорке в семье еврейских эмигрантов из Польши. В 1962 году получил степень бакалавра искусств в Колумбийском колледже при Колумбийском университете Нью-Йорка, а в 1966 году в Колледже общей терапии и хирургии при том же университете получил степень доктора медицины (MD). С 1968-го по 1970 год работал в системе Национальных институтов здоровья, затем пришел в Главный госпиталь Массачусетса в Бостоне (MGH). С 1973 года — в Университете Дьюка, параллельно в 1973-1976 году занимал позицию исследователя в американской кардиологической ассоциации (American Heart Association), с 1976 года — исследователь в Медицинском институте Говарда Хьюза. Нынешняя лаборатория Лефковица (Lefkowitz Lab) «базируется» в Университете Дьюка. В 2007 году удостоен Национальной медали науки (National Medal of Science), вручаемой указом президента США. В том же году удостоен «азиатского нобеля» — премии Шоу (Shaw Prize).

Брайан Кобилка (Brian Kobilka) родился в 1955 году в штате Миннесота в семье с немецко-польскими корнями. Получил степень бакалавра по биологии и химии в Миннесотском университете, затем степень доктора медицины (MD) на медицинском факультете Йельского университета. Прошел интернатуру в Вашингтонском университете и поступил работать постдоком к Лефковицу. С 1987-го по 2003 год — исследователь в Медицинском институте Говарда Хьюза. Нынешняя лаборатория Кобилки (Kobilka Lab) — в Стэнфордском университете. В 2007 году журнал *Science* назвал его исследования структуры серпентинов одним из прорывов года.

Исследования Лефковица начались в 1968 году, когда он пришел на позицию исследователя в системе Национальных институтов здоровья (NIH). Его работа была связана с изучением рецептора к адренокортикотропному гормону (АКТГ).

Научный руководитель Лефковица собирался использовать в экспериментах радиоактивно меченные лиганды (молекулы, на которые реагирует рецептор): светящаяся молекула, «прилипнув» к рецептору, должна была указать на его положение.

Это был прекрасный план; но реализовать его Лефковицу никак не удавалось. Сейчас мы понимаем, как это трудно: рецепторов мало, и они не «вкопаны» в мембрану, а плавают по ней туда-сюда. Спустя два года бесплодных экспериментов с адренокортикотропным гормоном и рецептором к нему Лефковицу всё же удалось добиться некоторых успехов, хотя и не совсем тех, на которые он рассчитывал: он разработал методику очень точного вычисления концен-трации исходного гормона в плазме с помощью радиогормона. (Lefkowitz RJ, Roth J, Pastan I, 1970.Radioreceptor assay for adrenocorticotropic hormone: new approach to assay of polypeptide hormones in plasma).

После этого Лефковица пригласили работать в Университет Дьюка. Он набрал себе команду и переключил свое внимание с АКТГ на адреналин и его рецепторы. На этой ниве он и сделал свои главные открытия.

Надо отметить, что к тому моменту о рецепторах было известно уже довольно много. Например, в 1960-х годах было обнаружено, что действие адреналина на клетки опосредуется особым типом белков — G-белками (они названы так потому, что способны гидролизовать гуанозинтрифосфат — GTP).

Иными словами, рецептор *каким-то образом* связывается с адреналином, что *каким-то образом* влияет на G-белок, который *каким-то образом* вызывает в клетке те или иные каскады реакций. Ключевой вопрос тут — *каким же образом* всё это происходит, и вот на этот-то вопрос ответа не было. В научном мире ходили самые разнообразные теории для объяснения работы рецепторов, вплоть до самых диких: например, что никакого рецептора нет и что сам адреналин умудряется как-то проникнуть внутрь клетки и изменить ее метаболизм.

И вот Лефковиц и его команда приступили к исследованию адреналиновых рецепторов. На вооружении у них была новая, разработанная Лефковицем методика точного вычисления концентрации гормона, а в данной области исследований знание точной концентрации — это уже половина дела. Долгие годы ученые капали на клетки или клеточные экстракты адреналином или его аналогами; кропотливо измеряли соотношения концентраций различных веществ; подсчитывали термодинамические константы; исследовали взаимодействие белков. (За это время было показано, что адреналиновых рецепторов существует два типа, α и β, и что — более того — каждый из этих типов состоит из нескольких подтипов; команда Лефковица работала преимущественно с β-адренорецепторами). И вот, спустя десятилетие однообразных экспериментов, в 1980 году, исследователям наконец удалось разработать согласующуюся со всеми полученными данными теорию функционирования рецепторов, сопряженных с G-белками. Теория эта (в современном понимании) такова.

В мембране клетки плавает адренорецептор. С внутренней стороны мембраны к нему слабо присоединен (или не присоединен вовсе) G-белок, состоящий из трех субъединиц — α, β и γ — и сцепленный с молекулой гуанозиндифосфата (GDP). Пока на рецептор снаружи не села молекула адреналина, он ведет себя абсолютно мирно и безобидно.

Но стоит рецептору встретиться с адреналином, как в нём начинаются сложные конформационные перестройки, вызывающие вначале крепкое присоединение G-белка, а затем его активацию и отделение. Активация G-белка заключается в том, что в нём от такого потрясения молекула гуанозиндифосфата (GDP) заменяется на молекулу гуанозинтрифосфата (GTP) и он распадается на две части — α-субъединица, соединенная с GTP, плывет в одну сторону, а сцепленные вместе β и γ — в другую. Можно сказать, что, соединившись с лигандом, молекула рецептора вначале притягивает к себе G-белок, а потом пинает его куда подальше так, что этот белок разваливается на кусочки.

Две получившиеся части белка, встретившись с определенными молекулами (таких молекул множество видов, и они называются вторичными посредниками), вызывают их активацию (или, наоборот, деактивацию, зависит от типа посредника), что, в свою очередь, приводит к тем или иным каскадам реакций, которые соответствующим образом изменяют метаболизм и вообще судьбу клетки. Преимущественно в эти игры играет α-субъединица, но и для βγ-димера определенная активность тоже показана. Таким образом, присоединение одной маленькой молекулы к одному маленькому рецептору может вызвать гигантские клеточные перестройки.

Причем, обратите внимание, насколько эта система гибкая: в зависимости от того, какой вторичный посредник попадется под горячую руку (или что там у нее?) соответствующей части белка, каскады в клетке могут быть абсолютно разными.

Да, но что же происходит дальше с субъединицами G-белка? Они постепенно «приходят в себя». α-субъединица рано или поздно гидролизует GTP до GDP; это «выключает» ее активность, и она «мирится» с βγ-димером и воссоединяется с ним. После этого целый, неактивный, связанный с GDP G-белок подплывает к какому-нибудь рецептору, к которому испытывает достаточную аффинность, и соединяется с ним. Как правило, этот рецептор уже активирован лигандом (к нему аффинность у G-белка самая высокая), и вся история повторяется заново.

Это была грандиозная теория. Хотя она объясняла только работу адреналинового рецептора, это было немало. Но это была только половина нынешнего нобелевского открытия. Вторая половина была еще впереди.

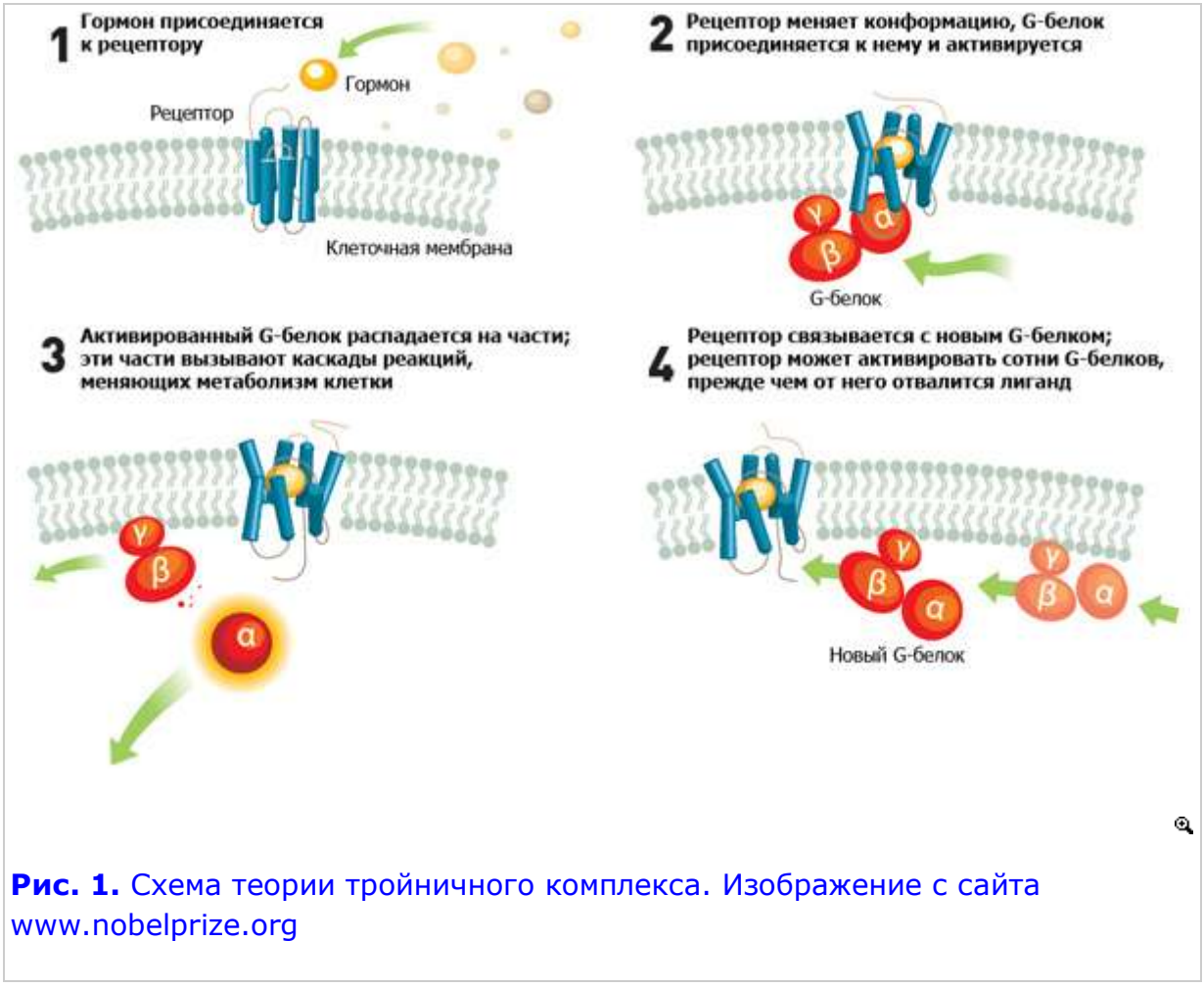

Рис. 1. Схема теории тройничного комплекса. Изображение с сайта www.nobelprize.org

Примерно в то время, когда Лефковиц выдвинул эту теорию (она была названа «теорией тройничного комплекса»), в его лабораторию пришел молодой постдок по имени **Брайан Кобилка.** Лефковиц как раз поставил перед своими сотрудниками амбициозную задачу найти ген, кодирующий адренорецептор, для того чтобы получить этот белок в больших количествах, разобраться как следует в его структуре и понять, каким образом он связывается с лигандом, за счет чего «пинает» G-белок и вообще — почему плавает в мембране.

Задача эта была не просто амбициозна — на тот момент развития науки решить ее было практически невозможно. Найти один-единственный ген в целом огромном геноме было сложней, чем отыскать иголку в стоге сена. Если бы за эту задачу взялся не Брайан Кобилка, а кто-то другой, то она, возможно, так и не была бы решена.

Но Кобилка отличался необыкновенным упрямством, терпением и изобретательностью — у читателя еще будет возможность в этом убедиться. Он (вместе с другими сотрудниками из лаборатории Лефковица) научился выделять этот рецептор в больших количествах, по частям расшифровал его аминокислотную последовательность и уже на основе этой последовательности по кусочкам собрал целый ген и смог его клонировать. Теперь у ученых была нуклеотидная последовательность гена β-адренорецептора, и к тому же они могли путем клонирования получать этот белок в неограниченных количествах.

И оказалось, что белок этот имеет семь трансмембранных доменов.

Семь доменов! Семь! — именно столько, сколько было у совершенно другого, абсолютно несхожего с β-адренорецептором ни по каким статьям, реагирующего на свет рецептора родопсина. Это могло означать потрясающую вещь. Это могло значить, что механизм работы этих двух рецепторов одинаков и описывается моделью тройничного комплекса.

Рис. 2. Изображение β-адренорецептора в момент связывания с лигандом и G-белком. С сайта www.nobelprize.org

Сложно даже описать, что означал для науки этот прорыв. Очень быстро стало понятно, что по принципу тройничного комплекса работают не только β-адренорецептор и родопсин, но и бо́льшая часть других известных к тому моменту рецепторов. (Сейчас таких рецепторов известно около тысячи; они опосредуют общение между клетками; также благодаря им мы видим, слышим, обоняем, осязаем и ощущаем вкус.) Сразу становилась понятной необычайная гибкость клеток при их реакциях на изменения окружающей среды: ведь один и тот же рецептор, соединенный с одним и тем же лигандом, может вызвать в клетке совершенно разные реакции в зависимости от того, какие именно субъединицы G-белков плавают в цитоплазме (существует множество вариаций этих субъединиц), какой там присутствует набор вторичных посредников, и так далее. Сразу открывались огромные перспективы воздействия на эти рецепторы в исследовательских и медицинских целях (достаточно сказать, что почти половина производимых в настоящее время лекарств так или иначе влияет на эти рецепторы). И сразу хотелось изучать эти рецепторы дальше.

И вот тут огромного успеха снова добился Брайан Кобилка. Он покинул лабораторию Лефковица и перешел работать в Стэнфордский университет. И там, в течение более чем двадцати лет он пытался получить кристаллограмму β-адренорецептора в тот момент, когда он связывается с лигандом. Для всех, кроме Кобилки, эта задача была бы нерешаемой. Дело в том, что техника по-

лучения кристаллограмм хорошо отработана только для водорастворимых белков. β-адрено-рецептор же является жирорастворимым — он ведь должен плавать в фосфолипидной мембране. Кобилка использовал совершенно сногсшибательные техники и наконец в прошлом году добился цели: изображение работающего β-адренорецептора было получено.