

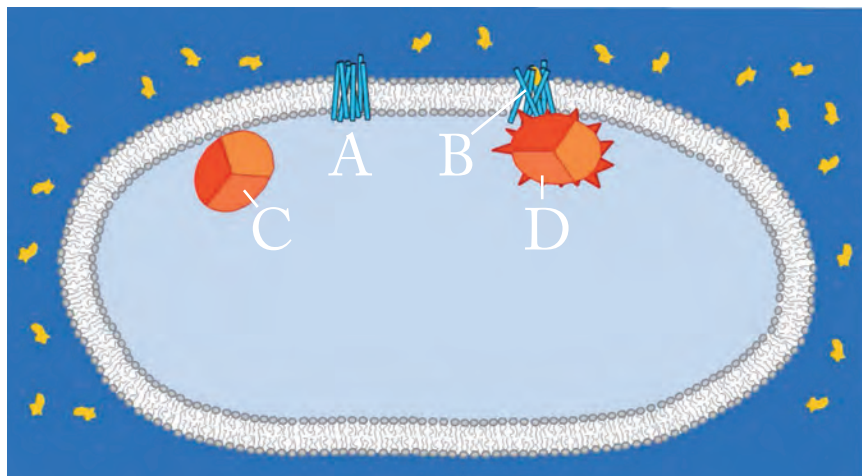
# Posredovanje sporočil celicam.

## Nobelova nagrada za kemijo za leto 2012 za odkritje z G-proteini sklopljenih receptorjev

*Radovan Komel*

Človeško telo je zgrajeno iz neizmerne števila celic - ocenjujejo, da jih je več deset tisoč milijard. Celice, ki se med razvojem človeškega bitja oblikujejo v različne vrste (celične tipe), gradijo tkiva in organe, ki v našem telesu opravljajo različne naloge. Različne celice so namreč razvile sposobnosti opravljanja različnih nalog, od shranjevanja maščob, proizvodnje hormonov, izgrajevanja mišičnega tkiva ... do zaznavanja vidnih in drugih čutnih sporočil iz okolja. Ko se odzivajo na spodbude iz svojega okolja, ustrezna sporočila tudi predajajo svojim partnerjem - celicam v ožji sosesčini, pa tudi

v bolj oddaljenih delih organizma. Seveda je zelo pomembno, da pogovor med njimi poteka na enoten in usklajen način, saj to zagotavlja njihovi skupnosti (organizmu) obstoj in pravilen potek življenjskih procesov. Da »čutijo«, kaj se dogaja v njihovi neposredni okolici in kakšna sporočila prihajajo iz okolja, potrebujejo senzorje. Senzorji na površini celic so površinski receptorji. Sporočila so lahko v obliki molekul, kot so peptidi, hormoni, majhne molekule (na primer molekule vonjav in okusov) in celo svetlobna energija. Številne med omenjenimi molekulami so polarne, topne v vodi, zato ne zmo-



Slika prikazuje celico (svetlo modro) in njeno okolico (temno modro), v kateri so sporočilne molekule (obarvane rumeno). V celično membrano (lipidni dvosloj) je vgrajen membranski (površinski) receptor (A), ki je po zgradbi »transmembranski« protein, saj njegova veriga nekajkrat prebada lipidni dvosloj membrane. Ko se sporočilna molekula veže na receptor (B), ta spremeni obliko in s tem pridobi zmožnost (afiniteto), da pritegne partnerski protein (C), vpliva na spremembo njegove oblike (D) in ga s tem aktivira; ta protein je pomemben za prenos sporočila v notranjost celice. Membranski receptor je seveda navzoč v večjem številu (na sliki sta prikazana samo dva), od števila (koncentracije) sporočilnih molekul v okolici celice pa je odvisno, koliko receptorjev bodo zasedle – posledično je od tega odvisna tudi moč sporočila celici.

Vir: [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2012/advanced-chemistryprize2012.pdf](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012/advanced-chemistryprize2012.pdf)

rejo prehoda skozi celično površino (celično membrano), saj je ta sestavljena iz dvojnega sloja hidrofobnih lipidov. Zato se vežejo na površinske receptorje, jih spodbudijo in s tem povzročijo prenos sporočil v notranjost celice.

Znano je, da se v našem organizmu močno poveča raven enega najbolj poznanih hormonov, adrenalina, ko se čustveno vznemirimo ali prestrašimo; povečata se nam srčni utip in krvni tlak, pospeši se pretvorba maščob in ogljivih hidratov, ki so naša zaloga energije, in organizem se pripravi »za beg in boj«. Ko so znanstveniki ob koncu 19. stoletja raziskovali delovanje tega hormona, so ugotovili, da se njegov učinek ohrani tudi, ko poskusni živali blokirajo živčni sistem. Sklepali so, da morajo celice imeti nekakšna čutila, ki jim omogočijo, da zaznajo kemične spojine iz okolja, kot so hormoni, strupi, zdravila in opojne snovi. Poimenovali so jih receptorji, vendar je do odkritja njihove zgradbe preteklo več desetletij. Danes vemo, zakaj; razmeroma malo jih je na površini posameznih celic in težko jih je pridobiti v čisti obliki, saj so vgrajeni v lipidni dvosloj celične membrane. Bistveni premik v spoznanju njihove zgradbe in delovanja pa je ob koncu šestdesetih let preteklega stoletja dosegel letošnji Nobelov nagrajenec Robert Lefkowitz. Po manj uspešnem začetku iskanja receptorjev za adrenokortikotropin, hormon, ki v nadledvični žlezi spodbuja proizvodnjo adrenalina, se je iz laboratorijev ameriškega NIH (angl. National Institutes of Health, Nacionalni inštitut za zdravje) preselil na Univerzo Duke v Severni Karolini in se tam osredotočil na iskanje receptorjev za noradrenalin in adrenalin. Označevanje molekul z radioaktivnim izotopom joda mu je omogočilo vpogled v začetne dogodke delovanja omenjenih receptorjev in skupaj s sodelavci jih je tudi kmalu izoliral iz različnih tkiv. Zavedal se je, da ima adrenalin različne učinke na različnih tkivih, zato ga ni presenetila navzočnost receptorskih raz-

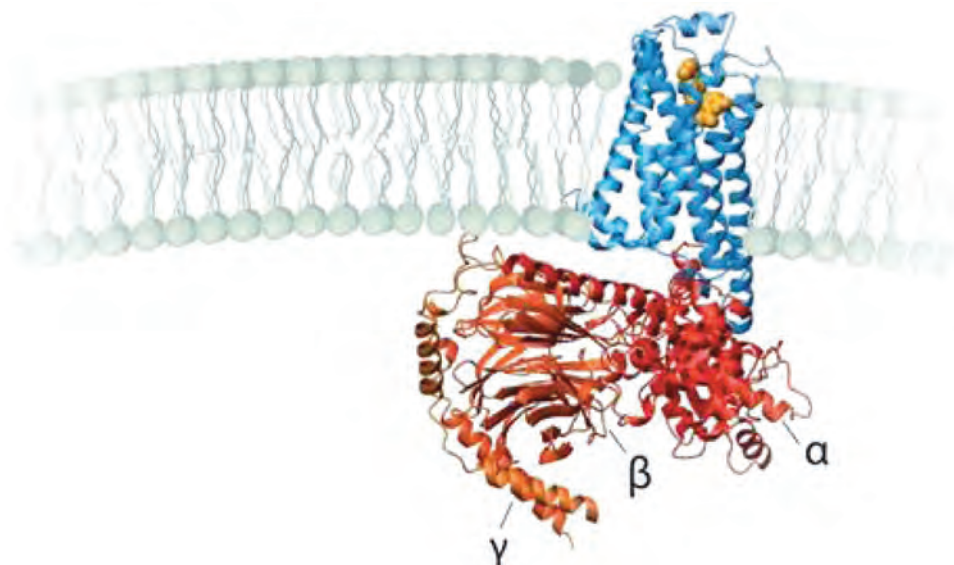
ličic za isto vrsto hormona; danes vemo, da imamo v telesu najmanj devet različnih receptorjev za adrenalin.

Sočasno z njegovim odkritjem je naraščalo tudi znanje o dogajanjih v notranjosti celice. Prišlo je do odkritja tako imenovanih G-proteinov, ki v celici sprožajo verige biokemičnih reakcij celičnega metabolizma. Začeli so iskati povezavo med kemičnimi sporočili iz okolja in aktivacijo metaboličnih procesov v celicah. Sredi osemdesetih let se je Lefkowitz odločil, da bo poskusil najti gen, ki nosi zapis za enega od receptorjev adrenalina,  $\beta$ -receptor; zavedal se je, da bi mu spoznana zgradba gena lahko mnogo povedala o zgradbi in načinu delovanja samega receptorja. V raziskovalno skupino je sprejel Briana Kobilko (drugi letošnji nagrajenec) in temu je izolacija gena tudi resnično uspela. Ko razrešijo njegovo zgradbo, ugotovijo, da proteinski receptor sestavlja sedem hidrofobnih delov, kar po vsej verjetnosti proteinu omogoča sedemkratno prebadanje celične membrane, vmesna bolj polarna območja pa stik z okoljem na eni (zunanji) in drugi (notranji) strani membrane. V nadaljevanju skupaj z Lefkowitzem ugotovita, da imajo podobno zgradbo tudi nekateri drugi receptorji, receptorji za druge hormone, za katere so tudi že vedeli, da na notranji celični strani lahko interagirajo z že omenjenimi G-proteini. Njun sklep je bil: obstaja obsežna družina membranskih receptorjev, ki so si po zgradbi zelo podobni in tudi delujejo na enak način.

Uspehi na področju določevanja genske zgradbe in na tej podlagi zgrajenih sklepov o zgradbi proteinov so pomenili izziv za določitev resnične zgradbe receptorjev, povezanih z G-proteini, ki jih danes imenujemo z G-proteini sklopljeni receptorji (angl. G-Protein Coupled Receptors, GPCR). Za dosego tega cilja je bilo treba receptorje izolirati, jih prečistiti, pridobiti njihove kristale in z X-žarki določiti njihovo atomsko zgradbo. Brian Kobilka, ki se je medtem preselil na Medicinsko fakulteto Univerze v

Stanfordu v Kaliforniji, je za to potreboval dve desetletji. Do takrat so večinoma uspeli kristalizirati in določevati molekulske zgradbo vodotopnim proteinom, medtem ko so membranski receptorji zelo hidrofobni proteini in poleg tega tudi izredno mobilni (saj jim ravno dinamične spremembe njihove oblike omogočajo prenos sporočil), za uspešno kristalizacijo pa je potrebno »popolno

mirovanje«. Kobilka in njegova skupina sta kljub temu uspela in letos v reviji *Nature* objavila štiri članke o delovanju različnih z G-proteini sklopljenih receptorjev, ki opisujejo, kako receptor deluje v trenutku, ko prejme sporočilo (veže hormon) na zunanji strani in ga zaradi posledične spremembe svoje oblike preda G-proteinom, ki se vežejo nanj na notranji strani.



Na zunanji strani celice se na receptor (z G-proteini sklopljeni receptor, v modri barvi - GPCR) veže hormon (v rumeni barvi), kar ima za posledico verižno spreminjanje oblike receptorja. To valovanje podajajočih se sprememb med vezmi, ki povezujejo atome molekule GPCR, se na notranji strani odrazi v spremembi oblike notranjega dela receptorja in s tem povečanju afinitete do bližnjega G-proteina (v rdeči barvi), ki je sestavljen iz treh podenot,  $\alpha$ ,  $\beta$  in  $\gamma$ . V podenoti  $\alpha$  je vezana majhna molekula GDP (gvanozin diifosfat), zato se taki proteini tudi imenujejo G-proteini. Zaradi vezave na receptor GPCR se spremeni oblika G-proteina in zato se izgubi tudi njegova afiniteta do GDP, to mesto v  $\alpha$ -podenoti pa zasede energijsko bolj bogata molekula GTP (gvanozin trifosfat), kar ima za posledico, da se podenote G-proteina ločijo in vsaka od njih v celici nato lahko opravi svojo vlogo. Največkrat je omenjena vloga  $\alpha$ -podenote, ki lahko pripotuje do bližnjega encima, na notranjosti celične membrane vezane adenilatne ciklaze (AC), jo z vezavo nanjo aktivira in ta nato iz molekul ATP (adenozin trifosfat) izdeluje molekule cikličnega adenozin monofosfata (cAMP), ki je tako imenovani »sekundarni obveščevalec« - v celici lahko aktivira številne encime in s tem pospeši metabolizem, v nekaterih primerih pa lahko deluje tudi v celičnem jedru kot aktivator izražanja nekaterih genov. Nekateri drugi celični proteini pa lahko interagirajo tudi s podenotama  $\beta$  in  $\gamma$ , ki tako dodatno prispevata k odgovoru celice na zunanje sporočilo (na primer hormon). Ko je receptor GPCR v aktivni obliki, ta navadno traja dovolj dolgo, da omogoči eni vezani sporočilni molekuli (na primer hormonu ..., v primeru vidnega cikla tudi adsorbiranemu fotonu), da ta aktivira večje število G-proteinov – tako pride do pomnožitve začetnega signala oziroma sporočila. Sporočanje ugasne, ko na zunanji strani celice pade število sporočilnih molekul, v notranjosti pa sčasoma GTP v  $\alpha$ -podenoti reagira z vodo in se pretvori v GDP, kar ima za posledico reasociacijo vseh treh podenot v neaktiven G-protein.

Leta 2002 je bila objavljena nukleotidna zgradba človeškega genoma, ki je med drugim razkrila, da imamo blizu tisoč genov, ki zapisujejo različne z G-proteini sklopljene receptorje. Polovica teh receptorjev je odgovornih za sprejemanje molekul vonjav, tretjina so receptorji za hormone in druge sporočilne molekule, kot so adrenalin, dopamin, serotonin, prostaglandini, glukagon, histamin ... Nekateri receptorji, kot že omenjeno, lahko v celicah očesne mrežnice lovijo svetlobne fotone in s prenosom sporočila omogočajo vid. Drugačne receptorje imamo v celicah jezika in ti omogočajo sprejemanje molekul okusa in podobno. Za številne receptorje poznamo kar nekaj različic, ki omogočajo eni in isti sporočilni molekuli različno sporočilnost v različnih celicah oziroma tkivih in organih; v nekaterih celicah je tako sporočilo lahko spodbuda celičnega metabolizma, v drugih pa lahko tudi zaviranje. Nekateri receptorji so lahko tudi »multifunkcionalni«, kar pomeni, da ena sama vrsta prepozna različne sporočilne molekule in se nanje tudi različno odziva. Robert J. Lefkowitz in Brian K. Kobilka sta

prejela letošnjo Nobelovo nagrado za kemijo zaradi odkritja načina delovanja z G-proteini sklopljenih receptorjev. Po njuni zaslugi vemo, da je večina fizioloških procesov v našem organizmu odvisnih od z G-proteini sklopljenih receptorjev. Na teh spoznanjih temelji tudi velik del sodobne medicine, saj skoraj polovica zdravil deluje na ravni omejenih receptorjev, med njimi so zdravila za lajšanje bolečin, za bolezni prebavil (beta blokatorji), antihistaminiki, zdravila, ki se uporabljajo v psihiatriji, zdravila pri srčno-žilnih boleznih, boleznih dihal, osrednjega živčevja in drugo. Z njihovo uporabo delovanje z G-proteini sklopljenih receptorjev in s tem prenos molekulskih sporočil lahko popolnoma zavremo ali v drugih primerih tudi izboljšamo, zato z G-proteini sklopljeni receptorji tudi v prihodnosti ostajajo eni od pomembnih tarč za razvoj novih zdravil in oblik zdravljenja.

*Literatura:*

*Nobelprize.org – The Official Web Site of the Nobel Prize*  
(<http://www.nobelprize.org/>).



*Robert J. Lefkowitz je Američan, rojen leta 1943 v New Yorku. Od leta 1966 je raziskoval na Univerzi Columbia v New Yorku, nato na Medicinskem Inštitutu Howard Hughes, danes pa je kot profesor zaposlen na Medicinski fakulteti Univerze Duke v Durhamu, kjer poučuje biokemijo.*



*Brian K. Kobilka, Američan, rojen leta 1955 v Little Fallsu v Združenih državah Amerike, po osnovni izobrazbi zdravnik, je bil v osemdesetih letih podoktorski raziskovalec pri Lefkowitzu, nato pa je raziskovalno pot nadaljeval na Medicinski fakulteti Univerze v Stanfordu v Kaliforniji, kjer poučuje molekularno in celično fiziologijo.*