

Методы стабилизации комплекса GPCR-G-белок: анализ существующих подходов

Научный руководитель – Лугинина Александра Павловна

Сорокина Тамара Максимовна

Студент (бакалавр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: sorokina.tm@phystech.edu

Рецепторы, сопряжённые с G-белком (GPCR), представляют собой наиболее распространённые мембранные белки человека и являются ключевыми мишенями для разработки лекарственных препаратов, поскольку участвуют в передаче сигналов в различных физиологических процессах. Одной из актуальных задач современной структурной биологии является определение структуры GPCR в активном состоянии в комплексе с G-белком. Процесс активации рецептора сопровождается обменом GDP на GTP в G-белке, что приводит к его диссоциации на α - и $\beta\gamma$ -субъединицы. В связи с этим необходимы методы, позволяющие стабилизировать комплекс GPCR-G-белок для его последующего исследования методами крио-ЭМ и рентгеновской кристаллографии. Целью настоящего исследования является анализ существующих методов стабилизации комплекса GPCR-G-белок на основе данных научной литературы, а так же получение генетических конструкций рецептора и G-белка с использованием этих методов.

Анализ научной литературы проводился с использованием баз данных Google Scholar и Protein Data Bank (PDB). Для получения генетических конструкций комплекса GPCR-G-белок применялось безлигазное клонирование, включающее интеграцию фрагментов NanoBiT и введение точечных мутаций в α -субъединицу G-белка. Проверка успешности клонов осуществлялась методом секвенирования и электрофореза.

В ходе исследования были выявлены три основных подхода к стабилизации комплекса GPCR-G-белок:

- 1) **NanoBiT** – метод, основанный на использовании разделённой люциферазы (LgBiT и HiBiT). Присоединение LgBiT к С-концу рецептора и HiBiT к β -субъединице G-белка способствует стабилизации комплекса за счёт взаимодействия фрагментов люциферазы.
- 2) **Dominant negative G-alpha** – введение специфических мутаций в α -субъединицу G-белка, препятствующих его диссоциации и, таким образом, увеличивающих стабильность комплекса.
- 3) **Нанотела и антитела** – использование специфических фрагментов антител, способствующих стабилизации взаимодействий между субъединицами комплекса. Кроме того, могут создаваться химеры из двух G-белков (например, Gi/Gs), что позволяет использовать несколько антител для одного типа G-белка.

В рамках исследования были успешно получены три бакмидные конструкции: GPCR-LgBiT, DN-G α и G β -HiBiT-G γ .

Анализ показал, что стабилизация комплекса GPCR-G-белок является сложной задачей, требующей применения различных подходов. Использование системы NanoBiT, мутаций в α -субъединице G-белка и фрагментов антител демонстрирует высокую эффективность в повышении стабильности комплекса. Полученные результаты могут быть полезны для дальнейших структурных исследований GPCR и разработки новых фармакологических стратегий.