

Оптимизация генно-инженерных конструкций рецептора человека GPR17 класса GPCR в целях повышения его стабильности и мономерности для структурных исследований

Н.А. Вартамян¹, А.П. Лугинина¹, А.Ю. Гусач¹, А.В. Мишин¹, В.Г. Черезов^{1,2}

¹Московский физико-технический институт (государственный университет)

²The University of Southern California, Los Angeles, USA

Структурные исследования рецепторов, сопряженных с G-белком (G-protein coupled receptors, GPCR), чрезвычайно важны для фармакологии. Около 40% выпущенных на рынок лекарственных препаратов направленно действуют именно на рецепторы класса GPCR.

GPR17 является рецептором, сопряженным с G белком, экспрессирующимся в клетках мозга, почек и сердца. Он находится на δ -ветви родопсиноподобных GPCR рядом с лейкотриеновыми рецепторами – CysLT1 и CysLT2. Сам GPR17 взаимодействует не только с лейкотриенами, но и с пуринами. Среди его лигандов – LTC₄, LTD₄, ATP, UDP и UDP-сахара.

GPR17 играет неоднозначную и важную роль в восстановлении клеток головного и спинного мозга после повреждений. Предполагается, что сразу после повреждения GPR17 участвует в регуляции клеточной смерти, но спустя некоторое время он начинает принимать участие в механизмах регенерации клеток. [1]

Возможно, лекарства, изменяющие активность GPR17, помогут в борьбе с рассеянным склерозом и ишемией. При ингибировании GPR17 уменьшились повреждения мозга в смоделированной ишемической болезни крысы [2]. Кроме того, GPR17 участвует в образовании миелиновой оболочки нервных волокон [3], а потеря миелина нервными клетками ведет к рассеянному склерозу.

Знание структуры рецептора будет способствовать разработке более специфичных лекарственных препаратов с меньшим числом побочных эффектов.

В ходе данной работы было создано более 40 генно-инженерных конструкций GPR17. Каждая конструкция содержит партнерный белок, предназначенный для стабилизации GPR17 и создания кристаллических контактов [4]. Кроме того, варьировались длины N и C-концов рецептора, а также было проанализировано влияние точечных мутаций. В результате работы была выявлена оптимальная для экспрессии в клетках насекомых *Sf9* конструкция, имеющая хорошие показатели выхода, стабильности и мономерности, т.е. именно тех качеств, которые необходимы для дальнейших структурных исследований.

Литература

1. Parravicini C. [et al.]. Forced unbinding of GPR17 ligands from wild type and R255I mutant receptor models through a computational approach // BMC Structural Biology. – 2010. – V.10. – P. 8.
2. Rovati G. E., Capra V. Cysteinyl-leukotriene receptors and cellular signals //The Scientific World Journal. – 2007. – V. 7. – P. 1375-1392.
3. Hennen S. [et al.]. Decoding signaling and function of the orphan G protein-coupled receptor GPR17 with a small-molecule agonist //Science signaling. – 2013. – V. 6. – N 298. – P. ra93.
4. Chun E. [et al.]. Fusion partner toolchest for the stabilization and crystallization of G protein-coupled receptors //Structure. – 2012. – V. 20. – N 6. – P. 967-976.