

Stefan Mordalski

Computational studies on the structures of G protein-coupled receptors. Tools supporting homology modeling and the analysis of ligand-receptor interactions.

Streszczenie

Receptory sprzężone z białkiem G (ang. *G Protein-Coupled Receptors* – GPCR) stanowią rozległą i niezwykle zróżnicowaną rodzinę błonowych białek sygnałowych, odpowiedzialnych za przekazanie bodźca z zewnątrz do wnętrza komórki. Do tej pory odkryto ponad 800 ludzkich receptorów należących do tej rodziny, które zostały podzielone na pięć klas (GRAFS: Glutamate, Rhodopsin, Adhesion, Frizzled/Taste2, Secretin) bazując na podobieństwie sekwencyjnym. Z uwagi na zaangażowanie w ogromną liczbę procesów fizjologicznych, receptory sprzężone z białkiem G stanowią atrakcyjny cel badań zarówno ośrodków akademickich jak i firm farmaceutycznych.

Wszystkie receptory GPCR charakteryzują się obecnością heptahelikalnej domeny penetrującej błonę komórkową, będącej równocześnie punktem uchwytu dla ligandów, zarówno orto- jak i allosterycznych, trzema pętlami zewnątrzkomórkowymi oraz trzema wewnątrzkomórkowymi. Badania strukturalne i funkcjonalne (uhonorowane nagrodą Nobla dla Briana Kobilki i Roberta Lefkowitza w roku 2012) przyniosły znaczny postęp w zrozumieniu molekularnego mechanizmu aktywacji i przekazywania sygnału przez receptory GPCR, a rozwój krystalografii białek błonowych, który dokonał się w ostatnim dziesięcioleciu pozwolił na poznanie trójwymiarowej struktury ponad trzydziestu różnych receptorów sprzężonych z białkiem G.

Pomimo rosnącej liczby dostępnych struktur krystalicznych, liczba sekwencji w rodzinie GPCR powoduje, że metody przewidywania struktury w dalszym ciągu cieszą się popularnością. Ta rozprawa podnosi temat modelowania porównawczego receptorów GPCR w zastosowaniu do wirtualnego przesiewania bibliotek związków chemicznych, które ma na celu znalezienie nowych ligandów o potencjale terapeutycznym. Przeprowadzone badania koncentrowały się na porównaniu efektywności przesiewania (w eksperymentach retrospektywnego badania przesiewowego dla receptora β_2 adrenergicznego) w oparciu o struktury wykrystalizowane lub modele homologiczne. Użyta nowa metodyka wykorzystywała zestawy konformacji receptora, do których dokowane były struktury

związków chemicznych. Uzyskane w ten sposób zbiory kompleksów ligand-wiele modeli receptora analizowane były przy użyciu deskryptorów profili oddziaływań strukturalnych SIFt, które umożliwiły scalenie znacznej liczby kompleksów w jeden analizowany obiekt. Wykorzystując metody uczenia maszynowego zostały przeprowadzone eksperymenty klasyfikacji kompleksów związków aktywnych i nieaktywnych. W przeprowadzonych badaniach eksperymenty przesiewowe oparte o struktury krystaliczne wypadły pod względem efektywności klasyfikacji znacznie gorzej od modeli homologicznych.

Dodatkowo, w toku prowadzonych badań został opracowany szereg narzędzi umożliwiających analizę oraz manipulację strukturami receptorów z rodziny GPCR w oparciu o uogólnioną numerację aminokwasów. Narzędzia do superpozycji struktur, przypisywania uogólnionych pozycji reszt do zadanej struktury, a także wykorzystujące wyodrębnione fragmenty struktur krystalicznych zostały udostępnione w serwisie GPCRdb.org.

W ramach rozprawy doktorskiej został również opracowany nowy deskryptor opisujący kompleks ligand-receptor znacznie dokładniej od deskryptora SIFt, a jednocześnie umożliwiający pracę z ogólnymi pozycjami aminokwasów oraz łatwą wizualizację kluczowych interakcji w miejscu aktywnym.