



FORSCHUNGSARBEIT

„Unterscheidung von Signalwegen mit Licht“

TIMO LITTMANN

Internationales Doktorandenkolleg Receptor Dynamics

Universität Regensburg, Dezember 2018

Unterscheidung von Signalwegen mit Licht

Timo Littmann ist ein Alumnus des Internationalen Doktorandenkollegs „Receptor Dynamics – Emerging Paradigms of Novel Drugs“. Er hat seine Doktorarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Armin Buschauer an der Universität Regensburg angefertigt. Der Biochemiker hat Methoden für die verlässliche Charakterisierung von molekularen Werkzeugen und potenziellen neuen Wirkstoffen entwickelt, welche, obwohl sie nur eine einzige Zielstruktur adressieren – in diesem Fall einen bestimmten G-Protein-gekoppelten Rezeptor (GPCR) – unterschiedliche nachgeschaltete Effekte haben können.

Physiologische und pathophysiologische Rolle von GPCRs

Da in etwa 34% aller Medikamente über GPCRs wirken, sind letztere eine sehr wichtige Klasse von biologischen Zielstrukturen. Klassischerweise wurden GPCRs als einfache Kippschalter (ein/aus) betrachtet, die durch die Bindung einer bestimmten Verbindung, eines sog. Agonisten, angeschaltet werden. Zellen „kommunizieren“ miteinander mit Hilfe endogener Agonisten. Im Krankheitszustand kann diese „Kommunikation“ entweder zu stark, oder zu schwach ausfallen. Medikamente (Liganden) verhindern entweder die Wirkung endogener Agonisten (stellen also Antagonisten dar) oder verstärken sie (Agonisten).

GPCRs sind mehr als ein/aus-Schalter

Nach dem o.g. Konzept kann ein GPCR nur einen einzigen intrazellulären Signalweg aktivieren, was eine spezifische zelluläre Antwort zu Folge hat. Die Forschung der letzten zwei Jahrzehnte hat allerdings gezeigt, dass verschiedene Signalwege nach der Agonistbindung aktiviert werden können und dass das Ausmaß, in dem ein entsprechender Weg aktiviert wird, von der chemischen Struktur des gebundenen Agonisten abhängt. In diesem Kontext hat sich herausgestellt, dass die Aktivierung bestimmter Signalwege für unerwünschte Arzneimittelwirkungen verantwortlich sein kann. Da allerdings die Struktur des Agonisten sowohl Art und Stärke der Aktivierung eines jeweiligen Signalwegs bestimmen, können diese unerwünschten Wirkungen möglicherweise durch die Synthese von signalwegspezifischen Agonisten vermieden werden.

Unterscheidung zwischen Signalwegen mithilfe von rotem und blauem Licht

Um diese Prozesse besser zu verstehen, hat Timo Littmann zwei verschiedene Techniken entwickelt, die im Anschluss zu einer multiparametrischen Methode kombiniert wurden. Letztere Methode wurde genutzt, um G-Protein- und β -arrestinabhängige Signalwege zu untersuchen. Aktuell ist die Anwendung zweier verschiedene Methoden nötig, um Signalprofile von Agonisten zu erhalten. Das ist zeitintensiv und kann zu Fehleinschätzungen der Profile führen. In seiner multiparametrischen Methode hat er Proteine, sog. Luziferasen, verwandt, die aus Glühwürmchen oder lumineszenten Meeresorganismen stammen. Sie sind in der Lage „verschiedenfarbiges“ Licht zu emittieren, wenn passende Substrate bereitgestellt werden. Diese Proteine können künstlich in zwei inaktive Fragmente zerlegt und mit Proteinen fusioniert werden, die dann innerhalb einer Signalkaskade miteinander interagieren. Tritt diese Interaktion ein, rekonstituieren die

Fragmente die Luziferase, welche dann Licht emittiert. Die Lichtintensität ist direkt proportional zur Stärke der Aktivierung des Signalwegs.

Timo Littmann nutzte eine rot-emittierende Luziferase um den G-Proteinabhängigen und eine blauemittierende Luziferase um den β -arrestinabhängigen Signalweg zu messen (Abb. 1). Durch die Unterscheidung der Lichtfarben gelang eine Differenzierung zwischen aktivierten Signalwegen.

Die beschriebene Technik wurde erfolgreich für verschiedene GPCRs genutzt. Je nach Rezeptor und verwendetem Agonisten wurden beide Signalwege entweder in ausgewogener Weise aktiviert oder die β -Arrestinrekrutierung war erst bei erheblich höheren Agonistkonzentrationen zu beobachten (

Abb. 2).

Die entwickelte Methode sollte durch eine schnellere und verlässlichere Charakterisierung von Substanzen dabei helfen, die differenziellen Effekte von GPCR-Liganden besser zu verstehen und könnte u.U. bei der Entwicklung neuer Medikamente mit reduzierten unerwünschten Wirkungen nützlich sein.

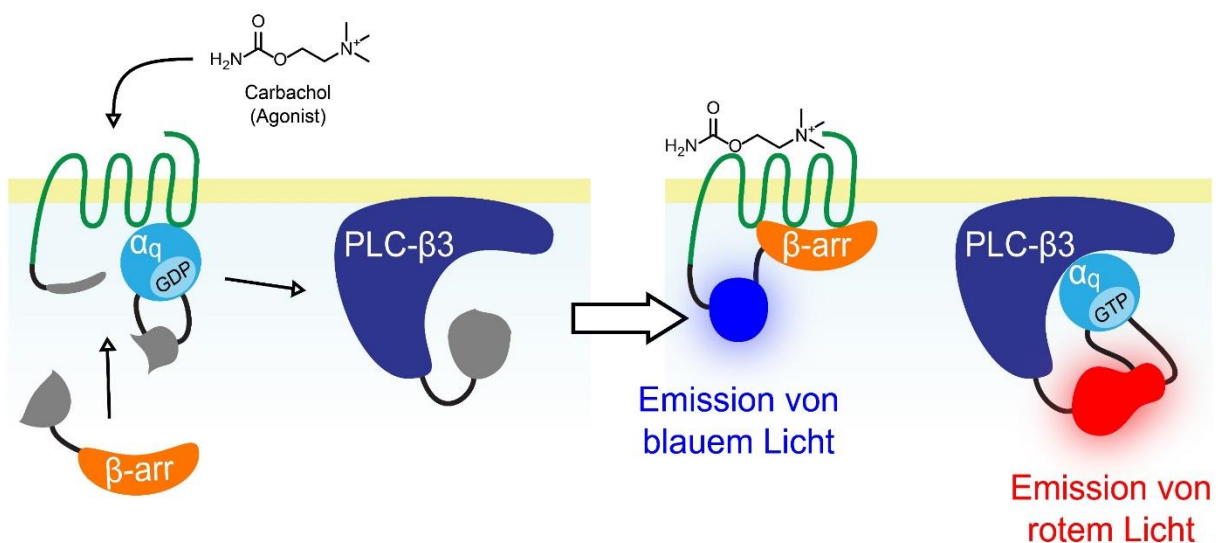


Abb. 1: Schematische Illustration des Messprinzips

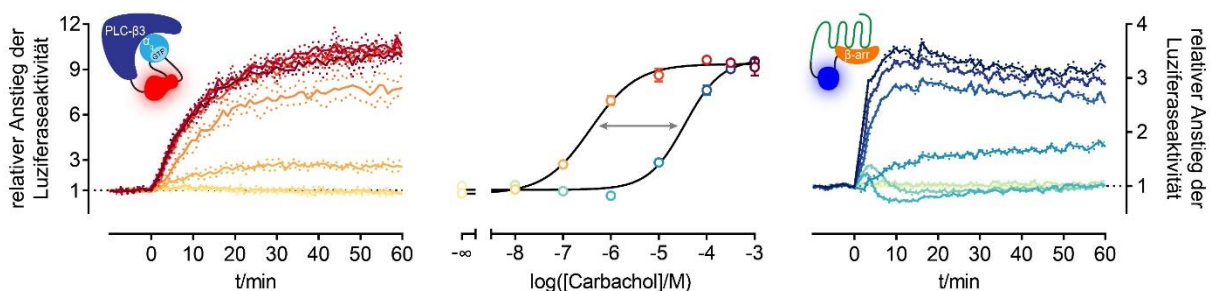


Abb. 2: Exemplarische Ergebnisse zu Carbachol, welches den humanen muskarinischen Acetylcholinrezeptor M1 aktiviert. Die Aktivierung von G α_q Proteinen ist bereits mit 100 nM Carbachol zu beobachten, wohingegen 10 μ M nötig sind, um β -Arrestin2 Rekrutierung hervorzurufen.

Weitere Informationen:

[🔗 https://doi.org/10.1038/s41598-018-35615-w](https://doi.org/10.1038/s41598-018-35615-w)