



Jagten på et signalstof til hjernens delta2-receptor

Naur, Peter; Olsen, Lars; Gajhede, Michael; Kastrup, Jette Sandholm Jensen

Published in:
Lægemiddelforskning

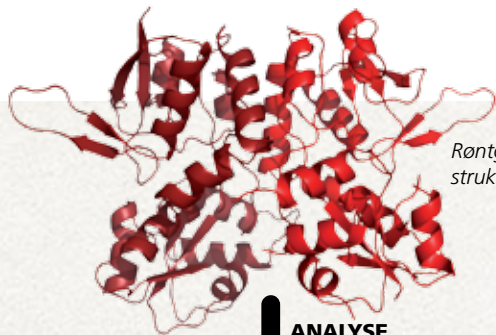
Publication date:
2007

Document version
Også kaldet Forlagets PDF

Citation for published version (APA):
Naur, P., Olsen, L., Gajhede, M., & Kastrup, J. S. J. (2007). Jagten på et signalstof til hjernens delta2-receptor. *Lægemiddelforskning*, 32-33.

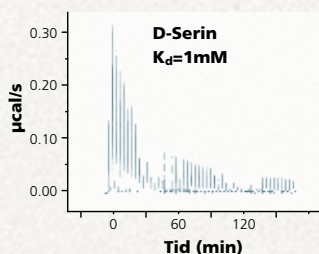
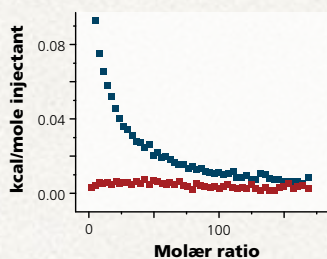


Jagten på et signalstof til hjernens delta2-receptor



Røntgenkrystallografi-
struktur uden stof bundet

ANALYSE



Isotermisk
titrerings-
kalorimetri.
Binding
af D-serin



Røntgenkrystallografi-
struktur med D-serin

MUTATIONS-
STUDIER

FARMAKOLOGI/
ELEKTROFYSIOLOGI

ISOTERMISK
TITRERINGS-
KALORIMETRI

RØNTGEN-
KRISTALLOGRAFI

VEJEN TIL OPKLARING AF RECEPTORENS SIGNALSTOF OG FUNKTION

Røntgenkrystallografi er en vigtig metode til at bestemme den tredimensionelle struktur af molekyler – store som små. Først dyrkede vi en krystal af delta2-receptoren, og derefter belyste vi proteinkrystallen med intens røntgenstråling. Elektronskyerne omkring atomerne i proteinmolekylet spredte røntgenstrålen, hvorved der dannes et spredningsmønster. Ud fra mønstret er det muligt at beregne, hvilke atomer proteinet består af, og hvordan samtlige atomer er placeret i forhold til hinanden. På den måde opklarede vi den tredimensionelle struktur af delta 2-receptoren.

Ved hjælp af isotermisk titreringskalorimetri viste vi nu, at D-serin binder til delta2-receptoren. Så brugte vi igen røntgenkrystallografi til at bestemme strukturen af delta2 med bundet signalstof.

Hermed er vejen åbnet for en lang række af eksperimenter med henblik på yderligere at karakterisere receptoren. Fx vil vi prøve på at identificere andre stoffer, som binder til receptoren ved hjælp af isotermisk titreringskalorimetri og elektrofysiologiske metoder. Man kan derefter forsøge at krystallisere receptoren med disse stoffer for at karakterisere bindingen på atomart niveau. En øget forståelse af delta2-receptorens betydning og funktion kan også opnås ved at udføre mutationsstudier, hvorved én aminosyre i delta2-receptoren udbyttes med en anden aminosyre.

Delta2-receptoren har stor betydning for hjernens udvikling, og mus, som mangler receptoren, udvikler sig unormalt. Men det har længe været et mysterium, hvilket signalstof der binder til receptoren. Det besluttede vi os for at gøre noget ved!

Af Peter Naur, Lars Olsen, Michael Gajhede og Jette Sandholm Kastrup

Kommunikation mellem nervecellerne i menneskets hjerne er en kompleks sag, som involverer en lang række receptorer og signalstoffer. I dag er langt fra alle komponenterne kendte. Et centralt mål med forskningen i den Biostrukturelle Forskningsgruppe på FARMA er at samle nogle af brikkerne i dette komplicerede puslespil.

En af de receptorer, som man ved har stor betydning for hjernens udvikling, er den såkaldte delta2-receptor. Forskellige studier har vist, at mus, der mangler receptoren, ikke udvikler sig normalt, og de har bl.a. problemer med at koordinere deres bevægelser. Det har længe været et mysterium, hvilket signalstof der binder til receptoren, og derfor har det endnu ikke været muligt at studere receptoren i detaljer. Derfor gik vi på jagt efter delta2-receptorens signalstof.

Første mål – hvordan ser receptoren ud?

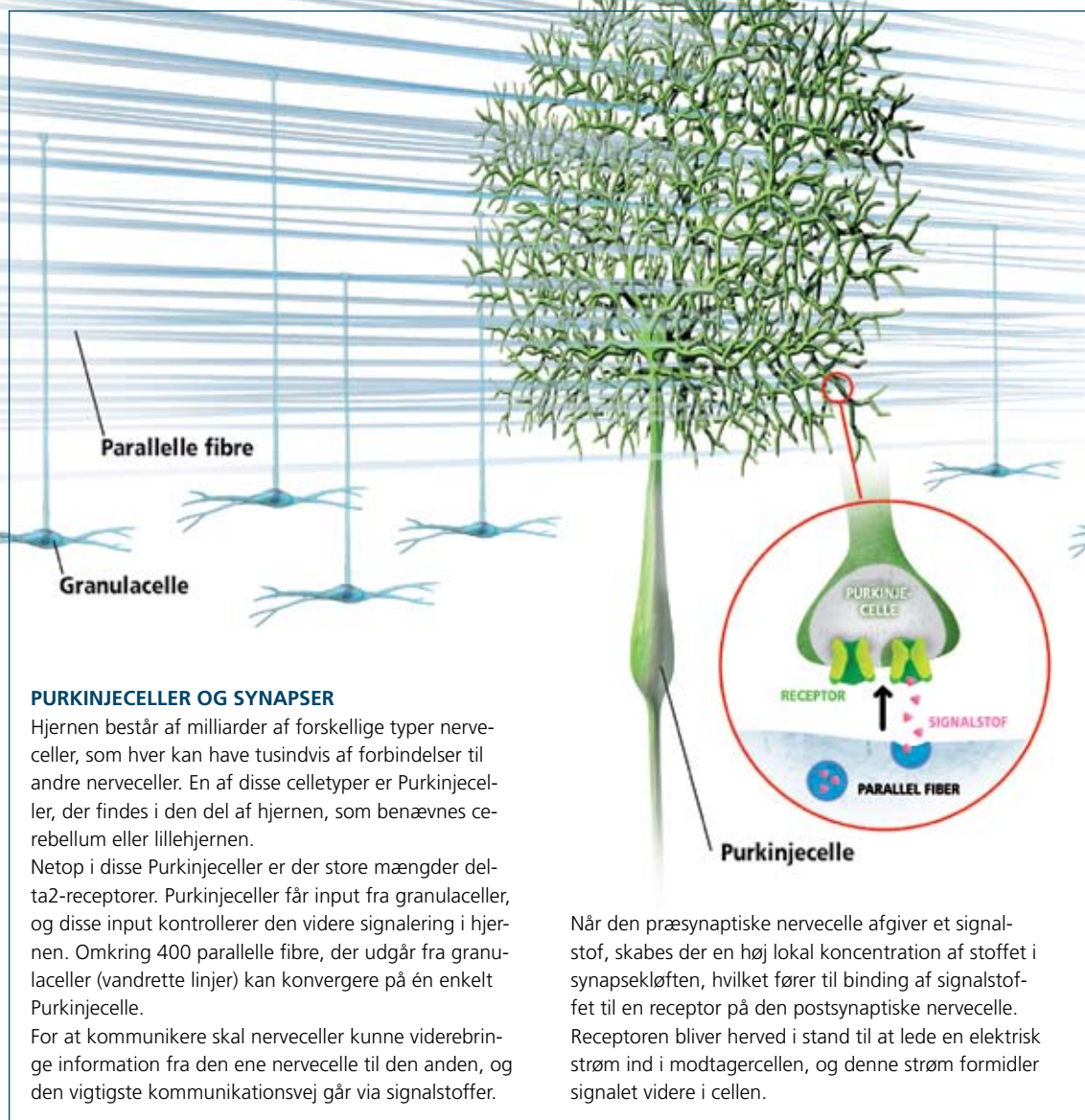
Receptorer er proteiner, og i gruppen arbejder vi med at bestemme proteiners tredimensionelle strukturer på atomart niveau ved hjælp af en teknik, der kaldes røntgenkrystallografi. Med denne metode kan man se, hvordan de enkelte atomer i et proteinmolekyle er placeret i forhold til hinanden. Ved at anvende røntgenkrystallografi på delta2-receptoren fik vi et billede af, hvordan receptoren ser ud, når der ikke er noget signalstof bundet.

Binding af et signalstof til en receptor kan sammenlignes med at stikke en nøgle i en lås. Receptoren er låsen, og signalstoffet er nøglen, der kan åbne receptoren og aktivere den. Ved at opklare den tredimensionelle struktur af delta2-receptoren havde vi altså fundet ud af, hvordan låsen ser ud. Nu manglede vi bare at finde ud af hvilken nøgle, der passede i nøglehullet.

Andet mål – hvilket stof binder til delta2?

Vi havde allerede en ide om, hvor vi skulle begynde at kigge. Delta2-receptoren minder om en klasse af receptorer i hjernen, der binder aminosyren glutaminsyre. På grund af ligheden mellem receptorerne var der grund til at formode, at delta2-receptorens signalstof også ville være en aminosyre. En nærmere undersøgelse af den rumlige struktur af delta2-receptoren gav ikke noget entydigt svar, men vi fik nogle ideer til, hvilket signalstof der kunne være tale om. Ikke mindst kunne strukturen bruges til at udelukke en række stoffer.

Tilbage var en relativ kort liste af aminosyrer, som vi testede for binding til delta2-receptoren ved hjælp af en metode, der kaldes isotermisk titreringskalorimetri. Med denne tek-



PURKINJECELLER OG SYNAPSER

Hjernen består af milliarder af forskellige typer nerveceller, som hver kan have tusindvis af forbindelser til andre nerveceller. En af disse celletyper er Purkinjeceller, der findes i den del af hjernen, som benævnes cerebellum eller lillehjernen.

Netop i disse Purkinjeceller er der store mængder delta2-receptorer. Purkinjeceller får input fra granulaceller, og disse input kontrollerer den videre signalering i hjernen. Omkring 400 parallelle fibre, der udgår fra granulaceller (vandrette linjer) kan konvergere på én enkelt Purkinjecelle.

For at kommunikere skal nerveceller kunne viderebringe information fra den ene nervecelle til den anden, og den vigtigste kommunikationsvej går via signalstoffer.

Når den præsynaptiske nervecelle afgiver et signalstof, skabes der en høj lokal koncentration af stoffet i synapsekløften, hvilket fører til binding af signalstoffet til en receptor på den postsynaptiske nervecelle. Receptoren bliver herved i stand til at lede en elektrisk strøm ind i modtagercellen, og denne strøm formidler signalet videre i cellen.

nik måler man den meget lille varme, der udvikles eller forbruges, når et stof binder til et protein. På den måde fandt vi ud af, at et af de stoffer, som vi mistænkte for at kunne binde til delta2-receptoren, rent faktisk bandt til receptoren. Der var tale om aminosyren D-serin. Derudover så vi, at andre stoffer, fx aminosyren glycin, kunne binde til receptoren dog med lavere affinitet end D-serin.

For at undersøge på atomart niveau, hvordan D-serin binder til delta2-receptoren, bestemte vi strukturen af receptoren sammen med dette stof. Strukturen viste, at D-serin binder i en lomme i receptoren, og at lommen er perfekt formet til D-serin.

En stor oplevelse!

Oplevelsen mindede om det øjeblik, hvor man i et puslespil får to brikker til at passe sammen og som dernæst får en masse andre brikker til at falde på plads. D-serin er nemlig et kendt signalstof i hjernen, og man har allerede kendskab til andre receptorer i hjernen, der binder D-serin. Her havde vi altså pludselig fået parret en kendt receptor, som man ved er vigtig for hjernens udvikling, med et kendt – og vigtigt – signalstof. For eksempel har D-serin været i klinisk afprøvning som lægemiddel mod skizofreni. Samtidig

viser det sig, at der er et bemærkelsesværdigt sammenfald mellem, hvor receptoren og signalstoffet findes i hjernen. Sammenfaldet er en kraftig indikation på, at binding af D-serin til delta2-receptoren ikke kun er noget, der kan forekomme i et reagensglas, men også er relevant i den levende hjerne.

Nu kunne man jo indvende, at bare fordi D-serin binder til delta2-receptoren, betyder det det jo ikke nødvendigvis, at receptoren kan aktiveres af dette signalstof. Derfor allierede vi os med elektrofysiologer fra Institut for Farmakologi og Farmakoterapi, Lundbeck A/S og Emory University School of Medicine i USA. Med elektrofysiologi undersøger man, hvor stor en strøm, der går gennem en receptor ved binding af et signalstof. Med disse samarbejdspartneres hjælp fik vi vist, at D-serin rent faktisk er i stand til at modulere delta2-receptorens aktivitet.

Selv om vi med opdagelsen af, at D-serin binder til delta2-receptoren, nu har fået lagt nogle ekstra brikker i hjernens komplekse puslespil, er der stadig mange udfordringer forude. Vores næste skridt vil være at finde nye kemiske stoffer, der kan binde til delta2-receptoren og herved give os en yderligere forståelse af den vigtige receptors funktion.



Ph.d. Peter Naur er postdoc. ved Institut for Medicinalkemi.



Ph.d. Lars Olsen er forskningslektor ved Institut for Medicinalkemi.



Ph.d. Michael Gajhede er professor ved Institut for Medicinalkemi.



Erhvervsforsker Jette Sandholm Kastrup er lektor ved Institut for Medicinalkemi.