

Biologiens låsesmed

Årets festforelæsning handler om molekylære mekanismer for kommunikation mellem celler, og hvordan viden herom kan anvendes til udvikling af nye lægemidler



ÅRSFESTTALE

Af professor
Hans Bräuner-Osborne,
dr.pharm., ph.d.

Et menneske består af billioner af celler der kommunikerer med hinanden ved udsendelse af signalstoffer fra én celle der så modtages af signalmodtagere på andre celler.

Et eksempel herpå er kommunikationen mellem hjerneceller der foregår hvor cellerne møder hinanden i den såkaldte synapse. Når én hjernecelle aktiveres, fører det til udsendelse af neurotransmitter signalstoffer fra den ene side af synapse-spalten der så aktiverer signalmodtagere på den anden side af spalten og dermed den næste hjernecelle.

Signalstoffer og signalmodtagere sammenlignes ofte med nøgler og låse eller klodser og klodskasser da de skal passe specifikt sammen for at aktivere signalmodtageren, åbne låsen eller få klodsen i kassen.

I mennesker findes der over 100 'nøgler' (signalstoffer) og 1000 'låse' (signalmodtagere) der som sagt passer sammen på helt specifikke måder. Sygdomme er ofte forårsaget af fejlkommunikation mellem signalstofferne og -modtagerne således at man for eksempel har for meget eller for lidt af et givent signalstof. Ved at forstå hvordan nøglerne passer ind i låsene, og hvordan de er involveret i sygdomme, kan vi rationelt udvik-

le nye lægemidler der genopretter den korrekte kommunikation.

Lægemidlet opium

Et af de ældste eksempler på lægemidler er opium som der findes referencer til helt tilbage til Homers Odyssee fra år 900 f. Kr. hvor det beskrives hvordan smerte og sorg dulmes ved at drikke et glas med opium.

I 1803 isolerede den tyske farmaceut Friedrich Sertürner det aktive stof i opium som han opkaldte 'morphium' (morfin) efter den græske drømmegud Morpheus.

Dette banede vejen for kemikeren Alder Wright som syntetiserede derivatet heroin som medicinalfirmaet Bayer markedsførte som en ikke-afhængighedsskabende erstatning for morfin i 1898. Det blev dog hurtigt trukket fra markedet da det viste sig at være særdeles vanedannende.

Først i 1975 fandt to forskergrupper kroppens egne 'endogene morfiner' (endorfiner) og dermed kroppens nøgler. Men låsene forblev ukendt indtil 1992, hvor to grupper isolerede arvematerialet der kodede for de såkaldte 'opioid receptorer'.

I 1990'erne blev en lang række andre låse isoleret på tilsvarende vis, og man fik dermed sammenkoblet mange af låsene med deres nøgler.

Virtuel screening efter nye nøgler

I de seneste ti år er der sket endnu en revolution med lægemiddelforskningen idet man ved hjælp

af en metode kaldet 'røntgen-kystallografi' er blevet i stand til at tage tredimensionelle (3D) billeder af låsene. Ligesom det nu er blevet almindeligt at se 3D-film i biografen, sidder vi således med 3D-briller foran computeren og visualiserer hvordan nøglerne sidder i låsene.

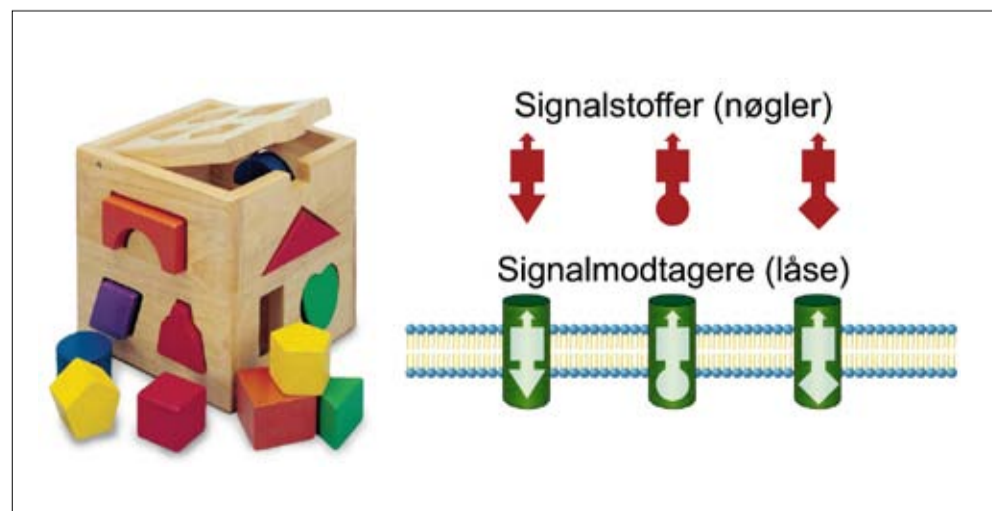
Dette er en stor hjælp i lægemiddeludviklingen da man dermed mere rationelt kan designe nøgler der passer ind i låsene på en ønsket måde. Det er dog ikke helt så nemt som det lyder, da både de kemiske stoffer der udgør nøglerne, og proteinerne der udgør låsene, bevæger sig!

Computerprogrammer bliver dog hele tiden bedre til at beregne, hvordan nøglerne og låsene bevæger sig og dermed mere dynamisk til at forudsige hvordan nøgler går ind i låsen og låser døren op. Eller i mere faglige termer – hvordan signalstoffet binder i signalmodtageren og aktiverer den.

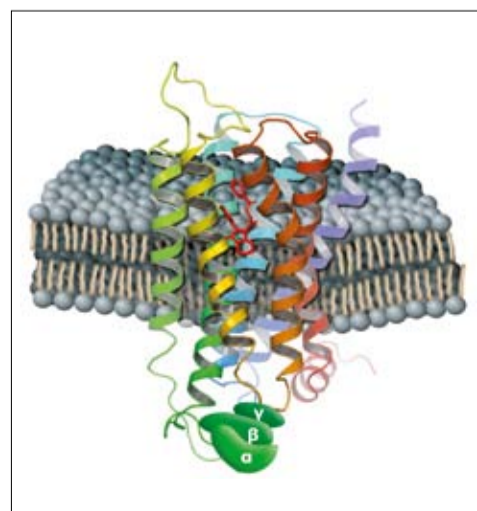
Disse computerprogrammer anvender vi til at identificere nye nøgler til en given lås ved såkaldt 'virtuel screening'. Med denne metode afprøver computerprogrammet op til seks millioner nøgler i den ønskede lås og rangerer så nøglerne efter hvilke den mener passer bedst sammen. Herefter kan man så udvælge nogle af de bedst rangerede stoffer og afprøve om de rent faktisk virker i det biologiske laboratorium.

Virtuel screening og andre computerteknikker såsom kemogenomik har vist sig at øge chancerne for at få brugbare nøgler ganske betragteligt i

NØGLE-OG LÅSEMODELLEN – Figuren illustrerer den specifikke interaktion mellem klodser og klodskassens huller og mellem signalstoffer (nøgler) der passer i signalmodtagerne (låse).



G-PROTEIN-KOBLET RECEPTOR – Figuren viser en tredimensionel struktur af en lås der sidder i en cellemembran. I midten af låsen sidder der en rød nøgle.



SKRIV TIL VIDENSKABET

Videnskabet er stedet hvor både studerende, forskere og andre har mulighed for at komme ud af skabet med deres viden til gavn for Universitetsavisens læsere. Bidrag til Videnskabet har form af en kronik og fylder maks. 10.000 enheder med mellemrum. Manuskript sendes til uni-avis@adm.ku.dk.



KIG GENNEM NØGLEHULLET – Professor Hans Bräuner-Osborne i laboratoriet på ud-kig efter celler der udtrykker nye låse.

»Med kortlægningen af det humane arvemateriale i 2001 blev tingene vendt på hovedet. De 3 milliarder DNA-byggesten i arvematerialet blev lagt i databaser hvori man så kunne søge efter nye gener der kodede for hidtil ukendte låse.«

forhold til blot at afprøve tilfældigt udvalgte nøgler. Som eksempel herpå har vi selv erfaret at computer-filtrering af nøglerne øger chancen for at finde nøgler der passer i låsen med mere end 100 gange i forhold til tilfældigt udvalgte nøgler.

Forældreløse låse

Som i eksemplet med morfin og endorfinerne har man typisk kendt nøglerne før man fandt låsen(e) der passede til dem. Men med kortlægningen af det humane arvemateriale i 2001 blev tingene vendt på hovedet. De 3 milliarder DNA-byggesten i arvematerialet blev lagt i databaser hvori man så kunne søge efter nye gener der kodede for hidtil ukendte låse.

På denne vis fik man isoleret i hundredvis af nye låse uden at man kendte deres nøgler, og disse blev derfor kaldt for forældreløse låse eller orphan receptors.

Vi søgte også i disse databaser og var dermed de første til at identificere en håndfuld nye forældreløse låse i mennesker. Jagten gik herefter ind på at finde nøglerne til disse låse, og for én af dem, kaldet 'GPRC6A-receptoren', lykkedes det.

Igen fik vi brug for computeren idet vi ud fra en kendt 3D-struktur af en beslægtet lås byggede en model af GPRC6A-receptoren. Via denne model kunne vi forudsige at det formentligt ville være L-aminosyrer (byggestenene til proteiner) som passede i vores nye forældreløse lås.

Dette passede også med resultater fra en anden beslægtet lås isoleret fra guldfisken, hvor forskere fra Berkeley et par år i forvejen havde vist at denne lås blev aktiveret af netop L-aminosyrer.

For at bevise at låsen i mennesker også blev aktiveret af L-aminosyrer, måtte vi dog gå i det biologiske laboratorium, hvor vi valgte at bruge et test-system baseret på oocytter (æg) fra *Xenopus leavis* – en sydafrikansk sporefrø.

I dette system injiceres arvematerialet for låsen ind i oocytten som herefter omsætter det til proteinet der indsættes i cellemembranen og udgør låsen. Når denne type lås aktiveres af en nøgle, fører det til overførsel af ioner fra ydersiden til indersiden af oocytten – og denne overførsel kan måles ved at sætte elektroder på oocytten. Nøgler der passer i låsen giver herefter anledning til en elektrisk strøm henover cellemembranen som er det vi måler med elektroderne.

Jagten fortsætter

Efter at have gjort oocytterne klar så de udtrykte GPRC6A, var det således særdeles spændende at påføre de forskellige L-aminosyrer som computermodellen havde forudsagt, og se om de gav den forventede strøm. Det gjorde nogle af dem, og dermed havde vi sammenkoblet den forældreløse lås med dens nøgler – en succesfuld dag man aldrig glemmer.

Hermed er jagten dog ikke forbi, for vi kender stadigvæk ikke den biologiske funktion af den nye GPRC6A-receptor, eller hvorfor den netop aktiveres af de L-aminosyrer som vi fandt.

For at løse den gåde har vi taget en tredje art fra dyreriget i anvendelse, idet vi har lavet en såkaldt knockout-mus. I denne mus har vi fjernet arvematerialet der koder for GPRC6A-receptoren, og ved at sammenligne denne genetisk modificerede mus med almindelige mus, håber vi på at kunne finde en forskel mellem de to mus som således må tilskrives GPRC6A's biologiske funktion.

På lidt længere sigt håber vi også på at knockout-musen vil kunne anvendes til at fortælle os om GPRC6A-receptoren er involveret i sygdomme og dermed kunne være mål for udvikling af nye lægemidler.