Andrea Ahles

Jahrgang 1983. 2002–2007 Biomedizinstudium an der Universität Würzburg (B. Sc., M. Sc.). 2007–2012 Promotion am DFG-Forschungszentrum für Experimentelle Biomedizin (Rudolf-Virchow-Zentrum) der Universität Würzburg sowie am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der TU München. Seit 2012 Postdoc am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der TU München.

Fritz-Külz-Preis 2011 der DGPT

β -adrenerge Rezeptoren besitzen ein Aktivierungsgedächtnis

ANDREA AHLES

INSTITUT FÜR PHARMAKOLOGIE UND TOXIKOLOGIE, TU MÜNCHEN

DOI: 10.1007/s12268-012-0186-8
© Springer-Verlag 2012

■ Adrenerge Rezeptoren vermitteln die zellulären Antworten auf die Stimulation durch die Stresshormone Adrenalin und Noradrenalin und stellen gleichzeitig wichtige Zielstrukturen für häufig verwendete Arzneimittel dar. Ihre Funktion und ihr Ansprechen auf Liganden werden durch Polymorphismen in ihrer Primärsequenz moduliert. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind jedoch weitgehend unklar [1].

Wir haben die Technik des Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfers (FRET) genutzt,

um den Einfluss der am häufigsten vorkommenden Polymorphismen im β_2 -adrenergen Rezeptor (β_2 AR) auf die Konformation des Rezeptors nach Aktivierung zu untersuchen. Dafür wurden FRET-Sensoren für die β_2 AR-Varianten mit einem gelb fluoreszierenden Protein (YFP) sowie einem cyan fluoreszierenden Protein (CFP) in der dritten intrazellulären Schleife bzw. am C-Terminus hergestellt (**Abb. 1A, B**). Nach Stimulierung der β_2 AR-Sensoren konnte die Aktivierung der polymorphen Rezeptorvarianten in lebenden Zellen in Echtzeit untersucht werden. Dabei behielten die FRET-Sensoren sowohl die Bindungsaffinitäten der nativen Rezeptoren als

auch eine intakte Funktionalität hinsichtlich der Bildung des sekundären Botenstoffes cAMP.

Die Analyse der Aktivierungskinetik ergab sehr ähnliche Geschwindigkeiten der verschiedenen polymorphen β_2 AR-Varianten nach einmaliger Stimulation. Die Kinetik änderte sich jedoch nach Vorstimulation in Abhängigkeit des Vorliegens bestimmter Rezeptorvarianten (**Abb. 1C**). So konnten wir im Vergleich zur ersten Aktivierung eine schnellere Aktivierung der effizienteren Gly16-Variante des β_2 AR feststellen, während die weniger effiziente Arg16-Variante dagegen bei einer wiederholten Stimulation langsamer aktiviert wurde. Diese Ergebnisse lassen auf ein polymorphismusspezifisches „Rezeptorgedächtnis“ schließen. Die Ausbildung der unterschiedlichen Aktivierungskinetik hing von der Interaktion des Rezeptors mit löslichen intrazellulären Faktoren ab und bedurfte einer Phosphorylierung intrazellulärer Serin- und Threoninreste durch G-Protein-gekoppelte Rezeptorkinasen [2].

Die Daten implizieren eine polymorphismusabhängige Eigenschaft des β_2 AR, die die Aktivierungskinetik der Rezeptoren bei wiederholter Stimulation determiniert. Diese könnte auch für die zwischen Individuen variierende Ansprechbarkeit auf β -Agonisten und β -Blocker mitverantwortlich sein. ■

▲ **Abb. 1:** A, Schematischer Aufbau der β_2 AR-FRET-Sensoren. B, subzelluläre Lokalisation der β_2 AR-FRET-Sensor-Varianten in HEK-293-Zellen. Konfokalmikroskopische Aufnahmen repräsentativer Einzelzellen. C, oben: schematische Darstellung des experimentellen Ansatzes zur Untersuchung der Aktivierungskinetik bei wiederholter Stimulation der β_2 AR-Sensoren. Mitte: Mittelwert und Standardfehler aus $n = 5$ monoexponentiell gemittelten Kurven der ersten und zweiten Aktivierung. Unten: Zeitkonstanten für die erste und darauf folgende zweite Aktivierung ($n = 7$) (aus [2], © AAAAS).

Literatur

- [1] Ahles A, Engelhardt S (2009) Polymorphisms determine beta-adrenoceptor conformation: implications for cardiovascular disease and therapy. *Trends Pharmacol Sci* 30:188–93
- [2] Ahles A, Rochais F, Frambach T et al. (2011) A polymorphism-specific “memory” mechanism in the β_2 adrenergic receptor. *Science Signal* 4:ra53

Korrespondenzadresse:

Dr. Andrea Ahles
Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Technische Universität München
Biedersteiner Straße 29
D-80802 München
Tel.: 089-41403277
ahles@ipt.med.tum.de