



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Activation of G protein-coupled receptors : the role of extracellular loops in adenosine receptors

Peeters, M.C.

Citation

Peeters, M. C. (2011, November 17). *Activation of G protein-coupled receptors : the role of extracellular loops in adenosine receptors*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/18092>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

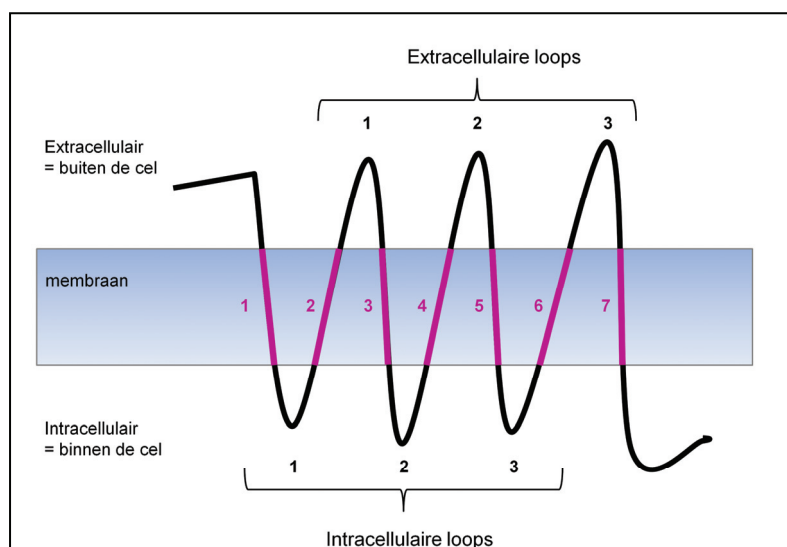
Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/18092>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

SAMENVATTING VOOR EEN LEEK

Ons lichaam is volledig opgebouwd uit individuele cellen. Iedere cel is omgeven door een celmembraan waarin detectoren, de receptoren, aanwezig zijn. Deze receptoren tasten constant de omgeving af naar moleculen die ze herkennen. Er zijn erg veel verschillende receptoren, die allemaal een andere lichaamseigen stof herkennen (het ligand), en in reactie daarop een specifiek signaal doorgeven dat leidt tot een biologisch effect. De grootste groep receptoren die wij hebben zijn G eiwit gekoppelde receptoren (in het Engels: G protein-coupled receptors of GPCRs). Deze heten zo, omdat ze binnen de cel het signaal doorgeven via speciale eiwitten: de zogenoemde G eiwitten.

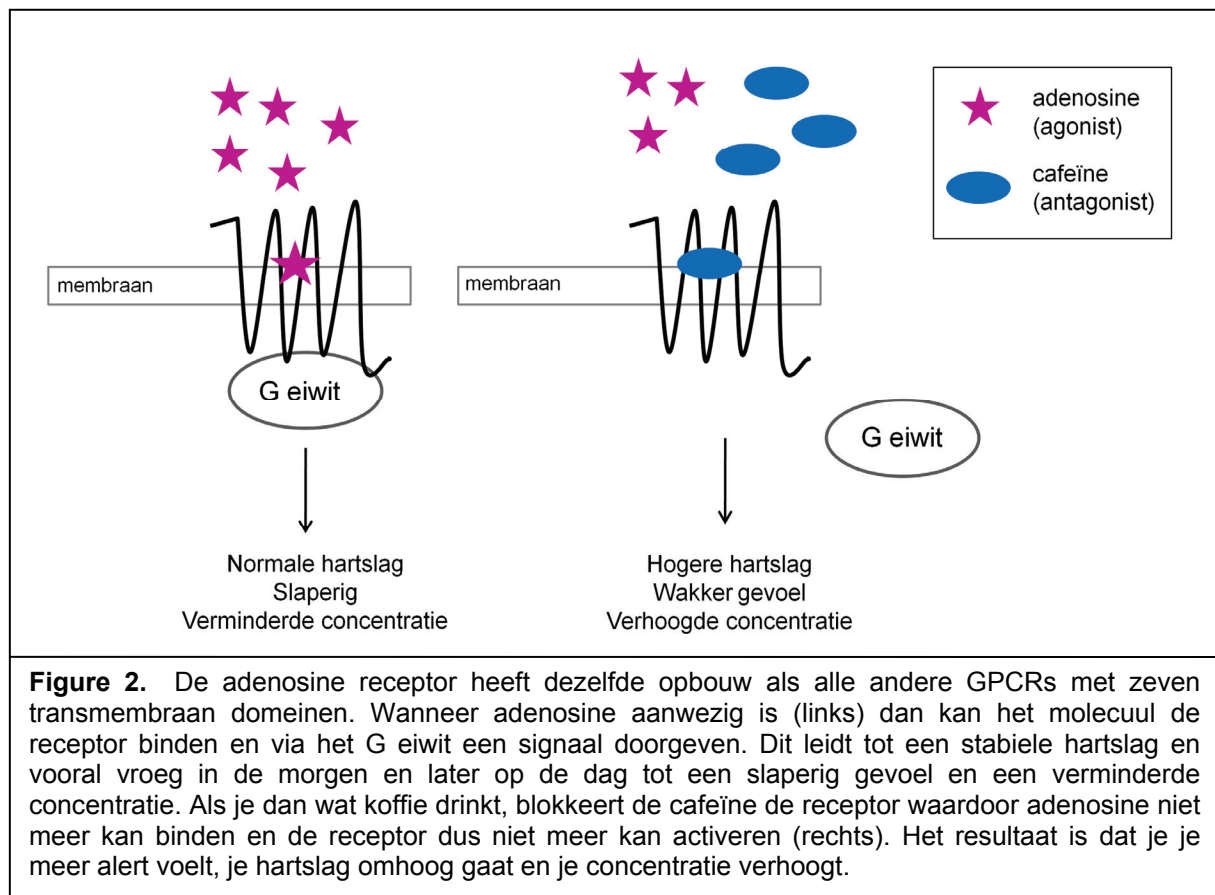
Er zijn meer dan 800 verschillende GPCRs in het menselijk lichaam bekend die allemaal net iets anders zijn en een ander biologisch effect teweegbrengen als ze geactiveerd worden. Ze hebben allemaal wel een zelfde globale opbouw met een begin buiten de cel, waarna ze zich 7 keer door de membraan slingeren en eindigen met een staart aan de binnenkant van de cel (**Figuur 1**). De delen van de receptor die zich in het membraan bevinden noemen we transmembraan domeinen. Deze zijn aan de binnenkant van de cel verbonden met drie intracellulaire loops en aan de buitenkant van de cel met drie extracellulaire loops. Het ligand bindt meestal binnen de transmembraan domeinen ter hoogte van het membraan en het G eiwit bindt aan het gedeelte van de receptor dat zich binnen in de cel bevindt.



Figuur 1. Schematische voorstelling van een G eiwit gekoppelde receptor. De receptor heeft zijn begin buiten de cel, extracellulair, slingerd dan 7 keer door de membraan heen en eindigt binnen in de cel, intracellulair. De delen van de receptor die in het membraan zitten (in het paars) worden de 7 transmembraan domeinen genoemd. Deze domeinen worden aan de buitenkant van de cel verbonden met 3 extracellulaire loops en aan de binnenkant van de cel met 3 intracellulaire loops.

Omdat GPCRs betrokken zijn bij vrijwel elk biologisch effect in het lichaam, van pijn tot emoties tot voortplanting, zijn het interessante doelwitten voor medicijnen. Met een synthetisch middel dat net als het natuurlijke ligand in de receptor past, kun je namelijk de activiteit en dus het biologische effect van zo'n receptor beïnvloeden. Er zijn inmiddels synthetische stoffen bekend die de receptor kunnen activeren, kunnen blokkeren of zelfs de receptor helemaal kunnen uitzetten. Om een idee te geven: ongeveer 40% van alle medicijnen die je kunt krijgen bij de apotheek zijn gericht tegen GPCRs. Je kunt dan denken aan bètablokkers, antidepressiva en anti-allergie middelen etc. We weten dat deze medicijnen werken doordat ze een receptor kunnen binden en zo het gewenste biologische effect geven. We weten echter nog niet wat er nu precies gebeurt met de receptor zodra die het medicijn heeft herkend en hoe die het signaal hierna doorgeeft. Dit is een van de redenen dat we voor veel medicijnen bijwerkingen nog altijd niet kunnen voorkomen. Een andere hele goede reden om deze familie van receptoren te onderzoeken is dat foutjes (mutaties) die soms optreden in het DNA ervoor kunnen zorgen dat een receptor zich net iets anders gaat gedragen en een ziekte veroorzaakt, zoals kanker, diabetes en astma.

De adenosine receptoren die besproken worden in dit proefschrift zijn leden van de enorme familie van G eiwit gekoppelde receptoren. Het lichaamseigen ligand dat adenosine receptoren activeert is het molecuul adenosine. Als de receptoren dit ligand detecteren zal het lichaam onder andere het hartritme gaan aanpassen en het slaapritme reguleren. Maar adenosine heeft ook een effect op het immuunsysteem als er door stress veel meer van dit molecuul aangemaakt wordt in het lichaam. Een zeer bekend voorbeeld van een niet-lichaamseigen ligand voor adenosine receptoren is cafeïne, dat in grote hoeveelheden aanwezig is in koffie, thee, en ook in verschillende energiedrankjes. Cafeïne kan de receptor binden, maar niet activeren. Cafeïne blokkeert juist adenosine receptoren, zodat adenosine zelf niet kan binden. Dit maakt dat mensen na overmatig gebruik van cafeïne moeite hebben om in slaap te komen of zelfs hartkloppingen ervaren (**Figuur 2**).



Het doel van mijn onderzoek was om meer te weten te komen over hoe GPCRs en meer specifiek hoe adenosine receptoren geactiveerd kunnen worden. Met andere woorden: welke delen van deze receptoren belangrijk zijn bij het doorgeven van het signaal vanaf het moment dat het ligand in de buurt is. Een speciale interesse had ik in de extracellulaire loops, dat zijn de verbindingen buiten de celmembraan tussen de transmembraan domeinen (**Figuur 1**). Deze extracellulaire loops werden tot voor kort alleen beschouwd als een soort ankers om de receptor in de membraan te houden. Het is pas zeer recent dat men begint in te zien dat ze wel degelijk belangrijk zijn voor activatie van de receptor.

Om te onderzoeken hoe de receptor zich gedraagt heb ik bewust foutjes (mutaties) aangebracht in menselijke receptoren en gekeken in hoeverre ze nog geactiveerd konden worden. Het is niet mogelijk om dit direct in mensen of zelfs proefdieren te testen en dus heb ik gebruik gemaakt van een ander organisme: gist. Dit is dezelfde gist die we gebruiken bij het bakken van brood, maar met een paar genetische aanpassingen. Deze aanpassingen hebben ervoor gezorgd dat alleen die gistcellen die een actieve receptor hebben kunnen groeien op een speciale voedingsbodem.

Door deze eigenschap kunnen we de gist nu zelf laten “kiezen” welke mutaties zorgen voor een bepaalde verandering van de receptor, dit noemen we screenen. Met deze aanpak hebben we gescreend voor mutaties die zorgen dat de receptoren meer actief worden, maar ook voor mutaties die leiden tot minder actieve receptoren. Zeker het screenen voor verminderde activiteit is erg lastig en ik ben één van de eersten die hiervoor een methode heeft ontwikkeld. Ook was ik de eerste die een receptor heeft onderzocht op zowel activerende als inactiverende mutaties. Deze aanpak heeft veel verrassende inzichten opgeleverd over hoe de adenosine receptoren geactiveerd kunnen worden. Zo heb ik een specifieke regio ontdekt die een belangrijke taak heeft bij het inactief houden van de receptor. Als je hier een foutje maakt, wordt de receptor meer actief en kan zelfs een signaal doorgeven zonder een ligand. Ik heb ook een gebied gevonden dat juist belangrijk is om de receptor actief te laten worden. Als je hier een mutatie in aanbrengt kan de receptor moeilijk of zelfs helemaal niet meer geactiveerd worden.

Een andere opmerkelijke ontdekking was dat zelfs receptoren die heel erg veel op elkaar lijken zich net iets anders gedragen na het herkennen van een ligand. Dit verschil zit vooral in de extracellulaire loops, dus de gebieden die zich buiten de cel bevinden.

Wat ik met het onderzoek in dit proefschrift heb bewezen is dat de extracellulaire loops een grote rol spelen bij de activatie van receptoren en dat dit voor iedere receptor net iets anders kan zijn waardoor ze het unieke karakter van de receptor bepalen. Dit betekent daardoor ook dat bij het ontwerpen van medicijnen, of het vaststellen van een ziekte-veroorzakende mutatie er niet zomaar vanuit kan worden gegaan dat iedere receptor ongeveer hetzelfde is. Iedere receptor is uniek en moet ook zo bekeken worden.