



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).

**LIST OF PUBLICATIONS**

M.C. Peeters, G.J.P. van Westen, Q. Li, A.P. IJzerman. Importance of the extracellular loops in G protein-coupled receptors for ligand recognition and receptor activation. *Trends in Pharmacological Sciences* **2011**, 32(1):35-42.

M.C. Peeters, G.J.P. van Westen, D. Guo, L.E., Wisse, C.E. Müller, M.W. Beukers, A.P. IJzerman. GPCR structure and activation: an essential role for the first extracellular loop in activating the adenosine A<sub>2B</sub> receptor. *FASEB J.* **2011**, 25(2):632-43.

M.C. Peeters, Q. Li, G.J.P. van Westen, A.P. IJzerman. Three "hotspots" important for adenosine A<sub>2B</sub> receptor activation: a mutational analysis of transmembrane domains 4 and 5 and the second extracellular loop. *Purinergic Signalling* **2011** [Epub ahead of print]

M.C. Peeters, Q. Li, G.J.P. van Westen, C.E. Müller, A.P. IJzerman. Screening for Constitutively Inactive Mutants of the Adenosine A<sub>2B</sub> Receptor in *S. cerevisiae*. (manuscript in preparation)

M.C. Peeters, L.E. Wisse, A. Dinaj, B. Vroling, G. Vriend, A.P. IJzerman. The second extracellular loop of the adenosine A<sub>1</sub> receptor plays a role in both receptor activation and allosteric modulation. (manuscript in preparation)



## CURRICULUM VITAE

Miriam Peeters werd geboren op 30 april 1982 te Hoevelaken, en groeide op in Dongen, Noord-Brabant. Haar middelbare schoolopleiding volgde zij aan het Sint Oelbert Gymnasium te Oosterhout (NB), waar zij in 2001 haar eindexamen behaalde. Vervolgens studeerde zij Moleculaire Levenswetenschappen aan de Radboud Universiteit te Nijmegen. In augustus 2002 behaalde zij het propedeutisch examen, gevolgd door het doctoraal examen in augustus 2006. Tijdens de doctoraalfase van haar studie doorliep ze twee researchstages, beide met een duur van negen maanden. De eerste stage deed zij bij de afdeling Humane Genetica aan het Universitair Medisch Centrum St. Radboud te Nijmegen onder begeleiding van Dr. Ilse Gosens en Dr. Ronald Roepman. Hier deed zij onderzoek naar intracellulaire interactoren van het eiwit MPP5 dat mogelijk betrokken is bij de oogziekte Retinitis Pigmentosa. Haar afstudeerstage deed zij bij de afdeling Assay Development van Solvay Pharmaceuticals te Weesp onder begeleiding van Drs. Elina Hessels en Dr. Jurjen Frankena. Tijdens deze stage ontwikkelde zij een nieuwe assay om signaaltransductie te onderzoeken van een klasse C G Protein-Coupled Receptor (GPCR).

In 2007 begon Miriam aan het in dit proefschrift beschreven promotieonderzoek bij de afdeling Farmacochemie aan de Universiteit Leiden onder begeleiding van Prof. Ad IJzerman. Dit onderzoek maakte deel uit van het TI-Pharma initiatief "GPCR forum for established targets" (D1-105). Tijdens haar promotieperiode presenteerde zij haar onderzoek op meerdere nationale en internationale congressen en heeft zij op uitnodiging van Prof. Ueda een lezing aan de universiteit van Nagasaki in Japan gegeven. Tevens ontving zij tijdens de FIGON Dutch Medicines Days 2009 de eerste prijs in de nationale AIO-competitie met haar presentatie getiteld: "An essential role for the first extracellular loop". Eerder dat jaar won ze met deze presentatie ook de AIO-competitie op het LACDR Spring Symposium, waar zij ook de posterprijs in ontvangst nam. In 2010 won ze een internationale presentatieprijs op de Purinergic Signaling Conference in Tarragona (Spanje).

---

## **CURRICULUM VITAE (ENGLISH)**

Miriam Peeters was born on April 30th 1982 in Hoevelaken, and grew up in Dongen, Noord Brabant, The Netherlands. After graduating from secondary school at the Sint Oelbert Gymnasium te Oosterhout (NB) in 2001, she started her study Molecular Life Sciences at the Radboud University in Nijmegen. In June 2002, she passed the propaedeutic exam, followed by the Master's degree in August 2006. During her Master studies, she did two internships, both with a duration of nine months. Her first internship was at the department of Human Genetics at the University Medical Centre St. Radboud in Nijmegen under the supervision of Dr. Ilse Gosens and Dr. Ronald Roepman. Here, she investigated intracellular interactors of the protein MPP5 that might be involved in the eye disorder Retinitis Pigmentosa. Her second internship was done at the department Assay Development of Solvay Pharmaceuticals in Weesp under the supervision of Drs. Elina Hessels and Dr. Jurjen Frankena. During this training period, she developed a new functional assay to investigate signal transduction of a class C G Protein-Coupled Receptor.

In 2007, Miriam started the PhD research as described in this thesis at the department of Medicinal Chemistry at Leiden University under the supervision of Prof. Ad IJzerman. This research was part of the TI-Pharma initiative "The GPCR forum for established targets" (D1-105). During her PhD, she presented her research at several national and international congresses and gave a lecture at the University of Nagasaki in Japan upon invitation of Prof. Ueda. At the FIGON Dutch Medicines Days 2009, she received the first prize at the national PhD-student competition with her presentation entitled: "An essential role for the first extracellular loop in activating the adenosine  $A_{2B}$  receptor". Earlier that year, this presentation was awarded with the first prize in the PhD-student competition at the LACDR Spring Symposium, where she also received the poster prize. In 2010 she also received the presentation award in an international competition at the Purinergic Signaling Conference in Tarragona (Spain).

## NAWOORD

Vier jaar werken als AIO levert niet alleen een mooi proefschrift op (al zeg ik het zelf), maar vooral heel veel waardevolle herinneringen en dierbare vrienden en collega's. Zonder de geweldige sfeer en collegialiteit van de afdeling Farmacochemie zouden deze vier jaar heel wat minder plezierig zijn geweest. Iedereen leefde altijd ontzettend mee bij tegenslag, maar juichte nog harder mee bij goed nieuws. Ik had ook geen beter kantoor kunnen treffen met Henk, Elisabeth, Qilan (Ann), Annelien, Joanke, en Clara. Jullie hebben me door de jaren heen vele discussies met mijn computer horen voeren, maar hadden daar veel begrip voor. Met zo'n clubje bio's in een kleine ruimte was er ook altijd tijd voor het aanhoren van en meedenken bij mijn theorieën en dat heeft ook zeker bijgedragen aan het ontstaan van dit proefschrift. Ann, I am grateful for your help with many of the chapters in this thesis, I really enjoyed working together. Thea, door jou heb ik me minder eenzaam gevoeld als moleculair bioloog op de afdeling. Al sta je nergens als mede-auteur op mijn publicaties, jouw bijdrage was onmisbaar bij allemaal. Gerard, jouw "plaatjes" hebben dit proefschrift helemaal af gemaakt. Wat waren we een goed team! Samen hebben we zelfs gezorgd dat het review werd gepubliceerd als "feature article" met bijbehorende cover in TiPS. Ik ben ook erg blij dat jij mij vandaag bijstaat als paranimf samen met Clara. I also want to mention all the bachelor and master students I had the privilege of supervising: Lianne, Dong, Admira, Jorine, Rachel, Jan, and Sarah. I hope you learned as much from me as I did from you. En Ad, niet alleen was dit proefschrift niet geworden zoals het is zonder jouw aanmoediging en inzet, ik had waarschijnlijk ook niet het lef gehad om op de grote podia te spreken zoals ik nu gedaan heb. De prijzen die ik heb gewonnen zijn zeker deels ook van jou.

Bas, ook jij verdient hier een speciaal plaatsje; mijn helpdesk in Nijmegen. Jij en jouw GPCRDB waren van onschatbare waarde. En Hanka: wie had ooit gedacht dat wij weer samen achter een computer terecht zouden komen! Ik vond het erg leuk en leerzaam om samen een dagje in "the cave" door te brengen. Veel van de discussie in hoofdstuk 7 heb ik aan die dag te danken.

Ik heb ook veel te danken aan de afdeling Moleculaire Genetica in Leiden, en dan vooral Patrick, Tienieke, Hans, en Riekje. Van jullie heb ik zoveel geleerd over hoe ik

---

met mijn gisten om moest gaan. Jullie stonden altijd klaar voor advies of gewoon een praatje. Ik heb mijn schitterende blots in hoofdstuk 6 volledig te danken aan jou, Patrick! Zet 'm op voor jouw laatste loodjes! Het zal ongetwijfeld een schitterend boekje worden. Wat betreft hulp en advies op gist-gebied mogen ook zeker Marco Siderius en Jan Paul Bebelman van de Vrije Universiteit Amsterdam en Simon Dowell van GSK hier niet ontbreken.

Natuurlijk had ik dit werk nooit zo goed kunnen doen zonder de support van mijn familie. Mama, ontzettend bedankt voor al je steun en luisterend oor. Bij een probleem kon ik je altijd bellen, en al zei je niets, aan het einde van het gesprek was het opgelost. De jaarlijkse spa-uitjes hebben ook zeker bijgedragen om steeds weer gemotiveerd verder te gaan. Papa en Els, jullie hebben me altijd laten weten hoe trots jullie waren en toonden altijd erg veel interesse in mijn werk. Artikelen werden direct uitgeprint en gelezen, ook al begrepen jullie het misschien niet altijd helemaal. Mijn broer Jos en mijn zusjes Noortje en Lotte wil ik ook graag bedanken, we vormen samen een bijzondere familie! Ik hoop dat het mijn enthousiasme was dat nu ook Lotte heeft geïnspireerd een wetenschapper te worden. Farmacochemie, pas op, misschien komt er over een aantal jaren nog een Peeters het lab onveilig maken. En last but not least, Pim bedankt voor alles. Je hebt me altijd gesteund en klaagde nooit als ik door zenuwen voor een spannende dag jouw nachtrust ernstig beperkte. Onze reis naar Japan zal ik nooit vergeten en heeft mij geïnspireerd tot de lay-out van dit proefschrift.

Groetjes Miriam

## ABBREVIATIONS

[ <sup>3</sup> H]DPCPX	[ <sup>3</sup> H] 1,3-dipropyl-8-cyclopentylxanthine
[ <sup>3</sup> H]PSB-603	[ <sup>3</sup> H] 8-[4-[4-(4-Chlorophenyl) piperazine-1-sulfonyl]phenyl]]-1-propylxanthine
3AT	1,2,4-aminotriazole
A <sub>1</sub> R	Adenosine A <sub>1</sub> receptor
A <sub>2A</sub> R	Adenosine A <sub>2A</sub> receptor
A <sub>2B</sub> R	Adenosine A <sub>2B</sub> receptor
A <sub>3</sub> R	Adenosine A <sub>3</sub> receptor
ADA	Adenosine deaminase
ATP	Adenosine triphosphate
BAY60-6583	2-[6-amino-3,5-dicyano-4-[4-(cyclopropylmethoxy)phenyl]pyridin-2-ylsulfanyl]acetamide
BSA	Bovine serum albumin
cAMP	Cyclic adenosine-5'-monophosphate
CGS21680	2-[4-(2-carboxyethyl)phenethylamino]-5'- <i>N</i> -ethylcarboxamidoadenosine
CHAPS	3-[(3-Cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonate
CHO cells	Chinese hamster ovary cells
CPA	N <sup>6</sup> -cyclopenthyladenine
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's medium
DMSO	Dimethylsulfoxide
DPCPX	1,3-dipropyl-8-cyclopenthyloxantine
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid
EC <sub>50</sub>	Half-maximal effective concentration (potency)
EL1	First extracellular loop
EL2	Second extracellular loop
EL3	Third extracellular loop
E <sub>max</sub>	Maximal effect (efficacy)
GPCR	G protein-coupled receptor
IC <sub>50</sub>	Half maximal inhibitory concentration (affinity)
IGPD	Imidazole glycerol-phosphate dehydrase
K <sub>D</sub>	Equilibrium dissociation constant
K <sub>i</sub>	Equilibrium inhibition constant (absolute affinity)
NECA	5'- <i>N</i> -ethylcarboxamidoadenosine
PBS	Phosphate-buffered saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
PD81,723	(2-amino-4,5-dimethyl-3-thienyl)-[3-(trifluoromethyl)phenyl]methanone
PSB-603	8-[4-[4-(4-Chlorophenyl) piperazine-1-sulfonyl]phenyl]]-1-propylxanthine
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
YNB medium	Yeast nitrogen based
YAPD medium	Yeast extract-peptone-dextrose supplemented with adenine
ZM241385	(4-(2-[7-amino-2(furyl {1,2,4}-triazolo {2,3-a {1,3,5}triazin 5-yl-aminoethyl)phenol

