

1.1 Vorbemerkung

Untersuchungen zum Verständnis der Arzneistoffwirkungen stehen seit langem im wissenschaftlichen Interesse der pharmazeutischen und medizinischen Forschung. Neben der Suche nach dem molekularen Wirkungsmechanismus einer Substanz stellt die rationale Optimierung d.h. die Verringerung von unerwünschten Wirkungen oder eine bessere Wirksamkeit ein wichtiges Ziel der Forschung dar. Die Aufklärung der Zielstrukturen eines Wirkstoffes bietet dafür eine wichtige Voraussetzung. Gerade in der letzten Dekade sind durch den exponentiellen Anstieg der aufgeklärten Proteinstrukturen viele neue Erkenntnisse hinzugekommen, die eine zunehmend solidere Basis für die Entwicklung von Modellen bieten. Das Verständnis der molekularen Vorgänge auf Rezeptorebene kann mit Hilfe von Molecular Modelling Techniken kann zu immer besseren Vorstellungen über die Wirkung von Arzneistoffen und die Regelmechanismen im menschlichen und tierischen Organismus beitragen. Stets muss jedoch berücksichtigt werden, dass Modelle immer nur ein mögliches – mehr oder minder genaues - Abbild der Wirklichkeit geben. Jedes Modell muss durch experimentelle Befunde abgesichert und überprüft werden. Berücksichtigt man jedoch diese Einschränkung der Bedeutung eines Proteinmodells, können über die Visualisierung des Proteins und der Arzneistoff-Wechselwirkungen mit dem Protein Erklärungen und neue Einsichten abgeleitet werden.

1.2 G-Protein gekoppelte Rezeptoren

G-Protein gekoppelte Rezeptoren (GPCRs) sind der Angriffspunkt von hunderten von Arzneistoffen z.B. Antihistaminika, Neuroleptika, Antidepressiva und Antihypertensiva [1].

Große Bedeutung besitzen diese membranständigen Proteine auch für die Kommunikation mit der Umwelt. GPCRs sind an allen Prozessen der Sinneswahrnehmung beteiligt. Die GPCR-Superfamilie, mit über eintausend Proteinen, ist nicht nur pharmakologisch bedeutend, sondern stellt auch die größte bisher bekannte Proteinfamilie dar [2,3]. Bisher wurden im humanen Genom schon etwa 450 für GPCRs kodierende Gensequenzen identifiziert.

Allgemeine Aufgabe der GPCRs ist es, Signale, die die Zelle von außen erreichen, in das Innere weiterzuleiten.

Der Typ dieser Stimuli reicht von einem Lichtquant, über Ionen, biogene Amine, Nukleotide, Lipide, Peptide und Glykoproteine bis zu Proteasen [4].

Auch wenn die genaue Funktion der einzelnen Proteine häufig noch unbekannt ist, gemeinsam ist allen GPCRs die Möglichkeit der Bindung und Aktivierung eines intrazellulär vorhandenen, heterotrimeren G-Proteins [5].

1.2.1 Aufbau und Klassifizierung G-Protein gekoppelter Rezeptoren

Trotz geringer Sequenzhomologie untereinander, besitzen G-Protein gekoppelte Rezeptoren eine sehr ähnliche Makrostruktur. Sie bestehen aus sieben transmembranären Bereichen (TM), die hauptsächlich eine α -helikale Struktur besitzen und gebündelt die Membran durchdringen.

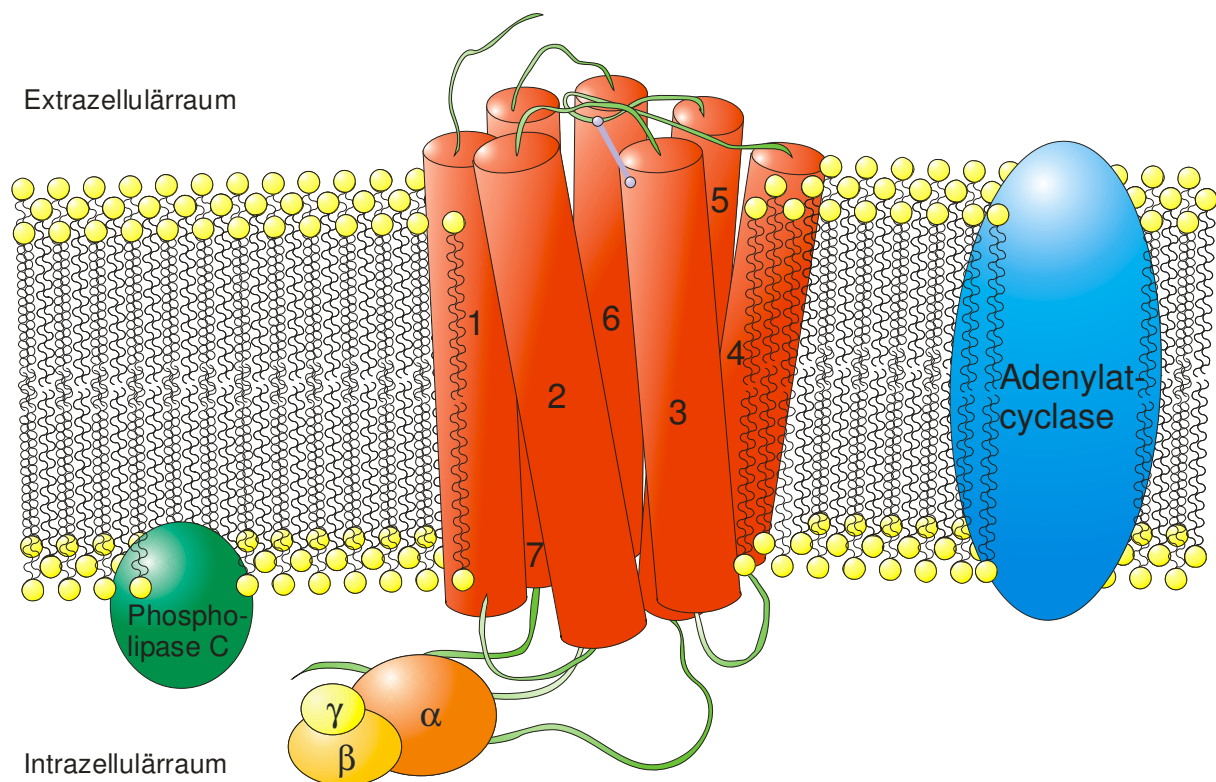


Abbildung 1-1: Schematischer Aufbau eines G-Protein gekoppelten Rezeptors

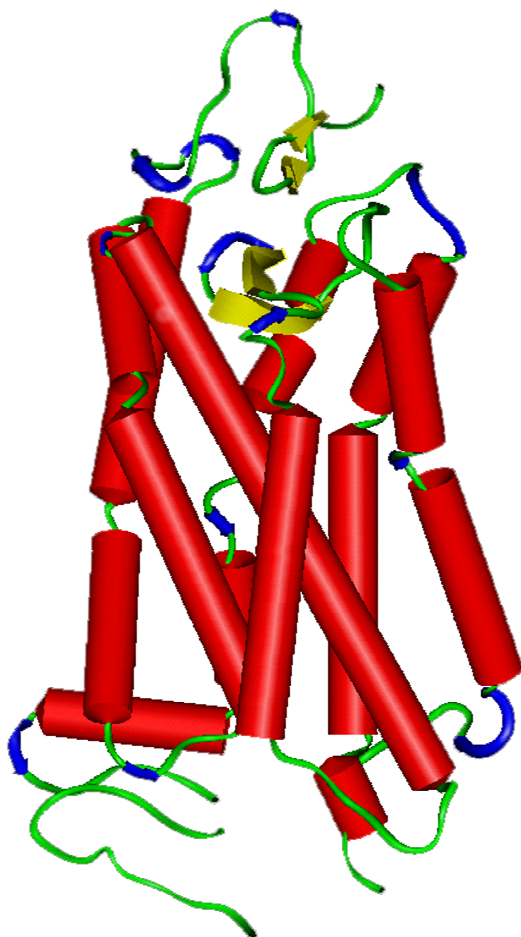
Die transmembranären Helices, dargestellt als rote Zylinder, werden entgegen dem Uhrzeigersinn nummeriert. Sie durchdringen die Membran vom extrazellulären N-Terminus aus siebenmal und enden im intrazellulären C-Terminus. Verbindende Loopbereiche sowie N-Terminus und C-Terminus sind als grüne Schleifen dargestellt. Zusätzlich wird der Rezeptor über eine intramolekulare Disulfidbrücke (violett) zwischen dem zweiten extrazellulären Loop und Helix 3 stabilisiert. Die Kopplung mit dem G-Protein findet im Intrazellulärraum im Bereich zwischen drittem intrazellulären Loop und C-Terminus statt. Dadurch können Effektorsysteme wie die Adenylatcyclase oder die Phospholipase C moduliert werden.

Als Verankerung des Rezeptors in der Membran fungieren positiv geladene, basische Aminosäuren, die mit den negativen Kopfgruppen der Phospholipide der Membran über Salzbrücken wechselwirken. Die helikalen Bereiche werden jeweils durch drei intrazelluläre und drei extrazelluläre Loops miteinander verbunden.

Der N-Terminus befindet sich im Extrazellulärraum, der C-Terminus im Cytosol. Eine Stabilisierung der Anordnung wird sowohl durch interhelikale Kontakte als auch durch eine Disulfidbrücke zwischen der dritten Helix und dem zweiten extrazellulären Loop erreicht. Die Bindung des G-Proteins erfolgt am dritten intrazellulären Loop und am C-Terminus.

Die Aufklärung der Röntgenkristallstruktur des bovinen Rhodopsins, die erstmals im Jahr 2000 gelang, brachte Einsicht in die Mikrostruktur eines GPCRs [6,7].

Es wurde deutlich, dass die transmembranären Bereiche keineswegs ideale Helices sind, sondern dass die vorhandenen Abweichungen sogar eine Bedeutung für die Funktion des Proteins besitzen (Abbildung 1-2). Eine Störung der α -helikalen Strukturen ist auch in anderen GPCRs, die nur eine geringe Homologie zum Rhodopsin aufweisen, aus funktionellen Gründen sehr wahrscheinlich. Diese Vermutung wird mittlerweile durch Mutationsstudien an unterschiedlichsten GPCRs zunehmend bestätigt [8- 10].



Ein weiteres auffälliges Strukturelement in der Kristallstruktur des Rhodopsins ist das Beta-Faltblattbündel, das durch den N-Terminus und den zweiten extrazellulären Loop gebildet wird. Diese Anordnung hat eine recht hohe Stabilität dieser Bereiche zur Folge.

Aufgrund ihrer strukturellen Unterschiede werden GPCRs in die Familien A – E eingeteilt [11].

Abbildung 1-2: Kristallstruktur des Rinderrhodopsins (PDB 1HZX)

Dargestellt ist die Sekundärstruktur eines Monomeres. Die transmembranären Helices sind als rote Zylinder, Beta-Faltblätter als gelbe Pfeile, Beta-Turns als blaue Pfeile und der Coiled-Coil-Bereich als grünes Band dargestellt.