

Entwicklung eines Screening-Verfahrens zur Aufklärung der Struktur-Wirkungsbeziehungen von pharmakologischen CFTR-Modulatoren (2005)

Beteiligte Wissenschaftler: Professor Dr. Michael Schlierf, Technische Universität Dresden, Dr. Georg Krainer, Universität Graz

Laufzeit: 42 Monate; 01. September 2020 – 29. Februar 2024

Fördervolumen: **163.800,00 €**

Ziel des Projekts:

Mukoviszidose (CF) zählt zu den am weitesten verbreiteten genetisch bedingten Krankheiten, die unter anderem durch Punktmutationen im CFTR-Protein verursacht wird. In den vergangenen 10 Jahren wurden bedeutende Fortschritte in der Behandlung der häufigsten Mutationen erzielt, indem Wirkstoffe entwickelt wurden, die die Faltung und Aktivität des Ionenkanals CFTR wiederherstellen. Jedoch existieren noch hunderte seltener Mutationen, für die bisher keine Behandlungsmöglichkeiten verfügbar sind. In vielen Fällen ist unklar, welche strukturellen Defekte die Mutationen im CFTR auf molekularer Ebene hervorrufen. Darüber hinaus ist die genaue Funktionsweise der zugelassenen Wirkstoffe noch ungeklärt. In diesem Projekt wurde die Entwicklung einer molekularen Screeningplattform realisiert, die es ermöglicht, den Effekt von Punktmutationen im Transmembranbereich, insbesondere in einzelnen Transmembranhelixpaaren von CFTR, zu untersuchen. Das Verfahren kann dazu genutzt werden, um in einem Screeningverfahren die Aktivität von bekannten Wirkstoffen und weiteren kleinen Molekülen auf die Struktur und die Behebung von Fehlfaltungen zu testen. Diese Methodik ermöglicht ein besseres Verständnis der molekularen Auswirkung von Mutationen sowie der Struktur-Wirkungs-Beziehung kleiner Moleküle.

Ergebnis:

Zur Erforschung der Struktur-Wirkungsbeziehungen pharmakologischer CFTR-Modulatoren haben wir eine innovative Screeningmethode entwickelt. Dazu haben wir zunächst ein Herstellungsverfahren für CFTR-Transmembransegmenten entwickelt und optimiert, mit dem wir eine kleine Bibliothek mit 13 verschiedenen CFTR-Transmembranhelixpaaren 3 und 4 (TM3/4) hergestellt haben. Parallel dazu haben wir auch die Hard- und Software für ein automatisiertes Messinstrument entwickelt. Das Messinstrument, basierend auf Abstandsmessungen im Nanometerbereich, ermöglicht es uns, molekulare Strukturen der Transmembranhelixpaare in einer Lipidumgebung zu messen und die Effekte von Wirkstoffen und potentiellen Medikamenten auf die Struktur der Helixpaare zu beobachten. Wir

haben anschließend die Bibliothek an TM3/4-Varianten getestet und einige fehlgefaltete TM3/4 Strukturen entdeckt, so dass wir hier den Effekt der Punktmutation auf CFTR berichten können. Anschließend haben wir verschiedene Wirkstoffe verwendet, die sowohl für andere CFTR-Mutationen zugelassen als auch noch in der Entwicklung sind. Wir untersuchten, welche dieser Wirkstoffe die Struktur der fehlgefalteten TM3/4-Varianten wieder dem natürlichen Wildtyp angleichen kann. Abhängig von der spezifischen Mutation waren manche Wirkstoffe effektiv, während andere keine Wirkung zeigten. Diese Erkenntnisse ermöglichen es uns, bestimmte Wirkstoffe für weiterführende Untersuchungen in Zellkulturen oder bei Organoiden anzuwenden. Wir gehen davon aus, dass das hier entwickelte Verfahren noch ausgebaut werden kann, um eine breite Palette weiterer Mutationen auf molekularer Ebene zu analysieren und mögliche Behandlungen für diese oft seltenen Mutationen zu identifizieren.