

POTENTIELLE PET-LIGANDEN FÜR $\alpha 5$ -UNTEREINHEITEN ENTHALTENDE GABA_A-REZEPTOREN: EFFEKT AUF GABA-INDUZIERTE STRÖME VON GABA_A-REZEPTORSUBTYPEN

Fabian Debus¹, Tanja Capito², Markus Piel², Frank Rösch² und Hartmut Lüddens¹
¹Klinik für Psychiatrie, ²Institut für Kernchemie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Die Eigenschaften der Substanz TC07 (Debus et al., 2007) mit Selektivität für den $\alpha 5$ -Rezeptorsubtyp der GABA_A/Benzodiazepinrezeptoren (GBR) wurden *in vitro* auf ihre Eigenschaft als Benzodiazepinrezeptorligand (BZRL) im Ganzzellmodus der patch-clamp Technik an transient mit den $\alpha 5$, $\beta 3$ und $\gamma 2$ Untereinheiten transfizierten Zellen getestet. BZRL modifizieren positiv oder negativ allosterisch den GABA-induzierten Strom bis zum maximalen bzw. minimalen des GABA-Stroms und das in allen Zwischenschritten (Korpi et al., 2002). Das bedeutet auch, dass die Effizienz eines BZLR bei möglichst niedrigen GABA-Konzentrationen gemessen werden sollten (Rabe et al., 2006). Für diesen Ansatz wurde der EC₂₀ für GABA gewählt, d.h., die Konzentration des Neurotransmitters, der 20 % des maximalen GABA-Stromes induziert.

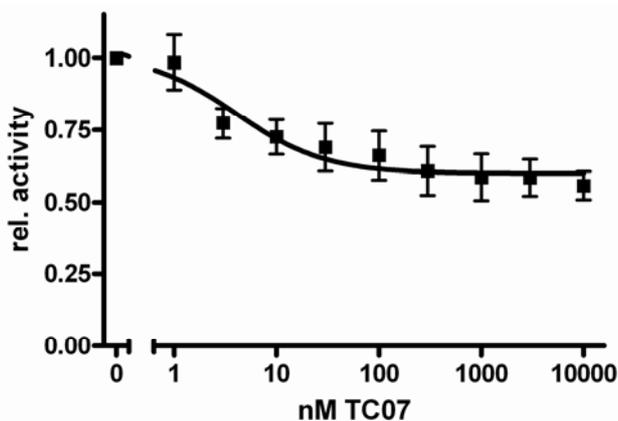


Abbildung 1: Dosis-Antwort-Kurve von $\alpha 5\beta 3\gamma 2$ -exprimierenden HEK293-Zellen gegenüber steigenden Konzentrationen von TC07 in Gegenwart des EC₂₀ von GABA

Der errechnete IC₅₀-Wert für TC07 liegt bei 4 nM und steht damit im guten Einklang mit dem K_i-Wert für diesen Liganden bei der Verdrängung von [³H]Ro15-4513 von Membranen $\alpha 5\beta 3\gamma 2$ -exprimierenden HEK293-Zellen (10 nM Debus et al., 2007). Da der GABA-induzierte Strom verringert wird, ist TC07 eindeutig ein negativer Modulator der GBR des $\alpha 5$ -Typs und wäre theoretisch unter den bisher bekannten Gesichtspunkten als ein sogenannter ‚cognitiv enhancer‘ einsetzbar.

Experimentelles:

Human Embryonic Kidney (HEK) 293-Zellen wurden auf Deckgläschen ausplattiert und mit der Calciumphosphat-Methode (Chen and Okayama, 1987) transfiziert. Die eingesetzte DNA-Konzentration ist für jede Untereinheit optimiert (Lüddens and Korpi, 1997). Zur Identifikation transfizierter Zellen werden sie zusätzlich mit Enhanced Green Fluorescent Protein transfiziert. Grün fluoreszierende Zellen werden gepatched (Hamill et al., 1981) Die Bestimmung des IC₅₀-Wertes erfolgte mit neun Konzentrationen von TC07 in Gegenwart vom EC₂₀ für GABA, ihre Berechnung erfolgte mit nicht-linearer Regression.

Literatur:

- Chen C, Okayama H (1987) High-efficiency transformation of mammalian cells by plasmid DNA. *Mol Cell Biol* 7:2745-2752.
- Debus F, Capito T, Piel M, Rösch F, Lüddens H (2007) Potentielle PET-Liganden für $\alpha 5$ -Untereinheiten enthaltende GABA_A Rezeptoren: *in vitro* Bindung an heterolog exprimierte GABA_A Rezeptorsubtypen. Statusreport 2005/2006 des IAK-PET.
- Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ (1981) Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflugers Arch* 391:85-100.
- Korpi ER, Gründer G, Lüddens H (2002) Drug Interactions in GABA_A Receptors. *Prog Neurobiol* 67:113-159.
- Lüddens H, Korpi ER (1997) Methods for Transient Expression of Hetero-Oligomeric Ligand-Gated Ion Channels. In: *Methods in Molecular Biology* (Challiss RAJ, ed), pp 55-63. Totowa, NJ, USA: Humana Press Inc.
- Rabe H, Kronbach C, Rundfeldt C, Lüddens H (2006) The novel anxiolytic ELB139 displays selectivity to recombinant GABA_A receptors different from diazepam. *Neuropharmacology*, in press.