Ett sinne för celler

I dina sinnen känner cellerna av ljus, doft- och smakämnen. Inuti kroppen har de känselspröt för hormoner och signalämnen, exempelvis adrenalin, serotonin, histamin och dopamin. Under livets utveckling har celler om och om igen använt samma grundlösning för att läsa av sin omgivning: G-proteinkopplade receptorer. Men dessa receptorer gäckade länge forskarna.

Du har arbetat alldeles för länge. Fullmånen lyser när du går hem från den öde busshållplatsen. Plötsligt hör du steg bakom dig. De närmar sig snabbt. Ingen fara – intalar du dig. Det är säkert bara någon annan stackare som också har mycket att göra på jobbet. Men obehaget växer i kroppen. Det är verkligen någon som…

Flykten går mot hemmets ljus. När du sticker nyckeln i dörren skakar hela kroppen, hjärtat bultar och du andas häftigt. Häftigare än du borde efter den korta sträckan.

I samma stund som ditt öga registrerar den närmande skuggan, ställer hela din kropp in sig på flykt (bild 1). Nervsignaler från hjärnan skickar en första varning till kroppen. Hypofysen släpper ut hormon, som via blodet tar sig till binjurarna. Dessa vaknar och pumpar ut kortisol, adrenalin och noradrenalin som slår larm: det är dags att fly! Fettceller, muskelceller, lever, hjärta, lungor och blodkärl reagerar direkt. Blodet fylls av socker och fett, luftrören vidgas och hjärtat börjar slå snabbare – allt för att musklerna ska få mer energi och syre. Målet: du ska kunna springa så snabbt det bara går för att rädda ditt liv.

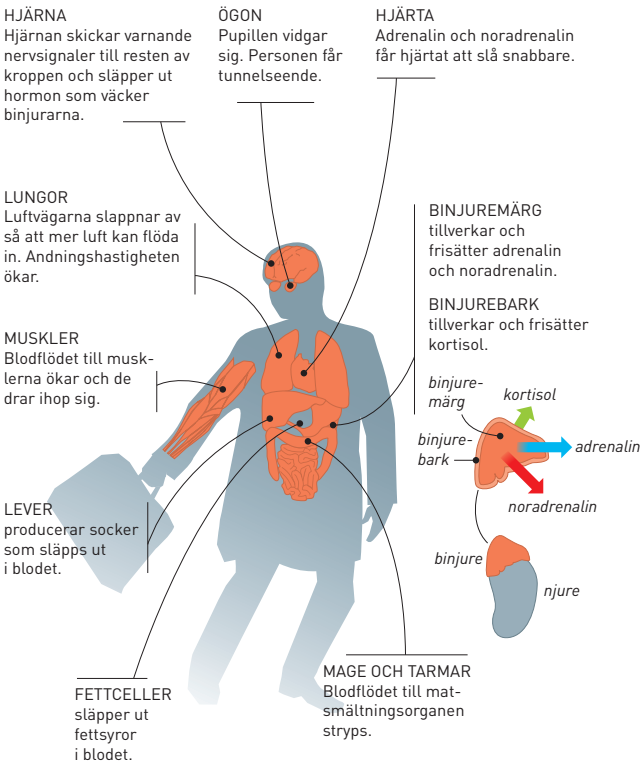

Bild 1. Det är dags att fly. Nervsignaler och hormoner från hjärnan väcker kroppen. Binjurarna fyller blodet med stresshormer. Tack vare sina receptorer känner celler runt om i kroppen av att något är på gång.

Nobelpriset® är av Nobelstiftelsen registrerat varumärke.

I en människa samverkar tiotusentals miljarder celler, de flesta specialiserade på en uppgift. Vissa lagrar fett, andra registrerar synintryck, producerar hormoner eller bygger starka muskler. För att vi ska fungera är det avgörande att cellerna jobbar i takt; att de känner av sin omgivning och vet vad som är på gång. Därför behöver de känselspröt utåt, som ett slags sinnen som registrerar vad som händer.

Dessa sinnen på cellernas yta kallas för receptorer (latin, 'mottagare'). **Robert J. Lefkowitz** och **Brian K. Kobilka** belönas med 2012 års Nobelpris i kemi, eftersom de har kartlagt hur så kallade G-proteinkopplade receptorer fungerar. Till denna familj hör till exempel receptorer för adrenalin, dopamin, serotonin, ljus, smak och lukt. De flesta fysiologiska processer är beroende av G-proteinkopplade receptorer. Enligt uppskattningar verkar runt hälften av alla läkemedel via dessa mottagare, till exempel betablockerare, antihistaminer och olika former av psykofarmaka.

Kunskaper om G-proteinkopplade receptorer är alltså till största nytta för mänskligheten. Men dessa receptorer gäckade länge forskare; de var synnerligen svårfunna.

Receptorer – en gåta som gäckade forskarna

När forskare mot slutet av 1800-talet började experimentera med adrenalinets effekter i kroppen, upptäckte de att hormonet får hjärtat att slå fortare, blodtrycket stiger och pupillerna slappnar av. De misstänkte att adrenalinet verkade via kroppens nervtrådar. Men när de slog ut försöksdjurens nerver, kom effekten ändå. Slutsats: celler måste ha någon slags mottagare som gör att de kan känna av kemiska ämnen – hormoner, gifter och läkemedel – i sin omgivning.

Men när de försökte hitta dessa mottagare gick de bet. De ville förstå hur receptorerna såg ut och hur de förmedlade signalen till cellen. Adrenalinet tillsatte de på cellens *utsida* och detta ledde till förändringar i ämnesomsättningen som de kunde mäta upp på cellens *insida*. Varje cell har en vägg; ett så kallat membran av fettmolekyler som avgränsar den från omgivningen. *Hur tog sig signalen genom cellens vägg? Hur kunde insidan av cellen veta vad som pågick på utsidan?*

Receptorerna gömde sig för forskare i årtionden. De lyckades till och med utveckla läkemedel som verkade via dessa mottagare, innan de hittade dem. Amerikanen Raymond Ahlquist studerade mot slutet av 1940-talet hur olika organ reagerar på adrenalinliknande ämnen. Från försöken drog han slutsatsen att det måste finnas *två olika slags* receptorer för adrenalin; en som får blodkärlens glatta muskelceller att dra ihop sig och en annan som framförallt stimulerar hjärtat. Han kallade receptorerna för *alfa* och *beta*. Med denna kunskap som grund, utvecklade forskare sedan betablockerare; några av våra mest använda hjärtläkemedel.

Dessa läkemedel påverkade bevisligen cellerna, men hur det gick till förblev en gåta. Idag vet vi varför receptorerna var så svåra att finna: de är förhållandevis få till antalet och de sitter dessutom väl inkapslade i cellens vägg. Efter ett par decennier började till och med Raymond Ahlquist känna sig vilsen i sin teori om de två distinkta receptorerna. Han skriver: ”För mig är de ett abstrakt koncept uttänkt för att förklara observerade effekter i vävnader orsakade av kemikalier av olika strukturer”.

Det är här, mot slutet av 1960-talet, som en av 2012 års Nobelpristagare i kemi, Robert Lefkowitz, gör sin entré i receptorernas historia.

Receptorerna lockas ur sina gömmor

Den unge toppstudenten hade bestämt sig för att bli kardiolog, men Vietnamkriget pågår och han gör militärtjänst inom U. S. Public Health Service på den statliga forskningsinstitutionen National Institutes of Health. Där får han en riktig utmaning: att hitta dessa receptorer. Lefkowitzs handledare har redan planen klar för sig. Det borde gå att fästa radioaktivt jod på ett hormon. När hormonet sedan fastnar

på cellens yta, kommer det gå att spåra receptorn via strålningen. I ett andra steg – för att stärka bevisningen – ska Lefkowitz också visa att hormonet, via kopplingen till cellens yta, de facto triggar igång en process som man vet sker på *insidan* av cellen. Lyckas han med detta kan ingen tvivla på att han har upptäckt en biologiskt fungerande receptor.

Robert Lefkowitz börjar arbeta med adrenokortikotropt hormon; ett hormon som stimulerar binjurens produktion av adrenalin. Men i princip ingenting fungerar. Ett år går utan att han gör några större framsteg och Lefkowitz, som egentligen inte alls är speciellt intresserad av forskning, misströstar. Han fortsätter sitt arbete, men drömmer om en framtid som läkare.

I början av projektets andra år, får han dock äntligen vind i seglen. År 1970 kan han berätta om upptäckten av en biologisk aktiv receptor i de två prestigefyllda tidskrifterna *Proceedings of the National Academy of Sciences* (*PNAS*) och *Science*. Framgången får honom att se tjusningen med forskning och han rekryteras så småningom av Duke University i Nord-Carolina. Inte för att han vill flytta just dit, utan för att universitetet ger honom ett erbjudande som han bara inte kan tacka nej till.

I splitternya laboratorielokaler grundar sedan Robert Lefkowitz sin egen forskargrupp. Han blev aldrig kardiolog, men han vill ändå gärna jobba med hjärtats sjukdomar. Därför fokuserar han nu på receptorerna för adrenalin och noradrenalin, så kallade adrenerga receptorer. Med hjälp av radioaktivt märkta ämnen, bland annat betablockerare, undersöker forskargruppen hur dessa receptorer fungerar. Genom att vässa och slipa sina verktyg lyckas de också med bedriften att extrahera en rad olika receptorer från biologisk vävnad.

Parallellt med detta växer kunskaperna kring vad som händer på cellens insida. Så kallade G-proteiner (Nobelpriset i fysiologi eller medicin 1994) aktiveras av signalen från receptorn. Dessa proteiner triggar i sin tur igång en kedja av reaktioner som ändrar cellens ämnesomsättning. Kunskapsutvecklingen leder till att forskare under 1980-talet får en övergripande bild av hur det går till när en signal överförs från cellens utsida till dess insida (bild 2).

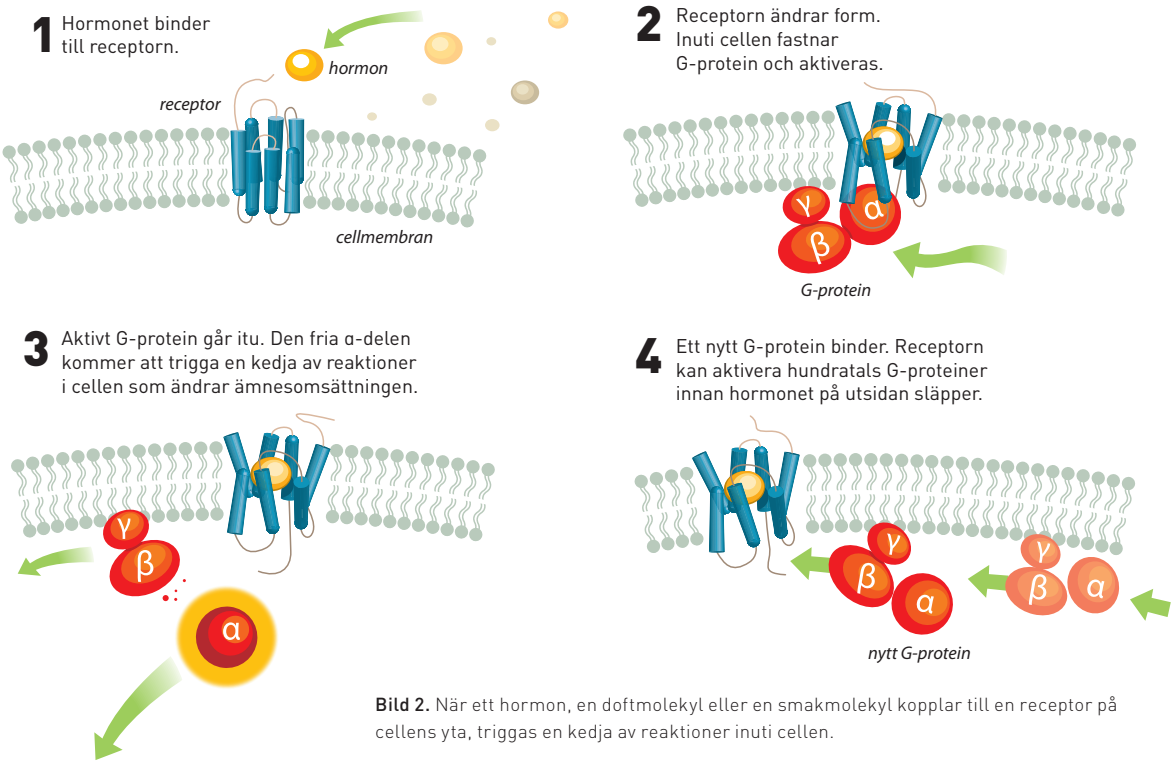

Bild 2. När ett hormon, en doftmolekyl eller en smakmolekyl kopplar till en receptor på cellens yta, triggas en kedja av reaktioner inuti cellen.

Genen – en nyckel till nya insikter

Avgörande för 2012 års Nobelpris i kemi är ett kunskapssteg som Robert Lefkowitz tar på 1980-talet. Han beslutar då att hans forskargrupp ska försöka hitta den gen som kodar för betareceptorn. En gen fungerar som en ritning. Den innehåller en kod som cellen läser av när den ska foga ihop aminosyror till ett protein, till exempel en receptor. Tanken är att om forskargruppen kan isolera genen och läsa av ritningen för betareceptorn, kan detta ge nya ledtrådar till hur receptorn fungerar.

Ungefär samtidigt rekryterar Lefkowitz en ung forskare till sitt laboratorium: läkarutbildade Brian Kobilka. Hans fascination för adrenerga receptorer föddes genom intensivvården. En spruta adrenalin kan vara skillnaden mellan liv och död. Hormonet öppnar upp svullna andningsvägar och sätter fart på hjärtat. Brian Kobilka ville studera adrenalinets krafter in i minsta molekylära detalj och därför sökte han sig till Lefkowitzs laboratorium.

Kobilka involveras direkt i sökandet efter genen. Men att hitta en specifik gen i kroppens gigantiska arvsmassa var på 1980-talet lite som att leta efter en nål i en höstack. Det tekniskt utmanande projektet går trögt. Men en kreativ idé från Brian Kobilka leder till det genombrott som gör att genen går att isolera. Med nyfikna ögon läser forskarna koden. Den avslöjar att receptorn består av sju långa och feta (hydrofoba) strängar. Dessa strängar är spiralformade; de formar så kallade helixar (bild 3). Av detta förstår forskarna att receptorn sannolikt slingrar sig sju gånger fram och tillbaka genom cellens feta vägg.

Sju gånger. Den har exakt samma antal slingor och samma spiralform som en helt annan receptor på en helt annan plats i kroppen: rhodopsin som sitter i ögats näthinna och fångar upp ljus. Nu föds en tanke hos forskarna. *Kan dessa receptorer, trots sina olika funktioner, vara besläktade?*

Robert Lefkowitz har i efterhand beskrivit detta som en riktig aha-upplevelse. Han visste att både adrenerga receptorer och rhodopsin är kopplade till G-proteiner på cellens insida. Han visste också att det fanns ett trettiotal andra receptorer som verkade via G-proteiner. Slutsats: *det måste finnas en hel familj av receptorer som ser ut och fungerar på samma vis!*

Sedan denna banbrytande upptäckt har bit för bit fogats till de detaljerade kunskaper som forskare numera har kring G-proteinkopplade receptorer; hur de verkar och hur de regleras på molekylär nivå. Under hela denna upptäcktsresa har Robert Lefkowitz och Brian Kobilka varit centralfigurer och förra året, 2011, satte Brian Kobilka och hans medarbetare kronan på verket.

Adrenalinets effekt fångad på unik bild

Efter framgången med den isolerade genen, flyttade Brian Kobilka till Stanford University School of Medicine i Kalifornien. Där satte han upp ett nytt mål för sig själv: att fånga receptorn på bild. En ouppnåelig dröm enligt många av dåtidens forskare – och för Brian Kobilka blev det en lång resa.

Att ta fram en bild av ett protein är en flerstegsprocess. Proteiner är för små för att synas i ett vanligt mikroskop. Istället använder forskare en metod som kallas för röntgenkristallografi. De framställer en kristall där proteinerna ligger tätt packade i ett symmetriskt mönster, likt vattenmolekyler i en iskristall eller kol i en diamant. Sedan skjuter de röntgenstrålar genom proteinkristallen. När strålarna träffar proteinerna, sprids de. Från röntgenstrålarnas spridningsmönster, kan forskarna sedan skapa sig en bild av hur proteinerna ser ut.

Den första kristallstrukturen av ett protein togs fram redan på 1950-talet. Sedan dess har forskare röntgat och avbildat tusentals proteiner. Majoriteten har varit vattenlösliga, vilket underlättar vid själva kristalliseringen. Färre forskare har lyckats få fram bilder av proteiner som sitter i cellens feta vägg. Dessa proteiner löser sig lika illa i vatten som smör och bildar lätt feta klumpar. G-proteinkopplade receptorer är dessutom av naturen väldigt rörliga (de skickar sina signaler genom att röra sig), men inuti en kristall måste de ligga nästan still. Att förmå dem att bilda kristaller är därför en stor utmaning.

Det tog Brian Kobilka över två decennier att hitta lösningar på alla problem. Men tack vare envishet, kreativitet och molekylärbiologiska konster, nådde han och hans medarbetare förra året sitt absoluta mål: en bild som fångar receptorn just i det ögonblick som den överför signalen från hormonet på cellens utsida till G-proteinet på cellens insida (bild 3).

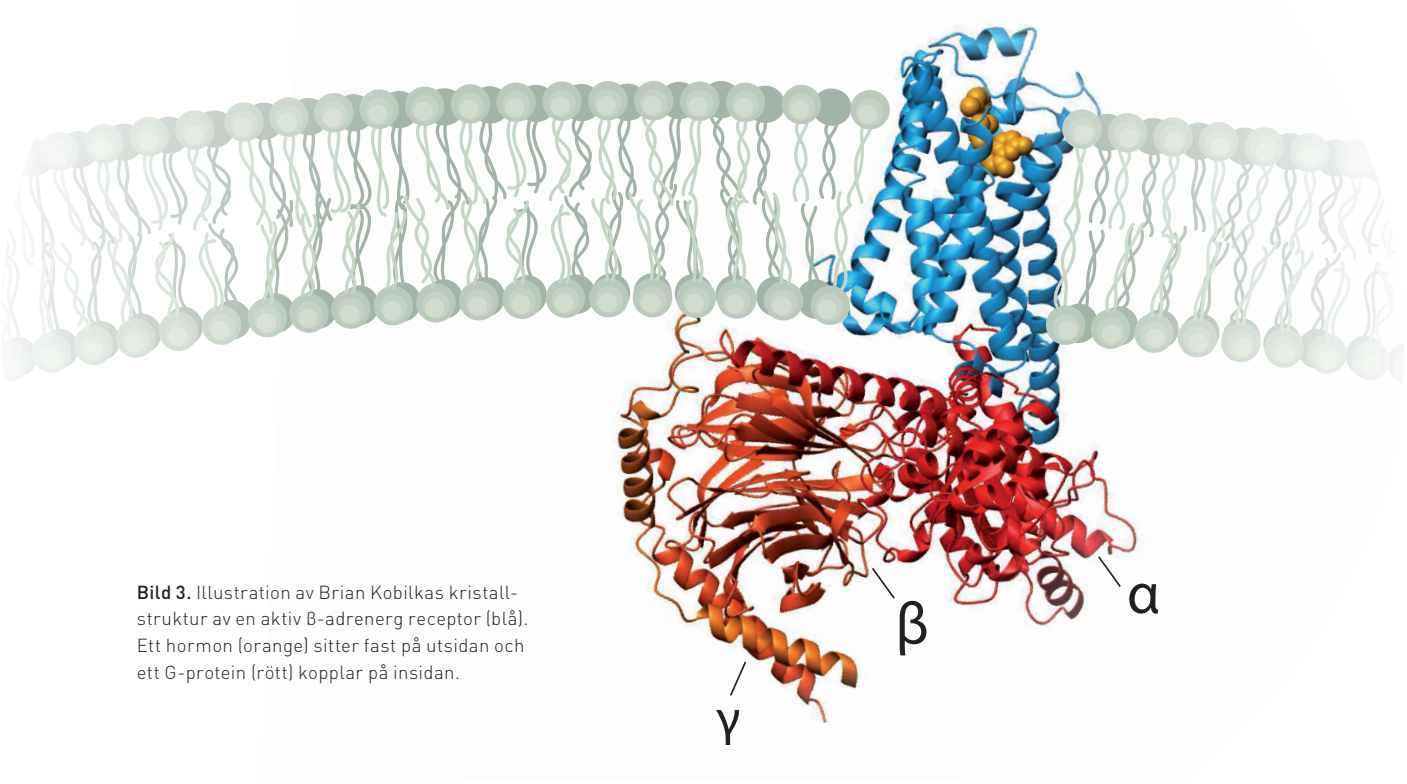

Bild 3. Illustration av Brian Kobilkas kristallstruktur av en aktiv ß-adrenerg receptor (blå). Ett hormon (orange) sitter fast på utsidan och ett G-protein (rött) kopplar på insidan.

Bilden, publicerad i *Nature*, avslöjar nya detaljer om G-proteinkopplade receptorer, bland annat hur det ser ut när receptorn aktiveras och öppnar upp en djup klyfta där G-proteinet gärna fastnar (bild 4). Kunskaper likt dessa kommer att vara viktiga vid exempelvis framtida utveckling av läkemedel.

Livet kräver flexibilitet

Kartläggningar av människans arvsmassa har avslöjat att det finns närmare tusen gener som kodar för G-proteinkopplade receptorer. Ungefär hälften av dessa receptorer tar emot dofter och är en del av vårt luktsinne. En tredjedel är receptorer för hormoner och signalämnen, bland annat dopamin, serotonin, prostaglandin, glukagon och histamin. Några receptorer fångar ljus i vårt öga, medan andra hör hemma på vår tunga och hjälper oss att känna smak. Över hundra stycken är ännu oskrivna blad; receptorer vars funktioner återstår att upptäcka.

Förutom att det finns många olika slags receptorer har forskare, med Robert Lefkowitz och Brian Kobilka i spetsen, upptäckt att de är multifunktionella. En och samma receptor kan känna igen flera olika hormoner på cellens utsida. På cellens insida kan de samverka med andra protein än G-proteiner,

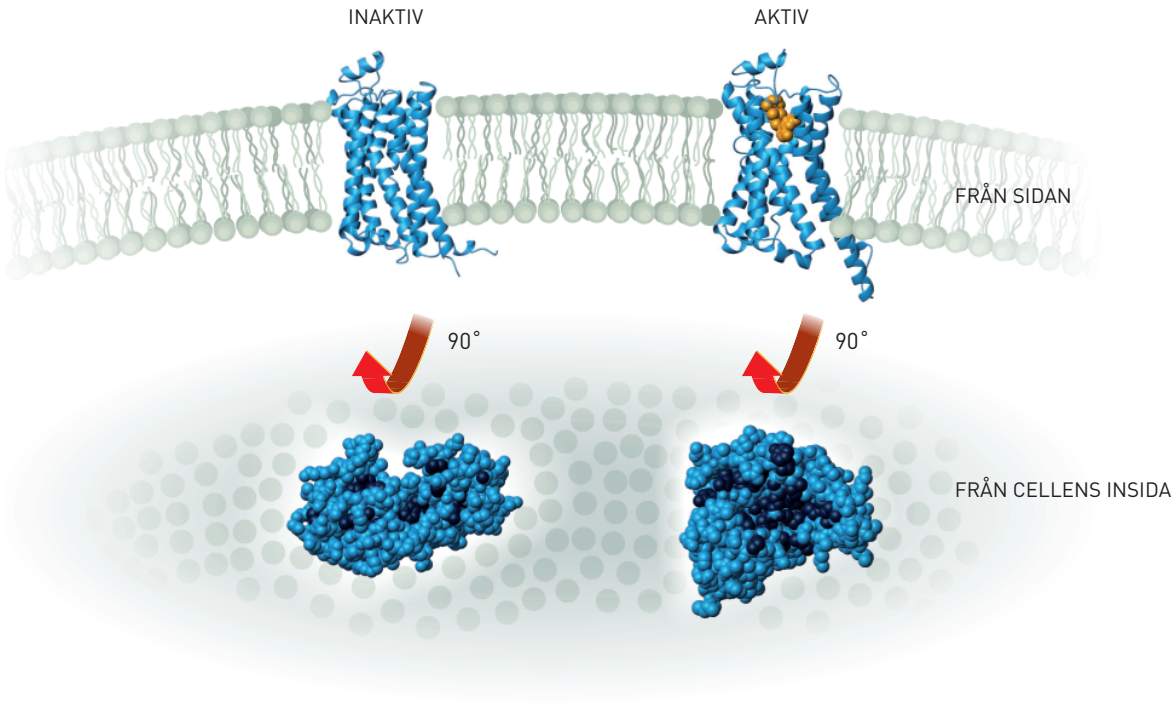

Bild 4. ß-adrenerg receptor ändrar form när den aktiveras. När hormonet (orange) griper tag på utsidan, öppnar sig insidan likt en blombukett. På de nedre bilderna är receptorn vriden så att delen som vätter mot cellens insida syns. Alla atomer i receptorn är ritade som bollar. Vattenlösliga delar är ljusblå. Feta delar är mörkblå. När hormonet binder på utisdan (till höger) öppnas en fet klyfta dit G-proteinet binder.

till exempel proteiner som kallas arrestiner. Insikten om att dessa receptorer inte alltid är G-proteinkopplade, har lett till att forskare även kallar dem för 7-transmembrana receptorer (7TM) efter de sju spiralformade slingorna som går genom cellens vägg.

Receptorernas antal och flexibilitet möjliggör den finstilta reglering av celler som livet kräver. Låt oss återgå till flykten från busshållsplatsen. När blodet fylls med adrenalin reagerar olika vävnader på olika vis. Blodflödet till matsmältningsorganen stängs av, medan blodflödet till musklerna ökar. Adrenalinets olika effekter, beror på att det finns minst nio olika receptorer för detta hormon i kroppen. Vissa receptorer triggar igång cellen. Andra har en lugnande effekt.

Nästa gång du blir rädd, njuter av god mat eller beskådar en stjärna kan du alltså tänka på dina G-proteinkopplade receptorer. Utan dem, hade dina celler strävat mot olika mål och det hade varit kaos i din kropp.

LÄNKAR OCH LÄSTIPS

Mer information om årets priser, bland annat en vetenskaplig bakgrundsartikel på engelska, finns på Kungl. Vetenskapsakademiens webbplats, *http://kva.se* och på *http://nobelprize.org*. Där kan man också se presskonferensen som webb-TV. Mer information om utställningar och aktiviteter kring Nobelprisen och Ekonomipriset finns på *www.nobelmuseet.se*.

Artiklar

Buchen, L. (2011) Cell signalling caught in the act, *Nature* 475:273–274.
Buchen, L. (2011) It's all about the structure, *Nature* 476: 387–390.
Snyderman, R. (2011) Introduction of Robert J. Lefkowitz, *J. Clin. Invest.* 121(10):4192–4200.
Williams, R. (2010) Robert Lefkowitz: Godfather of G Protein-Coupled Receptors, *Circ. Res.* 106:812–814.

Föreläsningar (video)

Lefkowitz, R. J. (2010) Part 1 Seven Transmembrane Receptors, *http://www.youtube.com/watch?v=gPyo7k9E_-w*
Lefkowitz, R. J. (2010) Part 2 Beta-arrestins, *http://www.youtube.com/watch?v=IP4zsbemW8I*

PRISTAGARE

ROBERT J. LEFKOWITZ

Amerikansk medborgare. Född 1943 (69 år) i New York, NY, USA. Investigator, Howard Hughes Medical Institute. James B. Duke Professor of Medicine och Professor of Biochemistry, Duke University Medical Center, Durham, NC, USA.

www.lefkolab.org

BRIAN K. KOBILKA

Amerikansk medborgare. Född 1955 (57 år) i Little Falls, MN, USA. Professor, Chair of molecular and cellular physiology och Hélène Irwin Fagan Chair in Cardiology, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, USA.

http://med.stanford.edu/kobilkalab

Vetenskapsredaktörer: Sara Snogerup Linse och Sven Lidin, Nobelkommittén för kemi
Text: Ann Fernholm
Illustrationer där inget annat anges: ©Johan Jarnestad/Kungl. Vetenskapsakademien
Redaktör: Ann Fernholm
©Kungl. Vetenskapsakademien