

Forschungsschwerpunkt 2007: Regulation der Nahrungsaufnahme

**Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke,
Abteilung Molekulare Genetik**

Entwicklung von Computermodellen als Ausgangspunkt für die molekulare Analyse menschlicher Bitterrezeptoren der hTAS2R-Genfamilie

Der Geschmackssinn des Menschen spielt eine wichtige Rolle für die Beurteilung der Nahrungsqualität. Der Bittergeschmack ist durch ein komplexes Zusammenspiel von 25 Rezeptoren der hTAS2R-Genfamilie mit Hunderten von Bittersubstanzen gekennzeichnet. Die Charakterisierung menschlicher Bitterrezeptoren in unserer und anderen Arbeitsgruppen hat gezeigt, dass die Mehrzahl von ihnen mehrere Bitterstoffe erkennen und einige sogar ein besonders breit gefächertes Agonistenspektrum aufweisen. Diese Tatsache weist auf besondere Anforderungen an die Architektur der Agonistenbindungsstellen in diesen Rezeptoren hin, um eine Vielzahl strukturell unterschiedlicher Bittersubstanzen spezifisch zu erkennen. Das Ziel des Projektes war die Entwicklung von Homologiemodellen menschlicher Bitterrezeptoren, um unsere Arbeiten zur Charakterisierung der Ligandenbindungsstellen zu unterstützen, sowie die Verifizierung dieser Modelle mittels Mutageneseexperimenten und funktionellen Analysen.

Die Auswertung der Homologiemodelle, die auf der Basis strukturell verwandter Rezeptoren wie dem Rhodopsin und dem beta2-adrenergen Rezeptors erstellt wurden, zeigte, dass sich in der Tat die Position möglicher Ligandenbindungstaschen bestimmen ließen. Damit war es möglich die Anzahl von potentiell an der Ligandeninteraktion beteiligten Aminosäureresten auf etwa 20 von über 300 Resten aus denen sich ein Rezeptor zusammensetzt zu begrenzen. Die gezielte Mutagenese derartiger Reste und die anschließende Funktionsüberprüfung der Funktion von Rezeptormutanten durch „calcium-imaging“ Experimente zeigte, dass die Verknüpfung von *in silico* Analysen mit experimentellen Daten die erhoffte Effizienzsteigerung bei der Struktur-Funktionsanalyse von Bitterrezeptoren erlaubt. In der Tat wurde für einen Teil der von den Computermodellen abgeleiteten Positionen eine Beteiligung an der Ausformung mutmaßlicher Bindungsstellen bestätigt.

Insgesamt lässt sich sagen, dass die begleitende *in silico* Analyse von Bitterrezeptoren und Bitterstoffen ein wertvolles Hilfsmittel zur experimentellen Struktur-Funktionsanalyse darstellt (1, 2).

Development of *in silico* models as a basis for the characterization of human bitter taste receptors

The human sense of taste plays an important role for the evaluation of food quality. A complex interplay between the 25 known receptors of the hTAS2R gene family and hundreds of bitter compound is characteristic for bitter taste perception. Previous studies of bitter taste receptors by us and other groups have shown that the majority of hTAS2Rs detect several bitter compounds, while some even exhibit an extraordinary broad agonist spectrum. These facts point to special requirements for the architecture of ligand binding pockets of hTAS2Rs, combining flexibility with selectivity. The aim of this project was the development of

homology models of hTAS2Rs to guide the characterization of ligand binding pockets as well as the verification of these models by mutagenesis experiments and functional assays. Evaluation of the receptor models, which have been based on structurally related receptors such as rhodopsin and the beta-2-adrenergic receptor, allowed indeed the localization of putative ligand binding sites. This enabled us to restrict the number of amino acid residues potentially involved in ligand interaction to about 20 out of more than 300 constituting the entire receptor. Site-directed mutagenesis of those residues followed by functional calcium imaging assays revealed that the combination of *in silico* analyses with experimental data improved the efficiency of structure-function analyses as anticipated. Indeed, a number of residues that were predicted to participate in the formation of ligand binding pockets by the homology models could be validated.

In summary, it can be stated that the combination of *in silico* analyses of bitter taste receptors and bitter compounds with experimental data is a useful strategy for the characterization structure-function relationships (1, 2).

1. Behrens, M., Brockhoff, A., Batram, C., Kuhn, C., Appendino, G., and Meyerhof, W. (2009) The human bitter taste receptor hTAS2R50 is activated by the two natural bitter terpenoids, andrographolide and amarogentin. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 9860-9866.
2. Brockhoff, A., Behrens, M., Niv, M.Y., and Meyerhof, W. (2010) Structural requirements of bitter taste receptor activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 107, 11110-11115.

Autor: Dr. rer. Nat. Maik Behrens