

Nobelprisen i kemi år 2003 til Peter Agre for opdagelsen af aquaporinvandkanaler

Søren Nielsen & Jørgen Frøkiær

Peter Agre (**Fig. 1**), som er professor i intern medicin og biologisk kemi ved Johns Hopkins University Medical School i Baltimore, får den 10. december 2003 overrakt nobelprisen i kemi for sine epokegørende opdagelser af vandkanaler. Denne banebrydende opdagelse har givet molekylær indsigt i en af de mest fundamentale og livsbetingende biologiske processer, nemlig hvordan vand transporteres over cellemembraner og celler. Kroppen består af ca. totredjedele vand, og transport af vand over celler og regulering af kroppens vandbalance er helt afgørende for liv. Opdagelsen har f.eks. også givet indsigt i, hvordan nyrerne regulerer kroppens vandbalance gennem regulering af vandkanaler og har givet indsigt på molekylært niveau i den fejlregulering, der sker af kroppens vandbalance i forbindelse med flere livstruende tilstande som nyresygdomme, hjertesygdomme, leversygdomme, hjerneødem og andre sygdomme. Vandkanaler findes i stort set alle levende organismer, så opdagelsen har også givet en fundamental indsigt i mange andre områder. Der er påvist mere end to hundrede forskellige vandkanaler i planter, som spiller en afgørende rolle for vandtransport i planter og planterødder og dermed for planters vækst.

Peter Agre har tidligere modtaget en række hædersbevisninger, og det skal herunder kort anføres, at *Peter Agre* den 12. september 2003 blev æresdoktor ved Aarhus Universitet i forbindelse med universitetets 75-års jubilæum, på baggrund af hans videnskabelige meritter og det tætte samarbejde med forskere ved Vand og Salt Centret, Aarhus Universitet, siden 1991.

Fig. 1. *Peter Agre*, Nobelpristager i kemi, 2003.

Foto: *Peter Courtain*.



Opdagelsen af den første vandkanal

Peter Agre gjorde sin epokegørende opdagelse af aquaporinvandkanaler gennem en række studier i perioden 1989-1992. *Peter Agres* forskningsgruppe arbejdede på det tidspunkt med rhesusantigenet. I forbindelse med dette arbejde fandt gruppen et »kontaminerende« bånd i elektroforesegelejerne af membranproteiner oprenset fra erythrocytter (et bånd på ca. 28 kDalton). Først oprensede *Peter Agre* og hans kolleger dette protein fra erythrocytter og karakteriserede dette biokemisk [1]. Dernæst sekventerede og klonede de genet og bestemte aminosyresekvensen for proteinet [2]. Resultaterne af initiale analyser indikerede, at proteinet havde seks membranspændende domæner og havde homologi med en gruppe proteiner, som tentativt kunne forme kanaler i membraner. På bag-

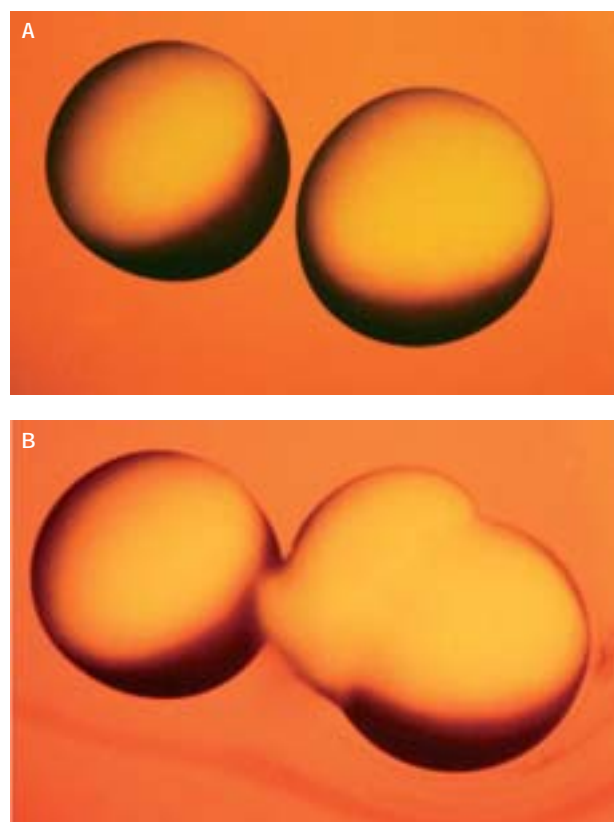


Fig. 2. *Peter Agres* forskningsgruppe testede hypotesen om, hvorvidt CHIP28 fungerer som en vandkanal ved at eksprimere CHIP28 i *Xenopus*-oocytter [3]. På hver figurdel er vist to oocytter. Den ene udtrykker CHIP28 efter injektion med CHIP28 cRNA (t.h.), hvorimod den anden ikke udtrykker dette. I et isotont medium er der ingen forskel på størrelsen af oocytterne (panel A). Hvis oocytterne efterfølgende eksponeres for et hypotont medium, ændres volumenet af oocytten, der eksprimere CHIP28 meget markant i modsætning til kontroloocytten som evidens for, at CHIP28 fungerer som en vandkanal.

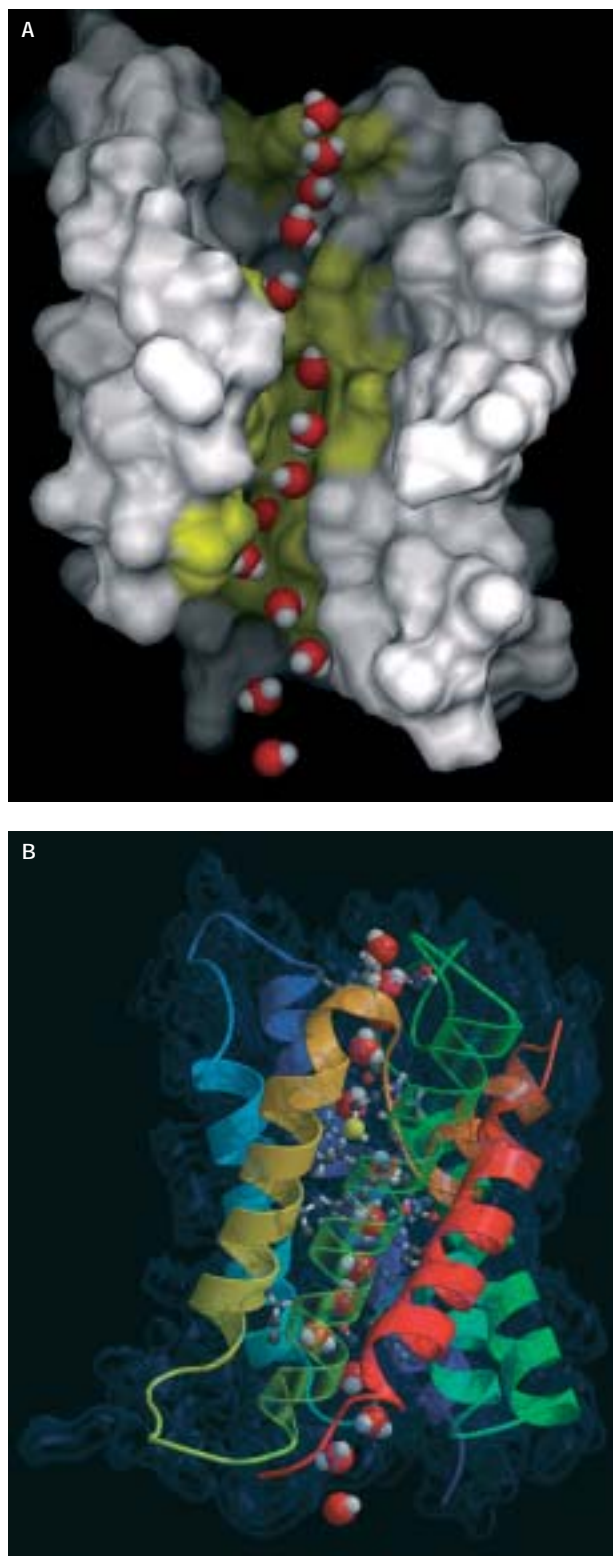


Fig. 3. A. Computersimuleret model af AQP1 [6] blandt andet baseret på elektrokrystallografiske analyser [5]. Modellen viser passagevejen for vandmolekyler gennem AQP1. De regioner af proteinet, som indgår i kanalstrukturen for vandmolekylernes passage, er vist i gult.

B. Modellen viser den tredimensionale opbygning af AQP1-vandkanalen med angivelse af transmembrane domæner og de loop, der forbinder disse. Desuden er porestrukturen for vandmolekyler passage gennem AQP1 angivet.

Venligst udlånt med tilladelse fra Bert de Groot & Helmut Grubmüller [6].

grund af disse studier benævntes proteinet CHIP28 for *channel-like integral membrane protein of 28 kDa*. For at afdække funktionen af dette protein foretog Peter Agre i tredje trin sammen med sine kolleger ekspressionskloning af CHIP28 i *Xenopus*-oocytter og kunne derved vise, at CHIP28 var en vandkanal (**Fig. 2 A og B**) [3]. Gennem det fjerde og sidste trin oprensede Peter Agre og kolleger CHIP28 fra erythrocytter og rekonstituerede det i artificielle lipidmembraner (proteoliposomer), hvilket førte til mere detaljerede biofysiske studier, som viste, at CHIP28-proteinet i sig selv er en vandselektiv kanal, og at dette protein ikke transporterer protoner eller andre små molekyler [4]. Disse fund er senere blevet bekræftet af andre. Vandkanaler fik herefter hurtigt navnet aquaporiner, »vandporer«.

Baseret på efterfølgende strukturelle studier af det oprensede protein har man opnået en meget detaljeret højopløselig information på 3-5 Å-niveau [5, 6]. Dette har medført et gennembrud i den strukturelle forståelse for proteinets tredimensionale opbygning og placering og organisering i cellemembraner (**Fig. 3 A og B**). Gennem computersimulation af den strukturelle information baseret på elektronkrystallografiske undersøgelser har man dannet en præcis model af den første vandkanal og bestemt de strukturelle og biokemiske egenskaber ved kanaler og derved opnået afgørende indsigt i, hvorfor kanalen netop er vandselektiv.

En familie af vandkanaler

Efter opdagelse af den første vandkanal – aquaporin-1 (AQP1) – er yderligere en række aquaporiner blevet klonet og karakteriseret, og familien tæller nu 12 forskellige aquaporiner, som findes lokaliseret i forskellige celler og væv hos mennesket, og en række aquaporiner findes f.eks. lokaliseret i nyren (**Tabel 1**). Aquaporiner findes også i bakterier, og mere end 200 isoformer er identificeret i planter.

Tabel 1. Aquaporiner i nyren.

	Tubulussegment	Subcellulær lokalisation	Regulering
AQP1	Proximale tubulus. Tynde descenderende ben	APM + BLM	Nej
AQP2	Samlerør. Hovedceller	APM + Ves	Ja
AQP3	Samlerør. Hovedceller	BLM	Ja
AQP4	Samlerør. Hovedceller	BLM	Nej
AQP6	Samlerør. Indskudsceller type A	Ves	Ja
AQP7	Proximale tubulus	APM	Nej
AQP8	Proximale tubulus	Ves	??

APM: apikale plasmamembran; BLM: basolaterale plasmamembran; Ves: intracellulære vesikler.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | INTERNATIONAL FORSKNING

Fig. 4. Sygdomme og tilstande hvor dysregulering af den vasopressinregulerede aquaporin-2-vandkanalen har patofysiologisk betydning.

Urinkoncentreringsdefekter
Medikamentelt induceret
Urinvejsobstruktion
Elektrolytforstyrrelser
Arvelige sygdomme
Endokrine sygdomme
Akut nyreinsufficiens
Kronisk nyreinsufficiens
Vand- og natriumretention
Hjerteinsufficiens
Levercirrose
Endokrine forstyrrelser
Hjerneødem
Graviditet/præeklampsi
Enuresis nocturna

Vandkanalers patofysiologiske betydning

Opdagelsen af den første vandkanal for godt ti år siden har givet anledning til nye forskningsområder, hvor den molekylære forståelse af vandtransport over celler og cellemembraner har givet mulighed for at opnå indsigt i essentielle patofysiologiske mekanismer i forbindelse med sygdomme, som er forbundet med ændringer i organers vandtransport. I de seneste ti år er der blevet publiceret en lang række artikler om aquaporinens fysiologiske og patofysiologiske betydning. Det skal som eksempel kort pointeres, at aquaporiner spiller en afgørende rolle for nyrernes regulering af kroppens vand-

balance, og at dysregulering af aquaporiner i nyrerne ses ved en række tilstande med urinkoncentreringsdefekter og tilstande karakteriseret ved vandretention (Fig. 4) [7].

Peter Agres opdagelse af aquaporinvandkanaler er således, som nævnt indledningsvis, epokegørende ud fra en fysiologisk forståelse af, hvordan vand transporteres over cellemembraner og celler, og den har væsentlige kliniske perspektiver. For yderligere information se nedenstående referencer og www.nobel.se

Korrespondence: Søren Nielsen, Vand og Salt Centret, Anatomisk Institut, Bygning 233/234, Aarhus Universitet, DK-8000 Århus C.

Antaget den 26. november 2003.
Aarhus Universitet, Vand og Salt Centret.

Litteratur

1. Agre P, Saboori AM, Asimos A et al. Purification and partial characterization of the Mr 30,000 integral membrane protein associated with the erythrocyte Rh(D) antigen. *J Biol Chem* 1987;262:17497-503.
2. Preston GM, Agre P. Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons: member of an ancient channel family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:11110-4.
3. Preston GM, Carroll TP, Guggino WB et al. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science* 1992;256:385-7.
4. Zeidel ML, Ambudkar SV, Smith BL et al. Reconstitution of functional water channels in liposomes containing purified red cell CHIP28 protein. *Biochemistry* 1992;31:7436-40.
5. Murata K, Mitsuoka K, Hirai T et al. Structural determinants of water permeation through aquaporin-1. *Nature* 2000;407:599-605.
6. De Groot BL, Grubmüller H. Water permeation across biological membranes: mechanism and dynamics of aquaporin-1 and GlpF. *Science* 2001;294:2353-7.
7. Nielsen S, Frøkiær J, Marples D et al. Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine. *Phys Rev* 2002;82:205-44.

Mycobacterium avium subspecies *paratuberculosis*

Jan Gorm Lisby & Niels Højby

I et studie af Bull et al [1] påvises ved hjælp af polymerasekædereaktion (PCR) tilstedeværelsen af *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) i tarmbiopsier hos 92% af patienter med morbus Crohn, men kun hos 26% af patienter med noninflammatorisk tarmsygdom. Ved langtidsdyrkning kunne MAP påvises i tarmvæv hos 42% af patienter med morbus Crohn sammenlignet med hos 9% af patienter med noninflammatorisk tarmsygdom. Forfatterne har udført PCR-analyserne under forhold, der sikrer, at positive analyser er sandt positive og ikke skyldes forurening, som er denne teknologiske akilleshæl. Dyrkningsundersøgelserne er udført ved at kombinere det i dag mest sensitive mykobakterielle dyrkningssystem med PCR-analyse af dyrkningskolberne. Studiet er således udført under optimale forhold ved anvendelse af de mest sensitive teknikker.

Hos drøvtyggere forårsager MAP Johnes sygdom, der er en kronisk granulomatøs ileitis med mange kliniske og patologiske ligheder med morbus Crohn [2]. På baggrund af disse ligheder, epidemiologien ved morbus Crohn, som har vist stærkt stigende hyppighed [3] og dyrkning af MAP fra pasteuriseret mælk [4], har man i en række arbejder forsøgt at afklare en eventuel sammenhæng imellem MAP og morbus Crohn, som så skulle være en zoonotisk infektion, uden at man er kommet til en entydig konklusion [5]. Der er dog enighed om, at mikroorganismene ikke direkte kan forårsage de omfattende læsioner, der ses ved morbus Crohn, da der kun er få mikroorganismer til stede i patienternes tarmvæv, og da de ikke producerer vigtige virulensfaktorer. Hvis MAP er involveret i udviklingen af morbus