

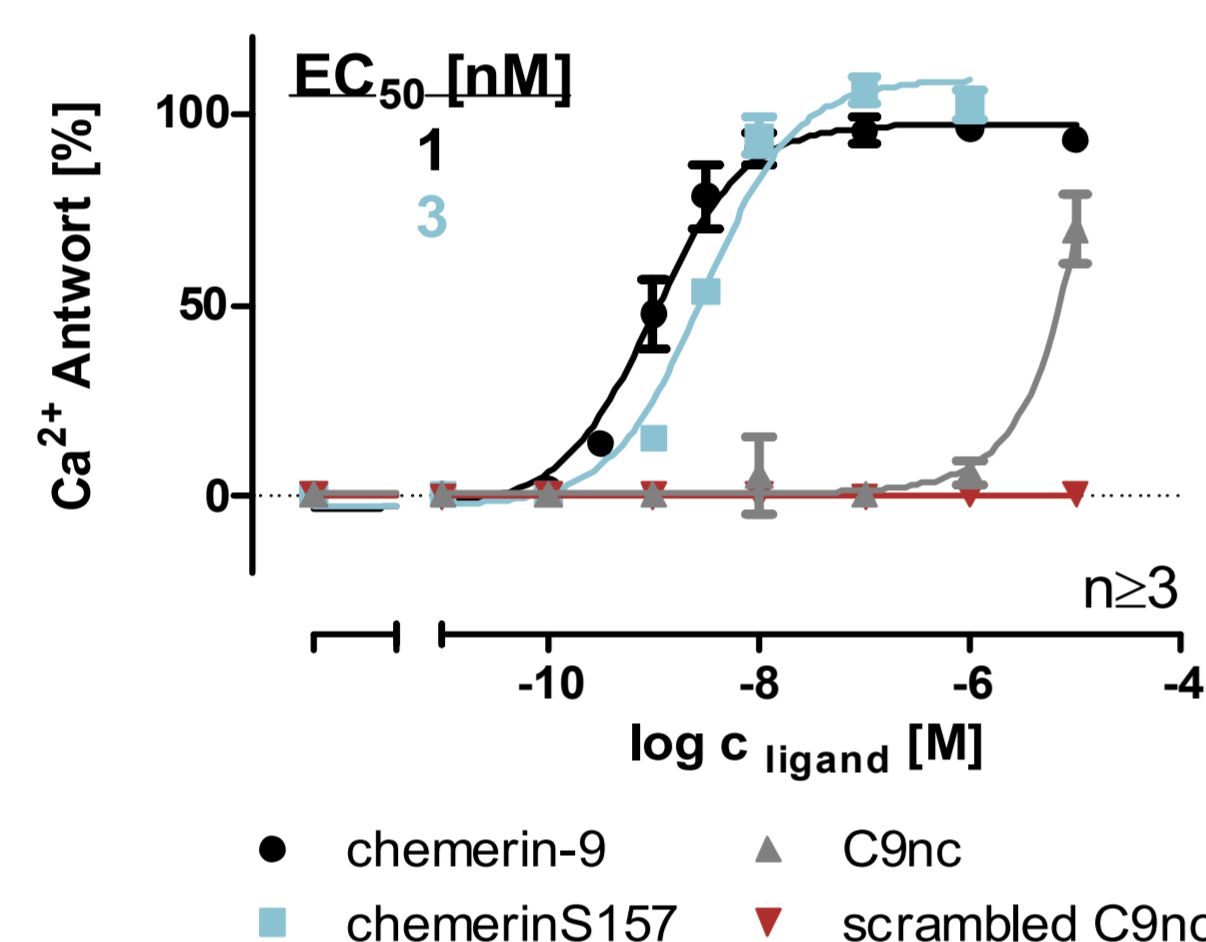
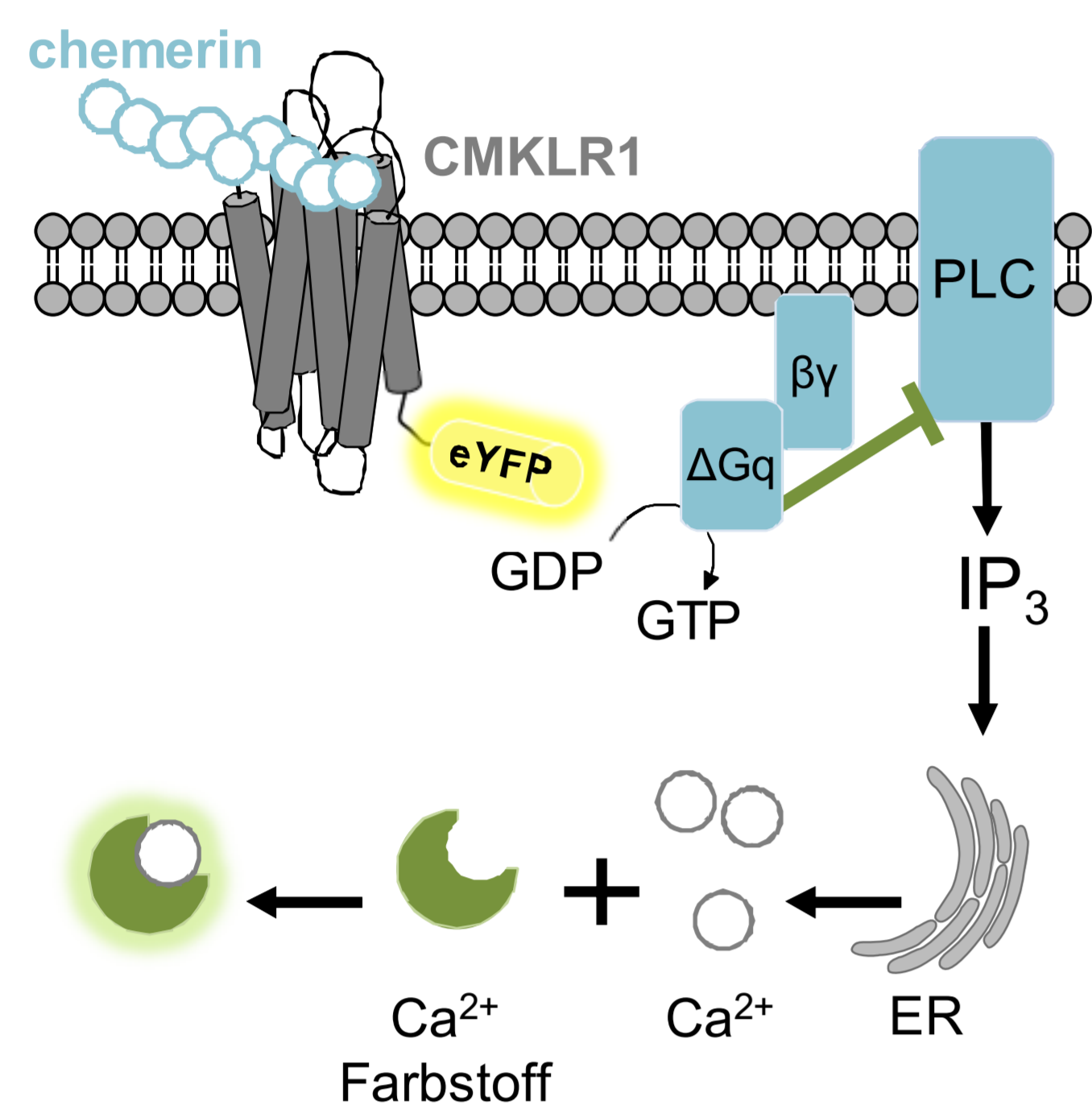
# Etablierung eines Assaysystems für den CMKLR1

Tina Weiß<sup>1</sup>, David C. Weaver<sup>2</sup>, Annette G. Beck-Sickinger<sup>1</sup>

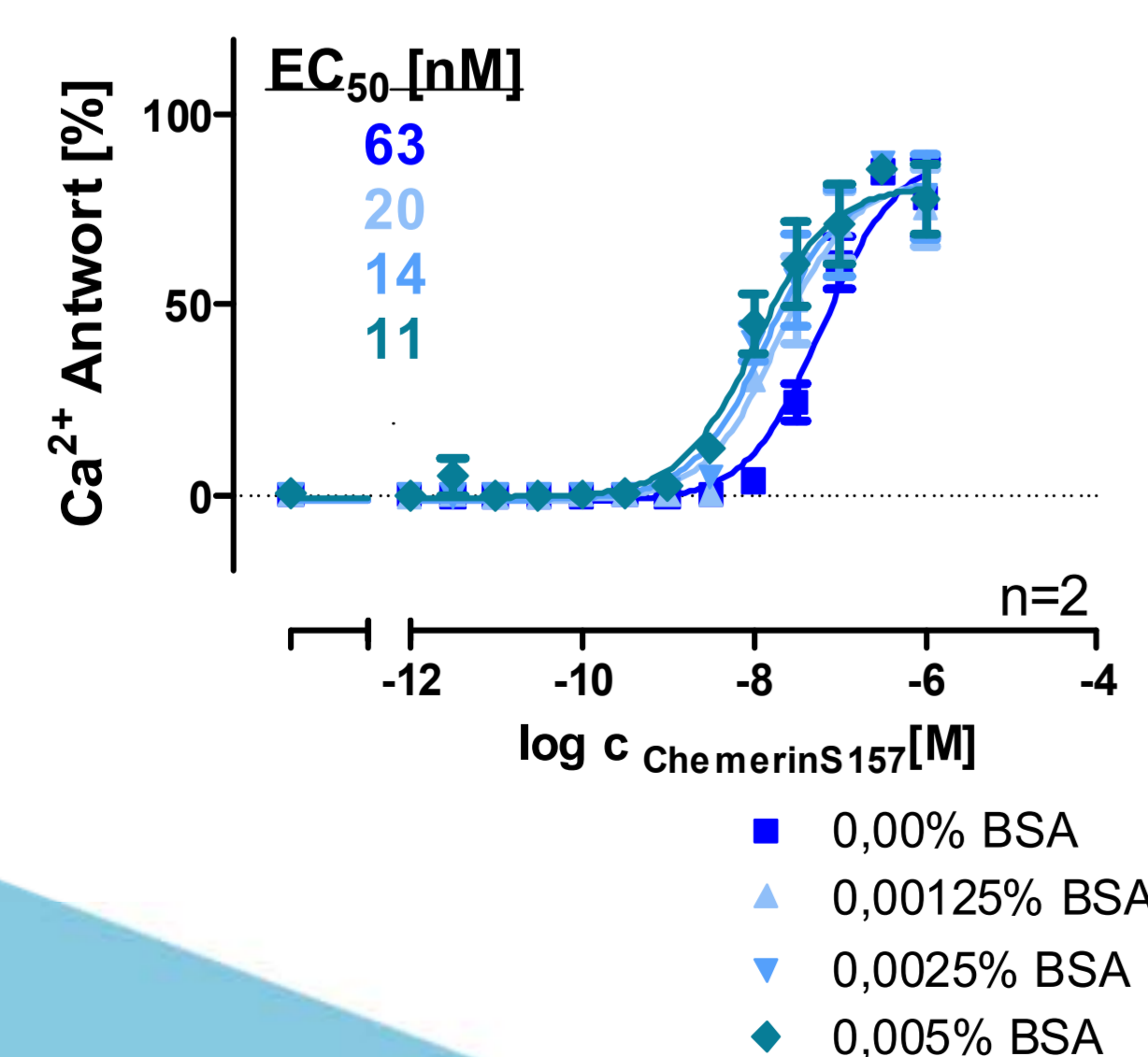
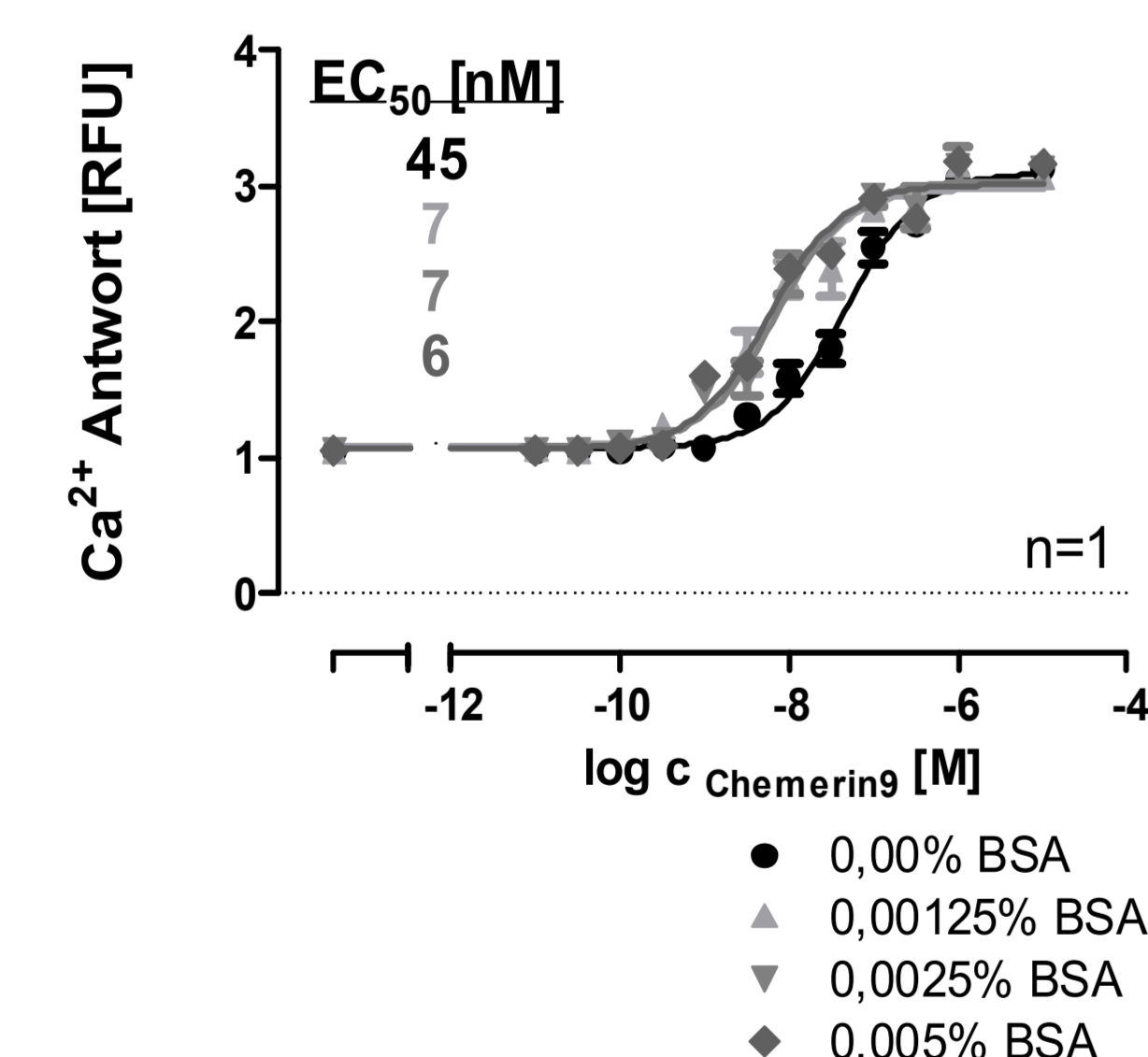
<sup>1</sup> Universität Leipzig, Institut für Biochemie, Leipzig, Deutschland; <sup>2</sup> Vanderbilt University, Tennessee, United States

## Charakterisierung der generierten HEK293-CMKLR1 Zelllinie

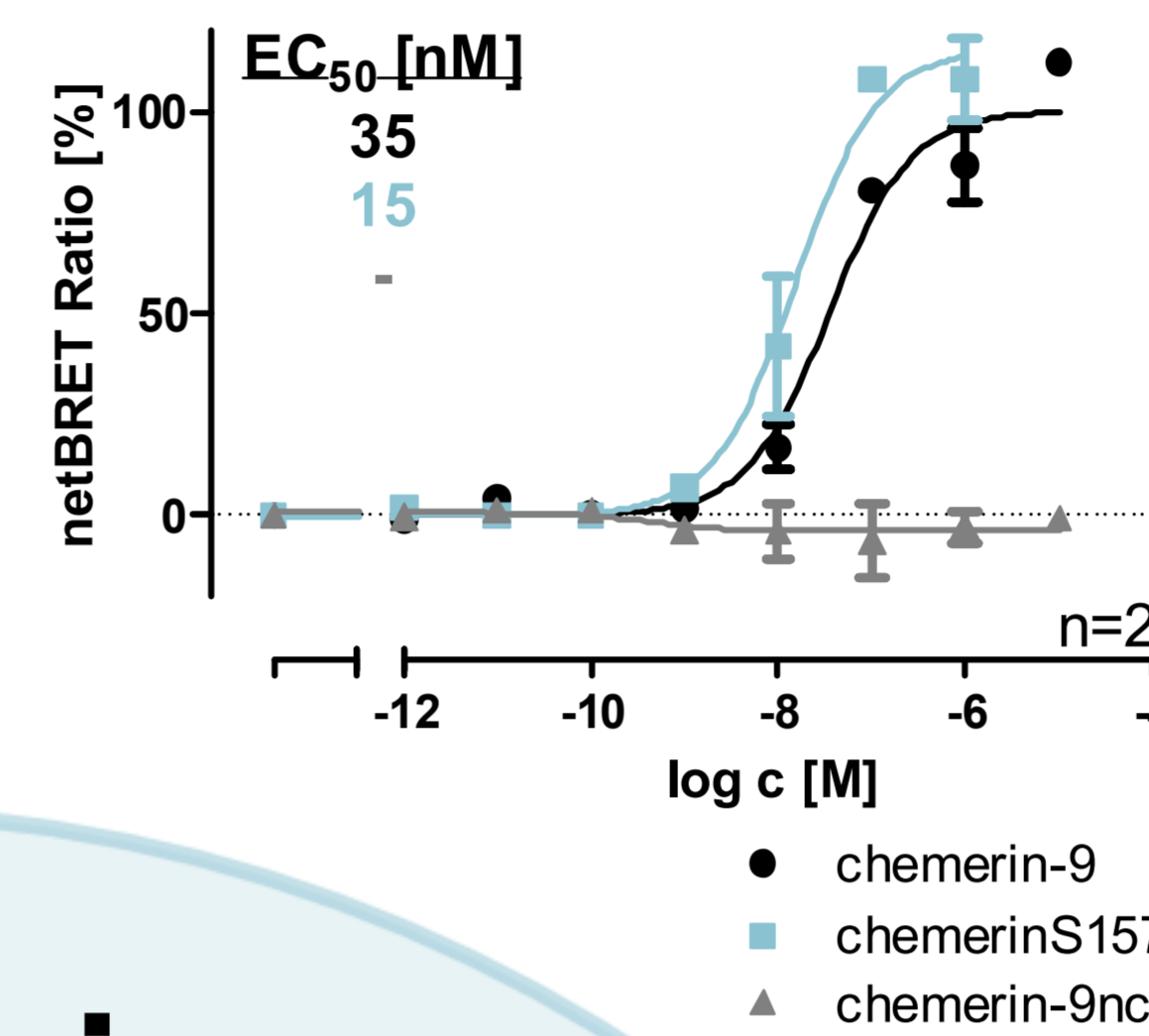
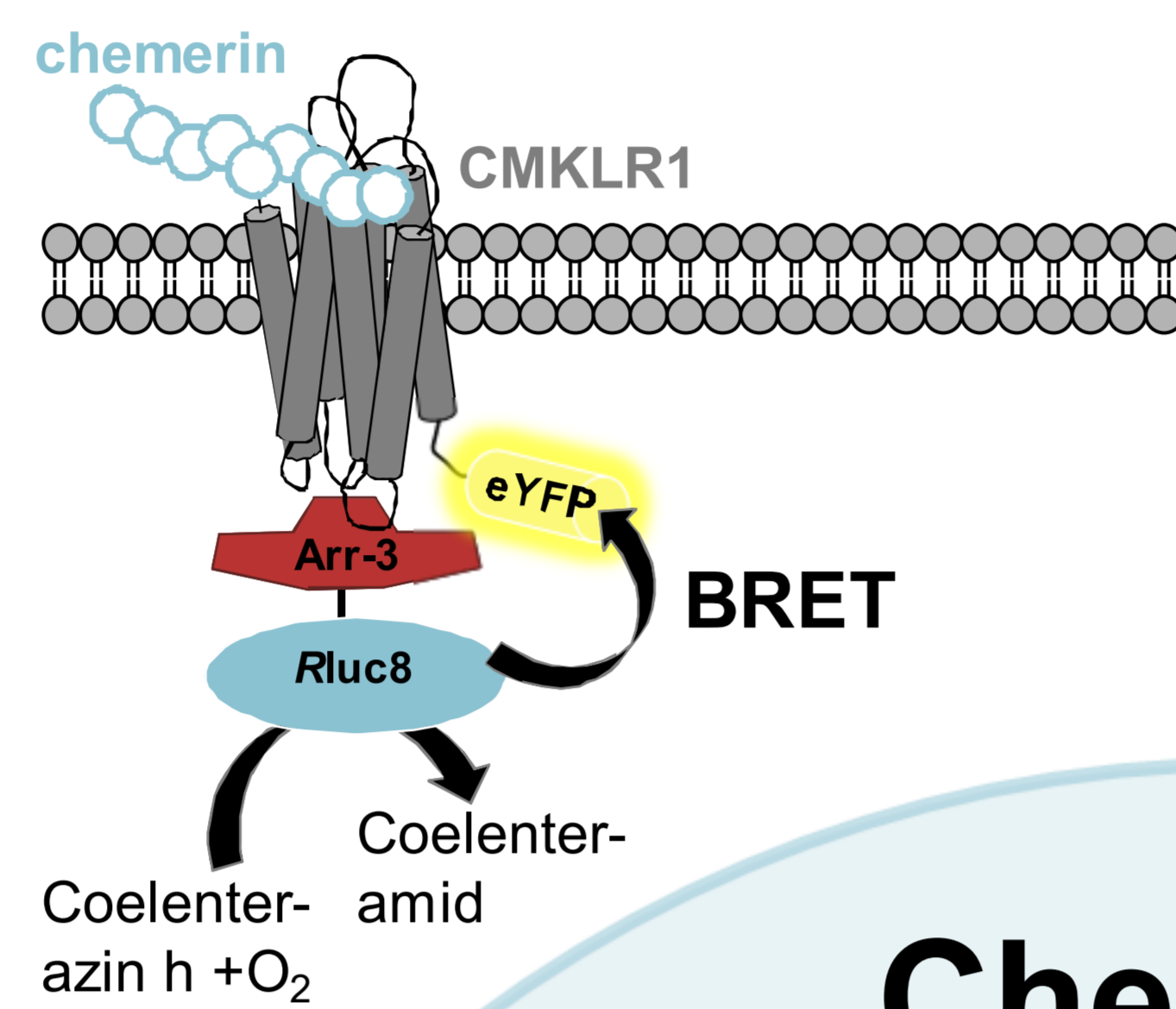
### Ca<sup>2+</sup> Assay



Ca<sup>2+</sup>-Assay im 384-well Format: Eine geringe Konzentration von Rinder Serumalbumin im Assaypuffer war zusätzlich nötig um ein stabiles, reproduzierbares Signal detektieren zu können.

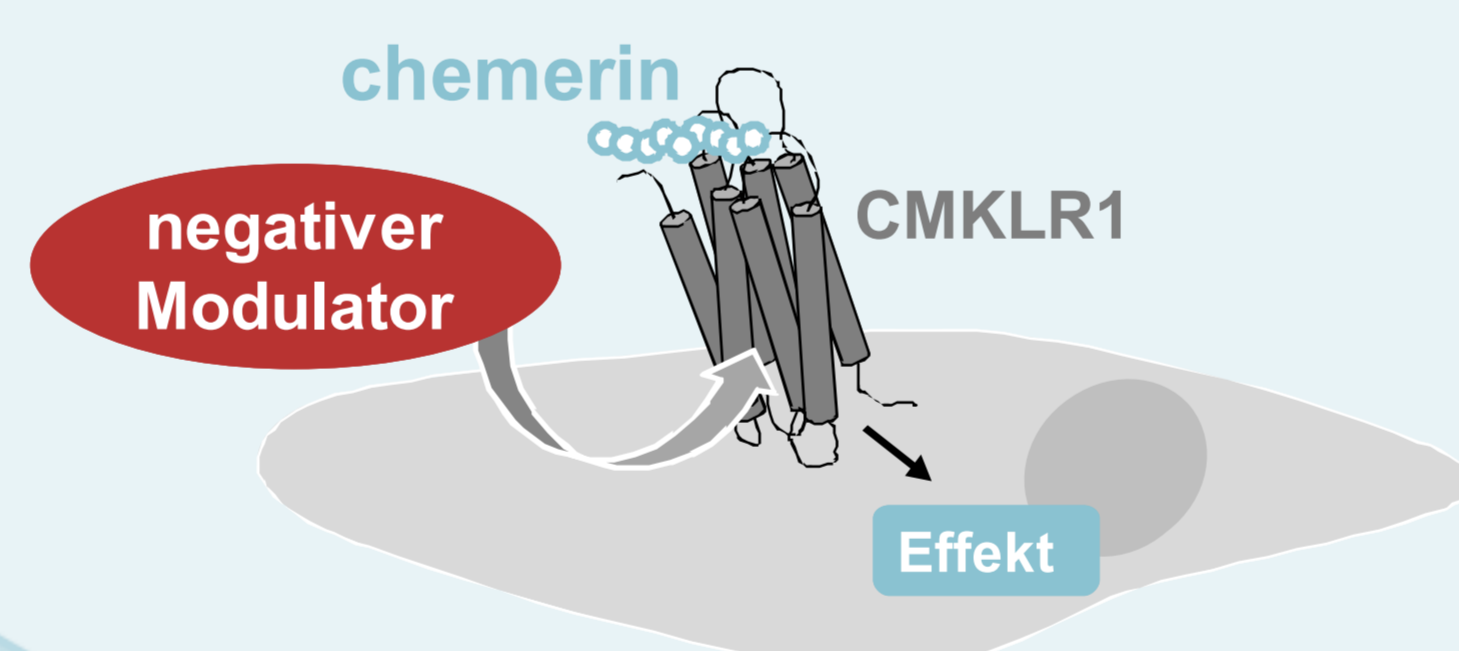


### Arrestin3-Rekrutierung

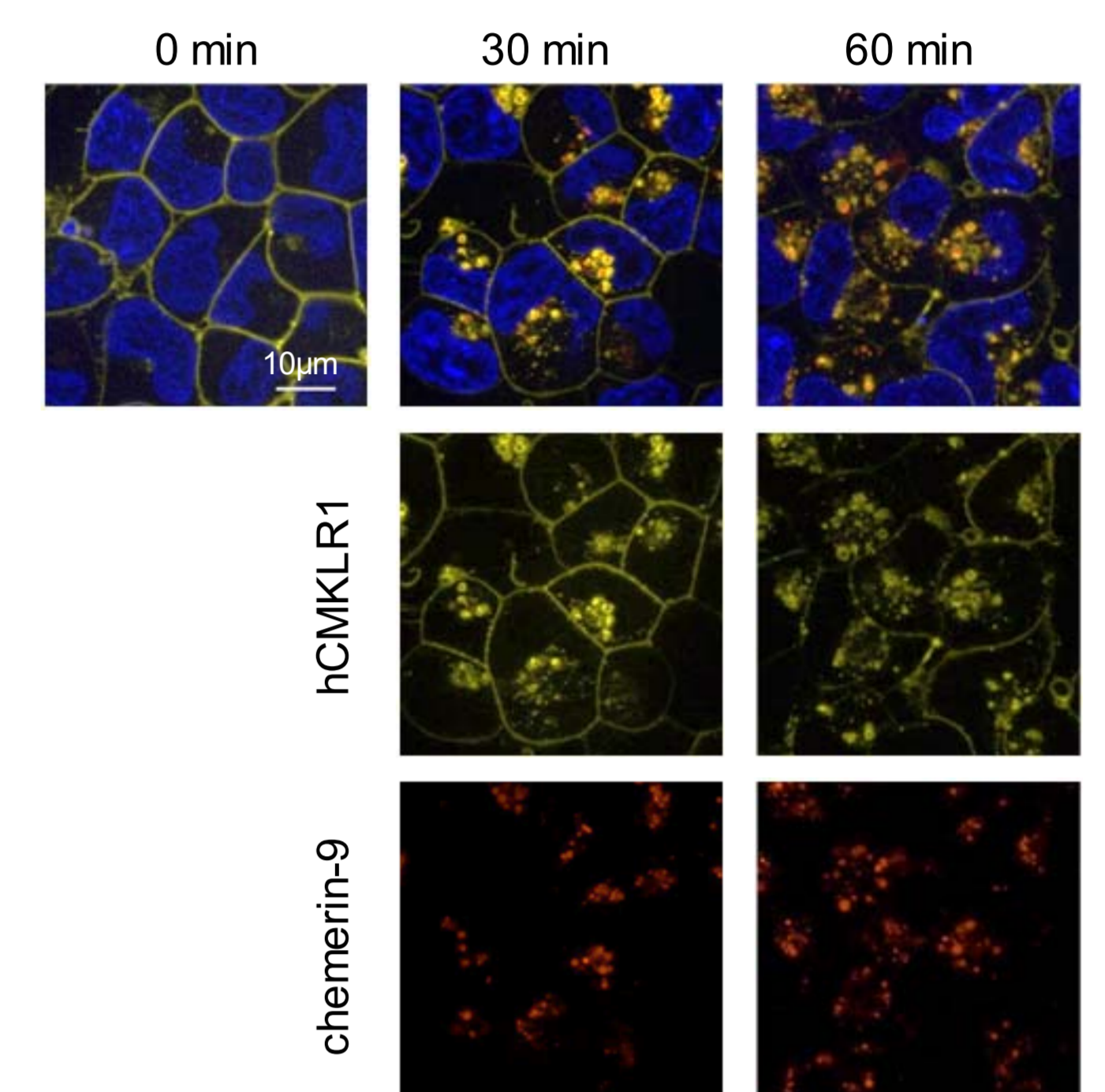


## Chemerin

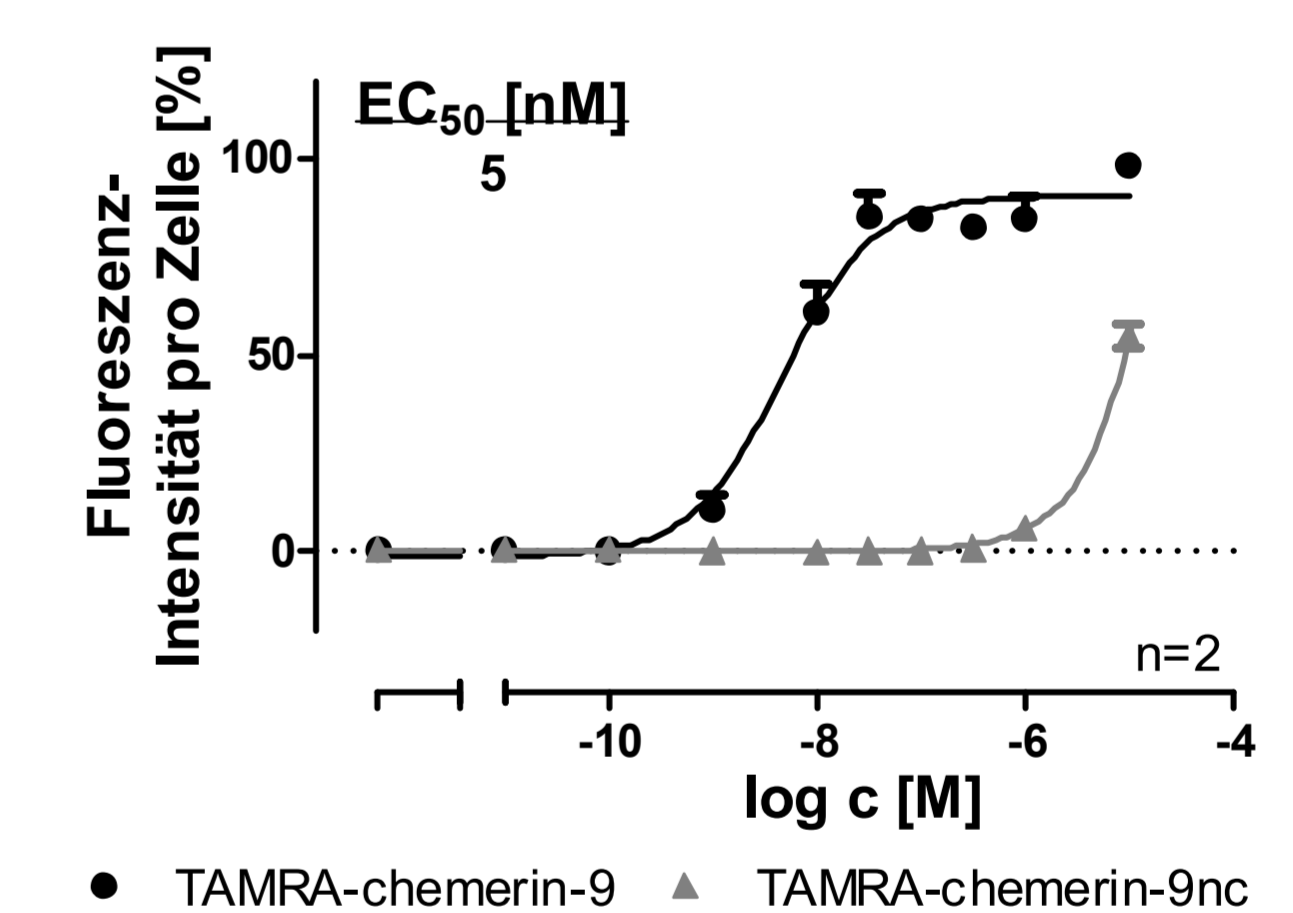
ist in seiner aktiven Form ein 16-kDa Protein und wurde erstmals 2007 als Adipokin charakterisiert. Ein vom Chemerin-C-Terminus abgeleitetes Nonapeptid **chemerin-9** weist dabei ein ähnlich hohes Aktivierungspotential auf. Seine Funktion wird hauptsächlich vom *chemokine like receptor 1* **CMKLR1** vermittelt, dessen Aktivierung zur Rekrutierung von Immunzellen führt. Studien zeigten eine Assoziation zwischen der Chemerinkonzentration im Blutserum und dem metabolischen Syndrom, sowie eine Beteiligung an Entzündungsreaktionen im Fettgewebe. Wir testen daher die Hypothese, dass die Herunterregulierung oder Blockierung des CMKLR1 ein potenzieller Weg zur Behandlung von Krankheiten im Zusammenhang mit Fettleibigkeit ist.



### Internalisierung

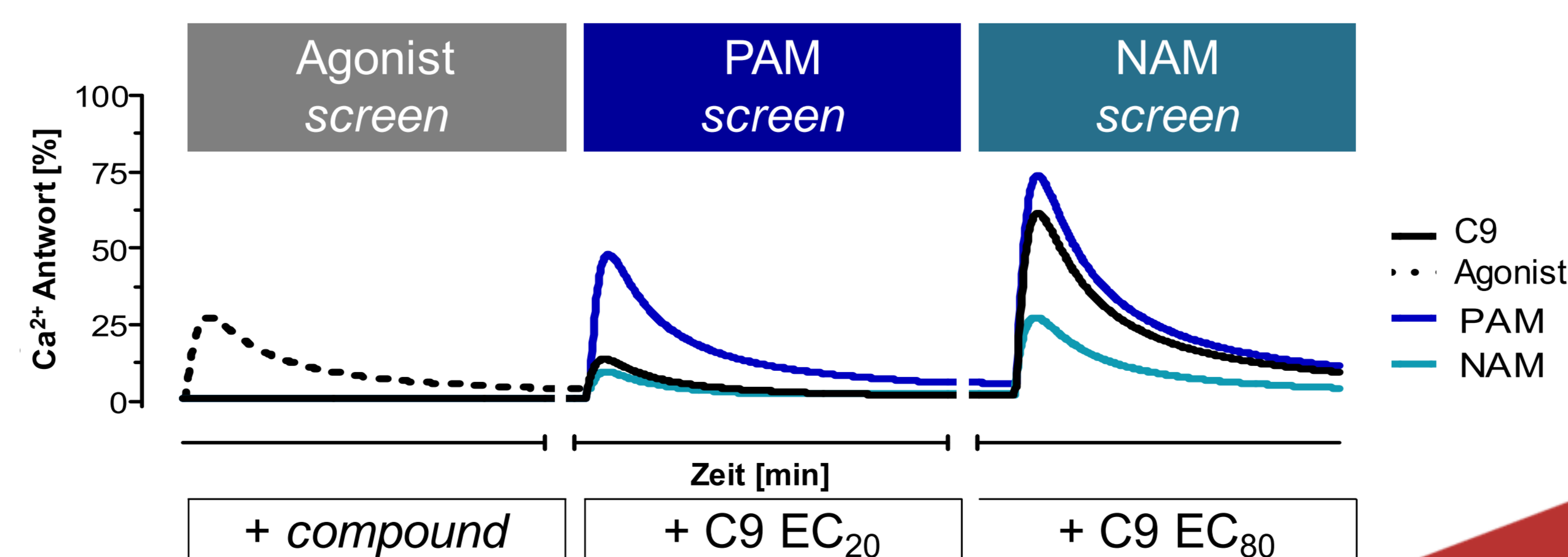


Mittels *ImageXpress Micro Confocal High-Content Imaging System* wurde die Fluoreszenz von internalisierten, TAMRA-markierten Peptiden detektiert. Dies gab einen quantitativen Aufschluss über die internalisierte Rezeptormenge.



## Ausblick - High-throughput screening

Die Charakterisierung der generierten Zelllinie stellt die Grundlage dar, um ein **high-throughput screening** mit ca. 100,000 *compounds* durchzuführen. Durch einen **triple-add** Ca<sup>2+</sup>-Efflux-Assay können Antagonisten, Inhibitoren und positive sowie negative allosterische Modulatoren identifiziert werden.



## QUELLEN

- Wittamer et al. J Biol Chem. **2004**, 279
- Zabel et al. Exp Hematol. **2006**, 34
- Goralski et al. J Biol Chem. **2007**, 282
- Bozaoglu et al. J Biol Chem. **2007**, 279
- Du XY and Leung LL. Acta Biochim Biophys Sin. **2009**, 41
- Sliwoski et al. PLoS ONE, **2016**, 11

## KONTAKT

M. Sc. Tina Weiß  
Universität Leipzig  
Brüderstraße 34  
+49 341 97 36737  
tina.weiss@uni-leipzig.de