



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 600 24 664 T2** 2006.07.06

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 230 551 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **600 24 664.7**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/CA00/01233**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **00 969 145.2**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2001/027630**

(86) PCT-Anmeldetag: **13.10.2000**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **19.04.2001**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **14.08.2002**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **07.12.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **06.07.2006**

(51) Int Cl.⁸: **G01N 33/68** (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

159095 P 13.10.1999 US

(73) Patentinhaber:

**The University of British Columbia, Vancouver,
British Columbia, CA**

(74) Vertreter:

Vonnemann, Kloiber & Kollegen, 87437 Kempten

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

SNUTCH, P., Terrance, Vancouver, CA

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN ZUR IDENTIFIZIERUNG VON VERBINDUNGEN, DIE DIE NEURONALE AKTIVITÄT
MODULIEREN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

TECHNISCHES GEBIET

[0001] Die Erfindung betrifft das Gebiet der Erregungsübertragung und Entwicklung neuer Pharmazeutika.

STAND DER TECHNIK

[0002] Die US-Patenschriften 6,090,631 und 5,623,051 beschreiben eine Region der P/Q-Typ- und N-Typ-Kalziumionenkanäle N, welche Syntaxin- und SNAP-25-Proteine binden. Diese Region liegt zwischen den Domänen II und III der $\alpha 1$ -Untereinheit dieser Kanäle. Syntaxin und SNAP-25 sind Proteine, die das Docking der präsynaptischen Vesikel vermitteln, die für die Freigabe der Neurotransmitter erforderlich sind. Wie in diesen Dokumenten beschrieben, können diese Syntaxin/SNAP-25-Bindungsregionen verwendet werden, um nach Verbindungen durchzumustern, die die Bindung dieser Regionen an Syntaxin und/oder SNAP-25 blockieren werden, und so die neuronale Übertragung hemmen.

[0003] Die Bedingungen, die die Übertragung von Signalen durch neuronale Netze umgeben, beeinträchtigen deutlich eine Vielzahl von physiologischen Antworten, einschließlich der Wahrnehmung von Schmerz, Lernen, Gedächtnis und ähnliches. Die Modulation des neuronalen Übertragungslevel und die Bedingung der präsynaptischen Umgebung haben starke physiologische Wirkungen, hauptsächlich innerhalb des Nervensystems. Die primären Kalziumionenkanäle, die die neuronale Übertragung bewirken, sind diese N-Typ- und P/Q-Typ-Kanäle. P/Q-Typ-Kanäle waren hauptsächlich in die präsynaptischen Terminale des Zentralnervensystems (ZNS) eingebunden, während die Kanäle vom Typ N im peripheren Nervensystem zu dominieren scheinen. Folglich sind Typ-P/Q-Kanäle insbesondere bei ZNS-Funktionen, wie etwa Gedächtnis oder Schmerz wichtig.

[0004] Kalziumionenkanäle bestehen im Allgemeinen aus $\alpha 1$ -Untereinheit, sind optional gekoppelt mit zusätzlichen Untereinheiten, können aber alleine arbeiten.

[0005] Gemäß der aktuellen Terminologie umfassen Typ-N-Kanäle $\alpha 1B$ Untereinheiten, während P/Q-Kanäle aus α_{1A} -Untereinheiten bestehen. DNA-Sequenzen, die α_{1A} -Untereinheiten kodieren, werden in WO 95 04822 und in Zuchenko, O., et al. (1997) Nature Genetics 15:62–68 beschrieben.

[0006] Es wäre eindeutig wünschenswert, Verbindungen bereitzustellen, die in der Lage sind, die präsynaptische Umgebung zu kontrollieren, um eine bessere Kontrolle über Zentralnervensystemfunktionen, einschließlich Gedächtnis, Lernen und Schmerz zu ermöglichen. Die vorliegende Erfindung stellt einen Mechanismus für diese Kontrolle bereit. Wie nachfolgend gezeigt werden wird, enthält eine spezifische Region der α_{1A} -Untereinheit eine Sequenz, die an das bekannte Homer-Protein bindet, das in Artikeln von Xiao, B., et al., Cur. Opinion in Neurobiol. (2000) 10:370–374 und von Tu, J. C., et al., Neuron (1998) 21:717–726 beschrieben ist. Wie in diesen Artikeln gezeigt, bindet das Homer-Protein an eine Vielzahl von Zielen, die für die Signalübertragung und die Neurotransmission wichtig sind. Eine Consensus-Sequenz, die reich an Prolin ist, wird ebenfalls beschrieben.

BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0007] Die Erfindung besteht in der Identifikation einer Peptidregion, die für den P/Q-Kalziumionenkanal spezifisch ist, der verantwortlich ist, für die Ereigniskaskade, die zur Expression des genkodierenden Syntaxin-1A führt. Folglich ermöglicht die Verwendung dieses Peptids bei Durchmusterungstests die Identifikation von Verbindungen, die verwendet werden können, um die Syntaxin-1A-Level zu regulieren, die in der präsynaptischen Region verfügbar sind, und folglich solche Funktionen, wie Lernen, Gedächtnis und Schmerz zu modulieren.

[0008] Gemäß der Entdeckung der genannten Anmelder, bewirkt Kalziumstrom durch den P/Q-Ionenkanal spezifisch die Expression des genkodierenden Syntaxin in Modellzellsystemen und in neuronalen Zellen per se. Es wurde nun herausgefunden, dass eine spezifische 4-Aminosäuresequenz etwa 200 Aminosäuren entfernt vom C-Terminus des P/Q-Kalziumionenkanals der Ort für die Interaktion dieses Kanals mit Homer ist, einem Protein, von dem bekannt ist, dass es die intrazellulären Kalziumionenlager beeinträchtigt, und diese Interaktion ist wesentlich für die Fähigkeit des P/Q-Kalziumionenkanals, die Expression des Syntaxin-1A kodierenden Gens zu bewirken.

[0009] Folglich richtet sich die Erfindung einerseits auf ein Verfahren zur Identifikation von Verbindungen, die

die Funktion des Zentralnervensystems, wie etwa Lernen und Gedächtnis, beeinträchtigen, wobei das Verfahren umfasst, Kontaktieren einer Kandidatenverbindung mit einem Peptid, welches die Bindungsstelle für ein Homer umfasst, das nahe dem Carboxyterminus des P/Q-Kalziumionenkanals sitzt, und Bestimmen, ob die Verbindung an das Peptid bindet. Verbindungen, die an dieses Peptid binden, werden als Verbindungen identifiziert, die die Funktion des Zentralnervensystems (ZNS) beeinträchtigen. Dieser Durchmusterungstest kann auf unkomplizierte Art durchgeführt werden, indem einfach die Fähigkeit der Verbindung zu binden, beurteilt wird.

[0010] Üblicherweise kann die Fähigkeit der Kandidatenverbindung, die Bindung eines Liganden zu hemmen, von dem bekannt ist, dass er an das Peptid bindet, einschließlich der Fähigkeit von Homer sich so zu binden, verwendet werden, um die Bindung zu bewerten.

[0011] Andererseits richtet sich die Erfindung auf ein Peptid, das die Sequenz der Bindungsstelle, flankiert durch zusätzliche Aminosäuren, umfasst, normalerweise jene, welche die Bindungsstelle in dem nativen Ionenkanal flankieren, und auf Antibiotika, die für diese Region immunspezifisch sind.

AUSFÜHRUNGSFORMEN DER ERFINDUNG

[0012] Die betreffenden Anmelder haben gezeigt, dass selektiver Kalziuminflux durch P/Q-Kalziumionenkanäle verantwortlich ist für die Aktivierung der Expression von Syntaxin-1A, einem präsynaptischen Protein, das eine zentrale Rolle bei der Vermittlung von Vesikel-Docking, Fusion und Neurotransmitterfreigabe spielt. Die Anmelder haben bewiesen, dass das anfängliche Kalziumionensignal durch Kalziumionen aus intrazellulären Lagern verstärkt wird, und über Phosphorylierung agiert, die von einer Anzahl von Kofaktoren, einschließlich CaMK II/IV, PKA, und MAPKK, abhängig ist. Da Syntaxin-1A mit P/Q-Kalziumionenkanälen interagiert, um die Kanalverfügbarkeit zu verringern, wird die Expression des genkodierenden Syntaxin-1A durch eine aktivitätsabhängige Feedback-Leitungsbahn reguliert.

[0013] Die Anmelder haben nun gezeigt, dass die Interaktion des anfänglichen extrazellulären Kalziumsignals mit dem Kalzium, das aus den intrazellulären Lagern freigegeben wird, durch die Bindung des bekannten Homer-Proteins an eine spezifische Aminosäuresequenz, nahe bei dem C-Terminus des P/Q-Typ-Ionenkanals vermittelt wird, und, im Gegensatz zu anderen Kalziumionenkanälen, für die P/Q α_{1A} -Untereinheit spezifisch ist. Die Identifikation dieser Bindungsstelle ermöglicht die Verwendung von Peptiden, die diese Stelle enthalten, als Durchmusterungswerkzeuge für wichtige Verbindungen, welche die ZNS-Aktivität modulieren.

[0014] Verfahren zur Durchführung solcher Durchmusterungstests sind auf dem Fachgebiet gut bekannt. Normalerweise wird das Zielpolypeptid rekombinant in geeigneten Wirtszellen hergestellt und auf der Oberfläche der Wirtszellen ausgestellt oder wird an einen stabilen Träger gekoppelt. Eine solche Kopplung kann eine kovalente Kopplung sein, oder kann erreicht werden durch nicht kovalente Adsorption, wie zum Beispiel indem ein Histidin-tag bereitgestellt wird und das sich daraus ergebende Fusionsprotein mit einem stabilen Träger über ein Metallchelat verbunden wird. Eine große Vielzahl an Verfahren zur Bereitstellung einer testbaren Form des Peptids ist in dem Fachgebiet bekannt. Da das erforderliche Peptid relativ kurz ist, ist tatsächlich die direkte Synthese auf einem stabilen Träger ein geeigneter Weg zur Bereitstellung dieses Peptids.

[0015] Die spezifische Stelle, die für die Bindung erforderlich ist, ist die Vier-Aminosäuresequenz PLMF. Um den Test durchführbar und spezifisch zu machen, ist es jedoch wünschenswert, eine zusätzliche Aminosäuresequenz an einem oder beiden N- und C-Termini dieses Tetrapeptids einzufügen. Bevorzugte Ausführungsformen für solche zusätzlichen Aminosäuresequenzen sind die Sequenzen, die in den nativen Ionenkanälen vorhanden sind. Normalerweise werden Sequenzen verwendet, die sich auf 20 Aminosäuren stromaufwärts und/oder stromabwärts ausdehnen, besonders bevorzugt 15 Aminosäuren stromaufwärts und, oder stromabwärts, oder sogar 10 oder 5 oder 2 Aminosäuren der Sequenzen stromaufwärts und/oder stromabwärts des erforderlichen Tetrapeptids.

[0016] Die Sequenz, die das Tetrapeptid enthält ist folgende, wobei das Tetrapeptid selbst fettgedruckt und unterstrichen ist:

1966-YYRQSKAKKL QAMREEQDRT PLMFQRMEPP SPTQEGGPGQ NALP-2009

[0017] Diese Sequenz ist abgeleitet von einem Allel, das einen humanen P/Q-Typ-Kalziumkanal kodiert. Es versteht sich, dass ähnliche Sequenzen, die in den entsprechenden P/Q-Kanälen anderer Säugetierarten enthalten sind, und Peptide, die von diesen Arten abgeleitet sind, sowie von allelischen Varianten der oben gezeigten Sequenz, im Verfahren der Erfindung verwendet werden können. Im Allgemeinen ist es bevorzugt,

Peptide zu verwenden, die eine Sequenz enthalten, die von der oben gezeigten Sequenz abgeleitet ist, welche mindestens 90 % homolog, bevorzugt 95 % homolog, besonders bevorzugt 97 % homolog und ganz besonders bevorzugt 99 % homolog zur oben gezeigten Sequenz, oder einem Fragment davon ist, solange das erforderliche Tetrapeptid enthalten ist.

[0018] Verfahren zur Durchführung des Tests, sobald das Peptid verfügbar gemacht wurde, bevorzugt ausgestellt auf Zellen oder einem stabilen Träger, sind im Fachgebiet gut bekannt. Wie oben festgestellt, können Verbindungen auf direkte Bindungen bewertet werden, indem sie mit Marken ausgestattet werden, oder, zum Beispiel, indem homogene Tests verwendet werden, wobei das Peptid selbst markiert wird und die Signalnachweisbarkeit, die dem Marker zugeschrieben wird, durch das Peptid beeinträchtigt wird, das sich in einem gebundenen oder ungebundenen Zustand befindet. Alternativ, und möglicherweise praktischer, kann die Bindung bewertet werden durch die Fähigkeit der Verbindung, die Bindung eines Liganden zu hemmen, von dem bekannt ist, dass er das P/Q-Peptid bindet, und spezifisch an den wesentlichen Tetrapeptidabschnitt. Solche "Liganden" würden Antikörper enthalten, die spezifisch für dieses Epitop sind, einschließlich Antikörper in den verschiedenen Formen, wie etwa Einketten-Fv-Regionen, Fab-Fragmente usw., das Homer-Protein, das einen nativen Liganden hat, oder tatsächlich jede Verbindung, von der vorher festgestellt wurde, dass sie an diese Stelle bindet. Eine große Vielzahl von Nachweisverfahren für eine solche Hemmung bekannter Ligandenbindungen ist bekannt.

[0019] Normalerweise wird der konkurrierende bekannte Ligand markiert und eine Abnahme an Marker, gebunden an einen stabilen Träger (wenn das Peptid so getragen wird), stellt eine Bewertung einer solchen Hemmung bereit. Marker können fluoreszierende Marker, chromogene Marker, Enzymmarker, Radioisotopmarker und ähnliche, einschließen. Wieder können homogene Tests geeignet sein. Es sind zum Beispiel Fluoreszenzlöschungstests bekannt, wobei sowohl das Peptid als auch der konkurrierende Ligand Marker enthalten. Die Erfindung besteht in der Natur des als Ziel verwendeten Peptids, nicht in dem spezifischen Design des Durchmusterungstests.

[0020] Die Verbindungen, die in dieser Durchmusterung identifiziert werden, werden den Status der Signalübertragung in den neuronalen Leitungsbahnen eines Probanden, dem diese Verbindungen verabreicht werden, deutlich beeinflussen. Der Proband kann ein Labortier sein, das für die Untersuchung von Lern- und Gedächtnismustern verwendet wird, wie etwa Ratten, Mäuse und Kaninchen. Der Proband kann auch ein menschlicher Proband sein, wenn gewünscht wird, ein Gedächtnisdefizit zu verändern, oder einige andere physiologische Störungen zu lindern. Die Verabreichung solcher Verbindungen an Probanden erfolgt durch Standardverfahren und verwendet Zubereitungen, wie etwa jene aus Remington's Pharmaceutical Sciences, Neueste Ausgabe, Mack Publishing Co., Easton, PA. Folglich könnten die unter Verwendung des Verfahrens der Erfindung identifizierten Verbindungen, zum Beispiel an murinen Modellen mit spezifischen ZNS-basierten oder anderen neurologisch basierten Leiden, verabreicht werden, und die Wirkung solcher Verbindungen auf das Modell wird die Mechanismen im Zusammenhang mit dem Leiden aufklären.

[0021] Die Anmelder haben hier die Natur der Erhöhung der Expression von Syntaxin-1A durch Kalziumionentransit des Ionenkanals PXQ wie folgt überprüft:

Zuerst wurde gezeigt, dass die transiente Expression von menschlichen α_{A1} -Kalziumkanälen (P/Q-Typ) in HEK293-Zellen zu einer negativen Fließgleichgewichts-Inaktivierung führte, welche ihrerseits eine entsprechende Interaktion mit Syntaxin anregte. Dies wurde bestätigt durch Inkubation mit Botulismustoxin C1, welches die Fließgleichgewichts-Inaktivierung verschob, aber die Spannungsabhängigkeit der Stromaktivierung nicht beeinträchtigte. Außerdem wurden diese Ergebnisse, wie erwartet, durch die Gegenwart eines Antisense-Syntaxin-Konstrukts beeinträchtigt.

[0022] Es wurde ferner gezeigt, dass es keine endogene Expression von Syntaxin-1A in HEK293-Zellen gab, während die Gegenwart des Syntaxin-1A-Proteins in HEK293-Zellen nachgewiesen wurde, die mit dem α_{A1} -P/Q-Typ-Kalziumkanal transfiziert wurden; mRNA, entsprechend zu Syntaxin-1A, wurde ebenfalls nachgewiesen, aber gehemmt, wenn die Zellen in Actinomycin D inkubiert wurden. Syntaxin-1A war das einzige SNARE-Protein, das in diesen Zellen hergestellt wurde; Syntaxin 1B, SNAP-25, Synaptophysin, VAMP und Synaptogamin wurden nicht nachgewiesen.

[0023] Es gab keinen Hinweis auf die Herstellung von Syntaxin-1A in HEK293-Zellen, die mit Kalziumionenkanälen $\alpha_{2\delta}$ - oder β_{1B} -Untereinheiten transfiziert wurden. Zellen, die transfiziert wurden mit α_{1B} (N-Typ); α_{1C} (L-Typ); α_{1E} (neuartiger Typ); und die α_{1G} - und α_{1I} -T-Typ-Kanäle führten ebenfalls nicht zur Herstellung von Syntaxin-1A mRNA. Die Möglichkeit, dass die Spezifität der P/Q-Typ-Kanäle, die Syntaxin-1A-Herstellung induziert, wurde durch Verwendung geeigneter Kontrollen beseitigt.

[0024] In Gegenwart verschiedener ausgewählter P/Q-Typ-Kanal-Antagonisten, war die Herstellung von Syntaxin-1A, mRNA oder Protein nicht nachweisbar.

[0025] Es wurde bestätigt dass die Gegenwart der P/Q-Typ-Kanäle in transfizierten HEK293-Zellen zu einer verbesserten intrazellulären Kalziumionenkonzentration führte. Es scheint diese intrazelluläre verbesserte Kalziumionenkonzentration zu sein, die zur Syntaxin-1A Herstellung führt, da Ionomycin in Konzentrationen von 10nM–2µM, welches die intrazelluläre Kalziumionenkonzentration nicht-spezifisch verbessert, eine diskrete obere und untere Grenze der von der intrazellulären Kalziumionenkonzentration abhängigen Aktivierung mit maximaler Aktivierung definiert, die bei Levels von 50–200 nM stattfindet.

[0026] Nachdem sie nachgewiesen haben, dass die Expression des Syntaxin-1A-Gens durch Kalziumfluss, der durch P/Q-Ionenkanäle vermittelt ist, speziell induziert ist, haben die Anmelder die folgende Transduktionsleitungsbahn, die Mittel verwendet, die intrazelluläre Kalziumkonzentration verändert, aufgeklärt. Die Anwendung von Thapsigargin stimulierte die Syntaxin-1A-Expression in nicht transfizierten Zellen, und in α_{1A} -transfizierten Zellen blockierten sowohl BAPTA-AM und EGTA-AM die kalziumabhängige Induktion von Syntaxin-1A. Entweder Coffein oder Carbachol aktivierte die Kalziumfreigabe aus ryanodin- und IP_3 -sensitiven Lagern schnell und stimulierte Syntaxin-1A mRNA-Level in nicht-transfizierten Zellen. Dies wurde gehemmt durch die Verwendung von Mitteln, welche die Freigabe aus jedem dieser Lager blockierte. Im Allgemeinen legen die vorstehenden Informationen nahe, dass ein diskretes Level von Basis- α_{1A} -spezifischem Kalziuminflux die Syntaxin-1A Expression durch eine zweite Kalziumfreigabe aus intrazellulären Lagern induziert.

[0027] Syntaxin-1A Expression in α_{1A} -transfizierten Zellen können mit Verbindungen gehemmt werden, von denen bekannt ist, dass sie Tyrosinkinase, Calmodulinaktivität oder CaMK-II/IV- oder PKA-Aktivitäten blockieren. PKA-Aktivatoren induzierten Syntaxin mRNA sogar in Abwesenheit von α_{1A} -Transfektion. Aktivierung von Proteinkinase C induzierte keine Expression. Ein Abschnitt der Transduktionsleitungsbahn kann ebenfalls den Transkriptionsfaktor CREB einschließen, da festgestellt wurde, dass das Level an phosphoryliertem CREB in den transfizierten HEK-Zellen hinaufreguliert wird.

[0028] Die vorstehenden Ergebnisse in HEK293-transfizierten Zellen waren korreliert mit den endogenen P/Q-Typ-Kanälen in Neuronen. Syntaxin-1A ist in zerebellaren Körnerzellen basal exprimiert, aber dies wird gehemmt durch ω Agatoxin IVA, welches bekannt ist, P/Q-Typ-Kalziumkanäle spezifisch zu hemmen. Inhibitoren von N- oder L-Typ-Kanälen blockierten kalziumabhängige Expression von Syntaxin-1A. Die Behandlung dieser zerebellaren Körnerzellen, die in ω Agatoxin IVA mit Thapsigargin inkubiert wurden, gewann die Syntaxin-1A-Expression zurück.

[0029] Die Syntaxin-1A-Expression wurde durch die gleichen Mittel gehemmt, die sie auch in den HEK293-Zellen hemmten, einschließlich Inhibitoren von ryanodin- oder IP_3 -induzierter Kalziumfreigabe aus den Lagern, von CaM-Kinase-II/IV und von PKA, oder MAPKK.

[0030] Zusammenfassend induziert selektiver P/Q-Typ-Kalziuminflux die Expression von Syntaxin-1A, aber nicht von anderen SNARE-Proteinen, die in die Vesikelfusion und die Neurotransmitter-Freigabe involviert sind. Es scheint unter enger räumlicher und temporärer kalziumabhängiger Kontrolle zu sein, und ist offensichtlich durch eine Assoziation mit intrazellulärem Kalziumlager vermittelt.

[0031] Ferner haben die Anwender den anfänglichen kritischen Schritt in der Transduktionsleitungsbahn identifiziert, welcher die Bindung des Homerproteins an eine spezifische Stelle in der α_{1A} -Kanaleinheit nahe am C-Terminus ist. Die Verfügbarkeit eines Peptids, das diese Stelle enthält, ermöglicht die Identifikation von Verbindungen, die bei der Aufklärung neuronaler Leitungsbahnen, und bei der Modulation des ZNS bei Probanden im Allgemeinen, einschließlich der Behandlung von Störungen der ZNS, insbesondere jene, die Lernen und Gedächtnis einschließen, nützlich sind.

SEQUENZPROTOKOLL

<110> NeuroMed Technologies, Inc.

<120> METHODS TO IDENTIFY COMPOUNDS THAT
MODULATE NEURONAL ACTIVITY

<130> 49324-9

<140> PCT/CA00/01233

<141> 2000-10-13

<150> 60/159,095

<151> 1999-10-13

<160> 1

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 44

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Tyr	Tyr	Arg	Gln	Ser	Lys	Ala	Lys	Lys	Leu	Gln	Ala	Met	Arg	Glu	Glu
1				5					10					15	
Gln	Asp	Arg	Thr	Pro	Leu	Met	Phe	Gln	Arg	Met	Glu	Pro	Pro	Ser	Pro
			20					25				30			
Thr	Gln	Glu	Gly	Gly	Gly	Pro	Gly	Gln	Asn	Ala	Leu	Pro			
		35						40							

Patentansprüche

1. Verfahren zum Identifizieren von Verbindungen, die Lernen und Gedächtnis beeinträchtigen, welches Verfahren umfasst:

Kontaktieren einer Kandidatenverbindung mit einem Peptid, welches die Bindungsstelle für ein Homer nahe dem Carboxyterminus des Säugetier P/Q-Kalziumionenkanals; umfasst;
 worin das Peptid die Aminosäuresequenz PLMF und nicht mehr als 20 Aminosäuren stromaufwärts und/oder stromabwärts der Sequenz PLMF in dem P/Q-Ionenkanal umfasst; oder
 worin das Peptid wenigstens 90% homolog zu dem Peptid 1966-YYRQSKAKKL QAMREEQDRT PLMFQR-MEPP SPTQEGGPGQ NALP-2009 oder einem Fragment davon ist, vorausgesetzt, dass das Peptid die Sequenz PLMF umfasst und nicht mehr als 20 Aminosäuren stromaufwärts und/oder stromabwärts der PLMF-Sequenz; und

Bestimmen, ob die Sequenz an das Peptid bindet,

worin eine Kandidatenverbindung, welche an das Peptid bindet, als Verbindung identifiziert wird, die Lernen oder Gedächtnis beeinträchtigt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, worin das Kontaktieren in Gegenwart eines Liganden geschieht, von dem bekannt ist, dass er an das Peptid bindet, und die Bestimmung die Einschätzung des Vermögens der Kandidatenverbindung umfasst, den Liganden zu ersetzen.

3. Verfahren nach Anspruch 1, worin die PLMF-Sequenz flankiert wird durch 10 Aminosäuren stromaufwärts und/oder stromabwärts der PLMF-Sequenz des P/Q-Ionenkanals.
4. Verfahren nach Anspruch 1, worin das Peptid wenigstens 95% homolog zu dem Peptid 1966-YYRQSKAKKL QAMREEQDRT PLMFQRMEPP SPTQEGGPGQ NALP-2009 ist oder von einem Fragment davon, welches PLMF umfasst.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, worin das Peptid auf Zellen gezeigt wird, welche ein rekombinantes Expressionssystem enthalten, das eine Nukleotidsequenz umfasst, die das Peptid kodiert, betreibbar verknüpft an Sequenzen, welche die Expression bewirken.
6. Peptid, welches die Aminosäuresequenz PLMF und nicht mehr als 20 Aminosäuren stromaufwärts und/oder stromabwärts der Sequenz PLMF in einem P/Q-Ionenkanal umfasst oder ein Peptid, das wenigstens 90% homolog zu dem Peptid 1966-YYRQSKAKKL QAMREEQDRT PLMFQRMEPP SPTQEGGPGQ NALP-2009 oder einem Fragment davon ist, vorausgesetzt, dass das Peptid die Sequenz PLMF und nicht mehr als 20 Aminosäuren stromaufwärts und/oder stromabwärts der PLMF-Sequenz umfasst.
7. Peptid nach Anspruch 6, worin die PLMF-Sequenz flankiert wird durch 10 Aminosäuren stromaufwärts und/oder stromabwärts der PLMF-Sequenz des P/Q-Ionenkanals.
8. Peptid nach Anspruch 6, welches wenigstens 95% homolog zur Sequenz 1966-YYRQSKAKKL QAMREEQDRT PLMFQRMEPP SPTQEGGPGQ NALP-2009 ist oder von einem Fragment davon, welches PLMF enthält.
9. Antikörper, die spezifisch immunoreaktiv mit dem Peptid nach einem der Ansprüche 6 bis 8 sind.
10. Rekombinantes Expressionssystem für ein Peptid nach einem der Ansprüche 6 bis 8, welches eine Nukleotidsequenz umfasst, die das Peptid kodiert, betreibbar verknüpft an Sequenzen, die die Expression bewirken.
11. Zellen, welche das Expressionssystem nach Anspruch 10 umfassen.
12. Verfahren zum Herstellen eines Peptids, das die Bindungsstelle für ein Homer umfasst, welches Verfahren das Kultivieren der Zellen nach Anspruch 11 unter Bedingungen umfasst, wo ein Peptid erzeugt wird.
13. Zellen, erhalten durch das Verfahren nach Anspruch 12, welche das Peptid zeigen.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen