

ケモジェネティクス法による GPCR 型グルタミン酸受容体 1 の自在な活性制御

○近藤匠・堂浦智裕・長谷川寛太・清中茂樹（名大院工）

Chemogenetic Regulation of Metabotropic Glutamate Receptor 1 Activity (Graduate School of Engineering, Nagoya University) KONDO, Takumi; DOURA, Tomohiro; HASEGAWA, Kanta; KIYONAKA, Shigeki

GPCR はヒトには約 800 種類発現することが知られており、様々な生理現象に関与しているため、様々な疾患に対する創薬標的として注目されている。そのため、この受容体の機能解明は医療や生理現象の理解において、非常に重要であると言える。いくつかの GPCR にはサブタイプ選択的な作用薬が知られており、これを用いることで特定の受容体を任意のタイミングで制御することが可能である。しかし、生体内では同じ受容体が様々な細胞種に発現し、各細胞種で異なる作用を示す。そのため、*in vivo* で細胞種選択的に特定の受容体を制御する手法が求められてきた。当研究室ではそのような手法として extracellular Loop-Engineered Chemogenetics (eLEC)を提唱している。この手法では、GPCR の細胞外ループ(ECL)に着目し、ここに変異を導入することで、内在機能に影響を与えずに、人工リガンドのみの親和性を変化させることが可能となる。これを利用し、*in vivo* では細胞種選択的に変異型、または野生型を発現させることで、人工リガンドによって、特定の部位の、目的の受容体のみを制御することができる。

本発表では GPCR 型グルタミン酸受容体 1 (mGlu1)に着目し、その制御について紹介する。mGlu1 は運動学習や記憶に関与することが知られており、その機能解明が求められている。しかし、小脳、嗅球、視床、海馬などに発現し、発現箇所によって機能が異なるため、この受容体の細胞種選択的な制御を目指した。mGlu1 の構造的特徴として、内在リガンドの結合部位と GPCR 特有の 7 回膜貫通部位が分かっている。また、7 回膜貫通部位に結合し、作用を示すアロステリックリガンドもいくつか知られている。その中でも、PET プローブ実験によって BBB 透過性が確認されている Negative Allosteric Modulator (NAM)である FITM をベースに、eLEC による活性制御を行った。FITM 結合位置の近傍にあたる ECL2 の T748 位置にかさ高い変異を導入した T748W 変異体を作製し、FITM もかさ高い FPET に誘導体化することで、WT を阻害するが、T748W 変異体を阻害しないという選択的な制御が可能となった。興味深いことに、FITM の三級アミン型誘導体がある種の変異体を選択的に活性化させる結果が得られ、NAM であると想定された FITM の誘導体が Positive Allosteric Modulator (PAM)として作用することが明らかとなった。これらのことから、結合様式を意識したケモジェネティクスによって、内在の機能を維持したまま、細胞種選択的に特定の受容体を阻害したり活性化したり、自在に制御できることを見出した。

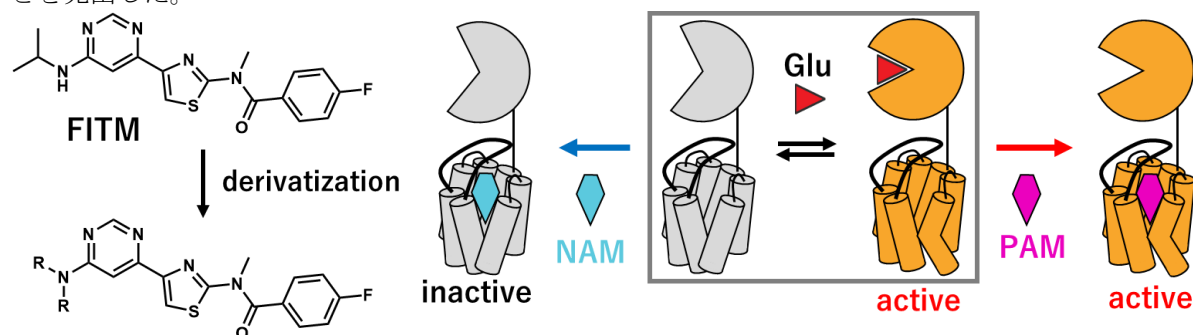


Fig 1. FITM の誘導体化(左) mGlu1 の 7 回膜貫通部位での活性制御(右)