

Extracellular Loop-Engineered Chemogenetics (eLEC) [1]: ECL2 に着目したドーパミン D1 受容体の活性制御

(名大院工) ○柏 俊太朗・堂浦 智裕・清中 茂樹

Extracellular Loop-Engineered Chemogenetics (eLEC) [1]: Activity control of dopamine D1 receptor by focusing ECL2 (Graduate School of Engineering, Nagoya University) ○Shuntaro Kashiwa, Tomohiro Doura, Shigeki Kiyonaka

G protein-coupled receptors (GPCRs) are transducers of extracellular signals, which regulate various physiological responses. GPCRs are expressed in a wide variety of tissues, and their roles are largely dependent on the tissue. Thus, tissue-specific regulation of GPCR is highly desired. However, conventional approaches based on pharmacology or genetic engineering are not suitable to regulate the activity of target GPCRs with high spatiotemporal resolution. Therefore, we have recently proposed a novel chemogenetic approach termed “extracellular Loop-Engineered Chemogenetics (eLEC)”, which allows cell type-specific regulation of target GPCRs. Here, we report regulation of dopamine D1 receptor (D1R), a class A GPCR, using eLEC. Dopamine binding site of D1R is located in the seven transmembrane (7TM) domain. Hence extracellular loops (ECLs: ECL1-ECL3) of D1R would have little impact on the binding to dopamine. We constructed D1R mutants, having mutations on the ECLs. Screening the library of D1R mutants against D1R antagonists led to the identification of a D1R mutant with different affinity for the antagonists than wild-type D1R. Thus, eLEC is expected to be a powerful tool for chemogenetic regulation of D1R.

Keywords : Chemogenetics; GPCR; Dopamine D1 receptor; eLEC

G タンパク質共役型受容体 (GPCR) は細胞外シグナルの受容器であり、様々な生理的応答を制御する。同一種の GPCR においても発現組織は多岐にわたり、各組織における生理機能が異なることから、組織選択的な GPCR の活性制御法が必要とされる。しかし、薬理学や遺伝子工学に基づく既存のアプローチでは標的 GPCR の活性を高い時空間分解能で制御することが困難である。そのため、我々は特定組織に発現した標的 GPCR の活性を任意のタイミングで制御可能な化学遺伝学的アプローチとして extracellular Loop-Engineered Chemogenetics (eLEC) を提唱している。本発表では eLEC を用いた class A GPCR に属するドーパミン D1 受容体 (D1R) の活性制御について報告する。D1R のドーパミン結合部位は 7 回膜貫通 (7TM) ドメインに存在するため、細胞外ループ (ECL) はドーパミンとの結合に影響しない。そこで、D1R の ECL 領域に様々なアミノ酸を導入した変異体作製を行い、D1R の阻害剤によるスクリーニングを行うことで、野生型よりも阻害剤に対する親和性が大きく変化した変異体を見出した。この結果から、eLEC は D1R を含む class A GPCR の有用な活性制御法の一つになると期待される。

