

## 配位ケモジェネティクス法による GPCR 型グルタミン酸受容体の直交的活性制御

(名大院工<sup>1</sup>・京大院工<sup>2</sup>) ○妹尾 暁暢<sup>1</sup>・山田 裕太郎<sup>1</sup>・小島 憲人<sup>1,2</sup>・堂浦 智裕<sup>1</sup>・清中 茂樹<sup>1</sup>

Orthogonal activation of GPCR-type glutamate receptor via coordination-based chemogenetics (<sup>1</sup>*Graduate School of Engineering, Nagoya University*, <sup>2</sup>*Graduate School of Engineering, Kyoto University*) ○Akinobu Senoo,<sup>1</sup> Yutaro Yamada,<sup>1</sup> Kento Ojima,<sup>1,2</sup> Tomohiro Doura<sup>1</sup>, Shigeki Kiyonaka<sup>1</sup>

Cell-surface receptors play a pivotal role as transducers of extracellular input. Although different cell types express the same receptor, the physiological roles of the receptor are highly dependent on cell type. To understand each role, tactics for cell-specific activation of the target receptor are in high demand. In this study, we report an orthogonal activation method targeting metabotropic glutamate receptor 1 (mGlu1) as a model protein. In this method, activation via coordination-based chemogenetics (A-CBC)<sup>1-3)</sup> was adopted, where activation of mGlu1 was artificially induced by a protein conformational change in response to the coordination of a metal ion or metal-ion complex. Our structure-based protein design and screening approach identified mGlu1 mutants that were directly activated by the coordination of Cu<sup>2+</sup> or Zn<sup>2+</sup>, in addition to our previous Pd-complex-sensitive mGlu1 mutant. Notably, the activation of the mutants was mutually orthogonal, allowing for the cell-type selective activation in a model system using HEK293 cells<sup>4)</sup>.

**Keywords :** *Chemogenetics, Coordination chemistry, GPCR, Metabotropic glutamate receptor, Orthogonality*

細胞膜受容体は細胞外の刺激を細胞内へ伝達する役割を担うタンパク質である。同一種の受容体が様々な細胞種に発現しているが、その生理学的機能は発現する細胞種によって異なる。細胞種それぞれにおける受容体機能を解明するためには、細胞種特異的に受容体を活性化する手法が求められる。本発表では代謝型グルタミン酸受容体 1(mGlu 1)をモデルタンパク質として複数の直交的な mGlu1 活性制御法を報告する。mGlu1 の活性制御法として筆者らのグループが報告している配位ケモジェネティクス法<sup>1-3)</sup>を利用した。配位ケモジェネティクス法では mGlu1 の活性化に必要なタンパク質の構造変化を金属錯体の配位によって人工的に惹起する。本研究では結晶構造に基づく変異体デザインとスクリーニングにより、Cu<sup>2+</sup>や Zn<sup>2+</sup>によって活性化される mGlu1 変異体を同定した。さらに、これらの変異体が既に報告されている Pd 錯体活性型の mGlu1 変異体と共に、互いに直交的に活性化できる変異体であることを見出した。これらの変異体を用いて、HEK293 細胞におけるモデル実験により細胞種選択的な活性制御を実証した<sup>4)</sup>。

1) Kiyonaka *et al.*, *Nat. Chem.* **2016**, 8, 958. 2) Ojima *et al.*, *bioRxiv*, **2021**. 3) Kubota *et al.*, *Methods Enzymol.*, **2019**, 622, 411. 4) Senoo *et al.*, *Front. Chem.*, **2022**, 9, 825669.