

### 31. Quimiogenética, RASSL e DREADD

François Noël, agosto 2022

(revisado pelo Dr. Alexandre H. Kihara, UFABC)

RASSLs e DREADDs são receptores criados artificialmente para serem ativados seletivamente por certos ligantes. Eles são frutos da **quimiogenética**, termo que foi cunhado originalmente para descrever os efeitos de mutações sobre a especificidade de substratos enzimáticos. Hoje em dia, este termo é usado para descrever o processo pelo qual macromoléculas podem ser projetadas para interagir somente com pequenas moléculas não reconhecidas pelas proteínas nativas (Urban & Roth, 2015).

#### Aspecto histórico da quimiogenética e diferença intrínseca entre RASSL e DREADD

- **Abordagens genéticas tradicionais:** embora a manipulação genética (como os modelos *knockout*) seja poderosa ferramenta para avaliar a função de uma proteína, ela sofre frequentemente de problemas como controle temporal, ocorrência de fenômenos compensatórios ou mesmo letalidade embrionária. A quimiogenética apareceu para contornar estas limitações ao usar um pequeno ligante exógeno para controlar a atividade de uma macromolécula endógena (Keiffer e cols., 2020).

- **Primeira geração: os RASSLs** são receptores ativados exclusivamente por um ligante sintético (RASSL é um acrônimo do inglês *Receptor Activated Solely by a Synthetic Ligand*). Em 1991, Strader e colegas foram os primeiros a desenhar um receptor acoplado a proteína G (GPCR), no caso o receptor opióide  $\kappa$ , que podia ser ativado somente por uma substância sintética, não havendo assim ativação pelos agonistas endógenos. Este trabalho foi importante por verificar que a substituição de aminoácidos no sítio de ligação era capaz de modificar a especificidade de um receptor e assim demonstrava o potencial do desenho racional de ligantes para atuar especificamente em receptores geneticamente modificados, já prenunciando o desenvolvimento de DREADDs.

- **Segunda geração: os DREADDs**, ou receptores projetados ativados exclusivamente por fármacos projetados (DREADD é um acrônimo do inglês *Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drugs*). Para evitar que os ligantes sintéticos selecionados para ativar os RASSLs pudessem também ativar os receptores endógenos, procurou-se não somente projetar o domínio de ligação do ligante no receptor como também a pequena molécula sintética, o que resultou na criação de DREADDs (Keiffer e cols., 2020). Estes DREADDs foram inicialmente desenvolvidos no laboratório do Dr. Brian Roth para estudar a sinalização de receptores 7TM (Armbruster e cols., 2007), que é muito complexa já que agonistas podem atuar em mais de um subtipo de receptor e ativar diferentes proteínas G além de  $\beta$ -arrestinas, como previamente discutido na matéria sobre [seletividade funcional](#). A grande vantagem destes receptores modificados é que eles podem se acoplar com apenas uma das proteínas G heterólogas ou uma das proteínas arrestinas. Além disso, os DREADDs não vão

responder aos seus ligantes naturais, mas sim a um ligante farmacologicamente inerte, como o *N*-óxido de clozapina (CNO), por exemplo. Outra vantagem reside na possibilidade de controlar a expressão destes receptores de tal forma que haja especificidade tecidual ou mesmo celular (Thiel, 2015). Já existem vários tipos desses receptores, derivados de receptores muscarínicos ou  $\kappa$ -opióides, e DREADDs já são usados de forma ubíqua para modular GPCRs de forma não invasiva *in vivo* (Urban & Roth, 2015). Embora o foco inicial da quimiogenética fosse os GPCRs, há pesquisas emergentes com foco em canais iônicos controlados por ligantes (Keiffer e cols., 2020).

Apesar da diferença intrínseca entre RASSLs e DREADDs, estes termos são atualmente frequentemente usados de forma indiscriminada para representar um sistema receptor-ligante que foi projetado racionalmente.

### Aplicações

Atualmente, os DREADDs são a ferramenta quimiogênica mais utilizada, sendo seu campo de aplicação principal em modelos de neuropsiquiatria apesar do seu uso se estender agora a quase todos os domínios da fisiologia (Keiffer e cols., 2020; Paschon e cols., 2020). Importante saber que já existem camundongos transgênicos expressando DREADDs e que foi demonstrado ser possível ativar ou silenciar determinados neurônios no cérebro destes animais, alguns dos quais já são [disponíveis comercialmente](#). Esta disponibilidade é interessante, pois permite a realização de experimentos para desvendar os circuitos que controlam o comportamento natural dos animais no nível celular, permitindo elucidar relações causais entre populações neuronais seletivas e um tipo particular de comportamento (Thiel, 2015).

### Referências

Armbruster B.N., Li X., Pausch M.H., Herlitze S., Roth B.L. Evolving the lock to fit the key to create a family of G protein-coupled receptors potently activated by an inert ligand. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 5163-5168, 2007.

Keifer O., Kambara K., Lau A., Makinson S., Bertrand D. Chemogenetics a Robust Approach to Pharmacology and Gene Therapy. *Biochem. Pharmacol.* 175: 113889, 2020.

Paschon V., Correia F.F., Morena B.C., da Silva V.A., dos Santos G.B., da Silva M.C.C., Cristante A.F., Willerth S.M., Perrin F.E., Kihara A.H. CRISPR, Prime Editing, Optogenetics, and DREADDs: New Therapeutic Approaches Provided by Emerging Technologies in the Treatment of Spinal Cord Injury. *Mol. Neurobiol.* 57(4): 2085-2100, 2020.

Strader C.D., Gaffney T., Sugg E.E., Candelore M.R., Keys R., Patchett A.A., Dixon R.A. Allele-specific activation of genetically engineered receptors, *J. Biol. Chem.* 266(1): 5-8, 1991.

Thiel G. Preface p. VII-XII, *In: Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs*. Ed. Gerald Thiel. 2015. Humana Press, ISBN 978-1-4939-2944-3.

Urban D.J., Roth B.L. DREADDs (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs): Chemogenetic Tools with Therapeutic Utility. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 55:15.1-15.19, 2015.