

《女性研究者等研究支援成果報告 概要・要旨》

＜課題名＞

消化管における宿主と腸内細菌の相互作用メカニズム解明

＜代表者所属・職名・氏名＞

医薬保健研究域薬学系・助教・堀亜紀

＜研究成果要旨＞

ヒト G タンパク質共役受容体 (G protein-coupled receptor : GPCR) は極めて有望な創薬ターゲットである。したがって、医薬品候補となる化合物が実際に体内で効果を示すか評価するための動物個体実験系の開発が望まれている。本研究では、GPCR の活性化程度をショウジョウバエ個体内で検出して評価可能な新規実験系-ヒト化ショウジョウバエ-を確立することを目的として研究を進めた。

ショウジョウバエ個体内での GPCR 活性化は TANGO 法を改変することによって試みようと考えた。TANGO 法とは、アレスチンが GPCR に結合したときのみ標的細胞で蛍光タンパク質が発現するような人工シグナル伝達系である。この人工シグナル伝達系は 2 種類の人工タンパク質よりなる。ひとつは GPCR を TEV プロテアーゼの切断配列を介し転写因子と結合させた融合タンパク質、もうひとつはアレスチンと TEV プロテアーゼとの融合タンパク質である。リガンドが GPCR と転写因子との融合タンパク質に結合すると、アレスチン-TEV プロテアーゼ融合タンパク質が GPCR の側に結合し転写因子とのあいだにある TEV プロテアーゼ切断配列を切断する。すると、転写因子が遊離して核移行し、GFP など蛍光タンパク質をコードするレポーター遺伝子を発現させる。この人工シグナル伝達系を用いることで、リガンドと GPCR の結合程度を評価することが可能となる。

私たちは、この TANGO 法を改変し、GPCR やアレスチンについてヒトの遺伝子を用いることで、経口投与した化合物や天然物抽出液が腸管内で GPCR と結合し、その結合程度を評価できると想定して研究を進めた。そして、このようなレポーターショウジョウバエを「ヒト化ショウジョウバエ」とよぶことにより作出を行った (下図)。ヒト GPCR である Dopamine receptor D4 (DRD4) と Free fatty acid receptor 2 (FFR2) の二種類を用いてトランスジェニックショウジョウバエの作出を進めた。いずれの GPCR もリガンドが既知であり、DRD4 はリガンドとの親和性が極めて高く、FFR2 は比較的弱い親和性を持つ。この 2 種類の GPCR を有するトランスジェニックショウジョウバエを使って、リガンドと GPCR の相互作用を検出する本手法の感度を評価できると考えたためである。GPCR-TEVp cleavage site-LexA、

β -Arrestin-TEV protease、lexAop-nanoLuc、の 3 つのコンポーネントに分けたトランスジェニックショウジョウバエ用ベクターを構築し、胚へのインジェクションによりトランスジェニックショウジョウバエの作出を行い、これに成功した。

