

# 26G-pm10

液滴を利用した G タンパク質共役型受容体作動性ペプチドリガンド創出技術の  
開発

○飯塚 怜<sup>1</sup>, 櫻井 貴志<sup>1</sup>, 中村 泰之<sup>2</sup>, 石井 純<sup>3</sup>, 関根 瑠威<sup>4</sup>, 井口 彩香<sup>4</sup>, 尹 棟鉉<sup>4</sup>,  
関口 哲志<sup>5</sup>, 藤村 祐<sup>6</sup>, 赤木 仁<sup>6</sup>, 近藤 昭彦<sup>2</sup>, 庄子 習一<sup>4,5</sup>, 船津 高志<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東大院薬, <sup>2</sup>神戸  
大院工, <sup>3</sup>神戸大自然, <sup>4</sup>早大理工, <sup>5</sup>早大ナノ理工, <sup>6</sup>オンチップ・バイオテクノロジーズ)

G タンパク質共役型受容体 (G protein-coupled receptor, GPCR) は、創薬研究にお  
ける最も重要なターゲットの 1 つであり、新薬候補となるリガンドの探索が精力  
的に行われている。しかし、これまで行われてきた「化合物ライブラリーの中か  
らリガンドをスクリーニングする」アプローチには様々な問題点が存在し、リガ  
ンドの取得は困難を極めている。そこで我々は、この現状を打破する新たな方法  
として「GPCR 作動性ペプチドリガンド創出技術」を考案し、その開発を進めてきた。

本技術の概要は、以下の通りである。マイクロ流体デバイスを用いて、1 種類の  
ペプチドをコードする DNA を多数提示した磁気ビーズ (事前にエマルジョン PCR  
により 1 分子の DNA より増幅する)、再構成型無細胞タンパク質合成系、標的 GPCR  
を発現する出芽酵母を Water-in-oil (W/O) 型液滴内に封入する。この酵母は、内  
在性の GPCR である Ste2 下流のシグナル伝達経路が遺伝子工学的に改変されてお  
り、リガンドが GPCR を作動させると蛍光タンパク質 (ZsGreen) を発現する。  
W/O 型液滴内では、DNA 配列に応じたペプチドが合成され、その機能評価が行わ  
れる。標的 GPCR を作動するペプチドが合成されれば、酵母が ZsGreen を発現し、  
蛍光を放つようになる。次に、マイクロ流路を用いたソーティングシステム  
(On-chip Sort) により蛍光性の酵母を内包する W/O 型液滴を回収、W/O 型液滴内  
の DNA を増幅、配列確認後、ランダム変異を導入して更なる探索ラウンドへと投  
入する。以上の操作を繰り返すことで、標的 GPCR を作動させるペプチドリガ  
ンドを効率的に取得できると考えている。年会当日は、その進捗状況について報告  
する。