

DNA バーコーディングを活用した代謝物解析手法の開発

(青山学院大理工) ○盛谷 周平・矢島 百華・西原 達哉・田邊 一仁
Metabolite analysis using DNA barcoding (*Graduate School of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University*) ○ Shuhei Moritani, Momoka Yajima, Tatsuya Nishihara, Kazuhito Tanabe

Metabolites are very important biomolecules as disease biomarker. Although the conventional metabolite analysis methods such as liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) can analyze multicomponent metabolites, it is difficult to achieve high throughput analysis due to the time consuming step. To overcome this limitation, we employed a DNA high-throughput sequencing technology to quantify the target metabolite. We attempted to construct a molecular system to encode the information of target metabolite in each sample into the DNA sequences and quantify each DNA sequences at once.

In this study, we selected glutathione (GSH) as a target metabolite and characterized its reaction properties with disulfide-tethered ODNs that was placed on the magnetic beads. The reaction of the functional beads and GSH resulted in a release of ODNs with thiol group from the beads, and we confirmed the presence of ODNs by PCR amplification. Thus, the information of GSH could be transferred to DNA sequence information.

Keywords : Metabolite

生体内で産生される代謝物は、疾病診断マーカーとしての応用が期待される重要な生体分子である。しかしながら、液体クロマトグラフィー-質量分析計 (LC-MS) を代表とする既存の代謝物解析手法は、多成分の代謝物解析が可能な反面、代謝物の分離に時間を要し、解析可能な検体数に大幅な制限が生じる。そのため、簡便に多検体の代謝物解析を可能にする技術の確立が求められる。

以上を踏まえ、我々は次世代シーケンサー等でハイスループット解析可能な DNA 技術を用いて特定の代謝物を解析するシステムの構築を試みた。標的代謝物との反応に伴い、DNA が遊離するシステムを新たに設計することで、検体毎の標的代謝物の情報を DNA へ置き換え可能とした。続いて置換した DNA の配列情報、及び量を一斉解析することで、多検体の代謝物解析の実現を目指した。

本研究では、標的代謝物として、生体内の酸化還元に寄与するグルタチオン (GSH) を選択し、GSH 存在下で DNA が遊離される分子システムを構築した。ジスルフィド結合を介してビオチン修飾した DNA を合成し、ストレプトアビジン修飾磁性ビーズに担持させた。GSH とビーズを混合したところ、ジスルフィド結合が切断された DNA がビーズから遊離した。得られた DNA 鎖は PCR で増幅し、容易に視認することができたことから、GSH の存在の有無を DNA の塩基配列情報に置換できることを確認した。

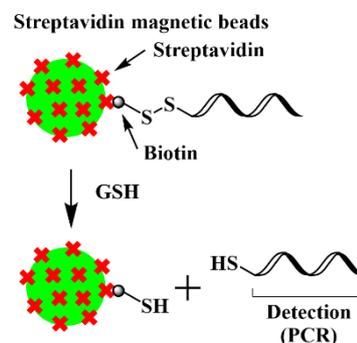


Figure 1. Schematic illustration of encoding the information of GSH in each sample into DNA sequences.