

ミクروسケール電気泳動フィルタリングデバイスを用いた核酸アプタマー選抜

(阪府大院工¹・JST さきがけ²) ○末吉 健志^{1,2}・高尾 隼空¹・飛田 安梨沙¹・上野楓¹・遠藤 達郎¹・久本 秀明¹

Aptamer Selection Using a Microscale Electrophoretic Filtering Device (¹*Graduate School of Engineering, Osaka Prefecture University*, ²*PREST, JST*) ○Kenji Sueyoshi,^{1,2} Junku Takao,¹ Arisa Tobita,¹ Kaede Ueno,¹ Tatsuro Endo,¹ Hideaki Hisamoto¹

Recently, DNA aptamer specifically binding with their target is expected to be a novel molecular probe instead of antigens. Here, an aptamer selection method using a microscale electrophoretic filtering device was newly developed. Experimentally, target proteins electrokinetically introduced into a capillary partially plugged with a hydrogel were trapped by molecular sieving effect. DNAs with different random sequence are then introduced into the capillary for binding reaction with the trapped protein. After washing the unbound DNAs, the remaining DNAs (aptamer candidates) were eluted and sequenced. As a result, the DNAs resembling the reported aptamers were found from the obtained candidates in the eluent.

Keywords : *Aptamer Selection; Microscale electrophoretic Filtering*

核酸アプタマーは、標的分子に対して特異的に結合する配列を持つ核酸群の総称であり、生体由来の抗体に代わる分子認識プローブとして近年注目されている。その選抜法として、一般的に Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment (SELEX) 法が利用されているが、混合・分離・増幅などの煩雑な実験操作を 10 数回繰り返す必要があり、その簡略化が望まれている。そこで、本研究ではミクروسケール電気泳動フィルタリングデバイスを用いた新規アプタマー選抜法を開発した。本法では、ポリアクリルアミド (PAAm) ゲルが部分充填されたキャピラリーデバイス内に試料分子を電気泳動導入し、分子ふるい効果によって捕捉する。試料分子捕捉後、ランダム配列核酸ライブラリを電気泳動導入し、結合・解離反応を順次行う。その際、高い結合能を示す核酸のみが捕捉された試料分子と結合して濃縮される。さらに洗浄・溶離後に回収された核酸群を PCR で増幅し、次世代シーケンサーで配列を解析する。

免疫グロブリン G (IgG) および E (IgE)、癌胎児性抗原、テトラスパニン類などをモデル標的分子として、提案した手法に基づくアプタマー選抜をそれぞれに対して行った。作製したデバイスに蛍光標識 IgG を導入したところ、試料導入時間に対する経時的な蛍光強度増加が観察され、PAAm ゲルの分子ふるい効果に基づく IgG 捕捉が確認された。また、非標識 IgE を捕捉後に蛍光標識核酸ライブラリを導入した結果、蛍光標識核酸の結合に伴う蛍光強度増加と洗浄時の解離に伴う蛍光強度減少がそれぞれ観察された。そこで、最終的にデバイス内に残存した核酸分子を溶離・回収して配列解析を行ったところ、モデル試料に対して SELEX 法で得られた既知アプタマー配列に類似した核酸が、本法による 1 回の選抜操作で得られた核酸群の中にそれぞれ確認された。現在、各アプタマー候補の結合能および選択性について評価中である。