

代謝物の高感度検出を目指した DNA 配列情報へコード可能にする新規ラベル化剤の開発

(青山学院大理工) ○矢島 百華・西原 達哉・田邊 一仁

Functional Biotin derivatives as labeling reagent to encode the metabolites information into DNA sequences (*Graduate School of Science of Engineering, Aoyama Gakuin University*)

○Momoka Yajima, Tatsuya Nishihara, Kazuhito Tanabe

In recent years, metabolites in blood and urine have attracted attention as disease diagnostic markers. We have successfully designed labeling reagents that can encode the structural information of metabolites, GSH, into the DNA sequence.

In this study, we conducted detection and quantification experiments for cysteine and CoA to verify the applicability of this system to thiol metabolites other than GSH and found that the system worked successfully. In addition, to improve this system, we newly prepared DNA-binding magnetic beads with multiple desthiobiotin-modified DNAs. By using the new beads, non-specific release of modified DNAs from the beads could be suppressed. Quantification of the thiol metabolites with high sensitivity using this system is in progress.

Keywords : *Metabolome analysis, Labeling reagent, Artificial DNA*

近年、血液や尿に含まれる代謝物を疾病診断マーカーとして用いる試みに注目が集まっている。我々は、代謝物の構造情報を DNA の配列情報に置換可能にする小分子タイプのラベル化剤を設計し、チオール代謝物群の一つであるグルタチオンを DNA へコード可能であることを明らかにしてきた。

本研究では、グルタチオン以外のチオール代謝物への適用可能性を評価するために、システイン及び CoA の検出・定量可能性を評価した。実際に、マレイミド含有ビオチン誘導体と各種チオール代謝物を MOPS buffer (pH 7.0) で 1 時間反応させ、定量的な付加反応が進行したことを HPLC で確認した。また、これら付加物を保持時間をもとに分取した。次に、得られたビオチン化代謝物をデスチオビオチン標識 DNA を担持した磁性ビーズに添加し、デスチオビオチン-ビオチン置換反応を用いて修飾 DNA を遊離させた。最後に、遊離した修飾 DNA を定量 PCR にて確認した。以上より、システイン、CoA の検出に成功し、グルタチオン以外のチオール代謝物においても本システムが機能することが証明された。また、本システムの改良を目的とし、複数個のデスチオビオチンで修飾した DNA を用いて DNA 結合磁性ビーズを新たに作成した。その結果、磁性ビーズからの非特異的な遊離が大幅に抑制できた。現在、チオール代謝物群の高感度検出を試みている。

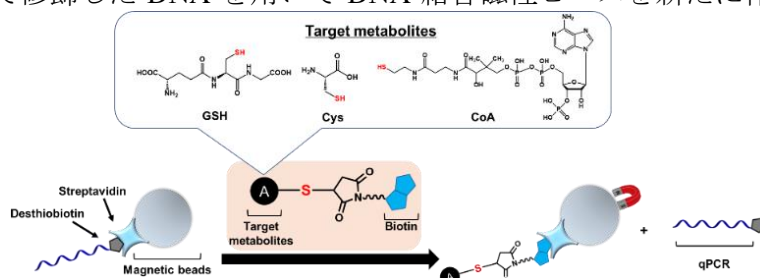


Figure1. Schematic illustration of metabolite analysis by replacement of the metabolite into DNA sequences and quantification using qPCR.