

標的代謝物の多検体解析を指向した機能性人工核酸の開発

(青山学院大理工) ○西原 達哉・本橋 優人・盛谷 周平・田邊 一仁

Development of functional oligonucleotide for target metabolite analysis (*Graduate School of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University*) ○Tatsuya Nishihara, Yuto Motohashi, Shuhei Moritani, Kazuhito Tanabe.

Analysis of metabolites provides valuable information to understand the living system. In this study, we have constructed a novel molecular system to encode target metabolite in each sample into the DNA sequence and quantify each DNA sequences at once.

We prepared the DNA binding magnetic beads with disulfide-tethered oligonucleotide to encode the glutathione (GSH) information. We found that the magnetic beads can release the DNA upon the reaction with the GSH in dose dependent manner. Therefore, the amount of GSH was indirectly quantified using the released DNA. In fact, we succeeded in the quantification of GSH in the cellular extract and liver extract. To demonstrate the feasibility to analyze multi-sample simultaneously, the quantification using next generation sequencer is in progress.

Keywords : Metabolite; Functional oligonucleotide

生体内で産生される代謝物は、生命機能を理解する上で非常に重要な生体分子に位置づけられる。我々は、これまでに検体中に含まれる代謝物情報を DNA 配列に置き換え可能とする分子システムの開発を進めてきた。実際に、標的代謝物としてグルタチオン (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。具体的には、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した。磁性ビーズに対して、検体を検体中に含まれる GSH と反応し DNA が遊離するため、一定時間経過後サンプルを回収し、検体内に含まれる DNA を定量することで間接的に GSH を定量する。

本研究では、細胞抽出液、組織破碎液など様々な生体サンプルを作成し、それぞれの検体中に含まれる GSH 濃度を正確に定量可能か検証した。実際に、HCT116 細胞の抽出液を用いて、細胞内 GSH の定量に成功した。また、肝臓破碎液を用いて、単位重量あたりの肝臓内 GSH 量を定量可能であることを明らかにした。市販の GSH 検出キットを用いた際に、いずれも同程度の値を示すことを確かめている。以上より、本定量手法は、様々な生体サンプルへ適用可能であることが示唆された。

現在、GSH との反応に伴い遊離した DNA 配列に対して、検体情報をコードした配列を付与し、次世代シーケンサーによる標的代謝物の多検体定量解析が可能か検証を進めている。