

平成 24 年度 未来研究ラボシステム 研究成果報告書

研究種目： 若手個人研究

研究課題名：核酸アプタマーを基盤とした機能性バイオミメティック分子の開発
ラボ長

所属：物質創成専攻 機能物質化学領域

氏名：山元 淳平

研究成果（800 字程度、図表可）：

分子を特異的に認識し結合する核酸リガンドである RNA アプタマーは、その結合能に着目され研究が盛んに行われている。アプタマーと低分子化合物の関係性はタンパク質と補酵素のそれと類似しており、アプタマーによる低分子化合物の新奇機能発現の可能性がある一方、このような研究例はない。本研究では、タンパク質様の機能を有する核酸アプタマーを探索することを目的とし、第一の目標として、光回復酵素とよばれる DNA 修復酵素を機能モチーフとした、酸化還元能を調節できるフラビン結合アプタマーの開発に着手した。

まず、機能モチーフとなる光回復酵素は、大腸菌内で大量産生させ、アフリカツメカエル由来の野生型(6-4)光回復酵素を得た。なお、本酵素を用いて DNA 修復反応機構解析を行ったところ、新たな知見が得られた（業績参照）。

次に、スクリーニングのためのフラビン結合担体の合成を行った（図 1）。既報に従い化合物 1 から化合物 5 を合成し、さらにホスホアミダイト 6 へ誘導した。これを、水酸基末端を有する PEG リンカーポリスチレン担体に対し DNA 合成機上で作用させることで、リン酸基を介してフラビンと結合した担体 7 を得た。

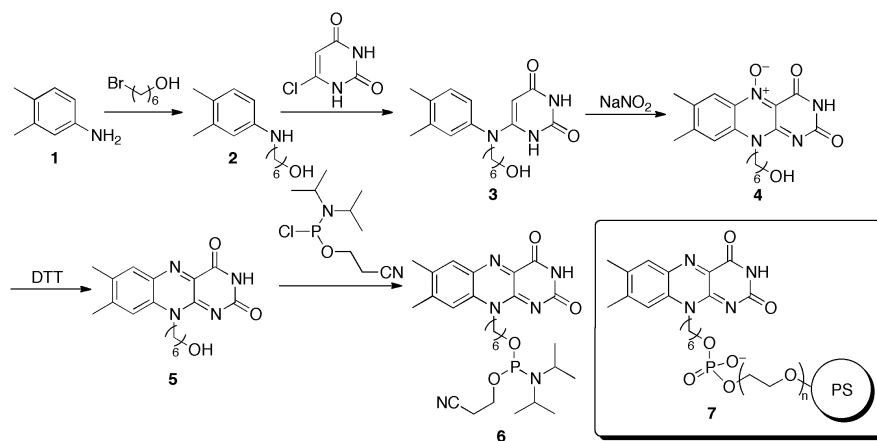


図 1：フラビン結合ポリスチレン担体 7 の合成

未同定のフラビン結合アプタマーを得るために、SELEX (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment)法の実験系立ち上げを行った。アプタマーを得るためのライブラリとして、T7 プロモーターおよび制限酵素切断サイトを有する配列中に、30 個のランダムヌクレオチドを導入した 86 塩基長のオリゴヌクレオチドをデザインし、これを用いてランダム配列を有する RNA の産生を行った。SELEX 法における操作の各段階において、得られた RNA、逆転写産物および

その PCR 産物をゲル電気泳動またはリアルタイム PCR により確認し、条件検討を行った。1 サイクル目の条件を決定後、同様の条件で 2 サイクル目および 3 サイクル目のセレクションを行った。次年度は、得られた RNA アプタマーの配列決定を行い、アプタマー存在下においてフラビンの光還元反応を行うことで、その還元挙動を調べる。

キーワード：RNA、アプタマー、機能性分子

研究経費（H24 年度）の内訳

備品費	消耗品費	旅費	謝金	その他	合計
0 円	510,290 円	89,710 円	0 円	0 円	600,000 円

共同研究者等

(1) 共同研究者（氏名・所属）

特になし。

(2) 研究協力者（氏名・所属・学年（学生の場合））

特になし。

発表論文等（平成 24 年 3 月 31 日現在）

〔雑誌論文〕 0 件

〔著書〕 0 件

〔学会発表〕 2 件

Yamamoto, J.; Martin, R.; Iwai, S.; Plaza, P.; Brettel, K. “Recognition and Repair of the (6–4) photoproduct by DNA photolyase”, The 39th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (ISNAC 2012), 2012 年 11 月 15～17 日、名古屋（Outstanding Oral Presentation Award 受賞）

山元淳平、招待講演「紫外線損傷 DNA における光回復酵素系の役割」、太陽紫外線防御研究委員会第 23 回シンポジウム、2013 年 3 月 15 日、神戸

〔その他〕 1 件

Yamamoto, J.; Martin, R.; Iwai, S.; Plaza, P.; Brettel, K. “Repair of the (6–4) photoproduct by DNA photolyase requires two photons”, submitted.

参考となるHP等

特になし。