



# アプタマー探索適用を目指した新規修飾ヌクレオシドの開発 Design and synthesis of novel chemically-modified nucleosides for development of nucleic acid aptamers

伊藤 理奈<sup>1,2</sup>、岡村 秀紀<sup>1,2</sup>、永次 史<sup>1,2</sup> (1東北大多元研・2東北大院理)

標的生体分子に選択的に結合する分子の創製技術は、生命現象の解明や創薬・診断技術の根幹をなす重要な研究課題である。これらの技術の一つにアプタマーを用いる方法がある。中でも DNA アプタマーは、高次構造を形成した一本鎖 DNA 分子であり、高い分子認識能を持ち標的分子に対して強く結合できる特徴を持つ。また、DNA のランダムライブラリーから標的結合配列の選別・増幅を繰り返す進化分子工学的手法 (SELEX 法; Fig. 1) により簡便に獲得できることから、分子標的技術への応用が近年注目を集めている<sup>1)</sup>。しかし、DNA アプタマーは 4 種類の核酸塩基 (A, G, C, T) のみで構成されており、20 種類のアミノ酸からなる抗体と比較すると化学的・構造的多様性に乏しい。そこで、より多様な構造を持つ高性能な核酸アプタマーの開発を目指し、化学修飾した人工ヌクレオシドを用いる方法が研究されている<sup>2)</sup>。核酸アプタマーはポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) を必要とする SELEX 法により探索するため、化学修飾可能な部位は核酸塩基の主溝側に限られている (Fig. 2a)。そのため、より多様なアプタマーを取得するには修飾位置の拡張が必要である。

本研究では、従来困難であった副溝側に化学修飾を導入したアプタマーの獲得を可能にする新たな方法論の確立を目的とした。具体的には、アプタマーを探索後、PCR を阻害する副溝側の置換基を外部刺激によって除去できる新規修飾ヌクレオシドを用いることを計画した (Fig. 2b)。まず、本方法論に適用できる人工ヌクレオシドとして、副溝側に置換基を導入可能なチミジンアナログを設計・合成した。DNA 固相合成法によりこのアナログを組み込んだオリゴヌクレオチドを合成した後、副溝側への光切断可能な置換基の導入、光切断反応について検討した。その結果、いずれの反応も効率よく進行することを見出した。次に、光切断によって得られたチミジンアナログを含むオリゴヌクレオチドを用いて、DNA 合成酵素 (ポリメラーゼ) による DNA 伸長反応を検討した。その結果、鎖伸長した DNA が確認され、新たに設計した人工ヌクレオシドが SELEX 法を用いた副溝修飾アプタマーの創製に応用できる可能性が示唆された。発表では、分子設計と各反応の詳細、酵素反応について報告する。

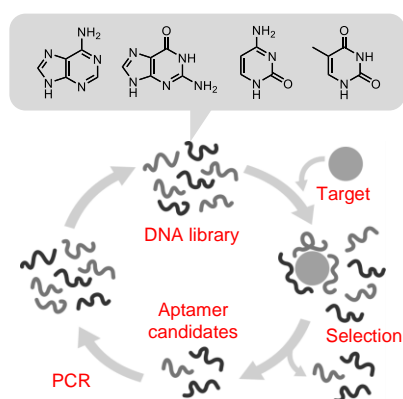


Fig. 1 SELEX 法によるアプタマーの探索

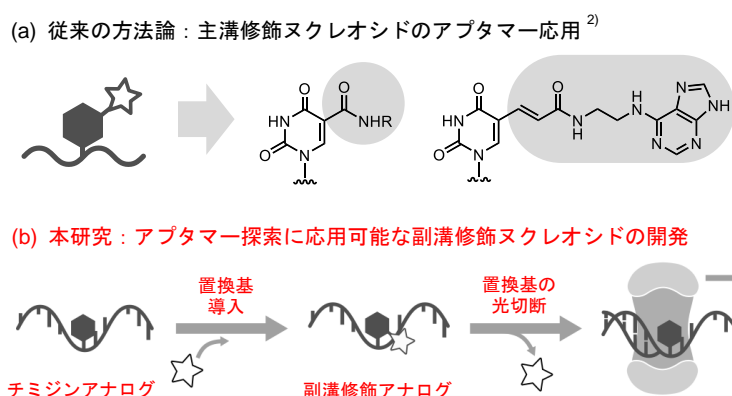


Fig. 2 アプタマーの高性能化を指向した化学修飾ヌクレオシドの開発

## <参考文献>

- 1) Zhou, J. *et al.*, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2017**, *16*, 181.
- 2) Vaught, J. D. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 4141; Imaizumi, Y. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, 9412.

## 発表者紹介

氏名 伊藤 理奈 (いとう りな)  
 所属 東北大学大学院 理学研究科 化学専攻  
 学年 博士課程前期 2 年  
 研究室 生命機能分子合成化学分野

