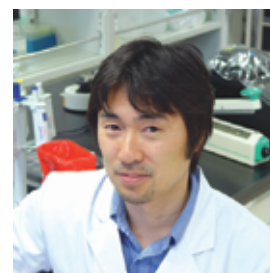


計算機とDNAチップを用いた 核酸分子認識素子の探索

細胞情報チーム
(産総研特別研究員)

アサイ リョウイチ
旭井 亮一



これまで私は、バイオセンサーおよび生体試料を用いたセンサー素子の開発に従事してきました。センサー素子として有用な生体物質の探索にバイオインフォマティクスを応用できないものかと考えていたところ、たくさんの同僚からアイデアをもらい参考にしました。(こんな考え方もあるのかといつも皆には驚かされ、また感動させられます。) 現在私が携わっている研究では、DNAチップを使い、これまでの遺伝子発現解析とは異なる新しい分野への応用を試みています。その一つがDNAチップを用いたアプタマーの探索です。

アプタマーとは、標的分子に特異的に結合し、いわば抗体としての機能をもつ核酸のことです(図1)。最近では例えばHIVの複製やプリオンの変化⁽¹⁾などを抑制するアプタマーの発見など、今後の創薬市場を考えると、将来的にとっても大きな可能性を秘めているものです。これらアプタマーの取得には、これまで通常はSELEXとよばれる方法で探索し、最終的に得られたアプタマーをDNAシーケンサーで解析しなければならず、PCRなど一連の分子生物学的な実験技術が必要とされてきました。そこで我々は、この一連の操作において専門的知識および技術がなくても、アプタマーを迅速で簡単に検索する手法を開発しました^(2~4)。

遺伝子の機能を解明するために使用されているDNAチップは、各々高密度に核酸がチップ上に貼り付けてあり、多種の配列の結合試験に用いるには良いと思われていましたが、さすがに40塩基の全種類の配列集団をチップ上に載せようとすると、A,G,C,Tの4種類の変数で 4^{40} 配列、すなわち 2×10^{24} 種類もの核酸をチップ上に載せることになります。そこで我々は、計算機で核酸を進化させ500配列程度を無作為にチップに載せ、その上で結合試験をして強いものを残す過程を1サイクルとし、これを繰り返すことで、より強い結合力をもつ核酸の探索を試みました。当センターでは、半導体微細加工技術を応用したカスタムメイドのDNAチップ製造装置(コンビメートリックス株式会社製)を所有しており、自分のデザインした配列を一晩でチップ上に合成できます。これを用いることで、迅速に核酸配列を合成し、アプタマーの探索ができます。この手法により、行なうべき実験は単に標的分子の入った溶液にDNAチップを浸すだけになり、労力が大きく軽減されました。

計算機上の進化については、遺伝的アルゴリズムを用いた子孫配列から無作為に選択することでチップ上の配列集団とし、標的サンプルについては、蛍光物質のひとつであるresorufinを用いました。初めに、無作為に作製した塩基配列集団をチップ上に載せ、標的サンプルへの結合試験を行ない、この結果で最大の親和性を持つものを親とし、さらに計算機上で作製した配列集団をチップ上に合成し、そして同様な操作を繰り返しました(図2)。その結果、世代を追うごとに標的サンプルへの親和性を上昇させることができました(図3)。

今後は、アプタマーの進化に線形解析などバイオインフォマティクスの要素を加えて、さらに有用なアプタマーを探索していきたいと考えています。将来的にはこのような方法が幅広い分野に応用されることを期待しています。

- (1) P. Joshi & V.R. Prasad : Journal of Virology, 76, 6545-6557
- (2) 旭井亮一、西村信一郎、高橋勝利 産総研 特願2003-89494 マイクロアレイを用いたアプタマーの取得方法 平成15年3月28日
- (3) R. Asai, Shin I. Nishimura, K. Takahashi: "DNA aptamers that recognize fluorophore using on-chip screening in combination with an in silico evolution", Nucleic Acids Research Supplement 3, 321-322 (2003)
- (4) R. Asai, Shin. I Nishimura, T. Aita, K. Takahashi: "In vitro selection of DNA aptamers on chips using a method for generating point mutations", Analytical Letters, accepted.

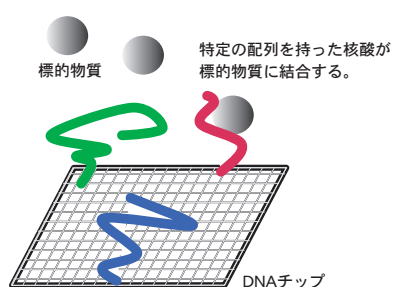


図1 チップ上に合成し固定化させた核酸が標的物質を捉えている模式図

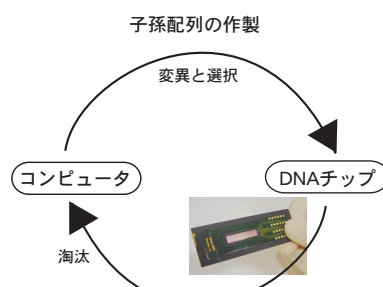


図2 計算機とDNAチップを用いたアプタマー探索の概念図

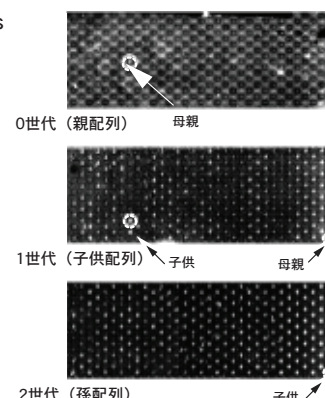


図3 各世代のDNAチップの写真