

## 29-0323 W127-1

RNA アプタマーの調製とリガンドバイディングアッセイ

○中田 主税<sup>1</sup>, 荒川 秀俊<sup>1</sup>, 西川 富美子<sup>2</sup>, 西川 諭<sup>2</sup>, 前田 昌子<sup>1</sup> (<sup>1</sup>昭和大薬,<sup>2</sup>産総研)

【目的】アプタマーとは、タンパク質や糖など様々な化合物に結合する能力を持つ核酸分子であり、抗体と同様高い特異性と親和力を有する。特にアプタマーは *in vitro* での作製が可能ことや、免疫寛容などの問題がないことなど、抗体より優れた特性を持つことが知られている。本研究では標的物質として HMG (Human menopausal gonadotropin) を選び、RNA 工学に基づいた RNA アプタマーを調製し、マイクロチップ電気泳動による HMG のリガンドバイディングアッセイを確立することを目的として検討した。

【方法】プール RNA の調製: 3' 側及び 5' 側のそれぞれに 15 塩基のプライマー部位とその間に 30 塩基のランダムな配列を含むように設計した DNA を用いて、RCR と転写によりランダムプール RNA を調製した。

アプタマーの調製: プール RNA と HMG を反応させ、結合した RNA をフィルターを用いて回収し、RT-PCR により増幅した。次にこれを RNA に転写後、PAGE で精製し第 1 セレクション RNA とした。これを次のプール RNA とし、この一連の操作を繰り返した。なお、反応条件は繰り返し回数を重ねるごとにより厳しくし、選択性を高めた。

【結果および考察】セレクションの回数を重ねるごとにアプタマーと HMG との反応性は高くなった。結合力が最も高かったアプタマー (第 7 回目セレクション) を用い、検出にマイクロチップ電気泳動を用いてリガンドバイディングアッセイを行った。その結果、HMG 1 pmol~200 pmol で検量線を作成することができた。現在 HMG アプタマーの塩基配列と構造について検討を進めている。