

23K-pm02

エクソソームを標的としたアプタマー創製方法の開発

○飯阪 有佳理^{1,2}, 笠原 勇矢^{1,2}, 米田 悦啓², 小比賀 聡^{1,2} (1)阪大院薬, (2)医薬健栄研)

【目的】分子標的薬として研究されているアプタマーの取得には、抗原となる標的分子の構造と純度が重要である。創薬ターゲットや疾患バイオマーカー¹⁾として注目されているエクソソームを標的分子とする場合には、上記の点だけでなく、ヘテロな集団であるがゆえに精製過程における偏りが生じないようにする必要があり、エクソソームの精製方法には、サイズを利用した超遠心法、表面タンパク質を利用した免疫学的処理法などが挙げられるが、前者の方法では構造の維持と純度に、後者の方法では精製過程における偏りに問題がある。そこで本研究では、上記課題を解決することのできる精製方法の開発と、エクソソームに結合するアプタマーの創出を試みた。

【方法】抗原として利用可能なエクソソームを A549 細胞株の培養上清から精製する方法の検討と最適化を行った。最適化した精製方法を選別工程に組み込んだ SELEX によって、エクソソームと結合するアプタマーの選別を行った。その後、次世代シーケンス解析によるアプタマー配列の同定と、キャピラリー電気泳動(CE)によるアプタマーの結合活性を評価した。

【結果・考察】PEG 沈殿とサイズ排除クロマトグラフィーを組み合わせることで、エクソソームの精製とそれに結合するアプタマーの選別が同時に行えることを見出した。次世代シーケンス解析によって得られた配列情報とその傾向から 8 ラウンドの SELEX により選別が進行し有望な配列を複数取得した。さらに、CE による結合活性評価により、エクソソームに特異的に結合するアプタマーを複数見出すことに成功した。

1) Tsuchiya, N. *et al. PLoS ONE* 2014, 9, e92912.