

平成29年4月20日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点
平成28年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）
所属：早稲田大学 理工学術院
職名：教授
氏名：小出隆規

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題： コラーゲン分子上の特異な配列を認識するアプタマーの取得と再生医学への応用
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者：平芳一法
3. 研究期間：平成28年4月1日～平成29年3月31日

4. 研究経過及び研究成果：

本研究では、Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment (SELEX)を用いてI型コラーゲンに特異的に結合するRNAアプタマーの取得を目指した。SELEXは標的に結合する核酸(RNA)を段階的に濃縮する方法である。初めにランダムな配列を持つRNAプールを出発材料とし、標的に結合したRNAを回収して増幅する。この増幅されたRNAを次のプールとし、再び標的に結合させて回収、増幅する。これを繰り返すことで、標的に結合するRNAアプタマーを濃縮する。具体的には、40塩基のランダム領域を22塩基の固定領域（プライマー領域）2つで挟んだRNAプールを設計し、選択圧を強化させつつ8ラウンドのSELEXを行った。

8ラウンドのSELEXを終えた後、RNA配列の濃縮の様子を見るため、SELEX前後のシーケンス解析を行い、ランダム領域の長さや配列を比較した。シーケンス解析の結果、SELEX前の核酸プールを増幅した段階で、すでにランダム領域が設計した40塩基より短いRNA集団がドミナントになっていたことがわかった。配列の相同性に関しては、SELEX前ではランダムな配列であったものが、SELEX後では6～8塩基の部

分的に同じ配列が 6 グループ見られた。今回標的としているコラーゲンは複数のエピトープを提示できる巨大な分子であるため、いくつかのグループに収束しているのは妥当な結果であると考えられる。しかし、当初設計した RNA よりも短い 20-mer 程度のもものがほとんどであるため、高アフィニティー、高選択性をもったアプタマーを取得するためには再度のトライアルが必要と考えられる。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表、特許取得等

該当なし