

理研NMR施設利用報告書
(トライアルユース)

14-500-046

平成 27 年 10 月 1 日

利用機関名	タグシクス・バイオ株式会社	
実施部署名		
実施責任者管理職名・氏名	代表取締役 / 平尾一郎	
実施部署所在地	横浜市鶴見区末広町 1-6	
実施部署連絡先		
利用課題名	NMR による核酸アプタマーの品質管理	
利用目的・内容	核酸アプタマーを商品化した際に、標的タンパク質に対する活性を保持する構造を保つようにする。その際に、核酸アプタマーのコンフォメーションが均一であることを調べるために NMR を利用して品質管理することが可能であるか検討する。	
利用実施時期及び期間	平成 26 年 11 月 19 日 ~ 平成 27 年 4 月 20 日 <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; padding: 5px; display: inline-block;">当初計画どおり</div> ・当初計画変更（どちらかを○で囲む） (変更理由)	
利用施設	NMR 装置 (該当部分に○)	利用装置① ・ () 溶液 600MHz、() 溶液 700MHz、() 溶液 800MHz、 (○) 溶液 900MHz、() 固体 700MHz 利用期間 1 : 平成 26 年 11 月 19 日 ~ 平成 26 年 11 月 25 日 利用期間 2 : 平成 27 年 4 月 14 日 ~ 平成 27 年 4 月 19 日
利用満足度 (複数選択不可)	() 大いに満足、(○) ほぼ満足、() やや不満、 () 大いに不満	

成果の概要	実施内容	<p>DNA アプタマーは標的タンパク質と特異的に結合するのは、特徴のあるコンフォメーションを形成する必要がある。コンフォメーションの形成には、随時熱によるアニーリング操作によって行う。そこで本実験では、DNA アプタマーをアニーリング、凍結乾燥の操作手順の順番を変えて試料を調製し、¹H NMR スペクトルを比べることによりコンフォメーションへの影響を調べる。また、ゲルシフトアッセイ法により、調製した試料が標的タンパク質と結合できることを確認する。</p>
	<p>本課題により得られた成果、当初目標と結果との比較</p>	<p>本実験では、二種類の DNA アプタマー（一つは、人工塩基 DNA アプタマー、もう一つは天然塩基からなる DNA アプタマーを用いた。<u>人工塩基 DNA アプタマー (57-mer)</u> 凍結乾燥操作の実施前後でのアニーリング操作によるコンフォメーションの違いは、¹H NMR スペクトルを比較した結果、操作手順を変えて調製した各試料のスペクトルに違いは見られなかったことから、同じコンフォメーションを形成していることがわかった。更に、ゲルシフトアッセイ法により、すべての試料はタンパク質への結合活性を維持していた。この人工塩基 DNA アプタマーは、フォールディングの操作に関係なく、標的タンパク質と結合し得るコンフォメーションを形成させることが可能であることを示した。</p> <p><u>DNA アプタマー (26-mer)</u> ゲルシフトアッセイ法で、フォールディングの条件で標的タンパク質との結合に差があったが、NMR を測定するために調製した試料では結合活性には差はなかった。これは、両者の実験で試料を調製した際の DNA 濃度が異なっていたことが影響していたからである。</p>

	<p>今後の展開、課題</p>	<p>試料をフォールディングした条件について、構造情報で評価するには NMR スペクトルは適している。フォールディング操作によって、標的タンパク質との結合活性あるいはコンフォメーションが異なる試料を準備できていればよかった。</p> <p>また、今回の測定した試料の溶媒の塩濃度が高かったために、クライオプローブでの測定に不向きであったことは残念であり、溶媒の条件も検討する価値はある。</p>
<p>社会・経済への波及効果の見通し</p>	<p>実施例を増やす必要はあるが、核酸医薬品等を含め、核酸オリゴを商品として扱う場合、コンフォメーションについての検査を実施しておけば、ユーザーにとっては信用して使ってもらえるし、操作の簡便化も図れるのではないかと期待できる。</p>	
<p>成果公開延期の希望の有無</p>	<p>(<input type="radio"/>) なし : (<input type="checkbox"/>) あり</p> <p>「あり」の場合理由 :</p> <p>延期希望期間 : (利用報告書提出日より最大2年)</p>	
<p>理研NMR施設利用における感想</p>	<p>NMR スペクトルの測定を一から教えて頂きました。また、測定溶媒に対するアドバイス等も参考になり、測定するだけでなく、良いデータを取得するために親身になって助言を頂けて助かりました。</p>	

<p>利用周辺環境に関する希望</p>	<p>特にありません。</p>
<p>今後の利用形態の予定</p>	<p>() 再度本事業への申請を考えている。 () 成果の非公開を前提とした「外部利用」(有料)を考えている。 () その他理研との共同研究等を考えている。 具体的に： (O) 未定</p>
<p>今後期待するその他のサービス</p>	<p>(O) NMR 装置利用の教育(これまで NMR を使用した経験の無い方に対する教育も含む) () NMR 装置利用の技術的なサポート () その他 具体的に</p>
<p>文部科学省の共用ナビ(研究施設共用総合ナビゲーションサイト)に対する感想・改善について</p>	<p>(http://kyoyonavi.mext.go.jp/) (O) 見た : () 見ていない 感想等：</p>
<p>その他</p>	<p>(上記の項目以外でご意見等お願いします。) 特になし。</p>

本報告書については、印刷または必要な編集・加工を行った上で公開します。また、別途開催予定の成果報告会・シンポジウムや委託事業報告書作成時において、本報告書の内容についての資料作成または発表をお願いする場合があります。