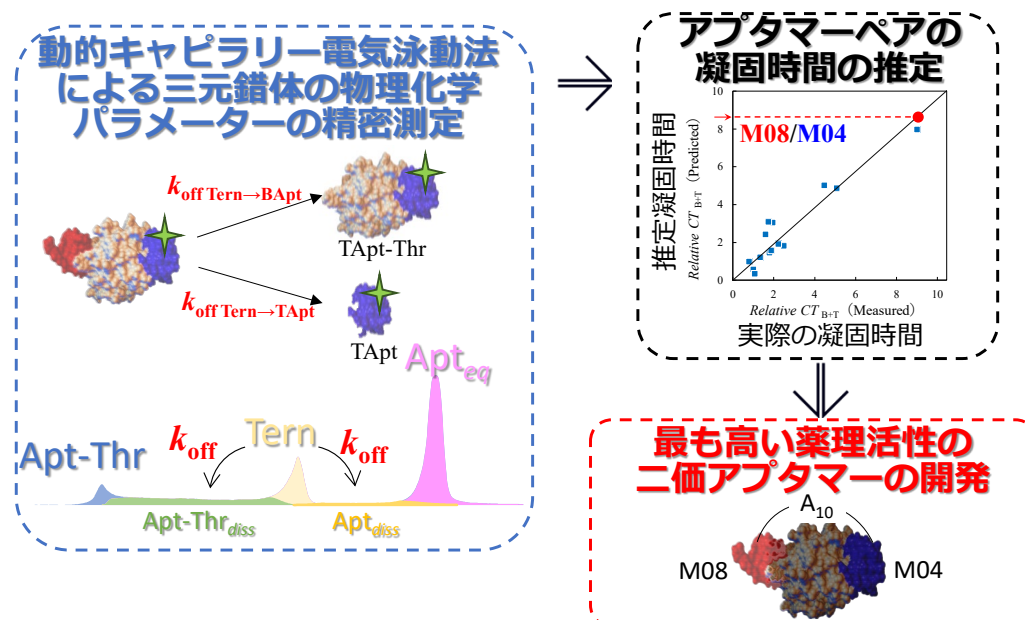


令和 7 年 6 月 6 日

新しい反応速度解析技術で高薬理活性 DNA を創出 ～動的キャピラリー電気泳動法による DNA アプタマー -タンパク質三元錯体の精密解析と応用～

1 ポイント

- ・結合部位の判別と反応速度の精密測定を可能とする電気泳動技術を開発。
- ・反応速度を基にタンパク質と同時に強く結合する二つの DNA アプタマーの組み合わせを発見。
- ・二つの DNA アプタマーを繋ぎ合わせて最高性能の薬理活性を持つ二価 DNA アプタマーを開発。
- ・本研究により、高い薬理活性を持つ核酸医薬品の開発に期待。

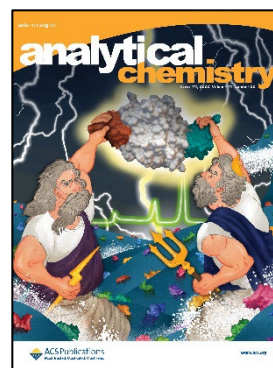


2 概要

埼玉大学大学院理工学研究科の齋藤伸吾教授、鈴木陽太助教の研究グループは、東京大学大学院総合文化研究科の吉本敬太郎准教授らとの共同研究で、タンパク質と二つの DNA との複合体（三元錯体）の結合能を精密に測定する方法を開発し、最も性能の高い薬理活性を有する DNA 分子を開発することに成功しました。

DNA アプタマーとは特定のタンパク質に結合する短い一本鎖 DNA 分子です。一つのタンパク質に二種類のアプタマーが同時に結合して三元錯体を形成することもあります（図1）。本研究グループは、動的キャピラリー電気泳動法（CE）を使って、三元錯体の結合部位の判別や反応速度測定を可能とする新規技術を初めて開発しました。これにより、片方のアプタマーが結合するともう片方のアプタマーの結合性が変化する効果（アロステリック効果）を示す組み合わせを精密に特定できるようになりました。高いアロステリック効果を示す二つアプタマーを化学的に結合することで、従来の 80 倍以上高い薬理効果を持つ二価アプタマー分子の開発に成功しました。

この手法は、反応速度という化学の基礎的データに基づいて、今まで知られていなかった最適なアプタマーの組み合わせを効率的に発見できる枠組みを提供し、DNA アプタマー研究に新たな可能性を切り拓



Reprinted with permission from Anal. Chem. 2025, 97, 21, 10978–10987. Copyright 2025 American Chemical Society.

きます。また、未知の生体分子複合体のアロステリック効果の由来を解明する方法論を与えるものと期待できます。

本成果は、2025 年 5 月 5 日付でアメリカ化学会が発行する分析化学分野の国際誌『*Analytical Chemistry*』でオンライン公開され、Supplementary Cover に選ばれました。

3 研究の背景

DNA アプタマーは短い配列の一本鎖の DNA で、特定のタンパク質を認識できる分子として注目されています。一つのタンパク質に対して二つの異なる DNA アプタマーが結合し、三元錯体を形成することもあります(図 1)。この場合、錯体形成は計 13 種類の結合定数や速度定数で複雑に制御されています。この二つの異なる部位に結合するアプタマーを連結して一分子とすることで、結合性の高い二価アプタマーを作れることは知られていました。一方、未知のアプタマーに対して結合部位を判別することやアロステリック効果(片方のアプタマーの結合がもう片方のアプタマーの結合性を変化させる効果)の測定は困難でした。これは、従来の三元錯体の結合能の測定法では、タンパク質やアプタマーを固定化しなければならず、完全な自由溶液中での分子の挙動と異なるため、正確な結合能の評価が難しかったためです。この影響のため、アロステリック効果の小さな変化を見逃す可能性がありました。

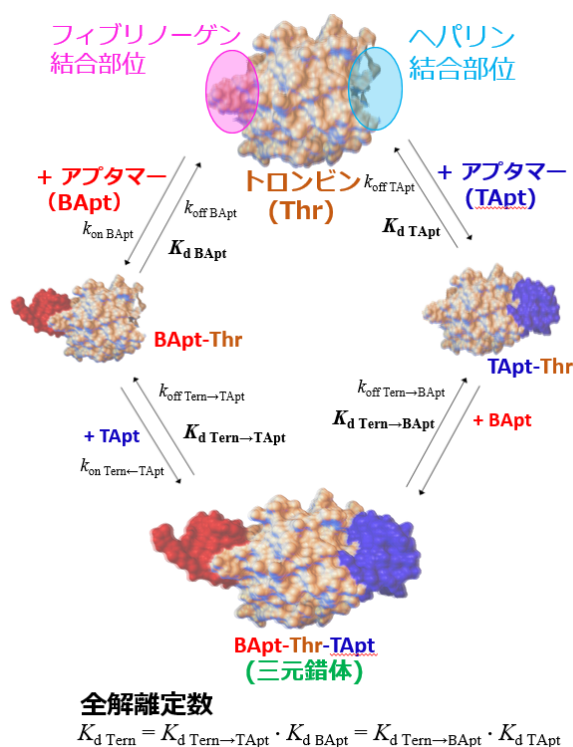


図 1. 血液凝固因子トロンビンと二つの DNA アプタマーとの反応スキーム。

4 研究内容

本研究では、キャピラリー電気泳動法(CE)を用い、完全な自由溶液中において、未知のアプタマーに対して結合部位の特定や物理化学的パラメータ(結合定数や解離反応速度定数)の精密測定を実現しました(動的 CE 法)。動的 CE で三元錯体を分離検出する際、分離中に三元錯体が分解してしまい、複雑な電気泳動図を示します(図 2)。そこで本研究グループは、この泳動図を解析する方法を開発し、結合部位の特定と各種定数の精密な測定をすることで、アロステリック効果が働いているか、また、アロステリック効果の原因は何であることを調べられるようになりました。実際には、血液凝固因子トロンビンに対する DNA アプタマーについて調査しました。

トロンビンのフィブリノーゲン結合部位に DNA アプタマーが結合すると凝固しにくくなります(抗凝固活性)。そこで、抗凝固活性の強さと計 13 種類の各種定数との関係性を統計学的に解析するこ

PRESS RELEASE

とで、20 種類のアプタマーの中から、抗凝固活性が最も高くなるアプタマーの組み合わせ（アプタマーペア）を簡便に発見することが出来ました。このアプタマーペアはこれまで報告されたことの無いアプタマーの組み合わせでした。この二つのアプタマーを連結したところ、従来知られているアプタマーよりも 80 倍以上高い抗凝固活性を持つ二価アプタマー分子を開発することに成功しました。

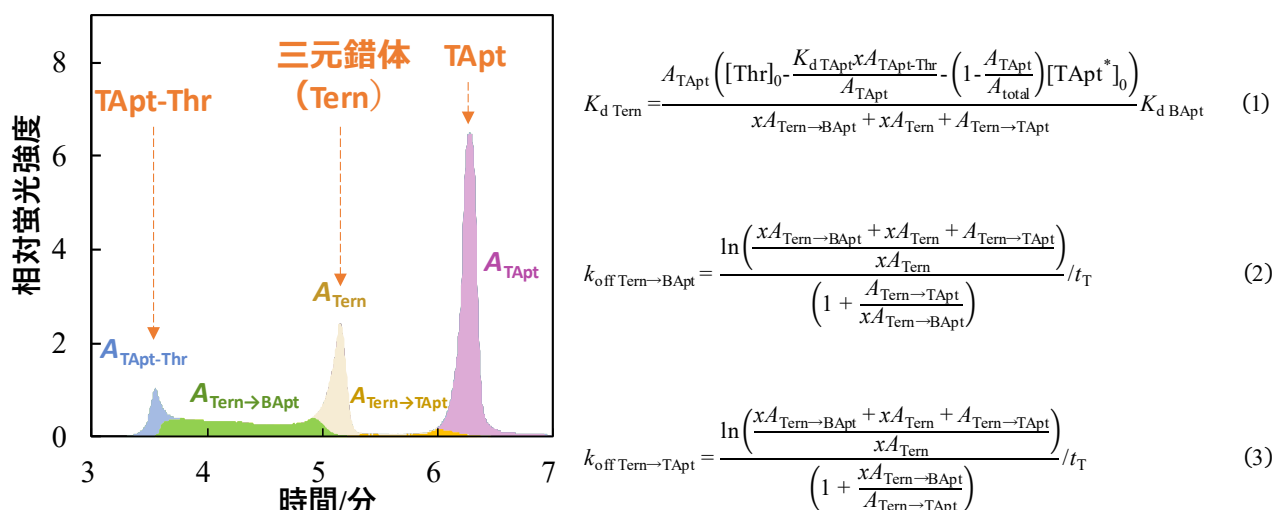


図2. 解析した三元錯体の電気泳動図と解析式.

5 今後の展開

本研究で、多くの DNA アプタマーが知られている中で、アプタマーペアとして機能させることで初めて高い薬理活性や結合能を示す DNA アプタマーがまだ埋もれていることが判明し、未知の有望なアプタマーペア探索が大きく前進することが期待できます。また、未踏の分野であるアロステリック効果の科学に対し、反応速度の観点から解釈が出来る方法論を与えることが出来ました。本研究の方法論で、合理的に超高性能な二価生体分子が設計可能になり、医薬品などの開発に貢献出来ると期待できます。

6 論文情報

雑誌名	Analytical Chemistry
論文タイトル	Reliable Post-SELEX Design of Promising Bivalent Aptamers through the Systematic Capillary Electrophoresis Exploration of Ternary DNA-Protein Complexes
著者	鈴木 陽太(埼玉大学)、常原 佑睦(埼玉大学)、宮内 さおり(埼玉大学)、宮川 雅都(東京大学)、杉山 開(埼玉大学)、石光 真彦(埼玉大学)、半田 友衣子(埼玉大学)、吉本 敬太郎(東京大学)、齋藤 伸吾(埼玉大学)
DOI	10.1021/acs.analchem.4c04825
URL	https://doi.org/10.1021/acs.analchem.4c04825

7 研究支援

本研究は、文部科学省の科学研究費補助金『22H02104』の支援を受けて行われました。

8 用語解説

キャピラリー電気泳動法: 溶融シリカ細管中で行う電気泳動法。高電場を与えることで、自由溶液中で

PRESS RELEASE

の高速かつ高分離な分析が可能である。

DNA アプタマー: 特定の化学物質と強く結合する短い配列の一本鎖の DNA。センサーや薬剤への応用が盛んに行われている。

アロステリック効果: ある分子がタンパク質などの特定の部位に結合することで、別の部位の働きや性質が変わる現象であり、その本質は複雑で不明なことが多い。

三元錯体: 三つの異なる分子が結合してできる複合体(錯体)。

自由溶液: 分子が固定されておらず自由に動き回れる状態の液体。