

核酸を蛍光標識・放射標識する方法

¹学術研究院ヘルスシステム統合科学学域(工) ²近畿大学理工学部 ³学術研究院医歯薬学域

大槻 高史¹、小椋 慧人¹、渡邊 和則¹、北松 瑞生²、溝口 玄樹¹、坂倉 彰¹、
明日 卓³、佐々木 崇了³

研究のポイント

- 核酸(RNAやDNA)の細胞内局在や細胞内動態を調べることは、細胞内に何万種類も存在する多様な天然の核酸や、人工的な核酸医薬の作用メカニズムを解明するために重要です。
- しかし、細胞内で核酸を追跡するための蛍光標識のための市販キットは高価であり、また、個体内での追跡を可能にする放射標識のための市販キットはありません。
- 本研究の蛍光／放射標識法は、簡便、低コストであり、核酸一分子あたりへの標識の付加数を制御可能であり、多様な核酸へ適用できます。今後、核酸上の狙った一塩基の標識や、生細胞内での利用への発展が期待されます。

本技術

核酸を追跡するための蛍光標識法

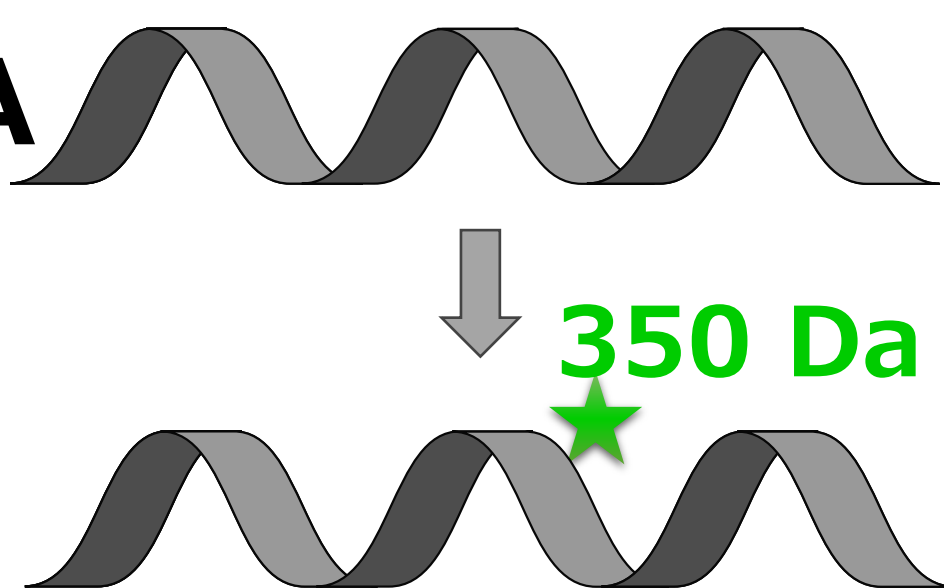
新規・アミノ基反応性
蛍光試薬



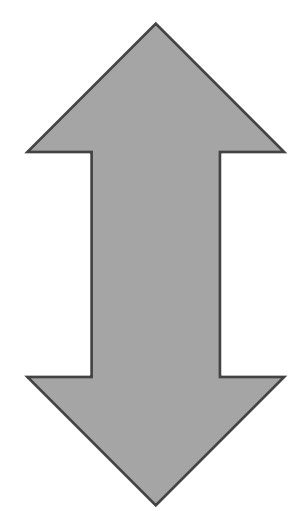
+

RNA

1 hほど反応



様々な色の蛍光基による
標識が将来的に可能

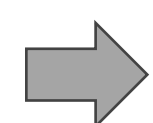


従来技術

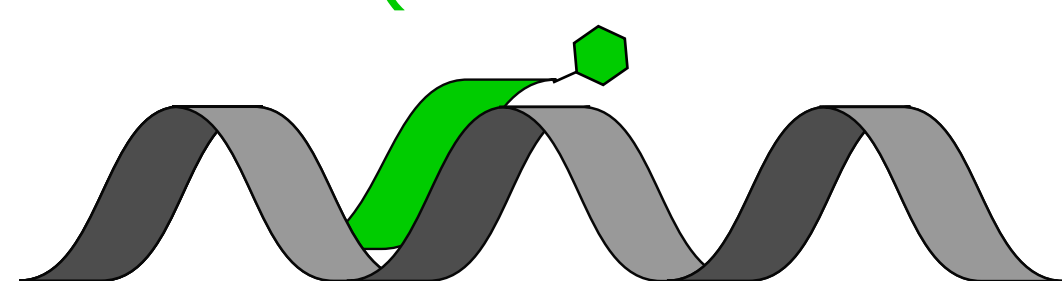
蛍光プローブで標的核酸を追跡

約7 kDa (核酸プローブ)

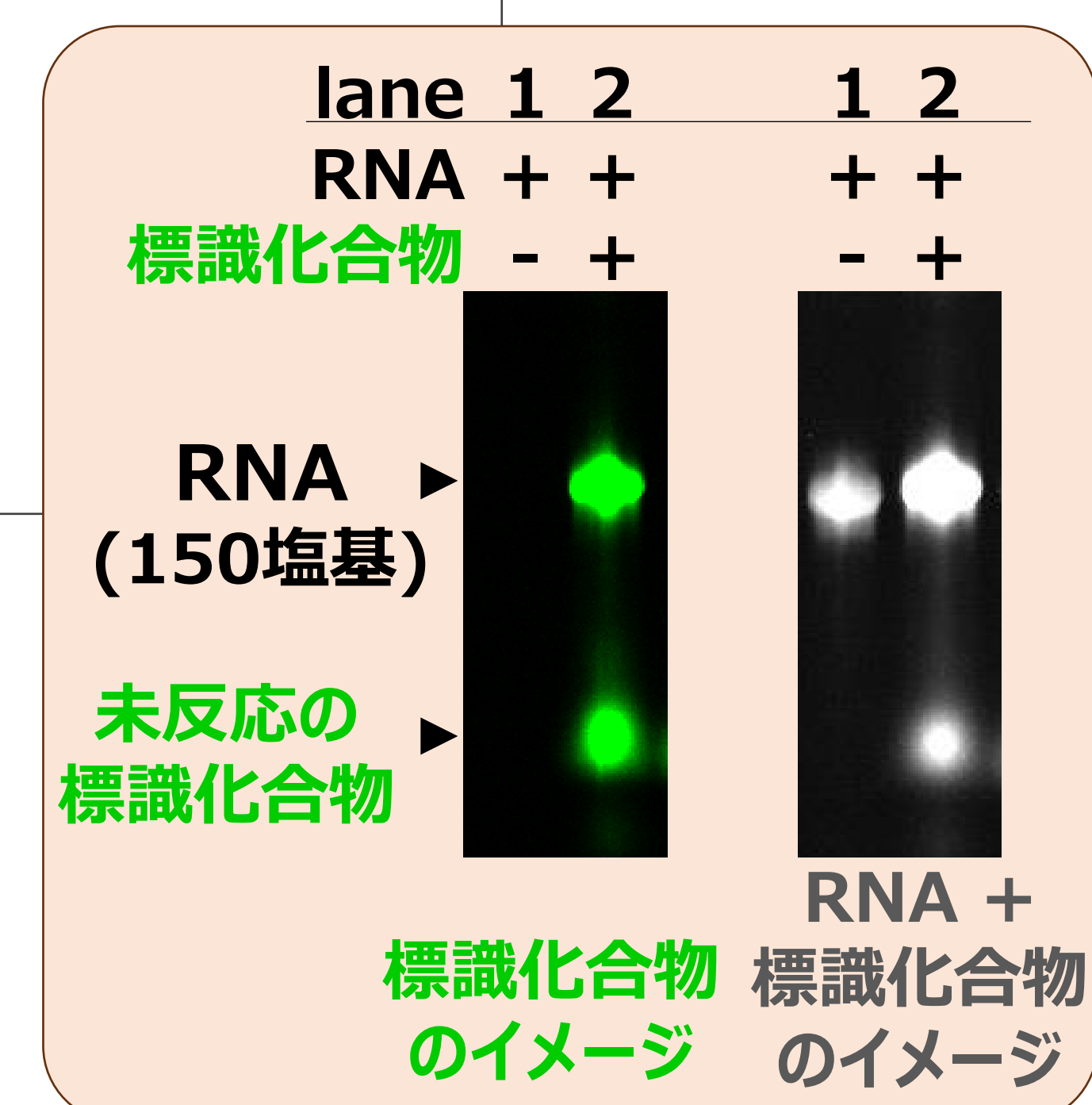
数10 kDa (タンパク質プローブ)



標的核酸の生来の挙動を
損なう可能性大



標的核酸： miRNA ~7 kDa
tRNA ~25 kDa
mRNA 100~1500 kDa



市販の蛍光標識キット

TakaraBio Label IT

→ コストが高い

核酸100 µg標識用の
キットが約15万円
(本技術なら、100 µg標識
のための材料費200円)



OKAYAMA UNIVERSITY

本技術

核酸を追跡するための放射標識法

新規・アミノ基反応性
アジド化試薬

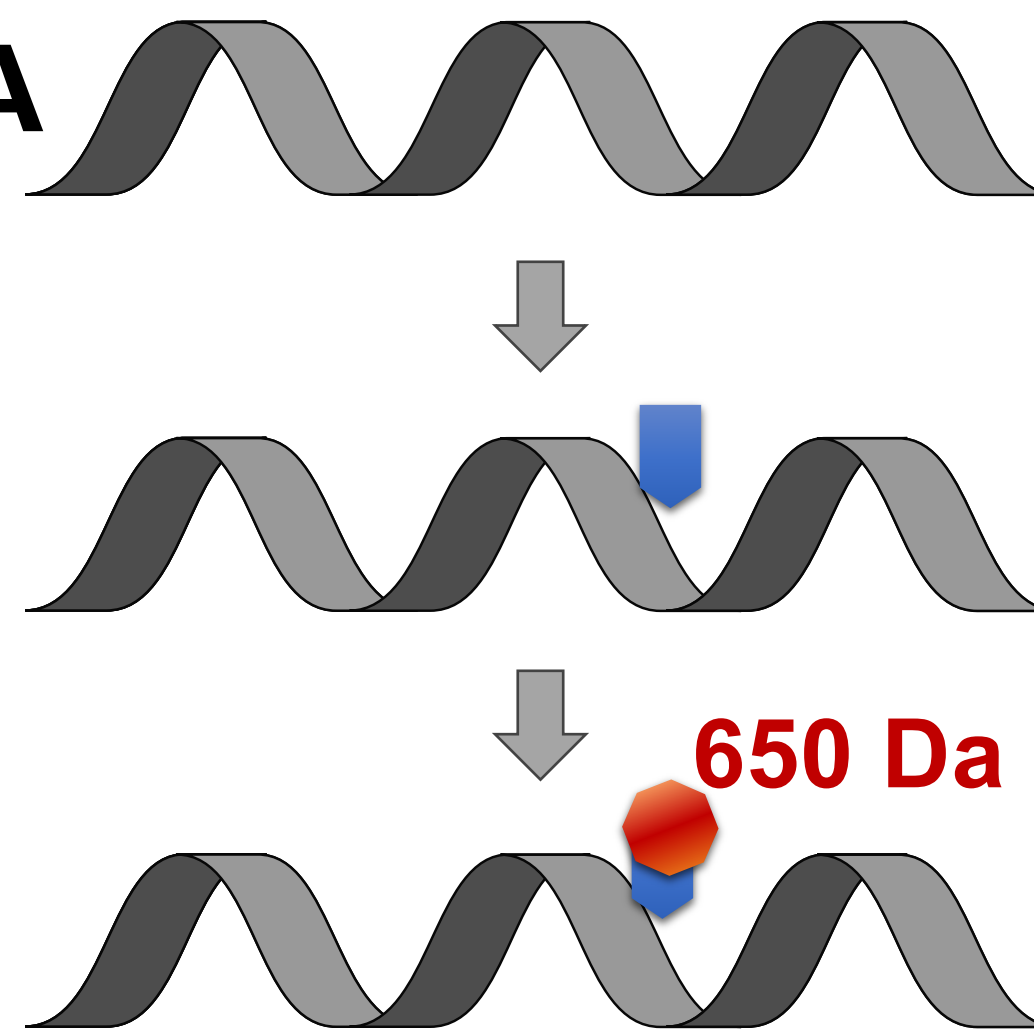
+

RNA

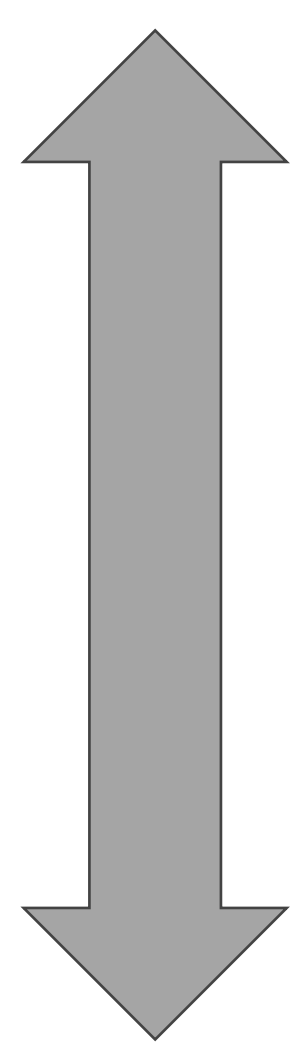
1 hほど反応

アジド反応性
放射標識化合物

+



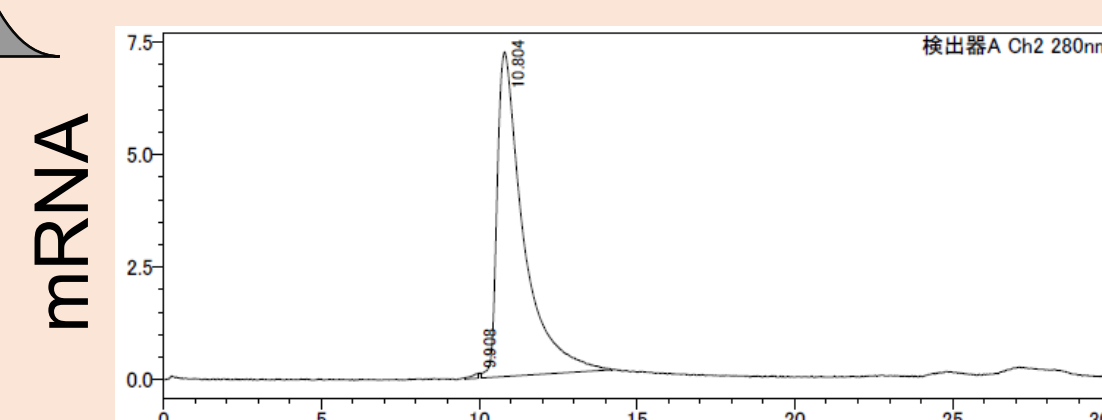
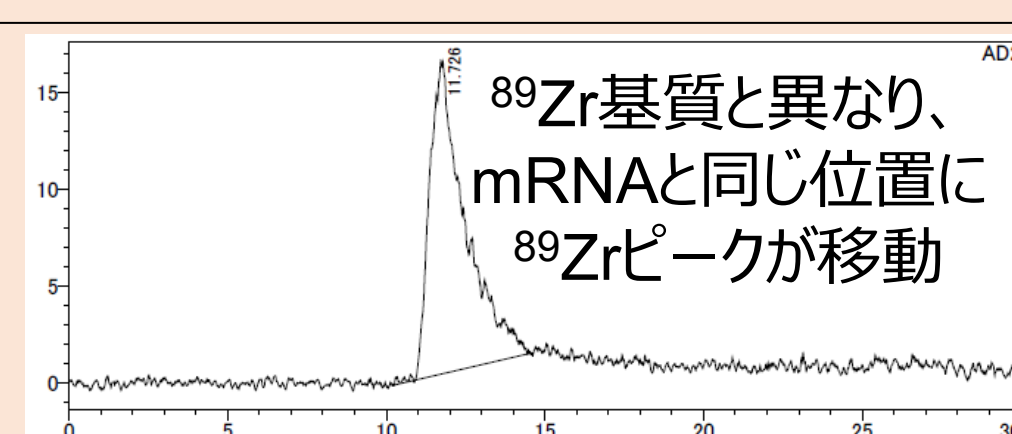
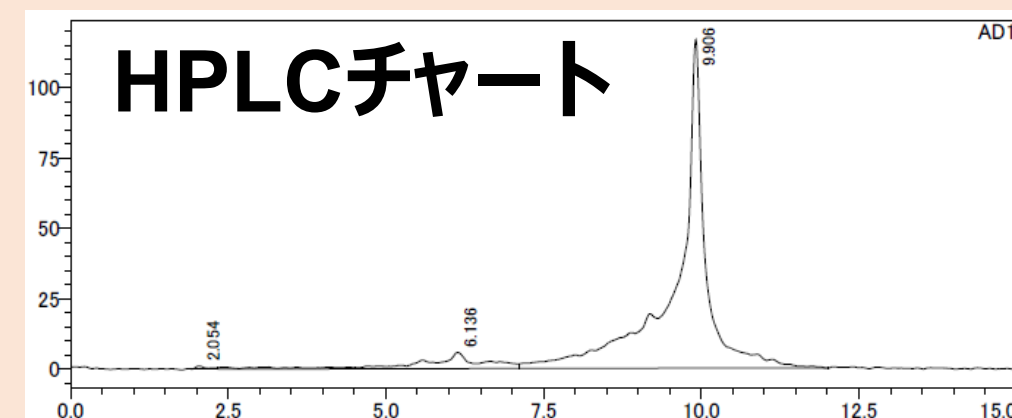
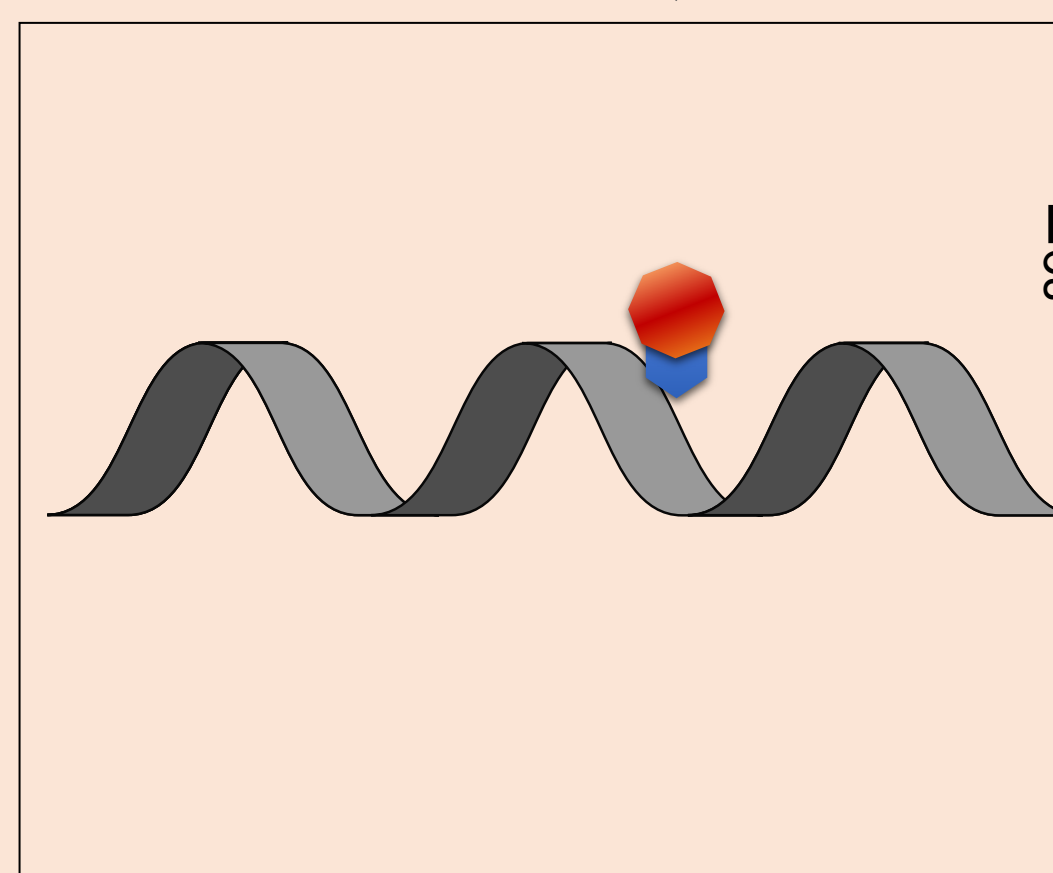
複数核種への応用も可能で
SPECTなどにも転用可能



^{89}Zr によるmRNAの放射標識

^{89}Zr 基質

+ mRNA-azide

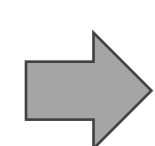
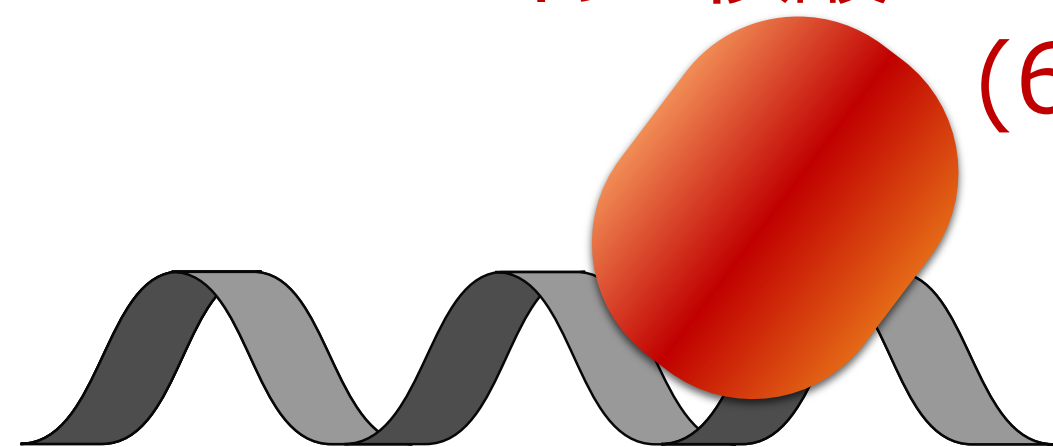


従来技術

放射性プローブで標的核酸をイメージングで追跡

mRNAのイメージングの例 Lindsay et al, Nat. Biomed. Eng. 2019

オリゴ核酸-NeutroAvidinタンパク質-DOTA- ^{64}Cu
(67 kDa程度のプローブ) を張り付ける



あまりに巨大
標的核酸の生来の挙動
を損なう可能性大

市販の放射標識キット

なし

本蛍光標識法、放射標識法の利点

- RNA、DNAなど、どんな核酸でも（塩基さえあれば人工核酸でも）標識可能
- 反応条件により、核酸 1 分子あたりの標識の付加数を制御可能
- 簡便、低コスト

欠点

- 現状、核酸上のランダムな位置が標識されてしまう
- 生細胞内の核酸は標識できない

今後

- 核酸上の狙った 1 塩基を標識させる方法、生細胞内で使える方法へと発展させる



OKAYAMA UNIVERSITY