

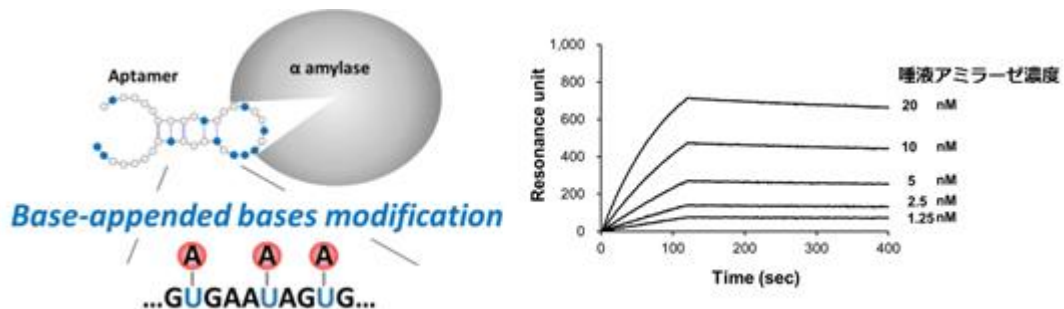
<別紙>

【研究概要】

唾液は生体に影響なく採取できる生体サンプルであり、唾液中のアミラーゼを用いてストレス状態を把握する研究が進められています。唾液中のアミラーゼは交感神経の直接神経作用とノルエピネフリンの制御との両作用で分泌され、ストレスにより唾液中のアミラーゼ濃度が増加すると言われており、糖尿病との関連も指摘されています。

これまで、天然型核酸を用いた SELEX 法（試験管内選択法）により、唾液アミラーゼに対する核酸アプタマーの創製を試みてきましたが、十分な結合特異性を示すものは得られませんでした。そこで、天然型塩基に別の塩基を修飾する新しい修飾コンセプトに基づく修飾塩基を設計・合成しました。

開発した修飾塩基を用いて様々な配列の組み合わせを調製した核酸を SELEX 法に適用したところ、唾液アミラーゼに対して解離定数が 1 nM 以下という高い結合特異性を示す核酸アプタマーの創製に成功しました。



新規修飾核酸によるアプタマーの創製

この修飾核酸アプタマーの構造について、核磁気共鳴法（NMR）や円二色性を用いた分光学的測定法で、詳細に調べたところ、同じ配列でも修飾を含まないもの（天然型核酸アプタマー）とは大きく異なるスペクトルが得られ、修飾核酸アプタマーは天然型核酸アプタマーに比べ複雑な構造をとっていることが示唆されました。天然型核酸アプタマーは唾液アミラーゼに対して全く結合を示さないことから、修飾を入れることでアプタマーの構造が異なり、唾液アミラーゼに強く結合するようになったことが判明しました。

さらに、この修飾核酸アプタマーを用いて唾液アミラーゼ検出用の簡易試験紙を作製し、実際の唾液中でアミラーゼが検出できることを確認しました。