

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02002

研究課題名(和文) 核酸アプタマー選抜系への粒子支援型キャピラリー電気泳動の導入と検証

研究課題名(英文) Introduction and evaluation of micro beads-assisted capillary electrophoresis for nucleic acid aptamer selection systems

研究代表者

吉本 敬太郎 (Yoshimoto, Keitaro)

東京大学・大学院総合文化研究科・准教授

研究者番号：60392172

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、申請者が見出したマイクロ粒子支援型キャピラリー電気泳動 MACE を、様々な標的分子を対象とする核酸アプタマー選抜実験(SELEX)系に導入し、従来有機合成化学的アプローチで改善が試みられていた SELEX 系に未だ大きな伸び代が存在すること、さらに“分析化学”的アプローチで SELEX 法の大幅な質の向上が可能であることを実証することを目的とした。その結果、MACE-SELEX 法が、可溶性蛋白質、膜タンパク質、低分子などの幅広い標的に対して機能し、高い結合親和性をもつ DNA アプタマーの獲得が可能であることを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

核酸やペプチドを骨格とした分子認識能を有する生体高分子は、創薬分野での利用が期待されている中分子に分類される薬剤モダリティである。薬剤として高い潜在能力を有する候補中分子の獲得は、分子ライブラリーの中から、進化分子工学的手法により選抜する。従来有機合成化学的アプローチで改善が試みられていた SELEX 系に未だ大きな伸び代が存在すること、さらに“分析化学”的アプローチで SELEX 法の大幅な質の向上が可能であることを実証することを目的とした。

研究成果の概要(英文)： In this research project, the micro-particle-assisted capillary electrophoresis (MACE) system discovered by the applicant was introduced into a nucleic acid aptamer selection experiment (SELEX) system for various target molecules to demonstrate that there is still a large room for growth in the SELEX system, which has been attempted to be improved using a synthetic organic chemistry approach. The objective of this study was to demonstrate that the SELEX method can be significantly improved by using an "analytical chemistry" approach. As a result, we demonstrated that the MACE-SELEX method works on a wide range of targets, including soluble proteins, membrane proteins, and small molecules, and that it is possible to obtain DNA aptamers with high binding affinity.

研究分野：核酸化学

キーワード：核酸化学 分離化学 核酸アプタマー

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生物は長い年月をかけて突然変異を蓄積後に機能を多様化し、選別を繰り返して現在の個体に到達した。ミクロな視点で観れば、生物個体の生命機能を担う生体高分子(酵素や抗体などのタンパク質、また相補配列やタンパク質と結合する核酸など)が、高度な機能をもつ分子に選別された後、蓄積して受け継がれ、現在の生体機能に到達したといえる。現在もなお選別は続いている。

近年、自然界における進化の過程「多様性の発生と選別」を模倣し、高度な機能をもつ機能性タンパク質、ペプチド、核酸の創出を目指す進化分子工学が注目されている。一例として分子認識能を有する核酸(核酸アプタマー)を選抜する実験工程(SELEX法)がある。核酸アプタマーを従来型のSELEX法で獲得する場合、一般的に選抜実験を10数ラウンド繰り返す必要があるため、核酸アプタマー獲得の時間短縮や優れた結合能をもつアプタマーに出会う確率を向上させるための改良型SELEX方が幾つか提案されている。しかし、改良アプローチのほとんどが“有機合成化学”的なもので、非天然型、すなわち人工核酸塩基を導入することで天然型の核酸塩基では発現し得ない相互作用の獲得をモチベーションとするものであった。同アプローチは親和性の高い核酸アプタマーを獲得して一定の成果を挙げていると言えるが、申請者のもつ学術的な問いは「天然型の核酸アプタマーは本当に選抜され尽くされたのか」という点にあった。

### 2. 研究の目的

核酸やペプチドを骨格とした分子認識能を有する生体高分子は、創薬分野での利用が期待されている中分子に分類される薬剤モダリティである。薬剤として高い潜在能力を有する候補中分子の獲得は、分子ライブラリーの中から、進化分子工学的手法により選抜する。

本研究課題では、申請者が見出したマイクロ粒子支援型キャピラリー電気泳動(Microbeads-Assisted Capillary Electrophoresis: MACE)を、様々な標的分子を対象とする核酸アプタマー選抜実験(SELEX)系に導入し、従来有機合成化学的アプローチで改善が試みられていたSELEX系に未だ大きな伸び代が存在すること、さらに“分析化学”的アプローチでSELEX法の大幅な質の向上が可能であることを実証することを目的とする。

### 3. 研究の方法

可溶性蛋白質、膜タンパク質、低分子、生体微粒子に対して申請者が確立したMACE-SELEX法を適用し、各標的分子に対して高い結合親和性をもつDNAアプタマー群の獲得を試みた。

### 4. 研究成果

本研究で開発したマイクロ粒子支援型キャピラリー電気泳動SELEX(microbeads-assisted capillary electrophoresis SELEX; MACE-SELEX)では、核酸ライブラリーと標的分子固定化マイクロ粒子(直径1 $\mu$ m程度)の混合溶液をCEによって直接分離する。粒子由来の光散乱由来の吸光度変化を利用した複合体の高感度な検出が可能になり、マイクロ粒子と非結合核酸ライブラリーの移動度には十分な差があるため、複合体とライブラリーの確実な分離が可能となる。

#### (1)血液凝固因子トロンピンに対する天然型DNAアプタマー群の獲得と応用

計3ラウンド後の選抜操作後の大規模シーケンス解析の結果、MACE-SELEXでは、CE-SELEXの約200倍の濃縮がかかっていることを確認した。また、表面プラズモンセンサー(SPR)によって解離定数( $K_d$ )を算出した結果、従来法の1/5-1/10ほどのラウンド数にも関わらず、既報のトロンピン結合性アプタマー(HD112, HD2213, NU17214)よりも優れた結合親和性を示す新規アプタマー配列群の同定に成功した。獲得したアプタマーの抗血液凝固活性を調べ、臨床試験に進んだHD1とNU172などの既報の抗トロンピンアプタマーと比較した。HD1はフィブリノーゲンの認識サイトであるエキソサイトIに結合し、抗凝固作用を示すことが知られている。結果として、HD1の20倍以上に凝固時間を延長するM08というアプタマーの特定に成功した。さらに、緊急時に抗凝固アプタマーの効果を抑えるために利用する、効率的な中和剤一本鎖DNAの設計を試みた。M08は、ステム/グアニン四重鎖構造という安定な高次構造をもつこと、トロンピンと強固な相互作用をすることから、単純な完全相補鎖による中和効率が低かった。そこで、トーホールド配列という短い一本鎖末端配列をアプタマーに導入し、より低濃度の中和剤で迅速なアプタマーの機能の抑制に成功した(*Molecular Therapy Nucleic Acids*, 16, 348-359 (2019))。また、M08の配列最適化と多価化によって、抗凝固活性を高めることにも成功し、短い一本鎖DNAが多価化アプタマーの抗凝固作用を極めて効率よく中和することも明らかとした(*Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, 5(5), e12503, 1-7 (2021))。

#### (2)血液凝固因子トロンピンに対する非天然型DNAアプタマー群の獲得と応用

MACE-SELEXの汎用性を、非天然塩基ライブラリーを用いて確認した。本研究ではIndole基を導入した修飾核酸ライブラリーを作製し、トロンピンに対してMACE-SELEXを行ったところ、3ラウンドでアプタマーを獲得することができた。既報の塩基修飾核酸ライブラリーを用いたSELEXの中で最も少ないラウンド数が4であり、本研究では高効率で塩基修飾核酸アプタマーを獲得できたといえる。さらに、得られたアプタマーは非常に解離が遅い性質を有し、既報の天然塩基アプタマーであるHD1, HD22, NU172と比べて解離速度が4-72倍遅い抗トロンピン修飾塩基アプタマー候補の濃縮に成功した(*Analytical Sciences*, 35(5), 585-588 (2019))。解離速度は小さなアプタマーは、アフィニティー用リガンドや抗体の代替としてウエスタンブロッティングやELISA法への応用が期待できる。しかしながら、本研究で得られたアプタマーの結合速度は遅かったため、KD値は既報の天然型アプタマ

ーと同等もしくはそれ以下であった。期待していた高い結合能は得られなかった理由として、トロンピンに対してインドール修飾が適していなかった可能性が考えられる。本研究の修飾導入法であるクリックケミストリーは、修飾の種類による PCR バイアスを受けにくいことが予想されるので、その特長を生かして修飾の種類を変えて SELEX をおこなうことで、非常に遅い解離速度と高い結合能を兼ね備えた塩基修飾核酸アプタマーを高効率に獲得できることが期待できる。

### (3) 腫瘍壊死因子 TNF $\alpha$ に対する天然型 DNA アプタマー群の獲得と応用

腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) は、炎症反応を活性化させる役割を持つ炎症性サイトカインの一つである。TNF $\alpha$  は細胞増殖、ネクローシス、アポトーシスなど正常な細胞機能に必要な恒常性維持に深く関与しているため、TNF $\alpha$  の異常による過剰なシグナル伝達は疾患の原因となり、炎症性疾患や神経変性疾患などの様々な病態を引き起こす。そのため、TNF $\alpha$  は薬剤のターゲットとして選択され、これまで多くの薬剤が開発されてきた。その中でも、TNF $\alpha$  阻害薬として機能する抗 TNF $\alpha$  抗体製剤が炎症性疾患に有効であることが医学的に示され、日本では 5 種の抗体製剤が承認されている。

本研究では、MACE-SELEX 法で獲得された TNF- $\alpha$  結合性 DNA アプタマーである Apt14 の阻害機序の推定を行った後、TNF- $\alpha$  に結合する最小配列の同定を行なった。また、Apt14 を用いたホモ・ヘテロ二価化アプタマーを設計した後、細胞実験を用いて TNF- $\alpha$  阻害効果の評価を行った。その結果、短鎖化を行わずに他のアプタマーと二価化を行うことで阻害効果の向上が確認され、更なる機能向上ができる可能性を見出した (*ChemBioChem*, 22, 3341-3347 (2021)). さらに、最も高い TNF 阻害活性を示した R4 apt14 に S 化修飾を施すことで、結合能とヌクレアーゼ耐性が大幅に改善され、アプタマー製剤としての高い潜在能力を有する DNA アプタマーの構築に成功した。

### (4) 癌マーカタンパク質に対する DNA アプタマー群の獲得

癌マーカタンパク質であるタンパク質 A とタンパク質 B に対して MACE-SELEX を適用したところ、各標的分子に対して 5-7 個の DNA アプタマーの獲得に成功した。結合親和性は  $K_d$  値として nM オーダーであり、既報のアプタマーよりも高い結合親和性を示すアプタマーの獲得に成功した (特許出願予定中のため標的分子の名称は隠してあります)。

### (5) 構造変化型シグナリングアプタマーの選抜

アプタマーがターゲット分子と結合した際に大きな構造変化を起こすという特長を活かすことで、常時発蛍光型のシグナル分子プローブとは異なり、ターゲットと結合したときのみ、蛍光強度が変化する分子プローブの構築が可能である。このような蛍光検出能を有する核酸アプタマー (シグナリングアプタマー) が、近年、バイオセンシング分野におけるプローブとして注目されている。シグナリングアプタマーは核酸アプタマーの塩基配列上の適切な箇所の一つまたは二つの蛍光分子を修飾したものであり、標的分子との結合に伴う構造変化を蛍光シグナルに変換するプローブである。同プローブ分子を設計する際、まず SELEX により特異性、選択性の高い候補配列を獲得する。得られたアプタマーの塩基配列から二次構造を予測し、結合能の評価やターゲット分子と結合する部位を同定する。シグナリングアプタマー化するには、用いる色素の検討をして修飾する部位をひとつひとつ試していく必要がある。さらに、より大きな構造変化を起こし高性能なシグナリングアプタマーにするために、相補配列を添加したり、補助 DNA を組み込んだりして配列を最適化していく必要がある。した後に相補的な配列をアプタマー配列に組み込む、または補助 DNA として添加する。本工程で得たアプタマーは大きな構造変化が期待できるが、結合部位が覆われるため結合能が低下する点、さらに結合部位の同定や相補配列の長さの最適化をアプタマーごとに行うために設計から獲得までに多大な労力と時間を要する点に課題がある。

本研究では、「構造変化型核酸アプタマー」に着目し、効率よくシグナリングアプタマーを獲得する手法が確立された。CD スペクトル測定と融解温度測定を行うことで、SELEX で得られた多数の候補配列群の中から構造変化型の核酸アプタマーを抽出することに成功した。その中でも、特にグアニン四重鎖構造に着目することで三次構造の推測がしやすく、蛍光色素の修飾部位を用意に決定することができた。本研究では、最も安定性の低かった Apt04 の両末端に FAM と BHQ を修飾するだけで、シグナリングアプタマー化することに成功した。今後、獲得したシグナリングアプタマーを用いてのイメージングや、本手法を他のセレクションで獲得したアプタマーにも適用できるかどうかの調査を行っていく必要があると考えている (*Analytical Sciences*, 35(1), 113 (2019)).

### (6) 構造変化型シグナリング RNA アプタマーの開発と標的 RNA 検出

RNA は多様な細胞機能を担う生体高分子である。癌やウイルス性疾患では特異的な RNA が高発現しており、内在性 RNA の選択的検出法の開発は細胞機能解明や疾患診断を行う上で重要な研究課題である。代表的な RNA 検出法のモレキュラービーコン法は高い時空間分解能で内在性 RNA を検出できるが、プローブ設計が困難であり、複数の蛍光色素の修飾を要するため高価であるという課題を持つ。

本研究では、迅速かつ安価な RNA 検出法構築を目指し、GFP 蛍光団由来の小分子 DFHBI-1T と結合し蛍光を発する RNA アプタマー (Broccoli) の利用を着想した。具体的には、標的 RNA 結合時のみ Broccoli の立体構造が誘起され、DFHBI-1T への結合能が回復する RNA プローブの作製を試みた。標的 RNA 応答機構導入のため Broccoli の立体構造解析を行ったところ、Broccoli はグアニン四重鎖構造を挟んでステムループ構造とステム構造を有しており、末端側のステム構造形成が、DFHBI-1T 認識部位の安定化に寄与していることが示唆された。そこで、末端側のステム塩基対の一部を欠損させ、DFHBI-1T を添加しても蛍光を発しない Broccoli の変異配列を作製した。本変異配列に標的 RNA 認識配列を融合、ステム構造の最適化を行い、Broccoli プローブ配列とした。蛍光測定の結果、標的

RNA 濃度依存的に蛍光強度が上昇する現象が観測され、標的 RNA を添加しない場合と比べ最大 43 倍 蛍光強度が増大し、40 nM 程度の標的 RNA を検出可能なプローブ開発に成功した。蛍光強度の回復は、標的 RNA との相補的結合により Broccoli の高次構造が再構築されることに由来していると考えられている。さらに、標的 RNA 認識配列を変更することで多様な疾患マーカー RNA 配列を検出可能であった (RNA, 25, 590-599 (2019).)。本検出法では、既存の蛍光色素修飾型 RNA 検出プローブと比較し、簡便かつ安価に RNA 検出プローブを作製できる。また高い応答能及び感度を有し、疾患診断への貢献が期待できる。

#### (7) 低分子抗がん剤メトトレキサートに結合する DNA アプタマー群の獲得

CE-SELEX 法では、非結合性 ssDNA と標的分子に結合した ssDNA を数十  $\mu\text{m}$  径のキャピラリー内の溶液における移動速度の違いを用いて分離する。CE は、キャピラリー内で複合体に対して解離方向の推進力を与えるため、非結合性 ssDNA を効率良く排除し、結合性 ssDNA を選抜することができる分離手法である。しかし、紫外可視吸収を検出原理とする CE 分離の場合、光路長となるキャピラリー径が非常に小さいため、標的分子/ssDNA 複合体のピークの検出感度が低く、特に初期のラウンドにおける複合体ピークの検出は難しい。CE-SELEX 法を利用してこれまでに低分子化合物、ペプチド、タンパク質等、様々なサイズの標的に対するアプタマーが獲得されてきたが、低分子化合物を標的としたものは 2 件しか報告が無い。CE-SELEX で低分子化合物結合性アプタマーの選抜が難しい理由として、上述した検出感度の問題に加え、従来の CE 分離では低分子化合物/ssDNA 複合体と非結合性 ssDNA の電気泳動移動度の差が非常に小さく、複合体のみの分離が極めて困難であることが挙げられる。

本研究では、モデル標的分子として抗悪性腫瘍剤で低分子量化合物メトトレキサート (分子量 454.44 g/mol) を選択し、MACE-SELEX を行った。本研究では、低分子量化合物メトトレキサートを標的分子として MACE-SELEX を行い、選抜されたアプタマー候補配列とメトトレキサートの相互作用を ITC で評価した。その結果、3 ラウンドという低い選抜工程数にもかかわらず、メトトレキサート結合性アプタマーを獲得することに成功し、さらに既報のメトトレキサート結合性アプタマーよりも 10 倍結合能が高いアプタマーであることがわかった。さらに、同アプタマーは、メトトレキサートと類似構造を有する葉酸に対して結合能を示さなかったことから、交差反応性が低く、メトトレキサートに選択的に結合するアプタマーであることが示唆された。

以上の成果から、MACE-SELEX 法が、可溶性蛋白質、膜タンパク質、低分子などの幅広い標的に対して機能し、高い結合親和性をもつ DNA アプタマーの獲得が可能であることを明らかとした。このほか、プロテオリポソームやエクソソームなどの生体微粒子に MACE 分離が適用可能であることを見出した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yoshitomi Toru, Hayashi Misako, Oguro Takumi, Kimura Keiko, Wayama Fumiya, Furusho Hitoshi, Yoshimoto Keitaro	4. 巻 19
2. 論文標題 Binding and Structural Properties of DNA Aptamers with VEGF-A-Mimic Activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Therapy - Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 1145 ~ 1152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtn.2019.12.034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yoshitomi Toru, Wakui Koji, Miyakawa Masato, Yoshimoto Keitaro	4. 巻 -
2. 論文標題 Design Strategy of Short Antidote Sequence for Bivalent aptamer: Rapid Neutralization of High Anticoagulant Thrombin-Binding DNA Aptamer Linked M08 with HD22	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 WAKUI Koji, ABE Akihito, YOSHITOMI Toru, FURUSHO Hitoshi, YOSHIMOTO Keitaro	4. 巻 35
2. 論文標題 High Enrichment of Nucleobase-modified Aptamers in Early Selection Rounds by Microbeads-assisted Capillary Electrophoresis SELEX	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 585 ~ 588
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.18SDN04	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Wakui Koji, Yoshitomi Toru, Yamaguchi Akane, Tsuchida Maho, Saito Shingo, Shibukawa Masami, Furusho Hitoshi, Yoshimoto Keitaro	4. 巻 16
2. 論文標題 Rapidly Neutralizable and Highly Anticoagulant Thrombin-Binding DNA Aptamer Discovered by MACE SELEX	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Therapy - Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 348 ~ 359
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtn.2019.03.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Furuhata Yuichi, Kobayashi Mizuki, Maruyama Ryo, Sato Yusuke, Makino Kurumi, Michiue Tatsuo, Yui Hiroharu, Nishizawa Seiichi, Yoshimoto Keitaro	4. 巻 25
2. 論文標題 Programmable RNA detection with a fluorescent RNA aptamer using optimized three-way junction formation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 RNA	6. 最初と最後の頁 590 ~ 599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1261/rna.069062.118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 YOSHITOMI Toru, WAYAMA Fumiya, KIMURA Keiko, WAKUI Koji, FURUSHO Hitoshi, YOSHIMOTO Keitaro	4. 巻 35
2. 論文標題 Screening of DNA Signaling Aptamer from Multiple Candidates Obtained from SELEX with Next-generation Sequencing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 113 ~ 116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.18SDN05	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maruyama Ryo, Makino Kurumi, Yoshitomi Toru, Yui Hiroharu, Furusho Hitoshi, Yoshimoto Keitaro	4. 巻 143
2. 論文標題 Estimation of G-quartet-forming guanines in parallel-type G-quadruplexes by optical spectroscopy measurements of their single-nucleobase substitution sequences	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Analyst	6. 最初と最後の頁 4022 ~ 4026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8AN01131A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 12件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 吉本 敬太郎
2. 発表標題 新規な分離科学を取り入れた分子進化工学的手法の構築 -同手法で獲得したアンタゴニスト型核酸分子の機能-
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉本 敬太郎
2. 発表標題 血液凝固因子を標的とする中和可能な核酸アプタマーの設計
3. 学会等名 第69回高分子討論会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉本 敬太郎
2. 発表標題 Anti-coagulant activity of DNA aptamer and its neutralization by antidote single stranded DNA
3. 学会等名 第42回日本血栓止血学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉本敬太郎
2. 発表標題 toehold 導入型核酸アプタマーによる中和制御可能な抗凝固製剤
3. 学会等名 日本薬学会第139年会 一般シンポジウム “生体分子骨格リデザインで挑む次世代創薬研究”，2019年3月22日，（幕張メッセ，幕張，千葉）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉本敬太郎
2. 発表標題 MACE/NGS-SELEXで発見されたトロンピンアプタマーの抗凝固活性と中和
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会特別企画 “核酸分析・機能創出の新展開”，2019年3月19日，（甲南大学，神戸，兵庫）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉本敬太郎
2. 発表標題 Functions of DNA aptamers discovered by improved SELEX
3. 学会等名 3rd International symposium on Nanoarchitectonics for Mechanobiology, March 8th 2019 (NIMS, Tsukuba, Ibaraki) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉本敬太郎
2. 発表標題 マイクロ粒子支援型キャピラリー電気泳動 SELEX で獲得した抗トロンピンアプタマーの抗凝固能
3. 学会等名 第38回 キャピラリー電気泳動シンポジウム (SCE2018), 2018年12月6日 (I-siteなんば 大阪府立大学, 大阪, 大阪) (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉本敬太郎
2. 発表標題 分子標的薬のスクリーニング実験における分離・洗浄工程の重要性 ~ 核酸アプタマースクリーニングを例に~
3. 学会等名 甲南大学 Science Live Ticket Series Part 36, 2018年11月20日 (甲南大学, 神戸, 兵庫) (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉本敬太郎
2. 発表標題 DNAアプタマー選抜における分離・洗浄工程の重要性: 微粒子導入型キャピラリー電気泳動の導入効果
3. 学会等名 日本分析化学会第67年会, 2018年7月30日 (東京大学生産技術研究所, 駒場, 東京) (招待講演)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 吉本敬太郎
2. 発表標題 分子認識型核酸（核酸アプタマー）選抜実験における分離・洗浄工程の重要性
3. 学会等名 平成30年度第1回奨励会特別研究会，2018年7月30日（東京大学生産技術研究所，駒場，東京）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉本敬太郎
2. 発表標題 核酸アプタマー選抜実験系（SELEX）における分離・洗浄工程の重要性
3. 学会等名 第2回中分子×IT×創薬ビジネス研究会，2018年5月31日（川崎市産業振興会館，川崎，神奈川）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉本敬太郎
2. 発表標題 MACE-SELEX により選抜された抗トロンピン DNA アプタマーの抗凝固作用
3. 学会等名 バイオメディカル研究部門セミナー，2018年1月30日（産業技術総合研究所，つくば，茨城）（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 解毒剤	発明者 吉本、吉富、和久 井、古性	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-231878	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 核酸アプタマー	発明者 吉本、吉富、和久 井、古性、齋藤、宮 内	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/2201	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計4件

産業財産権の名称 核酸アダプターをスクリーニングするための方法	発明者 吉本、和久井、古性	権利者 東京大学・株式会社リンクバイオ
産業財産権の種類、番号 特許、特許第6994198号	取得年 2022年	国内・外国の別 国内
産業財産権の名称 核酸アダプターをスクリーニングするための方法	発明者 吉本、和久井、古性	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、US10975370(米国)	取得年 2021年	国内・外国の別 外国
産業財産権の名称 核酸アダプターをスクリーニングするための方法	発明者 吉本、和久井、古性	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、ZL201780007417.2(中国)	取得年 2021年	国内・外国の別 外国
産業財産権の名称 核酸アダプターをスクリーニングするための方法	発明者 吉本、和久井、古性	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、I731028(台湾)	取得年 2021年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

<p>リンクバイオ、薬剤候補スクリーニングを「見える化」し効率アップ  <a href="https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/column/16/021500017/042100238/">https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/column/16/021500017/042100238/</a>          起業したスタートアップに関する記事が、日経バイオに掲載された。</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	吉富 徹  (Yoshitai Toru)  (20585799)	国立研究開発法人物質・材料研究機構・機能性材料研究拠点・主任研究員   (82108)	
研究分担者	齋藤 伸吾  (Saito Shingo)  (60343018)	埼玉大学・理工学研究科・教授   (12401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------