

配列自由度を向上させるDNA接着末端形成技術

～用途に応じて3つの技術を選択可能～

Flexible DNA sticky end formation technology

～ Three technologies can be selected depending on the application ~

発明のポイント

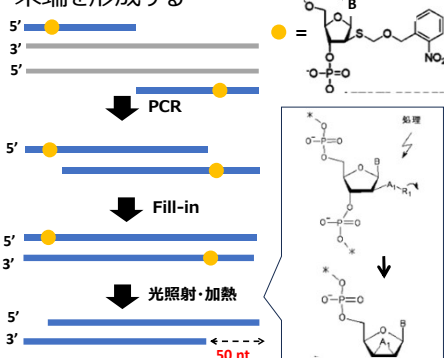
遺伝子組み換えベクターを作成する際等に必要な、**配列設計の自由度・DNA連結反応の効率を向上**させることができる、**接着末端形成技術**を3通り開発（発明①、②、③）。
化学的手法のため、一端のみ接着末端にしたり、直鎖DNAに連結することができる。

	接着端長	配列自由度	コスト	連結効率	特徴
従来法（酵素：BsaI）	4 nt	△	◎	○	Golden Gate Assembly
従来法（化学的手法：5-ethynyl U）	～50 nt	△	○	○	切断条件が過酷
発明①切断プライマー	～50 nt	○	○	○	in vivoで切断可
発明②ストッププライマー	～150 nt	◎	○	◎	ゲノム合成用の長いDNAの連結も可能
発明③銀ナノ粒子処理	～50 nt	○	△	○	DNAの損傷が少なく、収率が高い

発明の概要

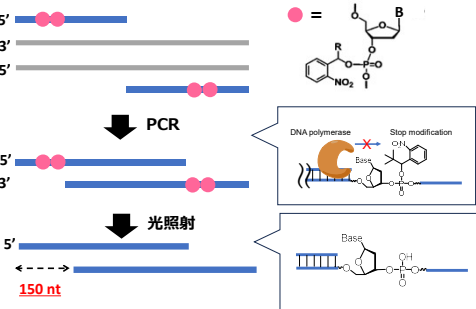
①切断プライマー

イオウ、セレン基を介した光脱離基で2'位を置換した核酸を含むプライマー（切断プライマー）でPCRし、Fill-in反応、光照射脱保護及び切断することで接着末端を形成する



②ストッププライマー

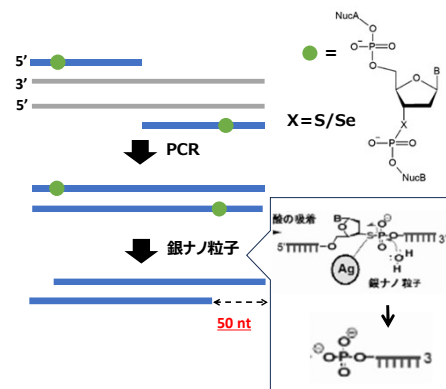
リン酸基を介した光脱離基で修飾した核酸を含むプライマー（ストッププライマー）でPCRし、光照射で脱保護することで接着末端を形成する



長い接着端を作成できるため連結効率が高い

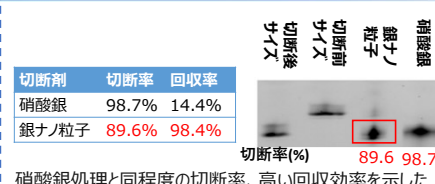
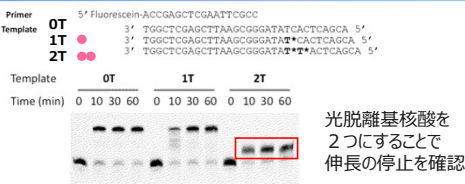
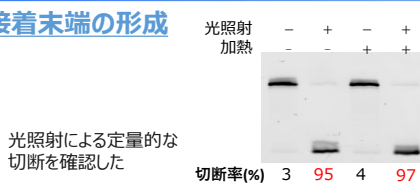
③銀ナノ粒子処理

チオ化オリゴ核酸を含んだプライマーを用いて増幅させたPCR産物を銀ナノ粒子で切断して接着末端を形成する



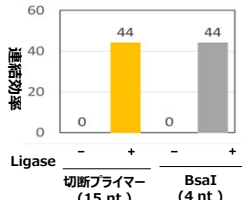
従来技術との比較・優位性

接着末端の形成

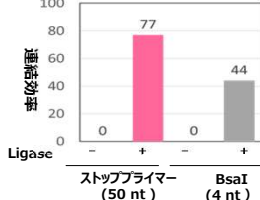


連結効率

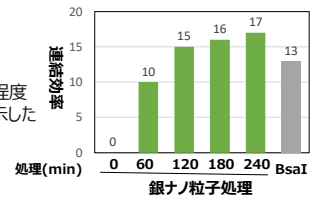
制限酵素と同程度の連結効率を示した



制限酵素と比較し高い連結効率を示した



制限酵素と同程度の連結効率を示した



想定される用途

- ◎ 合成スケール・反応効率に優れた、酵素反応に代わる新規化学的DNA合成ツール（遺伝子組換え製品のためのベクター作製、ゲノム合成に使用可能）

代表発明者：

阿部 洋
(名古屋大学・理学研究科)

ライセンス可能な特許

発明の名称：プライマー及びこれを用いた二本鎖DNAの製造装置並びに二本鎖DNAの製造方法,他

国際公開番号：WO2021/020561、WO2021/020562、WO2023/54391

連絡先：JST知的財産マネジメント推進部 ライセンス担当

電話) 03-5214-8486

メール) license@jst.go.jp

URL) www.jst.go.jp/chizai/

