

非酵素的核酸鎖連結法

Non-enzymatic oligonucleotide ligation method

- 核酸鎖を酵素反応に依らず、有機化学的手法により連結させる技術を開発
⇒ 反復配列・高次構造形成配列のDNAの合成やmRNAの化学合成が可能

【技術の概要】

近年、ゲノムや遺伝子情報の蓄積および更なる解明に関する社会的ニーズを背景とし、遺伝子や機能性タンパク質に関する製品・サービスへの需要が加速度的に高まっている。一方、これらの需要に対する主要な供給技術は酵素反応に基づくものであるため、製造可能な製品が限定されている。また、高コストでの製造を余儀なくされている事例も多い。

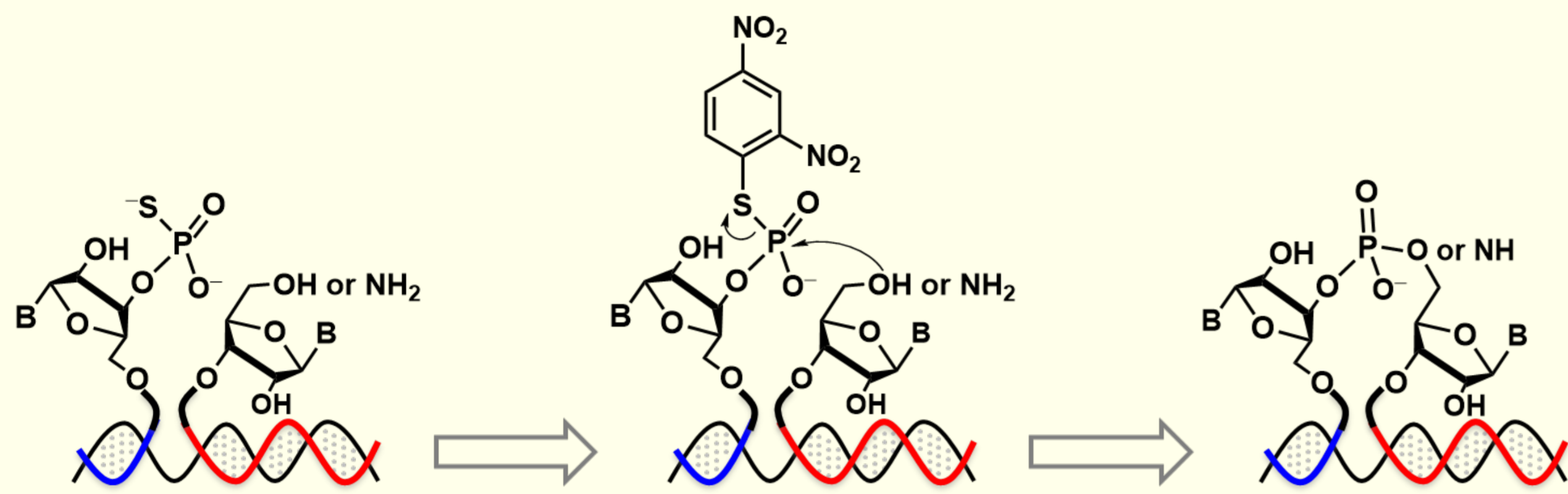
我々は、上記の問題を解決するため、ホスホロチオエート基を有する核酸鎖と求電子剤を用いることを特徴とする有機化学的な核酸鎖連結法を開発した。

注) 本技術の詳細については右記URLをご参照ください

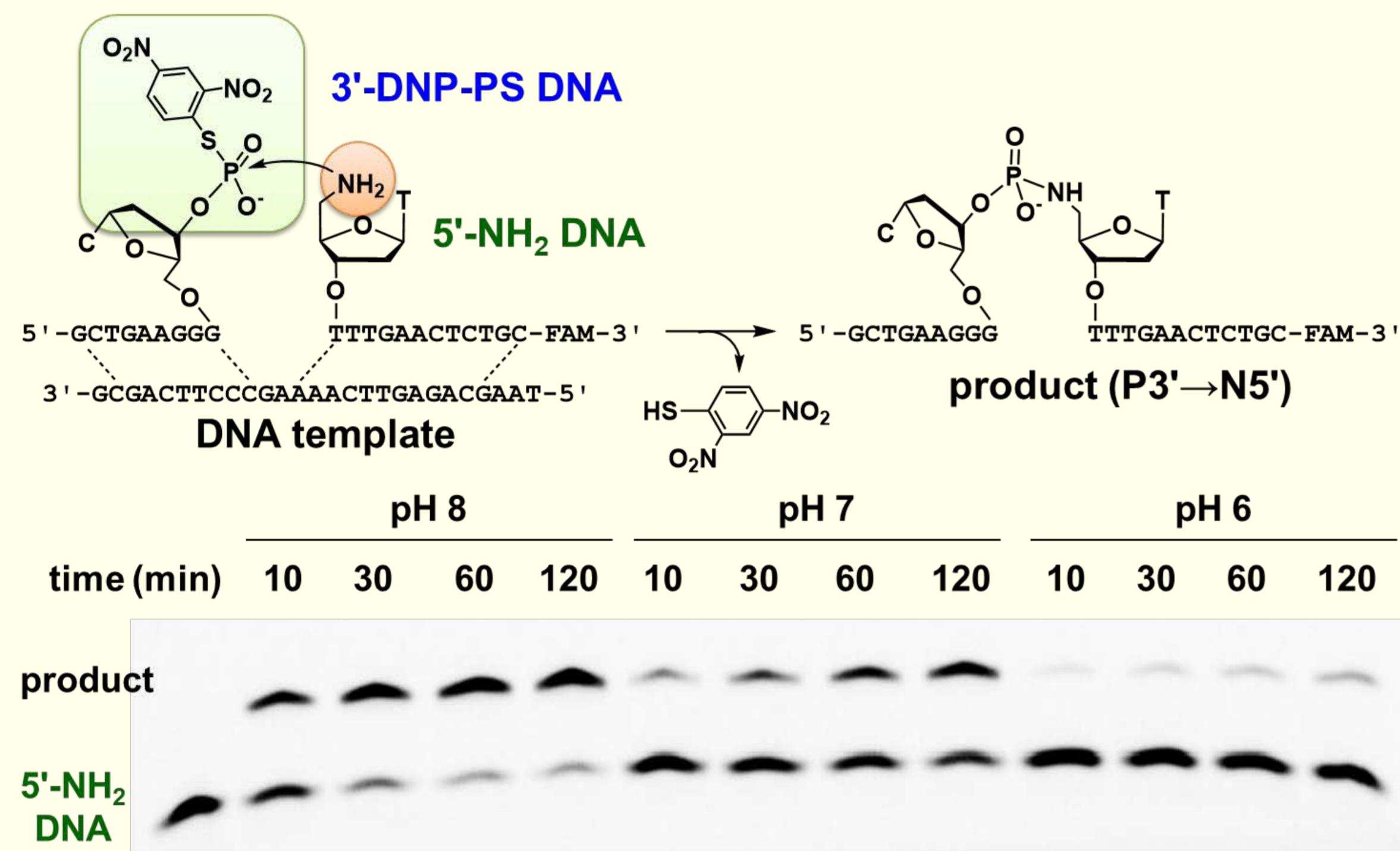
<http://www.jst.go.jp/chizai/news/biojapan2018.html>

【当該技術の核となる反応】

求電子剤によるホスホロチオエート基の活性化を利用したケミカルライゲーション反応

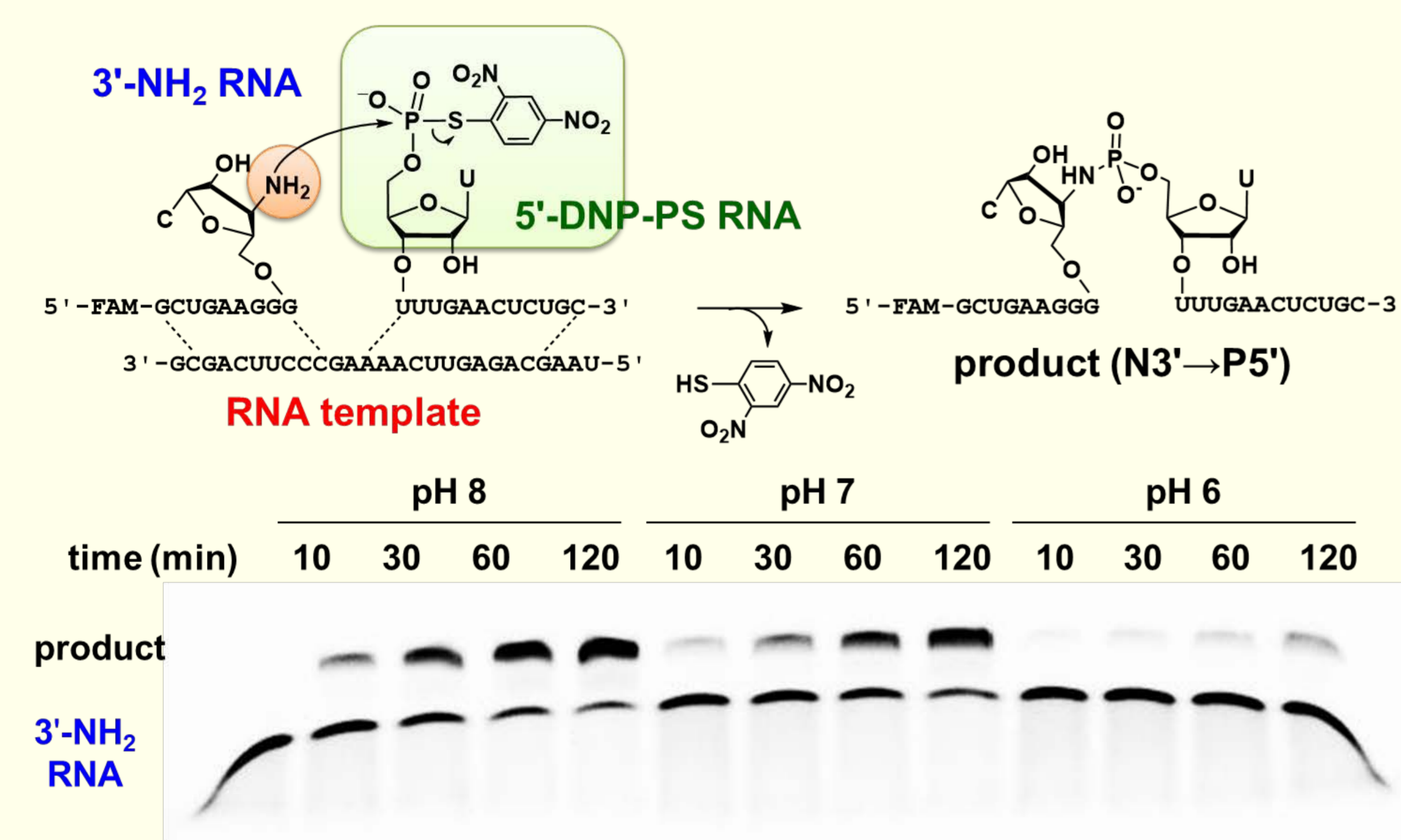


＜DNP-PS DNA と 5'-NH₂ DNA とのライゲーション反応＞



Reactions were performed in a 25 μ L reaction volume, containing each 4 μ M of DNP-PS DNA, 2 μ M of 5'-NH₂ DNA and 4 μ M of template DNA in 20 mM phosphate buffer, 10 mM MgCl₂ at 25 °C. The reaction was analyzed by electrophoresis on 15% denature polyacrylamide gel (5.6 M urea, 25% formamide, 1 x TBE) and the gels were quantitated by ChemiDoc™ XRS+ system (Bio-Rad).

＜DNP-PS RNA と 3'-NH₂ RNA とのライゲーション反応＞



Reactions were performed in a 25 μ L reaction volume, containing each 4 μ M of DNP-PS RNA, 2 μ M of 3'-NH₂ RNA and 4 μ M of template RNA in 20 mM phosphate buffer, 10 mM MgCl₂ at 25 °C. The reaction was analyzed by electrophoresis on 15% denature polyacrylamide gel (5.6 M urea, 25% formamide, 1 x TBE) and the gels were quantitated by ChemiDoc™ XRS+ system (Bio-Rad).

【想定される用途】

- 核酸・タンパク質の安価製造(自社製品・製造受託)、遺伝子の機能解明、新規医薬の研究開発

【ライセンス可能な特許】

- 非酵素的核酸鎖結合方法 (WO2016031247)

代表発明者:

阿部 洋
名古屋大学大学院 理学研究科
物質理学専攻(化学系) 教授

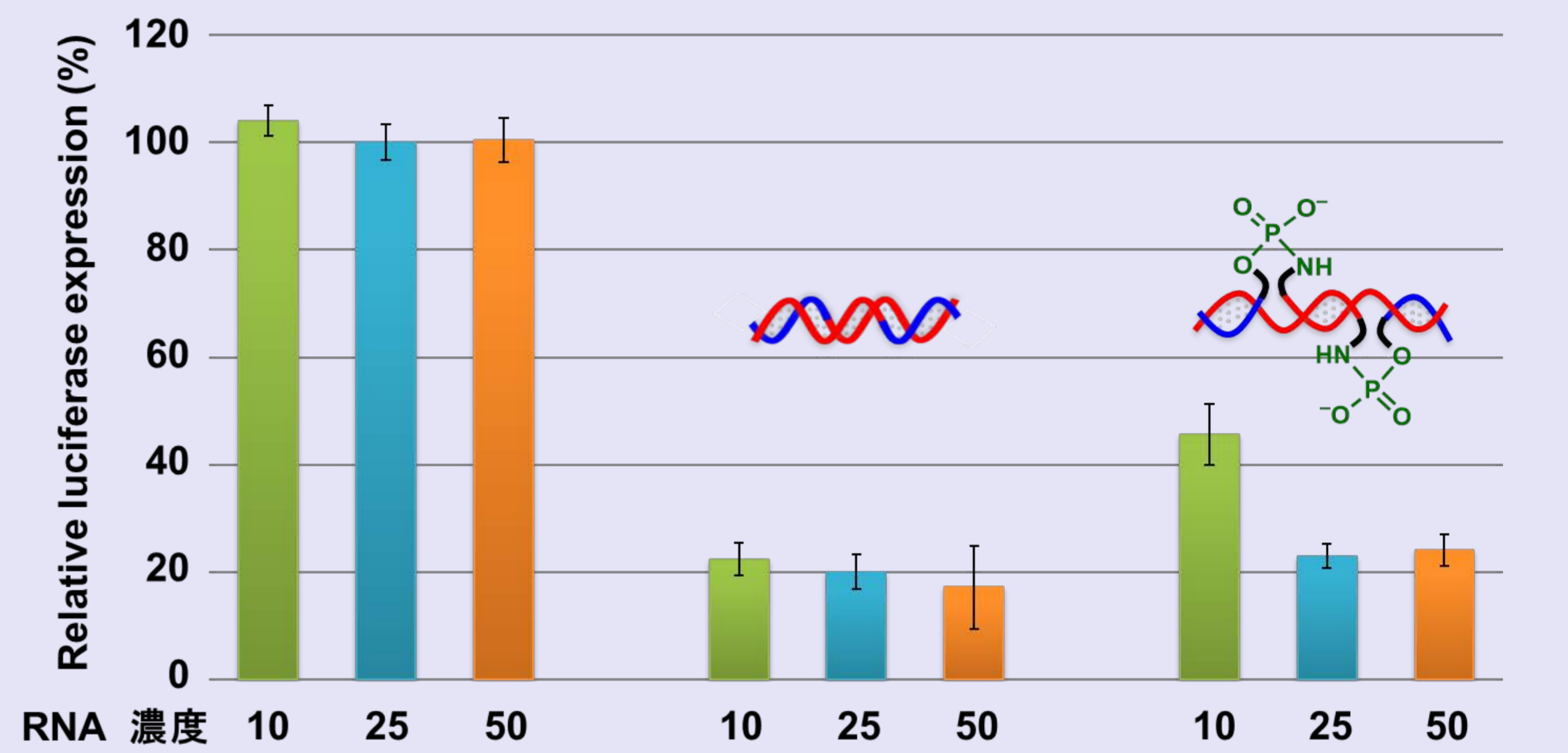
連絡先 : JST知的財産マネジメント推進部
ライセンス担当

phone: +81-3-5214-8486

e-mail: license@jst.go.jp

【当該技術の応用】

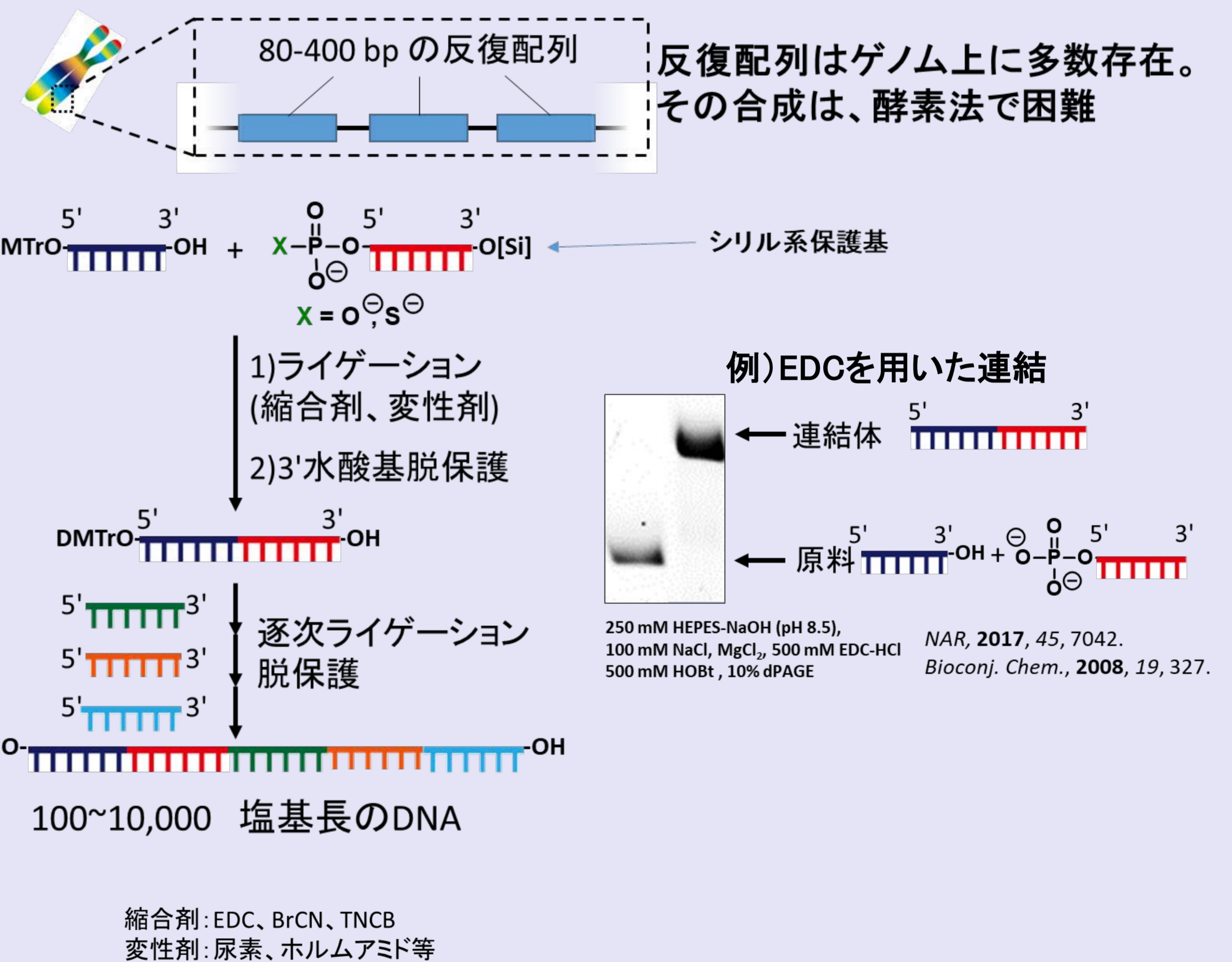
＜ホスホロアミデート型 siRNAによるRNA干渉＞



One day before transfection, Stably luciferase expressing HeLa cells were plated in 96-well plates (4 x 10³ cells/100 μ L per well). Transfection of RNAs were carried out with Lipofectamine 2000 as described by the manufacturer for adherent cell lines. Luciferase expression was subsequently monitored with the Luciferase Assay System (Promega) and BCA protein assay was performed to adjust luciferase activity with Pierce® BCA™ Protein Assay Kit

従来技術で作成したsiRNAと同等の効果

＜反復配列の連結＞



反復配列・高次構造形成配列の合成が可能