

## 平成 19 年度顕在化ステージ 事後評価報告書

シーズ顕在化プロデューサー所属機関名:株式会社ファスマック

研究リーダー所属機関名 :東京工業大学

課題名:天然塩基を凌ぐ塩基識別能をもつ人工塩基を活用した遺伝子解析システムの開発

### 1. 顕在化ステージの目的

現状の化学的アプローチによる遺伝子解析システムは天然型塩基を用いている。しかし、この天然型塩基を使っている限り、G-T,A-G ミスマッチ塩基対形成が起こりやすく、このエラーを回避するために統計学的な処理をしているがそれでも遺伝子発現を正確に解析することはできない。

本提案ではこの問題を根本的に解決するために、天然型塩基を凌ぐ塩基識別能をもつ人工塩基を活用する遺伝子解析システムを開拓する。すなわち、このシステム構成に必須なツールである合成ユニットの大量合成法の確立と、この人工塩基を含む DNA オリゴマーの合成供給システムの確立を目的とするものである。

### 2. 成果の概要 ※研究実施者の完了報告書より抜粋

#### ○大学の研究成果

保護 DNA プローブ法を遺伝子診断のツールとして活用するために、まずは、修飾を施された人工塩基をもつデオキシヌクレオシドのモノマー合成ユニットの大量合成法の確立が必要である。とくに、これまで、クロマトグラフィーに頼って単離がなされてきた重要な鍵合成中間体を有機溶媒による単純な結晶化で精製する方法を徹底的に検討した結果、3 種類のアデニン、グアニン、チミン塩基を人工改変した保護型塩基をもつ鍵合成中間体のそれぞれを結晶化あるいは再沈殿法により、簡便にかつ大量に得る実用的な単離法を確立することができた。

#### ○企業の研究成果

本研究課題ではチミンの人工塩基ホモログである2-チオデオキシチミン(2sT)を用いて、天然塩基との塩基認識能力の比較検証を行った。検証する方法はAllele specific Real Time PCR 定量法を用いてプライマーの増幅効率の比較で行った。その結果相補塩基がシトシン、グアニンの場合は天然塩基プライマーと比較して増幅効率が抑制され塩基認識能力の上昇がみられた。逆に相補塩基がチミンの場合は塩基認識能力が若干低下する結果となり、塩基認識能力の点で優位性を見出した。また、合成方法に関しては天然塩基を合成する自動合成機を用いて純度、収量ともに天然塩基と遜色のない合成を可能とした。

### 3. 総合所見

概ね期待通りの成果が得られ、イノベーション創出が期待される。改変人工塩基を用いたDNA合成という独自性のある方法の産業化に向けた開発の中で、一里塚を築くことに成功した。未解決の課題についても、実用化に向けて、これまでの検討によって構築された技術に基づいた解決可能性が示唆されており、期待できる。