

大窪 章寛

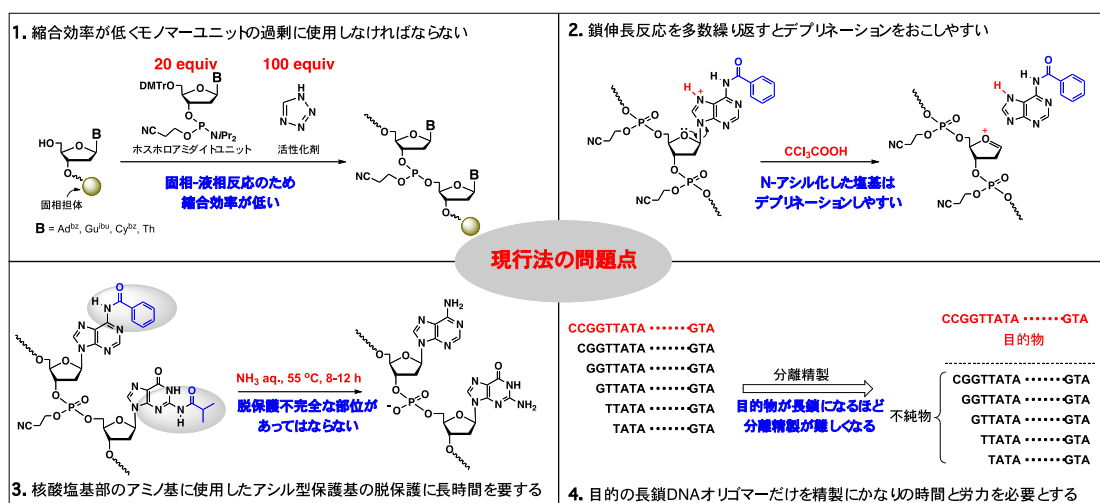
東京工業大学生命理工学院
准教授

ゲノム完全化学合成を指向した革新的フロー合成法の開発

§1. 研究成果の概要

本研究の目的は、三百万塩基対程度的人工ラン藻(シアノバクテリア)ゲノム DNA を正確かつ高効率で化学合成する手法の確立である。この化学合成法が確立されると、設計図通りの塩基配列を一塩基のミスもなく正確かつ迅速に作り出すことのできるだけでなく、任意の位置に特定の遺伝子を正確に配置することができる。

これまでの DNA 合成は、下図に示す通り、「1. 縮合効率が低くモノマーユニットの過剰に使用しなければならない」「2.鎖伸長反応を多数繰り返すとデブリネーションをおこしやすく、100 塩基以上の長鎖 DNA オリゴマーでは合成純度が低下する」「3.核酸塩基部のアミノ基に使用したアシル型保護基の脱保護に長時間を要するだけでなく、一箇所でも脱保護不完全な部位が存在するとゲノムの複製や転写の際に致命的な問題が生じる」「4.目的の長鎖 DNA オリゴマーだけを精製するのにかなりの時間と労力を必要とする」などの問題点を含んでいた。



本研究は、我々がこれまでに世界に先駆けて開発してきた「核酸塩基部位に保護基を使用しない革新的な DNA 合成法」を駆使し、従来の DNA 合成が抱えていた問題点の克服することで、シアノバクテリアのゲノム DNA の完全化学合成を目指している。

2018 年度は、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール誘導体、特に 4-アミノ-6-トリフルオロメチル-1-ヒドロキシベンゾトリアゾールを担持したポーラスガラス担体を用いれば、鎖伸長効率が大幅に向上することがわかった。(40 量体に合成時において、従来の担体に比べ合成効率が 50%向上) 現在では、この反応条件を用いた 200 量体以上の合成検討を行なっている。また、核酸塩基アミノ基に反応しない亜リン酸ジフェニルを用いたキャップ化反応(未反応の反応点をふさぐ反応)を組み込んだオリゴヌクレオチドの合成の確立も同時に行った。

さらに、5'-水酸基に光除去可能な保護基を導入したヌクレオシドとマスクレス露光装置を用いて、板状ポーラスガラス上の任意の場所に特定のホスホロアミダイトユニットを反応させる条件検討を行った。その結果、数十マイクロメートル単位での精度で DNA 合成の位置を制御できることがわかり、現在ではこの高精密合成を利用したフロー合成システムを構築している。

§ 2. 研究実施体制

(1) 大窪グループ

- ① 研究代表者: 大窪 章寛 (東京工業大学生命理工学院 准教授)
- ② 研究項目
 - ・世界最高峰の長鎖 DNA 合成技術の確立
 - ・ゲノム DNA 合成を指向した長鎖 DNA 合成フローシステムの構築
 - ・特定の色素合成遺伝子およびその関連遺伝子の導入による光合成効率の評価