

阿部 洋

名古屋大学大学院理学研究科
教授

化学を基盤とするゲノムスケール DNA 合成技術の開発

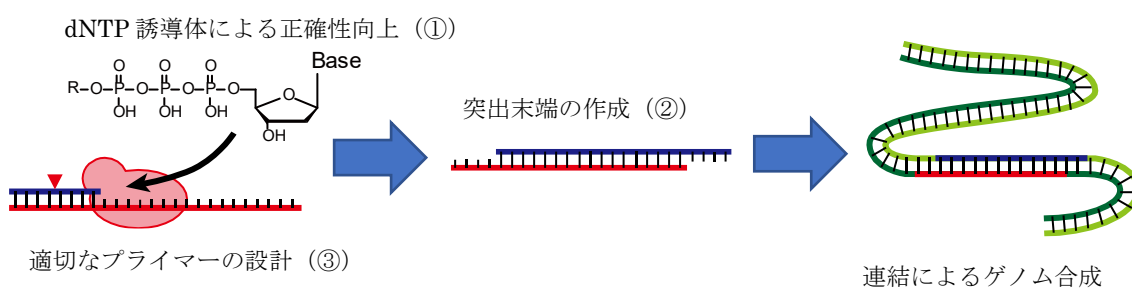
§ 1. 研究成果の概要

阿部チームでは「化学を基盤とするゲノムスケール DNA 合成技術の開発」という研究課題名でゲノムスケールの DNA 合成を目的とした研究を遂行している。ゲノムスケールの DNA 合成のためには①正確な配列をもつ DNA 断片の作成、②DNA 断片の正確な連結手法、さらに②の効率向上のため③連結反応に適切な末端の配列設計が必要となる。

①については一般的な長鎖 DNA 合成方法である PCR の正確性を向上させることで解決を試みている。これまで PCR 正確性の向上は酵素の改変で行われており一定以上の成果を上げている。しかしその正確性向上はほとんど上限に達しており、これ以上の改善を見込むことは難しい。そこで本研究では PCR の際 DNA の材料として使われる dNTP に化学修飾を施し、正確性向上を試みた。種々の dNTP 誘導体を合成し、実際に PCR で評価したところ、一部の誘導体を用いた際に有意な正確性の向上が示唆された。現状、確認できた正確性向上は 2 倍程度であるが今後この誘導体を足掛かりにさらなる正確性の向上を目指す。

②については任意の配列を持つ突出末端を DNA 断片に導入し、ライゲーション反応によって連結する。一般的な DNA の連結では酵素処理によって突出末端を作成し、末端同士を結合させることでライゲーションを行う。しかし酵素に依存するため、数ヌクレオチド程度の突出をもつ特定の配列しか作成できず、正確な結合を行うには心許ない。そこで我々は PCR に用いるプライマーに化学修飾を加えることで任意の突出末端を作成することを試みた。現状、化学修飾プライマーは 2 種類完成しており、どちらの方式でも任意の配列をもつ突出末端の作成に成功した。また連結反応についても従来法である酵素処理によって作成した DNA 断片のライゲーションと比べて正確性、効率の両面で優れていることが示された。

③についてはバイオインフォマティクス技術を駆使することで適切な位置でのプライマー設計を可能とするプログラムを構築している。PCR においてはプライマーの配列設計が、DNA 断片の連結反応においては突出部分の配列がそれぞれ重要であることが知られている。本研究プロジェクトでは PCR によって作成した突出末端断片を連結することでゲノムスケール DNA の合成を試みるため、適切なプライマー設計が必要となる。そこでプライマーとして利用できる配列の候補を検索し、さらに突出末端部分の安定性と結合強度を検討することで、適切な化学修飾プライマーを設計するプログラムを作成した。今後は本プログラムを実際に活用し、DNA 断片の結合実験を行う予定である。



§ 2. 研究実施体制

(1) 阿部グループ

- ① 研究代表者:阿部 洋 (名古屋大学大学院理学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・PCR の正確性向上
 - ・新規 DNA アセンブリ法の開発
 - ・ケミカルライゲーシヨンの開発
 - ・細胞膜透過性テトラリン酸型抗ウイルス薬の開発
 - ・チオリン酸 NTP を基質とする人工細胞の研究(領域内共同研究)

(2) 岡グループ

- ① 主たる共同研究者:岡 夏央 (岐阜大学工学部化学生命工学科 准教授)
- ② 研究項目
 - ・アミダイト化学の改善
 - ・PCR の正確性を向上させる dNTP 誘導体の効率的合成法の確立
 - ・2'-チオ核酸、2'-セレン核酸の効率的合成法の確立

(3) 浅井グループ

- ① 主たる共同研究者:浅井 潔 (東京大学大学院新領域創製科学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・ゲノム構築のための配列設計技術