

大窪 章寛

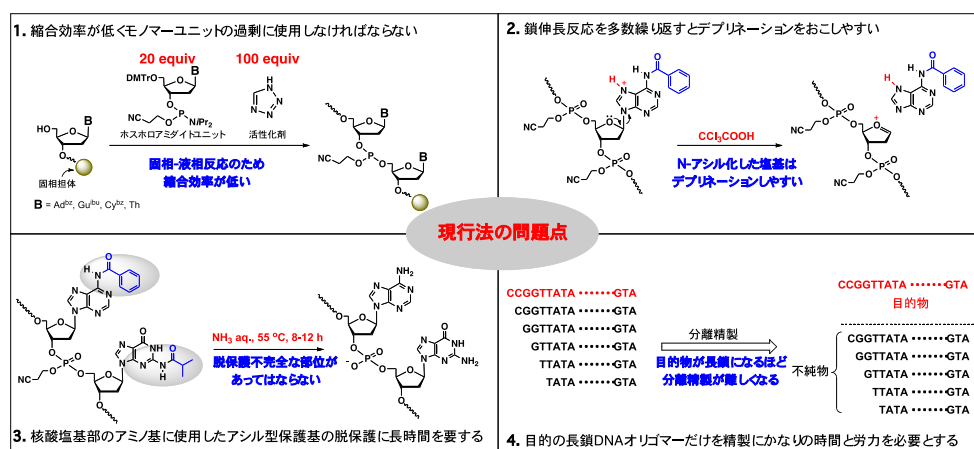
東京工業大学
准教授

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プ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 の完全化学合成目指している。

2019 年度は、前年までに開発した活性化剤内包型 CPG 合成担体に長鎖のスペーサーを導入することで、鎖伸長効率が大幅に向上(40 量体に合成時において、従来の担体に比べ合成効率が2倍程度向上)することを見出し、ポリ T 配列だけでなく、4 種類の塩基(A, G, C, T)を含む配列でもその効果を確認することができた。また、長鎖 DNA 合成に適している大きな(200 nm)細孔径を有する板状ポーラスガラス(8x8x1mm)を開発することができ、このポーラスガラスにおいてもマスクレス露光装置を用いれば、数十マイクロメートル単位の精度で DNA 合成の位置を制御できることがわかった。さらに、この板状ポーラスガラスをフロー合成中に固定できるハウジングを独自で開発し、核酸合成機と組み合わせることで、板状ポーラスガラスを用いたオリゴヌクレオチドの合成が可能となった。年度末には、マスクレス露光装置を搭載した核酸合成フローシステムの構築にも成功している。

【代表的な原著論文】

1. Akihiro Ohkubo, Tatsuya Ohnishi, Shuhei Nishizawa, Yuri Nishimura, and Shugo Hisamatsu, “The ability of a triplex-forming oligonucleotide to recognize T-A and C-G base pairs in a DNA duplex is enhanced by incorporating N-acetyl-2,7-diaminoquinoline.” *Bioorg. Med. Chem.*, 28, 115350, 2020.
2. Akihiro Ohkubo, Kousuke. Muto, Lintaro Watanabe, Shuhei Nishizawa, Shugo Hisamatsu, and Takashi Kanamori, “Chemical synthesis and properties of modified oligonucleotides containing 5'-amino-5'-deoxy-5'-hydroxymethylthymidine residues.” *Bioorg. Med. Chem.*, 28, 115407, 2020

§ 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