

ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出
2019 年度採択研究代表者

2020 年度 年次報告書

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

阿部グループでは有機化学、生化学、バイオインフォマティクスを利用することで効率的なゲノムスケール DNA の合成を目指している。ゲノムスケールの DNA 合成実現には①高精度な DNA 断片調製法、②DNA 断片の連結法、③連結効率を向上する DNA 断片の設計手法、の 3 点が必要となる。当研究グループでは PCR の正確性を向上する dNTP の開発によって①の、任意の突出末端を調製できる化学修飾プライマーやケミカルライゲーションによって②の、そして連結効率を最大化する突出末端の設計プログラム開発によって③の解決を試みている。

今年度の研究において PCR の正確性を向上する dNTP 誘導体の合成と評価に成功し、2 倍程度の PCR 正確性向上を確認した。PCR 正確性を評価するためには解析プログラムそのものの精度を上げる必要があるためこれも独自開発した。またこの過程で基質としての活性を損なうことなくヌクレオシド誘導体の細胞膜透過性を向上する化学修飾を考案した。本化学修飾は幅広いヌクレオシド誘導体に適用できるため抗ウイルス剤の薬効向上への応用が期待できる。任意の突出末端を調製できる化学修飾プライマーに関しては新規手法を開発した。本手法は化学反応によって正確に 3' 突出末端を作成するものであり、制限酵素によって作成した突出末端と遜色ない DNA 連結効率を示した。酵素反応だけでなく化学反応による DNA 断片の連結手法開発にも取り組んでおり、本手法によって連結した DNA 断片は非天然構造を含んでいるにもかかわらず、ヒト細胞中で RNA の転写基質として働くことを確認した。これらの技術を活用し連結反応によってゲノム DNA を合成するには適切な突出末端の設計が不可欠となる。当グループでは遺伝的アルゴリズムを利用し、さらにこれを並列処理することで大幅に設計時間を短縮できるプログラムを開発した。上記成果を進展させゲノムスケール DNA 合成を実現するため引き続き研究を進めていく。

§ 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ョンの開発
 - ・細胞膜透過性テトラリン酸型抗ウイルス薬の開発
 - ・PS-mRNA の翻訳メカニズム解析(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

【代表的な原著論文情報】

- 1) Finding the direct optimal RNA barrier energy and improving pathways with an arbitrary energy model. Hiroki Takizawa, Junichi Iwakiri, Goro Terai, Kiyoshi Asai *Bioinformatics*, Volume 36, Issue Supplement_1, July 2020, Pages i227-i235
- 2) RintC: fast and accuracy-aware decomposition of distributions of RNA secondary structures with extended logsumexp Hiroki Takizawa, Junichi Iwakiri, Kiyoshi Asai *BMC Bioinformatics*, 2020 May 24;21(1):210.