

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
2018 年度採択研究代表者

2020 年度 年次報告書

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、三百万塩基対程度の人工ラン藻(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。

これまでの DNA 合成は、「1. 縮合効率が低い」「2. デプリネーションをおこしやすく合成純度が低い」「3. アシル型保護基の脱保護に長時間を要する」「4. 精製作業が煩雑である」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「多種の DNA オリゴマーを高効率かつ大量に合成できる革新的な手法」を駆使し、従来の DNA 合成が抱えていた問題点の克服し、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。

2020 年度は、前年までに開発した活性化剤内包型 CPG 合成担体に導入するスペーサーの最適化を行い、核酸 40 量体に合成時において平均縮合効率を 99.8%にまで高めることができた。また、この高い縮合効率は 100 量体以上の長鎖オリゴヌクレオチドの合成においても維持でき、一般的な合成手法に比べて 4 倍以上の収率での合成に成功している。

さらに、200nm 以上の細孔径を有する板状ポラスガラスは厚さが 1mm になると、365nm の UV 光をほとんど透過させないが、特定の有機溶媒に浸潤させることで、90%もの UV 光を透過できることを見出した。さらに、この知見を露光装置搭載型フローシステム構築に応用することで、0.6mm² の範囲で 16,000 種のオリゴヌクレオチドを 0.5pmol スケールで同時合成できるフローシステムの開発に成功した。このシステムの合成スペックは、単位面積あたりの合成収量・合成種類ともに非常に高く、既存の手法に比べて 6000 倍以上の合成スケールを可能にする。この成果は、将来的に合成システムのコンパクト化につながるため、目的とするゲノム合成の低コスト化に大いに貢献できる。

§ 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

【代表的な原著論文情報】

- 1) Akihiro Ohkubo, Kousuke Muto, Rintaro Watanabe, Daisuke Ogata, “Chemical synthesis of modified oligonucleotides containing 5'-amino-5'-deoxy-5'-hydroxymethylthymidine residues.” **Current Protocols**, *1*, e70, 2021.
- 2) Shuhei Nishizawa, and Akihiro Ohkubo, “Chemical synthesis and biochemical characterization of cyclic oligonucleotides containing acyl groups at both 5'- and 3'-terminal positions.” **Bioorg. Med. Chem.**, *28*, 115799, 2020