

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

2022 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

主たる共同研究者:

橋谷 文貴 (名古屋大学 物質科学国際研究センター 助教)

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 の完全化学合成を目指している。

2022 年度は板状ポーラスガラスの細孔径の検討や HOBt 誘導体の導入により、鎖伸長効率の向上を行っただけでなく、ジシアノホスホロアミダイトをキャップ化反応に用いることでキャップ化反応効率も大幅に改善した。これらの反応を含む核酸合成により構築したオリゴヌクレオチドプールから、5 Kbp DNA を合成し塩基配列の正確性を確認したところ、従来の核酸合成に比べ、2 倍の正確性を示すことが分かった。この知見は、長鎖オリゴヌクレオチドの品質保証に直結するものであり、今後、ゲノム合成に関連する学術分野に大きく貢献すると期待される。

また、これまでに我々が開発したマスクレス露光装置を搭載した核酸合成装置の光源強度の増強や照射面積の拡大、適切なハウジングを用いることで、100nm の細孔径をもつ板状ポーラス上で光制御により、40 Kbp DNA に対応するオリゴヌクレオチドプールの同時合成が可能になった。この板状ポーラスガラスにはスクライブ加工が施されており、オリゴヌクレオチドを 8 種類の各プールに分割することができる。また、この合成結果から、既存の核酸合成に比べて、合成収量は 500 倍増加、合成コストは 1/350 となることが明らかになっただけでなく、1 回の合成で 100 Kbp DNA に対応するオリゴヌクレオチドプールの同時合成が可能であることも示唆された。これらの技術は、ゲノム合成の合成コストを大幅に削減することができ、関連する産業に大いに影響を与えることができると考えられる。

現在では、これら基盤技術と独自に開発したマスクレス露光装置搭載核酸合成装置を用いて、目的のシアノバクテリアゲノムの合成を推進している。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Development of antiparallel-type triplex-forming oligonucleotides containing quinoline derivatives capable of recognizing a T–A base pair in a DNA duplex. Shuhei Nishizawa, Gaohong Tu, Daisuke Ogata, Kouichiro Miyauchi, Akihiro Ohkubo, *Bioorg. Med. Chem.*, *71*, 116934 (2022).
- 2) Oligonucleotide Synthesis on Porous Glass Resins Containing Activators. Y. Miyazaki, A. Yoshida, T. Okaniwa, K. Miyauchi, A. Ohkubo, *Org. Lett.*, *24*, 3807-3811 (2022).