

光制御フロー合成システムを基盤にした長鎖 DNA 化学合成法の開発

○宮内幸一郎・岡庭輝幸・丸山幸記・大野維新・大窪章寛（東工大院生命理工）

Development of a method for chemical synthesis of long DNAs in a photolithographic flow system(Department of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology)MIYAUCHI Koichiro; OKANIWA, Teruyuki; MARUYAMA, Koki; ONO Ishin; OHKUBO, Akihiro

核酸関連研究分野において、最近、DNA の化学合成を基盤とし、ゲノムサイズの DNA を一から設計し合成する新たな手法の開発が求められている。ゲノムサイズの DNA 合成では、まず 50-60 量体程度の短鎖のオリゴヌクレオチドを多種類化学合成し、得られた DNA プールに対して DNA polymerase や大腸菌、酵母を使用した連結によりゲノムサイズの DNA 合成を行う。(図 1) 最初の DNA プールの作製は、汎用されているカラム合成法では、コストが高いことが問題であった。一方で、光リソグラフィー技術と光分解性保護基を使用し、多種類の DNA をスライドガラス上に同時合成する手法は、オリゴヌクレオチド 1 本あたりの合成コストが抑えられるものの、合成できる量が少なく、ゲノムサイズの合成には不向きである。

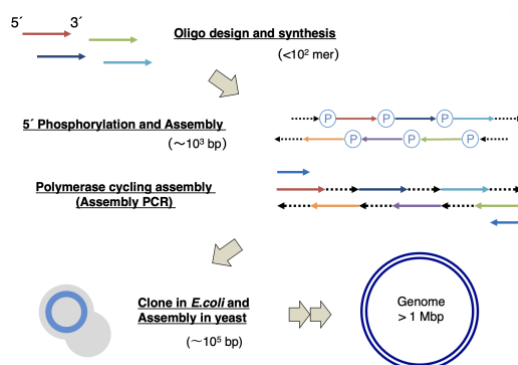


図 1

これらの問題を解決するため、本研究で我々は、板状ポーラスガラスを反応基材として用いる新規フロー合成法の開発を行なった。板状ポーラスガラスはスライドガラスと違い、表面だけでなく内部にも反応点をもつため、単位面積あたりの合成収量が増加し、光リソグラフィー技術による核酸合成を行うことで、多種類のオリゴヌクレオチドを長鎖 DNA 合成に十分な収量で合成可能になった。

具体的には、図 2 に示すような光分解性保護基を有するホスホロアミダイトユニットを板状ポーラスガラス上で用いることで、数百~千種類以上の DNA オリゴマーを一度に合成でき、これらの連結・増幅反応により、1-10 Kbp の長鎖 DNA を複数種類合成することに成功した。また、さらなる合成効率向上を目指し、当研究室で過去に開発した活性化剤¹⁾を導入した板状ポーラスガラスを使用し、長鎖 DNA の合成を行ったので、その合成の正確性も併せて報告する。



図 2

1) Miyazaki, Y.; Ohkubo, A. *et. al, Org. Lett.* **2022**, *24*, 3807-3811.