

長鎖 DNA 合成に向けたホスホロアミダイト法における副反応の解析

(東工大生命理工¹、JST さきがけ²) ○正木 慶昭^{1,2}・矢形 太一¹・清尾 康志¹

Evaluation of side-reaction in phosphoramidite method for synthesis of long-DNA

(¹*School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology*, ²*JST, PRESTO*) ○Yoshiaki Masaki,^{1,2} Taichi Yagata,¹ Kohji Seio¹

Long DNA synthesis is a fundamental technology in DNA-based research. However, synthesized long DNA has been found to contain a certain number of errors due to the accumulation of small amounts of side products during the chemical synthesis of template DNAs. Even 0.1% of mutation reaction at a specific nucleobase means at a rate of 1 in 4000 bases which is one of issue in long DNA synthesis. Therefore, quantitative evaluation of the extent of such problematic side-reactions is an important issue in the development of long DNA synthesis method.

In this study, we have evaluated the problematic side-reactions in the phosphoramidite method by using next-generation sequencing. The mechanism of observed mutation/insertion/deletions will be discussed.

Keywords : Oligonucleotide; DNA; Phosphoramidite method;

長鎖 DNA 合成は、DNA を用いる研究における基盤技術である。しかし、鋳型となる DNA の化学合成において誘導されるわずかな副反応が蓄積するため、長鎖 DNA には多数のエラーが含まれてしまうことがわかっている。特に遺伝子やゲノム合成の鋳型として合成 DNA を利用する場合、わずか 0.1% の特定塩基における変異反応であっても 4000 塩基に 1 塩基の割合で変異が導入されることになる。そのためどのような問題となる副反応がどの程度起こっているかを定量的に評価することは長鎖 DNA 合成法開発において重要な課題といえる。

本研究では、DNA の化学合成において信頼性の高いホスホロアミダイト法に内在する長鎖 DNA 合成において問題となりうる副反応を評価したのでその詳細について報告する。