

3'エキソヌクラーゼを用いた新規核酸精製法の開発

(東工大生命理工学院¹) ○吉田 蒼馬¹・赤澤 紗彩¹・宮崎 祐宇¹・岡庭 輝幸¹・大窪 章寛¹

Development of a new method for purification of oligonucleotides using 3'-exonuclease

(¹*School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology*) ○Aoma Yoshida,¹ Saaya Akazawa,¹ Yu Miyazaki,¹ Teruyuki Okaniwa,¹ Akihiro Ohkubo¹

We previously reported that longer oligonucleotides can be efficiently synthesized on the polymer supports with activators. However, in the general purification methods, purification becomes more difficult as the oligonucleotide chain becomes longer. To overcome this problem, we developed a method for purification of oligonucleotides containing chemical modifications at the 3'-end by using 3'-exonuclease. Even in the presence of many undesired oligonucleotide chains, it is possible to selectively purify and amplify only the target oligonucleotides. In addition, this method improves the efficiency of linkage and amplification reactions, such as PCA and PCR, compared to those without purification. In this paper, we will also report a method for regulation of linkage and amplification reactions by using dephosphorylation of exonuclease III.

Keywords : *Oligonucleotide Synthesis, Oligonucleotide Purification, 3'-Exonuclease, Modified Nucleic Acids*

当研究室は、これまでに活性化剤内包固相担体を用いれば、長鎖オリゴヌクレオチドを高効率で合成できることを報告している。しかし、現在汎用されている核酸精製法ではオリゴヌクレオチド鎖が長くなるにつれて、精製が難しくなることが問題であった。そこで本研究では、3'末端に化学修飾を加えたオリゴヌクレオチド鎖のみが3'エキソヌクラーゼに対して耐性を持つことを利用した新規核酸精製法を開発した。不要なオリゴヌクレオチド鎖が多く存在する系においても、選択的に目的のオリゴヌクレオチドのみを精製、PCRにより増幅することができる。また、本手法により精製を行うことで、未精製時に比べPCA・PCRなどのオリゴ連結・増幅反応の効率も向上することが分かった。さらに、本発表では、エキソヌクラーゼ III の脱リン酸化作用を利用した連結・増幅反応の反応制御についても報告する。

