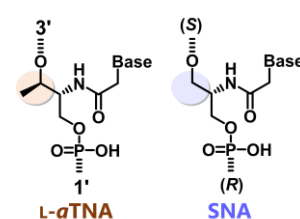


## 人工核酸 L-aTNA と SNA の化学的な鋳型合成の速度論解析を基盤とした長鎖伸長反応法の構築

○沖田ひかり・村山恵司・浅沼浩之（名大院工）

**Development of Long-Chain Elongation Reaction Based on Kinetic Analysis of Chemical Template-Directed Ligation of L-aTNA and SNA** (Graduate School of Engineering, Nagoya University) OKITA, Hikari; MURAYAMA, Keiji; ASANUMA, Hiroyuki

DNA のリボース骨格を改変した XNA(ゼノ核酸)は高い分解酵素耐性を有しており、当研究室でも非環状型の XNA を創出してきた。特に L-aTNA<sup>[1]</sup>や SNA<sup>[2]</sup>は各々、相補鎖だけでなく、天然核酸とも安定な二重鎖を形成できるため、生物学的ツールとしての応用が期待されている(Fig. 1)。しかしながら、XNA 骨格が酵素に認識されないため、酵素反応へ応用することが困難であった。そこで、酵素の代わりに縮合剤 *N*-cyanoimidazole と  $Mn^{2+}$  を用いた化学連結法によって非環状型 XNA の鋳型合成法の開発を行ったところ、3-mer の L-aTNA

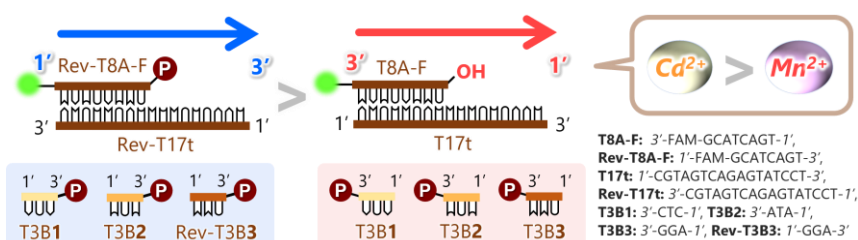


**Fig. 1.** Chemical structures of L-aTNA and SNA.

ランダム配列プールを用いた 17-mer L-aTNA の配列複製に成功した<sup>[3]</sup>。また、8-mer 断片の連結反応において L-aTNA の方が SNA よりも 17 倍以上連結速度が速いことも確認している。本研究では(1)L-aTNA-SNA キメラ配列の反応解析を行い、その結果をもとに(2)最適な伸長方向・二価金属イオンを検討し、最終的に(3)化学連結法による L-aTNA の長鎖伸長反応法の高効率化を試みた。

(1)連結部位または末端部位に数個の L-aTNA を導入した L-aTNA-SNA キメラ配列を用いて、8-mer 断片の連結反応を比較した。その結果、連結部位に L-aTNA を導入した方が末端部位に導入した場合に比べ 7 倍以上連結速度が速く、連結部位における L-aTNA の骨格構造が連結効率の向上に重要であることが示唆された。また、連結部位のリン酸基側が L-aTNA であると加速の効果が大きいことも明らかになったことから、プライマー(反応開始鎖)の連結部位にリン酸基が存在すると連結効率が向上するのではないかと考え、伸長方向の検討を行うことにした。

(2)伸長方向の検討では 3 種類の 3-mer の L-aTNA 断片を用いた 17-mer の配列複製にて 1' → 3' 方向と従来の 3' → 1' 方向の伸長速度を比較したところ、1' → 3' 方向の方が高い連結効率を示した(Fig. 2)。更に



**Fig. 2.** Elongation direction and divalent metal cation in L-aTNA replication.

反応を加速させるために、リン酸基との相互作用が予想される二価金属イオンの種類を検討したところ、 $Cd^{2+}$  を用いた場合、極めて高い連結効率を示すことが明らかになった。

(3)最後に、最適化された 1' → 3' 方向かつ  $Cd^{2+}$  の条件のもと、従来の 17-mer よりも長い 23-mer、29-mer の L-aTNA 鋳型鎖上で 3-mer の L-aTNA ランダム配列プールを用いた逐次的な連結反応を試みたところ、両場合とも高効率に目的産物が得られたことが明らかになった。以上の結果より、反応条件の最適化を行うことで、長鎖 L-aTNA の配列複製法の確立に成功した。

[1] K. Murayama *et al*, *Chem. Commun.*, **2015**, 51, 6500. [2] H. Kashida *et al*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, 50, 1285. [3] K. Murayama, H. Okita *et al*, *Nat. Commun.*, **2021**, 12, 804.