

アカデミックプログラム [A講演] | 17. 生体機能関連化学・バイオテクノロジー：口頭A講演

📅 2025年3月28日(金) 15:55 ~ 17:15 🏢 [A]D401(第3学舎 4号館 [4階] D401)

[[A]D401-3vn] 17. 生体機能関連化学・バイオテクノロジー

座長：樫田 啓、鬼塚 和光

◆ 日本語

15:55 ~ 16:05

[[A]D401-3vn-01]

色素修飾人工核酸の非酵素的な鎖伸長による疑似翻訳反応の開発

○堀田 有輝¹、沖田 ひかり¹、村山 恵司¹、浅沼 浩之¹ (1. 名古屋大学)

◆ 日本語

16:05 ~ 16:15

[[A]D401-3vn-02]

PNA配列解析における修飾塩基の影響の検討

○稲垣 和真¹、愛場 雄一郎²、荘司 長三²、浅沼 浩之¹、樫田 啓¹ (1. 名大院工、2. 名大院理)

◆ 日本語

16:15 ~ 16:25

[[A]D401-3vn-03]

蛍光色素修飾塩基を利用したSNAらせん増幅系の開発

○杉山 乙珠¹、浅沼 浩之¹、樫田 啓¹ (1. 名古屋大学工学研究科)

◆ 日本語

16:25 ~ 16:35

[[A]D401-3vn-04]

光架橋性Pyrenylvinyl guanine導入SNAの合成と二重鎖の光制御

○池田 彩華¹、佐藤 史経¹、村山 恵司¹、浅沼 浩之¹ (1. 名大院)

◆ 日本語

16:35 ~ 16:45

[[A]D401-3vn-05]

新規RNA結合性分子プローブの開発とRNA結合性低分子の探索

○長澤 瞭佑^{1,2}、鬼塚 和光^{1,2}、岩田 遼平^{1,2}、都築 航祐^{1,2}、小松 馨^{3,4}、宮下 映見^{3,4}、壇辻 さやか⁴、村瀬 裕貴^{1,2}、齊藤 博英³、永次 史^{1,2} (1. 東北大理学研究科、2. 東北大多元研、3. 京大CiRA、4. xFOREST Therapeutics)

◆ 日本語

16:45 ~ 16:55

[[A]D401-3vn-06]

BACH 1 を標的とした高効率触媒的RNA切断機能付与型人工核酸 (CANA) による膵臓癌治療薬開発 VI - 切断効率に対するジャンクション構造ならびに複合体安定性の影響 -

○木野 実音¹、五十嵐 優希¹、松本 光代¹、堀内 結翔¹、荒木 保幸¹、西嶋 政樹¹、三瓶 悠³、山吉 麻子³、五十嵐 和彦²、和田 健彦¹、稲垣 雅仁⁴ (1. 東北大多元研、2. 東北大院医、3. 長崎大医歯薬、4. 名大院理)

◆ 英語

16:55 ~ 17:05

[[A]D401-3vn-07]

Development of Chimeric Artificial Nucleic Acids (CANA) Toward the COVID-19 Treatments V:
Effects of junction positions and complex stabilities on cleavage efficiencies

○Hieu Trong Bui¹, Kazutoshi Fujita¹, Nozomu Ishiwata¹, Masahito Inagaki², Hironori Hayashi¹,
Mitsuyo Matsumoto¹, Yasuyuki Araki¹, Eiichi Kodama¹, Takehiko Wada¹ (1. Tohoku University, 2.
Nagoya University)

◆ 日本語

17:05 ~ 17:15

[[A]D401-3vn-08]

フッ素-リン結合の活性化を利用するDNA化学合成の試み

○三原 菜那¹、井上 周也¹、田良島 典子¹、南川 典昭¹ (1. 徳島大薬院)

色素修飾人工核酸の非酵素的な鎖伸長による疑似翻訳反応の開発

(名大院工¹) 堀田有輝¹・沖田ひかり¹・村山恵司¹・浅沼浩之¹

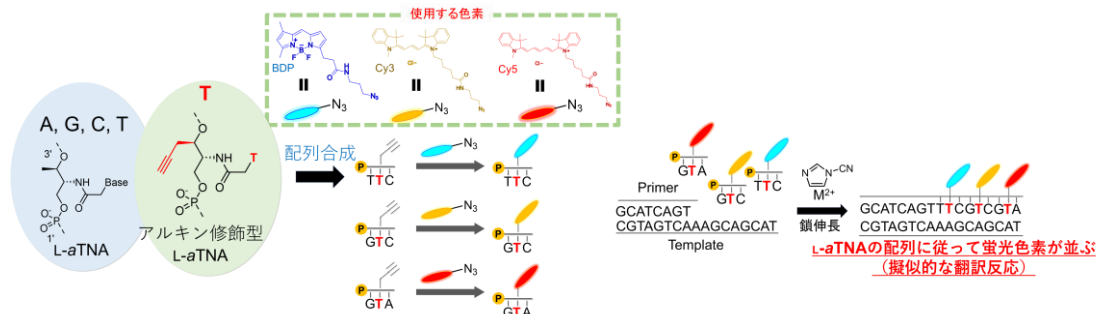
Pseudo-translation system by non-enzymatic primer extension of dye-modified XNA

(¹Graduate School of Engineering, Nagoya University) ○Yuki Hotta¹, Hikari Okita¹, Keiji Murayama¹, Hiroyuki Asanuma¹

We developed novel artificial nucleic acid L-aTNA that forms stable homo-duplex and heteroduplexes with DNA and RNA, and has high resistance to enzymatic degradation. These advantages promise L-aTNA-based tools for biological applications. Previously, we achieved non-enzymatic primer extension of L-aTNA for its self-replication^{1) 2)}. We herein report a development of "pseudo-translation system of L-aTNA" in which the L-aTNA sequence can be translated into the sequence of functional molecules by non-enzymatic primer extension using dye-modified L-aTNA. To achieve this system, we synthesized 3-mer L-aTNA fragments with an alkyne-modified L-aTNA scaffold at the center of the sequence, followed by a conjugation with three different fluorophores depending on the sequences by click reaction. We successfully demonstrated non-enzymatic primer extension using these modified fragments. **Keywords** : nucleic artificial acid, chemical ligation

当研究室で開発された人工核酸 L-aTNA は DNA よりも安定な二重鎖を形成し、DNA や RNA とヘテロな二重鎖も形成する。またその高い酵素分解耐性から、新たな生物学的ツールへの応用が展開されている。先行研究において L-aTNA の自己複製を指向した非酵素的な鎖伸長を実現した^{1,2)}。そこで本研究では色素修飾 L-aTNA を鎖伸長させることで、配列情報を元に機能を持つ分子の配列を合成する「L-aTNA の疑似翻訳反応」の開発を行った。

具体的手法として、鎖伸長反応の原料となる 3-mer の L-aTNA 断片の中央に、メチル基をアルキンに改変したアルキン修飾型 L-aTNA を導入した。3 つの異なる塩基配列を持つ修飾型 L-aTNA 断片を調製し、3 種の蛍光色素 (BDP FL, Cy3, Cy5) をそれぞれの断片にクリック反応で連結した。この色素修飾 L-aTNA 断片を原料にして鎖伸長反応を行った結果、Template 鎖の配列に応じて色素修飾断片が順に連結され、色素が配列することが確認された。すなわち、疑似翻訳反応の実証に成功した。



1) K. Murayama *et al. Nat. Commun.*, **2021**, 12, 804.

2) H. Okita *et al. J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, 145, 17872-17880.

PNA 配列解析における修飾塩基の影響の検討

(名大院工¹・名大院理²) ○稲垣 和真¹・愛場 雄一郎²・荘司 長三²・浅沼 浩之¹・檜田 啓¹

Investigation of effects of modified nucleic bases on PNA sequencing (¹Graduate School of Engineering, Nagoya University, ²Graduate School of Science, Nagoya University) ○Inagaki Kazuma¹, Yuichiro Aiba,² Osami Shoji,² Hiroyuki Asanuma¹, Hiromu Kashida¹

Sequencing methods are essential for the development of enzymes and aptamers composed of xeno nucleic acids (XNAs). However, there is no general method to analyze XNA sequences. In the previous study, we have developed a new method to sequence peptide nucleic acid (PNA). Since this method does not require enzymatic reactions, it can be used to analyze PNA bearing various non-natural bases. In this study, we analyzed PNA sequences containing new artificial thymine derivatives. As a result, sequences of these PNA could be analyzed by using our method. In the presentation, we will also report sequencing results of PNA bearing other derivatives.

Keywords : Artificial nucleic acid, Peptide nucleic acid, Artificial base, Sequencing, Next generation sequencing

人工核酸による酵素やアプタマーの開発を行うためには、配列解析が必須である。しかしながら、従来の配列解析法では適用可能な人工核酸の化学構造が大幅に制限されていた。それに対し、当研究室では二重鎖形成を利用することで人工核酸の配列を解析する新しい手法を開発した。この手法を利用することで、ペプチド核酸 (PNA)¹⁾の配列解析が可能であることを明らかにした。さらに本手法は酵素による伸長を必要としないため、様々な人工塩基を導入した PNA の配列解析が期待できる。

そこで本研究では、Fig.1 に示す様々な人工塩基を導入した PNA の配列解析を試みた。具体的にはチミン誘導体であるピレニルウラシル (U_p) やシアヌル酸 (Y) 導入 PNA の配列解析を行った。これらを導入し、かつ末端をビオチン修飾した 10mer の PNA を、ランダム配列を持つ DNA を二重鎖形成させ磁気ビーズ上に固定化した。その後、二重鎖形成した DNA 配列を溶出し、PCR で増幅して次世代シーケンサーによる配列解析を行ったところ、これらの PNA の配列解析が可能であることがわかった。本発表ではその他の人工塩基導入 PNA の配列解析結果についても併せて報告する予定である。

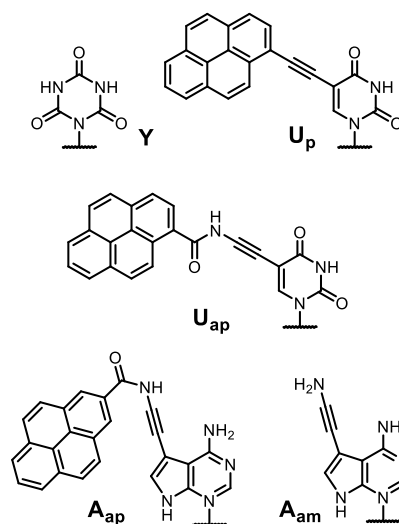


Fig. 1. Chemical structures of artificial nucleic acids used in this research.

- 1) P.E. Nielsen, M. Egholm, R.H. Berg, O. Buchardt, *Science*, **1991**, 254, 1497-1500.

蛍光色素修飾塩基を利用した SNA らせん増幅系の開発

(名大院工) ○杉山 乙珠・浅沼 浩之・檜田 啓

Development of SNA helical amplification system using bases tethering fluorescent dyes
(Graduate School of Engineering, Nagoya University) ○Itsumi Sugiyama, Hiroyuki Asanuma, Hiromu Kashida

Chiral amplification is a phenomenon where a small amount of chiral molecule induces and amplifies chirality of achiral supramolecular polymers. The amplified chiral information can be converted into CD and circularly polarized luminescence (CPL) signals. However, there are few reports of chiroptical amplification systems working in aqueous solution.

In previous study, we have reported a chiral amplification system using artificial nucleic acids. Serinol nucleic acid (SNA) oligomers having symmetrical sequences are achiral. The chirality of threoninol nucleic acids (α TNA) can be amplified by achiral SNA supramolecules. In addition, the chirality can be converted into CPL signals when SNA was modified with pyrenyluracil (U_p). In this study, we synthesized new fluorescent bases 7-pyrenyladenine (A_{7p}) and 8-pyrenyladenine (A_{8p}), and evaluated their chiroptical amplification ability.

Keywords: Serinol nucleic acid; Threoninol nucleic acid; Helical amplification; Circular dichroism

超分子キラル増幅（らせん増幅）とは、アキラル超分子に少量のキラル分子を添加した際に、そのキラルティが増幅する現象である。これを利用すれば、分子のキラル情報に CD や円偏光発光 (CPL) の情報に変換できるため、非常に注目されている。しかしながら、これまでの大半の系は有機溶媒中で機能しており、水中で機能するキラル増幅系の報告は多くないのが現状であった。

それに対し、当研究室ではこれまでにセリノール核酸 (SNA; Fig. 1) とトレオニノール核酸 (α TNA) の二重鎖形成を用いたキラル増幅系を開発した¹⁾。対称な配列をもつ SNA オリゴマーはアキラルになるというユニークな性質をもつ。アキラルな SNA 構造体に、少量の α TNA を添加することで、そのキラルティを増幅できることがわかった。また、SNA 中にピレニルウラシル (U_p) を導入することで SNA のらせんの情報を CPL に変換することに成功している²⁾。本研究では、新たにピレン修飾アデニン 2 種類 (A_{7p} , A_{8p}) を合成し、SNA に導入した。これらの修飾アデニン導入 SNA オリゴマーのキラル増幅能について検討を行ったので報告する。

- 1) H. Kashida, K. Nishikawa, W. Shi, T. Miyagawa, H. Yamashita, M. Abe, H. Asanuma, *Chem. Sci.* **2021**, *12*, 1656-1660.
- 2) H. Kashida, K. Nishikawa, Y. Ito, K. Murayama, I. Hayashi, T. Kakuta, T. Ogoshi, H. Asanuma, *Chem. Eur. J.* **2021**, *27*, 14582-14585.

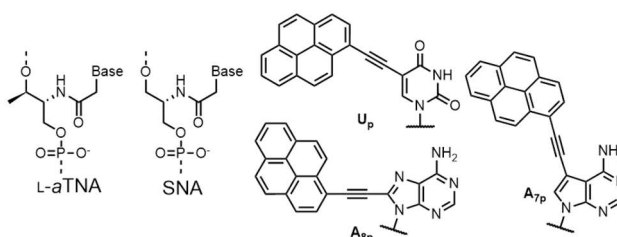


Fig. 1. Chemical structures of artificial nucleic acids.

光架橋性 Pyrenylvinyl guanine 導入 SNA の合成と二重鎖の光制御

(名大院工¹) ○池田 彩華¹・佐藤 史経¹・村山 恵司¹・浅沼 浩之¹

Photoregulation of duplex formation by SNA containing photo-crosslinkable pyrenylvinyl guanine (¹*Graduate School of Engineering, Nagoya University*) ○Ayaka Ikeda,¹ Fuminori Sato,¹ Keiji Murayama,¹ Hiroyuki Asanuma¹

XNA has high durability against nucleases and used in several biological tools. We reported SNA as a novel artificial nucleic acid that is highly durable against nucleases and able to form stable SNA/RNA duplex. Previously, we induced photo-crosslinkable pyrenylvinyl adenine (^{PV}A) to SNA and succeeded in the photoregulation of SNA/RNA duplex formation via intra-strand crosslinking of ^{PV}A, demonstrating a spatiotemporal control of XNA-based tools. In this study, we report the photoregulation of SNA/RNA duplex formation and dissociation by SNA containing photo-crosslinkable pyrenylvinyl guanine (^{PV}G). Photo-irradiation experiments on ^{PV}G-modified SNA/RNA duplex indicated that the dissociation and formation of the duplex can be controlled by photo-crosslinking and photo-cycloreversion of ^{PV}G, which enables spatiotemporal control of XNA tools in a greater variety of sequences.

Keywords : Photocrosslink; Photoregulation; Nucleic Acid; Guanine; Duplex

骨格改変型人工核酸(XNA)は、高い酵素耐性を有することから様々な生物学的な応用が展開されている。当研究室では非環状型人工核酸SNAおよびL-αTNAを開発し、これらが高い酵素耐性を有するのみならず、DNAおよびRNAと安定な二重鎖を形成することを明らかにした。さらにSNAに光応答性塩基である8-Pyrenylvinyl adenine (^{PV}A)を2残基導入することで、鎖内の^{PV}A同士の光架橋・開裂を介したSNA/RNA二重鎖の解離・形成の光制御に成功している¹⁾。本研究では、Guanineに光応答性官能基を導入した新規修飾塩基8-Pyrenylvinyl guanine (^{PV}G)を開発し、^{PV}Aと同様に光架橋・開裂によるSNA/RNA二重鎖の形成・解離の制御を試みた。

^{PV}Gを中央に2残基導入したSNAを合成し、相補鎖RNAとの二重鎖に対し光照射実験を行ったところ、吸収スペクトル測定と融解温度測定から^{PV}Gの光架橋・開裂反応が進行し、同時に二重鎖の形成・解離が起こっていることが示された。つまり、AdenineだけでなくGuanineにも光応答性を付与できることを示しており、応用可能な配列を拡張することに成功した。例として、mRNAのG4形成の制御による翻訳の光スイッチングなどへの応用が期待できる。

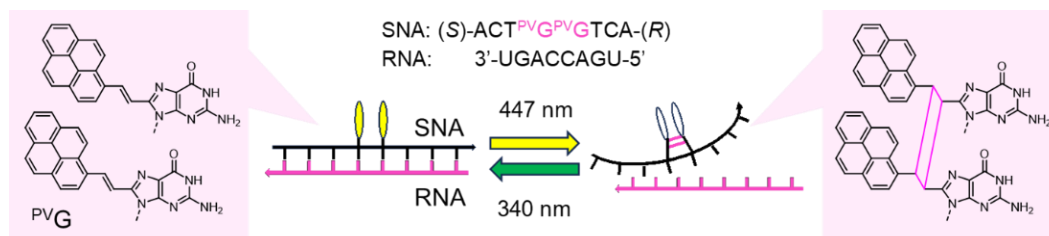


Fig.1. Design of photo-regulation system using SNA involving ^{PV}G.

1) K. Murayama, Y. Yamano, H. Asanuma, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 9485-9489.

新規 RNA 結合性分子プローブの開発と RNA 結合性低分子の探索

(東北大院理¹・東北大多元研²・京大 CiRA³・xFOREST Therapeutics) ○長澤瞭佑^{1,2}・鬼塚和光^{1,2}・岩田遼平^{1,2}・都築航祐^{1,2}・小松リチャード馨^{3,4}・宮下映見^{3,4}・壇辻さやか⁴・村瀬裕貴^{1,2}・齊藤博英³・永次史^{1,2}

Development of novel RNA-binding molecular probes and screening of RNA-binding small molecules (¹Grad. Sch. Sci., Tohoku Univ., ²IMRAM Tohoku Univ., ³CiRA, Kyoto Univ., ⁴xFOREST Therapeutics) ○Ryosuke Nagasawa,^{1,2} Kazumitsu Onizuka,^{1,2} Ryohei Iwata,^{1,2} Kosuke Tsuzuki,^{1,2} Komatsu Richard Kaoru,^{3,4} Emi Miyashita,^{3,4} Sayaka Dantsuji,⁴ Hiroataka Murase,^{1,2} Hirohide Saito,³ Fumi Nagatsugi^{1,2}

Recent studies have discovered that RNA plays a broad of important biological roles and can be a new druggable target. However, it is still challenging to discover selective binders for target RNAs. Therefore, it is desired to develop novel molecular probes to discover new RNA-binding small molecules. In this study, through the conjugation between G-clamp, which was found by our group^{1,2}, and thiazole orange (TO), which possesses light-up property, we developed novel fluorogenic probes (Fig. 1). Their fluorogenic properties and RNA-binding selectivity were evaluated to demonstrate that the probes provide the light-up property of TO and retain the RNA-binding selectivity of G-clamp. Next, we performed screenings for RNA-binding small molecules with our probe or a well-known probe, providing distinct hit compounds between them.

Keywords : RNA-binding small molecule, RNA-binding molecular probe, FID assay, Screening

近年、RNA が様々な生命機能の調節に重要な役割を果たしていることが明らかになってきており、新たな創薬標的として注目されている。しかし標的 RNA に選択的に結合する分子の創出は難しく、RNA 結合性分子を探索可能な新たな分子プローブの開発が望まれている。そこで本研究では、当研究室で見出された RNA 結合性分子 G-clamp^{1,2}にライトアップ機能を持つチアゾールオレンジ (TO) を繋げることで新規分子プローブを開発し、その蛍光特性と RNA 結合選択性を評価した (Fig. 1)。その結果、TO の蛍光特性を持ち、かつ G-clamp の RNA 結合選択性を維持していることを確認できた。次に新規プローブ、及び既存のプローブを用いて RNA 結合性低分子の探索を行い、異なるヒット化合物が得られることを見出した。

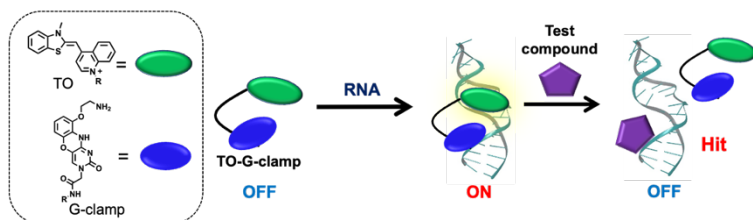


Fig. 1 今回設計した TO-G-clamp と RNA 結合分子探索法の模式図

1) H. Murase, F. Nagatsugi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, 29, 1320.

2) R. Nagasawa[#], K. Onizuka^{##}, K.R. Komatsu[#], E. Miyashita, H. Murase, K. Ojima, S. Ishikawa, M. Ozawa, H. Saito^{*}, and F. Nagatsugi^{*}, *Commun. Chem.*, **2024**, 7, 98.

BACH1 を標的とした高効率触媒的 RNA 切断機能付与型人工核酸 (CANA) による膵臓癌治療薬開発 VI - 切断効率に対するジャンクション構造ならびに複合体安定性の影響 -

(東北大多元研¹・名大院理²・長崎大院医歯薬³・東北大院医⁴・東北大 INGEN⁵)
 ○木野 実音¹・五十嵐 優希¹・稲垣 雅仁²・松本 光代¹・堀内 結翔¹・荒木 保幸¹・
 西嶋 政樹¹・三瓶 悠³・山吉 麻子³・五十嵐 和彦⁴・和田 健彦^{1,5*}

Development of Chimeric Artificial Nucleic Acids (CANA) with Catalytic Target RNA Cleavage Functions Toward the Pancreatic Cancer Therapeutics VI: Effects of junction positions and complex stabilities on cleavage efficiencies (¹IMRAM, Tohoku Univ., ²Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ., ³Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ., ⁴Grad. Sch. Medicine, Tohoku Univ., ⁵INGEM, Tohoku Univ.) ○Mion Kino,¹ Yuki Igarashi,¹ Masahito Inagaki,² Yuto Horiuti,¹ Mitsuyo Matsumoto,¹ Yasuyuki Araki,¹ Masaki Nishijima,¹ Yu Mikame,³ Asako Yamayoshi,³ Kazuhiko Igarashi,⁴ Takehiko Wada^{1,5*}

To apply oligonucleotide therapeutics as promising pharmaceuticals, the following three issues should be improved: I) Off-target effects, II) Low cellular uptake capability, and III) Low therapeutic potency mainly due to extremely low intracellular concentrations. We have proposed and demonstrated a novel design strategy to improve these issues by enhancing the RNase H mediated target RNA cleavage efficiency by the Chimeric Artificial Nucleic Acids (CANAs), which consist of 5'-terminus modified DNA moiety conjugated with non-ionic peptide backbone artificial nucleic acid moiety such as PNA. In this study, we targeted the mRNA sequence of BACH1, a transcription factor involved in the metastasis of pancreatic cancer, an intractable disease discovered by Prof. Igarashi et al. The structural design and synthesis of CANA, which contributes to the inhibition of pancreatic cancer malignant transformation, as well as its ability to form complexes with target mRNAs in vitro, complex stability, and catalytic RNA cleavage using RNase H, were investigated and reported.

Keywords : Chimera Artificial Nucleic Acid; Oligonucleotide Therapeutics; Pancreatic Cancer; BACH1; Catalytic cleavage of target RNA

次世代分子標的薬モダリティとして期待される核酸医薬の実用化において、“オフターゲット効果の低減”と、主に細胞内極低濃度に起因する“低治療効果の向上”が喫緊の解決課題とされている。我々は両課題解決を目指し、RNase H を活用した標的 RNA 触媒的切断戦略に焦点を当て、標的 RNA の位置選択的切断による触媒回転数の向上に基づく極低濃度でも高い治療効果を実現し得る新規核酸医薬として、リン酸アニオン骨格 DNA/LNA (架橋型核酸) と PNA など負電荷を有しないアミド骨格人工核酸を融合したキメラ人工核酸 (CANA: 図 1) を提案し、その有効性を報告してきた。

本研究では、五十嵐らが見出した難治性疾患である膵臓癌の転移・悪性化に関与する転写因子 BACH1 の mRNA 配列を標的とし、膵臓癌悪性化抑制に資する CANA の構造設計・合成ならびに in vitro での標的 mRNA との複合体形成能・複合体安定性や RNase H を活用した触媒的 RNA 切断機能、特にジャンクション構造ならびに複合体安定性が切断効率におよぼす影響を詳細に検討したので報告する。

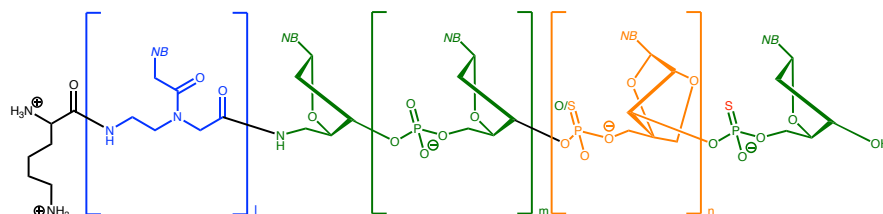


Fig. 1. Structure of Chimeric Nucleic Acids (CANAs). (NB: Nucleobase)

Development of Chimeric Artificial Nucleic Acids (CANA) with Catalytic Target RNA Cleavage Functions Toward the COVID-19 Treatments V: Effects of junction positions and complex stabilities on cleavage efficiencies

(¹Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University, ² Graduate School of Science, Nagoya University, ³International Research Institute of Disaster Science, Tohoku University) ○Bui Hieu Trong,¹ Kazutoshi Fujita,¹ Nozomu Ishiwata,¹ Masahito Inagaki,² Hironori Hayashi,³ Mitsuyo Matsumoto,¹ Yasuyuki Araki,¹ Eiichi Kodama,³ Takehiko Wada¹

Keywords: *Oligonucleotide therapeutics; Covid-19; Catalytic cleavage; RNase H; Chimeric Artificial Nucleic Acids*

Oligonucleotide therapeutics (ONTs) are considered as promising candidates for the next generation of molecular targeted drugs. However, there are drawbacks to this approach that need to be addressed. The most critical a couple of issues are 1. the reduction of side effects, the so-called “off-target effects”, and 2. the improvement of low therapeutic efficacy mainly caused by the low intracellular concentration of ONTs. To improve these issues, we have focused on a catalytic antisense strategy (CAS) which is attractive attention as RNase H mediated selective cleavage of target RNA in a catalytic manner. Unfortunately, great success results by the CAS have been very limited mainly due to low turnover numbers of catalytic cleavage of the target RNA by non-sequence and non-site specific endonuclease RNase H. To increase the turnover number of RNase H-mediated catalytic target RNA cleavage cycle, we have proposed Chimeric Artificial Nucleic Acids (CANAs), which possess a precise target RNA position-selective cleavage function, consisting of DNA oligomer moiety conjugated with PNA oligomer moiety. The functions of CANAs, such as increasing the catalytic turnover numbers of CAS by up to 200 times compared with those of the original antisense oligomers, have been successfully demonstrated and have attracted considerable attention as a promising candidate for the next generation of CAS.

In this study, COVID-19 was selected as the therapeutic target for the CANA strategy. Although the pandemic has subsided, the number of infected people is still increasing and no effective treatment has yet been developed. Therefore we have attempted to develop the SARS-CoV-2 genome RNA targeting CANA as COVID-19 treatment. To improve the tolerance to nucleases under intracellular conditions and in vivo assays, we designed a second generation of CANAs (Fig 1) with the introduction of locked nucleic acids (LNAs) and phosphorothioate linkages. The CANA was synthesized using an automated DNA synthesizer and Fmoc solid-phase peptide synthesizer. The CANA showed higher affinities with the target RNA with precise nucleobase sequence recognition capabilities, as discussed with physical properties. Then, the RNase H-mediated target RNA cleavage experiments of CANA were investigated. The results indicated the suitable properties of CANA as a promising candidate molecular system for the CAS strategy for COVID-19 treatment.

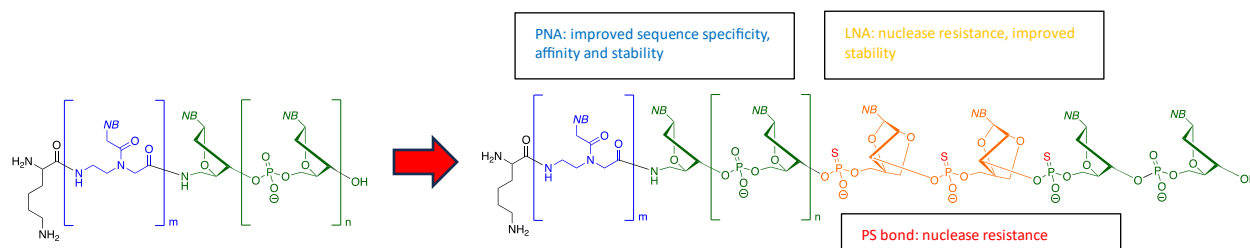


Fig 1. Structure of Chimeric Artificial Nucleic Acids (CANAs). (NB: nucleobase)

フッ素-リン結合の活性化を利用する DNA 化学合成の試み

(徳島大薬院¹) ○三原 菜那¹、井上 周也¹、田良島 典子¹、南川 典昭¹

DNA chemical synthesis utilizing P-F bond activation (¹*Graduate School of Pharmaceutical Science, Tokushima University*) ○Nana Mihara,¹ Syuya Inoue,¹ Noriko Tarashima,¹ Noriaki Minakawa¹

Since the first chemical synthesis of DNA was achieved in 1955, various synthetic methods have been developed. Among them, the solid-phase DNA synthetic method utilizing P(III)-based phosphoramidite chemistry, developed in 1983, remains the most widely used and versatile technology. However, significant innovation in this field has been limited. To address this challenge, we have explored an approach to DNA synthesis using P(V)-based phosphorofluoridate chemistry.

As a model reaction, we investigated the synthesis of thymidine dinucleotide **1**. Starting with thymidine (**2**), 3'-phosphorofluoridate monomer **3** was prepared in 4 steps. The resulting **3** was subjected to a condensation reaction with 3'-DMTr-thymidine **4** in the presence of bases. However, the chemical yield of the desired dinucleotide **1** was insufficient, achieving only 4%.

To overcome this limitation, we focused on activating the P-F bond to enhance the efficiency of the condensation reaction.

Keywords : *Oligonucleotide synthesis; Nucleic acid chemistry; Phosphorofluoridate; Phosphoramidite*

1955年に世界初のDNA化学合成が達成されて以降、さまざまな合成技術が開発されてきた。中でも、1983年に開発されたホスホロアミダイト誘導体[P(III)]を用いるDNA固相合成法は現在でも中心的なDNA化学合成法である。一方で、この分野における技術革新は限定的であり、新たな手法の開発が求められている。本研究では、ホスホロリダイト誘導体[P(V)]を用いた新しいDNA化学合成法の開発に取り組んだ。

モデル反応として、ヌクレオチドダイマー**1**の合成を試みた。チミジン(**2**)を出発物質とし、4工程にて3'-ホスホロリダイトモノマー**3**を合成した。このものを、塩基存在下、3'-DMTr-チミジン**4**と反応させたが、得られたダイマー**1**の単離収率はわずか4%であった。そこで、フッ素-リン結合の活性化により、ヌクレオチド間のカップリング反応を促進させる手法を検討した。本発表では、それらの詳細について報告する。

