

一本鎖 DNA 選択的な化学修飾の探索法開発

(東京科学大学生命理工¹) ○前田 純佳¹・村上 英太郎¹・清尾 康志¹

Developent of exploring method for single-stranded DNA selectively chemical modification
(¹*Sch. Life Sci. Tech., Science Tokyo*) ○Sumika Maeda,¹ Eitaro Murakami,¹ Kohji Seio¹

The formation of single-stranded DNA plays a crucial role in transcription and DNA repair. R-loop is a tri-stranded structure composed of single-stranded DNA and double-stranded DNA-RNA. It performs important functions *in vivo*, however its abnormal formation can cause genomic instability. Accurate detection of transiently formed single-stranded DNA, such as R-loop, is expected to identify its biological functions.

This study focuses on the difference in reactivity between single-stranded and double-stranded DNA, and aims to detect single-stranded DNA through chemical modification within cells. Wu *et al.* successfully detected single-stranded DNA by selective reaction to the glyoxal derivative N₃-kethoxal *in situ* (T. Wu *et al.*, *Nat. Methods*, **2020**, *17*, 515-523.). In preparation for the detection by chemical modification, we aimed to develop the exploring method for single-stranded DNA selective reagents. We established an exploring system by creating pseudo-single-stranded structures, and evaluated reactivity to single-stranded DNA in phosphate buffer solution(pH=7.0). We identified a single-stranded DNA-selective reagent by this evaluation system.

Keywords : *Nucleic acids chemistry; Modified base; Organic chemistry; Single-stranded DNA; R-loop*

一本鎖 DNA 形成過程は、転写や DNA 修復等において重要な役割を果たす。一本鎖 DNA 形成構造の一つである R-loop は、一本鎖 DNA と二本鎖 DNA-RNA からなる三本鎖構造であり、生体内機能を担う一方で異常形成によりゲノム不安定化を引き起こす。R-loop のように一時的に形成される一本鎖 DNA を正確に検出することは、生体内での機能解明につながると期待される。

本研究では一本鎖と二本鎖に対する反応性の違いに着目し、細胞内での化学修飾による一本鎖 DNA 検出を目指す。Wu らは、glyoxal 誘導体である N₃-kethoxal を核内で一本鎖 DNA 選択的に反応させることで、一本鎖 DNA を検出することに成功している(T. Wu *et al.*, *Nat. Methods*, **2020**, *17*, 515-523.)。このように化学修飾を用いて、より高分解能の検出法を確立することを指向し、一本鎖 DNA 選択的な反応剤の探索法開発を目的とした。今回、擬似的な一本鎖構造を作成し、pH=7.0 リン酸緩衝液中での一本鎖 DNA に対する反応性を評価する探索系を構築した。本探索系を用いた結果、一本鎖 DNA 選択的な反応剤を見出した詳細について報告する。