

・アジド修飾ウリジン3',5'-ビスリン酸とT4 RNAリガーゼIを用いたRNA 3'-末端修飾

(東農工大工) ○伊藤雷晃・北川浩平・寺正行

3'-Terminal labelling of RNA with azide-modified uridine 3',5'-bisphosphate by T4 RNA ligase I.
(Faculty of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology) ○Raiko Ito, Kohei Kitagawa, Masayuki Tera

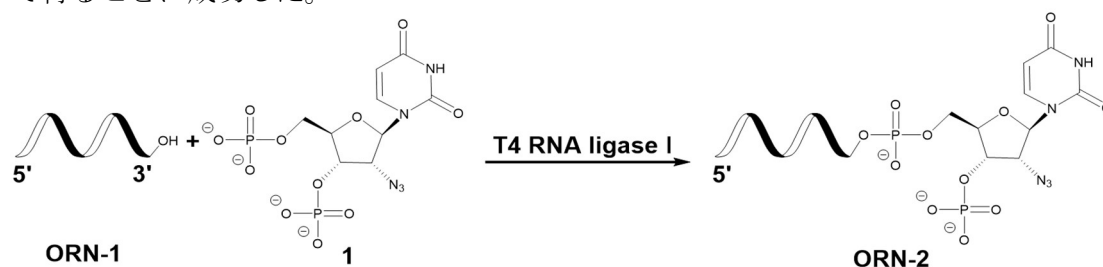
Azide group is useful for chemical modifications of biomolecules, and it forms covalent bond with strained alkynes, known as a bioorthogonal reaction. Due to the incompatibility of azide with phosphoramidite, enzymatic synthesis of azide-modified RNA Oligo (ORN) is desired. Recently a method to introduce azide-modified dinucleotides into RNA using T4 RNA ligase I. However, single azido-modified nucleotide introduction into RNA mediated by the ligase has not been reported. Thus, we report the incorporation of single azido nucleotide.

We introduced 2'-azido-2'-deoxyuridine at the 3' end of 24-mer RNA (**ORN-1**) using T4 RNA ligase I and 2'-azido-2'-deoxyuridine 3',5'-bisphosphate (**1**). The conversion yield was determined by HPLC analysis to be 85% and the resulting **ORN-2** was characterized by MALDI-MS.

Keywords: RNA Modification; Bioorthogonal Reaction; T4 RNA Ligase I; Chemical Biology; Nucleotide

【目的】アジド基は生体には存在しない官能基であり、歪みアルキンと生体直交的に共有結合を形成することができるため、生体分子の化学修飾に有用である。Oligo RNA (ORN) へのアジド基導入ではアミダイト固相合成法が適用できないため、酵素を用いた合成法が必要となる。ごく最近、T4 RNAリガーゼIを用いたアジド修飾ジヌクレオチドの導入が報告されたが¹⁾、より汎用性の高い一塩基伸長法はまだ報告例はない。そこで本研究では、ORNの3'水酸基末端に1塩基のアジド修飾ヌクレオチドを導入する方法の開発を目的とした。

【結果】2'-azido-2'-deoxyuridine-3',5'-bisphosphate (**1**) を T4 RNA リガーゼIの基質とし、24 塩基の RNA (**ORN-1**) 3'末端への伸長反応を行なった。酵素反応物を、HPLC および MALDI-MS により解析したところ、アジド修飾体である **ORN-2** を 85%の変換率で得ることに成功した。



Scheme 1. T4 RNA ligase mediated single azide-modified nucleotide elongation of RNA oligonucleotide (**ORN-1**) by using 2'-azido-2'-deoxyuridine 3',5'-bisphosphate (**1**).

【References】 1) M. E. Quelqueieu*, and L. Lannazzo* *et al.*, *Org. Lett.*, **2020**, 22, 8034-8038.