

人工核酸 L-aTNA の配列複製・転写を目指した非酵素的ライゲーションによる鋳型合成法の開発

(名大院工¹) ○沖田 ひかり¹・村山 恵司¹・浅沼 浩之¹

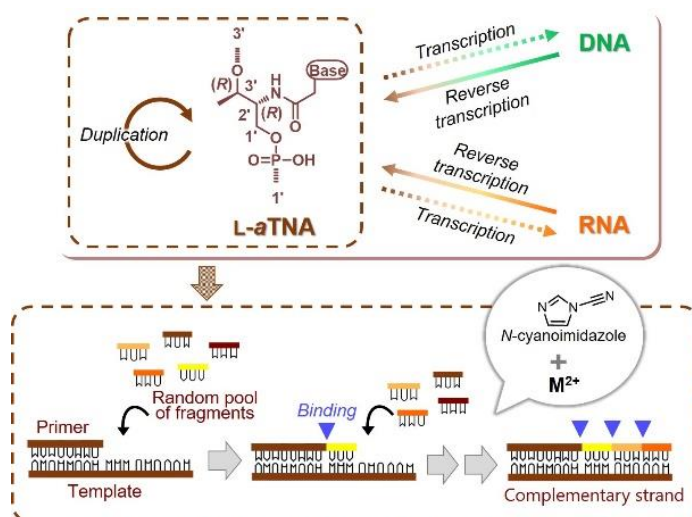
Development of template-directed synthesis by non-enzymatic chemical ligation for replication and transcription of L-aTNA (¹Graduate School of Engineering, Nagoya University) ○Hikari Okita,¹ Keiji Murayama,¹ Hiroyuki Asanuma¹

We have successfully designed various artificial nucleic acids that have acyclic scaffold instead of natural (deoxy)ribose with high nuclease resistivity. In particular, L-aTNA composed of L-threoninol can form more stable homo-duplex than that of DNA. L-aTNA also forms stable hetero-duplexes with DNA and RNA. However, beneficial enzymes such as ligase or polymerase are not available for L-aTNA due to its unnatural backbone structure. In this work, we developed template-directed synthesis of L-aTNA by non-enzymatic ligation using a condensing agent, *N*-cyanoimidazole as an alternative to polymerase. The chemical ligation of L-aTNA underwent with high efficiency, which enabled a duplication reaction of L-aTNA using a pool of random trimers as substrates. Moreover, we succeeded in transcription from DNA and RNA to L-aTNA by this pseudo primer extension reaction.

Keywords : Chemical ligation; Artificial nucleic acid; Template-directed synthesis; DNA

当研究室ではこれまでに、酵素分解耐性の獲得を目指し、DNA のリボース骨格を改変した非環状型人工核酸を創出してきた。中でも L-threoninol を主骨格とする L-aTNA は、DNA よりも非常に安定なホモ二重鎖を形成し、かつ相補的な DNA や RNA とヘテロな二重鎖を形成することが可能である¹⁾。しかしながら、L-aTNA はリガーゼやポリメラーゼ等の有用な酵素にも認識されないため、配列複製や転写反応をはじめとする酵素反応へ応用することが困難であった。そこで、本研究では酵素の代わりに縮合剤 *N*-cyanoimidazole²⁾

を用いて、非酵素的ライゲーション法による L-aTNA の鋳型合成法の開発を行った。その結果、L-aTNA の化学ライゲーションが極めて高効率で進行することを見出し、3-mer の L-aTNA のランダム配列プールを用いた配列複製を達成した。更にこの手法を応用することで、DNA や RNA の配列情報を L-aTNA 配列へ転写することにも成功した。



1) K. Murayama, H. Kashida, H. Asanuma, *Chem. Commun.* **2015**, 51, 6500.

2) E. Kanaya, H. Yanagawa, *Biochemistry* **1986**, 25, 7423.