

アジドメチルウリジン 3',5'-ビスリン酸の合成と機能性評価

(東農工大工) ○指田 万奈帆・伊藤 雷晃・寺 正行

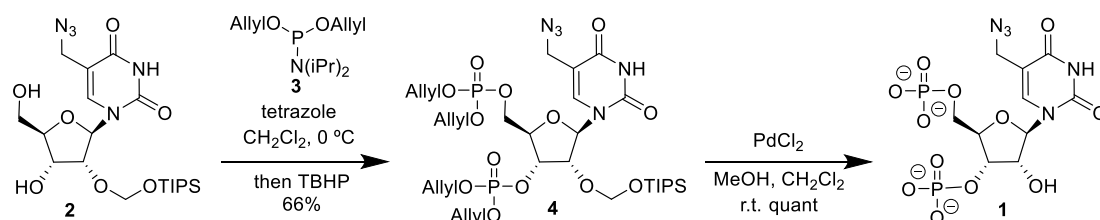
Synthesis and evaluation of azidomethyluridine 3',5'-bisphosphate. (*Faculty of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology*) ○Manaho Sashida, Raiko Ito, Masayuki Tera

Azide groups are used for chemical modification of biomolecules because they bioorthogonally ligate with alkynes under molecular crowding condition. Azido-modified RNA is a useful tool for localization analysis by fluorescent labeling and for functionalization by site-specific cross-linking with the other biomolecules. Due to the instability of azide groups to reducing reagent, they are not compatible with the conventional solid-phase RNA synthesis. In this study, azidomethyluridine 3',5'-bisphosphate (**1**), having azide group in the opposite of Watson-Click face, was synthesized as a substrate for T4 RNA ligase I¹⁾. First, 2'-OH protected azidomethyluridine (**2**) was synthesized. We then attempted the dehydrative condensation reaction of **2** with phosphate diesters (P (V)), but no desired product was obtained. The protected amidite **3** (P(III)) was then reacted with **2** and subsequently oxidized by TBHP without isolation to give phosphate triester **4** to avoid Staudinger reaction. The allyl groups of **4** were deprotected by PdCl₂ to give the desired bisphosphate **1**. The elongation reaction of RNAs with **1** and T4 RNA ligase I will be also reported.

Keywords : Bioorthogonal Reaction; Chemical biology; nucleotide analog; RNA modification; T4 RNA ligase I

【目的】アジド基は分子夾雑環境下において、生体直交的にアルキンと付加環化反応するため、生体分子の化学修飾に用いられる。アジド修飾 RNA は、蛍光標識による局在解析や、異種生体分子との部位特異的な架橋による機能付与など、有用なツールとなる。しかし、アジド基は還元されやすく通常の固相合成法では、アジド修飾 RNA の合成は困難である。本研究では、アジド修飾アナログとして Watson-Crick 塩基対の形成に干渉しないと考えられる塩基の 5 位にアジドメチル基を導入した azidomethyluridine 3',5'-bisphosphate (**1**)を T4 RNA ligase I¹⁾の基質として設計した。

【結果】最初にメチルウリジンの 5 位にアジド基を導入し、2'位を選択的に保護したアジド修飾ウリジン **2**を得た。続いて **2** に対し、5 価のリン酸ジエステルとの脱水縮合反応を検討したが、目的物を得ることはできなかった。そこで、アミダイト **3** に対する水酸基とアジド基との反応速度の差を利用することで **4** を合成した。その結果、**2** の 3'位、5'位の水酸基との反応が選択的に進行し、その後単離することなく TBHP により酸化し、5 価のビスリン酸トリエステル **4** を得た (Scheme 1)。**4** に対して PdCl₂ を作用させることでアリル基を脱保護し、同時に生じた塩酸により TOM 基が脱保護され、目的とする **1** を合成した。**1** を T4 RNA ligase Iの基質として RNA の 3'末端への伸長反応を検討したので、合わせて報告する。



Scheme 1. azidomethyluridine 3',5'-bisphosphate (**1**)の合成

参考文献 1) J. Kowalska et al., *Chem. Eur. J.*, **2021**, 27, 12190 -12197.