

## 1,2-ジオールを含む塩基修飾ヌクレオシド三リン酸の合成とポリメラーゼ反応における基質特性評価

(日大院総合基<sup>1</sup>・医薬健栄研<sup>2</sup>・阪大院薬<sup>3</sup>・阪大先端<sup>4</sup>) ○加藤麗一<sup>1</sup>・田尻康起<sup>1</sup>・永谷恵梨香<sup>1</sup>・星野秀和<sup>2</sup>・笠原勇矢<sup>2,3</sup>・小比賀聡<sup>3,2,4</sup>・藤田博仁<sup>1</sup>・栗原正靖<sup>1</sup>

Synthesis of base-modified nucleoside triphosphates containing 1,2-diol and their substrate properties in polymerase reactions (<sup>1</sup>*Nihon University*, <sup>2</sup>*NIBIOHN*, <sup>3</sup>*Graduate School of Pharmaceutical Sciences Osaka University*, <sup>4</sup>*Institute for Open and Transdisciplinary Research Initiatives Osaka University*) ○Katou Rei,<sup>1</sup> Tajiri Kouki,<sup>1</sup> Nagatani Erika,<sup>1</sup> Hoshino Hidekazu,<sup>2</sup> Kasahara Yuuya,<sup>2,3</sup> Obika Satoshi,<sup>3,2,4</sup> Fujita Hiroto,<sup>1</sup> Kuwahara Masayasu<sup>1</sup>

RNA aptamers are more susceptible to hydrolysis due to deprotonation of the 2'-hydroxyl group (2'-OH) by ribonucleases, so DNA aptamers are more stable *in vivo*<sup>1</sup>. Meanwhile, differences in sugar puckering caused by the presence or absence of 2'-OH affect the secondary structure of oligonucleotide strand, and thereby RNA aptamers can exhibit high binding affinity to positively charged small molecules due to the narrow and deep grooves in RNA helices<sup>2</sup>. In general, it is difficult to acquire high-affinity aptamers targeting small molecules because they have fewer functional groups than macromolecules such as proteins<sup>3</sup>. In our previous studies, we obtained a modified DNA aptamer with modified uracil bases containing N<sup>6</sup>-aminoethyladenine at the C5 position by selection, and then demonstrated that the introduction of the modified group enhances the affinity for small-molecule targets<sup>4</sup>. In this study, 2'-deoxyuridine-5'-triphosphate with N<sup>6</sup>-aminoethyladenine bearing a 1,2-diol at the N<sup>9</sup> position was newly designed and synthesized to improve target affinity by forming inter-/intra-molecular hydrogen bonds. In this presentation, we will also report on the verification of the introduction efficiency of modified nucleotides into the DNA strand by primer extension reaction using several polymerase mutants<sup>5</sup> derived from *KOD* DNA polymerase.

**Keywords :** 1,2-Diol, Base-modified nucleoside triphosphate, Polymerase

RNA アプタマーはリボヌクレアーゼによる 2'位の水酸基 (2'-OH) の脱プロトン化により加水分解されやすいので、DNA アプタマーの方が生体内での安定性は高い<sup>1</sup>。一方、2'-OH の有無によって生じる糖のパッカリングの違いがヌクレオチド鎖の 2 次構造に影響を及ぼし、RNA アプタマーでは主溝が狭く深くなることで、正電荷の低分子に対して高い結合能を示すことがある<sup>2</sup>。一般に、低分子は、タンパク質などの高分子と比較して官能基が少ないことなどから、それを標的とする高親和性アプタマーを得ることは難しいとされている<sup>3</sup>。これまでの研究で、我々はウラシル塩基の C5 位に N<sup>6</sup>-アミノエチルアデニンを含む修飾核酸塩基を導入した修飾 DNA アプタマーをセレクションにより取得し、修飾基導入による低分子標的に対する親和性増強効果を示した<sup>4</sup>。本研究では、分子間および分子内における水素結合形成による標的親和性の向上を狙って、1,2-ジオールを N<sup>9</sup>位にもつ N<sup>6</sup>-アミノエチルアデニンを修飾した 2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸を新たに設計・合成した。本発表では、さらに、*KOD* DNA ポリメラーゼ由来の幾つかの改変ポリメラーゼ<sup>5</sup>を用いたプライマー伸長反応により修飾ヌクレオチドの DNA 鎖への導入効率等の検証を行ったので、合わせて報告する予定である。

(1) Sun H, Zu Y. *Molecules* **2015**, 20, 11959. (2) Thomas JR, Hergenrother PJ, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 1171. (3) McKeague M., Derosa MC. *J. Nucleic Acids.* **2012**, 2012, 748913. (4) Imaizumi Y *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 9412. (5) Hoshino H *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 142, 21530.