

## 化学修飾プライマーとライゲーション反応を用いたランダム配列を有する DNA ライブラリーの構築

(名大理<sup>1</sup>・名大院理<sup>2</sup>・名大物国センター<sup>3</sup>・iGCORE<sup>4</sup>) ○高橋南帆<sup>1</sup>・野村浩平<sup>2</sup>・恩田馨<sup>2</sup>・鈴木大輔<sup>2</sup>・村瀬裕貴<sup>2</sup>・稲垣雅仁<sup>2</sup>・平岡陽花<sup>2</sup>・阿部奈保子<sup>2</sup>・橋谷文貴<sup>3</sup>・木村康明<sup>2</sup>・阿部洋<sup>2,3,4</sup>

Construction of DNA libraries with random sequences using chemically modified primers and ligation reactions (<sup>1</sup>Graduate School of Science, Nagoya University, <sup>2</sup>Graduate School of Science, Nagoya University, <sup>3</sup>Nagoya University, Research Center for Materials Science <sup>4</sup>iGCORE) ○Naho Takahashi<sup>1</sup>, Kohei Nomura<sup>2</sup>, Kaoru Onda<sup>2</sup>, Daisuke Suzuki<sup>2</sup>, Yuuki Murase<sup>2</sup>, Masahito Inagaki<sup>2</sup>, Haruka Hiraoka<sup>2</sup>, Naoko Abe<sup>2</sup>, Fumitaka Hashiya<sup>3</sup>, Yasuaki Kimura<sup>2</sup>, Hiroshi Abe<sup>2,3,4</sup>

The sequences of untranslated regions (UTRs) on the 5' and 3' sides of mRNA are thought to affect translation efficiency. Therefore, it is expected that DNA libraries with random sequences in this region are useful to perform UTR sequence screening to increase translation efficiency. However, existing methods for preparing DNA libraries amplify DNA containing random sequences by PCR, resulting in a loss of diversity in the library. To avoid this problem, we attempted to construct a library that does not require PCR amplification by highly efficient DNA ligation. By using primers with a photocleavable protecting group in the phosphate moiety, we successfully prepared a fragment with an arbitrary sticky end. Ligation reactions were performed using these fragments and DNA strands with random sequences, and libraries of DNA with random sequences were synthesized.

**Keywords :** nucleic acid, modified nucleic acids, ligation, library

mRNA の 5'側、3'側に存在する非翻訳領域(UTR)の配列は翻訳効率に影響を与えることが知られている。そのため、この領域にランダム配列を付与した鋳型 DNA ライブラリーの作成により、翻訳効率を上げるために最適な UTR 配列の探索が可能になると期待される。しかし、既存の DNA ライブラリーの作成法ではランダム配列を含む DNA を PCR で増幅するために、ライブラリーの多様性が失われる点が課題となっている。本研究はこれを回避するため、高効率な DNA のライゲーションを行い、PCR 増幅を不要とするライブラリーの構築を試みた。具体的には、光分解性保護基をリン酸部に有するプライマーを用いることで、任意の接着末端を持った断片を作成することに成功した。また、作成した断片とランダム配列をもつ DNA 鎖とのライゲーション反応を行い、ランダム配列を持つ DNA のライブラリーを作成した。

