

## DNA 鎖中のチミン特異的な光クロスリンク反応に向けた光架橋素子の開発

(北陸先端科学技術大学院大学 バイオ機能医工学研究領域) ○里中慧伊太・三原純一・Sethi Siddhant・藤本健造<sup>1</sup>

Development of photo-crosslinking base for thymine-specific photocrosslinking in DNA strand (Biofunctional Medical Engineering Research Area, Japan Advanced Institute of Science and Technology)

○Eita Satonaka, Jun-ichi Mihara, Siddhant Sethi, Kenzo Fujimoto

We have been developing photocrosslinking devices that can be manipulated by light, and have shown that photoresponsive artificial nucleic acids incorporated into DNA strands exhibit position- and base-selective photocrosslinking reactions by [2+2] photoreduction with pyrimidine bases of thymine and cytosine present in DNA when irradiated with light of the required wavelength. However, 3-cyanovinylcarbazole nucleoside (<sup>CNV</sup>K), a previously used photocrosslinker, has the ability to crosslink with both thymine and cytosine,<sup>1</sup> making it difficult to accurately identify single nucleotide polymorphisms. In addition, <sup>CNV</sup>K requires UV light (366 nm) for photocrosslinking, and its phototoxicity to cells has been an obstacle to its use in living cells. In this study, we succeeded in developing 4-methylpyranocarbazole nucleoside (<sup>MEP</sup>K)<sup>2</sup>, which selectively photocrosslinks only with thymine. <sup>3</sup> MEPK has a broader  $\pi$ -conjugated base moiety than <sup>CNV</sup>K, and is less phototoxic than <sup>CNV</sup>K as it crosslinks using 400 nm. Therefore, <sup>MEP</sup>K has potential for various practical applications such as control, detection, and manipulation of nucleic acids in living cells. In the future, nucleic acid probes with <sup>MEP</sup>Ks are expected to be used to distinguish between thymine and cytosine by the presence or absence of photocross-linking and to enable accurate identification of single nucleotide polymorphisms.

**Keywords :** 4-methylpyranocarbazole; photo-crosslinking

当研究室では、核酸類を光操作できる光架橋素子を開発している。この光架橋素子を DNA 鎖に組み込んだ光応答性人工核酸は光照射により、DNA 鎖や RNA 鎖内に存在するチミンやシトシンといったピリミジン塩基と[2+2]光還元することで、位置選択的な光架橋反応を示す。実際、従来用いられていた光架橋素子 3-cyanovinylcarbazole nucleoside (<sup>CNV</sup>K)はチミンとシトシンのどちらにも架橋する性質を持つため<sup>1</sup>、一塩基多型を正確に同定することが困難であった。また、<sup>CNV</sup>K は光架橋に紫外光である 366 nm の光照射を必要とするため、細胞への光毒性が生細胞で使用する障害となっていた。当研究室では今回、チミンにのみ選択的な光架橋を示す 4-methylpyranocarbazole nucleoside (<sup>MEP</sup>K)の開発に成功した<sup>2</sup>。また、<sup>MEP</sup>K は光毒性の弱い可視光の 400 nm で光架橋することが明らかになった<sup>3</sup>。生細胞内の核酸の制御、検出、操作などの様々な用途で、より使いやすい光架橋素子の開発に成功したと考えられる。今後、今回開発した <sup>MEP</sup>K を含む核酸プローブを用いることによりチミンとシトシンを光架橋の有無で見分けられると考えられ、より正確な一塩基多型の識別が可能になると期待される。

### 参考文献

1. Y. Yoshimura, K. Fujimoto, *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 3227.
2. J. Mihara, K. Fujimoto, *Organic & Biomolecular Chem.*, **2021**, *10*, 1039.
3. J. Edahiro et al, *Biomacromolecules*, **2005**, *6*, 970.