

DNA および人工核酸 L-aTNA における銑型特異的ケミカルライゲーションの高速化

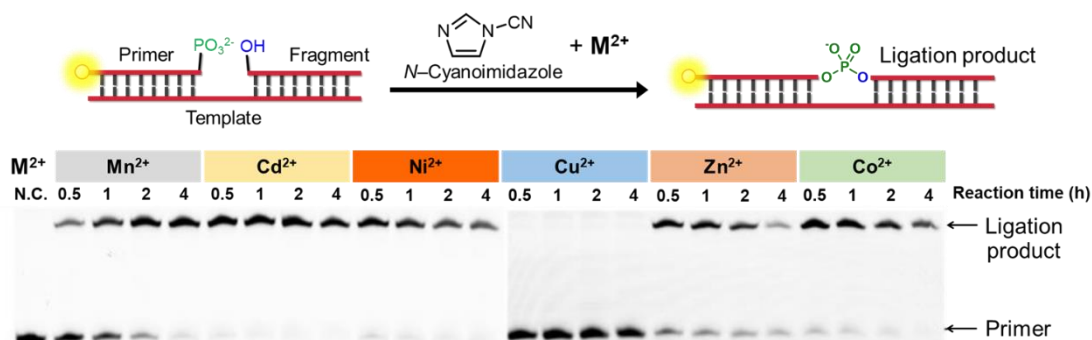
(名大院工) 村山 恵司、○近藤 修斗、沖田ひかり、浅沼 浩之

Acceleration of template-mediated chemical ligation for DNA and L-aTNA (*Graduate School of Engineering, Nagoya University*) Keiji Murayama, ○Shuto Kondo, Hikari Okita, Hiroyuki Asanuma

We have revealed that a chemical ligation of L-aTNA using *N*-cyanoimidazole and Mn^{2+} was extremely fast and effective. In contrast, the chemical ligation on DNA under the same conditions was rather slower. In this study, we investigated the effect of metal cation on the rate of chemical ligation. As a result, we found that the chemical ligation of both DNA and L-aTNA was remarkably accelerated in the presence of Cd^{2+} , Co^{2+} , and Ni^{2+} . However, precipitation of product was observed after the reaction with these metal cations. To solve this problem, we used buffer solutions for the reaction. Imidazole-HCl buffer (pH 5) suppressed the formation of precipitation without interfering with fast ligation reaction. By using these conditions, we successfully synthesized long DNA duplex from 32-mer DNA fragments.

Keywords : Chemical Ligation; Artificial Nucleic Acid; XNA; DNA

我々はこれまでに、*N*-cyanoimidazole と Mn^{2+} を用いた人工核酸 L-aTNA のケミカルライゲーション反応が極めて迅速かつ高効率に進行することを見出した¹⁾。一方で DNA に同じ手法を用いたところ、その反応速度は明らかに低いことが示された。そこで本研究では DNA のケミカルライゲーションの高速化を目指し、金属イオン種を検討した。その結果、 Mn^{2+} の代わりに Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} が存在する条件下で DNA 及び L-aTNA のケミカルライゲーション速度が大幅に向上することを見出した。しかし、これらの金属イオン存在下では、反応生成物が反応時間経過とともに沈殿を形成するためゲル電気泳動において観測できなくなる現象が見られた。反応条件を検討した結果、pH 5 のイミダゾール-塩酸バッファ中であれば反応速度を維持しつつ沈殿形成を抑制できることを明らかにした。この手法を用いて、32-mer の DNA 断片から長鎖 DNA 二重鎖を生成することに成功したので報告する。



1) K. Murayama, H. Okita, T. Kuriki, H. Asanuma, *Nat. Commun.*, **2021**, *12*, 804.