

## P305

### 修飾塩基を用いた光による枝分かれ核酸の合成

京大院工 ○藤本健造・林 誠之・齋藤 烈

【序】 枝分かれ核酸はシグナルの増殖技術において有用であり、DNA 及び mRNA の定量に用いられており、1 塩基多形(SNPs)の検出にも使用されている。しかし、多くの枝分かれ核酸は枝分かれユニットのフォスフォロアミダイト体を用いて固相合成法によって合成されたものである。一方、我々は DNA 中に 5 ビニルデオキシウリジン (vU) を導入し、鋳型 DNA 存在下、可逆的な DNA の光連結反応に成功し、既に報告している。<sup>1)</sup>しかし、vU を用いた定量的な光連結には 366 nm の光照射を 6 時間以上照射する必要があった。今回、我々はウラシル塩基の 5 位にアクリル酸を有する 5 カルボキシビニルデオキシウリジン (cU) を導入した DNA を用いて、光連結反応の改良を行い、光による枝分かれ核酸の合成に成功したので報告する。

【実験】 5-ヨードデオキシウリジンより cU アミダイトを合成し (5 steps)、フォスフォロアミダイト法により cU 含む DNA を合成した。光連結反応及び光枝分かれ核酸合成反応は PAGE 及び HPLC を用いて解析した。連結部位の構造決定は ESI-TOF MASS 解析及び NMR 解析により行った。

【結果・考察】 cU を含む DNA を 3' 末端がシトシンの DNA と 366 nm で 1 時間光照射したところ、鋳型 DNA が存在した場合、ほぼ定量的に光連結された DNA を得た。vU を含む DNA を用いた場合、定量的光連結には 6 時間以上もの光照射が必要であったので大きく反応性を向上させることに成功した。この cU を含む DNA を用いて Figure 1 の様に鋳型 DNA 存在下、光による定量的な枝分かれ核酸の合成に成功した。本手法は非酵素系遺伝子工学ツールとして有用である。

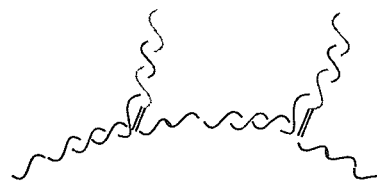


Fig. 1 Photochemically introduced branched DNA

【文献】 1) Fujimoto, K., Matsuda, S., Takahashi, N., Saito, I. *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 5646-5647 (2000).

## P306

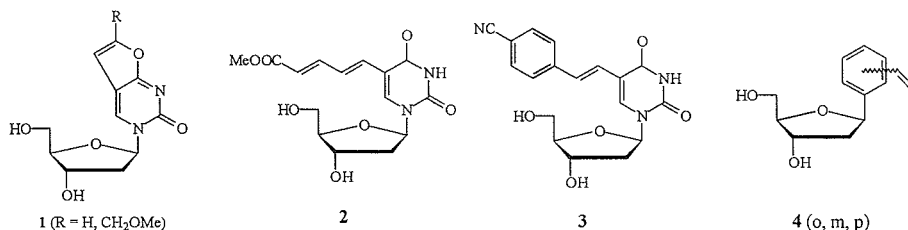
### Design and Synthesis of Novel Nucleosides and their Incorporation into DNA

O Heike Heckroth and Isao Saito

Department of Synthetic Chemistry and Biological Chemistry, Kyoto University

Branched oligonucleotides (ODN's) are useful molecules for the synthesis of polyfunctional starburst DNA oligomers. While many methods are known for template-directed chemical ligation of ODN's, only a few methods for photoinduced ligation have been demonstrated.<sup>1</sup> The photoligation can be used as a tool for DNA-engineering as well as for photoregulated diagnostic and therapeutic agents. For practical applications high ligation yields as well as an absorbance at long wavelength is important.

In connection to recent works<sup>2</sup> four novel unnatural nucleobases (1-4) with an UV-absorption  $\geq 300$  nm have been synthesized and incorporated into DNA. The photochemical behaviour of these ODN's was investigated.



1) J. R. Lewis, P. S. Hanawalt, *Nature* **1982**, 298, 393; J. Liu, J.-S. Taylor, *Nucleic Acids Res.* **1998**, 26, 3300.

2) K. Fujimoto, S. Matsuda, N. Takahashi, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 5646; K. Fujimoto, N. Ogawa, M. Hayashi, S. Matsuda, I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, in press.