

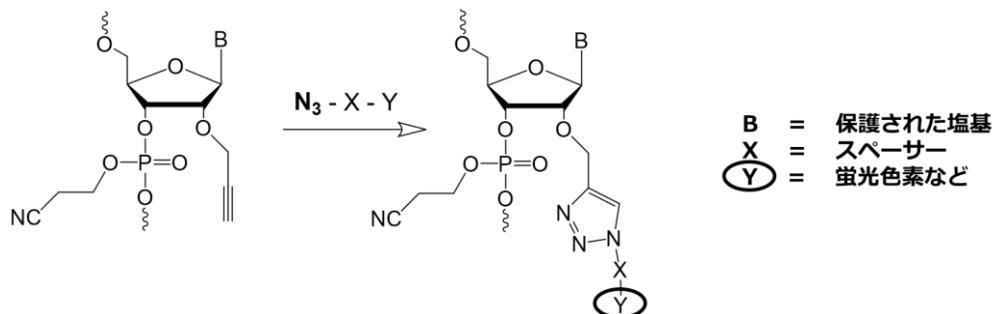
核酸合成用試薬

CombiClickTM: (組み合わせで選べるクリックケミストリー)

- 2'-O-プロパルギル アミダイトと固相合成用支持担体
- 3'-O-プロパルギル アミダイトと固相合成用支持担体
- 2'-O-ブチニアミダイトと固相合成用支持担体
- 核酸標識用のアジド化合物（タグ標識、蛍光標識）

CombiClickTM: 汎用性の高い核酸標識技術

- クリックケミストリーは、2002年にシャープレス等によって開発された方法で、蛍光色素、消光剤などのレポーターモノマー、脂溶性リガンドなどを、核酸の中に導入することができる汎用性の高いツールです。
- CombiClickTMは、ChemGenes の登録商標です。固相合成用支持担体をベースとしてアジド化合物とのクリック反応を行うことで、効率的に標識化合物を導入することができます。（Scheme 1）

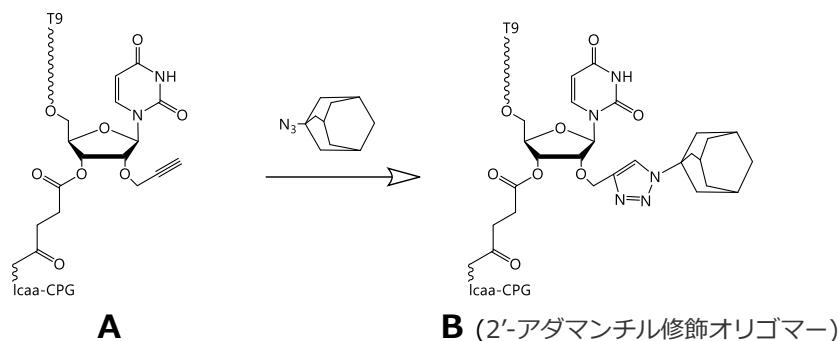


Scheme 1: 2'-O-プロパルギル基を用いた CombiClickTM反応

- CombiClickTMでは、2'-O-プロパルギル基、3'-O-プロパルギル基を核酸の好きな場所に導入して、それを足場としてクリック反応で各種分子をつける2段階で行います。
- ChemGenes では、種々の色素を効率的にほぼ定量的に（95-98%の収率）で核酸に導入する方法を開発しました。
- ChemGenes では、2'-O-プロパルギル基をビルディングブロックとする化合物を 20 種類以上と、数種類のアジド修飾の発色団やリガンドを CombiClickTM用に開発しました。
- ChemGenes の CombiClickTMの方法では、プロパルギル基とアジド化合物の組み合わせによって、核酸の 3'-あるいは 5'-末端でも、また、オリゴの中にでも、レポーター分子を好きな場所への修飾が可能です。
- CombiClickTMの大きなメリットは、レポーター分子は糖の 2'-または 3'-につけることができることです。この部分は、塩基対形成に影響することは少なく、ハイブリダイゼーションのプロセスへの影響を最小限にできます。

【検証事例】分析データが示す CombiClick™テクノロジーの高い効果

- テストサンプルとして、1-アダマンチルアジドの 2'-O-プロパルギルウリジンを含むオリゴヌクレオチド(T9rU, Scheme 2)への導入を行いました。アダマンタンの誘導体は医薬品としても使われ、オリゴヌクレオチドの細胞への取り込みを促進させる脂溶性リガンドとして用いられています。



Scheme 2: 2'-O-プロパルギルウリジンと 1-アダマンチルアジドの CombiClick™反応

- オーバーナイトでの反応後、2'-アダマンチル修飾オリゴマーBが定量的に得られたことを、ESI MS 分析によって確認しました。(Fig1、Fig2)

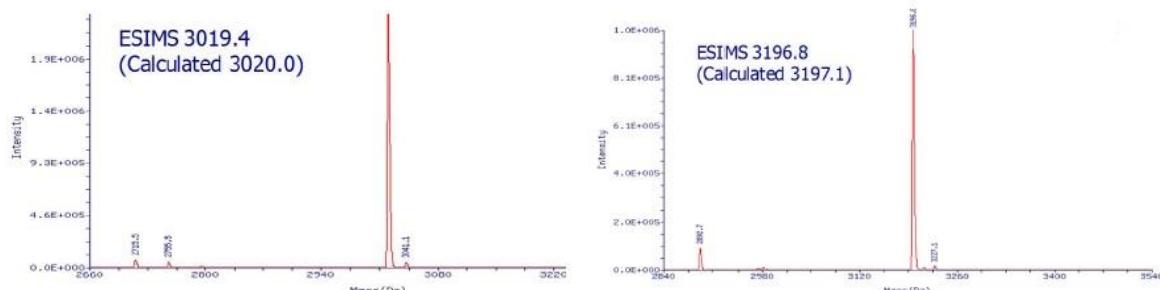


Fig 1: クリック反応前の T9-2'-O-プロパルギル-rU オリゴ **Fig 2:** クリック反応後の T9-2'-O-プロパルギル-rU オリゴ

- さらに、反応時間をオーバーナイトから 2 時間に減らし、アジド化合物を 10 当量から 5 当量に減らしたとしても、生成物 B の収量が減ることはありませんでした。これは、CombiClick 優れた効果を示しています。

References:

- Rostovtsev, V. V.; Green, L.G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Agnew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 2596-2599.
- Raza, S. K.; Srivastava, S. C. 'Synthesis of propargyl modified nucleosides and phosphoramidites and their incorporation into oligos' **WO 1995018139 A1**.
- Manohoran, M.; Tivel, K. L.; Cook, P. D. *Tet. Lett.* **1995**, 36, 3651-3654.
- Rule, G.S.; Frim, J.; Thompson, J. E.; Lepock, J. R.; Kruuv, J. *Cryobiology*, **1978**, 15, 408-414.