

3脚型キノン-シアニン蛍光色素の核酸構造認識を制御するための化学修飾

○村岡優香¹・安原優²・岩井まり奈²・坂本隆^{1,2} (¹和歌山大院シス工、²和歌山大シス工)

Chemical modification of tripodal quinone-cyanine fluorescent dye for regulating the recognition of nucleic acids structure (Graduate School of Systems Engineering, Wakayama University¹, Faculty of Systems Engineering, Wakayama University²) MURAOKA, Yuka¹; YASUHARA, Yu²; IWAI, Marina²; SAKAMOTO, Takashi^{1,2}

4重鎖 (G4) 核酸の蛍光イメージング技術は、細胞内における G4 核酸の働きを理解する上で有効であり、これまでにさまざまな G4 核酸検出用の蛍光プローブが開発されてきている。最近我々は3つの *N*-メチルベンゾチアゾリウムカチオン (MeBT) を持つ3脚型キノン-シアニン色素 (QCy(MeBT)₃) が、dsDNA および G4 DNA に対して異なる波長の蛍光で OFF/ON 応答し、生細胞内の dsDNA と G4 DNA を色分けイメージングできるユニークな蛍光プローブであることを見出した¹⁾。しかし、その構造と蛍光プローブとしての機能の相関は明らかではなく、プローブの化学構造の最適化には至っていなかった。

本研究では、この QCy(MeBT)₃ の構造と機能の相関を明らかにし、その核酸構造認識能を制御することを目的に、ベンゾチアゾリウムカチオンの N3 位に種々の官能基を導入した3脚型キノン-シアニン色素の誘導体 (図1、QCy(RBT)₃) を設計・合成した。また、QCy(RBT)₃ の dsDNA と G4 DNA に対する蛍光応答を評価することで、化学修飾による核酸構造認識制御効果を検証した。

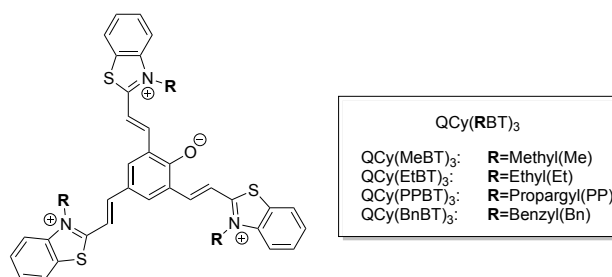


図1. 合成した3脚型キノン-シアニン蛍光色素の構造

結果、N3位に導入した官能基のサイズの増大とともに、dsDNA に対する蛍光強度増加倍率の低下および、G4 DNA に対する蛍光強度増加倍率の増加が見られ、この位置にバルキーな官能基を導入することで dsDNA に対する結合親和性を抑制でき、G4 DNA に対する結合選択性を制御できる可能性が示された。蛍光滴定により各 DNA に対する相互作用の強さを比較した結果、導入した官能基のサイズの増大とともに、dsDNA に対する結合親和性の低下、および G4 DNA に対する結合親和性の増大がみられた。このことから、ベンゾチアゾリウムカチオンの N3 位近傍の化学構造が、dsDNA との結合に大きく影響することが示唆され、この位置への官能基修飾により G4 DNA への結合の選択性を制御できることが明らかとなった。また、N3 位にベンジル基を導入した QCy(BnBT)₃ では、G4 DNA 添加時に 790 nm 付近にピークトップを持つ蛍光が顕著に増加し、QCy(MeBT)₃ の蛍光応答に比べて大幅なレッドシフト ($\Delta\lambda \sim 70$ nm) が観測され、N3 位への官能基導入により蛍光波長の制御が可能であることが示された。さらに QCy(BnBT)₃ は大幅な蛍光増強が見られたため、有望な G4 DNA 検出プローブであることが示唆された。そこで、細胞内 G4 核酸検出蛍光プローブとして機能するかを検証するために、HeLa 細胞に QCy(BnBT)₃ を添加し蛍光顕微鏡観察を行なった結果、生細胞内でも G4 DNA のみに対し蛍光を示したことから、生細胞内 G4 核酸検出プローブとして機能することが明らかとなった。

1) T. Sakamoto, Z. Yu, Y. Otani, *Anal. Chem.*, **2022**, 94(10), 4269–4276.