

D3A 型キノン-シアニン蛍光色素の核酸認識に与えるアクセプター構造の影響

○坂本 隆^{1,2}・村岡 優香¹・于 ゾウ慧²・川竹 万柚子² (1 和歌山大院シス工、² 和歌山大シス工)

The effect of acceptor structure on the nucleic acid recognition of D3A-type quinone-cyanine fluorescent dyes (Graduate School of Systems Engineering, Wakayama University¹, Faculty of Systems Engineering, Wakayama University²) SAKAMOTO, Takashi^{1,2}; MURAOKA, Yuka¹; YU, Zehui²; KAWATAKE, Mayuko²

4重鎖 (G4) DNA に代表される非標準的な核酸構造は、遺伝子発現の制御や疾患に関わることが指摘され、これらの生物学的意義や疾患との関連に注目が集まっている。また、G4 構造をとる RNA (G4 RNA) が細胞内に存在することも明らかとなり、G4 核酸の機能解明は生命科学研究の大きなターゲットの一つとなっている。G4 核酸構造は動的であり、かつ局所的に存在すると考えられる。そのため、これらの機能解明には、G4 核酸を生細胞内で直接イメージングできる蛍光分子プローブが重要な役割を果たすと期待されている。最近、我々は2重鎖 DNA (dsDNA) と G4 DNA、それぞれに結合したときに異なる波長 (600 nm と 700 nm) の蛍光スイッチオン応答を示す、1 ドナー 3 アクセプター (D3A) 型のキノン-シアニン蛍光色素 QCy(MeBT)₃ の開発に成功した。^{1,2} QCy(MeBT)₃ は細胞内の dsDNA と G4 DNA を色分け蛍光検出できる優れた蛍光イメージングプローブではあるが、一方で G4 DNA に対するリガンドとしては、親和性は高いものの ($K_D: 10^{-8} \sim 10^{-7} M$)、その選択性は低いと言わざるを得ない。dsDNA への結合のみを阻害することができれば、G4 DNA に対する高親和性・高選択的リガンドとしての利用できる可能性がある。本研究では、QCy(MeBT)₃ 内に3つ含まれるアクセプター部位 (MeBT (N-メチルベンゾチアゾリウムカチオン)) の構造に着目し、この構造を変化させることによる G4 DNA に対する選択性の向上を目指した。

QCy(MeBT)₃ と dsDNA との複合体のドッキングシミュレーションの結果 (図 1 左) から、3つの MeBTのうち2つが dsDNA のマイナーグループに嵌まり込むことで安定化することが示され、MeBT の化学構造の改変により dsDNA への結合のみを阻害できる可能性が示された。そこで、QCy(MeBT)₃ の MeBT の化学構造を変更した種々の G4 リガンド (図 1 右) を合成し、蛍光強度の変化を指標にその結合選択性を評価した。結果、ベンゾチアゾールの N3 位に種々の官能基を導入した QCy(RBT)₃ の場合、導入した官能基のサイズが大きくなるに従って dsDNA に対する蛍光応答が小さくなり、Bn、2NM では蛍光応答がほぼ見られなくなった。一方で G4 DNA に対する蛍光応答では Bn でも 500 倍以上の蛍光強度増加が見られ、G4 DNA に対して非常に高い選択性で蛍光応答を示すことが明らかとなった。アクセプターとしてジフェニルチアゾリウムカチオン (DPT) を採用した場合の結果も合わせて議論する。

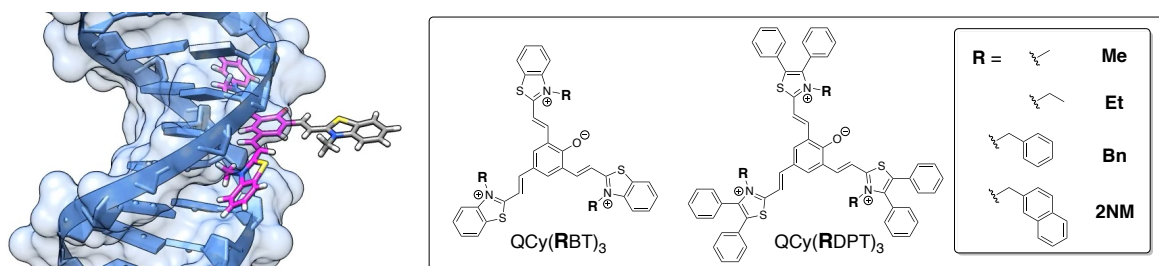


図 1. QCy(MeBT)₃ と dsDNA のドッキングシミュレーションの結果 (左) と合成した QCy(MeBT)₃ 誘導体の化学構造 (右)。

1. Takashi Sakamoto, Zehui Yu, Yuto Otani, *Analytical Chemistry*, 94(10), 4269–4276 (2022).
2. Takashi Sakamoto, Zehui Yu, *Chemistry Letters*, 51(12), 1139–1142 (2022).