

DNA-色素集合体による DNA 構造転移の蛍光識別

～蛍光 DNA プローブの開発を目指して～

工学研究科 応用化学専攻

◎M2 おおさこりょう た 大迫 龍太、准教授 なかむらみつ のぶ 中村光伸

キーワード

DNA, 構造転移, 色素集合体, ピレン, エキシマー蛍光

研究概要

本研究では dGC 繰り返し塩基配列の中央にリンカーの異なるピレンを複数修飾させた DNA を合成し(Figure 1)、塩濃度変化による DNA の右巻き二重らせん (B 型) から左巻き二重らせん (Z 型) への構造転移で誘起されるピレン集合体の配向変化および蛍光挙動を紫外・可視吸収、蛍光、円偏光二色性(CD)スペクトルにより調べた。

合成した DNA の CD スペクトルには、250 nm~300 nm に DNA の CD シグナルが観察され塩濃度の増加による B-Z 構造転移が確認され、300 nm~370 nm に現れるピレン集合体に起因する CD シグナルの変化も観察された。また、蛍光スペクトルにはピレンのモノマー蛍光だけでなくエキシマー蛍光も観察され、塩濃度により、それらの蛍光強度が変化したことから(Figure 2)、DNA の構造転移を CD だけでなく蛍光によって識別できることが明らかになった。

DNA1: 5'-CGC GCG Py CGC GCG-3'
DNA2: 5'-CGC GCG PyPy CGC GCG-3'
DNA3: 5'-CGC GCG PyPyPy CGC GCG-3'
DNA4: 5'-CGC GCG PyPyPyPy CGC GCG-3'

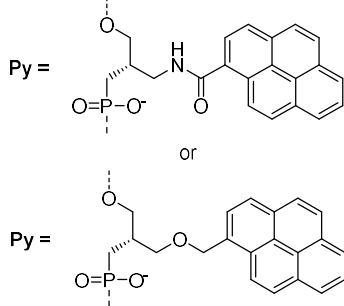


Figure 1. Sequences of pyrene modified DNAs.

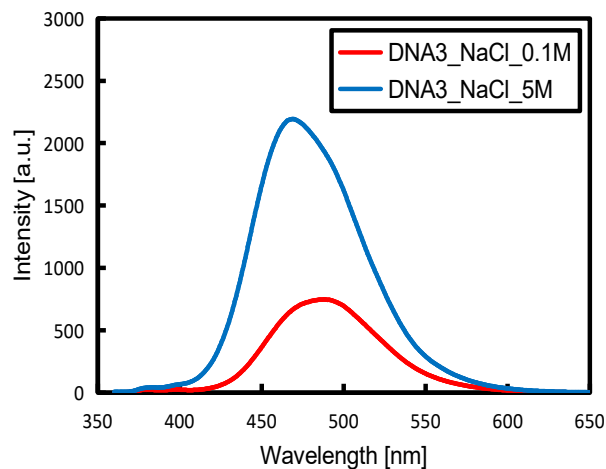


Figure 2. Fluorescence spectra of DNA3.

アピールポイント

DNA はイオン強度、pH、低分子等の環境変化 (外部刺激) に応答して右巻き二重螺旋 (B 型構造) から左巻き二重螺旋だけでなく三重螺旋、四重螺旋といった非 B 型構造へ動的に変化する。生体内でも外部刺激による構造転移で非 B 型構造が形成され、遺伝子複製や疾患発症に関与していることが示唆されている。それらを解明するためには細胞内の非 B 型核酸の形成場所の特定や動態を観察できる蛍光プローブが必要である。本研究の DNA-色素集合体を DNA-PAINT (DNA Points Accumulation for Imaging in Nanoscale Topography) 法によるバイオイメージング用の蛍光プローブへの応用を目指している。