

DNA 伸長酵素を用いた高感度蛍光プローブの開発

(北大院生命¹・北大電子研²・北大 GI-CoRE³) ○岡田 直大¹・与那嶺 雄介^{2,3}・三友 秀之^{2,3}・居城 邦治^{2,3}

Development of a highly sensitive DNA-based fluorescent probe using DNA elongation enzyme (¹Graduate School of Life Science, Hokkaido University, ²Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University, ³Global Institution for Collaborative Research and Education, Hokkaido University) ○Naohiro Okada,¹ Yusuke Yonamine,^{2,3} Hideyuki Mitomo,^{2,3} Kuniharu Ijio^{2,3}

Fluorescent probes are used in a wide range of research fields. The signal of the fluorescent probes needs to be enhanced further to detect an extremely small amount of target or to make cell sorting with a fluorescence-activated cell sorter (FACS) more clearly. Recent studies have developed synthetic-polymer-based fluorescent probes with high sensitivity, however, the system can cause loss of water solubility due to the high hydrophobicity and concentration quenching due to high density of the fluorescent dye¹. In this study, we aim to develop a highly sensitive fluorescent probe that uses a long-chain DNA elongated from cell surface by a DNA elongation enzyme (Klenow fragment exo (-)²) to increase the density of intercalated fluorescent dyes. DNA shows high solubility in water and biocompatibility, suppressing non-specific interaction. Furthermore, the concentration quenching can be avoided due to the partitioned intercalation. Specifically, we immobilized a streptavidin-DNA complex on biotinylated cells and detected a strong fluorescent signal from the cells by elongating the DNA with the enzyme and fluorescent staining.

Keywords: fluorescent probes; fluorescent dye; DNA; DNA polymerase

蛍光プローブは広範囲の研究分野で利用されている。蛍光強度を増強できれば、極微量の標的の検出や、蛍光検出フローサイトメーター（FACS）での選別を明確に行える。近年、合成高分子を利用した高感度蛍光プローブが開発されているが、疎水性による水溶性の低下や、濃度消光による蛍光シグナルの低下が懸念される¹。本研究では、DNA 伸長酵素（クレノウ断片 exo(-)）²を用いて、細胞表面から伸長した長鎖 DNA に、蛍光色素をインターカレートして高密度化した蛍光プローブを開発する。DNA は高い水溶性と生体適合性を有した生体高分子である。また、塩基対のスタッキング構造に挿入された蛍光色素は、仕切られた状態で配置され濃度消光が起きないため高い蛍光シグナルを得ることが期待できる。本研究では、ビオチン化した細胞に Streptavidin-DNA 複合体を加え、細胞表面に DNA を提示させた後、DNA 伸長反応を行い蛍光染色することで (Fig.)、強い蛍光シグナルを検出することに成功した。

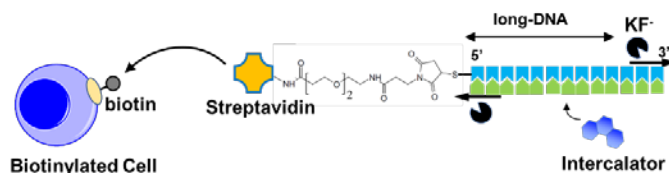


Fig. Schematic diagram of a highly sensitive DNA-based fluorescent probe using DNA elongation enzyme.

1) H. Gao et al., *Molecules*. **2018**, 23, 419. 2) A. Tanaka et al., *Colloids. Surf. A*. **2006**, 284, 246–249.