

タンパク質を分子内励起光源とした効率的な分子内エネルギー移動

(関大化学生命工) ○南出 悠貴・谷本 晃一・仁木 智哉・田花 汐理・高野 史章・葛谷 明紀

Efficient Intramolecular Energy Transmission along DNA from Luciferase as intramolecular Excitation Energy Source. (*Department of Chemistry and Materials Engineering, Kansai University*) ○Yuki Minamide, Koichi Tanimoto, Tomoya Niki, Shiori Tabana Fumiaki Takano, Akinori Kuzuya

We have developed a bioluminescence resonance energy transfer (BRET) system on the DNA. In this system, luciferase (NanoLuc)^{1,2)} was conjugated with DNA strand and utilized as a donor. This system can transfer energy from a NanoLuc to a fluorescent dye tethered double-stranded DNA. This BRET system also has the advantage of completely suppressing the background emission from free NanoLuc. In this study, the DNA template was used as a molecular scaffold to construct donor (NanoLuc)–Mediator (FAM)–acceptor (Alexa Fluor 594) intramolecular energy transfer systems. As a result, efficient energy transfer was successfully achieved in a system in which FAM was inserted every 5 bases. We also examined a system in which a fluorescent DNA-binding molecule was used as a scaffold, and succeeded in more efficient energy transfer than the system that FAM was inserted in.

Keywords : DNA; BRET; Homo-FRET; Energy Transfer

これまでに我々は DNA の末端に発光タンパク質 (NanoLuc)^{1,2)} を結合し、その発光を蛍光色素へエネルギー移動させる生物発光共鳴エネルギー移動 (BRET) システムを開発してきた。このシステムは NanoLuc 一分子からのエネルギーを、DNA 二本鎖の末端で蛍光色素へ移動させることができる。また、この BRET システムは遊離の NanoLuc によるバックグラウンド発光を完全に抑制することができるといった利点がある。本研究ではこのシステムを活用し、DNA 足場上でドナー (NanoLuc)–メディエーター分子 (FAM)–アクセプター (Alexa Fluor 594) の Homo-FRET による効率的な分子内エネルギー移動を行った。その結果、FAM を 5 塩基ごとに精密配置した系で効率的な分子内エネルギー移動を実現した。また発光を示す DNA 結合性分子をメディエーターとした系についても検討した。この系では発光分子の精密配置が不可能であるが、FAM を挿入した系よりも効率的なエネルギー伝送効率を実現した。

1) S. Sihuai, *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, **2016**, *17*, 1704.

2) A. S. Dixon, *et al.*, *Anal. Chem.* **2016**, *11*, 400-408.