

RNA のメチル化修飾を蛍光検出する合成色素/タンパク質ハイブリッドプローブの開発

(阪大院工¹・阪大免フロ²) ○上川 拓也¹・堀 雄一郎^{1,2}・野村 佳祐¹・松木 星¹・菊地 和也^{1,2}

Development of synthetic fluorophore/protein hybrid probes for fluorescence detection of RNA methylation(¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Immunology Frontier Research Center, Osaka University) ○Takuya Kamikawa,¹ Yuichiro Hori,^{1,2} Keisuke Nomura,¹ Akari Matsuki¹, Kazuya Kikuchi^{1,2}

*N*⁶-Methylation of adenosine is well known as an important posttranscriptional modification in RNA. *N*⁶-methyladenosine (*m*⁶A) could regulate the stability and dynamics of mRNA and be associated with various diseases. Therefore, methods to analyze the amount and localization of *m*⁶A would be valuable for elucidation of the physiological functions of *m*⁶A.

We have developed protein labeling technology using PYP (photoactive yellow protein)-tag and its synthetic fluorescent probes. Using the PYP-tag based system, we previously have developed a fluorogenic probe for live cell imaging of methylated DNA.

In this study, we applied the fluorogenic probe system to detect *m*⁶A using both a synthetic fluorophore and a protein. This hybrid probe was designed to contain a PYP-tagged *m*⁶A-binding protein and a nucleic acid-binding dye, enhancing fluorescence intensity upon binding to *m*⁶A. In this meeting, molecular design strategy, RNA-binding ability, and fluorescent property of the probe will be reported.

Keywords : *N*⁶-methyladenosine (*m*⁶A); Fluorescent probe; PYP-tag; *m*⁶A binding protein

アデノシンの *N*⁶-メチル化は、重要な RNA 転写後修飾の一つとしてよく知られている。*N*⁶-メチルアデノシン (*m*⁶A) は、mRNA の安定性や動態を制御しており、様々な疾患との関連が報告されている¹⁾。そのため、*m*⁶A の多様な局在や量的変化を解析する手法は、生理機能の解明に有用である。

我々は、PYP(photoactive yellow protein) タグと合成色素を用いたタンパク質ラベリング技術を開発している。PYP タグは、紅色硫黄細菌由来の 125 アミノ酸残基からなる小さなタンパク質であり、桂皮酸誘導体などの小分子リガンドと特異的に共有結合を形成することが知られている。以前までに、本技術を用いて、メチル化 DNA と結合した際に蛍光強度が増大する発蛍光プローブを開発し、生細胞の細胞分裂過程におけるメチル化 DNA 動態の可視化を達成している²⁾。そこで本研究では、この設計戦略を応用し、*m*⁶A の蛍光検出法の構築を指向した合成色素/タンパク質ハイブリッドプローブの開発を行った。ハイブリッドプローブは、*m*⁶A 結合タンパク質に PYP タグを組み合わせた融合タンパク質と核酸と結合した際に蛍光性を回復する核酸結合色素により構成されている。本発表では、本ハイブリッドプローブの分子設計、蛍光特性および *m*⁶A を有した RNA に対する結合能について報告する。

1) T. Sun, R. Wu, L. Ming, *Biomed. Pharmacother.* **2013**, 112, 108623.

2) Y. Hori, N. Otomura, A. Nishida, M. Nishiura, M. Umeno, I. Suetake, K. Kikuchi, *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, 140, 1686.