

## 新規蛍光 G4 リガンドを用いたストレス顆粒中の G4 の検出

(千葉大院理) ○佐々木彩乃・石田俊亮・荒井孝義・飯田圭介

Detection of G-quadruplexes in Stress granules using a Novel Fluorescent G4 Ligand (Graduate School of Science, Chiba University) ○ Ayano Sasaki, Shunsuke Ishida, Takayoshi Arai, Keisuke Iida

G-quadruplex (G4) is one of the higher order structures of nucleic acids formed in guanine-rich sequences. More than 700,000 G4-forming sequences have been identified throughout the human genome, and their sequences are concentrated in gene promoters<sup>1)</sup>. Therefore, G4s are believed to play some significant roles in biological processes including gene expression. Recent study showed that exogenous G4s were formed in stress granules (SGs)<sup>2)</sup>. However, direct visualization of endogenous G4 in SGs has not been reported. In this study, we developed a new fluorescent probe Ligand **1** (Fig. 1) to visualize G4s in cells. Ligand **1** specifically binds to G4s and enabled to investigate localization of G4 in cells by fluorescent signals. With Ligand **1** as a G4 marker, we observed co-localization of G4 and SG marker in thapsigargin treated cells (as a known SG inducer). Moreover, we showed that known G4 stabilizers (so called G4 ligands; pyridostatin, RHPS4 and BRACO-19) stimulated SG through stabilization of endogenous G4 in cells.

**Keywords** : G-quadruplex; G4; G4 ligand; Fluorescent probe; Stress Granules

グアニン四重鎖 (G4) は、グアニン豊富な配列において形成される特殊な核酸の高次構造である。G4 を形成する配列はゲノム上において 70 万配列以上同定されており、さらに遺伝子のプロモーターに濃縮されていることが知られている<sup>1)</sup>。そのため G4 は、遺伝子発現をはじめとした様々な生命現象に関与すると考えられている。さらに近年、ストレス顆粒 (SG) 中に G4 が存在することが報告されているが<sup>2)</sup>、内因性の G4 を直接可視化した例は報告されていない。そこで本研究では、G4 と特異的に結合する蛍光化合物 (Ligand **1**) を開発し、細胞内の G4 を可視化できることを見出した。Ligand **1** を G4 のマーカーとして用い、SG を誘導することが知られているタプシガルギンで前処理することで、G4 が SG 中に存在する事を確認することができた。さらに、G4 を安定化する低分子化合物 (既知の G4 リガンド; pyridostatin、RHPS4、BRACO-19) により細胞を処理することで、内因性の G4 安定を介してストレス顆粒が誘導されることを見出した。

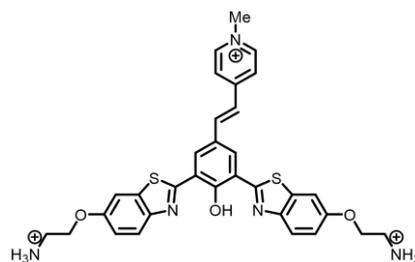


Fig. 1 Structure of G4 ligand 1

1) Varshney D.; Spiegel J.; Zyner K.; Tannahill D.; Balasubramanian S. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2020**, *21*, 459-474.

2) Byrd A. K.; Zybailov B. L.; Maddukuri L.; Gao J.; Marecki J. C.; Jaiswal M.; Bell M. R.; Griffin W. C.; Reed M. R.; Chib S.; Mackintosh S. G.; Macnicol A. M.; Baldini G. Eoff R. L.; Raney K. D. *J. Biol. Chem.* **2016**, *291*, 18041-18057.