

19F-NMR 核酸類解析に向けた光架橋プローブ開発

(北陸先端大マテリアル) ○内藤 大暉・藤本 健造

Development of DNA and RNA photo-cross-linker having 19F-NMR responsibility toward for nucleic acids analysis (*Japan Advanced Institute of Science and Technology*) ○Hiroki Naito, Kenzo Fujimoto

Nucleic acid detection is widely used in industrial fields such as agriculture, fisheries, and medicine for the diagnosis of livestock, detection of plant viruses, and detection of *Campylobacter*. Currently, radioactive isotopes are mainly used for labeling nucleic acid probes. However, due to the nature of isotopes, it is difficult to use them routinely due to many problems such as safety, stability, disposability, half-life, tolerance, and economic factors. Therefore, it is necessary to establish a highly sensitive non-radioactive nucleic acid labeling.

In this study, we focused on fluorine-labeled probes. Fluorine is not only highly bio-permeable but also has fewer side effects. It is only found in bone in vivo, so it has a low background, and it has a sensitivity of 83% of that of protons in NMR measurements, so it can be measured with a high signal-to-noise ratio. We have found that the 19F signal derived from trifluorothymidine can be significantly altered by using the photo-crosslinking reaction. On the other hand, the use of the photocrosslinking reaction for nucleic acid detection requires two non-natural nucleic acids, which makes it difficult to detect natural nucleic acids. So, we developed a novel photo-crosslinkable nucleic acid that has both photocrosslinking and nuclear magnetic response capabilities.

Keywords : *Nucleic acid detection, 19F NMR, Photo-cross-link, Artificial nucleic acid,*

核酸プローブは家畜の診断¹、植物ウイルスの検出²、カンピロバクターの検出³など、農業、水産、医学など産業分野で幅広く活用されている。その中で核酸プローブの標識には、主としてアイソトープが用いられている。しかしアイソトープはその性質上、安全性、安定性、廃棄性、半減期、許容量、経済性など多くの問題が存在するため、日常的に使用するのには困難である。そのため高感度な非放射性の核酸標識法を確立する必要がある。

本研究ではフッ素を標識としたプローブに着目した。フッ素は生体透過性が高いだけでなく、副作用も少ない点、バックグラウンドが低い点、NMR測定に関してもプロトンの83%の感度を有する点、高いS/N比で測定できる点など多くの利点がある。我々はこれまでに光架橋反応を用いることによりトリフルオロチミジン由来の19Fシグナルを大きく変化できることを見出している⁴。しかしながら、この場合、二つの非天然核酸が必要となり、天然核酸の検出が困難であるという問題点があった。そこで、光架橋能と核磁気応答能を併せ持った新規光架橋型核酸の開発を行った。

¹ Soetan, K. O. et.al., *African Journal of Biotechnology*, **2010**, 9, 402

² Vicente Pallás et.al., *Front. Microbiol. Biol.* **2019**, 9, 2087

³ Dueantem Thongphueak et.al., *Biol. Sci.* **2018**, 24, 63

⁴ Shigetaka Nakamura et.al., *Chemical Communications*, **2015**, 51, 11765