

光架橋型 RNA-FISH における配列選択性評価

(北陸先端大マテリアル) ○成田 泰之・藤本 健造

Evaluation of sequence specificity in photo-cross-linkable RNA FISH probe containing 3-cyanovinylcarbazole (Development of Novel Visible-Light-Responsive Photo-cross-linker having Carbazole motif)○Yasuyuki Narita, Kenzo Fujimoto

The RNA FISH method allows the localization and quantification of the target nucleic acid to be known by hybridization between the fluorescently labeled probe DNA and the intracellular nucleic acid. In addition, we have developed an artificial photo-cross-linking device, 3-cyanovinylcarbazole nucleoside (^{CNV}K), which is capable of reacting faster than the conventional DNA photo-cross-linking motifs. The DNA photo-cross-linking reaction has a high affinity for complementary base pairs because it forms covalent bonds, unlike normal DNA base pairs. Using this ultrafast DNA photo-cross-linking reaction, we have also succeeded in increasing the sensitivity of RNA detection. In addition, we have developed 4-methylpyranocarbazole nucleoside (^{MEP}K), which can be photo-cross-linked selectively with thymine at a wavelength of 400 nm with low cytotoxicity.

In this study, we evaluated the sequence selectivity of photo-cross-linked RNA FISH probes using these two types of light-responsive artificial nucleic acids. This enabled fast identification of single nucleotide polymorphisms in living cells.

Keywords : RNA FISH; photo-cross-link; sequence selectivity; artificial nucleic acids; ultrafast

蛍光ラベルしたプローブ DNA と細胞内核酸のハイブリダイゼーションを基礎とした RNA FISH 法を用いることで標的核酸の局在や量を知ることができる¹。一方、本研究室では従来の DNA 光架橋反応よりも超高速で架橋可能な人工素子 3-cyanovinylcarbazole nucleoside(^{CNV}K)を開発している²。DNA 光架橋反応は、通常の DNA 塩基対と異なり標的核酸と共有結合を形成するため、確実に標的核酸を補足することができるのではと考えられ、この超高速 DNA 光架橋反応を用いることにより RNA 検出の高感度化にも成功している³。さらに最近、本研究室では細胞に対する光毒性が低い 400 nm の波長でチミン選択的に光架橋可能な 4-methylpyranocarbazole nucleoside(^{MEP}K)を開発している⁴。

本研究では、この 2 種類の光応答性人工核酸を用いた光架橋型 RNA-FISH におけるプローブの配列選択性の評価について報告する。

- 1) J. Harder et al., *World J Gastroenterol.*, **2009**, *15*, 4511.
- 2) Y. Yoshimura, K. Fujimoto, *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 3227.
- 3) K. Fujimoto, M. Hashimoto, N. Watanabe, S. Nakamura, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2019**, *29*, 16, 2173.
- 4) J. Mihara, K. Fujimoto, *Organic & Biomolecular Chem.*, **2021**, *10*, 1039