



水中で 8-oxo-dGTP を特異的に検出する蛍光性金属錯体分子の開発 Development of fluorescent metal complexes for specific recognition of 8-oxo-dGTP

瀧 靖史、福田 高志、佐々木 茂貴 (九大院薬)

本研究で標的としている 8-oxo-dGTP (8-オキソデオキシグアノシントリリン酸) は、dGTP が活性酸素種によって酸化されて生成する。8-oxo-dGTP は DNA 複製の際に突然変異を引き起こし得るため、様々な疾患の原因物質となることが示唆されている。このように 8-oxo-dGTP は生体中酸化ストレスや疾患リスクのバイオマーカーとなり得るが、有用な低分子プローブは報告されていない。当研究室ではこれまでに 8-oxo-dG 検出分子として、1,3-ジアザフェノキサジン骨格を有する 8-oxoG-clamp と呼ばれる有機蛍光分子を開発してきた¹⁾。本研究ではこの分子を拡張し、水中の 8-oxo-dGTP を特異的に検出するための蛍光性金属錯体プローブの開発を目的とした。

本研究ではトリリン酸との相互作用部位としてサイクレン-亜鉛錯体を導入した 8-oxo-dGTP 認識分子“8-oxoGTP Receptor”を設計した (Figure 1 左)。ジアザフェノキサジン環と繋ぐリンカー部分としては 2'-デオキシリボース骨格 (1)、トリアゾール環 (2)、エチル基 (3) を設計し、また末端芳香環部としてベンジル (a)、ナフチルエチル (b)、ピレニルエチル基 (c) を導入することで、すべて組み合わせて合計 9 種類の誘導体を設計した。合成した 8-oxoGTP Receptor 誘導体を用い水中でヌクレオチド認識能を蛍光スペクトルによって評価した結果、8-oxo-dGTP に対して特異的に蛍光消光することが観測された。またリンカー部位によって認識能に差があることが示され、エチルリンカー体 (3a-Zn) が最も選択的かつ効率的に蛍光消光することを見出した。滴定実験より 8-oxo-dGTP に対する結合定数を算出した結果、3a-Zn > 2a-Zn > 1a-Zn の順に低くなることも示された。一方でナフチル及びピレニル誘導体 (1-3b,c) では 8-oxo-dGTP 以外に対する非選択的な蛍光消光が観測された。認識能が高い 3a-Zn を用いて HeLa 細胞への取り込み実験を行ったところ、細胞中のリソソームへ取り込まれることが蛍光顕微鏡にて確認された。さらに HeLa 細胞溶解液中での、8-oxoGTP Receptor 分子の蛍光応答をプレートリーダーによって評価した。その結果 8-oxo-dGTP に対して選択的に蛍光強度が減少し、またその減少効率も 3a-Zn が最も高いことが示された。以上のように本研究で開発したプローブ分子は 8-oxo-dGTP の特異的な検出分子として有用であることが示された。本発表では詳細な錯体分子の合成と蛍光評価及び認識能の考察についても報告する。

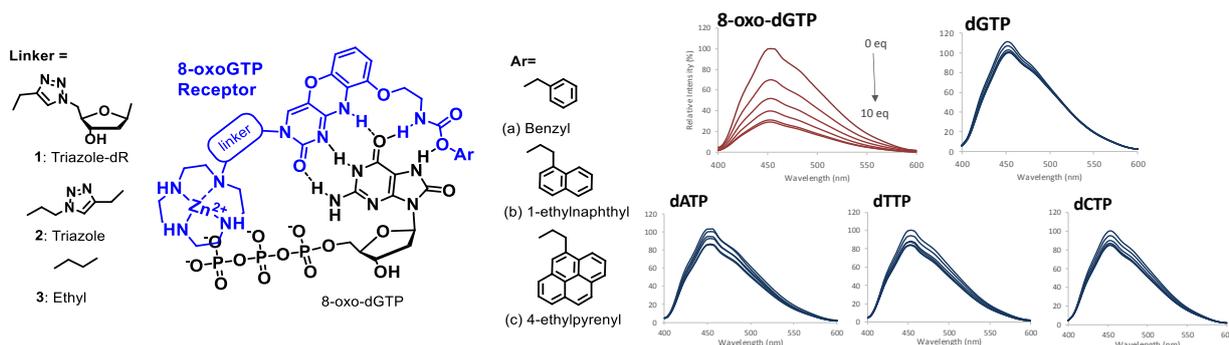


Figure 1 8-oxoGTP Receptor 誘導体の設計 (左) と蛍光スペクトルによる滴定実験評価

<参考文献>

- 1) O. Nakagawa, S. Ono, Z. Li, A. Tsujimoto, S. Sasaki, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 4500-4503.
- 2) Y. Fuchi, T. Fukuda, S. Sasaki, *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, *14*, 7949-7955.

発表者紹介

氏名 瀧 靖史 (ふち やすふみ)
所属 九州大学大学院薬学研究院
学年 助教
研究室 生物有機合成化学分野 (佐々木研)

