

次世代G-Quadruplex (G4) 核酸蛍光イメージングプローブ

Next Generation Fluorescent Probes for G-quadruplex (G4) Imaging

1 ドナー・3 アクセプター (D3A) 型tpQCy骨格を基盤とした、選択的かつ大きなストークスシフトを有する革新的な蛍光イメージングプローブのご紹介です。生細胞・固定細胞内におけるG4 DNA/RNAの挙動追跡や、創薬スクリーニングに極めて有用です。We introduce our innovative tripodal quinone-cyanine (tpQCy) fluorescent probes based on a unique one-donor-three-acceptor (D3A) scaffold, enabling highly selective and near-infrared (NIR) visualization of G-quadruplex (G4) DNA/RNA in both living and fixed cells.

1. プローブのラインナップと主要特性 / Probe Lineup & Specifications

	デュアルカラー識別プローブ Dual-Color ds/G4 Probe QCy(MeBT) ₃	NIR蛍光G4選択的プローブ NIR G4 Selective Probe QCy(BnBT) ₃	深紅色蛍光G4選択的プローブ Deep-Red G4 Selective Probe QCy(MeDPT) ₃
対象核酸 Target	dsDNA & G4 DNA/RNA	G4 DNA/RNA	G4 DNA/RNA
励起/蛍光 ex/em	dsDNA: 470 nm / 600 nm G4: 570 nm / 700 nm	570 nm / 790 nm	570 nm / 700 nm
ストークスシフト Stokes Shift	dsDNA: 130 nm G4 DNA: 130 nm	220 nm	130 nm
蛍光増加倍率 F/F ₀	~34 (AT rich dsDNA) 90 (MycG4)	> 500	33 (MycG4) 48 (cMyc)
解離定数 (K _D) Dissociation const.	1.0 × 10 ⁻⁷ M (AT rich dsDNA) 0.9 ~ 1.6 × 10 ⁻⁷ M (G4 DNA)	10 ⁻⁷ ~ 10 ⁻⁸ M (G4 DNA)	~10 ⁻⁷ M (G4 DNA)

2. 蛍光スイッチオンのメカニズム / Mechanism

D3A型三脚構造を持つtpQCyプローブは、溶液中ではアクセプター部位が自由に回転するため、蛍光がほぼ完全に消光されています（量子収率 < 0.03%）。しかし、G4の平面構造にスタッキングすると、すべての回転が強固にロックされます。これにより熱的散逸が抑制され、蛍光が「スイッチオン」されます。特に、かさ高いベンジル基を修飾したQCy(BnBT)₃では、dsDNAへの親和性を完全に排除し、極めて高いG4特異的応答とストークスシフト 220 nm を実現しました。

Intramolecular rotation is restricted upon G4 stacking, turning on highly intense fluorescence. Especially, bulky Bn moiety on QCy(BnBT)₃ suppresses binding with minor groove of dsDNAs, which emphasized G4 selectivity.

3. アプリケーションデータ / Applications

■ 固定細胞での高い共局在性 (Pearson's R = 0.90 ~ 0.94)

固定HeLa細胞において、既存の代表的G4プローブThTと極めて高い共局在性を示し、dsDNAシグナルの妨害を受けずにG4を可視化できます。G4 signal from tpQCys was colocalized well with ThT signal (a representative G4 probe) in fixed cells.

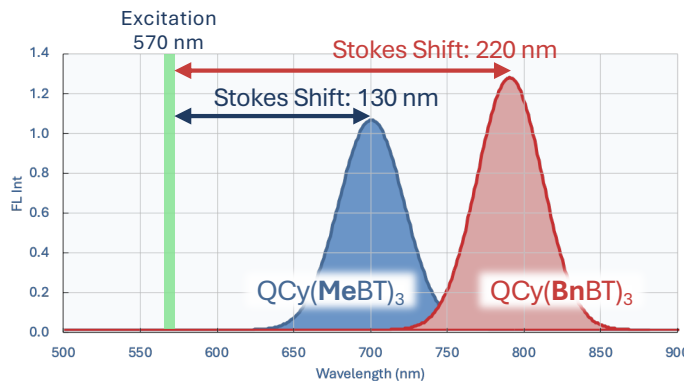
■ 生細胞内でのG4形成ダイナミクスのリアルタイム追跡

G4安定化剤（ピリドスタチン）添加に伴う核内のG4増加や、細胞質G4 RNAシグナル増強の動態プロセスを、各種生細胞（HeLa, A549, HEK293, MRC-5）でリアルタイム追跡できます。G4 formation dynamics can be imaged in various culture cells.

■ 優れた生理安定性と低い細胞毒性

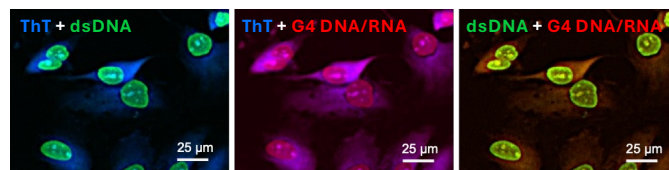
生理的pH領域で高い光化学安定性を維持。イメージング濃度（1.0 ~ 10 μ M）において細胞生存率は80%以上を維持し、低毒性で安全に使用可能です。Cytotoxicity of the probes are low (viability 80% was kept at 1.0~10 μ M) at the imaging condition.

Schematic Emission Spectra on G4 Binding

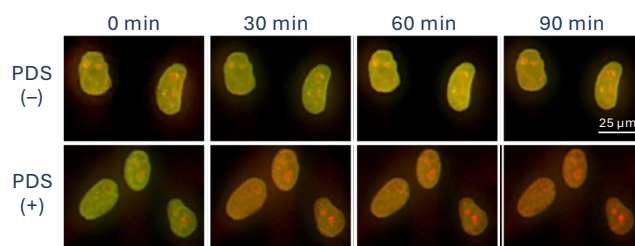


Fluorescence Microscopic Images

HeLa cells stained with QCy(MeBT)₃ and ThT



Imaging of G4 formation in HeLa cells



【開発・技術提供元 / Developer Info】

和歌山大学 システム工学部 / 大学院システム工学研究科
准教授 坂本 隆 博士 (Dr. Takashi Sakamoto)
〒640-8510 和歌山県和歌山市栄谷930

Email: tsakamo@wakayama-u.ac.jp

共同研究・サンプル提供のご相談など、お気軽にお問い合わせください。If you are interested in the technologies, please feel free to contact us.

【主要文献 / Featured Publications】

- QCy(MeBT)₃: T. Sakamoto, Z. Yu, Y. Otani. *Analytical Chemistry* **2022**, 94, 15, 4269–4276.
- QCy(BnBT)₃: Y. Muraoka, J. Muramoto, Y. Yasuhara, M. Kawatake, T. Sakamoto. *Analytical Chemistry* **2023**, 95, 48, 17162–17165.
- PDT: J. Muramoto, T. Sakamoto. *Molecules* **2024**, 29, 21, 5094.

G-Quadruplex (G4) 選択的な光線力学療法

G-quadruplex Selective Photodynamic Therapy (G4 PDT)

G4核酸は有望ながん治療標的でもあります。我々が開発した三脚型キノン-シアニン (tpQCy) 色素は、G4核酸への結合に伴う分子内回転運動の制限により熱緩和経路がブロックされます。これにより緑色光 (530 nm) 照射下で一重項酸素 ($^1\text{O}_2$) が発生し、がん細胞選択的にアポトーシスを誘導します。

G-quadruplexes (G4s) are non-canonical nucleic acid structures enriched in cancer cells. The tripodal quinone-cyanine (tpQCy) photosensitizers target G4s. Upon specific stacking, intramolecular rotation is restricted, blocking thermal decay and boosting cytotoxic singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) generation under 530 nm green light, inducing highly selective apoptotic cancer cell death.

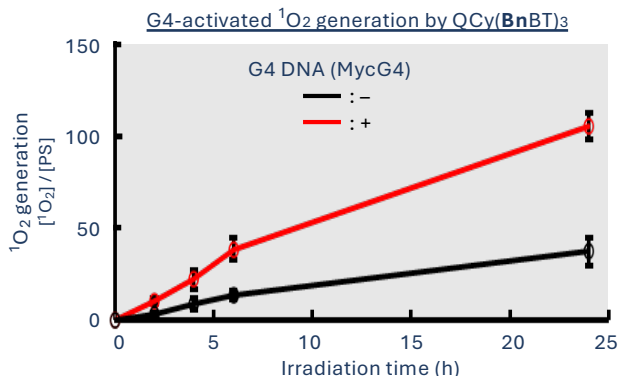
1. 光増感剤 (PS) のラインナップと主要特性 / Photosensitizer Lineup & Specifications

	QCy(MeBT) ₃	QCy(BnBT) ₃	QCy(MeDPT) ₃
ターゲット Targets	dsDNA & G4 DNA/RNA	G4 DNA/RNA	G4 DNA/RNA
結合親和性 (K_D) Dissociation const.	1.0×10^{-7} M (AT rich dsDNA) $0.9 \sim 1.6 \times 10^{-7}$ M (G4 DNA)	$10^{-7} \sim 10^{-8}$ M (G4 DNA)	$\sim 10^{-7}$ M (G4 DNA)
光毒性 (IC_{50}) Photoinduced-cytotoxicity	23 μM (HeLa)	9.1 μM (HeLa)	Under investigation
G4結合による $^1\text{O}_2$ 増加倍率 G4-induced ROS generation	5.3 (MycG4)	3.0 (MycG4)	Under investigation
励起波長 λ_{ex} (nm)	570	570	570

2. アプリケーションデータ / Applications

■ G4 核酸への結合で増強する一重項酸素 ($^1\text{O}_2$) 生成能力

QCy(BnBT)₃は光照射下で $^1\text{O}_2$ 生成能力を発揮します。さらにG4 (MycG4) 結合時には $^1\text{O}_2$ 生成能力が急激に立ち上がり、未結合時と比べて約3倍の $^1\text{O}_2$ を生成します。QCy(BnBT)₃ exhibits the ability to generate $^1\text{O}_2$ under light irradiation. Furthermore, when QCy(BnBT)₃ binds to G4 (MycG4), its $^1\text{O}_2$ generation capacity increases sharply, producing approximately three times as much $^1\text{O}_2$ as when unbound.



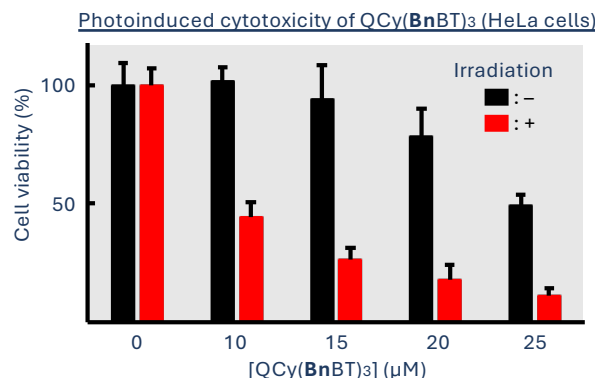
3. 作用機序 / Mechanisms of Cell Death

■ 細胞内で $^1\text{O}_2$ を生成し、アポトーシスを誘導

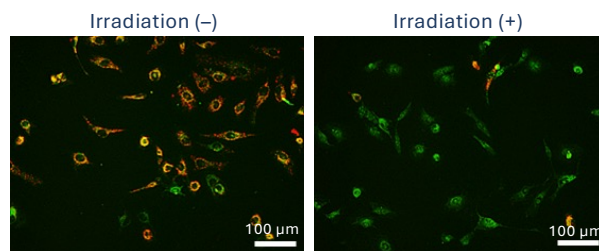
光照射による細胞内での $^1\text{O}_2$ 生成、およびミトコンドリアの脱分極 (早期アポトーシスマーカー) を確認しており、光照射依存的にアポトーシスが誘導されていることが分かっています。We have confirmed the production of $^1\text{O}_2$ within cells and mitochondrial depolarization (a marker of early apoptosis) following light exposure, and have determined that apoptosis is induced in a light-dependent manner.

■ 子宮頸がん細胞 (HeLa) に対する光細胞毒性

QCy(BnBT)₃は光照射時 (530 nm) において顕著な抗腫瘍効果を発揮し、暗毒性なしの状態では細胞生存率を45%に押し下げ、がん細胞増殖を強力に抑制できます。QCy(BnBT)₃ exhibits dramatic antitumor effects upon exposure to light (530 nm); at a concentration of 10 μM , it reduces cell viability to 45% without causing phototoxicity and strongly inhibits cancer cell proliferation.



Photoinduced apoptosis induction by QCy(BnBT)₃ (HeLa cells)



【研究支援部門 / Research Support Division】

和歌山大学 産学連携イノベーションセンター
Center for Innovative and Joint Research, Wakayama University, E-mail: liaison@ml.wakayama-u.ac.jp
〒640-8510 和歌山県和歌山市栄谷930
共同研究・サンプル提供のご相談など、お気軽にお問い合わせください。If you are interested in the technologies, please feel free to contact us.

【特許 / Patent】

特許第7773214号 (2025.11.11) 特願2022-568211, WO2022/124148, 発明者: 坂本 隆 出願人: 国立大学法人和歌山大学
Patent No.: JP7773214 (Nov. 11, 2025), Patent Application No.: 2022-568211, WO2022/124148, Inventor: Takashi Sakamoto; Assignee: Wakayama University, National University Corporation (Japan)