

クリックケミストリー

Click chemistry - Azide-Alkyne Cycloaddition -

Site-Specific Nanobody-Oligonucleotide Conjugation for super-resolution imaging

Using copper-free click chemistry, the nanobody-oligonucleotide site-specific conjugation reactions were efficient and yielded highly pure bioconjugates for super-resolution imaging.

反応がシンプルかつ高効率、特異的に反応する、温和な反応条件など、多くの特長を持つクリックケミストリー。三重鎖・四重鎖形成やバイオプリンティング、センサー構築など、最近では、多岐にわたってこの技術が用いられています。クリックケミストリーは、低分子から生体分子までカバーできる、魅力的なバイオコンジュゲーション手法であると言えます。

今回は、ナノボディ-オリゴヌクレオチドコンジュゲートによるイメージングに関する論文をご紹介します。ここで採用されている反応は、触媒となる銅(I)イオンを用いる必要のない SPAAC (Strain-Promoted Azide-alkyne Cycloaddition) です。SPAAC は銅(I)イオンによる毒性を排除したものであるため、細胞やタンパク質へのダメージを最小限に抑えることができます。

▶ Site-specific nanobody-oligonucleotide conjugation for super-resolution imaging 部位特異的なナノボディ-オリゴヌクレオチドコンジュゲーションによる超解像イメージング

ここで紹介されているのは、単一分子局在顕微鏡 (SMLM) による超解像イメージングを行うことを目的とした、アジド官能基を有するナノボディの製造と、蛍光色素やオリゴヌクレオチドへのクリックケミストリーによるコンジュゲーション戦略です。

ナノボディは、抗体と同様の親和性と特異性で標的となる抗原と結合することのできる、抗体の抗原結合性フラグメント (Fab) に類似した分子です。微生物を用いて容易に生産することができ、Fab と比較してサイズが小さく安定しています。小サイズであることから結合誤差も小さくなるため SMLM に適しており、ターゲットの空間分解能が向上すると述べられています。

そして、ここでコンジュゲーション作製に採用されているクリックケミストリーのアジド-アルキン反応は、お互いとの間にだけ起こる生物学的に直交する結合反応で、非特異反応が起こらないことが特長の一つです。これに対して、マレイミド-チオール反応やアミン-NHS 反応では、意図しない非特異的な結合が起こってしまう可能性があります。ここでは、歪んだアルキンであるジベンゾシクロオクチン(DBCO)をオリゴヌクレオチドにラベルして、ナノボディとのコンジュゲーションを作製しています。

筆者らは、紹介されているプロトコルは非常に柔軟なもので、様々な場面で適用することができるとしており、オリゴヌクレオチドにナノボディを部位特異的に結合させる手法は、特に薬物送達などで有用であることを主張しています。

Teodori, Laura, et al. "Site-specific nanobody-oligonucleotide conjugation for super-resolution imaging." *Journal of Biological Methods* 9.1 (2022).

そのオリゴ合成、承ります！

文献のアプリケーションには、日本遺伝子研究所のオリゴヌクレオチドをお勧めします！

日本遺伝子研究所では、クリックケミストリー-Huisgen 反応用の修飾オリゴ DNA、RNA 合成を承っております。論文で登場したジベンゾシクロオクチン(DBCO)修飾も可能です。

CuAAC

- ▶アジド(-N₃)修飾オリゴ DNA・RNA
- ▶アルキン(-CECH)修飾オリゴ DNA・RNA
- ▶2'-O-プロパルギル (rA,rG,rC,rU) 修飾オリゴ DNA・RNA
- ▶3'-O-プロパルギル (rA,rG,rC,rU) 修飾オリゴ DNA・RNA
- ▶C8 アルキン (オクタジニル) (dA,dC,dT) 修飾オリゴ DNA・RNA
- ▶エチニル (dA,dU) 修飾オリゴ DNA・RNA
- ▶エチニル dSpacer 修飾オリゴ DNA・RNA

SPAAC

- ▶ジベンゾシクロオクチン(DBCO:dibenzocyclooctyl)修飾オリゴ DNA・RNA
- ▶ビシクロノニン(BCN:bicyclo[6.1.0]nonyne)修飾オリゴ DNA・RNA

各種ラインナップについて、様々なリンカータイプを取り揃えております。ご希望のリンカーがない場合でも、使用する試薬の変更や、スペーサー修飾等を用いてカスタムすることで解決できる場合もありますので、是非一度、ご相談ください。

クリックケミストリー修飾について

⇒[詳細はこちら](#)

DNA・RNA 修飾一覧

⇒[詳細はこちら](#)