

# Merev szerkezetű GFP kromofór analógok: nagy Stokes-eltolódással és fluoreszcenciával rendelkező vegyületek mikroszkópiás célra

## Locking the GFP chromophore. Fluorophores with high Stokes-shift and brightness for microscopy

CSOMOS Attila<sup>1,2</sup>, KOVÁCS Ervin<sup>3</sup>, CSERI Levente<sup>4</sup>, MADARÁSZ Miklós<sup>4</sup>,  
SZEPESI Áron<sup>4</sup>, MUCSI Zoltán<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Femtonics Kft., H-1094 Budapest, Tűzoltó utca 59.

<sup>2</sup>Hevesy György Kémiai Doktori Iskola, Eötvös Loránd Tudományegyetem,  
H-1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/A.

<sup>3</sup>HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont,  
H-1117 Budapest, Magyar Tudósok krt. 2.

<sup>4</sup>BrainVisionCenter, H-1094 Budapest, Liliom utca 43-45  
csomosattila@student.elte.hu

### ABSTRACT

Fluorescent microscopy is one of the most important tools in biology. Therefore, the demand for more efficient fluorescent stains is ever growing. Many fluorescent probes have been reported to provide insight into cellular processes. However, most of them rely on the conservative selection of cyanines, rhodamines, coumarins, BODIPYs, and fluorescein derivatives. In the widely used green channel of microscopes, the latter two are used. Despite their high brightness, their Stokes shift is very small, resulting in a loss of brightness due to the need of filtration. A high brightness and a high Stokes-shift simultaneously are hard to achieve. In this work, we present a novel heterocyclic scaffold inspired by the chromophore of the Green Fluorescent Protein, with bright fluorescence ( $>3 \times 10^4$ ) and a relevant Stokes shift ( $>70$  nm). The synthesis using a new ring-closure reaction and the detailed spectroscopical characterization and optimization of the probes for 450-480 nm excitation is reported. The utility of the new fluorophore is demonstrated in different biological applications.

**Keywords:** fluorescence, microscopy, green fluorescent protein, heteroaromatic, condensation

### ÖSSZEFOGLALÓ

A fluoreszcens mikroszkópia napjaink egyik legfontosabb eszköze a biológiai képképző kutatásokban. Emiatt a fényesebb és hatékonyabb fluorofórokra egyre nagyobb igény mutatkozik. Számos fluoreszcens jelölővegyület került forgalomba, legtöbbjük cianin, rodamin, kumarin, BODIPY vagy fluorescein alapvázakra épül. A mikroszkópiás zöld csatornán utóbbi kettő alkalmazható. Ezek bár rendkívül fényesek, a Stokes-eltolódásuk kicsi, ami a mikroszkópiában az emittált fény jelentős részének elvesztését eredményezi a szórt fény szűrése során. A két tulajdonság szimultán optimalizálása nagy kihívás. Jelen munkában egy új, kondenzált heterociklust mutatunk be, melyet a zöld fluoreszcens fehérje (GFP, Green Fluorescent Protein) kromofórja inspirált, magas fényessége ( $>3 \times 10^4$  1/(M×cm)) és nagy Stokes-eltolódása ( $>70$  nm) révén ígéretes fluorofór mikroszkópiás alkalmazásra. Bemutatjuk a vegyületek szintézisét, elnyelési spektrumának finomhangolását (450-480 nm gerjesztés) és részletes karakterizálását, valamint hasznosíthatóságát biológiai kísérletek példáján.

**Kulcsszavak:** fluoreszcencia, mikroszkópia, zöld fluoreszcens protein, heteroaromás, kondenzáció