

課題番号	LR036
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	遺伝子由来疾患に係る細胞内核酸動態の可視化に資する高性能化学プローブと次世代解析
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人理化学研究所・核酸化学研究室・客員主管研究員
氏名	岡本 晃充

1. 当該年度の研究目的

<p>生体内核酸を動的・定量的・網羅的に可視化する技術として、励起子制御機構に立脚したハイブリッド特異的ライトアップ核酸プローブ群による革新的核酸染色法を期間内に開発する。この新概念を基盤にして、下記の課題を可能にする要素技術としての新規プローブ群を創製する。平成23年度では、特に、化学プローブの機能向上および細胞内核酸挙動解析法の確立のための準備実験を精力的に進める。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 生細胞内のRNAの挙動を、新規プローブを用いて効果的にイメージング・モニタリングできる手法の準備段階として位置づける。特に、微量RNAの解析に効果的な方法としてタグシステム化を採用し、その最適配列を探索する。細胞内 mRNA をこの方法で標識し、蛍光顕微鏡で観察できることを確認する。 ・ mRNA のフォールディング解析のための励起子制御プローブを設計し、モデル系でその機能評価を行う。 ・ プローブの多色化に伴い、ライブセルRNA マルチカラーイメージングに発展させる。また、新規分光法である蛍光相互相関法に利用させるためのマルチカラープローブの準備を進める。

2. 研究の実施状況

<ul style="list-style-type: none"> ・ 微量 RNA の解析に効果的な方法としてタグシステムを作成し、その最適配列を探索した。細胞内に発現させた蛍光タンパク質 mRNA をこの方法で標識し、蛍光顕微鏡で観察できることを確認した。同時に、これらの mRNA の核内局在化と mRNA からの蛍光タンパク質への翻訳も観察することができた。 ・ mRNA のフォールディング解析や miRNA の迅速定量法など細胞内で働く RNA 構成を解析するための励起子制御プローブを設計した。バックボーンに LNA を採用することにより、高次構造を形成する RNA に対しても、プローブが効率的に働くことができるようになった。 ・ プローブの多色化に伴い、ライブセルRNA マルチカラーイメージングに発展させた。特に、細胞内分子の検出に有効な波長を有する近赤外光を用いた系を開発し、ライブセルイメージングへ発展させることができた。また、新規分光法である蛍光相互相関法に利用させるためのマルチカラープローブの作成も進めている。 ・ 5-ヒドロキシメチルシトシン含有 DNA の簡便合成法を開発した。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計17件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計14件</p> <p>Nomura, A.; Okamoto, A. Recognition of methylcytosine in duplex DNA by artificial zinc finger peptide. <i>Peptide Sci.</i> 2011, 2010, 226.</p> <p>Nomura, A.; Okamoto, A. Phosphopeptides Designed for 5-Methylcytosine Recognition. <i>Biochemistry</i> 2011, 50 (16), 3376–3385.</p> <p>Sugizaki, K.; Ikeda, S.; Yanagisawa, H.; Okamoto, A. Facile synthesis of hydroxymethylcytosine-containing oligonucleotides and their reactivity upon osmium oxidation. <i>Org. Biomol. Chem.</i> 2011, 9 (11), 4176–4181.</p> <p>Ikeda, S.; Yanagisawa, H.; Nakamura, A.; Wang, D. O.; Yuki, M.; Okamoto, A. Hybridization-sensitive fluorescence control in the near-infrared wavelength range. <i>Org. Biomol. Chem.</i> 2011, 9 (11), 4199–4204.</p> <p>Sugizaki, K.; Umemoto, T.; Okamoto, A. On-chip DNA methylation analysis using osmium complexation. <i>J. Nucleic Acids</i> 2011, 2011, 480570.</p> <p>Okamoto, A. ECHO Probes: A Concept of Fluorescence Control for Practical Nucleic Acid Sensing. <i>Chem. Soc. Rev.</i> 2011, 40 (12), 5815–5828.</p> <p>Nomura, A.; Sugizaki, K.; Yanagisawa, H.; Okamoto, A. Discrimination between 5-hydroxymethylcytosine and 5-methylcytosine by a chemically designed peptide. <i>Chem. Commun.</i> 2011, 47 (29), 8277–8279.</p> <p>Ikeda, S.; Kubota, T.; Wang, D. O.; Yanagisawa, H.; Yuki, M.; Okamoto, A. Emission Control by Binary Energy Transfer Processes on Oligouridine. <i>Org. Biomol. Chem.</i> 2011, 9 (19), 6598–6603.</p> <p>Kubota, T.; Ikeda, S.; Yanagisawa, H.; Yuki, M.; Okamoto, A. Cy5-conjugated Hybridization-sensitive Fluorescent Oligonucleotides for Ratiometric Analysis of Nuclear Poly(A)⁺ RNA. <i>Bioconjugate Chem.</i> 2011, 22 (8), 1625–1630.</p> <p>Okamoto, A.; Ikeda, S.; Kubota, T.; Wang, D. O. Design of binary energy transfer on nucleic acids. <i>Photomed. Photobiol.</i> 2011, 33, 45–46.</p> <p>Tainaka, K.; Okamoto, A. ICON probe: Synthesis and DNA methylation typing. <i>Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.</i> 2011, 8.7.1–8.7.17.</p> <p>Okamoto, A.; Sugizaki, K.; Nakamura, A.; Yanagisawa, H.; Ikeda, S. 5-Hydroxymethylcytosine-selective oxidation with peroxotungstate. <i>Chem. Commun.</i> 2011, 47 (40), 11231–11233.</p> <p>Ikeda, S.; Kubota, T.; Wang, D. O.; Yanagisawa, H.; Umemoto, T.; Okamoto, A. Design and Synthesis of Caged Fluorescent Nucleotides and Application to Live Cell RNA Imaging. <i>ChemBioChem</i> 2011, 12 (18), 2871–2880.</p> <p>Wang, D. O.; Matsuno, H.; Ikeda, S.; Nakamura, A.; Yanagisawa, H.; Hayashi, Y.; Okamoto, A. A Quick and Simple FISH Protocol with Hybridization-sensitive Fluorescent Linear Oligodeoxynucleotide Probes. <i>RNA</i> 2012, 18 (1), 166–175.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計3件</p> <p>Wang, D. O.; Okamoto, A. ECHO probes: fluorescence emission control for nucleic acid imaging. <i>J. Photochem. Photobiol. C-Photochem. Rev.</i> 2012, in press.</p> <p>Sugizaki, K.; Nakamura, A.; Yanagisawa, H.; Okamoto, A. Ligand incorporation site in 5-methylcytosine detection probe modulating the site of osmium complexation with the target DNA. <i>Chem. Biodiv.</i> 2012, in press.</p>
----------------------	--

様式19 別紙1

	<p>Shin, Hyo-Sup; Okamoto, Akimitsu; Sako, Yasushi; Kim, Sok Won; Pack, Chan-Gi; Kim, Sooyoung Radiationless Deactivation of Hybridization-Sensitive DNA Probe. J. Luminescence 2012, in press.</p>
<p>会議発表 計 14 件</p>	<p>専門家向け 計 12 件 1 岡本 晃充, “核酸に対する新しい化学反応の探索” 京都 2011. 7.9-10 新世代の生物有機化学研究会 2011 (第 7 回) 2 岡本 晃充, 池田 修司, 久保田 健, 王 丹, “エネルギー移動によって蛍光制御された人工核酸と RNA イメージングへの応用” 吹田 2011. 7.21-23 第 33 回日本光医学・光生物学会 3 Okamoto Akimitsu, Sugizaki Kaori, Nakamura Akiko, Nomura Akiko, Tanaka Kazuo, Tainaka Kazuki, “Metal complexes for detection of methylated DNA” Vancouver 2011.8.7-12 15th International Conference on Biological Inorganic Chemistry (ICBIC 15) 4 岡本 晃充, 池田 修司, 久保田 健, 王 丹, “多重蛍光制御を用いた効果的核酸イメージング” つくば 2011.9.13-14 第 5 回バイオ関連化学シンポジウム 5 岡本 晃充, 池田 修司, 久保田 健, 王 丹, “” 宮崎 2011.9.5-8 2011 年光化学討論会 6 Okamoto Akimitsu, “Chemical approaches for epigenetics” Wuhan 2011.10.14-17 Asian 3 Roundtable on Nucleic Acids (A3RONA 2011 Wuhan) 7 Okamoto Akimitsu, “ECHO Probes: Hybridization-Sensitive Fluorescent Nucleic Acids for Effective RNA Imaging” San Francisco 2011.9.28-10.2 Molecular Diagnostics World Congress 2011 8 Okamoto Akimitsu, Sugizaki Kaori, Nakamura Akiko, Yanagisawa Hiroyuki, Ikeda Shuji, “Chemical Reactions of 5-Hydroxymethylcytosine in DNA” Sapporo 2011.11.8-11 38th International Symposium on Nucleic Acid Chemistry(ISNAC2011) 9 Nomura Akiko, Okamoto Akimitsu, “Detection of Methylated DNA by Designed Zinc Finger Peptide” Sapporo 2011.11.8-11 38th International Symposium on Nucleic Acid Chemistry(ISNAC2011) 10 岡本 晃充, “ECHO Probes:A New Concept of Fluorescence Control for Nucleic Acid Imaging” 横浜 2011 12 第 34 回日本分子生物学会年会 11 李 玉鳳, 宮成 悠介, 久保田 健夫, 岡本 晃充, 佐々木 裕之, “Development and application of a novel technique which visualizes locus-specific DNA methylation in individual cells by microscopy” 横浜 2011.12.13-16 第 34 回日本分子生物学会年会 12 Okamoto Akimitsu, “Chemical Approaches for Epigenetic DNA Modification” Barcelona 2011.12.2-7 International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (11 ISABC)</p> <p>一般向け 計 2 件 岡本 晃充, “DNA って何だろう?”, 埼玉県立熊谷高等学校見学会, 23.8.18, 理化学研究所 岡本 晃充, “DNA って何だろう?”, 香川県立観音寺第一高等学校見学会, 23.12.15, 理化学研究所</p>
<p>図書 計 3 件</p>	<p>岡本晃充 「第 4 章-4 人工の核酸センサーを創って核酸を観よう」 羊土社「実験医学増刊 細胞を創る・生命システムを創る」 pp. 132-139 平成 23 年 (2011 年) 5 月 1 日発行</p> <p>岡本晃充 「第 14 章 細胞内ではたらく RNA を観るための化学」 化学同人 CSJ カレントレビュー 第 6 巻「核酸化学のニュートレンド-DNA・RNA の新たな可能性を拓く」 pp. 144-150 平成 23 年 (2011 年) 7 月 30 日発行</p> <p>岡本晃充 「第 1 編・第 2 章 核酸を蛍光標識する:核酸結合性蛍光色素・蛍光標識核酸プローブの基礎」 シーエムシー出版「蛍光イメージング・MRI プローブの開発」 pp. 10-21 平成 23 年 (2011 年) 9 月 30 日発行</p>

様式19 別紙1

産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	http://www.chembio.t.u-tokyo.ac.jp/labs/okamoto/
国民との科 学・技術対話 の実施状況	2度、高等学校生徒のグループが研究室を訪問。“DNA って何だろう？”のタイトルで DNA と化学についてわかりやすく講演するとともに、研究室内を案内し実験装置についての解説を行った。 ・23.8.18 埼玉県立熊谷高等学校 1～2年生 10名対象の研究室見学会。 ・23.12.15 香川県立観音寺第一高等学校 理系志望1年生 29名を対象の研究室見学会。 また、23年5月28日に茨城県鹿島市 清真学園高等学校を訪問し、セミナーをおこなった。
新聞・一般雑 誌等掲載 計2件	日本経済新聞 電子版 2011.8.31 「理化学研究所、DNA配列の中の5-ヒドロキシメチルシトシンの位置をDNAシーケンサで解析」 化学工業日報 2011.9.2 「DNA脱メチル化の鍵物質 簡単な検出手法開発」
その他	

4. その他特記事項

平成24年4月1日付で、独立行政法人理化学研究所から国立大学東京大学 先端科学技術研究センターへ異動となり、購入物品については4月以降東大へ移管した上で引き続き研究を行っている。

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	115,000,000	34,000,000	0	81,000,000	0
間接経費	34,500,000	10,200,000	0	24,300,000	0
合計	149,500,000	44,200,000	0	105,300,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	32,457,516	0	0	32,457,516	28,854,278	3,603,238	0
間接経費	10,200,000	0	0	10,200,000	9,119,028	1,080,972	0
合計	42,657,516	0	0	42,657,516	37,973,306	4,684,210	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	11,018,041	化学合成実験試薬、生化学実験試薬等
旅費	1,550,990	研究成果発表旅費(ICBIC15[カナダ]等)
謝金・人件費等	15,829,137	実験補助者謝金 4名
その他	456,110	英文校閲、学会参加登録料等
直接経費計	28,854,278	
間接経費計	9,119,028	
合計	37,973,306	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
ダイヤフラム型ドラ イ真空ポンプ	MD4UCNT	2	530,040	1,060,080	2012/1/17	理化学研究所
分子設計プログラ ム	MA-M0112-O2型	1	999,800	999,800	2012/1/27	理化学研究所
				0		