

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25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	東京大学・先端科学技術研究センター・教授
氏名	岡本 晃充

1. 当該年度の研究目的

<p>全体の研究計画: 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、これまでに新規プローブ群を多数創製した。</p> <p>本年度の目的:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 新規プローブを活用した蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法への展開と特定のRNAの細胞内局在の観察 2. 新規プローブを蛍光相関分光法に適用することによる細胞内 RNA の流動性の観察 3. 新規プローブを細胞内の特定の箇所へ送達する方法の開発 4. 5-ヒドロキシメチルシトシンの選択的化学反応に立脚した新しいシーケンシング法の開発

2. 研究の実施状況

<p>上記目的に対し、研究を実施し、各々以下の成果を得た。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法(FISH 法)は、細胞内の特定の分子を可視化する方法である。我々の化学プローブは、FISH 法へ適用し、特定の配列を有する RNA を細胞そのままに可視化した。ハイブリダイゼーション条件を最適化し、ヒトがん細胞やマウス神経細胞中の RNA の動態を観察することができた。 2. mRNA のポリ A 末端を我々の化学プローブのハイブリダイゼーションによって標識して、蛍光分光相関法で観測した。この方法で観測された細胞中の RNA の移動速度は、既報の速度と同等であり、本方法が有効であることが明らかになった。 3. プローブを細胞内の特定の箇所へ送達する技術を、末端修飾を工夫することによって確立した。プローブが HeLa 細胞内の目的の箇所へ送達されたかを蛍光顕微鏡で追跡したとともに、プローブが本来有するハイブリダイゼーション特異的蛍光発光機能も維持していた。 4. 我々が見出した、ペルオキシタングステン酸塩による 5-ヒドロキシメチルシトシン選択的化学反応をベースに、その生成物をシーケンシングする方法を確立した。本方法は簡便に 5-ヒドロキシメチルシトシンの存在箇所を明らかにすることができる。
--

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 7 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Okamoto, A.; Sugizaki, K.; Yuki, M.; Yanagisawa, H.; Ikeda, S.; Sueoka, T.; Hayashi, G.; Wang, D. O. A nucleic acid probe labeled with desmethyl thiazole orange: A new type of hybridization-sensitive fluorescent oligonucleotide for live-cell RNA imaging Org. Biomol. Chem. 2013, 11 (2), 362-371. 2. Shin, H.-S.; Okamoto, A.; Sako, Y.; Kim, S. W.; Kim, S. Y.; Pack, C.-G. Characterization of the Triplet State of Hybridization-Sensitive DNA Probe by Using Fluorescence Correlation Spectroscopy J. Phys. Chem. A 2013, 117 (1), 27-33. 3. Ikeda, S.; Yanagisawa, H.; Yuki, M.; Okamoto, A. Fluorescent triplex-forming DNA oligonucleotides labeled with a thiazole orange dimer unit Artif. DNA PNA XNA 2013, 4 (1), 19-27. 4. Hayashi, G.; Okamoto, A. Probe Design for Effective Fluorescent Imaging of Intracellular RNA Chem. Rec. 2013, 13 (2), 209-217. 5. Okamoto, A. Application of caged fluorescent nucleotides to live-cell RNA imaging Methods Mol. Biol. 2013, 1039, 303-318. 6. Li, Y.; Miyanari, Y.; Shirane, K.; Nitta, H.; Kubota, T.; Ohashi, H.; Okamoto, A.; Sasaki, H. Sequence-specific microscopic visualization of DNA methylation status at satellite repeats in individual cell nuclei and chromosomes Nucleic Acids Res. 2013, 41 (19), e186. 7. Shiura, H.; Okamoto, A.; Sasaki, H.; Abe, K. Whole-mount MeFISH: A novel technique for simultaneous visualization of specific DNA methylation and protein/RNA expression PLoS ONE 2014, 9 (4), e95750 <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 27 件</p>	<p>専門家向け 計 27 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 岡本 晃充、「核酸イメージングのための分子デザイン」、第 50 回日本臨床分子医学会学術集会、東京、2013 年 4 月 12 日 2. 林 剛介、豊村 誠、杉崎 香織、岡本 晃充、「配列選択的な化学的 DNA メチルシトシン検出法の開発と検出感度向上への試み」、第 7 回日本エピジェネティクス研究会年会、奈良、2013 年 5 月 30 日～31 日 3. 塩田 英史、林 剛介、杉崎 香織、岡本 晃充、「5-ヒドロキシメチルシトシンの化学的検出法の開発」、第 7 回日本エピジェネティクス研究会年会、奈良、2013 年 5 月 30 日～31 日 4. 岡本 晃充、「ECHO プローブの最近の進捗と課題」、新世代の生物有機化学研究会 2013(第 9 回)、仙台、2013 年 6 月 22 日 5. 岡本 晃充、「エピゲノム有機化学」、第 24 回 万有仙台シンポジウム、仙台、2013 年 6 月 29 日 6. 岡本 晃充、王 丹、「RNA を効率よく観るための化学」、第 15 回 日本 RNA 学会年会、松山、2013 年 7 月 24 日～26 日 7. 岡本 晃充、「薬品応答性ラマンシグナル分子の創製」、第3回バイオラマン研究会: 最先端光計測とライフサイエンスの近未来 -バイオ・ラマン 2017、愛媛、2013 年 8 月 7 日～8 月 9 日 8. Akimitsu Okamoto, "Chemical Epigenetics: Chemical Detection of DNA Modification, Histone Modification

様式19 別紙1

	<p>and Expressed RNA”, A3RONA 2013, Kobe, Japan, August 30–September 2, 2013</p> <p>9. 林 剛介、池田 修司、武田 勝也、榊原 大輔、王 丹、岡本 晃充、「細胞内RNAを可視化するECHOプローブの開発と細胞内局在制御」、第7回バイオ関連化学シンポジウム、名古屋、2013年9月27日～29日</p> <p>10. 坂元 亮介、林 剛介、岡本 晃充、「ヒストンの人工的合成と細胞への応用」、第7回バイオ関連化学シンポジウム、名古屋、2013年9月27日～29日</p> <p>11. 塩田 英史、林 剛介、杉崎 香織、岡本 晃充、「5-ヒドロキシメチルシトシンの化学的検出法の開発」、第7回バイオ関連化学シンポジウム、名古屋、2013年9月27日～29日</p> <p>12. 末岡 拓馬、林 剛介、岡本 晃充、「翻訳後修飾ヒドロキシリシンの有機化学的検出方法の開発」第7回バイオ関連化学シンポジウム、名古屋、2013年9月27日～29日</p> <p>13. 末岡 拓馬、林 剛介、岡本 晃充、「細胞への応用を指向したヒストンの人工的合成」日本化学会秋季事業 第3回CSJ化学フェスタ2013、東京、2013年10月21日～23日</p> <p>14. 坂元 亮介、林 剛介、岡本 晃充、「オキサゾリン環形成反応を利用した翻訳後修飾ヒドロキシリシンの検出」、日本化学会秋季事業 第3回CSJ化学フェスタ2013、東京、2013年10月21日～23日</p> <p>15. 塩田 英史、林 剛介、杉崎 香織、岡本 晃充、「5-ヒドロキシメチルシトシンの化学的検出法の開発」、日本化学会秋季事業 第3回CSJ化学フェスタ2013、東京、2013年10月21日～23日</p> <p>16. Akimitsu Okamoto, “Tungsten reacting with 5-hydroxymethylcytosine”, Epigenomics of Common Diseases 2013, Hinxton, UK, November 7–10, 2013</p> <p>17. Akimitsu Okamoto, Kaori Sugizaki, Takuma Sueoka, Katsuya Takeda, Gosuke Hayashi, Shuji Ikeda, Mizue Yuki and Dan Ohtan Wang, “ Modified ECHO Probes for Effective Intracellular RNA Imaging”, The 40th International Symposium on Nucleic Acid Chemistry 2013 (ISNAC2013), Yokohama, Japan, November 13–15, 2013</p> <p>18. 塩田 英史・林 剛介・杉崎 香織・岡本 晃充、「部位特異的酸化反応を利用した 5-ヒドロキシメチルシトシンの化学的検出法の開発」、日本化学会第94春季年会、名古屋、2014年3月27日～30日</p> <p>19. 坂元 亮介・林 剛介・岡本 晃充、「オキサゾリン環形成反応を利用する翻訳後修飾ヒドロキシリシンの検出方法の開発」、日本化学会第94春季年会、名古屋、2014年3月27日～30日</p> <p>20. 末岡 拓馬・林 剛介・岡本 晃充、「ヒストン H2A の人工的合成と細胞内イメージングへの応用」、日本化学会第94春季年会、名古屋、2014年3月27日～30日</p> <p>21. 浦 愛美・山口 哲志・岡本 晃充、「ラマンイメージングのための Turn-on 可能なプローブ分子の研究」、日本化学会第94春季年会、名古屋、2014年3月27日～30日</p> <p>22. 坂井 洋子・山口 哲志・岡本 晃充、「光分解性ゲル被覆細胞の作製と評価」、日本化学会第94春季年会、名古屋、2014年3月27日～30日</p> <p>23. 榊原 大輔・林 剛介・岡本 晃充、「細胞への応用を指向したヒストン H2B の化学合成」、日本化学会第94春季年会、名古屋、2014年3月27日～30日</p> <p>24. 須藤 周・林 剛介・岡本 晃充、「メチルシトシン検出に向けた FISH 法の高感度化」、日本化学会第94春季年会、名古屋、2014年3月27日～30日</p> <p>25. 辻 峻太郎・林 剛介・岡本 晃充、「過ヨウ素酸酸化反応を利用した翻訳後修飾ヒドロキシリシンの検出」、日本化学会第94春季年会、名古屋、2014年3月27日～30日</p> <p>26. 松下 卓・山口 哲志・池田 太郎・林 剛介・岡本 晃充、「細胞内ラマンイメージングのためのコレステロールプローブの開発」、日本化学会第94春季年会、名古屋、2014年3月27日～30日</p> <p>27. 梁瀬 将史・林 剛介・岡本 晃充、「ボロン酸エステル形成を利用した翻訳後修飾ヒドロキシチロシンの化学的検出」、日本化学会第94春季年会、名古屋、2014年3月27日～30日</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計1件</p>	<p>岡本晃充「DNA修飾の化学的解析の最新基本原理の紹介」 メディカル ドゥ「遺伝子医学 MOOK」25号「エピジェネティクスと病気」pp. 231-236 平成25年(2013年)8月31日発行</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	東京大学先端科学技術研究センター岡本研究室ホームページ http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/okamoto/index.html
国民との科学・技術対話 の実施状況	東京大学駒場Ⅱキャンパス一般公開にて、一般向けに研究内容を展示・紹介 「ダイナミックな DNA や RNA を診るための化学」 2013年5月31日～6月1日・東京大学駒場Ⅱキャンパス 対象:大学関係者・企業関係者・近隣住民・小中高生 およそ1500人
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

第10回 日本学術振興会賞 受賞

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

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	94,500,000	20,500,000	0	0
間接経費	34,500,000	28,350,000	6,150,000	0	0
合計	149,500,000	122,850,000	26,650,000	0	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	4,487,220	20,500,000	0	24,987,220	24,987,220	0	0
間接経費	9,075,000	6,150,000	0	15,225,000	15,225,000	0	0
合計	13,562,220	26,650,000	0	40,212,220	40,212,220	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	18,190,779	化学合成実験試薬、生化学実験試薬等
旅費	2,069,420	研究成果発表旅費(イギリスほか)
謝金・人件費等	3,088,266	博士研究員人件費1名、事務補助者謝金1名、講演謝金
その他	1,638,755	英文校閲、学会参加登録料等
直接経費計	24,987,220	
間接経費計	15,225,000	
合計	40,212,220	

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	
分子モデリングソフト ウェア	MA-M1213- O1	1	625,000	625,000	2013/12/16	東京大学	(消耗品)
3DSYSTEMS	16259	1	522,900	522,900	2014/3/24	東京大学	資産
				0			