

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 24 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>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、これまでに以下のような新規プローブ群を多数創製した。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 励起子制御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の性能を向上させるため、多色化を検討した。 ・ プローブ骨格の変換により高感度化できたので、細胞内のプローブ局在化を図るための化学修飾を検討した。 ・ 5-ヒドロキシメチルシトシンを、シトシンや 5-メチルシトシンから明確に区別できる配列選択的な化学反応を見いだしたので、これを用いて 5-ヒドロキシメチルシトシン含有 DNA の効果的配列決定法を検討する。

2. 研究の実施状況

<p>平成 24 年度には、上記の研究目標に従い、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の、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開発した。この新概念を基盤にして、これまでに以下のような新規プローブ群を多数創製した。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 励起子制御機構に基づいて紫外から近赤外までの 15 色を超える多色化に成功した。 ・ ビオチン・アビジン結合を有効に活用することによって、核膜通り抜けを制御し、プローブの細胞内局在化を達成することができた。 ・ 5-ヒドロキシメチルシトシンをシトシンや 5-メチルシトシンから明確に区別できる配列選択的な化学反応を用いて 5-ヒドロキシメチルシトシン含有 DNA の効果的配列決定法を、さまざまな DNA 合成酵素の探索ののち、達成した。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計8件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Shin, H.-S.; Okamoto, A.; Sako, Y.; Kim, S. W.; Kim, S. Y.; Pack, C.-G. Characterization of Triplet State of Hybridization-Sensitive DNA Probe by Using Fluorescence Correlation Spectroscopy J. Phys. Chem. A 2013, 117 (1), 27-33. 2. 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. 3. 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. 4. 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 Chem. Biodiv. 2012, 9 (9), 2000-2007. 5. Shin, H.-S.; Okamoto, A.; Sako, Y.; Kim, S. W.; Pack, C.-G.; Kim, S. Radiationless Deactivation of Hybridization-Sensitive DNA Probe J. Luminescence 2012, 132, 2566-2571. 6. Wang, D. O.; Okamoto, A. ECHO probes: fluorescence emission control for nucleic acid imaging J. Photochem. Photobiol. C-Photochem. Rev. 2012, 13, 112-123. 7. 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 RNA 2012, 18 (1), 166-175. <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 1 件</p> <p>Hayashi, G.; Okamoto, A. Probe Design for Effective Fluorescent Imaging of Intracellular RNA Chem. Rec. in press.</p>
<p>会議発表 計16件</p>	<p>専門家向け 計16件</p> <p>岡本 晃充、「DNA 修飾への新たなアプローチを提供する化学反応」、第6回日本エピジェネティクス研究会年会、東京、2012年5月14日</p> <p>Akimitsu Okamoto, "ECHO Probes for intracellular RNA imaging ", A3RONA2012, Pohang, Korea, 18-21 May, 2012</p> <p>岡本 晃充、「プローブ光活性化のメリットを生かした細胞イメージング」、新世代の生物有機化学研究会 2012 (第8回)、神戸、2012年6月23日</p> <p>林 剛介、池田 修司、王 丹、杉崎 香織、末岡 拓馬、岡本 晃充、「ECHO プローブによる細胞内 RNA イメージング」、第6回バイオ関連化学シンポジウム、札幌、2012年9月6日~8日</p> <p>林 剛介、池田 修司、王 丹、末岡 拓馬、岡本 晃充、「RNA 蛍光イメージングのための ECHO プローブの進化と応用」、2012年光化学討論会、東京、2012年9月12日~14日</p> <p>Gosuke Hayashi, Shuji Ikeda, Dan-Ohtan Wang, Kaori Sugizaki, Takuma Sueoka, Akimitsu Okamoto, "Live-cell RNA imaging through advanced ECHO probes ", The 39th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Nagoya, Japan, November 15-17, 2012</p> <p>Akimitsu Okamoto, "Tungsten reacting with 5-hydroxymethylcytosine ", 13th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine, Punta del Este, Uruguay, March 11-13, 2013</p>

様式19 別紙1

	<p>岡本 晃充、「細胞を機動させる分子「核酸」の分野横断的最先端研究」、日本化学会第 92 春季年会、滋賀、2013 年 3 月 22 日～25 日</p> <p>白 燦基、佐甲 靖志、岡本 晃充、「蛍光相関分光による生細胞内 RNA 動態および相互作用の高感度検出」、日本化学会第 92 春季年会、滋賀、2013 年 3 月 22 日～25 日</p> <p>王 丹、平野 明日香、大本 育美、梅島 宏樹、見学 美根子、下郡 智美、岡本 晃充、「核酸プローブを駆使した生体内 RNA 時空間制御の蛍光イメージング」、日本化学会第 92 春季年会、滋賀、2013 年 3 月 22 日～25 日</p> <p>末岡 拓馬、林 剛介、岡本 晃充、「固相合成法と連続的 Native Chemical Ligation 法によるヒストンの化学合成」、日本化学会第 92 春季年会、滋賀、2013 年 3 月 22 日～25 日</p> <p>豊村 誠、林 剛介、岡本 晃充、「DNAメチル化を検出する化学的手法の高感度化」、日本化学会第 92 春季年会、滋賀、2013 年 3 月 22 日～25 日</p> <p>塩田 英史、林 剛介、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」、日本化学会第 92 春季年会、滋賀、2013 年 3 月 22 日～25 日</p> <p>武田 勝也、林 剛介、岡本 晃充、「細胞内mRNAを検出する核酸プローブの局在制御」、日本化学会第 92 春季年会、滋賀、2013 年 3 月 22 日～25 日</p> <p>坂元 亮介、林 剛介、岡本 晃充、「タンパク質中における翻訳語修飾ヒドロキシリシンの検出」、日本化学会第 92 春季年会、滋賀、2013 年 3 月 22 日～25 日</p> <p>岡本 晃充、「DNA 修飾を検出する化学反応を探して」、日本薬学会第 133 年会、横浜、2013 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 「タングステンを用いて5-ヒドロキシメチルシトシンを検出する」 医歯薬出版「週刊 医学のあゆみ」 pp. 542-543 平成24年(2012年)11月10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>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/okamoto/index.html</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<ul style="list-style-type: none"> 最先端・次世代研究開発支援プログラム「未来からの招待状」ポスター展示。東大病院外来棟 1 階ロビー階段横スペースにて開催。2012 年 8 月 24～30 日。 最先端・次世代研究開発支援プログラム「未来からの招待状」ポスター展示。文京シビックセンター地下 2 階区民ひろば。2013 年 1 月 16 日(水)、17 日(木)。
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計0件</p>	

様式19 別紙1

その他	
-----	--

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24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	34,000,000	60,500,000	20,500,000	0
間接経費	34,500,000	10,200,000	18,150,000	6,150,000	0
合計	149,500,000	44,200,000	78,650,000	26,650,000	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	3,603,238	60,500,000	0	64,103,238	59,616,018	4,487,220	0
間接経費	1,080,972	18,150,000	0	19,230,972	10,155,972	9,075,000	0
合計	4,684,210	78,650,000	0	83,334,210	69,771,990	13,562,220	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	50,938,894	高分解能飛行時間型質量分析システム、化学合成実験試薬、生化学実験試薬等
旅費	2,862,341	研究成果発表旅費(XII Symposium on Metal Ions in Biology and Medicineほか)
謝金・人件費等	3,811,247	博士研究員人件費1名、事務補助者謝金1名、講演謝金等
その他	2,003,536	英文校閲、学会参加登録料等
直接経費計	59,616,018	
間接経費計	10,155,972	
合計	69,771,990	

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
高分解能飛行時間 型質量分析システ ム	microflex- NAC,microTOF II-NAC	1	37,903,950	37,903,950	2012/11/12	東京大学
				0		
				0		