

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) 実績報告書

本様式の内容は一般に公表されません

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. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	115,000,000	115,000,000	0	115,000,000	115,000,000	0	0
間接経費	34,500,000	34,500,000	0	34,500,000	34,500,000	0	0
合計	149,500,000	149,500,000	0	149,500,000	149,500,000	0	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	1,542,484	11,018,041	50,938,894	18,190,779	81,690,198
旅費	0	1,550,990	2,862,341	2,069,420	6,482,751
謝金・人件費等	0	15,829,137	3,811,247	3,088,266	22,728,650
その他	0	456,110	2,003,536	1,638,755	4,098,401
直接経費計	1,542,484	28,854,278	59,616,018	24,987,220	115,000,000
間接経費計	0	9,119,028	10,155,972	15,225,000	34,500,000
合計	1,542,484	37,973,306	69,771,990	40,212,220	149,500,000

4. 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	東京大学
分子設計プログラム	MA-M0112-O2型	1	999,800	999,800	2012/1/27	東京大学(消耗品)
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
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	16,259	1	522,900	522,900	2014/3/24	東京大学

5. 研究成果の概要

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、ペルオキシタンゲステン酸塩による5-ヒドロキシメチルシトシン選択的化学反应をベースに、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。

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) 研究成果報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名 (下段英語表記)	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
	Highly effective chemical probes and novel analyzing methods for visualization of intracellular nucleic acid behavior related to genetic disorder
研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記)	東京大学・先端科学技術研究センター・教授
	The University of Tokyo, Research Center for Advanced Science and Technology (RCAST), Professor
氏名 (下段英語表記)	岡本 晃充
	OKAMOTO, Akimitsu

研究成果の概要

(和文):

われわれの細胞の中ではいろいろな種類のRNAが働いており、個々の細胞の役割を決定づける。本研究では、細胞の中の疾患に関係する特定のRNAだけを、いつ、どこで、どのように働くかわかるように色付けできる化学物質を開発した。また、その色を解析して病気との関係を解明できる新しい方法を作成した。

化学物質を設計するにあたって、光物理学的な発想と分子生物学的な最先端技術を付加した。これによって、前例のない低ノイズなRNA検出を実現した。

研究成果は、RNAを起点とした細胞の老化やガン化のメカニズムを解く方法として使える。それらの病気に関する細胞RNA診断への可能性を示した。

(英文):

In the cells of our bodies, a variety of RNA molecules are working to determine the role of each cell. We have developed the chemical reagents to visualize when, where, and how the disease-relating RNA works in the cell. In addition, we created new methods to elucidate the relationship between RNA function and disease using the fluorescent color of the chemical reagents.

The idea in photophysics and the up-to-date technology in molecular biology were added to the design of chemical reagents. The creative molecular design realized a RNA detection method with an unprecedented low noise.

The research result is useful for the method to clarify the mechanism of cell senescence and oncogenic transformation derived from RNA, showing the possibility to cell RNA diagnosis.

1. 執行金額 149,500,000 円
(うち、直接経費 115,000,000 円、 間接経費 34,500,000 円)

2. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年 3月31日

3. 研究目的

<RNA を可視化する必要性>

遺伝性疾患や生活習慣病において、多数の遺伝子が関係する。最善の診断、治療、予防への助言を患者に提供するためには、細胞中で刻一刻と変化する遺伝子機能を理解することが必要である。RNA がエピジェネティック制御下の DNA からの転写によって誕生し、編集されたのち、核外へ移動する。タンパク質への翻訳に利用されて、その後に分解される。また、他の細胞内分子による機能阻害や機能発現前の分解も並行して起こる。定量的・動的・網羅的に RNA の量や働きを可視化するための技術が喫緊の課題として必要とされている。これが、RNA 研究や細胞内ネットワークの時空間追跡などの基礎研究のための手段として役立つだけでなく、RNA ノックアウトによる高度な遺伝子治療・診断や新薬候補物質の効果判定に威力を発揮することは、多くの文献・技術動向調査において再々指摘されている。

<メチル化 DNA を可視化する必要性>

メチル化 DNA を含むエピジェネティクス制御に対しては、さまざまな機能が喧しく議論されているにもかかわらず細胞内可視化技術はきわめて脆弱なままである。新発想かつ現実的なブレイクスルーに欠乏した状態を打破しなければならない。プローブを用いたこれまでのイメージングの方法もいくつか知られているが、配列選択的にメチル化 DNA を可視化する機能は知られていない。今こそ純国産の新方法を提示すべき時である。

<研究代表者による化学的な発想による核酸可視化プローブの設計の例>

研究代表者は、低ノイズ化のために励起子結合効果による蛍光消光機構を利用したハイブリッド特異的ライトアップ核酸プローブをすでにデザインしている。遺伝子読み取り配列に含まれる 1 つのヌクレオチドへ 2 個のチアゾールオレンジ色素を同時に導入したプローブは、分子内色素会合体形成に伴う励起子結合効果によって、ほとんど蛍光発光を生じない。一方、ターゲット RNA とハイブリダイゼーションすると励起子結合効果は解除され、強い蛍光発光を示す。この新規プローブの機能発現メカニズムは大変シンプルだが、従来の標識核酸プローブで挙げられた問題点を全て解決するかもしれない。光物理学的根拠に依る新発想が核酸プローブに応用された例はな

い。研究代表者独自の技術であり、これを純国産の核酸解析の要素技術として徹底的な展開を図る。

4. 研究計画・方法

研究代表者独自の蛍光制御化学に立脚した細胞内核酸可視化法を確立し、疾患に関わる遺伝子の発現制御と機能発現を細胞レベルで時空間的に観察するために、以下の研究を進めた。

(1)「RNA を観る」

①生細胞内 RNA 時空間的解析法: 生細胞内の特定の RNA の生成、核外輸送、翻訳過程、分解を時空間的に観測するための高機能プローブの開発。

②簡便蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法: 短時間かつ高効率に固定化細胞内 RNA の可視化を行う技術の開発。

③RNA タグシステム: 特定の RNA の発現だけを強力な蛍光発光させるためのタグシステム。

④部位選択的 RNA 動態解析: 光活性化プローブや部位選択的送達プローブを創製し、これを用いて細胞内の特定の部位で働く RNA だけを追跡する方法論の確立。

⑤RNA フォールディング解析法: mRNA などのフォールディングを効果的に生細胞中で可視化するための核酸結合機能制御プローブの開発。

⑥新規 RNA 多色染め分け法: 同時もしくは前後して働く複数の RNA を異なる波長を持つ蛍光で標識する方法とプローブの開発。

⑦1 分子計測のための蛍光相互分光相関法: 他の RNA やタンパク質と結合して働く RNA を生細胞中で 1 分子計測するためのプローブ設計とその解析方法の検討。

(2)「メチル化・ヒドロキシメチル化 DNA を観る」

①メチル化 DNA-FISH 法: 発がんや精神遅滞などで観察されるメチル化異常を、染色体レベルで捉えるためのプローブの作製とシステムの構築。

②ヒドロキシメチル化 DNA 検出法: 脱メチル化に必要な DNA 化学修飾を配列選択的に捉えて検出するためのプローブの作製とシステムの構築。

5. 研究成果・波及効果

(1)「RNA を観る」

①生細胞内 RNA 時空間的解析法: われわれは、非結合時のプローブの蛍光を効率的に抑制しつつ標的の RNA を検出することを目的として、色素間励起子相互作用を用いた蛍光性人工核酸プローブ(Exciton-Controlled Hybridization-sensitive fluorescent Oligonucleotide プローブ「ECHO プローブ」)を創出し、細胞内 RNA イメージングへ応用した。チアゾールオレンジを連結したヌクレオチド(D₅₁₄)を含む ECHO プローブの場合、単独では 480 nm の吸収帯が強く現れる一方で、相補的な核酸とハイブリダイゼーションしたあとでは 510 nm の吸収帯が優勢になる。この吸収帯のシフトは、未ハイブリダイゼーション状態において色素会合体形成に起因する励起子相互作用が現れていることを示している。その結果、標的核酸とハイブリダイゼーションする前には蛍光ノイズが強

く抑制される。一方、ハイブリダイゼーションしたあとには、色素会合体の解離とそれらの核酸構造への緩やかなインターカレーションによって、励起子相互作用は解除されて強い蛍光発光を示すようになる。ECHO プローブは、生きた細胞の中の mRNA の検出に有効であり、例えば、マイクロインジェクションを使って ECHO プローブ 5'-d(TTTTTT₅₁₄TTTTTT)-3' を HeLa 細胞内へ導入すると、ポリ A RNA 配列(主として mRNA の 3' 末端のポリ A テール)に結合し、緑色蛍光を発する。標的を持たない ECHO プローブが同様の方法で生細胞内にインジェクションされても、蛍光強度が大変小さく、他の細胞構成要素と結合することによる非特異性の発光が現れないことを示している。さらには、ECHO プローブは、生細胞内の特定の RNA の生成、核外輸送、翻訳過程、分解を時空間的に観測するための高機能プローブへ展開された。DsRed2 蛍光タンパクを発現する系を利用し、生細胞の中で RNA の誕生から翻訳過程に至る一連の流れを追跡できるようなプローブの設計を達成した。

②簡便蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法: ECHO プローブは、洗浄過程を経ずに目的の RNA を可視化することができるほどの低ノイズであることから、固定化細胞内 RNA の可視化も短時間かつ高効率に行うことができた。また、生細胞内の実験と異なり RNA の高次構造やタンパク質の結合を無視することができるので、プローブ配列の選択の自由度が大きく広がった。一例として、神経細胞の樹状突起の中で運ばれる CaMKII α mRNA を可視化することができた。

③RNA タグシステム: 特定の RNA だけを高感度に蛍光発光させるための技術を創出した。RNA 発現時に RNA の非翻訳領域にタグ配列を導入したプラスミドを作成し、その配列に結合できる ECHO プローブと組み合わせることによって、翻訳領域の RNA 配列や構造への影響なしにタグ導入 RNA だけを染色する方法を確立した。ひとつの標的 RNA に 128 回の繰り返したタグを導入し、生細胞の核内に RNA が構成する核スペckルを極めて高い感度で確認することができた。

④部位選択的 RNA 動態解析: 光活性化プローブ「ケージド ECHO プローブ」を作成し、細胞内の特定の部位で働く RNA だけを追跡する方法論を確立した。オルトニトロベンジル基を ECHO プローブに効果的に導入することによって、プローブに光活性化機能を付与することができた。その結果、0.1 秒のピンポイント光照射によって細胞内の特定の部位に位置する ECHO プローブを活性化することができ、その部位からの mRNA のガン細胞・神経細胞内 RNA 流動性を観察することができた。また、プローブ末端にアビジンタンパク質を結合することによって、核膜孔を通過しにくくなり細胞コンパートメント選択的な蛍光観察が可能になった。

⑤RNA フォールディング解析法: mRNA などのフォールディングを効果的に生細胞中で可視化するための核酸結合機能制御プローブを開発した弱結合型プローブとして短鎖 DNA 骨格を採用する一方、強結合型プローブとして LNA 骨格を採用した。本研究では、LNA バックボーンを含む ECHO プローブを設計・合成し、その機能評価を行った。LNA の導入は、プローブと標的 RNA によって形成される二本鎖の熱的安定性を大幅に高めるだけでなく、高次構造を有する RNA の検出や RNA の 1 塩基の差異の区別などにも適していることが明らかになった。特に、HIV-1 TAR RNA の高次構造の検出に有効であり、効果的な蛍光強度変化を観測することができた。

⑥新規 RNA 多色染め分け法: プローブの多色化に向けて、20 色を超える多色化プローブ色素群

を開発した。紫外領域から近赤外領域までをカバーする。これらのプローブを同時に標的細胞に導入しても、プローブ間の干渉は認められなかった。したがって、細胞内での複数の RNA の時空間挙動を同時に観察する方法が得られた。一例として、ビスキノリン骨格を有する新しい近赤外蛍光色素を開発した。この色素 2 分子を 1 分子のチミジンに連結し、これを DNA へ導入すると、可視領域の蛍光色素で観察されたのと同様のハイブリダイゼーション依存性の蛍光スイッチング機能が観察された。また、色素から電荷を取り去った場合には、有機合成的な簡便な方法でプローブに導入することができ、これを従来法で導入した色素との FRET と光褪色法を活用することによって、RNA の細胞内挙動をピンポイントで観察できるようになった。

⑦1 分子計測のための蛍光相互分光相関法: 蛍光相互相関分光法を利用して、観測される蛍光の揺らぎから、プローブ結合 RNA1 分子の運動状態を測定できる実験方法を確立した。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も作成し、細胞内 RNA 拡散速度の測定を可能にした。

(2)「メチル化・ヒドロキシメチル化 DNA を観る」

①メチル化 DNA-FISH 法: DNA シトシンのメチル化・脱メチル化は、ヒストンの修飾とクロストークしながら、遺伝子発現の制御に強く関与する。メチル化については、これまでもエピジェネティクス研究における重要な研究対象であり、亜硫酸水素塩による非メチル化シトシンの脱アミノ化を始めとする多様な化学的解析法が開発されている。ただ、従来法ではサンプルの分解が激しいので、それに代わる化学的手法を、われわれが開発した。オスミウム酸化を介した 5-メチルシトシン (mC) 選択的錯体形成を用いたメチル化検出法 (ICON 法) は、従来法のような DNA の分解なしに、ゲノム中の特定の場所のシトシンのメチル化の程度を定量できた。また、世界で初めて染色体中のメチル化された特定の配列を可視化し、一例として、精神発達異常を示す ICF 症候群におけるサテライト DNA のメチル化の低下を可視化した。

②ヒドロキシメチル化 DNA 検出法: 2009 年に 5-ヒドロキシメチルシトシン (hmC) がゲノム中に見いだされ、能動的 DNA 脱メチル化経路における重要な中間体物質としての役割を果たすと言われるようになった。hmC の生成と脱メチル化の機構との関係を明らかにするためには、DNA の hmC の存在と量を検出する効果的な方法が必要である。われわれは、世界に先駆けて、ペルオキソタングステン酸二核錯体 $K_2[[W(=O)(O_2)_2(H_2O)]_2(\mu-O)] \cdot 2H_2O$ を用いた酸化反応が、hmC 選択的であり、DNA 中のエピジェネティックな前駆体である非メチル化シトシンや mC から hmC を区別するのに有用であることを見出した。hmC 含有 DNA から得られた酸化生成物の質量分析の結果は、トリヒドロキシルチミンの生成を示唆した。酸化生成物は、プライマー伸長反応において相補鎖側へのアデニンの導入を引き起こし、その結果、目的の配列の中の hmC を従来型の DNA 配列解析法で検出することが可能になった。

6. 研究発表等

雑誌論文 計 24 件	<p>(掲載済み一査読有り) 計 24 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Nomura, A.; Okamoto, A. Recognition of methylcytosine in duplex DNA by artificial zinc finger peptide Peptide Sci. 2011, 2010, 226. 2. Nomura, A.; Okamoto, A. Phosphopeptides Designed for 5-Methylcytosine Recognition. <i>Biochemistry</i> 2011, 50 (16), 3376–3385. http://dx.doi.org/10.1021/bi102053d 3. 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. http://dx.doi.org/10.1039/C1OB05247K 4. Ikeda, S.; Yanagisawa, H.; Nakamura, A.; Wang, D. O.; Yuki, M.; Okamoto, A. A. Hybridization-sensitive fluorescence control in the near-infrared wavelength range. <i>Org. Biomol. Chem.</i> 2011, 9 (11), 4199–4204. http://dx.doi.org/10.1039/c1ob05252g 5. Sugizaki, K.; Umemoto, T.; Okamoto, A. On-chip DNA methylation analysis using osmium complexation. <i>J. Nucleic Acids</i> 2011, 2011, 480570. http://dx.doi.org/10.4061/2011/480570 6. Okamoto, A. ECHO Probes: A Concept of Fluorescence Control for Practical Nucleic Acid Sensing. <i>Chem. Soc. Rev.</i> 2011, 40 (12), 5815–5828. http://dx.doi.org/10.1039/c1cs15025a 7. 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. http://dx.doi.org/10.1039/c1cc12131f 8. 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. http://dx.doi.org/10.1039/C1OB05869J 9. 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. http://dx.doi.org/10.1021/bc200184a 10. 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. Online ISSN:1751–1097 11. 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. http://dx.doi.org/10.1002/0471142700 12. Okamoto, A.; Sugizaki, K.; Nakamura, A.; Yanagisawa, H.; Ikeda, S. 5-Hydroxymethylcytosine-selective oxidation with peroxotungstate.
--------------------	--

<p>Chem. Commun. 2011, 47 (40), 11231–11233. http://dx.doi.org/10.1039/C1CC14782J</p> <p>13. 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. ChemBioChem 2011, 12 (18), 2871–2880. http://dx.doi.org/10.1002/cbic.201100523</p> <p>14. 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. http://dx.doi.org/10.1261/rna.028431.111</p> <p>15. 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. http://dx.doi.org/10.1021/jp307018k</p> <p>16. 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. http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.201100425</p> <p>17. 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. http://dx.doi.org/10.1016/j.jlumin.2012.04.046</p> <p>18. Wang, D. O.; Okamoto, A. ECHO probes: fluorescence emission control for nucleic acid imaging J. Photochem. Photobiol. C-Photochem. Rev. 2012, 13, 112–123. http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2012.03.001</p> <p>19. 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. http://dx.doi.org/10.1039/c2ob26707a</p> <p>20. 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. http://dx.doi.org/10.4161/adna.24102</p> <p>21. Hayashi, G.; Okamoto, A. Probe Design for Effective Fluorescent Imaging of Intracellular RNA Chem. Rec. 2013, 13 (2), 209–217. http://dx.doi.org/10.1002/tcr.201200026</p> <p>22. Okamoto, A. Application of caged fluorescent nucleotides to live-cell RNA imaging Methods Mol. Biol. 2013, 1039, 303–318. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-62703-535-4_24</p> <p>23. Li, Y.; Miyinari, 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. http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkt766</p>
--

	<p>24. 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 http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0095750</p> <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</p> <p>計 57 件</p>	<p>専門家向け 計 57 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 日本化学会第 91 春季年会 池田 修司・久保田 健・結城 瑞恵・柳澤 博幸・王 丹・中村 亜希子・岡本 晃充「二分子の色素間の励起子相互作用を利用した DNA 蛍光プローブ」(平成 23 年 3 月 横浜) 2. 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) 3. 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 4. 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) 5. 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 6. 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 7. Okamoto Akimitsu, “Chemical approaches for epigenetics” Wuhan 2011.10.14-17 Asian 3 Roundtable on Nucleic Acids (A3RONA 2011 Wuhan) 8. 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 9. 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) 10. 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) 11. 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 12. 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

	<p>13. Okamoto Akimitsu, "Chemical Approaches for Epigenetic DNA Modification" Barcelona 2011.12.2-7 International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (11 ISABC)</p> <p>14. 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>15. Akimitsu Okamoto, "ECHO Probes for intracellular RNA imaging ", A3RONA2012, Pohang, Korea, 18-21 May, 2012</p> <p>16. 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>17. 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>18. 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>19. 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>20. 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> <p>21. 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>22. 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>23. 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>24. 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>25. 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>26. 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>27. 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>28. 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>
--	--

29.	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
30.	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
31.	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
32.	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
33.	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
34.	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
35.	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
36.	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
37.	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
38.	Akimitsu Okamoto, "Chemical Epigenetics: Chemical Detection of DNA Modification, Histone Modification and Expressed RNA", A3RONA 2013, Kobe, Japan, August 30-September 2, 2013
39.	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
40.	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
41.	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
42.	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
43.	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
44.	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>45. 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>46. Akimitsu Okamoto, “Tungsten reacting with 5-hydroxymethylcytosine”, Epigenomics of Common Diseases 2013, Hinxton, UK, November 7-10, 2013</p> <p>47. 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>48. 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>49. 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>50. 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>51. 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>52. 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>53. 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>54. 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>55. 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>56. 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>57. 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5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 ISBN 978-4-7581-0314-5</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 ISBN 9784759813661(4759813667)</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 ISBN 978-4-7813-0454-0</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 243 巻 6 号」pp. 542-543 平成24年(2012年)11月10日発行 雑誌コード: 20472-11/10</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 ISBN978-4-944157-55-6</p>
<p>産業財産権 出願・取得 状況 計2件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計2件</p> <p>「化合物、核酸、核酸の製造方法および核酸を製造するためのキット」岡本晃充、池田修司、理化学研究所、(国内)JP2012-551041、(外国)EP1185424.1、US13/997700、WOJP2011/080386、2011/12/28</p> <p>「核酸中の5-ヒドロキシメチルシトシンの検出方法及び検出キット」岡本晃充、杉崎香織、中村亜希子、柳澤博幸、池田修司、理化学研究所、(国内)JP2013-510000、(外国)EP12771081.2、US14/111825、WOJP2012/060265、2012/4/16</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>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</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>岡本 晃充, “DNA って何だろう?”, 2011 年 8 月 18 日, 会場: 理化学研究所 埼玉県立熊谷高等学校 (1~2 年生 10 名対象),</p> <p>岡本 晃充, “DNA って何だろう?”, 2011 年 12 月 15 日, 会場: 理化学研究所 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),</p> <p>岡本 晃充, “DNA って何だろう?”, 2012 年 5 月 28 日, 会場: 茨城県鹿島市 清真学園高等学校 清真学園高等学校生 100 名</p> <p>岡本 晃充, “遺伝子のカラーリングで疾患メカニズム解明は勝ち色を見るか?”, 2012 年 8 月 24 ~ 30 日, 会場: 東大病院外来棟 1 階ロビー階段横スペース 一般来院者およそ 500 名</p> <p>岡本 晃充, “遺伝子のカラーリングで疾患メカニズム解明は勝ち色を見るか?”, 2013 年 1 月 16 ~ 17 日, 会場: 文京シビックセンター地下 2 階区民ひろば 一般来場者およそ 500 名</p> <p>岡本 晃充, 「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 会場: 東京大学駒場 II キャンパス 大学関係者・企業関係者・近隣住民・小中高生 およそ 1500 人</p>

様式21

新聞・一般 雑誌等掲載 計2件	1. 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」 2. 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	

7. その他特記事項

第10回 日本学術振興会賞 受賞 (2014年2月)