

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21750170

研究課題名（和文） DNA内光電荷分離寿命に基づくDNA情報の読み出し

研究課題名（英文） Reading out the DNA sequence information by measuring the lifetime of the charge separated state

研究代表者

川井 清彦（KAWAI KIYOHICO）

大阪大学・産業科学研究所・准教授

研究者番号：50314422

研究成果の概要（和文）：可視光励起が可能な蛍光色素を用いて、DNA内の光電荷分離寿命の測定に成功した。電荷分離寿命が蛍光色素周辺の配列に依存し、電荷分離寿命の測定により、DNA配列情報の読み出しに成功した。また、DNA内光電荷分離に伴い、蛍光色素のラジカルアニオン、および、DNA内ラジカルカチオンが発生するが、これら活性種を利用して、光触媒的にヨウ素を生じる系の構築に成功した。これにより、高価な大掛かりな装置を用いなくてもヨウ素デンプン反応を利用した目視でDNA情報の読み出しが可能になった。

研究成果の概要（英文）：Charge-separation and charge recombination in DNA was established using the fluorescent dyes those absorbs in the visible region. The lifetime of the charge-separated state was significantly affected by the surrounding sequences which enabled the read out the DNA sequence information based on the measurement of the lifetime of the charge separated state.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究代表者の専門分野：光化学、生物有機化学、核酸化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：DNA、電子移動、光電荷分離、一塩基多型（SNPs）

1. 研究開始当初の背景

応募者は、DNAを一電子酸化する光増感剤（＝蛍光色素）を用いて、DNA内電荷分離を達成してきた。しかしながら、生体試料の分析に適さない、紫外光励起による光電荷分離状態の生成であった。また、電荷分離寿命の測定には大掛かりな装置および多量のサンプルを必要とした。

2. 研究の目的

DNA内電荷分離寿命の測定から、DNA配列情報の読み出しを可能とするため、下

記の2点に焦点を絞り、研究を行った。

- (1) 可視光による光電荷分離の達成
- (2) 特別な装置を用いずにDNA内電荷分離寿命を読み出す手法の開発

3. 研究の方法

本研究は、大きく分けて下記の二つの素ステージ分けて行い、反復することで目標達成を図った。

- (1) 蛍光色素を修飾したDNAの化学合成
- (2) 合成したDNAを、蛍光測定、過渡吸収測定により評価

4. 研究成果

上記目的に掲げた2点に関して下記の成果を得た。

- (1) TAMRA や Alexa 532 などの、可視光領域に広く吸収を有する蛍光色素を用いて DNA 内光電荷分離を達成した。DNA 内電荷分離寿命が周囲の配列に大きく依存することを見出し、電荷分離寿命の測定により、DNA 配列情報を読み出すことに成功した。
- (2) DNA 内光電荷分離に伴い、蛍光色素のラジカルアニオン、および、DNA 内ラジカルカチオンが発生するが、これら活性種を利用して、光触媒的にヨウ素を生じる系の構築に成功した。これにより、高価な大掛かりな装置を用いなくてもヨウ素デンプン反応を利用した目視で DNA 情報の読み出しが可能になった。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

- ① Photocatalytic formation of I-I bonds using DNA which enables detection of single nucleotide polymorphisms, K. Kawai, H. Kodera, T. Majima, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 14216-14220 (2010)、査読有
- ② 8-Oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine produces a long-lived charge-separated state during the photosensitized one-electron oxidation of DNA resulting in efficient and exclusive degradation, K. Kawai, E. Matsutani, T. Majima, *Chem. Commun.*, **46**, 3277-3279 (2010)、査読有
- ③ Sequence dependence of excess electron transfer in DNA, K. Tainaka, M. Fujitsuka, T. Takada, K. Kawai, T. Majima, *J. Phys. Chem. B*, **114**, 14657-14663 (2010)、査読有

- ④ Charge separation and photosensitized damage in DNA mediated by naphthalimide, naphthalidiimide, and anthraquinone, K. Kawai, Y. Osakada, E. Matsutani, T. Majima, *J. Phys. Chem. B*, **114**, 10195-10199 (2010)、査読有

- ⑤ Long-range charge transfer through DNA by replacing adenine with diaminopurine, K. Kawai, H. Kodera, T. Majima, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 627-630 (2010)、査読有

- ⑥ Importance of protonation state of guanine radical cation during hole transfer in DNA, K. Kawai, Y. Osakada, T. Majima, *ChemPhysChem*, **10**, 1766-1769 (2009)、査読有

- ⑦ Sequence-independent and rapid long-range charge transfer through DNA, K. Kawai, H. Kodera, Y. Osakada, T. Majima, *Nature Chem.*, **1**, 156-159 (2009)、査読有

[学会発表] (計18件)

- ① 川井清彦、一分子レベル蛍光観測による DNA内電荷分離寿命の測定、日本化学会第91回春季年会、2011年3月26日、横浜(神奈川県川大)
- ② 川井清彦、放射線および光照射によるDNA酸化損傷、第42回基礎科学セミナー、2011年1月17日、東海(原研)
- ③ 川井清彦、Rapid long-range charge transfer through DNA、2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies、2010年12

月18日、Hawaii (USA)

- ④ 川井清彦、Kinetic studies of photosensitized one electron oxidation of DNA、The 37th Internatinal Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2010、2010年11月10日、横浜
- ⑤ 川井清彦、ヨウ素デンプン反応による一塩基多型の検出、第4回バイオ関連化学シンポジウム、2010年9月26日、大阪（大阪大）
- ⑥ 川井清彦、光触媒的ヨウ素生成反応を利用したDNA一塩基多型の検出、2010年光化学討論会、2010年9月8日、千葉（千葉大）
- ⑦ 川井清彦、8-オキシグアニンはDNA内光電荷分離を促進し選択的に損傷する、第32回日本光医学・光生物学会、2010年7月30日、東京（東京慈恵医大）
- ⑧ 川井清彦、Reading out the DNA sequence information by measuring the charge transfer kinetics、Japan-China joint symposium on functional supramolecular architectures、2010年7月27日、Changchun (China)
- ⑨ 川井清彦、生体高分子DNA中の電荷移動、第6回有機電子移動化学若手の会、2010年6月24日、大阪（大阪府立大）
- ⑩ 川井清彦、Reading out the sequence information of DNA by measuring the charge transfer kinetics、杉山研研究室セミナー、2010年5月15日、京都（京大）
- ⑪ 川井清彦、デアザアデニン置換によるDNA内長距離電荷移動、日本化学会第90春季年会（2010）、2010年3月26日、近畿大

学（大阪府）

- ⑫ 川井清彦、DNA内電荷移動速度の測定に基づくDNA配列情報の読み出し、第13回NAIST科学技術セミナー、2009年12月14日、奈良先端大学（奈良県）
- ⑬ 川井清彦、DNA内電荷移動 光増感DNA損傷を速度定数に基づいて説明する、生体機能化学講演会、2009年11月6日、兵庫県立大（兵庫県）
- ⑭ 川井清彦、Kinetic Studies of Long-Range Hole Transfer through DNA、The Sixth International Symposium on Nucleic Acids Chemistry、2009年10月1日、高山市民文化会館（岐阜県）
- ⑮ 川井清彦、配列に依存しないDNA内高速ホール移動、第24回生体機能関連化学シンポジウム、2009年9月16日、桐生市民文化会館（群馬県）
- ⑯ 川井清彦、DNA光増感一電子酸化過程における一重項酸素の発生、第24回生体機能関連化学シンポジウム、2009年9月14日、九州大学（福岡県）
- ⑰ 川井清彦、光増感DNA一電子酸化損傷における一重項酸素の寄与、第31回日本光医学・光生物学会、2009年7月24日、梅田スカイビル（大阪府）
- ⑱ 川井清彦、DNA内電荷移動とDNA損傷の速度論的アプローチ、生体機能関連化学 若手の会 第21回サマースクール、2009年7月13日、関西セミナーハウス（京都府）

〔図書〕（計3件）

- ① K. Kawai, T. Majima, “G-C Content independent long-range charge transfer through DNA”, in “Topics in Current Chemistry: Electronic and magnetic properties of chiral molecules and supramolecular architectures”, ed by R. Naaman, Springer-Verlag, Inc., Berlin, 129-142 (2011)
- ② K. Kawai, T. Majima, “Kinetics of long-range oxidative electron transfer through DNA” in “Radicals and radicalion reactivity, in nucleic acid chemistry” ed by Marc M. Greenberg, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, U.S.A, 191-210 (2009)
- ③ K. Kawai, T. Majima, “Consecutive adenine sequences serve as potential targets in photosensitized oxidative DNA damage” in “New research on DNA damage” ed by H. Kimura, A. Suzuki, Nova Science Publishers, Inc, Hauppauge, New York, U.S.A, 221-236 (2009)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川井 清彦 (KAWAI KIYOHICO)
大阪大学・産業科学研究所・准教授
研究者番号：50314422

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者
該当なし