

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15249

研究課題名(和文) Creation and biological evaluation of nanoparticle-based artificial transcription factor

研究課題名(英文) Creation and biological evaluation of nanoparticle-based artificial transcription factor

研究代表者

CHINNATHAMBI Shanmugavel (Chinnathambi, Shanmugavel)

京都大学・高等研究院・特定研究員

研究者番号：60922341

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、人工転写因子の調製だけでなく、バイオイメージングのために水溶性SiQDとCQDを開発した。水溶性シリコン量子ドットの合成には、デセン分子を表面官能基化したシリコンQDを用い、水溶性化にはプルロニックF127を用いた。さらに、バイオマス廃棄物からCQDを合成した。HeLa、A549、線維芽細胞、iPS、心筋細胞、メダカなど、さまざまな細胞株について、両材料の細胞毒性を試験した。これらの材料を用いてNANO-TFを開発した。NANO-TFユニットには薬物とミトコンドリア浸透ペプチドが含まれており、ミトコンドリア内部への浸透を可能にしている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

当研究室において合成された量子ドットベースのNANO-TFは、ミトコンドリア膜を透過してがん細胞のミトコンドリアDNAに到達する能力を持っており、得られた結果は、QDベースの薬物送達による癌細胞の破壊に大きく役立つ。

研究成果の概要(英文)：We have developed water-soluble SiQDs and CQDs for bio-imaging, as well as to prepare the artificial transcription factor. Instead, we used silicon QDs with decene molecules for surface functionalization and Pluronic F127 for the water-soluble process. Additionally, we synthesized CQDs from biomass waste. We tested the cytotoxicity of both materials on various cell lines, including HeLa, A549, fibroblast, iPS, cardiomyocytes, and Japanese medaka fish. We used these materials to develop NANO-TF. The NANO-TF units contain drugs and mitochondrial penetrating peptides, which enable them to penetrate inside the mitochondria.

研究分野：Nanomedicine

キーワード：Quantum dots Cell imaging Transcription Factor Medaka fish reactive oxygen species Molecular modeling

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Cancer is the leading cause of death globally and also in Japan. Recent studies have shown that reactive oxygen species (ROS) produced by mitochondrial complexes play an essential role in cancer development through signaling pathways and epigenetic regulation. However, controlling the multiple targets, including nuclear and mitochondrial genes involved in ROS production, has been challenging. Natural transcription factors use protein modifications to control various factors precisely. Therefore, an artificial transcription factor that can imitate the structure and function of natural transcription factors is expected to control nuclear and mitochondrial genes involved in cancer disease. In previous studies, synthetic transcription factors were developed to control the transcription of genes in the nucleus and mitochondria using epigenetic mechanisms. Based on these findings, the goal of this project is to develop an artificial transcription factor called "NANO-TF" by introducing various functional compounds onto quantum dots. NANO-TF is expected to control ROS levels and intracellular energy metabolism in cancer patients, providing innovative strategies for treating cancer.

2. 研究の目的

The aim of this study is to create and assess artificial transcription factors that can more precisely regulate reactive oxygen species (ROS) in cancer cells (Figure 1). Although researchers are currently gaining knowledge about the nuclear and mitochondrial factors that play a role in ROS, there is still no established method for effectively controlling these factors. While compound-based synthetic transcription factors are straightforward, it is challenging

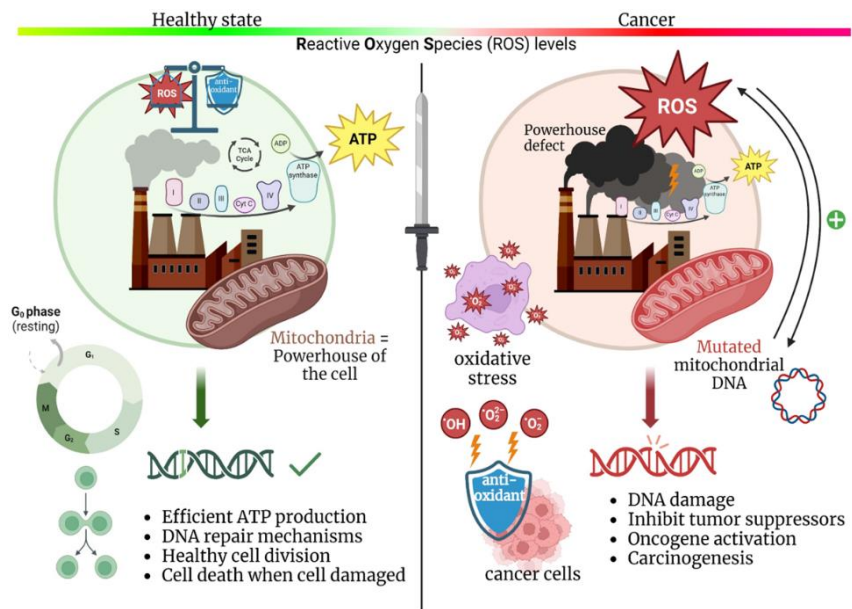


Figure 1. ROS levels in healthy and cancer cells

to achieve precise control over complex transcription networks due to their limited capacity to perform intricate tasks. To overcome this limitation, we looked to nature for inspiration and observed how well-controlled gene expression occurs at the molecular level. This insight guided us in developing a gene expression control method. In the cell, transcription factors contain a DNA binding domain alongside various domains that regulate epigenetic enzymes and signaling factors, allowing for selective gene expression regulation. We plan to create a new type of artificial transcription factor called "NANO-TF" by combining PIP as a DNA binding domain with functional compounds and

peptides on silicon quantum dots. Our goal is to demonstrate the effectiveness of this NANO-TF in regulating the expression of mitochondrial and nuclear factors involved in cancer and managing the level of ROS in living cells.

3. 研究の方法

We developed water-soluble silicon and carbon quantum dots for delivering DNA binding domain *N*-Methylpyrrole-*N*-methylimidazole polyamide (PIP) to mitochondrial DNA using mitochondrial penetrating peptides. We created NANO-TF based on past reports. Specifically, silicon quantum dots having a small particle size (~ 4 nm) that are biodegradable and water-soluble and quickly permeate mitochondria are used. Introduce functional domains such as transcriptional activation domains (VP16 peptides and TFAM transcriptional activation domains, compounds with transcriptional activation ability), nuclear localization signals (TAT peptides), and DNA binding domains (PIPs). A WRPW peptide is used as the transcriptional repression domain. Mitochondrial penetrating peptides are introduced into the mitochondrial DNA target NANO-TF, and these introductions are performed by EDC / NHS coupling.

4. 研究成果

Targeting mitochondrial DNA is a promising strategy for cancer drug therapy. Quantum dots-based NANO-TFs synthesized in a laboratory have the ability to penetrate the mitochondrial membrane and reach mitochondrial DNA in cancerous cells. Figure 2 displays the uptake of NANO-TFs by HeLa cells. To confirm the organelle localization of the CQDs, mito-tracker dye was used, and both the CQDs and mito-tracker merged effectively. These results indicate that nitrogen-doped CQDs can enter mitochondria. The blue color signifies the cell nucleus, the green color represents mitochondria, and the orange color indicates NANO-TF. In addition, we synthesized silicon quantum dots to focus near-infrared region. We achieved near-infrared emitting quantum dots with a 40% quantum yield. We believe that these materials (NANO-TF) could be beneficial for extending human life in the near future.

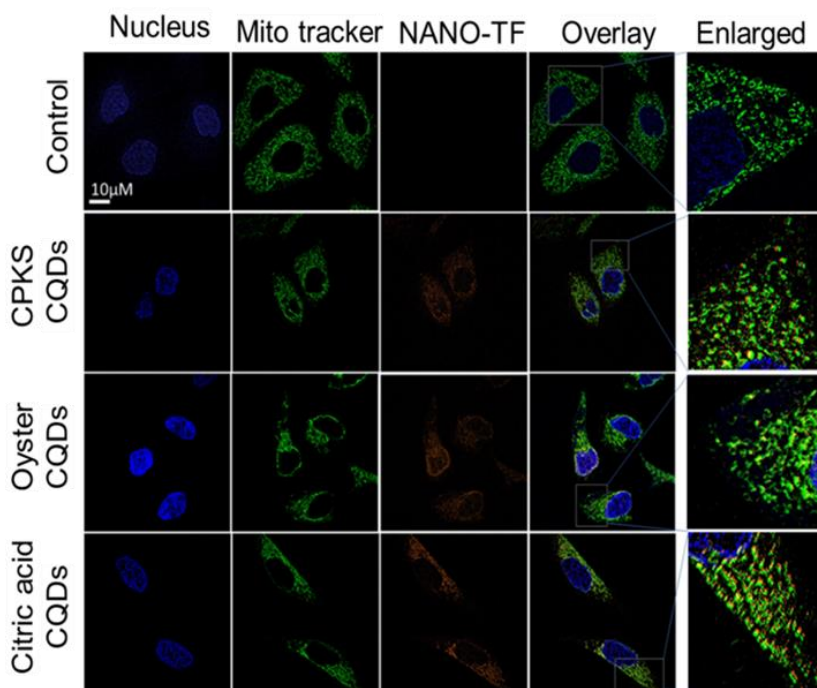


Figure 2 NANO-TF, mitochondrial localization using CPKS, oyster, and citric acid-based CQDs with HeLa cells.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件/うち国際共著 13件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Jayaraman Venkatachalam, Mahalingam Shanmugam, Chinnathambi Shanmugavel, Pandian Ganesh N., Prakasarao Aruna, Ganesan Singaravelu, Ramasamy Jayavel, Ayyaru Sivasankaran, Ahn Young-Ho	4. 巻 12
2. 論文標題 Facile Synthesis of Hafnium Oxide Nanoparticle Decorated on Graphene Nanosheet and Its Photocatalytic Degradation of Organic Pollutants under UV-Light Irradiation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Applied Sciences	6. 最初と最後の頁 11222 ~ 11222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/app122111222	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Rupavarshini Manoharan, Karthikeyan Subramani, Anandh Sundaramoorthy, Ramamoorthi Anitha, Ramakrishnamurthy Suganya, Bharanidharan Ganesan, Aruna Prakasarao, Mangaiyarkarasi Rajendiran, Chinnathambi Shanmugavel, Pandian Ganesh N., Ganesan Singaravelu	4. 巻 5
2. 論文標題 A biophysical approach of cytarabine anticancer drug insights into human serum albumin and checkpoint kinase 1	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Results in Chemistry	6. 最初と最後の頁 100755 ~ 100755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.rechem.2022.100755	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Chinnathambi Shanmugavel, Shirahata Naoto, Kumar Mahima, Karthikeyan Subramani, Abe Katsuhiko, Thangavel Vijayanthi, Pandian Ganesh N.	4. 巻 13
2. 論文標題 Nano-bio interaction between human immunoglobulin G and nontoxic, near-infrared emitting water-borne silicon quantum dot micelles	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 6051 ~ 6064
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D3RA00552F	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Karthikeyan Subramani, Grishina Maria, Kandasamy Saravanan, Mangaiyarkarasi Rajendiran, Ramamoorthi Anitha, Chinnathambi Shanmugavel, Pandian Ganesh N., John Kennedy L.	4. 巻 41
2. 論文標題 A review on medicinally important heterocyclic compounds and importance of biophysical approach of underlying the insight mechanism in biological environment	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Biomolecular Structure and Dynamics	6. 最初と最後の頁 14599 ~ 14619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/07391102.2023.2187640	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Abu Norhidayah, Chinnathambi Shanmugavel, Kumar Mahima, Etezadi Fatemeh, Bakhori Noremylia Mohd, Zubir Zuhana Ahmad, Md Salleh Shahrul Nizam, Shueb Rafidah Hanim, Karthikeyan Subramani, Thangavel Vijayanthi, Abdullah Jaafar, Pandian Ganesh N.	4. 巻 13
2. 論文標題 Development of biomass waste-based carbon quantum dots and their potential application as non-toxic bioimaging agents	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 28230 ~ 28249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D3RA05840A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Karthikeyan Subramani, Sundaramoorthy Anandh, Kandasamy Saravanan, Bharanidharan Ganesan, Aruna Prakasarao, Suganya Ramakrishnamurthy, Mangaiyarkarasi Rajendiran, Ganesan Singaravelu, Pandian Ganesh N., Ramamoorthi Anitha, Chinnathambi Shanmugavel	4. 巻 42
2. 論文標題 A biophysical approach of tyrphostin AG879 binding information in: bovine serum albumin, human ErbB2, c-RAF1 kinase, SARS-CoV-2 main protease and angiotensin-converting enzyme 2	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Biomolecular Structure and Dynamics	6. 最初と最後の頁 1455 ~ 1468
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/07391102.2023.2204368	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Anjila P.K Fathima, Tharani G.R., Sundaramoorthy Anand, Kumar Shanmugam Venkat, Subramani Karthikeyan, Chinnathambi Shanmugavel, Pandian Ganesh N., Raghavan Vimala, Grace Andrews Nirmala, Ganesan Singaravelu, Rajendiran Mangaiyarkarasi	4. 巻 196
2. 論文標題 An ultra-sensitive detection of Melamine in milk using Rare-earth doped Graphene Quantum Dots-Synthesis and Optical Spectroscopic approach	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Microchemical Journal	6. 最初と最後の頁 109670 ~ 109670
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.microc.2023.109670	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Karthikeyan Subramani, Thirunarayanan Ayyavu, Shano Leon Bernet, Hemamalini Arasappan, Sundaramoorthy Anandh, Mangaiyarkarasi Rajendiran, Abu Norhidayah, Ganesan Singaravelu, Chinnathambi Shanmugavel, Pandian Ganesh N.	4. 巻 14
2. 論文標題 Chalcone derivatives' interaction with human serum albumin and cyclooxygenase-2	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 2835 ~ 2849
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d3ra07438b	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Bai Dan, Ziadlou Reihane, Vaijayanthi Thangavel, Karthikeyan Subramani, Chinnathambi Shanmugavel, Parthasarathy Anutthaman, Cai Li, Br?ggen Marie Charlotte, Sugiyama Hiroshi, Pandian Ganesh N.	4. 巻 79
2. 論文標題 Nucleic acid based small molecules as targeted transcription therapeutics for immunoregulation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 843 ~ 860
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/all.15959	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kumar Akshaya, Chinnathambi Shanmugavel, Kumar Magi, Pandian Ganesh N.	4. 巻 75
2. 論文標題 Food Intake and Colorectal Cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrition and Cancer	6. 最初と最後の頁 1710 ~ 1742
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/01635581.2023.2242103	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Chinnathambi Shanmugavel, Shirahata Naoto, Lesani Pooria, Thangavel Vaijayanthi, Pandian Ganesh N.	4. 巻 14
2. 論文標題 Surface charge-dependent cytokine production using near-infrared emitting silicon quantum dots	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1 ~ 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-024-60536-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kumar Mahima, Chinnathambi Shanmugavel, Bakhori Noremylia, Abu Norhidayah, Etezadi Fatemeh, Thangavel Vaijayanthi, Packwood Daniel, Sivaniah Easan, Pandian Ganesh N.	4. 巻 14
2. 論文標題 Biomass-derived carbon dots as fluorescent quantum probes to visualize and modulate inflammation	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1 ~ 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-024-62901-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Shano Leon Bernet, Karthikeyan Subramani, Kennedy Lourdasamy John, Chinnathambi Shanmugavel, Pandian Ganesh N.	4. 巻 12
2. 論文標題 MOFs for next-generation cancer therapeutics through a biophysical approach? a review	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 1-39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fbioe.2024.1397804	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

[学会発表] 計9件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Chinnathambi Shanmugavel
2. 発表標題 Quantum dots for bioimaging and drug delivery applications
3. 学会等名 VIT University (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Chinnathambi Shanmugavel
2. 発表標題 Quantum dots for biological applications
3. 学会等名 RSC Poster conference 2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Chinnathambi Shanmugavel
2. 発表標題 Near infrared-emitting silicon quantum dots interaction with blood plasma proteins
3. 学会等名 Kyoto Winter School 2024 "Towards Holistic Understanding of Life," (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Chinnathambi Shanmugavel
2. 発表標題 Silicon, and carbon quantum dots for in-vitro and in-vivo imaging
3. 学会等名 3rd International Conference on Advanced Nanomaterials (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Chinnathambi Shanmugavel
2. 発表標題 Quantum dots for Biomedical Applications
3. 学会等名 Global Web Forum Series on Science &Technology (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chinnathambi Shanmugavel
2. 発表標題 Biomass-derived carbon quantum dots as bioimaging agents
3. 学会等名 International Conference on Materials Science and Engineering (Materials Oceania 2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chinnathambi Shanmugavel
2. 発表標題 Silicon, Carbon dots for in-vitro and in-vivo imaging
3. 学会等名 Biomaterials International 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chinnathambi, S., Lee, K.B., Sugiyama, H., Ganesh N Pandian
2. 発表標題 Multi-functional Transcription Therapeutics for a Mitochondrial Genetic Disorder
3. 学会等名 iCeMS Retreat, Kyoto University
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Abu, N., Chinnathambi, S., R.H.Shueb., J.Abdullah.,
2. 発表標題 Biomass waste-based quantum dots from palm kernel shell and oyster shell for bioimaging application
3. 学会等名 7th International Symposium on Advanced Materials and Nanotechnology (iSAMN2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関