

令和 4 年 10 月 27 日現在

機関番号：17104

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K15700

研究課題名（和文）テロメアDNA四本鎖を選択的に標的とする新規G4リガンドcNDIクラスターの開発

研究課題名（英文）The development of peptide tethered cNDI cluster for specifically targeting telomeric tetraplex DNA

研究代表者

ゾウ ティンティン（ZOU, TINGTING）

九州工業大学・大学院工学研究院・特任助教

研究者番号：30828637

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、(1)初めてペプチドをリンカーとして新規リガンドクラスターの構築に使用した。環状ナフタレンジイミド（cNDI）をG4リガンドユニットとして採用し、pep-cNDI二量体を新たに合成し、G-quadruplex認識への応用性も評価した。(2)CDベースのT_m測定およびITCベースの結合親和性アッセイにより、pep-cNDI二量体がモノG-quadruplexの認識および安定化に対する優先度が高いことを確認した。(3)ESI-MSの結果により、2つのpep-cNDI二量体が1つのG-quadruplex構造に結合し、より安定した複合体を形成することを示唆していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

We firstly adopted peptide as linker part for constructing G4 ligand cluster, and confirmed the high potentiality of peptide as linker, which could enrich the development of new group of G4 ligands.

研究成果の概要（英文）：In this study, (1) we firstly employed peptide as the linker part to construct novel ligand cluster, cyclic naphthalene diimide was adopted as the base G4 ligand unit, which showed preference for G-quadruplex recognition; several pep-cNDI dimers were newly synthesized; (2) then we confirmed that pep-cNDI dimers showed enhanced preference for recognizing and stabilizing mono G-quadruplex than cNDI monomer, within the determination by CD-based T_m measurement and ITC-based binding affinity assay; (3) finally we adopted ESI-MS to analyze the binding property of pep-cNDI dimers with G-quadruplex, the results suggested that two pep-cNDI dimers prefer to bind to one G-quadruplex structure and form a much more stable complex

研究分野：生体関連化学

キーワード：G-quadruplex naphthalene diimide peptide linker cluster

1. Research background

G-quadruplex has been a promising anticancer therapy target, due to its biological roles involved into regulating genome activation and telomere length. Numerous small molecules were reported with G-quadruplex binding affinity, and considered as new chemo-anticancer agent candidates. Some dimeric molecules or even tetrameric molecules were developed for recognizing multiple G-quadruplex. And generally alky-chain or PEG chain were frequently adopted to construct these molecule multimers. As the increasing potentiality of peptide for G-quadruplex recognition, the conjugation of G4 ligand with peptide to construct new G4 ligand shows promising G4 specificity.

2. Research purpose

In this study, we firstly adopted peptide as the linker part to construct novel ligand cluster, and identified the availability of applying peptide for connecting G4 ligands. As the base G4 ligand, cyclic naphthalene diimide was adopted, which showed preference for G-quadruplex recognition, then we synthesized several novel pep-cNDI dimers. Then instead of investigating the specificity of pep-cNDI dimers for discriminating G-quadruplex multimer from monomer, here we confirmed that pep-cNDI dimers showed enhanced preference for recognizing and stabilizing mono G-quadruplex than cNDI monomer.

3. Research methods

- (1) PEG mimicked *in vitro* molecular crowding condition for investigation
- (2) Organic chemical synthesis of cNDI
- (3) Fmoc-peptide synthesis for constructing pep-cNDI dimers
- (4) CD spectra based T_m measurement
- (5) ITC based binding affinity assay
- (6) ESI-MS

4. Results

- (1) Identify the property of cNDI derivatives for recognizing G-quadruplex under an *in vitro* mimic-condition.

We first investigated the interaction of cNDI derivatives with G-quadruplex under PEG mimicked *in vitro* molecular crowding conditions to obtain information about the property of cNDIs for *in vivo* application. With adopting CD, ITC and UV-vis techniques, cNDI derivatives were demonstrated with a high ability to recognize and stabilize G-quadruplex under a crowding environment, and the binding affinity was slightly decreased but still comparable to an *in-vitro* dilute condition (Figure 1). Without the assistance of potassium ion, cNDIs favor telomere G1 to form a hybrid G-quadruplex under molecular crowding condition. (Molecules 2020, 25, 668).

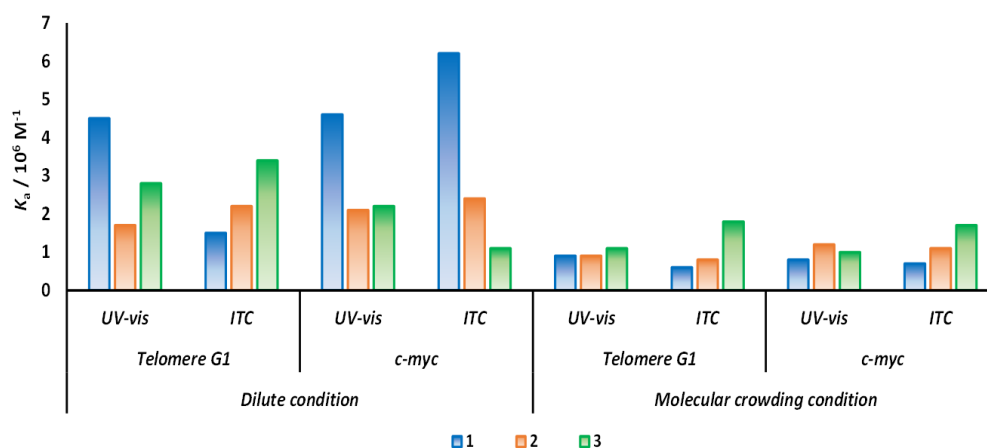


Figure 1. The binding affinity of cNDI derivatives to G-quadruplex under diluting condition and molecular crowding condition based on ITC and UV-vis spectra absorbance.

- (2) Peptide tethered cyclic naphthalene diimide dimer perform enhanced G-quadruplex recognition and stabilization

In this study, we adopted glycine repeats (the simplest peptide) as the linker part to construct several pep-cNDI dimers (GEE, GEGE, GEGGE and GEG₇E), GEG was adopted as a mono-cNDI control (Figure 2). We confirmed that pep-cNDI dimers showed enhanced preference for recognizing and stabilizing mono G-quadruplex than cNDI monomer, based on the CD-based T_m measurement, and ITC-based on binding affinity calculation. Then we adopted ESI-MS to analyze the binding property of pep-cNDI dimers with G-

quadruplex, the results suggested that two pep-cNDI dimers prefer to bind to one G-quadruplex structure and form a much more stable complex (Figure 3). (Manuscript in preparation).

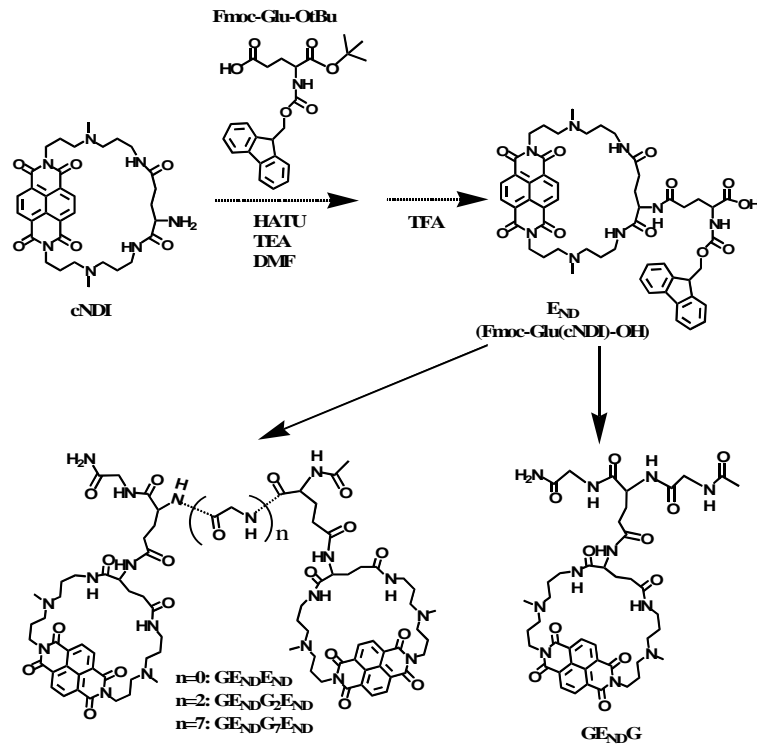


Figure 2. Synthesis scheme of peptide tethered cNDI-dimer and monomer

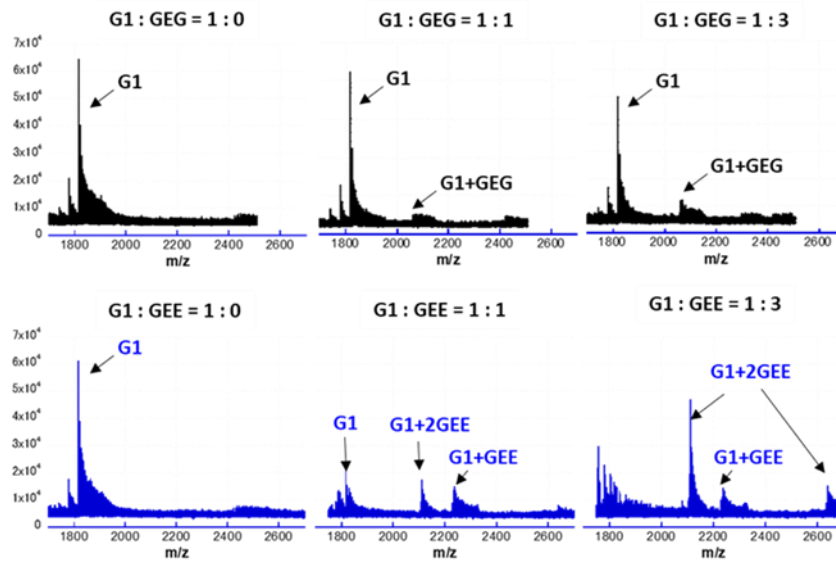


Figure 3. Spectrum of ESI-MS .Telomere G1 with GEG; telomere G1 with GEE;

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Tingting Zou, Shinobu Sato, Rui Yasukawa, Ryusuke Takeuchi, Shunsuke Ozaki, Satoshi Fujii, Shigeori Takenaka	4. 巻 25
2. 論文標題 The Interaction of Cyclic Naphthalene Diimide with G-Quadruplex under Molecular Crowding Condition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 668 (1-10)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules25030668	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 -

1. 著者名 Shuma Kaneyoshi, Tingting Zou, Shunsuke Ozaki, Ryusuke Takeuchi, Ayano Udou, Takumi Nakahara, Kazuhisa Fujimoto, Satoshi Fujii, Shinobu Sato, Shigeori Takenaka	4. 巻 26
2. 論文標題 Cyclic Naphthalene Diimide with a Ferrocene Moiety as a Redox Active Tetraplex DNA Ligand	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry-A European Journal	6. 最初と最後の頁 139-142
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.201903883	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 -

1. 著者名 Ryusuke Takeuchi, Tingting Zou, Daiki Wakahara, Yoshifumi Nakano, Shinobu Sato, Shigeori Takenaka	4. 巻 25
2. 論文標題 Cyclic Naphthalene Diimide Dimer with a Strengthened Ability to Stabilize Dimeric G Quadruplex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemistry-A European Journal	6. 最初と最後の頁 8691-8695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.201901468	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Tingting Zou, Daiki Wakahara, Shinobu Sato, and Shigeori Takenaka
2. 発表標題 Cyclic anthraquinones selectively recognize G-quadruplex structure and inhibit cancer cell proliferation
3. 学会等名 日本分析化学会第68年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tingting Zou, Daiki Wakahara, Shinobu Sato, Hikaru Fukuda, Hiroshi Takeuchi, Kazuhiro Tominaga, and Shigeori Takenaka
2. 発表標題 Cyclic anthraquinones selectively recognize G-quadruplex structure and inhibit cancer cell proliferation
3. 学会等名 The 7th International Meeting on Quadruplex Nucleic Acids (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tingting Zou, Ryusuke Takeuchi, Shinobu Sato, Hikaru Fukuda, Hiroshi Takeuchi, Kazuhiro Tominaga, and Shigeori Takenaka
2. 発表標題 Cyclic naphthalene diimide derivatives as a novel group of tetraplex DNA ligand
3. 学会等名 日本核酸化学会設立記念国際シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tingting Zou, Ryusuke Takeuchi, Rui Yasukawa, Shinobu Sato, and Shigeori Takenaka
2. 発表標題 Cyclic naphthalene diimide derivatives as a novel group of tetraplex DNA ligand
3. 学会等名 7th China-Japan Symposium on Nanomedicine (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内 龍佑, Zou Tingting, 佐藤 しのぶ, 竹中 繁織
2. 発表標題 新規テロメアDNA識別分子と4本鎖DNAとの相互作用解析
3. 学会等名 日本分析化学会第68年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shigeori Takenaka, Shuma Kaneyoshi, Tingting Zou, Shinobu Sato, Satoshi Fujii, Kazuhisa Fujimoto
2. 発表標題 Electrochemical G-quadruplex DNA detection based on cyclic ferrocenynaphthalene diimide
3. 学会等名 The 7th International Meeting on Quadruplex Nucleic Acids (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内 龍佑, Zou Tingting, 佐藤 しのぶ, 竹中 繁織
2. 発表標題 G4クラスター識別分子としての環状ナフタレンジイミドダイマーの合成
3. 学会等名 第29回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹中 繁織, 安川 瑠依, 竹内 龍佑, Zou Tingting, 佐藤 しのぶ
2. 発表標題 環状ナフタレンジイミドのmolecular crowding条件下での4本鎖DNAとの相互作用解析
3. 学会等名 第29回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tingting ZOU, 竹内 龍佑, 佐藤 しのぶ, 竹中 繁織
2. 発表標題 G-quadruplexを標的とする環状ナフタレンジイミド二量体の創成と評価
3. 学会等名 14回バイオ関連シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tingting Zou
2. 発表標題 New G-quadruplex binder cyclic anthraquinone for cancer therapeutic application
3. 学会等名 高分子学会九州支部女性フォーラム
4. 発表年 2021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
---------	---------