

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：14603

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23685031

研究課題名(和文) テロメアDNA変性過程の発光解析

研究課題名(英文) Analysis of circularly polarized luminescence from DNA quadruplex

研究代表者

湯浅 順平 (Yuasa, Junpei)

奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科・助教

研究者番号：00508054

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 22,300,000円、(間接経費) 6,690,000円

研究成果の概要(和文)：円偏光発光を利用することでDNA四重鎖の極めて速いタイムスケールで誘起される超分子構造変化をリアルタイム追跡することを目的に研究した。その結果、DNA二重鎖と四重鎖とを識別する新規プローブの開発に成功した。また、これに関連して高い円偏光高度を有するキラル希土類錯体の開発、円偏光によるタンパクの識別、新規レシオメトリックセンサーを開発した。

研究成果の概要(英文)：We report herein differentiation of thermal stability of calf thymus (ct-) DNA and enzymatic activity of deoxyribonuclease (DNase I) by a change in the binding state between dicationic carbazole ligands and ct-DNA.

研究分野：複合化学

科研費の分科・細目：機能物性化学

キーワード：円偏光発光 DNA4重鎖

1. 研究開始当初の背景

真核生物の染色体の末端部の構造に存在するテロメア (Telomere) は染色体末端を保護する役割を果たしている。ヒトテロメアの場合、その末端塩基配列は (GGGTTA)_n の繰り返しであり、水素結合によって形成したグアニン四量体が 2、3 面スタックした四重鎖構造をとっている。この四重鎖構造はスタックした面間にナトリウムイオンやカリウムイオンなどの金属イオンを取り込むことで安定化される。このテロメアの欠損、不安定化はガンなどの病気の原因となり、人の老化にも深く関与することが知られている。このテロメアを複製・伸長する酵素テロメラーゼ (telomerase) が悪性腫瘍において活性を示すことが知られている [E. H. Blackburn and C. W. Greider, Eds. (1995) *Telomerase*, Cold Spring Harbor Press]。のため DNA 四重鎖に関しては主に (A) グアニン四量体の folding、unfolding に関する速度論的な知見から四重鎖構造の速度論的安定性の解明を目指した研究 (B) グアニン四量体にスタックし四重鎖構造を安定化することのでテロメラーゼ阻害剤となる π 拡張分子の開発、この 2 点を中心に現在盛んに研究競争が行われている。これらの研究の結果、DNA 四重鎖の folding、unfolding に関しては、中間体を経由した複雑な反応機構の存在が示唆されている。しかしながら四重鎖構造から中間体に至る素過程は非常に速いダイナミクスであるためほとんどわかっておらず、四重鎖構造の安定性の本質については未だに明らかにされていない。四重鎖構造の持つ安定性の本質を明らかにするには、DNA 四重鎖の超分子構造変化の素過程をリアルタイムに観察する必要がある。

2. 研究の目的

本申請研究の目的は円偏光発光を利用することで DNA 四重鎖の極めて速いタイムスケールで誘起される超分子構造変化をリアルタイム追跡することである。超分子構造の観点からヒトテロメア末端構造である DNA 四重鎖の持つ安定性の本質を分子レベルで明らかにし、ヒトテロメア末端構造の安定化を基盤とするテロメラーゼ阻害剤の開発に大きなブレークスルーを与える。

3. 研究の方法

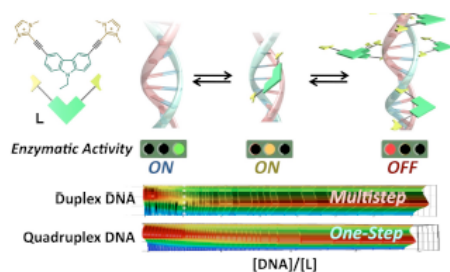
本申請研究の目的は円偏光発光 (CPL) を利用して、ヒトテロメア末端で形成される DNA 四重鎖の超分子構造変化をリアルタイムに追跡することである。具体的にはグアニン四量体に相互作用した超分子発光プローブ (レポート分子) の円偏光発光 (CPL) を測定する。この円偏光発光は発光プローブがキラルな超分子構造であるグアニン四量体と相互作用することで誘起される。円偏光発光からは左右円偏光成分の発光強度差から与えられる物理量、 g 値を正確に求めることができる。 g

値は超分子発光プローブの光反応におけるキラリティー変化を明確に反映するため、DNA 四重鎖の超分子構造変化に対して極めて敏感である。この発光プローブからレポートされる g 値の経時変化を測定することで DNA 四重鎖の超分子構造変化をリアルタイムに追跡する。

4. 研究成果

(1) DNA 二重鎖と四重鎖とを識別する新規プローブの開発

全く新しい原理に基づいて DNA 二重鎖と四重鎖とを識別するプローブを開発した。本研究で開発したカルバゾール誘導体は DNA 二重鎖と濃度比に応じて結合様式の異なる 2 種類の複合体を段階的に与える一方で、DNA 四重鎖とは一段階で複合体を形成し単一の結合様式を与える (*Chem. Commun.* **2011**, 47, 9128-9130; *Chem. -Eur. J.* **2013**, 19, 5938-5947)。

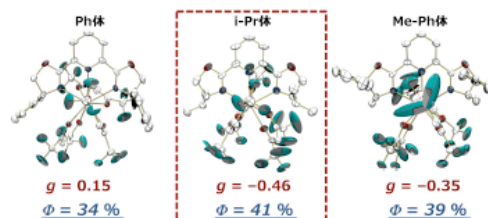


“DNA 二重鎖と DNA 四重鎖を区別して識別することに成功”

Chem. Eur. J. **19**, in press (2013)
Chem. Commun. **47**, 9128-9130 (2011)

(2) 高い円偏光高度を有するキラル希土類錯体の開発

発光部位として β ジケトン を、キラル配位子としてビスオキサゾリンを有する新規キラル希土類錯体を開発した。このキラル希土類錯体は常温で高い発光量子収率と円偏光度を示すことを明らかにした (*J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 9892-9902)。



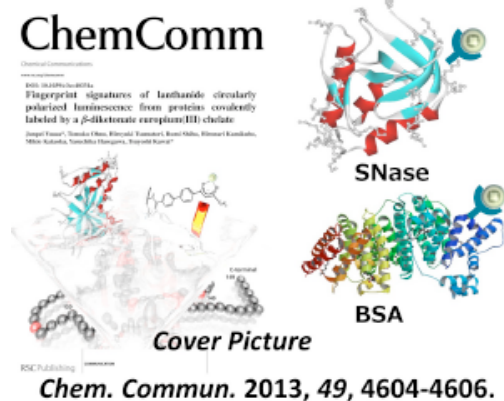
高い発光量子収率と左右円偏光強度差を同時に達成することに成功

J. Am. Chem. Soc. **133**, 9892-9902 (2011)

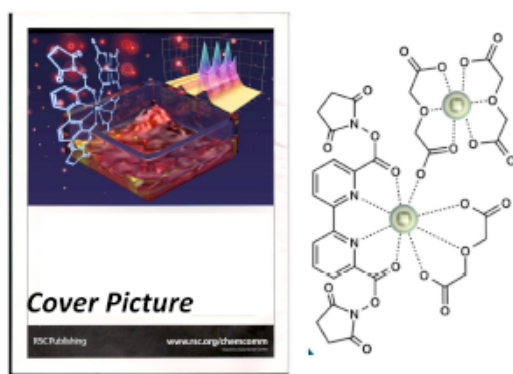
(3) 円偏光によるタンパクの識別

タンパク中のリシン部位と反応してタンパクに標識されるユーロピウム錯体を開発した。この標識タンパクは円偏光を示し、BSA と S_Nase では異なる符号の円偏光発光を示す

ことを明らかにした (*Chem. Commun* **2013**, *49*, 4604-4606)。

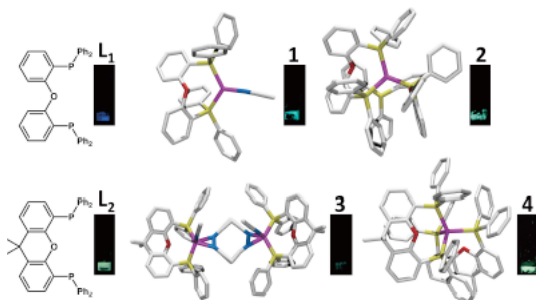


(4) 新規レシオメトリックセンサー
 ピピリジン部位にスクシンイミド基を有する水溶性希土類錯体を開発した。この希土類錯体は水中においても高い発光量子収率で Eu^{III} 発光を示す。その発光スペクトルは温度変化に対して等発光点を与える可逆な変化を示した (*Chem. Commun* **2014**, *50*, DOI:10.1039/c4cc00704b)。



Chem. Commun. 2014, in press
強発光性複核希土類錯体

(5) 新規発光性銅錯体の合成 (*Dalton Trans.* **2013**, *42*, 16096-16101.)。



5. 主な発表論文等
 (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 8 件)

① Ratiometric luminescence thermometry based on crystal-field alternation at the extremely narrow $^5\text{D}_0 - ^7\text{F}_2$ transition band of europium(III)
 *Junpei Yuasa *(corresponding author), Ryusuke Mukai, Tsuyoshi Kawai
Chem. Commun **2014**, *50*, DOI:10.1039/c4cc00704b.

② Phosphorescent properties of metal-free diphosphine ligands and effects of copper binding
 *Junpei Yuasa *(corresponding author), Misato Dan, Tsuyoshi Kawai
Dalton Trans. **2013**, *42*, 16096-16101.

③ Fingerprint Signatures of Lanthanide Circularly Polarized Luminescence from Proteins Covalently Labeled by a β -Diketonate Europium(III) Chelate
 *Junpei Yuasa *(corresponding author), Tomoko Ohno, Hiroyuki Tsumatori, Rumi Shiba, Hironari Kamikubo, Mikio Kataoka, Yasuchika Hasegawa, Tsuyoshi Kawai
Chem. Commun **2013**, *49*, 4604-4606

④ Two Distinct Thermal Stabilities of DNA and Enzymatic Activities of DNase I in a Multistep Assembly with Carbazole Ligands. Different Binding Characteristics for Duplex and Quadruplex DNA
 Norie Inukai, Tsuyoshi Kawai, Junpei Yuasa *(corresponding author)
Chem.-Eur. J. **2013**, *19*, 5938-5947.

⑤ Nocovalent Ligand-to-Ligand Interactions Alter Sense of Optical Chirality in Luminescent Tris(β -diketonate) Lanthanide(III) Complexes Containing a Chiral Bis(oxazolinyl) Pyridine Ligand
 *Junpei Yuasa *(corresponding author), Tomoko Ohno, Kohei Miyata, Hiroyuki Tsumatori, Yasuchika Hasegawa, Tsuyoshi Kawai
J. Am. Chem. Soc. **2011**, *133*, 9892-9902.

⑥ Highly Photoluminescent Nanocrystals Based on a Gold(I) Complex and their Electrophoretic Patterning
 Masashi Saitoh, Alan L. Balch, Junpei Yuasa, Kazuya Tada, Mitsuyoshi Onoda, Takuya Nakashima, Tsuyoshi Kawai
Langmuir **2011**, *27*, 10947-10952.

⑦ Mechanistic Understanding of Multistep Assembly of DNA with Carbazole Ligand by Simple Adjustment of Host-Guest Concentrations
 Norie Inukai, Tsuyoshi Kawai, Junpei Yuasa

*(corresponding author)

Chem. Commun. **2011**, *47*, 9128–9130.

[学会発表] (計 6 件)

① Junpei Yuasa

Analysis of Circular-Polarized Luminescence of Proteins Labeled with Fluorescent Probes

揺らぎと生体機能 第6回公開シンポジウム

平成24年12月5日

京都テルサ

② 湯浅 順平

円偏光発光性錯体の合成と発光特性、配位プログラミング

第1回若手フォーラム、

2011/05/20

東京大学

③ 湯浅 順平

段階的複合体形成を利用した新規蛍光プローブの開発

2013年光化学討論会

2013/09/13

愛媛大学

④ 湯浅 順平、照沼 卓也、河合 壯

架橋配位子と亜鉛イオンとの段階的複合体形成に基づく円二色性スペクトルの反転現象

第25回配位化合物の光化学討論会

2013/08/06

唐津ロイヤルホテル

⑤ 湯浅 順平・三井 亮人・河合 壯

亜鉛イオンとの相互作用によって誘起されるテトラジン誘導体の蛍光とそれを利用した金属イオンセンシング

第23回配位化合物の光化学討論会

2011年 8月4日～6日

信州大学繊維学部

⑥ Junpei Yuasa,

Spectroscopic Analysis of Circular-Polarized Luminescence of Proteins Labeled with Fluorescent Probes,

5th Asia and Oceania Conference for Photobiology "AOC2011"

2011/07/30

Nara Prefectural New Public Hall, Nara, Japan,

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 円偏光発光性希土類錯体

発明者: 湯浅 順平、上野 紘史、

河合 壯、長谷川 靖哉

権利者: 奈良先端科学技術大学院大学

種類: 特許

番号: 特願 2011-269916

出願年月日: 2011/12/09

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

湯浅 順平 (Junpei Yuasa)

奈良先端科学技術大学院大学 物質創成

科学研究科 助教

研究者番号: 00508054

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: