

平成23年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号
- 14603
2. 研究機関名
- 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名
- 特別研究員奨励費
4. 研究期間
- 平成23年度～平成24年度
5. 課題番号
- 23・9031
6. 研究課題名
- 段階的超分子形成を利用したDNA四重鎖の構造制御
7. 研究代表者

研究者番号								研究代表者名		所属部局名		職名
								イヌカイ	ノリエ	物質創成科学研究科		特別研究員 (DC2)
								天飼	章恵			

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号								研究分担者名		所属研究機関名・部局名		職名

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

本年度は、イミダゾール部位をカチオン化することによって水溶化させたカルバゾール誘導体 (Im⁺)₂Cz を合成した。この(Im⁺)₂Cz と一般的な二本鎖DNAとして広く用いられるCalf Thymus (ct-) DNAとの相互作用について、吸収、CDスペクトル測定を始めとした各種分光分析により検討を行い、DNAと(Im⁺)₂Czとが相互作用することで形成する複合体の構造及び形成メカニズムを明らかにした。以下に具体的な研究実施状況を報告する。

(Im⁺)₂CzのTris buffer水溶液にct-DNA水溶液を添加すると、ct-DNAの濃度変化に応答した2段階のスペクトル変化が各種分光分析において観測された。ct-DNA滴定に応じて2つの等吸収点が見出され、段階的に2種の複合体が形成されることが示された。吸収スペクトルの変化から、ct-DNAが低濃度と高濃度の条件下で(Im⁺)₂Cz 1分子とct-DNA塩基対とがそれぞれ1:1 (Binding State I) 及び1:5 (Binding State II) の組成比で複合体を構築することが分かった。二段階目の反応における平衡定数を算出することでエネルギー差 (ΔG) を見積もったところ、Binding State IとIIとが互いにエネルギー差の小さいフラットなポテンシャルエネルギー曲面に存在することがわかった。このことが、ct-DNAの濃度変化に応答した可逆な複合体切り替えを可能にしていると考察される。さらにこれら複合体形成によって発現する機能について評価するため、それぞれのBinding Stateに対するDNA分解酵素(DNase I)の活性を比較した。その結果、Binding State Iに対してDNase Iはほとんど酵素活性を示さないが(OFF)、一方でBinding State IIに対してはDNAに対する活性とほぼ同等の活性を示した(ON)。このことから(Im⁺)₂CzがDNAと複合体を形成することで、分解酵素の活性を切り替える分子として機能することがわかった。今後は、DNA四重鎖と(Im⁺)₂Czとの相互作用について、同様の測定および解析を行うことで明らかにする予定である。

10. キーワード

(1) カルバゾール	(2) DNA	(3)	(4)
(5)	(6)	(7)	(8)

下欄には、交付申請書に記載した「研究の目的」の達成度について、以下の区分により自己点検による評価を行い、その理由を簡潔に記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

＜区分＞①当初の計画以上に進展している。 ②おおむね順調に進展している。 ③やや遅れている。 ④遅れている。

(理由) 本年度は最初に水溶性新規分子の合成に取り組みました。実験計画上では親水基を導入することで水溶化を実現する予定でしたが、より簡単かつ高収率で合成できる方法に変更して目的を達成しました。次に、本来の研究目標である DNA 四重鎖の構造制御を行うための予備実験として、二本鎖 DNA のモデルとして一般的に使われる天然由来の DNA を用いた検討を行いました。今回合成した水溶性分子と DNA との相互作用を吸収、CD、蛍光スペクトルなどの各種分光分析により確認したところ、予想通り DNA と有機分子の濃度比に応答した二段階の複合体形成が観測されました。これら複合体の形成について、物理化学の観点からさらに詳細な検討を行い、段階的複合体形成のメカニズムを解明することに成功しました。

本研究課題の今後の推進方策について簡潔に記述すること。研究計画の変更あるいは研究を遂行する上での問題点があれば、その対応策なども記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

著 者 名	論 文 標 題									
雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年				最初と最後の頁			
掲載論文の DOI（デジタルオブジェクト識別子）										

〔学会発表〕計(5)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名	発表標 題		
N. Inukai, T. Kawai, J. Yuasa	Emission spectral analysis of a carbazole probe bound to DNA		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
5th Asia and Oceania Conference for Photobiology(AOCP2011)	2011年7月30日	奈良県奈良市	

発表者名	発表標 題		
N. Inukai, T. Kawai, J. Yuasa	Mechanistic Understanding of Multistep Assembly of DNA with Carbazole Derivatives		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
「揺らぎと生体機能」第5回公開シンポジウム	2012年1月7日	奈良県奈良市	

発表者名	発表標 題		
犬飼章恵、湯浅順平、河合壮	DNA濃度に依存したカルバゾール誘導体のDNA結合様式のスイッチング		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第7回ホスト・ゲスト化学シンポジウム	2011年5月28日	広島県東広島市	

発表者名	発表標 題		
犬飼章恵、湯浅順平、河合壮	カルバゾール誘導体と金属イオンとの段階的錯体形成メカニズム		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第23 回 配位化合物の光化学討論会	2011年8月4日	長野県上田市	

発表者名	発表標 題		
犬飼 章恵・河合 壮・湯浅 順平	DNAとカルバゾール誘導体との多段階自己集合化とその作用機構		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
日本化学会第92春季年会	2012年3月28日	神奈川県横浜市	

〔図 書〕 計(0)件

著 者 名	出 版 社			
書 名				総ページ数

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出 願〕 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取 得〕 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--