

---

早期ガン診断を目指した電気化学的テロメラー  
ゼアッセイ法の開発

---

1 8 3 5 0 0 8 9

平成 1 8 年度 ~ 平成 1 9 年度科学研究費補助金  
( 基盤研究 ( B ) ( 2 ) ) 研究成果報告書

平成 2 0 年 5 月

研究代表者 竹中 繁織

九州工業大学大学院工学研究院・教授

はしがき

本報告書は、平成18年度および平成19年度科学研究費（基盤研究（B）（2））（課題番号18350089）の研究成果である。

ヒト染色体末端に存在するTTAGGGの繰り返し配列テロメアDNAは4本鎖DNA構造を取ることが明らかとなってきた。また、このような4本鎖DNA構造に結合してその構造を安定化する小分子は、これによってテロメラーゼがテロメアDNAと相互作用できず、テロメラーゼ伸長が行われなくなることが知られてきている。このようなテロメラーゼ阻害剤は、テロメラーゼがガン細胞特異的に検出されることから、新しい抗ガン剤として期待されている。本研究が開始される前に著者らは、フェロセン化ナフタレンジイミドが四本鎖DNAへ強く結合すること明らかにしている。フェロセン化ナフタレンジイミドには電気化学活性なフェロセンを有しているため、電極に固定化された4本鎖DNAの検出へ適用することができた。これを利用すればテロメラーゼによって伸長されたテロメアDNA量を見積もることができると期待され、電気化学的テロメラーゼアッセイ法を確立することができた。本研究では、フェロセン化ナフタレンジイミドの4本鎖DNA結合様式や4本鎖DNAへの選択性や親和性が高い誘導体の設計と合成を行った。ところでナフタレンジイミドの芳香環を拡張したペリレンジイミドも4本鎖DNAに対する強い結合能とテロメラーゼ阻害剤としての高い性能が報告されている。これを本システムへ適用するためにフェロセン化ペリレンジイミドを新たに合成し、評価した。

種々の手法を用いた実験結果より、いずれの誘導体も4本鎖DNA内に存在するグアニンカルテットへのスタッキングにより結合していることが示唆された。しかし、グアニンカルテット間へのインターカレーションは示唆されなかった。このことから二本鎖DNAへのインターカレーションが構造的に不可能でスタッキングだけが可能な環状フェロセン化ナフタレンジイミドを設計合成することができた。この分子は期待したように高い4本鎖DNA特異性を示すことが明らかとなった。さらに、新たに合成したペリレンジイミドも4本鎖DNAへの高い結合能が観察された。これらの結果は電気化学的テロメラーゼアッセイの更なる向上を達成できたのみならず新たなテロメラーゼ阻害剤（抗ガン剤）の開発に重要な知見を与えるものと期待された。

本研究を遂行するに当たり、関係諸先生方からの多くのご助言を頂いた。また、本研究室の大学院生及び4年生諸君の協力を得た。深く感謝する。

ここでの成果は未発表のものも多く今後論文として発表していく予定である。また、最近のテロメアアッセイ法の進展に関する総説(sensors, 2008, 8,347-369)において本研究の一部が取り上げられていることから本領域の発展に寄与できたものと考えている。

2. 研究組織

研究代表者：竹中 繁織（九州工業大学大学院工学研究院 教授）

3. 交付決定額

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成18年度	12,000	3,600	15,600
平成19年度	3,800	1,140	4,940
総計	15,800	4,740	20,540

#### 4 . 研究発表

##### ( 1 ) 学会誌等

- (1) Shinobu Sato , & Shigeori Takenaka  
Linker effect of ferrocenylnaphthalene diimide ligands in the interaction with double stranded DNA  
*Journal of Organometallic Chemistry*, **693**, 1177-1185 (2008).
- (2) Shinobu Sato, Keiichi Ohtsuka, & Shigeori Takenaka  
Searching study for the suitable ferrocenylnaphthalene diimide derivative in the electrochemical telomerase assay  
*Nucleic Acids Symposium Series*, **51**, 85-86 (2007).
- (3) Shinobu Sato, Hiroki Kondo & Shigeori Takenaka  
Linker chain effect of ferrocenylnaphthalene diimide derivatives on a tetraplex DNA binding  
*Nucleic Acids Symposium Series*, **50**, 107-108 (2006).
- (4) 竹中繁織  
バイオチップを利用した分析法-DNA チップを中心に-  
*現代科学*, 5 月, 36-42 (2006).
- (5) 竹中繁織  
簡易診断を目指した次世代チップの開発  
*ケミカル エンジニアリング*, **51**, 13-17 (2006).
- (6) 竹中繁織  
電気化学 DNA センサ  
*バイオセンサ・ケミカルセンサ辞典*, 軽部征夫監修, テクノシステム, 42-49 (2007).

##### ( 2 ) 口頭発表

##### 国際会議、国内学会

- (1) 竹中繁織(招待講演)  
電気化学 DNA チップの癌診断への応用  
化学工学会 第 38 回秋季大会, 福岡大学, 2006 年 9 月 16 日 .
- (2) Shigeori Takenaka(招待講演)  
Electrochemical telomerase assay as a cancer diagnosis  
4th international forum on post-genome technology, 中国杭州 浙江大学,  
2006 年 9 月 25-26 日.

- (3) 佐藤しのぶ, 林田裕久, 野島 高彦, 竹中 繁織  
ビスアクリジンオレンジ (BAO) とテロメア 4 本鎖 DNA との相互作用: テロ  
メラーゼ活性の蛍光検出への応用  
第 21 回生体機能関連化学部会・第 9 回バイオテクノロジー部会・第 9 回生  
命化学研究会合同シンポジウム, 京都大学工学研究科(桂キャンパス), 2006  
年 9 月 28 日-30 日 .
- (4) Shinobu Sato, Hiroki Kondo, Shigeori Takenaka  
Linker chain effect of ferrocenylnaphthalene diimide derivatives on a  
tetraplex DNA binding  
第 33 回核酸化学シンポジウム, 大阪大学コンベンションセンター , 2006 年  
11 月 20-22 日 .
- (5) 竹中 繁織 (依頼講演)  
有機金属錯体を利用した遺伝子解析  
日本化学会第 87 春季年会(2007), 関西大学千里山キャンパス(大阪), 2007  
年 3 月 25 日-28 日 .
- (6) 竹中 繁織 (依頼講演)  
次世代バイオチップへ向けて  
日本化学会第 87 春季年会(2007), 関西大学千里山キャンパス(大阪), 2007  
年 3 月 25 日-28 日 .
- (7) 佐藤しのぶ, 近藤寛樹, 大塚圭一 & 竹中 繁織  
フェロセン化ナフタレンジイミド誘導体とヒトテロメア DNA との相互作用  
解析」  
日本化学会第 87 春季年会(2007), 関西大学千里山キャンパス(大阪), 2007  
年 3 月 25 日-28 日 .
- (8) 竹中 繁織(基調講演)  
実用化にむけた次世代バイオチップの開発  
第 54 回産学交流サロン「ひびきのサロン」~バイオチップ先端技術で拓く  
新たな産業~, 北九州学術研究都市産学連携センター, 2007 年 5 月 30 日
- (9) Shigeori Takenaka (招待講演)  
Ferrocenylnaphthalene diimide (FND) as an electrochemically active  
ligand for quadruplex DNA  
Seminar in Pusan National University, Pusan National University  
(Korea), 2006 年 7 月 1-2 日.
- (10) Masato Tsueda, Shinobu Sato & Shigeori Takenaka  
Naphthalene diimide derivatives carrying four ferrocene moieties  
featuring as electrochemical DNA hybridization indicator 9 th Asian  
Conference on Analytical Chemistry (Asianalysis IX), Ramada Plaza Jeju  
(Korea), 2007 年 11 月 4 日-8 日 .

- (11) Keiichi Ohtsuka , Shinobu Sato, Keiichi Ohtsuka & Shigeori Takenaka  
Searching study for the suitable ferrocenylnaphthalene diimide derivative in the electrochemical telomerase assay  
第 5 回国際核酸化学シンポジウム SNAC2007 ( 第 34 回核酸化学シンポジウム ), 東京大学, 2007 年 11 月 20 日-22 日 .
- (12) 佐藤しのぶ, 小川啓二, 大塚圭一, 近藤寛樹 & 竹中繁織  
テロメラーゼ活性に及ぼすフェロセン化ナフタレンジイミド誘導体の阻害効果  
第 10 回生命化学研究会シンポジウム・熊本(2008), 熊本大学, 2008 年 1 月 11 日 .
- (13) 小川啓二, 渡邊貞桂, 大塚圭一, 近藤寛樹& 竹中繁織  
環状フェロセン化ナフタレンジイミドとテロメア四本鎖 DNA との相互作用解析  
第 10 回生命化学研究会シンポジウム・熊本(2008), 熊本大学, 2008 年 1 月 11 日 .
- (14) 佐藤しのぶ, 小川啓二, 大塚圭一, 近藤寛樹 & 竹中繁織  
環状フェロセン化ナフタレンジイミドとヒトテロメア四本鎖 DNA との相互作用解析  
日本化学会第 88 春季年会(2008), 立教大学池袋キャンパス ( 東京 ), 2008 年 3 月 26 日-30 日 .
- (15) 佐藤しのぶ, 大塚圭一, 遠藤 浩, 森本貴美夫 & 竹中 繁織  
フェロセン化ナフタレンジイミドを利用した電気化学的テロメラーゼ活性検出法の開発  
日本化学会第 88 春季年会(2008), 立教大学池袋キャンパス ( 東京 ), 2008 年 3 月 26 日-30 日 .

## 研究成果

フェロセン化ナフタレンジイミドに関しては、すでに以下の著書・論文等の項にその成果が示されている。特に最近明らかとなった成果、すなわちフェロセン化ナフタレンジイミド誘導体の置換基の種類によってテロメラーゼ特異的に阻害するもの発見、環状フェロセン化ナフタレンジイミドによる4本鎖DNAの高精度な識別は、第10回生命化学研究会シンポジウム・熊本(2008)に報告した。この要旨を著書・論文等の項に添付した。さらにフェロセン化ペリレンジイミドに関する成果の一部は、*Nucleic Acids Symposium Series*として掲載される予定である。これも著書・論文等の項に添付した。これらの成果は、早期ガン診断を目指した電気化学的テロメラーゼアッセイ法の発展のみならず、新しい抗ガン剤に関する知見も与えるものと期待される。