



早稲田大学技術シーズ

Waseda Univ. Science & Technology Seeds

二本鎖核酸の検出試薬と二本鎖核酸検出方法

キーワード : DNAマイクロアレイ, 希土類蛍光錯体, DNAハイブリダイゼーション, インターカレーター

セールスポイント

1. 測定対象に標識化をする必要がない
2. 高 S/N 比の測定が可能
3. 標的試料に関する分子量計測などへの応用の可能性がある

代表発明者プロフィール

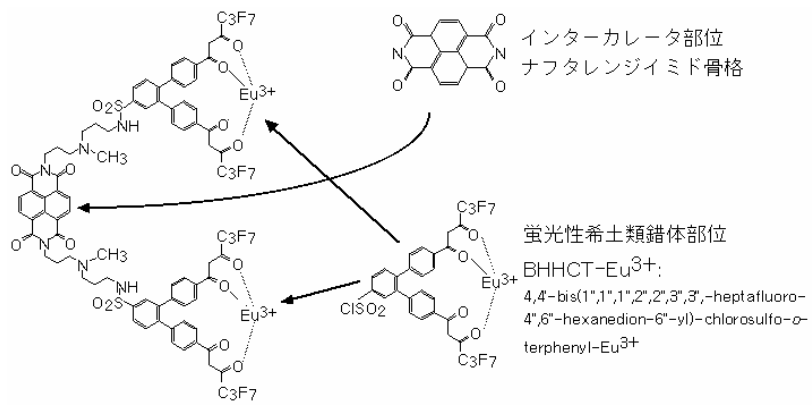
理工学部化学科
大学院理工学研究科生命理工学専攻

まつもと かずこ
教授 松本 和子

研究内容
無機錯体化学

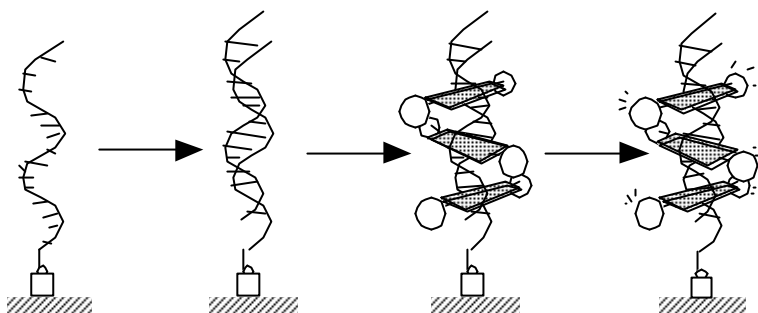
経歴

1972 年東京大学理学部化学科卒業, 1974 年同大学院理学系研究科修士課程修了, 1977 年同大学院博士課程修了, 理学博士(東京大学). 1977 年~1984 年東京大学助手, 1984 年~1989 年早稲田大学理工学部助教授, 1989 年より同教授

1. タイトル	二本鎖核酸の検出試薬と二本鎖核酸検出方法
2. 特許出願	特許番号 特願2000-374626号 出願日 2000年12月8日 特許権者 早稲田大学「出願人」 他
3. 発明者	理工学部教授 松本和子 理工学総合研究センター客員講師 野島高彦 他
4. 技術分野	測定対象となる核酸試料に対し、一切の修飾を施すことなくハイブリダイゼーションを検出する手法。
5. 本技術シーズが解決する課題	<p>DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析においては、標準試料と測定試料とをそれぞれ異なるラベル剤で標識し、プローブ DNA に競合ハイブリダイゼーションさせ、その結果から遺伝子発現量を評価する手法が現在の主流である。しかしこの手法では、ラベル化によって試料中の発現遺伝子存在比に影響が生じる。そこで本発明においては、二本鎖 DNA 特異的に結合するインターカレータを用いることによって、測定試料に対して一切の修飾を必要としない新規な DNA ハイブリダイゼーション検出法を開発した。</p> <div style="text-align: center;">  <p>インターカレータ部位 ナフタレンジイミド骨格</p> <p>蛍光性希土類錯体部位 BHHCT-Eu³⁺: 4,4'-bis(1'',1'',1'',2'',2'',3'',3'')-heptafluoro-4'',6''-hexanedion-6''-yl)-chlorosulfo-<i>o</i>-terphenyl-Eu³⁺</p> </div> <p>蛍光性インターカレータの構成</p>

6. 本技術シーズの概要

ビオチン-ストレプトアビジン結合を利用してプラスチックプレート上に固定化されたプローブ DNA に対し、ターゲット DNA をハイブリダイズさせ、二本鎖 DNA 特異的に結合する遅延蛍光インターカレータ(300 nm 近くのストークスシフトや、数百 μ s に達する遅延蛍光といった特性を示す蛍光性希土類錯体と結合した縫い込み型インターカレータ)を与え、時間分解蛍光測定によってハイブリダイゼーション量の定量を行う実験系を開発した。この手法を用いることにより、アッセイプレート上の一本鎖 DNA と二本鎖 DNA とを蛍光強度の違いから区別できる。また、二本鎖 DNA の分子数と蛍光強度とが比例関係にあるため、ターゲット DNA の分子数や分子長などに関する情報を得ることもできる。



蛍光インターカレータを用いた DNA ハイブリダイゼーションの検出。
(a) 基板上に固定化されたプローブ DNA とターゲット DNA とをハイブリダイゼーションさせた後、ここにインターカレータを与える。(b) 洗浄後は二重鎖 DNA にインターカレートしているインターカレータのみが残るので、遅延蛍光測定によって二重鎖 DNA の特異的検出が可能になる。

7. 関連マーケット等

遺伝子診断の基礎技術であるため、病院、製薬工業、医学研究施設などでの利用が考えられる。また、遺伝子レベルでの生命現象解明にも有力な手法となるため、生命科学研究施設からの需要も考えられる。

8 . 発明者の近況	優れた蛍光特性を持つ希土類錯体を、生命科学・生命工学へ応用する研究を展開中。同時に白金やルテニウムを用いた金属錯体触媒反応の研究も展開中。
9 . 発明者の研究成果	蛍光性希土類錯体をラベル剤として用いた高感度バイオアッセイを開発し、従来法と比較して数桁の高感度化を達成した。
10 . 発明者の主な論文、著書	<p>(1) "A New Tetradentate b-Diketone-Europium Chelate That Can Be Covalently Bound to Proteins for Time-Resolved Fluoroimmunoassay" Yuan, J. and Matsumoto, K. (1998) Analytical Chemistry 70, 596-601.</p> <p>(2) "Homogeneous DNA Hybridization Assay by Using Europium Luminescence Energy Transfer" Sueda, S., Yuan, J. and Matsumoto, K. (2000) Bioconjugate Chemistry 11, 827-831.</p>
11 . 発明者の所属学会	日本化学会、日本分析化学会。
12 . 発明者の今後の予定 (上記テーマの今後と新たなテーマについて)	<p>1. 蛍光性希土類錯体インターカレータを用いた DNA マイクロアレイシステムの構築。</p> <p>2. 蛍光錯体プローブを用いた各種バイオアッセイの高感度化。</p>



早稲田大学知的財産センター

〒162-0041 東京都新宿区早稲田鶴巻町 513

研究開発センター120-1 号館

TEL:03-5286-9867 FAX:03-5286-9870

E-mail: ipc@list.waseda.ac.jp

HP: <http://www.waseda.ac.jp/ipc/>