

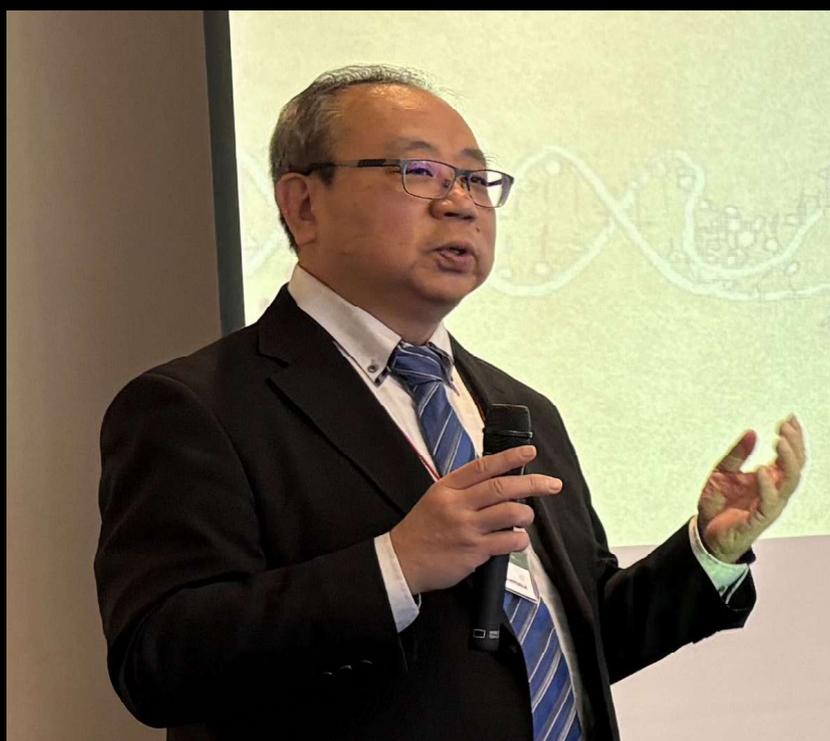
Professor Takenaka's final lecture

有機合成化学からバイオ 分析化学の道を行んで

**from the art of synthetic organic chemistry to
bioanalytical one**

Venue : JR Kyushu Station Hotel Kokura, Japan

2025 3/21 (Fri) 14:15~15:15



九州工業大学大学院工学研究院物質工学研究系
竹中繁織

Kyushu Institute of Technology Shigeori Takenaka

Please contact the e-mail to do a pre-registration: shinobu@che.kyutech.ac.jp

業績集

竹中繁織

目次

業績一覧	2
1. 原著論文	3
2. 著書	21
3. 総説 (Accounts、Review ほか)・特許・その他	22
4. 国際会議での基調・招待講演	28
5. 報道関係	34
6. 学会主催	38
卒業論文・修士論文・博士論文タイトル集	40
1. 九工大情報工学部	41
2. 九大 高木研	42
3. 九工大工学部竹中研	46
九州工業大学竹中研究室 集合写真 (2005-2024)	57
トピック記事	68

竹中繁織 業績一覽

1. 原著論文

- (1) Double Cycloaddition Reaction of Pyridinium N-Methylides to Methylene-cyclopropenes Leading to Cage Compounds, O. Tsuge, S. Kanemasa, **S. Takenaka**, *Chemistry Letters*, **1983**, 519-522 (1983). [協]
- (2) Double Cycloaddition Reaction of Imidazolium Methylides. Intermolecular 1,3-Dipolar and Intramolecular Diels-Alder Cyclo-addition Reaction, O. Tsuge, S. Kanemasa, **S. Takenaka**, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **56**, 2073-2076 (1983). [協]
- (3) Synthesis of Butadienyl-Phosphonates Containing Electronegative Substituents and their Synthetic Applications to Functionalized Cyclopentyl-Phosphonates, T. Minami, T. Yamanouchi, **S. Takenaka**, I. Hirao, *Tetrahedron Letters*, **24**, 767-770 (1983). [協]
- (4) Stereoselective [3+2] Cyclo-Addition Reaction of Pyridinium and Thiazolium Methylides to Electron-Deficient Olefinic Dipolarophiles, O. Tsuge, S. Kanemasa, **S. Takenaka**, *Heterocycles*, **20**, 1907-1912 (1983). [協]
- (5) N-(Trimethylsilyl-Methyl)Pyridinium Trifluoromethanesulfonates as Facile Precursors for Nonstabilized Pyridinium Methylides, O. Tsuge, S. Kanemasa, S. Kuraoka, **S. Takenaka**, *Chemistry Letters*, **1984**, 279-280 (1984). [協]
- (6) New C-C Bond Formation with Pyridinium Methylide: Hydromethylenation of Olefin, O. Tsuge, S. Kanemasa, S. Kuraoka, **S. Takenaka**, *Chemistry Letters*, **1984**, 281-284 (1984). [協]
- (7) Stereoselective hydro-Alkylidenation of Olefin with Pyridinium Methylides, O. Tsuge, S. Kanemasa, **S. Takenaka**, S. Kuraoka, *Chemistry Letters*, **1984**, 465-468 (1984). [協]
- (8) Stereochemical Features of Cyclo-Addition of Heteroaromatic N-Ylides. Selective Participation of the Anti and Syn ylides, O. Tsuge, S. Kanemasa, **S. Takenaka**, *Chemistry Letters*, **1985**, 355-358 (1985). [協]
- (9) Stereochemical Study on 1,3-Dipolar Cyclo-addition Reactions of Heteroaromatic N-Ylides with Symmetrically Substituted cis and trans Olefins, O. Tsuge, S. Kanemasa, **S. Takenaka**, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **58**, 3137-3157 (1985). [協]
- (10) Stereochemical Study on 1,3-Dipolar Cyclo-addition Reactions of Heteroaromatic N-Ylides with Unsymmetrically Substituted Olefinic Dipolarophiles, O. Tsuge, S. Kanemasa, **S. Takenaka**, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **58**, 3320-3336 (1985). [協]
- (11) Stereoselective Synthesis of Hexa- and Tetra-hydroindolizin-7-ones through Cycloaddition of Pyridinium Methylides, O. Tsuge, S. Kanemasa, **S. Takenaka**, *Journal of the Organic Chemistry*, **51**, 1853-1855 (1986). [協]
- (12) Amino Acid Approach as a General Route to Nonstabilized Azomethine Ylides. Facile Generation of Parent Methaniminium Methylide and its 1-Mono- and 1,1-Disubstituted Derivatives, O. Tsuge, S. Kanemasa, M. Ohe, **S. Takenaka**, *Chemistry Letters*, **1986**, 973-976 (1986). [協]
- (13) Stable Configuration of Ester-Stabilized Azomethine Ylides. Stabilization of anti-Form by 1,5-Dipolar Interaction and of syn-Form by Hydrogen Bonding, O. Tsuge, S. Kanemasa, M. Ohe, K. Yorozu, **S. Takenaka**, K. Ueno, *Chemistry Letters*, **1986**, 1271-1274 (1986). [協]
- (14) Stereoselective Cycloaddition of Pyridinium or Isoquinolinium Methylides with Olefinic Dipolarophiles

- and Subsequent Cycloadditions of the Cycloadducts with Nitrile Oxides, O. Tsuge, S. Kanemasa, **S. Takenaka**, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **59**, 3631-3635 (1986). [協]
- (15) Cycloaddition of Pyridinium Methylides with Electron-Deficient Olefins and Silica-Gel Mediated Elimination of Pyridines from the Cycloadducts: A New Method of Alkylation or Hydroalkylidenation of Olefins, O. Tsuge, S. Kanemasa, **S. Takenaka**, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **60**, 1489-1495 (1987). [協]
- (16) Simple Generation of Nonstabilized Azomethine Ylides through Decarboxylation Condensation of α -Amino Acids with Carbonyl Compounds via 5-Oxazolidinone Intermediates, O. Tsuge, S. Kanemasa, M. Ohe, **S. Takenaka**, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **60**, 4079-4089 (1987). [協]
- (17) Simple Generation of Ester-Stabilized Azomethine Ylides from 2-Amino Esters and Carbonyl Compounds. Stereochemistry of Their Cycloadditions, O. Tsuge, S. Kanemasa, M. Ohe, K. Yorozu, **S. Takenaka**, K. Ueno, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **60**, 4067-4078 (1987). [協]
- (18) Sequence-Selective Separation of Oligonucleotides and DNA Fragments by Using Polyethyleneglycol-Bound Intercalators, **S. Takenaka**, K. Dohtsu, N. Nakashima, M. Takagi, *Analytical Sciences*, **3**, 557-560 (1987). [主]
- (19) Isotachophoretic Examination of Interaction of Intercalators with Ribonucleoside Monophosphates, K. Dohtsu, **S. Takenaka**, N. Nakashima, M. Takagi, *Analytical Sciences*, **4**, 251-254 (1988). [協]
- (20) Simple Characterization of DNA Interactions by Retarded Gel Electrophoresis, **S. Takenaka**, Y. Aoyagi, K. Dohtsu, M. Takagi, *Analytical Sciences*, **4**, 481-486 (1988). [主]
- (21) A Reversed-Phase Intercalator Column for High Performance Liquid Chromatographic Separation of Oligonucleotides, K. Dohtsu, K. Ohmori, R. Fukuda, **S. Takenaka**, M. Takagi, *Analytical Sciences*, **4**, 371-376 (1988). [協]
- (22) Cycloaddition Reactions of Highly Stabilized Isoquinolinium Methylides to Nonactivated Olefins and Electron-Rich Olefins, O. Tsuge, S. Kanemasa, K. Sakamoto, **S. Takenaka**, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **61**, 2513-2524 (1988). [協]
- (23) Tandem 1,3-Dipolar Cycloaddition of Pyridinium or Isoquinolinium Methylides with Olefinic Dipolarophiles Leading to Cyclo[3.2.2]azines. "Enamine Route" as a New Generation Method of Azomethine Ylides, S. Kanemasa, **S. Takenaka**, H. Watanabe, O. Tsuge, *Journal of the Organic Chemistry*, **54**, 420-424 (1989). [協]
- (24) Purification of a DNA Replication Terminus (ter) Site-binding Protein in Escherichia coli and Identification of the Structural Gene, M. Hidaka, T. Kobayashi, **S. Takenaka**, H. Takeya, T. Horiuchi, *Journal of the Biological Chemistry*, **264**, 21031-21037 (1989). [協]
- (25) Ion-Pair Extraction by Use of Liquid Crystals as Crystals as Extracting Solvent, A. Ohki, **S. Takenaka**, K. Tsukada, S. Maeda, M. Takagi, *Analytical Sciences*, **6**, 283-286 (1990). [協]
- (26) Intercalator-Induced Gel-Electrophoretic Retardation of Synthetic Double-Stranded Oligonucleotides and Comigration of Intercalators, **S. Takenaka**, K. Dohtsu, M. Takagi, *Analytical Sciences*, **6**, 139-141 (1990). [主]
- (27) Cleavage of Double Helical DNA by Cu^{2+} Ion in the Presence of Bisintercalator Containing

- Penta(ethylene Glycol) Connector Chain, **S. Takenaka**, T. Ihara, M. Takagi, *Journal of the Molecular Recognition*, **3**, 156-162 (1990). [主]
- (28) Metal Assisted DNA-Intercalation of Crown Ether-linked Acridine Derivatives, R. Fukuda, **S. Takenaka**, M. Takagi, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, **1990**, 1028-1030 (1990). [協]
- (29) A Zwitterionic Anthraquinone Derivative: First Zwitterionic DNA Binding Ligand, **S. Takenaka**, T. Ihara, M. Hamano, M. Takagi, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, **1990**, 1271-1273 (1990). [主]
- (30) Bis-9-acridinyl Derivative Containing a Viologen Linker Chain: Electrochemically Active Intercalator for Reversible Labelling of DNA, **S. Takenaka**, T. Ihara, M. Takagi, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, **1990**, 1485-1487 (1990). [主]
- (31) DNA-Binding Behavior of Viologen-Containing Electrochemically Active Intercalators, **S. Takenaka**, H. Sato, H. Ihara, M. Takagi, *Analytical Sciences, 7 supplement*, 1385-1386 (1991). [主]
- (32) ★Light-Induced DNA Cleavage by Bis-9-acridinyl Viologen Derivative, **S. Takenaka**, T. Ihara, M. Takagi, *Chemistry Letters*, **1992**, 1-4 (1992). [主]
- (33) 5'-Highly Hydrophobic Protecting Group in the Rapid Separation of Automatic-Synthesis Oligonucleotides, **S. Takenaka**, K. Dohtsu, M. Takagi, *Analytical Sciences*, **8**, 3-7 (1992). [主]
- (34) Development of a High-Performance Liquid Chromatographic Gel Carrying Intercalator-Like Benzoates for Analysis of Oligonucleotides, **S. Takenaka**, K. Dohtsu, M. Takagi, *Analytical Sciences*, **8**, 151-156 (1992). [主]
- (35) Interaction of novel tris-intercalators with DNA. Spectrofluorometric studies, **S. Takenaka**, S. Nishira, H. Kondo, M. Takagi, *Nucleic Acids Symposium Series*, **27**, 71-72 (1992). [主]
- (36) Synthesis and characterization of novel tris-intercalators having potentially two different DNA binding modes, **S. Takenaka**, S. Nishira, K. Tahara, H. Kondo, M. Takagi, *Supramolecular Chemistry*, **2**, 41-46 (1993). [主]
- (37) Electrochemical Active DNA Probes: Detection of Target DNA Sequences at Femtomole Level by High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection, **S. Takenaka**, Y. Uto, H. Kondo, T. Ihara, M. Takagi, *Analytical Biochemistry*, **218**, 436-443 (1994). [主]
- (38) DNA Ligand-Redox Active Molecule Conjugates as an Electrochemical DNA Probe, T. Ihara, Y. Maruo, Y. Uto, **S. Takenaka**, M. Takagi, *Analytical Science & Technology*, **8**, 887-894 (1995). [主]
- (39) Specific binding to polyA of a naphthalene diimide carrying thymine groups, **S. Takenaka**, M. Manabe, M. Yokoyama, M. Nishi, J. Tanaka, H. Kondo, *Chemical Communications*, **1996** (3), 379-380 (1996). [主]
- (40) Energy Transfer in Micellar Solutions of Binaphthyl-Based Amphiphiles, B. Juskowiak, M. Takagi, **S. Takenaka**, *Polish Journal of the Chemistry*, **70**, 91-110 (1996). [協]
- (41) ★Spontaneous Formation of a Molecular Net Assembly by Using Nucleotide Complementarity, **S. Takenaka**, Y. Funatu, H. Kondo, *Chemistry Letters*, **1996** (10), 891-892 (1996). [主]
- (42) Self-oriented assembly of bipyridine-Fe(II) and Ru(II) complexes by using the oligonucleotide complementarity, **S. Takenaka**, Y. Funatu, H. Kondo, *Nucleic Acids Symposium Series*, **35**, 145-146 (1996). [主]

- (43) Ferrocene-oligonucleotide conjugates for electrochemical probing of DNA, T. Ihara, Y. Maruo, **S. Takenaka**, M. Takagi, *Nucleic Acids Res.*, **24** (21), 4273-4280 (1996). [協]
- (44) Construction of a dimeric DNA-binding peptide model by peptide-anthraquinone conjugation, **S. Takenaka**, H. Sato, Y. Itakura, H. Kondo, M. Takagi, *International Journal of Peptide and Protein Research*, **48** (4), 397-400 (1996). [主]
- (45) Synthesis of a 9-Acridinyl Nonapeptide Containing the DNA Recognizing Region of 434 Phage Repressor Protein, **S. Takenaka**, K. Iwamasa, M. Takagi, N. Nishino, H. Mihara, T. Fujimoto, *Journal of the Heterocyclic Chemistry*, **33** (6), 2043-2045 (1996). [主]
- (46) Selective stabilization of a bulged duplex of d(GCGAAACGC) oligonucleotide by thymine base-substituted naphthalene diimide, **S. Takenaka**, M. Yokoyama, H. Kondo, *Chemical Communications*, **1996**, 115-116 (1996). [主]
- (47) Synthesis and DNA Binding Properties of Bis-9-acridinyl Derivatives Containing Mono-, Di and Tetra-viologen Units as a Connector of Bis-intercalators, **S. Takenaka**, H. Sato, T. Ihara, M. Takagi, *Journal of the Heterocyclic Chemistry*, **34**, 123-127 (1996). [主]
- (48) Recognition and stabilization of single stranded naphthalene diimide, **S. Takenaka**, M. Takagi, M. Yokoyama, H. Kondo, *Antiviral Research*, **34**, A91(1997). [主]
- (49) Electrochemical Analysis of DNA Amplified by the Polymerase Chain Reaction with a Ferrocenylated Oligonucleotide, Y. Uto, H. Kondo, M. Abe, T. Suzuki, **S. Takenaka**, *Analytical Biochemistry*, **250**, 122-124 (1997). [主]
- (50) Synthesis and DNA binding properties of bis-9-acridinyl derivatives containing mono-, di- and tetra-viologen units as a connector of bis-intercalators, **S. Takenaka**, H.Sato, , T. Ihara, , M. Takagi, , *Journal of Heterocyclic Chemistry* **34** (1), 123-127 (1997). [主]
- (51) DNA sequence dependent binding modes of bis(vinylpyridinium)benzene derivatives, B.Juskowiak, , **S. Takenaka**, M.Takagi, , H. Kondo, , *Nucleic acids symposium series*, **37**, 265-266 (1997). [協]
- (52) Hydrophobic effect of alkyl substituents on DNA intercalation of a dye, **S. Takenaka**, M. Takagi, , J. Tanaka, , M. Nishi, , H. Kondo, , *Nucleic acids symposium series*, **37**, 105-106 (1997). [主]
- (53) Discrimination of the length of double-stranded DNA fragments by the bis-intercalating ligand, **S. Takenaka**, Y. Funatu, N. Shigemoto, H. Kondo, , *Analytical Sciences* **13** (SUPPL.), 177-180 (1997). [主]
- (54) Quantitative analysis of the muscular dystrophin gene using a polymerase chain reaction and high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, Y. Uto, H. Kondo, M. Abe, T. Suzuki, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences* **13** (SUPPL.), 209-212 (1997). [主]
- (55) Novel DNA Intercalating Molecules with Potentially Two Mode Binding Ability, **S. Takenaka**, B. Juskowiak, K. Yuziriha, M. Takagi, K. Miyajima, H. Kondo, *Analytical Sciences* **13** (SUPPL.), 457-460 (1997). [主]
- (56) Selective stabilization of a bulged duplex of d(GCGAAACGC) oligonucleotide by thymine base-substituted naphthalene diimide, **S. Takenaka**, M. Yokoyama, H. Kondo, *Chemical Communications*, **1997** (1), 115-116 (1997). [主]
- (57) Involvement of nucleic bases in the quenching of the fluorescence of acridine by methylviologen, **S.**

- Takenaka**, N. Shigemoto, H. Kondo, *Supramolecular Chemistry* **9** (1), 47-56 (1997). [主]
- (58) Control of the DNA-binding specificity of 9,10-anthraquinone by the nature and positions of substituents, **S. Takenaka**, Y. Itakura, H. Kondo, *Supramolecular Chemistry* **9** (1), 69-73 (1997). [主]
- (59) Electrochemically active threading intercalator with high double stranded DNA selectivity, **S. Takenaka**, Y. Uto, H. Saita, M. Yokoyama, H. Kondo, W. D. Wilson, *Chemical Communications* **1998** (10), 1111-1112 (1998). [主]
- (60) ★Enhanced electron transfer from glucose oxidase to DNA-immobilized electrode aided by ferrocenyl naphthalene diimide, a threading intercalator, **S. Takenaka**, Y. Uto, M. Takagi, H. Kondo, *Chemistry Letters* **1998** (10), 989-990 (1998). [主]
- (61) Electrochemistry of ferrocenyl naphthalene diimide derivative and its behavior on hairpin DNA immobilized electrode, **S. Takenaka**, K. Yamashita, Y. Uto, M. Takagi, H. Kondo, *Denki Kagaku* **66** (12), 1329-1334 (1998). [主]
- (62) Construction of a polyferrocene array with ferrocenyl naphthalene diimide intercalated to the double stranded DNA, **S. Takenaka**, M. Takagi, Y. Uto, H. Kondo, *Nucleic Acids Symposium Series*, **39**, 107-108 (1988). [主]
- (63) ★Photoisomerizable DNA ligands. Spectral and electrochemical properties and base-pair selectivity of binding of bis[2-(1-alkylpyridinium-4-yl)vinyl]benzene dyes, B. Juskowiak, M. Ohba, M. Sato, **S. Takenaka**, M. Takagi, H. Kondo, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **72** (2), 265-277 (1998). [協]
- (64) Poly-intercalators carrying threading intercalator moieties as novel DNA targeting ligands, M. Takagi, H. Yokoyama, **S. Takenaka**, M. Yokoyama, H. Kondo, *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry* **32** (2-3), 375-383 (1988). [主]
- (65) DNA coated with cationic fullerene derivative. A possible micro-wire in water, **S. Takenaka**, K. Yamashita, M. Takagi, T. Hatta, O. Tsuge, *Nucleic Acids Symposium Series*, **42**, 149-150 (1999). [主]
- (66) Highly sensitive detection of target gene by electrochemical method, K. Yamashita, **S. Takenaka**, M. Takagi, *Nucleic acids symposium series*, **42**, 185-186 (1999). [主]
- (67) DNA coated with cationic fullerene derivative. A possible microwire in water, **S. Takenaka**, K. Yamashita, M. Takagi, T. Hatta, O. Tsuge, *Nucleic acids symposium series*, **42**, 149-150 (1999). [主]
- (68) DNA-controlled photoisomerization of bis(2-(1-methyl-pyridinium-4-yl)vinyl)benzene, B. Juskowiak, **S. Takenaka**, M. Takagi, *Chemistry Letters* **1999**, (3), 209-210 (1999). [協]
- (69) Study of the DNA Interaction with Water-soluble Cationic Fullerene Derivatives, **S. Takenaka**, K. Yamashita, M. Takagi, T. Hatta, A. Tanaka, O. Tsuge, *Chemistry Letters*, **1999** (4), 319-320 (1999). [主]
- (70) Photo-induced DNA cleavage by water-soluble cationic fullerene derivatives, **S. Takenaka**, K. Yamashita, M. Takagi, T. Hatta, O. Tsuge, *Chemistry Letters*, **1999** (4), 321-322 (1999). [主]
- (71) DNA sensing on a DNA probe-modified electrode using ferrocenylnaphthalene diimide as the electrochemically active ligand, **S. Takenaka**, K. Yamashita, M. Takagi, Y. Uto, H. Kondo, *Analytical Chemistry*, **72** (6), 1334-1341 (2000). [主]
- (72) Electrochemical Detection of Base Pair Mutation, K. Yamashita, M. Takagi, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Chemistry Letters*, **2000** (9), 1038-1039 (2000). [主]

- (73) Ferrocenyl naphthalene diimide as a new electrochemical ligand for DNA sensing, S. Sato, K. Yamashita, M. Takagi, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **44**, 171-172 (2000). [主]
- (74) Novel synthesis of a tetra-acridinyl peptide as a new DNA polyintercalator, H. Ueyama, M. Waki, M. Takagi, **S. Takenaka**, *Nucleic acids symposium series*, **44**, 133-134 (2000). [主]
- (75) Fluorescence microscopic visualization of a DNA-cationic fullerene complex, K. Yamashita, T. Iwataki, T. Hatta, K. Yoshikawa, O. Tsuge, M. Takagi, **S. Takenaka**, *Nucleic acids symposium series*, **44**, 173-174 (2000). [主]
- (76) Energy transfer evidence for cross-linking of DNA by 1,4-bis((N-methylquinolinium-4-yl)vinyl)benzene, B. Juskowiak, T. Ichihara, **S. Takenaka**, M. Takagi, *Polish Journal of Chemistry* **75** (9), 1377-1379 (2001). [協]
- (77) Isomerization of DNA-bound stilbazolium ligand induced by electron transfer from photoexcited tris(1,10-phenanthroline)Ru(II), B. Juskowiak, A. Dominiak, **S. Takenaka**, M. Takagi, *Photochemistry and Photobiology*, **74**, 391-400 (2001). [協]
- (78) Visualization of DNA microarrays by scanning electrochemical microscopy (SECM), K. Yamashita, M. Takagi, K. Uchida, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Analyst* **126** (8), 1210-1211 (2001). [主]
- (79) Electrochemical array (ECA) as an integrated multi-electrode DNA sensor, H. Miyahara, K. Yamashita, M. Takagi, H. Kondo, S. Takenaka, *Trans. IEE of Japan*, **121-E**, 187-191 (2001). [主]
- (80) Base mutation analysis by a ferrocenyl naphthalene diimide derivative, **S. Takenaka**, H. Miyahara, K. Yamashita, M. Takagi, H. Kondo, *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **20** (4-7), 1429-1432 (2001). [主]
- (81) Ferrocenyl naphthalene diimide can bind to DNA·RNA hetero duplex: potential use in an electrochemical detection of mRNA expression, S. Sato, S. Fujii, K. Yamashita, M. Takagi, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Journal of Organometallic Chemistry* 637-639, pp. 476-483 (2001). [主]
- (82) Analysis of the Complex of Oligonucleotide Duplexes with Ligands by MALDI-TOF Mass Spectroscopy, K. Yamashita, S. Sato, H. Takamiya, M. Takagi, **S. Takenaka**, *Chemistry Letters* **2001** (7), 680-681(2001). [主]
- (83) Light-to-Electric Conversion as a New Method for DNA Duplex Detection, S. Nakamura, A. Shibata, **S. Takenaka**, M. Takagi, *Analytical Sciences*, **17** supplement, i431-i432 (2001). [協]
- (84) Detection of DNA Hybridization by Use of a New Lanthanide Fluorescent Intercalator That Specifically Binds to Double-Stranded DNA, T. Nojima, Y. Kondoh, **S. Takenaka**, T. Ichihara, M. Takagi, H. Tashiro, K. Matumoto, *Analytical Sciences*, **17** supplement, i1449-i1450 (2001). [協]
- (85) MALDI-TOF Mass Spectroscopic Analysis of the Complexes of Oligonucleotide Duplex with Acridine Derivatives, K. Yamashita, M. Takagi, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences*, **17** supplement, a33-a35 (2001). [主]
- (86) Tris(1,10-phenanthroline)ruthenium(II) Induced Isomerization of Stilbazolium Ligands Switched on by DNA, B. Juskowiak, M. Chudak, A. Dominiak, M. Sato, **S. Takenaka**, M. Takagi, *Analytical Sciences*, **17** supplement, a187-a190 (2001). [協]
- (87) DNA binding behavior of peptides carrying acridinyl units: First example of effective poly-intercalation,

- H. Ueyama, M. Takagi, M. Waki, **S. Takenaka**, *Nucleic Acid Research Supplement* 1, 163-164 (2001). [主]
- (88) Linker chain effect of ferrocenyl naphthalene diimide on a double stranded DNA preference, S. Sato, H. Takamiya, K. Yamashita, M. Takagi, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Nucleic Acid Research Supplement* 1, 269-270 (2001). [主]
- (89) Detection of DNA hybridization by use of a lanthanide fluorescent intercalator that specifically binds to double stranded DNA, T. Nojima, Y. Kondoh, **S. Takenaka**, T. Ichihara, M. Takagi, H. Tashiro, K. Matumoto, *Nucleic Acid Research Supplement* 1, 105-106 (2001). [協]
- (90) Fluorescence energy transfer study of interstrand DNA cross-linking caused by rigid bisintercalator, B. Juskowiak, E. Galezowska, T. Ichihara, **S. Takenaka**, M. Takagi, K. Yoshikawa, *Supramolecular Chemistry* 14 (6), 477-485 (2002). [協]
- (91) Electrochemical detection of nucleic base mismatches with ferrocenyl naphthalene diimide, K. Yamashita, M. Takagi, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Analytical Biochemistry* 306 (2), 188-196 (2002). [主]
- (92) Tetrakis-acridinyl peptide: A novel fluorometric reagent for nucleic acid analysis based on the fluorescence dequenching upon DNA binding, H. Ueyama, M. Takagi, **S. Takenaka**, *Analyst*, 127 (7), 886-888 (2002). [主]
- (93) Electrochemical detection of charged peptides immobilized on a gold electrode surface, H. Wada, H. Ueyama, M. Waki, **S. Takenaka**, M. Takagi, *Bunseki Kagaku*, 51 (10), pp. 911-914 (2002). [協]
- (94) Electrochemical analysis of single nucleotide polymorphisms of p53 gene, H. Miyahara, K. Yamashita, M. Kanai, K. Uchida, M. Takagi, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Talanta*, 56 (5), 829-835 (2002). [主]
- (95) Base-pair mapping by chemical force microscopy on nucleobase self-assembled monolayers, K. Iijiro, H. Sunami, K. Arai, J. Matumoto, O. Karthaus, S. Kraemer, S. Mittle, N. Nishi, B. Juskowiak, **S. Takenaka**, W. Knoll, M. Shimomura, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 198-200, 677-682 (2002). [協]
- (96) An anthracene derivative carrying ferrocenyl moieties at its 9 and 10 positions as a new electrochemically active threading intercalator, **S. Takenaka**, K. Ohtuka, H. Miyahara, T. Nojima, M. Takagi, *Nucleic Acids Research Supplement* 2, 291-292 (2002). [主]
- (97) Synthesis of adamantly naphthalene diimide and its interaction with double stranded DNA, Sato, S., Nojima, T., Takagi, M., Kondo, H., **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Research Supplement* 2, 213-214 (2002). [主]
- (98) Molecular dynamics investigation of the double stranded oligonucleotide d(AT)₆d(AT)₆, S. Fujii, N. Okimoto, T. Ebisuzaki, T. Nojima, M. Takagi, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Research Supplement* 2, 175-176 (2002). [主]
- (99) Potassium sensing oligonucleotide, PSO, based on DNA tetraplex formation, T. Nojima, H. Ueyama, M. Takagi, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Research Supplement* 2, 125-126 (2002). [主]
- (100) Binding of threading intercalator to nucleic acids: Thermodynamic analysis, H. Torigoe, S. Sato, K. Yamashita, S. Okiba, T. Imanishi, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Research Supplement* 2, 55-56 (2002). [主]
- (101) Ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical hybridization assay for heterozygote deficiency of the lipoprotein lipase gene, K. Yamashita, A. Takagi, M. Takagi, H. Kondo, Y. Ikeda, **S. Takenaka**,

- Bioconjugate Chemistry*, **13** (6), 1193-1199 (2002). [主]
- (102) A novel potassium sensing in aqueous media by synthetic oligonucleotide derivative. Fluorescence resonance energy transfer associated with guanine quartet-potassium ion complex formation, H. Ueyama, M. Takagi, **S. Takenaka**, *Journal of the American Chemical Society* **124** (48), 14286-14287 (2002). [主]
- (103) Direct detection of single nucleotide polymorphism (SNP) with genomic DNA by the ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical hybridization assay (FND-EHA), T. Nojima, K. Yamashita, A. Takagi, M. Takagi, Y. Ikeda, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences* **19** (1), 79-83 (2003). [主]
- (104) Comparison of potassium ion preference of potassium sensing oligonucleotides, PSO-1 and PSO-2, carrying human and *Oxytricha* telomeric sequence, respectively, **S. Takenaka**, Ueyama, H., Nojima, T., Takagi, M., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **375** (8), 1006-1010 (2003). [主]
- (105) Spectral properties and binding study of DNA complexes with a rigid bisintercalator 1,4-bis((N-methylquinolinium-4-yl)vinyl)benzene, B. Juskowiak, E. Gałezowska, **S. Takenaka**, *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **59** (5), 1083-1094 (2003). [協]
- (106) Bis-naphthalene diimide exhibiting an effective bis-threading intercalating ability, T. Nojima, K. Ohtsuka, T. Nagamatsu, **S. Takenaka**, *Nucleic acids research. Supplement 3*, 123-124 (2003). [主]
- (107) Development of a novel genosensor based on ferrocenyl oligonucleotides, K. Mukumoto, T. Nojima, N. Furuno, **S. Takenaka**, *Nucleic acids research. Supplement 3*, 43-44 (2003). [主]
- (108) SNP analysis by using ferrocenyl naphthalene diimide (FND)-based electrochemical hybridization assay (EHA), S. Sato, Y. Maeda, T. Nojima, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Nucleic acids research. Supplement 3*, 169-170 (2003). [主]
- (109) Fluoreometric behavior of a novel bis-acridine orange bound to double stranded DNA, **S. Takenaka**, Y. Sakakibara, H. Ueyama, T. Nojima, *Nucleic acids research. Supplement 3*, 151-152 (2003). [主]
- (110) Detection of noncovalent interactions of hairpin oligonucleotide with stilbazolium ligands by MALDI TOF mass spectrometry, B. Juskowiak, M. Chudak, **S. Takenaka**, *International Journal of Mass Spectrometry* **229** (3), 225-230 (2003). [協]
- (111) Immobilization of a peptide probe by a peptide-nucleotide conjugate (PNC), K. Ohtsuka, K. Uemura, T. Nojima, M. Waki, **S. Takenaka**, *Peptide Science 2003*, 443-444 (2004). [主]
- (112) Synthesis of new peptide intercalators as a future fluorometric visualization reagent for DNA microarray, K. Mizuki, H. Ueyama, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Peptide Science 2003*, 449-450 (2004). [主]
- (113) Analysis of the interaction between trypsin and sunflower trypsin Inhibitor (SFTI-1) immobilized on the gold surface, R. Kajiki, K. Ohtsuka, M. Waki, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Peptide Science 2003*, 463-464 (2004). [主]
- (114) Binding mode of bis-acridine orange peptide with double stranded DNA, Y. Sakakibara, H. Ueyama, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Peptide Science 2003*, 451-452 (2004). [主]
- (115) Development of gene detection method using photo-induced electron transfer, Y. Takagi, M. Komatsu, S. Nakamura, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Peptide Science 2003*, 453-454 (2004). [主]
- (116) Enhanced fluorescence of Eu^{3+} -naphthalenediimide derivative-phenanthroline ternary complex and the

- determination of DNA, B. Juskowiak, I. Grzybowska, E. Galezowska, **S. Takenaka**, *Analytica Chimica Acta*, **512** (1), 133-139 (2004). [主]
- (117) Synthesis of ferrocenyl carbodiimide as a novel ferrocenyl reagent of single stranded DNA, K. Mukumoto, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Nucleic acids symposium series*, **48**, 251-252 (2004). [主]
- (118) Electrochemical gene detection by using adamantyl naphthalene diimide coupled with ferrocenyl-beta-cyclodextrin, S. Sato, T. Nojima, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Nucleic acids symposium series*, **48**, 103-104 (2004). [主]
- (119) Gene detection based on the tetrakis-acridinyl peptide (TAP) cassette, K. Mizuki, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Chemistry Letters* **33** (12), 1550-1551(2004). [主]
- (120) Bis-intercalation-triggered fluorescence: Specific detection of double stranded DNA and AT content estimation, H. Ueyama, K. Mizuki, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Analyst* **129** (10), 886-887 (2004). [主]
- (121) Immobilization of sunflower trypsin inhibitor (SFTI-1) peptide onto a gold surface and analysis of the interaction with trypsin, K. Ohtsuka, R. Kajiki, M. Waki, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Analyst* **129** (10), 888-889 (2004). [主]
- (122) A novel method of identifying genetic mutations using an electrochemical DNA array, J. Wakai, A. Takagi, M. Nakayama, T. Miya, T. Miyahara, T. Iwanaga, **S. Takenaka**, Y. Ikeda, M. Amano, *Nucleic Acids Research*, **32** (18), e141(2004). [協]
- (123) Electrochemical gene detection based on supramolecular complex formation by ferrocenyl-β-cyclodextrin and adamantyl naphthalene diimide bound to double stranded DNA, S. Sato, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Journal of Organometallic Chemistry* **689** (25 SPEC. ISS.), 4722-4728 (2004). [主]
- (124) Enhanced fluorescence of the Eu³⁺-naphthalenediimide derivative-phenanthroline ternary complex and the determination of DNA, B. Juskowiak, I. Grzybowska, E. Galezowska, **S. Takenaka**, *Analytica Chimica Acta*, **512**, 133-139 (2004). [主]
- (125) Gene detection based on the tetrakis-acridinyl peptide (TAP) cassette, K. Mizuki, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Chemistry Letters*, **33**, 1550-1551(2004). [主]
- (126) Fluorescence enhancement of bis-acridine orange peptide, BAO, upon binding to double stranded DNA, K. Mizuki, Y. Sakakibara, H. Ueyama, T. Nojima, M. Waki, **S. Takenaka**, *Organic and Biomolecular Chemistry* **3** (4), pp. 578-580 (2005). [主]
- (127) Electrochemical Detection of a Disease-specific Isoform of the Prion Protein (PrPsc), K. Ohtsuka, K. Dohura, M. Waki, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Peptide Science 2004*, 305-306 (2005). [主]
- (128) Electrochemical detection of telomeric quadruplex DNA using ferrocenyl naphthalene diimide, S. Sato, H. Kondo, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **49**, 237-238 (2005). [主]
- (129) Investigation of ferrocenyl carbodiimide (FCDI) in the modification reaction of nucleic acids, K. osuke Mukumoto, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **49**, 231-232 (2005). [主]
- (130) Complexation of thrombin-binding aptamer oligonucleotide carrying fluorescence resonance energy transfer (FRET) dyes at both termini with potassium ion, S. Nagatoishi, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Nucleic acids symposium series*, **49**, 233-234 (2005). [主]
- (131) Gene detection based on Tetrakisacridinyl peptide (TAP), T. Nojima, K. Mizuki, **S. Takenaka** *Polymer*

- Preprints, Japan*, **54** (1), 2322(2005). [主]
- (132) Photoinduced electron transfer in double stranded DNA bound to Tetrakisacridinyl peptide (TAP), T. Nojima, K. Mizuki, **S. Takenaka**, *Polymer Preprints, Japan* **54** (1), 2323 (2005). [主]
- (133) Immobilization of monoclonal antibody for the carcinoembryonic antigen (CEA) on a gold surface and its interaction analysis with CEA using Fourier transform infrared reflection-absorption spectroscopy (FT-IR RAS), K. Ohtsuka, M. Kuroki, T. Nojima, M. Waki, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences* **21** (3), 215-218 (2005). [主]
- (134) Genotyping of human lipoprotein lipase gene by using ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical hybridization assay (FND-EHA), T. Nojima, K. Yamashita, A. Takagi, Y. Ikeda, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences* **21** (12), 1437-1441(2005). [主]
- (135) Supramolecular Assembly of Fullerene Derivatives in the Absence or Presence of Double Stranded DNA in Water, T. Nojima, K. Yamashita, T. Hatta, O. Tsuge, T. Iwase, N. Makita, K. Yoshikawa, S. atoshi Fujii, **S. Takenaka**, *Bunseki Kagaku* **54** (6), 449-454 (2005). [主]
- (136) Supramolecular complex formation by beta-cyclodextrin and ferrocenylnaphthalene diimide-intercalated double stranded DNA and improved electrochemical gene detection, S. Sato, T. Nojima, M. Waki, **S. Takenaka**, *Molecules* **10** (6), 693-707 (2005). [主]
- (137) Electrochemical Telomerase Assay with Ferrocenylnaphthalene Diimide as a Tetraplex DNA-Specific Binder, S. Sato, H. Kondo, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Analytical Chemistry* **77** (22), 7304-7309 (2005). [主]
- (138) Synthesis of ferrocenylcarbodiimide as a convenient electro-chemically active labeling reagent for nucleic acids, K. Mukumoto, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Tetrahedron*, **61**, 11705-11715 (2005). [主]
- (139) Pyrene-labeled G-quadruplex Oligonucleotide as a Fluorescence Probe for Potassium Ions Detection in Biological Applications, S. Nagatoishi, T. Nojima, B. Juskowiak, **S. Takenaka**, *Angewandte Chemie - International Edition* **44** (32), 5067-5070 (2005). [主]
- (140) Immobilization of RNase S-Peptide on a single-stranded DNA-fixed gold surface and effective masking of its surface by an acridinyl poly(ethylene glycol), K. Ohtsuka, K. eiko Uemura, T. Nojima, M. Waki, **S. Takenaka**, *The Analyst*, **131**, 55-61(2006). [主]
- (141) Imaging of DNA microarray with scanning electrochemical microscopy, Komatsu,, K. Yamashita, K. Uchida, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Electrochimica Acta*, **51**, 2023-2029 (2006). [主]
- (142) Analysis of electrochemical reaction of ferrocenylnaphthalene diimide captured by double-stranded DNA during the electrochemical detection of DNA hybridization, M. Komatsu, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Electrochemistry*, **74**, 65-67 (2006). [主]
- (143) Preparation of carbodiimide-terminated thiol self-assembly monolayers (SAMs) as a new DNA-immobilization method, K. Mukumoto, K. Ohtsuka, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences*, **22**, 349-355 (2006). [主]
- (144) Fluorescence anisotropy and FRET studies of G-quadruplex formation in presence of different cations, B. Juskowiak, E. Galezowska, E. Galezowska, A. Gluszynska, **S. Takenaka**, *Spectrochimica Acta Part A*, **64**, 835-843 (2006). [協]
- (145) Tetrakis-acridinyl peptide: Distance dependence of photoinduced electron transfer in DNA duplex, K.

- Mizuki, T. Nojima, B. Juskowiak, **S. Takenaka**, *Analytica Chimica Acta*, **578**, 88-92 (2006). [主]
- (146) Ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical detection of methylated gene, S. Sato, H. Kondo, K. Hokazono, T. Irie, T. Ueki, M. Waki, T. Nojima, **S. Takenaka**, *Analytica Chimica Acta*, **578**, 82-87 (2006). [主]
- (147) G-quadruplex-based FRET probes with the thrombin-binding aptamer (TBA) sequence designed for the efficient fluorometric detection of potassium ion, S. Nagatoishi, T. Nojima, E. Galezowska, B. Juskowiak, **S. Takenaka**, *ChemBioChem.*, **7**, 1730-1737 (2006). [主]
- (148) Development of Electrochemical Protease Assay, I. Maekawa, K. Ohtsuka, M. Waki, **S. Takenaka** *Peptide Science* 2006, 341 [主]
- (149) Electrochemical SNP detection, S. Watanabe, K. Mukumoto, T. Nojima, M. Waki, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **50**, 309-310 (2006). [主]
- (150) Electrochemical detection of DNase I activity, K. Fujita, M. Kanazawa, K. Mukumoto, T. Nojima, S. Sato, H. Kondo, M. Waki, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **50**, 307-308 (2006). [主]
- (151) Linker chain effect of ferrocenylnaphthalene diimide derivatives on a tetraplex DNA binding, S. Sato, H. Kondo, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **50**, 107-108 (2006). [主]
- (152) FRET probes based on the guanine quadruplex formation for the fluorometric detection of potassium ion, S. Nagatoishi, T. Nojima, E. Galezowska, A. Gluszynska, B. Juskowiak, **S. Takenaka**, *Analytica Chimica Acta*, **581**, 125-131 (2007). [主]
- (153) Direct modification of mRNA by ferrocenylcarbodiimide and its application for electrochemical detection of mRNA, K. Mukumoto, T. Nojima, M. Waki, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences*, **23**, 115-119 (2007). [主]
- (154) Detection of cRNA Hybridized on a DNA Chip Using Tetrakis-acridinyl Peptide (TAP) Cassette, Consisting of TAP and d[A18(TA)51], K. Kawaai, Y. Kondoh, T. Nojima, K. Tada, **S. Takenaka**, H. Tashiro, T. Tashiro, *Analytical Sciences*, **23**, 267-270 (2007). [主]
- (155) Reactivity of Ferrocenylcarbodiimide to DNA Duplex Containing Single-Mismatched Base Pair, K. Mukumoto, S. Watanabe, T. Nojima, M. Waki, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences*, **23**, 645-649 (2007). [主]
- (156) Sequence-dependent DNA deformability studied using molecular dynamics simulations, F. Satoshi, H. Kono, **S. Takenaka**, Nobuhiro Go, A. Sarai, *Nucleic Acids Research*, **35**, 6063-6074 (2007). [協]
- (157) Searching study for the suitable ferrocenylnaphthalene diimide derivative in the electrochemical telomerase assay, S. Sato, K. Ohtsuka, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **51**, 85-86 (2007). [主]
- (158) Further stabilization of the double stranded DNA complex by naphthalene diimide derivative having 2,2-dipicolylamine-zinc complex, S. Watanabe, K. Ohtsuka, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **51**, 191-192 (2007). [主]
- (159) Electrochemical RNaseA detection using ferrocenylnaphthalene diimide, M. Kanazawa, S. Sato, K. Ohtsuka, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **51**, 323-324 (2007). [主]
- (160) Ferrocenylnaphthalene Diimide-based Electrochemical Ribonuclease Assay, M. Kanazawa, S. Sato, K. Ohtsuka, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences*, **23**, 1415-1419 (2007). [主]
- (161) Linker effect of ferrocenylnaphthalene diimide ligands in the interaction with double stranded DNA, S.

- Sato, **S. Takenaka**, *Journal of Organometallic Chemistry*, **693**(7), 1177-1185 (2008). [主]
- (162) Electrochemical Assay for DNase I Activity, S. Sato, K. Fujita, M. Kanazawa, M. Waki, **S. Takenaka** *Analytical Biochemistry*, **381**(2), 233-239 (2008). [主]
- (163) Interaction of potassium ion with oligonucleotide carrying human telomeric sequence and pyrene moieties at both termini, H. Hayashida, J. Paczesny, B. Juskowiak, **S. Takenaka**, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **16**, 9871-9881(2008). [主]
- (164) Synthesis of naphthalenediimide having two beta-cyclodextrins at both of its substituent termini , K. Ohtsuka, S. Sato, S. Watanabe, K. Komizo, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **52**, 717-718 (2008). [主]
- (165) Synthesis of a perylene diimide derivative having two ferrocene moieties as an electrochemical indicator for human telomeric DNA tetraplex, R. Fujikawa, S. Watanabe, K. Ohtsuka, S. Sato, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **52**, 241-242 (2008). [主]
- (166) Synthesis of a naphthalene diimide derivative having four ferrocene moieties as an electrochemical DNA hybridization indicator, S. Sato, M. Tsueda, S. Watanabe, K. Ohtsuka, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **52**, 239-240 (2008). [主]
- (167) Detection of Antibody to Avian Influenza Virus with Electrochemical Immunoassay (eELISA), K. Ohtsuka, H. Endo, K. Morimoto, Bui N. Vuong, H. Ogawa, K. Imai, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences*, **24**, 1619-1622 (2008). [主]
- (168) Electrochemical assay of plasmin activity and its kinetic analysis, K. Ohtsuka, I. Maekawa, M. Waki, **S. Takenaka**, *Analytical Biochemistry*, **385**, 293-299 (2009). [主]
- (169) Reliable ferrocenyloligonucleotide-immobilized electrodes and their application to electrochemical DNase I assay, S. Sato, K. Fujita, M. Kanazawa, K. Mukumoto, K. Ohtsuka, **S. Takenaka**, *Analytica Chimica Acta*, **645**, 30-35 (2009). [主]
- (170) Immobilization of a naphthalene diimide-DNA complex on the gold through dithiolane moieties, S. Sato, K. Ohtsuka, **S. Takenaka**, *Nucleic Acids Symposium Series*, **53**, 147-148 (2009). [主]
- (171) Synthesis and DNA binding behavior of a naphthalene diimide derivative carrying two dicobalt hexacarbonyl complexes as an infrared DNA probe, K. Ohtsuka, K. Komizo, **S. Takenaka**, *Journal of Organometallic Chemistry*, **695**, 1281-1286 (2010). [主]
- (172) Selective immobilization of double stranded DNA on a gold surface through threading intercalation of a naphthalene diimide having dithiolane moieties, S. Sato, A. Hirano, **S. Takenaka**, *Analytica Chimica Acta*, **665**, 91-97 (2010). [主]
- (173) DNA Methylation Analysis with an Intercalator-peptide Conjugate, K. Ohtsuka, S. Honda, Y. Sato, **S. Takenaka**, *Peptide Science* 2009, 111-112 (2010). [主]
- (174) Electrochemical detection of aberrant methylated gene using naphthalene diimide derivative carrying four ferrocene moieties, S. Sato, M. Tsueda, **S. Takenaka**, *Journal of Organometallic Chemistry*, **695**, 1858-1862 (2010). [主]
- (175) Emission lifetime study of fluorescence probes based on G-quadruplex oligonucleotides end-labeled with pyrene moieties, A. Dembska, T. Pedzinski, **S. Takenaka**, B. Juskowiak, *Spectroscopy*, **24**, 325-331 (2010).

〔協〕

- (176) Discrimination of phosphorylated double stranded DNA by naphthalene diimide having zinc(II) dipicolylamine complexes, S. Watanabe, K. Ohtsuka, S. Sato, **S. Takenaka**, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **19**, 1361-1365 (2011). 〔主〕
- (177) Electrochemical DNA analysis with a supramolecular assembly of naphthalene diimide, ferrocene and β -cyclodextrin, S. Watanabe, S. Sato, K. Ohtsuka, **S. Takenaka**, *Analytical Chemistry*, **83**, 7290-7296 (2011). 〔主〕
- (178) Detection of an aberrant methylation of CDH4 gene in PCR product by ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical hybridization assay, S. Sato, M. Tsueda, Y. Kanezaki, **S. Takenaka**, *Analytica Chimica Acta*, **715**, 42-48 (2012). 〔主〕
- (179) PCR-free telomerase assay using Chronocoulometry coupled with RuHex, S. Sato, **S. Takenaka**, *Analytical Chemistry*, **84**, 1772-1775 (2012). 〔主〕
- (180) Structural Optimization of a DNA-Peptide Conjugate Aiming at Potassium Ion Sensing Agent in Living Cells, S. Ohzawa, K. Ohtsuka, S. Sato, **S. Takenaka**, *Peptide Science* 2011,405-406 (2012). 〔主〕
- (181) Electrochemical Detection of Periodontal Disease Using Protease Assay, Shinichiro Nagata, Takeshi Ohshima, K. Ohtsuka, S. Sato, M. Nagayoshi, C. Kitamura, T. Nishihara, **S. Takenaka**, *Peptide Science* 2011,407-408 (2012). 〔主〕
- (182) Electrochemical Detection of DNA Duplexes Using Ferrocenylnaphthalene Diimide Derivaives in Homogenous Solution, H. Takenaka, S. Sato, **S. Takenaka**, *Peptide Science* 2011,409-410 (2012). 〔主〕
- (183) Fluorescence imaging of potassium ions in living cells using a fluorescent probe based on a thrombin binding aptamer-peptide conjugate, K. Ohtsuka, S. Sato, Y. Sato, K. Sota, S. Ohzawa, T. Matsuda, K. Takemoto, N. Takamune, B. Juskowiak, T. Nagai, **S. Takenaka**, *Chemical Communication*, **48**, 4740-4742 (2012). 〔主〕
- (184) Improving the affinity of naphthalene diimide ligand to telomeric DNA by incorporating Zn^{2+} ions into its dipicolylamine groups, I. Czerwinska, S. Sato, **S. Takenaka**, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **20**, 6416-6422 (2012). 〔主〕
- (185) フェロセン化ナフタレンジイミドと電極チップを利用したテロメラーゼ測定：電気化学的舌癌診断, 佐藤 しのぶ, 森 久美子, 遠藤 浩, 兒玉 正明, 土生 学, 西原 達次, 富永 和宏, 竹中 繁織, *分析化学*, **61**, 243-250 (2012). 〔主〕
- (186) Oral cancer diagnosis via a ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical telomerase assay, K. Mori, S. Sato M. Kodama, M. Habu, O. Takahashi, T. Nishihara, K. Tominaga, **S. Takenaka**, *Clinical Chemistry*, **59**, 289-295 (2013). 〔主〕
- (187) Electrochemical RNase A detection using the electrode immobilized with ferrocenyl deoxyribooligonucleotide containing cytidine ribonucleotide as its target, S. Sato, **S. Takenaka**, *Electroanalysis*, **25**(7) 1652-1658 (2013). 〔主〕
- (188) Electrochemical DNA duplex detection by an intercalation-triggered decomplexation of ferrocene with β -cyclodextrin, H. Takenaka, S. Sato, **S. Takenaka**, *Electroanalysis*, **25**(8) 1827-1830 (2013). 〔主〕
- (189) Naphthalene diimide carrying two cysteine termini at both imide linkers as a molecular staple, S. Sato, K.

- Yamamura, **S. Takenaka**, *Electroanalysis*, **25**, 1831-1839 (2013). [主]
- (190) Development of a membrane-based microwave mediated electrochemical ELISA method for TNF- α detection in patients with periodontitis, I. Diala, S. Sato, M. Usui, K. Nakashima, T. Nishihara, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences*, **29**, 927-930 (2013). [主]
- (191) Design of tetraplex specific ligands: cyclic naphthalene diimide, Y. Esaki, Md. M. Islam, S. Fujii, S. Sato, **S. Takenaka**, *Chemical Communication*, **50**, 5967-5969 (2014). [主]
- (192) Interactions of cyclic and non-cyclic naphthalene diimide derivatives with different nucleic acids, I. Czerwinska, S. Sato, B. Juskowiak, **S. Takenaka**, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **22**, 2593-2601 (2014). [主]
- (193) Ferrocenylnaphthalene Diimide-Based Electrochemical Detection of Aberrant Methylation in hTERT Gene, S. Sato, T. Saeki, T. Tanaka, Y. Kanezaki, M. Hayakawa, K. Haraguchi, M. Kodama, T. Nishihara, K. Tominaga, **S. Takenaka**, *Applied Biochemistry Biotechnology*, **174**(3), 869-79 (2014). [主]
- (194) Highly sensitive nuclease assay based on chemically-modified DNA or RNA, S. Sato, **S. Takenaka**, *Sensors* **14**(7), 12437-12450 (2014). [主]
- (195) Metallization of double-stranded DNA triggered by bound galactose-modified naphthalene diimide, K. Komizo, H. Ikedo, S. Sato, **S. Takenaka**, *Bioconjugate Chemistry*, **25** (8), pp 1547-1555(2014). [主]
- (196) ヒトテロメア DNA を用いたナトリウムイオン蛍光イメージング試薬(SSO)の開発, 今市悠貴, 古賀春香, 中澤浩二, 佐藤しのぶ, 竹中繁織, ナノ学会会報, Vol. 12, No. 2, 73-77 (2014). [主]
- (197) Cooperative Binding of Ferrocenylnaphthalene Diimide Carrying β -Cyclodextrin Converts Double-Stranded DNA to a Rod-Like Structure, S. Sato, Y. Umeda, S. Fujii, **S. Takenaka**, *Bioconjugate Chemistry*, **26** (3), 379-382 (2015). [主]
- (198) Thermodynamics and Kinetic Studies in the Binding Interaction of Cyclic Naphthalene Diimide Derivatives with Double Stranded DNAs, Md. M. Islam, S. Fujii, S. Sato, T. Okauchi, **S. Takenaka**, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **23**, 4769-4776 (2015). [主]
- (199) A Selective G-Quadruplex DNA-Stabilizing Ligand Based on a Cyclic Naphthalene Diimide Derivative, Md. M. Islam, S. Fujii, S. Sato, T. Okauchi, **S. Takenaka**, *Molecules*, **20**(6), 10963-10979 (2015). [主]
- (200) Screening for oral cancer using electrochemical telomerase assay, M. Hayakawa, S. Sato, Irmina Diala, M. Kodama, K. Tomoeda-Mori, K. Haraguchi, K. Tominaga, **S. Takenaka**, *Electroanalysis*, **28**, 503-507 (2016). [主]
- (201) Electrochemical Sensing Performances for Uric Acid Detection on Various Amine Adlayers Used in Immobilizing Reduced Graphene Oxide, S. Park, S. Hwang, **S. Takenaka**, K. Kim, *Electroanalysis*, **27**, 1159-1165 (2015). [主]
- (202) Diagnosis of Periodontal Disease from Saliva Samples using Fourier Transform Infrared Microscopy Coupled with Partial Least Squares Discriminant Analysis, S. Fujii, S. Sato, K. Fukuda, T. Okinaga, W. Ariyoshi, M. Usui, K. Nakashima, T. Nishihara, **S. Takenaka**, *Analytical Science*, **32**(2), 225-231(2016). [主]
- (203) Electrochemical telomerase assay for screening for oral cancer, M. Hayakawa, M. Kodama, S. Sato, K. Tomoeda-Mori, K. Haraguchi, M. Habu, **S. Takenaka**, K. Tominaga, *British Journal of Oral and*

- Mazillofacial Surger*, **54**(3), 301-305 (2016). [主]
- (204) Screening for oral cancer using electrochemical telomerase assay, M. Hayakawa, M. Kodama, S. Sato, K. Tomoeda-Mori, K. Haraguchi, M. Habu, **S. Takenaka**, K. Tominaga, *Electroanalysis*, **28**, 503-507 (2016). [主]
- (205) Formation and electrical evaluation of a single metallized DNA nanowire in a nanochannel, T. Himuro, S. Sato, **S. Takenaka**, T. Takashi, *Electroanalysis*, **28**, 1448-1454 (2016). [協]
- (206) Water-soluble porphyrinoids as G-quadruplex binders and telomerase inhibitors, Y. Ikawa, S. Katsumat, S. Ryuichi, S. Sato, **S. Takenaka**, H. Furuta, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, Vol. 20, No. 08n11, pp. 1041-1048 (2016). [協]
- (207) DNA methylation detection based on difference of base content, S. Sato, K. Ohtsuka, S. Honda, Y. Sato, **S. Takenaka**, *Journal of Physics: Conference Series*, **704**, 012015 (2016). [主]
- (208) Ferrocenyl naphthalene diimides as tetraplex DNA binders, S. Sato, **S. Takenaka**, *Journal of Inorganic Biochemistry*, **167**, 21-26 (2017). [主]
- (209) Cyclic ferrocenylnaphthalene diimide derivative as a new class of G-quadruplex DNA binding ligand, Md. M. Islam, S. Sato, S. Shinozaki, **S. Takenaka**, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **27**, 329-335 (2017). [主]
- (210) Oral cancer screening based on methylation frequency detection in hTERT gene using electrochemical hybridization assay via a multi-electrode chip coupled with ferrocenylnaphthalene diimide, K. Haraguchi, S. Sato, M. Habu, N. Yada, M. Hayakawa, O. Takahashi, I. Yoshioka, K. Matsuo, K. Tominaga, **S. Takenaka**, *Electroanalysis*, **29**, 1-7 (2017). [主]
- (211) The methylation status and expression of human telomerase reverse transcriptase is significantly high in oral carcinogenesis, K. Haraguchi, N. Yada, S. Sato, M. Habu, M. Hayakawa, O. Takahashi, M. Sasaguri, **S. Takenaka**, I. Yoshioka, K. Matsuo, K. Tominaga, *APMIS(Acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica)*, **125** (9), 797-807 (2017). [協]
- (212) Cyclic perylene diimide: Selective ligand for tetraplex DNA binding over double stranded DNA, S. Vasimalla, S. Sato, F. Takenaka, Y. Kurose, **S. Takenaka**, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **25**, 6404-641(2017). [主]
- (213) 口腔がんのスクリーニングに関する hTERT 遺伝子のメチル化検出のための電気化学的ハイブリダーゼーションアッセイ, 佐藤しのぶ, 原口和也, 早川真奈, 富永和宏, 竹中繁織, *BUNSEKI KAGAKU*, **66**(6), 437-443 (2017). [主]
- (214) Membrane-Based Microwave-Mediated Electrochemical Immunoassay for the In Vitro, Highly Sensitive Detection of Osteoporosis-Related Biomarkers, H. Y. Kim, S. Sato, **S. Takenaka**, M.-H. Lee, *Sensors*, **18**(9), 2933 (2018). [主]
- (215) 超分子相互作用を利用した DNA バンドリング, 佐藤しのぶ, 開健亮, 竹中繁織, *ナノ学会会報*, **17**, 1(2018). [主]
- (216) Electrochemical aberrant methylation detection based on ferrocenylnaphthalene diimide carrying β -cyclodextrin, FNC, S. Sato, Y. Nishi, **S. Takenaka**, *Electroanalysis*, **31**, 1988-1993 (2019). [主]
- (217) Naphthalene diimide carrying four ferrocenyl substitutes as an electrochemical indicator of tetraplex

- DNA aiming at cancer diagnosis, S. Sato, A. Kajima, H. Hamanaka, **S. Takenaka**, *Journal of Organometallic Chemistry*, **897**, 107-113 (2019). [主]
- (218) Cyclic Naphthalene Diimide Dimer with a Strengthened Ability to Stabilize Dimeric G-Quadruplex, R. Takeuchi T, Zou D, Wakahara, Y. Nakano, S. Sato, **S. Takenaka**, *Chemistry A European Journal*, **25**, 8691-8695 (2019). [主]
- (219) Synthesis of peptide-human telomere DNA conjugate as fluorometric imaging reagent for biological sodium ion, S. Sato, Y. Imaichi, Y. Yoshiura, K. Nakazawa, **S. Takenaka**, *Analytical Sciences*, **35**, 85-90 (2019). [主]
- (220) 口腔がん早期発見のための剥離細胞診を応用した自己検診システムの開発—適切な細胞採取法の検討—, 早川真奈, 土生学, 原口和也, 矢田直美, 佐藤しのぶ, **竹中繁織**, 富永和宏, *日本口腔診断学会雑誌*, **32**(3), 191-196 (2019). [協]
- (221) 新規フェロセン化ナフタレンジイミドを用いた均一溶液中でのシグナルオン型電気化学的 DNaseI 検出, 佐藤しのぶ, 福瀧修司, **竹中繁織**, *BUNSEKI KAGAKU*, **68** (12), 953-960 (2019). [主]
- (222) Cyclic Naphthalene Diimide with a Ferrocene Moiety as a Redox-Active Tetraplex-DNA Ligand, S. Kaneyoshi, T. Zou, S. Ozaki, R. Takeuchi, A. Udou, T. Nakahara, K. Fujimoto, S. Fujii, S. Sato, **S. Takenaka**, *Chemistry A European Journal*, **26**, 139-142 (2020). [主]
- (223) The Interaction of Cyclic Naphthalene Diimide with G-Quadruplex under Molecular Crowding Condition, T. Zou, S. Sato, R. Yasukawa, R. Takeuchi, S. Ozaki, S. Fujii, **S. Takenaka**, *Molecules*, **25**, 668 (2020). [主]
- (224) Exploring Providencia rettgeri for application to eco-friendly paper based microbial fuel cell, S. Nara, R. Kandpal, V. Jaiswal, S. Augustine, S. Wahie, J. G. Sharma, Ryusuke Takeuchi, **S. Takenaka**, B. D. Malhotra, *Biosensors and Bioelectronics*, **165**, 112323 (2020). [協]
- (225) Electrochemical sensory detection of: Sus scrofa mtDNA for food adulteration using hybrid ferrocenylnaphthalene diimide intercalator as a hybridization indicator, N. Kusnin, N. A. Yusof, J. Abdullah, S. Sabri, F. Mohammad, S. Mustafa, N. A. A. Mutalib, S. Sato, **S. Takenaka**, N. A. Parmin, H. A. Al-Lohedan, *RSC Advances*, **46**, 27336 (2020). [協]
- (226) 歯周炎スクリーニングのためのフェロセン化ペプチドを用いる電気化学的プロテアーゼ検出法, 佐藤しのぶ, 長田 真一郎, 島本 隼平, 沖永 敏則, 有吉 渉, 臼井 通彦, 中島 啓介, 西原 達次, **竹中 繁織**, *BUNSEKI KAGAKU*, **70** (3), 199-206 (2000). [主]
- (227) Substituent effects of cyclic naphthalene diimide on G-quadruplex binding and the inhibition of cancer cell growth, H. Fukuda, S. Sato, T. Zou, S. Higashi, O. Takahashi, M. Habu, M. Sasaguri, K. Tominaga, **S. Takenaka**, H. Takeuchi, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **50**, 128323 (2021). [主]
- (228) An electrochemical protease assay using ferrocenylpeptide for screening of periodontal disease, S. Sato, S. Nagata, J. Shimamoto, T. Okinaga, W. Ariyoshi, K. Nakashima, T. Nishihara, **S. Takenaka**, *Bunseki Kagaku*, **70**, 119-206 (2021)(Japanese). [主]

- (229) Chemical Modulation of DNA Replication along G Quadruplex Based on Topology-Dependent Ligand Binding, S. Takahashi, A. Kotar, H. Tateishi-Karimata, S. Bhowmik, Z.-F. Wang, T.-C. Chang, S. Sato, S. **Takenaka**, J. Plavec, N. Sugimoto, *Journal of American Chemical Society*, **143**, 16458–16469 (2021). [主]
- (230) Cyclic ferrocenylnaphthalene diimides as a probe for electrochemical telomerase assay, S. Kaneyoshi, N. Eguchi, K. Fujimoto, S. Fujii, S. Sato, S. **Takenaka**, *Journal of Inorganic Biochemistry*, **230**, 111746 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.111746> [主]
- (231) Replication Control of Human Telomere G-Quadruplex DNA by G-Quadruplex Ligands Dependent on Solution Environment, S. Takahashi, S. Bhowmik, S. Sato, S. **Takenaka**, N. Sugimoto, *life*, **12**, 553 (2022). <https://doi.org/10.3390/life12040553M> [協]
- (232) Fluorescence imaging of extracellular potassium ion using potassium sensing oligonucleotide, S. Sato, S. Ohzawa, K. Sota, N. Sakamoto, A. Udo, S. Sueda, T. Matsuda, T. Nagai, S. **Takenaka**, *Frontiers in Chemistry*, **10**, 922094 (2022). <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.922094> [主]
- (233) Naphthalene Diimides Carrying Two β -Cyclodextrins Prefer Telomere RNA G-Quadruplex Recognition, T. Zou, Y. Sato, S. Kaneyoshi, K. Mano, R. Yasukawa, Y. Nakano, S. Fujii, S. Sato, S. **Takenaka**, *Molecules*, **27**, 4053 (2022). <https://doi.org/10.3390/molecules27134053> [主]
- (234) Electrochemical Method for G-quartet RNA Detection of COVID-19 Based on Cyclic Ferrocenylnaphthalene Diimide, S. Kaneyoshi, S. Murakami, T. Ikeda, K. Fujimoto, S. Fujii, S. Sato, S. **Takenaka**, *Electroanalysis*, **35**, e202200427. <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elan.202200427> [主]
- (235) Evaluation of the accuracy of hTERT gene aberrant methylation using electrochemical hybridization assay and liquid-based cytology in screening for oral squamous cell carcinoma, K. Haraguchi, S. Sato, M. Habu, N. Yada, M. Hayakawa, M. Sasaguri, I. Yoshioka, K. Tominaga, S. **Takenaka**, *Electroanalysis*, **35**, e202200564 (2023). [主] <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/elan.202200564>
- (236) Cyclic anthraquinone derivatives, novel G-quadruplex binders, selectively induce cancer cell apoptosis and inhibit tumor growth, H. Fukuda, T. Zou, S. Fujii, S. Sato, D. Wakahara, S. Higashi, T.-Y. Tseng, T.-C. Chang, N. Yada, K. Matsuo, M. Habu, K. Tominaga, H. Takeuchi, S. **Takenaka**, *PNAS Nexus*, pgad211, <https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgad211> [主]
- (237) Biotinylated cyclic naphthalene diimide as a searching tool for G4 sites on the genome, Satoshi Fujii, Shinobu Sato, Ryuki Hidaka, **Shigeori Takenaka**, *Analytical Sciences*, **40**, 943-950 (2024). [協]
- (238) Synthesis of cNDI-Peptide-Dimer as a G4 Cluster-Selective Binder and its Interaction with G4 Dimer, Kentaro Ono, Shinobu Sato, **Shigeori Takenaka**, *Chemistry Select*, **9**, e202401063 (2024). <https://doi.org/10.1002/slct.202401062> [主]
- (239) Electrochemically active DNA ligands for gene detection: present and future, Shinobu Sato, **Shigeori Takenaka**, *Anal. Sci.*, in Press. [主]

2. 著書

- (1) 15. 分析, 4. 有機分析, 4.3 有機成分分析法, 4.3.5 核酸および関連化合物, 竹中繁織, 高木誠, 第4版 実験化学講座, 日本化学会編 丸善株式会社, pp. 436-447 (1991).
- (2) 1.10 核酸の定量, 1.10.2 蛍光検出法による定量1, 竹中繁織, 生物学実験書, 日本生物工学会編, 培風館, pp. 23-24 (1992).
- (3) 3. 遺伝子工学実験, 3.1 基本操作, 3.1 ゲノム DNA の調製, (3) 仔牛胸腺 DNA の調製, 竹中繁織, 生物学実験書, 日本生物工学会編, 培風館, pp. 100-101 (1992).
- (4) Advances in Nucleic Acid Analysis by HPLC, **S. Takenaka**, H. Kondo, Molecular Biology: Current Innovation and Future Trends, H. Griffin Ed., Horizon Scientific Press, pp.137-154 (1995).
- (5) DNA チップ, 竹中 繁織, 「ゲノミクス・プロテオミクスの新展開～生物情報の解析と応用～」(今中 忠行 監修), pp. 1083-1093, エヌ・ティー・エス (2004).
- (6) バイオチップの検出技術開発, 竹中 繁織, 「バイオチップの最新技術と応用」(松永 是 監修), pp 64-71, シーエムシー出版 (2004).
- (7) DNA チップ, プロテインチップ, 竹中繁織, 「マイクロ化学チップの技術と応用」(北森 武彦, 庄司 習一, 馬場 嘉信, 藤田 博之 編), pp. 33-47, 丸善 (2004).
- (8) 水素結合を利用したサーフェースエンジニアリング, 野島 高彦, 大塚 圭一, 脇 道典, 竹中繁織, 「ソフトマテリアルの新展開」(監修: 西 敏夫), シーエムシー出版, pp. 75-88 (2004).
- (9) 実用化に近づいた次世代 DNA チップ, 竹中 繁織, Ohm Bulletin, 40, pp. 10-11, オーム社 (2004)
- (10) DNA チップ, プロテインチップ, 竹中 繁織, 「先端の分析法 -理工学からナノ・バイオまで-」, (梅澤喜夫, 澤田嗣郎, 寺部茂監修), エヌ・ティー・エス, pp. 431-439 (2004).
- (11) DNA チップ, 竹中 繁織, 図解 高分子素材のすべて, pp.118-121, 工業調査委員会 (2005).
- (12) Treading intercalators as redox indicators, Shigeori Takenaka, Electrochemistry of nucleic acids and proteins. Towards electrochemical sensors for genomics and proteomics (E. Palecek, F. Scheller, J. Wang, Eds.), pp.345-367, Elsevier (2005).
- (13) Total Analysis Systems, Micro, Shigeori Takenaka, Encyclopedia of Molecular Biology and Molecular Medicine (R. A. MEYERS, Ed.), WILEY-VCH, Weinheim, pp. 421-436 (2005).
- (14) Biosensors based on metal complex, Shigeori Takenaka, Bioorganometallics (G. JAOUEN, Ed.), WILEY-VCH (Weinheimn Germany), pp.303-319 (2006).
- (15) FRET in the studies of guanine-quadruplex, Bernard Juskowiak, Shigeori Takenaka, Fluorescent Energy Transfer Nucleic Acid Probes: Designs and Protocols (Method in Molecular Biology), (Didenko, V. V. Ed.), Humana Press, Inc. (Totowa, NJ), pp. 311-341 (2006).
- (16) 電気化学 DNA センサ, 竹中繁織, 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, pp. 42-49 (2007).
- (17) 第5節ナノバイオデバイス SNP 検出デバイス, 佐藤しのぶ, 竹中繁織, 超分子サイエンス&テクノロジー 基礎からイノベーションまで, 国武豊喜 監修, NTS, pp.1076-1084 (2009).

- (18) 第3章 電気化学的検出技術, 竹中繁織, バイオチップ 実用ハンドブック, 金子周一, 堀池靖浩 監修, NTS, pp.181-95 (2010).
- (19) Chap 9 DNA バイオセンサー, 竹中繁織, 核酸化学のニュートレンド DNA/RNA の新たな可能性を拓く, 日本化学会編, 化学同人, pp.108-115 (2011).
- (20) Electrochemical approaches to the study of DNA-drug interactions, Shinobu Sato & Shigeori Takenaka, Methods for Studying Nucleic Acid Drug Interactions, M. Wanunu, Y. Tor Eds., pp.241-259 CRC Press (2011).
- (21) Telomerase as a biomarker for oral cancer, Shigeori Takenaka, Shinobu Sato, Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications, Preedy, Victor R., Patel, Vinood B Eds., pp. 753-770 pringer (2015).
- (22) Synthesis of fluorescent potassium ion-sensing probes based on a thrombin-binding DNA aptamer-peptide conjugate, Shigeori Takenaka, Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem. 62:8.9.1-8.9.9 (2015). doi: 10.1002/0471142700.nc0809s62
- (23) 第2章 遺伝子ひしめく核内の化学, 竹中繁織, バイオ・メディシン: 細胞核内反応とゲノム編集, 宇理須 恒雄 編著, 近代科学社, 13-31 (2017).
- (24) はじめに, Part I Chap 2 医療応用のための分析化学, Part II Chap 1 バイオセンサーの歯科への応用, 竹中繁織, CSJ Current Review 24 医療・診断・創薬に化学-医療分野に挑む革新的な化学技術-, pp. v, 20-27, 46-54, 企画・編集 WG, 竹中繁織, 長崎幸夫・杉本直己, 日本化学会編, 化学同人, (2017).
- (25) Chapter 13 Recent Development for Tetraplex DNA Organometallic Ligand, in Advances in Bioorganometallic Chemistry,, S. Sato, S. Takenaka, Ed. T. Hirao, T. Motiuchi, Elsevier Inc., pp. 265-276 (2019).
- (26) Cyclic Naphthalene Diimide Derivatives as Novel DNA Ligands. S. Takenaka, In: N. Sugimoto (eds) Handbook of Chemical Biology of Nucleic Acids. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-1313-5_31-1 (2022).

3. 総説 (Accounts、Review ほか) ・特許 ・その他

総説

- (1) Intercalation on DNA by synthetic molecules, M. Takagi, M. Maeda, S. Takenaka, trends in analytical chemistry, 10, 226-228 (1991).
- (2) Synthetic threading intercalators as a new analytical probe for nucleic acid and gene detection, Takenaka, S., *Bunseki Kagaku* 48 (12), 1095-1105 (1999).
- (3) Threading intercalators as a new DNA structural probe, Takenaka, S., Takagi, M, Bulletin of the Chemical Society of Japan 72 (3), 327-337 (1999). **(Accounts)**
- (4) Highly sensitive probe for gene analysis by electrochemical approach, Takenaka, S., *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 74 (2), 217-224 (2001). **(Accounts)**
- (5) High-throughput, high-sensitivity detection of targeted genes by ECA (Electro-Chemical Array), M. Takagi, S. Takenaka, *Technical Digest of the 18th Sensor Symposium* 2001, 387-393 (2001).
- (6) Pseudo-polyferrocene coating of double stranded DNA with ferrocenylnaphthalene diimide and its

- application for electrochemical gene detection, Takenaka, S., *Polymer Journal* 36 (7), 503-512 (2004).
- (7) Fluorescence Detection of Potassium Ion Using G-Quadruplex Structure, Shigeori Takenaka, Bernard Juskowiak, *Anal. Sci.*, 27, 1167-1172 (2011).
 - (8) Electrochemical DNA Detection Using Supramolecular Interactions, Shinobu Sato, Shigeori Takenaka, *Analytical Sciences*, 28, 643-649 (2012).
 - (9) 電気化学的遺伝子検出における超分子形成, 佐藤しのぶ, 竹中繁織, *BUNSEKI KAGAKU*, 62 (7), 627-635 (2013)
 - (10) Application of naphthalene diimide in biotechnology, Shigeori Takenaka, *Polymer Journal*, 53, 15-427(2021).
 - (11) Detection of Tetraplex DNA and Detection by Tetraplex DNA, Shigeori Takenaka, *Analytical Sciences*, 37, 9-15 (2021).
 - (12) DNA およびオリゴヌクレオチドの分離・分析, 竹中繁織, 高木誠, 化学, 42 巻 9 号, 636 - 637 (1987).
 - (13) ゲル電気泳動を利用した DNA 複製終結点(ter)の分析法, 竹中繁織, ぶんせき, No.9, 727-731 (1999).
 - (14) ゲル電気泳動を利用した DNA の高次構造の解析, 竹中繁織, 高木誠, 化学, 45 巻 7 号, 502-503 (1990).
 - (15) メチジウムースペルミン-セファロースを利用した生体試料からの DNA の迅速分離, 竹中繁織, センターニュース, Vol. 8, 9-11 (1990).
 - (16) インターカレータプローブによる遺伝子の検出, 竹中繁織, The INTER (UPU), 176 (1991).
 - (17) 遺伝子診断の現状と将来, 竹中繁織, 鳳龍, Vol. 41, 10-12 (1995).
 - (18) DNA ヘアピンに選択的に結合する大環状ビスアクリジン, 竹中繁織, 化学, Vol. 50 (12), 759 (1995).
 - (19) DNA の三本鎖をほどけにくくする”分子の鋸, 竹中繁織, 化学, Vol. 51, pp. 199 (1996).
 - (20) テロメア 4 本鎖 DNA の検出試薬, 竹中繁織, ぶんせき, Vol. 11, 925-926
 - (21) 核酸及び遺伝子の新しい分析プローブとしての縫い込み型インターカレータ, 竹中繁織, 分析化学, Vol. 48, 1095-1105 (1999).
 - (22) 縫い込み型インターカレータと DNA とのダイナミクス, 竹中繁織, News Letters, Vol. 14, No. 4, 4-7 (2000).
 - (23) SNP (1 塩基多型) を解析する新しい技術, 竹中繁織, 化学, Vol. 55, pp. 64-65 (2000).
 - (24) 新しい DNA チップ技術 電気化学的手法を用いることで SNP 解析にも応用可能に, 竹中繁織, 化学と生物, 第 39 巻第 10 号, 642-643 (2001).
 - (25) DNA チップとアレイ, 高木誠, 竹中繁織, 化学工業, 第 11 巻, 831-837 (2001).
 - (26) DNA 診断に最適な次世代 DNA チップ, 竹中繁織, Bio ベンチャー Vol. 2, No. 3, pp. 58-64 (2002).
 - (27) DNA 検出チップ, 山下健一, 竹中繁織, 高木 誠, ぶんせき, No. 5, 227-232 (2002).
 - (28) 遺伝子解析におけるナノテクノロジーの展望, 竹中繁織, ケミカルエンジニアリング Vol. 48, 18-22 (2003).
 - (29) DNA チップ-DNA チップ技術のこれまでとこれから-, 竹中繁織, 高分子 52 巻, 123-125 (2003).

- (30) 電気化学的 DNA センサから ECA チップへ, 竹中繁織, 医学のあゆみ, Vol. 206, 750-753 (2003).
- (31) 電気化学的遺伝子センサの現状と未来, 竹中繁織, オレオサイエンス, Vol. 9, 467-473 (2003).
- (32) DNA チップ -次世代 DNA チップとして注目の ECA チップ-, 竹中繁織, OHM, Vol. 10, 57- 62 (2003).
- (33) 私と特許ー研究から特許出願へ, 竹中繁織, 化学と工業, Vol. 56, 1309-1311 (2003).
- (34) DNA 四本鎖構造を利用したカリウムイオンの検出, 野島 高彦, 竹中 繁織, 機能材料, Vol. 24, pp. 42-46 (2004).
- (35) 電気化学活性 DNA プローブを利用した DNA ハイブリダイゼーションのモニタリング, 竹中繁織, Electrochemistry, Vol. 72, No. 8, pp. 339-343 (2004).
- (36) DNA チップ, 竹中 繁織, Ohm Bulletin 創立 90 周年記念号, オーム社, (2004).
- (37) DNA チップを作成する, 竹中 繁織, 高分子 2004 年 11 月号, 53 巻, 880 (2004).
- (38) 電気化学活性 DNA プローブを利用した DNA ハイブリダイゼーションのモニタリング, 竹中繁織, Electrochemistry, 2004 年 8 月号, 586-589 (2004).
- (39) 電気化学 DNA チップを利用した SNP 解析, 竹中 繁織, 高分子加工, 53, 58-63 (2004).
- (40) DNA チップ-次世代 DNA チップとして注目の ECA チップ, 竹中 繁織, 「バイオナノテクレビュー 進むバイオとナノテクの融合」, 69-74, オーム社 (2004).
- (41) フェロセン化核酸の合成とそれらを利用した遺伝子の電気化学的検出, 椋本晃介, 竹中繁織, 有機合成化学協会誌, 64(3), 208-221 (2006).
- (42) バイオチップを利用した分析法-DNA チップを中心に-, 竹中繁織, 現代科学, 5 月, 36-42 (2006).
- (43) 簡易診断を目指した次世代チップの開発, 竹中繁織, ケミカル エンジニアリング, 51, 13-17 (2006).
- (44) 次世代バイオチップに向けて-電気化学的ヌクレアーゼアッセイチップ-, 竹中繁織, ケミカル・エンジニアリング, 54(1), 25-31 (2009).
- (45) テロメラーゼ活性の迅速な検出法-究極のがんマーカーとしての期待-, 佐藤しのぶ, 竹中繁織, 化学, 64(4), 74-75 (2009).
- (46) フェロセンを利用した電気化学バイオチップの開発, 竹中繁織, 未来材料, 9(3), 20-29 (2009).
- (47) 4 本鎖 DNA をターゲットとする抗がん剤開発, 竹中繁織, 化学と工業 (2014).
- (48) 電気化学的手法による DNA/薬剤相互作用解析, 佐藤 しのぶ, 竹中 繁織, DOJIN News, 156, 1-4 (2016).
- (49) 口腔がんの早期発見センサの開発-グアニン四本鎖 DNA を応用した電気化学検出, 竹中繁織, 化学, 78, 18-22 (2023)
- (50) 電気化学的遺伝子センシング技術の開発と診断応用, 佐藤しのぶ, 竹中繁織, バイオマテリアル, 42-4 (2024).

特許

- (1) 特許 2967197, 1998/08/11, 遺伝子の特殊一本鎖核酸部位の検出用プローブ、遺伝子の特殊一本鎖核酸部位の検出方法およびその装置, 九州大学長
- (2) 特開 2000-125865, 1998/10/28, DNAセンサおよびDNAの検出方法, 富士フイルムホールディングス株式会社
- (3) 特開 2000-146894, 1998/11/04, DNAの増感型検出方法, 富士フイルムホールディングス株式会社
- (4) 特開 2000-199754, 1999/01/06, 増感型電流測定用具を用いるアナライトの定量方法, 富士フイルムホールディングス株式会社
- (5) 特開 2000-290278, 1999/04/02, 導電性を有する二本鎖DNA断片および水溶性フラーレン誘導体, 富士フイルム株式会社
- (6) 特開 2000-329738, 1999/05/24, 増感型電流測定用具を用いるコレステロールの定量方法, 富士フイルムホールディングス株式会社
- (7) 特開 2001-013103, 2000/04/28, 走査型電気化学顕微鏡による試料核酸断片の検出方法および定量方法, 富士フイルム株式会社
- (8) 特開 2001-050931, 1999/08/06, 遺伝子を検出する方法、並びに検出装置及び検出用チップ, 凸版印刷株式会社他
- (9) 特開 2001-056311, 2000/06/02, DNA分析素子あるいはPNA分析素子を用いる相補性を有する試料核酸断片の高感度定量法, 富士フイルム株式会社
- (10) 特開 2001-064298, 1999/08/30, オリゴヌクレオチドの修飾方法, 富士フイルム株式会社
- (11) 特開 2001-116721, 2000/06/02, 部分相補性核酸断片の検出方法, 富士フイルム株式会社
- (12) 特開 2001-139532, 1999/11/11, 化学修飾を施した基体およびその製造方法, 東洋鋼板株式会社他
- (13) 特開 2001-163886, 1999/12/08, N, N'-ジ置換-ナフタレンジイミドの製造方法, 富士フイルムホールディングス株式会社
- (14) 特開 2001-165894, 1999/12/08, 縫い込み型インターカレータ、核酸断片の検出方法、及び核酸断片の検出キット, 富士フイルムホールディングス株式会社
- (15) 特開 2001-226376, 2000/12/08, 酸化還元活性を有する縫い込み型インターカレータ, 富士フイルム株式会社
- (16) 特開 2001-242116, 2000/03/02, タンパクチップおよびタンパク質の検出方法, 富士フイルムホールディングス株式会社
- (17) 特開 2001-242135, 2000/10/20, 遺伝子の検出用チップ、検出装置、並びに検出方法, 竹中 繁織 他
- (18) 特開 2001-289848, 2001/01/31, 蛍光インターカレータおよび相補性核酸断片の検出方法, 富士フイルム株式会社
- (19) 特開 2001-321198, 2001/03/08, 試料核酸断片の相補性の検定方法, 富士フイルム株式会社
- (20) 特開 2002-000299, 2000/06/22, 複数の電位を用いる遺伝子の発現解析, 富士フイルム株式会社
- (21) 特開 2002-153272, 2000/11/24, 生体分子マイクロアレイ, 独立行政法人理化学研究所他

- (22) 特開 2002-181816, 2000/12/08, 二本鎖核酸の検出試薬と二本鎖核酸検出方法, 学校法人早稲田大学他
- (23) 特願 2002-555094, 2001/12/28, 新規なフェロセン化多環式炭化水素誘導体、並びに新規なフェロセン化ナフタレンジイミド誘導体、その製造方法及び該誘導体からなるインターカレータ及び遺伝子の電気化学的検出方法, 凸版印刷株式会社他
- (24) 特開 2003-169676, 2001/12/05, カチオンの定量方法及び定量に用いられる線状ポリヌクレオチド, 竹中 繁織他
- (25) 特開 2003-212894, 2002/01/24, テロメラーゼ阻害剤, 国立大学法人九州大学
- (26) 特開平 09-288080, 出願:1996/04/24, 発明の名称: 遺伝子の電気化学的検出法およびその装置, 竹中 繁織他
- (27) 特開 2003-230386, 2002/02/07, 試料中の標的核酸を定量する方法、及びこれに用いられる装置, 竹中 繁織他
- (28) 特開 2004-008037, 2002/06/04, 一本鎖DNA分解酵素を利用した塩基配列検出法及び該検出法を実行する検出装置, 凸版印刷株式会社
- (29) 特開 2004-024114, 2002/06/26, 電気化学的二本鎖 DNA 検出試薬としての新規インターカレータ, 竹中 繁織他
- (30) 特開 2004-045390, 出願日 2003/05/14, 発明の名称, 顕微赤外分光法を利用した分子アレイによる検体の分析方法, 竹中 繁織他
- (31) 特願 2005-042552, 2005/2/18, テロメラーゼ活性の電気化学検出方法及びそれを用いる検出キット, 竹中 繁織他
- (32) 出願番号, 2008-324806, 2008/12/20, ビスアクリジンペプチド誘導体及びそれを主成分する pH センサ試薬, 竹中繁織, 八尋寛司
- (33) PCT/JP2009/056862, 2009/4/2, 電極モジュール, 竹中 繁織他
- (34) 特願 2013-142085(P2013-142085), 2013/7/ 5, 抗体抗原反応評価方法, 西原達次, 竹中繁織
- (35) 特願 2017-108329, 2017/4/2, フェロセン化ナフタレンジイミド誘導体、テロメラーゼ活性検出キット、およびテロメラーゼ活性検出方法, 竹中 繁織他
- (36) 特願 2021-201017, 2021/12/10.がん細胞増殖抑制用組成物, 竹中 繁織他
- (37) 特願 2022-039788, 2022/3/15, ウイルス検出法, 竹中繁織、佐藤しのぶ

その他

- (1) Rapid Quantitative Analysis of Polymerase Chain Reaction Products Derived from Ferrocenyl Oligonucleotide Primers by High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection, S. Takenaka, Y. Uto, M. Abe, T. Suzuki, H. Kondo, 化学工学会シンポジウムシリーズ, Vol. 65, pp 191-197 (1997).
- (2) Recent development in synthetic DNA intercalators conjugated to peptide or nucleic base, S. Takenaka, M. Takagi, Recent Research Developments in Pure and Applied Chemistry, Vol. 1, pp 159-168 (1997).
- (3) Oligonucleotides as a nano scale building block, S. Takenaka, Recent Research Developments in Pure and Applied Chemistry, Vol. 3, pp 1-8 (1999).

- (4) インターカレータを有する DNA 結合性ペプチドの開発, 竹中繁織, 日産科学振興財団研究報告書, 15, 245-257 (1992).
- (5) 新しい DNA チップ技術としての電気化学的アレイ (ECA) チップ, 竹中 繁織, 宮原 浩嘉, 山下 健一, 高木 誠, 近藤 寛樹, *Material Integration* Vol. 15, pp 9-15 (2002).
- (6) 遺伝子解析用 DLC スライドの開発, 大場光芳・岡村浩・凡花通文・山川薫・江原啓悟・竹中繁織, *東洋鋼鋳*, Vol.33, pp (2002).
- (7) X・Y 精子に関する基礎的研究, 田中威づみ, 田中温, 竹中繁織 他, *産婦人科の世界*, 58, 19-27 (2006).
- (8) 非染色 X・Y 精子の顕微フーリエ変換赤外分光(FT-IR)と多変量解析を利用した識別の試み, 田中威づみ, 田中温, 竹本洋一, 鋤田恵理, 赤星孝子, 楠比呂志, 渡邊誠二, 竹中繁織, 西 美穂, *産婦人科の実際*, 57, 1047-1051 (2006).
- (9) 電気化学的口腔癌診断法の開発: フェロセン化ナフタレンジイミド誘導体を利用した電気化学的テロメラーゼ検出, 佐藤 しのぶ, 竹中 繁織, *化学とマイクロ・ナノシステム学会誌*, 15(1), 7-12 (2016).
- (10) Modified naphthalene diimide as a suitable tetraplex DNA ligand: application to cancer diagnosis and anti-cancer drug, Shigeori Takenaka, *Proc. SPIE* 10324,103240G (2017); doi: 10.1117/12.2271575
- (11) がんとテロメア DNA の長さとのかわり-新しい測定技術の登場でわかったこと, 竹中繁織, *化学*, 72, 60-61 (2017).
- (12) 化学から見た DNA の基礎-遺伝情報の複製・伝達のための優れた分子構造-, 竹中繁織, *化学と教育*, 66, 84-87 (2018).
- (13) がん診断電気チップの開発, 佐藤しのぶ, 竹中繁織, *Bio Clinica* 34, 62 (2019).
- (14) がん診断電気チップの開発, 佐藤しのぶ, 竹中繁織, *Medical Science Digest*, 44, 587 (2019).
- (15) 九州工業大学工学部応用化学科の化学実験教育, 中戸晃之、竹中繁織、岡内辰夫、山村方人、植田和茂, *化学と教育*, 68 巻 3 号、114-117 (2020).
- (16) ポストコロナの時代に向けて, 竹中繁織, *ぶんせき*, 4, 183-184 (2021).
- (17) 化学の本だな, 漫画でわかるみんなの遺伝子の謎, 竹中繁織, *化学*, 76, 60 (2021).
- (18) クロマトグラフィーの原理と分類, 竹中繁織, *化学と教育*, 72, 368-371 (2024).
- (19) From the DNA sensor to the future DNA chip, S. Takenaka, *Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future*, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 301(2003).
- (20) Overview, V. Technology Innovation in Biomolecular Chemistry, S. Takenaka, *Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future*, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 301(2003).
- (21) Synthesis of naphthalene diimide and anthracene derivatives carrying fluorescein and evaluation of their specific binding to double stranded DNA, S. Isobe, K. Mizuki, S. Fujii, T. Nojima, S. Takenaka, *Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future*, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 334-335(2003).
- (22) Electrochemical study of ferrocenylnaphthalene diimide on the DNA-immobilized gold electrode, M. Komatsu, S. Sato, T. Nojima, H. Kondo, S. Takenak A, *Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future*, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 60-61 (2003).

- (23) Effect of the substituents of naphthalene diimide on the threading Intercalation into the DNA duplex, S. Kumamoto, S. Sato, T. Nojima, S. Takenaka, Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 82-83 (2003).
- (24) FT-IR RAS detection of carcinoembryonic antigen (CEA) as a cancer marker, K. Ohtsuka, T. Nojima, S. Takenaka, Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 348-349 (2003).
- (25) Supramolecular complex formation composed of beta-cyclodextrin and adamantyl naphthalene diimide bound to double stranded DNA by threading intercalation, S. Sato, T. Nojima, H. Kondo, S. Takenaka, Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp 40-41(2003).
- (26) Visualization of a DNA hybrid on the DNA microarray by FT-IR microscopy, K. Mizuki, T. Nojima, S. Takenaka, Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 338-339 (2003).
- (27) Correlation between enzymatic function, sequence similarity and molecular fluctuation of biotin carboxylase, S. Fujii, Y. Itou, S. Sueda, T. Nojima, S. Takenaka, H. Kondo, Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 250-251(2003).
- (28) Novel ferrocenylation reagent of DNA for electrochemical gene detection, K. Mukumoto, T. Nojima, S. Takenaka, Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 336-337(2003).
- (29) Efficient immobilization of peptides carrying a disulfide bond, R. Kajiki, K. Ohtsuka, M. Waki, T. Nojima, S. Takenaka, Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 346-347 (2003).
- (30) Synthesis of poly-acridine orange peptides aiming at a fluorescent reagent with high preference for double stranded DNA, Y. Sakakibara, H. Ueyama, K. Mizuki, S. Fujii, T. Nojima, S. Takenaka, Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 62-63 (2003).
- (31) Synthesis of bis-naphthalene diimide and its interaction with double stranded DNA, T. Nagamatsu, K. Ohtsuka, T. Nojima, S. Takenaka, Biomolecular Chemistry A Bridge for the Future, Scientific Program Committee of ISBC Ed., Maruzen, pp. 58-59 (2003).

4. 国際会議での基調・招待講演

- (1) The 1st CMC-Kyushu University Chemistry Symposium, 1996, Seoul, "Nucleotide sequence-selective electrochemical sensing of double stranded DNA by a redox active threading intercalator."
- (2) Recent Developments in Biochemical & Bioseparation Engineering toward the 21st Century, Sep. 10, 1997, Fukuoka, Japan, "Advance in nucleic acids analysis by HPLC."
- (3) 2000 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 14-19, 2000, Hawaii, USA, "Ferrocenylnaphthalene diimide: New reagent for electrochemical DNA detection."
- (4) Cambridge Healthtech Institute's Microrrays and Microchips Japan, June 4-5, 2001, Tokyo, Japan, "A

multi-electrode DNA sensing system of the next generation."

- (5) ICAS2001 (IUPAC International Congress on Analytical Sciences), Aug. 6-10, 2001, Tokyo, Japan, "Single nucleotide polymorphisms (SNPs) analysis by ferrocenyl naphthalene diimide derivative."
- (6) ポーランド Adama Mickiewiczza 大学招待講演, Dec. 6, 2002, Poznan, Poland, "Ferrocenyl naphthalenediimide-based electrochemical array as a next generation of DNA chip technology."
- (7) 7th International Symposium on Mutations in the Genome, Jul, 2-6, 2003, Palm Cove, Australia, "Electrochemical detection of mismatched DNA duplex"
- (8) ISBC 2003: First International Symposium on Biomolecular Chemistry, Dec. 2-5, 2000, Awaji, Japan, "From the DNA sensor to the future DNA chip."
- (9) Singapore International Chemical Conference 3: Frontiers in Physical And Analytical Chemistry, Dec. 15-17, 2003, Shangri-La Hotel, Singapore, "Novel Electrochemical Gene Detection Technology: Ferrocenyl naphthalene Diimide-Based Electrochemical Hybridization Assay."
- (10) Second International Symposium on Bioorganometallic Chemistry, July, 14-17, 2004 Zürich, Switzerland, "Novel ferrocenyl derivatives suitable for electrochemical detection devices for DNA."
- (11) ETH Hönggerberg 招待講演, July. 13, 2004, Zürich, Switzerland, "Ferrocenyl naphthalenediimide-based electrochemical hybridization assay suitable for DNA analyzer as a next generation."
- (12) The 1st International Symposium on Functional Innovation of Molecular Informatics, October, 13-15, 2004, Fukuoka, "Detection of lipoprotein lipase(LPL) gene mutations by electrochemical DNA chip"
- (13) 日本化学会九州支部・韓国化学会釜山支部ジョイントセミナー, Kyung Sung University (韓国), 2005年5月26-27日。(招待講演) Poly-intercalating peptide as a fluorescent hybridization indicator suitable for DNA microarray, Shigeori Takenaka
- (14) The XLVIII PTChem and SITPChem Annual Meeting, Poznan(Poland), 2005年9月19-22日。(招待講演) Application of ferrocenyl naphthalene diimide in the bio-devices, Shigeori Takenaka
- (15) PacifiChem2005, Honolulu (Hawaii), 2005年12月15-20日。(招待講演) Application of a DNA-immobilized electrode for ferrocenyl naphthalene diimide-based electrochemical hybridization assay and its conversion to a protein chip coupled with a peptide-oligonucleotide conjugate, Shigeori Takenaka
- (16) 4th international forum on post-genome technology, 中国杭州 浙江大学, 2006年9月25-26日, (招待講演) Electrochemical telomerase assay as a cancer diagnosis, Shigeori Takenaka.
- (17) 4th International Symposium on Innovative Bio. Physio Sensor Technology, JEJU Oriental Hotel(Korea), 2006年6月29-30日。(招待講演) Fluorometric visualization of potassium ion in biological system by using quadruplex DNA probe carrying pyrene moieties, Shigeori Takenaka
- (18) Seminar in Pusan National University, Pusan National University (Korea), 2006年7月1-2日。(招待講演) Ferrocenyl naphthalene diimide (FND) as an electrochemically active ligand for quadruplex DNA, Shigeori Takenaka.
- (19) The International Forum of Post-Genome Technologies (IFPT' 5), 蘇州 (中国), 2007年9月10日-11日。(招待講演) Application of ferrocenyl carbodiimide as an electrochemical labeling reagent of nucleic acid, Shigeori Takenaka

- (20) 5th International Symposium on Innovative BioPhysio Sensor Technology, Haeundae Grand Hotel (Busan) , 2008 年 5 月 20 日. (招待講演) Electrochemical nuclease and protease detection with ferrocene-modified oligonucleotides and peptides, Shigeori Takenaka
- (21) The 24th International Technical Conference on Circuits/Systems, Computers and Communications) , Jeju KAL Hotel, Jeju Island (Korea) , 2009 年 7 月 5 日-8 日. (招待講演) Immobilization of a naphthalene diimide-DNA complex on the gold through dithiolane moieties, Shigeori Takenaka
- (22) International Biosensing & Bioprocessing Symposium-From Alchemy to Commercialization-, Royal Sonesta Hotel Boston (USA), 2009 年 12 月 5 日. Biosensor based on ferrocene-modified oligonucleotides, Shigeori Takenaka
- (23) System IC 2010 Workshop 2011, 濟州島 (韓国) , 2011 年 2 月 15 日. (招待講演), Tongue Cancer Diagnosis by e-Telomerase Assay, Shigeori Takenaka
- (24) 英国及び北九州におけるバイオテクノロジーとソフトマテリアルの融合研究, 北九州市立大学 (ひびきの) , 2011 年 4 月 14 日. (招待講演) Development of an electrochemical biosensing technology using ferrocene derivatives, Shigeori Takenaka
- (25) The 7th International Symposium GioPhysio Sensor Technology, 釜山大学 (韓国釜山) , 2011 年 8 月 29 日. (招待講演) Thrombin Binding Aptamer (TBA) Conjugated with a Peptide Carrying Fluorescent Dyes at Its Termini as a Fluorescent Imaging Reagent of Potassium Ion in the Cell, Shigeori Takenaka
- (26) 14ACC (the 14th Asian Chemical Congress 2011), The Queen Sirikit National Convention Center (QSNCC) (タイバンコク) , 2011 年 9 月 5-8 日. (招待講演) Application of ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical telomerase assay to tongue cancer diagnosis, Shigeori Takenaka
- (27) The 4th Taiwan-Japan Symposium on Nanomedicine, Academia Sinca (Nankang, Taipei, Taiwan) , 2013 年 1 月 13-14 日. (招待講演) Thrombin Binding Aptamer-Peptide Conjugate for Fluorescence Imaging of Potassium Ion in A Cell, Shigeori Takenaka
- (28) 「第 1 回アジア太平洋国際間ファレンス (ASIA-PACIFIC CONFERENCE in FUKUOKA 2013)」, International Symposium on Oral Education and Research at Kitakyushu, 九州歯科大学 (北九州) , 2013 年 1 月 26 日. (招待講演) Development of electrochemical telomerase assay aiming at a cancer diagnosis, Shigeori Takenaka.
- (29) European Materials Research Society, E-MRS Symposium Spring 15V “Bioinspired and Biointegrated Materials as Frontiers Nanomaterials V Spring Meeting 2015, 5 月 11-15 日, Lille Grand Palais - France. (Invited) Potassium sensing oligonucleotide as a fluorometric imaging reagent for an intracellular and extracellular potassium ion, Shigeori Takenaka
- (30) The 3rd China-Japan Symposium on Nanomedicine, 北京, 中国, 6 月 19-20 日. (Invited) Ferrocenylnaphthalene diimide derivative is a suitable probe of specific DNA structure, Shigeori Takenaka
- (31) IUPAC-2015, 韓国釜山 BEXCO (Busan Exhibition & Convention Center), 2015 年 8 月 6-13 日. (invited) Ferrocenylnaphthalene diimide as an excellent electrochemical probe for DNA, Shigeori Takenaka
- (32) Mini-symposium on current electrochemistry, 韓国釜山大学校, 2015 年 8 月 12 日. (invited) Electrochemical DNA detection under homogenous system, Shigeori Takenaka

- (33) Electroanalytical Chemistry today and where to go, 韓国ソウル大学校, 2015 年 8 月 14 日.(invited)Ferrocenyl oligonucleotide- or peptide-immobilized electrode is suitable for electrochemical detection of nuclease or protease activity, Shigeori Takenaka
- (34) 2015 環太平洋国際化学会議(PACIFICHEM 2015),Honolulu, Hawaii, USA, 2015 年 12 月 15-20 日.(Invited)Ferrocenylnaphthalene diimide derivatives as a novel tetraplex DNA ligand, Shigeori Takenaka
- (35) BIT2016 and Kyutech-NYMU Joint Symposium for Biomedical Informatics & Biotechnology, 台湾 陽明大学, 3 月 3-4 日.(Invited)A Novel Tetraplex DNA Ligand: Ferrocenylnaphthalene Diimide Derivatives, Shigeori Takenaka
- (36) European Materials Research Society, E-MRS Symposium 2016 Fall “Bioinspired and Biointegrated Materials as Frontiers Nanomaterials V, 9 月 19-22 日, Warsaw University of Technology (Poland).(Invited)G-rich Oligonucleotide derivatives to monitor potassium ion in living cell, Shigeori Takenaka
- (37) 3rd SPIE’s International Conference on Nano-Bio Sensing, Imaging & Spectroscopy (SPIE-NBSIS 2017), 韓国濟州島, 2 月 22-24 日.(Invited)Modified naphthalene diimide as a suitable tetraplex DNA ligand: Application to cancer diagnosis and anti-cancer drug, Shigeori Takenaka
- (38) DNA Nanotechnology and Smart Sensors, 香港 (HKUST) , 2017 年 3 月 19-23 日.(Invited) Ferrocenylnaphthalene diimide as novel tetraplex DNA ligand: Application to cancer diagnosis and cancer therapy, Shigeori Takenaka
- (39) European Materials Research Society (E-MRS) 2017 Spring Meeting, Strasbourg (France), 2017 年 5 月 22-26 日.(Invited)Modified naphthalene diimide as a suitable tetraplex DNA ligand: Application to cancer diagnosis and anti-cancer drug, Shigeori Takenaka
- (40) Asian 3 Roundtable on Nucleic Acids (A3RONA2017),中国 西安, 2017 年 9 月 15-17 日.(invited)G-rich Oligonucleotide derivatives to monitor potassium ion in living cell, Shigeori Takenaka
- (41) Advances in Noncanonical Nucleic Acids (ANNA2017), Vila Bled, Slovenia, 2017 年 10 月 26-28 日. (invited)Naphthalene diimide derivatives as novel tetraplex DNA ligand, Shigeori Takenaka
- (42) 2018 CICS International Symposium on Inorganic Nanostructures and Nanohybrids, 2018 年 1 月 29-31 日.(Invited)Analytical application of DNA nanostructure bound to naphthalene diimide carrying ferrocene or another functional molecule, Shigeori Takenaka.
- (43) 201824th IUBMB Congress, COEX, Seoul, Korea, 6 月 4-8 日(Invited) Electrochemical detection of pathogen using ferrocenylnaphthalene diimide, Shigeori Takenaka.
- (44) BK21+ Symposium on Sensors and Electrochemistry, Pusan National University, 2018 年 7 月 5 日.(Invited)Application of Naphthalene diimide in a specific DNA detection, Shigeori Takenaka
- (45) E-MRS 2018 Fall, Warsaw University of Technology, 2018 年 9 月 17-19 日.(Invited)Cyclic naphthalene diimide to visualize tetraplex structure in a living cell, Shigeori Takenaka
- (46) Advances in Noncanonical Nucleic Acids ANNA 2018, Portoro, Slovenia, 2018 年 10 月 25 日-27 日.(Invited) Detection by DNA tetraplex and detection of DNA tetraplex in a living cell, Shigeori Takenaka

- (47) Workshop on Biomolecular Electronics & Organic Nanotechnology for Environment Preservation, IJWBME-2018, CSIR-National Physical Laboratory, New Delhi, 2018年12月6日-10日 (Invited) Naphthalene diimide derivatives as a suitable tetraplex DNA ligand: Application to anti-cancer drug, Shigeori Takenaka
- (48) 南京大学講演, May 27, 2019. (招待講演) Cyclic naphthalene diimide to visualize tetraplex structure in a living cell, Shigeori Takenaka
- (49) Advances in Noncanonical Nucleic Acids ANNA 2019, October 17-19, 2019, Rogaska Slatina, Slovenia, (invited) Cyclic naphthalene diimide dimer to recognize guanine-quadruplex cluster, Shigeori Takenaka
- (50) IUMRS-ICA2020, Online conference at Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand, 2021年2月23-26日. [Invited Speaker] Electrochemical cancer diagnosis based on telomerase activity, Shigeori Takenaka
- (51) 8th 日中ナノメディシン交流, オンライン開催, 2021年6月11-13日. (Invited) Fluorometric sodium ion detection based on guanine-quartet DNA, Shigeori Takenaka
- (52) EMRS Spring Meeting 2021, 2021年5月31-6月4日. (Invited) Development of fluorometric reagent for detection of sodium ion in living cell, Shigeori Takenaka
- (53) 14th International Symposium on Nanomedicine, オンライン開催, 2021年11月17-19日. (Special Lecture) 「G-quadruplex binding of cyclic naphthalene diimide and their inhibition ability in cancer cell growth」 Shinobu Sato, Hikaru Fukida, Hiroshi Takeuchi, Shigeori Takenaka.
- (54) India-Japan Workshop on Biomolecular Electronics and Organic Nanotechnology for Environment Preservation (IJWBME 2020), ハイブリッド開催 (VBL Venture Hall, Nagoya University, Nagoya, Japan), 2021年12月5-8日. (Invited) Development of an electrochemical miRNA detection method using HCR, Shigeori Takenaka, Shinobu Sato, and Takumi Nakahara.
- (55) FIBER International Summit for Nucleic Acids 2022, 甲南大学, 2022年7月13-15日.
「Electrochemical detection of G-quartet RNA for SARS-CoV-2」 Shigeori Takenaka.
- (56) The 1st Technical Colloquium, The new advance of biomedical technique during corona pandemic, Chung-Ang University, Korea, 2023年1月25-26日
(invited) Electrochemical diagnosis and virus using naphthalene diimide, Shigeori Takenaka.
- (57) Advances in Noncanonical Nucleic Acids ANNA 2023, October 18-20, 2022, Maribor, Slovenia, (invited) Cyclic anthraquinone derivatives as novel G-quadruplex binder, Shigeori Takenaka
- (58) The 1st Technical Colloquium, The new advance of biomedical technique during corona pandemic, Chung-Ang University, Seoul, Korea, 2023年1月25日
(invited) Electrochemical diagnostics of cancer and viruses using naphthalene diimide, Shigeori Takenaka
- (59) FIBER International Summit for Nucleic Acids 2023 (FISNA 2023) 甲南大学ポートアイランドキャンパス 2023年7月18-20日
(invited) Cyclic bis-naphthalene diimides (cbNDI) for cleft identification of G4 clusters, Shigeori Takenaka
- (60) Advances in Noncanonical Nucleic Acids (ANNA2023) (invited) Maribor, Slovenia 10月18-21日
Novel G-quadruplex binders as cyclic anthraquinone derivatives, Shigeori Takenaka
- (61) FISNA (FIBER International Summit for Nucleic Acids), Kobe Portopia Hotel 2024年2月28日-3月2日
(invited) Functionalized naphthalene diimide chemistry in bioanalytical field, Shigeori Takenaka

(62) ANNA2024, ソルベニア 2024 年 10 月 24-26 日

(invited) naphthalene diimide carrying β -Cyclodextrin as novel G-quadruplex bind, Shigeori Takenaka

(63) To B or Not to B symposium 2025 2025 年 23 月 4 日-3 月 6 日 Hotel Crown Palais Kokura

(invited) Functionalized naphthalene diimide for diagnostic probe and potential anticancer drug, Shigeori Takenaka

5. 報道関係

1. 学術記事

1. May 25, 1998 C&EN 47

候補者が開発した FND が紹介された。

Instant DNA Detection

Systems based on electrical signals move from science fiction to reality

Elizabeth K. Wilson
C&EN West Coast News Bureau

In last year's sci-fi movie "Gattaca," the protagonist, attempting to conceal the fact that he's assumed the identity of a genetically "superior" man, scribbles himself daily to rid his body of loose hairs, skin flakes, and anything that might leave his true identity through his DNA.

His paranoia is understandable: In the "Gattaca" future, vigilant police and employers carry handheld sensors that instantaneously analyze the DNA in strips of hair, drops of blood, or urine in order to expose the genetically "inferior." Parents receive their newborn babies' entire genetic profiles in a few minutes.

Actually, modern-day science is not far behind this technological scenario, though it involves more humanitarian applications: detecting diseases, monitoring air for biological warfare agents, or checking food-processing plants for bacterial contamination.

Currently, extremely accurate tests for DNA sequences are based on fluorescence signals. The polymerase chain reaction (PCR) multiplies minuscule amounts of DNA into readable quantities. Although these techniques are extremely sensitive and quantitative, they require time, sample preparation, and expensive equipment.

And the systems generally aren't portable. But a number of research groups around the world are now closing in on the technology needed to develop a device that a doctor can use during an office visit or in the field to obtain results within minutes. The key to this technology is electricity.

When a single DNA strand encounters its complementary partner in a sample, it will hybridize. This hybridization can be detected by changes in an electrochemical signal—voltage or current, for example—usually through a redox-active or conducting molecule that behaves differently in the presence of a DNA hybrid than it does in the presence of a single strand.

"If there's a possibility of detecting hybridization in a rapid way using electrical signals instead of fluorescence, that's a tremendous advantage," says David L. Burkner, vice president of research and



Prototype handheld DNA sensor developed by CMS.

new wave of technology is Pasadena, Calif.-based Clinical Micro Sensors (CMS), which unveiled a prototype handheld DNA sensor at the Council on Competitiveness' National Innovation Summit, held at Massachusetts Institute of Technology in Massachusetts.

CMS was founded by Thomas J. Meade, a chemist at California Institute of Technology, and Jon Fair Kayser, president of CMS and Meade's former postdoctoral researcher. Meade's lab pioneered research on the fact that double-stranded DNA conducts electricity more efficiently than single-stranded DNA does. CMS is now aggressively pursuing commercialization of the system, tackling the hurdles in this area such as cost, size, and marketing. It is now in pilot production of its handheld DNA sensor.

"Currently, industry can deliver accurate DNA diagnostics for DNA diagnostics, conventional DNA diagnostics, and, occasionally, by low-cost DNA diagnostics. What it cannot do is combine these attributes into a fast, accurate, convenient, low-cost assay," Kayser says. "That's where many of us believe businesses will help."

New Mexico State University chemistry professor Joseph Wang, whose lab specializes in sensor research, has also developed a handheld sensor for detecting lead in blood, which he says can eventually be modified to detect DNA.

Garnier's lab, as well as those of Susan B. Mikkelsen, associate chemistry professor at the University of Waterloo in Ontario, **Shigeo Tabatake**, head of the molecular systems group at Kyushu University, Fukuoka, Japan, and Peter Bäuerle, chemistry professor at the University of Ulm, Germany, are also publishing over more ingenious DNA sensor chemistry, filing patents, and working with medical diagnostics companies.

An electrochemical technique is inherently one that involves surfaces. In all the systems, DNA is bound to—immobilized—on a solid electrode. For example,

Mikkelsen uses carbon-based material as an electrode because it's easy to generate functional groups on its surface. She then covalently binds single strands of DNA, using as "probes," to the electrode surface.

When a target DNA strand, containing DNA strands, known as "targets," is added, if the targets are complementary to the probes, they hybridize to form a double strand.

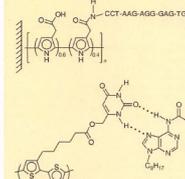
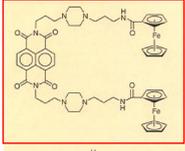
Then she adds a redox-active molecule, which binds preferentially to double-stranded DNA. A higher concentration of complexes migrates to the area surrounding the hybridized DNA, which generates a current that's proportional to the local concentration of the complex.

"Each lab has a different approach to a DNA label or electrode design, but the basic principle is similar, and all are trying to address the biggest chemical issues: selectivity and sensitivity."

"When you do a test where the answer

science/technology

Different molecules help signal DNA hybridization



Threading intercalator (top) with ferrocene groups at each end inserts itself through DNA. The intercalator dissociates much more slowly in the presence of double-stranded DNA (Tabatake's approach). Polypyrroles, which are highly conductive in water, are functionalized with oligonucleotides (center). They show decreased current intensity when the oligonucleotide hybridizes (Garnier's approach). Conducting polypyrroles functionalized with a single nucleoside (bottom) bind with the complementary nucleoside and produce a change in conductivity (Bäuerle's approach).

is yes or no, then you have to be very careful about false positives and negatives," says Mikkelsen. All sources of interference—that is, when a DNA strand matches with something other than its intended partner—need to be eliminated.

Parameters such as temperature can affect selectivity. For instance, some DNA strands could hybridize with a mismatched strand, but they're much less stable than a strand where all the base pairs are matched. It's important to find a temperature that makes it difficult for mismatched strands to stay paired.

The detection limits of many electronic methods are currently hovering around the femtomole level—and CMS can now detect at the attomole level—but researchers are trying to lower that. "Attomole detection is acceptable for many applications, but we'd like to get down to 100 molecules to better compete with PCR," Kayser says. Labs are also looking at ways to amplify the tiny electrical signals generated by each molecule.

Researchers use many different approaches to design a DNA sensor system. In many systems, an electroactive group that facilitates electron transfer—such as cobalt or a ferrocene complex—is attached to a molecule that preferentially binds to duplex DNA. These molecules can include intercalators, which slip between base pairs of DNA, or molecules that bind to the minor groove of DNA.

Tabatake is in collaboration with chemistry professor William David Wilson at Georgia State University, Atlanta, has developed a "threading" oophthalene diamine intercalator that actually slides through a space between DNA base pairs and out the other side. This property is useful because typical intercalators pop off, or dissociate, from a DNA strand very quickly and easily, which can make it difficult to make measurements. **Tabatake's** intercalator, with two bulky ferrocene

groups at each end, dissociates from double-stranded DNA much more slowly and yields greater sensitivity.

Some labs are functionalizing conducting molecules with DNA. For years, Garnier's lab has studied conducting polymers with the goal of designing "intelligent materials" that sense chemicals such as enzymes and antigens or physical quantities such as photons or electric fields.

In a recent study, he grafted a 15-base oligonucleotide onto a polypyrrole, which in addition to being conductive, also shows a high degree of electroactivity in water. He found that hybridization of the oligonucleotide caused a decrease in current intensity, which he attributes to conformational changes along the polymer backbone [*J. Am. Chem. Soc.*, 119, 7588 (1997)]. The sensitivity of their system is now 10^{11} M. Garnier is working on improving sensitivity to 10^{14} M. A French biomedical company is developing prototype devices based on Garnier's results, which "in terms of sensitivity, appear even more promising than expected."

Bäuerle and graduate students Andreas Enge and Alexander Meyer, who had seen changes in electrical signals when crown ethers attached to a polypyrrole were complexed with alkali ions, first studied the effect of single nucleoside-functionalized polypyrroles (Adv. Mat., 8, 534 (1996)). They are now developing polypyrroles that are more electroactive in water and plan to do experiments with 15-base DNA strands. "We are very optimistic to see pronounced changes in the electrochemical response of the modified polymer," Bäuerle tells C&EN.

Margaret Harding and Sally Lucas, of the Australian Membrane and Biotechnology Research Institute (AMBR) at the University of Sydney in Australia, have patented a lipid membrane biosensor in



Wang: new concepts to enhance selectivity and sensitivity. Right: Wang's handheld sensor for detecting lead in blood.



Meade (left), Kayser cofounded CMS to develop DNA sensors.

They she adds a re-

dox-active "label," in this case a cobalt-porphyrine complex, that binds preferentially to double-stranded DNA. A higher concentration of complexes migrates to the area surrounding the hybridized DNA, which generates a current that's proportional to the local concentration of the complex.

"Each lab has a different approach to a DNA label or electrode design, but the basic principle is similar, and all are trying to address the biggest chemical issues: selectivity and sensitivity."

"When you do a test where the answer

2. 新聞記事

1) 日刊工業新聞 1993年6月25日

高感度でDNA定量 九大と九工大 測定時間も短縮

2) New Technology Japan 1995年7月

High-Sensitivity Quantitative Gene Diagnosis Technique

3) 日刊工業新聞 1995年5月23日

高感度で遺伝子検出 遺伝病やがん診断に威力

4) The Medical & Test Journal 平成8年6月3日

DNAプローブ法、電極型センサに適用 高感度に遺伝子を測定

5) 日刊工業新聞 2002年10月24日

遺伝子の変異 多種同時解析 次世代DNAチップと装置開発

6) 日経産業新聞 1998年9月3日

DNAを極細の配線に 微小な電子回路に有効

7) 日本経済新聞 1999年12月30日

がん体質判別 より正確に 性能1000倍のDNAチップ

8) 日本経済新聞 2000年11月20日

ITとバイオが融合 DNAチップが舞台

9) 日本経済新聞 2001年1月5日

再利用できる DNA チップ 遺伝子検査安く

10) 科学新聞 The Science News 2001年2月2日

新型 DNA チップ

11) 読売新聞 2001年1月18日

新型 DNA チップ開発 千葉市の企業など より微量で検査可能に

12) 西日本新聞 2002年12月17日

九大教官の兼業承認 ベンチャー2社に3人 DNA チップ販売の TUM ジーンの役員

13) 日刊工業新聞 2005年9月22日

BSE 診断 簡便・迅速に 電気化学検出法 高感度のチップ開発

14) 日刊工業新聞 2004年10月8日

BSE 判定1秒 簡易診断チップ

15) 日本経済新聞 1998年7月27日

異常遺伝子 素早く検出 九大、従来の30倍の速度に

16) 日刊工業新聞 2004年9月21日

DNA を電気化学検出 バイオ分析化学の大学発ベンチャー

17) 日経産業新聞 2009年5月14日

短時間で高精度検出 九州工大が簡易識別法 早期診断に活用

18) 西日本新聞 2009年9月30日

細胞内テロメラーゼ活性検出でがんの早期発見手法を開発

19) 読売新聞 2013年1月9日

口腔がん、酵素で診断 九工大と九歯大、手法開発

20) 日刊工業新聞 2022年7月13日

九州工大が PCR 検査技術 熱サイクル回数減、12分で分析

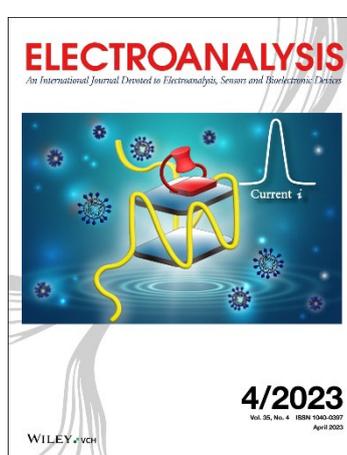
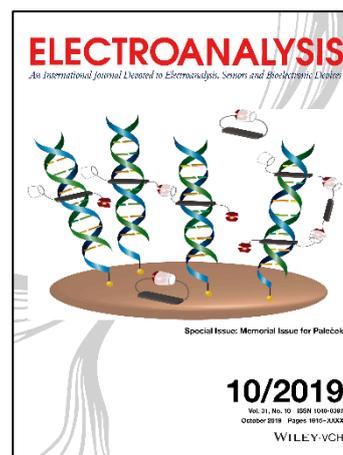
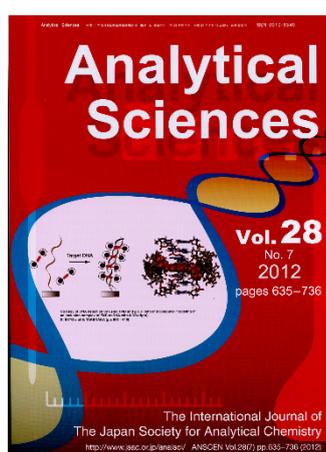
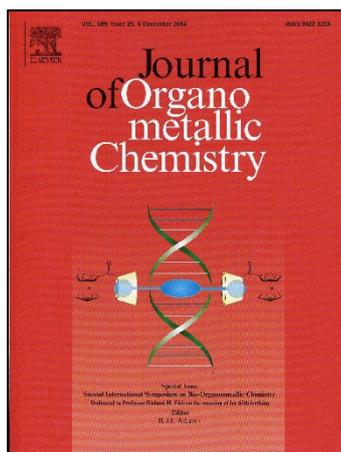
口腔がん、酵素で診断

九工大と九歯大、手法開発

九州工業大(北九州市戸畑区)と九州歯科大(同市小倉北区)は8日、がん細胞から生成される酵素を使って、30分程度で口腔がんを診断する手法を開発した、と発表した。臨床実験では8割以上の高い正確率が確認された。すでに特許

取得し、今後は前立腺がんや肺がんなどの臨床実験も行う。九州工業大の竹中憲雄教授(バイオ分析化学)によるがん細胞で生成される酵素「テロメラーゼ」に着目。人工のDNAに、口腔内の粘膜の組織を溶かした溶液と電気を通すために開発した試薬を加えたものに、診断装置で電圧をかけ、通電量が一定基準以上になれば、テロメラーゼが生成されていることを確認できるという。昨年九州歯科大を受診する口腔がん患者を対象に臨床実験を行ったところ、80%以上が陽性反応を示した。テロメラーゼは注目されてきたが、不安定で扱いが難しいうえ、従来の手法は複雑な手順が必要で、実用化には至っていない。今回の手法は精度が高く、実用化できるレベルという。米医学誌「グリニカル・ケミストリー」1月号に掲載された。がんの診断は、がん細胞に破壊された細胞のたんぱく質を診断の目印(腫瘍マーカー)として、血液を分析する手法が一般的だが、早期のがんでは陽性反応が出にくいという。竹中教授はこの酵素は初期のがん細胞でも存在するので、早期の段階でもがんを診断できる」と話している。今後、産業医科大(同市若松区)と連携し、尿やたんの用いて前立腺がん、肺がんの臨床も行うという。

3. 雑誌の表紙に採択された論文



6. 学会主催

- 1) 2008.5.23-24 The first Japan-Korea joint symposium on Bio-microsensing Technology (1st JKBT)
- 2) 2009.1.9 歯工学連携キックオフシンポジウム・歯工学連携の目指す生活の質(QOL)の向上
- 3) 2009.11.13 The Second Japan-Korea joint symposium on Bio-microsensing Technology (2nd JKBT)
- 4) 2010.12.3 The Third Japan-Korea joint symposium on Bio-microsensing Technology (3rd JKBT)
- 5) 2011.10.28 The Fourth Japan-Korea joint symposium on Bio-microsensing Technology (4th JKBT)
- 6) 2011.11.12 九州工業大学と九州歯科大学における歯工学連携事業 発足3周年記念市民公開講座「歯科と工学の連携で健康な未来作り」
- 7) 2012.10.26 The Fifth Japan-Korea joint symposium on Bio-microsensing Technology (5th JKBT)- Future Technology in Medical & Dental Area-
- 8) 2013.11.7-9 ISNM 2013 - 7th International Symposium on Nanomedicine, Kitakyushu, November 2013
- 9) 2013.11.9 The Sixth Japan-Korea joint symposium on Bio-microsensing Technology (6th JKBT) as Japan-Korea Special Session for Bionano-sensing Technology in 7th ISNM
- 10) 2014.11.5-7 第41回国際核酸化学シンポジウム(ISNAC 2014 The 41th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2014)
- 11) 2014.11.5-7 The Seventh Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology-Japan (7th JKBT)-Korea Special Session for DNA sensor & the related technologies in 41st ISNAC 2014-
- 12) 2015.6.11-12 First Asian Symposium on Chemistry-based Biotechnology (1st ASCBC) in Kitakyushu as joint bid with the Eighth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology (8th JKBT)
- 13) 2016.6.14-16 ナノ学会第14回大会
- 14) 2016.6.16 Asian Workshop of Cutting Edge in Nano Technology in the 14th Annual Meeting of the Society of Nano Science and Technology as joint bid with the Nineth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology (9th JKBT)
- 15) 2016.7.2 第53回化学関連支部合同九州大会
- 16) 2016.11.18 分析化学会九州支部60周年事業
- 17) 2017.11.19-21 The Tenth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology 10th Anniversary memorial Symposium (10th JKBT)
- 18) 2018.11.11-13 The 1st Asian workshop on Electrochemical Biosensor, The Eleventh Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology, On the occasion of retirement of Professor Yoon-Bo Shim of Busan National University, RCBT today and where to go (11th JKBT)
- 19) 2019.5.18-19 第79回分析化学討論会
- 20) 2019.5.18-19 The 2nd Asian Symposium on Cutting-edge Biotechnology and Chemistry (2nd ASCBC), The Twelfth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology, On the occasion of the 60th birthday of Professor Shigeori Takenaka of Kyushu Institute of Technology (12th JKBT)
- 21) 2021.1.20 13th JKBT:Asian Workshop against Coronavirus Disease
- 22) 2021.12.9-10 The 2nd Japan and Korea joint meeting on research development of chemistry, The Fourteenth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology (14th JKBT)
- 23) 2022.12.12 Mini-Symposium on Molecular Tools for Understanding Intercellular Reactions, The

Fifteenth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology (15th JKBT)

24) 2022.3.6 The Sixteenth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology (16th JKBT)

25) 2024.1.9 Workshop on Understanding and applying Life, The Seventeenth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology (17th JKBT)

26) 2025.3.20 Next-generation biotechnology in an era of dramatic change, The Eighteenth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology (18th JKBT)

卒業論文・修士論文・博士論文
タイトル集

【九工大情報工学部】

1993

- 修士論文 板倉 孝充 アントラキノン誘導体と DNA との相互作用における置換基の効果
修士論文 西側 秀一 新規な直線状トリスインターカレータの合成と DNA 結合挙動
卒業論文 荒木 僚治 DNA 2 本鎖形成を利用した自己組織的ネットワーク構築法の開発
卒業論文 重本 尚範 新規機能性インターカレータの合成
卒業論文 宿利 佳輝 Kainate 受容体の特異的アンタゴニスト KMB (Kainate and Metabotropic receptor Blocker) の構造決定とその合成化学的研究
卒業論文 西 政明 自己組織化集合の配列を制御できる分子の合成
卒業論文 藤永 郁子 Zn フィンガー型 DNA 結合タンパク質の DNA 制限酵素への改変

1994

- 修士論文 宇都 義治 電気化学検出プローブを用いた HPLC-ECD による遺伝子検出法
卒業論文 金子 史恵 Zn フィンガー型 DNA 結合タンパク質の人工制限酵素への改変
卒業論文 船津 洋介 オリゴヌクレオチドを利用した三次元的ネットワークの構築
卒業論文 横山 誠 縫い込み型インターカレータの DNA 結合挙動

1995

- 修士論文 重本 尚範 電荷分離能を有する DNA 結合性分子の合成と応用
修士論文 西 政明 インターカレータと DNA との相互作用におけるインターカレータ置換基の効果
卒業論文 真部 美保 1 本鎖 RNA に結合する薬物の開発
卒業論文 斎田 秀樹 新規縫込み型インターカレータの合成と DNA センサへの応用

1996

- 修士論文 船津 洋介 オリゴヌクレオチドを用いた三次元的ネットワークの構築
修士論文 横山 誠 DNA 特殊構造の認識・分析を目指した機能化ぬいこみ型インターカレータの開発
卒業論文 東城 英寿 ナフタルイミドの DNA 結合能における置換基効果

1997

- 博士論文 宇都 義治 Electrochemical Analysis of Nucleic Acids with a Ferrocenylated Oligonucleotide or Intercalator

【九大 高木研】

1987

修士論文 大森 潔 ヌクレオチド鎖の HPLC による分離・分析

1988

修士論文 塚田 和也 分子の形状を認識する溶媒抽出系の研究

卒業論文 小倉 誠 DNA のケイ光プローブの合成と応用

卒業論文 青柳 祐介 インターカレータ型化合物を用いる DNA フラグメントの特異的検出

卒業論文 野村浩一郎 新しいシュウ酸誘導体の合成とその発光 試薬としての応用

1989

博士論文 道津 邦彦 核酸フラグメントの配列認識

修士論文 濱野 勝 新しい DNA インターカレータの DNA との相互作用

1990

卒業論文 岩政 健司 オリゴヌクレオチドの末端化学修飾とその応用

卒業論文 中島 春喜 新規な DNA 結合能を有するトリス・インターカレータの研究

1991

博士論文 福田 竜司 インターカレータと核酸、金属イオンの相互作用に関する研究

卒業論文 佐藤 弘隆 酸化還元活性な官能基を持つ新規 DNA ラベル化剤の合成と性質

卒業論文 大森 一弘 クラウンエーテル型インターカレータと DNA 相互作用及び
デオキシリボヌクレオシドモノリン酸の加水分解反応

1992

修士論文 岩政 健司 DNA 結合性人工タンパク質による遺伝情報の制御

1993

博士論文 井原 敏博 新規な機能をもつ核酸結合性小分子の研究

修士論文 佐藤 弘隆 合成ペプチドを用いた新規 DNA 結合性薬物の設計と応用

修士論文 大森 一弘 DNA インターカレータの機能化

1997

卒業論文 横山 英明 ナフタレンジイミド構造を含む新規水溶性マクロライドインターカレータ
の合成と応用

卒業論文 岡井 秀人 特殊核酸構造を認識して結合する分子の合成

- 卒業論文 竹内 裕貴 エチレングリコール鎖を有するナフタレンジイミド型インターカレーター
の合成と DNA との相互作用
- 卒業論文 烏星 良治 DNA の認識能を利用したナノ構造体配列制御

1998

- 修士論文 熊崎 敦 糖鎖を有する DNA 配位子の合成と DNA との相互作用
- 卒業論文 清水 康彰 フェロセン部を有する新規ナフタレンジイミド型 DNA インターカレータ
の合成
- 卒業論文 上山 博幸 ペプチド鎖を有するインターカレータと DNA の相互作用
- 卒業論文 烏星 良治 DNA の認識能を利用したナノ構造体配列制御

1999

- 修士論文 横山 英明 大環状ポリ四級アンモニウムイオン型インターカレータの合成
- 修士論文 岡井 秀人 DNA 及び金属イオンと同時に錯形成する配位子の合成研究
-1,10-フェナントロリン骨格を持つ複素環化合物を中心として-
- 卒業論文 市原 輝久 剛性リンカーを持つビスインターカレーターと DNA との結合様式
- 卒業論文 高木 宣弘 シス・トランス異性化可能な剛性ポリインターカレーターと DNA との
相互作用
- 卒業論文 山本 竜広 アミノ基修飾オリゴヌクレオチドの二次化学修飾
- 卒業論文 後藤 朋子 糖鎖を有する DNA 配位子の合成

2000

- 修士論文 上山 博幸 アクリジン及びフェロセンを標識に用いた核酸-ペプチド相互作用の
検出・評価法
- 修士論文 大場 光芳 ベンゾチアゾール誘導体の合成と DNA との相互作用に関する研究
- 修士論文 佐藤 匡生 光異性化部位を有する拡張ビオローゲン型化合物と DNA の相互作用
- 修士論文 朴 連春 核酸インターカレータ部位及び電気化学活性部位を併せ持つ大環状
リガンドの合成と性質
- 修士論文 山下 健一 電気化学的手法による次世代型遺伝子分析法
- 卒業論文 佐藤しのぶ フェロセン化ナフタレンジイミド誘導体の合成と核酸相互作用による
速度論解析
- 卒業論文 柴田 文 金属に配位する DNA インターカレータの合成に関する研究
- 卒業論文 竹森 大地 フェロセンとナフタレンジイミドを有する環状化合物の合成
- 卒業論文 谷村 優太 フェロセンとアントラキノン環からなる環状化合物の合成
- 卒業論文 高宮 裕樹 四級アンモニウムイオン縫い込み型インターカレータの合成
- 卒業論文 矢ヶ部 徹 両置換基にビオチンを有するナフタレンジイミドの合成
- 卒業論文 和田 宏之 電気化学的手法によるペプチド-小分子の相互作用の解析システムの開発

2001

- 博士論文 熊崎 敦 糖鎖を有するアントラキノン系 DNA 配位子の合成と機能評価
修士論文 市原 輝久 蛍光基をもつナフタレンジイミド誘導体の合成と DNA との相互作用
修士論文 高木 宣弘 光異性化能をもつ DNA 配位子の合成と結合様式
卒業論文 別府 剛治 両置換基末端に SH を有する縫い込み型インターカレーターの合成及び DNA との相互作用
卒業論文 玉利 里奈 スピンプローブを両置換基末端に有するナフタレンジイミドの合成と ESR による高次構造解析
卒業論文 浜満 健志 両置換基末端に蛍光色素を有するナフタレンジイミドの合成と二本鎖 DNA の蛍光検出

2002

- 修士論文 佐藤しのぶ β -シクロデキストリン-フェロセン化ナフタレンジイミド-DNA 二重らせんによる超分子三元錯体の構築
修士論文 柴田 文 個体基盤上での DNA-インターカレタ間光電子移動反応を用いた遺伝子検出
修士論文 竹森 大地 新規大環状化合物の合成と DNA との相互作用
修士論文 谷村 優太 糖鎖を有するインターカレータの DNA 結合能の評価
修士論文 矢ヶ部 徹 両末端にビオチンを有する縫い込み型インターカレータの合成と DNA との相互作用
修士論文 高宮 裕樹 固定正電荷を有する新規縫い込み型インターカレータの合成と DNA との相互作用
修士論文 和田 宏之 ペプチド修飾電極を用いたペプチド-DNA 及びペプチド-ペプチド間相互作用の電気化学的検出
卒業論文 高城 義幸 光電変換部位を有する縫込み型インターカレータの合成
卒業論文 福田 忍 長寿命蛍光色素を導入した二本鎖特異的染色剤の開発と DNA マイクロアレイへの応用
卒業論文 榊原 裕 蛍光色素を有するインターカレータの合成と DNA 分析への応用
卒業論文 上村 恵子 ペプチド-タンパク質相互作用の高感度検出システムの開発

2003

- 博士論文 山下 健一 電気化学活性なインターカレータによる遺伝子の高感度検出
博士論文 上山 博幸 ペプチド及び核酸を基本骨格とした新規蛍光性生体プローブの構築
修士論文 椋本 晃介 DNA ハイブリダイゼーション試薬としての新しいフェロセン誘導体の合成と性質
修士論文 別府 剛治 硫黄官能基を有する縫込み型 DNA インターカレータの合成と性質
修士論文 玉利 里奈 ミスマッチ DNA 鎖のハイブリダイゼーションとインターカレータの挙動

修士論文 藤井 聡 分子動力学によるオリゴ核酸の構造観察

2004

修士論文 高城 義幸 ルテニウム錯体部位を有するナフタレンジイミドの光電変換機能を利用した遺伝子検出

修士論文 榊原 裕 ポリアクリジンオレンジ誘導体の合成と二本鎖 DNA 検出試薬への応用

修士論文 上村 恵子 ペプチド-オリゴヌクレオチドコンジュゲートの分析化学的応用

修士論文 梶木 亮 ペプチドアレイに向けたジスルフィド結合を有するペプチドの固定化方法

卒業論文 三角 優子 フェロセン化ナフタレンジイミド(FND)誘導体の DNA センシング試薬としての性能評価

卒業論文 原口 辰介 金と硫黄の結合を利用した新規 DNA センサーの開発

卒業論文 藤本亜弥子 シアノ基を有するペプチドプローブの合成と FT-IR 検出

2005

博士論文 佐藤しのぶ 新規ナフタレンジイミド誘導体を利用した電気化学的遺伝子検出法

博士論文 大塚 圭一 自己組織化膜を利用したプロテインチップの構築と赤外分光法による蛋白質間相互作用検出

博士論文 水城 圭司 蛍光性ペプチド型ポリインターカレータによる新規遺伝子検出法

修士論文 田畑 栄一 カルボジイミドによる DNA2 重らせん上のミスマッチ塩基のラベル化法

修士論文 谷本 幸介 二本鎖 DNA 特性を有する蛍光性インターカレータの合成と DNA との相互作用

修士論文 浅井 敏明 フェロセニル基を有するアントラキノン型インターカレータの合成と四本鎖 DNA との相互作用解析

修士論文 前田 祐希 Electrochemical hybridization assay 法を利用した遺伝子変異検出

修士論文 永松 豊史 フェロセニル基を有するビスナフタレンジイミドの合成と DNA との相互作用

2006

博士論文 椋本 晃介 新規カルボジイミド誘導体の合成とそれを利用した電気化学的遺伝子検出

博士論文 藤井 聡 分子動力学を用いた DNA 配列の構造特異性に関する研究

修士論文 長門石暁 四本鎖 DNA を利用した新規カリウムイオン蛍光検出試薬の開発

【九工大工学部竹中研】

2005

- 卒業論文 入江 竜也 電気化学的手法による DNA メチレーションチップの開発
卒業論文 牛草 宏太 フーリエ変換赤外分光法と多変量解析を組み合わせた細胞の分類
卒業論文 林田 裕久 ビスアクリジンオレンジ(BAO)の合成とテロメア DNA 蛍光検出法の開発
卒業論文 平野 明誉 DNA 修飾電極のエンジニアリングと遺伝子の高精度検出法の開発
卒業論文 藤田 克也 簡便かつ高感度なヌクレアーゼ活性アッセイ法の開発
卒業論文 前川 巖 DNA-ペプチド相互作用の合成化学的基礎検討
卒業論文 渡邊 貞佳 SNP(single nucleotide polymorphism)の簡易診断法の開発

2006

- 卒業論文 足立 彰紀 DNA の電気化学検出試薬としての新規 FND の合成と応用
卒業論文 小溝 紘平 ペンチニル基を有する新規縫込み型インターカレータの合成と生体分子測定への応用
卒業論文 佐藤 祐介 蛍光性二本鎖 DNA 検出試薬ビスアクリジンオレンジ(BAO)誘導体の合成と応用
卒業論文 杖田 昌人 DNA 電気化学ラベル化試薬としての新規フェロセン化カルボジイミドの合成と応用

2007

- 修士論文 入江 竜也 大腸癌診断を目指したメチル化DNAの電気化学的検出法の開発
修士論文 林田 裕久 蛍光ラベル化 G-rich DNA とカリウムイオンとの相互作用解析及びその応用
修士論文 平野 明誉 ジチオレン化ナフタレンジイミドを用いた二本鎖 DNA の金基板への固定化法に関する研究
修士論文 藤田 克也 ヌクレアーゼ活性の電気化学的検出法の開発
修士論文 前川 巖 フェロセン化ペプチドを利用したプロテアーゼ活性の電気化学的検出法の開発
修士論文 渡邊 貞佳 新規合成プローブを利用した遺伝子検出法の開発
修士論文 西 美穂 赤外分光法と多変量解析を組み合わせた非破壊細胞分析に関する研究
卒業論文 大塚 翔太 フェロセン化カルボジイミド(FCDI)の合成と電気化学的 RNase 検出への応用
卒業論文 北川 貴大 赤外プローブを有するナフタレンジイミドの合成と応用
卒業論文 田上 美代 電気化学的プロテアーゼ検出法の確立
卒業論文 羽田野 泰弘 ポリスチレンビーズを利用したバイオアッセイシステムの開発
卒業論文 藤川 良太 フェロセン化ペリレンジイミド(FPD)誘導体の合成とテロメア DNA との相互作用解析

2008

修士論文	小溝 紘平	糖鎖を有するナフタレンジイミドの合成と金属ナノワイヤーへの応用
修士論文	佐藤 祐介	蛍光性ペプチドプローブによる遺伝子及び生体内カリウムイオンの検出
修士論文	杖田 昌人	大腸癌関連メチル化遺伝子の電気化学的検出法の開発
卒業論文	大島 毅士	ポリエチレングリコール鎖を有するヘテロ多環式芳香族化合物の合成とナノダイヤとの相互作用
卒業論文	兼崎 祐介	FND-based hybridization assay(FHA)におけるセンサ電極の最適化に関する研究
卒業論文	西 佳貴	ゲル電気泳動法に代わりうる PCR 産物の電気化学的検出法
卒業論文	橋口 理恵	電気化学的プロテアーゼ検出法の確立
卒業論文	本田 聡志	Bis Acridine Orange(BAO)誘導体を利用した細胞内局所的 pH センサの開発
卒業論文	森次 晋介	ナフタレンジイミド誘導体と DNA との相互作用における精密解析

2009

修士論文	大塚 翔太	フェロセン化オリゴヌクレオチド固定化電極の構築と電気化学的 RNase 検出への応用
修士論文	田上 美代	フェロセン化ペプチド修飾電極を用いた電気化学的プロテアーゼ活性検出法の確立
修士論文	羽田野 泰弘	クリックケミストリーによるポリインターカレーターの合成と応用
修士論文	藤川 良太	フェロセン化ペリレンジイミド (F P D) と四本鎖 DNA との相互作用解析
卒業論文	池堂 英幸	ボトルアップナノ材料調製の為の還元糖修飾ナフタレンジイミドの合成と一本鎖・二本鎖 DNA との相互作用解析
卒業論文	久保田 真	ポリエチレングリコールを有する多環系ヘテロ芳香族化合物の合成と応用
卒業論文	古賀 太地	インターカレータ修飾自己組織化膜(SAM)による DNA の吸着・脱離制御
卒業論文	福田 圭介	フーリエ変換赤外分光器を用いた細胞の非破壊分類
卒業論文	福永 雄祐	DNA ラベル化試薬としての新規フェロセン化カルボジイミド (FCDI) の設計と合成
卒業論文	山村 浩介	両置換基末端にチオール基を有するナフタレンジイミドの合成と応用
卒業論文	幸 孝紘	フェロセン化ペプチドを用いた電気化学的ジンジパイン活性検出法の開発

2010

修士論文	大島 毅士	電気化学的手法を利用した歯周病関連酵素ジンジパイン検出
修士論文	兼崎 祐介	ゲノム DNA からのメチル化異常遺伝子の電気化学的検出法
修士論文	本田 聡志	Bis Acridine Orange(BAO)誘導体を利用した細胞内局所的 pH センサの開発 アクリジン誘導体を利用したバイオセンシング技術の開発
卒業論文	緒方 宏光	システインを有したナフタレンジイミドの溶液中での挙動

卒業論文	大澤 信介	カリウムイオンセンシング試薬として DNA-ペプチドコンジュゲートの構造最適化
卒業論文	大島 敏史	電気化学における DNA ラベル化試薬としての新規フェロセン化カルボジイミドの設計および合成
卒業論文	緒方 宏光	システインを有したナフタレンジイミドの溶液中での挙動
卒業論文	竹中 大豊	新規フェロセン化ナフタレンジイミド(FNF)の合成と電気化学的 DNA 検出の応用
卒業論文	田中 智基	TRC(Transcription-Reverse Transcription-Concerted)反応を利用した RNA の電気化学的検出方法の確立
卒業論文	長田 真一郎	歯周病菌関連酵素ジンジパイン検出のための基質ペプチド固定化の検討
卒業論文	福瀧 修司	フェロセン化ヘアピンオリゴヌクレオチド固定化電極を利用したヌクレアーゼ活性検出

2011

修士論文	池堂 英幸	ナフタレンジイミド誘導体と二本鎖 DNA 複合体の分子レベルでの解析と機能材料への応用
修士論文	久保田 真	歯周病簡易検査へ向けた Human TNF- α の迅速かつ簡便な電気化学的イムノアッセイ法
修士論文	古賀 太地	インターカレータを利用したアプタマースクリーニング法の開発
修士論文	福田 圭介	フーリエ変換赤外分光法と 多変量解析を利用した歯周病診断の試み
修士論文	福永 雄祐	Dipicolylamin(Dpa)を両置換基末端に有するナフタレンジイミドと四本鎖 DNA との相互作用
修士論文	山村 浩介	置換基末端にチオール基を有するナフタレンジイミドを用いた新規 DNA 固定化法の開発
卒業論文	梅田 雄太	フェロセンと β -シクロデキストリンを有する新規ナフタレンジイミド(FNC2)の合成とその DNA 結合挙動
卒業論文	行徳 諭	フェロセン修飾オリゴヌクレオチドの固定化電極を利用した電気化学的イオンセンサの開発
卒業論文	佐伯 俊郎	核酸へのフェロセン化試薬を利用した歯周病原因菌 RNA の電気化学的検出法の開発
卒業論文	島本 隼平	電気化学的プロテアーゼアッセイ法の小型金電極チップへの応用
卒業論文	曾田浩二郎	生体内カリウムイオンイメージング試薬 PSO:Potassium Sensing Oligonucleotide の性能評価と細胞内外への導入
卒業論文	森谷 勇志	システインを有する新規 NDI の合成と DNA-NDI 複合体の金への吸着挙動解析

2012

- 修士論文 大澤 信介 DNA-ペプチドコンジュゲートプローブを用いた細胞表層でのカリウムイオンイメージング
- 修士論文 緒方 宏光 DNA鎖を束ねるインターカレータの開発
- 修士論文 竹中 大豊 ナフタレンジイミド誘導体を用いた新規電気化学的 DNA 検出法の開発と歯周病菌検出への応用
- 修士論文 田中 智基 フェロセン化ナフタレンジイミドを用いた異常メチル化 hTERT 遺伝子の電気化学的検出
- 修士論文 長田 真一郎 電気化学的プロテアーゼ検出法による歯周病原性菌プロテアーゼの検出
- 修士論文 福瀧 修司 アミノ酸側鎖を有する新規フェロセン化ナフタレンジイミドの合成と応用
- 修士論文 劉 茵茵 Interaction analysis of G-rich DNA with metal ions using electrochemical techniques
- 卒業論文 今市 悠貴 DNA-peptide conjugate 試薬を用いた生体内ナトリウムイオン蛍光イメージング試薬の開発
- 卒業論文 北原 圭祐 電気化学的プロテアーゼアッセイ法を用いた PSA 活性検出
- 卒業論文 竹田 雅裕 フーリエ変換赤外分光法と多変量解析による歯周病原菌の分類
- 卒業論文 西 佑希子 フェロセンと β -シクロデキストリンを有するナフタレンジイミド (FNC2) による電気化学的遺伝子検出
- 卒業論文 堀 裕紀 NDI-C 分子ホッチキスによる PCR 産物の電気化学検出
- 卒業論文 堀口 貴史 炎症性サイトカインの検出を指向した電気化学的 ELISA 法の開発

2013

- 修士論文 梅田 雄太 フェロセンと β -シクロデキストリンを修飾したナフタレンジイミド (FNC-C3)による DNA の形状変化
- 修士論文 佐伯 俊郎 小型電極チップを用いた電気化学的 hTERT 遺伝子の異常メチル化検出法の確立
- 修士論文 島本 隼平 電気化学的歯周病関連酵素 ジンジパインの活性検出
- 修士論文 曾田 浩二郎 シグナルシフト型カリウムイオン蛍光イメージング試薬 : PSO の開発
- 卒業論文 越野 優佳 DNA鎖を束ねる新規ナフタレンジイミド(NDI-CD1, NDI-CD2)の合成
- 卒業論文 坂元 直人 リン脂質を有する Potassium ion Sensing Oligonucleotide(PSO)の合成と細胞外への導入
- 卒業論文 竹中 文紀 Membrane-based microwave mediated electrochemical ELISA(MMeELISA)法によるインターロイキン-6(IL-6)の検出
- 卒業論文 中原 敏貴 Matrix metalloproteinase-8(MMP-8)の酵素活性検出を目指したフェロセニルアラニン修飾ペプチドの合成
- 卒業論文 矢川 紗織 均一溶液中での二本鎖 DNA の電気化学検出試薬としての β -シクロデキストリンを有するフェロセン化ナフタレンジイミドのリンカー長の効果

卒業論文 江崎 有吾 4 本鎖 DNA 特異的環状化合物 (cNDI)の新規合成と DNA との相互作用解析

2014

- 修士論文 堀 裕紀 電気化学テロメラーゼ活性検出(ECTA)の臨床応用
修士論文 今市 悠貴 シグナルシフト型の細胞内ナトリウムイオン蛍光イメージング試薬 : SSO の開発
修士論文 竹田 雅裕 歯周病における各種診断法の確率
卒業論文 梶間 篤人 四置換ナフタレンジイミドを用いた電気化学的テロメラーゼ活性検出
卒業論文 篠崎 慎吾 フェロセン修飾ペプチドを用いた前立腺特異抗原(PSA)の電気化学的検出
卒業論文 林田 康伸 フェロセン化ナフタレンジイミドを用いた miRNA 遺伝子検出によるがん診断法の開発
卒業論文 峰松 宏樹 キレート錯体リンカーを有する環状ナフタレンジイミドの合成と DNA 相互作用解析
卒業論文 吉岡 貫太郎 アジド糖の細胞導入と Potassium Sensing Oligonucleotide (PSO)の細胞表面への固定化

2015

- 修士論文 坂元 直人 Potassium Sensing Oligonucleotide (PSO)の膜タンパク質 Biotin 化法の適用と新規 PSO の配列検討
修士論文 竹中 文紀 4 本鎖 DNA 結合能を有する新規環状ペリレンジイミド (cPDI)の合成と DNA との相互作用解析
修士論文 中原 敏貴 歯周病菌関連酵素ジンジパインの電気化学的検出とフェロセン化基質ペプチドのリンカーの長さによる影響
修士論文 江崎 有吾 4 本鎖特異的環状ナフタレンジイミド誘導体の合成と DNA に対する相互作用解析
卒業論文 黒田 正雄 TBA 配列から派生するオリゴヌクレオチドの四本鎖構造の安定性評価
卒業論文 香田 祐輔 各種リガンドと DNA との相互作用解析
卒業論文 小島 あずさ ナフタレンジイミド誘導体 NDI-DM と各種 DNA の相互作用解析
卒業論文 坂本 龍太 異常メチル化シトシン検出のための電気化学的ハイブリダイゼーションアッセイの最適化
卒業論文 中島 生羽 電気化学的前立腺特異抗原 (PSA)検出法の開発
卒業論文 中山 彰 FND を用いた miRNA の電気化学的検出による肺癌診断法の確立
卒業論文 濱中 恒志 新規四置換型ナフタレンジイミド誘導体の合成と電気化学的テロメラーゼ検出への応用
卒業論文 開 健亮 DNA バンドル化試薬としてのナフタレンジイミド誘導体 (NDI-Ad2、NDI-β-CD2)の合成と DNA との相互作用解析
卒業論文 山口 稔郎 新規環状ナフタレンジイミド (cNDI-Pip-mBen)の合成と四本鎖 DNA との相互作用解析

2016

- 修士論文 梶間 篤人 多置換フェロセン化ナフタレンジイミドを用いた電気化学的テロメラーゼ活性検出
- 修士論文 篠崎 慎吾 環状フェロセン化ナフタレンジイミドを用いた電気化学的テロメラーゼ活性検出
- 修士論文 林田 康伸 FND を用いた miRNA 検出系の確立のための基礎研究
- 修士論文 峰松 宏樹 G-quadruplex 選択的化合物を目指した環状ナフタレンジイミド (cNDI) の開発
- 卒業論文 小野 瑞希 フェロセン化ナフタレンジイミド(FND)と DNA プローブ修飾電極を用いた miRNA 検出による前立腺がん診断法の開発
- 卒業論文 黒瀬 由唯 環状ペリレンジイミド (cPDI)の合成と各種 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 鮫島 志乃 新規環状ナフタレンジイミド誘導体 cNDI-NMe-mBen, cNDI-Pip-mBen と各種 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 椎葉 隆晴 フェロセン化基質ペプチドを用いた歯周病関連酵素ジンジパインの検出
- 卒業論文 新城 亜希菜 新規環状ナフタレンジイミド誘導体(cNDI-NMe-C₃, cNDI-NMe-C₃-diMe)と各種 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 杉野 竜成 新規インターカレータを用いた均一溶液中での DNaseI 活性検出
- 卒業論文 竹内 龍佑 リンカー部にオレフィン部を有する新規環状ナフタレンジイミドの合成と相互作用解析
- 卒業論文 田中 真沙美 ジメチルアミノメチレンフェロセン基を有するナフタレンジイミドを用いた電気化学的テロメラーゼ活性検出法への応用
- 卒業論文 吉松 滉祐 β-シクロデキストリンを有するフェロセン化ナフタレンジイミドによるミスマッチ DNA の電気化学的検出法の開発
- 卒業論文 若原 大暉 環状ナフタレンジイミドと各種 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 張 釈丹 ゲル表面への PSO 固定化による細胞外 K イオン蛍光イメージング法の開発

2017

- 修士論文 黒田 正雄 Molecular Beacon プローブを応用したカリウムイオンイメージング試薬の設計と性能評価
- 修士論文 坂本 龍太 フェロセン化ナフタレンジイミドを用いた異常メチル化 DNA 検出法の最適化
- 修士論文 中島 生羽 電気化学的プロテアーゼ活性検出電極の調製と評価
- 修士論文 中山 彰 FND を用いた microRNA の電気化学的検出法の開発
- 修士論文 濱中 恒志 トリアゾール基を有するフェロセン化ナフタレンジイミドを用いた電気化学的テロメラーゼ検出法の開発
- 修士論文 開 健亮 アダマンタンを有するナフタレンジイミド誘導体 (NDI-p-Ad2、NDI-NMe-Ad2)の合成と β-シクロデキストリンとのホスト-ゲスト錯体を利用した 2 本鎖 DNA バンドル化試薬としての評価

- 卒業論文 尾崎 俊祐 Potassium Sensing Oligonucleotide(PSO)の細胞導入アジド糖を利用した細胞表面固定化法の開発と細胞外カリウムイオン蛍光イメージング
- 卒業論文 加藤 光 金電極を利用した電気化学的 ELISA 法による IL-6 の検出
- 卒業論文 金好 秀馬 4 本鎖 DNA の電気化学的検出のための FND の合成と DNA との相互作用解析
- 卒業論文 茅野 詩乃 ジメチルアミノメチレン基を有するフェロセン化ナフタレンジイミド(KKS-5 と 4 本鎖 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 川畑 泰毅 HCR を用いた DNA の電気化学的検出法の開発
- 卒業論文 香田 まこ 低分子ヒアルロン酸とシリカとの相互作用
- 卒業論文 迫平 陸 β -シクロデキストリンを有するフェロセン化ナフタレンジイミドと 4 本鎖 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 佐藤 友香 G-quadruplex 特異的化合物 NDI-8-CD2 の合成と各種 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 水溜 さゆり G-quadruplex 特異的化合物 NDI-8-CD2 の合成と各種 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 三宅 綾将 フェロセン化基質ペプチドを用いた電気化学
- 卒業論文 森川 聖也 ナフタレンジイミド誘導体 (KKS-2、NDI-Me)と各種 DNA との相互作用解析

2018

- 修士論文 小野 瑞希 Hybridization chain reaction を利用したオリゴヌクレオチドの電気化学的検出法の検討
- 修士論文 竹内 龍佑 G-quadruplex ダイマー選択的化合物を目指したビス環状ナフタレンジイミドの開発
- 修士論文 若原 大暉 4 本鎖 DNA 選択的化合物を目指した環状アントラキノンの開発
- 卒業論文 有働 彩乃 PSO-T0G0+StreptAvidin+B-NES 系での細胞表面での K⁺応答解析
- 卒業論文 川添 莉奈 Membrane-based Microwave-mediated Electrochemical ELISA(MMeELISA)による腫瘍壊死因子 (TNF) - α の検出
- 卒業論文 田中 佑奈 環状ナフタレンジイミド誘導体と各種 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 土肥 由莉 新規環状フェロセン化ナフタレンジイミドの合成とがん診断への応用
- 卒業論文 仲野 祥史 吸収スペクトル測定による NDI 誘導体と各種 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 中原 拓海 癌の早期診断を目指した新規フェロセン化ナフタレンジイミドの開発
- 卒業論文 安川 瑠依 Molecular crowding 条件下での各 cNDI 誘導体と各種 DNA との相互作用解析

2019

- 修士論文 尾崎 俊祐 細胞外カリウムイオンイメージングに向けた細胞表面への直接固定化型新規 PSO の開発と検討
- 修士論文 加藤 光 フェロセン化ナフタレンジイミドの Electrochemical Telomerase Assay による評価
- 修士論文 金好 秀馬 新規フェロセン化ナフタレンジイミドの合成と性能評価
- 修士論文 佐藤 友香 Parallel 型 G-quadruplex 特異的結合リガンドの合成と各種 DNA、RNA との相互作用解析
- 卒業論文 池田 匠 環状ナフタレンジイミドのリンカー長変化による 4 本鎖核酸に対する選択性の効果
- 卒業論文 岩本 亮太郎 電気化学的プロテアーゼ法を用いた歯周病関連酵素 (ジンジパイン) の検出
- 卒業論文 江口 奈央 新規フェロセン化ナフタレンジイミドの電気化学テロメラーゼアッセイへの応用
- 卒業論文 栗原 花怜 β -CD を有するフェロセン化ナフタレンジイミド (FNC-C3) と 4 本鎖 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 竹本 一晴 癌の早期診断を目指した新規フェロセン化ナフタレンジイミドの開発
- 卒業論文 中川 清彦 リンカー部分に EDTA を有する新規環状ナフタレンジイミドの合成と相互作用解析
- 卒業論文 村上 駿 ナフタレンジイミド環上に置換基を導入した新規環状ナフタレンジイミドの合成と 4 本鎖 DNA との相互作用解析

2020

- 博士論文 竹内 龍佑 新規抗がん剤を目指した機能性環状ナフタレンジイミド誘導体の開発
- 修士論文 有働 彩乃 生体内 Na⁺イメージングを目指した SSO の開発
- 修士論文 川添 莉奈 クロノクーロメトリー (CC) 測定を用いた環状ナフタレンジイミドのテロメラーゼ阻害能評価
- 修士論文 仲野 祥史 新規ペプチド cNDI ダイマーの合成と各種 DNA との相互作用解析
- 修士論文 中原 拓海 癌の早期診断のための miRNA の検出を目指したフェロセン化ナフタレンジイミド(FND)を用いたハイブリダイゼーションアッセイ
- 修士論文 安川 瑠依 生体細胞内模倣環境下における環状ナフタレンジイミドと DNA との相互作用解析
- 卒業論文 大地 桃子 光による G4 リガンドの結合制御
- 卒業論文 小野 健太郎 Lysine をリンカー部に導入した新規 cNDI-dimer の合成と各種 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 田村 瑠郁 細胞表面への直接固定化型新規 PSO の開発
- 卒業論文 日高 浩樹 DNA 修飾電極と HCR (hybridization chain reaction) を組み合わせた FND による miRNA の電気化学的検出法の発展

- 卒業論文 廣岡 雄太 環状ナフタレンジイミド固定化電極を用いた簡便な DNA の電気化学的検出法の開発
- 卒業論文 松田 航希 SARS-CoV-2 関連酵素(3CLpro)の電気化学的検出
- 卒業論文 真野 航太 4 本鎖核酸特異的分子 NDI-b-CD2-C2 および NDI-b-CD-C2 の合成と相互作用解析

2021

- 博士論文 金好 秀馬 4 本鎖結合リガンドとしての新規フェロセン化ナフタレンジイミドの開発
- 修士論文 池田 匠 4 本鎖 DNA をターゲットとした短鎖環状ナフタレンジイミドとそのペプチドコンジュゲート体の合成と応用
- 修士論文 岩本 亮太郎 歯周病の早期診断を目指した歯周病関連酵素 Cathepsin B の電気化学的検出
- 修士論文 江口 奈央 がんの早期発見を目指した電気化学的テロメラーゼ検出法への環状フェロセン化ナフタレンジイミドの応用
- 修士論文 中川 清彦 ジピコリルアミン錯体を有するナフタレンジイミド誘導体の合成および各種 DNA との相互作用解析
- 修士論文 村上 駿 G4 クラスターの Cleft 識別を目指した新規環状ビスナフタレンジイミド (cbNDI) の開発
- 卒業論文 永井 はるか DNA トリプレットリピートの識別を目指した新規環状ビスナフタレンジイミドの開発
- 卒業論文 木村 波月 FND-based hybridization assay と HCR (hybridization chain reaction)を組み合わせた miRNA (microRNA)検出法の開発
- 卒業論文 蔵園 俊介 光異性化部位を有する環状ナフタレンジイミド誘導体 (cNDI-Azo)の合成とその応用
- 卒業論文 日高 竜希 フェロセン化ソラレン誘導体による DNA ラベル化と遺伝子検出への応用
- 卒業論文 藤嶋 寛大 G4 選択的ナフタレンジイミド化合物の探索
- 卒業論文 西山 倅樹 ナノドラッグを目指した NDI-NMe-Ada2 の合成と応用
- 卒業論文 西村 優梨香 アクリジン-ポリエチレングリコールコンジュゲートとファージとの相互作用

2022

- 修士論文 小野 健太郎 抗腫瘍効果を目指した G4 クラスター選択的結合分子としての cNDI-peptide-dimer の開発
- 修士論文 田村 瑠郁 G4 DNA のゲノムワイド検出を目的としたナフタレンジイミド誘導体の開発と検討
- 修士論文 廣岡 雄太 環状ナフタレンジイミド固定化電極を用いた簡便な PCR 産物の電気化学的検出法の開発
- 修士論文 松田 航希 電気化学的手法による SARS-CoV-2 関連酵素 (3CL)の活性評価を目的とし

た検出法の確立

- 修士論文 真野 航太 β -シクロデキストリンを有する 3 置換ナフタレンジイミドとグアニン 4 本鎖構造の相互作用
- 卒業論文 柳崎 安弥佳 SARS-CoV-2 に存在する RNAG4 識別
- 卒業論文 中道 泉吏 COVID-19 診断を目指した電気化学的 miRNA の検出法の開発
- 卒業論文 瀬分 陽 新規環状ナフタレンジイミドの合成および各種 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 吉永 慎太郎 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検出法の最適化
- 卒業論文 池田 圭吾 均一溶液中における歯周病関連酵素 (ジンジパイン) の検出
- 卒業論文 中岡 大貴 新規環状ビスナフタレンジイミド修飾電極による 2 本鎖 DNA 検出の試み
- 卒業論文 山本 真綾 逆転写酵素と環状ナフタレンジイミド固定化電極を用いた RNA 検出法の開発

2023

- 修士論文 永井 はるか 新規環状ビスナフタレンジイミドと各種 DNA との相互作用解析
- 修士論文 木村 波月 FND-based hybridization assay と二本鎖 DNA 増幅法を組み合わせた電気化学的 miRNA 検出法の開発
- 修士論文 日高 竜希 Biotin 修飾環状ナフタレンジイミド誘導体を用いた G4 DNA との相互作用解析とゲノム上 G4 検出への試み
- 修士論文 藤嶋 寛大 新規 NDI 誘導体と各種 DNA との相互作用解析およびリンカー効果について
- 修士論文 西山 倅樹 G4 結合性新規環状分子の合成と G4 結合制御
- 修士論文 西村 優梨香 ファージ熱安定化試薬を目指したアクリジニルポリエチレングリコールの開発・性能評価
- 卒業論文 眞田 幸奈 DNA4 本鎖部位付近を切断する環状ナフタレンジイミドの合成と応用
- 卒業論文 東 祐大 環状ナフタレンジイミド固定化電極による電気化学的テロメラーゼ活性検出
- 卒業論文 原田 哲史 新規環状ナフタレンジイミド誘導体の合成と各種 DNA との相互作用解析
- 卒業論文 馬場 智史 環状ナフタレンジイミド cNDI のリンカー部分による四本鎖 DNA 選択性の評価
- 卒業論文 河野 新菜 bis-cNDI-Fc によるテロメア DNA の電気化学的検出法の開発

2024

- 修士論文 池田 圭吾 歯周病の早期診断を目指した歯周病関連酵素 Cathepsin B の電気化学的検出法の開発
- 修士論文 中道 泉吏 ウイルス感染症診断を目指した電気化学的 miRNA 検出法の開発
- 修士論文 柳崎 安弥佳 シトシン識別部位をもつナフタレンジイミド誘導体の合成と SARS-CoV-

2 ゲノム 4 本鎖 RNA と相互作用解析

- 修士論文 山本 真綾 環状ナフタレンジイミド固定化電極と逆転写酵素を組み合わせた RNA 検出法の開発
- 修士論文 吉永 慎太郎 ナフタレンジイミド固定化電極による 2 本鎖 DNA の電気化学的検出法の確立
- 卒業論文 宮本 康平 ゲノム中の G4 を切断する cNDI-Fe 錯体の合成
- 卒業論文 村田 彩奈 FND-based hybridization assay と CHA (Catalytic Hairpin Assembly) を組み合わせた miRNA 検出法の開発
- 卒業論文 山本 駿 DNA 補足分子としての cNDI-pip-SH の合成と DNA 検出への応用
- 卒業論文 豊山 宗華 ナフタレンジイミド誘導体の 2 本鎖 DNA 相互作用の基礎的解析
- 卒業論文 門田 侑士 cNDI 固定化電極と Hybridization Chain Reaction (HCR)を組み合わせた電気化学的 miRNA 検出

九州工業大学竹中研究室
集合写真（2005-2024）



2005年



2006年



2007年



2008年



2009年



2010年



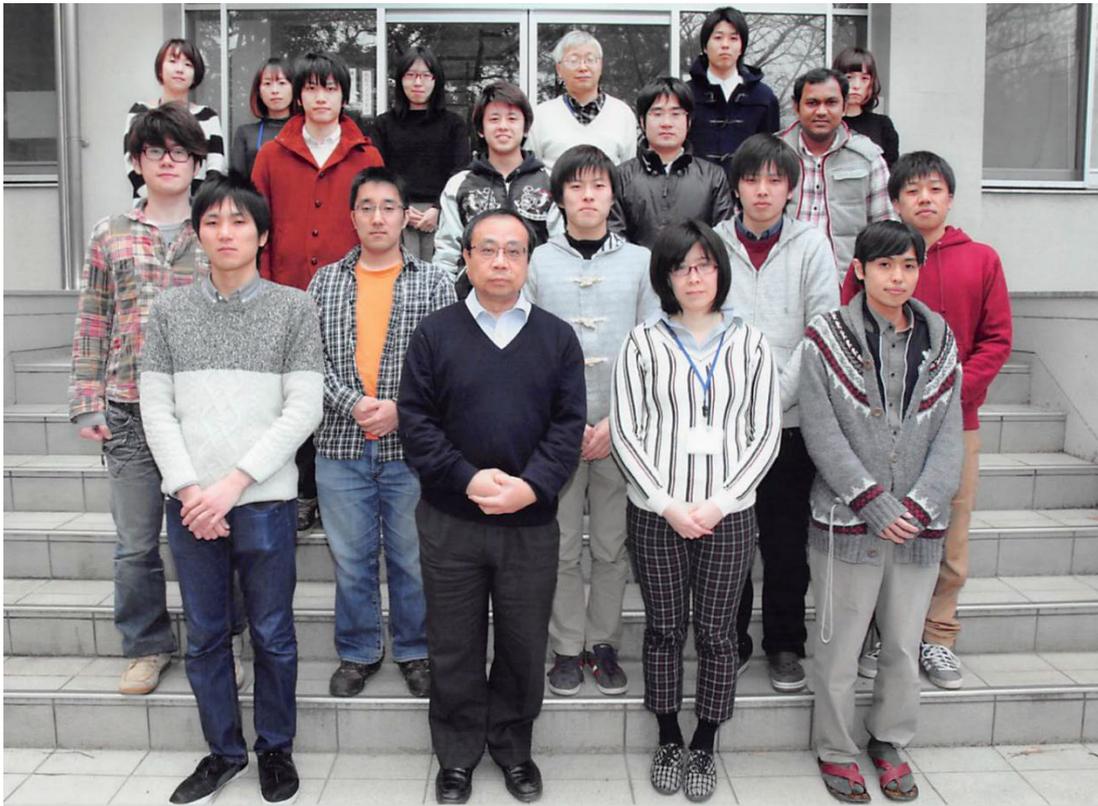
2011年



2012年



2013年



2014年



2015年



2016年



2017年



2018年



2019年



2020年



2021年



2022年



2023 年



2024 年

トピック記事

インターカレータプローブ による遺伝子の検出^{©1991}

九州工業大学

情報工学部 生物化学システム工学科 助教授

●
竹中 繁織

研究の背景

遺伝子は、アデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)、チミン(T)の4つの核酸塩基を1次的につなげた遺伝情報の磁気テープと考えることができる。したがって、磁気テープの内容を見ることができれば生命の神秘に迫ると同時に人類の福祉にも役立つことができると考えられる。現在では、ある種の遺伝病、ガン、ウイルス、細菌の特徴的な遺伝情報の磁気テープを見ることが可能になってきており、これによって被検体者が遺伝病やガンにかかっているか、ウイルスや細菌性の疾病にかかっているかといったことを知ることができる。このような方法の根拠をなしているのはDNAプローブ法である。この方法は、DNA 2重らせん鎖のそれぞれが特異的な相補性をもつことを利用したものであり、1塩基の違いでも区別できる精密な遺伝子配列の検出法である。

これに対して、制ガン剤などに見られる薬物の遺伝子配列の認識能はそれほど高くない。それにもかかわらず遺伝子に対して特異的な活性を示している。このことはDNAプローブ法に見られる精密な遺伝子配列の認識だけでなくDNA結合性薬物に見られるようなゆるい配列認識も重要であることを示すものである。このような観点から筆者らはDNA結合性薬物としてインターカレータに注目し、インターカレータの配列認識能に従ったDNA断片の分離・分析法を検討してきた[1-5]。

現在、電気化学的に活性な官能基をインターカレータにもたせることによる遺伝情報の電気化学的検出法の開発を試みている。ここでは、これについて述べる。

研究の特長

●電気化学的検出法

酸化還元物質は、その物質に応じた電位を与えると、酸化電流や還元電流を発生する。その際、電流値と物質濃度との間の直線性は高く、またかなり低い電流値でも検出可能である。したがって、生体内に存在する酸化還元活性な微量成分の分析法として電気化学的検出法が発展してきている。DNAにおいてもこれまで電気化学的検出法が試みられてきたが、DNA 2重らせんは電気化学的に不活性であるので、その検出にはDNAを変性後、核酸塩基を加水分解する必要があった。したがっ

て、これまでのDNAの電気化学的検出法は、単に微量検出のみで遺伝子配列に対する情報はまったく与えていない。

●インターカレータ

核酸を染色するのに用いられるアクリジン色素のような平面的な芳香族分子は、DNA 2重らせんの隣接塩基対間に平行挿入(インターカレーション)することが知られている。このような化合物群は、ある種の薬物、制ガン剤、発ガン物質、変異原物質などに知られており、インターカレータと呼ばれている。インターカレーションは、本来可逆的過程であるが、DNAから解離しない条件も設定できる。また、ある程度の遺伝子配列に依存した特異性も存在している。これらのことはインターカレータを配列認識素子と同時に可逆的ラベル化試薬として利用できることを示唆している。

●インターカレータプローブ

筆者らは、電気化学活性な官能基としてピオローゲン部分をもつビスインターカレータを新たに設計合成した[6](図①)。このインターカレータプローブは、DNAを破壊することなく電気化学的検出が行えることと、その際にインターカレータの遺伝子配列認識能に依存した情報が得られることが期待される。分光学的研究からこのインターカレータは、DNAと強く結合し、通常DNAの分離に用いられるゲル電気泳動法や高速液体クロマトグラフィ法において解離することなくDNAとともに振る舞うことが明らかとなった。また、その際AT含量の高いDNAほど結合能は増加した。結合様式もインターカレータの結合したDNAの流体力学的検討から、期待したようにビス

インターカレーションであった。

このインターカレータのサイクリックボルタングラムを図②に示す。DNAが存在することによってピーク電流値の減少とピーク電位の負へのシフトが観察された。この変化はインターカレータプローブがDNAへ結合したために起こったものである。これらの結果から、このインターカレータプローブはDNAの電気化学的検出として利用可能であり、またその際のDNAへの結合状態と非結合状態とで電気化学的挙動が異なることを示している。言い換えれば、電気化学的測定によりインターカレータのDNA結合状態に関する情報も与えている。

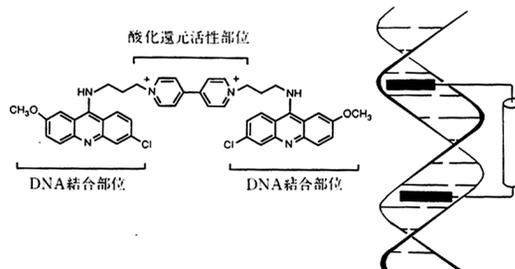
将来の展望

この型のインターカレータがすぐにでも遺伝子配列の検出に利用できるわけではないが、ここで得られた知見をもとに新しい遺伝子検出システムの開発が期待される。筆者らは、勸業電記念科学技術研究所の援助を受けて電気化学的手法によるさらに進めた遺伝子配列の検出システムを開発しているところである。

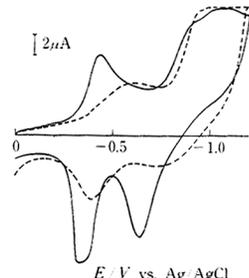
引用・参考文献

- [1] Takenaka, S., et al.: *Analytical Sciences*, Vol.3, 1987, p.557.
- [2] Dohtsu, K., et al.: id. Vol.4, 1988, p.251.
- [3] Dohtsu, K., et al.: id. Vol.4, 1988, p.371.
- [4] Takenaka, S., et al.: id. Vol.4, 1988, p.481.
- [5] Takenaka, S., et al.: id. Vol.6, 1990, p.139.
- [6] Takenaka, S., Ihara, T., Takagi, M.: *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1990, p.1029.

図①インターカレータプローブの構造とDNAへの結合様式



図②サイクリックボルタングラム



破線=インターカレータプローブ存在下
実線= " 非存在下

「遺伝子診断の現状と将来」



情報工学部 生物化学システム工学教室 助教授
竹中 繁 織

最近、北海道大学医学部で ADA (アデノシンデアミナーゼ) 欠損症の患者に対して行った遺伝子治療がマスコミを賑わせている。遺伝子治療とは、遺伝子がおかしくなって病気になった人にまともな遺伝子を人為的に外から体内に入れてやることによって病気を治そうとする試みである。これは、大変なことである。なぜならばこれまで遺伝病の患者は、発病を抑えることができても完治することができなかったからである。また、その患者から生まれてくる子供も遺伝病の危険性を持っている。遺伝子治療で遺伝病の患者を根治治療できるようになれば人類の福祉に多大な恩恵をもたらすであろう。遺伝子治療を成功させるためには遺伝病の早期発見が重要である。従って遺伝病の診断技術が今後ますます重要となってくるのである。遺伝子診断は、遺伝病のみならずガンやエイズに対しても有効である。ここでは、遺伝子診断法の原理と問題点、さらには著者らがこれらの問題点を解決すべくこれまで検討してきた結果について紹介したい。

遺伝子の本質である DNA (デオキシリボ核酸) は、A (アデニル酸)、G (グアニル酸)、C (シチジル酸)、T (チミジル酸) の 4 種の文字で書かれた文章と考えることができる。この文章は遺伝子の相補性 (A と T、G と C がお互いの塩基対を形成して二重らせん構造をとること) を利用して探索することができる。例えば、5'-ACACATGCA T GGCCACATT-3' は、家族性アミロイドーシス (familial amyloidotic polyneuropathy, FAP) という遺伝病の原因となる遺伝子配列に結合する DNA

断片である (正常なヒトの場合は下線部の T が C である)。従ってヒトから取ってきた DNA 中にこの断片が結合 (二重らせんを形成する) するかどうかによってその遺伝病が明らかとなる。通常この DNA 断片には検出を容易にするため目印を付けておく。この目印をつけた DNA 断片を DNA プロブ (探索子) と呼び、これを用いた手法を DNA プロブ法と呼ぶ。遺伝子診断はこの手法によって主に行われているのである。この手法を用いて血友病、鎌状赤血球貧血症、筋ジストロフィーなどの診断が行われてきている。最近エイズが世界的な問題になっているが、エイズウイルスに特徴的な遺伝子と相補的な配列を DNA プロブに用いることができればこの診断が可能なのである。このような感染症診断のほかガン診断、リスク因子 (臓器移植や自己免疫) の診断、家畜の家畜病診断、品種改良の検定、法医学診断など DNA プロブ法の適用範囲は幅広いものである。

診断は、図 1 のように行われている。試料となる DNA を採取後、制限酵素で断片化し、ゲル

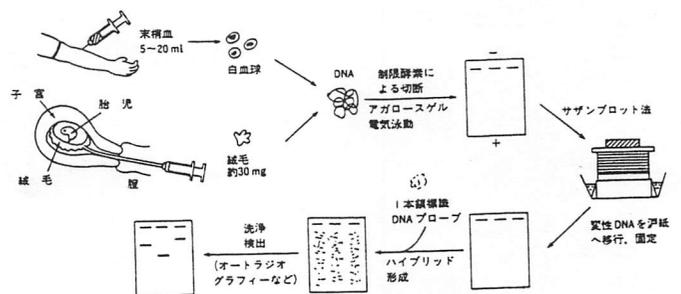


図 1 遺伝子診断法の原理

電気泳動により分離する。これをニトロセルロースやナイロン膜に移し変え固定化と非特異的吸着を排除(ブロッキング)した後、DNAプローブとの二本鎖形成(ハイブリダイゼーション)を行う。結合しなかった過剰のDNAプローブを洗浄除去後、プローブの目印で診断を行う。試料DNAは、微量であるので高感度な検出が必要である。これまで ^{32}P のような放射性同位元素(RI)が用いられてきた。RIは、分子構造を変化させず、また天然にほとんど存在しないので高感度検出を可能にする。しかし、使用する際に特殊な設備や施設が必要なこと、さらには取り扱い者に被爆の危険性があるなどの問題点を有していた。最近RIを用いない非RIによる高感度検出系が開発されてきている。

図2にビオチン化プローブの例を示すが、ビオ

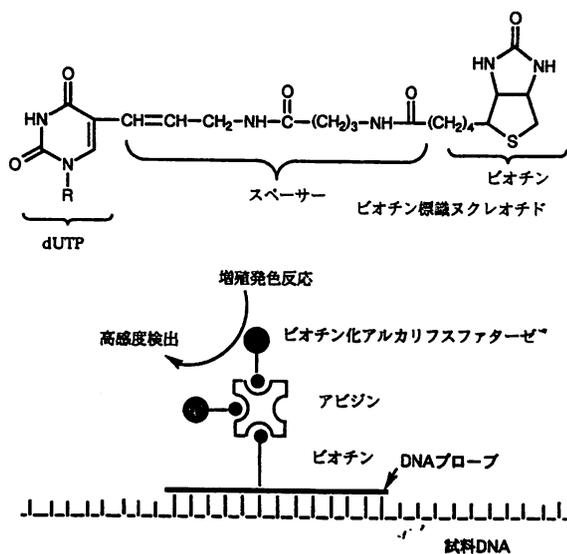


図2 ビオチン標識ヌクレオチドの構造とその検出原理

チンとアビジンの強固な結合と、アルカリホスファターゼを用いた増幅発色反応により高感度化が達成されている。現在まで種々の改良が加えられている。現在化学発光を利用したシステムなどが市販されている。しかしながら、これまでの系では、以下のような問題点が残されている。

- (1) 反応が固相上に結合させたDNAと溶液上のDNAとの固-液反応である。従って過剰のDNAプローブを除く操作には便利であるが、オンライン化、自動化が難しく手作業によるところが多い。

- (2) 非RI化DNAプローブの検出部分(目印部分)に種々の化学修飾を施す必要がある。これは、二重らせん形成に不利である。また、蛍光性色素を化学的に励起する系に於ては、導入量を増やすとそれ自身の濃度消光により逆に感度が低下する。

このような現状から著者らは、特に遺伝子診断のオンライン化、自動化を目指して研究を行ってきた。

著者らが開発した手法を概説すると図3のよう

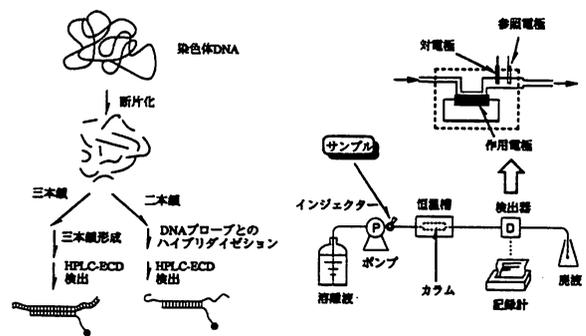


図3 HPLC-ECDを利用した遺伝子診断の概念図

にまとめることができる。まず、試料DNAを制限酵素で断片化しフェロセン修飾DNAプローブと均一溶液でハイブリダイゼーションを行う。これをそのまま高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にかける。これによって過剰のプローブが除去されると同時に試料中のDNA断片が分離される。HPLCの検出器として用いた電気化学検出器(ECD)において+700 mV vs. Ag / AgClの電位をかけておくとプローブのフェロセンが検出器の作用電極を通過するとき瞬時に酸化が行われる。この時流れる電流を検知測定することにより定量分析を行なう。nAレベルの検出器を使用することによって試料DNA f mol (10^{-15} mol)の検出が可能となった。これは、これまで行われてきた検出系と同程度の感度を有している。現在 pA レベルの検出器も市販されてきているので本系による超高感度検出系の確立も可能である。また、本系は定量性に優れ p mol-f mol までの広い範囲での検量線において良好な直線性を示した。DNAプローブへのフェロセンの導入は、DNA合成装置で行なえるのです

すべての操作を含め迅速で高感度な遺伝子診断技術が達成されたのである。さらに本手法は均一溶液系であるので試料 DNA は分画回収することができ、その遺伝子をそのままクローニングに利用できる。最近二本鎖 DNA に DNA プロブがそのままの形で直接結合し三本鎖を形成することが知られており、この手法による遺伝子の捕集や検出も重要性を増している。これは、通常の塩基同志のワトソン-クリック型水素結合による二重らせんに一本鎖 DNA がさらにホグスティン型水素結合により巻き付いて三本鎖を形成することによる。これまでの均一液反応系では、三本鎖形成による遺伝子検出は原理的に不可能であった。しかし本系では均一溶液系の特徴を活かすことによりこの適用が可能となった。

最近 PCR 法と呼ばれる遺伝子増幅法が開発されてきた (図 4)。PCR を用いると出生前診断や新

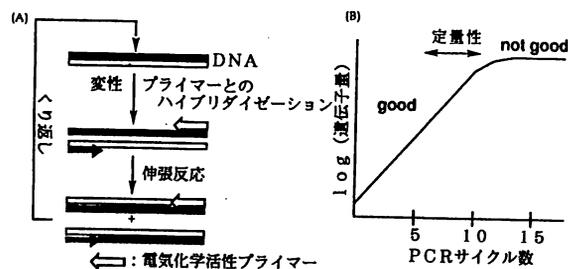


図 4 電気化学活性化プライマーを用いての PCR 反応 (A) と PCR 増幅曲線 (B)

生児の診断のように検体 (羊水や血液) が微量しか採取できないものに対して正確な診断が行えるのである。しかし、この手法の難点は検体中の調べたい配列を正確に定量的には測定できないことである。これは、増幅回数を増やすと検体ごとの配列による微妙な反応効率の違いが蓄積されるためである。著者らは、フェロセン修飾 DNA プロブを PCR のプライマー (PCR 増幅を行なう際に必要な DNA 断片でこれに挟まれた領域しか PCR

では増幅できないし、増幅されたものにはこれが末端に取り込まれている) に利用した。得られる DNA は、フェロセンが修飾されているので HPLC-ECD での高感度検出が可能である。従って増幅回数が低い (定量性が高い) 領域での検出が可能となった。この手法は、遺伝病の保因者診断に有効である。例えば、女性の場合 X 染色体を二本有しているのもその一方に欠陥が生じると保因者となり、その子供が遺伝病となる危険性をはらんでくる。従って、保因者かどうかを診断することは重要であり、このためには遺伝子量を正確かつ効率的に検出することが必要である。

以上、ここでは DNA プロブ法を中心にした遺伝子診断技術のみに限って説明させていただいたが、これ以外にも RFLP (制限酵素で切った断片の長さに見る多型性) 法など種々の手法が開発されており、これらについても著者らの手法の適用を検討しているところである。

参考文献

肩のこらない読み物として

- (1) J.E.Bishop, M.Waldholz 著、牧野賢治、奏洋一、瀬尾隆訳：遺伝子の狩人、化学同人 (1992) 肩こりになりたい人のために
- (2) Electrochemically Active DNA Probes : Detection of Target DNA Sequences at Femto Mole Level by High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection : S.Takenaka, Y. Uto, H. Kondo, T. Ihara, M. Takagi; Anal. Biochem., 218, 436 (1994)
- (3) S. Takenaka, H. Kondo : Advances in Nucleic Acid Analysis by HPLC. In Molecular Biology : Current Innovations and Future Trends, Ed. H. Griffin, Horizon Scientific Press, pp. 137-154 (1995)

DNA診断に最適な次世代DNAチップ

竹中繁織

ヒトゲノムプロジェクトの成果は、SNP診断などのDNA診断をより一般に普及させるものと期待される。このためには、従来のHTS (High-Throughput Screening) をめざしたDNAチップから目的に応じたDNAチップ技術の発展がますます重要になってくるものと思われる。その期待を担ったものが、簡便、迅速、高感度であり、また、安価でコンパクトな次世代DNAチップである。その中において、電気化学的手法を利用したDNAチップは、装置のコンパクト化、高感度検出が原理的に可能であり、測定法の工夫により簡便、迅速測定も可能である。ここでは、われわれが(株)TUM研究所と共同開発しているECA (Electrochemical Array) チップやXanthon社(米)とMotorola Clinical Micro Sensors社(米)が開発している電気化学的DNA検出システムについて概説する。これらの技術が次世代のDNAチップの発展に大きく貢献するものと期待される。

はじめに

ヒトゲノムプロジェクトが終焉を迎え、ここで得られた塩基配列から遺伝情報を探り出し、人類の福祉に役立てるための研究が動き始めている。その中の1つにSNP (1塩基多型: Single Nucleotide Polymorphism) マイニング (mining) がある。SNPは、ゲノム全領域にわたり500~1,000塩基に1つ程度の割合で存在し、個人個人の特徴に応じた塩基配列の差が出やすいので高密度な遺伝子マーカーとしてSNPが利用できると考えられているからである。すでに多くのSNPが蓄積されてきており、あるものは病気との関連や薬剤の作用機構との関連がわ

かってきている。このようなSNPは、時間をかけてシーケンシングにより直接調べることもできるが、より簡便な種々の新しい手法が開発されてきている。これらの手法は、①SNP付近の塩基配列をDNAプローブとして形成される、ミスマッチを含む二重らせんとフルマッチ二重らせんとの熱安定性の違い (融解温度: T_m の違い) を識別する手法 (Allele Specific Oligonucleotide: ASO法)¹⁾²⁾と、②SNP部位での酵素による塩基の取り込みやDNA断片の連結反応により判定するもの³⁾⁴⁾に大まかに分類される。いずれの手法においても測定に先立ちSNP部位がどこにあるかの情報は必要である。これに対して、あるDNA断片上のどの位置にSNPがあるかが

わからなくても検出できる手法もある。これは、③SSCP (Single Strand Conformational Polymorphism) を利用するものである。DNA断片を変性させた後の高次構造の違いによってSNPの位置を知ることができる。初期の頃は、ゲル電気泳動が用いられていたが、最近、キャピラリー電気泳動装置による方法が汎用されている⁵⁾。④多種類の検体、または、1つの検体で異なった箇所のSNPを同時に調べるためには、オリゴヌクレオチドプローブを高密度に基板上に配列させたDNAチップの利用が考えられる。これを利用すれば、SNPを大規模に同時並行検出するようなHTS (High-Throughput Screening) が可能になると期待されているからである。事実、Affymetrix社(米)のGeneChip™を利用したSNP解析が報告されている⁶⁾。このようなDNAチップはSNP以外にも莫大な数の遺伝子発現解析などのHTSが可能であり、この観点からも注目を集めている。

しかしながら、DNAチップ技術はまだ完成されたものではなく解決すべき種々の問題が残されている。特に重要な問題点を以下に列記する。①オリゴヌクレオチドプローブの固定化法が十分確立していない。固定化量の制御法も確立していない。また、②基板上へのDNAの非特異的吸着が無視できない。DNAサンプルに適当な蛍光ラベル化剤を導入する必要がある、これらの試薬は高価で操作も煩雑である。③検出のためにはレーザー蛍光スキャナーなどの大掛かりな装置が必要であり、また装置のコンパクト化も現状では不可能である。特にレーザー光を利用する従来のDNAチップはSNP解析を病院や個人レベルで行うためには、装置の大きさとコスト、操作性から不十分であろう。

ところで、DNA検出法は、バイオセンサの観点

からこれまで多くの研究がなされてきた。特に、電気化学的手法によるものは、装置のコンパクト化や低コストの可能性から特に興味もたれている。われわれは、このような観点から電気化学的DNA検出法^{*1)}の開発を行ってきた。ここでは、海外の関連技術を紹介するとともに、われわれの基本技術とDNAチップへの展開について述べたい。

1 電気化学的DNA検出法の原理

電気化学的手法によるDNA検出法は、DNAセンサまたはGenosensor (ジノセンサ) と呼ばれている。基本原理を図1Aに示す⁷⁾。まず、電極にDNAを固定化する。ついでこの電極表面上でDNAサンプルのハイブリダイゼーション反応を行う。目的DNA配列が存在すれば電極上で二本鎖が形成される。この二本鎖DNAの情報を電気化学的情報に変換することにより電気化学的シグナルとしてとらえることができるのである。研究者らは、このDNA情報変換を正確かつ高感度を実現できる手法を開発することにしのぎを削っている。DNAセンサをアレイ化することにより電気化学的DNAチップが達成されることが考えられるが、センサ表面へのDNAプローブの固定化法や電気化学計測法が十分確立されていない現状では、従来のDNAチップのように高密度化は困難と思われる。

図1BにこれまでのDNA検出法の一度に処理できるサンプル数と1日あたりに処理できるサンプル数を大まかに示した。DNAチップは、1,000~100,000個の遺伝子情報を一度に見ることができると期待されているが、1日に処理できる量は数十サンプルに限られている。これに対し、調べることのできる遺伝子数は1つまたは数種であるが、1日に100,000サンプルと大量に処理できる臨床検査レベルの遺伝

KEYWORD

* 1 電気化学的DNA検出法

電極上での二本鎖DNA情報を電気化学的シグナルに変換することによりターゲットDNAの検出を行う方法である。こ

こで述べる手法以外に二本鎖が形成されることによる電極表面の電気化学的性質の変化(電気二重層の電気容量変化など)を利用するものも知られている。

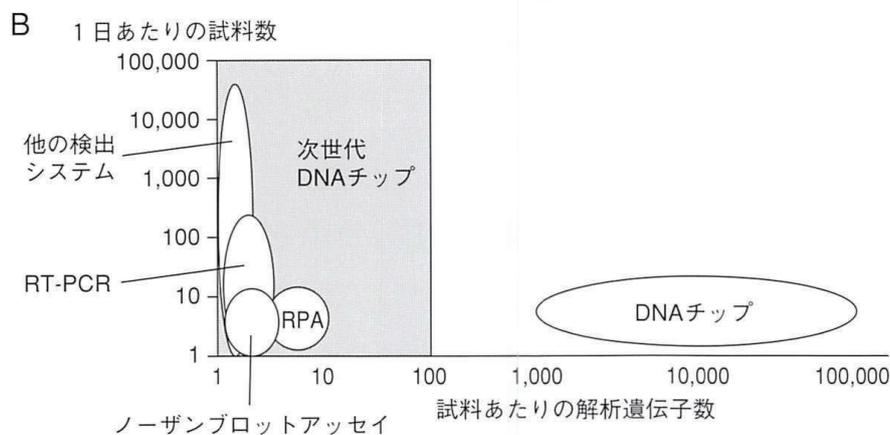
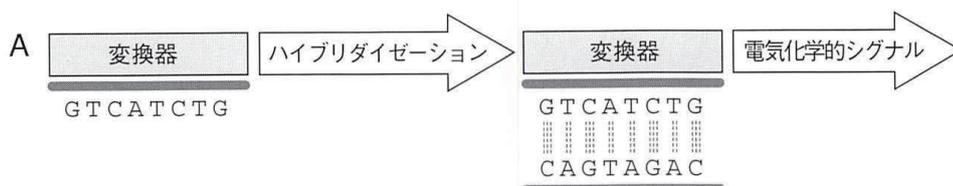


図1 DNA センサまたはジノセンサの概念 (A) と DNA 検出技術の現状 (B)

子診断がある。その中間として RT-PCR, ノーザンブロット解析, Ribonuclease Protection Assay (RPA) がある。DNA 診断は今後ますます重要になると思われるが、特に病気にかかわる臨床診断に DNA 検査がますます取り入れられてくるものと予想される。その際は、これまでの 1 つ 2 つの検査ではなく 100 以下の遺伝子に限りながら同時検査が必要になるであろう。このためには、数百レベルの遺伝子を並べた DNA チップが一般化するものと考えられる。その際、特に重要なのは、精度と迅速性、装置のコンパクト、コストの問題である。電気化学検出法は、これらのすべての問題を解決できる DNA チップの構築にうってつけの手法であると期待されている。

2 Xanthon 社の Xanthon Xpression Analysis System™

ルテニウム錯体^{*2} Ru (bpy)₃²⁺は、グアニン塩基

の酸化反応をメディエートできることが知られている。DNA 内のグアニン塩基においてもルテニウム錯体によってメディエートできる。この際二本鎖 DNA 部位よりも一本鎖 DNA のグアニン塩基が効果的であることが知られている。Thorpe ら (ノースカロライナ大学) は、これを応用した DNA 検出法を開発している⁸⁾。図 2 A にその原理を示した。オリゴヌクレオチドプローブを固定化した ITO (Indium Tin Oxide) 電極^{*3}にサンプル DNA をハイブリダイゼーションすると、電極上に濃縮されたターゲット DNA 断片のグアニン部の酸化反応をルテニウム錯体がメディエートすることによる電流が発生する。この電流値は、電極に濃縮されたターゲット DNA 量に依存すると考えられる。プローブ DNA に比べサンプル DNA の鎖長が長い場合、電流増加はきわめて大きい。本手法では、グアニン含量によってシグナル強度が変化すると考えられるが、一般に使用

KEYWORD

* 2 ルテニウム錯体

ここでは、トリス (2,2'-ジピリジル) ルテニウム錯体 [Ru (bpy)₃²⁺] を指す。フェロセン (後述) と同様にルテニウムの二価イオンと三価イオンの間で可逆的酸化還元反応を示す。核酸塩基であるグアニンの酸化反応をメディエートするのに利用できる。

* 3 ITO 電極

ITO (Indium Tin Oxide, インジウムスズ酸化物) 電極は、酸化インジウムに酸化スズを少量添加したものである。得られる電極は透明となるため液晶ディスプレイなどに有効である。

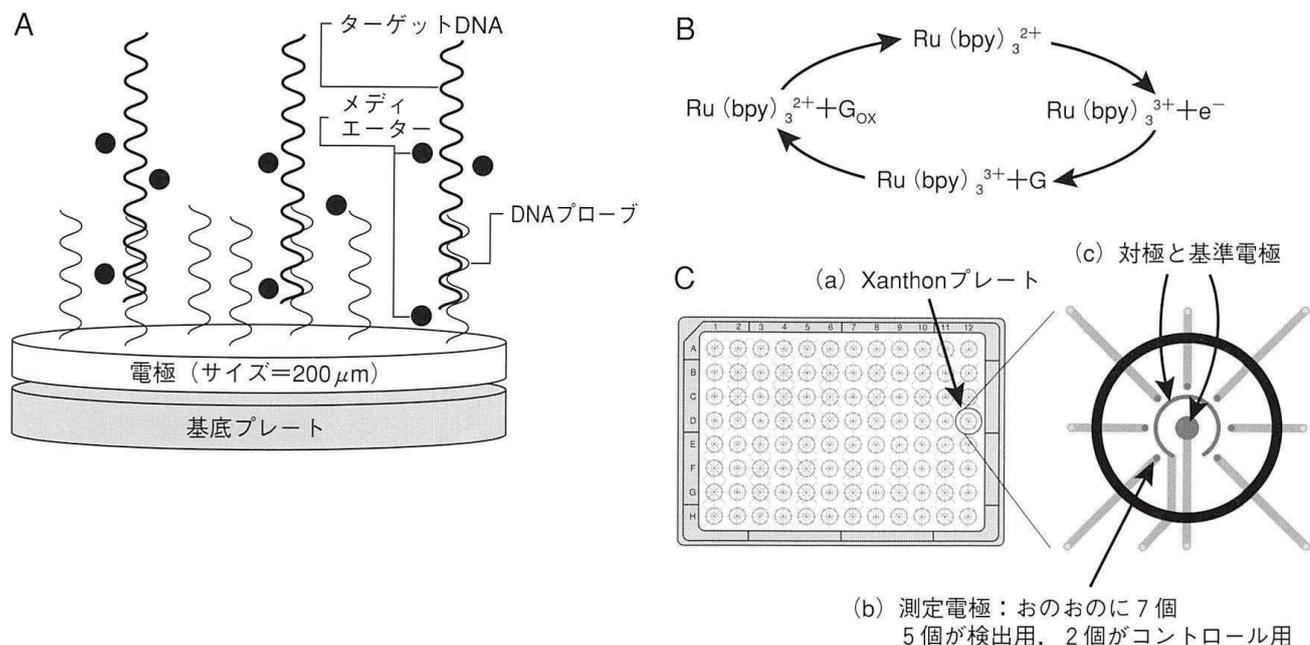


図2 Xanthon社のDNA検出システム

Xanthon社のDNA検出システム(A)では、ターゲットDNAのグアニン塩基の酸化反応をルテニウム錯体 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ でメディエートすることにより電気化学的検出が行われる。(B)メディエートのメカニズム。(C)Xanthon社のXanthon Xpression Analysis System™の電極構成

するDNAのグアニン含量は比較的均一と考えられるので、実際の測定においてさほどグアニン含量による大きな変化はないようである。

Xanthon(ザンソン)社は、この技術を利用したXanthon Xpression Analysis System™を開発している⁹⁾¹⁰⁾。図2C-(a)に示したように96穴タイタープレートの1穴ずつに電極を配線している。図2C-(c)のように1穴に対極、基準電極と7個の測定電極を配線している。このうち2つをコントロール電極として使用するので1穴あたり5個のDNAサンプルの測定が可能である〔図2C-(b)〕。測定用電極は、直径200 μm のITO電極であり、43amolのDNA(215amolのグアニン)がバックグラウンドと区別できる電流値として観察できている。しかし、メディエート電流が1,100mVと高い電位を必要とする。

3 Motorola Clinical Micro Sensors社のeSensor™

Motorola Clinical Micro Sensors社のeSensor™の原理を図3に示した¹¹⁾。基本原理は電気化学的サンドイッチ法である。ターゲットDNA検出のために利用されるのが捕集用プローブ(capture probe)と検出用プローブ(signaling probe)の2つである。capture probeは、電極表面に固定化されている。signaling probeは複数個のフェロセン*4を固定化している。フェロセンは、安定な酸化還元反応を行えるので、適当な電位をかけることにより電流が流れることになる。最終的には、ターゲットDNAのみに2つのプローブが結合できるので、電極上にフェロセンが濃縮され電位をかけるとターゲットDNA量に応じて電流が流れることになる。これによりター

KEYWORD

*4 フェロセン

1951年にPausonらによって発見されたフェロセンは、鉄の上下に、シクロペンタジエニル環が配位した非常に安定なサンドイッチ構造を有する有機金属化合物である。フェロセ

ン内の鉄は二価イオンとなっているが、電子を放出して(酸化されて)三価のフェリシニウムとなる。この反応は可逆的酸化還元反応である。したがって、電位をかけることによりフェロセンの量に比例した電流を取り出すことができる。

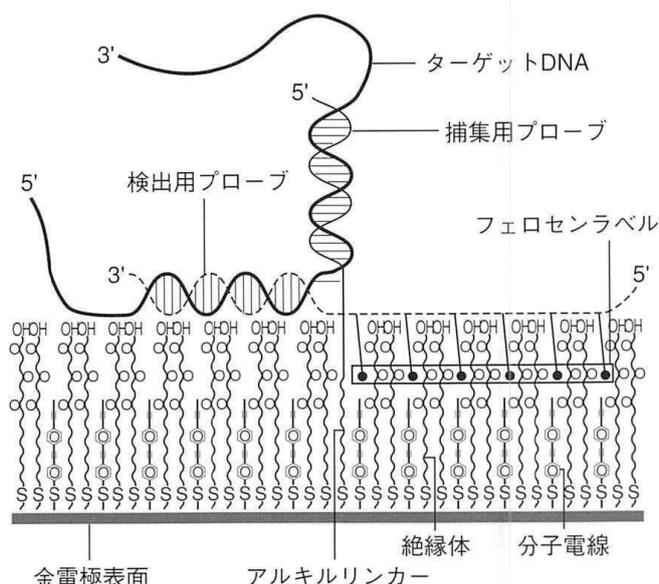


図3 Motorola Clinical Micro Sensors社のDNA検出システム

Motorola Clinical Micro Sensors社のDNA検出システムは、電極固定化された捕集用プローブ (capture probe) と複数個のフェロセンを導入した検出用プローブ (signaling probe) によるサンドイッチ法による検出である

ゲット遺伝子の検出を行っている。

フェロセン修飾プローブを用いたターゲットDNAの検出技術は、われわれの先行技術がある¹²⁾。また、サンドイッチ法に関しても九州大学の前田瑞夫教授によりすでに報告されている¹³⁾。最近、Motorola Clinical Micro Sensors社により論文が報告され具体的に技術レベルが明らかとなってきた¹⁴⁾。これによれば検出下限は数十nMレベルで、データの変動もかなりある。

4 (株) TUM 研究所のECAチップ

二本鎖DNAが形成されたことを電気化学的に活性な二本鎖結合性リガンドにより見積もる方法も古くから報告されている。図1Aにおいて二本鎖DNA形成情報を二本鎖領域に濃縮されたリガンドから出る電気化学的シグナルを利用しようというものである。この場合要となるのが電気化学活性二本鎖特異的リガンドである。これに要求される性能を次にまとめた。①安定で高感度な応答を示すこと、②結

合するにあたって二本鎖DNA (ターゲットDNAと目的DNAとにより形成される) と一本鎖DNA (プローブDNA) の識別が高いこと (電極上なのでこの2つのみが問題となる)、③遺伝子の塩基配列によって結合性が左右されないこと (塩基配列選択性がないこと) である。これまで検討されてきたリガンドには、ヘキスト33258 (DNA二重らせんの副溝へ結合するリガンドでAT選択性が大きい: 東芝の石森ら)、コバルト錯体 $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ (カナダコンコーデア大学のMikkelsenら、米国ニューメキシコ州立大学のWangら)、メチレンブルー (米国カリフォルニア工科大学のBartonら) などがあるが、要求条件はまだ満たされていない。われわれは、縫い込み型インターカレーター*⁵として知られるナフタレンジイミドの両置換基末端にフェロセンを導入したFND*⁶ (Ferrocenyl naphthalene diimide)¹⁵⁾¹⁶⁾ および種々のFND誘導体を開発してきた。そのうちの一例の分子構造 (図4A) とDNA二重らせんとその複合体の分子モデル (図4B) を示した。縫い込

KEYWORD

*5 縫い込み型インターカレーター

インターカレーターは、DNA二重らせんの塩基対間に平行挿入 (インターカレート) する化合物群の総称である。特にDNA二重らせんとその複合体においてインターカレーター分子に存在する2つの置換基が主溝と副溝に位置するものを縫い

込み型インターカレーターと呼ばれている。これは、DNA二重らせんとその複合体形成過程において置換基の1つがDNA塩基対間を通り抜けることに由来している。二本鎖DNAに結合した縫い込み型インターカレーターは、そのトポロジーから特に安定化される。

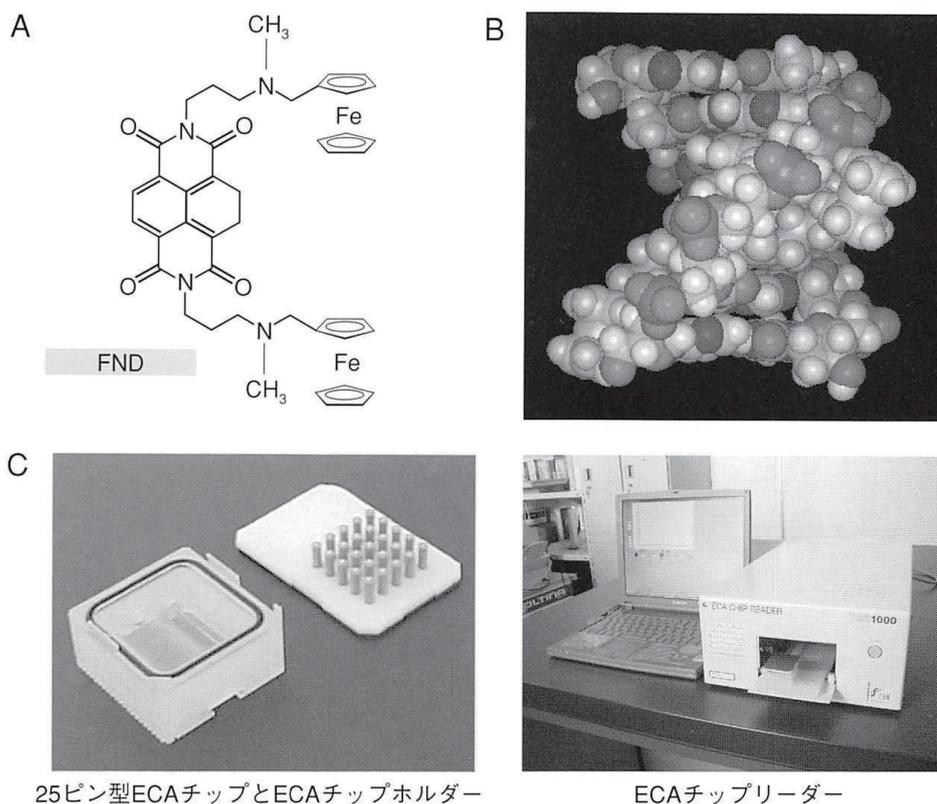


図4 われわれの開発したFNDリガンドの例 (A) とDNA複合体のコンピューター分子モデリング (B).
C: (株) TUM 研究所が開発したECAチップ (左) とリーダー (右) (カラー口絵: P32, 参照)

み型インターカレーターは、二重らせんDNAの塩基対間へ平行挿入 (インターカレート) した際、主溝と副溝に置換基が突き出した複合体を形成する。これらの置換基はインターカレーターが二本鎖DNAから解離する際の障害となるので、このようなりガンドと二本鎖DNAとの複合体は安定化される。このような効果は、一本鎖DNAに対して働かない。FNDをDNAプローブ修飾電極によりターゲット遺伝子検出系に応用することにより数十 zmol のターゲットDNAの超微量検出に成功している。これは、形成された二本鎖DNAへ1塩基おきに配列された

FNDにより pseudo-polyferrocene array (擬ポリフェロセンアレイ) が電極上に形成されることによる触媒的電流増幅機構が関与しているのかもしれない。

(株) TUM 研究所のECA (Electrochemical Array) チップはわれわれのこの技術をベースにしている¹⁷⁾。図4CにECAチップとチップリーダーを示した。ECAチップは、電極表面の制御によって電極間の固定化DNAプローブ量の制御が達成されている。このECAを用いたSNP検出にも成功している¹⁸⁾。

KEYWORD

* 6 FND

フェロセン化ナフタレンジミド (Ferrocenyl Naphthalene Diimide) の略。縫い込み型インターカレーターとして知ら

れるナフタレンジミドの両置換基末端にフェロセンを導入したものである。二本鎖DNAに対して選択性を有するのでハイブリダイゼーションインディケーター (hybridization indicator) として利用できる。

おわりに

ヒトゲノムプロジェクトの成果は、SNPを含めた遺伝子検査を加速することは間違いない。このためには次世代のDNAチップの開発が必至である。電気化学的手法によるDNAセンサの研究は、次世代DNAチップの開発に大きく貢献するものと期待される。臨床レベルでは携帯電話サイズの測定器が理想であろうし、また、その操作も単純なものほどよい。これをいち早く実現したものが膨大な次世代DNAチップのシェアを握ることができるかもしれない。われわれのECAシステムは、簡便性、迅速性、検出感度ともに優れており、次世代チップに近い位置にあると考えている。最近、ドイツのfebit社が基板上にリソグラフ加工した流路内にDNAチップを並べたGeniom Deviceによる遺伝子検出システムを開発した¹⁹⁾。これによりDNAチップ上のDNAプローブとDNAサンプルとの反応時間・効率とも高めることに成功している。このようなMicro FluidとDNAチップの融合も今後重要となろう。

また、今年になってノースウェスタン大学のナノ技術研究所所長Mirkinらは、20 μ mほど離れた2つの電極間に固定化したDNAプローブと金ナノ粒子を固定化したDNAプローブとを組合せることによりターゲットDNAの電気化学検出に成功した²⁰⁾。ターゲットDNAが2つのDNAプローブとハイブリダイゼーションすると電極上に金微粒子が濃縮し、これに写真の現像と同じ操作を加えれば、銀が

沈着し電極間を埋めて電流が通電する。これによってターゲットDNAを検出するものである。本手法はDNAチップとナノテクノロジーとの融合と考えられる。

参考文献

- 1) Howell, W. M. et al. : Nature Biotechnol., 17 : 87-88, 1999
- 2) Pease, A. C. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91 : 5022-5026, 1994
- 3) Chan, X. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94 : 10756-10761, 1997
- 4) Dubiley, S. et al. : Nucl. Acids Res., 25 : 2259-2265, 1997
- 5) Oto, M. : Clinical Application of Capillary Electrophoresis, Chapter 14, Parfley, S. M. Ed., Humana Press Inc, 1999
- 6) Halushka, M. et al. : Nature Genetics, 22 : 239-247, 1999
- 7) Wang, J. : Chem. Eur. J., 5 : 1681-1685, 1999
- 8) Napier, M. E. et al. : Bioconjugate Chem., 8 : 906-913, 1997
- 9) Popovich, N. D. : IVD Technology, 7 : 36-42, 2001
- 10) http://www.xanthon.com/index_flash.html
- 11) <http://www.motorola.com/lifesciences/esensor/>
- 12) Takenaka, S. et al. : Anal. Biochem., 218 : 436-443, 1994
- 13) Ihara, T. et al. : Chem. Commun., 555-556, 1996
- 14) Umek, R. M. : J. Mol. Diag., 3 : 74-84, 2001
- 15) Takenaka, S. : Chem. Commun., 1111-1112, 1998
- 16) Takenaka, S. et al. : Anal. Chem., 72 : 1334-1341, 2000
- 17) <http://www.tum-gene.com/>
- 18) Miyahara, H. et al. : Trans. IEE of Jpn, 121-E : 187-191, 2001
- 19) <http://www.febit.com/>
- 20) Park, S.-J. et al. : Science, 295 : 1503-1506, 2002

著者プロフィール

竹中繁織 (Shigeori Takenaka)

九州大学大学院工学研究院応用化学部門 (分子)。

1959年、福岡県生まれ。1986年九州大学総合理工学研究科博士課程中退。工学博士。九州大学工学部合成化学科助手、九州工業大学情報工学部生物化学システム工学科助教授を経て現職(助教授)。1994～1995年米国ジョージア州立大学、W. D. Wilson教授の下で博士研究員。主な研究テーマは、「DNAインターカレーターを用いた分析化学的応用研究」。



私と特許—研究から特許出願へ—

Shigeori TAKENAKA

竹中繁織

ほとんどの大学研究者は研究室で行われた研究の成果を学会で発表し、論文にまとめるところまでが研究の一区切りだと考えているようです。以前の私もそうでした。しかし、論文が掲載される学術論文誌が一般の人々の目に触れる機会はほとんどなく、学術論文誌というものの存在さえ一般には知られていません。大学で行われた研究の成果を社会に公開するためには、論文投稿とは異なった方法で研究成果を公表していかなければなりません。ところが論文執筆と異なり、特許明細書は弁理士やTLO（技術移転機関）からの協力を得ながら仕上げていくものです。その過程では研究の意義に関して何度も説明し、理解を得ていかなければなりません。これは容易なことではありませんが、このプロセスは大学研究者にとって自らの研究に関する視野を広げていくよい機会でもあります。また、そのような経験をした大学研究者によって行われる研究は、社会に還元できるシーズとして弁理士やTLOに発掘されやすいかたちになっていることと思います。

はじめに

大学院生のころの私は、大学での研究で最も大切なことは学術的課題に対して熱心に取り組む学問を追求することであって、産業化や実用化を目指した研究は大学にふさわしくないものと考えていました。当時の私は有機合成化学を研究課題としていました。そして何か新しい化学反応を見つけること、何か新しい物質を創ることを目指して実験を繰り返していました。それが大学における学問であると確信していたからです。また、研究の成果を学会で発表し、論文に投稿す

ることによって、自分の行っている研究が独りよがりのものでなく、公のものにしているとも考えていました。家族や友人など、大学の外にいる一般の人々から私が何の研究をしているのかと尋ねられることもありました。そのたびに有機合成反応について説明していたのですが、私が感じていたような面白さや学術的意義について理解してもらえたことはほとんどありませんでした。私と同じく工学部に属し、比較的近い研究領域で研究を進めている研究者からでさえも、私の研究の面白みについて理解を得られたことはほとんどありませんでした。そのようなことがあって、徐々に私は自分の研究というものに対して「実は自分が取り組んでいる研究は世の中からはほとんど必要とされていないものではないだろうか。単なる個人的な興味を満たすためだけに研究を進めているのではないだろうか。必要性を理解してもらえないような研究をこれからも続けていくことに、果たして意味はあるのだろうか」といった疑問を抱くようになっていきました。この頃に感じた疑問が、現在でも私の研究スタイルに大きな影響を与えています。

純粋な学術的興味だけから有機合成化学の研究に取り組んでいた私でしたが、分析化学の講座で助手としての職を得たことをきっかけに実用化を視野に入れた



竹中繁織 九州大学大学院工学研究院応用化学部門

〔経歴〕昭和59年九州大学大学院総合理工学研究科修士課程修了、61年九州大学工学部助手、63年工学博士、平成3年九州工業大学情報工学部助教授、8年から現職。〔専門〕工業分析化学、生体機能関連化学、核酸化学。〔趣味〕映画鑑賞、読書。〔連絡先〕812-8581 福岡市東区箱崎6-10-1（勤務先）

E-mail: staketcm@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp

研究を始めることとなりました。その後、助教授として九州工業大学に移り、実用化を目指した遺伝子検出の研究を開始し、再び九州大学に戻った現在は、この研究を発展させてDNAチップ技術への展開に取り組んでいます。その間、いくつかの場面で特許出願に関する経験をする事ができましたのでご紹介させていただくことにします。

最初の特許化の試み

九州工業大学の助教授として新しく研究を始めるにあたり設定した研究課題の一つに、電気化学的遺伝子検出というものがあります。この当時すでに蛍光DNAプローブ法と呼ばれる遺伝子分析法が確立しつつありました。しかし当時用いられていた手法には操作上の制限があり、医療現場でのルーチン検出に応用することが困難でした。この問題を解決するための鍵となる技術は、迅速で簡便な検出方法の開発です。そこで私は電気化学的DNAプローブをDNA試料と反応させた後に高速液体クロマトグラフィーで分離し、電気化学検出器による分析を行うシステムを考案しました。検討を開始した頃は様々なトラブルに見舞われましたが、卒業研究で配属されてきた宇都義浩君（現・徳島大学工学部助手）が粘り強く検討した結果、成功に漕ぎ着けました。このとき私は初めて研究成果の特許化を思い立ちました。この電気化学的DNAプローブ法の成功は世界で初めての例だったからです。しかし、大学での研究経験しかなかった私には特許のことが全くわかりませんでした。当時の国立大学にはTLOなど存在していなかったため、ある企業に特許化を持ちかけることにしました。私としてはこれまでにない最高の技術だと確信して担当の方に特許化の必要性をアピールしたのですが、残念なことにその意義を理解していただくことができず、特許化の機会を逃すこととなってしまいました。現在、欧米では私の考案した手法が広く用いられており、学術論文においてもしばしば私たちの研究が採り上げられている事実を考えると、特許化の機会を逃したことが非常に残念です。

大学からの特許出願

九州工業大学から九州大学に転任して来た私は、九

州工業大学で行った電気化学的DNAプローブ法の研究を基に電気化学的DNAセンサへと発展させていきました。その過程でDNA二重鎖のミスマッチ領域に結合して電気化学的シグナルを出す分子の開発に成功しました。この成果に関しては特許化しておく必要があると判断したものの、この研究自体が外部資金による援助を一切受けていなかったため、個人で特許出願を行う必要がありました。しかし、当時講座の長であった高木誠教授（現・名誉教授）から、「これからの大学は積極的に研究成果の特許化を進めていかなければならない。そのためには大学の委員会を活性化させ、特許出願の仕組みを整えていかなければならない」とのご意見をいただきました。このとき私は、かつて有機合成化学を研究していた頃感じていた疑問を思い出し、まさに今、その疑問に対する答えが見えたことを感じました。すなわち、大学が特許出願することによって、大学における研究の価値を社会に訴えることができると思ったのです。そこで私は初めて大学を経由しての特許出願にチャレンジすることにしました。大学の特許委員会に説明するための書類をそろえ、学内の委員会で説明を行い、様々な学内事務手続を経て、大学の研究成果として大学が特許出願することになりました。続いて弁理士と度重なる改訂作業を行い、特許明細書を完成させていくことになりました。企業と共同出願していた際にはこうした作業はすべて企業側に任せていたのですが、自らこの作業に携わることにより、どれだけの時間と労力が求められるかを知る貴重な経験をすることができました。幸い、現在では特許に関する解説書やインターネットなどから豊富な情報を得ることができるようになりました。特許出願に求められる時間と労力は年を追うごとに短くなってきています。国立大学は来年春からの運営の法人化を控え特許出願を重視する姿勢を見せています。全国的にTLOが設置され、学内特許シーズの発掘に積極的に取り組む例も珍しくありません。

特許と起業化

最近、顕微赤外分光法を利用してプロテインチップを画像化する手法に関して特許を出願しました。私の思いついたアイデアを基に予備的検討を行った結果、

十分実用化の可能性が期待されることがわかったので特許出願することにしたのです。ここでは私自ら弁理士と打ち合わせを行い、明細書作成を依頼し、それを基に請求項の範囲を広げ、特許出願に漕ぎ着けました。その過程で、この技術を基にした簡易的な癌診断法の可能性が期待できることがわかり、起業化を検討することにしました。幸い、文科省大学等発ベンチャープログラムに採択していただくことができ、現在学外マネージメント担当者の協力を受けながら起業化を目指して取り組んでいるところです。博士課程2年の大塚圭一君が熱心にこの研究に取り組んでいます。

おわりに

初めて特許出願を思い立ち、企業に出願をお願いします

©2003 The Chemical Society of Japan

日本化学会編「化学便覧 基礎編 改訂5版」刊行および会員特典のお知らせ

「化学便覧 基礎編 改訂5版」が、日本化学会創立125周年記念出版として、12月下旬に丸善から刊行されます。会員の皆様は下記の通り特別価格を設けますので、是非この機会をご利用下さい。

- すっかり変わった比類なきデータブック
- 時代に即したコンセプトで内容・構成を一新
信頼性の高いデータを厳選して掲載。その他の有用なデータをCD-ROMに収録。
CD-ROMには冊子体より多くのデータを採録し、データの出典も付記。
- 旧版の品質を保持して、使いやすさと見やすさをプラス
最も使用頻度の高い“化合物の性質”の章では、構造式を表の下に掲載し、旧版に比べ各段に見やすくした。
- 改訂4版との比較
ページ数：300ページ増。有機金属化合物：掲載数3倍。結晶構造のカラー画像：掲載数10倍。不斉触媒反応：新設80ページ。

●「化学便覧 基礎編 改訂5版」

B5版・1,900頁・上製函入 本体価格54,000円(税別)
※来年夏にCD-ROM版(本体価格42,000円)の刊行を予定しております。

会員の皆様は下記の通り特別価格を設けますので、是非この機会をご利用下さい。

1. 会員特別価格

- ・書籍：46,000円(税別)
- ・CD-ROM版[予約]：36,000円(税別)
- ・書籍+CD-ROMセット：72,000円(税別)

2. お申込み方法

所定の会員特化用注文用紙(12月上旬に会員の皆様へ郵送させていただきます)に、お名前、住所、電話番号、お受け取り書店名を明記の上、FAXもしくは郵送にて下記までお申込み下さい。[受注・発送等の流通業務は、本書の発行元である丸善・出版事業部(下記)が代行いたします。]

また、『日本化学会ホームページ』では、12月に“会員専用のページ”をオープンいたします。本特典や丸善の発行図書などの割引販売を行いますので、是非ご利用下さい。[ID・パスワードが必要で(2004年会誌請求書とともにお知らせして

にいったものの理解が得られず特許化の機会を逃した当時の状況に関して、企業担当者に先見の明がなかったと私は非常に残念に思っていました。しかし、あつと私が、企業側から理解が得られるような技術説明や研究の位置づけをしていれば、スムーズに特許出願に至ったような気がします。今後の大学研究者には、学術論文と特許との違いを理解することが求められるようになると思います。それと同時に、弁理士やTLOの方々にも、多くの場合大学研究者は特許出願を視野に入れた研究に慣れていない実情をご理解いただきたいと思ひます。双方が互いの立場を理解しあうことによつて初めて大学で行われる研究の成果を社会に還元していく流れができるものと期待しています。

います。]

3. お届け・お支払方法

ご指定の書店に会員特価本を配本いたしますので書店にてお受け取り下さい。代金は書店にお支払い願ひます(ご指定のない場合は丸善の本・支店よりお届けいたします)。

4. お申し込み期限=平成16年3月末日

お申込み・お問い合わせ先：

103-8245 東京都中央区日本橋2-3-10
丸善(株)出版事業部営業部
電話(03)3272-0521 FAX(03)3272-0693

●「実験化学講座 第5版」の会員特価の締切期限が迫っております。

- ・1~4巻(基礎編)：各巻本体価格(4,700円)の一律700円引き
- ・5~30巻：各巻本体価格(平均8,800円)の一律1,200円引き
- *お申し込み期限=平成15年12月末日

時代を先駆け、社会に貢献する九州工大の研究者。

生命につながる研究で
世の中の役に立ちたい。



工学研究院物質工学研究系
バイオマイクロセンシング技術研究センター
センター長

竹中 繁織 教授

(環57)

世界初、PCRとゲル電気泳動法を必要としない口腔がんの迅速診断システムを九州歯科大との歯工学連携により開発に成功。がんの早期発見と抑圧を助ける技術が新しいがん診断法として期待されている。

がんの制圧は国民の健康対策の中で最も重要な課題のひとつ。その鍵となるのが早期診断技術の開発である。近年、テロメラーゼと呼ばれる酵素ががんの特異性の高いマーカーとして世界中で注目。竹中は九州歯科大学との歯工学連携で、簡便に評価できる手法として、電気化学的テロメラーゼアッセイ法(ECTA法)を開発。口腔内をスポンジで拭い採取した液を用いて、口腔がんの迅速診断システムを実現。わずか30分程度で80%以上という高い正診率でがん診断を行えることを明らかとした。

さまざまながん診断へ応用可能であることから現在、前立腺がんや肺がんの診断を産業医科大学のグループともスタート。三大学の研究体制のもと、文部科学省の事業「次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム」に「早期診断マルチバイオマーカー開発」のテーマで採択。がん研究の最前線での活躍が期待されている。

ある地方大学教授のつぶやき



竹 中 繁 織

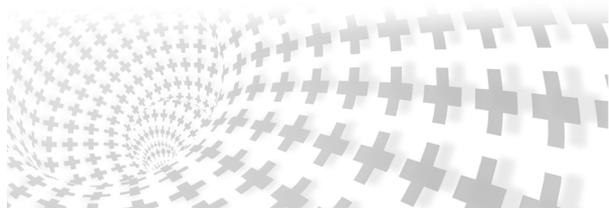
平成 28 年度の九州支部長を務めさせていただいています九州工業大学の竹中繁織です。平成 28 年 4 月に突然地震が熊本と大分を襲いました。これにより熊本、大分地区に多くの被害をもたらしました。まずは、この度の熊本と大分の地震により被災された皆様、ならびにそのご家族の皆様にご心よりお見舞い申し上げます。皆様の安全と被災地の一日も早い復興を心よりお祈り申し上げます。私は、九州大学の高木 誠（故人）の研究室の助手として採用され、現在は九州工業大学の教授として分析化学に関与させて頂いております。平成 28 年度は、九州支部が設立されてから 60 周年となります。そのため、本年 11 月に記念式典を行います。また、九州支部では、他学会の九州支部と合同で毎年 7 月初めに 1000 人規模の化学関連支部合同九州大会を行っております。本年度、分析化学会九州支部が担当となり第 53 回大会を行いました。このような時期に支部長を拝命したことは高木教授より分析化学会九州支部にもっと貢献しなさいと言われていたような気がしてなりません。

私が高木教授のもと、助手だったころから大学も大きく変わってきました。文部科学省も各大学は各大学の強みを活かした大学運営を行うことを期待しています。この流れに沿って文部科学省は各大学にミッション再定義を提案させ、研究大学と教育大学に差別化しています。教育大学に対しては、教育改革に関する教育改革のための競争的資金によって教育改革を促しています。今後加速化する少子高齢化社会においては現在の国立大学法人のうち、十分の一しか必要でなくなると言われています。文部科学省はこれまで幾度も大学改革を行ってきました。しかし、文部科学省の改革ごとに大学教員の論文数と論文のインパクトファクターが下がってきています。大学院学生においても修士一年の後半から就職活動が始まり、学生たちは、研究の合間に活動するのではなくそれだけにかかりきりとなっています。研究室で鍛えることもできず学生を社会に送り出さざるを得ない状況です。このような大学の現状を考えると大学はどうなってしまうのか、大学で研究ができるのか、研究室で鍛えた学生を社会に輩出することができるだろうかと思ってしまう。

最近の大学の状況を見るにつけて大学のマイナスの面を強調してしまいました。しかし、まだ大学教員は好きな研究をやろうと思えばできる状況が残されています。大学に入学してきた学生たちも学問や研究の面白さをわからないわけではないと信じています。最終的な結論は、どんな状況にあっても良い研究を頑張っていれば道は拓けるといことです。嫌なことだとなかなかできませんが、好きなことだと寝食忘れてのめり込むことができます。分析化学は、分子の情報を科学で解明する素晴らしい学問です。年寄りもまだまだ頑張りますが、どんな状況であっても分析化学を志す若手の研究者には、あなたの素晴らしい個性で好きな研究を行い、世界に挑んで頂きたいと祈念いたします。

[Shigeori TAKENAKA, 九州工業大学大学院工学研究院, 日本分析化学会九州支部長]

こんにちは



九州工業大学工学研究院物質工学研究系応用化学部門竹中研究室を訪ねて

〈はじめに〉

2018年5月15日、新緑の季節とはいえ、汗ばむほどの初夏の日差しの中、著者は北九州市戸畑区にある九州工業大学*1戸畑キャンパスを訪れた(写真1)。このキャンパスには本日の訪問先である工学部応用化学科の竹中繁織先生の研究室がある。竹中先生は、九州工業大学工学研究院物質工学系応用化学部門の教授のほか、同大学バイオマイクロセンシング技術センター長、歯工学連携教育センター長を併任されておられる。本日はたいへんど忙し中、「こんにちは」の取材のために貴重な時間を割いていただいた。

研究室をノックすると、まず佐藤しのぶ先生が筆者を温かく迎えて下さった。部屋に通されて竹中先生を待っていると、いつもの調子の先生の声が廊下から聞こえてくる。内容から、恐らく中間試験の結果をもとに、竹中



写真1 九州工業大学戸畑キャンパス正門

*1 九州工業大学：山川健次郎（元東京帝国大学総長）と安川敬一郎（安川財閥創始者）によって1909年、私立の明治専門学校として開校された。戦後、1949年に国立の九州工業大学となって現在に至る。九州工業大学は2009年に、応用化学科は2011年に100周年を迎えた。

先生が先生の講義を受講している学部学生を指導されている最中のような様子であった。聞こえてくる“愛のあるダメ出し”は、筆者の封印したはずの30年前の日々の記憶をフラッシュバックさせた(笑)。そう、竹中先生は九州大学時代の筆者の敬愛する恩師のひとりなのである。

竹中研究室は教育研究8号棟2階フロアにあり、教職員の居室、学生の居室、有機合成等の実験室、測定室など、使用目的別に機能的に分けられていた。そこには核酸化学研究において筆者が思いつくりのすべての機器が揃っているようであった。分光器、遠心分離機などの汎用機器以外では、MALDI-TOF MS, SPR, ITC, 共焦点蛍光顕微鏡、高速AFM(写真2)…など、このような贅沢な環境で研究をできる学生はたいへん幸せであり、同時にこれらすべての高度な装置類を適切に維持されてきた佐藤先生の管理能力に深く感心した。

〈竹中研究室の研究〉

竹中先生の研究室は、先述の佐藤先生に加えてこの4月からゾウティンティン先生が京都大学から赴任され、竹中先生と併せてスタッフ3人体制で運営されている(写真3)。今年度は、大学院生8名、4年生7名の総勢15名の学生が、核酸化学を基盤として、大きく分けると、バイオ分析、および生命科学への展開を意識した研究を行っている。具体的には、1) フェロセンを構造中に含みリガンドを用いた核酸等の生体関連分子の電気化学分析、2) G4(4本鎖)DNA構造形成プローブを利用した細胞内のカリウムイメージング、3) DNAを基体とする超分子構築とそのDDS(薬物送達システム)への応用、4) G4特異的リガンドの開発とその抗がん活性の検討…など非常に多彩な研究を精力的に展開されている。

竹中先生のグループが、これらすべての研究で継続的に第一級の成果をあげていることは読者の皆さんもご存知のことと思うが、特に1に関しては、筆者が学生時代にその端緒となる研究に関わっていたため思い入れが強い。竹中先生は、九州大学においてこの研究をスタートし、世界で初めてDNAを電気化学的にラベル化することのメリットを示し、この分野を最初に切り開いた。その後、現在に至るまでトップランナーとして長きにわたり世界を牽引している。最近では、医歯工連携(産業医科大学、九州歯科大学など)を本格的に推進し、竹中研オリジナルの電気化学プローブ、およびそれを利用する分析技術が、舌がんの早期診断、歯周病診断、さらには、テロメラゼ、サイトカイン、バクテリアなどの電気化学分析に応用できることを示した。また、これらの研究成果を社会に還元すべく、ベンチャー企業を立ち上げるなど、その研究に対するエネルギーは枯渇することを知らず、不肖の弟子のひとりとして大いに刺激を受けている。研究成果を、世界に発信することに関して



写真2 左上：高速 AFM と竹中先生，左下：ITC，右：MALDI-TOF MS



写真3 右から竹中繁織先生，佐藤しのぶ先生，ゾウティンティン先生，著者

熱心に活動されており，特にアジア諸国の研究者を招聘し，国際シンポジウムを定期的に開催されている。

〈竹中研究室のぶんせき〉

竹中研究室の研究を成功させている要因は何なのか，また何が竹中研究室の研究をユニークたらしめているのか，甚だ僭越ながら独断で分析させていただくと，それは，竹中先生の1) 壁を作らない柔らかな思考に基づく多くの斬新なアイデアと2) それを実現する有機合成の力ではないかと感じている。加えて見逃せない要素がもうひとつ，3) 隙だらけの愛されキャラは竹中先生を特徴づける重要な要素であり，まずこれは共同研究を円滑に進めるのに間違いなく役立つ。また，無理難題を要求されるスタッフや学生を「自分がやらねば誰が…」という気にさせるし，また同時に(矛盾するようでもあるが)

息抜きできる余地を残す。竹中先生のリーダーシップ，それに佐藤先生とゾウ先生の相補的な専門性を生かした理想的な研究指導体制により，今後ますます素晴らしい成果を生み出すことが期待される。

〈第79回分析化学討論会@北九州〉

取材のちょうど一年後，2019年5月18日(土)，19日(日)の両日，竹中先生を実行委員長として，第79回分析化学討論会が開催される。会場は北九州国際会議場。ここは，特に遠方からの参加者には便利な会場で，JR小倉駅で新幹線を降りてわずか徒歩5分の場所にある。懇親会会場は駅前のリーガロイヤルホテル。講演申し込み締め切りは来年の1月16日(水)である。多くの興味深い主題討論も予定されているようである。分析化学に従事する多くの研究者，学生が，全国から九州に集うことを期待している。

〈おわりに〉

竹中先生は，筆者が大学院生のときに，九州大学工学部の高木研究室において研究を直接ご指導いただいた先生(当時は助手)であり，その後も親しく交流させていただいている。今回改めて研究室をつぶさに見せていただき，研究全体のお話をまとめて伺うことができて個人的にもたいへん興味深い取材となった。スタッフも充実し，今後のさらなる素晴らしい展開を期待したい。お忙しいところ，貴重な時間を割いて研究室の案内，説明をして下さった，竹中先生，佐藤先生，ゾウ先生，および研究室の学生の皆さんに感謝いたします。

〔熊本大学大学院先端科学研究部(工学) 井原敏博〕

竹中 繁 織 氏

(Shigeori TAKENAKA)
九州工業大学工学研究院 教授

1959年9月福岡県に生まれる。1982年九州工業大学環境工学科卒業。1985年九州大学総合理工学研究科博士後期課程中途退学。1985年九州大学工学部助手。1988年「ピリジン系N-メチリドとオレフィン類との1,3-双極性環状付加反応」により工学博士(九州大学)。1991年4月九州工業大学情報工学部助教授。1994年4月~1995年3月文部省在外研究員として米国ジョージア州立大学 W. David Wilson 教授に師事。1996年4月九州大学工学部転任。2005年九州工業大学工学部教授。本学会九州支部長、分析化学討論会実行委員長を歴任。2015年高分子学会三菱化学賞。2018年日本分析化学会「分析化学」論文賞。趣味は考古学。

【業 績】

四本鎖 DNA 構造を利用した新しい分析法の開発

竹中繁織氏は、四本鎖 DNA 構造形成に注目して分光学的及び電気化学的バイオセンシング法の開発を独創的なアプローチにより展開した。生体内のカリウムイオン、ナトリウムイオンを蛍光イメージングできる試薬を開発するとともに、癌マーカーとして知られているテロメラーゼの簡便な電気化学的検出法を開発し、口腔癌診断へ展開した。これらの成果は四本鎖 DNA 構造を巧みに利用することによって初めて実現できたものである。以下に同氏の主な業績の概要を2項目に分けて要約する。

1. 生体内のカリウムイオンまたはナトリウムイオンのレシオ型リアルタイム蛍光イメージング試薬の開発^{1)~11)}

生体内のカリウムイオン、ナトリウムイオンは膜電位の調節に重要な働きを担っており、脳や神経の活動に重要であることは古くから知られている。しかし、均一水溶液中でこれらアルカリ金属イオンを選択的にイメージングできる試薬は開発されていなかった。同氏は、グアニン(G)-リッチな DNA が四本鎖構造を形成する際にカリウムイオンによって安定化されることを明らかにし、これをカリウムイオンのレシオメトリー蛍光イメージングへ展開した。すなわち、四本鎖 DNA 形成可能な DNA 断片の両末端に蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)可能な色素対を導入したプローブを構築し、これがカリウムイオン存在下で四本鎖構造を形成して FRET が起こることを明らかにした。最終的に均一水溶液中で200倍以上のナトリウムに対するカリウム選択性を実現した。この試薬にビオチンを導入することによって細胞質に留め、アポトーシス過程における細胞からのカリウムイオン流出をリアルタイムでイメージングすることに世界で初めて成功した。更に糖鎖を介してこの試薬を細胞表面に局在化させることに成功し、細胞表面上でのカリウムイオン濃度変化のイメージングも世界に先駆けて成功している。同氏はこれらの試薬を potassium sensing oligonucleotide (PSO) と名付けている。

同氏は、更に DNA 配列による四本鎖構造の違いと DNA 配列の改変によってナトリウムイオンで効果的に四本鎖を形成する配列を見だし、FRET 色素対の導入によってナトリウムイオンを蛍光イメージングできる試薬、sodium sensing oligonucleotide (SSO) の開発に成功している。

本開発によって神経や脳の解析に加え、イオンチャネルを標的とした医薬品の安全性試験における有用なツールを提供できると期待される。

2. 電気化学的テロメラーゼアッセイを利用したがん診断チップの開発^{12)~20)}

細胞が癌化するとテロメラーゼと呼ばれるテロメア DNA を

伸長する酵素が発現するようになり、不死化する。従って、テロメラーゼ活性を検出することができれば癌診断が可能となる。しかし、テロメラーゼは不安定な RNA を含む複合タンパク質であるので簡便な検出法が期待されていた。

同氏は、これまでフェロセン化ナフタレンジイミド FND を利用した遺伝子の電気化学的検出法を世界に先駆けて開発し、癌関連遺伝子の検出を実現してきた。FND は縫込み型インターカレータであり、この性質を利用して DNA プローブ修飾電極と組み合わせ電気化学的 DNA チップを開発してきた。

最近、ナフタレンジイミドが四本鎖 DNA にも強く結合することが明らかとなってきた。同氏は、電子過剰な G-カルテットと電子欠乏性のナフタレンジイミドのスタッキング相互作用に着目し、より強く四本鎖構造に結合する FND 誘導体を見いだした。これを DNA 修飾電極と組み合わせ、テロメラーゼにより伸長された DNA がつくる四本鎖構造の検出に成功した。九州歯科大学口腔外科との共同研究により従来法に比べ高感度で、口腔内のブラッシングのみという非侵襲癌診断を可能にした。現在、様々な種類の癌に対する診断法に発展させている。

さらに同氏は環状ナフタレンジイミドが四本鎖構造に特異的に結合することを見いだした。四本鎖構造はテロメア DNA だけでなく癌遺伝子のプロモーター領域にも見いだされており、同分子がこれらの検出に有用であることを明らかにした。この環状ナフタレンジイミドにフェロセンを導入した電気化学活性リガンドは、それを実現する試薬として世界的に評価されている。

以上、竹中繁織氏は、四本鎖 DNA 形成促進を利用してカリウムイオンのレシオ型蛍光イメージング試薬 PSO の開発に成功した。さらに DNA 配列の改変によってナトリウムイオンの蛍光イメージング試薬 SSO の開発にも成功した。加えて四本鎖 DNA に対する電気化学活性リガンドによって高感度なテロメラーゼ活性検出を実現し、口腔癌の臨床診断へ展開した。これらの業績は分析化学の発展に貢献するところ大である。

(理化学研究所 前田瑞夫)

文 献

- 1) *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 14286 (2002).
- 2) *Anal. Bioanal. Chem.*, **375**, 1006 ('03).
- 3) *Angew. Chem.*, **44**, 5067 ('05).
- 4) *Spectrochimica Acta Part A*, **64**, 835 ('06).
- 5) *ChemBioChem.*, **7**, 1730 ('06).
- 6) *Anal. Chim. Acta*, **581**, 125 ('07).
- 7) *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 9871 ('08).
- 8) *Spectroscopy*, **24**, 325 ('10).
- 9) *Anal. Sci.*, **27**, 1167 ('11).
- 10) *ibid.*, **35**, 85 ('19).
- 11) *Chem. Commun.*, **48**, 4740 ('12).
- 12) *Anal. Chem.*, **72**, 1334 ('00).
- 13) *Nucl. Acids Res.*, **32**, e141 ('04).
- 14) *Anal. Chem.*, **77**, 7304 ('05).
- 15) *ibid.*, **84**, 1772 ('12).
- 16) *Clin. Chem.*, **59**, 289 ('13).
- 17) *Chem. Commun.*, **50**, 5967 ('14).
- 18) *Electroanalysis*, **28**, 503 ('16).
- 19) *J. Inorg. Biochem.*, **167**, 21 ('17).
- 20) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **27**, 329 ('17).



Application of naphthalene diimide in biotechnology

Shigeori Takenaka¹

Received: 3 August 2020 / Revised: 12 September 2020 / Accepted: 13 September 2020

© The Society of Polymer Science, Japan 2020

Abstract

Naphthalene diimide (NDI) is an electron-deficient, robust, and planar molecule. These characteristics make it highly applicable to electronic devices that take advantage of their electric character, for imide group-based supramolecular materials that utilize hydrogen bonding, or for sensing materials with a combination of functional groups. Water-soluble NDI binds to a DNA duplex via the threading intercalation mode. Such NDI has enabled the development of unique DNA analytical techniques, functional DNA polymers, and supramolecular polymers. A ferrocene-containing NDI, possessing electrochemically active sites, has been applied to an electrochemical gene detection system and utilized in the precision analysis of genes and single nucleotide polymorphisms. Recently, a DNA quadruplex was identified as one of the noncanonical DNA structures formed by a guanine quartet (G4). The latter serves as one of the control units of gene expression and is associated with cancer development. A stable complex was formed between electron-deficient NDI and the electron-rich G4 planes. Since the G4 stabilizer is recognized as an anticancer agent with relatively few side effects, NDI derivatives may serve as potential candidates for anticancer therapeutics or for designing a unique cancer-detection system.

Introduction

Naphthalene diimide (NDI, Fig. 1a) is a thermally stable, robust, and electron-deficient aromatic planar molecule that shows reversible reduction and oxidation (redox) reactions. NDI has been utilized as a flexible display for an n-type semiconducting material, field effect transistor, or solar energy converter by using its photoinduced electron transfer character [1–3]. Supramolecular formation and its applications using imide moieties take advantage of hydrogen bonding, the π -stacking ability of the aromatic plane, van der Waals interactions, or their combinations [1–3]. Water-soluble NDI is known to bind to the DNA duplex with the help of threading intercalation, wherein NDI inserts between adjacent base pairs [4]. The core part of the DNA duplex forms hydrophobic base pairs, and unwinding of this duplex creates space to accept the aromatic moiety. During intercalation, one of the substituents connected to the amide parts of NDI passes through the adjunct base pairs, and the two NDI substituents project forward from the major and

minor grooves. The term “threading intercalation” is derived from such a binding process [5]. These substituents act as anchors and stabilize the NDI-DNA duplex complex. DNA analysis has been performed to achieve supramolecular DNA polymers owing to their unique binding manner [2]. Recently, DNA quadruplexes have been identified as a noncanonical DNA structure formed by a guanine (G)-quartet and are one of the control units associated with cancer progression. The G-quartet structure is found on telomere DNA at the termini of chromosomes or on the regulatory parts of tumor-associated genes, thus gaining popularity among anticancer therapeutics [6]. The G-quartet structure in DNA is formed by consecutive folding of four Gs via hydrogen bonding [7]. Guanine has the lowest oxidation potential and is easy to oxidize; it accepts one electron from NDI, and thus, charge transfer is expected between NDI and G-quartet planes to form a stable complex in this interaction [8]. This review briefly focuses on research conducted on the interaction between NDI and DNA quartets so far. Tables 1 and 2 show the functionalized NDI derivatives developed by Takenaka’s group along with some physical data.

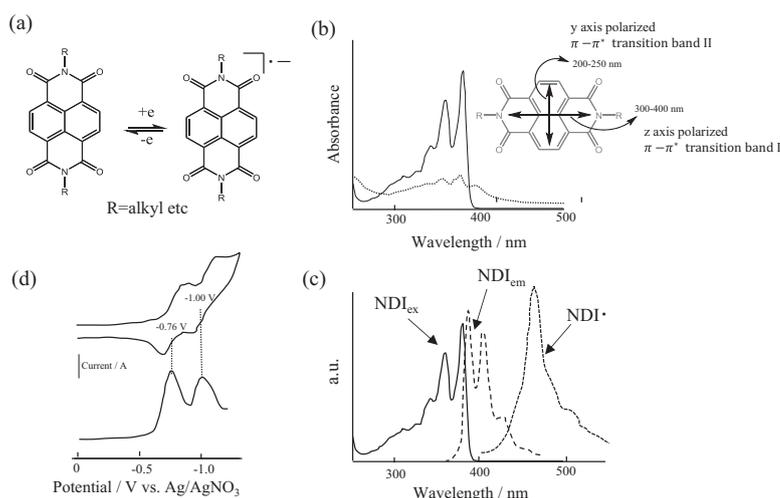
✉ Shigeori Takenaka
shige@che.kyutech.ac.jp

¹ Department of Applied Chemistry, Kyushu Institute of Technology, Kitakyushu 804-8550, Japan

Characteristics of NDI

NDI is a robust electron-deficient planar molecule with reversible redox activity. It has D_{2h} point group symmetry

Fig. 1 (a) Chemical structure of naphthalene diimide, NDI, and its reductant. (b) Expected electronic transition spectra of NDI in polar (solid line) and apolar (broken line) solvents and the electronic transition direction of π - π^* transition bands I and II. (c) Expected excitation (solid line) and emission spectra (broken line) of NDI with the emission spectra of its reductant. (d) Expected cyclic (upper panel) and differential pulse voltammograms (lower panel) of NDI



and exhibits electronic transition dipoles along its long and short axes [9]. The electronic transition at 300–400 nm (band I) along the long axis and the electronic transition at 200–250 nm (band II) along the short axis are due to the $\pi \rightarrow \pi^*$ transition of $S_0 \rightarrow S_1$. Figure 1b shows the typical spectral pattern of NDI, with absorption and emission maxima at 383 and 390 nm, respectively. The Stokes shift of this spectrum is 7 nm, and its fluorescence lifetime is 20 ps [10]. The one-electron reductant shows emission at 473 nm [9]. NDI with R-alkyl moieties exhibits intermolecular stacking and aggregate formation in crystal or apolar solvent states, where broad absorption is observed over 400 nm (Fig. 1c) [11]. Figure 1d shows the expected cyclic and differential pulse voltammograms of NDI; the molecule accepts one electron each at redox potentials of approximately -0.76 and -1.00 V [12]. This reduction is reversible, and this property is exploited for free-electron carrying to permit functioning in n-type semiconducting materials [1, 2].

Interaction of NDI with DNA duplex

NDI, possessing dimethylaminoethyl moieties on its imido groups, (NDI-DM) dissolves in neutral buffer, where it behaves as a divalent cation [4]. This molecule disperses in its monomer form at the micromolar level. NDI-DM shows an absorption maximum at 383 nm (Fig. 2a and Fig. 1a), and a large hypochromic effect and small redshift are observed upon the addition of sonicated calf thymus DNA, with an isobestic point (Fig. 2a). The redshift is derived from exciton interaction, e.g., two chromophores between NDI-DM and nucleic base pairs show stacking interactions, and two energy levels are formed by Davydov splitting. The lower energy level becomes an allowed transition, and thus, the absorption peak shifts towards longer wavelengths. Additionally, NDI-DM and nucleic base pairs are stacked

with each other, they are neutralized, and the sum of transition moments becomes diminished. Since its square is correlated with the oscillator strength (absorption intensity), a hypochromic effect is observed in this system. The threading intercalation mode of NDI-DM with the DNA duplex is shown in Fig. 2c, d, which is in agreement with the spectral behavior. Threading intercalation of NDI was demonstrated with cyclic bis-NDI by Iverson's group [13]. The binding behavior of the NDI-DM with a DNA duplex was analyzed by evaluating the spectral change of NDI chromophore upon addition of the DNA duplex. The isobestic point indicated the existence of only two states between the unbound and bound forms (Fig. 2a). The absorption change at a specific wavelength upon the addition of DNA gives a binding ratio under various DNA concentrations (binding affinity, K , and binding site size, n , which means how many base pairs are bound to a single molecule of NDI) and is obtained with this spectral change by Scatchard analysis using McGhee and von Hippel theory, as shown in the following equation [14].

$$\frac{\nu}{c} = K(1 - n\nu) \left(\frac{1 - n\nu}{1 - (n-1)\nu} \right)^{n-1}$$

Here, n is the maximum number of NDI molecules bound to dsDNA per base pair, c is the free NDI concentration, K is the observed binding constant, and ν represents the moles of NDI bound per base pair. McGhee and von Hippel also developed the equation under cooperative interaction including the cooperative parameter ω [14]. The concentration of sonicated calf thymus polymeric DNA was estimated per base pair. Ordinary NDI derivatives have a binding constant on the order of $\sim 10^5 \text{ M}^{-1}$, and n is two, which is in agreement with the excluded-site model [5]. The binding constant was also determined using the

Table 1 Electroactive naphthalene diimide derivatives synthesized by Takenaka's group

Chemical structure	Target	Affinity (10^{-5} K/M ⁻¹)	$E_{1/2}^{\text{red}}$ vs. Ag/AgCl	Other
	dsDNA	1.8 ^{a,f}	0.45	
	G4	4.8 (TA-core) ^{b,f}		
	dsDNA	1.3 ^{a,f}	0.25	
	G4	2.5 (TA-core) ^{b,f}		
	dsDNA	57 ^{a,f}	0.21	
	G4	87 (TA-core) ^{b,f}		
	dsDNA	0.4 ^{a,f}	0.47	Electroactive hybrid indicator
	G4	7.6 (TA-core) ^{b,f}		
	dsDNA	0.3 ^{a,f}	0.26	
	G4	7.6 (TA-core) ^{b,f}		
	dsDNA	8.7 ^{a,f}	0.22	
	G4	4.8 (TA-core) ^{b,f}		
	dsDNA	1.1 ^{a,f}	0.41	
	G4	4.8 (TA-core) ^{b,f}		
	dsDNA	11.0 ^{a,f}	0.42	
	dsDNA	0.9 ^{a,f}	0.4 (±dsDNA)	Electroactive hybrid indicator and SUPRAMOLECULAR complex
	dsDNA	0.7 (w = 4, w = 14) ^{a,f}	0.45	
	G4	Electrochemical preference ^a	0.23	Electroactive G4 indicator
	G4	Electrochemical preference ^a	0.26	
	G4	1.5 (TA-core) ^{b,g} 8.7 (c-rmyc) ^{b,g}	0.22	Electroactive G4 indicator
	dsDNA			

^a0.1 M AcOH–AcOK buffer (pH 5.5), 0.10 M KCl, 25 °C

^b0.1 M AcOH–AcOK buffer (pH 5.5), 0.10 M KCl, 30 °C

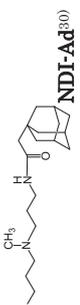
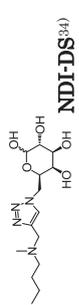
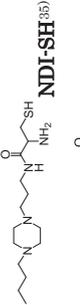
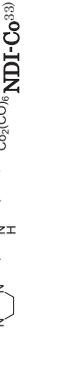
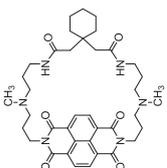
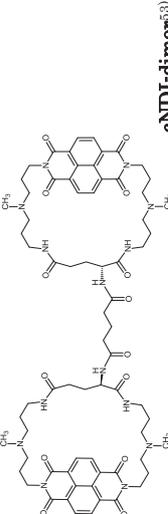
^c10 mM MES buffer, 1.0 mM EDTA (pH 6.2) 0.1 M NaCl, 25 °C

^d50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.1 M KCl, 25 °C

^e50 mM KH₂PO₄–K₂HPO₄ (pH 7.0), 25 °C

 Affinity was obtained from absorption^f or ITC^g change

Table 2 Functionalized naphthalene diimide derivatives synthesized by Takenaka's group

Chemical structure	Target	Affinity (10^{-5} K/M $^{-1}$)	Other
			
	dsDNA	1.0 ^{a,e}	Supramolecular complex
	dsDNA	0.5 ^{a,e}	Nanowire
	dsDNA	5.1 ^{a,e}	Molecular stapler
	dsDNA	0.5 ^{a,e}	IR active
	G4	15 (α-core) ^{a,f} no binding (double stranded DNA) ^{a,f}	G4 selective ligand
	G4 cluster	10 ^{b,f}	G4 cluster ligand

^a10 mM MES buffer, 1.0 mM EDTA (pH 6.2) 0.1 M NaCl, 25 °C^b50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.1 M KCl, 25 °CAffinity was obtained from absorption^e or ITC^f change

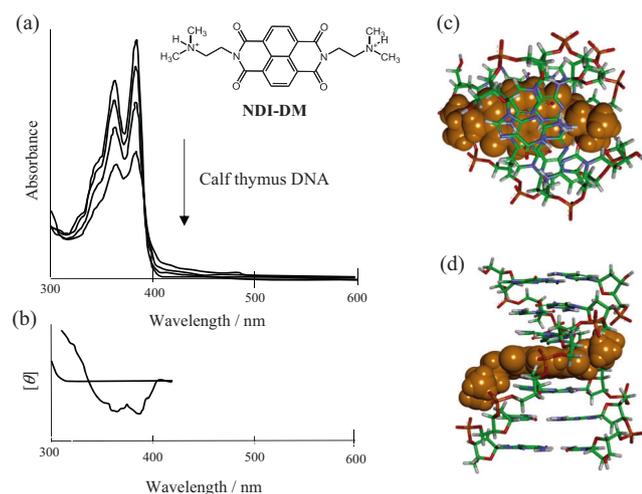


Fig. 2 (a) Chemical structure of NDI bearing dimethylaminoethyl moieties, **NDI-DM**, and its electron transition spectra upon addition of sonicated calf thymus DNA (from upper to lower panels) and (b) circular dichroism (CD) spectra of sonicated calf thymus DNA in the absence or presence of the **NDI-DM**. Side view (c) and top view (d) of the molecular modeling of the DNA duplex- **NDI-DM** complex showing the threading mode of intercalation

isothermal titration calorimetric (ITC) technique because of the heat change observed after the interaction between NDI derivatives and DNA [15].

The kinetics of the threading intercalation of the **NDI-DM**-DNA duplex are measured as the absorption change of stopped-flow instruments, implying a slow process compared with the classical intercalating agent ethidium bromide. It is known that the association and dissociation rate constants are $k_a = 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ and $k_d = 0.1 \text{ s}^{-1}$, respectively; thus, the binding constant obtained from $K = k_a/k_d = 10^6 \text{ M}^{-1}$ is in agreement with the value from Scatchard analysis [5]. The binding of **NDI-DM** to the AT polymer DNA poly[d(A-T)]₂ is relatively slower than that seen in the GC polymer DNA poly[d(G-C)]₂. In contrast, the dissociation of **NDI-DM** from poly[d(G-C)]₂ is slower than that from poly[d(A-T)]₂ and gives a similar binding affinity between AT and GC polymers, resulting in no nucleic base selectivity [5].

The DNA duplex is a chiral polymer known to generate negative and positive Cotton effects at 240 and 260 nm, respectively, as recorded in the circular dichroism (CD) spectra. After being bound to the DNA duplex with threading intercalation, **NDI-DM** shows a negative CD signal at ~383 nm, even in achiral molecules (induced CD, Fig. 2b). This signal is due to stereochemical constraints under the chiral environment of the DNA duplex [4].

The threading intercalation of **NDI-DM** with the DNA duplex also causes unwinding of the DNA helix. This behavior was demonstrated by an unwinding experiment using supercoiled plasmid DNA, and the unwinding angle is 14° with an ordinary intercalator such as acridine [16].

Ferrocenyl naphthalene diimide (FND) derivatives

A series of NDI derivatives bearing ferrocene moieties at the substitution termini of the amido groups (**FND1-8**) was synthesized by Takenaka's group (Fig. 3a) [17]. These derivatives were observed to bind to a DNA duplex with a binding constant of 10^5 – 10^6 M^{-1} . While FNDs have no nucleic base selectivity, they have a higher preference for DNA duplexes over single-stranded DNA. Takenaka's group has developed an electrochemical gene detection technique that exploits FND coupled with a DNA probe-immobilized electrode [17]. This concept is shown in Fig. 3b: (i) The DNA probe (DNA fragment containing a sequence complementary to the DNA of interest) is immobilized on the electrode. (ii) In the next step of hybridization, the electrode is dipped into a solution containing a mixture of DNA fragments extracted from the sample and is heated and subsequently cooled slowly. When target DNA is present in this sample, a DNA duplex is formed with the DNA probe on the electrode. This electrode generates a potential in the electrode containing FND, and a redox current is observed. A redox peak based on ferrocene is observed in cyclic or differential pulse voltammograms. Since the intensity of the peak current depends on the amount of DNA duplex, the amount of target DNA in the sample is indirectly used to estimate this intensity. One FND molecule binds to the DNA duplex per two base pairs, and the increased DNA duplex formation drives the current, resulting in subpicomolar concentration detection. Takenaka's group measured the current before hybridization and estimated the amount of DNA immobilized on the electrode. Since FND behaves as a divalent cation in an acidic electrolyte and DNA is a polyanion, the current obtained here is expected to correlate with the amount of DNA immobilized at the electrode, and these values could be used as a nominalization of the individual DNA-immobilized electrode. Thus, one can estimate the amount of hybridized DNA per amount of DNA probe immobilized at an individual electrode. Takenaka's group has reported electrochemical gene detection as an application of the FND-based electrochemical hybridization assay [18–25].

In particular, since FND intercalates adjacent base pairs of the DNA duplex, it does not bind to mismatched base pair sites or within the neighborhood owing to steric constraints [18]. Mismatched bases such as single nucleotide polymorphism (SNP) are employed for detection using this system. This system not only permits simple mismatched DNA detection but also allows discrimination between heterozygous and homozygous conditions [19–21, 23]. With this system, SNPs of the lipoprotein lipase gene were successfully detected, with discrimination of heterozygous and homozygous states [19, 20]. This system has also been applied to multi-electrodes as an electrochemical DNA chip [26].

Fig. 3 Concept of the electrochemical hybridization assay using **FND1-8**, as shown in Table 1

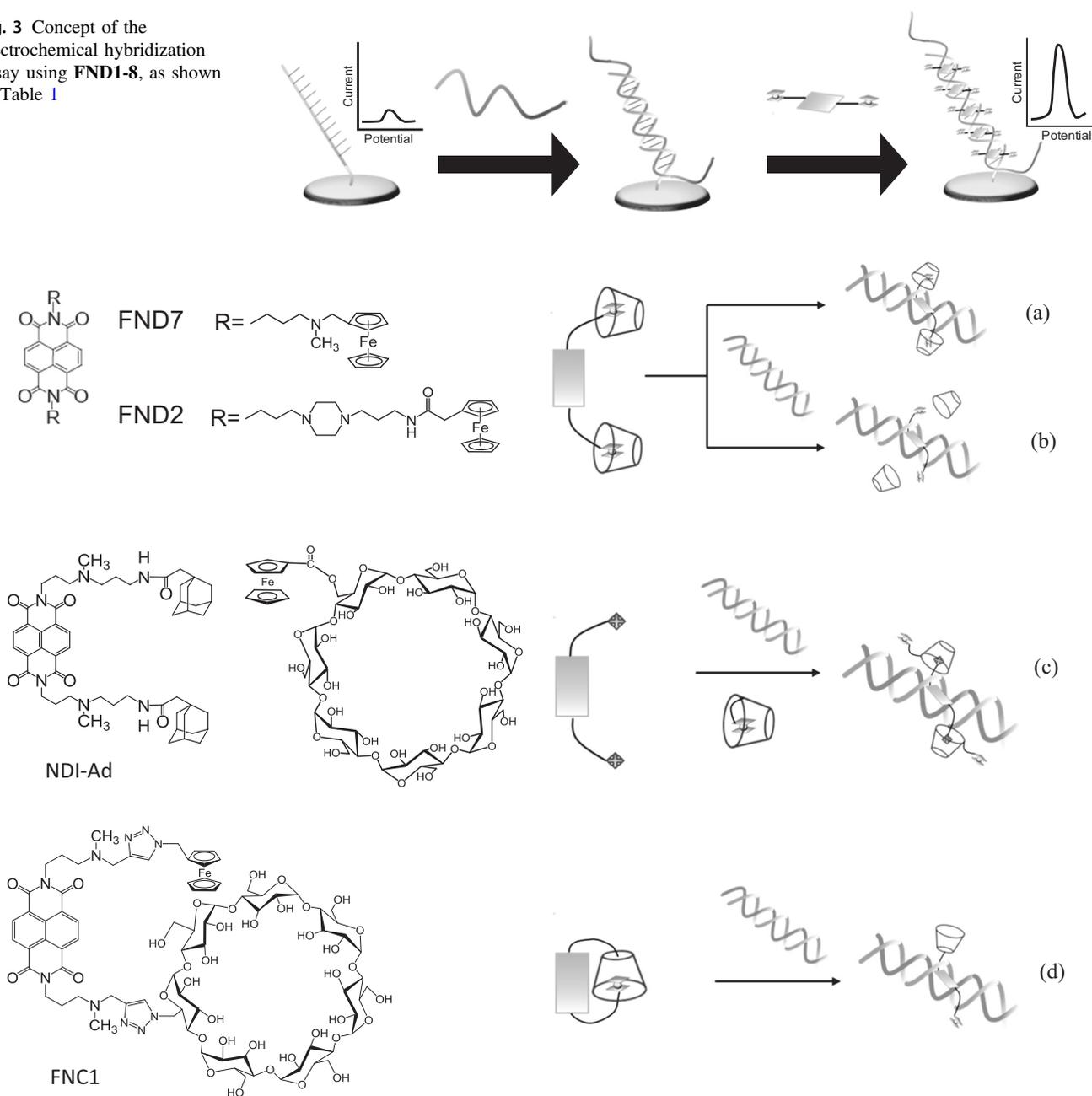


Fig. 4 Electrochemical DNA detection based on supramolecular formation: (a) Stabilization of the **FND7**-DNA duplex complex with β -cyclodextrin (β -CD), (b) collapse of the β -CD-**FND2** complex after threading intercalation, (c) complex formation of the DNA duplex with adamantyl NDI (**NDI-Ad**) and subsequently with ferrocenyl

cyclodextrin (**Fc- β -CD**), and (d) electrochemical detection of the DNA duplex with FND bearing β -CD (**FNC1**) under homogenous medium (collapse of the intramolecular inclusion complex of **FNC1** after its DNA duplex binding)

Takenaka's group synthesized FND derivatives possessing variable linker lengths and/or connecting parts of ferrocene (Fig. 3a) [27]. The redox potential of FND varies depending upon the electron-donating or electron-withdrawing character of the part connecting to ferrocene; the strong electron-donating character of FND causes its redox peak to appear at a more negative potential. Furthermore, an NDI derivative bearing four ferrocene

moieties, **FND8** (Table 1), was synthesized, with possible applications to electrochemical gene detection [28].

Supramolecular gene detection combined with NDI, ferrocene, and/or β -cyclodextrin

β -Cyclodextrin (β -CD) is a hydrophobic molecule bearing lipophilic pockets and can include lipophilic molecules of a

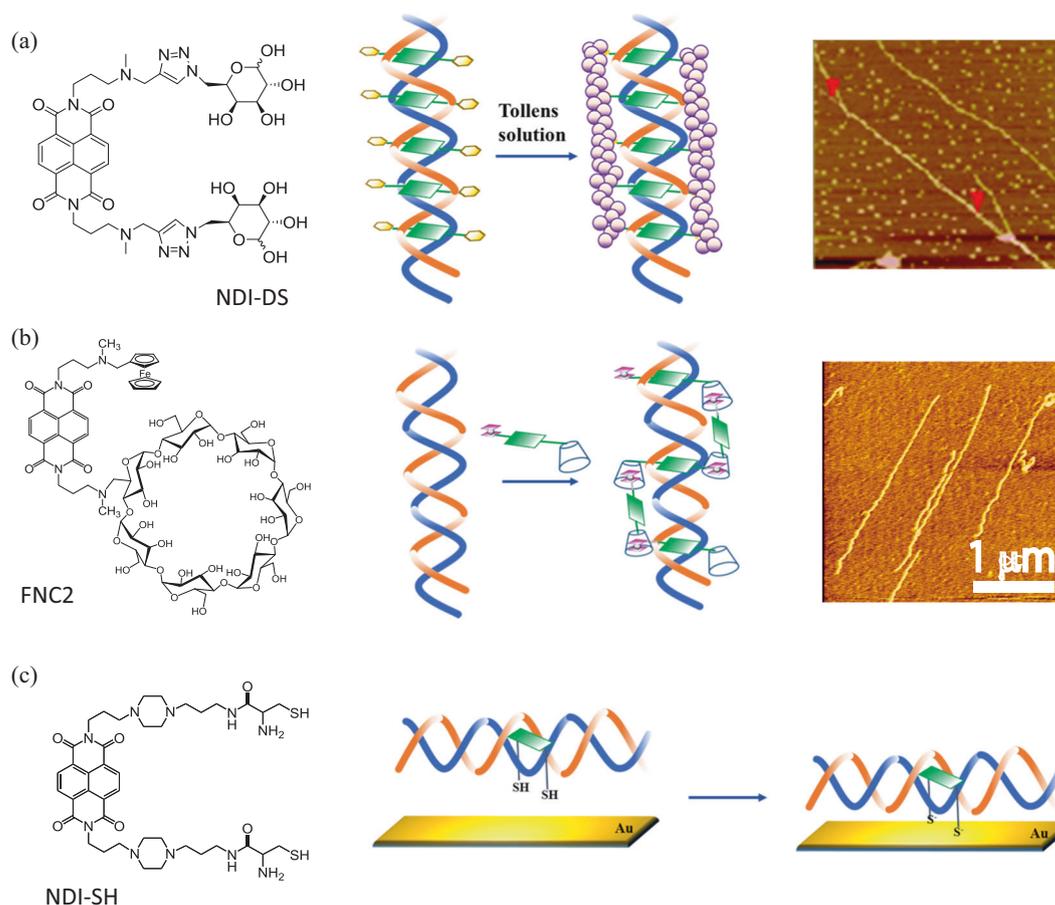


Fig. 5 (a) Silver nanowire formation of the DNA duplex binding of NDI bearing glucose units (**NDI-DS**) and subsequently Tollens' reaction. (b) Nanorod formation of the DNA duplex with **FNC2**. (c)

Immobilization of bare DNA duplex with NDI bearing thiol units, **NDI-SH** (molecular stapler)

suitable size, such as ferrocene or adamantane. The complex formation constant of β -CD with ferrocene is 10^3 M^{-1} . FND binds to the DNA duplex via threading intercalation, and thus, the ferrocene groups of FND are located on the major and minor grooves of the duplex. When β -CD caps these ferrocene moieties on the DNA grooves, further stabilization of the FND-DNA duplex complex is expected. This behavior was achieved by **FND7**, which bore a relatively short linker chain (Table 1 and Fig. 4a) [29]. Since the ferrocene unit of FND is hard to oxidize when included within β -CD, diminished and positively shifted peak currents were observed. An improved detection limit was achieved by this stabilized complex despite the disadvantage in the electrochemical detection system. On the other hand, it is known that β -CD includes adamantane with a higher complex formation constant (10^4 M^{-1}) than that of ferrocene. Therefore, ferrocenyl β -CD (**Fc- β -CD**) can include adamantane, and its ferrocene group protrudes after coupling with adamantane. Based on this behavior, NDI derivatives bearing adamantane, i.e., **NDI-Ad**, were

synthesized. A novel electrochemical DNA detection system was constructed with **NDI-Ad** and **Fc- β -CD**. Target DNA was allowed to hybridize with the DNA probe, and **NDI-Ad** bound to the DNA hybrid region and the subsequently capped adamantane moieties with **Fc- β -CD**. In this process, the ferrocene part of **Fc- β -CD** protruded after including **NDI-Ad** bound to the DNA duplex region, resulting in the generation of an electrochemical signal from the ferrocene group (Table 1 and Fig. 4c). When this process was performed at the electrode, a new electrochemical gene detection strategy was achieved [30].

Interestingly, **FND2** bearing linker chains was included within β -CD. However, β -CD protruded upon binding of **FND2** with the DNA duplex. This behavior resulted in an increased current with a shift to negative potentials and allowed electrochemical discrimination between the duplex and single-stranded DNA under homogenous media conditions. Homogenous electrochemical detection of the DNA duplex was achieved by voltage shift as an index (Table 1 and Fig. 4b). Finally, electrochemical real-time PCR was

carried out using this system as an example of the periodontal disease bacterium *Porphyromonas gingivalis*, and the detection limit of this system was 2.7 nM, with signal linearity from a lower PCR cycle number than that in the case of ordinary PCR using SYBR Green [31]. Electrochemical gene detection may be achieved by a system where intramolecular inclusion of the β -CD-ferrocene complex collapses after DNA duplex binding. An NDI derivative bearing ferrocene and β -CD, **FNC1**, was synthesized to implement this idea [32]. The intramolecular inclusion complex of ferrocene with a β -CD group was observed, and compared to that of ferrocene alone, the redox current of FNC1 decreased, with a positive potential shift (Table 1 and Fig. 4d). **FNC1** exhibited a reduced binding affinity of 10^5 M^{-1} with $n = 2$, driven by DNA binding after collapse of the intramolecular complex. Thus, signal-on electrochemical detection of PCR products, which have the potential for greatly improved sensitivity because of zero background signal, was achieved under a homogeneous electrolyte.

NDI bearing a dicobalt hexacarbonyl complex at the substituent termini

NDI binds to the DNA duplex via a threading intercalation mode and forms a stable complex. FND binds to the DNA duplex every two base pairs and can be regarded as a one-dimensional ferrocene array that traces the DNA duplex. On these grounds, NDI provides a tool to sequentially arrange a variety of functional molecules on a one-dimensional DNA duplex. The complex dicobalt hexacarbonyl is known to be stable in water and is an infrared (IR)-active compound, showing typical absorption at $2100\text{--}2020 \text{ cm}^{-1}$, which does not overlap with the IR absorption for any living organism. Thus, a DNA duplex can enable the IR absorption intensity to be detected using this derivative. Takenaka's group synthesized NDI bearing a dicobalt hexacarbonyl complex at the substituent termini, **NDI-Co** (Table 2) [33]. This NDI derivative had a binding constant order of 10^6 M^{-1} , with a site size of 2. Fourier transform infrared reflection-absorption spectroscopy of the DNA probe-immobilized gold surface was performed before and after hybridization with sample DNA. The IR absorption intensity at $2100\text{--}2020 \text{ cm}^{-1}$ was increased as the amount of target DNA increased [3]. Since this IR absorption is silent in living cells, this system can be applied to IR imaging of DNA duplexes in vivo.

DNA nanowire and DNA rod using NDI

In the use of NDI bearing glucose as the reducing sugar (**NDI-DS**), glucose is unidimensionally arranged on the

DNA duplex surface. **NDI-DS** has a binding constant of 10^6 M^{-1} ($n = 2$), and since the DNA duplex bound to **NDI-DS** is treated by Tollens' reagent, silver nanowires should form a DNA duplex template (Table 2 and Fig. 5a) and be converted to gold nanowires [34]. DNA functions as a bridge between the two electrodes using a microfluidic system, and nanowires can be formed using Tollens' reagent. Since **NDI-DS** does not form a stable complex with single-stranded DNA, only the DNA duplex is expected to convert to the nanowire. Yasuda et al. achieved a nuclease detection system using microelectrode-bridged single-stranded DNA with DNA duplex control and subsequent nanowire formation [35]. **FNC2** bound to the DNA duplex with a binding constant of 10^5 M^{-1} , binding site size of 4, and positive cooperative binding (the cooperativity parameter is 14). AFM measurement of linear plasmid DNA recorded rod-shaped DNA or nanorods after treatment with **FNC2** (Table 1 and Fig. 5b). This outcome might have been driven by the intermolecular inclusion of ferrocene within β -CD of **FNC2** bound to the DNA duplex every four base pairs [36].

Immobilization of the DNA duplex by NDI as a molecular staple

Thiol or disulfide adsorbs to bare gold surfaces to form a strong bond in the process of chemisorption. DNA immobilization on a gold electrode has been carried out between the thiolated oligonucleotide and the pretreated gold surface. This behavior has been analyzed in detail by Steel and Tarov [37]. NDI bearing dithiolane or thiol moieties at the substituent termini (Table 2) binds to the DNA duplex via threading intercalation mode, where it is projected outwards from its major and minor grooves. When the gold surface was treated with this complex, both dithiolane or thiol moieties were bound to the gold surface, and the DNA duplex was also immobilized topologically, where the DNA duplex was not immobilized directly. On the other hand, the DNA duplex was fixed on the surface to be stapled on the gold surface, as shown in Fig. 5c. The use of **NDI-SH** should support the general method to immobilize bare DNA duplexes on a gold surface. The DNA probe connected to the DNA duplex region was immobilized on the gold electrode, and the target DNA was detected by the DNA probe part using an FND-based hybridization assay [38, 39]. Using a longer DNA duplex region to be immobilized on the gold electrodes gives a greater number of immobilization sites (a large number of **NDI-SH** sites are concentrated in the DNA duplex region) and helps to achieve robust DNA immobilization.

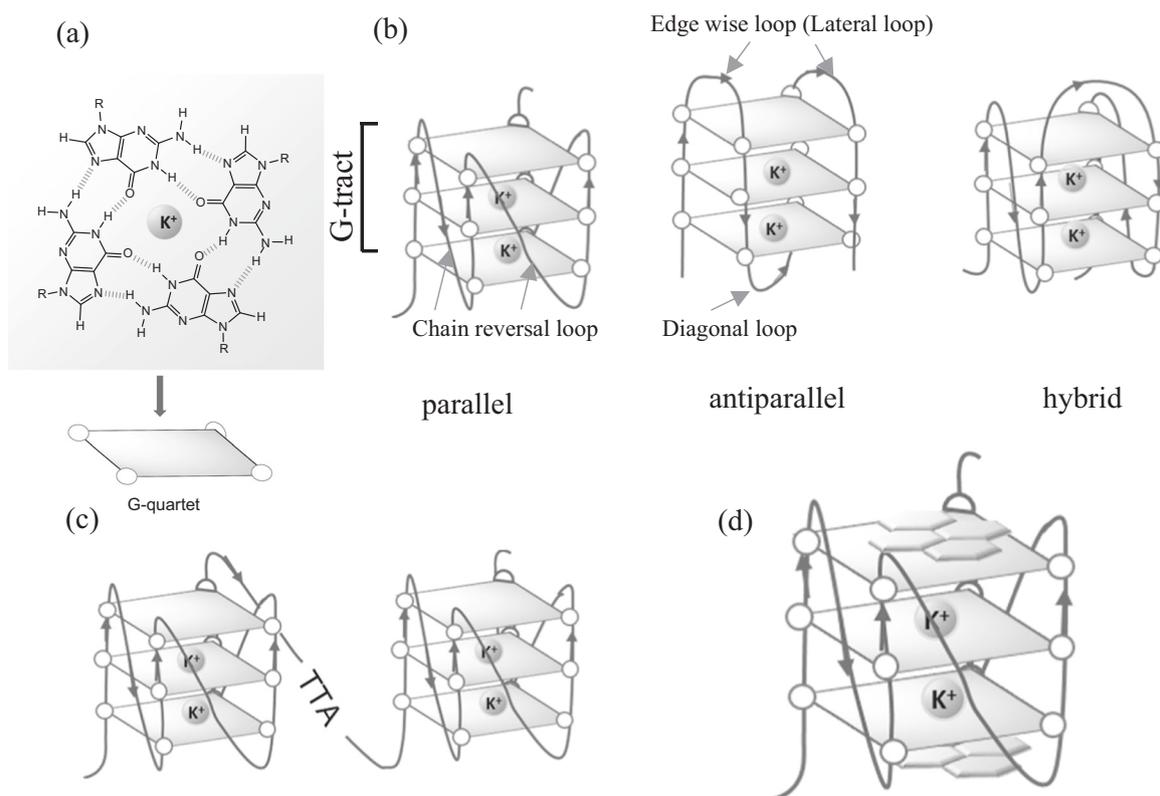


Fig. 6 (a) Image of the G-quartet. (b) Various DNA quadruplex structures. (c) DNA quadruplex cluster. (d) Stacking model of NDI with a DNA tetraplex from an X-ray crystal structure reported by Neidle's group [42]

DNA quadruplex detection by NDI derivatives

DNA fragments containing guanine (G) contiguous sequences form quadruplexes through the G-quartet (Fig. 6a) plane via hydrogen bonding of four guanine bases. This phenomenon has been observed at the telomere repeating sequence of the chromosomal termini (TTAGGG repeating sequence in the case of humans) [40]. Different structures of quadruplex DNA are shown in Fig. 6b; the hybrid type quartet exists in the human telomere DNA tetraplex [40]. Recently, such a structure was observed at the promoter region of the cancer gene. The stabilization of such structures is anticipated to be effective as a novel cancer treatment strategy [41]. Since NDI is an electron-deficient aromatic molecule and the G-quartet provides an electron-rich aromatic plane, a stable stacking interaction is observed between these molecules. Thus, NDI is expected to be an effective ligand for the DNA tetraplex, and many reports support this theory [42]. The expected stacking interaction manner is demonstrated by an X-ray crystal structure of the DNA tetraplex and NDI derivative bearing the four substituents (Fig. 6d) [43]. FND binds to the DNA tetraplex with high affinity, facilitating electrochemical detection of the DNA tetraplex. Electrochemical telomerase

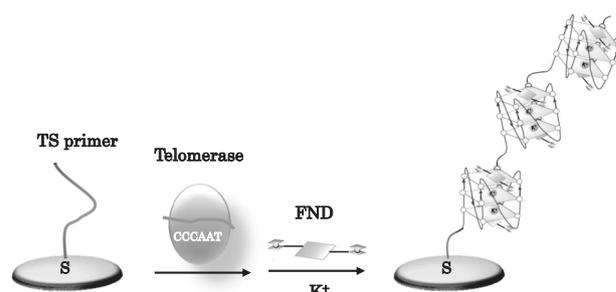


Fig. 7 Principle of the electrochemical telomerase assay (ECTA) using FND

assays were conducted with elongated telomeric DNA using **FND7** (Table 1) [44, 45]. Takenaka's group tested all FND derivatives suitable for the electrochemical telomerase assay, and **FND3** was revealed to be the most effective probe in this system. Since cancer cells harbor telomerase activity, cancer diagnosis is possible using this electrochemical telomerase assay. The principle of this system is shown in Fig. 7. A TS (telomerase substrate)-primer is immobilized on the electrode through Au-S chemisorption. The protein fraction extracted from the sample cell is

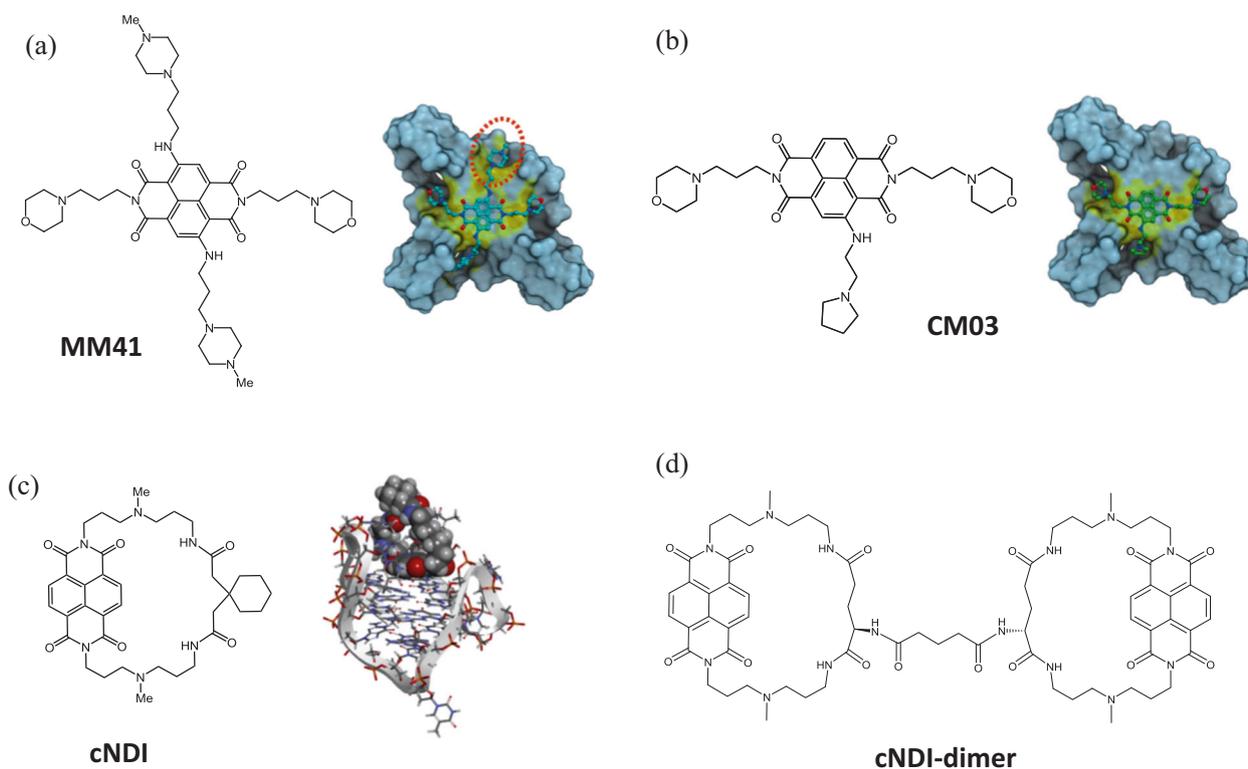


Fig. 8 Chemical structure of the tetra- or trisubstituted (a) **MM41** or (b) **CM03** with its DNA quadruplex model [47] (c) Typical example of **cNDI** with its DNA quadruplex model (d). Chemical structure of the **cNDI dimer** with the expected recognition of the G-quadruplex cluster. Water-soluble Naphthalene diimide (NDI) binds to the DNA duplex via threading intercalation mode. This has provided unique DNA analytical techniques, functional DNA polymers, and

supramolecular polymers. Especially the ferrocene-containing NDIs, having electrochemically active sites, has been applied to an electrochemical gene detection system and also utilized in the precision analysis of genes and single nucleotide polymorphisms. Recently, NDI derivatives have been recognizing as potential candidate for anticancer therapeutics and for designing a unique cancer-detection system

dropped on this sensor electrode. When this fraction possesses telomerase activity, the TS primer elongates on the electrode. The electrochemical measurement of the electrode was measured in an electrolyte containing KCl and **FND3**, where the elongated DNA formed the DNA tetraplex. **FND3** was bound to the DNA tetraplex, and **FND3** was concentrated on the electrode. The current increased with an increase in the amount of **FND3**, amount of DNA tetraplex formation, or telomerase activity mass. Oral cancer diagnosis employing this technique has been accomplished as collaborative research with Kyushu Dental University [46, 47].

Furthermore, NDI bearing two substituents binds to the DNA duplex with threading intercalation and requires discrimination between the DNA duplex and DNA tetraplex. Neidle's group synthesized NDI derivatives bearing tri- (**CM03**) or tetra-substituents (**MM41**) that showed improved preference for the DNA tetraplex (Fig. 8a, b) [48]. This result can be ascribed to the inhibition of DNA duplex binding in the presence of steric hindrance due to additional substituent(s) and to the anchoring of substituents located at

the four grooves of the DNA tetraplex. Neidle's group also demonstrated that trisubstituted NDI, **CM03**, is effective for the detection of pancreatic ductal adenocarcinoma [48]. Takenaka's group synthesized tetrasubstituted NDI, **tFND1**, and **tFND2** (Table 1 and Fig. 3a), which exhibited increased preference for the DNA tetraplex over duplex and were applied to the electrochemical telomerase assay [49].

Enhancing the preference for DNA tetraplex was achieved with cyclic NDI, **cNDI** (Table 1 and Fig. 8c) [50]. The **cNDI** derivative was synthesized by linkage between the two substituents from the amide parts of NDI, as shown in Table 2, and it inhibits the threading intercalation for the DNA duplex with the linkage chain, whereas **cNDI** binds to the DNA tetraplex through the stacking G4-tetraplex interaction. On the other hand, **cNDI** leads to an observed DNA tetraplex preference by binding to the DNA tetraplex with similar binding affinity for noncyclic NDI, but **cNDI** only diminishes the binding affinity for the DNA duplex. This strategy has been extended to perylene diimide (**PDI**), which shows a higher preference for the DNA quadruplex [51]. To estimate the binding parameters of **cNDI** for the

DNA tetraplex and duplex, spectroscopic titration and Scatchard analysis were carried out. **cNDI** had an absorption maximum at 383 nm, and large hypochromic and small redshifts were observed upon addition of the DNA tetraplex. The binding constant and binding number values were estimated to be 10^6 M^{-1} and 2, respectively, and were in agreement with those for the DNA duplex. This result indicates that the effect of the NDI linker chain is not dominant for DNA tetraplex binding. In contrast, the absorption spectra of **cNDI** displayed only a small decrease in absorption intensity. Here, although hard to estimate, the binding affinity constant was roughly estimated to be on the order of 10^4 M^{-1} by Benesi-Hildebrand analysis. To obtain binding affinity parameters for the DNA tetraplex and duplex more precisely, the ITC technique was applied in this system. Consequently, the observed binding affinity for the DNA tetraplex was similar to that achieved by Scatchard analysis. However, a significant heat change was not achieved for the DNA duplex. These results suggested that the selectivity for the DNA tetraplex was 100 times higher than that for the DNA duplex. The binding site size in the binding of **cNDI** with the DNA tetraplex was two, indicating that **cNDI** bound to the DNA tetraplex from the upper and lower sites. The introduction of ferrocene to **cNDI** was expected to facilitate electrochemical DNA tetraplex detection. Takenaka's group synthesized **cFND** (Table 1, Fig. 3a) and demonstrated an improved preference for the DNA tetraplex, with a binding constant on the order of 10^6 M^{-1} , and successfully achieved electrochemical detection of the DNA tetraplex [52].

Recently, the significance of high-level gene regulation was revealed by a cluster similar to a telomere G4 repeat in the chromosomal DNA tetraplex. Specific ligands for DNA tetraplex clusters are important for regulating or analyzing such G4 cluster regions (Table 2). Takenaka's group also synthesized **cNDI dimer** bearing varied linker lengths, which are expected to stabilize such DNA quadruplex clusters (Table 2, Fig. 8d) [53].

Conclusion

In this review, water-soluble NDI derivatives were discussed in the context of their DNA binding behavior and functions. These techniques enable electrochemical detection or IR analysis. With these NDI derivatives, DNA nanowires or DNA nanorods were prepared as examples of functionalized DNA duplexes. Recently, it has been shown that NDI derivatives are good candidates for functionalized ligands for DNA tetraplexes. The application of NDIs will enable the use of DNA tetraplexes as analytical tools or approaches that are based on telomerase activity or cancer diagnosis using drugs with

fewer side effects. Although NDI molecules have been studied in the past in the context of electronic materials or light conversion materials, the future foresees their use in the field of biotechnology.

Acknowledgements ST appreciates the significant contribution made by the researchers who appear in the reference papers of Takenaka's group. ST thanks Dr. Zou Tingting for preparing a conceptual diagram of figures according to his idea and thanks Dr. Satoshi Fujii for the molecular modeling simulation of the threading intercalation complex in Fig. 2c, d. Finally, ST thanks Dr. Shinobu Sato for engaging in discussion and support.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The author declares no conflict of interest.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

References

- Bhosale SV, Jani CH, Langford SJ. Chemistry of naphthalene diimides. *Chem Soc Rev.* 2008;37:331–42.
- Kobaisi MA, Bhosale SV, Latham K, Raynor AM, Bhosale SV. Functional naphthalene diimides: synthesis, properties, and applications. *Chem Rev.* 2016;116:11685–796.
- Das A, Ghosh S. H-bonding directed programmed supramolecular assembly of naphthalene-diimide (NDI) derivatives. *Chem Commun.* 2016;52:6860–72.
- Yen SF, Gabbay EJ, Wilson WD. Interaction of aromatic imides with deoxyribonucleic acid. Spectrophotometric and viscometric studies. *Biochemistry.* 1982;21:2070–6.
- Tanious FA, Yen S-F, Wilson WD. Kinetic and equilibrium analysis of a threading intercalation mode: DNA sequence and ion effects. *Biochemistry.* 1991;30:1813–9.
- Ou T, Lu Y, Tan J, Huang Z, Wong KY, Gu L. G-Quadruplexes: targets in anticancer drug design. *ChemMedChem.* 2008;3:690–713.
- Yang D, Okamoto K. Structural insights into G-quadruplexes: towards new anticancer drugs. *Future Med Chem.* 2010;2:619–46.
- Pirota V, Nadai M, Doria F, Richter S. Naphthalene diimides as multimodal G-quadruplex-selective ligands. *Molecules.* 2019;24:426.
- Gawronski J, Brzostowska M, Kacprzak K, Kolbon H, Skowronek P. Chirality of aromatic bis-imides from their circular dichroism spectra. *Chirality.* 2000;12:263–8.
- Green S, Fox A. Intramolecular photoinduced electron transfer from nitroxyl radicals. *J Phys Chem.* 1995;99:14752–7.
- Salerno F, Berrocal JA, Haedler AT, Zinna F, Meijer EW, Bari LD. Highly circularly polarized broad-band emission from chiral naphthalene diimide-based supramolecular aggregates. *J Mater Chem C.* 2017;5:3609–15.
- Andric G, Boas JF, Bond AM, Fallon GD, Ghiggino KP, Hogan CF et al. Spectroscopy of naphthalene diimides and their anion radicals. *Aut J Chem.* 2004;57:1011–9.
- Chu Y, Hoffman DW, Iverson BL. A pseudocatenane structure formed between DNA and A cyclic bisintercalator. *J Am Chem Soc.* 2009;131:3499–508.
- McGhee JD, von Hippel PH. Theoretical aspects of DNA-protein interaction: co-operative and non-co-operative binding of large

- ligands to a one-dimensional homogeneous lattice. *J Mol Biol.* 1974;86:469–89.
15. McKnight RE, Gleason AB, Keyes JA, Sahabi S. Binding mode and affinity studies of DNA-binding agents using topoisomerase I DNA unwinding assay. *Bioorg Med Chem Lett.* 2007;17:1013–7.
 16. Wilson WD, Jones RL. Intercalation in biological systems. *Intercalation Chemistry*, Whittingham MS, Jacobson AJ, editors. New York: Academic Press; 1982, pp. 445–510.
 17. Takenaka S, Yamashita K, Takagi M, Uto Y, Kondo H. DNA sensing on a DNA probe-modified electrode using ferrocenylnaphthalene diimide as the electrochemically active ligand. *Anal Chem.* 2000;72:1334–41.
 18. Yamashita K, Takagi M, Kondo H, Takenaka S. Electrochemical detection of nucleic base mismatches with ferrocenyl naphthalene diimide. *Anal Biochem.* 2002;306:188–96.
 19. Miyahara H, Yamashita K, Kanai M, Uchida K, Takagi M, Kondo H et al. Electrochemical analysis of single nucleotide polymorphisms of p53 gene. *Talanta.* 2002;56:829–35.
 20. Nojima T, Yamashita K, Takagi A, Takagi M, Ikeda Y, Kondo H et al. Electrochemical analysis of single nucleotide polymorphisms of p53 gene. *Anal Sci.* 2003;19:79–83.
 21. Nojima T, Yamashita K, Takagi A, Ikeda Y, Kondo H, Takenaka S. Genotyping of human lipoprotein lipase gene by ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical hybridization assay. *Anal Sci.* 2005;21:1437–41.
 22. Sato S, Hokazono K, Irie T, Ueki T, Waki M, Nojima T et al. Ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical detection of methylated gene. *Anal Chim Acta.* 2006;578:82–7.
 23. Ishikawa N, Miya T, Mizumoto K, Ohuchida K, Nagai E, Yamaguchi K et al. Rapid and sensitive assay of K-ras mutations in pancreatic cancer by electrochemical detection with ferrocenylnaphthalene-diimide. *Cancer Genomics Proteom.* 2006;3:47–54.
 24. Sato S, Tsueda M, Kanazaki Y, Takenaka S. Detection of an aberrant methylation of CDH4 gene in PCR product by ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical hybridization assay. *Anal Chim Acta.* 2012;715:42–8.
 25. Harahuchi K, Sato S, Habu M, Yada N, Hayakawa M, Takahashi O et al. Oral cancer screening based on methylation frequency detection in hTERT gene using electrochemical hybridization assay via a multi-electrode chip coupled with ferrocenylnaphthalene diimide. *Electroanalysis.* 2017;29:1596–601.
 26. Sato S, Saeki T, Tanaka T, Kanazaki Y, Hayakawa M, Haraguchi K et al. Ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical detection of aberrant methylation in hTERT gene. *Appl Biochem Biotechnol.* 2014;174:869–79.
 27. Sato S, Takenaka S. Linker effect of ferrocenylnaphthalene diimide ligands in the interaction with double stranded DNA. *J Organomet Chem.* 2008;693:1177–85.
 28. Sato S, Tsueda M, Takenaka S. Electrochemical detection of aberrant methylated gene using naphthalene diimide derivative carrying four ferrocene moieties. *J Organomet Chem.* 2010;695:1858–62.
 29. Sato S, Nojima T, Waki M, Takenaka S. Supramolecular complex formation by β -cyclodextrin and ferrocenylnaphthalene diimide-intercalated double stranded DNA and improved electrochemical gene detection. *Molecules.* 2005;10:693–707.
 30. Sato S, Nojima T, Takenaka S. Electrochemical gene detection based on supramolecular complex formation by ferrocenyl- β -cyclodextrin and adamantylnaphthalene diimide bound to double stranded DNA. *J Organomet Chem.* 2004;689:4722–8.
 31. Takenaka H, Sato S, Takenaka S. Electrochemical detection of duplex DNA using intercalation-triggered decomplexation of ferrocene with β -cyclodextrin. *Electroanalysis.* 2013;25:1827–30.
 32. Watanabe S, Sato S, Ohsuka K, Takenaka S. Electrochemical DNA analysis with a supramolecular assembly of naphthalene diimide, ferrocene, and β -cyclodextrin. *Anal Chem.* 2011;83:7290–6.
 33. Komizo K, Ikeda H, Sato S, Takenaka S. Metallization of double-stranded DNA triggered by bound galactose-modified naphthalene diimide. *Bioconjugate Chem.* 2014;25:1547–55.
 34. Ohtsuka K, Komizo K, Takenaka S. Synthesis and DNA binding behavior of a naphthalene diimide derivative carrying two dicobalt hexacarbonyl complexes as an infrared DNA probe. *J Organomet Chem.* 2010;695:1281–6.
 35. Himuro T, Araki R, Sato S, Takenaka S, Yasuda T. Specific metallization of double-stranded DNA using reducing group-labeled intercalator. *IEEJ Trans Sens Micromachines.* 2016;36:425–31.
 36. Sato S, Umeda Y, Fujii S, Takenaka S. Cooperative binding of ferrocenylnaphthalene diimide carrying β -cyclodextrin converts double-stranded DNA to a rod-like structure. *Bioconjugate Chem.* 2015;26:379–82.
 37. Steel AB, Heme TM, Tarlov MJ. Electrochemical quantitation of DNA immobilized on gold. *Anal Chem.* 1998;70:4670–7.
 38. Sato S, Hirano A, Takenaka S. Selective immobilization of double stranded DNA on a gold surface through threading intercalation of a naphthalene diimide having dithiolane moieties. *Anal Chim Acta.* 2010;665:91–97.
 39. Sato S, Yamamura K, Takenaka S. Naphthalene diimide carrying two cysteine termini at both imide linkers as a molecular staple. *Electroanalysis.* 2013;25:1831–9.
 40. Tian T, Chen YQ, Wang SR, Zhou X. G-Quadruplex: a regulator of gene expression and its chemical targeting. *Chem.* 2018;4:1314–44.
 41. Spiegel J, Adhikari S, Balasubramanian S. The structure and function of DNA G-quadruplexes. *Trends Chem.* 2020;2:123–36.
 42. O'Hagan MP, Morales JC, Galan MC. Binding and beyond: what else can G-quadruplex ligands do? *Eur J Org Chem.* 2019;31–2: 4995–5017.
 43. Parkinson GN, Cuenca F, Neidle S. Topology conservation and loop flexibility in quadruplex–drug recognition: crystal structures of inter- and intramolecular telomeric DNA quadruplex–drug complexes. *J Mol Biol.* 2008;381:1145–56.
 44. Sato S, Kondo H, Nojima T, Takenaka S. Electrochemical telomerase assay with ferrocenylnaphthalene diimide as a tetraplex DNA-specific binder. *Anal Chem.* 2005;77:7304–9.
 45. Sato S, Takenaka S. Ferrocenyl naphthalene diimides as tetraplex DNA binders. *J Inorg Biochem.* 2017;167:21–6.
 46. Mori K, Sato S, Kodama M, Habu M, Takahashi O, Nishihara T et al. Oral cancer diagnosis via a ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical telomerase assay. *Clin Chem.* 2013;59:289–95.
 47. Hayakawa M, Sato S, Diala I, Kodama M, Tomoeda-Mori K, Haraguchi K et al. Screening for oral cancer using electrochemical telomerase assay. *Electroanalysis.* 2016;28:503–7.
 48. Marchetti C, Zyner KG, Ohnmacht SA, Robson M, Haider SM, Morton JP et al. Targeting multiple effector pathways in pancreatic ductal adenocarcinoma with a G-quadruplex-binding small molecule. *J Med Chem.* 2018;61:2500–17.
 49. Sato S, Kajima A, Hamanaka H, Takenaka S. Naphthalene diimide carrying four ferrocenyl substitutes as an electrochemical indicator of tetraplex DNA aiming at cancer diagnosis. *J Organomet Chem.* 2019;897:107–13.
 50. Esaki Y, Islam MM, Fujii S, Sato S, Takenaka S. Design of tetraplex specific ligands: cyclic naphthalene diimide. *Chem Commun.* 2014;50:5967–9.
 51. Vasimalla S, Sato S, Takenaka F, Kurose Y, Takenaka S. Cyclic perylene diimide: selective ligand for tetraplex DNA binding over double stranded DNA. *Bioorg Med Chem.* 2017;25: 6404–11.

52. Kaneyoshi S, Zou T, Ozaki S, Takeuchi R, Udou A, Nakahara T et al. Cyclic naphthalene diimide with a ferrocene moiety as a redox-active tetraplex-DNA ligand. *Chem Eur J.* 2020;26:139–42.
53. Takeuchi R, Zou T, Wakahara D, Nakano Y, Sato S, Takenaka S. Cyclic naphthalene diimide dimer with a strengthened ability to stabilize dimeric G-quadruplex. *Chem Eur J.* 2019;25:8691–5.



Shigeori Takenaka is a professor of Kyushu Institute of Technology. He was born in 1959 in Fukuoka. He received his PhD in 1988 at Kyushu University. He worked at Kyushu University as Research Associate (1987–1989) and as Associate Professor (1989–1991, 1996–2005). He also worked at Kyushu Institute of Technology as Associate Professor (1991–1996) and as Professor (2005–). He was a visiting scientist for Prof. W. David Wilson, Georgia State University (1994–1995). He was Director of Research Center for Bio-microsensing Technology (2006–2019). His main fields of interests is study of simple and rapid electrochemical biosensing technique with high sensitivity aiming to development of practical use diagnostic chip. He received Award for 2003 New Product from Asahi Foundation, Japan, Award for SPSJ Mitsubishi Chemical Award 2015 from the Society of Polymer Science, Japan, and 2019 Award for JSAC Award from the Japan Society for Analytical Chemistry, Japan.

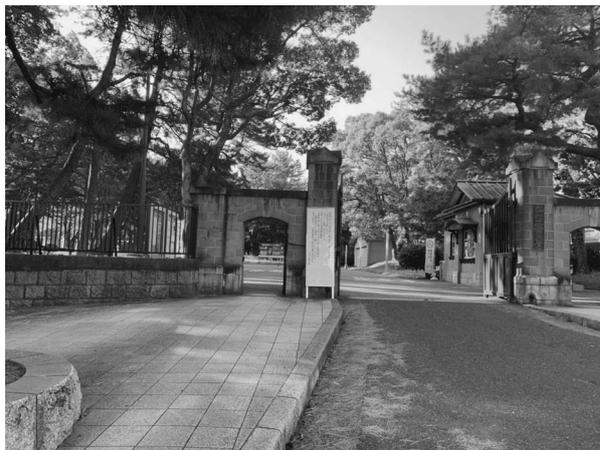
ポストコロナの時代に向けて

武漢から発生した新型コロナウイルス（COVID-19）の世界的なパンデミックによってこれまでの日常が大きく変化せざるを得なくなってきました。このような中で大学も大きく変わりました。授業は moodle や zoom 等の学習支援サービスによるオンライン授業となり、化学で重要な学生実験も感染対策を講じることが要求されることとなりました。本年度入学の1年生は入学した時からオンライン授業が主となり、学生同士の交流もできず、かわいそうな状況でした。教員たちもオンラインでの交流会の場を作ったりしましたが、これまでのように行かないみたいです。大学での会議も zoom が中心となったせいか、これまでより早く終わるようになりました。時間の有効利用といった点では良いのかもしれませんが、創造的な議論は対面形式のようにはいかず、不十分になりがちであると感じています。分析化学学会年会もオンラインとなりました。他の参加学会を含めてオンラインでは、発表や質疑応答が活発となり、ポスター発表もこれまでより十分議論できるようになった気がします。でも、学会の開催地に行ってこれまでと違った環境を味わうことや発表の後の個人的な議論ができなくなって寂しい気もします。国際学会も大学のオフィスに居ながら参加できるのは感動しましたが、時差が辛いです。学会やシンポジウムなど講演会や学会の委員会に加えて、グラントのヒアリングでさえもオンラインとなってきています。ファイザーから効果的なワクチンができつつあるとのことですが、一般の方々に投与できて新型コロナが終息するのがいつになるかわからない状況です。新型コロナの第一波が収まりつつあるとして対面授業を増やしつつあった現状（2020年12月現在）が、日々の感染者が増えてきたこともあり、またもやオンライン授業に戻つつあります。文科省の通達によって本学は半分以上を対面授業にする方向で進んでいますが、現在の状況では、今後どうなるか不安です。

大学教員としての私の感想は、オンライン授業の準備が大変だったということです。moodle 上にアップした資料は、学生達から繰り返し閲覧されます。細かいミスが無いようにしなければなりません。また、講義内容の動画をアップするとこれも繰り返し視聴される可能性があるため、言葉遣いなどを注意して話さないといけません。これらのようにコロナ禍における資

料作成は、いつもよりも注意深くないといけない状況でした。また、学生達は不安なのか、もしくは質問しやすいのか、大量の質問メールがやってきます。これらに対処していると時間がどんどん過ぎてしまいます。オンライン授業は楽だと高を括っていましたが、逆に大変になりました。先生方は学生の理解度が気になるのか多くの課題を出すことになって、学生達も一日中課題レポートに追われているようです。実験は、なかなかオンラインと言うわけにもいかず、実験室への入室人数を制限し、三密を避けるように対面で行っています。そうすると回数が増えてしまって職員の負担が増えてしまいます。日本分析化学会により、分析化学実験のビデオを無料公開して頂きましたが、これは学生実験の助けとなり感謝しております。

私共の大学だけでなく、各大学の教員達はコロナ禍における教育に苦労されていると思います。でも、ここで自分の授業を見直す機会になったと思います。これまでいい加減だった資料（自分のことですが）を細かいところまで気を配って作成するようにしました。授業動画もいい加減なことを言わずきちんと話すようになりましたが、学生達の雰囲気や拘めないの一人で盛り上がっているだけのような気もして恥ずかしくなったりしています。最近、アクティヴ・ラーニング（主体的学び）と称し、講義の前に必要な知識の習得はオンラインで済ませておき、講義ではいきなり議論を行うなど、知識の活用法や思考



大学の正門。マスクの着用、手洗いや手指消毒の徹底、体調の悪い方の入構禁止等書かれてある。



著者の教授室のコロナ対策。アクリル板とカーテンで仕切っています。

高分子分析研究懇談会 第403回例会

高分子分析研究懇談会第403回例会が、1月27日(木)にWebで開催された。Web開催は今回で3回目となり滞りなく例会を進めることができた。参加者は71名でありコロナ禍の中でも多くの方に参加いただけた。

1件目のご講演は、神戸大学の日出間り先生による「複雑流体流動挙動の階層性を誘発する溶液内部の不均一さ」であった。高分子や紐状ミセルなどソフトマターを含む溶液は複雑流体と呼ばれ、低濃度でも複雑な流動挙動を起こすが、それは流体内部でのソフトマターの変形や相互作用に影響を受けているためと説いており、溶液内の高分子の変形状態や伸長からの緩和を二次元流動場や一軸伸長レオメーターにて測定し、光ピンセット測定により粘弾性分布と溶液内部の不均一性の関連性を示すことなどで、流体内部のソフトマターの挙動と流動挙動を結び付けられることをご講演いただいた。

2件目のご講演は、第25回高分子分析討論会の優秀発表賞の受賞講演であり、名古屋工業大学大学院工学研究科の加藤章太郎様の「反応熱分解GC-MSによる強固な架橋構造を有する紫外線硬化アクリレート共重合体の組成及び構造解析」であった。三次元架橋した紫外線硬化樹脂に水酸化テトラメチルアンモニウム(TMAH)を添加して熱分解する反応熱分解GC-MSは、これまでも架橋構造解析に効果的に用いられてきた。しかし、架橋ネットワーク構造が強固な場合には、分解効率が不十分で組成分析や構造解析の精度や正確性が不十分であった。そこで共重合体をあらかじめマイクロチューブ内でTMAH溶液中に浸漬して可溶化後、溶液を熱分解GC-MS測定する方法により、二官能モノマーや未反応アクリロイル基の検出再現性を高め、共重合組成や硬化反応の進行度を高精度に分析することに成功したことを発表いただいた。

Web開催で対面ではない講演となったが、講演後は多くの参加者がマイクをONにして拍手をし、ご講演いただいたお二方に感謝の意を贈ることができた。

講演終了後には高分子分析研究懇談会から、出版書籍「高分子分析ハンドブック」の新装版販売について、3月開催の第62回高分子分析技術講習会(応用編)について、来年度研究懇談会の年会費の支払い方法について紹介された。

〔榊ブリヂストン 黒岩智佳子〕

力を訓練する「反転授業」が重視されてきました。しかし、これまで実際には、授業に広く取り入れられていなかったように思われます。コロナ禍の状況になってリモート授業が強制され、アクティブラーニングを実践できる環境になりました。すなわち、コロナ禍において半ば強制的に、トライアルからメイン・ストリームにされてしまい、あらかじめ用意された動画を視聴してリモート講義に臨むというリモート反転授業が、当たり前のように行われるようになったと思われます。

一方、研究に関してはどうでしょうか。研究室ごとに異なると思いますが、私の研究室の場合を例として述べさせていただきます。当初は大学より学生達の入構は禁止されました。そこでzoomミーティングができるように設備を整え、まずは雑誌会(最近の海外の論文に興味を持ったものの解説)から研究室の活動を始めました。学生達の入構が緩和されてからは、学生たちをグループ分けし、研究活動の日程をグループごとにローテーションすることで、三密を避けるようにしました。入構緩和後も、雑誌会や検討会(自分の研究内容の現状をまとめた報告)は引き続きzoomで行って来ました。これまでに比べ研究の進行度は遅れているように感じられますが、zoomだとメンバーの時間調整がやりやすく、コメントなど言いやすいようです。コロナ禍にあっても実験の技術や考え方をこれまで以上に詳細に伝えることができているように思います。他の研究室の先生方からも同じようなご意見をお聞きしたりもしています。今後どのような状況になっても研究活動と技術を伝承することが重要であり、そのためには大学教員として努力し続けるしかないでしょう。

ポスト・コロナにおいては、新しい学校教育、新しい大学教育が展開されていくことになると思います。それは、学校教育あるいは大学教育のパラダイム・シフトかもしれません。コロナ禍は人類にとって大きな不運であり、それが継続している今はとにかくその収束が最重要課題ですが、私ども大学関係者はポスト・コロナを見据え、今のうちから新しい大学教育のあり方に備える必要があると思います。

追記 脱稿(2020/12/3)から世界は大きく変わりました。ワクチンも完成し、日本国民への接種もはじまります。変異型コロナウイルスの出現により新たな局面を迎えるかもしれませんが、大学では講義や実験も対面と変わりつつあります。コロナパンデミック前に戻ることはできないかもしれませんが、オンラインのコンテンツを利用した講義や会議システムなど今後も利用されていくものと思われます。

〔九州工業大学工学研究院 竹中繁織〕

令和5年10月1日発行(毎月1回1日発行) 通巻869号 昭和15年4月18日第3種郵便物認可 CODEN:KAKYAU ISSN 0451-1964

C H E M I S T R Y

化学

OCTOBER
2023
Vol.78

10

解説 • Research article

口腔がんの 早期発見センサ の開発

解説 • Research article

ミッシング・プラスチックの謎 プラスチックごみの行方を追う

解説 • Research article

DNAナノポアを人工細胞膜 に挿入する新技術





口腔がんの早期発見センサの開発

— グアニン四本鎖 DNA を応用した電気化学検出

竹中 繁織

九州工業大学大学院工学研究院

テロメラーゼはがん細胞の不死化に重要な酵素である。この活性を指標にすればがん診断が可能になる。テロメラーゼによって伸長されるテロメア DNA はグアニン四本鎖 (G4) を形成する。電気化学活性 G4 リガンドによって伸長された G4 量、すなわちテロメラーゼ活性を間接的に調べることでより口腔がんの早期診断を実現させた。G4 形成を利用したセンサは世界的に多くの研究があるが、G4 の検出によるセンサは世界初である。

がん診断の意義と方法

がんは 20 年以上も日本人の死亡率の第 1 位を占めている。がん治療として手術、放射線治療、薬物治療が行われてきた。これらの治療法の進展に伴って治療成績が飛躍的な進歩を遂げている。死亡率を下げるためにとくに重要なのは早期診断である。早期診断のためにがんの兆候となる生体内からでている化学物質が注目されてきた。がん胎児性抗原 (CEA)、前立腺特異抗原 (PSA) などが古くから知られており、現在でも利用されている。RAS 遺伝子などががん関連遺伝子の検査も行われてきた。また BRCA1, BRCA2 遺伝子を調べることで乳がんの発症リスクが調べられている。最近では、血液中のエクソソームに包含されているマイクロ RNA (miRNA) が注目されている。miRNA は 21 ~ 25 塩基程度の短い一本鎖 RNA で、細胞の分化、増殖、アポトーシス (細胞死) などの生命現象にかかわっている。がんに依存し

た miRNA も知られており、これをがんマーカーとしての利用が行われている。ほかにも、がん患者の尿にでる特有の匂いを嗅ぎ分ける線虫を利用したがん診断も行われている。がんマーカーとしてテロメラーゼと呼ばれる酵素も古くから注目されている。ここでは、テロメラーゼに注目したがん診断、とくに口腔がん診断法について紹介したい。

テロメアとテロメラーゼ

ヒトの遺伝子は二本鎖 DNA の断片である染色体上に存在している。すなわち染色体には末端部分がある。これは靴紐の端っこみたいなので、この部分がほつれやすいように遺伝子もほつれやすい。そこで図 1 (a) に示したようにその部分を安定に保つようにテロメアと呼ばれる部分が染色体末端に存在している。このテロメア DNA は TTAGGG の繰り返し配列で、その相補鎖と二本鎖を形成しているおよそ 10,000 塩基対 (bp) と 200 塩基 (b) の一本鎖 DNA (G テールと呼ばれている) からなっている (TTAGGG の 6 塩基が 1700 回ぐらい繰り返してつながっている計算になる)。この一本鎖部分がのりしろとなり、二本鎖部分に割り込むことによって D ループ構造を形成し、いくつかのタンパク質がのりしろを覆うことで安定化されている (シェルテリン複合体、図 1a)。たとえるならば、靴ひもの先のプラスチック部分のようなものである。

このテロメア DNA 部分は細胞分裂とともに短くなる。細胞分裂ごとに 20 ~ 170 bp 短くなり、5000 bp ぐらいまで短くなると分裂不能となり、死 (アポトーシス) を迎えるといわれている。細胞は平均 70 回しか分裂できないことになる (生殖細胞や骨髄細胞は例外である)。このことからテロメアは寿命を支配する遺伝子といわれている。テロメア DNA を

たけなか・しげおり ● 九州工業大学大学院工学研究院教授、1985 年九州大学大学院総合理工学研究科博士後期課程修了、工学博士、<研究テーマ> バイオ分析化学、<趣味> 考古学

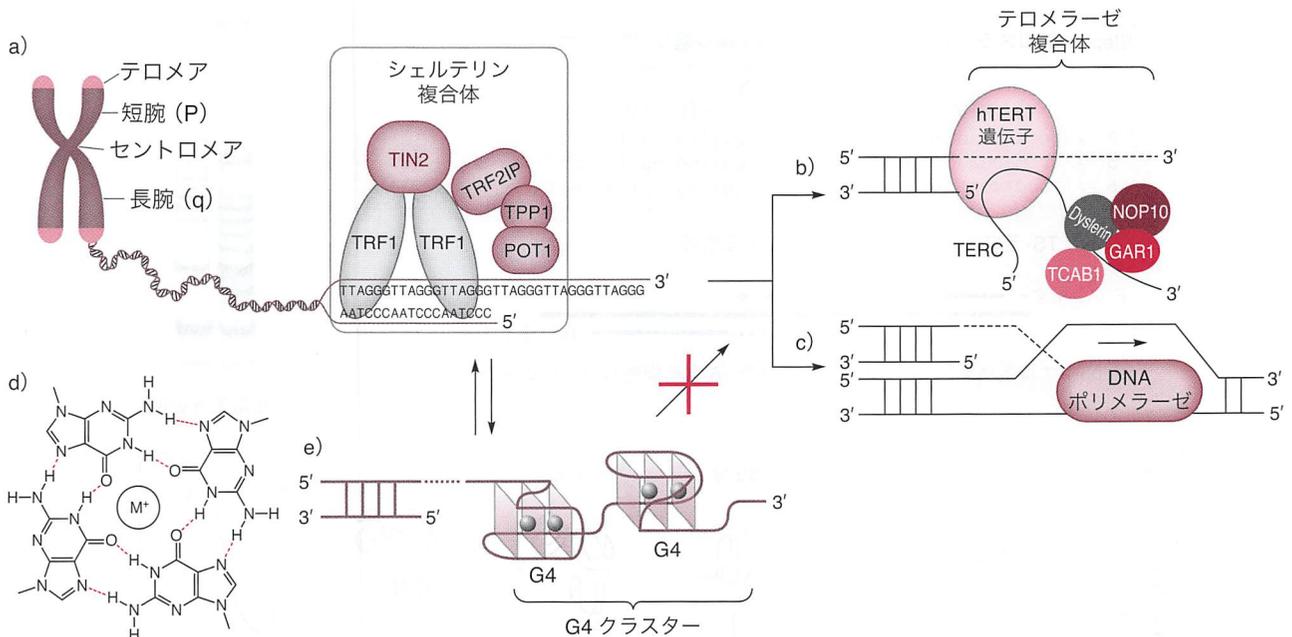


図1 テロメア、テロメラーゼと G4 クラスター

a) 染色体末端のテロメアはシェルテリン複合体で安定化されている。b) テロメラーゼはテロメア末端の一本鎖部分に結合してテロメアを伸長する。c) テロメラーゼに依存しない相同組換えによるテロメア伸長。d) 四つの G で形成される G-カルテット平面。中心部の M⁺ はカリウムイオンに最適な大きさである。e) テロメア DNA の四つの TTAGGG の繰り返し単位で形成する G4 クラスターの概念。

伸長させる酵素がテロメラーゼである。図 1 (b) に示したようにテロメラーゼは複合タンパク質で TERT と呼ばれる逆転写活性をもつ部分と、テロメア DNA の鋳型となる TERC と呼ばれる RNA をもっている。テロメラーゼは通常の細胞ではその活性は見られない。しかし、がん細胞ではその活性がどのような組織でも約 85% で見られている。したがって、テロメラーゼはがんの診断マーカーとして期待されている。ところでテロメラーゼ活性のない 15% のがんはテロメア代替伸長 (alternative lengthening of telomerase ; ALT) が起こっているといわれている (図 1 c)。これらのがんは遺伝子の多くに変異が起こっており、異なった染色体末端どうして相同性組換えによってテロメア伸長が起こっている。がん化する前にはすでにテロメア DNA 長に変化が生じていることが知られており、がんのマーカーとしてテロメア DNA 長の測定も期待されているが、一般にはテロメラーゼ活性によってがん診断が行われている。

テロメラーゼの検査法

最初のテロメラーゼ測定法は、TRAP (telomeric repeat amplification protocol) 法によって行われた (図 2 a)。まず、細胞を溶解して可溶物を回収してサンプルとする。これに

TS (テロメラーゼの基質)-プライマーと呼ばれる短鎖 DNA 断片を加える。サンプル中にテロメラーゼが存在すれば、その活性に応じて TS-プライマーに TTAGGG 配列が追加され伸長される。得られた TS-プライマー伸長 DNA は微量なので、PCR によって増幅する。このとき TS-プライマー側から伸長させる F-プライマーと、伸長された側から伸長させる R-プライマーが必要である。R-プライマーの配列は TTAGGG に完全に相補する配列でなく、部分的にミスマッチが入れている。R-プライマーは伸長された TTAGGG 配列部分にランダムに結合することになる。したがって TS-テロメラーゼ産物は、TTAGGG の 6 塩基の長さが異なる DNA の混合物になる。これをゲル電気泳動によって分離すると、6 塩基ごとに長さの異なるラダーとして観察される。図 2 (a) の右側に示したように、伸長が進むほどそのラダーがより大きな分子量まで(ゲル電気泳動の上の部分まで)見られることになる。これによってテロメラーゼ活性を評価できる。また、この溶液に PCR 自体が進んでいるかどうかを判定するために、PCR が進行すると必ず伸長する DNA 断片も共存させてある。

この手法は、さまざまな改良が加えられてキットとして市販されている。しかし操作が煩雑であり、PCR でプライ

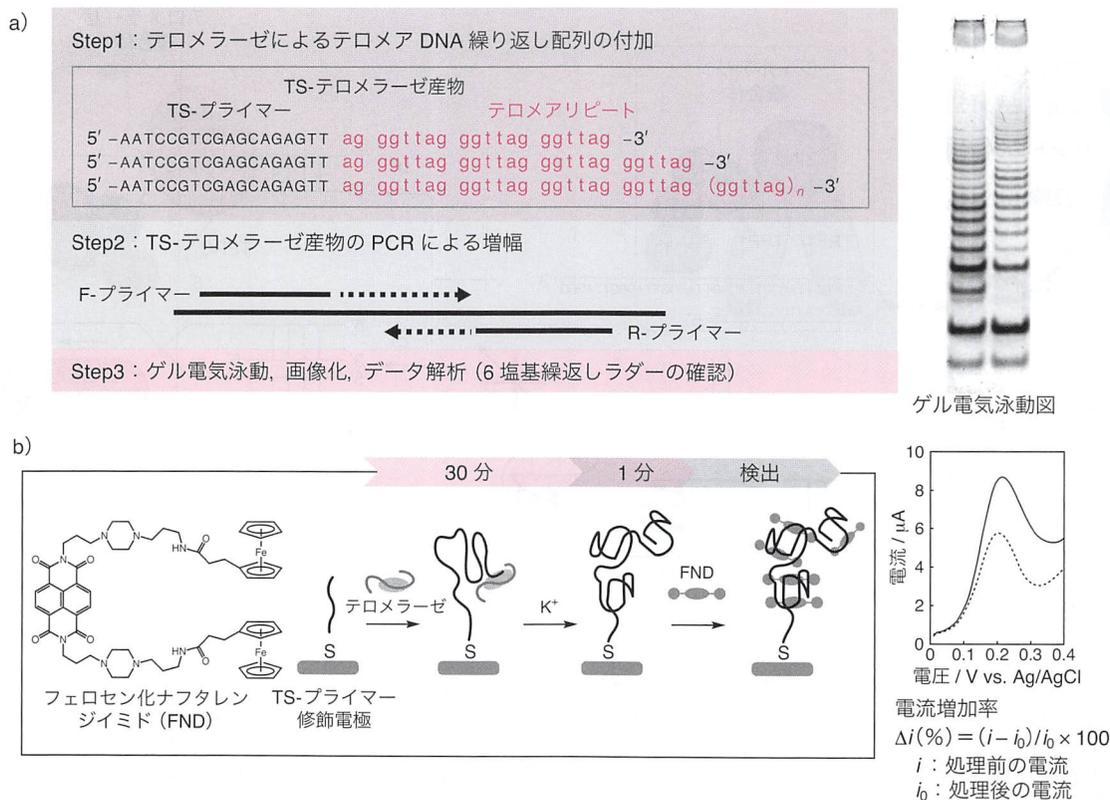


図2 テロメラーゼ活性の検出法

a) 従来の TRAP アッセイ. b) 筆者らが開発した電気化学的テロメラーゼアッセイ (ECTA).

マーダイマーを生成するなど問題点も多く残されている。これらの問題を解決するために、PCR プライマーの片側をヘアピン構造で蛍光色素と蛍光クエンチャーを導入したものの利用が行われている。ヘアピンで蛍光消光されていたものが PCR 伸長によってヘアピンが開き、蛍光を発するシステムである。

四本鎖 DNA

テロメア DNA は TTAGGG の繰り返し配列であることは先に述べた。このユニットが四つ集まると、四本鎖 DNA が形成されることが知られている。グアニン (G) は水素結合が形成可能な部位をたくさんもっているため、四つの G が水素結合で集まって G-カルテット平面 (図 1d) を形成する。この G-カルテット平面が互いに積み重なるように折り畳まれて四本鎖 DNA が形成される。この際、二つの G-カルテット平面は環どうしの重なりに加え、中心部分の空間にカリウムイオンが入り込み安定化されている。テロメア DNA が四本鎖 DNA を形成するとすれば、図 1 (e) に示したように G4 のビーズのようになっていられる (G4 クラスターと呼ばれている)。このような DNA 配列を合成して試験管中で

調べると、G4 クラスターの形成を示唆する多く結果が知られている。しかし、細胞内では先に述べた D-ループとして存在するのか、G4 クラスターとして存在しているのかは明らかになっていない。G4 抗体 (BG4) によって細胞内の G4 部位の蛍光染色の結果ではテロメア領域での G4 部位が確認されたが、テロメア部位以外でも G4 部位の存在が確認されている。G4 結合性分子の添加によって G4 部位が増加したことも報告されているので、生体内でダイナミックに G4 形成が起こっているのかもしれない。いずれにせよ、テロメア DNA は試験管内ではカリウムイオン (K⁺) 存在下で G4 クラスターを形成する。

電気化学的テロメラーゼアッセイ (ECTA)

筆者らは、電極に DNA プロブを固定化して、電極上でサンプル DNA とハイブリダイゼーション反応を行ってきた。目的の遺伝子があれば電極上で二本鎖 DNA が形成される。電気化学活性で二本鎖 DNA に特異的に結合する分子は、電極上の二本鎖形成情報を間接的に電気化学情報に変換できると期待される。筆者らは、この目的を実現できる分子としてフェロセン化ナフタレンジイミド (FND) を開発した。ナ

フタレンジイミドは DNA 二重らせんにインターカレートすることが知られており、しかもナフタレンジイミドのアミド部分からでている二つの置換基は、インターカレーション結合の際に主溝と副溝に配置することが知られている（これは縫い込み型インターカレーションと呼ばれている）。置換基末端にフェロセンが導入されれば、電気化学シグナル部位が FND の二本鎖 DNA から解離する際のアンカーとなると考えた。この考えによって、FND と DNA 修飾電極を組み合わせることによる遺伝子の電気化学検出を世界に先駆けて実現したのである。がん関連遺伝子の電気化学的検出法に興味をもっていた水元一博教授（当時は九州大学医学部、現国際医療福祉大学）との共同研究のなかで、テロメラーゼによるがんの診断法の重要性を知った。水元教授らは TRAP 法を用いてがん診断を行っていたが、データのバラツキがあつて再現性よく行えない状況であつた。

ところで、二本鎖 DNA 検出に用いていた FND のナフタレンジイミド骨格は電子欠乏性の芳香族分子で、グアニン塩基は電子過剰な芳香環であることが知られている。このことから FND は G4 平面に結合しやすいと期待された。そこで FND を用いたテロメラーゼ活性の電気化学的検出法を検討した。この手法を電気化学的テロメラーゼアッセイ (ECTA) と名づけた。最終的に図 2 (b) に示した手法によってこれを実現した。当時、博士課程に在籍中の佐藤しのぶ准教授が中心に研究を行った¹⁾。まず、電極に TS-プライマー配列を固定化し、テロメラーゼ添加によって伸長反応を行う。この電極を電解液に入れて測定する。測定用の電解液の支持塩として KCl が存在する。先に述べたように、テロメア DNA はカリウムイオン存在下で G4 クラスターを形成する。また、同時に電解液に FND を共存しておけば、G4 クラスターに FND が結合し、電極上に FND が濃縮される。これによって電気化学的応答量、すなわち G4 クラスター形成量、ひいてはテロメラーゼ活性が測定できる。この ECTA によってテロメラーゼの電気化学的活性検出に成功した。ここでのターゲットは膵臓であり、検査のためには膵液を採取する必要があつた。しかし、当時膵液を分泌させる薬が販売中止になったこともあり、これ以上の研究は進展できなかった。そのころ、筆者は北九州市にある九州工業大学に転任することになった。北九州市には九州歯科大学があり、筆者が転任したときに歯工学連携大学院が立ち上がった。これを機に九州歯科大学の口腔外科との共同研究が始まった。まさに ECTA によって口腔がんの診断に応用できるようになったのである。

口腔がんの現状

口腔内は、歯を除いて表面が扁平上皮からなる粘膜で覆われている。そのため口腔がんは、そのほとんどが粘膜組織から発生する扁平上皮がんである。日本で最も多いのは舌がんである。口腔がんはがんの 2% ぐらいといわれているが、高齢化社会に突入している日本では、口腔がんの患者が増加の傾向にある。初期がんでは自覚症状がなく、視診や触診では判定が難しい。日本では口腔がん患者の死亡率は 35% であるが、治療後 QOL (生活の質) がかなり低下する。早期で発見し、治療できれば QOL が下がることなく完治できる。これらのことから口腔がんの早期診断法の確立が急務とされている。

そこで、この ECTA を口腔がんへ応用した。ここでの研究は、当時助教であつた佐藤准教授と九州歯科大学の森久美子博士が中心となり、ECTA 用の試作装置を用いて臨床研究を行った²⁾。最初は口腔がん由来の培養細胞を溶解し、上澄み液を用いてテロメラーゼ活性を調べた。その結果、10 細胞あれば検出可能であることがわかつた。従来の TRAP 法でも行ったが、この場合は 200 細胞必要であつた。このことから ECTA は高感度検出が可能であることがわかつた。得られた電流値がテロメラーゼの応答であるのかどうかを確かめるために、これらの培養細胞からテロメラーゼ由来の hTERT 遺伝子の mRNA を抽出し、電流増加率との相関をとつた。これにより良好な相関が得られた。すなわち、ここで得られている電流値変化は、テロメラーゼ活性によることが証明された。

次に臨床サンプルへの適用を行った。実験を行うにあたり大学の倫理委員会からの許可が得られたので、患者からインフォームドコンセントをいただき、サンプル採取を行った。これは、医局の博士課程の学生でなければできないことだつた。まず、採取法をプロトコル化した。口を数回水でうがいをして、決めたルールに従ってブラッシングして、ブラシを緩衝液につけて細胞片を回収した。これを遠心して細胞片を回収し、細胞溶解液に加え、さらに遠心して、上澄み液を用いて電気化学的テロメラーゼアッセイを行った。また、組織も採集した。がん患者のサンプルから電流増加が観測されたが、健常者サンプルとがん患者のサンプルを加熱したものは電流増加が見られなかつた。健常者とがん患者との電流増加率から 30% 以上ががん患者で 20% 以下が健常者と判定基準を設定することができた。さらに受信者動作特性 (receiver operating characteristic ; ROC) 分析によって特異性と感度

表 1 代表的ながん診断方法の感度および特異度の比較

がん	手法	感度 / %	特異度 / %	文献
胃	胃部 X 線 (バリウム) 検査	70 ~ 80	85 ~ 90	a
大腸	便潜血検査	30 ~ 93		a
大腸	腫瘍マーカー CEA (carcinoembryonic antigen)	36	87	b
大腸	腫瘍マーカー PAI-1 (plasminogen activator inhibitor 1)	94	84	b
肺	胸部レントゲン (X 線) 検査	63 ~ 88	95 ~ 99	a
肺	PET (positron emission tomography, 陽電子放出断層撮影)	70	84	c
肺	喀痰細胞診	25 ~ 78	99	a
子宮	生体 (組織) 検査	66	93	a
乳	マンモグラフィー, 乳房 X 線撮影	73 ~ 90	87 ~ 94	d
口腔	TRAP アッセイ	14	59	e
口腔	電気化学的テロメラーゼアッセイ (ECTA)	93	86	e

a) http://ganjoho.jp/med_pro/pre_scr/screening/index.html (accessed 2023-7-10). b) N. Sawabu et al., *Pancreas*, **28**, 263 (2004). c) W. D. Wever et al., *Eur. Respir. J.*, **33**, 201 (2009). d) <http://www.bcsr-research.org/statistics/benchmarks/diagnostic/2009/tatableSensSp.html> (accessed 2023-07-10). e) K. Mori et al., *Clin. Chem.*, **59**, 289 (2013).

の算出を行った。この手法ではブラッシング液と組織で正診率が 80% 以上で、選択性 90% 以上、陽性的中率 97%、陰性的中率 83% と高いものであった。口腔粘膜疾患 (前がん病変) のサンプルは正常細胞とがん細胞のあいだに位置しており有意差が見られた。これらの結果をアメリカ臨床化学協会の機関誌である *Clinical Chemistry* に投稿した。審査員からは好意的なコメントを貰って採択になると思った矢先、エディターから「がん患者と健常者の年齢が大きく離れている、合わせるように」と指摘された。がん患者は高齢者が多く、健常者は医局の若手の職員から採取したものだったからである。最終的に医局の (比較的高齢の) 教授の方がたからのサンプルを加えた。表 1 に現在のながん診断法と特異性と選択性を示した。報告例にばらつきがあるが、ECTA はこれらと比較しても遜色のない診断法と考えられる。

これまでテロメラーゼの電気化学検出を開発してきた。テロメラーゼの遺伝子である hTERT 遺伝子のメチル化ががんに関係していることがエピゲノムの観点から研究され、明らかとなってきた。そこで、FND によるハイブリダイゼーションアッセイを検討した。その結果、健常者とがん患者とをいくつかのメチル化パターンによって診断を実現した。この手法が細胞診で判定がつかないサンプルに適用できるかどうか検討したところ、良好な結果を得ることができた³⁾。

ウイルス性疾患への応用も期待

筆者らは、G4 の電気化学検出による診断を実現した。これまで G4 を利用した遺伝子の検出例は数多くあるが、実際に G4 検出で診断までを実現した例は世界で最初である。近

年、SARS-CoV-2 による新型コロナ感染症の世界的なパンデミックが起こった。これは SARS-CoV-2 が RNA ウィルスであり、このため多くの変異が起こったことによるものと考えられる。実は、RNA ウィルスにも G4 が存在することが知られている。SARS-CoV-2 も変異に関係しない G4 配列が存在する。これを電気化学的に検出できれば、特異性の高いコロナ感染症の診断ができると期待される。すでに筆者らは、SARS-CoV-2 の RG-1 と呼ばれる特徴的な G4 をターゲットとして電気化学的検出に成功している。残念ながら患者のサンプルの入手ができなかったため、健常者の唾液に RG-1 を混合したサンプルを用いて評価を行った。その結果、RG-1 を含む RNA が含まれていないサンプルとのあいだで有意の差で識別可能であった⁴⁾。G4 は非標準 (non-canonical) DNA 構造の一つである。non-canonical DNA を利用すれば、これまで困難であった診断技術のブレークスルーを実現できるものと期待される。

謝辞：本研究は、九州工業大学の佐藤しのぶ准教授が博士課程から中心となって発展させてきた成果である。この研究を手伝ってくれた研究室の学生たちにも感謝する。本研究は JSPS 科研費 JP18350089, JP19H02748, JP17K05904 の支援のもとで行われたものであり、ここに感謝の意を表す。

参考文献

- 1) S. Sato, H. Kondo, T. Nojima, S. Takenaka, *Anal. Chem.*, **77**, 7304 (2005).
- 2) K. Mori, S. Sato, M. Kodama, M. Habu, O. Takahashi, T. Nishihara, K. Tominaga, S. Takenaka, *Clin. Chem.*, **59**, 289 (2013).
- 3) K. Haraguchi, S. Sato, M. Habu, N. Yada, M. Hayakawa, M. Sasaguri, I. Yoshioka, K. Tominaga, S. Takenaka, *Electroanalysis*, **35**, e202200564 (2023).
- 4) S. Kaneyoshi, S. Murakami, T. Ikeda, K. Fujimoto, S. Fujii, S. Sato, S. Takenaka, *Electroanalysis*, **35**, e202200427 (2023).