

(様式 1)

日米化学研究協力事業  
平成 23 年度実施計画書

平成 23 年 3 月 14 日

共同研究代表者

所属機関・部局 京都大学・大学院理学研究科

職・氏名 教授・杉山 弘

1. 研究課題名 (和文) 新規なテロメア構造の研究とヒトテロメラーゼへの影響

(英文) Investigation of Novel Telomeric Structures and Their Effects on Human  
Telomerase

2. 共同研究実施期間

平成 22 年 9 月 1 日 ~ 平成 25 年 8 月 31 日 ( 3 年    ヶ月 )

(注) 本計画書は、受託機関を通して電子データにて提出してください。

5. 共同研究参加者

(1) 日本側参加者\* (代表者を除く)

氏名	所属研究機関・職名	専門及び本研究における役割
三戸 祐太	京都大学大学院理学研究科・博士課程学生	PAGE、テロメラーゼの活性評価
勝田 陽介	京都大学大学院理学研究科・博士課程学生	DNAの合成、高速原子力間顕微鏡による四重鎖構造の観測
THANGAVEL VAIJAYANTHI	京都大学大学院理学研究科・特定研究員	テロメア結合分子の合成
(新) 柏崎 玄伍	京都大学大学院理学研究科・博士課程学生	コンピューターを用いた計算化学的アプローチ
(新) 森永 浩伸	京都大学大学院理学研究科・博士課程学生	テロメラーゼの活性評価
(新) Yang Yangyang	京都大学大学院理学研究科・博士課程学生	テロメア結合分子の合成

\* 継続の共同研究で前年度から新たに参加者を追加する場合は、追加する参加者に(新)のマークをつけてください。

(2) 米国側参加者\* (代表者を含む\*\*)

氏名	所属研究機関・職名	専門及び本研究における役割
○ Mao Hanbin	ケント州立大学・助教	光ピンセットを用いて中間体構造や高次構造についての研究
Deepak Koirala	ケント州立大学化学科・博士課程学生	光ピンセットによる構造の確認, PAGE, CD測定
Shuo Li	ケント州立大学化学科・博士課程学生	光ピンセットを用いたリガンドの四重鎖構造安定化能の評価, ゲルシフトアッセイ

\* 継続の共同研究で前年度から新たに参加者を追加する場合は、追加する参加者に(新)のマークをつけてください。

\*\* 米国側代表者の氏名の前に、「○」のマークをつけてください。

## 6. 本年度実施計画の概要

- ※ 申請書の内容を踏まえて、日本語にて記入してください。
- ※ 経費との関連がわかるように具体的に記入してください。

### 23年度の研究計画

#### 1) 高速原子間力顕微鏡を用いた四重鎖の観測

DNA origami の手法により DNA による二次元構造”DNA フレーム”を設計し、四重鎖構造を原子間力顕微鏡 (AFM) により観測するこの”DNA フレーム”上で四重鎖構造が形成されると、お互いのフラグメントが近づきあい、”DNA フレーム”は「X」の形を示す。この系を用いて切れ目のない2つの橋の間でシナプティック DNA とよばれる四重鎖構造の形成について検討する。またこの系を用いてテロメア DNA とテロメラーゼの結合について観測を行う予定である。

AFM 観測用にカンチレバーが経費として必要である。

#### 2) 四重鎖構造形成のフォールディング経路に関する計算化学的アプローチ

ヒトテロメア四重鎖構造のフォールディング経路に関して最新の計算化学的なアプローチを駆使して検討する。塩基対形成、ヘアピン構造の動力学計算、ヒトテロメア四重鎖構造の安定性について FMO 法を用いた計算を行なう。

#### 3) 光ピンセットに用いる DNA フラグメントの合成

光ピンセットでは、マイクロメートルサイズの粒子をレーザーで捕捉し、粒子に加わる力を測定する。Mao 研究室ではレーザーを二つに分割し、二つのビーズを捕捉して実験を行っている。DNA を直接ビーズに結合させるとビーズ表面からの影響を受けるため、テロメア配列に二重鎖を伸長した DNA フラグメントを用いる。この DNA フラグメントの合成には従来、数段階の分子工学的手法が必要であり、新しい効率よい DNA フラグメントの合成を検討する。

この実験を行うために分子生物試薬が経費として必要である。また、膨大なデータ解析のために事務補佐員の雇用のための人件費が必要である。

#### 4) 隣接四重鎖構造にエナンチオ選択的に結合するリガンドの評価とテロメラーゼ活性の影響評価

申請者は、環状のキラルヘリセンがヒトテロメア四重鎖構造に対しエナンチオ選択的に結合することを見出しているため、その分子認識について検討を行う。ヘリセンとテロメア DNA との結合を調べるため、天然配列を持つ ODN 1: 5' -AGGG (TTAGGG)<sub>7</sub>-3' と比較として ODN 2: 5' -AGGG (TTAGGG)<sub>3</sub>(TTA)<sub>6</sub>GGG (TTAGGG)<sub>3</sub>-3' を用いて光ピンセットを用いた検討を行う。

様々なテロメア結合分子の合成のため試薬類と精製用の HPLC カラムが必要である。また、遺伝子発現解析、実験動物を用いた毒性試験のため、経費として効果試験請負にかかる費用が発生する。

23年度に購入を予定していた「自動核酸抽出装置」については新しい方法が開発されたことにより現在の装置で行えることが判明したため、購入の必要がなくなった。しかしテロメア結合分子の合成を行う特定研究員の雇用や実験データの解析・整理を行う事務補佐員が必要であり、その経費を計上した。

渡航先での用務

杉山弘

光ピンセット実験データの解析、論文のための討議

三戸祐太

光ピンセット実験の実施、論文のための討議

勝田陽介

光ピンセット実験の実施、論文のための討議

Mao Hanbin

光ピンセット実験データの解析、DNA 折り紙法を用いた結果の討議、論文作成のための討議

7. 本年度経費総額 19,800 千円

(単位：千円)

設備備品費	消耗品費	旅費等		人件費・ 謝金等	その他経 費	事務委託 手数料	外国旅 費・人件 費・謝金等 に係る消 費税*
		国内旅費	外国旅費				
0	7,280	100	1,300	7,100	3,400	200	420

\* 外国旅費・人件費・謝金等に係る消費税を本経費から支出しない場合は、その理由等を「外国旅費・人件費・謝金等に係る消費税」欄に記入してください。

\* 委託費の総額の上限は、2,000 万円/年度です。

翌年度所要見込額	翌々年度所要見込額	3年度後所要見込額
19,800	4,400	

左の欄は該当する場合のみ記入してください。  
(単位：千円)

\* 委託費の総額の上限は、2,000 万円/年度です。

研究計画全体必要額
59,400

2年度目以降の場合は、前年度までの執行済額も含めて記載してください。  
(単位：千円)

8. 設備備品費、消耗品費、人件費・謝金等、その他経費

	細目	金額	積算内訳
設備備品費			
	計	0	
消耗品費	分子生物学試薬	3,350	テロメラーゼ活性評価キット 60千円/1セット x 20セット = 1,200千円 ビオチンラベリングキット 50千円/1セット x 15セット = 750千円 ジオキシゲンラベリングキット 55千円/1セット x 15キット = 825千円 その他試薬一式 575千円
	カンチレバー	3,000	500千円/10本 x 6箱 = 3,000千円
	HPLC用逆相カラム	830	83千円/本 x 10箱 = 830千円
	書籍	100	テロメア関連図書一式
	計	7,280	
人件費・謝金等	特定研究員	4,032	テロメア結合分子の合成 1名・336千円/月・12ヶ月
	事務補佐員	2,800	実験データの解析、整理 1名・単価1.2千円/時間・12ヶ月
	謝金	268	英語論文校正、専門的知識の提供
	計	7,100	
その他経費	研究成果発表費用	400	
	効果試験等請負	3,000	遺伝子発現解析、実験動物を用いた毒性試験
	計	3,400	

備考：

- ① 細目は設備備品費、消耗品費、人件費・謝金等、その他経費（「通信費（切手・電話等）」「運搬費」「印刷費」等（手引8-9参照）の別に記入してください。
- ② 設備備品費、消耗品費、人件費・謝金等、については、「積算内訳」の欄に品名または人物名、単価および数量を明記してください。

9. 交流計画

(a) 日本側参加者の米国への渡航計画

出張者 (氏名・職名)	出発地	用務先 (都市名)	旅行期間*	用 務	経費負担**
杉山弘・教授	京都市	ケント州立大 学(米国ケント 市)	3月頃、 10日間	光ピンセット実験データの 解析、論文のための討議	有
三戸祐太・大 学院生	京都市	ケント州立大 学(米国ケント 市)	3月頃、 10日間	光ピンセット実験の実施、論 文のための討議	有
勝田陽介・大 学院生	京都市	ケント州立大 学(米国ケント 市)	3月頃、 10日間	光ピンセット実験の実施、論 文のための討議	有

\* 旅行期間の欄の記入例：「6月頃、10日間」

\*\* 本経費使用予定の有無を記入すること

## (b) 日本側参加者の米国以外の国への渡航計画\*

出張者 (氏名・職名)	出発地	用務先 (国名・都 市名)	旅行期間**	用 務	経費負担***
なし					

\* 外国出張の渡航先は原則として、米国のみを渡航先とします。ただし、当該共同研究の研究成果発表を目的とする学会等への出席や、フィールドワーク等で当該第三国へ行くことが必須である研究上の理由がある場合に限り、米国以外の国を訪問することは可能です。

\*\* 旅行期間の欄の記入例：「6月頃、10日間」

\*\*\* 本経費使用予定の有無を記入すること

## (c) 米国側研究者の来日計画

出張者 (氏名・職名)	用務先	旅行期間*	用 務
Mao Hanbin・助教	京都大学	2月頃、 10日間	光ピンセット実験データの解析、 DNA折り紙法を用いた結果の討議、 論文作成のための討議

\* 旅行期間の欄の記入例：「6月頃、10日間」