

国際化学研究協力事業
平成24年度実施計画書

平成 24年3月19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 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
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
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
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
(新) 遠藤 政幸	京都大学物質 - 細胞統合システム拠点・准教授	DNA の合成、高速原子力間顕微鏡による四重鎖構造の観測
(新) 朴 昭映	京都大学大学院理学研究科・助教	コンピューターを用いた計算化学的アプローチ
(新) 木崎 誠一朗	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

*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・准教授	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。

2 4 年度の研究計画

1) 高速原子間力顕微鏡を用いたDNA間相互作用の観測

DNA origami により設計した” DNA フレーム” を用い、DNA 間の相互作用を原子間力顕微鏡 (AFM) により観測する。この” DNA フレーム” 上で相互作用が存在すると、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 とよばれる相互作用について検討する。またこの系を用いて相同配列の弱い相互作用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さらに検討する。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 ネットの合成

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、粒子に加わる力が測定可能である。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 ネットを直接ビーズに結合させ蛋白質の選択的捕捉を試みる。この DNA ネットの合成には DNA origami 法を用い、新しい DNA ネッ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) 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)₇-3' と比較として ODN 2: 5' -AGGG (TTAGGG)₃(TTA)₆GGG (TTAGGG)₃-3' を用いて光ピンセットを用いた検討をさらに進める。

様々なテロメア結合分子の合成のため試薬類と精製の 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。

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

森永浩伸

光ピンセット実験の実施、論文のための討議

木崎誠一郎

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)

研究経費							事務委託手数料
設備備品費	消耗品費	旅費等		人件費・謝金等	その他経費	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	7,800	100	1,000	7,100	3,400	400	0

* 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、次のとおりです。

・平成 23 年度以前の採択課題・・・2,000 万円/年(うち事務委託手数料は、研究経費に対し 10%以内)

・平成 24 年度以降の採択課題・・・研究経費 1500 万円/年に、研究経費に対し 10%以内の事務委託手数料を加えた額

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
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)

*

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		
消耗品費	分子生物学試薬	3,850	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 20セット = 1,000千円 ジオキシゲンラベリングキット 55千円/1セット x 20キット = 1,100千円 その他試薬一式 550千円
	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	850	85千円/本 x 10箱 = 850千円
	書籍	100	テロメア関連図書一式
	計	7,800	
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・336,000/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1,200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（代表者を含む）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)	9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
森永浩伸・大 学院生	京都市	ケント州立大 学(米国ケント 市)	9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
木崎誠一朗・ 大学院生	京都市	ケント州立大 学(米国ケント 市)	9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（代表者を含む）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・准教授	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」