

国際化学研究協力事業 平成 24 年度実施報告書

平成 25 年 4 月 12 日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

所属機関・部局 京都大学 大学院理学研究科
(ふりがな) すぎやま ひろし
職・氏名 教授・杉山 弘

1. 事業名 国際化学研究協力事業
2. 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
3. 共同研究実施期間 (全採用期間)
平成 22 年 9 月 1 日 ~ 平成 25 年 8 月 31 日 (3 年 ヶ月)
4. 研究参加者
(1) 日本側参加者 7 名 (2) 米国側参加者 3 名
5. 主要な物品購入状況 (一品又は一組若しくは一式の価格が 50 万円以上のもの)

物品名	仕様 型・性能等	数量	単価(円)	金額(円)	設置研究機関名
アステック株式会社製 ウォータージャケット 型 CO2/マルチガスイ ンキュベーター	WCI-165	1 台	883,575	883,575	理学研究科

備考：50 万円以上の物品を購入等した場合のみ記入してください。

6. 人件費使用状況

氏名	金額	雇用期間	専門および本研究における役割
THANGAVEL Vaijayanthi	3,977,710	H24. 4. 1-H25. 3. 31	テロメア結合分子の合成・DNA ハイブリッド触媒による不斉合成

備考： 研究者及び専門技術員・研究補助者を雇用した場合のみ記入してください。
雇用期間の欄の記入例：「平成23年6月1日～平成25年5月31日」

7. 渡航実施状況

(a) 当該年度に米国を訪問した日本側参加者の明細

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**

* 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) 当該年度に米国以外の国を訪問した日本側参加者の明細*

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***

* 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) 当該年度に受入れた米国側参加者の明細

出張者 (氏名・職名)	用務先	旅行期間*	用 務
Deepak Koirala ケント州立大学・博士課程学生	京都大学大学院理学研究科	H24. 9. 29- H24. 10. 29	DNA 折り紙をつかった分子網の設計

* 旅行期間の欄の記入例：「6月頃、10日間」

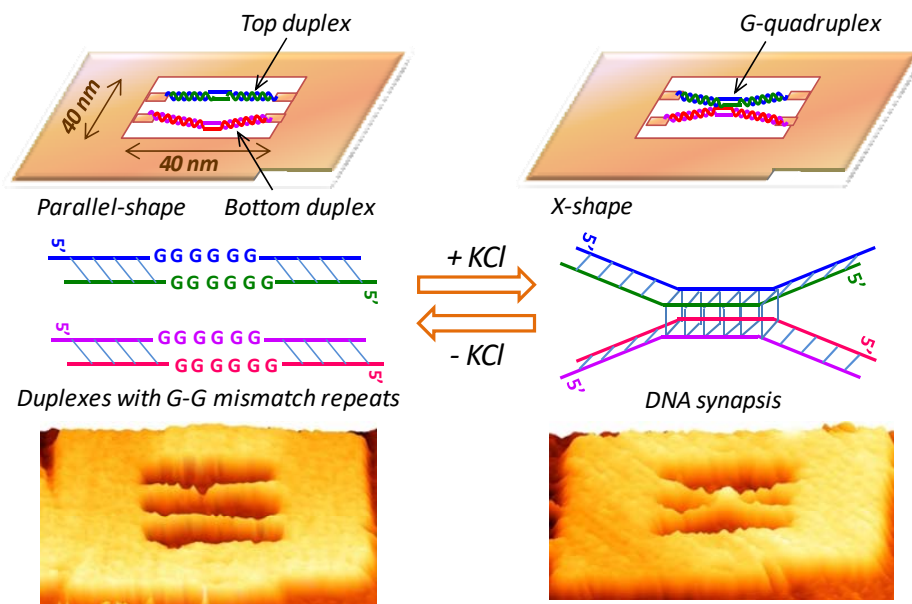
8. 研究実施状況

※ 申請書の内容および当該年度実施計画書の「6. 本年度実施計画の概要」と対応させつつ、当該年度の研究の実施状況を簡潔に日本語にて記入してください。

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)により観測した。この”DNA フレーム”上で相互作用が存在すると、以下に示すように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。今年度は、この系を用いて2つの橋の間でシナプティック DNA とよばれる弱い相互作用について検討した。その結果グアニングアニンミスマッチ領域は、2分子集まり安定な四重鎖構造を形成することを明らかにした。これらの結果について ACS Nano に投稿中である。

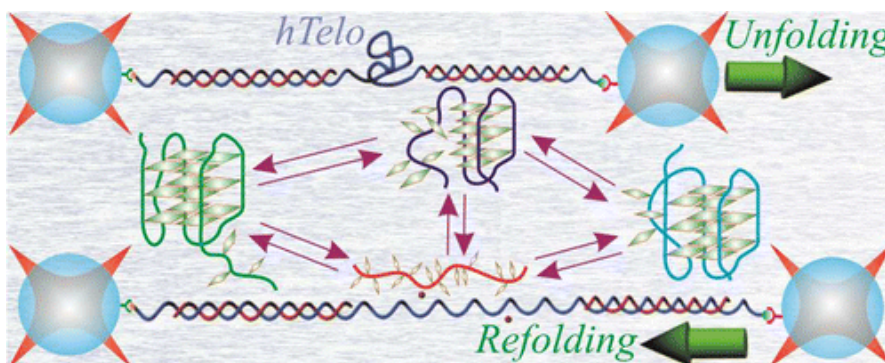
Formation and Disruption of DNA Synapsis Inside a DNA Origami Frame: Salt Induced Changes. Arivazhagan



Rajendran, Masayuki Endo, Kumi Hidaka, Phong Lan Thao Tran, Jean-Louis Mergny, and Hiroshi Sugiyama

2) 四重鎖構造形成の経路に関する光ピンセットを用いた実験的アプローチ

ヒテロメア四重鎖構造のフォールディング経路に関して光ピンセットを用いた最新の実験的なアプローチで検討した。その結果、我々が計算化学的に予言した三重鎖構造が中間体であることが確かめられ、フォールディングの全容が明らかになった。

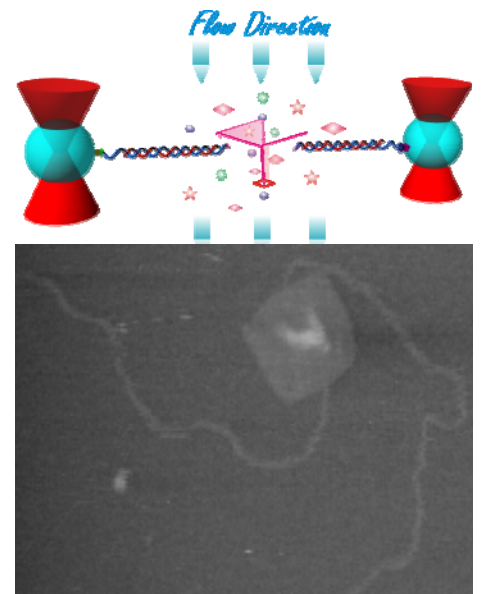


Long-Loop G-Quadruplexes are Misfolded Population Minorities with Fast Transition Kinetics in Human Telomeric Sequences Koirala, D.; Ghimire, C.; Bohrer, C.; Sannohe, Y.; Sugiyama, H.; Mao, H. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, **135**, 2235-2241.

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た。この DNA ネットの合成には DNA origami 法を用い、新しい DNA ネットを合成した。

AFM 像を右に示すが、設計通りに作成されていることがわかる。これを光ピンセットの先につけてその張力を測定した。まだ蛋白を捉えることには成功していないが、光ピンセットに DNA オリガミ法で構築したナノ構造体を利用することができることを示した。



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った。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)₆ GGG (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た。投稿を準備中である。

9. 研究発表（平成 24 年度の研究成果）

【雑誌論文】 計（ 3 ）件 うち査読付論文 計（ 3 ）件

著者名	論文標題				
Koirala, D.; Ghimire, C.; Bohrer, C.; Sannohe, Y.; Sugiyama, H.; Mao, H.	Long-Loop G-Quadruplexes are Misfolded Population Minorities with Fast Transition Kinetics in Human Telomeric Sequences				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
J.Am Chem. Soc.	有	135	2013	1117-1123	

著者名	論文標題				
Vaijayanthi, T.; Bando, T.; Hashiya, K.; Pandian, G. N.; Sugiyama, H.	Design of a New Fluorescent Probe: Pyrrole/Imidazole Hairpin Polyamides with Pyrene Conjugation at Their γ -Turn				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Bioorg.Med. Chem.	有	21	2013	852-855	

著者名	論文標題				
Vaijayanthi, T.; Bando, T.; Pandian, G. N.; Sugiyama, H.	Progress and Prospects of Pyrrole-Imidazole Polyamide-Fluorophore Conjugate as Sequence-Selective DNA Probes.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
ChemBioChem.	有	13	2012	2170-2185	

【学会発表】 計（ 1 ）件 うち招待講演 計（ 0 ）件

発表者名	発表標題		
杉山 弘	Direct Observation of Single Molecular Event in DNA Origami Frame		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第50回日本生物物理学会年会	2012年9月23日	名古屋大学東山キャンパス	

【図書】 計（ 0 ）件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	