

国際共同研究事業
国際化学研究協力事業
平成 29 年度実施計画書

平成 29 年 2 月 16 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) 完全長ヒトテロメア突出末端の構造のダイナミクスとサブドメインの安定性

(英文) Population Dynamics and Subdomain Stability of Folded Species in the Full-length Overhang Region of Human Telomeres

2. 共同研究実施期間

平成 26 年 10 月 1 日 ~ 平成 29 年 9 月 30 日 (3 年)

(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. 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。

※ 経費及び交流計画との関連がわかるように具体的に記入してください。

分子間力顕微鏡 (AFM) を用いるグアニン四重鎖構造や、i-motif 構造の直接観察による解析研究

申請者らの研究室では、本研究期間を通じて積極的にDNA遺伝子配列内に存在する様々な四重鎖構造を“DNAフレーム”により直接観測可能にする技術の開発研究を遂行してきた。研究最終年度を迎え、“DNA フレーム”技術を応用した“DNAナノケージ(NanoCage)”技術とMao教授らの開発した光ピンセット測定技術を統合的に組み合わせた新しい観測技術の開発を進める予定である。現在までに、先駆的な研究成果として、杉山らはDNAナノケージ内部にグアニン四重鎖構造を取り込んだ構造体の構築に成功している。さらに、その構築体に対してMao教授らが光ピンセット測定による力学的な解析を行った結果、世界で初めてDNAナノケージ内でDNA高次構造が安定化する現象を捕捉している。最終年度は、シトシンrichなDNA鎖が構築するi-motif 構造に対しても測定、解析を実施し、得られる研究成果を杉山、Maoらが共同して発表、論文投稿する予定である。

この DNA 構造体の構築、評価、解析を実施するために、化学修飾された様々な塩基配列の核酸オリゴマーや酵素類が必要であり、受託合成企業への発注、もしくは、DNA 合成機による研究室での合成により必要な量を準備する予定である。AFM 測定用カンチレバーも使用によって、劣化摩耗していくため、消耗品として計上する必要がある。

グアニン四重鎖形成におけるメカニズムの解析、特に、申請者の“DNA フレーム”による1分子解析技術を活用するG-四重鎖の高次構造と機能の解析は Chuanxin Guo が、前年度担当していた Li から引き継いで進める。また、河本は共同研究の遂行に必要なビオチン標識化したPD(ピリドスタチン)類縁体の合成を行い、Mao 研究室への提供を担当する。既に、開発初期のPD 類縁体の Mao らへ提供は行っており、米国側で光ピンセットによる測定、解析を進める予定である。

ヒテロメア二本鎖構造に対する結合性リガンドの特異的結合機能評価

ヒテロメア二本鎖構造に対する特異的な結合性リガンドの開発は、生細胞内でのヒテロメアの高次構造、機能解析において重要な役割を果たすと考える。申請者らの研究室では、今年度も継続して、河本が中心となってヒテロメア二本鎖構造に対する結合性リガンドの開発を、SPR や蛍光顕微鏡等の解析技術を駆使することによって、機能解析研究を進めていく計画である。THANGAVEL は生細胞内での蛍光性の観測、評価を行なう。これらの研究を進める上で、核酸オリゴマー、化学合成試薬類、合成原料、蛍光試薬、生物試薬類、SPR センサーチップなどが必要である。合成リガンドはフラッシュカラムや HPLC カラムによって精製された後、機能評価に使用する。得られる研究成果は、河本、杉山らが中心となって学会発表、論文投稿を進めていく予定である。

四重鎖結合性リガンドの開発と特異的結合機能評価

DNA遺伝子配列内で形成する四重鎖構造に特異的に結合するリガンドの開発によって、特定遺伝子発現の制御、並びに、生体内での四重鎖構造の解析プローブなどの応用が期待できる。申請者らの研究室では、今年度も継続して、朝光が中心となってグアニン四重鎖結合性リガンドの開発研究を進めていく計画である。特に、最終年度は新しく設計、合成した配列特異性を向上させた新規結合性リガンドの評価をSPRやAFM等の解析技術を駆使して進めて、朝光、杉山らが中心となって研究成果をまとめ論文投稿を行う予定である。この研究を遂行するために、核酸オリゴマー、化学合成試薬類、合成原料、蛍光試薬、生物試薬類、センサーチップなどが必要である。

6. 本年度経費総額* 6,600 千円

* 研究経費と業務委託手数料の合計を記入して下さい。

(単位：千円)

研究経費							業務委託 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	1,793	0	1,200	2,600	96	311	600

* 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。

* 委託費の上限は申請額に基づき、研究経費 1,500 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とします。

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	左の欄は該当する場合はみ記入してください。 (単位：千円)

* 委託費の上限は申請額に基づき、研究経費 1,500 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とします。

研究計画全体必要額	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)
49,500	

* 研究計画全体必要額の上限は申請書記載の額とします。

7. 設備備品費、消耗品費、人件費・謝金等、その他経費

	細目	金額 (単位：千円)	積算内訳
設備備品費			
	計	0	
消耗品費	AFM用カンチレバー	450	45(千円)×10本
	化学合成試薬類	693	センサーチップ解析用品 250(千円) 有機系薬品類 243(千円) DNA合成用原料 200(千円)
	核酸オリゴマー	200	DNA フレーム、プライマーとして使用
	生物試薬類	200	制限酵素、DNA 反応性酵素等
	HPLC カラム	250	CHEMCOBOND 90(千円)×1本, 40(千円)×4本
計	1,793		
人件費・謝金等	時間雇用研究員	920	230(千円)×4ヶ月 (THANGAVEL Vaijayanthi)
	時間雇用研究員	1,680	280(千円)×6ヶ月 (GUO Chuanxin (郭 伝鑫))
	計	2,600	
その他経費	学会参加登録費、 通信、運搬費等	78	学会参加登録費 (杉山 弘) 6 th International Meeting on Quadruplex Nucleic Acids 360EUR 17 th Symposium on Chemistry of Nucleic Acid Components 270EUR
		18	運搬費 サンプル送付 18(千円)
	計	96	

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 8-8 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」の欄に品名又は人物名、単価及び数量を明記してください。

8. 交流計画

(a) 日本側参加者（代表者を含む）の国内出張計画

出張者 (氏名)	出発地 (都市名)	用務先 (都市名)	旅行期間*	用 務 (用務先・用務内容)	経費負担**
なし					

* 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）の米国への渡航計画

出張者 (氏名)	出発地	用務先 (都市名)	旅行期間*	用 務 (用務先・用務内容)	経費負担**
杉山 弘	京都	ニューポート, ロードアイランド 州, 米国	6月下旬 1週間	Gordon Research Conference Nucleosides, Nucleotides & Oligonucleotides	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

(c) 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)	出発地	用務先 (国名・都 市名)	旅行期間**	用 務 (用務先・用務内容)	経費負担***
杉山 弘	京都	プラハ, チェコ チェスキー クロムロ フ, チェコ	5月下旬 ～6月上旬 10日間	6 th International Meeting on Quadruplex Nucleic Acids 17 th Symposium on Chemistry of Nucleic Acid Components (SCNAC2017) (学会で当該共同研究の 研究成果発表を行う)	有

* 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

(d) 米国側研究者の来日計画

出張者 (氏名)	用務先	旅行期間*	用 務 (用務先・用務内容)
なし			

* 旅行期間の欄の記入例：「6月頃、10日間」