

国際共同研究事業  
国際化学研究協力事業  
平成26年度実施報告書

平成27年4月16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・大学院理学研究科職・氏名 (ふりがな) すぎやま ひろし 教授・杉山 弘

1. 事業名 国際共同研究事業国際化学研究協力事業
2. 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
3. 共同研究実施期間 (全採用期間)  
平成26年10月1日 ~ 平成29年9月30日 (3年)
4. 研究参加者  
(1) 日本側参加者 6名 (2) 米国側参加者 2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
Transfection System Starter Pack	Neon® 製品番号: MPK5000S	1	1,068,120	1,068,120	京都大学
微量高速遠心機	日立工機(株)製 CF16RN	1	680,400	680,400	京都大学

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	1,376,711	平成26年10月1日～平成27年3月31日	DNAの合成と結合性リガンドの機能性評価
柏崎 玄伍	1,598,986	平成26年12月1日～平成27年3月31日	結合性リガンドの合成、機能性評価

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25年6月1日～平成27年5月31日」

7. 渡航実施状況

(a) 日本側参加者（代表者を含む）の国内出張

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**
柏崎 玄伍	横浜	京都	11月30日	赴任旅費	有

\* 旅行期間の欄の記入例：「6月10～19日、10日間」

\*\* 本経費使用予定の有無を記入すること

(b) 当該年度に米国を訪問した日本側参加者

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**
Li Yue (李岳)	京都	ケント州立 大学(ケン ト市)	11月22日 ～12月28 日、37日間	DNA合成、CD測定実験及 び打合せ	有

\* 旅行期間の欄の記入例：「6月10～19日、10日間」

\*\* 本経費使用予定の有無を記入すること

(c) 当該年度に米国以外の国を訪問した日本側参加者\*

出張者 (氏名)	出発地 (都市名)	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***
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10～19日、10日間」

\*\*\* 本経費使用予定の有無を記入すること

(d) 当該年度に受入れた米国側参加者

出張者 (氏名)	用務先	旅行期間*	用 務
なし			

\* 旅行期間の欄の記入例：「6月10～19日、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。

平成26年度内容

### **光ピンセットとAFMを用いた結合性リガンドの機能評価**

申請者の研究室では、“DNAフレーム”を用いて、四重鎖構造の直接観測の技術開発を進めている。この“DNA フレーム”技術を用いて、特に、DNAナノ構造体内に存在するテロメア DNAフラグメントが形成するグアニン-四重鎖構造について解析を行なった。これらの測定のために必要な核酸オリゴマーは受注、もしくは、研究室で合成を行い準備した。今年度は、四重鎖構造(もしくは、三重鎖構造)を形成している際のG-四重鎖結合性リガンドの結合力の強度と結合特異性に関して、光ピンセット技術を駆使し解析した共同研究の成果を報告した(*J. Am. Chem. Soc.*, 2014, 136, 15537-15544)。加えて、PDGFのセンシングを可能にする光ピンセットと高速原子間力顕微鏡(AFM)を組み合わせた新しい1分子観察系を共同研究の成果として報告した(*Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014, 126, 8275-8279)。

来年度以降も、テロメア配列内の高次構造の熱力学的分布に基づいて、四重鎖形成におけるメカニズムを、注意深く詳細に解析していく必要がある。その解析には、申請者の“DNA フレーム”と、Mao研究室の“光ピンセット”、それぞれの測定技術を組み合わせた1分子解析技術の展開が必要であると考えます。

### **ヒトテロメア二本鎖DNAに対する結合性リガンドの開発**

ヒトテロメア配列を有するDNAは、その四重鎖構造に対する関心の高さのみならず、細胞の増殖、複製に関連していることが知られており、興味深い研究対象である。我々の研究室では、ヒトテロメア配列を有する二本鎖DNAに対する結合性リガンドの開発も進めている。今年度は、HIPEP研、国立遺伝研との共同研究の成果として、ヒトテロメア二本鎖DNAを特異的にセンシングする結合性蛍光リガンド(*J. Am. Chem. Soc.*, 2014, 136, 11546-11554)の開発に成功した。また、ヒトテロメア二本鎖DNAのアデニンN3位を特異的にアルキル化する機能性リガンド(*Bioconjugate Chem.* 2014, 25, 552-559)の開発にも成功しており、来年度に向けて、新しく四重鎖結合性リガンドの開発を進めている段階である。

### **1分子解析を可能にする高速AFM測定技術の展開**

今年度は、様々なDNAフレームの構築を通して得られた高速AFMによる1分子解析の研究成果を総説として報告した(*Acc. Chem. Res.*, 2014, 47, 1645-1653)。高速AFMを用いるDNAフレームの解析実験において再現性は重要であり、観察事象の確認のために数多くの測定を実施している。多くの測定を通して、1分子測定における技術的な課題、測定基板のマイカに対して導入したDNAやタンパク質が結合し固定化されやすいという課題が見えてきた。その課題の克服に向けて、リピッドバイレイヤーを用いる測定技術を検討し、その測定結果を報告した(*J. Am. Chem. Soc.*, 2014, 136, 1714-1717)。この新しい測定技術を確立できたことによって、申請者の1分子解析技術が進歩し、非常に微細な四重鎖構造の熱力学的な変化に対して応用可能になると考える。

9. 研究発表（平成26年度の研究成果）

【雑誌論文】 計(8)件    うち査読付論文 計(8)件

相手国研究代表者との共著の有無*	著者名	論文標題			
有	Ghimire, C.; Park, S.; Iida, K.; Yangyuoru, P.; Otomo, H.; Yu, Z.; Nagasawa, K.; Sugiyama, H.; Mao, H.	Direct Quantification of Loop Interaction and $\pi$ - $\pi$ Stacking for G-quadruplex Stability at the Sub-molecular Level			
	雑誌名 <i>J. Am. Chem. Soc.</i>	査読の有無 有	巻 136	発行年 2014	最初と最後の頁 15537-15544
無	Hirata, A.; Nokihara, K.; Kawamoto, Y.; Bando, T.; Sasaki, A.; Ide, S.; Maeshima, K.; Kasama, T.; *Sugiyama, H.	Structure Evaluation of Tandem Hairpin Pyrrole-Imidazole Polyamides Recognizing Human Telomeres			
	雑誌名 <i>J. Am. Chem. Soc.</i>	査読の有無 有	巻 136	発行年 2014	最初と最後の頁 11546-11554
有	Koirala, D.; Shrestha, P.; Emura, T.; Hidaka, K.; Mandal, S.; Endo, M.; Sugiyama, H.; Mao, H.	Single Molecule Mechanochemical Sensing Using DNA Origami Nanostructures.			
	雑誌名 <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i>	査読の有無 有	巻 126	発行年 2014	最初と最後の頁 8275-8279
無	Rajendran, A.; Endo, M.; Hidaka, K.; *Sugiyama, H.	Direct and Single-Molecule Visualization of the Solution-State Structures of G-Hairpin and G-Triplex Intermediates			
	雑誌名 <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i>	査読の有無 有	巻 126	発行年 2014	最初と最後の頁 4191-4196
無	Endo, M.; *Sugiyama, H.	Single-Molecule Imaging of Dynamic Motions of Biomolecules in DNA Origami Nanostructures Using High-Speed Atomic Force Microscopy			
	雑誌名 <i>Acc. Chem. Res.</i>	査読の有無 有	巻 47	発行年 2014	最初と最後の頁 1645-1653
無	Yamamoto, M.; Bando, T.; Kawamoto, Y.; Taylor, R. D.; Hashiya, K.; *Sugiyama, H.	Specific Alkylation of Human Telomere Repeat Sequences by a Tandem-Hairpin Motif of Pyrrole-Imidazole Polyamides with Indole-Seco-CBI			
	雑誌名 <i>Bioconjugate Chem.</i>	査読の有無 有	巻 25	発行年 2014	最初と最後の頁 552-559
無	Rajendran, A.; Endo, M.; Hidaka, K.; Tran, P.L.T.; Teulade-Fichou, M-P.; Mergny, J-L.; *Sugiyama, H.	G-quadruplex-binding Ligand-induced DNA Synapsis Inside a DNA Origami Frame.			
	雑誌名 <i>RSC Adv.</i>	査読の有無 有	巻 4	発行年 2014	最初と最後の頁 6346-6355
無	Sannohe, Y.; Kizaki, S.; Kanosato, S.; Fujiwara, A.; Morinaga, H.; Tashiro, R.; *Sugiyama, H.	Controlling Electron Rebound Within Four-Base $\pi$ -Stacks in Z-DNA by Changing Sugar Moiety from Deoxy- to Ribonucleotide.			
	雑誌名 <i>Chem. Eur. J.</i>	査読の有無 有	巻 20	発行年 2014	最初と最後の頁 1223-1225

【学会発表】計 (0) 件      うち招待講演 計 (0) 件

発表者名		発表標題	
学会等名		発表年月日	発表場所
発表者名		発表標題	
学会等名		発表年月日	発表場所
発表者名		発表標題	
学会等名		発表年月日	発表場所

【図書】計 (0) 件

相手国研究代表者との共著の有無*	著者名	出版社					
	書名	発行年	総ページ数				
		<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>					

\*相手国研究代表者との共著がある場合は○、相手国研究代表者との共著であり論文内に事業名を明記している場合は◎と記入した上で、明記されている箇所（頁、巻頭、巻末等）を記入。

\*足りない場合は適宜行を追加して下さい。