

国際共同研究事業  
国際化学研究協力事業  
平成28年度実施報告書

平成 29年 3月 31 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 <sup>(ふりがな)</sup> 教授・杉山 弘 <sup>すぎやま ひろし</sup>

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 0ヶ月)
4. 研究参加者  
(1) 日本側参加者 7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
なし					

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	専門及び本研究における役割
THANGAVEL, Vaijayanthi	2,804,254 円	平成 28 年 4 月 1 日～平成 29 年 3 月 31 日	生物有機化学、CD、FACS、蛍光 測定
Li Yue ( 李 岳 )	3,175,456 円	平成 28 年 4 月 1 日～平成 29 年 3 月 31 日	生物有機化学、DNA 合成、CD 蛍 光、UV 測定、解析評価

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**
Li Yue(李岳)	京都市	京都市	7月22日～23日、2日間	第38回日本光医学光生物学会 ・情報収集	有
朝光 世煌	京都市	京都市	7月22日～23日、2日間	第38回日本光医学光生物学会 ・情報収集補助	有
杉山 弘	京都市	横浜市	3月16日～19日、4日間	日本化学会第97春季年会・ ・情報収集	有
計 3名 (延べ人数)			計 8日		

\* 旅行期間の欄の記入例：「6月10～19日、10日間」（現地到着日～現地出発日）

\*\* 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**
なし					
計 名 (延べ人数)			計 日		

\* 旅行期間の欄の記入例：「6月10～19日、10日間」（現地到着日～現地出発日）

\*\* 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***
朝光 世煌	京都市	シンガポ ール、シンガ ポール	1月31日～ 3月2日、 31日間	Nanyang Thehnological University, Dr. PHAN 研究 室・NMR法を用いたリガンド -DNA 四重鎖構造複合体の分 子間相互作用の解明	有
計 1 名 (延べ人数)			計 31 日		

\* 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」（現地到着日～現地出発日）

\*\*\* 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			
計 名 (延べ人数)		計 日	

\* 旅行期間の欄の記入例：「6月10～19日、10日間」（来日日～離日日）

## 8. 研究実施状況

※ 申請書の内容及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。

### AFMを用いたDNA四重鎖構造の直接観察と解析研究

申請者の研究室では、継続して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進めた。特に、申請者の“DNA フレーム”技術とMao研究室の“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開始した。現在、先駆的な研究成果として、申請者らは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た。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た。研究成果は、遠藤らが中心となって報告された(① Nature Nanotech. in press)。

また、今年度は、四重鎖構造を形成している DNA に対する結合性リガンドの特異性やトポロジーに関して、AFM 技術を駆使して解析した研究成果を報告した(② J. Am. Chem. Soc. 2016, 138, 13842-13845.) (③ Chem. Eur. J. 2016, 22, 5494-5498.)。

### 長鎖1本鎖領域に対する四重鎖結合性リガンドの AFM を用いた機能評価

四重鎖形成におけるメカニズムの熱力学的な解析を目的に、申請者の研究室の“DNA フレーム”による1分子解析技術を活用して G-四重鎖の高次構造と機能の解析を Li が進めた。河本は共同研究の遂行に必要なビオチン標識化した PDC 類縁体の合成を担当し、Mao 研究室に提供した。光ピンセットを用いた観察研究は進行中である。

今年度は、Mao 研究室との光化学、DNA オリガミ解析技術に関連する共同研究の成果を論文として報告した(④ Nucleic Acids Res. 2016, 44, 6574-6582.)。申請者らの AFM 解析アプローチと Mao 研究室の光ピンセットによる解析アプローチの共同研究によって、DNA 高次構造の熱力学的分布が実験的に立証されることが期待される。

### 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

ヒテロメア構造は、細胞の増殖、複製に関連しており、四重鎖構造研究においても興味深い研究対象である。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期待する。

申請者の研究室で、ヒテロメア二本鎖構造に対する結合性リガンドのヒテロメア DNA 配列に対する結合性や、配列特異性を、SPR や蛍光顕微鏡等の解析技術を駆使することによって、河本が中心となって合成評価を、THANGAVEL が観察を進めた。この研究は、化学修飾された様々な塩基配列の核酸オリゴマー、化学合成試薬類、生物試薬類、センサーチップを駆使して進められたものであり、国立遺伝学研究所の前島教授らの細胞評価の結果をまとめて研究成果として報告した(⑤ J. Am. Chem. Soc. 2016, 138, 14100-14107.)。

### 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される四重鎖構造は、転写因子などの DNA 結合性タンパク質の特異的な認識に関連していることが示唆されている。従って、構造特異的に結合するリガンドには、特定遺伝子発現の制御、生体内での高次構造の解析プローブなどへの応用が期待される。申請者の研究室では、ATRX 四重鎖構造形成に関する遺伝子発現との関連を Li が担当し成果を報告した(⑥ ChemBioChem 2016, 17, 928-935.) (⑦ Cell. Chem. Biol. 2016, 23, 1325-1333.)。朝光は、次世代シーケンサーによる、四重鎖結合性リガンドの結合性を網羅的に評価した結果を論文として報告した(⑧ ChemBioChem 2016, 17, 1317-1322.)。

なお、Li、朝光は第 38 回日本光医学光生物学会に、杉山は日本化学会第 97 春季年会に、DNA 構造研究に関連する情報収集のため各々参加した。朝光は、四重鎖構造結合リガンドに対する NMR 解析技術を学ぶためにシンガポールの Nanyang Technological University に派遣された。

9. 研究発表（平成28年度の研究成果）

【雑誌論文】 計（8）件 うち査読付論文 計（8）件

通番	共著の有無*	著者名	論文標題			
①	有	Shrestha, P.; Jonehhe, S.; Emura, T.; Hidaka, K.; Endo, M.; Sugiyama, H.; Mao, H.	Confined Space Dramatically Facilitates G-quadruplex Formation			
		雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
		Nature Nanotech.	有	12	2017	582-588
②	無	著者名	論文標題			
		Räz, M.; Hidaka, K.; Sturla, S.; Sugiyama, H.; Endo, M.	Torsional Constraints of DNA Substrates Impact Cas9 Cleavage			
		雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
		J. Am. Chem. Soc.	有	138	2016	13842-13845
③	無	著者名	論文標題			
		Yamagata, Y.; Emura, T.; Hidaka, K.; Sugiyama, H.; Endo, M.	Triple Helix Formation in a Topologically Controlled DNA Nanosystem			
		雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
		Chem. Eur. J.	有	22	2016	5494-5498
④	有	Shrestha, P.; Emura, T.; Koirala, D.; Cui, Y.; Hidaka, K.; Maximuck, W.; Endo, M.; Sugiyama, H.; Mao, H.	Mechanical Properties of DNA Origami Nanoassemblies are Determined by Holliday Junction Mechanophores			
		雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
		Nucleic Acids Res.	有	44	2016	6574-6582
⑤	無	著者名	論文標題			
		Kawamoto, Y.; Sasaki, A.; Chandran, A.; Hashiya, K.; Ide, S.; Bando, T.; Maeshima, K.; Sugiyama, H.	Targeting 24 bp within Telomere Repeat Sequences with Tandem Tetramer Pyrrole-Imidazole Polyamide Probes			
		雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
		J. Am. Chem. Soc.	有	138	2016	14100-14107
⑥	無	著者名	論文標題			
		Li, Y.; Syed, J.; Suzuki, Y.; Asamitsu, S.; Shioda, N.; Wada, T.; Sugiyama, H.	Effect of ATRX and G-Quadruplex Formation by the VNTR Sequence on $\alpha$ -Globin Gene Expression			
		雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
		ChemBioChem	有	17	2016	928-935
⑦	無	Li, Y.; Syed, J.; Sugiyama, H.	RNA-DNA Triplex Formation by Long Noncoding RNAs			
		雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
		Cell. Chem. Biol.	有	23	2016	1325-1333
⑧	無	著者名	論文標題			
		Asamitsu, S.; Li, Y.; Bando, T.; Sugiyama, H.	Ligand-Mediated G-Quadruplex Induction in a Double-Stranded DNA Context by Cyclic Imidazole/Lysine Polyamide			
		雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
		ChemBioChem	有	17	2016	1317-1322

【学会発表】 計（0）件 うち招待講演 計（0）件

通番	発表者名	発表標題	
①	学会等名	発表年月日	発表場所

【図 書】 計 ( 0 ) 件

通番	共著の有無*	著 者 名	出 版 社	
①				
		書 名	発 行 年	総ページ数
			↓ ↓ ↓	

\*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。