

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「テーラーメイド医療を目指したゲノム
情報活用基盤技術」
研究課題「分子シャペロン工学に基づく
遺伝子解析」

研究終了報告書

研究期間 平成16年10月～平成22年3月

研究代表者：丸山 厚
(九州大学先導物質化学研究所、教授)

§ 1 研究実施の概要

簡便、迅速かつ安価な遺伝子解析・診断法はテーラーメイド医療の普及の一つの要である。遺伝子解析法には核酸間の塩基配列選択的なハイブリッド形成が利用されるが、このハイブリッド形成の正確性が遺伝子診断の信頼性を決める要因となる。本研究では、核酸の正確なハイブリダイゼーションを促すタンパク質である核酸シャペロンの機能に着目し、合成高分子材料でその機能を再現し、それを核酸解析に取り込んだ新しい遺伝子解析法の創出を目的としている。そのために、高分子材料による核酸シャペロン活性発現メカニズムの解析、高機能性核酸分子シャペロン高分子の設計、核酸プローブの設計等を推進した。また、より実地的な遺伝子診断法、とりわけ一塩基多型 (SNPs) 検出法としての可能性を計るために、ハイスループット性の向上を検討した。一方、核酸シャペロン活性を発現する高分子の核酸ナノテクノロジー、核酸医薬領域への展開を図った。概ね以下の様な成果を得た。

核酸シャペロン活性の発現機序を考察するために、既にシャペロン活性が見いだされているカチオン性くし型共重合体と DNA との相互作用を検討した結果、通常のカチオン性高分子とは異なり、くし型共重合体は DNA の溶存形態を損なわない新しいタイプの高分子電解質複合体を形成することを見いだした。また、カチオン性くし型共重合体は、核酸ハイブリッドを安定化するのみならず、その形成速度を二桁から三桁高めることが確認された。さらに、シャペロン活性を向上させるために高分子の分子設計を行い、カチオン性基を適切に変換することでシャペロン活性を二桁以上高められることを見いだした。また、側鎖カチオン型高分子においてもシャペロン活性を発現できることを確認した。

核酸シャペロン活性を利用した遺伝子解析法として、二重鎖核酸をプローブとする鎖交換法を検討した。新たなプローブとして部分二重鎖 (PDS) プローブおよび末端変異二重鎖 (TMD) プローブを設計した。いずれのプローブも、比較的容易な設計手順ながら高い一塩基変異識別能を発現した。とりわけ、TMD プローブはハイブリダイゼーション法での識別が困難である T→G 変異も高い識別能で検出できることがわかった。SNPs 解析以外にも RNA 解析等種々の核酸解析法への応用が期待される。

鎖交換法の SNPs 解析法への実地的な展開を図るために、DNA タグアレイ法と融合した。多検体の同時解析においても、鎖交換法が高い識別能を保持することが見いだされた。酵素を利用する従来法に比べ、解析時間が短縮でき、操作も簡略化できた。臨床現場、Point of Care (POC) に遺伝子解析を提供する基盤的技術として期待される。

§ 2 研究構想

(1) 当初の研究構想

- I. 高機能性核酸分子シャペロンの設計
- II. 低コスト蛍光プローブの開発
- III. 部分単鎖プローブ法への核酸シャペロン高分子の適用
- IV. ハイスループット化と一塩基多型 (SNPs) 解析への展開

項目Iでは、より高い核酸シャペロン機能を目指し、高分子材料の設計法を構築する。秋吉によるタンパク質フォールディングを促す人工シャペロンの研究により得られた知見を活かし、人工シャペロンとしてナノゲルにも着目する。生体分子間の疎水的相互作用、水素結合、静電的相互作用などがフォールディングに重要な役割を果たしているが、この点はタンパク質と核酸のフォールディング過程で共通であり、知見の共有が可能である。本項目では、丸山と秋吉が連携することで機能の高い人工シャペロンを調製する。

項目IIでは、低コストの蛍光プローブ、電気化学プローブを設計する。現在種々の蛍光色素が遺伝子解析に利用されているが、比較的成本が高く網羅的解析に必要なSNPs解析に利用する上で問題となっている。山名らは通常2種の蛍光色素が必要なハイブリダイゼーションアッセイを、エキサイマー形成を利用することで一種の蛍光プローブのみで検出する手法を見いだしている。これを基に、さらにプローブの高感度化を図る。また、核酸構造を識別しうる構造選択的プローブの設計を中谷が担当する。

項目IIIでは、新規合成された人工核酸シャペロンと部分単鎖プローブ法を融合させることで、より高い変異検出分解能と検出感度を兼備した解析システムを目指す。さらに、検出時間を短くすることで、低コスト性やハイスループット (HTS) 性を高められる手法を視野に、その基盤的技術を開拓する。

項目IVでは、実際の遺伝子タイピング法としての展開を視野に、多サンプルの同時解析が可能なシステムの構築を目指す。特に、臨床現場等、Point of Care (POC) で活用できるシステムを目標に、従来法に比べより短時間かつ簡便に解析可能なシステムを目指す。

(2) 新たに追加・修正など変更した研究構想

- I. 人工シャペロンによる核酸ナノマシンの応答強化
- II. 鎖交換法の DNA 結合性リガンド解析法への応用
- III. シャペロンポリマーの核酸デリバリーへの応用

- I. 核酸は配列依存的かつナノメーターオーダーで構造が明確なハイブリッド形成とその可逆性からナノ構造体や分子マシンのビルディングブロックとして注目されている。多くの核酸ナノマシンは、ハイブリダイゼーションと核酸鎖交換反応をその作動原理としている。ハイブリッド安定化効果と核酸鎖交換反応促進活性を有するカチオン性くし型共重合体により、核酸ナノマシンの応答性の向上を目指す。
- II. DNA 結合性リガンドの DNA への結合は鎖交換過程に影響することが考えられる。さらにこれを利用することで、特定の配列に特異的に結合するリガンドのスクリーニングが可能となることを見いだされた。鎖交換反応速度に及ぼす種々の DNA 結合リガンドの影響を検討する。
- III. カチオン性くし型共重合体やカチオン性ナノゲルは DNA や RNA と安定な複合体を形成することが明らかになった。そこで、siRNA などの核酸医薬療法への応用を目指した研究を行う。

§3 研究実施体制

(○：研究代表者または主たる共同研究者)

(1)「丸山」グループ

①研究参加者

代表	氏名	所属	役職	参加時期
○	丸山 厚	九州大学	教授	H. 16. 10～
	狩野有宏	九州大学	助教	H. 16. 12～
	山吉 麻子	九州大学	特任助手	H. 17. 4～H. 18. 3
	丸山知子	JST	CREST 研究補助員	H. 16. 12～H. 18. 3
	望月慎一	九州大学	M1～D3	H. 16. 10～H. 20. 3
	牧田尚樹	東京工業大学	M1～M2	H. 16. 10～H. 18. 3
	平田和也	東京工業大学	M1～M2	H. 16. 10～H. 18. 3
	藤井尚久	東京工業大学	M1～M2	H. 16. 10～H. 18. 3
	石井大輔	九州大学	M1～M2	H. 17. 4～H. 19. 3
	新谷 彩	九州大学	M1～M2	H. 17. 4～H. 19. 3
	持田純嗣	九州大学	M1～M2	H. 17. 4～H. 19. 3
	高田 薫	九州大学	M1～M2	H. 17. 4～H. 19. 3
	岩田 智喜	九州大学	M1～M2	H. 18. 4～H. 20. 3
	村木 健太郎	九州大学	M1～M2	H. 18. 4～H. 20. 3
	山野 剛	九州大学	M1～M2	H. 18. 4～H. 20. 3
	呉 隆亮	九州大学	M1～M2	H. 18. 4～H. 20. 3
	森山 累	九州大学	D2	H. 18. 4～
	崔 成源	日本学術振興会	外国人特別研究員	H. 18. 4～H. 19. 3
	芥川 礼	九州大学	M1～M2	H. 19. 4～H. 21. 3
	穴井 太郎	九州大学	M1～M2	H. 19. 4～H. 19. 8
	城山 宗一郎	九州大学	M1	H. 19. 4～H. 21. 3
	嶋田 直彦	九州大学	特任助教	H. 19. 4～
	中村 麻子	九州大学	テクニカルスタッフ D1～D2	H. 19. 11～H. 20. 3 H. 20. 4～
	畑瀬 美穂子	九州大学	テクニカルスタッフ	H. 19. 5～H. 19. 7
	林田 美和	九州大学	テクニカルスタッフ	H. 19. 7～H. 20. 3
	中村 いずみ	九州大学	技術補佐員	H. 19. 12～
	石井 智也	九州大学	M1～M2	H. 20. 4～
	濱野 僚太	九州大学	M1～M2	H. 20. 4～
	森山 健司	九州大学	M1～M2	H. 20. 4～

	山元 美由紀	九州大学	M1～M2	H. 20. 4～
	平野 昌典	九州大学	M1～M2	H. 20. 4～
	杜 杰	日本学術振興会	外国人特別研究員	H. 20. 4～
	真家 賢治	九州大学	非常勤研究員	H. 21. 4～
	梶山 力	九州大学	M1	H. 21. 4～
	徳永 修一	九州大学	M1	H. 21. 4～
	中山 美紀	九州大学	技術補佐員	H. 21. 4～

②研究項目

- ・ 核酸シャペロン材料の設計と機能評価

(2)「秋吉」グループ

①研究参加者

代表	氏名	所属	役職	参加時期
○	秋吉 一成	東京医科歯科大学	教授	H16.10～
	森本 展行	東京医科歯科大学	助教	H16.10～H21.3
	澤田 晋一	東京医科歯科大学	助教	H16.10～
	宮沢 直美	東京医科歯科大学	大学院生	H16.10～18.3
	長谷川 麗	東京医科歯科大学	大学院生	H16.10～H19.3
	朝山 和喜子	東京医科歯科大学	技術補佐員	H16.10～H21.3
	山崎 美緒	東京医科歯科大学	大学院生	H16.10～18.3
	小澤 弥生	東京医科歯科大学	大学院生	H17.4～H21.3
	山根 説子	東京医科歯科大学	大学院生	H16.10～H21.3
	玉田 純子	東京医科歯科大学	大学院生	H18.4～H20.3
	戸井田さやか	東京医科歯科大学	大学院生	H19.4～
	海老原 梢	東京医科歯科大学	大学院生	H19.4～H21.3
	下田 麻子	東京医科歯科大学	大学院生	H20.4～
	多田 陽子	東京医科歯科大学	大学院生	H19.4～H21.3
	室田 曜史	東京医科歯科大学	大学院生	H19.4～H21.3
	高橋 治子	東京医科歯科大学	大学院生	H20.4～
	山本 由香	東京医科歯科大学	大学院生	H19.4～H21.3
	杉原 裕展	東京医科歯科大学	大学院生	H19.4～H21.3
	神谷 厚輝	東京医科歯科大学	大学院生	H20.4～
	関根由莉奈	東京医科歯科大学	大学院生	H21.4～
	土戸 優志	東京医科歯科大学	大学院生	H21.4～
	中島 彩	東京医科歯科大学	大学院生	H21.4～

	阿部 慶太	東京医科歯科大学	大学院生	H21.4～
--	-------	----------	------	--------

②研究項目

- ・新規ナノゲル核酸シャペロンの開発

(3)「山名」グループ

①研究参加者

代表	氏名	所属	役職	参加期間
○	山名 一成	兵庫県立大院工	教授	H16.10～
	中村 光伸	〃	准教授	H19.1～
	高田 忠雄	〃	助教	H20.4～
	川上 直子	〃	M2	H16.10～H18.3
	亀川 展幸	〃	M2	H16.10～H18.3
	大塚 孝義	〃	M2	H16.10～H18.3
	岡本 武彦	〃	M2	H16.10～H18.3
	徳力 文香	〃	M2	H16.10～H18.3
	熊本 諭	〃	CREST 研究員	H17.4～H18.12
	真家 賢治	〃	D3	H17.10～H21.3
	斎藤 統一	〃	M2	H17.4～H19.3
	植田 将之	〃	M2	H17.4～H19.3
	下村 行徳	〃	M2	H17.4～H19.3
	中林 誉人	〃	M2	H17.4～H19.3
	神足 聖忠	〃	M2	H17.4～H19.3
	高山 香	〃	M2	H18.4～H20.3
	渡辺 真理子	〃	M2	H18.4～H20.3
	松岡 隆誠	〃	M1	H18.4～H18.10
	村上 陽平	〃	M2	H18.4～H20.3
	吉本 昌吾	〃	M2	H18.4～H20.3
	吉住 純	〃	M2	H18.4～H20.3
	渡辺 小百合	〃	M2	H19.4～H21.3
	林 英里子	〃	M2	H19.4～H21.3
	長谷川 裕介	〃	M1	H20.4～
	河野 裕太	〃	M1	H20.4～
	谷水 陽介	〃	M1	H20.4～
	福田 稔	〃	M1	H20.4～

②研究項目

- ・低コスト蛍光色素の開発と HTS 化

(4)「中谷」グループ

①研究参加者

代表	氏名	所属	役職	参加時期
○	中谷 和彦	京都大学、大阪大学	助教授、教授	H16.10～
	周 大揚	大阪大学	助手、助教	H17.4～H21.3
	萩原 正規	大阪大学	助手、助教	H17.4～
	堂野 主税	大阪大学	助手、助教	H18.4～
	武井 史恵	大阪大学	教務職員、助教	H17.4～
	Peng Tao	大阪大学	CREST 研究員	H17.4～H17.11
	後藤 佑樹	京都大学	大学院生	H16.10～H17.3
	林 剛介	京都大学、大阪大学	大学院生	H16.10～H21.3
	劉 たまみ	大阪大学	大学院生	H18.4～H20.3
	宇野 真之介	大阪大学	大学院生	H19.4～H21.3
	山本 剛史	大阪大学	大学院生	H19.4～H21.3
	堂浦 智裕	大阪大学	大学院生	H19.4～H21.3
	梅本 詩織	大阪大学	大学院生	H19.4～
	洪 昌峰	大阪大学	大学院生	H19.4～
	坂井 俊	大阪大学	大学院生	H20.4～
	今村 允美	大阪大学	大学院生	H20.4～
	柴田 知範	大阪大学	大学院生	H20.4～
	厚見 宙志	大阪大学	大学院生	H21.4～
	米田 恵介	大阪大学	大学院生	H21.4～
	松永 静香	大阪大学	大学院生	H21.4～
	任 仙光	大阪大学	大学院生	H21.4～
	中川 浩気	大阪大学	大学院生	H21.4～
	水梨 友之	大阪大学	大学院生	H21.4～

②研究項目

- ・ 核酸高次構造検出リガンドの設計とリアルタイム検出

丸山研究グループ

九州大学 先導物質化学研究所

東京工業大学 生命理工学研究科 (丸山 厚)

研究実施項目：核酸シャペロン材料の設計と機能評価

概要：既に核酸シャペロン機能が見いだされている合成高分子材料のシャペロンメカニズムを明らかにするとともに、シャペロン活性の発現に必要となる構造・性状を抽出する。得られた知見を材料設計にフィードバックし、より高機能な人工シャペロン材料を構築する。

秋吉研究グループ

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 (秋吉一成)

研究実施項目：新規ナノゲル核酸シャペロンの開発

概要：我々は、タンパク質のフォールディング制御機能を有する自己組織化ナノゲル（刺激により動的に構造変化しえるナノサイズのゲル）の開発に成功しており、この動的ナノゲルを利用した新規核酸シャペロンの開発を行う。さらに、その機能を一塩基変異解析に応用する。

山名研究グループ

兵庫県立大学 大学院 工学研究科 (山名一成)

研究実施項目：低コスト蛍光色素の開発とHTS化

概要：ハイブリダイゼーションの検出法は、遺伝子診断の感度とコストを決める重要な過程である。蛍光検出では、これまでに様々な高性能蛍光プローブが開発されているものの、コストが高い欠点がある。とりわけ、蛍光共鳴エネルギー移動法では、ドナーおよびアクセプターとなる2種の蛍光色素が必要となるために、色素の価格が分析コストに直接的に影響する。1種の蛍光色素でハイブリダイゼーション検出が可能な独自の技術をさらに発展させ、コストおよび感度的に従来品をしのぐ検出用色素を設計する。また、チップ解析のためにより高感度が期待されるレドックス検出用レポーター分子の設計も行う。

中谷研究グループ

大阪大学 産業科学研究所 (中谷和彦)

研究実施項目：核酸高次構造検出リガンドの設計とリアルタイム検出

概要：核酸構造を高度に認識する分子プローブの開発を行い、核酸特異構造のオンタイム検出を目指す。とりわけ、核酸シャペロン存在下では、極めて早い高次構造変化・ハイブリッド形成が予測されるため、結合速度が速く応答速度の高いプローブを開発する。

§ 4 研究実施内容及び成果

(1)研究実施内容及び成果

4. 1 核酸シャペロン材料の設計と機能評価(九州大学 丸山グループ)

4.1.1 目的

核酸のハイブリッド形成や高次構造形成を制御する手法は、遺伝子解析を含め核酸の関わるバイオテクノロジーにおいて有用なツールとなり得る。生体中では、タンパク質などの生体高分子が正しく折りたたまれるのを助けたり、変性したタンパク質を再生したりするタンパク質として分子シャペロンが機能している。分子シャペロンの中には、核酸の高次構造形成を促すものも見いだされており核酸シャペロンと呼ばれている。たとえば2重らせん構造も一度解離すると正しく再形成されるのが困難な場合がある(図 4.1.1)。たとえば、ある程度の長さ以上の核酸鎖内では、相補的となる配列が存在するようになり、分子内構造を形成しうる(図 4.1.1左上)。また、一つあるいは数塩基のミスマッチが存在しても、相補的な部位が存在すると、間違っただけ相手ともハイブリッドを形成する(図 4.1.1右上)。これらの構造は本来の正しい相手とのハイブリッド構造より熱力学的に不安定であっても、ひとたび塩基対が形成されてしまうと、その解離・再形成に伴うエネルギーバリアが高く、正しいハイブリッド

形成が困難となる。核酸シャペロンは、このエネルギーバリアを下げ、より安定な2重鎖が形成されるように促す機能を持つ。核酸シャペロン機能を利用することで、正確なハイブリダイゼーションを促し、より高度な遺伝子の機能解析や診断が可能になろう。そこで、

タンパク質に比べ安定で安価な人工材料で核酸シャペロンの機能を再現する手法を確立すると共に、その機能を取り込んだ遺伝子解析法を構築することを目的とした。さらに、核酸シャペロン材料の核酸ナノテクノロジー領域へ展開する。

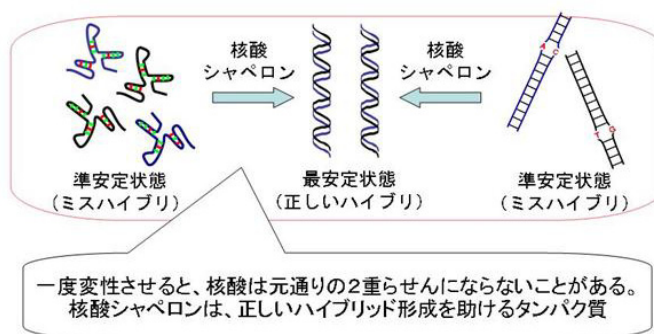


Fig. 4.1.1 核酸の正しい高次構造形成を促す核酸シャペロン

4. 1. 2 核酸シャペロン材料“核酸のハイブリッド形成を介助する合成高分子”と核酸との相互作用解析

我々が人工核酸シャペロンとして設計した第一世代のカチオン性くし型共重合体、PLL-g-Dex、を図 4.1.2に示す。核酸シャペロンの役割は、前述したように核酸塩基対の解離・再形成を促すことで、準安定なミスハイブリッドから熱力学的にもっとも安定な状態に落とし込むことである。従って、シャペロン活性は二重鎖核酸とその相補的単鎖間の核酸鎖交換反応に対する共重合体の加速効果を指標に評価することができる。PLL-g-Dex は、この核酸鎖交換反応を一万倍以上加速し、同一条件下では天然の核酸シャペロンを凌ぐ活性を持つことが見いだされている(図 4.1.3)。天然の核酸シャペロンは、核酸塩基対を不安定化することで、核酸シャペロン活性を発現している。一方で、PLL-g-Dex は、天然シャペロンとは逆に核酸塩基対を安定化しつつ高い核酸シャペロン活性を発現することが見いだされた。

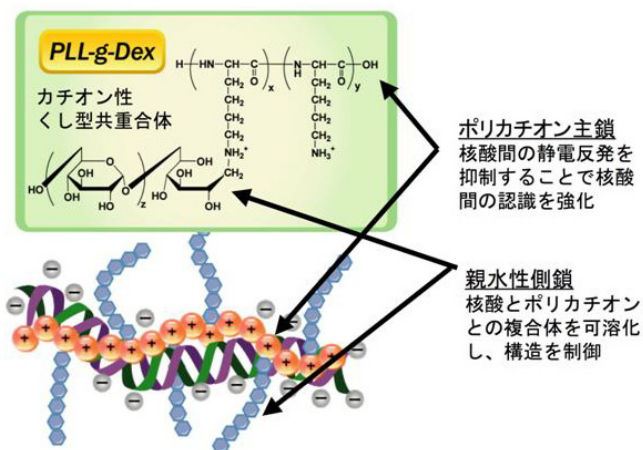


Fig. 4. 1. 2 人工核酸シャペロンとしてのカチオン性くし型共重合体 (PLL-g-Dex)

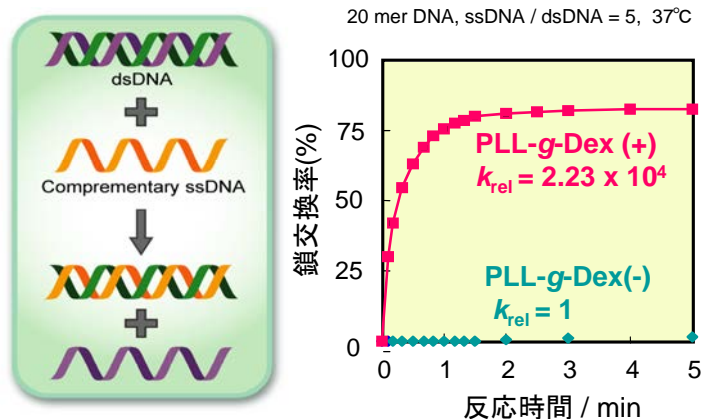


Fig. 4. 1. 3 核酸鎖交換反応とカチオン性くし型共重合体の鎖交換促進効果

カチオン性くし型共重合体は、二重鎖核酸を安定化しつつ鎖交換反応を促進するという一見矛盾する効果を発現する。そこで、この共重合体の核酸シャペロン活性発現機序を明らかにすることを目的に、共重合体と核酸との相互作用を種々検討した。

核酸との相互作用を臭化エチジウム(EtBr)を用いた色素排除試験により評価した。その結果を図 4.1.4 に示す。EtBr は DNA と結合することで強い蛍光を発する。これに PLL ホモポリマーを加えると、蛍光が減少する。つまり、PLL と DNA の相互作用により EtBr の DNA への結合が阻害されることがわかる。一方、Dex を側鎖に導入した PLL グラフト共重合体では、蛍光の減少がグラフト鎖の導入密度に依存して緩和された。とりわけ、デキストラン鎖をリシン 5 残基に対し1本の割合で導

入した共重合体では、EtBr の蛍光が 5 割以上保持された。PLL ホモポリマーなどのカチオン性高分子は DNA をランダムコイル状態から DNA 鎖が高度に凝縮したグロビュール状態に転移させ EtBr の結合を阻害すると考えられているが、高密度に Dex を導入したグラフト共重合体は、DNA 鎖の凝縮を誘起しない事が示唆される。一方で、高グラフト率の共重合体も、核酸のリン酸アニオン基に対する共重合体のカチオン性基の割合(P/D 比)が $P/D = 1$ で蛍光強度がプラトーに達していることから、ほぼ化学両論的な複合体を形成していることが示唆される。そこで、さらに共重合体が核酸の溶存状態に与える影響を、一分子蛍光

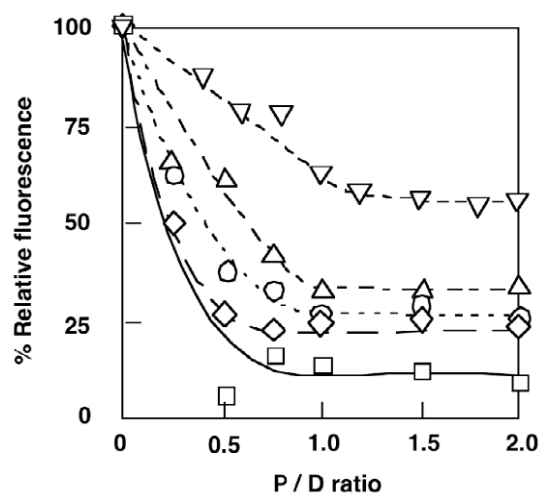


Fig. 4.1.4 色素排除法による共重合体・核酸間相互作用の解析、PLL ホモポリマー (□)、PLL-g-Dex(3.7) (◇)、PLL-g-Dex(7.6) (○)、PLL-g-Dex(16.6) (△)、PLL-g-Dex(21.4) (▽)。数字は Dex グラフト率

観察により評価した。その結果を図 4.1.5 に示す。166 k 塩基対であるバクテリオファージ DNA は溶液中で広がったランダムコイルとして観察される(図 4.1.5a)。これに PLL ホモポリマーを加えると

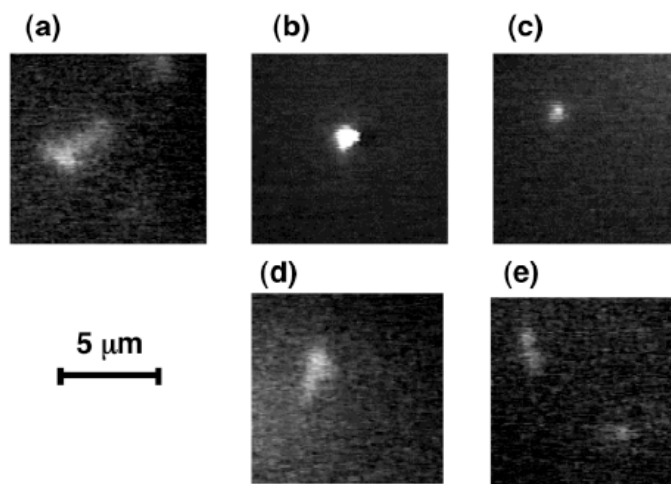


Fig. 4.1.5 種々のグラフト率の共重合体が T4 バクテリオファージ DNA の溶存状態に与える影響、DNA のみ (a)、PLL ホモポリマー ($P/D = 5$) (b)、PLL-g-Dex(3.7) ($P/D = 5$) (c)、PLL-g-Dex(16.6) ($P/D = 2$) (d)、PLL-g-Dex(16.6) ($P/D = 50$) (e)

コイル状態からグロビュール状態へと凝縮し、さらに二次凝集することで明るい大きな輝点として観

察される。一方、低グラフト率の共重合体を加えた場合、小さな輝点として観察されグロビュール状態への凝縮は誘起されるものの2次凝集が阻害されていることがわかる(図 4.1.5c)。これらに対して高グラフト率の共重合体を添加した場合はDNAのランダムコイル状の形態にほとんど変化は見られず、高グラフト率の共重合体はコイル-グロビュール転移を誘起することなくDNAと相互作用することが示唆さ

れた。核酸がグロビュール構造へと転移や、さらに2次凝集した場合、核酸の塩基配列に基づく認識が困難になると推測されるが、高グラフト率の共重合体は、グロビュール転移を防ぎ核酸の溶存性を保持することで、核酸間の認識を促していることが推測される。

共重合体と核酸との相互作用が、核酸塩基対等の分子レベルの構造に与える影響をNMR等の分光学的手法により解析した。図 4.1.6 は自己相補的 DNA8 量体 (5'-GGAATTCC-3') の ^1H NMR を共重合体 (PLL-g-Dex(14.4)) 存否で測定した結果を示す。

75°Cではいずれも単鎖状態、70°C以下では二重鎖状態である。共重合体存在下では低温側でピークのブロード化が著しく、複合体が強固に形成されていることを示す。一方、45°Cにおいてもいくつかのシグナルは分離されており、これらのシグナルのケミカルシフトから二重鎖のNMR融解曲線を得ることが出来る。5番目のチミン塩基のプロトンシグナルの温度依存性を計測し、二重鎖の融解曲線を得た結果を図 4.1.7 に示す。DNAのみ(●)の二重鎖融解曲線に比べ共重合体存在下(■)では、高温側に転移がシフトしており、共重合体が二重

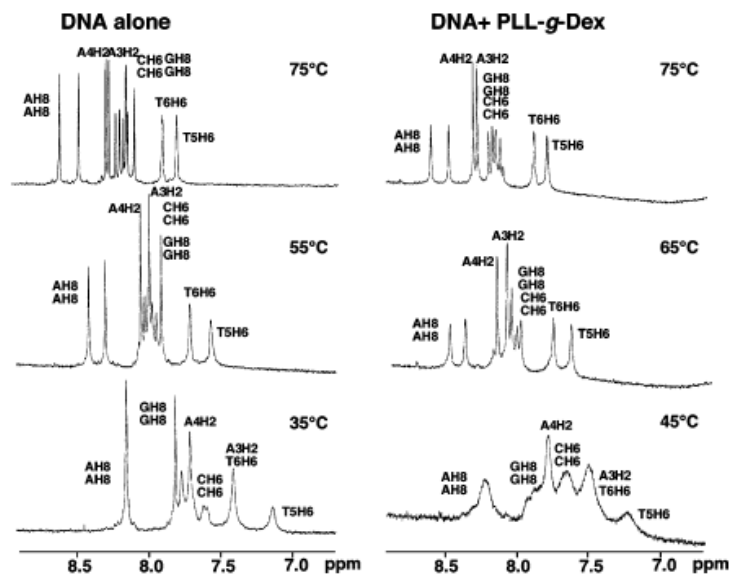


Fig. 4.1.6 PLL-g-Dex 存否下での自己相補的 DNA の 270 MHz ^1H NMR

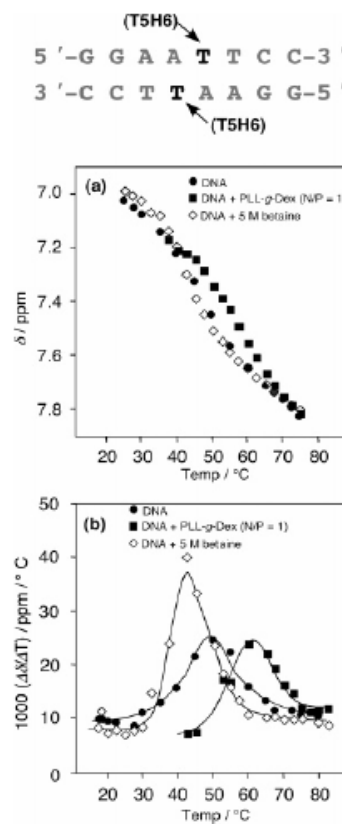


Fig. 4.1.7 自己相補的 DNA8 量体の NMR 融解曲線(a) とその微分曲線(b)

鎖核酸を熱的に安定化していることを示す。一方、転移前後のケミカルシフト値は、DNA のみの時と一致しており、共重合体が核酸塩基対構造を大きく変えていないことを示唆する。さらに微分曲線も、DNA のみの場合と共重合体存在下では、ピークの形が一致しており、共重合体は 2 重鎖を安定化するが塩基レベルで転移の過程を顕著に変えていないことがわかる。一方、A:T 塩基対と C:G 塩基対の相対的安定性に影響を与えるベタイン存在下で同様の測定をした結果、ベタインは融解温度自体を大きく変化させないものの、転移前のケミカルシフト値が異なっており、塩基対構造に影響を与えていることが示唆された。さらに、ベタイン存在下の微分曲線は DNA のみの時に比べ顕著に変化しており、転移メカニズムに影響を与えていることが示唆される。すでに、円二色性スペクトル測定からも、ポリカチオンホモポリマーに比較して共重合体が塩基対の構造を変化させないことを明らかにしているが、より微視的な見地から、NMR 測定からも共重合体と核酸の相互作用が塩基構造をほとんど変化させないことが確認された。

前述したように共重合体は二重鎖を安定化しつつ鎖交換反応を加速する。その機構の一つとして、共重合体は二重鎖間の静電的反発を抑え全体的には二重鎖構造を安定化するものの、局所的に塩基対構造を乱すことで鎖交換反応を加速することが推測された。しかしながら、以上の結果は共重合体が局所的にも塩基対を乱すことを否定しており、他の機構により鎖交換反応を加速していることを支持する。共重合体は二重鎖のみならず鎖交換反応の律速段階で形成される三本の核酸鎖からなる遷移複合体形成を促すことで反応速度を高めていると考えられる。

4. 1. 3 核酸シャペロン材料による核酸ハイブリッドの安定化と形成促進

核酸に対して分子シャペロンとして機能する共重合体は、相補的単鎖核酸間のハイブリッド形成も加速することが推測された。そこで、ハイブリッド形成速度に与える共重合体の効果を検討した。ハイブリッド形成を速度論的に追跡するために、蛍光共鳴エネルギー移動法を利用した。図 4.1.8 に示すように相補的な DNA 鎖の一方を蛍光基で、もう一方を消光基でラベルする。単鎖の時には蛍光基からの蛍光が観察されるが、両者がハイブリッドを形成し、蛍光基と消光基が近接すると、蛍光エネルギーが消光基に移動し、蛍光が消光する。蛍光ラベルした DNA 鎖と消光基ラベルした DNA を混合すると蛍光強度が徐々に低下し、ハイブリッドが形成することがわかる。同様の実験を共重合体存在下で行うと、蛍光強度は速やかに減少し、共重合体がハイブリッド形成を顕著に促進することがわかった。

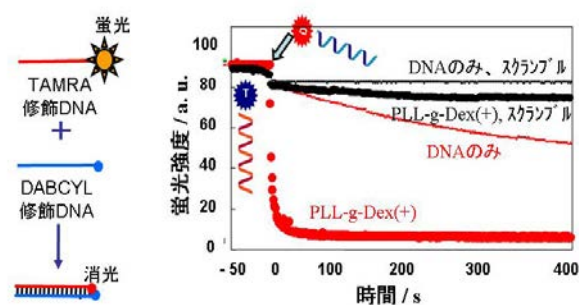


Fig. 4.1.8 蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET)法を利用した 2 重らせん形成の速度解析

(左) 蛍光基と消光基のそれぞれで修飾した一組の相補的な DNA 鎖がハイブリッド (2 重らせん) 形成すると蛍光が消光される。

(右) 共重合体 PLL-g-Dex 存在下での蛍光強度変化。共重合体存在下で蛍光の現象が速く、ハイブリッド形成が加速されていることがわかる。非相補的な DNA (スクランブル) では蛍光強度の低下は観察されず、蛍光強度の低下が 2 重らせん形成依存的であることを支持する。

表 4. 1. 1 種々の塩とくし型共重合体の二重らせん形成速度に与える影響

塩および共重合体濃度			形成速度定数	融解温度 ^a
[Na ⁺] /M	[Mg ²⁺] /M	[PLL- <i>g</i> -Dex] _{amino group} /nM	<i>k</i> (10 ⁶ M ⁻¹ s ⁻¹)	<i>T_m</i> (°C)
0.15	--	--	5.5 ± 0.5	48.0 (47.6)
1	--	--	42.0 ± 4.6	<u>57.5</u> (57.8)
0.15	0.02	--	31.5 ± 4.1	n.d. (55.3)
0.15	--	260	1090.3 ± 33.0	<u>58.0</u> (--)

a) 括弧内はnearest neighbor法による計算値

種々の条件下、ハイブリッド形成速度を測定した結果を表1に示す。NaCl 濃度を 150mM から 1000mM に上げると、ハイブリッド形成速度は 8 倍増大した。Mg²⁺イオンなどの二価イオンはハイブリッドの安定化に効果的と言われている。実際、20mM Mg²⁺は二重鎖の融解温度を約 10℃ 高める。一方で、ハイブリッド形成速度は 6 倍しか高めなかった。これらに対して、カチオン量でサブマイクロ濃度と極めて微量の共重合体は、形成速度を 200 倍高めることが見いだされた。共重合体が融解温度に与える影響は、1000 mM NaCl と同等であり、それぞれの二重鎖に対する安定化効果が等しいことを示す。一方でそれぞれの二重鎖形成速度に対する効果は、著しく異なっている。NaCl (1000 mM) に比べ共重合体は主に二重鎖形成速度を高めることで安定化している事がわかる。

低濃度でハイブリッド形成を促進する共重合体は、DNA チップなどの種々の核酸技術に応用可能と考えられる。

三重鎖核酸は、ワトソン-クリック型二重鎖核酸の主溝にさらにもう一つの核酸鎖がフーグスティン型あるいは逆フーグスティン型水素結合で結合し形成される。形成できる配列に制約はあるものの三重鎖核酸は二重鎖核酸を解離させることなく認識できる点で、遺伝子解析や新たな遺伝子医薬として期待されている。しかしながら、三重鎖核酸は一般的に不安定であり、三重鎖核酸の安定化手法が求められている。既に、我々はカチオン性くし型共重合体が三重鎖核酸の形成速度を 50 倍高め、その安定性を 100 倍向上できることを明らかにしている。三重鎖核酸の安定化戦略には、非天然型の核酸の分子設計も広く行われている。たとえば、リン酸ジエステル骨格をリン酸アミド骨格の N3' → P5' ホスホoramidate (phosphoramidate, PN) とする修飾やリボース環のコンフォメーションを固定する 2'-O,4'-C-メチレンブリッジド (2'-O,4'-C-Methylene-Bridged) 核酸 (2',4' BNA) などが、顕著に三重鎖核酸を安定化することが知られている(図 4.1.9)。

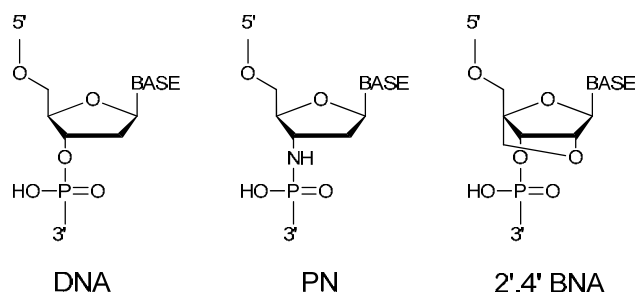


Fig. 4. 1. 9 天然型 DNA と非天然型核酸 (PN 修飾体、2',4'ブリッジド核酸) の構造式

一方、これらの非天然型核酸は主に三重鎖の解離速度を低減することで安定化作用を示し、逆に形成速度が遅いことが課題として残っていた。そこで、くし型強重合体との併用による協同的な安定化を検討した。図 4.1.10 には表面プラスモン共鳴センサー上に二重鎖 DNA を固定し、これに三重鎖形成性オリゴヌクレオチド(TFO)とし

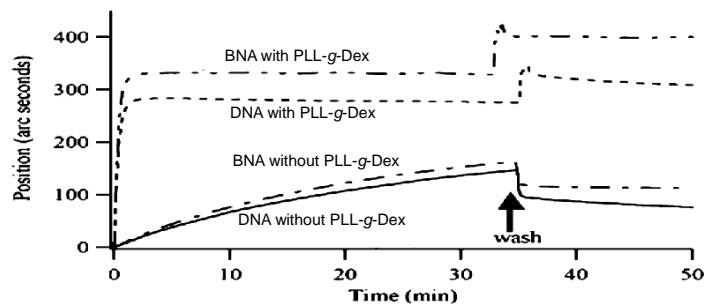


Fig. 4.1.10 三重鎖核酸形成に及ぼす非天然型核酸（BNA）と共重合体の共同効果

て天然型核酸およびBNAを添加し、経時的に三重鎖形成を追跡した結果を示す。天然型のTFO（図4.1.10中DNA without copolymer）では、ゆっくりとシグナルが増大し、三重鎖形成が徐々に進む。一方センサーを洗浄(wash)後は、シグナルが減少し三重鎖の解離が進行していることがわかる。TFOとしてBNAを用いた場合(図4.1.10中、BNA without copolymer)、三重鎖形成過程は天然型のDNAと同等であり形成速度が概ね変わらないことを示す。一方で、洗浄後のシグナル変化が僅かであり解離がきわめて遅いことを示す。BNAは三重鎖の解離速度を下げることで安定化している事が確認される。これらに対し、三重鎖形成を共重合体存在下で行うと天然型DNAおよびBNAともにシグナルが速やかに増大し、共重合体により三重鎖形成が顕著に促進されることがわかる。とりわけ、BNAによる三重鎖形成を共重合体存在下で行うと、速やかに形成されかつ解離の遅い三重鎖が形成されることが示された。速度論的解析を行った結果、BNAでは天然型に比べ、形成速度が0.8倍、解離速度が1/50倍になっており、三重鎖の安定性(結合平衡定数)を40倍向上する。これに対し、共重合体は形成速度を50倍、解離速度を2/3倍にする事で、天然型DNAおよびBNAともにシグナルによる三重鎖形成を70倍安定化する。結果的に共重合体存在下BNAによる三重鎖は2000倍安定化されることがわかった。BNA修飾と共重合体は、お互いに干渉作用を示すことなく協同的に三重鎖の安定性を高める。このような協同効果は、PN体についても観察されている。速度論的に安定化機構が異なる方法論を組み合わせることで、三重鎖核酸等の核酸集合体の高度な安定化が実現できる事を示唆している。

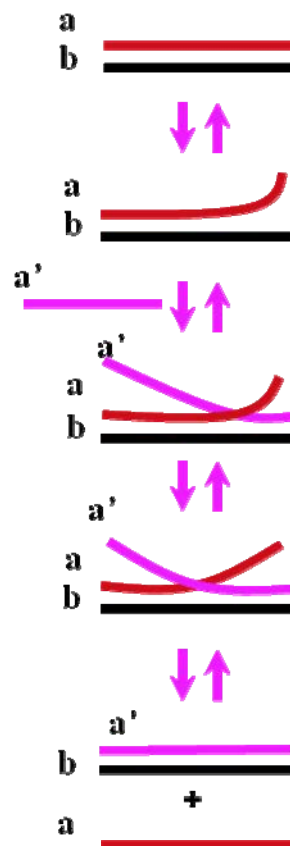


Fig. 4.1.11 DNA 鎖交換反応に推測される反応経路

4. 1. 4 新規核酸シャペロン材料の合理設計

二重鎖核酸と相補的核酸鎖間の鎖交換反応は図 4.1.11 に示すような過程で進行すると考えられる。二重鎖核酸 a:b は局所的には塩基対が解離・再形成を繰り返し (breathing) 揺らいでいる。局所的な解離が大きくなった時に、交換鎖 a' が部分的に b 鎖と塩基対形成 (核形成) する。その後、a 鎖と a' 鎖との分岐部分が移動し、a 鎖が脱離し鎖交換が完了する。PLL-g-Dex は、二重鎖を安定化しつつ鎖交換反応を加速するが、二重鎖の安定化は breathing の頻度も低下させることになり、鎖交換反応の促進とは拮抗すると考えられる。そこで、2 重鎖核酸安定化能を低減する高分子材料の設計を行い、さらなる核酸シャペロン活性の向上を目指した。二重鎖に対する安定化効果を低減するためには、二重鎖に比べより単鎖に結合性を高める工夫が必要となる。そのために、より水素結合性の高い残基を有する高分子材料の設計を行った。PLL-g-Dex の誘導体として 1 級アミノ基をグアニジノ基に変換した GPLL-g-Dex (図 4.1.12) を新規合成した。まずこの共重合体の二重鎖安定化能を二重鎖融解温度に与える影響から調べた。その結果を図 4.1.13 に示す。20 塩基対の二重鎖核酸、NF1/NT1 および NF2/NT2 の融解温度 T_m はそれぞれ 63°C と 72°C であった。これらにグアニジノ化率の異なる共重合体を加えると、いずれも融解温度は上昇した。しかし、その上昇の程度はグアニジノ化率の増大に伴い小さくなった。たとえば、グアニジノ化していない PLL-g-Dex は NF2/NT2 二重鎖の融解温度を 15°C 高めるのに対し、100% グアニジノ化した

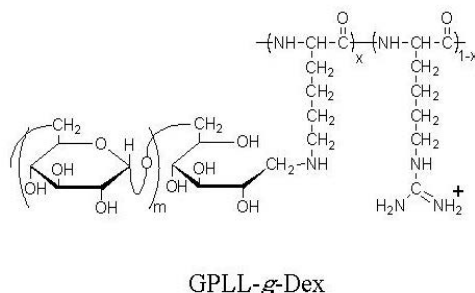


Fig. 4.1.12 カチオン性くし型共重合体のグアニジノ誘導体 GPLL-g-Dex

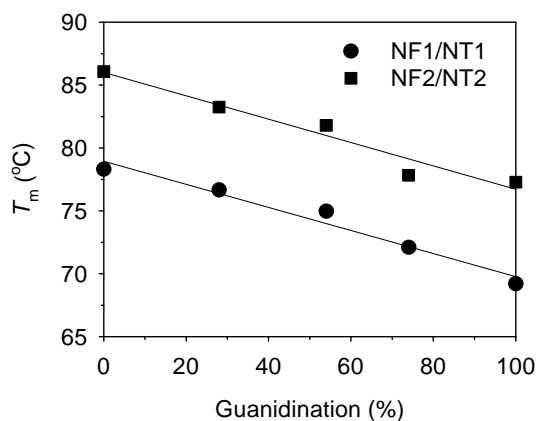


Fig. 4.1.13 二重鎖融解温度に及ぼすグアニジノ化 PLL-g-Dex の影響

二種の二重鎖核酸 (NF1/NT1 と NF2/NT2) の融解温度をグアニジノ化率の異なる PLL-g-Dex の存在下 (チャージ比 +/-5) で測定。

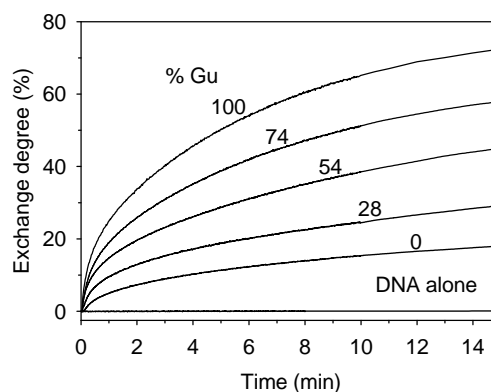


Fig. 4.1.14 鎖交換促進活性に及ぼすグアニジノ化の効果

グアニジノ化率 (%Gu) の増大に伴い鎖交換速度が向上している。

PLL-g-Dex では 7℃しか上昇しなかった。グアニジル化に伴い二重鎖安定化効果が半減したことを示す。同様の結果がNF1/NT1 二重鎖でも観察された。共重合体の二重鎖核酸および単鎖核酸への結合親和性を蛍光相関スペクトル法により検討した結果、グアニジノ基の導入により、共重合体の2重鎖と単鎖 DNA に対する結合選択性が変化し、より単鎖親和性が高まることを見いだされた。すなわち当初の設計概念が成り立っていることが確認された。そこで、核酸シャペロン活性を核酸鎖交換反応に対する加速効果を指標に検討した。その結果を図 4.1.14 に示す。PLL-g-Dex (%Gu = 0) に対してグアニジノ化率(%Gu)の増大にともない、鎖交換速度が向上している。完全にグアニジノ化した共重合体では 10 倍以上活性が高まっていることがわかった。

4. 1. 5 部分 2 重鎖法による一塩基変異解析:核酸ハイブリッド形成過程に着目した核酸解析用プローブの設計と遺伝子解析法への展開

核酸は高い塩基配列特異性でハイブリッドを形成するものの、20 塩基以上の長さとなると、一塩基の変異があっても形成されるハイブリッドの安定性に与える影響が僅かとなり、ミスハイブリッドを形成する。我々は、ハイブリッド形成の配列依存性をより厳密にするために、核酸ハイブリッドの形成過程に着目し、図 4.1.15 に示すように一部分に単鎖を残し他の部分を相補鎖で 2 重鎖とした部分 2 重鎖核酸プローブを設計した。これに標的となる相補鎖を加えると、単鎖部位を足がかりとして部分 2 重鎖核酸と標的核酸とが核形成する。つまり、核形成サイトが限定される。安定な核が形成されれば、2 重鎖部位と標的核酸との鎖交換反応へと反応が進み、プローブ長鎖と標的核酸とのハイブリッドが形成される。一方、標的単鎖に核形成を阻害するような因子、たとえば変異が存在すると、核形成が困難で鎖交換反応過程に進めず標的単鎖とのハイブリッド形成が抑制されると推測した。実際に、単鎖部位にミスマッチ塩基対がある標的とミスマッチが無い標的で、部分 2 重鎖核酸を反応させた結果を図 4.1.16 に示す。フルマッチ鎖とは鎖交換反応が円滑に進み、標的単鎖とのハイブリッド形成が経時的に進行する。一方、核形成部位に一塩基でも変異が存在すると、鎖交換速度が顕著に低下した。種々の変異に対する識別能を評価した結果を表 4.1.2 に示す。速度的に数十倍以上の差があり、標的単鎖中の

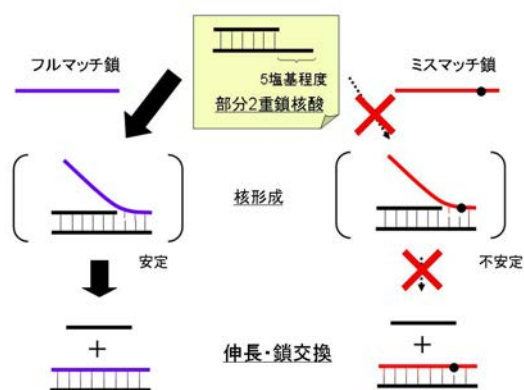


Fig. 4. 1. 15 部分 2 重鎖 (PDS) プローブによる変異識別

表 4. 1. 2 部分 2 重鎖プローブの変異認識能 (マッチ配列とミスマッチ配列との鎖交換速度比)

プローブ		検体配列			
Q	F				
		X	+	Y	-
X	Y	A	G	C	T
T			6.3	>17	>17
C		>80		>80	>80
G		>44	9.3		16
A		>15	2.4	>15	

a) マッチ配列とのミスマッチ配列との反応速度比

変異の有無を数分で識別できることがわかった。種々の変異に対する識別能を解析した結果を表 4.1.2 に示すが、ほぼすべての変異に対して5倍以上の速度比で識別可能であることがわかった。一方で、A-T→A-G 変異に関しては、フルマッチ体と変異体との速度比が2倍程度であり、改善が要求された。これに関しても、ワイルドタイプ型のプローブとミュータントタイプ型のプローブを同時に競合的に反応させることで、識別能を向上できることが見いだされている。本方法は、原理的に通常のハイブリダイゼーションに比べハイブリッド形成速度が遅くなるが、前述のカチオン性共重合体を利用することで、反応を著しく高められることがわかっている。

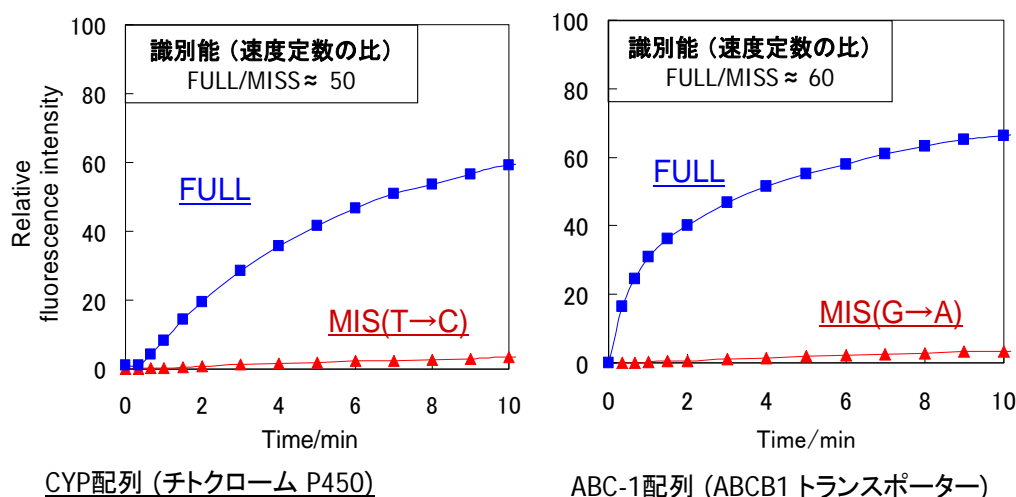


Fig. 4.1.16 部分2重鎖プローブ法による一塩基変異識別

4. 1. 6 鎖交換法のハイスループット化と SNP タイピング法への展開

遺伝子解析法では高いパラレルアッセイ能、つまり多サンプル、多検体を同時に解析するハイスループット性が求められる。そこで、部分2重鎖核酸プローブ法のハイスループット化を検討した。スループット性を高める上では、DNA チップ技術を利用することが考えられる。この際、プローブ核酸を直接チップ基板上に固定化する手法が考えられるが、基板表面でのハイブリダイゼーション反応は様々な因子により影響され推測困難なこと、また、二重鎖プローブを固定するチップの作成は困難が予測された。そこで、オリゴヌクレオチドタグアレイを利用した多検体同時アッセイ法との融合を検討した。東大・徳永らにより開発されたDigiTag2法のプロトコールおよびオリゴヌクレオチドタグを基に、部分二重鎖核酸法に合わせて改変した。概略は図 4.1.17 に示すが、先ず、ゲノム DNA より SNPs サイトの周辺をマルチプレックス PCR、アシンメトリック PCR により増幅する。その際に、オリゴヌクレオチドタグを付したプライマーを利用することで、PCR 産物をタグ標識する。これに、異なる蛍光色素でラベルした正常型と変異型のプローブを反応させ、個々の SNP サイトのアリルタイプを識別・蛍光ラベルする。オリゴヌクレオチドタグに相補的な配列を固定化した DNA アレイに、反応混合物をタグ配列によりハイブリッド形成させ、SNP サイト毎にアドレスリングし、個々の SNP タイプを読み出す。

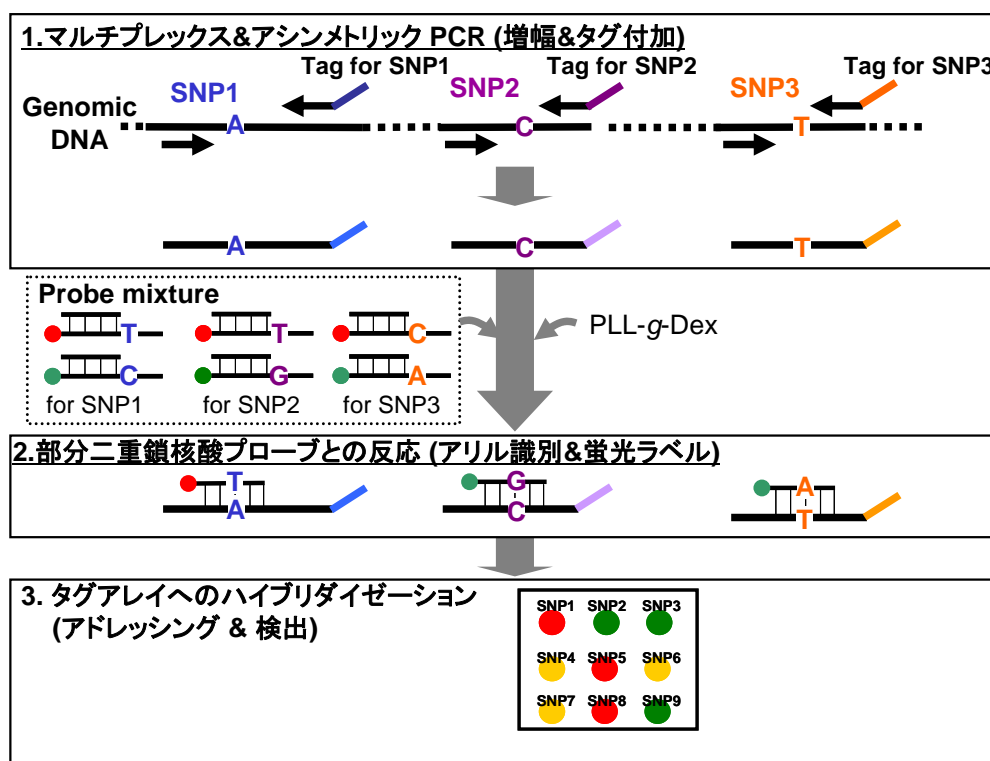


Fig. 4.1.17 タグ DNA アレイを利用した鎖交換法のハイスループット化

図 4.1.18 は、8 個体分、15 カ所の SNP サイトについて単鎖プローブ (上段) および部分二重鎖プローブを用いてタイピングした結果の一部を示す。単鎖プローブでは、いずれのスポットも黄色がかっている。一方で、部分二重鎖プローブとした場合、スポットが赤、緑あるいは黄色に別れており、二種のホモ接合とヘテロ接合にタイピングされていることが示唆される。実際に一つの SNP について各アリの蛍光強度の散布図を作成すると、単鎖プローブではクラスター分離しないのに対し、部分二重鎖プローブを利用することで明確にクラスター化されることがわかる。

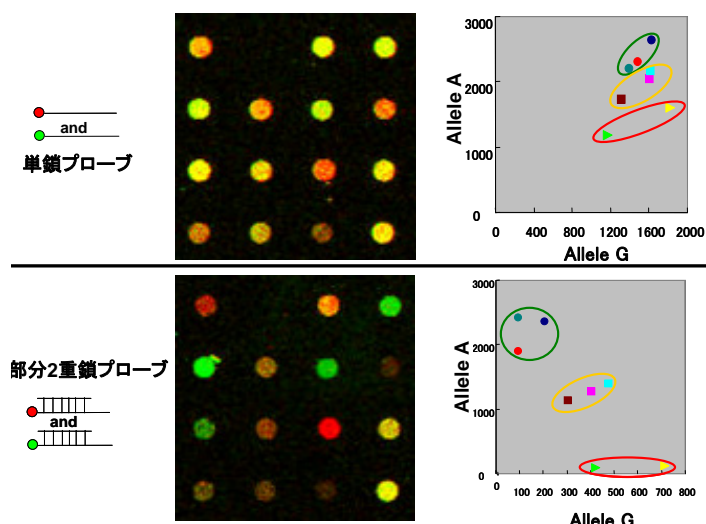


Fig. 4.1.18 部分二重鎖プローブと単鎖プローブを用いた SNPs タイピング結果
15SNPs を解析したチップ蛍光像の例と、ある SNP に対する 8 検体の検出結果。

する条件においても、高い識別能を保持することが示された。

さらなるスループット向上への適応を把握するために、36 タグアレイを利用し 34SNPs、16 検体の同時解析を行った。その結果を図 4.1.20 に示す。PCR 条件等も改善した上での結果である。SNP11 および SNP96 は明確な三つのクラスターに分離されている。一方、SNP47 および SNP91 は一つのクラスターとして解析された。いずれも、JSNPS で公開されているアレル頻度と一致していた。注目すべきことに、いずれの SNP サイトにおいても、それぞれのアレルの解析結果で高い直線性が認められていることである。つまり、部分二重鎖を用いた鎖交換法が、高い定量性を有することを示唆しており、SNP タイピング以外にも高い定量性が求められる遺伝子解析への展開が期待される。

部分二重鎖核酸プローブ法では、識別過程で酵素を利用しないことから、操作過程数、必要試薬数そして必要時間を少なくできる(図 4.1.21)。たとえば、DigiTag2法では概ね5工程で 13 試薬が必要である。また、最初のマルチプレックス PCR を除いても五時間程度の時間が必要とされる。一方、部分二重鎖プローブを用いた鎖交換法では、4工程、必要試薬も 8 種類程度に低減できる。さらに、特徴的なのは、初期 PCR 増幅過程を除いて、実質的な識別過程は一時間程度で完了することである。ベッドサイド等の Point of Care での解析法への展開を検討している。

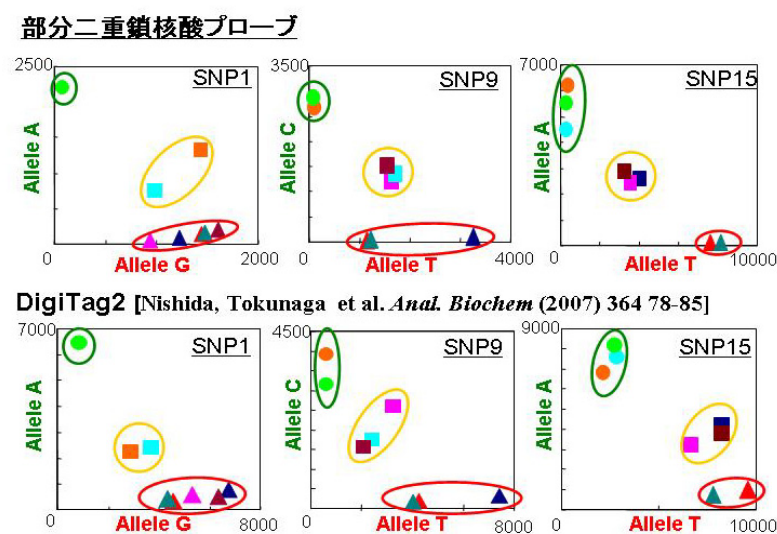


Fig. 4.1.19 部分二重鎖核酸プローブ法（上段）と DigiTag2 法(下段) との SNPs タイピング結果の比較

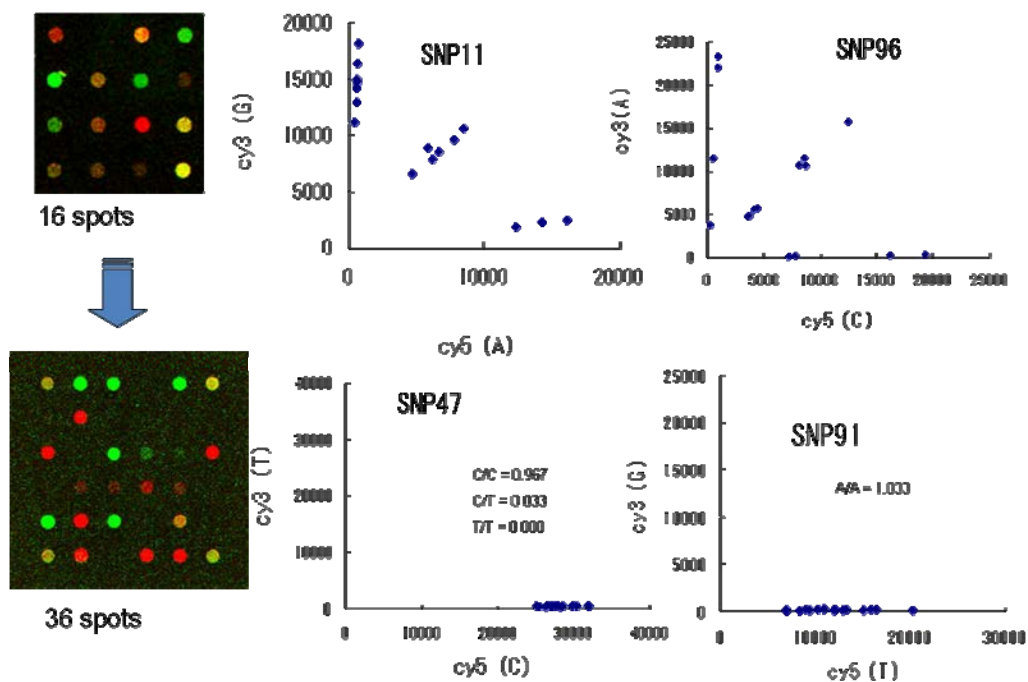
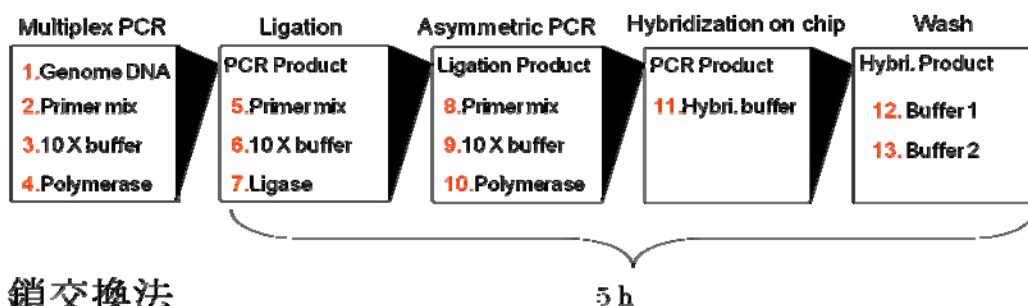


Fig. 4.1.20 36 スポット DNA タグアレイに拡張した部分二重鎖法によるタイピング結果

DigiTag2 法



鎖交換法

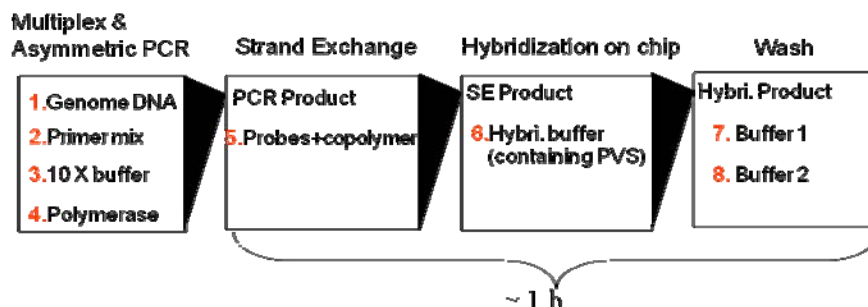


Fig. 4.1.21 部分二重鎖を用いた鎖交換法とDigiTag2法のプロトコール
鎖交換法では、操作過程数、操作時間が短縮可能。

4. 1. 7 識別能の向上を目指した末端ミスマッチ二重鎖プローブの設計

部分二重鎖(PDS)プローブを用いた鎖交換法は種々の一塩基変異に対して高い識別能を持ち、またハイスループットアッセイにも応用可能であることがわかった。一方で、通常の核酸に加え種々の修飾を受けた塩基やRNA配列の直接的解析等、核酸解析技術の向上がさらに求められよう。そのためにはプローブの核酸配列識別能をより高める必要がある。そこで、より高い識別能を発現しうるプローブとして末端ミスマッチ二重鎖プローブ(TMD)を設計した。このプローブは PDS プローブとは異なり、単鎖部分を持たない二重鎖プローブであるが、プローブの片末端近傍にミスマッチ塩基対を導入している(図 4.1.22)。PDSプローブでは、SNP 部位に加え数残基の単鎖部位が標的核酸と核形成する事で鎖交換が進行する。しかし、SNP 部位以外で安定な核形成が生起すると、標的核酸がミスマッチ対でもある程度反応が進行してしまう欠点がある。TMD プローブでは、核形成段階での識別能をより高めるために、SNP 部位以外はすべて二重鎖にする事で識別能の向上を狙った(図 4.1.22 右)。しかしながら、単鎖部位を削除することで鎖交換反応が全体的に遅くなることも推測される。TMD プローブと完全相補的な標的核酸との鎖交換反応を行った結果を図 4.1.23 に示す。共重合体非存在下では、プローブと標的鎖との反応がほとんど進まず、PDS プローブと比較して反応性が低い事がわかる。一方で、PLL-*g*-Dex 存在下では、円滑に反応が進行した。

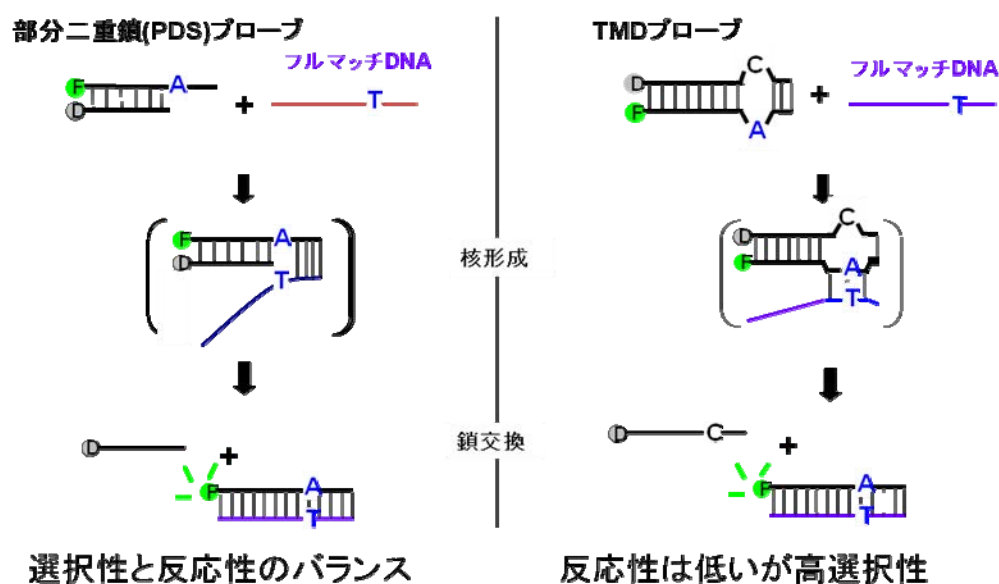


Fig. 4.1.22 部分二重鎖(PDS)プローブと末端ミスマッチ二重鎖(TMD)プローブによるミスマッチ認識の模式図

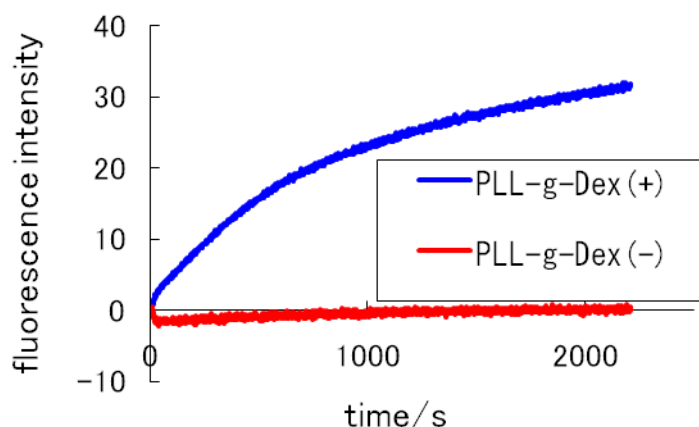


Fig. 4.1.23 カチオン性共重合体による TMD プロブの反応性向上

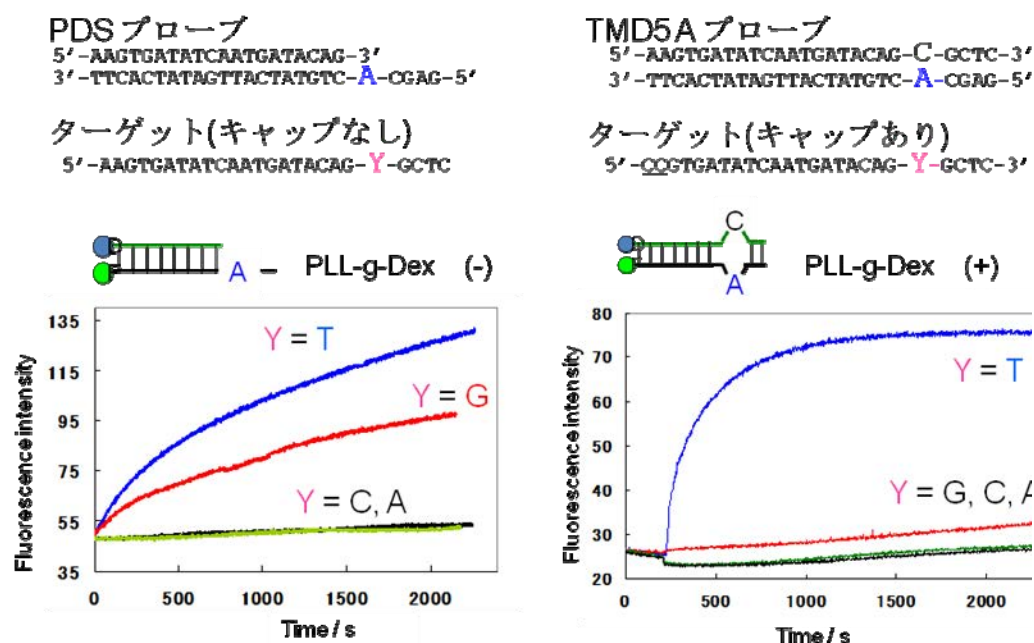


Fig. 4.1.24 部分二重鎖(PDS)プローブと末端ミスマッチ二重鎖プローブの一塩基変異識別能

次に一塩基変異に対する識別能を部分二重鎖核酸と比較した結果を図 4.1.24 に示す。PDS プロブは PLL-g-Dex 不在下でも完全相補鎖(Y=T)とは鎖交換反応が進行する。また、T→C 変異(Y=C)や T→A 変異(Y=A)では反応が進行せず、高い選択性で変異が検出されるのに対して、T→G 変異(Y=G)では反応が進み選択性が低い。これに対して TMD プロブではすべての変異体で反応速度が完全相補体と比べて顕著に遅く、高い選択性で変異を検出できることがわかった。T→G 変異は、DNA ポリメラーゼによっても高い頻度で起こりうる。TMD プロブは、ミスハイブリダイゼーションの起こりやすい RNA に対する解析や種々の修飾塩基の解析への展開も期待される。

4. 1. 8 核酸シャペロン材料の核酸ナノテクノロジーへの応用

核酸ハイブリッドを安定化したり、その形成や核酸鎖交換反応を促進するカチオン性くし型共重合体は、種々の核酸のハイブリッド形成を基盤とする様々なナノテクノロジーにも貢献する材料と考えられる。

核酸の配列特異的な相互作用とその可逆性、さらに構成されるハイブリッドの構造の明確さから、核酸をナノテクノロジー素材として活用する例が増えている。その中でも、核酸の構造転移を巧妙に利用する核酸ナノマシンが注目されている。核酸ナノマシンの動作原理には、核酸のハイブリダイゼーションや鎖交換反応が主に利用されている。ナノマシンには強度や出力の増大が求められる。また、動作の迅速性も要求される。前者を解決するにはハイブリッドの安定化が必要であるが、ハイブリッドを安定化すると鎖交換反応が遅くなり、迅速性が失われるというジレンマが生じ、核酸ナノマシンの問題点として指摘されてきた。また、核酸のハイブリッドの安定性が温度や塩濃度などの環境変化に大きく依存し、環境の変化で応答性が変わってしまうことも解決すべき課題であった。そこで、核酸ハイブリッドを安定化しつつかつ鎖交換反応やハイブリッド形成を加速するくし型共重合体でこれらの課題の解決に当たった。

四重鎖・二重鎖間の構造転移を利用した伸縮型の核酸ナノマシンをモデルに、共重合体が核酸ナノマシンの応答に与える影響を調べた。図 4.1.25 に示すように、二種の燃料となる核酸鎖(Fuel 1 と Fuel 2)により収縮状態の四重鎖構造と伸張状態の二重鎖構造を繰り返し転移する。図 4.1.25

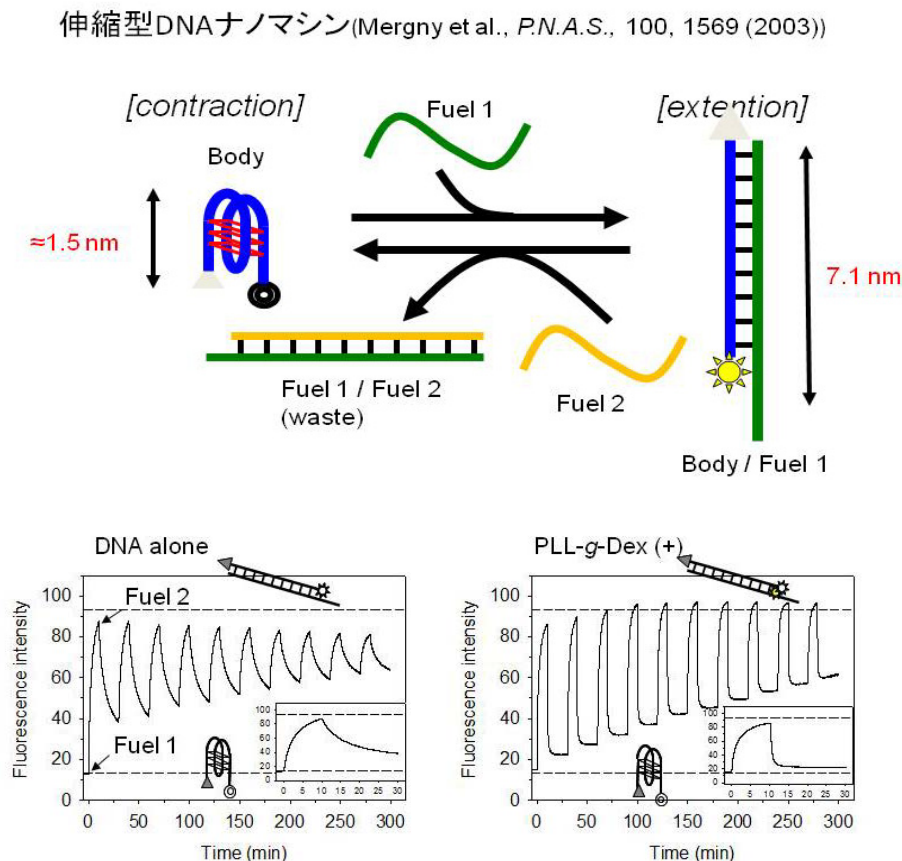


Fig. 4.1.25 共重合体による核酸ナノマシンのプースティング

下にはナノマシンの動作を、蛍光共鳴エネルギー移動法を利用して追跡した結果をしめす。DNAのみ(左パネル)に比べPLL-g-Dexを存在させること(右パネル)で燃料鎖の添加に伴うナノマシンの応答性が顕著に向上できた。さらに、10回繰り返し後の応答性も高く保たれており、共重合体はナノマシンの応答性と堅強性を高める上で有用であることが示された。また、共重合体は、塩濃度変化によるマシン応答の変動も抑制した。同等な結果は他のDNAナノマシンでも得られ、共重合体が核酸ナノマシンに共通な分子ブースターとして機能することが示唆された。

4. 1. 9 核酸シャペロン材料による siRNA 血中安定化と血中滞留性の向上

RNA 干渉効果の医療への応用が期待されているが、その実現には生体中で siRNA を腎排泄や分解酵素から保護し、標的細胞に送達するデリバリーシステムが必要となる。核酸とくし型共重合体の相互作用を検討した過程で、親水性側鎖を 90 重量%と高密度にポリリン主鎖に導入しても核酸と共重合体との相互作用が保たれることが見いだされた。このような共重合体は、血清など高濃度のタンパク質等が存在する条件でも核酸と安定な複合体を形成することが期待される。つまり、血清中で siRNA を酵素分解や腎排泄から保護し、血中内での siRNA の滞留性を向上させると期待される。

先ず 21 mers の siRNA とくし型強重合体の結合性を蛍光偏光解消法により検討した。共重合体としてポリエチレングリコール (PEG) の導入率の異なる PLL-g-PEG 共重合体を比較検討した。その結果、興味深いことに、siRNA と共重合体の結合性は、PEG 含量が 70 重量%のものより 90 重量%の共重合体で高くなっていた。同様な挙動は、PLL 分子量の異なるシリーズでも観測された。おそらく高密度の側鎖の存在によりポリリン近傍のマイクロ環境が変わり、複合体形成に有利に働いたものと推測される。

実際に共重合体と siRNA を混合しマウス尾静脈より投与し、経時的に血液を採取し、残存する siRNA を検出した結果を図 4.1.26 に示す。siRNA 単独では、投与後 5 分で血中から siRNA がほとんど消失した。また、遺伝子導入試薬として利用されている直鎖状のポリエチレンジアミンと siRNA を混合投与しても、血中滞留性はほとんど向上しなかった。一方で、くし型共重合体との混合物を投与した場合、顕著な血中滞留性の向上が見られた。とりわけ PLL 分子量が高くかつ PEG 含量の高い共重合体ほど

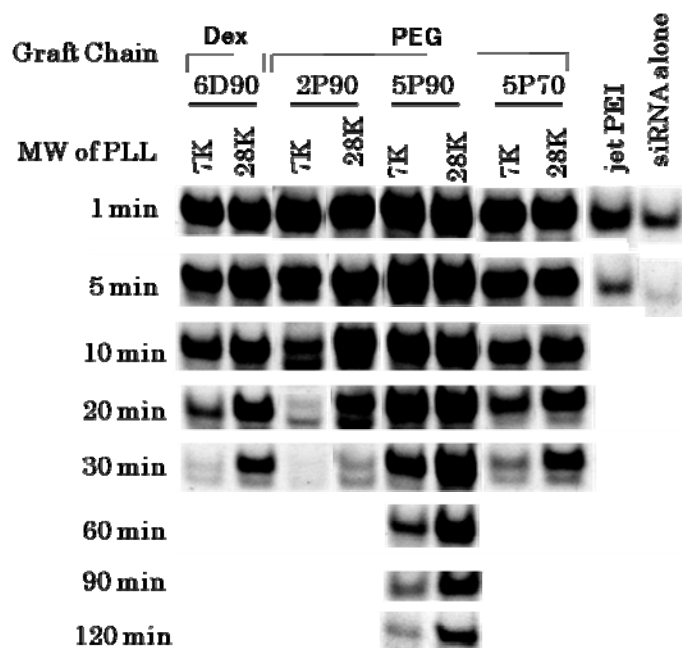


Fig. 4. 1. 26 PLL-g-PEG 共重合体による siRNA の血中安定化

siRNA の血中滞留時間を延長する上で効果的であった。共重合体の血中安定化機構を検討するために、先ずマウスに共重合体のみを投与し、20 分後に siRNA を投与した。その結果、時間差投与しても滞留時間延長効果が認められた。おそらく共重合体自体がある程度の血中滞留性を持ち、時間差投与された siRNA と血中で複合体を形成し、siRNA の滞留時間を延長したものと考えられる。siRNA は、標的細胞の細胞質内に送達する必要がある。機能的な siRNA キャリアとするためには、さらに標的組織・細胞特異性と細胞内移行性を組み込むことが不可欠である。現在、このようなキャリア構造をベースに細胞内移行性を高める工夫を行っている。

(2) 研究成果の今後期待される効果

本課題では、構造が単純で調製が容易かつ安定な高分子材料により、核酸のハイブリッド形成を顕著に促進するなど、核酸シャペロンとして高い機能を再現できることを明らかにした。また、一連の高分子材料により、核酸の高次構造を種々制御できることを見いだした。核酸のハイブリッド形成は、生命科学分野で日常的に利用される実験手法に含まれる。従って、ハイブリッド形成を促進し、ハイブリッドを安定化する材料は、様々な応用展開が期待される。

実際に核酸シャペロン材料を利用した核酸鎖交換法が、簡便ながら信頼性の高い遺伝子解析法となることを見いだした。一塩基多型のタイピングを具体例として検討したが、本手法は様々な遺伝子解析に適用可能と考えられる。特に、昨今注目を集めている RNA に対する解析、組織切片や細胞内での in situ での解析等への応用が考えられる。

基礎的観点からは、本研究で見いだされたグロビュール転移を抑えた高分子電解質複合体は、新たな高分子複合体として位置づけられる。通常、高分子電解質複合体に比べ高分子電解質がセグメント単位では弱く相互作用しダイナミックでソフトな複合体を形成していると考えられる。このような相互作用が核酸間の認識を妨げず、かつ核酸間の静電的反発を遮蔽することでハイブリッド形成等を促進していると推測される。一方で、観察されたハイブリッド形成促進効果、鎖交換促進効果は極めて大きく、静電遮蔽以外の作用も存在することが考えられる。今後、促進機構の解明が、核酸および高分子電解質の新たな理解にも繋がると期待される。

生体高分子が機能するためには、高次構造の制御とその安定化が重要であることは言うまでもない。核酸シャペロン機能に注目して得られた本課題の知見は、タンパク質等の他の生体高分子の構造制御、安定化にも資することが可能である。事実、機能性ペプチドの構造制御と機能化に最近成功している。様々なバイオ技術の質的向上や新たなバイオテクノロジーの創出にも繋がる極めて重要な基盤的材料として分子シャペロン材料は位置づけられる。

(1)研究実施内容及び成果

疎水化多糖により調製される自己組織化ナノゲルが、タンパク質の構造形成を補助する人工分子シャペロンとして有効であることを示してきた。また、この機能を有したタンパク質や、タンパク質を介した量子ドットが細胞内キャリアとして有効であることを報告している。我々はこのナノゲルの新規人工核酸シャペロンとしての機能評価を行った。この目的のため、DNA と相互作用し得るカチオン性基を置換したナノゲルを調製した。コレステロール置換プルラン (CHP) ナノゲルを、種々のカチオン性基により置換し、短鎖 DNA との相互作用解析と鎖交換反応による核酸シャペロン機能の評価を行った。

C/P ratio	T _m (°C) - CHPdpt nanogels / oligo DNA complex	T _m (°C) - CHPNH ₂ nanogels / oligo DNA complex
0	61.5	61.5
1	71.0	61.2
2	-	61.8
5	71.5	62.8
10	68.8	65.5
15	68.8	64.0
20	68.6	64.0

Fig. 4.2.1 UV- T_m values of dsDNA in the presence or absence of cationic nanogels.

/DNA 中のリン酸基量が 3 のとき、5-10 分で 60%以上の交換効率を示した(図 4.2.2)。これまで報告している丸山らの開発したデキストラン置換ポリリジン核酸シャペロンに匹敵する高い活性を有することが明らかになった。

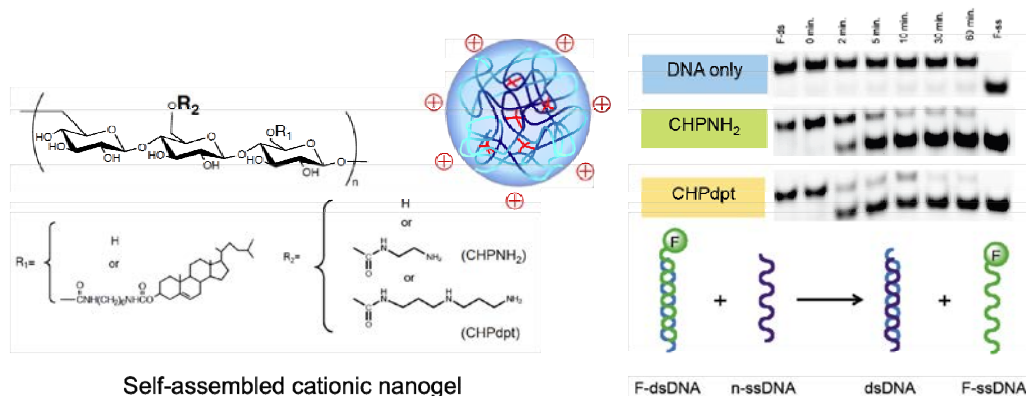


Fig. 4.2.2 Cationic nanogel and chaperon-like activity

4. 2. 2. 機能性サイクロアミロースを基盤とする新規核酸シャペロンの設計と機能評価

大環状多糖であるサイクロアミロース (CA) は直鎖アミロースから糖転移酵素の環状化反応により生成される α -1, 4-グルコースである。水溶性が直鎖アミロースよりも高く、生分解性である。水溶液中では、プラスミド DNA と対比しえる環状 2 重らせんや環状 1 重らせん構造が推定されており、また、らせん構造の環状内部への物質包接能を示す興味深い多糖である (図 4. 2. 3)。本研究では、この CA を基盤とした新規人工核酸シャペロンの開発と機能評価を行った。

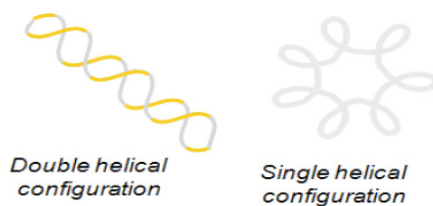


Fig. 4. 2. 3 Conformation of cycloamylose

CA ($M_n=1.9 \times 10^4$ g/mol、 $M_w/M_n=1.08$ 、 $DP=100$) に対して、カチオン性基であるスぺルミンを修飾した機能化 CA (catCA、スぺルミン修飾率 25/100 単糖) を合成した。これを 10 mM リン酸緩衝液 (150 mM NaCl, 0.5 mM EDTA, pH7.2) 中に溶解させた。20 bp DNA と同溶液中で混合し、室温で 30 分静置することで複合化させた。このとき、catCA のカチオン性基数と DNA のリン酸基数の比を C/P 比とした。C/P=0-10 にて調製した複合化溶液を用いてゲル電気泳動を行ったところ、C/P の増加によりフリーの DNA のバンドが消失したことから、catCA との複合化が確認できた。

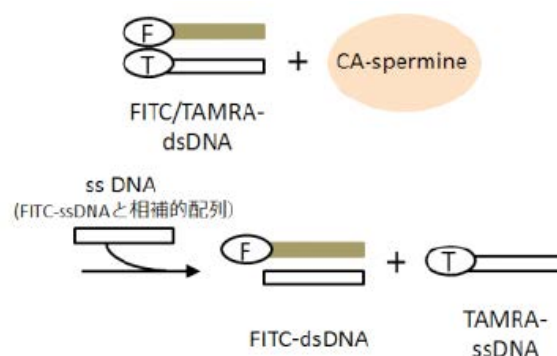


Fig. 4. 2. 4 Strand exchange reaction of DNA

次に核酸の 2 重鎖形成の安定性に及ぼす catCA の効果を、2 重鎖 DNA の融解温度 (T_m) 測定により検討した。20 bp DNA 単独の T_m は 61.9°C であったのに対し、catCA 存在下では約 10 °C 上昇し、DNA の 2 重鎖形成を効果的に安定化させることが分かった。

次に、人工核酸シャペロンとしての機能を、2 重鎖 DNA とその相補的配列を有する単鎖間の鎖交換反応に対する catCA の加速効果を指標にして評価した (図 4. 2. 4)。反応の追跡には蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 法を利用した。相補的な 2 重鎖 DNA の一方を FITC で、他方を TAMRA で蛍光標識した 20 塩基 DNA をアニーリングさせ、FRET 状態を確認した後、catCA を C/P=10 になるように複合化させた。そこに前述の 2 重鎖 DNA に対する相補的単鎖を添加した (図 4. 2. 5)。添加後の蛍光強度

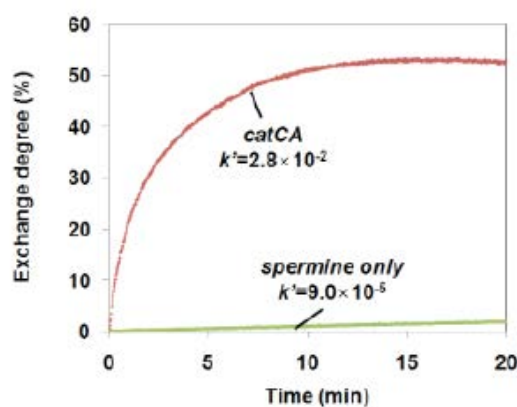


Fig. 4. 2. 5 Time course of strand exchange reaction in the presence of catCA

変化については FITC の蛍光強度をモニタリングした。その結果、単鎖添加直後より FITC の蛍光強度が増加し、FRET の解消すなわち鎖交換の進行が確認できた。またこの反応は約 15 分で平衡に達した。スぺルミン溶液存在下ではほとんど反応が進行せず、catCA 存在下で鎖交換反応を約 300 倍速くすることが見出された (図 4.2.5)。

4.2.3. ナノゲル核酸シャペロンの siRNA デリバリー応用

遺伝子治療は従来の薬物治療では対処できなかった難治性疾患に対して適応可能であるとして臨床応用が期待されている。さらに近年では、RNA 干渉 (RNAi) という標的遺伝子の発現抑制メカニズムの発見により、分子生物学研究に限らず、疾患治療への応用が急速に進められている。その際細胞内へ核酸を安全かつ効率良くデリバリーし、機能発現を制御し得るキャリアの開発が重要となってきた。本研究では、核酸シャペロン機能を有する機能化 CA により、新規核酸キャリアの開発を目的とした。ここでは機能化 CA の siRNA キャリアとしての機能評価を行った。

機能化 CA としてカチオン性基としてスぺルミンを修飾した catCA、また catCA に疎水性基としてコレステリル基を導入したコレステリル基置換 catCA (CH-catCA、コレステリル基置換率 3.1/100 単糖) を用いた。なお、コレステリル基を導入することで、従来の疎水化多糖同様に数分子が会合したナノゲルを形成することが明らかになった (図 4.2.6.)。ゲル電気泳動法により、catCA および CH-catCA と 21-bp siRNA との複合化が確認できた。複合体の粒径とゼータ電位を動的光散乱法 (DLS) により測定したところ、C/P 比に依存して変化し、C/P=2 以上において約 20-40 nm の正電荷を有するナノ粒子を形成することがわかった。この複合体をマウス頭頸部癌細胞 (SCC7-GL3) に導入し、市販のカチオン性リポソームとの導入能を比較した。その結果、catCA および CH-catCA とともに市販キャリアを上回る細胞導入効率を有していた。次に複合体導入による RNAi 効果を検討した。

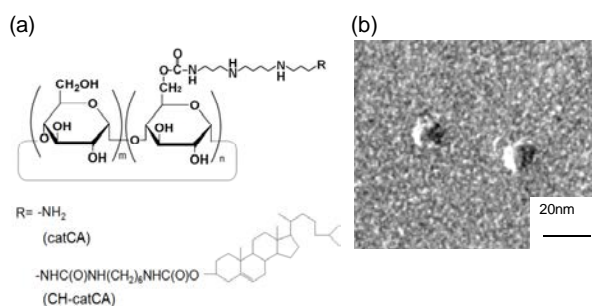


Fig. 4.2.6 Functional cycloamylose and TEM image of nanogels

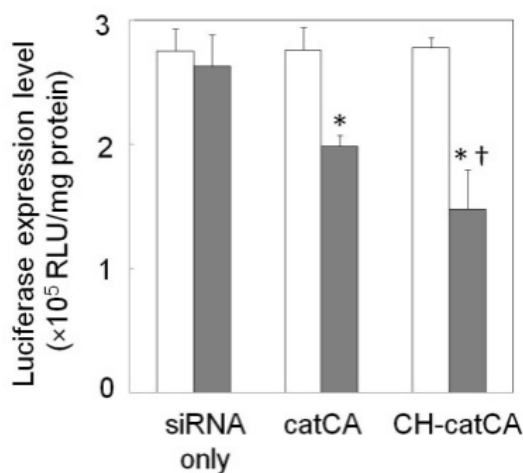


Fig. 4.2.7 Gene silencing effects of siRNA (50nm) at C/P =10 with CH-catCA nanogel carrier

ルシフェラーゼを恒常発現する SCC7-GL3 細胞に catCA または CH-catCA /siGL3 (ルシフェラーゼ発現抑制配列) 複合体 (C/P=10, siGL3 終濃度:50 nM) を導入したところ、導入 24 時間後においてルシフェラーゼの発現抑制がみられた。一方で 3 塩基ミスマッチを含む siRNA (siGL2) を導入した場合には発現抑制されず、siGL3 の配列依存的な抑制であることを確認した (図 4.2.7)。このとき、CH-catCA は市販キャリアに比べて低毒性で発現抑制が可能であった。

4.2.4. ナノゲル核酸シャペロンのプラスミド DNA デリバリー応用

核までの送達が必要であるプラスミド DNA (pDNA) のデリバリーにも応用可能であると考え、そのデリバリー能について検討した。ここでは、CA の構造が pDNA との複合体の物性および遺伝子発現効率にどのように影響するか、直鎖構造のアミロースと比較、検討した。

機能化 CA として、先に述べた核酸シャペロン機能を有するスぺルミンを修飾したカチオン性 CA (catCA) およびスぺルミン修飾アミロース (catAmy) を使用した。catCA と pDNA (pGL3, 5.2 kbp) を PBS 中で混合し 30 分間静置することで複合体を調製した。ゲル電気泳動により各 C/P 比での複合化を確認したところ、catCA、catAmy ではそれぞれ C/P=0.5、0.4 以上で pDNA との複合化を確認した。次に DLS により各 C/P 比における複合体の粒径およびゼータ電位を測定した。その結果、サイズ・ゼータ電位共に C/P 比に依存しており、C/P=10 においては catCA/pDNA 複合体では約 260 nm、+16.5 mV であった。一方 catAmy/pDNA 複合体では同 C/P 比において約 820 nm、+12.0 mV であり、catCA において pDNA とコンパクトな複合体粒子を形成することが分かった (図 4.2.8 および図 4.2.9)。

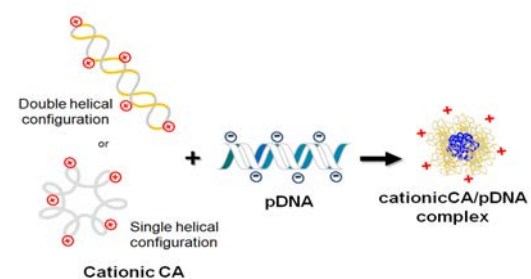


Fig. 4.2.8 Schematic illustration of DNA complex

次に複合体を COS7 細胞に導入し、複合体の導入効率および遺伝子発現効率について検討した。まず、複合体導入 4 時間後の pDNA 細胞導入効率を比較した。C/P=10 における細胞導入量は catAmy/pDNA に比べ catCA/pDNA 複合体において顕著に導入量が多かった。またルシフェラーゼをコードする pDNA を用いて、複合体導入 48 時間後のルシフェラーゼ発現レベルを定量した (pDNA; 1.0 μ g)。その結果、C/P=1, 5, 10 のいずれの C/P 比においても catAmy に比べて catCA においてルシフェラーゼレベルが高かった (図 4.2.10)。

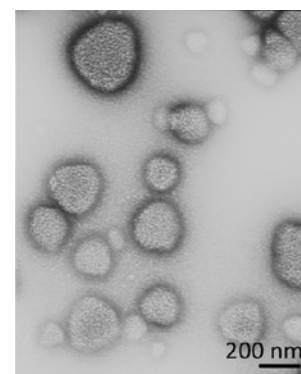


Fig. 4.2.9 TEM (negative stain) of catCA/pGL3 complex

また、細胞内のエンドソームの酸性化を抑制する薬剤として知られるヒドロキシクロロキン (HCQ) を複合体溶液に添加後にトランスフェクションを行ったところ (HCQ 終濃度; 100 μ M)、ルシフェラーゼ発現レベルの上昇は catCA 系において顕著であり、既存のカチオン性ポリマーである PEI に匹敵する発現効率を示した。これは、比較的疎水性である HCQ と catCA が相互作用した結果、よりエンドソーム内に HCQ が導入され、複合体の細胞質移行量が増加したためと考えられる。また、遺伝子発現効率の高い条件下で細胞毒性試験を行ったところ、いずれの条件下においても複合体を添加した細胞の生存率は 90%以上であった。catCA において低毒性かつ遺伝子発現能を有する遺伝子キャリアが開発できた。

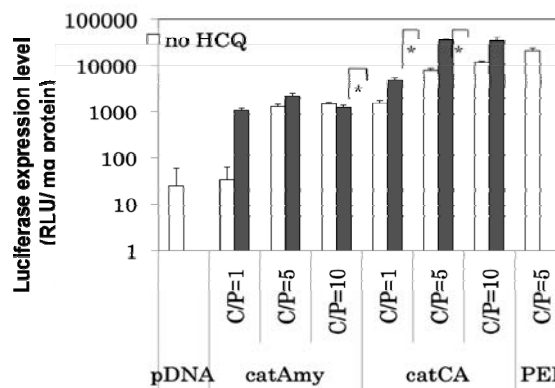


Fig. 4.2.10 Luciferase gene expression of COS7 cells transfected with catAmy/pGL3, catCA/pGL3 and PEI/pGL3 complex

(2) 研究成果の今後期待される効果

4.2.1 ナノゲル核酸シャペロンの設計と機能評価

従来の核酸シャペロンがカチオン性ポリマーに親水性糖鎖を導入した主鎖カチオン性ポリマーであったのに対して、今回設計した核酸シャペロンは親水性糖鎖で形成されるナノゲルの側鎖にカチオン性基を有する側鎖カチオン性ポリマーでその構造特性が大きく異なる。さらに、ナノゲルはその内部にタンパク質を封入することが可能であり、複合機能を有する新規人工核酸シャペロンとして興味を持たれる。

4.2.2 機能性サイクロアミロースを基盤とする新規核酸シャペロンの設計と機能評価

本系は、側鎖カチオン性ポリマーによる新規核酸シャペロン系である。サイクロアミロース鎖に導入されたカチオン性基スベルミンの集積効果により核酸シャペロン機能が増幅されたと考えられる。その導入量を変えることでシャペロン活性が制御しえた。さらなる高活性人工核酸シャペロン設計に重要な指針を提供するものである。

4.2.3 ナノゲル核酸シャペロンの siRNA デリバリー応用

高効率な siRNA キャリア開発は、今後もさらにその重要性が増すと考えられる。核酸キャリア機能を有する機能化 CA は従来にない新規 siRNA キャリアとして、細胞機能研究や疾患の治療応用での有用性が期待される。

4. 2. 4. ナノゲル核酸シャペロンのプラスミド DNA デリバリー応用

高効率な遺伝子デリバリーシステムの開発において、これまでに多くの高分子性キャリアが開発されてきた。機能化サイクロアミロースは従来の市販のキャリアに匹敵する高い効率を有し、低毒性であることが明らかになった。本システムは、さらに疎水性物質をそのヘリックス鎖内に包接しえるという従来にないキャリアとしての特性を有しており、この特性を生かした更なる高機能化が可能であるのが特徴である。今後、エンドソーム脱出機能や細胞膜融合機能を付与した新規ナノキャリアの開発が期待される。

4.3 低コスト蛍光色素の開発と HTS 化（兵庫県立大学 山名グループ）

(1) 研究実施内容及び成果

遺伝子変異の検出技術は、テーラーメイド医療の実現にむけてキーとなるテクノロジーであるので、われわれは、DNA 一塩基変異の蛍光検出や電気化学検出法の開発に焦点を絞って研究をおこなってきた。遺伝子の塩基配列解析は、DNA チップなどでも使われているように、ハイブリダイゼーションをもとにした方法が広く利用されている。しかしながら、一般的な核酸プローブを用いるハイブリダイゼーション法では、遺伝子に存在する一塩基の違いを見分けることはそれほど容易ではない。

これまでに様々な蛍光プローブが開発され遺伝子配列解析に用いられている。しかしながら、最も広く用いられている蛍光共鳴エネルギー移動法ではドナーおよびアクセプターとなる 2 種の蛍光色素が必要となるために、色素の価格が分析コストに直接的に影響する問題を有している。一方、電気化学的に遺伝子変異を検出する手法は、蛍光法と比較して、低コストで作成できるプローブチップを利用して行なえる点で優位性を有しているものの、1) レッドックス試薬あるいは触媒を添加して検出する必要がある、2) 対象 DNA をラベルする必要がある、3) プローブの設計と合成が難しい、などの短所を有していた。

われわれは、遺伝子変異の蛍光および電気化学検出におけるさまざまな問題点を解決するため種々の検討を行ってきた。新しい蛍光色素であるビスピレンを組み込んだ遺伝子プローブとその一塩基変異の蛍光検出への応用を検討した。このプローブは、蛍光エネルギー移動を基盤とするプローブと比較して検出の低コスト化が行なえるなど優位性を有していることを示した。また、電気化学検出においては、アントラキノン誘導体をレッドックスレポーターとして組み込んだ DNA チップを作成して、遺伝子変異の電気化学検出やバイオ分子のセンシングを検討した。これらの方法の特徴は、検出対象となる遺伝子のラベルが不要であること、レッドックスレポーターの設計と合成が比較的簡単に行なえること、検出に際して触媒など他の試薬を必要としないことが挙げられる。ここでは、これらの結果を中心に報告する。

1-1) ビスピレン修飾プローブを用いる DNA 一塩基変異の検出

比較的容易に合成できる 2 つのピレンをもった蛍光分子を DNA の端に導入したプローブが、非常に興味深い性質を示すことを見いだした(図 4.3.1)。このプローブは、単独ではモノマー蛍光を、DNA とハイブリダイゼーションするとエキシマー蛍光を示すもので、それぞれの蛍光の波長と強度が異なるので、単純な蛍光測定で容易に目的とする遺伝子の検出に応用できる。

問題は、一塩基変異を含む DNA と変異を含まない DNA をどのようにして区別するかにあった。そこで、一般的なハイブリダイゼーション法ではなく、図 4.3.2 に示したような、ハイブリッド交換法を用いることにした。この方法を用いると、2 つのピレンをもった蛍光分子を DNA の端に導入したプローブを用いて、簡単な測定操作で短時間に変異 DNA を完全鎖 DNA とエキシマー蛍光により識別できることがわかった。ハイブリッド交換は、普通の DNA を扱う条件では、極めて遅い反応なので、この反応を加速しなおかつ変異体と完全体の蛍光差を出せるよう工夫する必要がある。プロジェクトリーダー九州大学丸山厚教授の開発した特殊なポリカチオンを測定系に加えること(PASE 法)により、これらをクリアした。

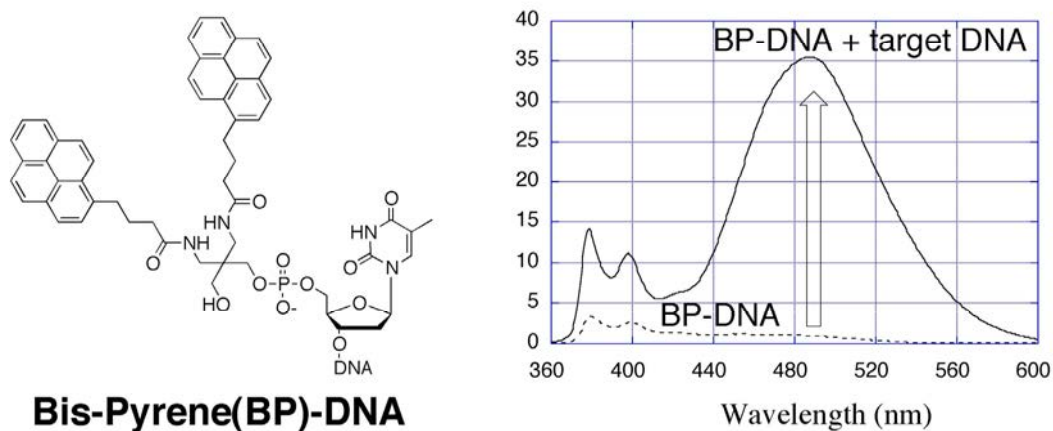


Fig. 4.3.1 ビスピレン修飾核酸プローブの化学構造とターゲット DNA 添加に伴うエキシマー蛍光の増大

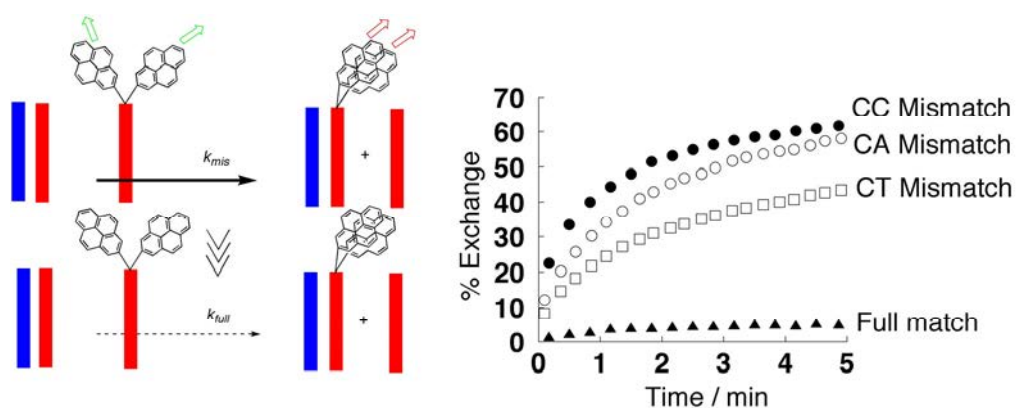


Fig. 4.3.2 ビスピレン修飾核酸プローブを利用したポリカチオン存在下における鎖交換（PASE法）をもとにした DNA 一塩基変異の蛍光検出

モレキュラービーコン (MB) 型のステムループ構造をとる DNA にビスピレンを導入した新しい蛍光プローブ (BPMB プローブ) を設計し合成した。予期したとおり、BPMB プローブ単独では強いエキシマー蛍光を発するのに対して、ループ部位と DNA が結合して部分 2 本鎖を形成すると弱いモノマー蛍光にスイッチすることを明らかにした。そこで、部分 2 本鎖 BPMB プローブとターゲット遺伝子の鎖交換反応 (PASE) をモノマー-エキシマー蛍光スイッチを利用して追跡した。一塩基変異を含む遺伝子は、正常遺伝子と比較して、鎖交換反応速度がきわめて遅いことが分かった。このように、ビスピレン修飾モレキュラービーコンをプローブに用いて、簡単な蛍光モニターにより DNA に存在する一塩基変異を検出することができた。

1-2) レドックス修飾 DNA 固定化チップを用いる一塩基変異の検出

電気化学的 SNP 検出法は、簡便で安価な実用的手法になりうるので、国内外で活発な研究開発が行われている。われわれは、電気化学 SNP 検出のためのレドックスレポーターとしてアントラキノン(AQ)に着目し、AQ 修飾 DNA を金電極上に固定化した DNA チップを作成した。これらのレドックス修飾 DNA チップを用いて、ハイブリダイゼーション法と DNA 鎖交換法を基盤とした電気化学 SNP 検出の基礎技術を開発してきた。すなわち、インターカレート性のレドックスレポーター（アントラキノン：AQ）を導入した DNA を金基盤上に固定化したチップを用いて、レドックス修飾 DNA チップと対象 DNA のハイブリダイゼーションを行い、DNA を介した電子移動速度の差により正常 DNA と変異 DNA の区別ができることを見いだした(図 4.3.3)。



Fig. 4.3.3 アントラキノン(AQ)修飾 DNA 固定化チップとそれを利用した DNA 一塩基変異の電気化学検出

一方、鎖交換反応を基盤とした SNP 検出では、レドックス修飾 DNA チップと対象 DNA の鎖交換反応を行い、鎖交換反応速度の差により正常 DNA と変異 DNA を区別し検出が可能であることを見いだした(図 4.3.4 及び図 4.3.5)。

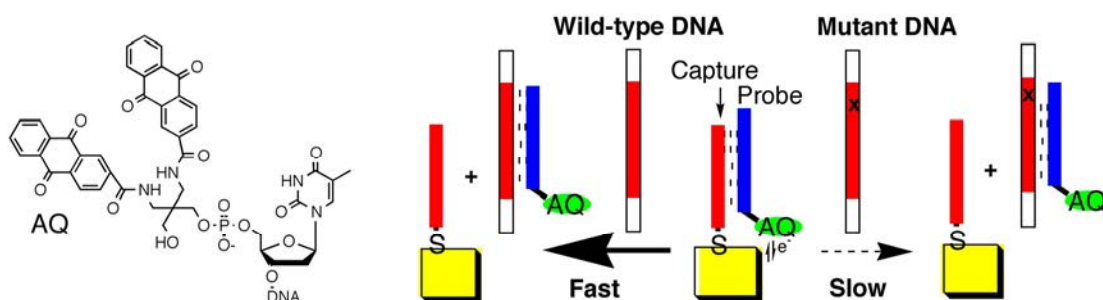


Fig. 4.3.4 ビスアントラキノン修飾 2 本鎖 DNA 固定化チップと鎖交換反応を利用した一塩基変異の電気化学検出

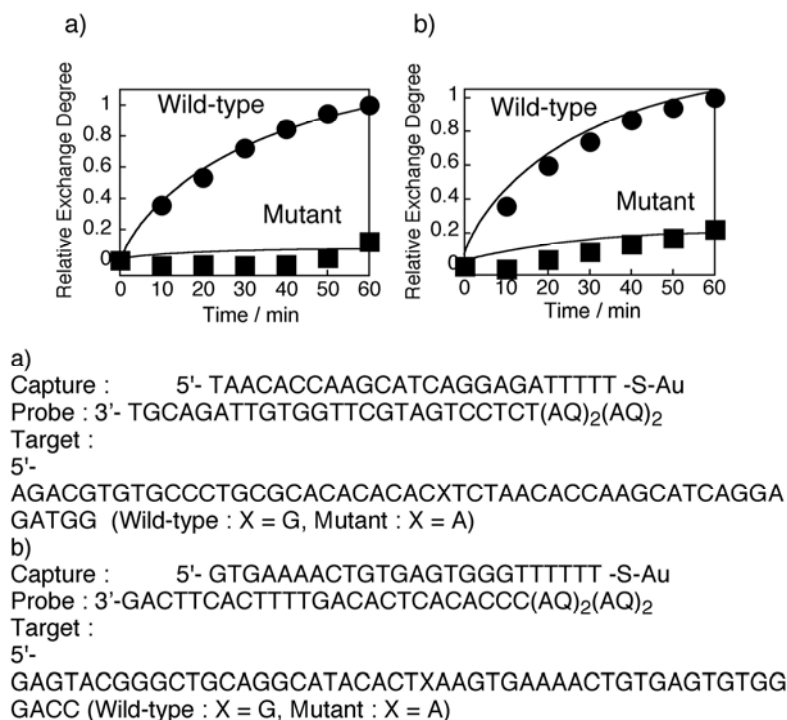


Fig. 4.3.5 チップ上での鎖交換反応を利用した一塩基変異の電気化学検出の実施例

1-3) レドックス修飾 DNA アプタマー固定化チップを用いるバイオ分子の電気化学検出

われわれは、それらの塩基配列とリガンドとの複合体の化学構造が良く知られている ATP やトロンビンを標的とする DNA アプタマーを選択して、図 4.3.6 に示したように、金電極上にレドックス修飾 DNA アプタマーを含む部分二本鎖を固定化したセンサーチップを作成した。これらのバイオセンサーチップの特徴は、アプタマー配列と部分的に相補的な配列を含む Capture DNA を 3'末端チオール修飾して金電極に固定化し、5'末端にレドックス基を持つアプタマー鎖をハイブリダイゼーション法により電極上に配置することにある。したがって、これらのチップは、リガンドが存在しない測定前はレドックスレポーター由来の強い電気化学信号が観測される。一方、標的分子（リガンド）が測定溶液に存在すると、リガンドとアプタマーDNA の結合により、アプタマーリガンド複合体が Capture DNA から遊離し電極表面から溶液中に拡散して離散する。これにともなって、電気信号の大きな減少が起こると期待される。

ATP バイオセンサーのリガンド（ATP）に対する電気化学応答を DPV により測定・評価した。ATP 非存在下および存在下 (0.1 mM, 40 min) における DPV を図 4.3.6a に示した。予期したとおり、作成したセンサーで観測されたファラデー電流が、ATP に応答して減少することが分かった。本研究で用いた ATP バイオセンサーは ATP 添加から 60～80 分後にほぼ反応が完結していることが分かった。高濃度の ATP (0.5 mM) を添加すると、DPV 電流値の相対変化率は約 90%であり、低濃度の ATP (0.01 mM) を添加すると、DPV 電流値の相対変化率は約 15%であった。ATP 濃度の対数に対して DPV 電流値の相対変化率は直線になり、DPV 電流値

より測定溶液中に含まれる ATP 濃度を定量できることが示された。ATP バイオセンサーの選択性を評価した。ATP を添加したとき以外は、バイオセンサーの応答性が低下し、ATP と他のヌクレオシド三リン酸と顕著な差が確認された (図 4.3.6b)。したがって、本研究の ATP バイオセンサーは基質 ATP に対して高い選択性があることが示された。

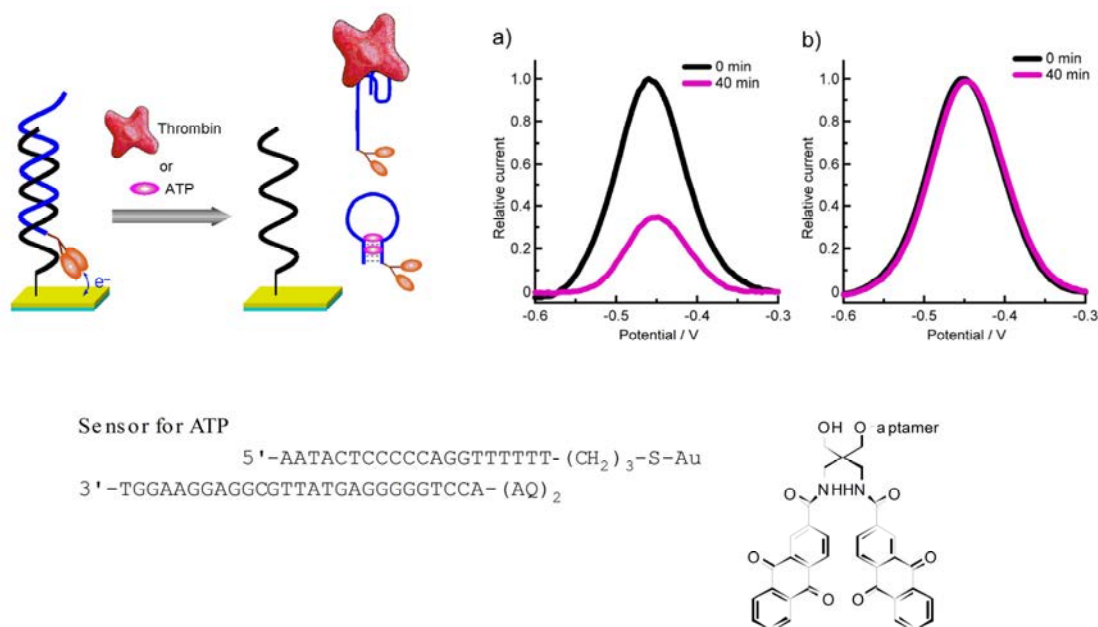


Fig. 4.3.6 レドックス修飾 DNA アプタマーセンサーの概念

- a) ATP センサーの ATP 添加に伴う電気化学応答
- b) ATP センサーの UTP 添加に伴う電気化学応答

1-4) RNA 核酸を介した過剰電子移動

核酸は、その構造と性質から、ナノ構造を制御して有機色素を配列するために非常に有用な分子である。そこでわれわれは、核酸への有機色素の導入位置と様式と同時に核酸鎖長を調整して電極表面における有機色素の空間配列をナノメートルスケールで制御することにより、高効率な光・化学エネルギー変換システムの構築を目指して研究を開始した。

これまでに、光応答性有機色素としてピレンを、電子受容体としてアントラキノンを選択し、RNA 上に配列したピレン-アントラキノン間光誘起電子移動に及ぼす両色素間の距離の影響を調べた。予備的ではあるが、電子供与体および受容体とも RNA π 電子系と完全に π スタックしていないにもかかわらず、アデニン-ウラシル塩基からなる RNA を介して一電子移動あるいはエレクトロンホッピング (ホール移動ではない) が効率よく長距離まで起こることを見いだした。

そこで、この観測された現象とその解釈がほんとうに正しいかどうかを確認する目的で、電子供与体-受容体ペアをピレン-ニトロベンゼンに変更して、これまでと同じ RNA 配列を用いて比較検討を行った (図 4.3.7)。RNA を介したピレン (Pyr)-ニトロベンゼン (NB) 間の光誘起電子移動のエネルギーダイヤグラムを上を示した。ピレン-RNA (ウラシル塩基)-ニ

トロベンゼンの各電子移動過程は、ピレン- RNA（ウラシル塩基）-アントラキノンと同様に、熱力学的に許容である。

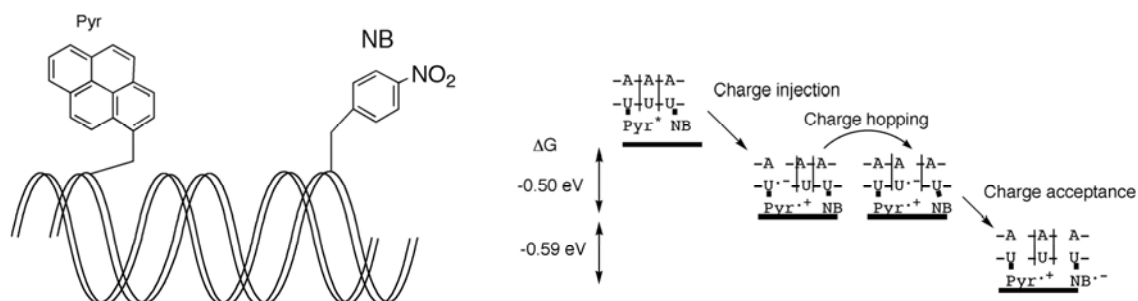


Fig. 4.3.7 核酸を介した過剰電子移動の概念

Table 4.3.1 ピレン-ニトロベンゼン修飾 RNA の半解離温度 (Tms).

Sequence of RNA Duplex	T _m / ° C
P5: 5'-UUU <u>UU(Pyr)</u> U UUU UUU UUU UUU UU-3' + rA ₂₀	48.1
5'-UUU UUU UUU <u>U(NB)</u> UU UUU UUU UU-3' + rA ₂₀	41.0
P5NB6: 5'-UUU <u>UU(Pyr)U(NB)</u> UUU UUU UUU UU-3' + rA ₂₀	43.9
P5NB7: 5'-UUU <u>UU(Pyr)</u> <u>U(NB)</u> UU UUU UUU UU-3' + rA ₂₀	40.0
P5NB8: 5'-UUU <u>UU(Pyr)</u> U <u>UU(NB)</u> U UUU UUU UU-3' + rA ₂₀	42.0
P5NB10: 5'-UUU <u>UU(Pyr)</u> U UUU <u>U(NB)</u> UU UUU UUU UU-3' + rA ₂₀	42.1
P5NB12: 5'-UUU <u>UU(Pyr)</u> U UUU <u>UU(NB)</u> UUU UUU UU-3' + rA ₂₀	42.1
P5NB15: 5'-UUU <u>UU(Pyr)</u> U UUU UUU <u>UU(NB)</u> UUU UU-3' + rA ₂₀	43.2
rU ₂₀ + rA ₂₀	47.1

検討に用いた RNA 配列と半解離温度 (T_m) を表 4.3.1 に示した。ピレンは、メチレンリンカーを介して、アデニン-ウラシル 20 量体の U 鎖 5 番の糖 2' 位に導入した。ピレン-ニトロベンゼン間の距離を調整するため、ニトロベンゼンは、ピレンと同様の様式により U 鎖 6-15 番の糖 2' 位に導入した。半解離温度から、修飾 RNA 2 重らせんの安定性は、ピレン-ニトロベンゼン両者による化学修飾にも関わらず、未修飾体と比べて大きく損なわれないことが分かった。また、CD スペクトルによる検討から、すべての修飾 RNA のコンフォメーションは、未修飾体と比較してほとんど差のないことが分かった。ピレンおよびニトロベンゼンとも RNA 塩基と強く相互作用していないことを示している。

図 4.3.8 に修飾 RNA の吸収および蛍光スペクトルを示した。ピレン-ニトロベンゼン修飾 RNA の吸収スペクトルでは、ピレン単独導入体と比較して、形状および極大吸収波長のシフトはほとんど観測されなかった。このことから、基底状態においては、再近接ピレン-ニトロベンゼン間においても両者間に直接の電子相互作用がないことを示している。また、このことは、ピレン吸収領域の CD スペクトルからも支持された。一方、すべ

でのピレン-ニトロベンゼン修飾 RNA 蛍光スペクトルでは、ピレン単独体と同じ形状のモノマー発光が観測され、いずれも蛍光強度が確かに減少した。この両クロモファ間の距離（塩基間距離）に依存した蛍光消光を解析した結果を図 4.3.9 に示した。電子供与体-受容体間距離と電子移動速度の関係が 2 つの異なる β 値で解析可能であることが分かった。短距離（2.8–10 Å）における β 値は、 $\sim 0.6 \text{ Å}^{-1}$ 、長距離（10 Å 以上）では、 $\sim 0.05 \text{ Å}^{-1}$ と見積もることができた。今まで、DNA π スタックを介したホール移動の超交換機構で $\sim 0.6 \text{ Å}^{-1}$ 、ホールホッピングあるいは電子ホッピング機構で $\sim 0.1 \sim 0.3 \text{ Å}^{-1}$ 程度の値が報告されている。したがって、本研究のドナー-RNA-アクセプター光誘起電子移動も、両メカニズムで解釈できるものと考えられる。

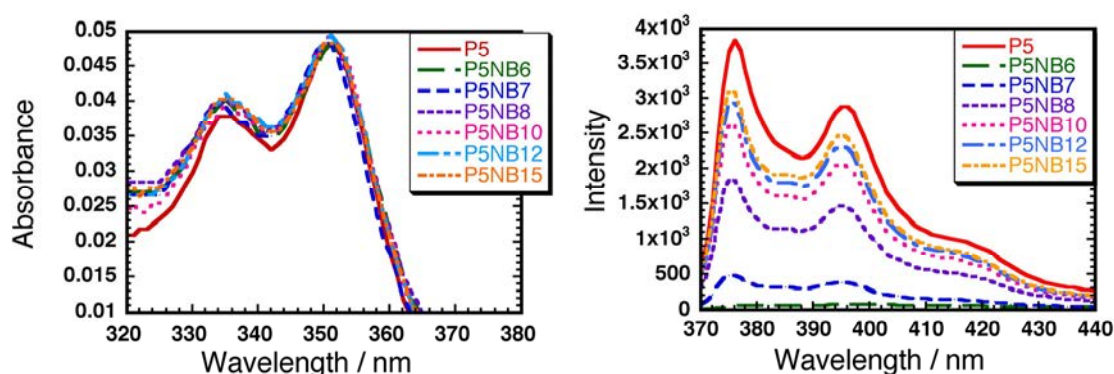


Fig. 4.3.8 ピレン-ニトロベンゼン修飾 RNA の紫外・可視吸収（左）および蛍光（右）スペクトル

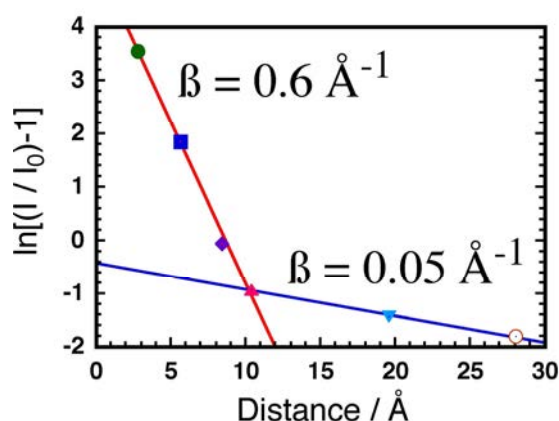


Fig. 4.3.9 RNA 上のピレン-ニトロベンゼン間の電子移動の距離依存

1-5) RNA らせん上に構築したエキシマー発光ピレンヘリカルアレイ

クロモホアのナノ空間への配列制御は光エネルギー移動や光電子移動といったユニークな光機能を示すことから電子デバイス等への応用が期待されており、さまざまな手法によりクロモホアを配列させる研究が行われている。

生体分子である核酸は塩基が相互作用して積み重なったらせん構造を有していることから、ナノ空間に分子を配列させる鋳型となり得る高分子材料である。我々はウリジンの糖部 2'-位にピレニル基を連結した U(Py) を有する RNA が、相補鎖 RNA との二重らせん形成に伴いピレニル基がらせんの外側に張り出すことを明らかにした。このようなピレン修飾 RNA の構造特性を利用すれば、ピレニル基を RNA 二重らせんの外側にらせん軸に沿ってナノレベルで規則的に配列させることが可能である。そこで複数のピレニル基を導入した二重らせん RNA による特異的な光機能発現を目指して研究を開始した。

本研究で合成したマルチピレン修飾 RNA をチャート 4.3.1 に示す。

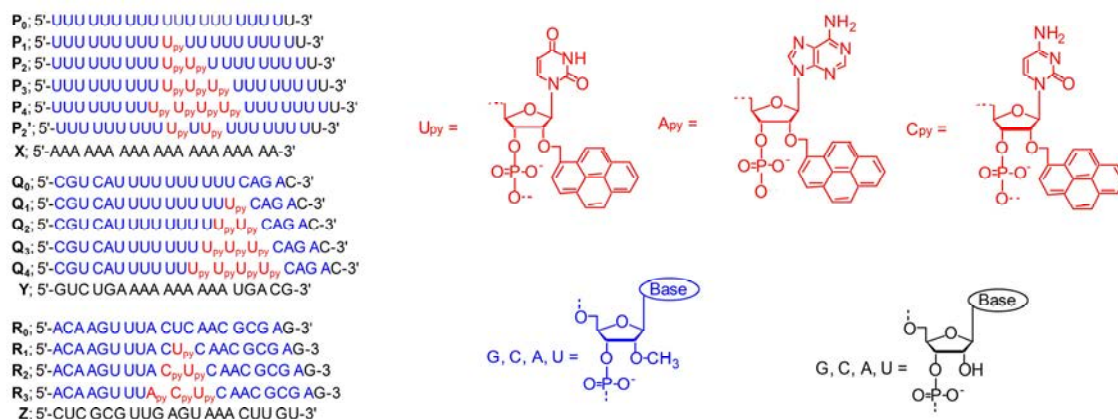


Chart 4.3.1 ピレン修飾 RNA の塩基配列

これらピレン修飾 RNA と相補鎖 RNA との二重らせんの半解離温度は表 4.3.2 に示すように導入するピレンの数に関係なく未修飾の RNA とほぼ同じ値になった。この結果はピレンがらせん内にインターカレートすることなく、らせんの外側に位置していることを示唆している。

Table 4.3.2 ピレン修飾 RNA の半解離温度 T_m

Pn-X	T_m / °C	Qn-Y	T_m / °C	Rn-Z	T_m / °C
P0-X	45.0	Q0-Y	50.0	R0-Z	73.7
P1-X	46.5	Q1-Y	53.9	R1-Z	69.8
P2-X	47.5	Q2-Y	53.9	R2-Z	68.9
P3-X	46.6	Q3-Y	52.9	R3-Z	65.9
P4-X	42.7	Q4-Y	52.0		

さらにこれら二本鎖ピレン修飾 RNA の CD スペクトルにはピレンの吸収域に正のコットン効果が観察された (図 4.3.10)。一本鎖の CD スペクトルにはこのような正のコットン効

果は観察されないことから、二本鎖のコットン効果はピレン同士の励起子相互作用によるものと考えられ、二本鎖ではピレン同士が π -スタックしていることが示唆された。

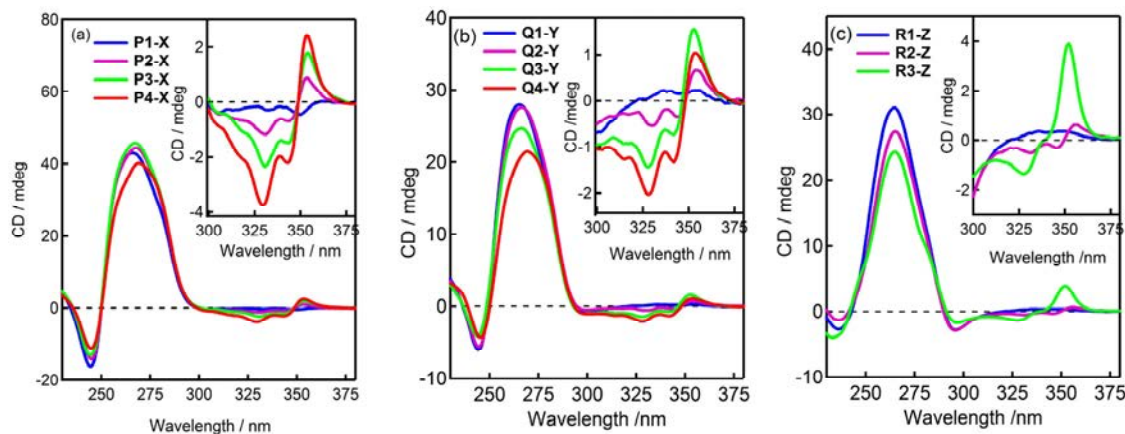


Fig. 4.3.10 ピレン修飾 RNA の CD スペクトル (a) $Pn-Xs$ ($n=1-4$)、(b) $Qn-Ys$ ($n=1-4$)、(c) $Rn-Zs$ ($n=1-3$)

そこで **P4-X** について分子動力学計算による構造最適化を行ったところ **P4-X** の構造は図 4.3.11 のようになり、4つのピレンは二重らせんの外部に規則的に配列した。この最適化構造をもとに励起子カイラリティー法による CD シグナルのシミュレーション(図 4.3.12)は実測の CD シグナルと良好な一致が得られたことから図 4.3.11 の構造が妥当なものであるといえる。

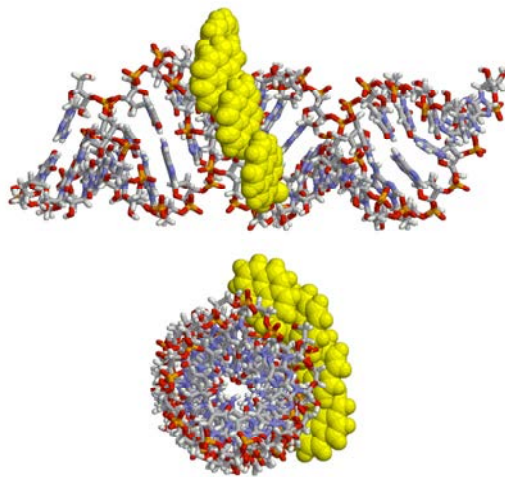


Fig. 4.3.11 **P4-X** の最適化構造

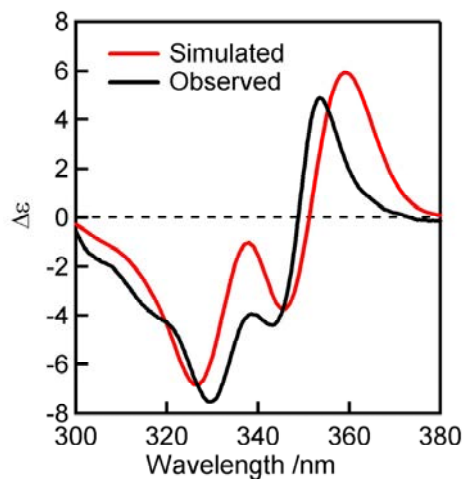


Fig. 4.3.12 **P4-X** の CD シミュレーション

このようなピレンが π -スタックした RNA 二重らせんの蛍光スペクトルにはピレンのモノマー蛍光だけでなくピレンエキシマー蛍光が 450-500 nm に観察され、導入するピレンの数に伴い最大発光波長の短波長シフトやエキシマー蛍光の強度が増大することが明らかになった(図 4.3.13)。さらにピレンを導入するヌクレオシドによっても蛍光挙動が異なることが

示唆された。

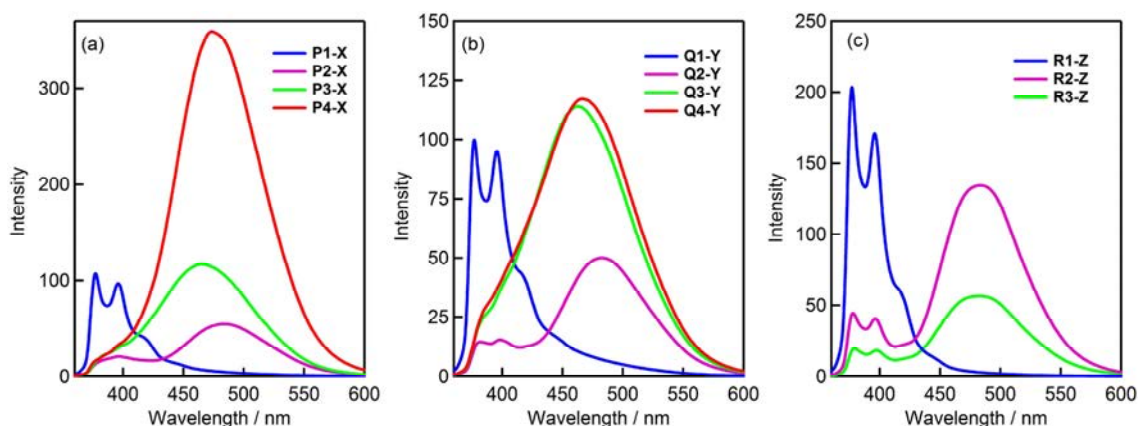


Fig. 4.3.13 ピレン修飾 RNA の蛍光スペクトル、(a) **Pn-Xs** ($n = 1-4$)、(b) **Qn-Ys** ($n = 1-4$)、(c) **Rn-Zs** ($n = 1-3$)

Pn-X のピレン蛍光はメチルビオロゲンにより効率よく電子移動消光された。表 4.3.3 に **Pn-X** の蛍光量子収率、Stern-Volmer 定数、および蛍光寿命を示す。蛍光量子収率はピレンの数に伴い増加した。エキシマー蛍光の Stern-Volmer 定数はエキシマーの寿命がピレンの数に関係なく 30-40 ns であったのに対してピレンの増加とともに大きくなった。特に **P4-X** ではエキシマー蛍光の Stern-Volmer 定数がモノマー蛍光の Stern-Volmer 定数の約 5 倍の大きさになるという特異的な性質を示した。この結果は励起エネルギーが π -スタックしたピレン（ピレンアレイ）上で非局在化していることを強く示唆している。

これまでの結果より糖部 2'-位に導入する手法を用いて複数のピレンを導入することで、相補鎖との自己組織化による二重らせん形成に伴い、らせんの外部にらせん軸に沿ったピレンのヘリカルアレイを構築することが可能となった。このピレンヘリカルアレイ上で光励起エネルギーの非局在化が起こり、消光剤によって容易に電子移動消光されることを見出した。

Table 4.3.3 ピレン修飾 RNA の蛍光量子収率、蛍光寿命

	$\Phi/10^{-2}$	$k_q \tau/M^{-1}$		Fluorescence lifetimes			
		monomer	excimer	τ_1/ns	τ_2/ns	τ_3/ns	χ^2
P1-X	1.7	410	—	4.37 (11.4%)	98.6 (88.6%)	—	1.15
P2-X	0.7	88	200	3.13 (18.7%)	106 (15.9%)	38.8 (65.4%)	1.01
P3-X	1.7	220	790	4.06 (44.3%)	120 (14.0%)	39.0 (41.6%)	1.04
P4-X	3.6	265	1300	8.58 (13.0%)	105 (10.8%)	32.8 (76.1%)	1.21

さらに我々はピレン修飾 RNA 同士の自己組織化による”Inter-strand”でのヘリカルピレンアレイ形成について検討した。チャート 4.3.2 に示す RNA、X1、Y1 は相補的な塩基配列であり、二重らせんを形成した時に U_{py} と A_{py} は塩基対を形成するように設計されている。同様に X5、Y5 は一塩基おきに 5 つの U_{py} と A_{py} を有し、個々の U_{py} と A_{py} がハイブリダイゼーションにより塩基対を形成する。

X0: 5'-rGUG UGU GUG UGU GUG-3'
X1: 5'-rGUG UGU G U_{Py}G UGU GUG-3'
X5: 5'-rGUG U_{Py}GU_{Py} G U_{Py}G U_{Py}GU_{Py} GUG-3'

Y0: 5'-rCAC ACA CAC ACA CAC-3'
Y1: 5'-rCAC ACA CA_{Py}C ACA CAC-3'
Y5: 5'-rCAC A_{Py}CA_{Py} CA_{Py}C A_{Py}CA_{Py} CAC-3'

Chart 4.3.2 ピレン修飾 RNA の塩基配列

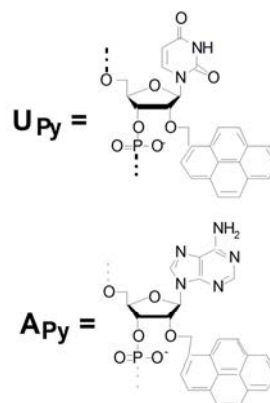


図 4.3.14 に RNA 二本鎖の蛍光スペクトルを示す。X1-Y1 でモノマー蛍光のほかにエキシマー蛍光が観察されたことから RNA 間でピレンのπ-スタッキングが可能であることが明らかになった。また X5-Y0 や X0-Y5 ではエキシマー蛍光はモノマー蛍光より弱いか、あるいはほとんど観察されなかったのに対して X5-Y5 では強いエキシマー蛍光が観察された。また CD スペクトル(図 4.3.15)ではピレン間の励起子相互作用も観察されたことから、X5 と Y5 はハイブリダイゼーションによりピレンが二重らせんの外部で Zipper 型にπ-スタッキングしたヘリカルアレイを形成していることが明らかになった(図 4.3.16)。

したがって、今回の手法によりピレンを RNA に導入することにより Zipper 型でピレンをらせん周囲にその配向を制御して配列させたヘリカルアレイを構築することが可能となった。

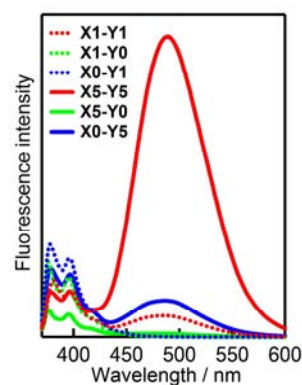


Fig. 4.3.14 ピレン修飾 RNA の蛍光スペクトル

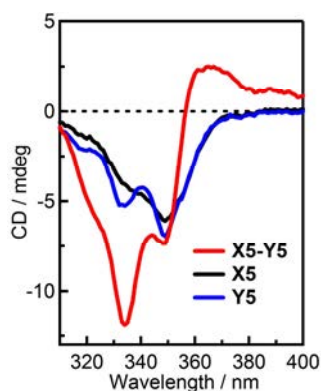


Fig. 4.3.15 X5-Y5、X5、Y5 の CD スペクトル

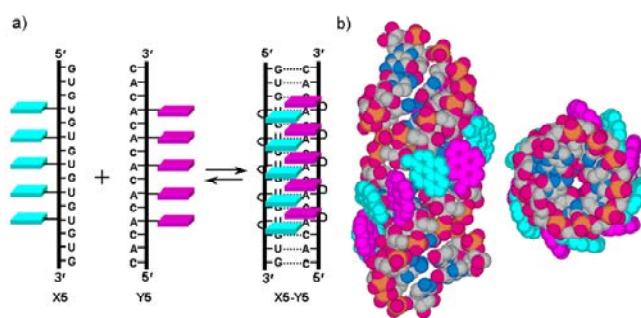


Fig. 4.3.16 (a) 二重らせん形性によるジッパー型アレイ形成の概念と (b) X5-Y5 の最適化構造

(2)研究成果の今後期待される効果

以上まとめると、電子ドナー・アクセプターを導入様式と位置をうまく選んで RNA 上に配置すれば、RNA π 電子系と完全に π スタックしていないにもかかわらず、ドナー・アクセプター間の電子ホッピングが RNA を介して効率よく長距離まで起こることを初めて明らかにした。今後、これらの知見をもとに核酸ナノデバイスや RNA 核酸蛍光プローブへと発展させる予定である。

また RNA に固定化したピレンは二重らせんの外部に π -スタッキングを伴って規則的に配列したヘリカルアレイが構築でき、このヘリカルアレイは強いピレンエキシマー蛍光を示すこと、さらに励起エネルギーがアレイ上を非局在化することを明らかにした。さらに Zipper 型でアレイ形成させることによりエキシマー発光を損なうことなくアレイをらせん軸に沿って拡張できることが示唆された。今後、得られた知見をもとに特異的な光機能の発現を目指す予定である。

4. 4 核酸高次構造検出リガンドの設計とリアルタイム検出(京都大学工学研究科、大阪大学産業科学研究所 中谷グループ)

(1)研究実施内容及び成果

4. 4. 1. 1 シトシンバルジに結合する蛍光性プローブの設計と SNP 検出法の開発

概要: プローブ自身が蛍光性を有する分子を用いて、標的核酸構造（ここではシトシンバルジ構造）に結合することによる蛍光強度変化により、均一溶液中において簡便、迅速、安価に遺伝子変異を検出する手法の開発を行った。

実施方法: 通常 SNP タイピングではプローブ DNA が蛍光色素等により標識されていることが常識となっている。我々の研究では、DNA プローブを一切標識することなく、蛍光法により SNP を判別する手法を検討した。

実施内容: 図 4.4.1 に本手法の概念を示した。標的 DNA の SNP サイトの塩基 X_N に対して、その相補塩基 Y_N を持つプローブを設計する。その際に、 Y_N の 5'-もしくは 3'-側にシトシンバルジを形成させるようにプローブを設計する。シトシンバルジに特異的に結合する DANP (図 4.4.2) は、シトシンバルジに結合するとその蛍光波長は 30nm 長波長側にシフトする。この違いにより、シトシンバルジに結合した DANP と結合していない DANP を、分離することなく蛍光測定により判別出来る。本手法では、さらにシトシンバルジの隣接塩基対の DANP 蛍光に及ぼす影響を知る必要がある。図 4.4.3 にシトシンバルジの隣接塩基対による蛍光強度変化を示した。即ち、シトシンバルジに C-G 塩基対が存在すると DANP の蛍光は大きく消光

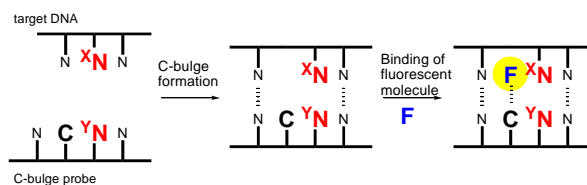


Fig. 4.4.1 Illustration of the SNP typing exploiting the C-bulge binding molecule **DANP** and C-bulge probe as a scaffold to recruit **DANP** to the region directly neighbouring the SNP site. Key: X_N ; nucleotide to be determined at the SNP site, Y_N ; nucleotide opposite X_N in the probe, C; the bulged cytosine, F; fluorescent molecule binding to C-bulge (**DANP**).

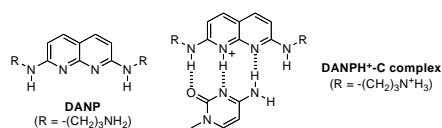


Fig. 4.4.2 Structures of **DANP** and **DANPH⁺-C** complex.

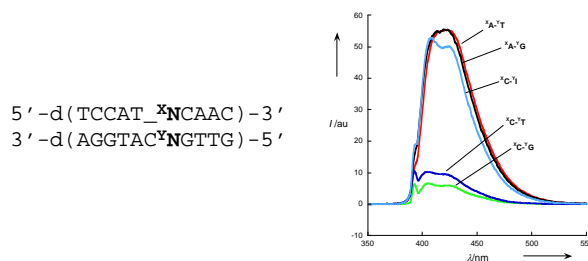


Fig.4.4.3 Fluorescence spectra of **DANP** (10 μ M) was measured in the presence of C-bulge duplexes (50 μ M) in a phosphate buffer (pH 7.0) and NaCl (100 mM). Excitation wavelength was 394 nm. Key: X_N-Y_N = A-T, red; A-G, black; C-T, blue; C-G, green; C-I, sky blue.

Table 4.4.1 I_{rel} of **DANPH⁺** bound to the C-bulge in the $A-X_N/TCY_N$ sequence^[a].

$5'-d(ACATCCAA \text{ } X_N \text{ } NCAACCAC)-3'$ $3'-d(TGTAGGTTC \text{ } Y_N \text{ } NGTTGGTG)-5'$				
Y_N	X_N			
	T	A	G	C
Y_A	2.8	2.5	1.0	1.5
Y_T	1.4	3.5	0.9	1.2
Y_C	1.1	1.4	1.0	1.0
Y_G	1.4	3.1 ^[b]	1.0	1.3
Y_I	1.9	4.2	1.1	2.8

[a] Fluorescence measurements were carried out for the solution containing 2 μ M each of two C-bulge duplex and 50 μ M of **DANP** in a phosphate buffer (pH 7.0) and 100 mM NaCl. $I_{rel} = I_{obs}/I_{back}$. The error (s.e.m.) was 0.1 for three independent measurements unless otherwise noted. [b] The error was 0.2.

された。一方、A-G ミスマッチや、C-I(イノシン)塩基対では消光は観測されなかった。この結果に基づいて、SNP サイトの隣接配列を順次調べた。表 4.4.1 では、5'-A^XN-3' 配列に、5'-Y^NCT-3' 配列のプローブを DANP 存在下にハイブリさせた際の相対蛍光強度を示した。即ち、^XN が T, A, C である場合には、プローブの ^YN に A, I, I を用いると、蛍光強度の上昇により判定出来ることを示している。一方、^XN が G である場合には、プローブの ^YN をどのように変化させても蛍光強度変化が無いことを示している。

全ての SNP サイトの配列とプローブの配列を図 4.4.4 の様に決定した。即ち、SNP サイトが 5'-G^XNG-3' でなければ、G 塩基とは反対側に C バルジが形成するようにプローブを設計すれば良いことが判る。一方、5'-G^XNG-3' である場合には、標的配列の相補鎖側、即ち 5'-C^XN'C-3' に対してプローブを設計することにより、タイピングが可能となることを示した。この際には、プローブ側のグアニン塩基をイノシンに置き換えることにより、シトシンバルジに隣接する G-C 塩基対により DANP の蛍光が消光されてしまうことを防ぐことが可能となる。イノシンを導入することにより、蛍光強度が増強されることも判っており、プローブ側にイノシンを導入することは複数のメリットがある。

5'-A^XN-3'/3'-T^YN-5' 配列に於ける A → T、C → T、A → C、C → G、A → G、G → T の変異を検出するためのバルジ側プローブ配列と、その際の DANP の蛍光強度比をまとめた (図 4.4.5)。その結果、全ての変異パターンに於いて、顕著な蛍光強度比を与えるプロー

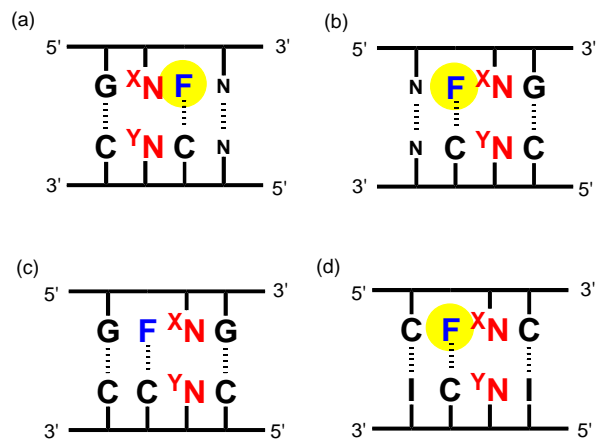


Fig. 4.4.4 The selection of C-bulge probe with respect to the target sequence. (a) C-bulge probe with the extra cytosine at the 5' side to ^YN. target : 5'-G^XNN-3', probe : 5'-NC^YNC-3'; (b) C-bulge probe with the extra cytosine at the 3' side to ^YN. target : 5'-N^XNG-3', probe : 5'-C^YNCN-3'; (c) ^XN was flanked by two G. target : 5'-G^XNG-3', probe : 5'-C^YNCC-3'; (d) SNP typing should be done on the complementary strand having 5'-C^XNC-3' sequence with the C-bulge contained two inosines. target : 5'-C^XNC-3', probe : 5'-I^YNCI-3'.

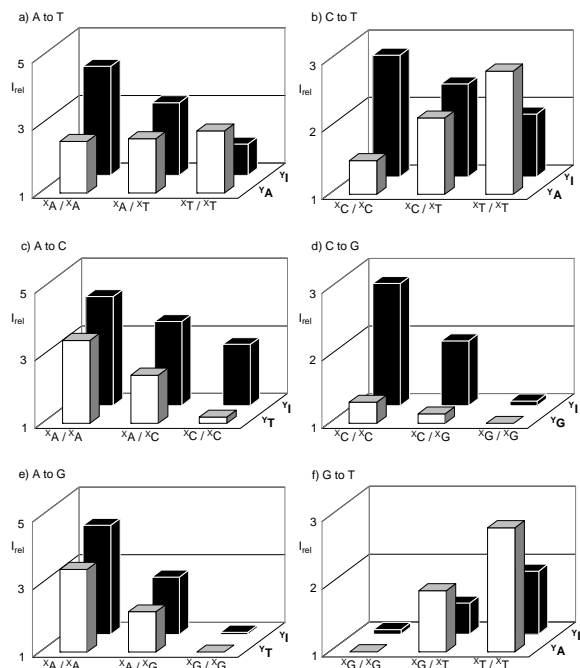


Fig. 4.4.5 Discrimination of allelic types in six mutations with two C-bulge probes and DANP. Key: a) A to T, b) C to T, c) A to C, d) C to G, e) A to G, and f) G to T mutations

ブ配列の組み合わせが可能であること、即ち SNP サイトの配列に関係なく、適切にプローブ配列を選択することにより、DANP を加えた際の蛍光強度により SNP が判別出来ることが示された。

成果: 本手法では、標的 DNA 配列はもちろんのこと、プローブ配列をも蛍光標識することなく、たった一つの蛍光色素により、適切に設計された配列をもつプローブを用いることにより、SNP タイピングを可能とした。DNA 側を蛍光標識しないために、タイピングコストを大幅に低減出来るメリットがある。一方、操作的にはまだまだ煩雑な手法であることが弱点である。PCR で増幅した後に、標的配列部分を一本鎖にすること、また、その溶液に一本鎖のプローブをハイブリさせ、さらに DANP を加え蛍光を測定するなど、医療現場での SNP タイピングとしては改良すべき点が多い。医療現場では採血後に試薬を加える、また分注する等の操作は一切出来ないという前提で望む必要がある。

4. 4. 1. 2 PCRプライマーに導入したリピート配列を利用した SNP のリアルタイム検出

概要: 実用化を特に意識して PCR プライマーの構造変化により PCR の進行を簡単に検出する手法について検討を加えた。遺伝子変異を解析する最も簡単な方法であるアレル特異的な PCR 反応に用いるプライマー5' 部位にリピート配列を導入し、PCR の進行によるリピート配列へのリガンドの結合の程度により SNP を判定する方法を検討した。

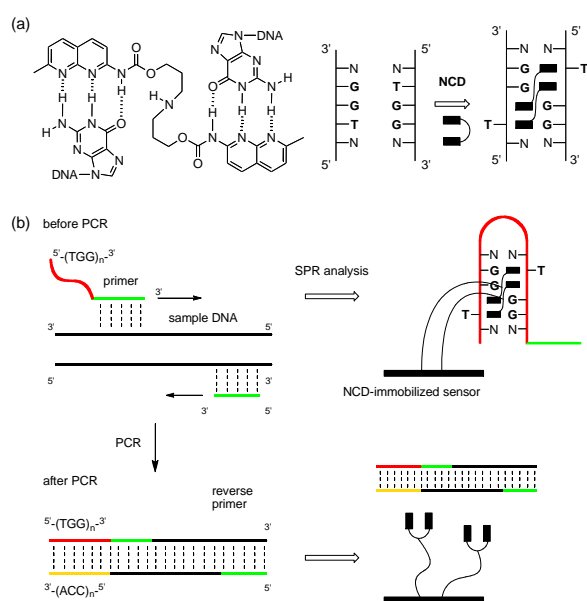


Fig. 4.4.6 (a) Structure of NCD and the mode of NCD binding to the G-G mismatch in the 5'-TGG-3'/5'-TGG-3' sequence. (b) Illustration of PCR with the TRS-tagged primer consisting of a d(TGG)_n-tag (red) and a priming sequence (green). The single stranded d(TGG)_n-tag in the primer was converted into a double stranded d(TGG)_n/d(CCA)_n by the synthesis of the complementary d(CCA)_n (yellow).

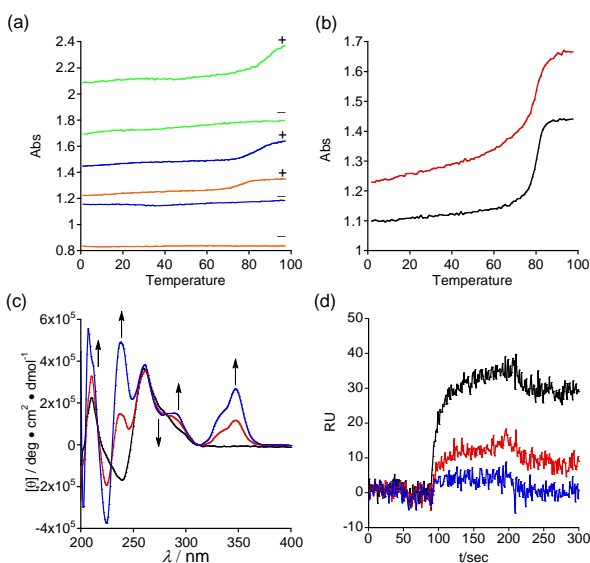


Fig. 4.4.7 (a) The UV-melting profiles of d(TGG)_n (5 μM) (n = 4, red; n = 6, blue; n = 10, green) in the absence (-) and presence (+) of NCD (100 μM). (b) The UV-melting profile of d(TGG)₁₀/d(CCA)₁₀ (2.5 μM) in the absence (black) and presence (red) of NCD (50 μM). (c) CD spectra of d(TGG)₁₀ (5 μM) in the absence (black) and presence of 15 μM (red) and 30 μM (blue) of NCD. (d) SPR analyses of 100 nM d(TGG)₄ (blue), d(TGG)₆ (red), and d(TGG)₁₀ (black) by the NCD-immobilized sensor.

実施方法：医療現場に於いて実用に耐えうる SNP タイピング法を実現するために、遺伝子サンプルの取得と精製後に一切の操作を必要としない手法が求められると考え、アレル特異的 PCR 法をタイピング原理として、従来法である TaqMan 法の弱点であるプローブコストを低減させると同時に、PCR 法の様々な改良法との組み合わせが可能な手法を検討した。その結果として、PCR の進行に伴い減少するプライマー量をリアルタイムにモニターする手法を提案した。本手法では、プライマーの 5' 末端側に TGG の連続配列を付加し、未反応のプライマーは TGG リピート配列に結合するリガンドとの相互作用により検出することを試みた。

実施内容：TGG リピート配列に結合する低分子リガンド NCD の構造式と、TGG リピート配列と NCD の結合様式を図 4.4.6a に示した。NCD は TGG リピートにヘアピン構造を誘起して結合することが、以前の我々の研究から明らかとなっている。リガンドによる二次構造誘起 (Ligand-Induced Secondary Structure, LISS) を基本原理とする PCR のリアルタイムモニタリングを図 4.4.6b で説明する。一方のプライマーに TGG リピート配列を付加しておくと、PCR が進行する前はプライマーの TGG リピート部分に NCD が結合可能であるため、NCD を表面に持つ表面プラズモン共鳴 (SPR) センサーにより、プライマーを検出することができる。PCR が進行すると、TGG リピート部分もテンプレートとして複製されるため、TGG リピート部分は一本鎖から二重鎖に変わる。その結果、PCR が進行すると NCD が結合できるプライマーの絶対量が低下し、SPR シグナルの低下として観測される。図 4.4.7a には、TGG リピートのリピート数と NCD 存在下の NCD に誘起されたヘアピン構造の融解温度測定の結果を示している。TGG10 では、NCD 存在下に融解温度が 80 度以上であった。一方、TGG リピートが相補鎖と二重鎖となった場合には、融解温度に変化は認められなかった。NCD による LISS は CD スペクトルにより明瞭に示された。即ち、NCD を加えるに従って、TGG10 の構造変化に伴う NCD 吸収帯における誘起 CD が観測された。さらに、NCD を表面に持つ SPR センサーにより TGG10 リピートを持つプライマーが、100 nM で検出できることが明らかとなった。以上の予備実験結果に基づいて、TGG10 リピートを 5' 末端側に付加した PCR プライマーによる PCR を検討した。その結果、TGG リピート配列は PCR を阻害することなく、二重鎖へと変換されることが明らかとなった。また、PCR 溶液を直接 SPR センサーで測定しても、PCR 前後に於いて明瞭な SPR シグナルの違いとして観測された。

本研究の締めくくりとして、アレル特異的 PCR との相関を調べた。テンプレートに対してマッチするプライマーとミスマッチするプライマーのそれぞれを TGG10 で標識して、通常の条件で PCR を行った。PCR 前後の PCR 溶液を SPR により分析した。その結果、マッチプライマーでは PCR 後に SPR シグナルの大幅な低下が観測されたが、ミスマッチプライマーではシグナルの変化は観測されなかった。この SPR シグナル強度の変化は、PCR 産物を PAGE で解析した結果とよく一致した。

成果:アレル特異的 PCR 法との組み合わせにより、プライマーを標識した DNA 配列の構造変化により明瞭に PCR の進行をモニターできること、アレル特異的 PCR 法と組み合わせることができることを確認した。競合する技術である TaqMan 法に比べてプローブを必要としない点で有利である。一方、SPR という高価な機器を検出に使っているために、汎用的な測定機器に置き換えることが次の課題である。

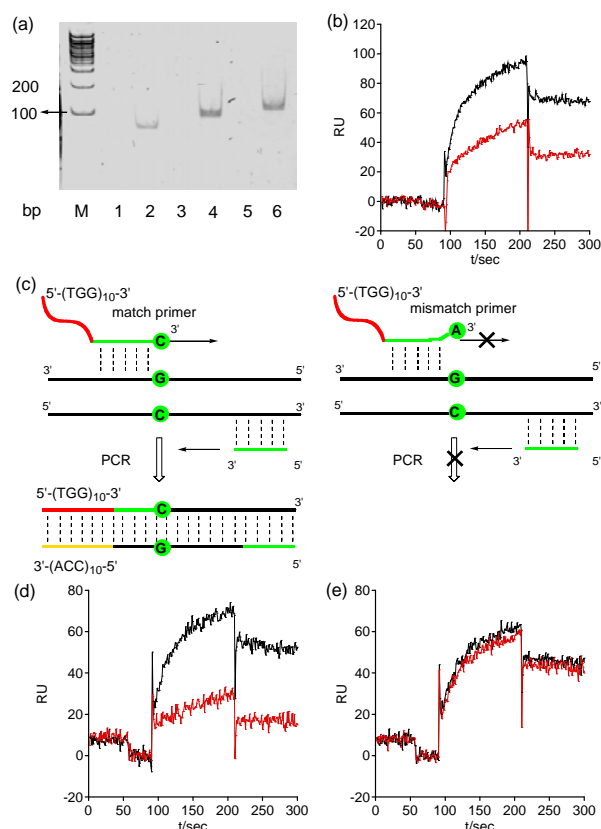


Fig. 4.4.8 (a) The native PAGE analyses of the PCR products. M, 100 bps ladder marker; Lanes 1, 3, and 5, without template; lanes 2, 4, and 6, with pUC18; lanes 1 and 2, non-labeled primer; lanes 3 and 4, d(TGG)₆-tagged primer; lanes 5 and 6, d(TGG)₁₀-tagged primer. (b) SPR analyses of the PCR solution with the d(TGG)₁₀-tagged primer before (black) and after PCR (red). (c) Illustration of AS-PCR with TRS-tagged primer. (d) SPR analyses of the PCR solution with the d(TGG)₁₀-tagged match primer. (e) SPR analyses of the PCR solution with the d(TGG)₁₀-tagged mismatch primer.

4. 4. 1. 3 PCR プライマーに導入したシトシンバルジを利用したリアルタイム SNP 検出

概要:アレル特異的 PCR 法を SNP タイピング原理として、PCR の進行に伴うプライマー 5' エンドに付加したヘアピン構造が二本鎖に変換される際の構造変化を、リアルタイムにモニターする手法を検討した。

実施方法:シトシンバルジ構造に結合することにより特徴的な蛍光を発する分子 DANP を用い、PCR プライマーの 5' 末

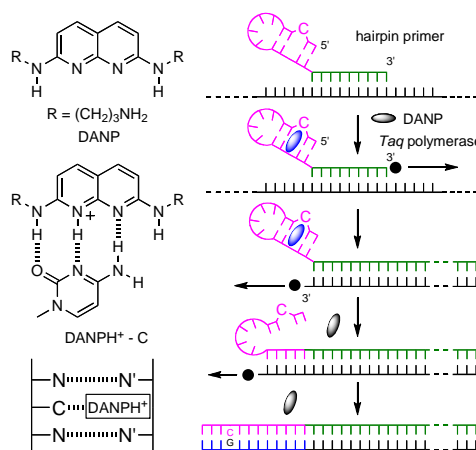


Fig. 4.4.9 An illustration of the concept of DNA labeling by secondary structure-inducible ligand fluorescence.

端側にシトシンバルジ構造をもつヘアピンを導入したヘアピンプライマーによる PCR 増幅を検討した(図 4.4.9)。ヘアピンプライマーは、PCR 過程でヘアピン構造が消失することが期待され、その結果、DANP の結合による特徴的な蛍光の減少が観測されると期待した。

実施内容: まず、5' 側に導入するシトシンバルジヘアピン構造を、1) PCR 過程で確実に開かれ、二本鎖に組み込まれること、2) DANP が強く結合することの二つの視点から探索した。要求される二つの特徴は、ヘアピン構造の安定性に対して相反する要求である。即ち、シトシンバルジを含むヘアピンが安定であればあるほど DANP は結合しやすくなるが、PCR で開かれにくい構造となる。表 4.4.2 に調べた6つのシトシンバルジヘアピン構造を示した。DANP の結合数が増えることにより、蛍光強度の増加を期待したが、図 4.4.10 に示すように、二つのシトシンバルジ構造が接近しすぎる(3塩基対)場合、蛍光強度の増加は認められなかった。これらの結果から、HP-3、HP-4 が高い蛍光強度を示すという点から適当であることが示された。次に、PCR により HP-3 が二本鎖に変換されるかどうかを検討した(図 4.4.11)。HP-3 で標識された PCR プライマーを用いて PCR を行い、生成物を未変成 PAGE および変成 PAGE により解析した。その結果、HP-3 で標識された PCR プライマーでは、ヘアピン標識のないプライマーと同様に PCR 増幅が進行することが判った。また特に、変成 PAGE の結果から、生成物にはヘアピン構造がない、即ち、ヘアピン部分が二本鎖に変換されていることが示された。

Table 4.4.2 Sequences, T_m , and fluorescence intensity of hairpin tags

tag name	tag sequence	T_m ^{a)}	F_0 ^{b)}	F_N
HP-1	5'-CATCCAA_ACAACCA $\overbrace{\text{CTGTGTTGGT}}^{T_4}$ *-GTAGGTTCTGTGTTGGT	71.7	150	150
HP-2	5'-ATCATCTCA_AC $\overbrace{\text{CTGTGTTGGT}}^{T_4}$ *-TAGTA_AGTCTG	39.3	102	51
HP-3	5'-ATCATCTACA_AC $\overbrace{\text{CTGTGTTGGT}}^{T_4}$ *-TAGTA_ATGTCTG	41.8	260	130
HP-4	5'-ATCATCTACTA_AC $\overbrace{\text{CTGTGTTGGT}}^{T_4}$ *-TAGTA_ATGATCTG	42.9	290	145
HP-5	5'-ATCAA_ACATCTCA_AC $\overbrace{\text{CTGTGTTGGT}}^{T_4}$ *-TAGTCTGTGTA_AGTCTG	38.3	147	49
HP-6	5'-TAGTA_ACATCTACA_AC $\overbrace{\text{CTGTGTTGGT}}^{T_4}$ *-ATCATCTGTGTA_ATGTCTG	39.3	356	119

a) T_m of hairpin tags (5 μ M) with the primer sequence 3'-d(CAG TAT CGA CAA AGG AC)- at the 3' end (shown as an asterisk) was measured in 10 mM sodium cacodylate buffer (pH 7.0) with 100 mM sodium chloride. ^{b)} Fluorescence spectra were measured with DANP (50 μ M).

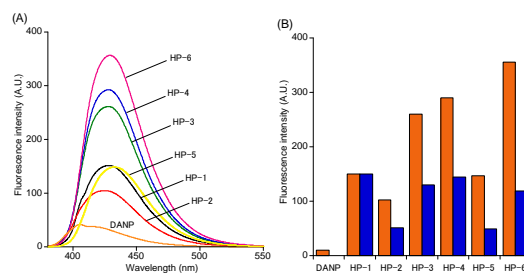


Fig. 4.4.10 (A) Fluorescence spectra of hairpin tag (5 μ M) and DANP (50 μ M), in sodium phosphate buffer (pH 7.0, 10 mM) and sodium chloride (100 mM). Excitation wavelength was at 400 nm. (B) Fluorescence intensity of hairpin tags. Key: observed fluorescence intensity at 430 nm (orange bars); normalized intensity with respect to the number of C-bulge sites (blue bars)

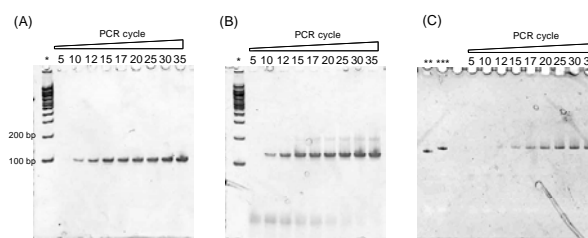


Fig. 4.4.11 Native PAGE analysis of PCR products obtained with M13M3 and (A) M13RV and (B) M13RV labeled with HP-3 tag (first lanes of (A) and (B) were 100 bps ladder marker (*)). (C) Denaturing PAGE analysis of PCR products obtained with M13M3 and M13RV labeled with HP-3 (first and second lanes of (C) were 106 nt (**) and 126 nt (***) markers). (The gel contained 7M urea.)

以上の結果に基づいて、シトシンバルジ構造を含むヘアピン構造で標識したプライマーを用いて、PCR 過程での DANP の蛍光強度変化を観測することにした。実験には pUC18 プラスミドベクターをテンプレートとして用い、ヌクレオチド番号 376 から 481 番までを増幅することにした。片方のプライマー (M13RV) に HP-3 標識を持つものと持たないものを用いた。もう一方のプライマーは共通のプライマー (M13M3) を用いた (図 4.4.12)。各 PCR サイクルのサンプルを PAGE 解析することにより、PCR の進行を確認した。おおよそ 10 サイクルあたりから生成物のバンドが確認されている。同様に各 PCR サイクルのサンプルの DANP の蛍光を測定した。先に述べ忘れたが、DANP はポリメラーゼ反応を阻害しなかった。蛍光測定の結果、430 nm の蛍光強度は PCR サイクルの増加とともに減少し、おおよそ 30 サイクルあたりで蛍光強度の減少が止まった。PAGE 解析の結果とあわせて、この蛍光強度の減少はプライマーに結合した DANP の減少、即ちプライマーの減少と相関していると考えられた。次に、シトシンバルジヘアピンプライマーを用いて、チトクローム P450 サブタイプの SNP タイピングを実施した。用いたテンプレートは P450 2C9*3 で、SNP サイト(1075)が、A もしくは C である。アレル特異的 PCR を行うために各アレルにマッチした FW-1075G と FW-1075T を用い、それぞれ HP-3 で標識した。A-アレルテンプレートを用いた場合 (図 4.4.13)、SYBER Green を用いたリアルタイム PCR 法により、FW-1075T により約 23 サイクルあたりの直線的な蛍光強度増加が認められた。一方、ミスマッ

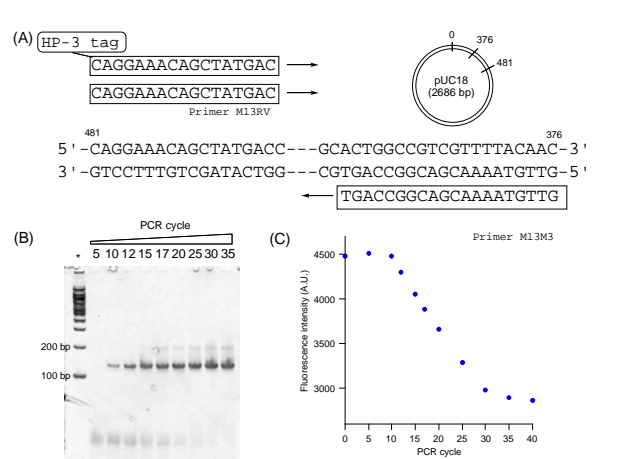


Fig.4.4.12 (A) Alignment of primers on pUC18. (B) Native PAGE analysis of PCR products after indicated PCR cycles. The lane (*) is 100 bps ladder markers. (C) Fluorescence intensity of PCR products.

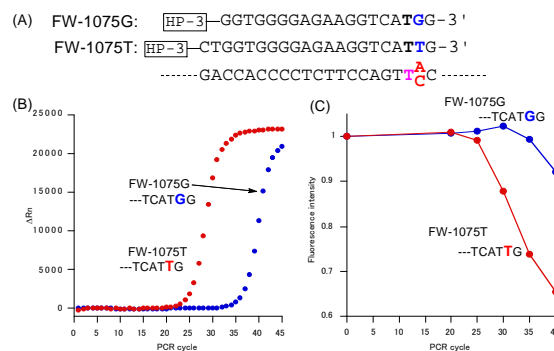


Fig. 4.4.13 (A) Primers used for P450 2C9*3. (B) Real-time PCR amplification plot obtained from FW-1075G (blue), FW-1075T (red) with the A allele template. (C) Relative fluorescence intensity of PCR products.

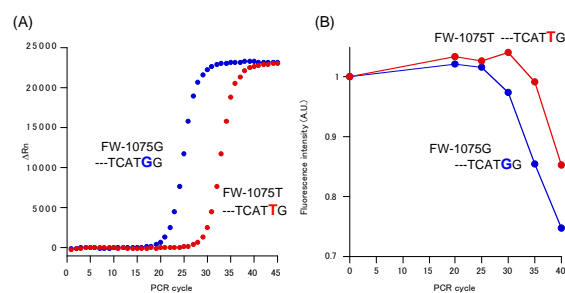


Fig. 4.4.14 (A) Real-time PCR amplification plot obtained from FW-1075G (blue), FW-1075T (red) with the C allele template. (B) Relative fluorescence intensity of PCR products with FW-1075T (red) and FW-1075G (blue) primers.

チの FW-1075G では 35 サイクル以降での増加となった。ヘアピンプライマーによる蛍光強度減少は、FW-1075T を用いた場合、約25サイクル、FW-1075G では 33 サイクルと、SYBER 法とほぼ一緒の結果となった。一方、C アレルテンプレートを用いた場合、二つのプライマーによる違いは、SYBER 法もヘアピンプライマー法も小さくなったものの、FW-1075G での優先的なシグナル変化が観測された。

成果:以上の結果から、シトシンバルジヘアピンを標識に持つ PCR プライマーとシトシンバルジに特異的に結合する蛍光分子 DANP の組み合わせにより、PCR の進行をリアルタイムに観測することが出来た。さらに、アレル特異的 PCR 法と組み合わせることにより、SYBER 法と同じ SNP タイピング結果を得た。本手法の特徴は、PCR サンプルにヘアピンプライマーと色素 DANP を加えて PCR するだけのきわめて簡便な操作にある。ベッドサイドでの POC を実現するためには、複雑な操作の一切ない検査系を確立する必要がある、本手法はその点で他の SNP タイピング法と一線を画す方法といえる。

(2)研究成果の今後期待される効果

4. 4. 2. 1 シトシンバルジに結合する蛍光性プローブの設計と SNP 検出法の開発

蛍光色素 DANP の発見により、シトシンバルジの隣接塩基の影響による蛍光強度を評価する手法であるが、操作法が複雑であり残念ながら社会で使える技術には届かない。しかし、DANP の特徴ある蛍光色素としての役割は、4.2.3 の研究項目で実社会に還元できる技術として利用されている。

4. 4. 2. 2 PCR プライマーに導入したリピート配列を利用した SNP のリアルタイム検出

分担研究項目に最も近い、核酸構造変化をリアルタイムに検出する手法として、PCR の 5' 末端に付加した TGG リピート配列の小分子リガンドへの結合を指標とした PCR のモニタリング技術であるが、検出系が非常に複雑であると同時に、高価な機器を使うために、実社会ですぐに使える技術としての開発は難しい。しかし、本研究項目で検討した PCR プライマーの 5' 末端側に導入した構造の PCR 進行による構造変化をリアルタイムにモニタリングするという概念は、次の 4.2.3 に着実に受け継がれた。

4. 4. 2. 3 PCR プライマーに導入したシトシンバルジを利用したリアルタイム SNP 検出

本手法は、PCR のリアルタイムモニタリングを可能とすると同時に、アレル特異的 PCR 法との組み合わせにより、超簡便な SNP タイピング技術として利用できることを実証した。現在最も良く使われている SNP タイピング法は TaqMan 法であるが、蛍光基と消光基の二つの化学修飾を施した TaqMan プローブが高価であるために、精度、簡便さをそのままにより安価な手法の開発と実用化が大いに期待されている。この点において本ヘアピンプライマー法は、PCR の様々な技術との組み合わせが可能であり、精度向上が期待される。簡便さでは、TaqMan 法と遜色はなく、DANP の製造コストを考え合わせると、きわめて安価な SNP タイピング法を提供できると考えている。

§ 5 成果発表等

「丸山」グループ

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 53件)

1. S. W. Choi, Y. Sato, W. J. Kim, T. Akaike, A. Maruyama, Preparation of polycation comb-type copolymers having guanidyl moieties and its interaction with DNAs, *J. Biomater. Sci., Polym. Eds*, 15, 1099-1110 (2004).
2. Y. Takei, A. Maruyama, S. Kawano, S. Okumura, S. Asayama, M. Nogawa, M. Oshita, M. Hashimoto, Y. Makino, H. Nagai, M. Tsujii, S. Tsuji, K. Nagano, M. Kinoshita, T. Akaike, M. Hori, Targeted gene delivery to sinusoidal endothelial cells: DNA nanoassociate bearing hyaluronan-glycocalyx, *FASEB J.*, 18, 699-701 (2004).
3. T. Ooya, A. Yamashita, M. Kurisawa, Y. Sugaya, A. Maruyama, N. Yui, Effects of polyrotaxane structure on polyanion complexation with DNA, *Science and Technology of Advanced Material*, 5, 363-369 (2004).
4. S. W. Choi, Y. Sato, T. Akaike, A. Maruyama, Evaluation of comb-type copolymers with different cationic groups as artificial nucleic acid chaperones, *Nucleic Acids Sym. Ser.*, No. 48, 273-274 (2004).
5. K. Hirata, Y. Sato, A. Kano, T. Akaike, A. Maruyama, Nucleation-synchronized strand displacement for highly sensitive DNA analysis, *Nucleic Acids Sym. Ser.*, No. 48, 267-268 (2004).
6. T. Katayama, A. Maruyama, S. Obika, T. Imanishi, H. Torigoe, Synergistic stabilization of triplex by combination of comb-type cationic copolymer and 2',4'-BNA, *Nucleic Acids Sym. Ser.*, No. 48, 139-140 (2004).
7. N. Makita, S. Inoue, T. Akaike, A. Maruyama, Improved performance of a DNA nanomachine by cationic copolymers, *Nucleic Acids Sym. Ser.*, No. 48, 173-174, (2004).
8. H. Torigoe, T. Katayama, S. Obika, A. Maruyama, T. Imanishi, Combination of poly(L-lysine)-graft-dextran copolymer and 2'-O, 4'-C-methylene bridged nucleic acid (2', 4'-BNA) modification synergistically stabilizes pyrimidine motif triplex at neutral pH, *Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acids*, 24, 635-638 (2005)
9. K. Yamana, Y. Fukunaga, Y. Ohtani, S. Sato, M. Nakamura, W. J. Kim, T. Akaike, A. Maruyama, DNA mismatch detection using a pyrene-excimer-forming probe, *Chem. Commun.*, 19, 2509-2511 (2005)
10. H. Torigoe, A. Maruyama, Synergistic stabilization of nucleic acid assembly by oligo-N3'->P5' phosphoramidate modification and comb-type cationic copolymer, *J. Am. Chem. Soc.*, 127, 1705-1710 (2005).
11. Y. Sato, Y. Kobayashi, T. Kamiya, H. Watanabe, T. Akaike, K. Yoshikawa, A. Maruyama, The effect of backbone structure on polycation comb-type copolymer/DNA interactions and the molecular assembly, *Biomaterials*, 26, 703-11 (2005).
12. K. Hirata, D. Ishii, A. Kano, A. Yamayoshi, T. Akaike, A. Maruyama, Discrimination of single nucleotide polymorphisms by strand exchange assay using partially double-stranded probes, *Nucleic Acid Sym. Ser.*, No. 49, 223-224 (2005).
13. N. Makita, A. Kano, A. Yamayoshi, T. Akaike, A. Maruyama, Modulation of highly ordered structures of human telomeric sequence by cationic copolymers, *Nucleic Acid Sym. Ser.*, No. 49, 53-54 (2005).
14. S. W. Choi, K. Takada, J. Mochida, A. Yamayoshi, A. Kano, A. Maruyama, The molecular structure effect of cationic comb-type copolymers on nucleic acid chaperone activity, *Nucleic Acid Sym. Ser.*, No. 14, 329-330 (2005).
15. Y. Ohshita, M. Nakamura, A. Maruyama, K. Yamana, New pyrene-excimer probe for detection of single base mismatches in DNA, *Nucleic Acids Symp. Ser.*, No. 49, 137-138 (2005).
16. A. Yamashita, N. Yui, T. Ooya, A. Kano, A. Maruyama, H. Akita, K. Kogure, H. Harashima, Synthesis of a biocleavable polyrotaxane-plasmid DNA (pDNA) polyplex and its use for the rapid non-viral delivery of pDNA to cell nuclei, *Nature Protocols*, 1, 2861-2869 (2006).
17. S. Mochizuki, A. Kano, A. Yamayoshi, A. Maruyama, Hyaluronan conjugation of antigenic protein to modify immunogenic information, *Science and Technology of Advanced Materials*, 7, 685-691 (2006).
18. E. H. Chowdhury, A. Maruyama, A. Kano, M. Nagaoka, M. Kotaka, S. Hirose, M. Kuno, T. Akaike,

- pH-sensing nano-crystals of carbonate apatite: Effects on intracellular delivery and release of DNA for efficient expression into mammalian cells, *Gene*, 376, 87-94 (2006).
19. T. Ooya, H. S. Choi, A. Yamashita, N. Yui, Y. Sugaya, A. Kano, A. Maruyama, H. Akita, K. Kogure, H. Harashima, Supramolecular dissociation of a biocleavable polyrotaxane to its building-blocks for enhanced gene delivery (Revised title: Biocleavable Polyrotaxane – Plasmid DNA Polyplex for Enhanced Gene Delivery), *J. Am. Chem. Soc.*, 128, 3852-3853 (2006).
 20. K. Takada, S. W. Choi, A. Yamayoshi, A. Kano, A. Maruyama, Structural effect of cationic copolymers on nucleic acid-chaperoning activity, *Nucleic Acid Symp. Ser.*, No. 15, 27-28 (2006).
 21. D. Ishii, K. Muraki, A. Kano, A. Yamayoshi, A. Maruyama, *Nucleic Acid Symp. Ser.*, No. 15, 325-326 (2006).
 22. A. Sato, S. W. Choi, M. Hirai, A. Yamayoshi, R. Moriyama, T. Yamano, M. Takagi, A. Kano, A. Shimamoto, A. Maruyama, Polymer-brush stabilized polyplex for a siRNA carrier with long circulatory half-life, *J. Control. Rel.*, 122, 209-216 (2007).
 23. S. W. Choi, N. Makita, S. Inoue, C. Lesoil, A. Yamayoshi, A. Kano, T. Akaike, A. Maruyama, Cationic Comb-type Copolymers for Boosting DNA-Fueled Nanomachines, *Nano Lett.*, 7, 172-178 (2007).
 24. S. W. Choi, A. Yamayoshi, M. Hirai, T. Yamano, M. Takagi, A. Sato, A. Kano, A. Shimamoto, A. Maruyama, Cationic comb-type copolymers having high density of PEG graft chains for gene carriers, *Macromol. Symp.*, 249-250, 312-316 (2007).
 25. S. W. Choi, N. Makita, A. Kano, A. Yamayoshi, T. Akaike, A. Maruyama, DNA nanomachine switching improved by cationic comb-type copolymer. *Macromol. Symp.*, 249-250, 317-321 (2007).
 26. Y. Sato, R. Moriyama, S.W. Choi, A. Kano, A. Maruyama. Spectroscopic investigation of cationic comb-type copolymers/DNA interaction: Interpolyelectrolyte complex enhancement synchronized with DNA hybridization, *Langmuir*, 23, 65-69 (2007).
 27. N. Makita, S. W. Choi, A. Kano, A. Yamayoshi, T. Akaike, A. Maruyama, Effect of cationic comb-type copolymer on quadruplex folding of human telomeric DNA, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 26, 1115–1119 (2007).
 28. R. Moriyama, S. W. Choi, N. Shimada, A. Kano, A. Maruyama, Abundant graft chains do not interfere with coil-helix transition of polylysine but with alfa-beta transition, resulting in stabilization of helical structure at high temperature, *React. Funct. Polym.*, 67, 1381-1387 (2007).
 29. M. Watanabe, J. Yoshizumi, S. Kumamoto, M. Nakamura, A. Maruyama, K. Yamana, Electrochemical biosensors based on DNA strand exchange, *Nucleic Acids Symp. Ser.*, No. 51, 339-340 (2007)
 30. N. Shimada, K. Muraki, T. Anai, A. Kano, A. Maruyama, Novel analysis for single nucleotide polymorphism using cationic comb-type copolymer, *Nucleic Acid Symp. Ser.*, No. 51, 339-340 (2007).
 31. L. Wu, N. Shimada, A. Kano, A. Maruyama, Effect of polylysine-g-dextran copolymers on DNA hybridization, *Nucleic Acid Symp. Ser.*, No. 51, 73-74 (2007)
 32. Y. Takei, A. Maruyama, K. Ikejima, N. Enomoto, S. Yamashita, J. J. Lemasters, N. Sato, Genetic manipulation of sinusoidal endothelial cells, *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 22, suppl. 1, s68-72 (2007).
 33. C. Perrino, S. Lee, S. W. Choi, A. Maruyama, N. D. Spencer, A Biomimetic Alternative to PEG as an Antifouling Coating: Resistance to Non-Specific Protein Adsorption of Poly(L-lysine)-graft-Dextran, *Langmuir*, 24, 8850-8856 (2008). Aug.
 34. A. Maruyama, L. Wu, N. Shimada, A. Kano, Kinetic effect of cationic comb-type copolymers on DNA hybridization, *Adv. Mater. Res.*, 47-50, 1355-1358 (2008).
 35. A. Kano, T. Yamano, S. W. Choi, A. Maruyama, Polymer brush-stabilized polyplex for a siRNA carrier with long blood circulatory half-life, *Adv. Mater. Res.*, 47-50, 762-764 (2008)
 36. A. Yamashita, D. Kanda, R. Katoono, N. Yui, T. Ooya, A. Maruyama, H. Akita, K. Kogure, H. Harashima, Supramolecular control of polyplex dissociation and cell transfection: Efficacy of amino groups and threading cyclodextrins in biocleavable polyrotaxanes, *J. Control Release*, 131, 137-144, 2008. Jul
 37. I. Lee, S. S. Ajay, H. Chen, A. Maruyama, N. Wang, M. G. McInnis, B. D. Athey, Discriminating miRNA expressions with single-base differences using microarray Probe Design Guru (ProDeG), *Nucleic Acids Res.*, 36. e27 (2008).

38. L. Wu, N. Shimada, A. Kano, A. Maruyama, Poly(L-lysine)-g-dextran copolymer accelerates DNA hybridization by two orders, *Soft Matter*, 4, 744-747 (2008).
39. S. W. Choi, A. Kano, A. Maruyama, Activation of DNA Strand Exchange by Cationic Comb-Type Copolymers: Effect of Cationic Moieties of the Copolymers, *Nucleic Acids Res.*, 36, 342-351 (2008). Jan.
40. T. N. Grossmann, S. Sasaki, M. Ritzefeld, S. W. Choi, A. Maruyama, O. Seitz, Inducing the replacement of PNA in DNA-PNA duplexes by DNA, *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 34-39 (2008).
41. K. Yamana, Y. Ohshita, Y. Fukunaga, M. Nakamura, A. Maruyama, Bis-Pyrene-Labeled Molecular Beacon: A Monomer-Excimer Switching Probe for the Detection of DNA Base Alteration, *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 78-83(2008).
42. M. Hirano, N. Shimada, A. Kano, S. Kidoaki, A. Maruyama, Analysis of cationic comb-type copolymers/DNA interaction by the single molecular observation and intermolecular force measurement. *Nucleic Acids Symp. Ser. No. 52*, 715-6 (2008).
43. Ishii T, Muraki K, Shimada N, Kano A, Nishida N, Tokunaga K, Maruyama A. Application of partially double-stranded DNA probes to high-throughput SNPs genotyping. *Nucleic Acids Symp Ser. 52*, 237-8 (2008)
44. Moriyama R, Shimada N, Kano A, Maruyama A. Poly (L-lysine)-graft-dextran acts as a nucleic acid chaperone for tetramolecular quadruplex formation. *Nucleic Acids Symp Ser. 52*, 227-8 (2008).
45. Shimada N, Kano A, Maruyama A. Effect of cationic comb-type copolymer on the B-Z transition of poly(dG-dC).poly(dG-dC). *Nucleic Acids Symp Ser. 52*, 113-4 (2008).
46. T. Mori, T. Hirano, A. Maruyama, Y. Katayama, T. Niidome, Y. Bando, K. Ute, S. Takaku, Y. Maeda, Syndiotactic Poly(*N*-n-propylacrylamide) Shows Highly Cooperative Phase Transition, *Langmuir*, 25, 48-50 (2009).
47. H. Torigoe, A. Maruyama, S. Obika, T. Imanishi, T. Katayama, Synergistic stabilization of nucleic acid assembly by 2'-O,4'-C-methylene bridged nucleic acid modification and additions of comb-type cationic copolymers, *Biochemistry* 48, 3545-3553 (2009)
48. S. Mochizuki, A. Kano, N. Shimada, A. Maruyama, Liver endothelial cell uptake of enzymatically digested hyaluronan in vivo and in vitro, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, 20, 83-97 (2009).
49. N. Shimada, A. Kano, A. Maruyama, Design of cationic graft copolymers as a potential inducer of B-Z transition, *Nucleic Acids Symp. Ser.*, No. 53, 251-252 (2009)
50. R. Moriyama, N. Shimada, A. Kano, A. Maruyama, Cationic comb-type copolymer as a nucleic acid chaperone for DNA quadruplex, *Nucleic Acids Symp. Ser. No.53*, 61-62 (2009)
51. N. Shimada, A. Kano, A. Maruyama, B-Z DNA transition triggered by a cationic comb-type copolymer, *Adv. Funct. Mater.*, in press.
52. N. Morimoto, J. Tamada, S. Sawada, N. Shimada, A. Kano, A. Maruyama, K. Akiyoshi, Interaction of self-assembled cationic nanogels with oligo-DNA and function as artificial nucleic acid chaperone, *Chem. Lett.*, in press.
53. A. Kano, K. Moriyama, T. Yamano, I. Nakamura, N. Shimada, A. Maruyama, Grafting of poly(ethylene glycol) to poly-lysine augments its lifetime in blood circulation and accumulation in tumors without loss of the ability to associate with siRNA, *J. Control. Release.*, in press.

「秋吉」グループ

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 20件)

1. T. Hirakura, Y. Nomura, Y. Aoyama and K. Akiyoshi, Photo-responsive Nanogels Formed by the Self-Assembly of Spiropyran-bearing Pullulan that Act as Artificial Molecular Chaperones, *Biomacromolecules*, 5, 1804 (2004)
2. Y. Iwasaki, K. Akiyoshi, Design of Biodegradable Amphiphilic Polymers: Well-Defined Amphiphilic Polyphosphates with Hydrophilic Graft Chains via ATRP, *Macromolecules*, 37, 7637 (2004).
3. I. Lee, K. Akiyoshi, Single Molecular Mechanics of a Cholesterol-Bearing Pullulan Nanogel at the Hydrophobic Interfaces, *Biomaterials*, 25, 2911-2918(2004)
4. N. Morimoto, T. Endo, M. Ohtomi, Y. Iwasaki and K. Akiyoshi, Hybrid Nanogels with Physical and Chemical Cross-linking Structures, *Macromol. Biosci.*, 5, 710-6, (2005)
5. N. Morimoto, T. Endo, Y. Iwasaki and K. Akiyoshi, Design of Hybrid Hydrogels with Self-Assembled Nanogels as Cross-Linkers: Interaction with Proteins and Chaperone-Like Activity, *Biomacromolecules*, 6, 1829-34 (2005)

6. Y. Nomura, Y. Sasaki, M. Takagi, T. Narita, Y. Aoyama and K. Akiyoshi, Thermoresponsive controlled association of protein with a dynamic nanogel of hydrophobized polysaccharide and cyclodextrin: Heat shock protein-like activity of artificial molecular chaperone, *Biomacromolecules*, **6**, 447-52 (2005)
7. K. Ikeda, T. Okada, S. Sawada, K. Akiyoshi, K. Matsuzaki, Inhibition of the formation of amyloid beta-protein fibrils using biocompatible nanogels as artificial chaperones, *FEBS Lett.* **580**, 6587(2006).
8. S. Sawada, Y. Nomura, Y. Aoyama, K. Akiyoshi, Heat shock protein-like activity of nanogel artificial chaperone for citrate synthase, *J. Bioact. Compat. Polym.*, **21**, 487-501 (2006).
9. N. Morimoto, N. Ogino, T. Narita, S. Kitamura, K. Akiyoshi, Enzyme-Responsive Molecular Assembly System with Amylose-Primer Surfactants, *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 458-459(2007).
10. N. Morimoto, F. M. Winnik, K. Akiyoshi, Botryoidal assembly of cholesteryl-pullulan/poly(N-isopropylacrylamide) nanogels, *Langmuir*, **23**, 217-223 (2007).
11. E. Akiyama, N. Morimoto, P. Kujawa, F. M. Winnik, K. Akiyoshi, Self-assembled Nanogels of Cholesteryl-modified Polysaccharides: Effect of the Polysaccharide Structure on Their Association Characteristics in the Dilute and Semi-dilute Regimes. *Biomacromolecules*, **8**, 2366-2373 (2007).
12. N. Morimoto, X. P. Qiu, F. M. Winnik, K. Akiyoshi, Dual Stimuli-Responsive Nanogels by Self-Assembly of Polysaccharides Lightly Grafted with Thiol-Terminated Poly(N-isopropylacrylamide) Chains. *Macromolecules*, **41**, 5985-5987 (2008).
13. N. Morimoto, T. Ohki, K. Kurita, K. Akiyoshi, Thermo-responsive hydrogels with nanodomains: rapid shrinking of nanogel-crosslinking hydrogel of poly (N-isopropyl acrylamide), *Macromol. Rapid Commun.* **29**, 672-676 (2008).
14. H. Ayame, N. Morimoto, K. Akiyoshi, Self-assembled cationic nanogels for intracellular protein delivery system, *Bioconjugate Chem.* **19**, 882-890 (2008).
15. W. Asayama, S. Sawada, H. Taguchi, K. Akiyoshi, Comparison of Refolding Activities between Nanogel Artificial Chaperone and GroEL Systems, *Int. J. Biol. Macromol.* **42**, 241-246 (2008).
16. S. Toita, U. Hasegawa, H. Koga, I. Sekiya, T. Muneta, K. Akiyoshi, Protein-conjugated QD effectively delivered into living cells by a cationic nanogel, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **8**, 1-7 (2008).
17. N. Morimoto, R. Obeid, S. Yamane, F. M. Winnik, and K. Akiyoshi, Composite Nanomaterials by Self-assembly and Controlled Crystallization of Poly(2-isopropyl-2-oxazoline)-Grafted Polysaccharide, *Soft Matter*, **5**(8), 1597-1600 (2009).
18. Y. Ozawa, S. Sawada, N. Morimoto, and K. Akiyoshi. Self-assembled nanogel of hydrophobized dendritic dextrin for protein delivery. *Macromol. Biosci.*, **9**, 694-701(2009).
19. N. Morimoto, N. Ogino, T. Narita, and K. Akiyoshi. Enzyme-responsive artificial chaperone system with amphiphilic amylose primer. *J. Biotechnology*, **140**:246-249 (2009).
20. N. Morimoto, J. Tamada, S. Sawada, N. Shimada, A. Kano, A. Maruyama, K. Akiyoshi, Interaction of Self-assembled Cationic Nanogels with Oligo-DNA and Function as Artificial Nucleic Acid Chaperone, *Chem. Lett.*, **38**, 496-497(2009)

「山名」グループ

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 30件)

1. DNA Mismatch Detection Using a Pyrene-Excimer-Forming Probe, K. Yamana, Y. Fukunaga, Y. Ohtani, S. Sato, M. Nakamura, W. J. Kim, T. Akaike, A. Maruyama, *Chem. Commun.*, 2509-2511 (2005).
2. Alignment of Pyrene Aromatics along RNA Double Helix, Y. Ohtoshi, M. Nakamura, K. Yamana, *Nucleic Acids Res. Symposium Series*, **49**, 141-142 (2005).
3. Electrochemical Detection of Single Base Mismatches in DNA Using Redox-Modified Oligonucleotide, N. Orino, S. Kumamoto, M. Nakamura, K. Yamana, *Nucleic Acids Res. Symposium Series*, **49**, 139-140 (2005).
4. New Pyrene-Excimer Probe for Detection of Single Base Mismatches in DNA, Y. Ohshita, M. Nakamura, A. Maruyama, K. Yamana, *Nucleic Acids Res. Symposium Series*, **49**, 137-138 (2005).
5. Helical Pyrene-Array Along the Outside of Duplex RNA, M. Nakamura, Y. Ohtoshi, K.

Yamana, *Chem. Commun.*, 5163–5165 (2005).

6. Pyrene is Highly Emissive When Attached to the RNA Duplex But Not to the DNA Duplex: the Structural Basis of This Difference, M. Nakamura, Y. Fukunaga, K. Sasa, Y. Ohtoshi, K. Kanaori, H. Hayashi, H. Nakano, K. Yamana, *Nucleic Acids Res.*, **33**, 5887–5895 (2005).
7. Pyrene-Modified DNA Aptamer as a Fluorescent Biosensor with High Affinity and Specificity for ATP Sensing, N. Kamekawa, Y. Simomura, M. Nakamura, K. Yamana, *Chem. Lett.*, **35**, 660–661 (2006).
8. Conformational Changes of DNA by Photoirradiation of DNA-Bis(Zn^{II}-Cyclen)-Azobenzene Complex, K. Maie, M. Nakamura, K. Yamana, *Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acids*, **25**, 453–462 (2006).
9. Electrochemical Detection of DNA Single Base Mismatch by the Use of Strand Exchange Reaction, S. Kumamoto, A. Maruyama, M. Nakamura, K. Yamana, *Nucleic Acids Research Symposium Series*, **50**, 93–94 (2006).
10. Photoelectrochemical Properties of Pyrene Modified DNA Immobilized on Gold Electrode, N. Saito, K. Takayama, M. Nakamura, K. Yamana, *Nucleic Acids Research Symposium Series*, **50**, 311–312 (2006).
11. Structure and Excimer Fluorescence of Helical-Pyrene-Arrays Assembled on Duplex RNA, M. Nakamura, Y. Simomura, Y. Ohtoshi, K. Yamana, *Nucleic Acids Research Symposium Series*, **51**, 275–276 (2007).
12. Electrochemical Properties of Anthraquinone-Capped DNA-Hairpins Immobilized on Gold Surface, M. Nakamura, M. Ueda, S. Watanabe, S. Kumamoto, K. Yamana, *Nucleic Acids Research Symposium Series*, **51**, 317–318 (2007).
13. Photocurrent Responses from Pyrene-Modified RNA Duplexes on Gold Surface, K. Maie, M. Nakamura, K. Yamana, *Nucleic Acids Research Symposium Series*, **51**, 319–320 (2007).
14. Electrochemical Biosensors Based on DNA Strand Exchange, M. Watanabe, J. Yoshizumi, S. Kumamoto, M. Nakamura, A. Maruyama, K. Yamana, *Nucleic Acids Research Symposium Series*, **51**, 321–322 (2007).
15. Syntheses of Anthraquinone Capped Hairpin DNAs and Electrochemical Redox Responses from Their Self-Assembled Monolayers on Gold Electrode, M. Nakamura, M. Ueda, S. Watanabe, S. Kumamoto, K. Yamana, *Tetrahedron Lett.*, **42**, 6159–6162 (2007).
16. Pyrene Aromatic Arrays on RNA Duplexes as Helical Templates, M. Nakamura, Y. Shimomura, Y. Ohtoshi, K. Sasa, H. Hayashi, H. Nakano, K. Yamana, *Org. Biomol. Chem.*, **5**, 1945–1951 (2007).
17. Highly Emissive Pyrene-Excimer Formation in Self-Assembled Monolayer on Gold Surface and Photocurrent Generation from The Excimer, M. Nakamura, N. Saito, K. Takayama, S. Kumamoto, K. Yamana, *Chem. Lett.*, **36**, 602–603 (2007).
18. Target-Induced Strand Release (TISR) from Aptamer–DNA Duplex: A General Strategy for Electronic Detection of Biomolecules Ranging from a Small Molecule to a Large Protein, J. Yoshizumi, S. Kumamoto, M. Nakamura, K. Yamana, *Analyst*, **132**, 323–325 (2008).
19. 2'-Anthraquinone Conjugated Oligonucleotide as an Electrochemical Probe for DNA Mismatch, S. Kumamoto, M. Watanabe, N. Kawakami, M. Nakamura, K. Yamana,

- Bioconjugate Chem.*, **19**, 65-69 (2008).
20. Bis-Pyrene-Labeled Molecular Beacon: A Monomer-Excimer Switching Probe for the Detection of DNA Base Alteration, Y. Ohshita, Y. Fukunaga, M. Nakamura, K. Yamana, *Bioorganic & Medicinal Chem.*, **16**, 78-83 (2008).
 21. Zipper-Like Assembly of Multi-Pyrenes Covalently Attached to RNA Sequences via Duplex Formation, M. Nakamura, Y. Murakami, K. Yamana, *Nucleic Acids Research Symposium Series*, **52**, 707-708 (2008).
 22. Efficient Quenching of the Excimer Fluorescence Derived From Pyrene Arrays on RNA Duplexes, K. Maie, M. Nakamura, K. Yamana, *Nucleic Acids Research Symposium Series*, **52**, 705-706 (2008).
 23. Pyrene-Zipper Array Assembled via RNA Duplex Formation, M. Nakamura, Y. Murakami, K. Sasa, H. Hayashi, K. Yamana, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 6904-6905 (2008).
 24. Electronic Detection of DNA Mutation Based on Strand Exchange Reaction, M. Watanabe, S. Kumamoto, M. Nakamura, K. Yamana, *Bioorganic & Medicinal Chem.*, **17**, 1494-1497 (2009).
 25. Fluorescence-Quenching Properties of Multiple Pyrene-Modified RNAs, K. Maie, M. Nakamura, T. Takada, K. Yamana, *Bioorganic & Medicinal Chem.*, **17**, 4996-5000 (2009).
 26. Duplex Formation of Multiple Pyrene-Modified RNAs, M. Fukuda, M. Nakamura, T. Takada, K. Yamana, *Nucleic Acids Res. Symposium Series*, in press.
 27. Synthesis and Hybridization of Oligonucleotides Attached to a Redox Reporter Via Ethenyl Linker at 5-Position of Pyrimidine Base, Y. Hasegawa, M. Nakamura, T. Takada, K. Yamana, *Nucleic Acids Res. Symposium Series*, in press.
 28. DNA Ligation Using Photoremovable Protecting Groups, Y. Kawano, T. Takada, M. Nakamura, K. Yamana, *Nucleic Acids Res. Symposium Series*, in press.
 29. Synthesis and Characterization of Deoxyuridine Triphosphates Labeled with Pyrene, Y. Tanimizu, T. Takada, M. Nakamura, K. Yamana, *Nucleic Acids Res. Symposium Series*, in press.
 30. RNA-Mediated Electron Transfer: Double Exponential Distance Dependence, K. Maie, K. Miyagi, T. Takada, M. Nakamura, K. Yamana, *J. Am. Chem. Soc.*, in press.

「中谷」グループ

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 35件)

1. S. Yokojima, A. Okada, W. Yano, N. Yoshiki, N. Kurita, S. Tanaka, K. Nakatani, Solvent Effects on the Suppression of Oxidative Decomposition of Guanine by Phenyl Group Attachment in DNA, *J. Phys. Chem. B*, **108**, 7500-7505 (2008).
2. K. Nakatani, A. Kobori, H. Kumasawa, Y. Goto, S. Saito, The binding of Guanine-Guanine Mismatched DNA to Naphthyridine Dimer Immobilized Sensor Surfaces: Kinetic Aspects, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 3117-3123 (2004).
3. A. Kobori, T. Murase, H. Suda, I. Saito, K. Nakatani, 2-Ureidoquinoline: a useful molecular element for stabilizing single cytosine and thymine bulges, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 3431-3433 (2004).
4. T. Peng, T. Murase, Y. Goto, A. Kobori and K. Nakatani, A new ligand binding to G-G mismatch having improved thermal and alkaline stability, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **15**, 259-262 (2005).
5. H. Suda, A. Kobori, J. Zhang, G. Hayashi, K. Nakatani,

- N,N'-Bis(3-aminopropyl)-2,7-diamino-1,8-naphthyridine stabilized a single pyrimidine bulge in duplex DNA, *Bioorg. Med. Chem.*, 13, 4507-4512 (2005).
6. K. Nakatani, S. Hagihara, Y. Goto, A. Kobori, M. Hagihara, G. Hayashi, M. Kyo, M. Nomura, M. Mishima, C. Kojima, Small-molecule ligand induces nucleotide flipping in (CAG)_n trinucleotide repeats, *Nature Chemical Biology*, 1, 39-43 (2005).
 7. T. Peng, K. Nakatani, Binding of Naphthyridine Carbamate Dimer to the (CGG)_n Repeat Resulted in the Disruption of the G-C Base Pairing, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 44, 7280-7283 (2005).
 8. K. Nakatani, S. Horie, Y. Goto, A. Kobori, S. Hagihara, Evaluation of mismatch-binding ligands as inhibitors for Rev-RRE interaction, *Bioorg. Med. Chem.* 14, 5384-5388 (2006).
 9. T. Peng, C. Dohno, K. Nakatani, Mismatch binding ligands function as molecular glue of DNA, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, 5623-5626 (2006).
 10. T. Peng, C. Dohno, K. Nakatani, Bidirectional Control of Gold Nanoparticle Assembly by Turning On and Off DNA Hybridization with Thermally Degradable Molecular Glue, *ChemBioChem*, 8, 483-485 (2007).
 11. F. Takei, H. Suda, M. Hagihara, J. Zhang, A. Kobori, K. Nakatani, Allele Specific C-Bulge Probes with One Unique Fluorescent Molecule Discriminate the Single Nucleotide Polymorphism in DNA, *Chem. Eur. J.*, 8, 483-485 (2007).
 12. Li, X.; Song, H.; Nakatani, K.; Kraatz, H.-B., "Exploiting Small Molecule Binding to DNA for the Detection of Single-Nucleotide Mismatches and Their Base Environment," *Anal. Chem.*, 79, 2552-2555 (2007).
 13. Goto, Y.; Hagihara, S.; Hagihara, M.; Nakatani, K., "Small molecule binding to non-Quadruplex form of the Human Telomeric Sequence," *ChemBioChem*, 8, 723-726 (2007).
 14. H. Ohishi, Y. Tozuka, D.-Y. Zhou, T. Ishida, K. Nakatani, The rare crystallographic structure of d(CGCGCG)₂: The natural spermidine molecule bound to the minor groove of left-handed Z-DNA d(CGCGCG)₂ at 10 C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 358, 24-28 (2007).
 15. Y. Goto, H. Suda, A. Kobori, K. Nakatani, Analysis of mismatched DNA by mismatch binding ligand (MBL)-Sepharose affinity chromatography, *Anal. Bioanal. Chem.* 388, 1165-1173 (2007).
 16. J. Zhang, F. Takei, K. Nakatani, Emission of Characteristic Fluorescence from the Ligand-Cytosine Complex in U_A/ACU Bulged RNA Duplex, *Bioorg. Med. Chem.* 15, 4813-4817 (2007).
 17. G. Hayashi, M. Hagihara, C. Dohno, K. Nakatani, Photoregulation of a Peptide-RNA Interaction on a Gold Surface, *J. Am. Chem. Soc.* 129, 8678-8679 (2007).
 18. C. Dohno, S. Uno, K. Nakatani, Photoswitchable Molecular Glue for DNA, *J. Am. Chem. Soc.* 129, 11898-11899 (2007).
 19. M. Hagihara, Y. Goto, K. Nakatani, Ligand-Stabilized Hairpin Structures Interfered with Elongation of Human Telomere, *ChemBioChem*, 9, 510-513 (2008).
 20. H. Ohishi, M. Odoko, K. Grzeskowiak, Y. Hiyama, K. Tsukamoto, N. Maezaki, T. Ishida, T. Tanaka, N. Okabe, K. Fukuyama, D.-Y. Zhou, K. Nakatani, Polyamines stabilize left-handed Z-DNA: Using X-ray crystallographic analysis, we have found a new type of polyamine (PA) that stabilizes left-handed Z-DNA, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 366, 275-280 (2008).
 21. H. Ohishi, M. Odoko, D.-Y. Zhou, Y. Tozuka, N. Okabe, K. Nakatani, T. Ishida, K. Grzeskowiak, The crystallographic study of left-handed Z-DNA d(CGCGCG)₂ and thermine complexes crystallized at various temperatures and at various concentration of cations, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 368, 382-387 (2008).
 22. K. Nakatani, H. He, S. Uno, T. Yamamoto, C. Dohno, Synthesis of Dimeric 2-Amino-1,8-naphthyridine and Related DNA-Binding Molecules, *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry* 2008, Unit 8.6, 1-21.
 23. G. Hayashi, M. Hagihara, K. Nakatani, Genotyping by allele-specific L-DNA-tagged PCR, *J. Biotechnol.*, 135, 157-160 (2008).
 24. T. Peng, H. He, M. Hagihara, K. Nakatani, DNA Labeling by Ligand Inducible Secondary Structure, *ChemBioChem*, 9, 1893-1897 (2008).
 25. L.-P. Bai, M. Hagihara, Z.-H. Jiang, K. Nakatani, Ligand Binding to Tandem G-quadruplex from Human Telomeric DNA, *ChemBioChem*, 9, 2583-2587 (2008).

26. L.-P. Bai, Z. Cai, Z.-Z. Zhao, K. Nakatani, Z.-H. Jiang, Site-specific binding of chelerythrine and sanguinarine to single pyrimidine bulges in hairpin DNA, *Anal. Bioanal. Chem.*, 392, 709-716 (2008).
27. A. Kobori, K. Nakatani, Dimer of 2,7-diamino-1,8-naphthyridine for the detection of mismatches formed by pyrimidine nucleotide bases, *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 10338-10344 (2008).
28. G. Hayashi, M. Hagihara, K. Nakatani, RNA Aptamers That Reversibly Bind Photoresponsive Azobenzene-Containing Peptides, *Chem. Eur. J.*, 15, 424-432 (2009).
29. C. Dohno, S. Uno, S. Sakai, M. Oku, K. Nakatani, The effect of linker length on binding affinity of a photoswitchable molecular glue for DNA, *Bioorg. Med. Chem.* 17, 2536-2543 (2009).
30. Y. Oka, T. Peng, F. Takei, K. Nakatani, Synthesis and Reaction of DNA Oligomers Containing Modified Cytosines Related to Bisulfite Sequencing, *Org. Lett.*, 11, 1377-1379 (2009).
31. C. Dohno, T. Yamamoto, K. Nakatani, Photoswitchable Unsymmetrical Ligand for DNA Hetero-Mismatches, *Eur. J. Org. Chem.*, 4051-4058 (2009).
32. H. He, M. Hagihara, K. Nakatani, Small molecule affecting the replication of trinucleotide repeat d(GAA)_n, *Chem. Eur. J.* in press.
33. S. Uno, C. Dohno, H. Bittermann, V. L. Malinovskii, R. Häner, K. Nakatani, A Light-Driven, Supramolecular Optical Switch, *Angew. Chem. Int. Ed.* in press.
34. K. Nakatani, Recognition of Mismatched Base Pairs in DNA, *Bull. Chem. Soc. Chem.* in press.
35. F. Takei, M. Igarashi, M. Hagihara, Y. Oka, Y. Soya, K. Nakatani, Secondary Structure-Inducible Ligand Fluorescence Coupled with PCR, *Angew. Chem. Int. Ed.* in press.

(2)その他の著作物（総説、書籍など）

「丸山」グループ

1. 丸山厚、核酸工学材料、バイオエンジニアリングマテリアル、石原一彦編、フロンティア出版、pp 216-225 (2004)
2. 丸山厚、遺伝子診断、図解 バイオ活用技術のすべて、東京工業大学生命理工学部編、工業調査会、pp. 106-110 (2004)
3. 丸山厚、糖と DDS、ドラッグデリバリーシステム、19-1, 32-37 (2004)
4. 丸山厚、糖鎖工学、ドラッグデリバリーシステム、19-1, 64 (2004)
5. 丸山厚、赤池敏宏、人工核酸シャペロン、化学フロンティア 13 (ナノバイオエンジニアリング)、杉本直己編、化学同人、pp 73-83 (2004).
6. 牧田尚樹、丸山厚、DNA で創るナノマシン-遺伝情報からナノテクノロジーへ-、現代化学、No. 8, 55-61 (2005)
7. 平田和也、丸山厚、高分子電解質複合体を用いた精密遺伝子診断、高分子、54, 546-549 (2005)
8. 丸山厚、核酸はインテリジェントバイオマテリアルになり得るか、バイオマテリアル、23, 309 (2005) .
9. 丸山厚、カチオン性くし型共重合体の核酸シャペロン機能、図解 高分子新素材のすべて、工業調査会、第2章(pp130-133)、2005年5月18日発行.
10. A. Maruyama, Nucleic acid chaperone-inspired materials, Biomaterials-based delivery and biocompatibility of proteins and nucleic acids, Ed. R. I. Mahato, CRC Press, pp. 601-614 (2005).
11. 丸山厚、山吉麻子、核酸ナノ構造を制御するカチオン性共重合体、未来材料、6, 10-15 (2006)
12. 狩野有宏、丸山厚、DNA チップ・細胞チップ、ファイバー スーパーバイオミメティックス、エヌ・ティー・エス、pp 916-920 (2006)
13. 丸山厚、平田和也、高分子電解質複合体を利用した精密遺伝子解析、モレキュラーインフォマティクスを拓く分子機能材料、日刊工業新聞社、5章 pp133-142 (2006)
14. 山吉麻子、丸山厚、カチオン性くし型共重合体による核酸のナノ加工とその応用、高分

- 子加工、55、6-10 (2006)
15. 丸山厚、バイオマテリアルサイエンスと分子生物学との融合による新しい核酸工学、バイオマテリアル、24、92-99 (2006)
 16. 丸山厚、新谷彩、人工核酸シャペロン：核酸のハイブリッド形成を促すバイオマテリアル、遺伝子医学 MOOK、No.5 (2006)
 17. 嶋田直彦、丸山厚、核酸フォールディングを制御する高分子材料、ケミカルエンジニアリング、52、797-801 (2007).
 18. 丸山厚、カチオン性共重合体による核酸フォールディングの制御とナノバイオテクノロジーへの応用、JASCO Report、49、18-22 (2007).
 19. 丸山厚、バイオマテリアルからマテリアルバイオロジーへ、日本化学会、機能関連部会ニュースレター、21、10-11 (2007).
 20. 丸山厚、生体材料と核酸技術、バイオマテリアル-生体材料-、433-440 (2008)
 21. 丸山厚、くし型高分子ナノ材料、次世代医療のための高分子材料工学、秋吉一成、岸田晶夫編、シーエムシー出版、pp. 11-23 (2008)
 22. 丸山厚、マテリアルバイオロジーを目指して、バイオマテリアル-生体材料-、97-98 (2008)
 23. 丸山厚、人工核酸シャペロンの設計とナノバイオテクノロジーへの展開、核酸医薬の最前線、和田猛監修、シーエムシー出版、pp. 26-37 (2009)

監訳

1. 丸山厚、ナノバイオテクノロジー、エヌ・ティー・エス、(2008)

「秋吉」グループ

1. 秋吉一成、野村雄太. ナノゲルによる人工分子シャペロンの開発. ケミカル・エンジニアリング, 4, 54-59, 2004.
2. 秋吉一成. バイオロジクスを支える高分子ナノ材料ー人工分子シャペロンー. バイオロジクス, (社)高分子学会編, 95-123, 2004.
3. 秋吉一成. 生体システムから学ぶバイオマテリアル創製, 未来を作るナノテクノロジー. 化学, 60,29-31,2005.
4. 長谷川 麗, 秋吉一成. ナノゲルキャリア,ソフトナノテクノロジー・バイオマテリアル革命. 田中順三・下村政嗣監修, シーエムシー出版, 236-244,2005.
5. 森本展行, 秋吉一成. ナノゲル架橋ゲルの設計と人工分子シャペロン機能. 高分子加工, 54,38-43, 2005.
6. 秋吉一成. ナノゲル工学とシャペロン機能工学, 特集ナノテクノロジーと医療. 日本臨床, 64,215-220, 2006.
7. 秋吉一成. シャペロン機能工学によるタンパク質の再生・集積制御. 現代化学, 428, 30-35, 2006.
8. 森本展行, 秋吉一成. ナノゲル,ナノバイオ大辞典.テクノシステム, 373-375, 2007.
9. 小澤弥生, 秋吉一成. グラフト型両親媒性高分子, 絵で見てわかるナノ DDS-マテリアルから見た治療・診断・予後・予防, ヘルスケア技術の最先端ー. 遺伝子医学 MOOK 別冊, 田畑泰彦編集, メディカルドゥ, 93-98, 2007.
10. 長谷川 麗, 秋吉一成. ナノゲル工学による新規ドラッグデリバリーシステムの開発. 細胞工学, 26, 679-685, 2007.
11. 森本展行, 秋吉一成. ナノゲル DDS 研究の最前線, ファルマシア 44(8) : 764-768, 2008
12. 佐々木善浩, 秋吉一成. 生体由来高分子ゲルを用いた DDS 担体研究, バイオマテリアル 26(6) : 30-36, 2008
13. 佐々木善浩, 秋吉一成. ナノゲルキャリア. 機能性 DDS キャリアの製剤設計. p63-71, 岡田弘晃 監修, シーエムシー出版, 2008
14. 森本展行, 秋吉一成. ナノゲル基盤ゲル材料.次世代医療のための高分子材料工学. シーエムシー出版, pp.33-41, 2008.
15. 戸井田さやか, 秋吉一成. バイオマテリアルのためのナノゲル工学, 医療用ゲルの最新技術と開発, 吉田 亮 監修, シーエムシー出版, 225-235, 2008

「山名」グループ

1. Nucleic Acid Sequence Analysis Using Oligonucleotide Probes, M. Nakamura, K. Kanaori, K. Yamana, *Frontiers in Organic Chemistry* (Ed. Y. Hayakawa), **Vol.1**, pp. 276-296, Bentham Sci. (2005).
2. 「DNA 蛍光プローブの開発」、山名一成、化学フロンティア：ゲノム化学（齋藤烈・杉山弘・中谷和彦編）、pp.67-72、化学同人（2007）
3. 「核酸アプタマーバイオセンサー」、山名一成、電気化学測定／解析 テクニック事例集、pp.591-600、情報機構（2009）

「中谷」グループ

1. ゲノム化学、齋藤烈、杉山弘、中谷和彦編、化学同人、2008

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

「丸山」グループ

- ① 招待講演（国内会議 15 件、国際会議 13 件）
1. 丸山厚,人工核酸シャペロンの設計と核酸ナノテクノロジーへの展開,第 48 回日本学術会議材料研究連合講演会,Japan,2004 年 10 月
2. 丸山厚,DNA NANOTECHNOLOGY BOOSTED BY ARTIFICIAL NUCLEIC ACID CHAPERONES,第 4 回アジア生体材料国際シンポジウム,Japan,2004 年 11 月
3. 丸山 厚,核酸/ポリカチオン相互作用におけるカチオン種の効果,第 7 回ペプチドフォーラム,京都大学大学院薬学研究科,2005 年 8 月
4. 牧田尚樹, 赤池敏宏, 丸山厚,グアニンリッチ DNA の構造転位に及ぼすカチオン性共重合体の添加効果,第 15 回バイオ・高分子シンポジウム,上智大学,2005 年 8 月
5. 丸山厚（平田和也）,ナノ材料で核酸を操る・診る,さがけライブ 2005,神奈川県横浜,2005 年 12 月
6. 丸山厚,核酸の機能制御を目指した核酸・高分子複合体の評価～1 分子蛍光分析法の応用として,臨床応用を目指した産学連携セミナー 8,品川,2007 年 4 月 2 日
7. Atsushi Maruyama,Bottlebrush-type cationic copolymer as a long-blood circulating siRNA carrier,Annual Meeting of Korean Society of Pharmaceutical Sciences and Technology,Seoul,2007 年 4 月 19 日
8. Atsushi Maruyama,"Polymer materials manipulating DNA folding for DNA nanobiotechnology, Polytechnic University","IUPAC and ACS Conference on Macromolecules for a Sustainable, Safe and Healthy World",New York,2007 年 6 月 11 日
9. 丸山厚,人工核酸シャペロンのナノバイオテクノロジーへの展開,第 23 回日本 DDS 学会,熊本,2007 年 6 月 14 日
10. 丸山厚,核酸ナノバイオと高分子材料,第 53 回高分子学会高分子夏期大学,北海道,2007 年 7 月 17 日
11. Atsushi Maruyama,Polymer brush-stabilized polyplex for a siRNA carrier with long circulatory half-life,"13. First International Symposium on Cancer Therapy and Regenerative Medicine", 静岡がんセンター,2007 年 10 月 6 日
12. Atsushi Maruyama,Polymer materials manipulating DNA folding for DNA nanobiotechnology,2007 Pusan-Gyeongnam/Khyshu-seibu Joint Symposium on High Polymers (13th) and Fiber (11th),Pusan,2007 年 10 月 9 日
13. Atsushi Maruyama,Artificial Nucleic Acid Chaperone for Boosting DNA-Fueled Nanomachines,International Symposium on Stimuli-responsive Materials,Univ. of

- Mississippi,2007 年 10 月 30 日
14. 丸山厚,カチオン性共重合体を利用した核酸フォールディングの制御と DNA ナノマシンの迅速化,第 18 回日本 MRS 学術シンポジウム,東京,2007 年 12 月 8 日
 15. Atsushi Maruyama, Polymer materials manipulating nucleic acid folding for nanobiotechnology, Korea-Japan International Symposium on Polymer Nanomaterials,Daejeon, 2008 年 1 月 29 日
 16. 丸山厚,核酸シャペロン材料の設計と核酸ナノバイオへの展開,第 3 回 DDS 熊本シンポジウム,熊本,2008 年 2 月 7 日
 17. Atsushi Maruyama,Cationic copolymer producing nucleic acid-chaperoning activity: Design and Applications,"5. IMCE Kyushu Univ.-UK-IMRAM Tohoku Univ. 2nd Joint Workshop",Tohoku Univ,2008 年 3 月 10 日
 18. Atsushi Maruyama,Cationic comb-type copolymer as an artificial nucleic acid chaperone: acceleration of DNA hybridization,International Symposium on Polymer Chemistry,Hefei,2008 年 6 月 18 日
 19. Atsushi Maruyama,Design of artificial DNA chaperone for DNA nanobiotechnology,The 42th IUPAC World Polymer Congress (Macro 2008),Taipei,2008 年 7 月 2 日
 20. 丸山厚,高分子複合体による核酸構造の動的制御とナノバイオへの展開,ポストシリコン物質・デバイス創製基盤技術アライアンス「ナノ分子メカニクス・バイオメカニクス」研究グループ分科会,Japan,2008 年 10 月 17 日
 21. 丸山厚,塩基性ポリアミノ酸誘導体による核酸構造の動的制御と核酸ナノバイオへの応用,第 10 回ペプチドフォーラム“協奏分子としてのアルギニン:細胞・分子機能における普遍性・必然性とその応用”,京都薬科大学,2008 年 11 月 7 日
 22. Atsushi Maruyama, Highly faithful DNA hybridization produced by an engineered folding pathway and cationic comb-type copolymers,International symposium on gene delivery and biomaterials,China,2008 年 11 月 27 日
 23. Atsushi Maruyama,Manipulation of DNA folding with soft interpolyelectrolyte complex,研究所(先導研・電子研・多元研)連携・SNAMS・CREST ジョイントミニ国際シンポジウム:エンジニアリング・ネオバイオミメティクスとソフトナノマテリアル,東北大学,2008 年 12 月 12 日
 24. 丸山厚,人工核酸シャペロン材料の設計と遺伝子多型解析への展開,,東京大学,2009 年 3 月 4 日
 25. 丸山厚,高分子材料による核酸操作と遺伝子診断への展開,第 59 回医用高分子研究会,東京工業大学,2009 年 3 月 17 日
 26. 丸山厚,テーラーメイド医療に向けた核酸シャペロン工学:核酸を操る、診る、運ぶ,応義塾大学大学院薬学研究科 DDS・薬物動態クラスター「ドラッグデリバリー・薬物動態ミニシンポジウム」,慶應義塾大学薬学研究科,2009 年 5 月 12 日
 27. Atsushi Maruyama,Design of artificial nucleic acid chaperones for DNA nanobiotechnology,8th International symposium on frontiers in biomedical polymers,Mishima,2009 年 5 月 23 日
 28. Atsushi Maruyama,Cationic Comb-type Copolymers as DNA Chaperones,"International conference on materials for advanced technologies, "DNA Nanoscience and Biophysics",Singapore,2009 年 6 月
- ② 口頭発表 (国内会議 68 件、国際会議 14 件)
1. 狩野有宏、Serdar Gursay、赤池敏宏、丸山厚,Characterization of IFN-gamma_induced apoptosis in SV40-T_immortalized hepatocytes,第 7 回日本生化学会大会,Japan,2004 年 10 月
 2. "Sung Won Choi, Yuichi Sato, Toshihiro Akaike, Atsushi Maruyama",Evaluation of polycation comb-type copolymers having guanidino groups as artificial nucleic acid chaperones,The 4th Asian International Symposium on Biomaterials,Japan,2004 年 11 月
 3. "Naoki MAKITA, Satoru INOUE, Toshihiro AKAIKE, Atsushi MARUYAMA",IMPROVED PERFORMANCE OF A DNA NANOMACHINE BYCATIONIC COPOLYMERS,The 4th

- Asian International Symposium on Biomaterials, Japan, 2004 年 11 月
4. "Kazuya HIRATA, Yuichi SATO, Toshihiro AKAIKE, Atsushi MARUYAMA", Nucleation-Dependent Discrimination of SNP with Partially Single Stranded Probes, The 4th Asian International Symposium on Biomaterials, Japan, 2004 年 11 月
 5. 崔 成源、佐藤 雄一、赤池 敏宏、丸山 厚、人工核酸シャペロンとしてのグアニジン基を持つカチオン性くし型共重合体の評価, 日本バイオマテリアルシンポジウム 2004, Japan, 2004 年 11 月
 6. 牧田尚樹、井上悟、赤池敏宏、丸山厚、カチオン性共重合体を用いた DNA ナノマシンの応答性の向上, 日本バイオマテリアルシンポジウム 2004, Japan, 2004 年 11 月
 7. 平田和也、佐藤雄一、赤池敏宏、丸山厚、核形成過程に着目したプローブ設計による一塩基変異解析, 日本バイオマテリアルシンポジウム 2004, Japan, 2004 年 11 月
 8. "KAZUYA HIRATA, YUICHI SATO, KANO ARIHIRO, TOSHIHIRO AKAIKE and ATSUSHI MARUYAMA", Nucleation-synchronized strand displacement for highly sensitive DNA analysis, 第 31 回核酸化学シンポジウム, Japan, 2004 年 11 月
 9. "Naoki MAKITA, Satoru INOUE, Toshihiro AKAIKE, Atsushi MARUYAMA", Improved Performance of a DNA Nanomachine by Cationic Copolymers, 第 31 回核酸化学シンポジウム, Japan, 2004 年 11 月
 10. "SUNG WON CHOI, YUICHI SATO, TOSHIHIRO AKAIKE, ATSUSHI MARUYAMA", Evaluation of comb-type copolymers with different cationic groups as artificial nucleic acid chaperones, 第 31 回核酸化学シンポジウム, Japan, 2004 年 11 月
 11. "Takuma Katayama, Atsushi Maruyama, Satoshi Obika, Takeshi Imanishi, and Hidetaka Torigoe", "Synergistic stabilization of triplex by combination of comb-type cationic copolymer and 2',4'-BNA", 第 31 回核酸化学シンポジウム, Japan, 2004 年 11 月
 12. 嶋田直彦、石井智也、中村麻子、狩野有宏、西田奈央、徳永勝士、丸山厚、部分二重鎖 DNA プローブを使った新規 SNPs 検出方法, 日本 DNA 多型学会 第 17 回学術集会, 東京, 2004 年 11 月 20 日
 13. "Rui Moriyama, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama", Control of intermolecular quadruplex DNA folding by cationic comb-type copolymer, The 2008 Materials Research Society Fall Meeting, Boston, 2004 年 12 月 1 日
 14. 嶋田直彦、要旨なし嶋田カチオン性くし型共重合体が DNA の B-Z 転移に与える影響, H2O 九州支部有機材料研究会, 福岡, 2005 年 2 月 27 日
 15. 崔 成源・赤池 敏宏、丸山 厚、DNA 親和性を制御したカチオン性くし型共重合体による DNA 鎖交換反応の加速, 第 54 回高分子年次大会, 神奈川県横浜市, 2005 年 5 月
 16. "Rui Moriyama, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama", CHAPERONE ACTIVITY OF CATIONIC COMB-TYPE COPOLYMERS FOR INTERMOLECULAR DNA QUADRUPLEX, Self-Assembly of Guanosine Derivatives: From Biological Systems to Nanotechnological Applications, Universit?tszentrum Obergurgl, 2005 年 6 月 22 日
 17. 望月慎一・狩野有宏・赤池敏宏・丸山厚、免疫制御を目指した肝臓洞内皮細胞へのタンパク質デリバリー, 第 21 回 日本 DDS 学会, 長崎県佐世保市, 2005 年 7 月
 18. 嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚、DNA の B-Z 転移に与えるカチオン性くし型共重合体の効果, 第 19 回バイオ・高分子シンポジウム, 東京, 2005 年 7 月 28 日
 19. 牧田尚樹、赤池敏宏、丸山厚、グアニンリッチ DNA の構造転移に及ぼすカチオン性共重合体の添加効果, 第 15 回バイオ・高分子シンポジウム, 東京都千代田区 上智大学, 2005 年 8 月
 20. 平田和也、石井大輔、狩野有、赤池敏宏、丸山厚、部分 2 重鎖核酸プローブとカチオン性共重合体の併用による迅速変異検出, 第 34 回医用高分子シンポジウム, 上智大学, 2005 年 8 月
 21. "Naoki Makita, Arihiro Kano, Asako Yamayoshi, Toshihiro Akaike, Atsushi Maruyama", Modulation of highly ordered structures of human telomeric sequence by cationic copolymers., 第 4 回国際核酸化学シンポジウム, 福岡県福岡市, 2005 年 9 月

22. 高田薫・崔成源・牧田尚樹・山吉麻子・狩野有宏・赤池敏宏・丸山厚,一次構造の異なるポリカチオン共重合体の核酸シャペロン機能,第 54 回高分子討論会,山形県山形市 山形大学,2005 年 9 月
23. 望月慎一、狩野有宏、山吉麻子、丸山厚,肝類洞内皮細胞によるヒアルロン酸修飾タンパクの認識特性,第 54 回 高 分 子 討 論 会,山形県山形市 山形大学,2005 年 9 月
24. 石井大輔・平田和也・狩野有宏・山吉麻子・丸山厚,鎖長の異なる部分二重鎖プローブによる一塩基変異認識,第 54 回 高 分 子 討 論 会,山形県山形市 山形大学,2005 年 9 月
25. 中村麻子、嶋田直彦、石井智也、村木健太郎、狩野有宏、丸山厚,部分二重鎖プローブおよびカチオン性共重合体を用いた RNA 解析,第 58 回高分子討論会,熊本,2005 年 9 月 15 日
26. 嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,DNA の B-Z 転移を誘起するカチオン性くし型共重合体の設計,第 58 回高分子討論会,熊本,2005 年 9 月 15 日
27. 森山壘、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,分子間 DNA 四重鎖に対するカチオン性共重合体のシャペロン活性評価,第 58 回高分子討論会,熊本,2005 年 9 月 15 日
28. 浜野僚太、望月慎一、嶋田直彦、狩野有宏、寺本彰、阿部康次、丸山厚,肝類洞内皮細胞の酸性多糖に対する認識特性の解析,第 58 回高分子討論会,熊本,2005 年 9 月 16 日
29. 平野昌典、嶋田直彦、狩野有宏、木戸秋悟、丸山厚,分子間力測定によるカチオン性くし型共重合体 - 核酸間相互作用の解析,第 58 回高分子討論会,熊本,2005 年 9 月 16 日
30. 石井?智也、村木?健太郎、嶋田?直彦、狩野?有宏、西田?奈央、徳永?勝士、丸山?厚,DNA 部分二重鎖プローブを用いた一塩基多型のハイスループット検出,第 58 回高分子討論会,熊本,2005 年 9 月 16 日
31. "Jie Du, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama",Novel DNA nanomachines driven by polyelectrolytes as fuels,第 58 回高分子討論会,熊本,2005 年 9 月 17 日
32. 藤井尚久、崔 成源、狩野有宏、赤池敏宏、丸山 厚,ODN キャリアーとしてのヒアルロン酸くし型共重合体の評価,第 15 回アンチセンスシンポジウム,群馬県桐生市,2005 年 11 月
33. 望月慎一、狩野有宏、山吉麻子、丸山厚,Hyaluronan bioconjugates for targeted delivery to liver endothelial cells,第 12 回分子システムシンポジウム,福岡県,2005 年 11 月
34. "Asako Yamayoshi, Kiyoko Kato, Norio Wake, Akira Murakami",Photodynamic Antisense Therapy of Human Cervical Carcinoma using Psoralen-conjugated oligonucleotide,第 12 回分子システムシンポジウム,福岡県,2005 年 11 月
35. 狩野有宏、藤井尚久、崔 成源、丸山 厚,核酸キャリアーとしてのヒアルロン酸くし型共重合体の細胞特異性,第 37 回九大生体材料・力学研究会,福岡市,2006 年 3 月
36. 山吉麻子、山野 剛、崔 成源、狩野有宏、平井美和、佐藤あゆみ、高木基樹、島本顕、丸山 厚,siRNA キャリアとしてのボトルブラシ型カチオン性高分子,第 6 回遺伝子デリバリー研究会 シンポジウム,福岡,2006 年 5 月
37. 山吉麻子、山野 剛、崔 成源、狩野有宏、平井美和、佐藤あゆみ、高木基樹、島本顕、丸山 厚,siRNA キャリアとしてのボトルブラシ型カチオン性高分子,第 2 2 回日本 DDS 学会,東京,2006 年 7 月
38. 高田薫、崔成源、山吉麻子、狩野有宏、丸山厚,核酸親和性を制御したカチオン性共重合体の核酸シャペロン活性,第 16 回バイオ・高分子シンポジウム,東京,2006 年 8 月
39. 山吉麻子、山野 剛、崔 成源、狩野有宏、平井美和、佐藤あゆみ、高木基樹、島本顕、丸山 厚,siRNA キャリアとしてのボトルブラシ型カチオン性高分子,第 3 5 回医用高分子シンポジウム,東京,2006 年 8 月
40. 山野剛、崔成源、山吉麻子、狩野有宏、丸山厚,siRNA との結合性を強化したボトルブラシ型カチオン性共重合体?PEG ブラシ鎖密度の影響,第 5 5 回高分子討論会,富山,2006 年 9 月
41. "玉田純子,山崎美緒,森本展行,呉 隆亮,高田 薫,崔 成源,丸山 厚,秋吉一成",糖鎖-ポリ(L-

- リジン)コンジュゲートナノゲルの設計と機能,第 55 回 高 分 子 討 論 会,富山,2006 年 9 月
42. 新谷彩、東條野歩、山吉麻子、狩野有宏、丸山厚,DNA 鎖交換反応を用いた核酸結合性物質の認識,第 55 回高分子討論会,富山,2006 年 9 月
 43. 神田 大三、山下 敦、上遠野 亮、大谷 亨、由井 伸彦、丸山 厚、秋田 英万、小暮 健太郎、原島 秀吉,カチオン性ポリロタキサンの遺伝子キャリアとしての *in vitro* 評価,第 55 回 高 分 子 討 論 会,富山,2006 年 9 月
 44. 崔成源、牧田直樹、狩野有宏、山吉麻子、赤池敏宏、丸山厚,人工核酸シャペロンを利用した DNA ナノマシンの制御,第 55 回 高 分 子 討 論 会,富山,2006 年 9 月
 45. 崔成源、狩野有宏、山吉麻子、丸山厚,カチオン基の異なるくし型共重合体の核酸シャペロン活性,第 28 回日本バイオマテリアル学会,東京,2006 年 11 月
 46. "Daisuke Ishii, Kentaro Muraki, Arihiro Kano, Asako Yamayoshi, Atsushi Maruyama",Single-base mismatch recognition using partially double-stranded probes having various lengths,第 33 回核酸化学シンポジウム,大阪,2006 年 11 月
 47. "Kaoru Takada, Sung Won Choi, Arihiro Kano, Asako Yamayoshi, Atsushi Maruyama",Structural effect of cationic copolymers on nucleic acid-chaperoning activity,第 33 回核酸化学シンポジウム,大阪,2006 年 11 月
 48. 山吉麻子、高田薫、崔 成源、狩野有宏、二木史朗、丸山 厚,カチオン基の異なるくし型共重合体の核酸シャペロン活性,,京都・宇治,2007 年 1 月
 49. "Sung Won Choi, Naoki Makita, Arihiro Kano, Asako Yamayoshi, Toshihiro Akaike, Atsushi Maruyama",DNA nanomachine responses improved by cationic comb-type copolymer,The 13th International Symposium on Recent Advances in Drug Delivery Systems,"Salt Lake City, Utah",2007 年 2 月
 50. 丸山厚,人工核酸シャペロンの設計と核酸ナノバイオへの展開,大阪大学産業科学研究所研究所間ワークショップ「融合バイオ」,大阪大学,2007 年 3 月
 51. 新谷彩、東條野歩、山吉麻子、狩野有宏、丸山厚,核酸鎖交換反応を用いた DNA 結合性物質の認識,第 56 回高分子学会年次大会,京都,2007 年 5 月
 52. 高田薫、崔成源、山吉麻子、狩野有宏、丸山厚,カチオン性共重合体の一次構造と核酸シャペロン活性の相関,第 56 回高分子学会年次大会,京都,2007 年 5 月
 53. "Shinichi Mochizuki, Arihiro kano and Atsushi Maruyama",Hyaluronan Bioconjugates for Targeted Delivery to Liver Sinusoidal Endothelial Cells,3rd Symposium of A3 Foresight Program on Gene Delivery,Daejun,2007 年 5 月 7 日
 54. 村木健太郎、石井大輔、穴井太郎、狩野有宏、山吉麻子、丸山厚,一塩基多型(SNPs)認識を目指した部分二重鎖 DNA プローブの設計,第 56 回高分子学会年次大会,京都,2007 年 5 月 31 日
 55. 山野剛、山吉麻子、崔成源、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,PEG 密生層によるオリゴ核酸ポリプレックスの安定化,第 56 回高分子討論会,名古屋,2007 年 9 月 19 日
 56. 村木健太郎、穴井太郎、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,カチオン性共重合体による部分二重鎖プローブの一塩基変異認識特性の改善,第 56 回高分子討論会,名古屋,2007 年 9 月 19 日
 57. 森山 塁、佐藤雄一、崔 成源、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,親水性側鎖によりポリリシンの二次構造転移制御,第 56 回高分子討論会,名古屋,2007 年 9 月 19 日
 58. "Arihiro Kano, Shinichi Mochiduki, Sung Won Choi, and Atsushi Maruyama",Hyaluronan bioconjugates for targeted delivery to sinusoidal endothelial cells in liver,IMRAM-England-IMCE 1st Joint Workshop,福岡,2007 年 10 月 30 日
 59. 岩田智喜、望月慎一、山吉麻子、崔成源、狩野有宏、丸山厚,肝臓洞内皮細胞への薬物デリバリーを目指したヒアルロン酸修飾リポソームの調製,第 28 回日本バイオマテリアル学会,東京,2007 年 11 月
 60. 村木健太郎、石井大輔、穴井太郎、狩野有宏、山吉麻子、丸山厚,部分二重鎖プローブによる一変異認識における単鎖構造の影響,第 28 回日本バイオマテリアル学会,東

- 京,2007 年 11 月
61. 森山壘、佐藤雄一、崔成源、狩野有宏、山吉麻子、丸山厚,DNA 二重鎖形成に及ぼす poly(L-lysine)-g-dextran 共重合体の影響,第 28 回日本バイオマテリアル学会,東京,2007 年 11 月
 62. "Longliang Wu, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, and Atsushi Maruyama",Effect of poly(L-lysine)-g-dextran copolymers on DNA hybridization,第 5 回国際核酸化学シンポジウム,東京,2007 年 11 月 21 日
 63. 望月慎一、狩野有宏、嶋田直彦、丸山厚,免疫制御を目指した肝類洞内皮細胞への抗原タンパク質デリバリー,第 29 回バイオマテリアル学会,大阪,2007 年 11 月 26 日
 64. "Naohiko Shimada, Kentaro Muraki, Taro Anai, Arihiro Kano and Atsushi Maruyama",A Novel Genotyping Method Using Partially Double-stranded DNA Probes and Cationic Comb-type Copolymers,1st Asian Biomaterials Congress (1st ABMC),Tsukuba,2007 年 12 月 6 日
 65. 石井智也、村木健太郎、嶋田直彦、狩野、西田奈央、徳永勝士、丸山厚,部分二重鎖 DNA プローブを用いたハイスループット塩基多型検出,第 6 回ナノ学会,福岡,2008 年 5 月 7 日
 66. 狩野有宏、山野剛、丸山厚,PLL-g-PEG 共重合体の腫瘍集積性の解析と siRNA デリバリーへの応用,第 24 回日本 DDS 学会,東京,2008 年 6 月 28 日
 67. 森山壘、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,カチオン性共重合体による分子間 DNA 四重鎖の形成制御,第 57 回高分子討論会,大阪,2008 年 9 月 24 日
 68. 城山宗一郎、狩野有宏、望月慎一、嶋田直彦、丸山厚,ヒアルロン酸グラフト共重合体による核酸デリバリー法の開発とその評価,第 57 回高分子討論会,大阪,2008 年 9 月 24 日
 69. 嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,DNA の B-Z 転移に与えるカチオン性くし型共重合体の効果,第 57 回高分子討論会,大阪,2008 年 9 月 24 日
 70. 嶋田直彦、石井智也、狩野有宏、西田奈央、徳永勝士、丸山厚,部分二重鎖 DNA プローブとカチオン性くし型共重合体を利用したハイスループットジェノタイピング,第 57 回高分子討論会,大阪,2008 年 9 月 24 日
 71. 芥川礼、山野剛、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,ポリリシン-g-ポリエチレングリコール共重合体(PLL-g-PEG)の細胞取り込みと動態評価,第 57 回高分子討論会,大阪,2008 年 9 月 24 日
 72. 丸山厚,核酸フォールディング過程に着目した核酸配列認識の厳密化,九大先導研・北大電子研・東北大多元研 研究所間連携研究交流会,東京,2008 年 10 月 30 日
 73. "Atsushi Maruyama, Kazuya Hirata, Daisuke Ishii, Kentaro Muraki, Tomoya Ishii Naohiko Shimada, Arihiro Kano",Highly faithful DNA hybridization produced by an engineered folding pathway and cationic comb-type copolymers,JSPS 6th A3 Symposium,sanya,2008 年 11 月 26 日
 74. "Rui Moriyama, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama",CHAPERONE ACTIVITY OF CATIONIC COMB-TYPE COPOLYMERS FOR INTERMOLECULAR DNA QUADRUPLEX,Self-Assembly of Guanosine Derivatives: From Biological Systems to Nanotechnological Applications,Austria,2009 年 6 月 23 日,,
 75. 嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,DNA の B-Z 転移に与えるカチオン性くし型共重合体の効果,第 19 回バイオ・高分子シンポジウム,東京,2009 年 7 月 29 日,,
 76. "Jie Du, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama",Novel DNA nanomachines driven by polyelectrolytes as fuels,第 58 回高分子討論会,熊本,2009 年 9 月 18 日,,
 77. 浜野僚太、望月慎一、嶋田直彦、狩野有宏、寺本彰、阿部康次、丸山厚,肝類洞内皮細胞の酸性多糖に対する認識特性の解析,第 58 回高分子討論会,熊本,2009 年 9 月 17 日,,
 78. 中村麻子、嶋田直彦、石井智也、村木健太郎、狩野有宏、丸山厚,部分二重鎖プローブおよびカチオン性共重合体を用いた RNA 解析,第 58 回高分子討論会,熊本,2009 年 9 月 16 日,,
 79. 平野昌典、嶋田直彦、狩野有宏、木戸秋悟、丸山厚,分子間力測定によるカチオン性く

- し型共重合体 - 核酸間相互作用の解析,第 58 回高分子討論会,熊本,2009 年 9 月 17 日
80. 石井?智也、村木?健太郎、嶋田?直彦、狩野?有宏、西田?奈央、徳永?勝士、丸山?厚,DNA 部分二重鎖プローブを用いた一塩基多型のハイスループット検出,第 58 回高分子討論会,熊本,2009 年 9 月 17 日
 81. 嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,DNA の B-Z 転移を誘起するカチオン性くし型共重合体の設計,第 58 回高分子討論会,熊本,2009 年 9 月 16 日
 82. 森山塁、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,分子間 DNA 四重鎖に対するカチオン性共重合体のシャペロン活性評価,第 58 回高分子討論会,熊本,2009 年 9 月 16 日
- ③ ポスター発表 (国内会議 57 件、国際会議 50 件)
1. 石井大輔・平田和也・赤池敏宏・丸山厚,部分単鎖プローブによる一塩基変異認識,第 54 回高分子年次大会,神奈川県横浜市,2005 年 5 月
 2. 新谷彩・牧田尚樹・赤池敏宏・丸山厚,カチオン性くし型共重合体の核酸シャペロン機構の解析,第 54 回高分子年次大会,神奈川県横浜市,2005 年 5 月
 3. 藤井尚久・崔成源・狩野有宏・赤池敏宏・丸山厚,ヒアルロン酸くし型共重合体の細胞特異性の評価,第 54 回高分子年次大会,神奈川県横浜市,2005 年 5 月
 4. "Naoki Makita, Toshihiro Akaike, Atsushi Maruyama",Functional Regulation of DNA-molecular Constructs by Cationic Copolymers,The 8th SPSJ International Polymer Conference (IPC2005),福岡県福岡市,2005 年 7 月
 5. "Kazuya Hirata, Daisuke Ishii, Arihiro Kano, Toshihiro Akaike and Atsushi Maruyama",Nucleation-Synchronized Strand Exchange Reaction for DNA Mismatches Discrimination,The 8th SPSJ International Polymer Conference (IPC2005),福岡県福岡市,2005 年 7 月
 6. Sung Won Choi and Atsushi Maruyama,DNA strand exchange activated by cationic comb-type copolymer with enhanced affinity toward single-stranded DNA,The 8th SPSJ International Polymer Conference (IPC2005),福岡県福岡市,2005 年 7 月
 7. 牧田尚樹、山吉麻子、狩野有宏、赤池敏宏、丸山厚,人工核酸シャペロンによる 4 重鎖核酸形成の制御,CREST 第 1 回公開シンポジウム,東京都港区,2005 年 8 月
 8. 狩野有宏・隈秀和・野沢巖・丸山厚,インターフェロン- γ による肝細胞障害の解析と siRNA ライブラリーによる遺伝子スクリーニング,CREST 第 1 回公開シンポジウム,東京都港区,2005 年 8 月
 9. "山吉麻子、佐藤あゆみ、平井美和、高木基樹、Choi, Sung Won、狩野有宏、嶋本顕、丸山厚",血中滞留型 siRNA キャリアとしての人工核酸シャペロン,CREST 第 1 回公開シンポジウム,東京都港区,2005 年 8 月
 10. 平田和也、石井大輔、山吉麻子、狩野有宏、赤池敏宏、丸山厚,部分 2 重鎖核酸プローブによる一塩基変異解析,CREST 第 1 回公開シンポジウム,東京都港区,2005 年 8 月
 11. "Sung Won Choi, Kaoru Takada, Junji Mochida, Asako Yamayoshi, Arihiro Kano and Atsushi Maruyama",The molecular structure effect of cationic comb-type copolymers on nucleic acid chaperone activity,第 4 回国際核酸化学シンポジウム,福岡県福岡市,2005 年 9 月
 12. "Kazuya Hirata, Daisuke Ishii, Arihiro Kano, Asako Yamayoshi, Toshihiro Akaike and Atsushi Maruyama",Discrimination of single nucleotide polymorphisms by strand exchange assay using partially double-stranded probes,第 4 回国際核酸化学シンポジウム,福岡県福岡市 九州大学医学部百年講堂,2005 年 9 月
 13. 望月慎一、狩野有宏、山吉麻子、丸山厚,Hyaluronan bioconjugates for targeted delivery to liver endothelial cells,第 6 回 CMC シンポジウム,Japan,2005 年 10 月
 14. "Sung Won Choi, Arihiro Kano, Asako Yamayoshi, Atsushi Maruyama",Effect of polymer structure on chaperoning activity of cationic copolymers,第 6 回 CMC シンポジウム,Japan,2005 年 10 月
 15. 石井大輔、平田和也、山吉麻子、狩野有宏、丸山厚,DNA 鎖交換反応を用いた一塩基変異認識,第 27 回日本バイオマテリアル学会,京都府京都市,2005 年 11 月

16. 新谷彩、牧田尚樹、山吉麻子、狩野有宏、丸山厚,DNA 鎖交換反応に及ぼす DNA 結合性物質の影響,第 27 回日本バイオマテリアル学会,京都府京都市,2005 年 11 月
17. 高田薫、崔成源、牧田尚樹、山吉麻子、狩野有宏、丸山厚,くし型ポリカチオンの RNA に対する核酸シャペロン効果,第 27 回日本バイオマテリアル学会,京都府京都市,2005 年 11 月
18. 崔成源、狩野有宏、山吉麻子、丸山厚,異なるカチオン基を有するくし型共重合体の核酸シャペロン活性,第 27 回日本バイオマテリアル学会,京都府京都市,2005 年 11 月
19. 山吉麻子、山野 剛、崔 成源、狩野有宏、平井美和、佐藤あゆみ、高木基樹、島本 顕、丸山 厚,siRNA キャリアとしてのボトルブラシ型カチオン性高分子(核酸との相互作用における PEG ブラシの影響),第 15 回アンチセンスシンポジウム,群馬県桐生市,2005 年 11 月
20. 狩野有宏、丸山厚,IFN-gamma 誘導肝細胞死における caspase-12 の関与,第 28 回日本分子生物学会,福岡県福岡市,2005 年 12 月
21. 山野剛、山吉麻子、崔 成源、狩野有宏、平井美和、佐藤あゆみ、高木基樹、島本 顕、丸山 厚,"siRNA キャリアとしてのボトルブラシ型カチオン性共重合体核酸医薬との複合体形成におけるグラフト鎖 PEG の影響",第 6 回遺伝子デリバリー研究会 シンポジウム,福岡,2006 年 5 月
22. "Atsushi Maruyama, Naohisa Fujii, Shinichi Mochiduki, Sung Won Choi, Asako Yamayoshi, Arihiro Kano, Yoshiyuki Takei, Nobuhiro Sato, Toshihiro Akaike",Targeted DNA Delivery to Sinusoidal Endothelial Cells of Liver Using Cationic Comb-Type Copolymers Having Hyaluronic Acids,33rd Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society,"Vienna, Austria",2006 年 7 月
23. "Arihiro Kano, Asako Yamayoshi, Takeshi Yamano, Sung Won Choi, Motoki Takagi, Ayumi Sato, Miwa Hirai, Akira Shimamoto, Atsushi Maruyama",Bottle Brush-Type Copolymers Stabilize Small Interfering RNA in vitro and in vivo,33rd Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society,"Vienna, Austria",2006 年 7 月
24. 山吉麻子、藤井尚久、崔成源、狩野有宏、赤池敏宏、丸山厚,オリゴ核酸キャリアーとしてのヒアルロン酸くし型共重合体の評価,第 2 回日本 DDS 学会,東京,2006 年 7 月
25. 山吉麻子、山野 剛、崔 成源、狩野有宏、平井美和、佐藤あゆみ、高木基樹、島本 顕、丸山 厚,siRNA キャリアとしてのボトルブラシ型カチオン性高分子,CREST 第 2 回公開シンポジウム,東京,2006 年 8 月
26. 石井大輔、村木健太郎、狩野有宏、山吉麻子、丸山厚,部分二重鎖プローブによる一塩基変異解析?変異識別の熱力学的考察,CREST 第 2 回公開シンポジウム,東京,2006 年 8 月
27. 狩野有宏、石井大輔、村木健太郎、山吉麻子、丸山厚,部分二重鎖プローブによる一塩基変異解析?プローブ構造とシャペロン高分子の影響,CREST 第 2 回公開シンポジウム,東京,2006 年 8 月
28. 高田薫、崔成源、山吉麻子、狩野有宏、丸山厚,核酸親和性を制御したカチオン性高分子の核酸シャペロン活性,CREST 第 2 回公開シンポジウム,東京,2006 年 8 月
29. "Aya Shintani, Nobu Tojyo, Arihiro Kano, Asako Yamayoshi, Atsushi Maruyama",The influence of DNA binding molecules on the DNA strand exchange reaction,IUPAC International Symposium on Advanced Polymers for Emerging Technologies,釜山,2006 年 10 月
30. "Shinichi Mochizuki, Arihiro kano, Asako Yamayoshi, Atsushi Maruyama",Hyaluronan bioconjugates for targeted delivery to liver endothelial cells,IUPAC International Symposium on Advanced Polymers for Emerging Technologies,釜山,2006 年 10 月
31. "Arihiro Kano, Naohisa Fujii, Shinichi Mochiduki, Sung Won Choi, Asako Yamayoshi, Yoshiyuki Takei, Nobuhiro Sato, Toshihiro Akaike, and Atsushi Maruyama",Targeted DNA Delivery to Sinusoidal Endothelial Cells of Liver Using Cationic Comb-Type Copolymers Having Hyaluronic Acids,IUPAC International Symposium on Advanced Polymers for Emerging Technologies,釜山,2006 年 10 月
32. "Sung Won Choi, Naoki Makita, Arihiro Kano, Asako Yamayoshi, Toshihiro Akaike, Atsushi

- Maruyama", Cationic Comb-type Copolymers to Boost DNA Nanomachine, IUPAC International Symposium on Advanced Polymers for Emerging Technologies, 釜山, 2006 年 10 月
33. "Kaoru Takada, Sung Won Choi, Arihiro Kano, Asako Yamayoshi, Atsushi Maruyama", Nucleic acid chaperoning activity of cationic copolymers with different primary structures, IUPAC International Symposium on Advanced Polymers for Emerging Technologies, 釜山, 2006 年 10 月
 34. "Asako Yamayoshi, Arihiro Kano, Takeshi Yamano, Sung Won Choi, Motoki Takagi, Ayumi Sato, Miwa Hirai, Akira Shimamoto, Atsushi Maruyama", Prolonged blood circulation of small interfering RNA by bottlebrush-type copolymers, IUPAC International Symposium on Advanced Polymers for Emerging Technologies, 釜山, 2006 年 10 月
 35. 狩野有宏、山吉麻子、山野剛、平井美和、佐藤あゆみ、高木基樹、嶋本顕、丸山厚, siRNA キャリアとしてのボトルブラシ型 PEG-g-PLL の in vivo 評価, 遺伝子・デリバリー研究会 第七回シンポジウム, 東京, 2007 年 5 月 18 日
 36. 山野剛、山吉麻子、崔成源、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚, PEG ブラシによる siRNA ポリプレックスの強化, 遺伝子・デリバリー研究会 第七回シンポジウム, 東京, 2007 年 5 月 18 日
 37. "Atsushi Maruyama, Takuma Katayama, Hidetaka Torigoe, Satoshi Obika, Takeshi Imanishi", Synergistic Stabilization of Nucleic Acid Assembly by Nucleic Acid Chemical Modification and Addition of Comb-Type Cationic Copolymers, The 7th ASIA FORESIGHT SYMPOSIUM ON GENE THERAPY AND BIOMATERIALS, International Cooperation Building, 2005 年 5 月 24 日
 38. "Arihiro Kano, Tsuyoshi Yamano, Izumi Nakamura, Naohiko Shimada, Atsushi Maruyama", The effect of Grafted PEG side chain on the interaction of poly-L-lysine with siRNA, The 7th ASIA FORESIGHT SYMPOSIUM ON GENE THERAPY AND BIOMATERIALS, International Cooperation Building, 2005 年 5 月 24 日
 39. "Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama", Effect of cationic Comb Type Copolymer on the B-Z transition, The 7th ASIA FORESIGHT SYMPOSIUM ON GENE THERAPY AND BIOMATERIALS, International Cooperation Building, 2005 年 5 月 24 日
 40. "Jie Du, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama", Novel DNA nanomachines driven by polyelectrolytes as fuels, The 7th ASIA FORESIGHT SYMPOSIUM ON GENE THERAPY AND BIOMATERIALS, International Cooperation Building, 2005 年 5 月 24 日
 41. 浜野僚太、望月慎一、嶋田直彦、狩野有宏、寺本彰、阿部康次、丸山厚, 肝臓洞内皮細胞の酸性多糖に対する認識特性の解析, 第 25 回 DDS 学会学術集会, 東京, 2005 年 7 月 2 日
 42. 徳永修一、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚, カチオン性くし型共重合体による両親媒性酸性ペプチドの構造制御, 第 19 回バイオ・高分子シンポジウム, 東京, 2005 年 7 月 29 日
 43. 嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚, カチオン性くし型共重合体が DNA の B-Z 転移に与える影響, 第 5 回 CREST 公開シンポジウム, 東京, 2005 年 8 月 2 日
 44. 梶山力、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚, 高い塩基変異識別能を持つ新規二重鎖 DNA プロローブの設計, 第 24 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラム, 福岡, 2005 年 9 月 15 日
 45. 森山健司、中村いずみ、狩野有宏、丸山厚, ドラッグデリバリー担体としてのポリエチレングリコールグラフト共重合体の評価, 第 24 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラム, 福岡, 2005 年 9 月 15 日
 46. 山元美由紀、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚, 異なる側鎖を有するカチオン性くし型共重合体の合成, 第 24 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラム, 福岡, 2005 年 9 月 15 日
 47. 徳永修一、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚, カチオン性くし型共重合体と酸性ペプチドの相互作用解析, 第 58 回高分子討論会, 熊本, 2005 年 9 月 16 日
 48. "Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama", Design of cationic graft copolymers as a

- potential inducer of B-Z transition, The 6th International symposium on Nucleic Acid Chemistry, 岐阜, 2005 年 9 月 27 日
49. 狩野有宏、中村いずみ、山野 剛、嶋田直彦、丸山 厚, siRNA との相互作用に及ぼすポリリシン側鎖にグラフトした PEG 鎖の影響, 遺伝子・デリバリー研究会 第 9 回シンポジウム, 大阪, 2005 年 7 月 10 日
 50. 梶山力、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚, 高い塩基変異識別能を持つ新規二重鎖 DNA プロープの設計, 第 5 回 CREST 公開シンポジウム, 東京, 2005 年 8 月 2 日
 51. 石井智也、村木健太郎、嶋田直彦、狩野有宏、西田奈央、徳永勝士、丸山厚, 部分二重鎖プロープおよびカチオン性共重合体を用いたジェノタイピング, 第 5 回 CREST 公開シンポジウム, 東京, 2005 年 8 月 2 日
 52. 石井智也、村木健太郎、嶋田直彦、狩野、西田奈央、徳永勝士、丸山厚, DNA 部分二重鎖プロープを用いた一塩基多型検出のハイスループット化, 日本バイオマテリアル, 東京, 2004 年 11 月 16 日
 53. 浜野僚太、望月慎一、嶋田直彦、狩野有宏、寺本彰、阿部康次、丸山厚, 肝臓洞内皮細胞の酸性多糖に対する認識特性の解析, 日本バイオマテリアル, 東京, 2004 年 11 月 16 日
 54. 平野昌典、嶋田直彦、狩野有宏、木戸秋悟、丸山厚, 分子直接観察と分子間力測定によるカチオン性くし型共重合体-核酸間相互作用の解析, 日本バイオマテリアル, 東京, 2004 年 11 月 17 日
 55. 芥川礼、山野剛、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚, ポリリシン-g-ポリエチレングリコール共重合体(PLL-g-PEG)の細胞取り込みと動態評価, 日本バイオマテリアル, 東京, 2004 年 11 月 17 日
 56. 城山宗一郎、狩野有宏、望月慎一、嶋田直彦、丸山厚, ヒアルロン酸グラフト共重合体による核酸デリバリー法の開発とその評価, 日本バイオマテリアル, 東京, 2004 年 11 月 17 日
 57. "A. Kano, T. Yamano, S. Mochizuki, I. Nakamura, N. Shimada, and A. Maruyama", WATER-SOLUBLE POLYMERIC CONJUGATE FOR GENE AND DRUG DELIVERY, 14th International Symposium on Recent Advance in Drug Delivery Systems, Utah, 2005 年 2 月 15 日
 58. "Asako Nakamura, Naohiko Shimada, Kentaro Muraki, Taro Anai, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama", Novel Analysis for Single Nucleotide Polymorphism Using Cationic Comb-Type Copolymer, The 2nd POSTEC/KYUSHU UNIVERSITY GLOVAL-COE joint symposium on polymers and Nanomaterials, poan, 2005 年 2 月 23 日
 59. 呉隆亮、狩野有宏、山吉麻子、丸山厚, 核酸ハイブリダイゼーションに対するカチオン性共重合体の速度論的効果, 第 56 回高分子学会年次大会, 京都, 2007 年 5 月 29 日
 60. 穴井太郎、石井大輔、村木健太郎、山吉麻子、狩野有宏、丸山厚, 部分二重鎖プロープを用いた一塩基変異検出における配列依存性の影響, 第 56 回高分子学会年次大会, 京都, 2007 年 5 月 29 日
 61. 城山宗一郎、狩野有宏、藤井尚久、望月慎一、崔成源、山吉麻子、赤池敏宏、丸山厚, ヒアルロン酸くし型共重合体による核酸医薬の細胞特異的送達, 第 23 回日本 DDS 学会, 熊本, 2007 年 6 月 15 日
 62. 狩野有宏、山吉麻子、山野 剛、丸山 厚, siRNA キャリアとしてのボトルブラシ型 PEG-g-PLL の in vivo 評価, CREST 第 3 回公開シンポジウム, 東京, 2007 年 8 月 2 日
 63. 丸山厚、新谷彩、東条野歩、山吉麻子、狩野有宏, 核酸鎖交換反応を用いた DNA 結合性物質の認識, CREST 第 3 回公開シンポジウム, 東京, 2007 年 8 月 2 日
 64. 丸山厚、高田薫、崔成源、山吉麻子、狩野有宏, カチオン性共重合体の一次構造と核酸シャペロン活性の相関, CREST 第 3 回公開シンポジウム, 東京, 2007 年 8 月 2 日
 65. 嶋田直彦、村木健太郎、穴井太郎、狩野有宏、丸山厚, 一塩基多型(SNPs)認識を目指した部分二重鎖 DNA プロープの設計, CREST 第 3 回公開シンポジウム, 東京, 2007 年 8 月 2 日
 66. "Naohiko Shimada, Kentaro Muraki, Taro Anai, Arihiro Kano, and Atsushi Maruyama", Novel

- analysis for single nucleotide polymorphism using cationic comb-type copolymers,第 5 回国際核酸化学シンポジウム,東京,2007 年 11 月 21 日
67. 岩田智喜、望月慎一、狩野有宏、嶋田直彦、丸山厚,カチオン性くし型共重合体とリボソームとの相互作用評価,第 29 回バイオマテリアル学会,大阪,2007 年 11 月 26 日
 68. "A. Kano, T. Yamano, S. Choi, A. Maruyama",Polymer brush-stabilized polyplex for a siRNA carrier with long circulatory half-life,1st Asian Biomaterials Congress (1st ABMC),Tsukuba,2007 年 12 月 6 日
 69. 平野昌典、嶋田直彦、狩野有宏、木戸秋悟、丸山厚,分子直接観察と分子間力測定によるカチオン性くし型共重合体-核酸間相互作用の解析,第 6 回ナノ学会,福岡,2008 年 5 月 6 日
 70. 浜野僚太、望月慎一、嶋田直彦、狩野有宏、阿部康次、丸山厚,肝類洞内皮細胞の酸性多糖に対する認識特性の解析,第 6 回ナノ学会,福岡,2008 年 5 月 7 日
 71. 石井智也、村木健太郎、嶋田直彦、狩野、西田奈央、徳永勝士、丸山厚,DNA 部分二重鎖プローブを用いた一塩基変異多型検出のハイスループット化,第 57 回高分子学会,横浜,2008 年 5 月 28 日
 72. "Atsushi Maruyama, Longliang Wu, Naohiko Shimada, Arihiro Kano",Kinetic Effect of Cationic Comb-type Copolymers on DNA Hybridization,JSPS 5th A3 Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
 73. "Naohiko Shimada, Kentaro Muraki, Taro Anai, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama",Novel analysis for single nucleotide polymorphism using cationic comb-type copolymers,JSPS 5th A3 Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
 74. "Arihiro Kano, Naohiko Shimada, Atsushi maruyama",Polymer brush-stabilized polyplex for a siRNA carrier with long blood circulatory half-life,JSPS 5th A3 Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
 75. "Shinichi Mochiduki, Arihiro kano, Atsushi Maruyama",Antigenic protein delivery to liver sinusoidal endothelial cells by conjugation with hyaluronan,JSPS 5th A3 Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
 76. "A. Yamashita, D. Kanda, R. Katoono, N. Yui, A. Kano, A. Maruyama, H. Akita, H. Harashima",Supramolecular Control of Polyplex Decondensation and Cell Transfection: Efficacy of Amine and Threading Cyclodextrin on Biocleavable Polyrotaxanes,JSPS 5th A3 Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
 77. "Rui Moriyama, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama",Effect of cationic comb-type copolymers on the intermolecular DNA quadruplex,JSPS 5th A3 Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
 78. "Asako Nakamura, Yutaka Taketani, Ayako Tanimura, Hironori Yamamoto, Ken-ichi Miyamoto, Eigi Takeda",Role of phosphorylation of ezrin in the membrane localization of NaPi-IIa in the renal proximal tubular cells,JSPS 5th A3 Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
 79. "Masashi Akutagawa, Arihiro Kano, Naohiko Shimada, Atsushi Maruyama",Identification and Cloning of Genes Involved in IFN-g-Induced Apoptosis Using a siRNA Expression Library,JSPS 5th A3 Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
 80. "Soichiro Shiroyama, Arihiro Kano, Naohisa Fujii, Sinichi Mochiduki, Toshihiro Akaike, Atsushi Maruyama",Gene Delivery Using hyaluronan Comb-Type Cationic Copolymer,JSPS 5th A3 Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
 81. "Tomoya Ishii, Kentaro Muraki, Arihiro Kano, Nao Nishida, Katsushi Tokunaga, Atsushi Maruyama",High throughput analysis of single nucleotide polymorphisms using partially double-stranded DNA probes,JSPS 5th A3 Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
 82. "Ryota Hamano, Shinichi Mochizuki, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Koji Abe, Akira Teramoto, Atsushi Maruyama",The analysis of Recognition of glycosaminoglycan by liver sinusoidal endothelial cells,JSPS 5th A3 Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
 83. "Masanori Hirano, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Satoru Kidoaki, Atsushi Maruyama",Analysis of cationic comb-type copolymers/DNA interaction by the single molecular observation and intermolecular force measurement,JSPS 5th A3

- Symposium,Pohang,2008 年 6 月 12 日
84. "Rui Moriyama, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama", Poly(L-lysine)-graft-dextran acts as a nucleic acid chaperone for tetramolecular quadruplex formation,"Joint Symposium of 18th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids and 35th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry",京都,2008 年 9 月 8 日
 85. "Naohiko Shimada, Arihiro Kano, and Atsushi Maruyama ",Effect of cationic comb-type copolymer on the B- Z transition of poly(dG-dC) • poly(dG-dC),"Joint Symposium of 18th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids and 35th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry",京都,2008 年 9 月 9 日
 86. "Rui Moriyama, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama",Control of association and dissociation of intermolecular quadruplex by cationic comb-type copolymer,JSPS 6th A3 Symposium,sanya,2008 年 11 月 26 日
 87. "Asako Nakamura, Naohiko Shimada, Kentaro Muraki, Taro Anai, Arihiro Kano ,Atsushi Maruyama",Novel Analysis for Single Nucleotide Polymorphism Using Cationic Comb-Type Copolymer,JSPS 6th A3 Symposium,sanya,2008 年 11 月 26 日
 88. "Kenji Moriyama, Takeshi Yamano, Sun Won Choi, Arihiro Kano, Atushi Maruyama",The evaluation of polyethylene glycol graft copolymer as the drug delivery carrier,JSPS 6th A3 Symposium,sanya,2008 年 11 月 26 日
 89. "Miyuki Yamamoto, Sung Won Choi, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama",Preparation of Cationic Comb-Type Copolymers having High Density of PEG Graft Chains for Gene Carriers,JSPS 6th A3 Symposium,sanya,2008 年 11 月 26 日
 90. "Jie Du, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama",A novel self-complementary DNA nanomachine driven by polyelectrolyte,JSPS 6th A3 Symposium,sanya,2008 年 11 月 26 日
 91. "Arihiro Kano, Takeshi Yamano, Izumi Nakamura, Naohiko Shimada, and Atsushi Maruyama",Hydrophilic side chain-graft Poly-L-lysine for gene and drug delivery,JSPS 6th A3 Symposium,sanya,2008 年 11 月 26 日
 92. "Naohiko Shimada, Arihiro Kano, and Atsushi Maruyama", Effect of poly(L-lysine)-graft-dextran on the B-Z transition,JSPS 6th A3 Symposium,sanya, 2008 年 11 月 26 日
 93. "Atsushi Maruyama, Takuma Katayama, Hidetaka Torigoe, Satoshi Obika, Takeshi Imanishi",Synergistic Stabilization of Nucleic Acid Assembly by Nucleic Acid Chemical Modification and Addition of Comb-Type Cationic Copolymers,The 7th ASIA FORESIGHT SYMPOSIUM ON GENE THERAPY AND BIOMATERIALS,International Cooperation Building,2009 年 5 月 25 日,,
 94. "Arihiro Kano, Tsuyoshi Yamano, Izumi Nakamura, Naohiko Shimada, Atsushi Maruyama",The effect of Grafted PEG side chain on the interaction of poly-L-lysine with siRNA,The 7th ASIA FORESIGHT SYMPOSIUM ON GENE THERAPY AND BIOMATERIALS,International Cooperation Building,2009 年 5 月 25 日,,
 95. "Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama",Effect of cationic Comb Type Copolymer on the B-Z transition,The 7th ASIA FORESIGHT SYMPOSIUM ON GENE THERAPY AND BIOMATERIALS,International Cooperation Building,2009 年 5 月 25 日,,
 96. "Jie Du, Naohiko Shimada, Arihiro Kano, Atsushi Maruyama",Novel DNA nanomachines driven by polyelectrolytes as fuels,The 7th ASIA FORESIGHT SYMPOSIUM ON GENE THERAPY AND BIOMATERIALS,Korea,2009 年 5 月 25 日,,
 97. 浜野僚太、望月慎一、嶋田直彦、狩野有宏、寺本彰、阿部康次、丸山厚,肝臓洞内皮細胞の酸性多糖に対する認識特性の解析,第 25 回 DDS 学会学術集会,東京,2009 年 7 月 3 日,,
 98. 狩野有宏、中村いずみ、山野 剛、嶋田直彦、丸山 厚,siRNA との相互作用に及ぼすポリリシン側鎖にグラフトした PEG 鎖の影響,遺伝子・デリバリ?研究会 第 9 回シンポジウム,大阪,2009 年 7 月 11 日,,

99. 徳永修一、嶋田直彦、狩野有宏、丸山 厚,カチオン性くし型共重合体による両親媒性酸性ペプチドの構造制御,第 19 回バイオ・高分子シンポジウム,東京,2009 年 7 月 30
100. 嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,カチオン性くし型共重合体が DNA の B-Z 転移に与える影響,第 5 回 CREST 公開シンポジウム,東京,2009 年 8 月 3 日,,
101. 梶山力、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,高い塩基変異識別能を持つ新規二重鎖 DNA プローブの設計,第 5 回 CREST 公開シンポジウム,東京,2009 年 8 月 3 日,,
102. 石井?智也、村木?健太郎、嶋田?直彦、狩野?有宏、西田?奈央、徳永?勝士、丸山?厚,部分二重鎖プローブおよびカチオン性共重合体を用いたジェノタイピング,第 5 回 CREST 公開シンポジウム,東京,2009 年 8 月 3 日,,
103. "Naohiko Shimada, Arihiro Kano ,Atsushi Maruyama",Design of cationic graft copolymers as a potential inducer of B-Z transition,The 6th International symposium on Nucleic Acid Chemistry, 岐阜,2009 年 9 月 28 日
104. 梶山力、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,高い塩基変異識別能を持つ新規二重鎖 DNA プローブの設計,第 24 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラム,福岡,2009 年 9 月 16 日
105. 徳永修一、嶋田直彦、狩野有宏、丸山 厚,カチオン性くし型共重合体と酸性ペプチドの相互作用解析,第 58 回高分子討論会,熊本,2009 年 9 月 17 日
106. 森山健司、中村いずみ、狩野有宏、丸山厚,ドラッグデリバリー担体としてのポリエチレングリコールグラフト共重合体の評価,第 24 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラム,福岡,2009 年 9 月 16 日
107. 山元美由紀、嶋田直彦、狩野有宏、丸山厚,異なる側鎖を有するカチオン性くし型共重合体の合成,第 24 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラム,福岡,2009 年 9 月 16 日

「秋吉」グループ

- ①招待講演 (国内会議 16 件、国際会議 11 件)
1. 秋吉一成. 機能性多糖ヒドロゲルの設計とバイオマテリアル応用. 環境適合性有機材料フォーラム公開講座 2005. 2005 名古屋 3 月.
 2. 秋吉一成. 分子シャペロン機能工学によるタンパク質の機能、集積制御. ケミカルバイオロジーシンポジウム. 2005 東京 4 月.
 3. 秋吉一成. ナノゲル工学によるバイオマテリアルの設計と DDS 応用. ナノ学会第 3 回大会. 招待講演. 2005 仙台 5 月.
 4. 秋吉一成. ナノゲルおよびリポソームシャペロンによるタンパク質凝集抑制とフォールディング制御. 大阪大学タンパク質研究所セミナー「蛋白質の昼と夜ーフォールディングとミスフォールディング」. 2005 大阪 5 月
 5. 秋吉一成. ナノゲル工学による新規ヒドロゲルの設計とバイオマテリアル応用. ゲルワークショップイン箱根. 2005 箱根 8 月.
 6. 秋吉一成. 再生医療のためのドラッグデリバリーシステム. 第 3 回日本再生歯科医学会学術大会および総会. 2005 東京 9 月.
 7. Akiyoshi, K. "Polysaccharide nanogel engineering and biomedical applications" KIFEE workshop on environment, Energy and Materials, Kyoto, 2005 年 10 月.
 8. 秋吉一成. 「超分子材料ー実用化に向けた新しい展開ー」. 日本学術会議 1 2 回界面シンポジウム. 2005 東京 11 月.
 9. 秋吉一成. ナノゲルに工学による新規ヒドロゲルの設計と機能解析. 第 1 7 回散乱研究会. 2005 東京 11 月.
 10. 秋吉一成. 「生体超分子システムに学ぶバイオマテリアル創製と医療応用」. 日本学術会議 第 1 2 回界面シンポジウム『超分子材料ー実用化に向けた新しい展開ー』. 2005 東京 11 月.
 11. Akiyoshi K. Nanogel Engineering for Drug Delivery System. First Japan-Singapore Symposium on Medical Engineering for Human Amenity, Singapore, March, 2006.
 12. Akiyoshi K. Enzymatic synthesis and characterization of hydrophobized poly(L-lysine)-amylose conjugates. American Chemical Society Meeting, Atlanta, America, March, 2006.

13. Akiyoshi, K.” Enzymatic synthesis and characterization of hydrophobized poly(L-lysine)-amylose conjugates” , 231th ACS National Meeting, Atlanta, America, 2006 年 3 月.
14. Akiyoshi K. Nanogel Engineering for Polymeric Drug Delivery. Particles 2006, Florida, May, 2006.
15. 秋吉一成. ナノゲル工学による新規バイオマテリアルの設計と応用. 第 4 回学術・研究公開-産学連携の新しいスキームを求めて-. 2006 東京 10 月.
16. Akiyoshi K. Physically cross-linked nanogels by associating polymers: Functions and applications. Gordon Research Conference on Polymer Colloids "Polymer Colloids Particles for the Future", Tilton NH, USA, June, 2007.
17. Akiyoshi K. Nanogel Engineering and Biomedical Application. GelSympo2007, Tokyo, Japan, August, 2007.
18. 秋吉一成. ナノゲル工学による新規バイオマテリアルの創製. 「時空間階層構造ソフトマテリアルの技術開発」第 3 回研究会, 東京, 2007 年 9 月.
19. 秋吉一成. ナノゲル工学による新規ヒドロゲルの開発と医療応用. 第 7 回次世代医療システム産業化フォーラム 2007, 大阪, 2007 年 10 月.
20. Akiyoshi K. Artificial chaperones by stimuli-responsive nanogels and application to protein delivery. 2nd Annual International Symposium on Stimuli-Responsive Materials, The University of Southern Mississippi, Hattiesburg, MS, USA, November, 2007.
21. 秋吉一成. 癌免疫治療のための新規デリバリーシステムの開発. 第 3 次対がん 10 年総合戦略 第 2 回合同シンポジウム, 東京, 2008 年 2 月.
22. 秋吉一成. 分子シャペロン機能工学によるタンパク質の集積, 機能制御. 第 2 4 回日本 D D S 学会, 東京, 2008 年 6 月.
23. Akiyoshi K. Hydrogel biomaterials by self-assembly of hydrophobized polysaccharides, 24th International Carbohydrate Symposium, Oslo, Norway, July, 2008.
24. 秋吉一成. 癌免疫治療のためのナノゲル DDS. 第 67 回日本癌学会学術総会, S13 ナノデバイスの癌治療への応用, 名古屋, 2008 年 10 月.
25. Akiyoshi K, Hsegawa U, Shimoda A, Shimizu T, Kishida T, Matsuda O. Nanogel DDS for tumor immunotherapy, The 13th World Congress on Advances in Oncology, and 11th International Symposium on Molecular Medicine, Crete, Greece, October, 2008.
26. 秋吉一成. ナノゲルを用いた DDS. 第 1 9 回高分子ゲル研究会講座, 主題: 機能性ゲルが拓く新しい医療, 東京, 2008 年 12 月.
27. Akiyoshi K. Protein delivery by Polysaccharide Nanogel for Cancer Immunotherapy, MRS fall meeting 2008, Symposium FF: Nanofunctional Materials, Structure, and Devices for Biomedical Applications, Boston, USA, December, 2008.

②口頭講演 (国内会議 17 件、国際会議 6 件)

1. Akiyoshi K, Asayama W, Sawada S, Morimoto N. Artificial Molecular Chaperon by Stimuli-responsive Nanogels: Control of Protein Folding. The 8th SPSJ International Polymer Conference, Fukuoka, Jul, 2005.
2. 朝山和喜子, 長谷川麗, 澤田晋一, 秋吉一成. ナノゲルの分子シャペロン機能とタンパク質キャリアーとしての機能評価. 第 54 回高分子討論会, 山形, 2005 年 9 月.
3. Akiyoshi K, N Ogino, M Yamazaki, N Morimoto, T Narita. Control of self-assembly of alkyl-maltopentaose by enzymatic reaction and application to artificial molecular chaperone. PACIFICHEM 2005, Hawaii, Dec, 2005.
4. 小澤弥生, 佐々木裕哉, 森本展行, 栗田公夫, 北村進一, 秋吉一成. 疎水化クラスターデキストリンのナノゲル形成と機能評価. 第 86 日本化学会春季年会, 2006 千葉 3 月.
5. 森本展行, 岩崎泰彦, 秋吉一成. 固定化人工シャペロンの設計と機能. 第 86 日本化学会春季年会, 2006 千葉 3 月.
6. 菖蒲弘人, 朝山和喜子, 森本展行, 秋吉一成. タンパク質キャリアとしての新規ナノゲルの設計と機能. 第 55 回高分子学会年次大会, 名古屋, 2006 年 5 月.
7. 森本展行, 秋吉一成. 酵素応答性ミセルの創製と人工分子シャペロン機能. コロイドおよび界面化学討論会, 札幌, 2006 年 9 月.
8. 森本展行, 秋吉一成. ナノゲル架橋ゲルの構造特性と人工分子シャペロン機能. 第 55 回高分子討論会, 富山, 2006 年 9 月.
9. 澤田晋一, 菖蒲弘人, 長谷川麗, 秋吉一成. ナノゲルキャリアによるタンパク質・核酸の細

- 胞内デリバリー. 第 28 回日本バイオマテリアル学会, 2006 年 11 月.
10. Morimoto N, Qiu X.-P, Winnik F.M, Akiyoshi K. Temperature dependence of the structure and association of cholesteryl-modified pullulan-poly(N-isopropylacryl amide) hybrid nanogels. 232nd American Chemical Society National Meeting, San Francisco, September, 2006.
 11. 朝山和喜子, 澤田晋一, 森本展行, 秋吉一成. 疎水化多糖ナノゲルを用いた人工分子シャペロンシステムの構築と評価. 第 56 回高分子討論会, 名古屋, 2007 年 9 月.
 12. 玉田純子, 森本展行, 丸山厚, 秋吉一成. 新規人工核酸シャペロンの設計と機能. 第 56 回高分子討論会, 名古屋, 2007 年 9 月.
 13. 玉田純子, 森本展行, 丸山厚, 秋吉一成. 新規ナノゲル核酸シャペロンの開発. 第 29 回日本バイオマテリアル学会大会. 大阪, 2007 年 9 月.
 14. 高橋治子, 澤田晋一, 秋吉一成. 疎水化グリコーゲンの合成と特性評価. 日本化学会第 88 春季年会, 東京, 2008 年 3 月.
 15. 小澤弥生, 森本展行, 秋吉一成. デンドリティック多糖ナノゲルの機能. 日本化学会第 88 春季年会, 東京, 2008 年 3 月.
 16. Morimoto N, Akiyoshi K, Winnik FM. Comparative Study of Responsive Nanogels Using the Temperature Responsive Properties of Poly(N-Isopropylacrylamides) and Poly-(2-Isopropyl-2-Oxazolines) in Water, 236th ACS National Meeting, Philadelphia, PA, USA, August, 2008.
 17. Akiyoshi K, Ayame H, Morimoto N. Intracellular Protein Delivery with Self-Assembled Cationic Nanogels, 236th ACS National Meeting, Philadelphia, PA, USA, August, 2008.
 18. Morimoto N, Winnik FM, Akiyoshi K. Design of Dual Stimuli-Responsive Nanogels by Self-Assembly of Thiol-terminated Poly(N-Isopropylacrylamide)-graft Pullulan, 236th ACS National Meeting, Philadelphia, PA, USA, August, 2008.
 19. 戸井田さやか, 相馬祐輝, 森本展行, 北村進一, 秋吉一成. カチオン性サイクロアミロースによる遺伝子デリバリー. 第 57 回高分子討論会, 大阪, 2008 年 9 月.
 20. 小澤弥生, 森本展行, 秋吉一成. 種々の糖鎖構造を有する疎水化多糖の自己組織化と機能. 第 57 回高分子討論会, 大阪, 2008 年 9 月.
 21. 朝山 和喜子, 秋吉 一成. ナノゲルの人工分子シャペロン機能. 第 57 回高分子討論会, 大阪, 2008 年 9 月.
 22. 森本展行, WINNIK Françoise M., 秋吉一成. 温度応答性ポリマーグラフト化多糖による自己組織化ナノゲルの創製. 第 57 回高分子討論会, 大阪, 2008 年 9 月.
 23. 下田麻子, 秋吉一成. ナノゲル架橋ハイブリッド微粒子の設計と DDS 応用. 第 57 回高分子討論会, 大阪, 2008 年 9 月.

③ポスター発表 (国内会議 32 件、国際会議 8 件)

1. 朝山和喜子, 高木正揮, 澤田晋一, 森本展行, 秋吉一成. ナノゲルシャペロンの構造特性と機能評価. 第 54 回高分子学会年次大会, 横浜, 2005 年 5 月.
2. 森本展行, 荻野成人, 成田正, 秋吉一成. 酵素応答性人工分子シャペロンの設計と機能. 第 54 回高分子学会年次大会, 横浜, 2005 年 5 月.
3. 澤田晋一, 宮澤直美, 野村慎一郎, 秋吉一成. ナノゲル-DNA 複合体の機能. 第 54 回高分子学会年次大会, 横浜, 2005 年 5 月.
4. 山崎美緒, 澤田晋一, 森本展行, 秋吉一成. マルトペンタオース置換ポリリジンの合成と機能. 第 54 回高分子学会年次大会, 横浜, 2005 年 5 月.
5. 小澤弥生, 森本展行, 北村進一, 秋吉一成. 疎水化クラスターデキストリンの合成と会合特性. 第 54 回高分子討論会, 山形, 2005 年 9 月.
6. 澤田晋一, 菖蒲弘人, 宮澤直美, 秋吉一成. 遺伝子キャリアーとしてのナノゲルの機能. 第 54 回高分子討論会, 山形, 2005 年 9 月.
7. 森本展行, 大木崇史, 岩崎泰彦, 秋吉一成. シャペロン機能を有するヒドロゲルの設計と利用. 第 27 回バイオマテリアル学会, 京都, 2005 年 11 月.
8. 宮澤直美, 澤田晋一, 秋吉一成. ナノゲルによる DNA の高次構造制御. 第 27 回バイオマテリアル学会, 京都, 2005 年 11 月.
9. 山崎美緒, 澤田晋一, 森本展行, 秋吉一成. ポリリジン-アミロースコンジュケートと DNA との相互作用. 第 27 回バイオマテリアル学会, 京都, 2005 年 11 月.

10. Morimoto N, Iwasaki Y, Akiyoshi K. Hybrid Nanogels by Using Polymerizable Self-assembling Nanogels. 32nd Annual Meeting of the Controlled Release Society, Miami, , Jun, 2005.
11. Asayama W, Sawada S, Morimoto N, Akiyoshi K. Function of nanogel as artificial molecular chaperone. PACIFICHEM 2005, Hawaii, Dec, 2005.
12. Yamazaki M, Morimoto N, Akiyoshi K. Enzymatic synthesis of amylose-poly (L-lysine) conjugates. PACIFICHEM 2005, Hawaii, Dec, 2005.
13. Morimoto N, Yamazaki M, Akiyoshi K. Enzymatic Synthesis And Characterization of Nanogels By Self-Assembly Of Hydrophobized Poly(L-Lysine)-Amylose Conjugates. Particles 2006, Florida, May, 2006.
14. Ayame H, Asayama W, Morimoto N, Akiyoshi K. Self-Assembled Cationic Nanogels as Protein Carriers. 33rd Annual Meeting of the Controlled Release Society, Vienna, July, 2006.
15. 澤田晋一, 菖蒲弘人, 長谷川麗, 秋吉一成. 核酸キャリアとしての機能化ナノゲル. 第55回高分子討論会, 富山, 2006年9月.
16. 玉田純子, 山崎美緒, 森本展行, 吳隆亮, 高田薫, 崔成源, 丸山厚, 秋吉一成. 糖鎖-ポリ(L-リジン)コンジュゲートナノゲルの設計と機能. 第55回高分子討論会, 富山, 2006年9月.
17. 菖蒲弘人, 朝山和喜子, 森本展行, 秋吉一成. タンパク質キャリアとしてのナノゲルの機能. バイオ関連化学合同シンポジウム, 京都, 2006年9月.
18. 玉田純子, 山崎美緒, 森本展行, 秋吉一成. 新規アミロースプライマーの設計と機能. 第28回日本バイオマテリアル学会, 東京, 2006年11月.
19. 戸井田さやか, 菖蒲弘人, 長谷川麗, 澤田晋一, 秋吉一成. カチオン性ナノゲルによる核酸キャリアの開発と機能評価. 第56回高分子学会年次大会, 京都, 2007年5月.
20. 玉田純子, 山崎美緒, 森本展行, 高田薫, 崔成源, 丸山厚, 秋吉一成. 刺激応答性ポリリジンナノゲルの設計と機能. 第56回高分子学会年次大会, 京都, 2007年5月.
21. 小澤弥生, 森本展行, 秋吉一成. デンドリティック多糖ナノゲルの機能特性. 第23回日本DDS学会, 熊本, 2007年6月.
22. 澤田晋一, 菖蒲弘人, 長谷川麗, 秋吉一成. 多糖ナノゲルによる新規タンパク質・核酸デリバリーシステム. 第23回日本DDS学会, 熊本, 2007年6月.
23. Tamada J, Morimoto N, Maruyama A, Akiyoshi K, Artificial nucleic acid chaperone by cationic nanogel. 1st Asian Biomaterials Congress. December 2007.
24. 相馬祐輝, 戸井田さやか, 栗田公夫, 森本展行, 北村進一, 秋吉一成. 機能性サイクロアミロースの設計とタンパク質デリバリーへの応用. 第57回高分子年次大会, 横浜, 2008年5月.
25. 多田陽子, 澤田晋一, 秋吉一成. ナノゲルシート薄膜の設計と機能. 第57回高分子年次大会, 横浜, 2008年5月.
26. 下田麻子, 長谷川麗, 秋吉一成. ナノゲル架橋ハイブリッド微粒子の設計と機能評価. 第57回高分子年次大会, 横浜, 2008年5月.
27. 高橋 治子, 澤田 晋一, 秋吉 一成. 疎水化グリコーゲンによるナノゲル形成と機能. 第57回高分子年次大会, 横浜, 2008年5月.
28. 山本由香, 長谷川麗, 秋吉一成. ナノゲル架橋ハイドロゲルの設計と特性評価. 第57回高分子年次大会, 横浜, 2008年5月.
29. 海老原梢, 森本展行, 秋吉一成. 固定化人工分子シャペロンの機能評価. 第57回高分子年次大会, 横浜, 2008年5月.
30. Akiyoshi K, Hasegawa U, Toita S, Morimoto N. Nanogel-Crosslinking Hydrogel with Chaperone-like Activity for Tissue Engineering, 8th World Biomaterials Congress, Amsterdam, Netherlands, May, 2008.
31. 下田麻子, 長谷川麗, 秋吉一成, 岸田綱郎, 松田修. ナノゲル架橋名の微粒子の設計とサイトカインデリバリー. 第24回日本DDS学会, 東京, 2008年6月.
32. 山本由香, 長谷川麗, 秋吉一成. ナノゲル架橋ハイドロゲルによるタンパク質の徐放制御. 第24回日本DDS学会, 東京, 2008年6月.
33. 戸井田さやか, 相馬祐輝, 森本展行, 北村進一, 秋吉一成, 岸田綱郎, 松田修. 機能性サイクロアミロースによる遺伝子キャリアの開発. 第24回日本DDS学会, 東京, 2008年6月.
34. Toita S, Soma Y, Morimoto N, Kitamura S, Akiyoshi K. Cationic Cycloamylose for Gene Delivery, XXIV International Carbohydrate Symposium, Oslo, Norway, July, 2008.

35. 小澤弥生, 森本展行, 秋吉一成. 多糖ナノゲルによる新規タンパク質デリバリーシステムの開発. 第3回バイオ関連化学合同シンポジウム, 横浜, 2008年9月.
36. 海老原梢, 森本展行, 秋吉一成. ナノゲル固定化ゲルの人工シャペロン機能. 第57回高分子討論会, 大阪, 2008年9月.
37. 高橋治子, 澤田晋一, 秋吉一成. 細胞親和性ナノゲルの設計と機能. 第57回高分子討論会, 大阪, 2008年9月.
38. 戸井田さやか, 相馬祐輝, 森本展行, 北村進一, 秋吉一成. 機能性サイクロアミロースの遺伝子デリバリーへの応用. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008, 東京, 2008年11月.
39. 小澤弥生, 森本展行, 秋吉一成. タンパク質キャリアとしての多糖ナノゲルの機能評価. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008, 東京, 2008年11月.
40. 朝山和喜子, 秋吉一成. 無細胞タンパク質合成系におけるナノゲルの分子シャペロン機能. 日本生物物理学会第46回年会, 福岡, 2008年12月.

「山名」グループ

①招待講演 (国内会議 0 件、国際会議 1 件)

1. K. Yamana (Univ. of Hyogo), Electrochemical DNA Sensing, *Korea-Japan Symposium on Frontier Photoscience*, Gyeongju, Korea (11/22-25, 2007).

②口頭発表 (国内会議 23 件、国際会議 3 件)

1. 大下義一^{*}、中村光伸^{*}、山名一成^{*}、丸山 厚^{**} (*兵庫県立大院工、**九大先導研)、ビスピレン修飾モレキュラービーコンプローブとその応用、日本化学会第85春季年会(横浜、3/26-29、2005)
2. 織野稔久^{*}、川上直子^{*}、中村光伸^{*}、山名一成^{*} (*兵庫県立大院工)、アントラキノン修飾オリゴヌクレオチドを用いる電気化学的遺伝子検出、日本化学会第85春季年会(横浜、3/26-29、2005)
3. 大歳雲仙^{*}、中村光伸^{*}、山名一成^{*} (*兵庫県立大院工)、複数のピレニルメチル基を糖部2'位に有するピレンRNA コンジュゲートの合成とその性質、日本化学会第85春季年会(横浜、3/26-29、2005)
4. 中村光伸^{*}、大歳雲仙^{*}、福永雄大^{*}、山名一成^{*} (*兵庫県立大院工)、二重らせんRNA上のアロマティックアレイ、光化学討論会(博多、9/12-14、2005)
5. 植田将之^{*}、中村光伸^{*}、山名一成^{*} (*兵庫県立大院工)、レドックスキャップ-ヘアピンDNAによる π スタックを介した電子移動の評価、日本化学会第86春季年会(船橋、3/27-30、2006)
6. 熊本 諭^{*}、中林誉人^{**}、中村光伸^{**}、丸山 厚^{***}、山名一成^{**} (*CREST研究員、**兵庫県立大院工、***九大先導研)、DNA鎖交換法による電気化学DNA一塩基変異の検出、日本化学会第86春季年会(船橋、3/27-30、2006)
7. 下村行徳^{*}、大歳雲仙^{*}、中村光伸^{*}、山名一成^{*} (*兵庫県立大院工)、RNAを利用したピレンアレイの構築、日本化学会第86春季年会(船橋、3/27-30、2006)
8. 斎藤統一^{*}、高山 香^{*}、中村光伸^{*}、山名一成^{*} (*兵庫県立大院工)、ピレン修飾DNAを利用した光電変換反応、日本化学会第86春季年会(船橋、3/27-30、2006)
9. 中村光伸^{*}、下村行徳^{*}、松岡隆誠^{*}、村上陽平^{*}、山名一成^{*} (*兵庫県立大院工)、RNAを利用した自己組織化ピレンアレイの構築とその光化学特性、光化学討論会(仙台、9/10-12、2006)
10. 吉住 純^{*}、熊本 諭^{**}、中村光伸^{*}、山名一成^{*} (*兵庫県立大院工、**CREST研究員)、

- アントラキノン修飾DNAアプタマー固定化チップによるATPの電気化学的検出、日本化学会第87春季年会（吹田、3/25-28、2007）
11. 高山 香*・斉藤統一*、熊本 諭**、中村光伸*、山名一成*（*兵庫県立大院工、**CREST研究員）、金電極上へ固定化したピレン修飾DNAによる光電応答、日本化学会第87春季年会（吹田、3/25-28、2007）
 12. 熊本 諭*、丸山 厚**、中村光伸***、山名一成***（*CREST研究員、**九大先導研、***兵庫県立大院工）、DNA鎖交換法を利用した電気化学DNA一塩基変異検出、日本化学会第87春季年会（吹田、3/25-28、2007）
 13. 渡辺真理子*、熊本 諭**、中村光伸*、山名一成*（*兵庫県立大院工、**CREST研究員）、レドックス修飾DNA固定化チップを利用した遺伝子解析、日本化学会第87春季年会（吹田、3/25-28、2007）
 14. 渡辺真理子*、熊本 諭**、中村光伸*、山名一成*（*兵庫県立大院工、**CREST研究員）、DNA鎖交換を基にした電気化学バイオセンサー、日本化学会第88春季年会（東京、3/26-30、2008）
 15. 吉住 純*、熊本 諭**、中村光伸*、山名一成*（*兵庫県立大院工、**CREST研究員）、アントラキノン修飾DNAアプタマー固定化チップによるATPおよびトロンビンの電気化学的検出、日本化学会第88春季年会（東京、3/26-30、2008）
 16. 高山 香*、中村光伸*、丸山晋二*、山名一成*（*兵庫県立大院工）、新しいピレン修飾ヌクレオチドを利用したDNA変異の光電気化学検出、日本化学会第88春季年会（東京、3/26-30、2008）
 17. 真家賢治*、宮城一貴*、中村光伸*、山名一成*（*兵庫県立大院工）、クロモフォア修飾RNAを担持した金電極の光電気化学特性、日本化学会第88春季年会（東京、3/26-30、2008）
 18. 中村光伸*、村上陽平*、山名一成*（*兵庫県立大院工）、RNA二重らせん形成により構築されるピレンアレイの蛍光特性、光化学討論会（堺、9/11-13、2008）
 19. 真家賢治*、高田忠雄*、中村光伸*、山名一成*（*兵庫県立大院工）、RNAに固定化したドナー・アクセプター間の光誘起電子移動、第3回バイオ関連化学合同シンポジウム、（横浜、9/18-20、2008）
 20. 林英理子*、高田忠雄*、中村光伸*、山名一成*（*兵庫県立大院工）、レドックス修飾DNAアプタマー固定化チップによる生体分子の電気化学検出、日本化学会第89春季年会（船橋、3/27-30、2009）
 21. 渡辺小百合*、高田忠雄*、中村光伸*、山名一成*（*兵庫県立大院工）、ポリメラーゼ伸長反応によるDNAの光機能化、日本化学会第89春季年会（船橋、3/27-30、2009）
 22. 真家賢治*、中村光伸*、高田忠雄*、山名一成*（*兵庫県立大院工）、電子ドナー、アクセプター修飾RNAの合成と性質、日本化学会第89春季年会（船橋、3/27-30、2009）
 23. 長谷川裕介*、高田忠雄*、中村光伸*、山名一成*（*兵庫県立大院工）、フェロセン共役核酸塩基の合成と性質、日本化学会第89春季年会（船橋、3/27-30、2009）
 24. K. Yamana (Univ. of Hyogo), Chemically Modified Oligonucleotides for Fluorescent or Electrochemical Detection of DNA Mutation, *International Symposium on Chemistry, Biological Chemistry, and Materials Science Toward Creation of New Science and Industry Based on Inter-Nanoscience*, Osaka, Japan (2005)
 25. K. Yamana (Univ. of Hyogo), Synthesis of Oligonucleotides Possessing Fluorescent or Electrochemical Tags for the Detection of DNA Mutation, *PACIFICHEM 2005*, Hawaii, USA

(12/15-20, 2005).

26. K. Yamana,* Y. Ohshita,* Y. Fukunaga,* M. Nakamura,* A. Maruyama,** (*Univ. of Hyogo, **Kyushu Univ.), Bis-Pyrene-Oligonucleotide Conjugates: A Monomer-Excimer Switching Probe for Detection of DNA Mismatches, *XVII International Round Table; Nucleoside, Nucleotides and Their Biological Applications*, Bern, Swiss (2006).

③ポスター発表 (国内会議 20件、国際会議 6件)

1. 大下義一*, 中村光伸*, 山名一成*, 丸山 厚** (*兵庫県立大院工、**九大先導研)、ビスピレン修飾モレキュラービーコンプローブとその応用、第51回 高分子研究発表会 (神戸、7/22、2005)
2. 織野稔久*, 熊本 諭**, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工、**CREST研究員)、アントラキノン修飾DNAプローブを利用した一塩基変異の検出、第51回 高分子研究発表会 (神戸、7/22、2005)
3. 大歳雲仙*, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工)、マルチピレン修飾RNAの合成と性質、第51回 高分子研究発表会 (神戸、7/22、2005)
4. 斉藤統一*, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工)、ピレン修飾DNA固定化金電極の作製とその性質、第51回 高分子研究発表会 (神戸、7/22、2005)
5. 神足聖忠*, 熊本 諭**, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工、**CREST研究員)、レドックス修飾DNAの合成とDNAチップへの応用、第52回高分子研究発表会 (神戸、7/21、2006)
6. 下村行徳*, 松岡隆誠*, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工)、RNAを利用したピレンアレイの構築、第52回高分子研究発表会 (神戸、7/21、2006)
7. 植田将之*, 熊本 諭**, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工、**CREST研究員)、電気化学的手法を用いたDNA π スタックを介した電子移動反応の解析、第52回高分子研究発表会 (神戸、7/21、2006)
8. 中林誉人*, 熊本 諭**, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工、**CREST研究員)、ビスピレン修飾DNAプローブとDNA鎖交換反応を利用した一塩基変異の検出、第52回高分子研究発表会 (神戸、7/21、2006)
9. 渡辺真理子*, 熊本 諭**, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工、**CREST研究員)、レドックス修飾DNA固定化チップによる遺伝子解析、第52回高分子研究発表会 (神戸、7/21、2006)
10. 高山 香*, 斉藤統一*, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工)、ピレン修飾DNA固定化金電極の光電変換特性、第52回高分子研究発表会 (神戸、7/21、2006)
11. 斉藤統一*, 高山 香*, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工)、自己組織化膜中のピレンエキシマーからの光電応答、光化学討論会 (仙台、9/10-12、2006)
12. 村上陽平*, 下村行徳*, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工)、RNAをテンプレートとするピレンヘリカルアレイからのエキシマー蛍光、光化学討論会 (松本、9/26-28、2007)
13. 真家賢治*, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工)、ピレン修飾RNAを担持した金電極の光電気化学特性、光化学討論会 (松本、9/26-28、2007)
14. 林英理子*, 熊本 諭**, 中村光伸*, 山名一成* (*兵庫県立大院工、**CREST研究員)、アントラキノン修飾DNAアプタマー固定化チップによるリゾチームの電気化学的検

出、日本化学会第88春季年会（東京、3/26-30、2008）

15. 渡辺小百合^{*}、中村光伸^{*}、山名一成^{*}（*兵庫県立大院工）、フェロセン修飾DNAアプタマーバイオセンサーによるトロンビンの電気化学検出、日本化学会第88春季年会（東京、3/26-30、2008）
16. 村上陽平^{*}、吉本昌吾^{*}、中村光伸^{*}、山名一成^{*}（*兵庫県立大院工）、二本鎖RNAをテンプレートとするピレンヘリカルアレイ、日本化学会第88春季年会（東京、3/26-30、2008）
17. 吉本昌吾^{*}、村上陽平^{*}、中村光伸^{*}、山名一成^{*}（*兵庫県立大院工）、ピレン蛍光を利用したRNAの動的構造解析、日本化学会第88春季年会（東京、3/26-30、2008）
18. 河野裕太^{*}、高田忠雄^{*}、中村光伸^{*}、山名一成^{*}（*兵庫県立大院工）、光脱離性保護基を利用したDNA連結反応、日本化学会第89春季年会（船橋、3/27-30、2009）
19. 谷水陽介^{*}、高田忠雄^{*}、中村光伸^{*}、山名一成^{*}（*兵庫県立大院工）、ピレン修飾三リン酸誘導体の合成と評価、日本化学会第89春季年会（船橋、3/27-30、2009）
20. 福田 稔^{*}、真家賢治^{*}、中村光伸^{*}、高田忠雄^{*}、山名一成^{*}（*兵庫県立大院工）、RNA二本鎖上に構築されたピレン会合体、日本化学会第89春季年会（船橋、3/27-30、2009）
21. M. Nakamura,^{*} Y. Ohtoshi,^{*} K. Yamana,^{*} (*Univ. of Hyogo), Helical Alignment of Pyrenes Along Double Helical RNA, *PACIFICHEM 2005*, Hawaii, USA (12/15-20, 2005).
22. Y. Ohtoshi,^{*} Y. Shimomura,^{*} K. Yamana,^{*} (*Univ. of Hyogo), Excimer Fluorescence from Pyrene Array on RNA Duplex, M. Nakamura, *XXIst IUPAC Symposium on Photochemistry*, Kyoto, Japan (4/2-7, 2006).
23. Y. Kawano,^{*} T. Takada,^{*} M. Nakamura,^{*} K. Yamana,^{*} (*Univ. of Hyogo), DNA Ligation by Thiol-Disulfide Exchange Reaction, *International Symposium of East Asian Young Scientists Follow-up Program on Environment- and Bio-Engineering*, Himeji, Japan (9/7, 2009).
24. Y. Tanimizu,^{*} T. Takada,^{*} M. Nakamura,^{*} K. Yamana,^{*} (*Univ. of Hyogo), Synthesis and Characterization of Deoxyuridine Triphosphates Labeled with Pyrene, *International Symposium of East Asian Young Scientists Follow-up Program on Environment- and Bio-Engineering*, Himeji, Japan (9/7, 2009).
25. Y. Hasegawa,^{*} M. Nakamura,^{*} T. Takada,^{*} K. Yamana,^{*} (*Univ. of Hyogo), Synthesis and Hybridization of Oligonucleotides Attached to a Redox Reporter Via Ethynyl Linker at 5-Position of Pyrimidine Base, *International Symposium of East Asian Young Scientists Follow-up Program on Environment- and Bio-Engineering*, Himeji, Japan (9/7, 2009).
26. M. Fukuda,^{*} M. Nakamura,^{*} T. Takada,^{*} K. Yamana,^{*} (*Univ. of Hyogo), Duplex Formation of Multiple Pyrene-Modified RNAs, *International Symposium of East Asian Young Scientists Follow-up Program on Environment- and Bio-Engineering*, Himeji, Japan (9/7, 2009).

「中谷」グループ

①招待講演（国内会議 19件、国際会議 10件）

1. 中谷和彦、光による遺伝子制御、第7回 分子ダイナミック分光ワークショップ「生物における光情報伝達と光・量子ドットの情報物理」、浜松、平成17年7月7、8日
2. 中谷和彦、小さな分子で遺伝子を捕まえるーミスマッチ検出化学センサーの開発ー、学術振興会第174委員会研究会、京都、平成18年2月27日
3. 中谷和彦、核酸を精密に認識する分子の開発と展開、産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門 RICE セミナー、産業技術総合研究所 大阪池田、平成18年2月20日

4. 中谷和彦、核酸を精密に認識する分子の開発と展開、東京工業大学21世紀COEプログラム「分子多様性の創出と機能開拓」第4回公開シンポジウム、東京工業大学、平成18年1月28日
5. 中谷和彦、核酸を捕まえる有機分子の設計と利用、理研シンポジウム第9回「生体分子の化学」、理化学研究所和光、平成18年1月27日
6. 中谷和彦、DNA 特異構造を認識する分子の設計とケミカルバイオロジーへの応用、第5回材料科学研究科セミナー、北陸先端科学技術大学院大学、平成17年11月25日
7. Kazuhiko Nakatani, Studies on the Chemical Sensors Detecting Genetic Mutations, Hybrid Nano Materials for Future Industries 2006, Nagaoka, February 4, 2006.
8. Kazuhiko Nakatani, Mismatch Binding Ligands Discovery and Applications, The 12th Japan-Korea Seminar on Organic Chemistry, Tokyo, September 13, 2005.
9. Kazuhiko Nakatani, Small Molecular Ligand Selectively Binding to Cytosine Bulge in DNA, Pacificchem 2005, Hawaii, 2005.
10. DNA 特異構造を認識する分子の開発と応用、中谷和彦、第33回有機反応懇談会、同志社大学、京都、2006
11. 低分子によるリピート DNA 配列の認識、中谷和彦、千里ライフサイエンスセミナー、大阪、2006
12. 二次構造による DNA 標識、中谷和彦、大阪大学蛋白質科学研究所セミナー、大阪、2007
13. 小分子プローブを使った実用的 SNP タイピング法の開発を目指して、中谷和彦、名古屋コンファレンス、名古屋大学、名古屋、2007.
14. 遺伝子特異配列の小分子による認識、中谷和彦、日本化学会第87春季年会特別講演、関西大学、大阪、2007
15. 遺伝子リピート配列を検出する化学センサーの開発、中谷和彦、日本薬学会第127年会、富山、2007
16. Molecular Design and Applications of Mismatch Binding Ligands, Kazuhiko Nakatani, The 11th Korea-Japan Joint Symposium on Drug Design and Development, Jedu Island, Korea, 2006.
17. Molecular Glue for DNA, Kazuhiko Nakatani, 2006 Mini-Symposium on the Frontiers of Organic/Bioorganic Chemistry, POSTECH, Pohang, Korea, 2006.
18. K. Nakatani, Molecular Glue for DNA, The 13th Korea-Japan Seminar on Organic Chemistry, Daejeon Korea, October 26-28 2007.
19. K. Nakatani, Mismatch-Binding Ligands: Chemistry Approach to Genotyping, 10th Anniversary of Kazusa ARC International Symposium on Advanced Functional Genomics, Kazusa Japan, Oct 11-12.
20. 中谷和彦、核酸リピート配列のターゲッティング、第30回日本分子生物学会年会第80回日本生化学会大会合同大会、横浜、2007年12月11日
21. 中谷和彦、ゲノム情報を活用した分子合成、SORST ジョイントシンポジウム「有機合成力」、品川、2008年1月28-29日
22. 中谷和彦、DNA の特異構造を認識する小分子の創成に関する研究、日本化学会第25回学術賞受賞講演、東京、2008年3月27日
23. K. Nakatani, 金表面上でのリガンド-RNA 相互作用の光制御、26th Conference on Combinatorial Chemistry Japan, Osaka University, April 23, 2008
24. K. Nakatani, ミスマッチ結合分子による核酸リピート配列のターゲッティング、日本ケミカルバイオロジー研究会第3回年会、平成20年5月19-20日、学術総合センター
25. K. Nakatani, 金表面上での低分子-DNA、RNA 相互作用の光制御、第5回東レ先端融合研究シンポジウム「最先端のバイオナノ融合研究」、June 18, 2008、東レ先端融合研究所
26. K. Nakatani, Controlling Hybridization by Molecular Glue for DNA, International Conference

- in Organic Synthesis (ICOS-17), Daejeon Conference Center, Daejeon, Korea, June 23 - 27, 2008
27. K. Nakatani, DNA の特異構造を認識する分子の創製、第 43 回天然物化学談話会、平成 20 年 7 月 10-12 日、ホテル阪急エキスポパーク
 28. K. Nakatani, Recognition of Mismatched Base Pairs by Small Synthetic Ligands, International Symposium of Molecular Recognition of DNA: Biological Application, September 18, 2008, Kyoto University
 29. K. Nakatani, DNA sensing and architecture, RIKEN conference 2008 on Chemical Biology, Radisson Hotel Narita, November 12-15, 2008

②口頭発表 (国内会議 17 件、国際会議 2 件)

1. Tao Peng、中谷 (大阪大学)、Molecular labeling of the CGG trinucleotide repeat、核酸化学シンポジウム、福岡、2005 年。
2. 林剛介、中谷和彦 (大阪大学)、L-DNA タグによる PCR 産物のラベル化とバイオテクノロジーへの応用、日本化学会春季年会、千葉、2006 年
3. 武井史恵、萩原正規、張 錦華、中谷和彦 (大阪大学)、N,N'- (3-aminopropyl)-2,7-diamino-1,8-naphthyridine による一塩基変異検出、日本化学会春季年会、千葉、2006 年
4. 彭 涛、中谷和彦 (大阪大学)、CGG トリヌクレオチドリピートの分子ラベル化、日本化学会春季年会、千葉、2006 年
5. トリプレットリピート結合性低分子による DNA 伸長阻害、萩原正規、中谷和彦、日本ケミカルバイオロジー研究会 第 1 回年会、東京、2006 年
6. 林剛介、萩原正規、堂野主税、中谷和彦 (大阪大学)、光による RNA とペプチドの可逆的結合制御、日本化学会春季年会、大阪、2007 年
7. 中谷和彦 (大阪大学)、Molecular Glue for DNA、産研・ナノテクノロジーセンター国際合同シンポジウム 2006、大阪大学 銀杏会館、2006 年 9 月 19 日(火)~20 日(水)
8. 堂野主税、中谷和彦 (大阪大学)、小分子リガンドによる核酸二本鎖構造のコントロール、齋藤シンポジウム ゲノム化学の最先端-医学・分子生物学への応用と展開、日本大学工学部 50 周年記念館講堂(福島、郡山市)、9 月 15 日~16 日
9. Control of DNA hybridization by photoswitchable mismatch binding ligands、Chikara Dohno, Shin-nosuke Uno and Kazuhiko Nakatani、第 33 回核酸化学シンポジウム、大阪大学、2006.11.20-11.22
10. 宇野真之介、堂野主税、奥美華、中谷和彦、光応答性ミスマッチ結合分子の開発、第 87 日本化学会春季年会、関西大学千里山キャンパス、2007.3.25-3.28
11. 堂野主税、彭涛、中谷和彦、熱分解性ミスマッチ結合分子による DNA 二本鎖会合制御、第 87 日本化学会春季年会、関西大学千里山キャンパス、2007.3.25-3.28
12. 武井史恵・萩原正規・張 錦華・中谷和彦、ヘアピン構造を持つプライマーを使った遺伝子一塩基多型の蛍光検出、第 87 日本化学会春季年会、関西大学千里山キャンパス、2007.3.25-3.28
13. 林剛介、萩原正規、堂野主税 中谷和彦、Reversible Control of DNA Hybridization by Photoresponsive Ligands、第 5 回国際核酸化学シンポジウム、東京大学、2007 年 11 月 20 日
14. 萩原正規、中谷和彦、有機小分子化合物が誘起するヒトテロメアの構造変化、日本化学会第 88 春季年会、立教大学、2008 年 3 月 26 日(水)午後~30 日(日)
15. 宇野真之介、堂野主税、奥美華、坂井俊、中谷和彦、DNA の二本鎖会合制御に向けた光応答性ミスマッチ結合分子の開発 (2)、日本化学会第 88 春季年会、立教大学、2008 年 3 月 26 日(水)午後~30 日(日)
16. 張 錦華、梅本 詩織、堂野主税、中谷和彦、キサントン誘導体を蛍光指示薬として用いた RNA-リガンド相互作用の評価、日本化学会第 88 春季年会、立教大学、2008 年 3 月 26 日(水)午後~30 日(日)

17. 坂井俊、堂野主税、中谷和彦、DNA の二本鎖会合制御に向けた 光応答性ミスマッチ結合分子の開発 (1)、日本化学会第 88 春季年会、立教大学、2008 年 3 月 26 日(水)午後～30 日(日)
18. 堂野主税、宇野真之介、中谷和彦、DNA 分子糊による核酸二次構造の制御、日本化学会第 88 春季年会、立教大学、2008 年 3 月 26 日(水)午後～30 日(日)
19. 堂野主税、小分子を用いた DNA 二本鎖形成の光可逆的制御、2008 年 11 月 10 日-11 日、大阪大学産業科学研究所 第 4 回ナノテクノロジーセンター研究会

③ポスター発表 (国内会議 22 件、国際会議 16 件)

1. 後藤、小堀、須田、中谷 (京都大学)、Separation of mismatched DNA by using the affinity column immobilizing mismatch-binding ligands、核酸化学シンポジウム、東京、2004 年.
2. 小堀、タオ、林、中谷 (京都大学)、SPR fingerprinting of mismatched base pair、核酸化学シンポジウム、東京、2004 年.
3. 林、萩原、中谷 (京都大学、大阪大学)、Application of L-DNA as a molecular tag、核酸化学シンポジウム、福岡、2005 年.
4. 萩原正規、中谷和彦 (大阪大学)、d(CAG)トリプレットリピート結合性低分子による DNA 伸長阻害、第 33 回 核酸化学シンポジウム、大阪、2006 年
5. 堂野主税、中谷和彦、光応答性ミスマッチ安定化分子の開発と応用、光化学討論会、東北大学川内キャンパス、2006.9.10-9.12.
6. Y. Tozuka, Y. Yoshikawa, H. Ohishi (大阪薬科大学), Y. Kobayashi, D.-Y. Zhou and K. Nakatani (大阪大学). Measurement of circular dichroism and structural chemical research of d(CG)₆ and d(TA)₆, Thirty-third Symposium on Nucleic Acid Chemistry, Osaka, 2006.
7. 萩原正規、中谷和彦 (大阪大学)、Inhibition of DNA replication by a d(CAG) repeat binding ligand、21 世紀 COE プログラム国際シンポジウム、兵庫、2006 年
8. 堂野主税、中谷和彦 (大阪大学)、Synthesis and evaluation of photo-responsive mismatch binding ligands、産研・ナノテクノロジーセンター国際合同シンポジウム 2006、大阪大学 銀杏会館、2006 年 9 月 19 日(火)～20 日(水)
9. 堂野主税、中谷和彦、光応答性ミスマッチ結合分子の開発、第 62 回産研学術講演会、大阪大学、2006.11
10. Fumie Takei, Masaki Hagihara, Jinhua Zhang, Kazuhiko Nakatani (大阪大学), Fluorescent Determination of SNPs by C-Bulge Binding Ligand, XXIst IUPAC Symposium on Photochemistry, Kyoto, April 2006
11. Fumie Takei, Masaki Hagihara, Jinhua Zhang, Kazuhiko Nakatani (大阪大学), Fluorescent Determination of SNPs Using N,N-bis(3-aminopropyl)-2,7-diamino-1,8-naphthyridine, XVII International Roundtable on Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids, Bern, Switzerland, 2006
12. Gosuke Hayashi, Kazuhiko Nakatani (大阪大学), Application of L-DNA as molecular tag, XVII International Roundtable on Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids, Bern, Switzerland, 2006
13. Tao Peng, Chikara Dohno, Kazuhiko Nakatani (大阪大学), Mismatch Binding Ligands Function as Molecular Glue of DNA, XVII International Roundtable on Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids, Bern, Switzerland, 2006
14. Fumie TAKEI, Masaki HAGIHARA, Jinhua ZHANG, Kazuhiko NAKATANI (大阪大学), Fluorescent Determination of SNPs by C-Bulge Binding Ligand N, N'-bis (3-aminopropyl)-2,7-diamino-1,8-naphthyridine, Sanken International Symposium on Nanoscience and Nanotechnology 2006, Osaka, 2006 年
15. Dohno, C., Peng, T., Nakatani, K. (大阪大学)、Mismatch-Binding Ligands as a Molecular Glue for DNA, 7th International Meeting on Recognition Studies in Nucleic Acids University of Sheffield, 2007 年 4 月 1 日-5 日

16. 萩原正規、中谷和彦 (大阪大学)、有機小分子化合物が引き起こすヒテロメアの構造変化 第 2 回日本ケミカルバイオロジー研究会年会、京都大学 時計台記念館内、2007 年 5 月 9 日-10 日
17. 堂野主税、宇野真之介、中谷和彦 (大阪大学)、光応答性 DNA 分子糊の開発、第 2 回日本ケミカルバイオロジー研究会年会、京都大学 時計台記念館内、2007 年 5 月 9 日-10 日
18. 宇野真之介、堂野主税、奥美華、中谷和彦 (大阪大学)、光応答性ミスマッチ結合分子の開発、第 34 回有機反応懇談会、大阪府立大学 学術交流会館、2007 年 7 月 27 日
19. 堂野主税、宇野真之介、中谷和彦 (大阪大学)、小分子リガンドによる DNA 二本鎖形成の光制御、2007 年光化学討論会、信州大学松本キャンパス、2007 年 9 月 26 日-28 日
20. 萩原正規、中谷和彦 (大阪大学)、有機小分子化合物によるヒテロメア伸長阻害、第 22 回生体機能関連化学シンポジウム、東北大学 多元物質科学研究所、2007 年 9 月 28 日-29 日
21. Shin-nosuke Uno, Chikara Dohno, Mika Oku, Kazuhiko Nakatani (大阪大学)、Reversible Control of DNA Hybridization by Photoresponsive Ligands、第 5 回国際核酸化学シンポジウム (第 34 回核酸化学シンポジウム)、東京大学安田講堂、2007 年 11 月 20 日-22 日
22. 堂野主税、宇野真之介、中谷和彦 (大阪大学)、光応答性 DNA 分子糊による DNA 二本鎖会合制御、SORST ジョイントシンポジウム (8) コクヨホール、2008 年 1 月 29 日-30 日
23. Tsuyoshi Yamamoto, Chikara Dohno, Shin-nosuke Uno, Kazuhiko Nakatani (大阪大学)、Switching DNA hybridization by a molecular glue for DNA、第五回 21 世紀 COE プログラム国際シンポジウム「新産業創造指向インターナノサイエンス」、淡路夢舞台国際会議場、2008 年 2 月 4 日-5 日
24. Shiori Umemoto, Jinhua Zang, Kazuhiko Nakatani (大阪大学)、Displacement Assay For RNA-ligand Interactions, Using Ligand's Fluorescent Property、第五回 21 世紀 COE プログラム国際シンポジウム「新産業創造指向インターナノサイエンス」、淡路夢舞台国際会議場、2008 年 2 月 4 日-5 日
25. 武井 史恵、岡 芳美、萩原 正規、曾家 義博、中谷 和彦、シトシンパルジ-ヘアピンプライマーを使った革新的遺伝子変異の蛍光検出、2008 年 5 月 19 日-5 月 20 日、日本ケミカルバイオロジー研究会第 3 回年会
26. 林剛介、萩原正規、堂野主税、中谷和彦 金表面上への光照射による RNA-ペプチド複合体の可逆的相互作用、2008 年 5 月 19 日-5 月 20 日、日本ケミカルバイオロジー研究会第 3 回年会
27. 宇野真之介、堂野主税、奥美華、坂井俊、中谷和彦、光応答性ミスマッチ結合リガンドの合成と評価、日本ケミカルバイオロジー研究会第 3 回年会、2008 年 5 月 19 日-5 月 20 日
28. Shin-nosuke Uno, Chikara Dohno, Mika Oku, Shun Sakai and Kazuhiko Nakatani, Synthesis and evaluation of photoresponsive molecular Glue for DNA, IUPAC ICOS-17, 17th International Conference on Organic Synthesis, 2008.6.22-27.
29. Fumie Takei, Masaki Hagihara, Yoshimi Oka, Kazuhiko Nakatani, THE FLUORESCENT DETECTION OF SINGLE NUCLEOTIDE DIFFERENCE USING CYTOSINE BULGE HAIRPIN PRIMERS, XXII IUPAC SYMPOSIUM ON PHOTOCHEMISTRY 2008, 2008 年 7 月 28 日-8 月 1 日
30. Dohno, C.; Uno, S.; Yamamoto, T.; Sakai, S.; Nakatani, K., Reversible control of DNA hybridization by a small synthetic ligand, 第 5 回集積型合成国際シンポジウム (ISIS-5), 2008 年 9 月 5 日-6 日
31. Shiori Umemoto, Jinhua Zhang, Chikara Dohno and Kazuhiko Nakatani, Fluorescent Ligand as a molecular probe for the RNA structure, Joint Symposium of 18th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids (IRT XVIII) and 35th International Symposium

- on Nucleic Acids Chemistry, 2008.9.8-12
32. Yoshimi Oka, Tao Peng, Fumie Takei and Kazuhiko Nakatani, The reaction of cytosine with bisulfite by base flipping from the duplex, Joint Symposium of 18th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids (IRTXVIII) and 35th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, 2008.9.8-12
 33. Gosuke Hayasi, Masaki Hagihara, and Kazuhiko Nakatani RNA aptamers that reversibly bind to photoresponsive peptide, Joint Symposium of 18th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids (IRTXVIII) and 35th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, 2008.9.8-12
 34. 萩原 正規, 中谷 和彦, グアニンリッチ RNA 配列に構造変化を誘起する小分子化合物, 第3回バイオ関連化学合同シンポジウム 2008, 2008年9月18日-20日
 35. 林 剛介, 萩原 正規, 中谷 和彦, 第3回バイオ関連化学合同シンポジウム 2008, 2008年9月18日-20日
 36. 坂井 俊, 宇野 真之介, 堂野 主税, 中谷 和彦, 第3回バイオ関連化学合同シンポジウム 2008, 2008年9月18日-20日
 37. 山本 剛史, 堂野 主税, 中谷 和彦, 第3回バイオ関連化学合同シンポジウム 2008, 2008年9月18日-20日
 38. 堂野主税、中谷和彦, 光応答性 RNA 結合リガンドの合成と評価-20日、第3回バイオ関連化学合同シンポジウム 2008, 2008年9月18日

(4)知財出願

「丸山」グループ

①国内出願 (3件)

1. 発明の名称:RNA含有組成物
発明者:佐藤あゆみ、平井美和、高木基樹、嶋本顕、丸山厚、チェ ソンウォン、狩野有宏
出願人:(国)九州大学、(株)ジーンケア研究所
出願日:平成17年5月16日
出願番号:特願 2005-142420
2. 発明の名称:核酸結合性物質の評価法
発明者:丸山厚、新谷彩、東條野歩、山吉麻子、狩野有宏
出願人:丸山厚、旭化成株式会社
出願日:平成18年9月4日
出願番号:特願 2006-238752
3. 発明の名称:核酸ハイブリダイゼーション用溶液
発明者:丸山厚、狩野有宏
出願人:旭化成株式会社、丸山厚
出願日:平成19年5月9日
出願番号:特願 2007-124640

②国外出願 (0件)

「中谷」グループ

① 国内出願 (3件)

1. 発明の名称:ミスマッチ塩基対検出分子およびミスマッチ塩基対検出方法、並びにその利用
発明者:中谷和彦、後藤佑樹、ペン タオ、小堀哲生
出願人:(国)京都大学
出願日:平成16年10月7日
出願番号:特願 2004-295238

2. 発明の名称:一塩基多型の検出方法
発明者:中谷和彦、須田仁志、小堀哲夫
出願人:(国)京都大学
出願日:平成17年2月1日
出願番号:特願 2005-025644
3. 発明の名称:PCR プライマー、それを利用した PCR 法及び PCR 増副産物、並びに PCR 増副産物を利用するデバイス
発明者:中谷和彦、林剛介
出願人:(国)京都大学
出願日:平成17年3月4日
出願番号:特願 2005-061429

(5)受賞・報道等

①受賞

1. 丸山厚、平成 17 年 2005 日本バイオマテリアル学会 学会賞(学術)
2. 中谷和彦、第 19 回日本 IBM 科学賞、「核酸を精密に認識する有機分子の開発と展開」、2005 年 12 月
3. 中谷和彦、平成 17 年度大阪大学教育・研究功績賞、2006 年 2 月
4. 中谷和彦、第 25 回日本化学会学術賞、「DNA の特異構造を認識する小分子の創成に関する研究」、2008 年 3 月
5. 中谷和彦、第 40 回市村学術賞貢献賞、「ミスマッチ結合分子の創製、遺伝子検査技術への応用」、2008 年 4 月
6. 中谷和彦、第 26 回大阪科学賞、「DNA ミスマッチ塩基対を認識する分子の創製」、2008 年 10 月
7. 中谷和彦、平成 20 年度大阪大学教育・研究功績賞、2009 年 2 月

②マスコミ(新聞・TV等)報道

1. 中谷和彦、NHK 朝のニュース、2008 年 10 月、大阪科学賞の受賞について

③その他

なし

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

なし

②社会還元的な展開活動

なし

§ 6 研究期間中の主な活動（ワークショップ・シンポジウム等）

年月日	名称	場所	参加人数	概要
H18 年 1 月 22 日-24 日	核酸キャリアに関する日 中韓フォアサイト事業セ ミナー	鹿児島	37	カチオン性高分子の遺伝子 キャリア等への応用に関す るセミナー
H18 年 8 月 2 日	チーム内ミーティング	東京	9	研究進捗および計画の確認
H19 年 7 月 24 日-25 日	核酸キャリアに関する日 中韓フォアサイト事業ワ ークショップ	福岡	37	遺伝子キャリアに関する若 手研究者交流
H19 年 8 月 3 日	チーム内ミーティング	東京	8	研究進捗および計画の確認
H19 年 12 月 5 日-8 日	核酸キャリアに関する日 中韓フォアサイト事業セ ミナー	東京	30	カチオン性高分子の遺伝子 キャリア等への応用に関す るセミナー
H20 年 10 月 24 日	チーム内ミーティング	姫路	15	研究進捗および計画の確認

§ 7 結び

本研究課題は、JST さきがけ研究で支援いただいた核酸シャペロン活性を有する高分子材料の設計に基盤を置いている。当初は遺伝子キャリアを目的として合成した高分子材料と核酸との相互作用をあれこれと調べているうちに、意外な実験結果に触れた。もしかしたらと思い核酸シャペロンとしての機能を評価した結果、思いもよらない活性を見いだした。既に 10 年前になる。当時は、タンパク質に対する分子シャペロンが注目されていた。しかし、核酸に対する分子シャペロンを耳にすることは無かった。自然界に存在するのかしないのか知らないうちに、人工 DNA シャペロンという言葉勝手に使いはじめた。天然にも存在するのかという質問を良く受けた。文献の検索を繰り返し、自然界における核酸シャペロンが論文(論文では RNA シャペロンとなっている)に記載されているの知ったのは、それから随分と後になる。

さきがけ研究で遺伝子解析への展開に関して、初歩的なデータが得られ、それを眺めているうちに、一つの実験結果が気になった。そのことを考えているうちに、新しい核酸プローブの発想に至り、CREST への提案を行った。こちらも意外な結果からの着想であった。実用レベルの遺伝子解析法を求められる課題であったが、この間にもセレンディピティにあふれる現象、発見に触れることができたのは、研究者として極めて幸運であった。CREST 研究の支援により恵まれた研究環境とじっくりと研究に取り組める時間を支援されたことは大きい。とりわけ、高分子の核酸シャペロン効果については、様々な核酸構造に展開することができ、予想以上に波及性が有ることが見いだされ、合成高分子によりこんなにも核酸構造を制御さらに言えば操れるものかと、正直驚いてもある。さらに展開させることで核酸の分子生物学にも一石を投げられると感じている。今では、「核酸シャペロン」も多くの方々に知っていただけるようになった。

遺伝子解析への応用展開では、基礎的レベルで、つまり化学者が化学物質として核酸を扱う範囲では順調に進展した。一方、実際的な遺伝子解析法としてシステムを作り上げるうえでは、生物、医学的、そして何よりも遺伝子解析分野での知識が不足していたこともあり、苦難を要した。生体サンプルからどのような過程を経て解析段階に導くか、あるいは日々進展するバイオ技術の中でタイムリーに解析システムに求められるはどのようなものかなど、課題は山積みであった。そんな状況下で、本領域のアドバイザーの先生方からの助言に活路が見いだされた。とりわけ、東大・徳永先生との共同研究により、遺伝子解析法としてプロトタイプレベルのシステムを作り上げることができた。先行技術に対して、適わない面もはっきりする一方、自分たちのシステムの長所も実際的なレベルで計り知ることができるようになった。基礎的な研究に踏みとどまっているだけでは得ることができない知見である。元来、生医学材料分野と学際領域で研究を行ってきたが、異分野連携の重要性を再度身に染みて感じた。このことは、本研究に携わった学生、スタッフに深く刻まれていると確信する。CREST 型の研究課題ならではのメリットと思う。

異なる分野にも関わらず前向きなサポートやいろいろな視点からのアドバイスを頂いた研究総括の笹月健彦先生およびアドバイザーの先生方に深く御礼を申し上げる。また、無理をお願いすることが多々あったが快く対応していただき暖かくご支援いただいた領域事務の方々に感謝申し上げます。また、頼りないチームリーダーを常に支え、また協力的にプロジェクトに尽力頂いたチームメンバーおよびその共同研究者に御礼する。最後に、本研究課題に関わって日夜手を動かしてくれた学生、スタッフに深く感謝の意を表したい。

丸山研スナップ



中谷研究室のスナップ

