

領域略称名：多元応答ゲノム

領域番号： 21B208

科学研究費助成事業 学術変革領域研究(B)

に係る研究成果報告書

令和3年度～令和5年度

「核酸構造による生物種を超えた
多元応答ゲノムの機構の解明」

令和6年6月

領域代表者 建石 寿枝

甲南大学・先端生命工学研究所・准教授

目次

1.	研究組織	3
2.	交付決定額	4
3.	領域の目的・概要	5
4.	研究発表	7
5.	研究成果	25
6.	総括	46

1. 研究組織

<総括班>

課題名：核酸構造による生物種を超えた多元応答ゲノムの機構の解明

課題番号：21H05107

研究代表者：建石 寿枝（甲南大学，先端生命工学研究所，准教授）

研究分担者：今西 未来（京都大学，化学研究所，准教授）

研究分担者：遠藤 玉樹（甲南大学，先端生命工学研究所，准教授）

<計画研究>

A01 班

課題名：生物種の分類枠組みを超えた網羅解析による多元応答深化の解明

課題番号：21H05108

研究代表者：遠藤 玉樹（甲南大学，先端生命工学研究所，准教授）

研究分担者：凌 一葦（新潟大学，医歯学系，助教）

研究協力者：奥田 修二郎（新潟大学，医学部メディカル AI センター，教授）

A02 班

課題名：細胞内環境評価系を用いた多元応答機構の解明と多元応答ゲノムバンクの開発

課題番号：21H05109

研究代表者：建石 寿枝（甲南大学，先端生命工学研究所，准教授）

研究分担者：鶴岡 孝章（甲南大学，フロンティアサイエンス学部，准教授）

研究協力者：松本 咲（甲南大学，先端生命工学研究所，准教授）

（令和 3 年 4 月－5 年 9 月まで）

A03 班

課題名：細胞・個体における環境応答性核酸構造体の多元機能

課題番号：21H05110

研究代表者：今西 未来（京都大学，化学研究所，准教授）

研究分担者：安喜 史織（奈良先端科学技術大学院大学，先端科学技術研究科，助教）

2. 交付決定額(配分額)**全体**

	合計	直接経費	間接経費
令和 3 年	45,500 千円	35,000 千円	10,500 千円
令和 4 年	45,500 千円	35,000 千円	10,500 千円
令和 5 年	45,500 千円	35,000 千円	10,500 千円
総計	136,500 千円	105,000 千円	31,500 千円

総括班

	合計	直接経費	間接経費
令和 3 年	3,640 千円	2,800 千円	840 千円
令和 4 年	2,730 千円	2,100 千円	630 千円
令和 5 年	2,730 千円	2,100 千円	630 千円
総計	9,100 千円	7,000 千円	2,100 千円

計画研究**A01 班**

	合計	直接経費	間接経費
令和 3 年	13,650 千円	10,500 千円	3,150 千円
令和 4 年	13,650 千円	10,500 千円	3,150 千円
令和 5 年	13,650 千円	10,500 千円	3,150 千円
総計	40,950 千円	31,500 千円	9,450 千円

A02 班

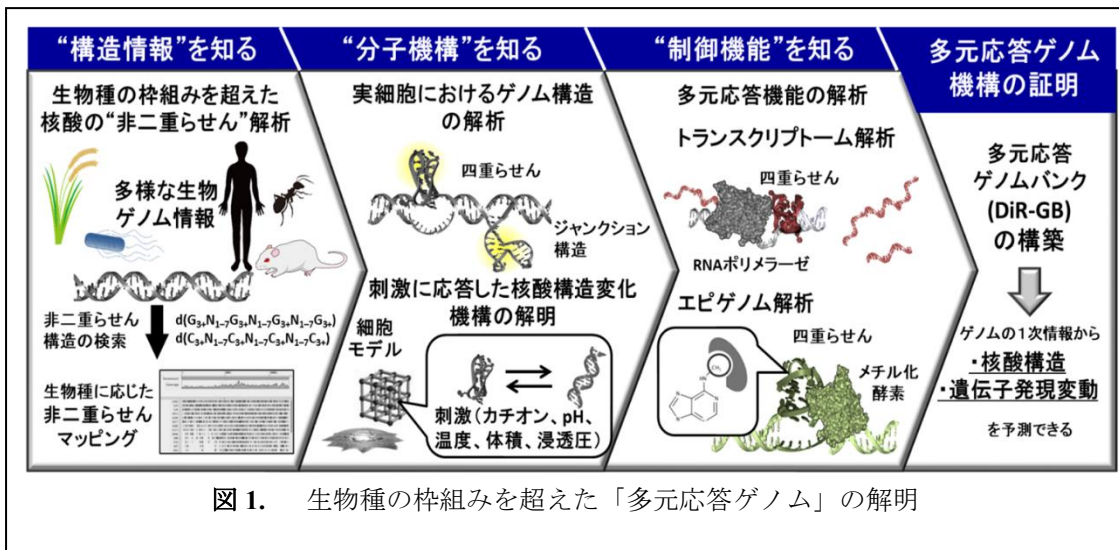
	合計	直接経費	間接経費
令和 3 年	13,650 千円	10,500 千円	3,150 千円
令和 4 年	13,650 千円	10,500 千円	3,150 千円
令和 5 年	13,650 千円	10,500 千円	3,150 千円
総計	40,950 千円	31,500 千円	9,450 千円

A03 班

	合計	直接経費	間接経費
令和 3 年	14,560 千円	11,200 千円	3,360 千円
令和 4 年	15,470 千円	11,900 千円	3,570 千円
令和 5 年	15,470 千円	11,900 千円	3,570 千円
総計	45,500 千円	35,000 千円	10,500 千円

3. 領域の目的・概要

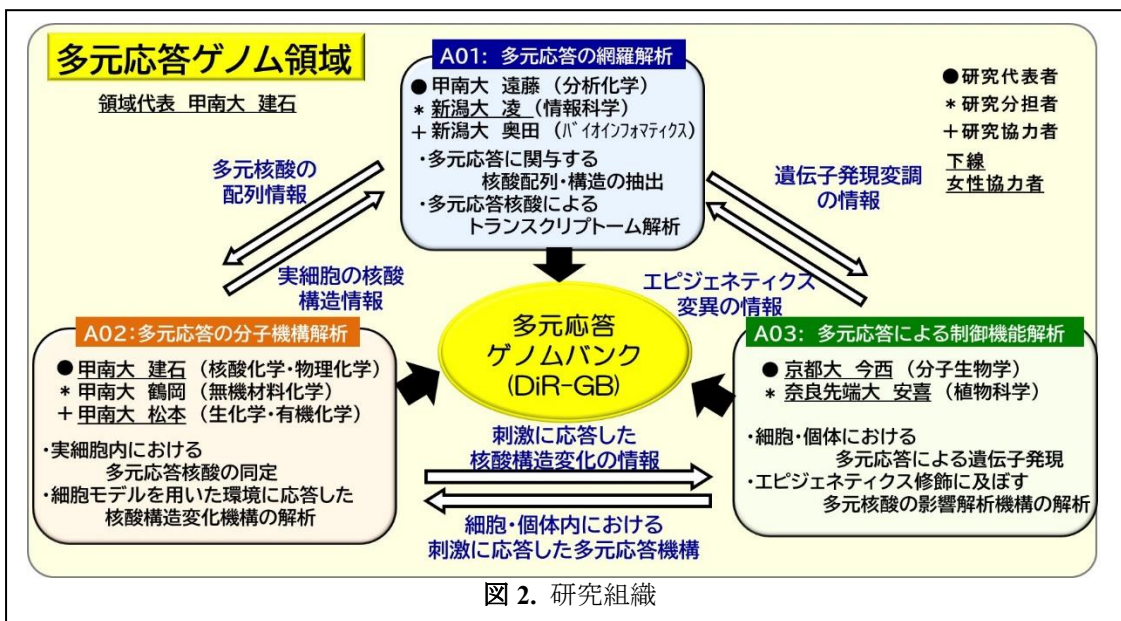
本領域研究では、環境に応答して多元的に変動する核酸構造に依存した遺伝子の発現調節（多元応答）に焦点を当て、生命の遺伝情報を担うゲノムの高次機能としての「多元応答ゲノム」の分子機構を明らかにすることを目的とした。そのために、核酸化学、物理化学、生化学、分析化学、情報科学、分子生物学、植物科学、無機材料化学などを専門とする研究者の相互連携により、「多元応答ゲノム研究領域」を組織し、下記の研究を遂行する（図 1）。



- [1] 生物のゲノム情報から核酸の非二重らせん構造を形成可能な情報を解析し、多元応答を示す核酸の“構造情報”を知る研究
- [2] 環境変化に応答した核酸構造変化の物理化学的解析を基に、核酸構造に依存した多元応答の“分子機構”を知る研究
- [3] 非二重らせん構造に応じた遺伝子の発現変動を解析し、多元応答による生

命現象の“制御機能”を知る研究

上記の研究課題を設定し、A01 班「多元応答の網羅解析」、A02 班「多元応答の分子機構解析」、A03 班「多元応答による制御機構解析」という 3 つの計画研究グループを組織した（図 2）。A01 班は、生化学的な実験を用いた解析、およびバイオインフォマティクスを活用した解析を組み合わせ、遺伝子の発現調節に関与し得る核酸構造の探索を行った。A02 班は、擬似細胞内環境模倣系を構築し、細胞内における核酸構造形成機構を解明し、これらの核酸構造が遺伝子発現に及ぼす影響を解析した。A03 班は、化学修飾と核酸構造の観点から、一次配列からは知り得ない核酸の多元性と生理機能に関する解析を行った。総括班では、計画研究グループの連携を取りまとめ、国外共同研究グループとの国際共同研究も計画しながら研究課題を遂行した。その研究成果として、計画研究グループ間や国際共同研究グループとの共著での研究成果を含め、これまでに多数の研究成果を学術論文、学会発表等として発信することができた。また、総括班が主導して、国際学術シンポジウムの主催や共催、学会等における企画シンポジウムの開催、市民講座での講演などを行った。このような活動により、「多元応答」という研究領域を学术界や一般社会に周知することができ、将来的に新たな学術領域の創成を目指す学術変革領域研究（B）としての活動を十分に達成できたと考えられる。以降、総括班による本学術変革領域研究での活動、および A01 班から A03 班における研究成果について記載し、グループ間連携や国際共同研究活動を含めた特筆すべき研究成果についても記載する。



4. 研究発表

・雑誌論文 (すべて査読あり) (23 件、そのうち国際共同研究 5 件)

- 1) Chemical Modulation of DNA Replication along G-Quadruplex Based on Topology-Dependent Ligand Binding
S. Takahashi, A. Kotar, H. Tateishi-Karimata, S. Bhowmik, Z. F. Wang, T. C. Chang, S. Sato, S. Takenaka, J. Plavec, and N. Sugimoto
***J. Am. Chem. Soc.* 143, 16458–16469 (2021)** (国際共同研究)
- 2) Effect of DNA modifications on the transition between canonical and non-canonical DNA structures in CpG islands during senescence
S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, and N. Sugimoto
***RSC Adv.*, 11, 37205-37217 (2021)**
- 3) Intramolecular G-quadruplex-hairpin loop structure competition of a GC-rich exon region in the *TMPRSS2* gene
W. Sugimoto, N. Kinoshita, M. Nakata, T. Ohyama, H. Tateishi-Karimata, T. Nishikata, and N. Sugimoto, D. Miyoshi and K. Kawauchi
***Chem. Commun.*, 58, 48-51 (2022)**
- 4) Exploration of structural transition phenomenon in flexible metal-organic framework formed on polymer substrate
S. Hirao, R. Hamagami, T. Ohhashi, K. Eguchi, N. Kubo, Y. Takashima, K. Akamatsu, T. Tsuruoka
***CrystEngComm*, 23, 8498-8505 (2021)**
- 5) *R2R3-MYB* transcription factor GEMMA CUP-ASSOCIATED MYB1 mediates the cytokinin signal to achieve proper organ development in *Marchantia polymorpha*
S. S. Aki, T. Morimoto, T. Ohnishi, A. Oda, H. Kato, K. Ishizaki, R. Nishihama, T. Kohchi, and M. Umeda
***Sci. Rep.*, 12, 21123 (2022)**
- 6) High-temperature adaptation of an *OsNRT2.3* allele is thermoregulated by small RNAs
Y. Zhang, H. Tateishi-Karimata, T. Endoh, Q. Jin, K. Li, X. Fan, Y. Ma, L. Gao, H. Lu, Z. Wang, A. E. Cho, X. Yao, C. Liu, N. Sugimoto, S. Guo, X. Fu, Q. Shen, G. Xu, L. R. Herrera-Estrella, X. Fan
***Sci. Adv.*, 8, eadc9785 (2022)** (国際共同研究)

- 7) DNA methylation is regulated by both the stability and topology of G-quadruplex
S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, and N. Sugimoto
Chem. Commun., 58, 12459-12462 (2022)
- 8) Mechanisms and strategies for determining m6A RNA modification sites by natural
and engineered m6A effector proteins
M. Imanishi
Chem. Asian J., 17, e202200367 (2022)
- 9) Applicability of nearest-neighbour model for pseudoknot RNAs
S. Satpathi, T. Endoh, and N. Sugimoto
Chem. Commun., 58, 5952-5955 (2022)
- 10) Rational and site-selective formation of coordination polymer consisting of d10
coinage metal ions with thiolate ligands using metal ion-doped polymer substrate
T. Tsuruoka, Y. Miyashita, R. Yoshino, M. Fukuoka, S. Hirao, Y. Takashima, A.
Demessence, and K. Akamatsu
RSC Adv., 12, 3716-3720 (2022)
- 11) Recognition of G-quadruplex RNA by a crucial RNA methyltransferase component,
METTL14
A. Yoshida, T. Oyoshi, A. Suda, S. Futaki, and M. Imanishi
Nucleic Acids Res., 50, 449–457 (2022)
- 12) Two-Dimensional Metal-Organic Framework-Based Cellular Scaffolds with High
Protein Adsorption, Retention, and Replenishment Capabilities
T. Katayama, S. Tanaka, T. Tsuruoka, K. Nagahama
ACS Appl. Mater. Interfaces, 14, 34443-34454 (2022)
- 13) Endogenous G-quadruplex-forming RNAs inhibit the activity of SARS-CoV-2 RNA
polymerase
T. Endoh, S. Takahashi, and N. Sugimoto
Chem. Commun., 59, 872-875 (2023)
- 14) Cladogenetic orthogonal light-up aptamers for simultaneous detection of multiple
small molecules in cells
T. Endoh, J-H. Tan, S-B. Chen, and N. Sugimoto
Anal. Chem., 95, 976-985 (2023) (国際共同研究)

- 15) Nearest-neighbor parameters for the prediction of RNA duplex stability in diverse in vitro and cellular-like crowding conditions
S. Ghosh, S. Takahashi, D. Banerjee, T. Ohyama, T. Endoh, H. Tateishi-Karimata, and N. Sugimoto
Nucleic Acids Res., **51**, 4101-4111 (2023)
- 16) Simple and fast screening for structure-selective G-quadruplex ligands
Y. Hashimoto, Y. Imagawa, K. Nagano, R. Maeda, N. Nagahama, T. Torii, N. Kinoshita, N. Takamiya, K. Kawauchi, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto and D. Miyoshi
Chem. Commun., **59**, 4891-4894 (2023)
- 17) Xanthine derivatives inhibit FTO in an L-ascorbic acid-dependent manner
K. Tanaka, A. Suda, M. Uesugi, S. Futaki, M. Imanishi
Chem. Commun., **59**, 10809-10812 (2023)
- 18) In-cell stability prediction of RNA/DNA hybrid duplexes for designing oligonucleotides aimed at therapeutics
D. Banerjee, H. Tateishi-Karimata, M. Toplishek, T. Ohyama, S. Ghosh, S. Takahashi, M. Trajkovski, J. Plavec, and N. Sugimoto
J. Am. Chem. Soc., **145**, 23503-23518 (2023) (国際共同研究)
- 19) Choline dihydrogen phosphate destabilizes G-quadruplexes and enhances transcription efficiency in vitro and in cells
H. Tateishi-Karimata and N. Sugimoto
ACS Omega, **9**, 5675-5682, (2024)
- 20) Conserved CKII-mediated signaling is required for female germline specification in *Marchantia polymorpha*
H. Bao, R. Sun, M. Iwano, Y. Yoshitake, S. S. Aki, M. Umeda, R. Nishihama, S. Yamaoka, and T. Kohchi
Curr. Biol., **34**, 1324-1332.e6 (2024)
- 21) Direct formation of ZIF-8 crystal thin films on the surface of a zinc ion-doped polymer substrate
T. Tsuruoka, K. Araki, K. Kawauchi, Y. Takashima, and K. Akamatsu
Inorganics, **12**, 21 (2024)

22) Development of a Pseudocellular System to Quantify Specific Interactions
Determining the G-Quadruplex Function in Cells

H. Tateishi-Karimata, K. Kawauchi, S. Takahashi, and N. Sugimoto

J. Am. Chem. Soc., 146, 8005–8012 (2024)

23) Guanidine modification improves functions of natural RNA-targeting alkaloids

T. Endoh, S. Satpathi, Y. Chen, S. Matsumoto, T. Ohyama, P. Podbevšek, J. Plavec,
K. Onizuka, F. Nagatsugi, and N. Sugimoto

New J. Chem., 48, 8529-8533 (2024) (国際共同研究)

・総説など (4 件)

- 1) 第 1 章 フロントランナーに聞く(座談会)「令和の時代も進化し続ける核酸化学」、神谷真子、建石寿枝、永次史、山吉麻子、杉本直己、*CSJ カレントレビュー「進化を続ける核酸化学」(化学同人)*, 41, 2-13 (2021)
- 2) 第 14 章 遺伝子発現における核酸の新機能、松本咲、杉本直己
CSJ カレントレビュー「進化を続ける核酸化学」(化学同人), 41, 146-154 (2021)
- 3) 【新春特集】化学者が思い描く未来の社会⑥「非二重らせん核酸により生命の機能を制御する—生物種を超えた統一ルール」 建石寿枝、*化学*, 23-24 (2022)
- 4) 分子夾雑系での核酸挙動、建石寿枝、三好大輔、杉本直己、*CSJ カレントレビュー「生体分環境の化学—分子夾雑と 1 分子で解き明かす生体の挙動—」(化学同人)*, 45, 36-41 (2023)

・図書 (3 件)

- 1) S. Takahashi, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Stability Prediction of Canonical and Noncanonical Structures of Nucleic Acids. In: Sugimoto, N. (eds) *Handbook of Chemical Biology of Nucleic Acids.*, (Springer), https://doi.org/10.1007/978-981-16-1313-5_2-1 (2022)
- 2) T. Endoh, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Effects of Molecular Crowding on Structures and Functions of Nucleic Acids. In: Sugimoto, N. (eds) *Handbook of Chemical Biology of Nucleic Acids.*, (Springer) https://doi.org/10.1007/978-981-16-1313-5_40-1 (2023)

- 3) H. Tateishi-Karimata, S. Matsumoto, N. Sugimoto, Liquid Phase Separation and Nucleic Acids In: Sugimoto, N. (eds) *Handbook of Chemical Biology of Nucleic Acids.*, (Springer), https://doi.org/10.1007/978-981-16-1313-5_90-1 (2023)

・学会発表 (117 件、そのうち招待講演 27 件、国際学会 41 件)

- 1) 第 15 回バイオ関連化学シンポジウム, 建石 寿枝, 大山 達也, 田中 成典, 杉本 直己, 神経変性疾患に係るリピート RNA とペプチドの相互作用解析, オンライン開催, 2021 年 9 月 8 日～10 日
- 2) Nucleic Acid Secondary Structures G4s and Beyond, G4 webinar series Round VI, H.Tateishi-Karimata, Roles of G-quadruplexes in cancer cells on multi-dimensional response genome, オンライン開催, 2021 年 11 月 11 日 (招待講演、国際学会)
- 3) 第 48 回国際核酸化学シンポジウム, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, G-quadruplex formation in cancer cells with different expression level of ion channels, オンライン開催, 2021 年 11 月 10 日～12 日 (国際学会)
- 4) 第 48 回国際核酸化学シンポジウム, T. Ohyama, H. Tateishi-Karimata, S. Takahashi, N. Sugimoto, Changes in the atomic-level behavior of G-quadruplex under high pressure conditions, オンライン開催, 2021 年 11 月 10 日～12 日 (国際学会)
- 5) 第 21 回東北大学多元物質科学研究所研究発表会, S. Satpathi, T. Endoh, Y. Chen, S. Matsumoto, T. Ohyama, P. Podbevsek, J. Plavec, K. Onizuka, F. Nagatsugi, N. Sugimoto, Structure-based derivatization of berberine to improve the potency for targeting RNA structures, 2021 年 12 月 9～10 日
- 6) 第 7 回幹細胞研究会「幹細胞制御に関わるクロマチンおよび DNA 高次構造体」, 安喜 史織, 「植物ホルモンによるゲノム恒常性維持機構」, オンライン開催, 2021 年 12 月 10 日 (招待講演)
- 7) Pacificchem2021, H. Tateishi-Karimata, K. Kawauchi, N. Sugimoto, Regulation transcription by DNA structures responsive chemical stimulus in cells, オンライン開催, 2021 年 12 月 16～21 日 (招待講演、国際学会)
- 8) Pacificchem2021, Miki Imanishi, Targeted RNA methylation and demethylation using artificial RNA binding proteins, オンライン開催, 2021 年 12 月 16～21 日 (招待講演、国際学会)
- 9) International Conference on Chemical and Environmental Sciences 2021 (ICCAES 2021), H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Roles of non-canonical DNA structures in cancer cells on

mechanism of dimensional response genome, オンライン開催, 2021 年 12 月 17～19 日
(招待講演、国際学会)

- 10) International Conference on Chemical and Environmental Sciences 2021 (ICCAES 2021), S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, O. Tatsuya, N. Sugimoto, Effect of DNA modifications on the changes of DNA structure in CpG islands, オンライン開催, 2021 年 12 月 17～19 日
(国際学会)
- 11) 第 63 回日本植物生理学会年会, 安喜 史織, 梅田 正明, オーキシンによるゲノム恒常性維持機構, オンライン開催, 2022 年 3 月 22 日～24 日
- 12) 第 63 回日本植物生理学会年会, K. Y. Moo, 正田晃子, 真鍋はるか, 高塚大知, S. Aki, M. Umeda, Proteolysis of histone methyltransferases controls cell cycle progression in Arabidopsis, オンライン開催, 2022 年 3 月 22 日～24 日
- 13) 第 63 回日本植物生理学会年会, M. Umeda, S. Aki, N. Takahashi, Genome maintenance strategies in plant stem cells, オンライン開催, 2022 年 3 月 22 日～24 日
- 14) 日本化学会第 102 回春季年会, H. Tateishi-Karimata, K. Kawauchi, T. Ohyama, H. Masaki, A. Natsume, N. Sugimoto, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (73): Effect of G-quadruplex stability change on transcriptional repression in cancer cells, オンライン開催, 2022 年 3 月 23 日～26 日
- 15) 日本化学会第 102 回春季年会, S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, N. Sugimoto, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (74): Effect of DNA modifications on the transition between canonical and non-canonical DNA structures in CpG island, オンライン開催, 2022 年 3 月 23 日～26 日
- 16) 日本化学会第 102 回春季年会, T. Endoh, J.-H. Tan, S.-B. Chen, N. Sugimoto, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (75): Development of RNA-ligand pairs for multicolor RNA imaging in cells, オンライン開催, 2022 年 3 月 23 日～26 日
- 17) 日本化学会第 102 回春季年会, S. Satpathi, T. Endoh, Y. Chen, S. Matsumoto, T. Ohyama, P. Podbevšek, J. Plavec, K. Onizuka, F. Nagatsugi, N. Sugimoto, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (76) : Structure-based Derivatization of Berberine to Improve the Potency for Targeting RNA Structures, オンライン開催, 2022 年 3 月 23 日～26 日
- 18) 日本化学会第 102 回春季年会, 大山 達也, 高橋 俊太郎, 建石 寿枝, 田中 成典, 杉本 直己, 脱ワトソン, クリックの核酸化学 (77): 高圧環境が DNA 非二重らせん構造に与える影響, オンライン開催, 2022 年 3 月 23 日～26 日

- 19) 日本化学会第 102 回春季年会, S. Ghosh, S. Takahashi, T. Ohyama, T. Endoh, N. Sugimoto, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (80) : Validation of the nearest-neighbor model for Watson-Crick RNA duplexes under molecular crowding condition, オンライン開催, 2022 年 3 月 23 日～26 日
- 20) 日本薬学会第 142 年会, 今西 未来, 吉田 敦裕, 大吉 崇文, 二木 史朗, RNA メチル化酵素複合体主要構成因子 METTL14 の RNA グアニン四重鎖への選択的結合, オンライン開催, 2022 年 3 月 25 日～28 日
- 21) 第 23 回日本 RNA 学会年会, M. Imanishi, A. Yoshida, T. Oyoshi, S. Futaki, Recognition of G-quadruplex RNA by an RNA methyltransferase component, METTL14, みやこめっせ, 2022 年 7 月 20 日～22 日
- 22) 日本核酸医薬学会第 7 回年会, 建石 寿枝, 松本 咲, 大山 達也, Ye Teng, 田中 成典, 杉本 直己, 核酸構造の定量的解析を基にした C9orf72 由来のリピート RNA とペプチドの相互作用制御法の開発, 御茶ノ水ソラシティカンファレンスセンター, 2022 年 7 月 31 日～8 月 3 日
- 23) India|EMBO Lecture Course: Functional nucleic acids: Recent landscapes and therapeutic applications, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Functions of nucleic acids regulated by the intracellular molecular environments, Regional Centre for Biotechnology, India, オンライン開催, 2022 年 8 月 16 日～19 日 (招待講演、国際学会)
- 24) 第 16 回バイオ関連化学シンポジウム, 遠藤 玉樹, Sagar Satpathi, 杉本 直己, RNA シュードノット構造の安定性予測のための最近接塩基対モデルの検証, 名古屋大学東山キャンパス, 2022 年 9 月 10 日～12 日
- 25) 第 16 回バイオ関連化学シンポジウム, 高橋 俊太郎, 松本 咲, 建石 寿枝, Byeang Hyeon Kim, 杉本 直己, SARS-CoV-2 由来 RNA 依存性 RNA ポリメラーゼの複製反応におけるグアニン四重鎖の効果とその制御, 名古屋大学東山キャンパス, 2022 年 9 月 10 日～12 日
- 26) 第 16 回バイオ関連化学シンポジウム, 松本 咲, 建石 寿枝, 杉本 直己, グアニン四重らせん構造の安定性とトポロジーによる DNA メチル化制御, 名古屋大学東山キャンパス, 2022 年 9 月 10 日～12 日
- 27) 第 16 回バイオ関連化学シンポジウム, 建石 寿枝, 大山 達也, 田中 成典, 杉本 直己, 神経変性疾患に関わるリピート RNA とペプチドの相互作用解析, 名古屋大学東山キャンパス, 2022 年 9 月 10 日～12 日
- 28) 第 16 回バイオ関連化学シンポジウム, 今西未来, 吉田敦裕, 大吉崇文, 二木史朗,

- グアニン四重鎖構造を介した RNA アデノシンメチル化, 名古屋大学東山キャンパス, 2022 年 9 月 10 日～12 日
- 29) 大阪大学産業科学研究所 次世代有機化学セミナー, 建石 寿枝, 疾患細胞内における非二重らせん核酸の機能解析, 大阪大学産業科学研究所講堂、2022 年 9 月 26 日 (招待講演)
- 30) Advances in Noncanonical Nucleic Acids 2022 “ANNA2022”, T. Ohyama, H. Tateishi-Karimata, S. Takahashi, S. Tanaka, N. Sugimoto, Analysis of dynamic behaviors of G-quadruplexes using molecular simulations, Ljubljana Castle, Slovenia, 2022 年 10 月 17 日～19 日 (招待講演、国際学会)
- 31) Advances in Noncanonical Nucleic Acids 2022 “ANNA2022”, S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, DNA methylation depending on stability and topology of G-quadruplex, Ljubljana Castle, Slovenia, 2022 年 10 月 17 日～19 日 (招待講演、国際学会)
- 32) 第 49 回国際核酸化学シンポジウム, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Quantitative analysis for G-quadruplex and i-motif formations in malignant cancers, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2022 年 11 月 2 日～4 日 (国際学会)
- 33) 第 49 回国際核酸化学シンポジウム, T. Endoh, J.-H. Tan, S.-B. Chen, N. Sugimoto, Fluorometric detection of multiple small molecules using orthogonal light-up signaling aptamers in cells, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2022 年 11 月 2 日～4 日 (国際学会)
- 34) 第 49 回国際核酸化学シンポジウム, S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, The effect of stability and topology of G-quadruplex on DNA methylation, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2022 年 11 月 2 日～4 日 (国際学会)
- 35) 第 49 回国際核酸化学シンポジウム, D. Banerjee, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, S. Ghosh, T. Endoh, S. Takahashi, N. Sugimoto, New parameters for accurate prediction of RNA/DNA hybrid duplex stability and their advantage in CRISPR- Cas9 technique, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2022 年 11 月 2 日～4 日 (国際学会)
- 36) 第 49 回国際核酸化学シンポジウム, S. Ghosh, S. Takahashi, D. Banerjee, T. Ohyama, T. Endoh, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Prediction of RNA duplex stability in physiological crowding conditions based on the nearest-neighbor model, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2022 年 11 月 2 日～4 日 (国際学会)

- 37) 第 49 回国際核酸化学シンポジウム, T. Ohyama, S. Takahashi, H. Tateishi-Karimata, S. Tanaka, N. Sugimoto, Analysis of the effect of high-pressure on the stability of nucleic acids using molecular dynamics simulations, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2022 年 11 月 2 日～4 日 (国際学会)
- 38) 核酸化学若手フォーラム 2022, 大山 達也、高橋 俊太郎、建石 寿枝、田中 成典、杉本 直己, 分子シミュレーションを用いた高圧環境における核酸の安定性の解析, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2022 年 11 月 5 日
- 39) 第 95 回日本生化学会大会シンポジウム 「非二重らせん核酸の多元機能」、建石 寿枝、生物種を超えた多元応答機構の解明を目指した核酸構造の解析, 名古屋国際会議場, 2022 年 11 月 9 日～11 日 (招待講演)
- 40) 第 95 回日本生化学会大会シンポジウム 「非二重らせん核酸の多元機能」、遠藤 玉樹、奥田 修二郎、凌 一葦、建石 寿枝、杉本 直己、環境応答性を示す非二重らせん核酸構造のスクリーニング法の構築、名古屋国際会議場、2022 年 11 月 9 日～11 日 (招待講演)
- 41) 第 95 回日本生化学会大会シンポジウム 「非二重らせん核酸の多元機能」、今西 未来、グアニン四重鎖 RNA のエピトランスクリプトーム制御への関与、名古屋国際会議場、2022 年 11 月 9 日～11 日 (招待講演)
- 42) 第 45 回日本分子生物学会年会, 李 先民, 月生 雅也, Budirahardja Yemima Suryani, 木下 菜月, 谷口 慎也, 橋本 佳樹, 建石 寿枝, 杉本 直己, 三好 大輔, 川内 敬子, グアニン四重らせん構造による転移因子 LINE-1 の発現制御, 幕張メッセ ※一部オンライン併用開催, 2022 年 11 月 30 日～12 月 2 日
- 43) 第 45 回日本分子生物学会年会、鳥居 柊平、後藤 俊志、建石 寿枝、杉本 直己、西方 敬人、ホヤ卵の胚軸形成における RNA の G-quadruplex (G4) の局在、幕張メッセ ※一部オンライン併用開催、2022 年 11 月 30 日～12 月 2 日
- 44) 第 45 回日本分子生物学会年会、取井 猛流、杉本 渉、建石 寿枝、木下 菜月、鶴田 充生、月生 雅也、村嶋 貴之、西方 敬人、杉本 直己、三好 大輔、川内 敬子、核小体 LLPS における rDNA 由来 G-quadruplex の役割, 幕張メッセ ※一部オンライン併用開催, 2022 年 11 月 30 日～12 月 2 日
- 45) 第 45 回日本分子生物学会年会、川内 敬子、取井 猛流、谷口 慎也、木下 菜月、建石 寿枝、杉本 直己、三好 大輔、液-液相分子により形成されるグアニン四重らせん構造集合体の役割、幕張メッセ ※一部オンライン併用開催、2022 年 11 月 30 日～12 月 2 日

- 46) 日本薬学会関西支部市民公開講座, 建石 寿枝, 核酸の姿と病気の関わり, グランフロント大阪ナレッジキャピタルカンファレンスルーム, 2022 年 12 月 4 日 (招待講演)
- 47) 日本薬学会関西支部市民公開講座, 今西 未来, カスタム遺伝子制御: ゲノム編集のこれから, グランフロント大阪ナレッジキャピタルカンファレンスルーム, 2022 年 12 月 4 日 (招待講演)
- 48) 日本薬学会関西支部市民公開講座, 奥田 修二郎, 情報科学が拓くがん研究, グランフロント大阪ナレッジキャピタルカンファレンスルーム, 2022 年 12 月 4 日 (招待講演)
- 49) 第 14 回日本女性科学者の会(SJWS)学術会議, 月生 雅也, 李 先民, Yemima Suryani Budirahardja, 鶴田 充生, 橋本 佳樹, 高宮 渚, 木下 菜月, 建石 寿枝, 杉本 直己, 三好 大輔, 川内 敬子, グアニン四重らせん構造による転移因子 LINE-1 の発現抑制, オンライン開催, 2022 年 12 月 4 日
- 50) 第 64 回日本植物生理学会年会, 小田 歩美, 安喜 史織, 西浜 竜一, 梅田 正明, ゼニゴケにおける細胞周期制御因子 WEE1 と CDC25 の機能解析, 東北大学川内キャンパス, 2023 年 3 月 17 日
- 51) 第 64 回日本植物生理学会年会, Kar Yee Moo, Akiko Masada, Haruka Manabe, Hiroto Tomo Takatsuka, Shiori S Aki, Masaaki Umeda, Control of DNA replication by histone methyltransferases ATXR5 and ATXR6 in Arabidopsis thaliana, 東北大学川内キャンパス, 2023 年 3 月 17 日
- 52) 第 64 回日本植物生理学会年会, 賀 鐘寛, 正田 晃子, ムー カーイー, 岩田 悠暉, 安喜 史織, 梅田 正明, ヒストンメチル化の制御による DNA 倍加の誘導機構, 東北大学川内キャンパス, 2023 年 3 月 17 日
- 53) 日本化学会第 103 回春季年会, S. Sarkar, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (83) : Bulge-containing G-quadruplexes is a new target motif to regulate gene expression in therapeutics, 東京理科大学野田キャンパス, 2023 年 3 月 22 日~25 日
- 54) 日本化学会第 103 回春季年会, Dipanwita Banerjee, Hisae Tateishi-Karimata, Saptarshi Ghosh, Shuntaro Takahashi, Tatsuya Ohyama, Tamaki Endoh, Maria Toplishek, Marko Trajkovski, Janez Plavec, Naoki Sugimoto, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (82) : Applications of nearest-neighbor parameters for RNA/DNA

- hybrid duplexes in the advancement of therapeutics, 東京理科大学野田キャンパス、
2023 年 3 月 22 日～25 日
- 55) 日本化学会第 103 回春季年会, Saptarshi Ghosh, Shuntaro Takahashi, Dipanwita Banerjee, Tatsuya Ohyama, Tamaki Endoh, Hisae Tateishi-Karimata, Naoki Sugimoto¹, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (81): Stability prediction of RNA duplexes under various molecular crowding in vitro and in cell, 東京理科大学野田キャンパス、2023 年 3 月 22 日～25 日
- 56) 日本化学会第 103 回春季年会、建石 寿枝、川内 敬子、杉本 直己, 脱ワトソン・クリックの核酸化学 (88): がん細胞内環境変化に応答した C 四重らせん構造の形成機構の解明, 東京理科大学野田キャンパス、2023 年 3 月 22 日～25 日
- 57) 日本化学会第 103 回春季年会、大山 達也、建石 寿枝、田中 成典、杉本 直己, 脱ワトソン・クリックの核酸化学 (85): G4C2 繰り返し配列をもつ RNA 四重鎖とジペプチドの集積メカニズムの解析, 東京理科大学野田キャンパス、2023 年 3 月 22 日～25 日
- 58) 日本化学会第 103 回春季年会、橋本 佳樹、取井 猛流、木下 菜月、川内 敬子、建石 寿枝、杉本 直己、三好 大輔, 構造選択的 G4 リガンドのテロメア長と TERRA 発現量に対する効果, 東京理科大学野田キャンパス、2023 年 3 月 22 日～25 日
- 59) 日本化学会第 103 回春季年会、遠藤 玉樹、Jia-Heng Tan、Shuo-Bin Chen、杉本直己、シグナリングライトアップアプタマーによる同一細胞内における複数化合物の多色検出, 東京理科大学野田キャンパス、2023 年 3 月 22 日～25 日
- 60) 7th Gratama Workshop, H. Tateishi-Karimata, Regulation of gene expression in human and plant cells regulated by nucleic acid structures, 長崎ブリックホール, 2023 年 5 月 10 日～12 日 (招待講演、国際学会)
- 61) 7th Gratama Workshop, T. Endoh, DNA/RNA-immobilizing microsphere particles for selecting functional nucleic acids, 長崎ブリックホール, 2023 年 5 月 10 日～12 日 (招待講演、国際学会)
- 62) 7th Gratama Workshop, M. Fukuoka, H. Tateishi-Karimata, Y. Takashima, K. Akamatsu, T. Tsuruoka, Characterization for thermal stability of DNA G-quadruplexes adsorbed on metal-organic gels, 長崎ブリックホール, 2023 年 5 月 10 日～12 日 (国際学会)
- 63) The 19th Akabori Conference (Japanese-German Symposium on Peptide Science), M. Imanishi, Detection and sequence-specific control of RNA modifications, コラボ滋賀 21, 2023 年 5 月 18 日 (国際学会)

- 64) 第 69 回日本生化学会近畿支部例会, 音成 兼光, 二木 史朗, 今西 未来, 活性スイッチング制御が可能な配列特異的 RNA 脱メチル化酵素の創出, 京都大学百周年時計台記念館, 2023 年 5 月 27 日
- 65) The 33rd International Conference on Arabidopsis Research, M. K. Yee, A. Masada, H. Manabe, H. Takatsuka, S. S. Aki, M. Umeda, Control of DNA replication by histone methyltransferases ATXR5 and ATXR6 in *Arabidopsis thaliana*, 千葉幕張メッセ, 2023 年 6 月 7 日 (国際学会)
- 66) 第 24 回日本 RNA 学会年会, K. Otonari, Y. Asami, S. Futaki, M. Imanishi, Development of higher sequence-selective and timing-controlled m6A demethylation tool, 那覇文化芸術劇場『なはと』, 2023 年 7 月 7 日
- 67) 日本核酸医薬学会第 8 回年会、建石 寿枝, 川内 敬子, 杉本 直己, シトシン四重らせん構造によるがん遺伝子発現の制御, 名古屋大学 豊田講堂, 2023 年 7 月 11 日～14 日
- 68) 日本核酸医薬学会第 8 回年会, 遠藤 玉樹, 高橋俊太郎, 杉本 直己, 新型コロナウイルスの RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ活性を抑制できるヒト内在性 RNA の取得, 名古屋大学 豊田講堂, 2023 年 7 月 11 日～14 日
- 69) FIBER 国際核酸サミット 2023 (FISNA 2023), H. Tateishi-Karimata, K. Kawauchi, N. Sugimoto, Effects of intracellular environmental changes during cancer progression on cytosine-quadruplex formations, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2023 年 7 月 18 日～20 日 (国際学会)
- 70) FIBER 国際核酸サミット 2023 (FISNA 2023), S. Takahashi, S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, B. H. Kim, N. Sugimoto, Regulation of the replication of RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by pyrene modified G-tract oligonucleotide, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2023 年 7 月 18 日～20 日 (国際学会)
- 71) FIBER 国際核酸サミット 2023 (FISNA 2023), S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, N. Sugimoto, Screening for compounds that suppress the formation of RNA aggregates that contribute to the pathogenesis of neurodegenerative diseases, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2023 年 7 月 18 日～20 日 (国際学会)
- 72) FIBER 国際核酸サミット 2023 (FISNA 2023), T. Ohyama, H. Tateishi-Karimata, S. Tanaka, N. Sugimoto, Accumulation mechanism of RNA G-quadruplex with G4C2 repeats and poly-dipeptides, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2023 年 7 月 18 日～20 日 (国際学会)

- 73) FIBER 国際核酸サミット 2023 (FISNA 2023), D. Banerjee, H. Tateishi-Karimata, M. Toplishek, T. Ohyama, S. Ghosh, S. Takahashi, M. Trajkovski, J. Plavec, N. Sugimoto, Stability prediction of RNA/DNA hybrid duplex in cell-like environments to design oligonucleotides for therapeutics, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2023 年 7 月 18 日～20 日 (国際学会)
- 74) FIBER 国際核酸サミット 2023 (FISNA 2023), K. Chen, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, The nearest-neighbor parameters for DNA duplexes in living cell-mimicked system reveal unique changes in cation-DNA interactions in living cells, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2023 年 7 月 18 日～20 日 (国際学会)
- 75) FIBER 国際核酸サミット 2023 (FISNA 2023), K. Otonari, Y. Asami, S. Futaki, M. Imanishi, Development of higher sequence-selective and timing-controlled m6A demethylation tools, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2023 年 7 月 18 日～20 日 (国際学会)
- 76) 第 17 回バイオ関連化学シンポジウム, 松本 咲, 建石 寿枝, 大山達 也, 杉本 直己, リピーター RNA の細胞毒性凝集体の形成を抑制するリガンドの探索, 東京理科大学野田キャンパス薬学部, 2023 年 9 月 8 日～10 日
- 77) 第 17 回バイオ関連化学シンポジウム, 建石 寿枝, 安喜 史織, 凌 一葦, 奥田 修二郎, 杉本直己, シロイヌナズナの細胞内環境が DNA 四重らせん構造の形成に及ぼす影響, 東京理科大学野田キャンパス薬学部, 2023 年 9 月 8 日～10 日
- 78) 第 17 回バイオ関連化学シンポジウム, 高橋俊太郎、建石寿枝、杉本直己, RNA 複製における RNA 二重鎖の最近接塩基対の効果, 東京理科大学野田キャンパス薬学部, 2023 年 9 月 8 日～10 日
- 79) 第 17 回バイオ関連化学シンポジウム, D. Banerjee, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Application of prediction parameters for RNA/DNA hybrid duplex stability in the advancement of therapeutics, 東京理科大学野田キャンパス薬学部, 2023 年 9 月 8 日～10 日
- 80) 第 17 回バイオ関連化学シンポジウム, 遠藤 玉樹, 高橋 俊太郎, 杉本 直己, 新型コロナウイルスの RNA 合成反応を阻害する細胞内在性の四重らせん RNA, 東京理科大学野田キャンパス薬学部, 2023 年 9 月 8 日～10 日
- 81) 錯体化学会第 73 回討論会, 江口 慧一, 高嶋 洋平, 赤松 謙祐, 鶴岡 孝章, MOF 前駆体含有ポリアミック酸溶液を用いた Metal-Organic Framework の直接合成, 2023 年 9 月 21 日～23 日

- 82) 錯体化学会第 73 回討論会, 福岡 美海, 高嶋 洋平, 赤松 謙祐, 鶴岡 孝章, 金属イオンドープ高分子薄膜を用いた MOF 分散高分子薄膜の作製, 2023 年 9 月 21 日～23 日
- 83) 第 72 回高分子討論会、S. Ghosh, D. Banerjee, S. Takahashi, H. Tateishi-Karimata, T. Endoh, T. Ohyama, N. Sugimoto, Prediction of Duplex Stability of Nucleic Acids in Diverse in vitro and Cellular-like Crowding Condition, 2023 年 9 月 26 日～28 日
- 84) 日本化学会秋季事業 第 13 回 CSJ 化学フェスタ 2023, 建石 寿枝, 多様な生物における非二重らせん核酸による遺伝子発現調節機構を知る, タワーホール船堀 A 会場, 2023 年 10 月 17 日～19 日 (招待講演)
- 85) 日本化学会秋季事業 第 13 回 CSJ 化学フェスタ 2023, 今西 未来, 核酸構造の多元機能とエピトランスクリプトームとの接点を知る, タワーホール船堀 A 会場, 2023 年 10 月 17 日～19 日 (招待講演)
- 86) 日本化学会秋季事業 第 13 回 CSJ 化学フェスタ 2023, 田中 和無爲, 二木 史朗, 今西 未来, RNA 脱メチル化酵素 FTO に対する新規阻害剤と FTO 活性における L-アスコルビン酸の寄与, タワーホール船堀, 2023 年 10 月 17 日～19 日
- 87) 日本化学会秋季事業 第 13 回 CSJ 化学フェスタ 2023, 音成 兼光, 浅見 有璃, 二木 史朗, 今西 未来, 配列選択的かつタイミング制御可能な RNA 脱メチル化ツールの創出, タワーホール船堀, 2023 年 10 月 17 日～19 日
- 88) Advances in Noncanonical Nucleic Acids “ANNA2023”, H. Tateishi-Karimata, K. Kawauchi, S. Takahashi, N. Sugimoto, Development of pseudo-cellular systems to understand effects of molecular environments on G-quadruplex behaviors depending on the type of cells, Hotel City Maribor, Slovenia, 2023 年 10 月 18 日～21 日 (招待講演、国際学会)
- 89) Advances in Noncanonical Nucleic Acids “ANNA2023”, S. Takahashi, S. Ghosh, H. Tateishi-Karimata, D. Banerjee, T. Endoh, T. Ohyama, N. Sugimoto, Physical Chemistry of Nucleic Acids: “To B or not to B”, Hotel City Maribor, Slovenia, 2023 年 10 月 18 日～21 日 (招待講演、国際学会)
- 90) Advances in Noncanonical Nucleic Acids “ANNA2023”, T. Endoh, J.-H. Tan, S.-B. Chen, S. Das, S. Takahashi, N. Sugimoto, Versatile binding core for small fluorogens consisting of noncanonical base pairs, Hotel City Maribor, Slovenia, 2023 年 10 月 18 日～21 日 (招待講演、国際学会)

- 91) CBI 学会 2023 年大会, 建石 寿枝, 非二重らせん核酸による疾患関連遺伝子の発現制御, タワーホール船堀, 2023 年 10 月 23 日～26 日 (招待講演)
- 92) 第 50 回国際核酸化学シンポジウム, Y. Hashimoto, K. Kawauchi, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, D. Miyoshi, Regulation effect of structure-selective G-quadruplex ligand on telomere length-TERRA expression relationship, 宮崎市民プラザ, 2023 年 11 月 1 日～3 日 (国際学会)
- 93) 第 50 回国際核酸化学シンポジウム, K. Chen, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Effects of intracellular molecular environments during cancer progression on i-motif formations, 宮崎市民プラザ, 2023 年 11 月 1 日～3 日 (国際学会)
- 94) 第 50 回国際核酸化学シンポジウム, S. Sarkar, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, N. Sugimoto, Elucidation of the regulatory mechanism of gene expression for new imperfect G-quadruplexes, 宮崎市民プラザ, 2023 年 11 月 1 日～3 日 (国際学会)
- 95) 第 50 回国際核酸化学シンポジウム, H. Tateishi-Karimata, K. Kawauchi, S. Takahashi, N. Sugimoto, Development of pseudo-cellular systems to understand G-quadruplex behaviors in cancer progression, 宮崎市民プラザ, 2023 年 11 月 1 日～3 日 (国際学会)
- 96) 第 50 回国際核酸化学シンポジウム, T. Endoh, S. Das, S. Takahashi, N. Sugimoto, I-motif structure as a binding core for small fluorogens, 宮崎市民プラザ, 2023 年 11 月 1 日～3 日 (国際学会)
- 97) International Symposium Current Trends and Future Perspectives of Nucleic Acids Research in Health & Diseases, T. Ohyama, H. Tateishi-Karimata, S. Tanaka, N. Sugimoto, Effect of the surrounding environments on behaviors of noncanonical structure DNAs investigated by simulations, Mahatma Gandhi Medical Advanced Research Institute, 2023 年 11 月 30 日 (国際学会)
- 98) 第 40 回メディシナルケミストリーシンポジウム, 今西 未来, 田中 和無爲, 音成 兼光, 上杉 志成, 二木 史朗, RNA メチル化の人為的制御, 名古屋大学 豊田講堂, 2023 年 11 月 13 日～15 日
- 99) 第 46 回日本分子生物学会, 王 澤坤、奥田 修二郎、凌 一葦, 多様な生物種にわたる四重螺旋構造オンラインデータベースの開発, 2023 年 12 月 6 日～8 日
- 100) 第 17 回日本電磁波エネルギー応用学会研究会, 鶴岡 孝章, マイクロ波照射による金属有機構造体の作製, 2024 年 1 月 26 日

- 101) Structure and Function of Nucleic Acids, H. Tateishi-Karimata, Regulation of gene expression across species regulated by nucleic acid structures, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2024 年 2 月 28 日 (招待講演、国際学会)
- 102) Supra FIBER International Summit for Nucleic Acids (S-FISNA), T. Endoh, S. Okuda, Y. Ling, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Genome wide screening of G-quadruplex forming sequences under molecular crowding environment, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2024 年 2 月 29 日～3 月 2 日 (国際学会)
- 103) Supra FIBER International Summit for Nucleic Acids (S-FISNA), M. Imanishi, T. Endoh, Y. Ling, A. Yoshida, T. Oyoshi, S. Futaki, G-quadruplex specific binding of METTL3/14 RNA methyltransferase complex, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2024 年 2 月 29 日～3 月 2 日 (国際学会)
- 104) Supra FIBER International Summit for Nucleic Acids (S-FISNA), H. Tateishi-Karimata, Y. Ling, S. Okuda, S. S. Aki, K. Kawauchi, N. Sugimoto, Mechanism of C-quadruplex formations in response to environmental changes in cancer cell, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2024 年 2 月 29 日～3 月 2 日 (国際学会)
- 105) 日本化学会第 104 回春季年会, 杉本 直己、S. Ghoshi, 大山 達也、遠藤 玉樹、高橋俊太郎、建石寿枝、核酸化学の New Data Science (1): 細胞内の核酸構造安定性を予測できる新規の最近接塩基対パラメータの開発, 日本大学船橋キャンパス, 2024 年 3 月 18 日～21 日
- 106) 日本化学会第 104 回春季年会, 高橋 俊太郎、S. Ghosh、建石 寿枝、福永 津嵩、浜田 道昭、杉本 直己、核酸化学の New Data Science (2): 最近接塩基対パラメータと AI を用いたリボザイムの機能予測, 日本大学船橋キャンパス, 2024 年 3 月 18 日～21 日
- 107) 日本化学会第 104 回春季年会, D. Banerjee, 建石 寿枝、高橋 俊太郎、福永 津嵩、浜田 道昭、杉本 直己、核酸化学の New Data Science (3): 最近接塩基対パラメータ、擬似細胞システム、AI を用いた RNA の構造安定性予測, 日本大学船橋キャンパス, 2024 年 3 月 18 日～21 日
- 108) 日本化学会第 104 回春季年会, 大山 達也、建石 寿枝、川内 敬子、高橋 俊太郎、田中成典、杉本直己、核酸化学の New Data Science (4): 擬似細胞システムと機械学習を用いた G-四重らせん構造を標的としたハイスループット・スクリーニング法の開発, 日本大学船橋キャンパス, 2024 年 3 月 18 日～21 日

- 109) 日本化学会第 104 回春季年会, S. Ghosh, L. Liu, S. Takahashi, T. Endoh, N. Yoshinaga, K. Numata, N. Sugimoto, New Data Science in Nucleic Acids Chemistry (5): Effect of local environments on the stability of nucleic acids in mitochondria, 日本大学船橋キャンパス, 2024 年 3 月 18 日～21 日
- 110) 日本化学会第 104 回春季年会, 遠藤 玉樹、建石 寿枝、筒井 啓太、深谷 陽子、築地 真也、杉本 直己, 核酸化学の New Data Science (8): ハイスピード共焦点イメージングを利用した生細胞内での核酸構造変化の解析, 日本大学船橋キャンパス, 2024 年 3 月 18 日～21 日
- 111) 日本化学会第 104 回春季年会, S. Sarkar, H. Tateishi-Karimata, K. Maatsuura, T. Endoh, N. Sugimoto, New Data Science in Nucleic Acids Chemistry (9): Conformational transition of nucleic acids with virus genome sequences inside cell-like nanoconfinements, 日本大学船橋キャンパス, 2024 年 3 月 18 日～21 日
- 112) 日本化学会第 104 回春季年会, K. Chen, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, New Data Science in Nucleic Acids Chemistry (10): Quantitative analysis for factors affecting i-motif formation in living cells estimated by the pseudo-cellular system, 日本大学船橋キャンパス, 2024 年 3 月 18 日～21 日
- 113) 日本化学会第 104 回春季年会, 建石 寿枝、川内 敬子、凌 一葦、奥田 修二郎、杉本 直己, 核酸化学の New Data Science (11): G-四重らせんと i-モチーフ構造の形成を介したがん細胞内における転写制御機構の解明, 日本大学船橋キャンパス, 2024 年 3 月 18 日～21 日
- 114) 日本化学会第 104 回春季年会, 石井 楽乃、稲葉 央、遠藤玉 樹、建石 寿枝、杉本 直己、松浦 和則, 四重鎖 DNA を内包した人工ウイルスキャプシドの創製, 日本大学船橋キャンパス, 2024 年 3 月 18 日～21 日
- 115) 第 15 回タタバイオ分子クラブ, 今西 未来, 核酸の高次情報を制御し理解する, オンライン開催, 2024 年 3 月 18 日 (招待講演)
- 116) 日本薬学会第 144 年会次世代アジアシンポジウム, Miki Imanishi, Development of a simple detection method of RNA modification and its application, パシフィコ横浜, 2024 年 3 月 31 日 (招待講演)
- 117) 日本薬学会第 144 年会, 今西 未来, 配列・タイミング依存的な RNA 修飾操作法の開発, パシフィコ横浜, 2024 年 3 月 31 日 (招待講演)

・特許 (1 件)

1) 建石 寿枝、高橋 俊太郎、川内 敬子、杉本 直己、(出願人：学校法人
甲南学園)

特願 2022-189538「核酸の立体構造を制御する方法及びその用途、並びに、細胞
内分子クラウド環境を再現するための組成物」(出願日：2022 年 11 月 28
日)

・科研費を使用して開催した国際研究集会 (2 件)

1)「多元応答ゲノムキックオフシンポジウム」(オンライン開催)

海外招待講演者 2 名

2)「国際シンポジウム“Structure and Function of Nucleic Acids”」(ハイブリット開
催)

海外招待講演者 2 名、国内招待講演者 2 名

・ホームページ (HP) (2 件)

多元応答ゲノム領域 HP https://www.konan-u.ac.jp/hp/dir-gb_fiber/

データベースの HP 多元応答ゲノムバンク (DiR-GB) [https://g4vista.med.niigata-
u.ac.jp/](https://g4vista.med.niigata-u.ac.jp/)

・受賞 (3 件)

1) 今西 未来

第 28 回 日本女性科学者の会奨励賞

受賞業績：「RNA メチル化の酵素化学的検出法の開発と選択的制御への展開」

2023 年 5 月 28 日 (本領域の研究成果を基にした研究内容が受賞対象)

2) 遠藤 玉樹

2023 年度大隅ライフサイエンス研究会奨励賞

受賞業績：「発生命現象の定量的解析に向けた「RNA 構造スイッチ」を基盤とし
たバイオセンサーの開発」(本領域の研究成果を基にした研究内容が受賞対象)

2023 年 12 月 20 日

3) 建石 寿枝

第 29 回 日本女性科学者の会奨励賞

受賞業績：「非二重らせん核酸に調節される遺伝子発現機構の解明とその制御法
の開発」

2024 年 6 月 2 日 (本領域の研究成果を基にした研究内容が受賞対象)

5. 研究成果

5-1 (総括班)

研究開始当初の背景

核酸の標準的な構造は二重らせん構造であるが、周辺の環境変化に応じて、同一の塩基配列の遺伝子でも核酸は三重らせん、四重らせん構造のような非二重らせん構造も形成できる。領域代表者である建石（兼計画班代表者(A02 班)）は、核酸の構造や安定性が変化する際の重要な相互作用を定量化し、分子レベルで相互作用エネルギーを解析してきた。その結果、核酸の周辺環境（細胞内のクラウディング分子、代謝産物、イオンの濃度変化など）が、核酸の構造や安定性を劇的に変化させる分子機構を物理化学的手法によって明らかにしてきた（H. Tateishi-Karimata et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 51, 1416 (2012)など）。このような多元的に変化する核酸構造の基礎的知見に加え、領域代表者は、悪性がん細胞や神経変性疾患細胞内の分子環境が、異常な核酸の構造変化を誘起し、癌や神経変性疾患の進行が促進されることを見出している（H. Tateishi-Karimata, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 140, 642 (2018)、*Biochemistry*, 59, 2640 (2020)）。加えて、計画研究代表者（A01 班）の遠藤は、核酸構造が遺伝子発現系へ及ぼす影響を解析し、非二重らせん構造が、転写、翻訳反応の効率や速度を変化させ、タンパク質の構造形成過程と機能にまで影響を及ぼすことを明らかにした（T. Endoh et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 55, 899 (2016)、*Sci. Rep.*, 6, 22719 (2016)、*Nat. Struct. Mol. Biol.*, 25, 279 (2018)など）。また、計画研究代表者（A03 班）の今西は、環境応答性のタンパク質—核酸相互作用の変化が遺伝子発現を制御することを明らかにした（M. Imanishi et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 50, 9396 (2011), *Chem. Commun.* 56, 11203 (2020)、以後、領域メンバーの論文については、著者名を省略して記載する）。これらの研究成果に基づくと、核酸は周囲の化学環境に応じて、三重らせん、四重らせんのような非二重らせん構造に多元的に変化する特性を利用し、遺伝子の発現を調節している可能性が高い。特に近年、がん細胞や神経変性疾患細胞内において非二重らせん構造の形成が確認され（S. Balasubramanian et. al., *Nat. Chem.*, 5, 182 (2013)、A. R. Haeusler, et al., *Nature*, 507, 195 (2014), A. Jain, et al., *Nature*, 546, 243 (2017)）、ヒトを中心に非二重らせん構造が疾患の発症や進行に及ぼす影響を解析する研究が世界的に行われている。しかしながら、核酸構造に注目した研究は、植物や数種類のバクテリアにおいて僅かに報告されているものの、ヒト以外での生物においては、非二重らせん構造が生命現象に及ぼす影響のみな

らず、ゲノムに非二重らせん構造を形成可能な領域がどの程度含まれるのかという基礎的な知見さえも明らかになっていない。遺伝子の発現変動に関与する核酸構造を解析していくことで、あらゆる生命の遺伝情報を担うゲノムの高次機能としての「多元応答ゲノム」の分子機構およびその生理学的意義を明らかにできると考えられる。

本領域研究では、生物種を超えた「多元応答ゲノム」の分子機構およびその生理学的意義を解明するため、物理化学、生化学、分析化学、情報科学、分子生物学、植物科学、無機材料化学などを専門とする研究者の相互連携により、「多元応答ゲノム研究領域」を組織し、本研究を推進する。本研究領域には総括班を設置し、領域全体を統括し、円滑に研究を推進できるよう運営を行う。

研究の目的

総括班では、「多元応答ゲノム研究領域」の運営（研究企画、領域会議やシンポジウムの開催、研究交流支援、広報活動）ならびに領域研究全体の研究連携の支援を担当する。総括班は、甲南大学内に多元応答ゲノム領域推進センター（領域事務局を兼務）を設立し、領域の連携が円滑に行われるように運営する。また、総括班メンバーは、領域研究が国際的に展開できるよう海外共同研究者との共同研究や、シンポジウムなどの共催を通じて、国際的なネットワークの形成を図る。特に海外の研究者との国際連携により世界をリードする研究成果を挙げ、本領域研究の国際的なプレゼンスを高められるように努める。

研究成果

総括班は、領域研究代表者（兼 A02 班代表、甲南大学 建石）を研究代表者とし、計画研究代表者 2 名（A01 班：甲南大学 遠藤、A03 班：京都大学 今西）を研究分担者として含む合計 3 名から構成され、領域の運営（研究企画、領域会議やシンポジウムの開催、研究交流支援、広報活動）ならびに領域研究全体の研究連携の支援を担当した。遠藤は領域代表者と同大学に所属するため、円滑な意見交換を行いつつ総括班の運営を支援した。また、今西は所属学会や領域研究者の関連分野（生体関連化学、情報科学、植物科学分野、錯体化学分野、薬学分野など）において、領域外の研究者への情報発信に務めた。総括班の詳細な活動を下記に記載する。

(1)領域研究の円滑な推進のための支援

(1-1) 研究打ち合わせや研究施設利用

領域内の共同研究を推進するため、定期的な研究打ち合わせ（各連携において、年 10～12 回）を行った。打合せは、オンラインまたはオンサイトでを行い、研究の進捗に合わせて、多元応答ゲノム領域推進センターを中心に領域内の研究機関の研究設備を利用した実験を受託しやすい環境を構築した。

(1-2) 領域会議の開催

領域研究期間内に領域全体の研究者が参加する領域会議を 9 回開催した。領域会議では、領域メンバーが集まり、研究の進捗を報告し、今後の方針を議論した。特に領域研究の重要な指針を得ることができた重要な領域会議について、下記に記載する。

・第 2 回領域会議「多元応答ゲノムキックオフシンポジウム」（国際シンポジウム）

2021 年 12 月 3 日に「多元応答ゲノムキックオフシンポジウム」をオンラインにて一般公開で開催した。シンポジウムは、甲南大学 FIBER、日本核酸化学会（JSNAC）、新学術領域研究「分子夾雑の生命化学（領域代表 京都大学 浜地 格先生）」に共催いただいた。シンポジウムでは、まず、領域代表者や計画班代表者が、領域趣旨および各班の研究内容などについて説明した。さらに、本領域に関連する研究分野で世界を牽引する海外の研究者 2 名（米国 Purdue University 教授 Danzhou Yang 先生、シンガポール Nanyang Technological University 教授 Anh Tuan Phan 先生）を招聘し、応援メッセージとともに最近の研究成果を紹介する特別講演を行った。シンポジウムには、国内外の学生、博士研究員、大学教員、アドバイザーの先生方、学術調査員の先生方（小阪田泰子先生（大阪大学）、杉本敏樹先生（自然科学研究機構））にも参加いただき（参加者合計 4 ヶ国、43 名）、活発な議論を行うことができた。

・第 8 回領域会議 中間報告会

2023 年 8 月 3、4 日の 2 日間にわたり、ホテル日航奈良にて「多元応答ゲノム」の中間報告会として第 8 回領域会議を開催した。本会議には、領域アドバイザーの先生方 4 名をお招きし、領域研究メンバー 6 名と合わせた計 10 名が参加した。1 日目は、各メンバーが研究の進捗状況などについて報告を行い、夜遅くまで、白熱した議論が続けられた。2 日目は各班の代表が今後の計画方針について発表を行った。各メンバーの研究や今後の計画方針についてアドバイザーの

先生方からご指導いただき、研究の方針が明確となり、大変有益な会議となった。

(2) 国内外における公開シンポジウムおよび成果発表会の開催

研究成果の発信や、新規の共同研究ネットワークの開拓を目的とし、公開シンポジウムや成果発表会を開催した。主な活動を下記に記す。

・学術変革領域研究(B) 領域横断研究会

2022年10月17-18日に「糖化学ノックイン」領域（領域代表 国立研究開発法人産業技術総合研究所 生長幸之助）との領域横断研究会をグランフロント大阪および大阪市中心公会堂で開催した。2領域のメンバーが研究成果の発表を行い、共同研究の可能性を探るという目的を持って、交流を深めた。

・第95回日本生化学会大会におけるシンポジウム「非二重らせん核酸の多元機能」

2022年11月10日に、第95回日本生化学会大会（名古屋国際会議場）において、学術変革領域研究（B）「多元応答ゲノム」共催シンポジウム「非二重らせん核酸の多元機能」を開催した。領域内からは各班の代表が、領域外からは関連する分野で精力的な研究を進めておられる3名がシンポジストとして発表を行った。分子レベルでの物理化学から生体レベルでの病態学まで、幅広い分野から核酸構造の多元機能を議論するシンポジウムとなった。

・ The 7th Gratama Workshop 2023 （国際シンポジウムの共催）

2023年5月10日～12日に、長崎ブリックホールにてThe 7th Gratama Workshop 2023を文部科学省科学研究費助成事業における、学術変革領域研究（A）「物質共生」（領域代表 長崎大学 山吉 麻子先生）、学術変革領域研究（A）「デジタル有機合成」（領域代表 九州大学 大嶋 孝志先生）」、学術変革領域研究（B）「多元応答ゲノム」の共催で開催した。Gratama Workshopは、日本とオランダの二国間で定期的に開催されており、21世紀の人類社会の繁栄のために化学技術、バイオ技術がどのように貢献するのかについて、将来の展望と目標を明確にすることを目的としている。本領域からは、領域代表の建石と、A01班遠藤が、研究成果を招待講演として発表した。Workshopでは、オランダからの参加者との国際交流に加えて、学術変革領域研究（A）のメンバーと交流し、領域運営や研究発信を学ばせて頂く貴重な機会となった。

・3領域横断小規模研究会

2023年9月11日、グランフロント大阪北館 2Fアクティブスタジオにて学術変革領域研究（B）「遅延制御」（領域代表 東京農工大学 村岡 貴博先

生)、学術変革領域研究(B)「脳分子探査」(領域代表 東京大学 安楽 泰孝先生)との3領域横断小規模研究会を開催した。本研究会には、3領域研究メンバー9名が参加し、各領域研究の紹介を行い、その後、参加者全員が成果研究発表を行った。お互いの研究を知ってもらい、共同研究の可能性を探るという目的を持って交流を深めた。研究会では活発な議論が繰り広げられ、領域内の共同研究の進捗状況や計画に関しても深く議論できる機会となった。

・日本化学会秋季事業 第13回 CSJ 化学フェスタ 2023 における学術変革領域研究(B)3領域コラボレーション企画「細胞内の生命分子の機能を知り、操り、視る技術を開発する」

2023年10月17日、日本化学会秋季事業 第13回 CSJ 化学フェスタ 2023 (タワーホール船堀)にて、令和2、3、4年度に新規採択された学術変革領域研究(B)の3領域の共催で、企画シンポジウムを開催した。シンポジウムでは、細胞内で機能を変化させる生命分子に焦点を当て、生命分子(特に核酸)の機能を知る「多元応答ゲノム」、機能を操る「アプタマー生物学」(領域代表 東京農工大学 塚越かおり先生)、機能を視る技術を開発する「革新ラマン」(領域代表 東京工業大学 神谷真子先生)の領域内容と研究成果を紹介し、生体分子を操作する科学技術の今後の展開について議論した。

・国際シンポジウム“Structure and Function of Nucleic Acids” (国際シンポジウムの主催)

2024年2月28日、甲南大学にて核酸化学の国際シンポジウム“Structure and Function of Nucleic Acids”を開催した。シンポジウムでは、英国(UCL School of Pharmacy 准教授 Zoë A. E. Waller 先生)、オーストラリア(The University of Sydney 教授、Tracy Bryan 教授)、日本から核酸の非二重らせん構造に関する先駆的な研究を行う研究者を招聘し、最新の成果を発表した。また、領域代表者の建石から、本領域で得られた研究成果を招待講演として発表した。

(3) 一般に向けた領域の研究成果の発信及びニュースレターの定期刊行

・ニュースレター

領域の研究成果や研究活動を毎年3月にニュースレターとしてまとめ、発刊した。関連の研究機関や、展示会時で積極的に配布し、領域の研究成果を発信した。

・研究成果の社会還元活動

科研費の研究成果を基にした実験教室を行うひらめき☆ときめきサイエンス

に 2022、2023 年度に採択され領域代表者や分担者によって、実験教室を行った。
さらに、公益社団法人日本薬学会関西支部が主催する「市民公開講座」に領域研究メンバーが招待され講演を行った。

5-2 計画研究 (A01 班)

生物種の分類枠組みを超えた網羅解析による多元応答深化の解明

研究開始当初の背景

遺伝子配列の解析技術の飛躍的な進歩にともない、様々な生物種のゲノム DNA やトランスクリプトーム RNA が解析されて公開されている。大規模な配列情報の処理能力も大幅に向上し、遺伝情報の多様化と複雑化の過程を追跡できるようになってきている。これまで、バイオインフォマティクスを活用した大規模配列解析においては、DNA や RNA の配列情報（一次情報）に基づいた解析が行われてきた。一方で、核酸（DNA および RNA）はその配列に依存して様々な構造を形成し、遺伝子の発現に多大な影響を及ぼし得る。また、核酸の構造は、その一次配列とは異なり核酸分子が存在する環境に依存して多元的に変動する。特に、特定の化合物の相互作用や周囲の分子環境変化に応答して構造変化や熱安定性変化を示す。これらの知見に基づき、生命体のゲノム DNA やトランスクリプトーム RNA には、様々な要因で多元的に変動する核酸構造に基づいて遺伝子の発現が調節される機構（多元応答）が存在していると考えられる。

これまで、多くの研究が核酸構造に依存した遺伝子の発現変動を個別の遺伝子や生物ごとに報告してきている。しかしながら、生物種の分類枠組み（原核生物、真核生物などの枠組み）を超えてその分子機構の共通点や相違点を示すまでには至っていない。各生物は、それぞれの生育環境、あるいは遺伝子の発現システムの違いに応じて、多元応答としての遺伝子の発現調節機構を巧妙に変化（多元応答深化）させ、維持していると想定される。このような学術的背景に基づき、実験的検証に基づく DNA や RNA の網羅的解析、およびバイオインフォマティクスを活用した大規模比較解析を連携して研究を展開することで、生命システムの進化と「多元応答深化」の過程を明らかにできるのではないかと考えられる。

研究の目的

本研究課題では、核酸構造に依存した遺伝子の発現調節をゲノムワイド、トラ

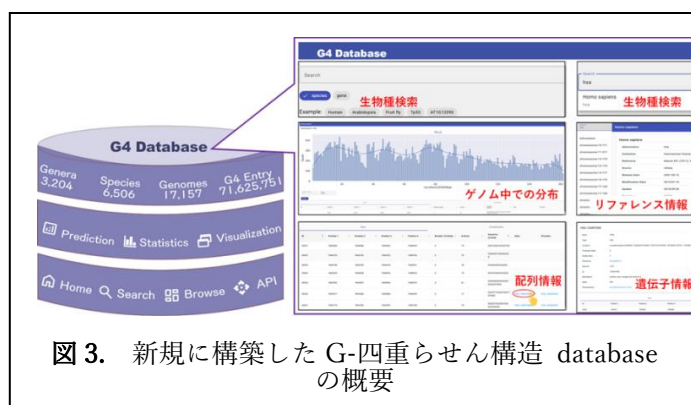
ンスクリプトームワイドに解析し、生命システムに維持されている「多元応答」の存在と、それに関与する核酸構造を示すことを目的とする。特に、生物種の分類枠組みを超えて存在する多元応答機構の共通点、相違点を議論するための核酸構造データベースを構築していく。

研究成果

(1) バイオインフォマティクス解析による G-四重らせん構造形成可能領域の解析

当初の研究計画に従い、様々な生物種のゲノムを対象に、G-四重らせん構造を形成可能な配列領域を、既存のゲノムデータベースに基づいて網羅的に解析した。これまでに、6300 種以上の生物種のゲノムについて、G-四重らせん構造形成可能領域を検索した。大腸菌や枯草菌などの微生物のゲノムでは、ゲノムの GC 含有率によって抽出される領域の数は異なるものの、3 枚のカルテットを形成する G-四重らせん構造と

2 枚のカルテットを形成する G-四重らせん構造の形成可能領域がおよそ 1:50 の比率で抽出された。特徴的な分布として、植物を含む真核生物において、ミトコンドリアゲノム中に 3 枚のカルテットを形成する G-四重らせ



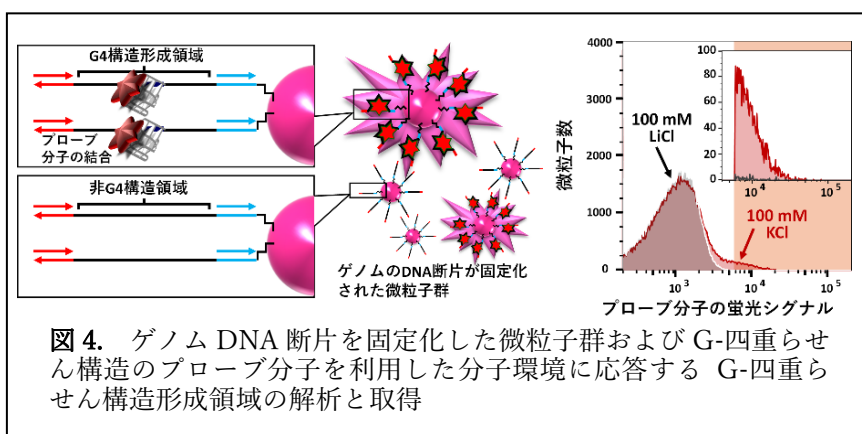
ん構造形成可能領域が高頻度に存在することが明らかとなった。このことから、G-四重らせん構造がミトコンドリア内で「多元応答」による遺伝子の発現調節を担っている可能性が予測された。抽出された G-四重らせん構造形成可能領域については、新規に構築する G4 (G-四重らせん) database への登録を進め、ゲノム中に存在する数や場所、予測される安定性やコードされている遺伝子種別などを生物種間で比較しながら解析できる新たなツールとしての公開を目指す。既に、当該学術変革領域のグループ内で限定的に共有できるツールとして、G4 database (alpha version) が活用され、公開準備が整っている (図 3、<https://g4vista.med.niigata-u.ac.jp/>)。

(2) 生化学的な実験による G-四重らせん構造形成領域の解析

大腸菌、枯草菌のゲノムを断片化したライブラリを調整し、ライブラリ由来の DNA 配列を個別の微粒子に固定化した。得られた数百万種類の微粒子群を G-四重らせん構造に対するプローブ分子と混合し、微粒子の蛍光シグナルを解析した。本研究では、細胞内を特徴づける高濃度な分子夾雑環境（分子クラウディング環境）を再現するために、平均分子量 200 のポリエチレングリコール(PEG200)を含む緩衝液中での解析を行った。

G-四重らせん構造を安定化するカリウムイオン存在下において、リチウムイオン存在下と比較して有意に強い蛍光シグナルを発する微粒子が多数観測された（図 4）。強い蛍光シグナルを発する微粒子群は、カリウムイオンと分子クラウディング環境に応答して G-四重らせん構造を形成する DNA 断片を固定化していると考えられる。

実際に G-四重らせん構造を形成している配列を網羅的に取得するために、FACS を用いて微粒子を選別、回収し、固定化されている DNA 配列の解



析を行った。その結果、3 枚のカルテットを形成する G-四重らせん構造の形成可能領域のほとんどが、実際に G-四重らせん構造を形成する配列として実験的にも取得されることが示された。また、2 枚のカルテットを形成する G-四重らせん構造の形成可能領域も多数回収された。この場合は、グアニン塩基に塩基対を形成するシトシン塩基が周囲に存在する割合が少ないほど、G-四重らせん構造を形成する可能性が高いことが示された。さらに、グアニンの連続配列の間に長いループ配列が存在し、バイオインフォマティクスによる解析では G-四重らせん構造の形成可能領域としてリストされない配列であっても、PEG200 を含む緩衝液中で G-四重らせん構造を形成できることが見出された。このことは、これまで考えられてきた以上にゲノム上の様々な領域で G-四重らせん構造が形成され、「多元応答」として遺伝子の発現調節に関与し得ることを示している。特

に、2枚のカルテットを形成する適度に不安定な G-四重らせん構造は、細胞内のカリウム濃度などに敏感に応答して遺伝子発現に影響する可能性が高いと考えられる。そのため今後の研究展開として、2枚のカルテットから構成される G-四重らせん構造に焦点を当て、分子環境に応答した構造の変動を解析することが重要となってくると考えられる。そこで、領域外の研究グループとの共同研究も開始し、細胞内での核酸構造の変動を経時的に観測する実験系を構築し、動的な構造変化をエネルギーパラメータとして取得できるようにした（日本化学会第 104 春季年会（2024）にて成果を発表した）。

(3) タンパク質と相互作用する RNA 領域のトランスクリプトームワイドな解析

特定の分子と相互作用する RNA を効率よく取得する技術として、微粒子上の DNA から RNA を転写しつつ固定化し、蛍光シグナルを用いて標的分子が相互作用する RNA を取得する技術の構築を行った (*Anal. Chem.*, 95, 976 (2023))。さらに、タンパク質を蛍光分子で標識することで、標的タンパク質に相互作用する RNA を選別、取得できる技術を構築した。具体的には、細胞内在性の RNA 断片が固定化された微粒子群を調整し、蛍光分子で標識した SARS-CoV-2 の RNA 依存型 RNA ポリメラーゼ (RdRp) と混合した。その後、RdRp と RNA との結合により強い蛍光シグナルを示している微粒子を選別、回収した。結果として、RdRp による RNA の合成反応を抑制できる RNA を獲得することに成功した (図 5)。最も抑制効果が高かった RNA は、ラミン遺伝子から転写される mRNA のイントロンに存在していることも明らかとなった。このことは、これまで不要と思われてきたノンコーディングなイントロンの RNA 領域が、特定の RNA 構造を形成し

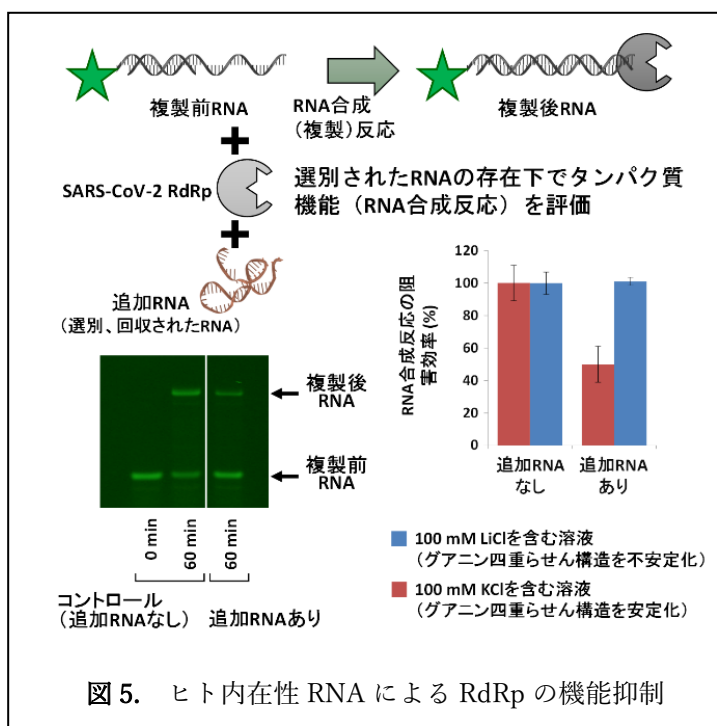


図 5. ヒト内在性 RNA による RdRp の機能抑制

てタンパク質機能を制御できる可能性を示している。また、当初予見していなかった興味深い成果として、このイントロン領域が G-四重らせん構造を形成することで、RNA の合成反応を抑制できることが明らかとなった (Chem. Commun., 59, 872 (2023))。

RNA メチル化酵素である METTL3/14 に結合するヒト内在性 RNA についても、同様に選別、回収を行った。METTL3/14 については、既に G-四重らせん構造に結合し得ることがモデル配列を用いた研究から示されており、ヒト内在性の RNA を用いた場合でも、G-四重らせん構造の形成可能配列を含む領域が多数取得された。さらに、取得された配列の中に RNA のメチル化サイトが有意に多く存在することもバイオインフォマティクスによる解析で明らかとなった。つまり、分子環境に応じて構造を変化させ得る G-四重らせん構造とタンパク質との相互作用が、「多元応答」としてエピジェネティックな RNA の化学修飾にも関与していると推測される。

以上の研究成果により、遺伝子発現だけではなくタンパク質の機能調節、機能制御にも「多元応答」として核酸構造が関与している可能性を示すことができた。

(4) シュードノット RNA 構造に対する分子環境効果の物理化学的解析

シュードノット構造を構成する 2 つのステム領域のうち、一方（ループ領域が塩基対を形成してできるステム領域）に焦点を絞った解析手法を構築した。ループが形成するステム領域の配列を様々な配列に変換したモデル配列を設計し、このステム領域が熱融解する過程を解析した。設計した 23 種類のシュードノット構造の解析を行った結果、異なる配列であっても同じ最近接塩基対の組み合わせを有するシュードノット構造の間での熱安定性 (ΔG°) の差 ($\Delta\Delta G^\circ$) は、異なる最近接塩基対の組み合わせを有するシュードノット構造の間での $\Delta\Delta G^\circ$ よりも有意に小さいことが明らかとなった。また、実験的に得られた ΔG° と、最近接塩基対に基づいて予測される RNA 二重らせん構造の ΔG° とに直線的な相関関係が見出された (Chem. Commun., 58, 5952 (2022))。これらの結果より、最近接塩基対モデルと組み合わせたバイオインフォマティクスによる解析で、トランスクリプトーム RNA 上でのシュードノット構造の形成可能領域の抽出とその安定性予測もできるようになる。さらに、分子クラウディング環境に応答してこのステム領域が安定化されることも見出された。つまり、シュードノット構造も分

子環境に応答する核酸構造の 1 つとして、「多元応答」に寄与していると考えられる。

5-3 計画研究 (A02 班)

細胞内環境評価系を用いた多元応答機構の解明と多元応答ゲノムバンクの開発 研究開始当初の背景

生体内では、核酸 (DNA や RNA)、タンパク質などの生命分子が、細胞内環境で機能化することで高度な生命活動を行っている。本計画研究の代表者 (建石) らの研究グループでは、核酸が機能を発揮する上で重要な相互作用を定量化し、分子レベルの相互作用エネルギーとしてデータベース化する研究に取り組んできた。その結果、細胞内の分子で混み合った“分子クラウディング”状態が核酸構造を決定する重要な因子であり、分子クラウディングは核酸の二重らせん構造を不安定化し、非二重らせん構造の形成を誘起させることを物理化学的観点から明らかにしてきた (*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 525, 177 (2020)、*Nucleic Acids Res*, 48, 12042 (2020))。さらに、ヒト細胞内における非二重らせん構造の形成が相次いで確認され (S. Balasubramanian et. al., *Nat. Chem.*, 5, 182 (2013)、M. Zeraati, et al., *Nat. Chem.*, 10, 631 (2018))、細胞内での非二重らせん構造の役割が注目されている。近年、非二重らせん構造が形成されると複製・転写・翻訳などの生体反応の変異によって生体機能が摂動することが見出され (*Chem. Commun.*, 56, 2379 (2020)、*J. Am. Chem. Soc.*, 143, 16458 (2021) 等)、ヒト細胞内での非二重らせん構造形成が議論され始めている。非二重らせん構造は、 K^+ 、 Mg^{2+} など特定のカチオンとの結合によって劇的に安定化する。研究代表者は、がん、神経変性疾患の進行に応じた“イオンチャネル”タンパク質の過剰発現 (または不活性化) により、細胞内のイオン濃度 (特に K^+) の変化が四重らせん構造を不安定化し、がん遺伝子の転写活性や、神経変性疾患の悪性凝集体の形成が制御されていることを見出してきた (*J. Am. Chem. Soc.*, 140, 642 (2018)、*Biochemistry*, 59, 1972 (2020))。つまり、核酸の塩基配列は同一でも、多元的に変化する核酸の“構造”がゲノム情報を変化させ、疾患の発症や進行を制御している機構 (多元応答) があると考えられる。

このような核酸の構造に注目した研究はヒト細胞において多く解析されているが、物理化学的観点からは、核酸の構造形成メカニズムは特定のイオンとの

結合や水素結合の形成（解離）などによるものであり、生物種に依存しない。また、核酸の構造変化は温度の変化によって促進（または抑制）され、ヒトのような恒温生物よりもバクテリアや昆虫、植物などは、細胞内が外界の温度の影響を受けやすい。そのため、バクテリアや昆虫、植物などは、ヒトよりも核酸構造によって効率よく生命現象を制御できる可能性がある。しかしながら、核酸構造に注目した研究は、植物や数種類のバクテリアにおいて僅かに報告されているものの、ヒト以外での生物においては、非二重らせん構造を形成可能な領域がゲノムのどの位置にどの程度含まれるのかという基礎的な知見さえも明らかになっておらず、ましてや非二重らせん構造が生命現象に及ぼす影響を生物種を超えて比較した知見は皆無であった。

研究の目的

本研究では、生物のゲノムの塩基配列を基に多元応答を示す核酸構造形成を予測できるデータバンクを構築することを目指す。そのため、まず細胞内の核酸構造形成を定量的に解析できる細胞内環境評価系を構築する（模する研究）。さらに実細胞内の核酸構造とゲノム配列を比較し、細胞内環境評価系を最適化する（磨く研究）。6300 種以上の生物のゲノムから非二重らせん構造を形成し得る配列を網羅的に検索し、実細胞内の非二重らせん構造の情報と、非二重らせん構造による遺伝子発現変調の情報を集約したデータバンク（多元応答ゲノムバンク Dimension responsive-genome bank (DiR-GB)) を構築する（創る研究）。

研究成果

本研究では、多様な生物種における核酸の非二重らせん構造を網羅的に解析し、核酸構造に制御されるゲノムの多元的な発現機構（多元応答ゲノム機構）を解明する。そのため、本計画研究(A02 班)では、実施計画に従い、下記の研究を推進した。

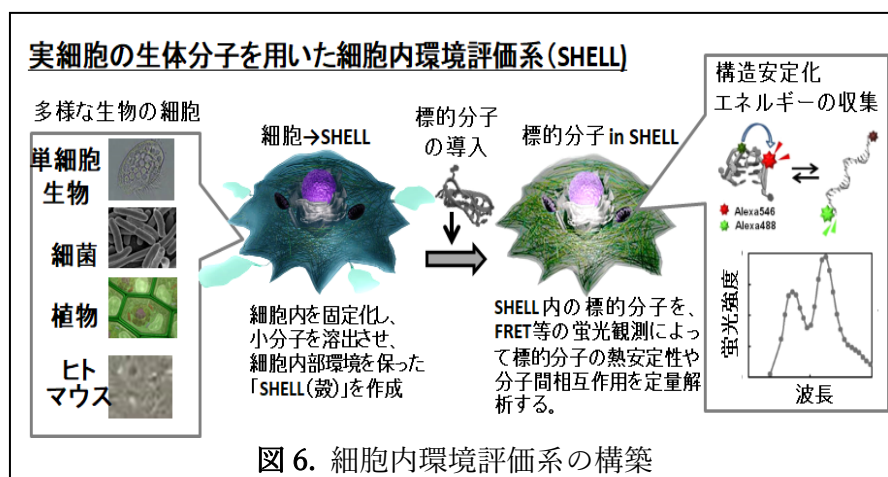
(1) 究極の細胞内環境評価系を構築する（模する研究）。

まず、共存溶質や有機金属錯体によって細胞内の環境を模倣した実験系を構築することを試みた。エチレングリコールなどの中性高分子やグリセロールや糖類などを共存溶質として細胞内環境の生体分子で込み合った分子クラウディング環境を構築した。これらの分子クラウディング環境下における核酸構造の挙動を解析した結果、分子クラウディングが G-四重らせん構造の安定性を大

きく変化させることを見出した (*Chem. Commun.*, 58, 48 (2021), *RSC Adv.*, 11, 37205 (2021))。さらに、エピジェネティクスな遺伝子発現に重要なメチル化反応を解析した結果、分子環境変化に応じた G-四重らせん構造の形態変化によってメチル化が制御されていることを見出した (*Chem. Commun.*, 58, 12459 (2022))。この結果は、エピジェネティクス修飾における核酸構造の多元応答の重要性を示唆している。

細胞内の分子環境（空間や物性）による効果をより厳密に評価するため、核酸周辺の空間を厳密に制御できるナノ材料 (Metal-Organic Framework (MOF) および Metal-Organic Gel (MOG) を用いて細胞内空間を模倣した細胞内環境評価系の構築を試みた。まず、空間を厳密に再現 することを目指して、MOF の形態や物性を制御する技術や (*CrystEngComm*, 23, 8498 (2021))、高分子ポリマーを任意の空間に塗布する技術を開発

した (*RSC Adv.*, 12, 3716 (2022))。これらの知見を基に、細胞内微小空間のモデルとして、UiO-66 骨格を



ベースとした MOG を開発し、DNA G-四重らせん構造との相互作用を解析したところ、G-四重らせん構造が結合することを見出した (国際シンポジウム 7th Gratama Workshop (2023) にて発表)。

さらに、細胞の分子空間を使って細胞内における核酸の構造を簡便に解析するために、実細胞を用いて試験管内で細胞内の分子環境を再現できる細胞内分子環境評価系、SHELL (System for highlighting the environments inside the cell) を開発した(図 6)。SHELL とは、細胞内部に存在するタンパク質や核酸分子などの存在量や空間的配置を維持しつつ、イオンや小分子などを取り除いた細胞のことを指す。この SHELL の中に、解析したい核酸分子を任意の溶液条件（イオンの種類や濃度）で封入してその構造や安定性を解析できる。それ故、SHELL は細胞内の複雑な環境を維持したまま解析対象となる分子を定量的に解析でき

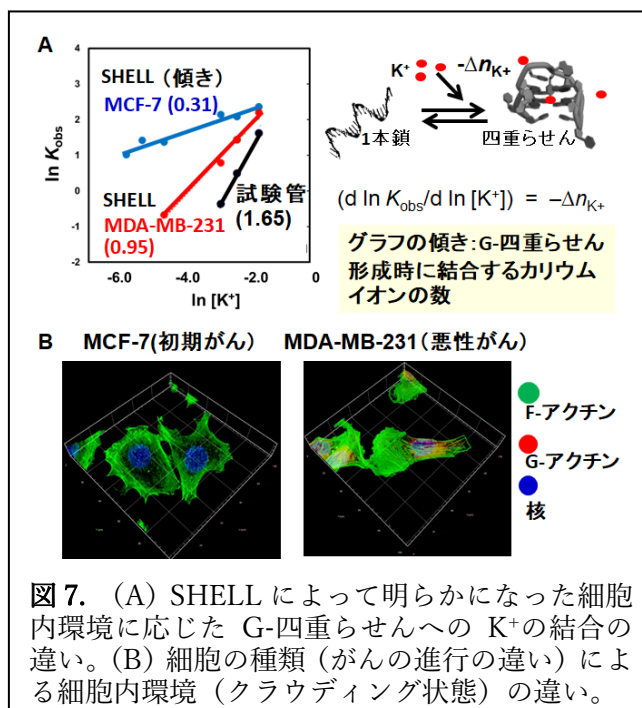
る、世界にも例を見ない画期的な実験系である。ヒト細胞を用いて SHELL を構築し、核酸構造を解析した結果、**G-四重らせん構造をモデルとして解析した結果、試験管内での G-四重らせんの挙動は細胞内での挙動と異なった一方、SHELL 内での G-四重らせん構造は細胞内での挙動と一致した。**このことから、SHELL は細胞内の核酸の挙動を再現できていることが示された（特開 2024-077441）。SHELL はヒト以外の細胞（マウス、シロイヌナズナ、バクテリアの細胞など）でも調製できるため、異なる生物種の細胞内分子環境が核酸に及ぼす影響を簡便に解析できる。

(2) データをフィードバックして細胞内環境評価系を最適化する（磨く研究）。

細胞内環境変化に応答して多元的に変動する核酸構造に焦点を当て、核酸構造に依存した遺伝子の発現調節（多元応答）の分子機構を SHELL によって解析した。がんの進行においては、カリウムイオン(K^+)チャネルが活性化するため、 K^+ の結合により安定化している G-四重らせん構造の解離や形成が誘発されると考えられる。初期がん細胞と悪性度の高いがん細胞で SHELL を構築し、G-四重らせんへ及ぼす K^+ 効果を解析した結果、G-四重らせんの K^+ の数がんの悪性化によって増大することが示された

た（図 7A）。この結果は、 K^+ 濃度の減少に伴う G-四重らせん構造の不安定は悪性がん細胞では顕著であり、G-四重らせん構造の不安定化ががん遺伝子の発現を上昇させることを見出した（*J. Am. Chem. Soc.*, 146, 8005 (2024)）。さらにこれらの細胞内では、細胞骨格(アクチン)によるクラウディング環境が大きく異なることも見出した（図 7B）。このように SHELL 内の物理化学的解析（イオン-核酸相互作用）により、疾患に伴う細胞内環境変化に応じた多元応答機構の重要性を示すことができた。

さらに、二重らせん核酸形成が溶液環境に応じて変化し、複製や転写機構に



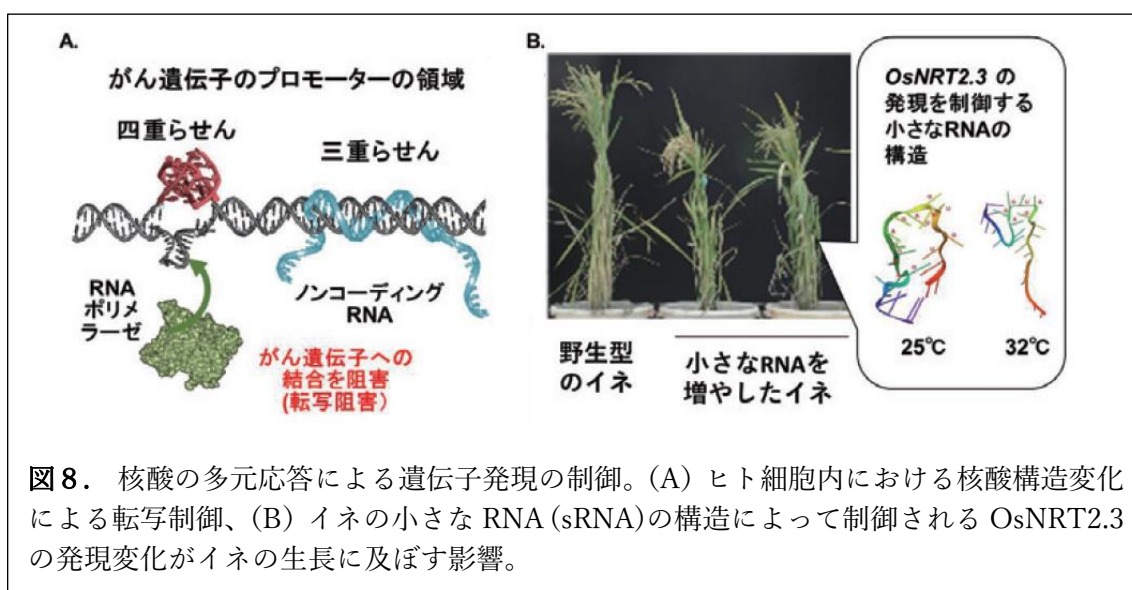
に伴う細胞内環境変化に応じた多元応答機構の重要性を示すことができた。

さらに、二重らせん核酸形成が溶液環境に応じて変化し、複製や転写機構に

及ぼす影響も明らかにすることができた (*J. Am. Chem. Soc.*, 143, 16458 (2021)、国際シンポジウム G4 webinar series Round VI、Pacifichem2021 など で発表) (図 8A)。この知見を基に、多元応答機構を制御する分子として、G-四重らせん構造を安定化し、転写抑制を示す小分子を見出した (*Chem. Commun.*, 59, 4891 (2023)、日本核酸医薬学会第 7 回年会 (2022 年) で発表)。また、細胞内における核酸の重要な相互作用を明らかにするため、様々な種類の MOF を用いた細胞内空間模倣系を構築し (錯体化学会第 73 回討論会にて発表)、MOF と細胞の相互作用を解析し、MOF により細胞接着能が向上することを明らかにした (*ACS Appl. Mater. Interfaces*, 14, 34443 (2022))。

(3) 核酸“構造”情報を集約したデータベースを構築する (創る研究)。

これまでに得られた知見および、A01 班によって得られた核酸の 1 次配列情報から、核酸構造を予測できるエネルギーパラメータを開発し、データベース化した。RNA 二重らせん構造を予測できるパラメータによって、細胞質や核小体などの細胞内の局所における RNA の構造安定性を予測できるようになった (*Nucleic Acids Res.* 51, 4101-4111 (2023) 、Front Cover に選定)。さらに、多元応答機構において重要である細胞内の生体反応が進行している間に形成されるハイブリッド二重らせん構造の形成を予測できるエネルギーパラメータを開発した。その結果、周辺環境に応じて変化する核酸構造を予測するエネルギーパラメータを活用することで、細胞内環境に依存した転写反応の効率やゲノム編集反応の効率、核酸医薬品 (アンチセンス核酸) による遺伝子発現抑制の効率を予測できることが示された (*J. Am. Chem. Soc.*, 145, 23503 (2023))。これらの知



見は、より正確な核酸構造予測法を確立することにより、細胞内の多元応答機構を予測できる手法を開発できることを示している。

これらの多元応答機構が生物種を超えて成立しているかを確かめるため、国際共同研究として、イネの生長に関わる遺伝子の発現を解析し、これらの発現を制御する sRNA の構造を解析した。興味深いことに、sRNA の構造は、生育する温度に依存して変化した。さらにこの構造変化により sRNA と mRNA の結合を制御され、遺伝子発現を調節されることが見出された (Sci. Adv, 8, eadc9785 (2022)、(2022 年 12 月 5 日日本経済新聞に掲載) (図 8B)。本研究成果は、ヒト以外においても、多元応答機構が成立していることを示唆する重要な知見である。

これらの知見に加え、A01 班によるゲノム解析データおよび、A02、A03 班によって得られた様々な生物種の実細胞内の核酸構造に応じた遺伝子発現変化の情報を集約し、データベース化した。A01 班では、MBGD (Microbial Genome Database)および National Center for Biotechnology Information (NCBI)に登録されている 6300 種以上の生物種を対象に G-四重らせん構造および i-motif 構造の形成可能な領域を検索した。これらのデータを集約し、データバンクを開設して (<https://g4vista.med.niigata-u.ac.jp/>)、公開準備を整えている。

5-4 計画研究 (A03 班)

細胞・個体における環境応答性核酸構造体の多元機能

研究開始当初の背景

クロマチンの化学修飾が遺伝子発現に寄与することがエピゲノム研究により周知のものとなった。また近年では、RNA の化学修飾の重要性が明らかになりつつある。これらの塩基修飾に加えて、DNA、RNA のグアニンに富む配列は、G-四重らせん構造という非二重らせん構造をとり、転写や翻訳の制御に関わることが示唆され始め、配列情報を超えた核酸の役割に注目が集まっていた。

メッセンジャーRNA の修飾として最も多く存在する N6-メチルアデノシン (m6A) は、RNA の安定性や局在、スプライシングや翻訳など様々な RNA 代謝に関わり、発生や分化、がん化、体内時計の制御やウイルスの生活環など種々の生命現象に影響を与える。アデノシンへのメチル化の導入機構を知ることはこ

これらの生命現象を理解する上でも重要であるが、メチル化酵素自体の RNA 結合特性は不明であった。メチル化酵素複合体を構成するタンパク METTL14 は、G-四重らせん結合モチーフの一つとして知られるアルギニンとグリシンに富む RGG モチーフを RNA 結合モチーフとして持つことから、配列情報を超えた核酸の多元機能として、本研究では、核酸の化学修飾と高次構造との関係性に着目した。

また、核酸の高次構造体は動植物に共通するものであるにもかかわらず、哺乳動物細胞において転写の制御への寄与などが報告されているほかは、核酸構造体の存在や役割はほとんど不明であった。植物をはじめとして、種々の生命体における G-四重らせん構造の実体を明らかにすることが求められていた。

研究の目的

核酸の構造変化は可逆的であり、かつ周辺環境の影響を受けやすい。加えて、種々の核酸構造や化学修飾は動植物に共通する。それ故、環境応答性の核酸構造体は生理的にも重要な役割を秘めていると考えられる。本研究では、化学修飾と核酸構造といった一次配列情報からは知り得ない核酸の多元性の生理機能に関して、エピトランスクリプトーム制御の観点からの知見および、植物個体における核酸高次構造体の基礎的知見を得ることを目的とした。

研究成果

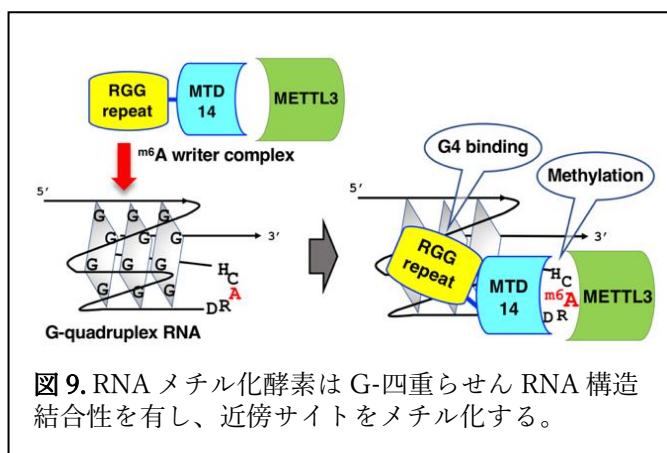
(1) エピトランスクリプトーム制御における RNA 高次構造の役割の解明

RNA メチル基転移酵素 METTL3/METTL14 の RNA の G-四重らせん構造への結合性を調べるために、安定な G-四重らせん構造を形成するモデル配列として、テロメア RNA の G-四重らせん配列 ((GGGUUA)_n) のループ部分もしくは G-四重らせん構造の外側にメチル化基質配列を挿入したオリゴ RNA と、G-四重らせん構造を形成できないオリゴ RNA を用意し、まず、これらの G-四重らせん構造形成能を CD スペクトル測定によって確認した。METTL3/METTL14 の結合親和性を調べた結果、ループの長さに関わらず、G-四重らせん構造を形成するオリゴに対して METTL3/METTL14 は高い親和性で結合することが明らかになった。カリウムイオン非存在下（リチウムイオン存在条件）では結合親和性が大きく低下したことから、METTL3/METTL14 が G-四重らせん構造 RNA に対して特異性があることが示唆された。また、RNA メチル化能に関しては、細胞由来の RNA

が存在する夾雑条件においては、G-四重らせん構造近傍（ループ部分、G-四重らせん隣接領域）に存在するメチル化基質配列中のアデノシンが選択的にメチル化されることが明らかになった。METTL3/METTL14 は、G-四重らせん構造 RNA に結合した上で、それを足場として近傍のメチル化標的配列をメチル化している可能性が示唆された（*Nucleic Acids Res.*, 50, 449–457 (2022)）。

さらに、モデル配列のような安定な G-四重らせん形成配列に限らず、研究実施計画に従い、哺乳動物細胞に存在する mRNA 配列を対象として、METTL3/METTL14 が結合する配列の探索を行った。具体的には、A549 細胞由来 mRNA 配列を提示した微粒子から METTL3/METTL14 が結合している微粒子を回収し、提示されている RNA 配列を次世代シーケンサーで解析した。その結果、候補となる約 300 配列を得た。これをヒット配列群とし、コントロール群としてトランスクリプトーム中からランダムに、ヒット配列の平均鎖長を持つ同数の配列を抽出した。エンリッチメントモチーフ解析により、コントロール群と比較して GGA に富む配列が濃縮されていることが明らかになった。特に、RGAGGAGGAGGAGGA 配列は 60% 近くものヒット配列中に存在した。また、ヒット配列中およびコントロール配列中の G-四重らせん形成可能配列および m6A サイトを抽出した。その結果、コントロール群と比べて、ヒット配列群では G-四重らせん形成可能配列の数と m6A サイトの数のいずれも、コントロール群に対して有意に多いことが明らかになった。

候補として得られた RNA 配列が実際に G-四重らせん構造を形成するのか、METTL3/METTL14 の結合標的およびメチル化標的となるのかを検証するために、得られたヒット配列の中から、m6A データベースとの照合によりメチル化を受けるアデノシンを有し、かつその近傍に G-四重らせん形成可能配列を含む領域を抽出し、オリゴ RNA を合成した。これらの CD スペクトル測定を行なったところ、カリウム存在下では特徴的な平行型 G-四重らせん構造を形成することが示唆された。また、METTL3/METTL14 が結合し、夾雑 RNA が過剰に存在する条件でも特異的に G-四重



せん構造近傍のメチル化サイトをメチル化することを確認した。安定な G-四重らせん構造を形成するモデル配列のみならず、細胞の mRNA 由来の配列においても METTL3/METTL14 が G-四重らせん RNA を認識し、これを足場としてメチル化を進めることが示唆された (図 9)。これらの結果は、RNA の G-四重らせん構造がアデノシンメチル化部位の決定に関わる一因であることを示唆するものであり、エピトランスクリプトームの制御における G-四重らせん RNA 構造の新たな知見を提供した (図 9)。核酸修飾や G-四重らせん構造といった高次の情報が互いに関わり合い、「多元応答」に寄与していると考えられる。今後、このような核酸の高次情報が原因となる疾患のメカニズムを明らかにすることにより、「多元応答」の破綻をターゲットとする創薬指針につながることを期待される。

(2) 植物における核酸高次構造の役割の解明

研究実施計画に従い、まず、植物個体における核酸高次構造体の検出法の確立に取り組んだ。抗グアニン四重鎖抗体と抗 i-モチーフ抗体を用いた免疫染色の結果、シロイヌナズナの根の細胞においてそれぞれのシグナルが検出された。また、これらのシグナルはピリドスタチン処理もしくはフィセチン処理により増加したことから、コントロール群において観察されたシグナルは核酸高次構造由来であると考えられた。このことから、植物ゲノムにも核酸高次構造が存在することが示唆された。

さらに、計画に従い、核酸高次構造体の役割に関して知見を得るため、ピリドスタチン処理もしくは未処理のシロイヌナズナを用いて RNA シーケンスを行った。その結果、ピリドスタチン依存的に 2 倍以上発現変動する遺伝子として 1939 遺伝子を同定した。Gene Ontology エンリッチメント解析の結果、発現変動遺伝子の多くがストレス応答に関連するものであった。グアニン四重鎖が植物においてストレス応答を制御する新たな可能性を示すことができた (図 10)。

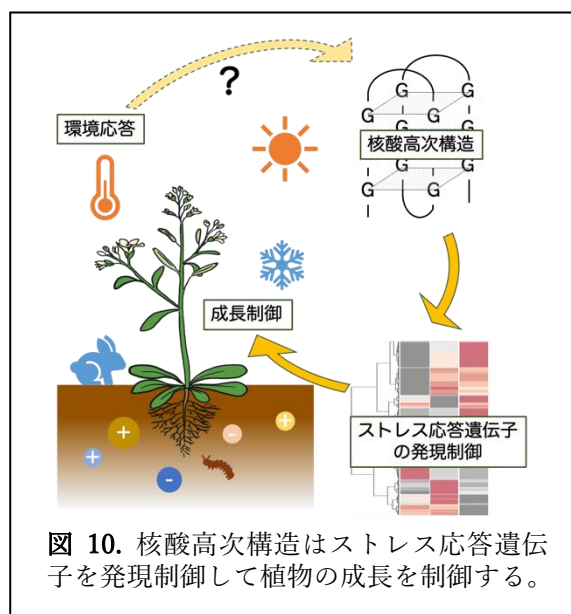


図 10. 核酸高次構造はストレス応答遺伝子を発現制御して植物の成長を制御する。

核酸高次構造の存在を進化論的な観点から考えるため、G-四重らせん構造を形成できる配列を検索する QGRS Mapper を用いたさまざまな植物のゲノムにおける G-四重らせん構造の形成予測を行った。その結果、植物進化系統樹において陸上植物の基部に位置する苔類ゼニゴケのゲノムには多くの G-四重らせん構造が存在する可能性が示唆された。そこで、ピリドスタチン処理したゼニゴケを用いて植物ホルモン応答因子をコードする遺伝子の発現解析を行った結果、コントロールと比較して発現が有意に抑制されることが明らかになった。当該遺伝子のプロモーター上に予測された G-四重らせん構造は植物ホルモン応答に必要なシス配列の近傍に存在し、またピリドスタチン処理により植物ホルモン応答性が喪失されたことから、核酸高次構造の形成が植物ホルモンに応答した当該遺伝子の発現制御機構に対して抑制的に機能すると考えられた。核酸高次構造体による「多元応答」機構が植物においても備わっていることを示唆する結果である。本研究では、植物における核酸高次構造の検出および解析方法を確立し、その役割に関する基礎的知見を得ることができた。今後、種々の植物における核酸高次構造体の役割を明らかにすることで、植物の生存戦略としての核酸高次構造の包括的な理解が進むだけではなく、進化論的にも興味深い役割が明らかになるものと期待される。

5-5 特筆すべき研究成果

本学術領域研究では、二重らせん構造を含め、核酸構造の安定性と分子環境に対する応答性を解析した研究において優れた研究成果を発信した。

「多元応答」に関与する RNA 構造の候補であるシュードノット構造に関して、熱安定性の定量的な解析を行った。その結果、H タイプと呼ばれるシュードノット構造に関して、最近接塩基対からその安定性を予測することが可能であることを示した。この成果により、シュードノット構造の安定性が、RNA 機能の発現にどの程度寄与するのかを定量的な数値で示すことができるようになると考えられる。また、「多元応答」による遺伝子発現の変動に対し、周囲の溶液環境に依存したシュードノット構造の安定性の変化がどのように相関しているのかを議論できるようにもなると期待される。本研究成果は、英国王立化学会が出版する「*Chemical Communications* 誌」に掲載され、掲載号の中表紙 (Inside Front Cover) に選出された。

「多元応答」に関与する核酸高次構造の細胞内での挙動を知るためには、高次構造と競合する、もしくは高次構造中に存在する二重らせん構造領域の安定性の変動を解析することも重要になる。本研究では、RNA の二重らせん構造に関して、様々なカチオン濃度、異なる共存溶質が存在する環境での熱安定性解析を行った。その成果として、どのような溶液環境でも、二重らせん構造の安定性を正確に予測できるエネルギーパラメータを導出した。本研究成果により、生物種ごと、細胞種ごとの環境の違いや、細胞内の環境変動に応答した核酸構造の分子挙動を議論できるようになると期待される。本研究成果は、計画研究グループの A01 班、A02 班が連携して得た研究成果であり、英国核酸科学誌「*Nucleic Acids Research* 誌」に掲載され、掲載号の表紙に選出された (*Nucleic Acids Res.*, **51**, 4101 (2023))。RNA/DNA のハイブリッド型二重らせん構造についても、様々なカチオン濃度、共存溶質存在下で熱安定性解析を行い、全 16 種類ある最近接塩基対の組み合わせに対するエネルギーパラメータを取得した。さらに、細胞内での RNA/DNA の二重らせん構造の形成を直接観測し、得られたエネルギーパラメータから予測される安定性と細胞内で形成される RNA 二重らせん構造の割合との相関を示唆する結果を得た (*J. Am. Chem. Soc.*, **145**, 23503 (2023))。本研究成果は、国外の研究グループとの国際共同研究として行い、中央ヨーロッパ研究基盤コンソーシアムによってもその重要性が認められ、当該コンソーシアムの NEWS サイトからプレスリリースされた。

さらに本研究では、実細胞内の分子環境で核酸構造の安定性を定量的に解析する実験系の構築にも成功した。細胞内の空間とタンパク質などの分子配置を維持したまま核酸構造の解析を行う実験系である (SHELL) を構築し、細胞内におけるカチオンと核酸構造との相互作用の重要性を見出した。また、がんの進行に伴う細胞内のタンパク質 (アクチンなどの細胞骨格を形成するタンパク質) の発現量変化が、これらのタンパク質によるクラウディング空間の違いを見出し、核酸構造 (グアニン四重らせん構造) の安定性に影響を及ぼすことも明らかにした。本研究成果は、「多元応答」に関与する G-四重らせん構造が、疾患細胞内における遺伝子の発現を調節する機構を解明する重要な知見を与えるものであり、細胞を扱った実験系でありつつも物理化学的な定量解析ができる技術を構築した成果として、国際化学誌のトップジャーナルである米国化学会誌「*Journal of the American Chemical Society* 誌」に掲載された (*J. Am. Chem. Soc.*, **146**, 8005 (2024))。

国外研究グループとの国際共同研究に関して、植物を対象とした個体レベルでの表現型の変化に関連する「多元応答」の機構を解析する研究を、A01 班、A02 班が連携し、中国南京農業大学との国際共同研究として推進した。特に、植物が外界温度の変動によって大きく生育を変化させることに注目し、温度に依存した核酸の構造変化が、個体の生育に及ぼす影響を解析した。その結果、イネの生長に関与する遺伝子（高親和性硝酸イオントランスポーターOsNRT2.3）が、3 つの主要な対立遺伝子（HTNE-1、HTNE-2、HTNE-3）をもつことが示された。また、HTNE-2 をもつ品種は、夜間の温度が高い場合でも、窒素利用効率と収穫量を低下させないことが明らかとなった。さらに、OsNRT2.3 の遺伝子から転写される mRNA（OsNRT2.3a および OsNRT2.3b）に結合する小さな RNA（sRNA; sNRT2.3-1 および sNRT2.3-2）を新規に発見し、これらの sRNA が周辺の温度依存的に構造を変化させ、OsNRT2.3 の mRNA に結合して発現を制御することでイネの生育に影響していることを見出した（*Sci. Adv.*, 8, eadc9785 (2022)）。本研究成果は、イネ（植物）における「多元応答」に関与する核酸構造の存在を示す重要な知見であると共に、気候変動下でも収穫量の高いイネの育種に関して新しい指針を与えるとして注目され、新聞記事としても取り上げられた（2022 年 12 月 5 日、日本経済新聞（オンライン記事）に掲載）。

6. 総括

本領域研究では、環境に応答して多元的に変動する核酸構造に焦点を当て、生物種の枠組みにとらわれずに「多元応答」と位置づける遺伝子の発現調節を行う分子機構を物理化学的観点から解明することを目指した。これらの成果は、研究期間 2 年半において、学術論文（すべて査読付き）、*J. Am. Chem. Soc.*誌、*Nucleic Acids Res.*誌、*Anal. Chem.*誌、*Chem. Commun.*誌など計 23 件、総説等 4 件、図書 3 件、学会発表 117 件（そのうち招待講演 27 件、国際学会 41 件）、特許 1 件として発表した。さらに、海外連携に努め、学術論文のうち学術論文 5 件を海外共同研究として発表した。領域の成果の国際的な発信や、今後の国際共同研究を目指し、国内、海外における本領域に関連するトップレベルの研究者を招聘した国際シンポジウムを 2 回開催し、シンポジウムに参加した先生方から、領域研究して討論する機会を設けた。海外の先生方からの領域研究への応援メッセージはニュースレターに掲載し、公表している。

採択時の審査結果の参考意見として、「現在の生物学の延長線上の研究になってしまう可能性もあり、留意してほしい。また刺激応答性をどのように解析するか、ダイナミクス解析方法に関して、具体性のある提案が望まれる。計画研究は分野の多様性が確保され相補的であるが、特定の大学内での研究体制となっており、領域発展を目指して国内外の関連研究機関との連携準備も進めることが望ましい。」とのご意見をいただいていた。

これらのご意見の下、本研究では、これまで広く研究されてきたヒト細胞内における G-四重らせん構造を対象とした研究のみならず、植物やバクテリアなど様々な生物種を対象に研究を遂行し、生物種特有の外部刺激（例えば、ヒト細胞であればイオンチャネルの活性化による細胞内のイオン濃度の変動、植物細胞であれば、地球温暖化による外界温度の変動）に応じた核酸の多元応答の重要性を明らかにすることができた。

さらに、刺激応答のダイナミクスを生細胞内で解析することは困難であるため、生細胞の分子環境を保持した細胞評価系（SHELL）を開発した。SHELL は細胞を固定化し、穴を空けた評価系であるため、任意の温度で任意の分子と核酸

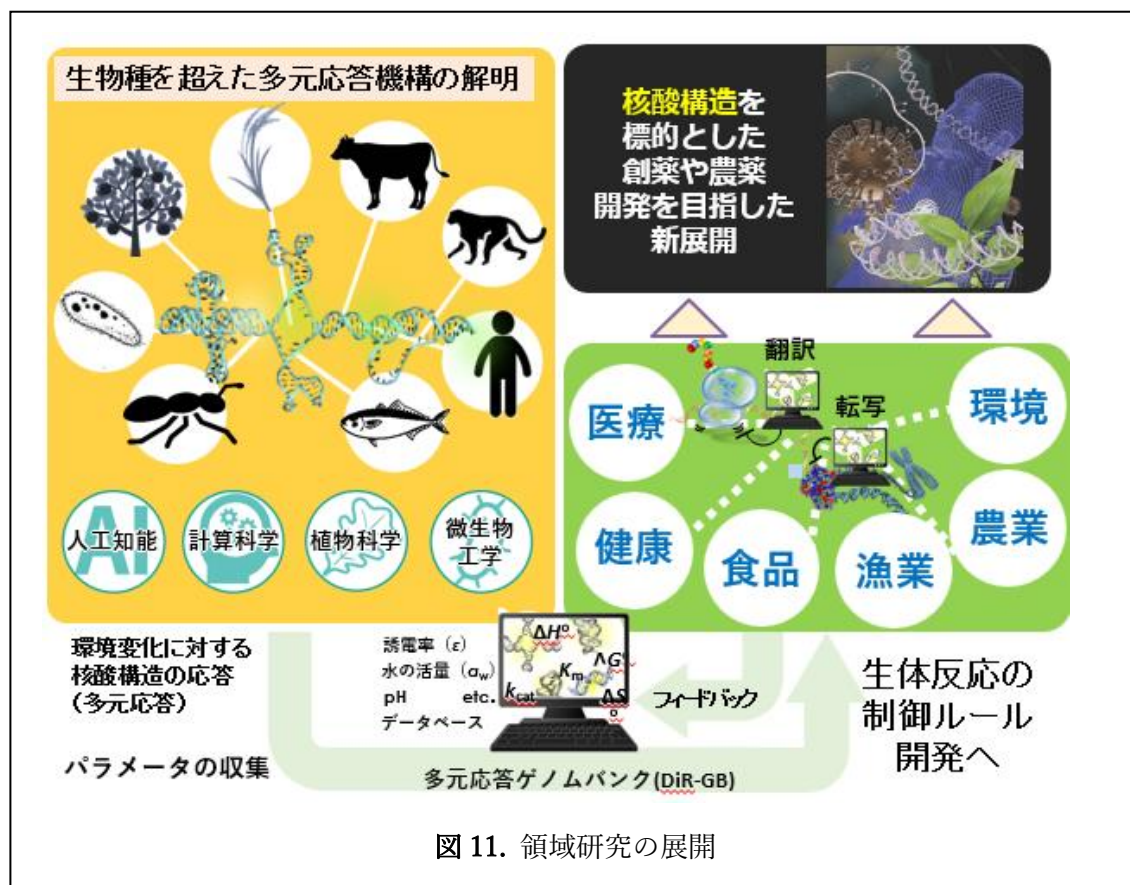


図 11. 領域研究の展開

の相互作用を解析でき、速度論的、熱力学的解析が可能である。領域発展を目指して海外の関連研究機関との連携を強化し、国際共同研究での論文を 5 件発表することができた。このように参考意見に基づき、領域研究を推進することにより、研究を円滑に推進することができた。

核酸分子は、全ての生命のゲノムを構成し、核酸分子からタンパク質が発現する遺伝子の発現過程（セントラルドグマ）も全ての生命体で基本的に同じである。つまり、遺伝子の発現過程に影響を及ぼし得る核酸構造は、原始生命体が発現したところからその過程の調節に活用されていると考えられ、生命の進化と共に、それぞれの生物種の生育環境に応じて、その調節機構を巧みに変化（深化）させてきていると想定される。本領域研究により、生物種の分類枠組み（原核生物、真核生物などの枠組み）を超えて非二重らせん構造による遺伝子発現制御の分子機構の共通点や相違点を理解するための基礎的な情報を収集できた。さらに、本領域研究において、生物種の分類枠組みを超えた多元応答を示す核酸構造を予測するデータベース（多元応答ゲノムバンク, Dir-GB）を開設することができた。Dir-GB には、解析が終了した生物種から、順次データを公開していく予定である。Dir-GB によって、対象生物の遺伝子発現制御機構を解明し、制御することができれば、医工学、農学、材料化学など幅広い分野に発展的に展開できると期待される（図 11）。本領域終了後も、様々な生物種における「多元応答」に関する研究を、領域メンバーや新たなメンバーと共に実施し、領域研究をさらに発展できるよう努める。