

平成21年 5月14日現在

研究種目：基盤研究 (B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18350083
 研究課題名 (和文) NO誘導損傷塩基オキザニンの遺伝子内生成とその発ガン誘発の
 化学的・生化学的証明
 研究課題名 (英文) Chemical and biochemical studies on the relationship between
 NO-induced oxanine formation as gene damage and its cancer
 generation
 研究代表者
 牧野 圭祐 (MAKINO KEISUKE)
 京都大学・エネルギー理工学研究所・教授
 研究者番号：50159141

研究成果の概要：

一酸化窒素によってDNA中のグアニン(Gua)から生成するオキザニン(Oxa)と発ガンとの関係を検討した。Oxaは遺伝子の修飾を司る酵素(制限酵素、キナーゼ、リガーゼ等)によってGuaと認識され、認識中に架橋反応することはないが、DNA修復酵素等とは架橋反応を引き起こす。これらの知見と化学合成法を組み合わせ、タンパク質-DNA架橋モデルを合成し、この損傷への修復機能の存在を明らかにし、発ガンとの関係が否定できないことを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
2007年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2008年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
総計	15,400,000	4,620,000	20,020,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：一酸化窒素、損傷塩基、オキザニン、架橋形成、発ガン、修復酵素、DNA認識酵素、修復機構存在

1. 研究開始当初の背景

本研究は、内因性生理活性化合物NOと細胞ガン化との関係に関し、「腫瘍学的ー酸化窒素生体内動態の化学的解明」(基盤研究(B)(2)、平成12-14年度)および「腫瘍学的ー酸化窒素生体内動態の化学的・生化学的解明」(基盤研究(B)(2)、平成15-17年度)で行った研究の集大成である。以下の点を既に明らかにしていた。

- (1) NOによってデオキシグアノシンからデオキシオキザノシン(塩基部:オキザニン(Oxa))が生成する。反応機構は全解明済み。
 (2) DNA鎖中のdOxo(Oxoのヌクレオシド)の

N-グリコシド結合は安定であり、Oxaを含有するDNAオリゴマーの作る二重鎖は比較的安定である。

- (3) Oxaを含有するDNAオリゴマーの合成法(dOxo三リン酸をモノマーとする酵素法、多量の試料を調製できるdOxoアミダイトモノマーを用いる固相化学合成法)を開発した。
 (4) Oxaを認識する修復酵素DNAグリコシラーゼ等がOxaと速やかに反応し、不可逆的架橋形成を行う。

2. 研究の目的

NOはNO合成酵素によって生合成され、血

管拡張などの重要な生理活性を持つ一方、炎症部位等で過剰生産され、細胞毒性が想定されているが、分子レベルにおける明確な解は未だ得られていない。本研究では、この問題の解決に迫る。

申請者等は、1996年、世界で初めてNOがDNA中のGuaと反応してOxaを生成することを発見し、NOと細胞ガン化の関係を報告した (K. Makino, *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 2515-2516, 1996)。

本研究は、これまでに得た結果をもとに、NOによる発ガンの可能性を分子レベル及び細胞レベルで明らかにすることを目的とする。具体的には、本研究では、損傷塩基 Oxa が細胞中の遺伝子に存在する可能性を明らかにし、NOによる細胞ガン化を証明し、その機構を解明する。

3. 研究の方法

(1) Oxa 含有 DNA オリゴマーの調製: dOxo (図1) から合成したアミダイトモノマーを用い、開発した固相化学合成法をさらに改良して、任意の塩基配列の、任意の位置に Oxa をもった、無細胞系あるいは細胞系実験に用いる 60 量体 DNA オリゴマー、さらには多量の核磁気共鳴法構造解析実験用オリゴマー調製を行った。

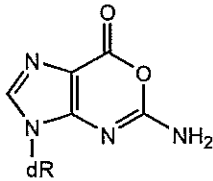


図1 デオキシオキザノシン (塩基部: オキザニン (Oxa))

(2) Oxa 含有 DNA オリゴマーへの酵素類の反応と長鎖オリゴマー調製への応用: 動物細胞系の研究に用いる長鎖 DNA オリゴマー調製のため、化学合成した Oxa 含有オリゴマーへの DNA ポリメラーゼ、リガーゼ、制限酵素、キナーゼ等の反応解析を行った。

(3) Oxa 認識修復酵素の存在確認: Oxa を認識する修復酵素の存在を明らかにして、細胞内 Oxa 生成の間接的証拠とする実験を行った。試料として、Oxa による架橋反応で生じるタンパク質-DNA 二重鎖を用いたが、架橋反応を行う大腸菌グリコシラーゼ (Endo III, Endo VIII, Fpg, AlkA) と哺乳類グリコシラーゼ (NTH1, NEIL1, NEIL2, OGG1, MPG) 等を大腸菌発現系で高発現して用いた。これらは His タグを持たない。

(4) Oxa を鎖中に含む二重鎖の構造解析: Oxa 含有 DNA オリゴマーへの種々の酵素類の反応性を説明するために、鎖中の Oxa による DNA 構造の変化を二次元核磁気共鳴法等によって解析した。

(5) Oxa 生成に対する修復機構存在の証明: 分

裂していない二重鎖上にトラップされたタンパク質の修復機構は明らかにされていないが、本研究の課題はこの範疇に入るため、化学合成法により、UvrABCヌクレアーゼの切断位置に Oxa を配置した DNA オリゴマー 60 量体を調製し、これにグリコシラーゼ類を架し、ヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair, NER) と相同組換え (homologous recombination, HR) 修復を、in vitro および in vivo 解析した。同様の研究を動物細胞系にも拡張した。

(6) 新規修復酵素トラップ法の設計: 種々の化合物を用いて、Oxa 含有 DNA オリゴマーと DNA 鎖を強く認識するタンパク質やアミノ基をもった化合物との反応を追跡し、Oxa 基のリンカーとしての能力を解析した。

4. 研究成果

以下の研究成果を得た。

(1) 化学合成法によって 60 量体 Oxa 含有 DNA オリゴマーの調製に成功した。オキザノシンの 5'ジメトキシトリチル化収率 69%、その後の 3'アミダイト化反応収率 72.5%であった。得られたアミダイトモノマーを精製して用い、オリゴマー合成の全ステップの平均反応率 96%、Oxa アミダイトモノマーの反応率 94%超を得た。

(2) Oxa 含有長鎖 DNA オリゴマー二重鎖調製を行うため、DNA 認識酵素反応を検討した。Taq DNA リガーゼは二重鎖同士を結合するが、結合する鎖の 3'端がミスマッチ塩基対をもつ二重鎖を認識しないことが知られている。Oxa:C 塩基対の場合、効率は G:C 塩基対をもつ天然型の 70%程度であり、二重鎖の結合が行われた。プレート: 3' -GAGTC CAGCT GTCAG ACGCC C(T)GGTA AGGAC TAAGA TTCAC-5'、結合する鎖: 5' -CTCAG GTCGA CAGTC TGCG N-3' 5' -G(A)CCAT TCCTG ATTCT AAGTG-3' (N=G,O,A)。DNA 二重鎖を特異的パンドローム部位で切断する制限酵素 (Bam HI, Eco RI, Bgl II, Hind III, Eco RV) についても切断反応解析を行い、Oxa 含有 DNA オリゴマーでは、Bgl II と Eco RI では Oxa の代わりに Gua を含むものよりも高い切断効率を示した。他の酵素も Oxa を Gua と認識し、切断反応を行った。また、酵素特異的塩基配列以外を基質とした場合、反応は進行しなかった。5'端の塩基に依存したリン酸基付加反応を司る T4 ポリヌクレオチドキナーゼは、5' 端に Oxa をもつ DNA オリゴマーのリン酸化を他の塩基が 5' 端に存在する場合よりも高効率で行った (リン酸化効率: 5' -O ≥ 5' -G > 5' -A ≅ 5' -T > 5' -C、塩基配列: 5' -N_CCAT TCCTG ATTCT AAGTG -3')。

これらの酵素は、酵素反応中に DNA 鎖中の Oxa と架橋反応は行わなかった。

(3) 大腸菌グリコシラーゼ (Endo III, Endo VIII, Fpg, AlkA) と哺乳類グリコシラーゼ (NTH1, NEIL1, NEIL2, OGG1, MPG) を大腸菌発現系で高発現して調製し、Oxa 含有 DNA 二重鎖と相互作用して架橋することを確認した (図2)。反応部位は側鎖にアミノ基あるいは SH 基をもったアミノ酸であった。

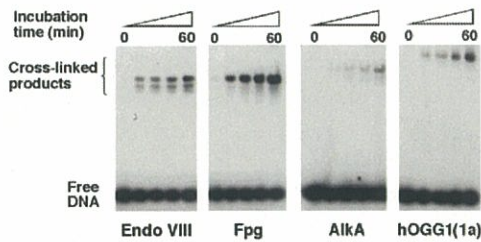


図2 大腸菌グリコシラーゼと Oxa 含有 DNA オリゴマー-25 量体との架橋反応

この後 UvrABC エンドヌクレアーゼで処理したところ、ヌクレオシド切り出しによるバンドが見られ、NER が Oxa 生成の場合の修復に関与していることが明らかになり、Oxa が細胞修復系で認識されていることが明らかになった。

(4) 二次元NMR 構造解析を行い、図3の構造を得た。

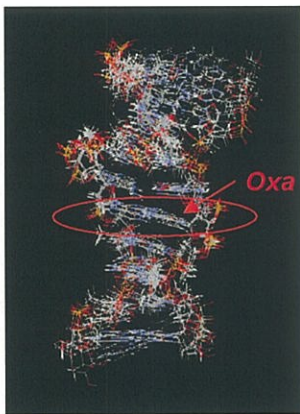


図3 Oxa 含有 DNA 二重鎖の立体構造

明らかにした点: Oxa の向かい側に Cyt がある場合は Cyt のアミノ基は Oxa の O の近くにいるが水素結合はなく、Cyt の 3 位のイミノ基と Oxa のアミノ間で水素結合あり、構造的に B 型からずれているが、基本骨格のずれは小さい。Cyt の代わりに Thy を配置した場合は Thy のイミノ水素は Oxa の向かいにいるが強い水素結合はなく、Oxa のアミノ基は Thy の 2 位のカルボニル酸素と強い水素結合をしており、B 型に近い構造をとる。また CD ス

ペクトルも B 型を示した。このような構造的な特徴から、二重鎖融解温度の低下は見られたものの、Oxa 含有 DNA 二重鎖は B 型として酵素類に認識され、酵素反応が進行するものと考えられる。

(5) 3の結果を受け、1で示した固相化学合成法によって合成した、UvrABC ヌクレアーゼの切断位置の間に Oxa を配置した DNA オリゴマー-60 量体二重鎖を試料とし、この Oxa 部位に種々の分子量のタンパク質を架橋した。これを試料として用い、未知の機構である分裂していない二重鎖上にトラップされたタンパク質の修復機構がいかなるものかについて検討した。図4には、UvrABC による NER の結果を示す (UvrA の鎖結合が DNA 架橋部の認識を担当し、UvrB の鎖結合の強さは架橋するタンパク質の大きさに影響を受ける)。この反応の場合、架橋したタンパク質の分子量が 14 kDa 以下の場合に切り出された生成物のバンドが観測された。すなわち、低分子量のタンパク質が架橋した場合、修復は NER で行われる。

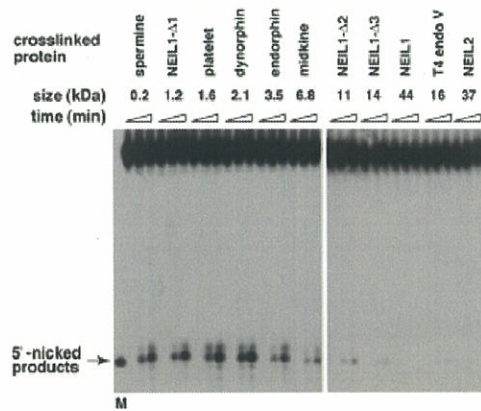


図4 UvrABC ヌクレアーゼによるタンパク質を架橋した DNA60 量体からのヌクレオチド除去修復の結果

さらに、NER による修復は、同様の方法で架橋を導入したプラスミドを用いた *in vivo* 実験でも同様の結果を生じ、Oxa 生成によって生じるタンパク質を架橋した DNA の修復機構が存在していることが明らかになった。また、12-14 kDa 以上の分子量のタンパク質が架橋した場合は、RecBCD 依存的 HR のみが役割を果たした。

以上の結果を総合して、NO によって二重鎖 DNA 中に生成した Oxa による発ガンの可能性は、Oxa 生成の量が検出限界以下であるために直接の証拠は得ることはできないが、今回得られた間接的な証明によって、否定できないものと結論する。

なおこの結果は、Cell の姉妹誌である Molecular Cell に掲載された。

(6) 本研究で NO によって生じる損傷塩基と

して詳細な検討を行った Oxa は、カルボジイミドによって活性化したカルボキシル基の構造であり、アミノ基などと効率よく反応する優れた架橋剤である。本研究の期間中にその優れた効果を明らかにし、DNA Microarray 作成のときに優れたリンカーになることを発表した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 20 件)

- ① A. Doi, S. P. Pack, T. Kodaki, and K. Makino, Reinvestigation of the molecular influence of hypoxanthine on the DNA cleavage efficiency of restriction endonucleases BglII, EcoRI and BamHI, *J. Biochem.*, Accepted, 2008 査読有.
- ② K. Yamashita, T. Miyoshi, T. Arai, N. Endo, H. Itoh, K. Makino, K. Mizugishi, T. Uchiyama, and M. Sasada, Ozone production by amino acids contributes to killing of bacteria, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 105, 16912-16917, 2008 査読有.
- ③ S. Watanabe, S. Piyanart, and K. Makino, Metabolic fate of l-lactaldehyde derived from an alternative l-rhamnose pathway, *FEBS J.*, 275, 5139-5149, 2008 査読有.
- ④ S. Watanabe, M. Saimura, and K. Makino, Eukaryotic and bacterial gene clusters related to an alternative pathway of nonphosphorylated L-rhamnose metabolism, *J Biol Chem.*, 283, 20372-20382, 2008 査読有.
- ⑤ S. P. Pack, N. K. Kamisetty, M. Nonogawa, K. C. Devarayapalli, K. Ohtani, K. Yamada, Y. Yoshida, T. Kodaki, and K. Makino, Direct immobilization of DNA oligomers onto the amine-functionalized glass surface for DNA microarray fabrication through the activation-free reaction of oxanine, *Nucleic Acids Res.*, 35, e110 (10 pages), 2007 査読有.
- ⑥ N. K. Kamisetty, S. P. Pack, M. Nonogawa, D. K. Charyulu, T. Kodaki and K. Makino, Additional alkylsilanization of aminosilane-modified glass slide: effect of alkylsilane structure for enhancing surface amine functionality, *Chem. Lett.*, 36, 322-323, 2007 査読有.
- ⑦ N. K. Kamisetty, S. P. Pack, M. Nonogawa, D. K. Charyulu, S. Watanabe, T. Kodaki and K. Makino, Efficient preparation of amine-modified oligodeoxynucleotide using a modified H-phosphonate chemistry for DNA microarray fabrication, *Anal. Bioanal. Chem.*, 387, 2027-2037, 2007 査読有.
- ⑧ K. C. Devarayapalli, S. P. Pack, N. K. Kamisetty, S. Watanabe, T. Kodaki, and K. Makino, Base sequence- and T_m -dependent DNA oligomer separation by open tubular capillary columns carrying complementary DNA oligomers as probes, *Anal. Bioanal. Chem.*, 388,

919-928, 2007 査読有.

- ⑨ S. Watanabe, A. A. Saleh, S. P. Pack, N. Annaluru, T. Kodaki and K. Makino, Ethanol production from xylose by recombinant *Saccharomyces cerevisiae* expressing protein engineered NADP⁺-dependent xylitol dehydrogenase, *J. Biotechnol.*, 130, 316-319, 2007 査読有.
- ⑩ S. Watanabe, A. A. Saleh, S. P. Pack, N. Annaluru, T. Kodaki and K. Makino, Protein engineering of xylose reductase from *Pichia stipitis* for improved NADH-specificity and the efficient ethanol production from xylose in recombinant *Saccharomyces cerevisiae*, *Microbiology*, 153, 3044-3054, 2007 査読有.
- ⑪ T. Nakano, S. Morishita, A. Katafuchi, M. Matsubara, Y. Horikawa, H. Terato, A. M. H. Salem, S. Izumi, S. P. Pack, K. Makino and H. Ide, Nucleotide excision repair and homologous recombination systems commit differentially to the repair of DNA-protein crosslinks, *Mol. Cell*, 28, 147-158, 2007 査読有.
- ⑫ N. Annaluru, S. Watanabe, S.P. Pack, A. A. Saleh, T. Kodaki and K. Makino, Thermostabilization of *Pichia stipitis* xylitol dehydrogenase by mutation of structural zinc-binding loop, *J. Biotech.*, 129, 717-722, 2007 査読有.
- ⑬ S. P. Pack, A. Doi, M. Nonogawa, N. K. Kamisetty, K. C. Devarayapalli, T. Kodaki, and K. Makino, Biophysical stability and enzymatic recognition of oxanine in DNA, *Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acids*, 26, 1589-1593, 2007 査読有.
- ⑭ N. K. Kamisetty, S. P. Pack, M. Nonogawa, K. C. Devarayapalli, T. Kodaki, and K. Makino, Development of efficient amine-functionalized glass platform by additional alkylsilane silanization treatment, *Anal. Bioanal. Chem.*, 386, 1649-1656, 2006 査読有.
- ⑮ S. Watanabe, T. Kodaki, and K. Makino, A novel α -ketoglutaric semialdehyde dehydrogenase - Evolutionary insight into an alternative pathway of bacterial L-arabinose metabolism, *J. Biol. Chem.*, 281, 28876-28888, 2006 査読有.
- ⑯ S. Wada, Y. Tabuchi, T. Kondo, Z.-G. Cui, Q.-L. Zhao, I. Takasaki, T. L. Salunga, R. Ogawa, T. Arai, K. Makino, and I. Furuta, Gene expression in enhanced apoptosis of human lymphoma U937 cells treated with the combination of different free radical generators and hyperthermia, *Free Rad. Res.*, 41, 73-81, 2006 査読有.
- ⑰ S. Watanabe, N. Shimada, K. Tajima, T. Kodaki, and K. Makino, Identification and characterization of L-arabonate dehydratase, L-2-keto-3-deoxyarabonate dehydratase and

L-arabinolactonase involved in an alternative pathway of L-arabinose metabolism: novel evolutionary insight into sugar metabolism, *J. Biol. Chem.*, 281, 33521 - 33536, 2006 査読有.

⑱M. Nonogawa, T. Arai, N. Endo, S.P. Pack, T. Kodaki, and K. Makino, Novel 6-formylpterin derivatives: Chemical synthesis and O₂ to ROS conversion activities, *Org. Biomol. Chem.*, 4, 1811-1816, 2006 査読有.

⑲S. P. Pack, A. Doi, M. Nonogawa, N. K. Kamisetty, K. C. Devarayapalli, T. Kodaki, and K. Makino, Structural property and enzymatic response of oxanine in DNA strands, *Nucleic Acids Res. Symp. Ser.*, 50, 97-98, 2006 査読無.

⑳S. Watanabe, M. Yamada, I. Ohtsu, and K. Makino, α -Ketoglutaric semialdehyde dehydrogenase isozymes involved in metabolic pathways of D-glucarate and hydroxy-L-proline, *J. Biol. Chem.*, 282, 6685-6695, 2006 査読有.

[学会発表] (計 2 1 件)

①A. Doi, S.P. Pack, M. Saimura, M. Nonogawa, T. Kodaki, and K. Makino, Investigation of interaction between acid/base catalyst amino acid residues and oxanine, a novel oxidative lesion from guanine by nitrous acid, 第 31 回日本分子生物学会年会 第 81 回日本生化学会大会合同大会、神戸、2008.12.12.

②H. Ide, T. Nakano, A.M. Salem, H. Terato, S.P. Pack, and K. Makino, Repair of DNA-protein crosslink damage: coordinated actions of nucleotide excision repair and homologous recombination., Joint Symposium of 18th Int. Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids and 35th Int. Symp. on Nucleic Acids Chemistry, Kyoto, Japan, 2008.9.11.

③A. Doi, S.P. Pack, T. Kodaki, and K. Makino, Efficient preparation of xanthine-containing oligodeoxynucleotide from oxanine-containing oligodeoxynucleotide, catalyzed by N alpha-acetyl-L-histidine., Joint Symposium of 18th Int. Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids and 35th Int. Symp. on Nucleic Acids Chemistry, Kyoto, Japan, 2008.9.11.

④S.P. Pack, N.K. Kamisetty, M. Nonogawa, T. Kodaki, and K. Makino, Reactivity of oxanine: efficient fabrication of DNA microarray by using oxanine-containing DNA oligomer as probe molecule., Joint Symposium of 18th Int. Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids and 35th Int. Symp. on Nucleic Acids Chemistry, Kyoto, Japan, 2008.9.11.

⑤N.K. Kamisetty, S.P. Pack, K.C. Devarayapalli, M. Nonogawa, T. Kodaki, and K. Makino, Temperature-gradient dependent detection of target DNA oligomers using DNA-immobilized

open tubular capillary column., Joint Symposium of 18th Int. Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids and 35th Int. Symp. on Nucleic Acids Chemistry, Kyoto, Japan, 2008.9.11.

⑥M. Nonogawa, T. Arai, N. Endo, S.P. Pack, T. Kodaki, and K. Makino, Reactive oxygen species generation through NADH oxidation by pterin derivatives., Joint Symposium of 18th Int. Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids and 35th Int. Symp. on Nucleic Acids Chemistry, Kyoto, Japan, 2008.9.11.

⑦S. P. Pack, 野々川満、N. K. Kamisetty, 小瀧努、牧野圭祐, Oxanine-induced DNA-protein crosslink as an useful biomaterial for elucidation of biological interaction mechanism, 日本化学会第 88 春季年会、東京、2008.3.26-30.

⑧土井昭宏、S. P. Pack, 野々川満、小瀧努、牧野圭祐, 酸塩基触媒アセチルヒスチジンによるオキザニンからキサンチンへの構造変換, 日本化学会第 88 春季年会、東京、2008.3.26-30.

⑨N. K. Kamisetty, S. P. Pack, 野々川満、K. C. Devarayapalli, 和田啓男、小瀧努、牧野圭祐, Development of oligo-DNA coupled micro columns for isolation and detection of DNA oligomers, 日本化学会第 88 春季年会、東京、2008.3.26-30.

⑩T. Nakano, S. Morishita, H. Terato, S. P. Pack, K. Makino, and H. Ide, Repair mechanism of DNA-protein cross-link damage in *Escherichia coli*, 5th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Tokyo Japan, 2007.9.20-22.

⑪S.P. Pack, A. Doi, N. K. Kamisetty, M. Nonogawa, T. Kodaki, and K. Makino, Functional reactivity of oxanine: its biological meanings and biotechnological applications, 5th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Tokyo Japan, 2007.9.20-22.

⑫N. K. Kamisetty, S. P. Pack, M. Nonogawa, K. C. Devarayapalli, Y. Yoshida, K. Yamada, T. Kodaki, and K. Makino, Development of stable DNA microarray platforms suitable for quantitative analysis, 5th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Tokyo Japan, 2007.9.20-22.

⑬A. Doi, S. P. Pack, M. Nonogawa, T. Kodaki and K. Makino, Comparison of enzymatic recognition of DNA-duplexes containing NO-induced lesions by DNA-relevant enzymes, 5th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Tokyo Japan, 2007.9.20-22.

⑭S. P. Pack, 金折賢二、田嶋邦彦、牧野圭祐、オキザノシン: シトシン塩基対を含むDNA二重鎖の溶液構造、日本化学会第 87 春季年会、大阪、2007.3.27.

⑮N. K. Kamisetty, S. P. Pack, 野々川満、K. C.

Devarayapalli, 吉田安子、山田和成、渡邊誠也、小瀧努、牧野圭祐、Development of DNA microarray fabrication by efficient surface modification and functional probe design、日本化学会第 87 春季年会、大阪、2007.3.27.

⑯ 土井昭宏、S. P. Pack、野々川満、小瀧努、牧野圭祐、新規損傷塩基オキサニンの酵素反応、日本化学会第 87 春季年会、大阪、2007.3.26.

⑰ S. P. Pack、土井昭宏、野々川満、N. K. Kamisetty、K. C. Devarayapalli、小瀧努、牧野圭祐、Structural property and enzymatic response of oxanine in DNA strands、第 33 回核酸化学シンポジウム、大阪、2006.11.22.

⑱ S. P. Pack、M. Nonogawa、N. K. Kamisetty、K.C. Devarayapalli、T. Kodaki、and K. Makino、Chemical synthesis, biochemical and biophysical properties, and biological implication of oxanine-containing oligodeoxynucleotides, XVII International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, Bern Switzerland, 2006.9.5.

⑲ M. Nonogawa、T. Arai、N. Endo、S. P. Pack T. Kodaki、and K. Makino、Development of novel pterin derivatives and study of their chemical natures, Seventh Tetrahedron Symposium, Kyoto, 2006.5.26.

⑳ S. P. Pack、N. K. Kamisetty、M. Nonogawa、T. Kodaki、and K. Makino、Application of oxanine base for a novel chemical linker in DNA microarray fabrication, Seventh Tetrahedron Symposium, Kyoto, 2006.5.26.

㉑ D. K. Charyulu、S. P. Pack、K. N. Kumar、野々川満、小瀧努、牧野圭祐、Fabrication of DNA arrayed capillary system for sensitive and selective analysis of DNA、日本化学会第 86 春季年会、千葉、2006.3.29.

〔図書〕(計 3 件)

渡邊誠也、牧野圭祐、微生物の糖代謝経路に見られる新規な進化的関係 (生化学)、日本生化学会、5page、2008.

② 牧野圭祐、「第一章 総論 DNA チップの現状と将来展望」、新しい DNA チップの科学と応用、講談社サイエンティフィク、14page、2007.

③ 牧野圭祐、Seung Pil Pack、一酸化窒素による DNA 傷害、別冊・医学のあゆみ、酸化ストレス Ver.2 フリーラジカル医学生物学の最前線、吉川敏一編、医歯薬出版、3page、2006.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牧野 圭祐 (MAKINO KEISUKE)

京都大学・エネルギー理工学研究所・教授

研究者番号：50159141

(2) 研究分担者

小瀧 努 (KODAKI TSUTOMU)

京都大学・エネルギー理工学研究所・准教授

研究者番号：70170264

金折 賢二 (KANAORI KENJI) 2006~2007

京都工芸繊維大学・大学院工芸科学研究科・准教授

研究者番号：30273543

(3) 連携研究者

金折 賢二 (KANAORI KENJI) 2008

京都工芸繊維大学・大学院工芸科学研究科・准教授

研究者番号：30273543