

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：34506

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B））

研究期間：2018～2023

課題番号：18KK0164

研究課題名（和文）細胞内環境で変化する非二重らせん構造の定量的機能解析と遺伝子発現制御

研究課題名（英文）Analysis and regulation of non-canonical nucleic acids under intracellular conditions

研究代表者

杉本 直己（Sugimoto, Naoki）

甲南大学・先端生命工学研究所・教授

研究者番号：60206430

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では細胞内で変化する非二重らせん構造の定量的解析と制御を目的とした。研究の結果、様々な細胞内局所環境で二重鎖構造の安定性予測や（PNAS, 117, 14194 (2020)）、シュードノット構造などの非標準核酸構造の安定性予測に成功した（Chem. Commun., 58, 5952 (2022)）。これらの研究を基に、四重鎖構造を安定化するリガンド開発（J. Am. Chem. Soc., 144, 5956 (2022)）や植物（イネ）の生育を制御する核酸構造の発見（Sci. Adv., 8, eadc9785 (2022)）など海外共同研究を通じて成果をあげた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌や神経変性疾患、生活習慣病などの疾患は、塩基配列の変化を伴わない細胞状態の変化に基づいて発症する。本研究による成果から、細胞環境に応じた非標準核酸構造の機能変化を人為的に制御できれば、細胞内で正しく機能する薬剤分子の開発ができ、医薬分野への応用が期待される。また、農業分野においても、倫理的な面で課題のある遺伝子組換え技術に代わる、革新的な農作物の改良技術への研究展開も期待できる。つまり、本研究の成果は医療産業・農業などの社会的希求が高い分野への応用展開が可能であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we worked on the development of methods for predicting the stability of nucleic acid structures in order to quantitatively investigate non-duplex structures that change within the cell. As a result, we succeeded in developing methods that can predict the stability of duplex structures in various intracellular local environments (PNAS, 117, 14194-14201 (2020)) and non-canonical nucleic acid structures such as pseudoknot structures (Chem. Commun., 58, 5952-5955 (2022)). Based on these studies, we have achieved results through overseas collaborative research, such as the rational development of ligands that stabilize quadruplex structures (J. Am. Chem. Soc., 144, 5956-5964 (2022)) and the discovery of nucleic acid structures that control the growth of plants (rice) (Sci. Adv., 8, eadc9785 (2022)).

研究分野：生命化学

キーワード：非標準核酸構造 熱力学 結晶構造解析 NMR 植物

1. 研究開始当初の背景

細胞内は分子が混み合った「分子クラウディング環境」であり、さらに膜や小器官などが存在する不均質な環境である。生体分子は、分子環境の変化で機能や活性が大きく影響を受ける。電荷を有する核酸分子 (DNA および RNA) の場合、その構造および安定性は周囲の化学環境の影響を特に受けやすい。申請者はこれまで、細胞内の環境を特徴づける分子クラウディング環境を考慮した実験系を構築し、核酸分子の物理化学的な特性を定量的に解析してきた (N. Sugimoto et al., *Chem. Rev.*, 2014, **114**, 2733. 以降、申請者らの研究成果については著者名を略す)。その結果、分子クラウディング環境下では核酸の二重らせん構造が不安定化する一方、三重らせん構造や四重らせん構造、あるいは枝分かれ構造といった非標準的な核酸構造 (非標準核酸構造) が安定化することを見出した (最近では、*Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, **55**, 899, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**, 20060, 他)。一方、非標準核酸構造が細胞内でどのような立体構造を形成するのかわかるとは未だ明らかになっていない。特に分子環境の変化に伴って核酸構造の形態 (トポロジー) も変化する (*J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**, 7768, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, **55**, 14315)。そのため、細胞内環境ではトポロジーの変化を含めた核酸構造のダイナミックな変化が遺伝子発現の調節に重要な役割を担っている可能性が高いと考えられる。実際申請者らは、分子クラウディングによる非標準核酸構造のトポロジーの変化が複製反応の効率を変化させることを見出している (*PNAS*, 2017, **114**, 9605, *J. Am. Chem. Soc.*, 2018, **140**, 5774)。また、非標準核酸構造による複製異常が、構造の安定性だけでは説明できない現象も報告されている (D. Schiavone et al., *EMBO J.*, 2014, **33**, 2507)。さらに近年では、非標準核酸構造の影響が個体レベルでの疾患発症などに関与することも示唆されている。例えば、癌や筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 等の神経疾患の原因遺伝子における非標準核酸構造の形成が挙げられる (A. L. Wolfe, et al., *Nature*, 2014, **513**, 65, A. Jain, et al., *Nature*, 2017, **546**, 243 等)。このような知見によって、非標準核酸構造をターゲットとする薬剤開発の重要性が高まってきている。しかし、前述したように実際の細胞内での核酸構造のトポロジーと安定性に関する情報はほとんどない。つまり、細胞内での非標準核酸構造の精密なトポロジーの決定とその遺伝子発現への関与の定量的な解析は、学術的のみならず社会的に喫緊の課題である。

2. 研究の目的

本研究では、非標準核酸構造の安定性と立体構造を細胞内環境で解析し、非標準核酸構造による遺伝子発現制御機構を分子レベルで解明することを第一の目的とした。細胞環境に応じて変化する非標準構造の挙動を化学的かつ定量的な視点で理解することができれば、核酸の非標準構造の機能と構造を予測できる解析システムを構築することができる。そこで、基礎的な分子レベルでの解析から明らかになる非標準核酸構造に関する構造機能相関の知見によって、細胞・個体レベルでの非標準核酸構造の機能制御に活用することも目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、細胞内環境に応答する非標準核酸構造を物理化学的に解析した。次に、非標準核酸構造による遺伝子の発現調節機構を、トポロジーと熱力学的安定性の観点から分子レベルで明らかにすることを検討した。さらに、非標準核酸構造に関する構造機能相関の知見を活用し、細胞・個体レベルにて、非標準核酸構造の機能制御も試みた。具体的には以下の3段階で研究を進めた。

1. 細胞内環境で遺伝子発現制御する非標準構造のエネルギーパラメータを【測る】。 共存溶質、pH、イオン濃度などを変化させ、細胞内を模倣した分子環境下での核酸の構造変化や熱力学的安定性の変化を解析した。

2. 細胞内環境での非標準核酸構造のトポロジーを解析し、遺伝子発現制御機構を【探る】。 分子クラウディング環境での精密立体構造解析について実績のある英国 Reading 大学のグループやチェコ Masaryk 大学のグループと連携し、細胞内の分子環境の違いに依存した非標準核酸構造の変化を明らかにし、非標準核酸構造が細胞内で複製・転写・翻訳を制御するメカニズムの解明を検討した。

3. 得られた構造機能相関から細胞・個体レベルでの非標準構造の機能発現に【活かす】。 植物 (イネ) の品種改良を専門とする中国南京農業大学のグループと連携し、個体レベルでの複製・転写・翻訳の制御を試みた。特に、イネの発生や分化、組織形成などの各成長段階において、非標準核酸構造の制御に基づいた遺伝子配列の変化を伴わない遺伝子発現操作が、どのように個体成長に影響を及ぼすのかを評価した。

以上の研究計画を段階的に遂行することで、非標準核酸構造によって調節される細胞内での遺伝子発現制御機構の理解と、その化学的な制御技術の開発を行った。

4. 研究成果

1. 細胞内環境で遺伝子発現制御する非標準構造のエネルギーパラメータを【測る】。

細胞内外での核酸の物性変化を正確に理解し、その挙動の予測をするために、細胞内環境での

各種核酸構造の安定性を予測できる手法の開発を試みた。希薄溶液中では、二重鎖構造の安定性は塩基対の組み合わせとその直近の塩基対の影響によって決まる Nearest-Neighbor モデルが広く受け入れられており、配列情報から安定性を予測することができる。そこで、細胞内環境を模倣するために水溶性の高分子であるポリエチレングリコールを高濃度添加した分子クラウディング環境で、DNA 二重鎖の安定性を網羅的に解析した。その結果、Nearest-Neighbor モデルが分子クラウディング環境においても成り立つことを見出した。さらに、分子クラウディング環境下に特化した Nearest-Neighbor パラメータを新たに提案し、実際に分子クラウディング環境下での DNA 安定性が正確に予測できることを証明した。以上の成果は、細胞内における二重鎖構造の安定性を正確に予測することができる画期的な手法として注目され、英国核酸科学誌 *Nucleic Acids Research* 誌に掲載され、掲載号の表紙としても採択された (*Nucleic Acids Res.*, 23, 3284-3294 (2019))。本研究ではこの手法を様々な細胞内局所環境で用いることのできる安定性予測法へと発展させることにも成功した (*PNAS*, 117, 14194-14201 (2020))。さらに RNA 二重らせん構造および RNA/DNA 二重らせん構造の安定性予測の開発にも成功した (*Nucleic Acids Res.*, 51, 4101-4111 (2023)、*J. Am. Chem. Soc.*, 145, 23503-23518 (2023))。これらの成果によって、複製や転写といった DNA 二重鎖構造が融解する生体反応の理解だけでなく、細胞外から添加する核酸で二重鎖を形成させるアンチセンス法などの核酸医薬の開発に非常に有用で、今後の応用研究が期待できる。

これらの二重らせん構造で得られた知見も踏まえ、非二重らせん構造形成のエネルギーパラメータを蓄積した。その一例で、イオン濃度が異なる環境での核酸構造の挙動を予測する技術の開発も取り組んだ。ポリアニオンである核酸はカチオン濃度でその構造安定性が大きく変化する。細胞内のイオン環境は、細胞の局所的な環境でそれぞれ異なるため、核酸の構造安定性も細胞内のその場その場で大きく異なると考えられる。特に非標準構造はイオン濃度でその構造が大きく変化的ことが知られている。本研究において非標準構造の一つである三重鎖構造について検討したところ、その三重鎖目を形成するのに必要な Hoogsteen 塩基対が希薄溶液中ではカリウム濃度の低下によって顕著に安定性が低下するのに対し、分子クラウディング環境ではその安定性低下が大幅に抑えられることを見出した (*Molecules*, 25, 387 (2020))。他にも、RNA が形成する高次構造についても、その基礎構造として欠かせないシュードノット構造の熱安定性解析を行った。シュードノット構造は、RNA がより複雑な高次構造を形成するための基本構造となるだけでなく、シュードノット構造そのものが、新型コロナウイルスを含む様々な遺伝子の発現調節に重要な役割を果たしている。本研究では、上述の二重鎖構造の安定性予測の基盤となる最近接塩基対モデルでシュードノット構造の安定性が予測できるかを検証した。シュードノット構造に欠かせないステム領域に焦点を絞り、シュードノット構造からヘアピン構造への変化における熱安定性解析を行った結果、このステム領域の安定性を最近接塩基対モデルから予測可能であることを示す結果を得た。本研究は、シュードノット構造が、RNA 機能の発現にどの程度寄与するのかを定量的に予測するための重要な成果である (*Chem. Commun.*, 58, 5952-5955 (2022))。今後は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、疾患などにも関連する RNA の機能変動と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。

2. 細胞内環境での非標準核酸構造のトポロジーを解析し、遺伝子発現制御機構を【探る】。

1. で得られたエネルギーパラメータを活かし、海外共同研究を軸に非標準核酸構造の形成の化学的な制御を活かした検出技術の開発および創薬に関する研究を進めた。その一つとして、がん治療のターゲットであるヒトテロメア由来のグアニン四重鎖構造に着目し、その四重鎖を安定化するリガンド分子の合理的な開発に取り組んだ。様々なリガンド分子存在下でのグアニン四重鎖の構造安定性と、ポリメラーゼによる複製反応の相関性を解析することで、リガンド分子の機能を定量的に分類した。それにより、四重鎖のトポロジーの違いに対応して強く結合する分子を合理的に設計・開発することができた。新たに開発した化合物は、初期に開発されたテロメア結合性化合物 (TMPyP4) と比較して、100 倍以上の効率でテロメア DNA の複製を阻害することができた。以上の成果は、グアニン四重鎖に関わる疾患の治療薬を開発するための新しい指針であり、創薬において重要な報告である (*J. Am. Chem. Soc.*, 143, 16458-16469 (2021))。この研究を基に、英国 Reading 大学とのグアニン四重鎖結合分子に関する共同研究を加速させた。上記の定量的かつ合理的なヒトテロメア由来のグアニン四重鎖構造に対するリガンド開発技術に加え、英国 Reading 大学のグループの立体構造解析技術を組み合わせることで、四重鎖構造をより効果的に安定化するリガンド開発に取り組んだ。それにより、ルテニウムを配位した新規の金属錯体を合成し、この化合物がヒトテロメアグアニン四重鎖構造のイス型トポロジーに結合して複製反応を抑制することを明らかにした。結晶構造解析を行うことで、ルテニウム錯体の一方の光学異性体がヒトテロメアグアニン四重鎖構造のイス型トポロジーに特異的に結合している様子が原子レベルで明らかにされた。以上の成果は、特定のグアニン四重鎖をターゲットする治療薬を開発するための新しい指針であり、創薬において重要な報告である (*J. Am. Chem. Soc.*, 144, 5956-5964 (2022))。

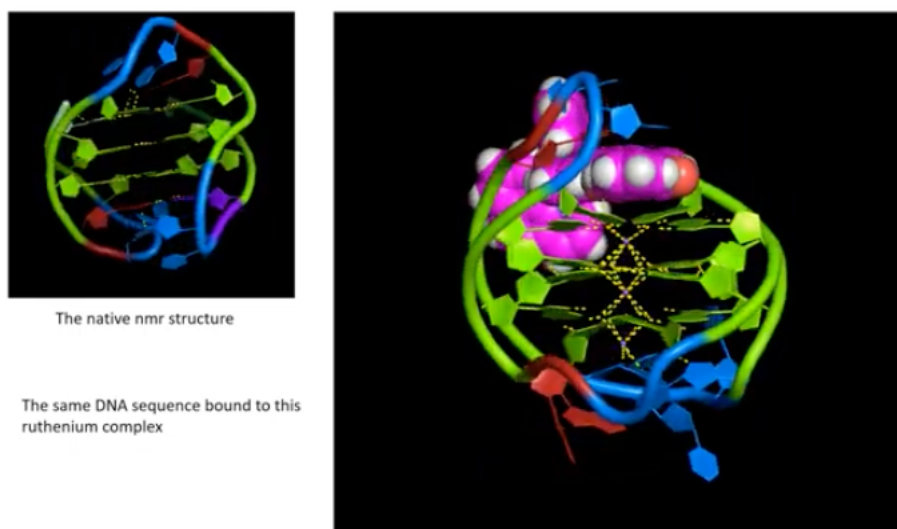


図 開発したルテニウム錯体とヒトテロメア四重鎖構造の X 線結晶構造解析。

グアニン四重鎖構造だけでなく、別の四重鎖である i-モチーフ構造についても検討した。がん遺伝子の一種である BCL2 遺伝子のプロモーター領域に存在する i-モチーフ構造に着目し、様々な小分子との結合を検討した。その結果、クリスタルバイオレットが、がん遺伝子の一種である BCL2 の DNA の一部に存在する i-モチーフ型 DNA 四重らせんに特異的に結合することを見出した。変異体解析や分子動力学計算によって、クリスタルバイオレットは BCL2 遺伝子の i-モチーフ構造中のループ領域と呼ばれる部分に特異的に相互作用していることが示唆された。クリスタルバイオレットの抗がん特性を調べるために、ヒト乳がん細胞 (MCF-7) にクリスタルバイオレットを添加したところ、BCL2 遺伝子の発現量が有意に減少したことから、クリスタルバイオレットが DNA 四重らせん構造をターゲットとした抗がん剤として働くことが明らかになった。これまで特定の i-モチーフ型 DNA 四重らせんに結合して遺伝子発現を制御する分子の報告例はほとんどなかったことから、クリスタルバイオレットは i-モチーフ型 DNA をターゲットとして特定のがん遺伝子の発現を抑えるという新しい作用機序をもつ抗がん剤として作用すると考えられます。本研究成果を元に、クリスタルバイオレットの i-モチーフの選択性をより向上させるような分子設計を施すことにより、発がん性や副作用を抑えた新しい抗がん剤の開発が期待できる。現在チェコ Masaryk 大学のグループと連携し、細胞内での i-モチーフ構造とリガンド分子の結合について共同研究を進めている。

また、非標準核酸構造のトポロジーと細胞老化との関連についても検討した。老化細胞の特徴として分子クラウディング環境が一般的な健康な細胞よりも薄いことと、5-メチルシトシン (5mC) と 5-ヒドロキシメチルシトシン (5hmC) による DNA エピジェネティック修飾のパターンが異なることがあげられる。本研究では、分子クラウディング環境の下、二重鎖構造から四重鎖 (i-モチーフおよびグアニン四重鎖) 構造へ遷移する挙動に 5mC および 5hmC の修飾がどのように及ぼすかを検討した。その結果、老化細胞環境では、エピジェネティック修飾により二重鎖から四重鎖構造への遷移が抑制されることを見出した。バイオインフォマティクスによりメチル化領域の遺伝子解析を行ったところ、四重らせん形成配列を持つ遺伝子と持たない遺伝子の間に機能の違いが見られたことから、老化細胞における分子クラウディング環境と非標準核酸構造による遺伝子発現制御が相互に関係していることを見出した。本研究は老化細胞の核酸構造の形成に関する物理化学的な指標を初めて示した成果である (*RSC Adv.*, **11**, 37205-37217 (2021))。さらに、特定の組織における加齢に加え、がんや永続細胞株などの細胞では DNA のメチル化が進行しやすいことは、細胞内環境の変化が DNA メチル化に何らかの影響を与えている可能性がある。メチル化が多く見つかる CpG アイランドと呼ばれる CpG 配列に富む領域はグアニン四重鎖構造を形成できる配列を含むことから、グアニン四重鎖構造の形成がメチル化に影響を及ぼす可能性が高いと考えられる。解析の結果、老化細胞で促進される DNA のメチル化反応がグアニン四重鎖構造の安定性とトポロジーによって抑制されることが見出された。本成果により、グアニン四重鎖構造が細胞内の環境の変動に応じて安定性やトポロジーを変化させ、DNA の化学修飾状態を調節している可能性が示された (*Chem. Commun.*, **58**, 12459 (2022))。

3. 得られた構造機能相関から細胞・個体レベルでの非標準構造の機能発現に【活かす】。

1.および2.の基礎研究から細胞や組織レベルでの研究を加速させ、医工学応用を見据えた、非標準核酸構造ターゲットとする診断技術の開発や創薬に関する応用研究を展開した。その一つとして、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、植物科学を専門とする中国南京農業大学の Fan 教授らと申請者が共同で、温度に依存した核酸の構造変化が、個体の生育に影響し得ることを植物（イネ）を用いて世界で初めて解析した。これまで、小さな RNA によるタンパク質の生産制御の機構は、mRNA と小さな RNA の塩基配列に依存した親和性が重要視されてきた。一方で本研究では、小さな RNA の構造に依存した親和性の変化によってタンパク質の生産が制御されるという新しい知見が得られた。この結果は、窒素利用効率や収穫量に大きな影響を与える OsNRT2.3 の発現に対する複雑な制御機構を明らかにし、高温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た。核酸の構造が周辺環境によって変化することを見出し、このような構造変化が生命現象に影響を及ぼすことを組織レベルで明らかにした重要な研究成果である (*Sci. Adv.*, **8**, eadc9785 (2022))。

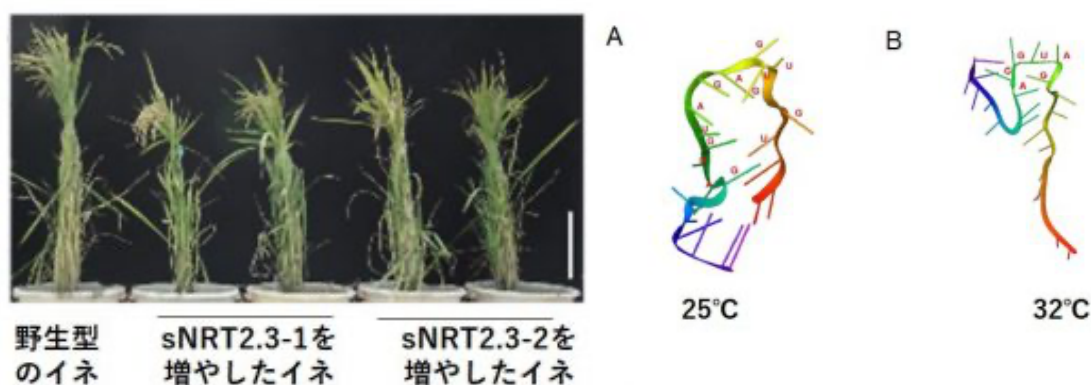


図. (左) 小さな RNA である sNRT2.3-1 と sNRT2.3-2 の強制発現がイネの生育に及ぼす影響。(右) 分子動力学 (MD) 計算から得られた(A) 25°Cおよび (B) 32°Cにおける sNRT2.3-1 (配列 UGUUGGAGAUGGAG)の構造。sNRT2.3-1 は、25°Cでは、(A) の構造を形成するが、温度を上昇させると構造を変化させ、32°Cでは (B) を形成する。

本研究は新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の影響を受け、研究の停滞などにより当初の研究期間を延長して行った。一方で、当初は想定していなかった予想外の成果として、SARS-CoV-2に関連する二つの研究を発表することができた。一つは SARS-CoV-2 をはじめとする、ウイルスの変異における核酸構造に関する研究である。本研究では、ウイルス由来のポリメラーゼによる RNA の重合が溶液中の誘電率などの化学環境の変化によって変異が生じ易くなることを明らかにした。さらに、一度変異が生じると、複製ミスが次々と生じる現象も見出した。これらの結果から、溶液環境によって非標準核酸構造の相互作用様式が優先されることで核酸が複製されることが明らかとなった。本研究の知見は、ウイルス遺伝子が宿主細胞の中でどのように変異するかを理解する上で重要な手がかりとなるだけでなく、新型コロナウイルスの新たな変異株の発生の予測などの技術開発が期待される (*Sci. Rep.*, **12**, 1149 (2022))。もう一つの研究は、SARS-CoV-2 の細胞内増殖を防ぐ核酸医薬の開発である。SARS-CoV-2 のゲノム複製を担う RNA 依存型 RNA ポリメラーゼ (RdRp) に、ウイルス自身の RNA よりも強く結合できる RNA が取得できれば、ウイルスの増殖を抑制できる核酸医薬として活用が期待できる。そこで本研究では、SARS-CoV-2 が感染すると重症化を引き起こす可能性のある肺組織に由来する細胞株から精製した RNA に着目した。その結果として、RdRp による RNA の合成反応を抑制できる RNA を複数種類獲得することに成功した。興味深いことに、獲得した RNA はグアニン四重鎖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。また、最も抑制効果が高かった RNA は、ラミニンと呼ばれる細胞外マトリクスを構成するタンパク質の遺伝子 (複数の遺伝子のうちの1つ) から転写されるメッセンジャーRNA (mRNA) のイントロンに存在していることが明らかとなった。本研究成果は、RNA を基にした薬剤開発への展開が期待される成果である (*Chem. Commun.*, **59**, 872-875 (2023))。

以上、本研究は途中新型コロナウイルスの影響を受け、補助事業期間を延長して実施することで、一定の成果を上げることができた。特に、海外共同研究先とは *J. Am. Chem. Soc.* 誌や *Sci. Adv.* 誌といったトップジャーナルに研究成果を発表することができたことは特筆に値する。さらに、本研究に参加した若手研究分担者が筆頭著者である論文を多く発表することができた (Teng: *Molecules*, **25**, 387 (2020)、Ghosh: *PNAS*, **117**, 14194-14201 (2020)など3報、松本: *Chem. Commun.*, **58**, 12459 (2022)など3報)。そのため、海外共同研究を通じた若手育成の観点からも成果を上げることができたと考えられる。本研究で確立した国際研究ネットワークは、現在 JSPS 研究拠点形成事業に採択された研究提案の一部として引き続き行われている。今後は、申請者のグループ・研究組織を拠点とした国際研究ネットワークが構築され、非二重らせん構造を活用した画期的な遺伝子発現の制御法が開発されることが期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計24件（うち査読付論文 24件 / うち国際共著 11件 / うちオープンアクセス 18件）

1. 著者名 Zhang Yong, Tateishi-Karimata Hisae, Endoh Tamaki, Jin Qiongli, Li Kexin, Fan Xiaoru, Ma Yingjun, Gao Limin, Lu Haiyan, Wang Zhiye, Cho Art E., Yao Xuefeng, Liu Chunming, Sugimoto Naoki, Guo Shiwei, Fu Xiangdong, Shen Qirong, Xu Guohua, Herrera-Estrella Luis Rafael, Fan Xiaorong	4. 巻 8
2. 論文標題 High-temperature adaptation of an OsNRT2.3 allele is thermoregulated by small RNAs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eadc9785
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.adc9785	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Matsumoto Saki, Takahashi Shuntaro, Bhowmik Sudipta, Ohyama Tatsuya, Sugimoto Naoki	4. 巻 94
2. 論文標題 Volumetric Strategy for Quantitatively Elucidating a Local Hydration Network around a G-Quadruplex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 7400 ~ 7407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.2c01075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Endoh Tamaki, Tan Jia-Heng, Chen Shuo-Bin, Sugimoto Naoki	4. 巻 95
2. 論文標題 Cladogenetic Orthogonal Light-Up Aptamers for Simultaneous Detection of Multiple Small Molecules in Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 976-985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.2c03598	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Takahashi Shuntaro, Kotar Anita, Tateishi-Karimata Hisae, Bhowmik Sudipta, Wang Zi-Fu, Chang Ta-Chau, Sato Shinobu, Takenaka Shigeori, Plavec Janez, Sugimoto Naoki	4. 巻 143
2. 論文標題 Chemical Modulation of DNA Replication along G-Quadruplex Based on Topology-Dependent Ligand Binding	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 16458 ~ 16469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.1c05468	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsumoto Saki, Tateishi-Karimata Hisae, Ohyama Tatsuya, Sugimoto Naoki	4. 巻 11
2. 論文標題 Effect of DNA modifications on the transition between canonical and non-canonical DNA structures in CpG islands during senescence	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 37205 ~ 37217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1RA07201C	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Endoh Tamaki, Brodyagin Nikita, Hnedzko Dziyana, Sugimoto Naoki, Rozners Eriks	4. 巻 16
2. 論文標題 Triple-Helical Binding of Peptide Nucleic Acid Inhibits Maturation of Endogenous MicroRNA-197	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 1147 ~ 1151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.1c00133	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Satpathi Sagar, Endoh Tamaki, Podbevsek Peter, Plavec Janez, Sugimoto Naoki	4. 巻 49
2. 論文標題 Transcriptome screening followed by integrated physicochemical and structural analyses for investigating RNA-mediated berberine activity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 8449 ~ 8461
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkab189	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Takahashi Shuntaro, Matsumoto Saki, Chilka Pallavi, Ghosh Saptarshi, Okura Hiromichi, Sugimoto Naoki	4. 巻 12
2. 論文標題 Dielectricity of a molecularly crowded solution accelerates NTP misincorporation during RNA-dependent RNA polymerization by T7 RNA polymerase	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-05136-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 McQuaid Kane T., Takahashi Shuntaro, Baumgaertner Lena, Cardin David J., Paterson Neil G., Hall James P., Sugimoto Naoki, Cardin Christine J.	4. 巻 144
2. 論文標題 Ruthenium Polypyridyl Complex Bound to a Unimolecular Chair-Form G-Quadruplex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 5956 ~ 5964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.2c00178	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Takahashi Shuntaro, Bhowmik Sudipta, Sato Shinobu, Takenaka Shigeori, Sugimoto Naoki	4. 巻 12
2. 論文標題 Replication Control of Human Telomere G-Quadruplex DNA by G-Quadruplex Ligands Dependent on Solution Environment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 553 ~ 553
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/life12040553	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tateishi-Karimata Hisae, Sugimoto Naoki	4. 巻 49
2. 論文標題 Roles of non-canonical structures of nucleic acids in cancer and neurodegenerative diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 7839 ~ 7855
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkab580	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugimoto Naoki, Endoh Tamaki, Takahashi Shuntaro, Tateishi-Karimata Hisae	4. 巻 94
2. 論文標題 Chemical Biology of Double Helical and Non-Double Helical Nucleic Acids: "To B or Not To B, That Is the Question"	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 1970 ~ 1998
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20210131	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 S. Ghosh, S. Takahashi, T. Ohyama, T. Endoh, H. Tateishi-Karimata, and N. Sugimoto	4. 巻 117
2. 論文標題 Nearest-neighbor parameters for predicting DNA duplex stability in diverse molecular crowding conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA.	6. 最初と最後の頁 14194-14201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1920886117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 S. Matsumoto, H. Takeishi-Karimata, S. Takahashi, T. Ohyama, and N. Sugimoto	4. 巻 59
2. 論文標題 Effect of molecular crowding on the stability of RNA G-quadruplexes with various numbers of quartets and lengths of loops	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2640-2649
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.0c00346	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 S. Takahashi, H. Okura, P. Chilika, S. Ghosh, and N. Sugimoto	4. 巻 10
2. 論文標題 Molecular crowding induces primer extension by RNA polymerase through base stacking beyond Watson-Crick rules	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RSC Adv.	6. 最初と最後の頁 33052-33058
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0RA06502A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 S. Takahashi, P. Herdwiijn, and N. Sugimoto	4. 巻 25
2. 論文標題 Effect of Molecular Crowding on DNA Polymerase Reactions along Unnatural DNA Templates	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 4120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules25184120	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 D. Banerjee, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, S. Ghosh, T. Endoh, S. Takahashi, and N. Sugimoto	4. 巻 48
2. 論文標題 Improved nearest-neighbor parameters for the stability of RNA/DNA hybrids under a physiological condition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res.	6. 最初と最後の頁 12042-12054
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkaa572	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 S. Lathwal, S. S. Yerneni, S. Boye, U. L. Muza, S. Takahashi, N. Sugimoto, A. Lederer, S. R. Das, P. G. Campbell, and K. Matyjaszewski	4. 巻 118
2. 論文標題 Engineering exosome polymer hybrids by atom transfer radical polymerization	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.	6. 最初と最後の頁 e2020241118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2020241118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 S. Takahashi and N. Sugimoto	4. 巻 49
2. 論文標題 Stability prediction of canonical and non-canonical structures of nucleic acids in various molecular environments and cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem. Soc. Rev.	6. 最初と最後の頁 8439-8468
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0cs00594k	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Teng Ye, Tateishi-Karimata Hisae, Ohyama Tatsuya, Sugimoto Naoki	4. 巻 25
2. 論文標題 Effect of Potassium Concentration on Triplex Stability under Molecular Crowding Conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 387 ~ 387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules25020387	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Shuntaro, Bhattacharjee Snehasish, Ghosh Saptarshi, Sugimoto Naoki, Bhowmik Sudipta	4. 巻 10
2. 論文標題 Preferential targeting cancer-related i-motif DNAs by the plant flavonol fisetin for theranostics applications	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-59343-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ghosh Saptarshi, Takahashi Shuntaro, Endoh Tamaki, Tateishi-Karimata Hisae, Hazra Soumitra, Sugimoto Naoki	4. 巻 47
2. 論文標題 Validation of the nearest-neighbor model for Watson-Crick self-complementary DNA duplexes in molecular crowding condition	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 3284 ~ 3294
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkz071	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ghosh Saptarshi, Takahashi Shuntaro, Banerjee Dipanwita, Ohyama Tatsuya, Endoh Tamaki, Tateishi-Karimata Hisae, Sugimoto Naoki	4. 巻 51
2. 論文標題 Nearest-neighbor parameters for the prediction of RNA duplex stability in diverse <i>in vitro</i> and cellular-like crowding conditions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 4101 ~ 4111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkad020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Das Sinjan, Takahashi Shuntaro, Ohyama Tatsuya, Bhowmik Sudipta, Sugimoto Naoki	4. 巻 13
2. 論文標題 Theranostic approach to specifically targeting the interloop region of BCL2 i-motif DNA by crystal violet	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-39407-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計32件(うち招待講演 14件/うち国際学会 20件)

1. 発表者名 N. Sugimoto
2. 発表標題 Adventures of Non-Double Helical Nucleic Acids in Molecular Crowding World
3. 学会等名 8th International Meeting on Quadruplex Nucleic Acids (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Takahashi
2. 発表標題 High pressure study of dynamics of non-canonical nucleic acid structures
3. 学会等名 The 11th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 N. Sugimoto
2. 発表標題 Role of macromolecular crowding in the cells on the structures and functions of nucleic acids
3. 学会等名 India EMBO Lecture Course: Functional nucleic acids: Recent landscapes and therapeutic applications (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto
2. 発表標題 Functions of nucleic acids regulated by the intracellular molecular environments
3. 学会等名 India EMBO Lecture Course: Functional nucleic acids: Recent landscapes and therapeutic applications (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 T. Endoh, J.-H. Tan, S.-B. Chen, N. Sugimoto
2. 発表標題 Fluorometric detection of multiple small molecules using orthogonal light-up signaling aptamers in cells
3. 学会等名 第49回国際核酸化学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 K. McQuaid, D. Cardin, J. Hall, N. Paterson, S. Takahashi, N. Sugimoto, C. Cardin
2. 発表標題 Crystallographic studies of ruthenium polypyridyl complexes bound to G-quadruplexes: Towards design, specificity, and function
3. 学会等名 第49回国際核酸化学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 N. Sugimoto
2. 発表標題 Beyond "To B or not to B" in Nucleic Acids Chemistry
3. 学会等名 Advances in Noncanonical Nucleic Acids 2022 "ANNA2022" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto
2. 発表標題 DNA methylation depending on stability and topology of G-quadruplex
3. 学会等名 Advances in Noncanonical Nucleic Acids 2022 "ANNA2022" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋俊太郎, 建石寿枝, 佐藤しのぶ, 竹中繁織, J. Plavec, 杉本直己
2. 発表標題 トポロジー依存的なリガンド結合でグアニン四重鎖のDNA複製を制御する
3. 学会等名 第15回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 T. Endoh, N. Brodyagin, D. Hnedzko, E. Rozners, N. Sugimoto
2. 発表標題 Triplex-forming peptide nucleic acid inhibits maturation of endogenous miRNA
3. 学会等名 第48回国際核酸化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 S. Takahashi, A. Kotar, H. Tateishi-Karimata, S. Bhowmik, Zi-Fu Wang, Ta-Chau Chang, S. Sato, S. Takenaka, J. Plavec, N. Sugimoto
2. 発表標題 Chemical modulation of DNA replication by topology- dependent ligand binding on guanine quadruplexes
3. 学会等名 第48回国際核酸化学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, O. Tatsuya, N. Sugimoto
2. 発表標題 Effect of DNA modifications on the changes of DNA structure in CpG islands
3. 学会等名 ICCAES 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, N. Sugimoto
2. 発表標題 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
3. 学会等名 日本化学会第102回春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Takahashi, T. Ohyama, S.-B. Chen, J.-H. Tan, N. Sugimoto
2. 発表標題 Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (78) : Analysis of structural dynamics of c-Myc G-quadruplex DNA using high pressure
3. 学会等名 日本化学会第102回春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 建石寿枝, Ye Teng, 大山達也, 田中成典, 杉本直己
2. 発表標題 神経変性疾患に関わるリピートRNAによる相分離機構の解析
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 遠藤 玉樹, Satpathi Saga, Podbevsek Peter, Plavec Janes, 杉本 直己
2. 発表標題 バルジを含むRNA二重鎖と天然アルカロイドとの相互作用解析
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松本咲, 建石寿枝, 高橋俊太郎, 大山達也, 杉本直己
2. 発表標題 異なるGカルテット数とループ長を有するRNAグアニン四重らせんの安定性への分子クラウディングの効果
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 GHOSH Saptarshi, 高橋俊太郎, 大山達也, 遠藤玉樹, 建石寿枝, 杉本直己
2. 発表標題 Stability prediction of DNA duplexes available under diverse molecular crowding conditions
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 BANERJEE Dipanwita, 建石寿枝, 大山達也, GHOSH Saptarshi, 遠藤玉樹, 高橋俊太郎, 杉本直己
2. 発表標題 Development of the prediction method for stability of RNA/DNA hybrids under a physiological condition
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 PALLAVI Chilka, 高橋俊太郎, 杉本直己
2. 発表標題 Empirical rule of i-motif stability regulated by different molecular crowding conditions
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松本咲, 大山達也, 杉本 直己
2. 発表標題 脱ワトソン・クリックの核酸化学(68): 老化における細胞内環境変化によるCpGアイランドのグアニン四重らせん構造のトポロジー制御
3. 学会等名 日本化学会第101回春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 S. Ghosh, S. Takahashi, T. Ohyama, T. Endoh, H. Kateishi-Karimata, N. Sugimoto
2. 発表標題 Prediction method for DNA duplex stability in molecular crowding conditions
3. 学会等名 第46回国際核酸化学シンポジウム(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 N. Sugimoto
2. 発表標題 To B or not to B" in Nucleic Acids Chemistry (3)
3. 学会等名 Advances in Noncanonical Nucleic Acids "ANNA2019" (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Takahashi
2. 発表標題 Analysis of ligand binding on G-quadruplex using high pressure
3. 学会等名 The 7th International Meeting on Quadruplex Nucleic Acids (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 H. Tateishi-Karimata and N. Sugimoto
2. 発表標題 Role for G-quadruplexes of Nucleic Acids During Tumor Progression
3. 学会等名 10th RSC-CSJ Joint Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Endoh
2. 発表標題 Interactions between Structured Nucleic Acids and π -conjugated Heterocyclic Chemicals
3. 学会等名 Fourteenth International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCP19) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoki Sugimoto
2. 発表標題 Functions of Nucleic Acids under Molecular Crowding Conditions
3. 学会等名 The Lecture of Institute of Biophysics Czech Academy of Sciences (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Takahashi, S. Ghosh, H. Tateishi-Karimata, D. Banerjee, T. Endoh, T. Ohyama, N. Sugimoto
2. 発表標題 Physical Chemistry of Nucleic Acids: "To B or not to B"
3. 学会等名 Advances in Noncanonical Nucleic Acids "ANNA2023" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 T. Endoh, J.-H. Tan, S.-B. Chen, S. Das, S. Takahashi, N. Sugimoto
2. 発表標題 Versatile binding core for small fluorogens consisting of noncanonical base pairs
3. 学会等名 Advances in Noncanonical Nucleic Acids “ANNA2023” (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 H. Tateishi-Karimata, K. Kawauchi, S. Takahashi, N. Sugimoto
2. 発表標題 Development of pseudo-cellular systems to understand effects of molecular environments on G-quadruplex behaviors depending on the type of cells
3. 学会等名 Advances in Noncanonical Nucleic Acids “ANNA2023” (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋俊太郎、杉本直己
2. 発表標題 RNAの複製エラーに対する高圧力の効果
3. 学会等名 第64回高圧討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 S. Takahashi, S. Ghosh, M. Trajkovski, P. Chilka, T. Ohyama, J. Plavec, N. Sugimoto
2. 発表標題 Twisting of i-motif DNA induced by diverse molecular crowdings
3. 学会等名 第50回国際核酸化学シンポジウム (ISNAC2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 杉本直己	4. 発行年 2020年
2. 出版社 講談社	5. 総ページ数 565
3. 書名 核酸科学ハンドブック	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>甲南大学先端生命工学研究所ホームページ http://www.konan-fiber.jp/index.php</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	TENG Ye (Teng Ye) (00830621)	甲南大学・先端生命工学研究所・博士研究員 (34506)	
研究分担者	建石 寿枝 (Tateishi-Karimata Hisae) (20593495)	甲南大学・先端生命工学研究所・准教授 (34506)	
研究分担者	高橋 俊太郎 (Takahashi Shuntaro) (40456257)	甲南大学・先端生命工学研究所・准教授 (34506)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	遠藤 玉樹 (Endoh Tamaki) (90550236)	甲南大学・先端生命工学研究所・准教授 (34506)	
研究分担者	G H O S H S A P T A R S H I (Ghosh Saptarshi) (40840781)	甲南大学・先端生命工学研究所・博士研究員 (34506)	
研究分担者	松本 咲 (Matsumoto Saki) (50850822)	甲南大学・先端生命工学研究所・特任教員（助教） (34506)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計1件

国際研究集会 FIBER Webinar Universe in Nucleic Acids Chemistry 6	開催年 2021年～2021年
---	--------------------

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	Reading大学			
チェコ	Masaryk大学			
中国	南京農業大学	中山大学		
インド	カルカッタ大学			
スロベニア	国立NMRセンター			
米国	Carnegie Mellon University			
ベルギー	KU Leuven			