

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02829

研究課題名(和文) 光架橋性グアニン四重鎖リガンドを用いたメチローム構成蛋白質解析技術の開発

研究課題名(英文) Development of analytical technology for proteins in methylome using photo-reacting ligands for guanine quadruplex

研究代表者

池袋 一典 (Ikebukuro, Kazunori)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・卓越教授

研究者番号：70251494

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、提案者が立てた「DNAのメチル化等のエピジェネティックな修飾が転写を制御する際、グアニン四重鎖(G4)構造が鍵となっている」という仮説を立証する為に、ヒトのゲノムDNAに多数存在するG4構造に結合する蛋白質の網羅的な同定・解析技術を開発することを目的として研究を遂行し、光架橋基を導入したG4リガンドを用いて、G4構造に結合するタンパク質とG4構造形成DNAとを連結する技術を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本技術の開発により、メチロームで働く蛋白質を網羅的に同定することが可能になり、本技術は、メチローム解析のための革新的な解析技術となりうる。そしてこれらの蛋白質の結合部位となる特定のDNAの領域が、メチル化によりどう変化し、その結果としてどのように関連遺伝子の転写を制御するかを解析できるようになったので、メチロームの遺伝子制御メカニズムの解析を飛躍的に加速することができる。

研究成果の概要(英文)：This research aimed at proving the hypothesis, "Guanine quadruplex structures (G4) in genomic DNA plays a key role in regulation of gene translation by epigenetic modification such as CpG methylation of human genomic DNA" and developing comprehensive identification and analysis method for the proteins binding to the huge number of the G4 structures which exist in the human genomic DNAs. We succeeded in developing it by connecting the proteins with the G4 forming DNAs using the G4 ligands bearing photo-reactive groups.

研究分野：生物工学

キーワード：グアニン四重鎖 ヒトゲノムDNA CpGメチル化 メチローム 転写制御 網羅的同定 転写因子

1. 研究開始当初の背景

本研究は、図1に示す、申請者が発見した知見を基に「DNAのメチル化等のエピジェネティックな修飾が転写を制御する際、G4構造が鍵となっている」という応募者が立てた仮説に基づいて構想され、このような転写制御メカニズムは、応募者が初めて提案した。またこの仮説は、「ヒトゲノムに存在する遺伝子のプロモーター領域に存在するG4構造が、転写因子の結合部位となる」という、応募者独自のもう一つの仮説に立脚しており、この仮説を支持する学術論文は幾つか報告されているものの、国際的には認知され始めたばかりである。つまり本申請課題が立脚する二つの仮説の両方が国際的に認知されたばかりの、応募者ら独自の仮説であり、この仮説の検証が、本研究課題が解明しようとする学術的問いである。

DNAのメチル化やヒストンのアセチル化などのエピジェネティックな修飾が、様々な遺伝子の転写を制御し、様々な生命活動を決定することが明らかになっており、DNAのメチル化と、細胞の分化等の生命活動の関連についての研究は国際的に熾烈な競争が繰り広げられている。応募者らは、世界に先駆けて、メチロームを形成するヒトのCpG(シトシン、グアニンの連続配列)アイランドの2000以上でG4構造が形成されていることを報告し(Angew. Chem. Intl. Ed., 2013、図2)、CpGのメチル化(シトシン、グアニンの連続配列のシトシンのメチル化)とG4構造の形成が密接に関連していることを、世界で初めて示唆している。

更に、応募者らは、これまで30種類以上のG4構造が様々な蛋白質に結合することを報告しており、G4構造が様々な蛋白質が結合する蛋白質結合モチーフの一つであることを確信している。しかもヒトの転写因子の主要なDNA結合モチーフであり、二本鎖DNAに結合すると考えられている Zinc finger protein(Zif)がG4構造にも結合することが報告され(Raiber et al., Nucleic Acids Res., 2012)、応募者も、5つの遺伝子のプロモーター領域に存在するG4形成DNAが、一本鎖の状態では代表的なZifであるSP1と結合し、しかもそのG4形成DNAとSP1との結合が、メチル化により変化することを報告している(Molecules, 2018)。更にNature姉妹誌のStruct. Mol. Biol. 誌に、ゲノム解析の世界の第一人者であるBalasubramanianらのグループが、メチロームはG4構造で形成されている、と報告し、応募者らの仮説の正当性は国際的な支持を受け始めている。

本申請で提案する技術は、このG4構造に結合する蛋白質を網羅的に同定することを可能にし、更にこれらの蛋白質の、メチル化された標的G4構造への結合の変化も解析可能にするので、これが変化している蛋白質は、メチロームにおいて重要な役割を果たすと推定される。まだ端緒にあるメチロームの遺伝子転写制御機構解明において、その基本原理の一つを提示し、詳細な機構解明の手法を提供するので、本課題の学術的問いの

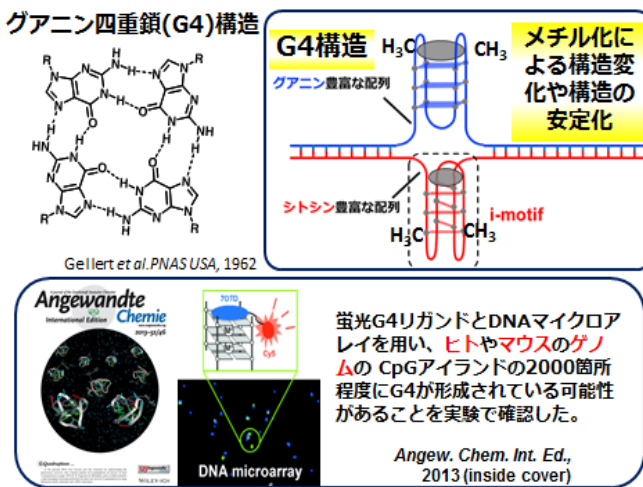


図1 DNAのメチル化とG4構造の関係

意義は極めて大きく、メチローム解析を飛躍的に推進するので、その学術的波及効果も極めて大きい。

## 2. 研究の目的

本研究は、応募者が立てた「DNA のメチル化等のエピジェネティックな修飾が転写を制御する際、G4 構造が鍵となっている」という仮説を立証する為に、ヒトのゲノム DNA に多数存在する G4 構造に結合する蛋白質の網羅的な同定・解析技術を開発することを目的とする。具体的には、研究分担者の長澤らが開発した、G4 構造を特異的に認識するリガンドに二つの光架橋性官能基を導入し、G4 構造に結合した蛋白質と G4 形成 DNA を、この光架橋性 G4 リガンドを介して、光架橋により連結し、これを回収して質量分析計で解析し、蛋白質を同定する。ゲノム DNA 上の特定の標的 G4 形成 DNA を、その領域と相補的な塩基配列を有する DNA プローブで選択的に捕捉する。

そして対象とした G4 構造形成 DNA のシトシンがメチル化された際に、G4 の構造が変化するか、同定した蛋白質の結合が変わるかを検討し、メチロームでの役割を解析する。この一連の解析技術の開発とこれを用いたメチローム解析を目的とする。

DNA のメチル化(CpG メチル化)と様々な遺伝子の転写との相関解析研究は国際的に熾烈な競争となっており、応募者らが CpG メチル化と G4 構造形成との相関を示唆して以来、これを裏付ける研究成果が次々と一流の学術誌で報告されている。

しかし現状では、CpG メチルを触媒する酵素群や、その機構については研究が進んでいるが、CpG メチル化している部分を認識する蛋白質や、それと協働して転写制御する蛋白質についてはまだほとんど同定されておらず、手付かずの状態とあってよい。本申請課題は、そのような蛋白質を同定するための最初の基盤技術を提供するものであり、かつ、CpG メチル化と G4 形成との相関を明らかにする決定的な手法となる、極めて学術的独自性の高いものである。これは、G4 構造が種々の蛋白質と結合するモチーフであることを熟知している研究代表者の池袋と、G4 構造の構造自体を極めて特異的に認識できるという点で、現在最も優れた G4 リガンドを開発している研究分担者の長澤の、両者が協力することにより初めて実現できる研究であり、国際的にも無二の学術的独自性を有する。

また、この研究の前提となる、「DNA のメチル化等のエピジェネティックな修飾が転写を制御する際、G4 構造が鍵となっている」と「ヒトゲノムに存在する遺伝子のプロモーター領域に存在する G4 構造が、転写因子の結合部位となる」の 2 つの仮説も応募者らが独自に発想した独創的な概念であり、この両者に基づいて、CpG メチル化の情報であるメチロームで重要な役割をする蛋白質を、G4 構造を起点として解析しようという本申請課題は、これまでのメチローム研究と一線を画した独創研究である。そして本申請課題は、メチローム解析において、全く異なる視点からの端緒を与える独創的基盤技術を提供できる。

## 3. 研究の方法

### (1) 光照射による抗体-リガンド-アプタマー三者複合体の作製および Avidin-HRP 検出による評価

抗  $\alpha\beta$  抗体に対する 3 種類のアプタマー候補配列の 5'末端にビオチンが修飾された 3 種類のビオチン修飾アプタマー (4A51\_Bio, 4A68\_Bio, 4A108\_Bio) を TBSK buffer (10 mM Tris,

100 mM NaCl, 100 mM KCl, pH7.35) 中で希釈し、終濃度 10  $\mu$ M になるよう調製した。また、終濃度 10  $\mu$ M になるよう光架橋性 6OTD を各サンプルに加え、フォールディングを行った。続いて、調製した DNA サンプル 10  $\mu$ L に対して 1.5  $\mu$ L の抗 A $\beta$  抗体 (終濃度 1.0  $\mu$ M) を加え、0 $^{\circ}$ Cで一晩インキュベートした。その後、スポットタイプの UV-LED 光源 (*hamamatsu*) を用い、各サンプルに対し UV (波長 365 nm, 最大照射強度 1000 mW/cm $^2$ ) を、10 秒間を 90 回照射した。UV 照射後、各サンプルに対して等量の 2x SDS sample buffer を混合し、95 $^{\circ}$ Cで 5 分間熱処理した。その後、各サンプルをポリアクリルアミドゲルにアプライし SDS-PAGE 後、Avidin-HRP 検出および銀染色を行った。

## (2) プロットティングアッセイによる三者複合体の評価

(1)の三者複合体混合溶液を TBS-T buffer (0.05% Tween20 in 10 mM Tris, 100 mM NaCl, 100 mM KCl, pH7.4) で希釈した。また、Mouse IgG 抗体である抗 A $\beta$  抗体のみを含む positive control およびアプタマーを含まない negative control も同様に TBS-T buffer で希釈した。Amyloid- $\beta$ <sub>1-42</sub> (A $\beta$ ) 1  $\mu$ L (1 pmol または 10 pmol) をニトロセルロース膜上に滴下し、吸着固定後、2% (w/v) BSA を含む TBS-T を用いて室温で 1 時間ブロッキングした。TBS-T で洗浄後、膜と希釈した三者複合体、negative control、または positive control を室温で 1 時間インキュベートした。膜を TBS-T で洗浄後、NeutrAvidin-HRP または HRP 標識抗マウス IgG 抗体を添加し、1 時間インキュベートした。膜を洗浄後、HRP 基質を添加し 5 分間静置後、LAS4000 mini を用いて HRP 由来の化学発光を検出した。

## (3) アプタマーの相補鎖形成能の評価

### ① 光照射によるアプタマー-リガンド複合体の作製

抗 A $\beta$  抗体に対するアプタマー候補配列 (**Table 2**) の 5'末端にビオチンを修飾し、さらに制限酵素 *EcoRI* 認識配列を付加したビオチン修飾アプタマー (4A108\_*EcoRI*\_Bio2) を TBSK buffer 中で希釈し、終濃度 5  $\mu$ M になるよう調製した。さらに、光架橋性 6OTD (終濃度 5  $\mu$ M) を各サンプルに加え、フォールディング後、0  $^{\circ}$ Cで一晩インキュベートした。その後、スポットタイプの UV-LED 光源 (*hamamatsu*) を用い、各サンプルに対して UV (波長 365 nm, 最大照射強度 1000 mW/cm $^2$ ) を、20 秒間を 45 回照射した。

### ② Native-PAGE による制限酵素を用いたアプタマーの相補鎖形成評価

①の複合体混合溶液に対して、制限酵素 *EcoRI*、終濃度 5  $\mu$ M の 4A108\_*EcoRI*\_Bio の Short\_comp2 または完全相補鎖配列 (4A108\_comp2) を加えた。各サンプルを 37  $^{\circ}$ Cで 30 分間酵素反応させた。Midori Green Direct および 6 $\times$ Loading buffer と酵素反応後の溶液を混合後、15%ポリアクリルアミドゲルに添加し、Native-PAGE を行った。ゲルイメージャーで Midori green Direct の蛍光を検出し、制限酵素 *EcoRI* の有無によるアプタマーの相補鎖形成を確認した。

## (4) BSA を用いたアプタマーの VEGF165 に対する特異性評価

VEGF G4\_bio を TK buffer 中で希釈し、終濃度 20  $\mu$ M になるよう調製した。また、終濃度 10  $\mu$ M になるように光架橋性 6OTD を各サンプルに加え、フォールディングを行った。続いて、調製した DNA サンプル 10  $\mu$ L に対して 4.0  $\mu$ L の BSA (終濃度 0.69  $\mu$ M) を加え、0  $^{\circ}$ Cで 1 時間インキュベートした。その後、各サンプルに対して UV を 20 秒間、15 回照射

し、SDS-PAGE 後、Avidin-HRP 検出を行った。

#### 4. 研究成果

(1) Avidin-HRP を用いて化学発光検出した結果、光架橋性 6OTD および抗体を含む 4A51\_Bio、4A68\_Bio、4A108\_Bio において、60 kDa および 35 kDa 付近に強い化学発光が確認された。これより、光架橋性 6OTD を介した抗体とアプタマーの共有結合が示唆された。一方で、銀染色では 60 kDa および 35 kDa 付近にバンドを確認することができなかった。これより、抗体-G4 リガンド-アプタマー三者複合体の形成量は少量であることが示唆された。

(2) プロットティングアッセイの結果、4A108 において、UV 照射を行った条件では、UV 照射を行っていない条件と比較して、1 pmol A $\beta$  および 10 pmol A $\beta$  に対して強い化学発光が観察された。これより、4A108 では、光架橋性 6OTD を介した共有結合により抗体とアプタマーが強く結合したことが示唆され、UV 照射が抗体の機能を阻害しないことが示された。

(3) 制限酵素処理を行った Short\_comp2 および 4A108\_comp2 を用いたサンプルでは、制限酵素処理を行っていない条件と比較して、早い泳動度が観察された。これより、制限酵素 *EcoRI* によって、4A108\_EcoRI\_Bio2 と相補鎖の二本鎖部分の制限酵素認識配列領域が切断された事が示唆された。

(4) VEGF165 を BSA に変更し Avidin-HRP 検出を行った結果、アプタマー無添加にも関わらず 66 kDa 付近に化学発光が見られ、NeutrAvidin-HRP が BSA に非特異吸着していることが示唆された。一方で、アプタマー存在下の UV 照射した光架橋性 6OTD および BSA を含むサンプルにおいて、三者複合体と示唆される位置である 72 kDa 付近にバンドは確認されなかった。これより、VEGF G4\_bio は光架橋性 6OTD を介して特異的に VEGF と架橋されたことが示唆された。

#### 研究成果のまとめ

研究分担者の長澤らが開発した、G4 構造を特異的に認識するリガンドに二つの光架橋性官能基を導入し、G4 構造に結合した蛋白質と G4 形成 DNA を、この光架橋性 G4 リガンドを介して連結し、これらの三者複合体が形成されている事を確認した。そして対象とした G4 構造形成 DNA のシトシンのメチル化により、G4 の構造が変化するか、同定した蛋白質の結合が変わるかを検討し、メチロームでの役割を解析した。

2ヶ所の光官能基を導入した光架橋性 G4 リガンドを合成し、これを介して VEGF アプタマーと VEGF が架橋した三者複合体を作製できた。VEGF G4 を用いた条件下の

Avidin-HRP 検出の結果、三者を含む UV 照射サンプルで 25 kDa 付近に三者複合体由来と示唆されるバンドを確認でき、銀染色においても、UV 照射条件でバンドが濃くなっており、プロモーター由来の G4 DNA を、光架橋性 G4 リガンドを介し、それに結合する VEGF と架橋する手法が開発できた。

また、複数の G4 形成 DNA の構造がメチル化によりどう変化するかを、円二色計(CD)やゲル電気泳動、DMS フットプリンティング等により解析し、CpG メチル化により、これらの構造が明確に変化し、ここで開発した技術がメチローム解析を行う上で基盤技術となる事を確認できた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kimura K, Oshikawa D, Ikebukuro K, Yoshida W	4. 巻 594
2. 論文標題 Stabilization of VEGF i-motif structure by CpG methylation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 88-92
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2022.01.054	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 Hasegawa H, Sasaki I, Tsukakoshi K, Ma Y, Nagasawa K, Numata S, Inoue Y, Kim Y, Ikebukuro K.	4. 巻 22
2. 論文標題 Detection of CpG Methylation in G-Quadruplex Forming Sequences Using G-Quadruplex Ligands	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 13159
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms222313159	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 Lee Jinhee, Teramoto Kentaro, Yokoyama Tomomi, Ueno Kinuko, Tsukakoshi Kaori, Sode Koji, Ikebukuro Kazunori	4. 巻 36
2. 論文標題 Data on G-quadruplex topology, and binding ability of G-quadruplex forming sequences found in the promoter region of biomarker proteins and those relations to the presence of nuclear localization signal in the proteins	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Data in Brief	6. 最初と最後の頁 107028 ~ 107028
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.dib.2021.107028	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 Nishio Maui, Tsukakoshi Kaori, Ikebukuro Kazunori	4. 巻 178
2. 論文標題 G-quadruplex: Flexible conformational changes by cations, pH, crowding and its applications to biosensing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 113030 ~ 113030
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bios.2021.113030	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 Tsukakoshi Kaori, Yamagishi Yasuko, Kanazashi Mana, Nakama Kenta, Oshikawa Daiki, Savory Nasa, Matsugami Akimasa, Hayashi Fumiaki, Lee Jinhee, Saito Taiki, Sode Koji, Khunathai Kanjana, Kuno Hitoshi, Ikebukuro Kazunori	4. 巻 49
2. 論文標題 G-quadruplex-forming aptamer enhances the peroxidase activity of myoglobin against luminol	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 6069 ~ 6081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkab388	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 Tu ATT, Hoshi K, Ikebukuro K, Hanagata N, Yamazaki T.	4. 巻 21
2. 論文標題 Monomeric G-Quadruplex-Based CpG Oligodeoxynucleotides as Potent Toll-Like Receptor 9 Agonists	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomacromolecules	6. 最初と最後の頁 3644-3657
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biomac.0c00679.	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 Lee J, Tatsumi A, Tsukakoshi K, Wilson ED, Abe K, Sode K, Ikebukuro K.	4. 巻 20(14)
2. 論文標題 Application of a Glucose Dehydrogenase-Fused with Zinc Finger Protein to Label DNA Aptamers for the Electrochemical Detection of VEGF.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sensors (Basel)	6. 最初と最後の頁 3878
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/s20143878.	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 Iida K, Tsushima Y, Ma Y, Sedghi Masoud S, Sakuma M, Yokoyama T, Yoshida W, Ikebukuro K, Nagasawa K	4. 巻 27
2. 論文標題 Model studies for isolation of G-quadruplex-forming DNA sequences through a pull-down strategy with macrocyclic polyoxazole.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem.	6. 最初と最後の頁 1742-1746.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2019.02.056	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12件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Kaori Tsukakoshi, Satoko Suzuki, Taiji Oyama, Akari Sato, Anh Thi Tram Tu, Yasuo Horiguchi, Koushi Nagamori, Tomohiko Yamazaki, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Development of functional oligonucleotides forming G-quadruplex structure by using topological structure evaluation based on CD spectrum analysis combined with principal component analysis
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第6回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎智彦, TU Thi Tram Anh, 星和明, Fika Ayu Safitri, 塚越かおり, 池袋一典
2. 発表標題 グアニン四重鎖構造を用いたDNAアジュバントの開発
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第6回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinataro INABA, Yudai Kitagawa, Shiori Saito, Kaori Tsukakoshi, Wakako Tsugawa, Ryutaro Asano, Shunsuke Numata, Hijiri Hasegawa, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Evaluation of the structural effects of CpG methylation on the dopamine receptor gene(DRD2)
3. 学会等名 2021年電気化学秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柳田 和輝、佐々木 捷悟、馬 悦、池袋 一典、寺 正行、長澤 和夫
2. 発表標題 テロメアグアニン四重鎖と選択的に共有結合する光架橋型ヘキサオキサゾール化合物の開発
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会(2022)
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 Ellie Wilson, Jinhee Lee, Stephen Henley, Ryutaro Asano, Kazunori Ikebukuro and Koji Sode
2. 発表標題 The Aptamer: A Novel Antibody-Aptamer Conjugate for Electrochemical Biosensing Applications
3. 学会等名 ECS Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Computer aided evolution of the desired functions of peptide/DNA aptamers
3. 学会等名 The third International Workshop on Symbiosis of Biology and Nanodevices (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 塚越 かわり・鎌田 晟・鈴木 仁子・堀口 靖夫・永森 浩司・池袋 一典
2. 発表標題 円二色性スペクトル解析に基づく シヌクレインオリゴマー結合アプタマーの構造活性評価
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第5回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 押川 大起、塚越 かわり、池袋 一典
2. 発表標題 プロモーター領域に存在する i-motif の安定性に CpG のメチル化が与える効果
3. 学会等名 第13回バイオ関連シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kaori Tsukakoshi, Yuri Ikuta, Kaoru Konda, Ikkei Sasaki, Kazuo Nagasawa, Yoshio Kato, Chikashi Nakamura, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Ligand-based functional improvement of G-quadruplex- forming DNA aptamers
3. 学会等名 The 46th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kinuko Ueno, Kaori Tsukakoshi, Alessandro Porchetta, Francesco Ricci, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Improvement and design of pH-sensitive Baby Spinach aptamer by fusing triplex forming sequence
3. 学会等名 The 46th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoko Suzuki, Kaori Tsukakoshi, Taiji Oyama, Yasuo Horiguchi, Koushi Nagamori, and Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Topological structure evaluation of G-quadruplexes using high-throughput CD system
3. 学会等名 The 46th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Daiki Oshikawa, Kaori Tsukakoshi, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Evaluation of the effect of CpG methylation on i-motif structure located in the CpG islands
3. 学会等名 The 46th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kinuko UenoKaori Tsukakoshi Kazunori Ikebukuro	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 349
3. 書名 "Engineering of Riboregulators for Gene Regulation as a Tool for Synthetic Biology" in "Advances in Synthetic Biolog"	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	長澤 和夫  (Kazuo Nagasawa)  (10247223)	東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・教授    (12605)	

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0件

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		
米国	UNC at Chapel Hill		