

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 3 月 31 日現在

機関番号 : 12102
研究種目 : 特別推進研究
研究期間 : 2010~2014
課題番号 : 22000007
研究課題名 (和文) スーパー制限酵素を用いたゲノム・マニピュレーション工学の創成
研究課題名 (英文) Creation of genome manipulation technology using super restriction enzyme

研究代表者
小宮山 眞 (KOMIYAMA, Makoto)
筑波大学・生命領域学際研究センター・教授
研究者番号 : 50133096
交付決定額 (研究期間全体) (直接経費) : 400,400,000 円

研究成果の概要 (和文) : 我々がすでに開発したスーパー制限酵素は、ヒトの巨大ゲノムをも選択的に切断する高い位置特異性を有する。本研究では、このスーパー制限酵素を使ってヒトゲノムを所定位置で切断し、ゲノムから所定断片を正確に切り出し、これを直接に解析する手法を開発した。特に、ヒトのそれぞれの染色体の末端に存在するテロメアを切り出して解析した結果、同一の細胞中にもかかわらずテロメアの長さが染色体によって顕著に異なるという興味ある結果を得た。従来法では得られない情報であり、スーパー制限酵素の有用性を如実に表している。また、スーパー制限酵素をヒト細胞内で機能させ、ゲノムの所定場所を切断し、目的とする相同組換えを誘導することにも成功した。さらに、スーパー制限酵素に様々な化学修飾を施し、その機能を改善した。中でも核移行シグナルペプチドを PNA に結合することが非常に有効であり、核局在化の促進のみならず、生理条件下でのインバージョン特性が飛躍的に向上した。

研究成果の概要 (英文) : Man-made tool (super artificial restriction enzyme), developed by our group, is highly site-selective and cuts huge human genome at one target site. In this research, this cutter was used to obtain desired fragments from human genome. Telomeres and other fragments were clipped from human genome with high selectivity. It was found that the telomere length is different from a chromosome to another even in the same cells. This unexpected finding has never been obtained by previous methods, showing superb roles of the present chemical cutter for molecular biology. Even in alive human cells, the super artificial restriction enzyme site-selectively cut the genome, inducing desired homologous recombination. Furthermore, the functions of the cutters were improved by various chemical modifications. Attachment of nuclear localization signal peptide to PNA was especially effective and allowed the invasion of the PNA into the genome to proceed spontaneously under physiological conditions.

研究分野 : 化学

キーワード : DNA、制限酵素、ペプチド核酸、遺伝子組換え、セリウム

1. 研究開始当初の背景

高等生物の細胞内では、巨大 DNA で構成される染色体の中に数多くの遺伝子ならびに制御因子が正確に配置され、互いにフィードバックしながら精緻なゲノム・システムを構築している。すなわち、ゲノムは多数の遺伝子の単なる集合体ではなく、その中の遺伝子や制御因子が互いに有機的・組織的に密接に関連し、また時空間分布を精密に制御されて生命活動を維持している。ところが、現状のバイオテクノロジーでは、多くの場合、細胞に導入された遺伝子は、細胞固有のゲノム・システムとは無関係に、独立な遺伝子として機能している。これでは、生命の持つ驚異的な能力もその一部しか利用できない。すなわち、工学・医学・薬学をはじめとする一連のバイオテクノロジーをさらに飛躍的に発展させるためには、ゲノム・システムを積極的に活用し、遺伝子機能を多次的かつ合目的的に制御することが必要である。しかし、これまで、巨大なゲノム DNA を正確に操作する手段が無く、そのために、ゲノム・システム中で各遺伝子（群）がどのように機能しているかに関する正確な情報は乏しく、その結果として、ゲノム・システムを望み通りに有効活用することはできなかった。

我々はすでに、“どのように大きな DNA でも、望みの場所で選択的に切断できる化学ツール（スーパー制限酵素）”を開発した（ARCUT: Artificial Restriction DNA Cutter）。この化学ツールは 2 本のペプチド核酸（PNA）と Ce(IV)/EDTA 錯体から構成される。PNA は Watson-Crick 則によりゲノムの所定の場所にインベージョンし、その結果として所定場所に一本鎖部分を生じる。一方、Ce(IV)/EDTA 錯体は一本鎖 DNA のみを特異的に加水分解する顕著な質特異性を示す。そこで、PNA のインベージョンにより生成した一本鎖部分を、Ce(IV)/EDTA 錯体で選択的に切断する。現状で、巨大 DNA を所定位置で選択的に切断できる唯一の化学ツールである。実際に我々は、ヒト細胞から抽出した全ゲノム（30 億個の核酸塩基対で構成される）をスーパー制限酵素で処理することにより、ねらった 1 か所を選択的に切断することにも成功していた。

2. 研究の目的

そこで、本申請研究では、このスーパー制限酵素を用いてヒトをはじめとする高等生物の巨大ゲノムを直接に操作し、これを通じてゲノム・システムを総合的かつ包括的に解明する。こうして、これまでの生命科学の概念を塗り変える『ゲノム・マニピュレーション工学』を創成し、これを使ってゲノム・システムを対象とする次世代バイオテクノロジーへと展開する。これが本申請研究の目的

である。

これまで、ゲノム・システム中における遺伝子（群）の機能解明の重要性は幅広く認識されていた。しかし、ゲノム・システムを分子レベルで追究する手段が乏しいために、詳細な情報が得られなかった。例えば、現在の生命科学では、プラスミドなどをベクターとして遺伝子を細胞に導入し、その発現状況を評価するのが一般的である。この場合、導入された遺伝子は、細胞内のゲノムとは無関係に機能する。また、複数種の遺伝子を同時に細胞に導入しても、これらの遺伝子は互いに独立に働く。この手法では、ゲノム・システムの解明に有効な情報は得られないし、またこのシステムを有効に活用することもできない。それに対して、本申請研究では、我々が開発したスーパー制限酵素を使ってゲノムを所定位置で切断し、ゲノム・システムを直接に解析し、またこれを利用する。すなわち、スーパー制限酵素によりゲノムの中の 1 か所を切断し、精査したいゲノム部分の形態を改変して、ゲノムの構造を保持したままで遺伝子（群）の機能を解析する。こうして、これまで容易に得られなかった「ゲノム・システムに関する正確な分子情報」を得る。

3. 研究の方法

上記の研究目的を達成するには、(1) ヒトゲノムから所定断片を正確に切り出す手法、ならびに (2) ヒトゲノムを望み通りに改変する手法の開発が必要である。そこで、これらの 2 項目を集中的に検討した。ただし、これらの研究を進めている段階で、ARCUT をヒトゲノムのマニピュレーションにさらに広範かつ有用に適用するには、いくつかの点を改良する必要があることが顕在化した。そこで、(3) ARCUT の機能を化学修飾により改善し「第 2 世代の ARCUT」を構築することも追究した。

4. 研究成果

当初の研究計画通りに、ARCUT を用いてヒトゲノムを所定の場所で選択的に切断し、さらにこれをゲノム・マニピュレーションへと展開した。

(1) ヒトゲノム中の所定断片の切り出しと構造解析

ゲノムの機能を詳細に解明するには、ARCUT でヒトゲノムを所定の位置で選択的に切断し、所望の DNA 断片を切り出す手法の確立が必須である。以下では、テロメアの取得ならびに内部断片の切り出しを、それぞれ検討した。

① ヒトのそれぞれの染色体の末端にあるテロメアの選択的切り出し

まず、切り出し対象として、ガンや老化との関連が次々と明らかになり注目されているテロメアを選択した。ヒトゲノムのどの位置でも選択的に切断できるという ARCUT の特性を活用し、それぞれの染色体から別々に

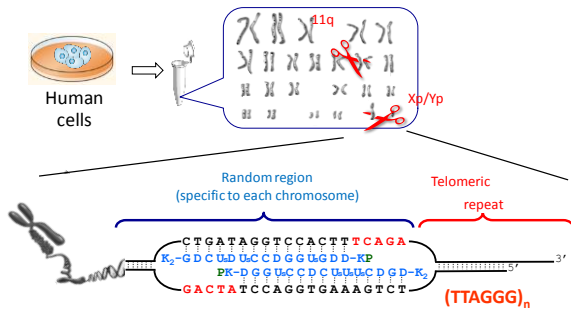


図1 ヒトの各染色体のテロメアを選択的に取得するためのARCUT

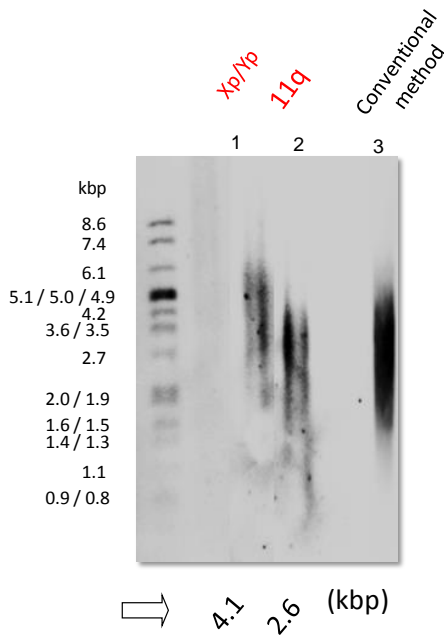


図2 ヒトの各染色体のテロメア長

テロメアを取得した (図1)。テロメアはどの染色体でも全て同じ配列である (ヒトの場合は(TTAGGG)_n配列の繰り返し) が、この繰り返しが終了した場所の配列はそれぞれの染色体に固有である。そこで、この場所を切断のターゲットとする ARCUT を設計することで目的を達成した。その結果、「ヒトテロメアの長さは染色体によって異なる」という極めて重要な知見を得た。

ヒトのそれぞれの染色体の繰り返し終了部位を切断する ARCUT を調製した。例えば、性染色体の短腕に結合したテロメア (Xp/Yp) をターゲットとする ARCUT を調製する。ヒト細胞から全ゲノムを抽出し、この ARCUT で処理すれば、ゲノム中の当該サイトだけが選択的に切断され、Xp/Yp のテロメアが選択的に得られる。一方、別の染色体に対応した ARCUT で全ゲノムを処理すれば、その染色体のテロメアが選択的に得られる。反応物をサザンブロッティングで解析した結果の一例が図2である。非常に興味深いことに、11q

と Xp/Yp の各染色体から得られたテロメアの長さは互いに 1.6 倍も異なることが分かった。もちろん、従来法では、このような情報は決して得られない (右端のレーン)。『それぞれの染色体のテロメアを別々に取得できる』という ARCUT 法の特色があればこそ得られた結果である。

これらの知見をすべての染色体に展開し、それらをより詳細に解析することにより、「すべての染色体のテロメアは同一のエピジェネティック状態 (DNA のメチル化や特殊塩基の存在) にあるか?」も分かるはずであり、これまで入手不能であった種々のエピゲノム情報の取得が期待される。

② ヒトゲノムの内部断片の取得

最初のステップとして、全ゲノムを制限酵素で処理し、生成物 (きわめて多数のゲノム断片の混合物) の中から目的断片だけをアフィニティ分離した。すなわち、当該断片中の所定の場所を選択的に結合する一对の PNA を調製し、一方の PNA にビオチンを結合した。制限酵素によるゲノム分解物にこれらの PNA を加えてインベージョン錯体を形成させ、ストレプトアビジンを結合した高分子ゲルで処理した。すると、目的断片だけが分離された。いずれの断片の分離に対しても目的物の選択性は十分に高い。

さらに、ARCUT による目的断片を取得することにも成功した。アフィニティ分離をするために、ARCUT に使用する 2 本の PNA の一方にビオチンを結合した。この ARCUT は、通常の ARCUT と同様に効率的にヒトゲノムを切断した。反応物を、もう一組の ARCUT、あるいは天然の制限酵素で処理し、目的とする内部断片を調製した。反応物を、ストレプトアビジンを結合した高分子ゲルで処理し、目的とするゲノム断片を入手した。得られる断片のサイズ、場所は制限がないので、どのような断片でもゲノムの中から取り出すことができる。

これらの断片を次世代シーケンサー、NMR、質量分析などで解析することにより、高度なエピゲノム情報が得られる。さらに、ゲノムに対する DNA 結合タンパク質や non-coding RNA の結合状態の詳細な解明にできる。現代の生命科学の一つの課題である“ゲノムの詳細解析”のツールとして有用であることは自明である。

(2) ARCUT を用いたヒト細胞内での相同組換えによるゲノム変換

ヒト細胞内で ARCUT によりゲノムを所定位置で選択的に切断し、該当する相同組換えの促進の可能性について追究した。まず、ARCUT が細胞内でも正確に機能するか否かに関する基礎実験を行った。その結果、(i) ARCUT がヒト細胞内で十分に機能し、プラスミドの相同組換えを誘導すること、(ii) ヒト細胞内で、ARCUT による選択的切断位

置に、大きなサイズの遺伝子（約 1 kb）が正確に挿入できること、(iii) 相同組換え効率が DNA ドナーの長さに顕著に依存すること、(iv) 細胞周期を制御することで相同組換え効率が向上できること、(v) エレクトロポレーションで導入した PNA が導入初期には核に局在することなどが明らかになった。そこで、ヒトゲノムに青色蛍光タンパク質（BFP）の遺伝子を 1 個導入し、その発色団形成部位を ARCUT で切断し、相同組換えにより緑色蛍光タンパク質（GFP）型に変換する系を構築した。ARCUT の構成成分（PNA と Ce(IV)/EDTA）と GFP ドナーをエレクトロポレーションでヒト細胞に導入したところ、HEK293（付着系細胞）でも K562（浮遊系細胞）でも、緑色蛍光を発するヒト細胞の生成が確認された。導入した GFP ドナーはそのまま単独で発現して緑色蛍光を発することはなく、また ARCUT なしではヒト細胞内での相同組換えはほとんど進行しない。このように、設計通りに、ヒト細胞内で目的の相同組換えを進行させ、ゲノム中の所定の遺伝子の配列を望みの塩基配列に変換することに成功した。すなわち、ヒトゲノムの相同組換えに対する ARCUT の有用性を実証できた。

これらの検討を行っている間に、生体反応を活用したツールである CRISPER/Cas9 系が開発され、ゲノム編集に盛んに使用されるようになった。この手法に比して、我々の ARCUT 法は、特に生化学者にとっての使いやすさでは劣る。しかし、ARCUT は化学ツールであり化学修飾が容易であるので、様々な付加機能が必要な場合でもこれを容易に付与できるという特色を持っている。そこで、近い将来に“単なるゲノム編集よりもさらに高度な機能”が必要となった場合には、より優位なツールとなれるはずである。

(3) 第 2 世代 ARCUT の開発

① 細胞内での配列認識能ならびに切断能の向上

ヒト細胞内で ARCUT を核に局在化してより有効にゲノムを切断することを目指して、核移行シグナルペプチド（NLS）を PNA に結合した。その結果、設計通りに ARCUT の核局在化が実現した。さらに、単なる核局在化の促進だけにとどまらず、この化学修飾により PNA の DNA へのインベーションが著しく促進されることが分かった。すなわち、ARCUT をより低濃度で、しかも細胞内のように高い塩濃度条件でも有効に機能するように改良することができ、すべての過程が生理条件で自発的に進行することも分かった。

また、NLS を結合した PNA は、1 本でも十分にゲノムにインベーションすることを見出した。NLS の正電荷のために、DNA との結合が強まったために、DNA/DNA 二本鎖の解離エネルギーが 1 本の PNA/DNA 二本鎖の生成により十分に補償できるためである。非修飾の PNA でゲノムを認識するためには

どうしても 2 本の PNA が必要であったのに対し、この修飾 PNA は 1 本だけでもゲノムの所定場所に結合できる。すなわち、PNA は、アンチジーン試薬として、これまで予想されたよりもはるかに有望であることが強く示唆されたわけであり、関連分野の発展に重大なインパクトを与えた。

② ARCUT の認識・切断配列の拡張

これまで開発してきた ARCUT は、広範な塩基配列の切断に対して適用可能ではあるが、それでも、(i) テロメアのように極端に GC-rich で同一のシーケンスが繰り返している配列や (ii) ホモプリン・ホモピリミジン配列を認識するのは困難であった。そこで、前者に対しては PNA/DNA 系のグアニン四重鎖形成を利用することにより、これらの配列も効率的に切断する新ツールを構築した。GC-rich な配列は、ヒトゲノム中では多くの遺伝子のプロモーター部分にしばしば存在し、遺伝子発現のオンオフに寄与しているといわれている。今回は、特に、がん遺伝子（例えば c-Myc）のプロモーター(-AGGGTGGGGAGGGTGGGGA-)を選択的に切断する系を構築し、このプロモーターを選択的に切断することに成功した。また後者に対しては、ホモピリミジン配列の PNA を使って、ホモプリン DNA 配列との間で三重らせんを形成させるのが有効で、効率的な選択的切断を実現した。また、高塩濃度条件では PNA がインベーションしにくいという課題を、ポリアミド系オリゴマーと PNA とをハイブリッド化することにより解決した。このようにして、ヒトゲノムの中のほぼすべての配列を認識して切断する第 2 世代 ARCUT を開発することに成功した。

③ Ce(IV)/EDTA 錯体の ARCUT への固定化

ARCUT の副反応をより完全に抑制した切断をさらに効率化するためには、Ce(IV)錯体を PNA に直接に固定することが望ましい。そこで、多価のホスホネート配位子（例えばエチレンジアミンテトラホスホネート）と Ce(III)錯体をまず調製し、これを空気酸化して Ce(IV)錯体に変換する新たな ARCUT 調製法を開発した。スペクトル測定ならびに動力学的検討により、Ce(IV)と配位子との 2 : 1 錯体が生成し、これが DNA 加水分解活性を有することが示唆された。この技術は、遊離の Ce(IV)錯体による副反応の心配がなく、生体内への応用において有効な戦略である。

④ 細胞内のモレキュラー・クラウディング効果がインベーションに及ぼす影響

細胞内はその大半が多数の生体分子に占有されており、その化学環境はバルクの水とは大いに異なることが知られている（モレキュラー・クラウディング効果）。そこで、この環境をポリエチレングリコールの添加により模倣し、PNA のインベーションに及ぼす

影響を検討した。その結果、モレキュラー・クラウドディング効果は PNA インベージョンを著しく促進することを見出した。このことは、PNA を細胞内に入れたときに、そのゲノムへのインベージョンは、細胞外の実験で予想されていたものよりもはるかに安定であることを意味している。すなわち、細胞内における PNA のインベージョンによるアンチジーン効果が、より一層有効である可能性を確認した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 50 件)

- ① Fabrication of DNA/RNA hybrids through sequence-specific scission of both strands by pcPNA-S1 nuclease combination. K. Futai, J. Sumaoka, and M. Komiyama, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **35**, 233-244 (2016). [査読有] DOI:10.1080/15257770.2015.1131294
- ② Affinity-isolation of desired restriction fragment from human genome using double-duplex invasion of biotin-bound pseudo-complementary PNA. N. Shigi, A. Rajendran, X. Wang, H. Kunifuda, J. Sumaoka, and M. Komiyama, *Chem. Lett.*, **44**, 1569-1571 (2015). [査読有] DOI:10.1246/cl.150682
- ③ Promotion of double-duplex invasion of peptide nucleic acid through conjugation with nuclear localization signal peptide Y. Aiba, Y. Honda, and M. Komiyama, *Chem. Eur. J.*, **21**, 4021-4026 (2015). [査読有] DOI: 10.1002/chem.201406085
- ④ Thiazole orange-conjugated peptide nucleic acid for fluorescent detection of specific DNA sequences and site-selective photodamage. M. Tanaka, N. Shigi, J. Sumaoka, and M. Komiyama, *RSC Adv.*, **4**, 63533-63538 (2014). [査読有] DOI:10.1039/c4ra13780a
- ⑤ Clipping of predetermined fragments from human genome by S1 nuclease-PNA combinations. X. Li, S. Muneoka, N. Shigi, J. Sumaoka, and M. Komiyama, *Chem. Commun.*, **50**, 8674-8676 (2014). [査読有] DOI: 10.1039/c4cc01420k
- ⑥ Finding of a human telomere DNA-RNA hybrid G-quadruplex formed by human telomeric 6-mer RNA and 16-mer DNA using click chemistry: A protective structure for telomere end. Y. Xu, Y. Suzuki, T. Ishizuka, C.-D. Xiao, X. Liu, T. Hayashi, and M. Komiyama, *Bioorg. Med. Chem.*, **22**, 4419-4421 (2014). [査読有] DOI: 10.1016/j.bmc.2014.05.053
- ⑦ Orthogonal enzyme arrays on a DNA origami scaffold bearing size-tunable wells. T. Yamazaki, J. G. Heddle, A. Kuzuya, and M. Komiyama, *Nanoscale*, **6**, 9122-9126 (2014). [査読有] DOI: 10.1039/c4nr01598c
- ⑧ Conjugation of peptide nucleic acid with pyrrole-imidazole polyamide to specifically recognize and cleave DNA. W. Kameshima, T. Ishizuka, M. Minoshima, M. Yamamoto, H. Sugiyama, Y. Xu, and M. Komiyama, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**, 13681-13684 (2013). [査読有] DOI: 10.1002/anie.201305489
- ⑨ Evidence for G-Quadruplex DNA in Human Cells. Y. Xu and M. Komiyama, *ChemBioChem.*, **14**, 927-928 (2013). [査読有] DOI: 10.1002/cbic.201300157
- ⑩ PNA-NLS conjugates as single-molecular activators of target sites in double-stranded DNA for site-selective scission Y. Aiba, Y. Hamano, W. Kameshima, Y. Araki, T. Wada, A. Accetta, S. Sforza, R. Corradini, R. Marchelli, and M. Komiyama, *Org. Biomol. Chem.*, **11**, 5233-5238 (2013). [査読有] DOI: 10.1039/c3ob40947c
- ⑪ Artificial restriction DNA cutter for site-selective gene insertion in human cells. K. Ito, N. Shigi, and M. Komiyama, *Chem. Commun.*, **49**, 6764-6766 (2013). [査読有] DOI: 10.1039/c3cc43261k
- ⑫ A Chemistry-Based Method to Detect Individual Telomere Lengths at a Single Chromosome Terminus. T. Ishizuka, Y. Xu, and M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 14-17 (2013). [査読有] DOI: 10.1021/ja308481c
- ⑬ Clear-cut Observation of PNA Invasion using Nanomechanical DNA Origami Devices. T. Yamazaki, Y. Aiba, K. Yasuda, Y. Sakai, Y. Yamanaka, A. Kuzuya, Y. Ohya, and M. Komiyama, *Chem. Commun.*, **48**, 11361-11363 (2012). [査読有] DOI: 10.1039/c2cc36358e
- ⑭ Oligonucleotide models of telomeric DNA and RNA form a hybrid G-quadruplex structure as a potential component of telomeres. Y. Xu, T. Ishizuka, J. Yang, K. Ito, H. Katada, M. Komiyama, T. Hayashi, *J. Biol. Chem.*, **287**, 41787-41796 (2012). [査読有] DOI: 10.1074/jbc.M112.342030
- ⑮ G-rich Sequence-specific Recognition and Scission of Human Genome by PNA/DNA Hybrid G-quadruplex Formation. T. Ishizuka, M. Komiyama, and Y. Xu, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **51**, 7198-7202 (2012). [査読有]

- DOI:10.1002/anie.201201176
- ⑮ Chemical and biological approaches to improve the efficiency of homologous recombination in human cells mediated by artificial restriction DNA cutter.
H. Katada, T. Harumoto, N. Shigi, and M. Komiyama, *Nucleic Acids Res.*, **40**, e81 (2012). [査読有] DOI: 10.1093/nar/gks185
- ⑯ Structure, Function and Targeting of Human Telomere RNA.
Y. Xu, and M. Komiyama, *Methods*, **57**, 100-105 (2012). [査読有]
DOI: 10.1016/j.ymeth.2012.02.015
- ⑰ Artificial DNA cutters for DNA manipulation and genome engineering.
Y. Aiba, J. Sumaoka, and M. Komiyama, *Chem. Soc. Rev.*, **40**, 5657 – 5668 (2011). [査読有] DOI: 10.1039/c1cs15039a
- ⑱ Artificial restriction DNA cutters to promote homologous recombination in human cells
H. Katada and M. Komiyama, *Current Gene Therapy*, **11**, 38-45 (2011). [査読有]
DOI: 10.2174/156652311794520094
- ⑳ Nanomechanical DNA Origami 'Single-Molecule Beacons' Directly Imaged by Atomic Force Microscopy.
Kuzuya, Y. Sakai, T. Yamazaki, Y. Xu, and M. Komiyama, *Nature Commun.*, **2**, 449 (2011) [査読有] DOI:10.1038/ncomms1452
- ㉑ Inhibition of translation by small RNA-stabilized mRNA structures in human cells.
K. Ito, S. Go, M. Komiyama, and Y. Xu, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 19153-19159 (2011). [査読有] DOI: 10.1021/ja206353c
- ㉒ Discrete and active enzyme nanoarrays on DNA origami scaffolds purified by affinity tag separation.
K. Numajiri, T. Yamazaki, M. Kimura, A. Kuzuya, and M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 9937-9939 (2010). [査読有]
DOI: 10.1021/ja104702q
- ㉓ Telomeric repeat-containing RNA structure in living cells.
Y. Xu, Y. Suzuki, K. Ito, and M. Komiyama, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 14579-14584 (2010). [査読有]
DOI: 10.1073/pnas.1001177107
- ㉔ A U-tetrad stabilizes human telomeric RNA G-quadruplex structure.
Y. Xu, T. Ishizuka, T. Kimura, and M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 7231-7233 (2010). [査読有]
DOI: 10.1021/ja909708a
- ㉕ A 6-mer photocontrolled oligonucleotide as an effective telomerase inhibitor.
Y. Xu, K. Ito, Y. Suzuki, and M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 631-637 (2010). [査読有] DOI: 10.1021/ja907417r

[学会発表] (計 61 件)

- 1) M. Komiyama, "Manipulation of Huge DNA by Artificial Restriction DNA Cutter".
6th Cambridge Symposium on Nucleic Acids Chemistry and Biology, Cambridge, Sept. 4-7 (2011).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小宮山 眞 (KOMIYAMA, Makoto)
筑波大学・生命領域学際研究センター・
教授 (2010～2012 年は東京大学・先端科学
技術研究センター・教授)
研究者番号：50133096

(2) 研究分担者

須磨岡 淳 (SUMAOKA, Jun)
筑波大学・生命領域学際研究センター・
講師 (2010～2012 年は東京大学・先端科学
技術研究センター・講師; 2013～ 東京工
科大学・メディア学部・教授)
研究者番号：10280934
期間：2010 年～2012 年
(2013～2015 年は連携研究者として参画)

徐 岩 (XU, Yan)

宮崎大学・医学部・教授 (2010～2012 年は
東京大学・先端科学技術研究センター・特
任助教)
研究者番号：40506763

伊藤 靖浩 (ITO, Yasuhiro)

東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号：50508108
期間：2010 年～2011 年; 2012 年～2013 年
(2011～2012 年は連携研究者として参画)

樋口 麻衣子 (HIGUCHI, Maiko)

東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号：30420235
期間：2010 年～2012 年

(3) 連携研究者

嶋 成実 (SHIGI, Narumi)

筑波大学・生命領域学際研究センター・
研究員 (2010～2012 年は東京大学・先端科
学技術研究センター・特任助教)
研究者番号：00396780

愛場 雄一郎 (AIBA, Yuichiro)

筑波大学・生命領域学際研究センター・
研究員
研究者番号：10581085
期間：2010 年～2012 年