

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2012～2016

課題番号：24225005

研究課題名(和文) 分子科学的アプローチによる遺伝子発現の制御と機構の解明

研究課題名(英文) Control and elucidation of gene expression at a molecular level

研究代表者

杉山 弘 (SUGIYAMA, Hiroshi)

京都大学・理学研究科・教授

研究者番号：50183843

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 143,700,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、機能性Py-Imポリアミドを用いてエピジェネティックな遺伝子発現を制御する方法論を開発した。加えて、原子間力顕微鏡(AFM)を用いるDNAフレーム技術によって1分子レベルで分子の挙動を直接可視化することに成功した。これらのケミカルバイオロジー研究技術を組み合わせることによって、DNA構造と機能に基づく化学的なアプローチを通じた特異的な遺伝子発現機構の解明に近づくだらう。

研究成果の概要(英文)：The regulating methodologies of epigenetic gene expression were developed by using functional Py-Im polyamide conjugates in our laboratory. In addition, dynamic motions for one molecule level were directly visualized by using DNA frame technologies with atomic force microscope (AFM). By the combination with these chemical biology researches, we would realize to elucidate the mechanism of specific gene expression through the chemical approach based on DNA structures and functions.

研究分野：ケミカルバイオロジー、生物有機化学、DNA構造機能解析

キーワード：遺伝子発現制御 エピジェネティクス 細胞初期化 Py-Imポリアミド DNAナノ構造体

1. 研究開始当初の背景

生命科学において遺伝子発現制御は極めて重要な研究課題である。とりわけ、細胞の初期化や分化に関わるエピジェネティックな遺伝子発現の制御が注目されている。遺伝子発現の制御機構において、ヒストンの化学修飾の制御やシトシンの脱メチル化などの遺伝子発現の制御機構は、生命科学の根本であり、その解明は重要である。しかしながら、これらの遺伝子発現に参与する分子が動的にどのような挙動を示すのかについての情報は十分に得られていない。加えて、より簡便かつ安全性な細胞の初期化や分化誘導の方法論の開発は、常に求められている。現在まで、いくつかの遺伝子発現量を変化させる化合物が報告されているが、塩基配列特異性がないためその作用機構は十分解明されていない。

我々は、DNA塩基配列特性をもつ人工分子である機能性Py-Imポリアミドを用いて、世界ではじめて、特定遺伝子のサイレンシングを達成している(総説*Acc. Chem. Res.* **2006**, 39, 935)。また、塩基配列だけではなくDNA自体の高次構造変化によっても遺伝子発現が制御されることが知られており、申請者らはこの分野で新規なグアニン四重鎖構造やそれに結合する分子を開発してきた(*J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 3778)。

同時に、化学的に様々なDNA高次構造を検出可能にする方法も開発してきた(総説*Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 1354)。特に、生体分子の直接観察では、DNAナノ構造体を足場とした1分子観察系を構築し、酵素の挙動や反応を動的に解析する方法の開発に成功した。

以上のように、申請者らのグループはDNAの構造と機能に関する長年の情報の蓄積と化学合成技術及び1分子解析技術を持ち、世界に先駆けて研究を遂行してきた。

2. 研究の目的

本研究提案では、遺伝子発現の制御や反応機構をエピジェネティックな観点から捉えなおす。つまり、従来の単なるDNA配列のみを考えた遺伝子発現ではなく、DNAの構造変化を誘起するヌクレオソーム構造や染色体末端のテロメア構造など、より構造依存的な遺伝子発現を考慮して、それに適したDNA結合分子を分子設計し、細胞内で遺伝子発現の制御を行い、その遺伝子発現の機構を分子レベルで解析する。

具体的には、DNAの配列特異的な結合分子Py-Imポリアミドとエピジェネティックな遺伝子発現の活性化分子により細胞の初期

化・分化誘導を試み、DNAテロメア構造を認識する分子を設計することによりその遺伝子発現を制御する新たな方法を提案する。これに伴い、分子レベルの解析が必要であり、分子の動きを直接可視化する方法の開発を行う。

これらが、強力に組み合わせられることで、目的とする構造依存的な遺伝子発現の制御と可視化について、従来なかったDNAの構造に基づくアプローチで遺伝子発現のメカニズムを解き明かし、人工機能性分子による細胞の初期化や分化の制御まで総合的に検討することが可能になると考えた。

3. 研究の方法

研究の方法として、下記の3つの事項を集中的に遂行した。

(1) 培養細胞を用いて、細胞の初期化(iPS細胞)を効率的に誘導する機能性Py-Imポリアミドの構築と種々の細胞への分化を誘導する方法論を確立した。

(2) 現在まで開発してきたDNAの局所構造の検出法を用いて、細胞内でテロメア構造やZ型DNA構造、さらに遺伝子のダイナミックな動態変化を検出した。

(3) 原子間力顕微鏡によって実時間で生体分子の挙動を直接可視化しそれを解析することで、遺伝子発現における動的な分子の挙動や相互作用を研究した。

4. 研究成果

(1) 細胞の初期化に関連する遺伝子を活性化化するSAHA Py-Imポリアミドの開発

Py-Imポリアミドの遺伝子発現制御分子としての機能の有用性を実証するために、細胞の多能性に関連する遺伝子を活性化する機能分子の開発を行ない成功した。

我々の研究しているPy-Imポリアミドは、優れた配列特異的なDNA結合性と核膜内への集積性を有している。従って、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)の阻害剤であるSAHAをPy-Imポリアミドと連結させたコンジュゲートの合成によって、特定のDNA遺伝子配列近傍にSAHAを運搬することを可能にした。

本研究の遂行により、32種類のHDAC阻害能を有するSAHA Py-Imポリアミドのライブラリーを構築し、DNA配列特異性を基盤とした特定遺伝子の活性化を試みた。実際に、マウス胎生線維芽細胞(MEF)を用いる実験系において、特定のSAHA Py-ImポリアミドがSox2やNanogなどの多能性に関連する遺伝子群の発現を上昇させていることを確認した(39. *Sci. Rep.* **2012**, 33. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**(hot paper))。最近では、ヒト皮膚線維芽細胞(HDF)に対しても同様の活性化機能を有するSAHA Py-Imポリアミドも見出した(24. *Sci. Rep.* **2014**, 10. *ACS Chem. Biol.*

2014)。興味深いことに、DNA マイクロアレイの結果から、これらの機能分子の配列特異性毎に異なる遺伝子の発現が活性化していることが示されている。

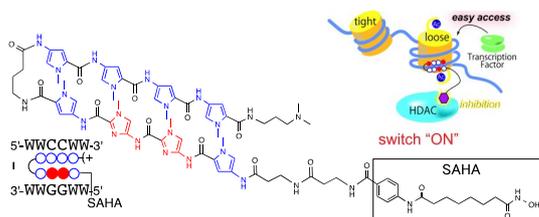


図1 SAHA Py-Im ポリアミドの化学構造の例

「ヒストンのアセチル化のようなエピジェネティックな変化を DNA の特定領域に起こすことによって、特定遺伝子の発現を活性化することが可能である。」このコンセプトブルーを SAHA Py-Im ポリアミドによって示すことが出来たと考える。また、2015 (平成 27) 年には、機能性 Py-Im ポリアミド研究の一環として千葉がんセンター・永瀬教授らと共同研究を進めていた変異KRASを標的とするアルキル化 Py-Im ポリアミドの研究成果を報告した(5. *Nat. Commun.* 2015)。

(2) 特定遺伝子を活性化する CTB Py-Im ポリアミドの開発

HDAC 阻害剤である SAHA と Py-Im ポリアミドとのコンジュゲートの研究が進むにつれ、ヒストンアセチル化酵素(HAT)の活性化剤においても同じ効果が得られるかは興味を持たれる。HAT を活性化する分子として CTB が報告されているので、実際に CTB を Py-Im ポリアミドと連結させた化合物を合成しその機能を評価した所、SAHA と同様に特定遺伝子の発現を活性化できることが明らかとなった。CTB ポリアミドは合成と精製において簡便性が高く、これまでの SAHA ポリアミドと並行して評価する価値のある Py-Im ポリアミドコンジュゲートとなった。

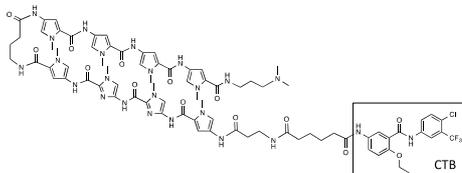


図2 CTB Py-Im ポリアミドの化学構造の例

尚、CTB に関連した論文は現在まで 2 報の論文として報告 (2. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, 3. *J. Am. Chem. Soc.* 2015) しており、京都大学より特許「特定遺伝子の発現を活性化する CTB PI ポリアミドコンジュゲート」を 2015 (平成 27) 年に出願した。

(3) ヒトテロメア配列を識別する蛍光性 Py-Im ポリアミドの開発

本研究は DNA 構造解析研究の一環として、染色体末端に存在するテロメア領域に対して特異的に結合する蛍光性 Py-Im ポリアミドの開発を進めた。ヒトテロメア配列

(5'-TTAGGG-3'/5'-CCCTAA-3')_n に対する特異性を向上させるために、2 つのヘアピン型 Py-Im ポリアミドを連結させたタンデム型 Py-Im ポリアミド (1-4) の効率的な合成法を開発した。我々は新しく中間パーツ (IP) を固相合成に活用する手法を用いて、タンデム型 Py-Im ポリアミドの合成を報告した。この成功によって新たにタンデム型 Py-Im ポリアミドの有用性が実証され、テロメア研究ツールとしての可能性が新たに開かれたと考える。

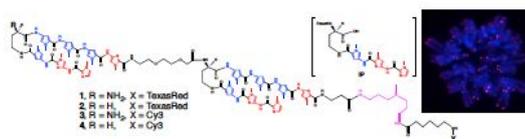


図3 テロメア配列標的 Py-Im ポリアミドの化学構造の例

このような蛍光性 Py-Im ポリアミドは DNA と結合することによって、自身の蛍光性を上昇させる性質を有することが知られており、DNA 配列特異的なイメージングに向けた応用が期待される。実際に、遺伝研、前島教授の染色体の構造解析技術によって、長いテロメア領域を有するヒト HeLa 細胞やマウス MC12 細胞内での染色体末端テロメア領域に対する特異的な蛍光が観察された。

現在迄に、前島教授、京都 HIPEP 研究所とのテロメア標的型 Py-Im ポリアミドの共同研究の成果をまとめ、三報の論文として報告している(32. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 14. *J. Am. Chem. Soc.* 2014, 4. *Chem. Sci.* 2015)。我々の機能性 Py-Im ポリアミドの設計・合成技術と、前島教授の染色体の高次構造解析技術を活かして、高い研究レベルでの蛍光性 Py-Im ポリアミドの細胞内機能解析が進展した。

(4) 高速原子間力顕微鏡(AFM)による 1 分子の動的可視化技術の開発

我々は、DNA ナノ構造体上に機能性分子をプログラムに基づいて配置し、そのナノ構造体上でのタンパク質などの 1 分子の動的な解析、距離と空間を制御した状態での相互作用の解析研究を進めた。特に、DNA のナノ構造変化を誘起するヌクレオソーム構造や G-四重鎖構造に対して、高次構造の変化やタンパク質との相互作用を直接可視化する技術を確立することに成功した。

実際に、鋳型 DNA を 2 か所で結合した DNA ナノ構造体上での基本転写因子との複合体構造を構築し、T7 RNA ポリメラーゼ II による転写を動的に観察することに成功した (40. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2012: 図 4)。

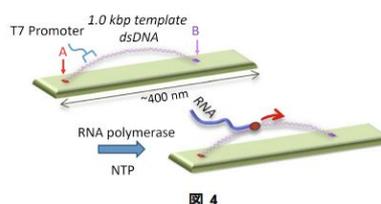


図 4

また、CG 繰り返し配列の 2 本鎖 DNA は塩濃度によって右巻らせんの B 型 DNA から左巻きの Z 型の DNA 構造をとることが知られている。この B-Z 転移を可視化するため、(5-methyl-CG)₆ 回繰り返し配列をナノフレーム内に導入することで、B-Z 構造転移のナノ構造内での可視化に成功した(35. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**: 図 5)

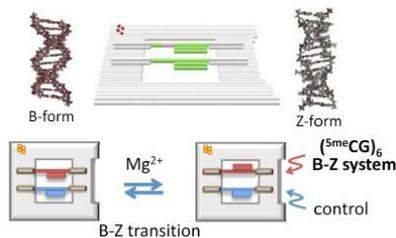


図 5

その他に特定波長の光により構造を異性化させる置換基を導入した DNA ナノ構造体を構築し、光による構造と機能を制御する技術の開発も進めた(44. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**)。最近では、DNA ナノフレーム内での DNA 組み換え酵素 Cre の 1 分子の挙動の解析にも成功した(19. *Nucleic Acids Res.* **2014**)。

結果として DNA ナノ構造体と AFM による 1 分子の動的な計測方法の確立によって、世界に先駆ける研究成果をあげること成功した。また、国内外の研究者との共同研究を介して高い研究成果を出した。

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 104 件)

- Lipid-bilayer-assisted Two-dimensional Self-assembly of DNA Origami Nanostructures. Suzuki, Y.; Endo, M.; *Sugiyama, H. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8052, 査読有, doi:10.1038/ncomms9052.
- A Synthetic DNA-Binding Domain Guides Distinct Chromatin-Modifying Small Molecules to Activate an Identical Gene Network. Han, L.; Pandian, G. N.; Chandran, A.; Sato, S.; Taniguchi, J.; Kashiwazaki, G.; Sawatani, Y.; Hashiya, K.; Bando, T.; Xu, Y.; Qian, X.; *Sugiyama, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 8700-8703, 査読有, doi: 10.1002/anie.201503607.
- Integrating Epigenetic Modulators into NanoScript for Enhances Chondrogenesis of Stem Cells. Patel, S.; Pongkulapa, T.; Yin, P.; Pandian, G. N.; Rathnam, C.; Bando, T.; Vajjyanthi, T.; *Sugiyama, H.; Lee, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 4598-4601, 査読有, doi: 10.1021/ja511298n.
- Tandem Trimer Pyrrole-Imidazole Polyamide Probes Targeting 18 Base Pairs in Human Telomere Sequence. Kawamoto, Y.; Sasaki, A.; Hashiya, K.; Ide, S.; Bando, T.; Maeshima, K.; *Sugiyama, H. *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 2307-2312, 査読有, doi: 10.1039/C4SC03755C.
- Inhibition of KRAS Codon 12 Mutants Using a Novel DNA-Alkylating Pyrrole-Imidazole Polyamide Conjugate. Hiraoka, K.; Inoue, T.; Taylor, R. D.; Watanabe, T.; Koshikawa, N.; Yoda, H.; Shinohara, K.; Takatori, A.; Sugimoto, K.; Maru, Y.; Denda T.; Fujiwara, K.; Balmain, A.; Ozaki, T.; Bando, T.; Sugiyama, H.; Nagase, H. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 6706, 査読有, doi: 10.1038/ncomms7706.
- Single-Molecule Visualization of the Activity of Zn²⁺-Dependent DNAzyme. Endo, M.; Takeuchi, Y.; Suzuki, Y.; Emura, T.; Hidaka, K.; Wang, F.; Willner, I.; Sugiyama, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 10550-10554, 査読有, doi: 10.1002/anie.201504656.
- Linking Two DNA Duplexes with a Rigid Linker for DNA Nanotechnology. Tashiro, R.; Iwamoto, M.; Morinaga, H.; Emura, T.; Hidaka, K.; Endo, M.; Sugiyama, H. *Nucleic Acids Res.* **2015**, *43*, 6692-6700, 査読有, doi: 10.1093/nar/gkv662.
- Small molecule binding to G-hairpin and G-triplex: A new insight in anticancer drug design targeting G-rich regions. Rajendran, A.; Endo, M.; Hidaka, K.; Teulade-Fichou, M.-P.; Mergny, J.-L.; Sugiyama, H. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 9181-9184, 査読有, doi: 10.1039/c5cc01678a.
- Locating the 2'-Deoxyuridin-5-yl Radical Formed Upon Photoirradiation of 5-bromouracil-substituted DNA. Hashiya, F.; Saha, A.; Kizaki, S.; Li, Y.; *Sugiyama, H. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, 13469-13473, 査読有, doi: 10.1093/nar/gku1133.
- Identification of a Small Molecule that Turns ON the Pluripotency Gene Circuitry in Human Fibroblasts. Pandian, G. N.; Sato, S.; Anandhakumar, C.; Taniguchi, J.; Takashima, K.; Syed, J.; Han, L.; Saha, A.; Bando, T.; Nagase, H.; *Sugiyama, H. *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 2729-2736, 査読有, doi: 10.1021/cb500724t.
- Preparation of Chemically Modified RNA Origami Nanostructures. Endo, M.; Takeuchi, Y.; Emura, T.; Hidaka, K.; *Sugiyama, H. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 15330-15333, 査読有, doi: 10.1002/chem.201404084.
- Next-Generation Sequencing Studies Guide the Design of Pyrrole-Imidazole Polyamides with Improved Binding Specificity by the Addition of β -alanine. Anandhakumar, C.; Li, Y.; Kizaki, S.; Pandian, G. N.; Hashiya, K.; Bando, T.; *Sugiyama, H. *ChemBioChem.* **2014**, *15*, 2647-2651, 査読有, doi: 10.1002/cbic.201402497.
- Photoresponsive DNA Nanocapsule Having an Open/Close System for Capture and Release of Nanomaterials. Takenaka, T.; Endo, M.; Suzuki, Y.; Yang, Y.; Emura, T.; Hidaka, K.; Kato, T.; Mitata, T.; Namba, K.; *Sugiyama, H. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 14951-14954, 査読有, doi: 10.1002/chem.201490191.
- Structure Evaluation of Tandem Hairpin Pyrrole-Imidazole Polyamides Recognizing Human Telomeres. Hirata, A.; Nokihara, K.; Kawamoto, Y.; Bando, T.; Sasaki, A.; Ide, S.; Maeshima, K.; Kasama, T.; *Sugiyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 11546-11554, 査読有, doi: 10.1021/ja506058e.
- Targeted Suppression of EVI1 Oncogene Expression by Sequence-Specific Pyrrole-imidazole Polyamide. Junetha, S.; Pandian, G. N.; Sato, S.; Taniguchi, J.;

- Anandhakumar, C.; Hashiya, K.; Bando, T.; *Sugiyama, H. *Chem. Biol.* **2014**, *23*, 1370-1380, 査読有, doi: 10.1016/j.chembiol.2014.07.019.
16. Chemical Modification of a Synthetic Small Molecule Boosts its Biological Efficacy against Pluripotency Genes in Mouse Fibroblast. Saha, A.; Pandian, G. N.; Sato, S.; Taniguchi, J.; Kawamoto, Y.; Hashiya, K.; Bando, T.; *Sugiyama, H. *ChemMedChem* **2014**, *9*, 2374-2380, 査読有, doi: 10.1002/cmde.201402117.
 17. Single Molecule Mechanochemical Sensing Using DNA Origami Nanostructures. Koirala, D.; Shrestha, P.; Emura, T.; Hidaka, K.; Mandal, S.; Endo, M.; Sugiyama, H.; Mao, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *126*, 8275-8279, 査読有, doi: 10.1002/ange.201404043.
 18. Helical DNA Origami Tubular Structures with Various Sizes and Arrangements. Endo, M.; Yamamoto, S.; Emura, T.; Hidaka, K.; Morone, N.; Heuser, J. E.; *Sugiyama, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 7484-7490, 査読有, doi: 10.1002/anie.201402973.
 19. Direct Analysis of Holliday Junction Resolving Enzyme in a DNA Origami Nanostructurecolor. Suzuki, Y.; Endo, M.; Canas, C.; Ayora, S.; Alonso, J. C.; Sugiyama, H.; Takeyasu, K. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, 7421-7428, 査読有, doi: 10.1093/nar/gku320.
 20. Direct and Single-Molecule Visualization of the Solution-State Structures of G-Hairpin and G-Triplex Intermediates. Rajendran, A.; Endo, M.; Hidaka, K.; *Sugiyama, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *126*, 4107-4112, 査読有, doi: 10.1002/anie.201308903.
 21. Single-Molecule Imaging of Dynamic Motions of Biomolecules in DNA Origami Nanostructures Using High-Speed Atomic Force Microscopy. Endo, M.; *Sugiyama, H. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 1645-1653, 査読有, doi: 10.1021/ar400299m.
 22. Specific Alkylation of Human Telomere Repeat Sequences by a Tandem-Hairpin Motif of Pyrrole-Imidazole Polyamides with Indole-Seco-CBI. Yamamoto, M.; Bando, T.; Kawamoto, Y.; Taylor, R. D.; Hashiya, K.; *Sugiyama, H. *Bioconjugate Chem.* **2014**, *25*, 552-559, 査読有, doi: 10.1021/bc400567m.
 23. Dynamic Assembly/Disassembly Processes of Photoresponsive DNA Origami Nanostructures Directly Visualized on a Lipid Membrane Surface. Suzuki, Y.; Endo, M.; Yang, Y.; *Sugiyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 1714-1717, 査読有, doi: 10.1021/ja4109819.
 24. Distinct DNA-based Epigenetic Switches Trigger Transcriptional Activation of Silent Genes in Human Dermal Fibroblasts. Pandian, G. N.; Taniguchi, J.; Junetha, S.; Sato, S.; Han, L.; Saha, A.; Anandhakumar, C.; Bando, T.; Nagase, H.; Thangavel, V.; Taylor, R. D.; *Sugiyama, H. *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 3843, 査読有, doi: 10.1038/srep03843.
 25. DNA Origami Based Visualization System for Studying Site-Specific Recombination Events. Suzuki, Y.; Endo, M.; Katsuda, Y.; Ou, K.; Hidaka, K.; *Sugiyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 211-218, 査読有, doi: 10.1021/ja408656y.
 26. Sequence-specific DNA Alkylation Targeting for Kras Codon 13 Mutation by Pyrrole-Imidazole Polyamide Seco-CBI Conjugates. Taylor, R. D.; Asamitsu, S.; Takenaka, T.; Yamamoto, M.; Hashiya, K.; Kawamoto, Y.; Bando, T.; Nagase, H.; *Sugiyama, H. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 1310-1317, 査読有, doi: 10.1002/chem.201303295.
 27. Sequence-Specific DNA Recognition by Cyclic Pyrrole-Imidazole Cysteine-Derived Polyamide Dimers. Yamamoto, M.; Bando, T.; Morinaga, N.; Kawamoto, Y.; Hashiya, K.; *Sugiyama, H. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 752-759, 査読有, doi: 10.1002/chem.201302482.
 28. State-of-the Art High Speed Atomic Force Microscopy for the Investigation of Single-Molecular Dynamics of Proteins. Rajendran, A.; Endo, M.; *Sugiyama, H. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 1493-1520, 査読有, doi: 10.1021/cr300253x.
 29. Conjugation of Peptide Nucleic Acid with Pyrrole-Imidazole Polyamide to Specifically Recognize and Cleave DNA. Kameshima, W.; Ishizuka, T.; Minoshima, M.; Yamamoto, M.; Sugiyama, H.; Xu, Y.; Komiyama, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 13681-13684, 査読有, doi: 10.1002/ange.201305489.
 30. HIV-1 Nucleocapsid Proteins as Molecular Chaperones for Tetramolecular Antiparallel G-Quadruplex Formation. Rajendran, A.; Endo, M.; Hidaka, K.; Tran, P. L. T.; Mergny, J.-L.; Gorelick, R. J.; *Sugiyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18575-18585, 査読有, doi: 10.1021/ja409085j.
 31. Regulation of B-Z Conformational Transition and Complex Formation with a Z-form-Binding Protein by Introduction of Constraint to Double-stranded DNA using DNA Nanoscaffold. Endo, M.; Inoue, M.; Suzuki, Y.; Masui, C.; Morinaga, H.; Hidaka, K.; *Sugiyama, H. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 16887-16890, 査読有, doi: 10.1002/chem.201303830.
 32. Development of a New Method for Synthesis of Tandem Hairpin Pyrrole-Imidazole Polyamide Probes Targeting Human Telomeres. Kawamoto, Y.; Bando, T.; Kamada, F.; Li, Y.; Hashiya, K.; Maeshima, K.; *Sugiyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 16468-16477, 査読有, doi: 10.1021/ja406737n.
 33. A Synthetic Small Molecule Enforces Targeted Transcriptional Activation of Germ Cell Genes in a Human Somatic Cell. Han, L.; Pandian, G. N.; Junetha, S.; Sato, S.; Anandhakumar, C.; Taniguchi, J.; Saha, A.; Bando, T.; Nagase, H.; *Sugiyama, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 13410-13413, 査読有, doi: 10.1002/open.201600125.
 34. Long-loop G-quadruplexes are Misfolded Population Minorities with Fast Transition Kinetics in Human Telomeric Sequences. Koirala, D.; Ghimire, C.; Bohrer, C.; Sannohe, Y.; Sugiyama, H.; Mao, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 2235-2241, 査読有, doi: 10.1021/ja309668t.
 35. Direct and Real-time Observation of Rotary Movement of a DNA Nanomechanical Device. Rajendran, A.; Endo, M.; Hidaka, K.; *Sugiyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 1117-1123, 査読有, doi: 10.1021/ja310454k.

36. Photocontrollable DNA Origami Nanostructures Assembling into Pre-designed Multiorientational Patterns. Yang, Y.; Endo, M.; Hidaka, K.; *Sugiyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 20645-20653, 査読有, doi: 10.1021/ja307785r.
37. Single-Molecule Visualization of the Hybridization and Dissociation of Photoresponsive Oligonucleotides and Their Reversible Switching Behavior in a DNA Nanostructure. Endo, M.; Yang, Y.; Hidaka, K.; *Sugiyama, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 10518-10522, 査読有, doi: 10.1002/anie.201205247.
38. Synthesis of Pyrrole-Imidazole Polyamide Seco-1-Chloromethyl-5-hydroxy-1,2-dihydro-3H-benzo[e]indole Conjugates with a Vinyl Linker recognizing 7 bp DNA sequence. Takagaki, T.; Bando, T.; *Sugiyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 13074-13081, 査読有, doi: 10.1021/ja3044294.
39. A Synthetic Small Molecule for Rapid Induction of Multiple Pluripotency Genes in Mouse Embryonic Fibroblast. Pandian, G. N.; Nakano, Y.; Sato, S.; Morinaga, H.; Bando, T.; Nagase, H.; *Sugiyama, H. *Sci. Rep.* **2012**, 2, 544, 査読有, doi: 10.1038/srep00544.
40. Direct Visualization of the Movement of a Single T7 RNA Polymerase and the Transcription in a designed DNA Nanostructure. Endo, M.; Tatsumi, K.; Terushima, K.; Katsuda, Y.; Hidaka, K.; Harada, Y.; *Sugiyama, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 8778-8782, 査読有, doi: 10.1002/anie.201201890.
41. Sequence-Selective Single Molecule Alkylation with a Pyrrole-Imidazole Polyamide Visualized in a DNA Nanoscaffold. Yoshidome, T.; Endo, M.; Kashiwazaki, G.; Hidaka, K.; Bando, T.; *Sugiyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 4654-4660, 査読有, doi: 10.1021/ja209023u.
42. A DNA-Based Molecular Motor that can Navigate a Network of Tracks. Wickham, S. F. J.; Bath, J.; Katsuda, Y.; Endo, M.; Hidaka, K.; Sugiyama, H.; Tuberfield, A. J. *Nature Nanotechnol.* **2012**, 7, 169-173, 査読有, doi: 10.1038/nnano.2011.253.
43. Synthesis and Biological Properties of Highly Sequence-Specific Alkylating N-Methylpyrrole- N- Methylimidazole (PI) Polyamide Conjugates. Kashiwazaki, G.; Bando, T.; Yoshidome, T.; Masui, S.; Takagaki, T.; Hashiya, K.; Pandian, G.N.; Yasuoka, J.; Akiyoshi, K.; *Sugiyama, H. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 2057-2066, 査読有, doi: 10.1021/jm201225z.
44. Transcription Regulation System Mediated Operation of a DNA Nanostructure. Endo, M.; Miyazaki, R.; Emura, T.; Hidaka, K.; *Sugiyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 2852-2855, 査読有, doi: 10.1021/ja2074856.
45. Single-Molecule Analysis Using DNA Origami. Rajendran, A.; Endo, M.; *Sugiyama, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 874-890, 査読有, doi: 10.1002/anie.201102113.

[学会発表] (計 15 件)
 [図書] (計 0 件)
 [産業財産権]

出願状況 (計 2 件)

名称: 特定遺伝子の発現を活性化する C T B - P I ポリアミドコンジュゲート
 発明者: 杉山 弘、板東俊和
 権利者: 京都大学
 種類: 特許
 公告番号: WO2016129680 A1
 公開日: 2016 年 8 月 18 日
 出願番号: PCT/JP2016/054162
 出願年月日: 2016(平成 28)年 2 月 12 日
 国内外の別: 国内

名称: ドライバーオンコジーンの遺伝子変異を標的にアルキル化する新規アルキル化剤
 発明者: 永瀬浩喜、杉山 弘、板東俊和
 権利者: 千葉県、国立大学法人京都大学
 種類: 特許
 公告番号: WO2015053413 A1
 公開日: 2015 年 4 月 16 日
 出願番号: PCT/JP2014/077766
 出願年月日: 2014(平成 26)年 10 月 14 日
 国内外の別: 国内

取得状況 (計 0 件)

[その他] ホームページ等
<http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/chembio/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

杉山 弘 (SUGIYAMA, Hiroshi)
 京都大学・大学院理学研究科・教授
 研究者番号: 50183843

(2)研究分担者

遠藤 政幸 (ENDO, Masayuki)
 京都大学・物質・細胞統合システム拠点・准教授、研究者番号: 70335389

板東 俊和 (BANDO, Toshikazu)
 京都大学・大学院理学研究科・准教授
 研究者番号: 20345284

(3)連携研究者

ARIVAZHAGAN RAJENDRAN
 京都大学・大学院理学研究科・研究員
 研究者番号: 90723122(平成 22.1 ~ 平成 25.5)

鈴木 勇輝 (Suzuki, Yuki)
 京都大学・大学院理学研究科・研究員
 研究者番号: 50636066

NAMASIVAYAN Ganesh Pandian
 京都大学・物質・細胞統合システム拠点・特定研究員、研究者番号: 60704755

佐藤 慎祐 (SATO, Shinsuke)
 京都大学・大学院理学研究科・特定職員
 研究者番号: なし

(4)研究協力者

日高 久美 (HIDAKA, Kumi)
 江村 智子 (EMURA, Tomoko)
 橋谷 かおり (HASHIYA, Kaori)
 Rhys D. Taylor (平成 22.1 ~ 平成 27.3)
 河本 佑介 (KAWAMOTO, Yusuke)
 朝光 世煌 (ASAMITSU, Sefan)
 谷口 純一 (TANIGUCHI, Junichi)