

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02081

研究課題名(和文) 酵素反応を駆使した金属イオン応答性DNA超分子の創製

研究課題名(英文) Development of metal-responsive DNA supramolecules based on enzymatic DNA synthesis

研究代表者

竹澤 悠典 (Takezawa, Yusuke)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・助教

研究者番号：70508598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、種々のDNA合成酵素を駆使した金属配位子型人工DNAの酵素合成法を開発し、金属錯体型塩基対形成を駆動力として構造・機能のスイッチングが可能な金属イオン応答性DNA超分子の開発を行った。Cu(II)イオン存在下で金属錯体型塩基対を形成するヒドロキシピリドン型ヌクレオチド(H)を用い、2種類のDNAポリメラーゼによるプライマー伸長反応、およびポリメラーゼとリガーゼを用いた2段階反応により、人工DNA鎖の酵素合成法を確立した。さらに、触媒活性を示すDNAzymeの配列中にH-H塩基対を導入することで、Cu(II)イオンに応答して活性が制御されるアロステリックDNAzymeを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、DNA合成酵素を用いた金属配位子型人工DNAの酵素合成法の開発と、それに基づく金属イオン応答性DNAzymeの開発を行った。金属応答性DNA鎖の簡便な合成が可能になった点、および既存の機能性核酸を基に配列を合理設計できる点が特長であり、他の機能性核酸やDNAナノ構造体の構造・機能制御へも応用できる成果である。特に一対の非天然塩基対の導入のみで活性制御が可能となり、最小限の修飾・改変による核酸の機能化という点で大きな意義がある。生体微量金属を含む種々の金属イオンに応答する機能性核酸も創出できると考えられ、DNAナノテクノロジーや生命金属科学の基礎分子技術としての波及効果も期待される。

研究成果の概要(英文)：We have developed facile enzymatic methods to synthesize DNA strands containing a ligand-type hydroxypyridone (H) nucleotide, which forms a Cu(II)-mediated base pair (H-Cu(II)-H). The H-modified oligonucleotides were synthesized by a primer extension reaction using two DNA polymerases or by a two-step reaction with polymerases and ligases. The enzymatic synthesis was subsequently applied to the development of metal-responsive allosteric DNAzymes, whose catalytic activity can be regulated by the formation of metal-mediated base pairs. The rational design strategy and the easy enzymatic synthesis established in this study provide a versatile way to develop a variety of metal-responsive DNA materials based on metal-mediated artificial base pairing.

研究分野：超分子化学

キーワード：DNA 人工DNA DNAポリメラーゼ DNAリガーゼ DNAzyme DNAナノテクノロジー 金属錯体型塩基対
超分子化学

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

本研究では、種々の DNA 合成酵素を駆使した金属配位子型人工 DNA の効率的な酵素合成法を開発し、金属錯体型塩基対^[1]の形成を駆動力として構造・機能のスイッチングが可能な金属イオン応答性 DNA 超分子を創製することを目的とした。金属錯体は、金属種と配位子の組み合わせにより、配位構造や錯体形成の熱力学・速度論的特性、酸化還元や pH 等の外部刺激・環境応答性を設計できる特長がある。配位結合の可逆性と多様な配位構造変化から、様々な超分子のビルディングブロックとして多用されてきた。我々は、DNA 分子と金属錯体のハイブリッドにより、動的機能や外部刺激応答性を兼ね備えた新規機能性 DNA 超分子の創出を目的として研究を進めてきた。今までに金属配位により対合する種々の金属錯体型人工核酸塩基対が開発されてきたが、低収率の化学合成や煩雑な精製が、DNA 超分子への応用の障害となってきた。そこで本研究では、DNA ポリメラーゼによる非天然ヌクレオチドの挿入反応に基づき、金属配位子型 DNA の酵素合成法を確立することを考えた。さらに、酵素合成法により金属配位サイトを DNA 鎖に導入することで、金属イオンに応答して可逆な構造・機能変換が可能な DNA 超分子の開発を目指した。

2. 研究の目的

本研究では、DNA 合成酵素を用いた金属配位子型人工 DNA 鎖の酵素合成法の開発と、それに基づく金属イオン応答性 DNA 超分子の開発を目的とした。具体的には、DNA ポリメラーゼによる非天然ヌクレオチドの挿入反応に基づき、金属配位子型ヌクレオチドを含む DNA 鎖の酵素合成法を開発した。さらに確立した酵素合成法を活用して、金属錯体型塩基対の形成により構造・機能が可逆的に変換される金属イオン応答性 DNA 超分子の創製を行った。特に、触媒活性を有する DNA 鎖である DNAzyme をターゲットとし、金属イオンに応答するアロステリック DNAzyme を開発した (図 1)。合理的な配列設計指針を確立することで、金属錯体型塩基対を DNA ナノテクノロジーの新規機能ユニットとして提案することを目指した。

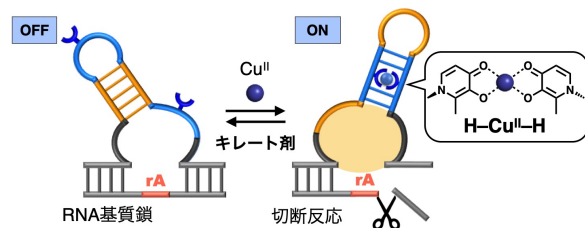


図 1 金属イオンに応答する DNAzyme の模式図。金属錯体型塩基対 H-Cu^{II}-H の形成により構造が大きく変化することで、Cu^{II} イオンに応答して触媒活性が制御される。

3. 研究の方法

(1) 金属配位子型人工 DNA の酵素合成法の確立

金属イオンに応答する DNA 超分子の創製には、金属配位子となる人工ヌクレオチドを導入した DNA 鎖を合成する必要がある。しかし、従来の DNA 合成機を用いた人工 DNA の化学合成 (固相合成) では、配位子部位に保護基が必要であり、合成・脱保護過程の収率や精製効率の向上が課題となっていた。そこで本研究では、DNA 合成酵素 (DNA ポリメラーゼ) による配位子型人工ヌクレオチドの導入を検討し、金属配位子型人工 DNA の酵素合成法を確立することとした。配位子型ヌクレオチドとしては、Cu^{II} イオン存在下で安定な金属錯体型塩基対を形成するヒドロキシピリドン型ヌクレオチド(H)^[2]を選択し、酵素による DNA 鎖への導入を検討した (図 2)。

金属配位子型人工 DNA の酵素合成には、天然配列の DNA 鎖

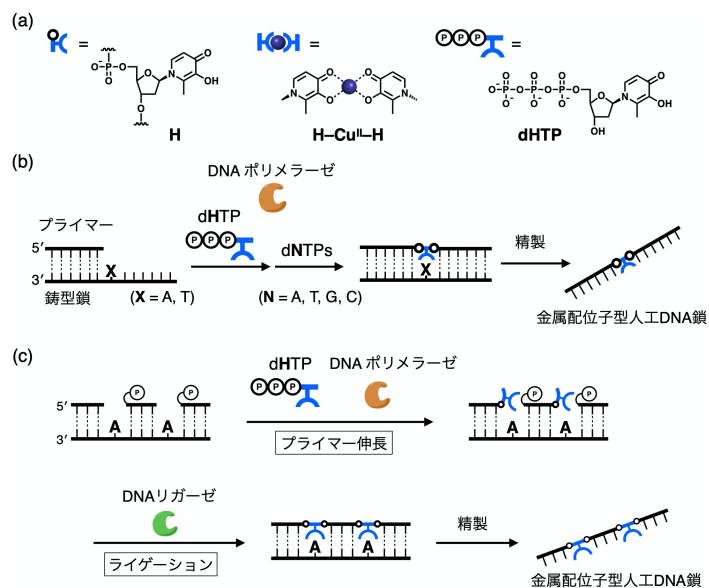


図 2 金属配位子型人工 DNA 鎖の酵素合成。(a) Cu^{II} イオン存在下で金属錯体型塩基対 H-Cu^{II}-H を形成するヒドロキシピリドン型ヌクレオチド(H)の構造。(b) DNA ポリメラーゼを用いた酵素合成。(c) DNA ポリメラーゼおよび DNA リガーゼを用いた酵素合成。

を鋳型とし、DNA ポリメラーゼおよび DNA リガーゼを用いる方法を考案した。まず、**H** ヌクレオチドの三リン酸体(dHTP)を基質としたプライマー伸長反応により、プライマー鎖に **H** ヌクレオチドを導入する。続いて天然のヌクレオチド(dNTP (N=A, T, G, C))を加えることで、**H** ヌクレオチドの後に天然ヌクレオチドを導入し、完全長の DNA 鎖を合成する (図 2b)。DNA ポリメラーゼの種類や反応条件 (鋳型 DNA 鎖の配列・反応時間・基質濃度・酵素濃度・補因子となる Mg^{II} イオン濃度など) の検討を行い、人工 DNA 鎖の酵素合成法を確立することとした。さらに、ポリメラーゼによる **H** ヌクレオチドの導入後、DNA リガーゼにより下流鎖と連結することで、人工 DNA 鎖を合成する方法も検討した (図 2c)。

(2) Cu^{II} イオン応答性スプリット型 DNAzyme の開発

金属イオンに応答する DNA 超分子の例として、金属錯体形成により活性が制御されるアロステリック DNAzyme の開発を行った。DNAzyme は触媒活性をもつ DNA 鎖であり、DNA 分子マシンや分子演算素子の構築にも広く応用されている。酵素合成法を用いて、DNAzyme の配列中に **H** ヌクレオチドを導入し、**H**- Cu^{II} -**H** 金属錯体型塩基対の形成による活性制御を試みた。

具体的には、既報の RNA 切断活性を有する E5 DNAzyme^[3]のステム部位で DNA 鎖を分割し、それぞれの鎖に **H** ヌクレオチドを導入したスプリット型 DNAzyme を設計した。**H**- Cu^{II} -**H** 塩基対の形成によって二本の DNA 鎖が会合し、触媒活性をもつ構造が再構築される設計である。最適な配列を見出すために、ステム部位の長さ (塩基対の数)、および **H**-**H** 塩基対の導入位置を変えた DNAzyme 鎖を合成し、 Cu^{II} イオン非存在下・存在下での RNA 切断活性をポリアクリルアミドゲル電気泳動により評価した。得られた **H** 修飾 DNAzyme については、10 当量の RNA 基質存在下で、RNA 切断反応の時間変化を解析し、活性制御の効率を評価した。また、反応途中での Cu^{II} イオンの添加や、 Cu^{II} 結合ペプチドによる Cu^{II} イオンの除去を行い、可逆な活性制御を試みた。さらに、アスコルビン酸などを用いた Cu^{II} イオンの酸化還元による活性制御も検討した。

(3) Cu^{II} イオン応答性一本鎖型 DNAzyme の開発

金属錯体型塩基対の形成により構造が著しく変化することで、触媒活性が制御される一本鎖型 DNAzyme の開発を行った。既報の E5 DNAzyme^[3]の活性構造のステム部分に、一对の **H** ヌクレオチドを導入した。さらに、触媒活性部位と相補的な塩基配列をループ部分に導入し、 Cu^{II} 非存在下で不活性な構造となるような配列を設計した。設計した DNA 鎖を酵素合成法により合成し、(2)と同様の方法で Cu^{II} イオン存在下・非存在下での DNAzyme の活性を評価した。DNAzyme 鎖の構造変換については、蛍光性のピロロシトシン(pC)を導入した DNA 鎖を合成し、pC の塩基対形成に伴う蛍光変化から評価した。さらに本設計法の一般性を実証するために、Na43A DNAzyme^[4]や Ag^I イオン依存性 DNAzyme^[5]の配列を基に **H** ヌクレオチドを導入し、種々の Cu^{II} イオン応答性 DNAzyme の構築も行った。

4. 研究成果

(1) 金属配位子型人工 DNA の酵素合成法の確立

金属配位子型ヌクレオチドとしてヒドロキシピリドン型ヌクレオチド(**H**)を選択し、DNA ポリメラーゼによる DNA 鎖への導入を検討した。鋳型 DNA 鎖上の核酸塩基を A, T, G, C と変え、**H** の三リン酸体(dHTP)^[6]の一塩基導入反応を行った。その結果、校正機能を欠損させた DNA ポリメラーゼ Klenow fragment *exo* を用い、鋳型塩基を A もしくは T とすることで、一塩基の **H** がほぼ定量的に導入されることを見出した。続いて、天然ヌクレオチド dNTP を取り込む二段階目のプライマー伸長反応を行った。種々のポリメラーゼを検討した結果、ミスマッチ塩基対や変異への許容性が高い「損傷乗り越えポリメラーゼ」の一種である Dpo IV ポリメラーゼを用いることで、**H** の後の天然ヌクレオチドの効率的な導入に成功した。得られた完全長の人工 DNA 鎖は、MALDI-TOF 質量分析により同定した。さらに、核酸分解酵素による消化後の質量分析スペクトルから、鋳型鎖の配列に従った人工 DNA 鎖が合成できたことが確かめられた。以上から、二種類の DNA ポリメラーゼを用いた二段階のプライマー伸長反応により、**H** ヌクレオチドを有する金属配位子型人工 DNA 鎖の酵素合成法を確立した (図 2b) ^[7]。

続いて別の酵素合成法として、DNA ポリメラーゼとリガーゼを用いた方法も開発した(図 2c) ^[8]。Klenow Fragment *exo* により **H** ヌクレオチドを導入した後、リン酸化した下流鎖とのライゲーション反応を行った。末端に非天然の **H** ヌクレオチドを含むにも関わらず、T4 DNA リガーゼにより効率的に DNA 鎖が連結されることを見出した。この方法により、2 箇所にも **H** ヌクレオチドを含む人工 DNA 鎖をワンポットで合成することにも成功した。

最後に、複数の金属配位子型ヌクレオチドを連続して含む人工 DNA 鎖の酵素合成を行った。Dpo IV ポリメラーゼを用いたプライマー伸長反応を検討した結果、鋳型鎖上の連続する T 塩基に対して、**H** ヌクレオチドが 3 個連続して導入される条件を見出した。引き続き DNA リガーゼによる連結反応も進行し、連続する **H** ヌクレオチドを内部に含む DNA 鎖の酵素合成に成功した^[9]。

以上のように、種々の DNA ポリメラーゼや DNA リガーゼを用いることで、非天然の金属配位子型ヌクレオチドを導入した人工 DNA 鎖の酵素合成法を確立した。後述する金属イオン応答性 DNAzyme の開発をはじめ、金属錯体型人工 DNA の合成の有用な方法として期待される。

(2) Cu^{II} イオン応答性スプリット型 DNAzyme の開発

金属イオンに反応して構造・機能が変化する DNA 超分子の例として、本研究では Cu^{II} イオンにより触媒活性が調節されるアロステリック DNAzyme の開発を行った。はじめに、既報の DNAzyme の配列を分割し、金属錯体型塩基対の形成により分割鎖が会合して活性が回復するスプリット型 DNAzyme を設計した(図 3a)。具体的には、RNA 切断活性を有する E5 DNAzyme^[3]を分割し、ステム部分に一对の H ヌクレオチドを導入した配列を設計した。上述の酵素合成法により H ヌクレオチドを含む DNA 鎖を合成し、塩基配列のスクリーニングを行った。その結果、触媒活性部位に近い側から 3 塩基対目に H ヌクレオチドを導入したときに、Cu^{II} の有無による活性の差が最も大きくなることがわかった(図 1b)。得られた H 修飾 DNAzyme の RNA 切断活性は、Cu^{II} 非存在下では $k_{\text{obs}} = 0.029 \text{ h}^{-1}$ であり、もとの E5 DNAzyme (0.23 h^{-1}) より大きく低下した。1 当量の Cu^{II} イオンを加えたところ、活性は約 5.5 倍に上昇した($k_{\text{obs}} = 0.16 \text{ h}^{-1}$) (図 3c)。過剰量の Cu^{II} イオン存在下では、DNAzyme の活性のさらなる上昇は見られなかった。一方、未修飾の E5 DNAzyme は、Cu^{II} イオンを添加しても活性にほとんど変化は生じなかった。実験条件下(μM 濃度)では H-Cu^{II}-H 塩基対は定量的に形成することから、設計通り金属錯体形成を駆動力として活性が制御されたと考えられる。また、H 修飾 DNAzyme は高い Cu^{II} イオン選択性を有することも示された。特に、T-Hg^{II}-T 塩基対に基づく Hg^{II} イオン応答性 DNAzyme の共存下で、金属イオン種に応じた orthogonal な DNAzyme の活性化も実現された。さらに、Cu^{II} 添加およびキレート剤による Cu^{II} 除去により、反応中に DNAzyme の活性化・不活性化を繰り返すこともでき、Cu^{II}/Cu^I の酸化還元による活性制御も示された^[7]。

さらに ON/OFF 比を上昇させるために、同様の設計に基づき、負電荷を持つ Im^C ヌクレオチド^[10]を導入した DNAzyme を合成した(図 3a)。Im^C ヌクレオチドは、Cu^{II} イオン存在下で金属錯体型塩基対 Im^C-Cu^{II}-Im^C を形成する。モデル二重鎖を使った実験から、DNAzyme の反応に適した中性条件では、Im^C-Cu^{II}-Im^C 塩基対の形成により二重鎖融解温度が約 30 °C 上昇することが確かめられた。この二重鎖安定化の度合いは、H-Cu^{II}-H 塩基対の場合($\Delta T_m = +13 \text{ }^\circ\text{C}$)よりも著しく大きいと期待された。H 修飾 DNAzyme と同じ位置に Im^C ヌクレオチドを導入した人工 DNA 鎖を合成し、その RNA 切断活性を評価した。1 当量の Cu^{II} イオン存在下での活性は、非存在下に比べて約 12 倍に上昇し、H 修飾 DNAzyme よりも優れた金属イオン応答を示すことが示された。Im^C 修飾 DNAzyme も高い Cu^{II} イオン選択性を示し、Cu^{II} イオンの添加・除去による活性の繰り返し制御(図 3d)も実現された^[11]。

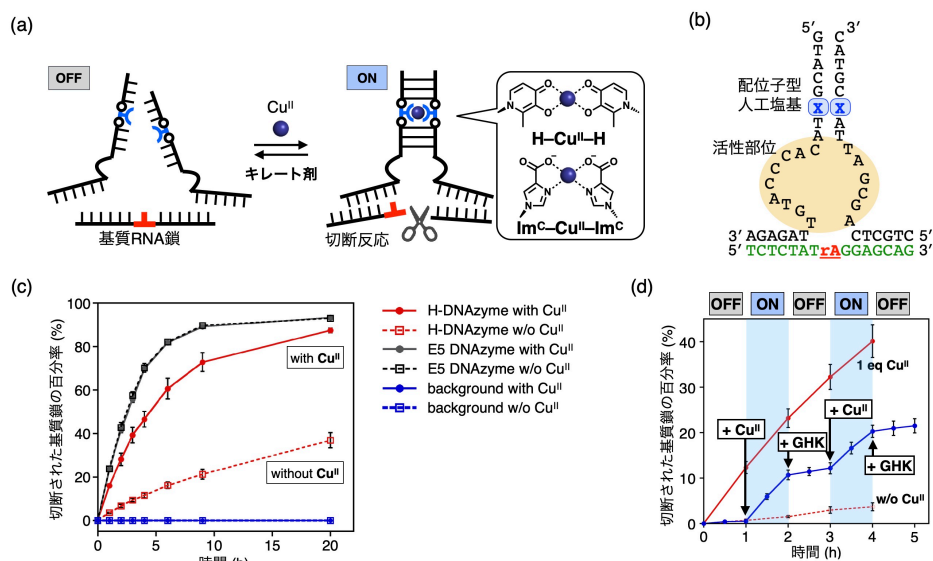


図 3 Cu^{II} 応答性スプリット型 DNAzyme の開発。(a) 設計のコンセプト。(b) 塩基配列設計。X = H or Im^C。rA: 切断部位となるリボヌクレオチド。(c) H 修飾 DNAzyme の Cu^{II} イオン存在下・非存在下での RNA 切断活性。[DNAzyme] = 1.0 μM , [基質鎖] = 10 μM , [CuSO₄] = 0 or 1.0 μM in 10 mM HEPES (pH 7.0), 1 M NaCl, 10 mM MgCl₂, 25 °C, 3 h. $N = 3$ 。(d) Im^C 修飾 DNAzyme の活性の繰り返し制御。GHK: Cu^{II} 結合ペプチド。

(3) Cu^{II} イオン応答性一本鎖型 DNAzyme の開発

次に、金属錯体型塩基対の形成により高次構造が著しく変化することで触媒活性が ON/OFF される、一本鎖型のアロステリック DNAzyme を開発した(図 4)。E5 DNAzyme^[3]の活性構造のステム部分に、H ヌクレオチドを一对導入した。さらに、Cu^{II} 非存在下で不活性構造をとるように、触媒活性部位と相補的となる DNA 配列をループ部分に導入した(オレンジ色部分)。1 当量の Cu^{II} 存在下での DNAzyme の活性($k_{\text{obs}} = 0.073 \text{ h}^{-1}$)は、Cu^{II} 非存在下(0.011 h^{-1})の 6.8 倍であった。蛍光

性のピロシトシンを導入した DNAzyme 鎖を用いた解析から、Cu^{II} イオン添加により望んだ構造変換が起きたことが確かめられた。DNAzyme の活性は、Cu^{II} 添加・除去に反応して速やかに変化し、繰り返し制御することもできた^[8]。同様に、3 対の連続する H-H 対を導入した DNAzyme も合成し、Cu^{II} イオンの添加により活性が 2.2 倍上昇することを見出した^[9]。この一本鎖型 DNAzyme の分子設計は、他の DNAzyme にも適用できた。たとえば NaA43 DNAzyme^[4]を基に設計した H 修飾 DNAzyme は、ON/OFF 比 5.9 倍の Cu^{II} 応答性を示した。さらに、既報の Ag^I イオン応答性 DNAzyme^[5]に H-Cu^{II}-H 塩基対を導入することで、Ag^I と Cu^{II} の両方が存在するときのみ触媒活性を示す AND ゲート型の応答をする DNAzyme の開発にも成功した^[8]。

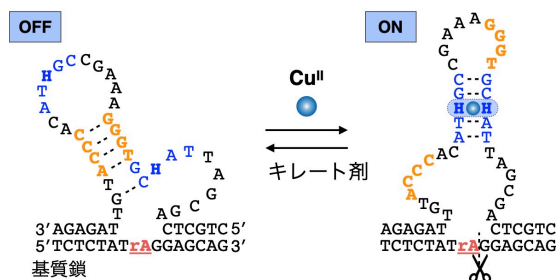


図 4 Cu^{II} イオン応答性一本鎖型 DNAzyme の配列設計。

本研究では、金属錯体型塩基対を形成する H ヌクレオチドを導入した人工 DNA 鎖の酵素合成法を開発した。さらに、DNA 鎖に配位子型ヌクレオチドを導入することで、金属イオンに反応してアロステリックに活性を制御できる DNAzyme の開発に成功した。既存の DNAzyme を基に配列を合理設計できる点が特長であり、他の機能性核酸や DNA ナノ構造体などの構造・機能制御へも応用できる方法である。特に、一对の金属錯体型塩基対のみで活性・構造制御ができる点は有用であり、様々な外部刺激応答性 DNA 超分子の開発への展開が期待される。

<引用文献>

- [1] Y. Takezawa, J. Müller, M. Shionoya, *Chem. Lett.* **2017**, *46*, 622.
- [2] K. Tanaka, A. Tengeiji, T. Kato, N. Toyama, M. Shiro, M. Shionoya, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12494.
- [3] R. R. Breaker, G. F. Joyce, *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 655.
- [4] S.-F. Torabi, P. Wu, C. E. McGhee, L. Chen, K. Hwang, N. Zheng, J. Cheng, Y. Lu, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2015**, *112*, 5903.
- [5] R. Saran, J. Liu, *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 4014.
- [6] T. Kobayashi, Y. Takezawa, A. Sakamoto, M. Shionoya, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 3762.
- [7] Y. Takezawa, T. Nakama, M. Shionoya, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 19342.
- [8] T. Nakama, Y. Takezawa, D. Sasaki, M. Shionoya, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 10153.
- [9] T. Nakama, Y. Takezawa, M. Shionoya, *Chem. Commun.* **2021**, *57*, 2487.
- [10] N. Sandmann, D. Defayay, A. Hepp, J. Müller, *J. Inorg. Biochem.* **2019**, *191*, 85.
- [11] Y. Takezawa, L. Hu, T. Nakama, M. Shionoya, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2020**, *59*, 21488.

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 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Daisuke Sasaki, Mitsuhiro Shionoya	4. 巻 142
2. 論文標題 Allosteric Regulation of DNAzyme Activities through Intrastrand Transformation Induced by Cu(II)-Mediated Artificial Base Pairing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 10153 ~ 10162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.0c03129	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 Yusuke Takezawa, Lingyun Hu, Takahiro Nakama, Mitsuhiro Shionoya	4. 巻 59
2. 論文標題 Sharp Switching of DNAzyme Activity through the Formation of a Cu(II) Mediated Carboxyimidazole Base Pair	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 21488 ~ 21492
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202009579	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 Yusuke Takezawa, Akira Suzuki, Manabu Nakaya, Kotaro Nishiyama, Mitsuhiro Shionoya	4. 巻 142
2. 論文標題 Metal-Dependent DNA Base Pairing of 5-Carboxyuracil with Itself and All Four Canonical Nucleobases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 21640 ~ 21644
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.0c11437	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 Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiro Shionoya	4. 巻 57
2. 論文標題 Site-specific polymerase incorporation of consecutive ligand-containing nucleotides for multiple metal-mediated base pairing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 1392 ~ 1395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0CC07771B	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 Kotaro Nishiyama, Keita Mori, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya	4. 巻 57
2. 論文標題 Metal-responsive reversible binding of triplex-forming oligonucleotides with 5-hydroxyuracil nucleobases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 2487 ~ 2490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1CC00553G	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 Yusuke Takezawa, Shiori Sakakibara, Mitsuhiko Shionoya	4. 巻 27
2. 論文標題 Bipyridine Modified DNA Three Way Junctions with Amide Linkers: Metal Dependent Structure Induction and Self Sorting	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemistry - A European Journal	6. 最初と最後の頁 16626 ~ 16633
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.202102977	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 Takezawa Yusuke, Nakama Takahiro, Shionoya Mitsuhiko	4. 巻 141
2. 論文標題 Enzymatic Synthesis of Cu(II)-Responsive Deoxyribozymes through Polymerase Incorporation of Artificial Ligand-Type Nucleotides	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 19342 ~ 19350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.9b08955	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 Takezawa Yusuke, Shionoya Mitsuhiko	4. 巻 7
2. 論文標題 Supramolecular DNA Three-Way Junction Motifs With a Bridging Metal Center	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Chemistry	6. 最初と最後の頁 925
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fchem.2019.00925	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58件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 15件）

1. 発表者名 竹澤 悠典・森 圭太・黄 薇恩・西山 康太郎・塩谷 光彦
2. 発表標題 ヒドロキシウラシルの塩基対スイッチングに基づく金属イオン応答性DNA超分子の創製
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 胡 凌雲・中間 貴寛・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 金属錯体型塩基対を用いた8-17 DNAzymeのRNA切断活性制御
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 Yusuke Takezawa, Akira Suzuki, Keita Mori, Manabu Nakaya, Kotaro Nishiyama, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Metal-dependent Base Pairing of 5-Carboxyuracil with Natural Nucleobases within DNA Duplexes
3. 学会等名 錯体化学会 第70回討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Keita Mori, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Development of Metal-responsive DNA Tweezers Based on Metal Complexation of 5-Hydroxyuracil Nucleobases
3. 学会等名 錯体化学会 第70回討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Lingyun Hu, Yusuke Takezawa, Takahiro Nakama, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Cu(II)-mediated imidazole-4-carboxylate homo base pair as a switch for controlling the catalytic activity of a DNAzyme
3. 学会等名 第20回東京大学 生命科学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yusuke Takezawa
2. 発表標題 Rational Design of Metal-responsive Allosteric DNazymes
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Lingyun Hu, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Metal-dependent Stabilization of DNA Duplexes Containing 2-Oxoimidazole-carboxylate/carboxamide as Nucleobases
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Keita Mori, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 DNA-based Molecular Switches Driven by Metal Complexation of 5-Hydroxyuracil Nucleobases
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Silpa Chandran Rajasree, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 DNA-templated Assembly of Cu(II) Ions using 1,N6-Ethenoadenosine nucleobases as Metal Binding Sites
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹澤 悠典・黄 薇恩・森 圭太・西山 康太郎・塩谷 光彦
2. 発表標題 ヒドロキシウラシルを用いた金属イオン応答性アロステリックDNAzymeの開発
3. 学会等名 第18回ホスト-ゲスト・超分子化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森 圭太・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 5-ヒドロキシウラシルの金属錯体形成に基づくDNA分子ピンセットの開閉の繰り返し制御
3. 学会等名 第18回ホスト-ゲスト・超分子化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹澤 悠典・張 晗辞・鈴木 暁・森 圭太・胡 凌雲・塩谷 光彦
2. 発表標題 金属配位に基づく5-カルボキシウラシルの塩基対スイッチング
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 Lingyun Hu, Yusuke Takezawa, Takahiro Nakama, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Metal-dependent activity regulation of a compact-sized DNAzyme containing an imidazole-4-carboxylate base pair
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 Yusuke Takezawa, Daisuke Kanemaru, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Metal-Mediated Stabilization of DNA Three-Way Branched Structures Modified with Phenanthroline Ligands
3. 学会等名 錯体化学会第71回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Silpa Chandran Rajasree, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Cu(II)-Dependent Stabilization of DNA Duplexes Bearing Consecutive 1,N6-Ethenoadenosine Lesions
3. 学会等名 錯体化学会第71回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hanci Zhang, Yusuke Takezawa, Lingyun Hu, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Development of Metal-responsive DNAzymes using 5-Carboxyuracils as Metal Binding Sites
3. 学会等名 錯体化学会第71回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹澤 悠典・中間 貴寛・胡 凌雲・塩谷 光彦
2. 発表標題 金属イオンの結合により活性を制御できる化学修飾DNAzyme の開発
3. 学会等名 第5回分子ロボティクス年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yusuke Takezawa, Takahiro Nakama, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Development of an AND-gate DNAzyme that responds to Cu(II) and Ag(I) ions as inputs
3. 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Keita Mori, Kotaro Nishiyama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Reversible Binding of Triplex-forming Oligonucleotides Based on Metal Complexation of 5-Hydroxyuracil Nucleobases
3. 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yusuke Takezawa, Takahiro Nakama, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Metal-Dependent Regulation of DNAzyme Activities by using Cu(II)-Mediated Artificial Base Pairing
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Keita Mori, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Development of Metal-Responsive DNA Tweezers based on Coordination-Driven Switching of 5-Hydroxyuracil Nucleobases
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Cu(II)-Responsive Allosteric DNazymes Regulated through Intrastrand Transformation by Metal-Mediated Artificial Base Pairing
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Lingyun Hu, Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Cu(II)-Specific Regulation of DNzyme Function by Metal-Mediated Base Pairing of Nucleotides with a Carboxyimidazole Base
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 櫻井 航平・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 塩基除去修復酵素を用いたフェナントロリン配位子修飾DNA三叉路分岐構造の合成
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Silpa Chandran Rajasree, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Cu(II)-mediated stabilization of DNA duplexes having different numbers of 1,N6-ethenoadenine lesions as metal binding sites
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 若野 将大・Silpa Chandran Rajasree・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 金属錯体型人工DNAの構築を目指したDNAポリメラーゼによるエテノアデノシンの連続導入
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中間 貴寛・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 Development of Metal-responsive RNA-cleaving DNAzymes: Allosteric Regulation of the Catalytic Activity through Formation of a Cu(II)-mediated Artificial Base Pair
3. 学会等名 第19回 東京大学 生命科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹澤 悠典・中間 貴寛・胡 凌雲・塩谷 光彦
2. 発表標題 Cu(II)錯体型人工核酸塩基対を用いた一本鎖DNAzymeの活性制御
3. 学会等名 第17回ホスト-ゲスト・超分子化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 胡 凌雲・中間 貴寛・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 イミダゾール-4-カルボン酸-銅(II)錯体型人工塩基対を用いた金属イオン応答性DNAzymeの構築
3. 学会等名 第17回ホスト-ゲスト・超分子化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Takezawa, Takahiro Nakama, Lingyun Hu, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Cu(II)-responsive Split DNAzymes with Metal-mediated Artificial Base Pairs
3. 学会等名 15th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keita Mori, Kotaro Nishiyama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Metal-dependent Regulation of Hybridization Behaviors of DNA Strands Containing 5-Hydroxyuracil Bases at the Terminus
3. 学会等名 15th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Daisuke Sasaki, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Enzymatic Synthesis of Ligand-bearing DNA using Polymerase and Ligase toward Development of Cu(II)-responsive DNAzymes
3. 学会等名 15th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Takezawa, Akira Suzuki, Manabu Nakaya, Kotaro Nishiyama, Mitsuhiro Shionoya
2. 発表標題 Cu(II)-induced Stabilization and Destabilization of DNA Duplexes Containing 5-Carboxyuracil Nucleobases
3. 学会等名 Commemorative International Symposium of the Japan Society of Nucleic Acids Chemistry (CISNAC2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiro Shionoya
2. 発表標題 Split and Non-split DNAzymes Containing a Cu(II)-mediated Artificial Base Pair: Metal-dependent Regulation of the RNA-cleaving Activity
3. 学会等名 Commemorative International Symposium of the Japan Society of Nucleic Acids Chemistry (CISNAC2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹澤 悠典・中間 貴寛・胡 凌雲・塩谷 光彦
2. 発表標題 金属配位子型人工核酸塩基の導入によるCu(II)イオン応答性DNAzymeの合理設計
3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 圭太・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 5-ヒドロキシウラシルの金属錯体形成に基づくDNA鎖交換反応：修飾塩基の導入数の検討
3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Takezawa
2. 発表標題 Development of Cu(II)-responsive DNAzymes by Introducing a Metal-mediated Artificial Base Pair
3. 学会等名 10th RSC-CSJ Joint Symposium: Chemistry for Complex Biological Systems (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Lingyun Hu, Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Reversible Regulation of DNAzyme Activity through Cu(II)-mediated Base Pairing with Carboxyimidazole Nucleobases
3. 学会等名 錯体化学会 第69回討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Takezawa, Shiori Sakakibara, Daisuke Kanemaru, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Metal-mediated Structure Conversion and Self-sorting of Bipyridine-modified DNA Three-way Junctions
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 Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Allosteric Regulation of Single-stranded DNAzymes Based on Cu(II)-mediated Artificial Base Pairing
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Lingyun Hu, Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Cu(II)-specific Activation of Synthetic DNAzymes Possessing a Pair of 4-Carboxyimidazole-bearing Nucleotides
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jens Christian Leon, Yusuke Takezawa, Manabu Nakaya, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Chiral Assembly of Cu(II)-Complexes within Glycol Nucleic Acids
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Keita Mori, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Coordination-driven Base-pair Switching of 5-Hydroxyuracil Nucleobases towards Development of Metal-responsive DNA Tweezers
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Manabu Nakaya, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Encapsulation of luminescent Pt(II) complexes by DNA duplexes containing abasic sites
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹澤 悠典・榊原 志織・米田 周平・デュブレール ジャン-ルイ・中間 貴寛・塩谷 光彦
2. 発表標題 Ni(II)-ピビリジン錯体でクロスリンクされた三叉路型DNA超分子の構築：配位子-DNA間のリンカーの構造比較
3. 学会等名 第16回ホスト-ゲスト・超分子化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中間 貴寛・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 金属イオン応答性DNAzymeの開発：Cu(II)錯体型人工塩基対を用いた触媒活性の繰返し制御
3. 学会等名 第16回ホスト-ゲスト・超分子化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yusuke Takezawa, Akira Suzuki, Kotaro Nishiyama, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Metal-dependent Thermal Stabilization of DNA Duplexes containing 5-Carboxyuracil Nucleobases
3. 学会等名 錯体化学会第68回討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Cu(II)-specific Activation of DNAzyme utilizing Metal-mediated Artificial Base Pairing
3. 学会等名 錯体化学会第68回討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森 圭太・西山 康太郎・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 5-ヒドロキシウラシル塩基の金属錯体形成に基づくDNA 二重鎖の熱的安定化：修飾塩基の導入位置の検討
3. 学会等名 錯体化学会第68回討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yusuke Takezawa, Kotaro Nishiyama, Akira Suzuki, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Construction of Metallo-DNA Duplexes by Using 5-Substituted Uracil Nucleobases as Metal Ligands
3. 学会等名 The 43rd International Conference on Coordination Chemistry (ICCC2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Development of Metal-responsive DNAzyme through Incorporation of a Cu(II)-mediated Artificial Base Pair
3. 学会等名 The 43rd International Conference on Coordination Chemistry (ICCC2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 仲谷 学・鈴木 暁・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 5-カルボキシウラシル塩基のCu(II)錯体形成によるDNA二重鎖安定化：修飾塩基の導入数の効果
3. 学会等名 第12回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森 圭太・西山 康太郎・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 5-ヒドロキシウラシル塩基を末端に有するDNA鎖を用いた金属配位駆動型DNA鎖交換反応の開発
3. 学会等名 第12回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yusuke Takezawa, Akira Suzuki, Manabu Nakaya, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Metal-dependent regulation of DNA duplex stability based on the metal complexation of 5-carboxyuracil nucleobases
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 圭太・西山 康太郎・竹澤 悠典・塩谷 光彦
2. 発表標題 5-ヒドロキシウラシル塩基の金属錯体形成を駆動力とした可逆なDNA鎖交換反応
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahiro Nakama, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Metal-dependent orthogonal regulation of DNAzyme activities by the formation of Cu(II)- and Hg(II)-mediated base pairs
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Manabu Nakaya, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Encapsulation of mononuclear Ni(II) salen-type complexes in an abasic site in DNA duplexes
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nobuyuki Fuse, Yusuke Takezawa, Mitsuhiko Shionoya
2. 発表標題 Construction of DNA three-way junction structures containing thiol ligands at the junction core
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 竹澤 悠典・中間 貴寛・塩谷 光彦 (日本核酸化学会 監修)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 講談社サイエンティフィク	5. 総ページ数 9
3. 書名 核酸科学ハンドブック (第3章 分析・無機化学 3.4 核酸無機材料)	

1. 著者名 錯体化学会	4. 発行年 2019年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 1000
3. 書名 錯体化合物事典	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------