科研費

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 1 0 日現在

機関番号: 14301 研究種目: 若手研究 研究期間: 2019~2021

課題番号: 19K16054

研究課題名(和文)In-cell NMR法を用いたヒト生細胞内核酸の構造安定性および相互作用の評価

研究課題名(英文)In-cell NMR analysis on the structural stability and interaction of nucleic acids in living human cells

研究代表者

山置 佑大 (Yamaoki, Yudai)

京都大学・エネルギー理工学研究所・助教

研究者番号:00778095

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):生きた細胞内は極めて高濃度に生体分子が込み合った環境であるため、核酸の立体構造やダイナミクス、相互作用が試験管内とは異なっていると考えられている。本研究では、細胞内の核酸分子のNMRスペクトルを取得するin-cell NMR法により、(1)ヒト生細胞内においてDNA三重鎖構造が形成可能である直接的な証拠をしめした。また、(2)ヒト生細胞内においてはグアニン四重鎖構造のG-G塩基対が試験管内よりも高頻度で開裂していることを明らかにした。さらに、(3) RNAアプタマーと標的分子との相互作用をヒト生細胞内において検出した。これにより核酸in-cell NMR法の有用性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、in-cell NMR法により、ヒト生細胞内において核酸の構造、ダイナミクス、相互作用を解析する手法を確立し、その有用性を実証した。核酸が実際に機能を発揮する細胞内において核酸の構造情報を高い空間分解能で解析可能にする本技術は、核酸が関わる多くの基本的な生命現象の理解に貢献すると期待される。

研究成果の概要(英文): The intracellular environment is highly crowded with macromolecules and physicochemical properties inside the cells are different from those of in vitro. Therefore, it has long been thought that structures, dynamics, and interactions of nucleic acids can be different in in-cell and in vitro conditions. Here we evaluated the structural properties of nucleic acids in living human cells by in-cell NMR. In terms of intracellular structure, the direct evidence of the formation of parallel and antiparallel triplex structures were provided. Furthermore, base-pair opening dynamics of telomere G-quadruplex structure in living human cells was evaluated at base-pair resolution. We found that all G-G base-pairs open more frequently in living human cells than in vitro. We also detected the interaction of RNA aptamer to its target small molecule in living human cells. The potential of in-cell NMR for investigation of structural properties of nucleic acids in living human cells was demonstrated.

研究分野: 構造生物学

キーワード: in-cell NMR 核酸 三重鎖構造 グアニン四重鎖構造 ダイナミクス 相互作用

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

生きた細胞内(in-cell)は極めて高濃度に生体分子が込み合った分子混雑環境であり、試験管内 (in vitro)における希薄で均質な環境とは様々な物理化学的性質が異なっている。そのため、細胞内環境下では核酸の立体構造やダイナミクス、相互作用が試験管内とは異なっていると考えられている。生細胞内で上記の情報を得る手法として in-cell NMR 法は有効な手段であり、蛋白質を対象として精力的に開発が進められてきた。一方、核酸を対象とした in-cell NMR 測定の報告は限られていた。申請者は細胞表面に細孔を形成する毒素蛋白質を用いることでヒト生細胞に核酸を導入し、ヒト生細胞を用いた核酸の in-cell NMR スペクトルの測定に世界に先駆けて成功した[1,2]。さらに、得られた in-cell NMR スペクトルから、ヒト生細胞内の核酸に関し、初めて残基分解能で構造情報を得ることに成功した[1,2]。

2. 研究の目的

本研究では、様々な構造モチーフを有する核酸について、ヒト生細胞内における立体構造、ダイナミクス、分子間相互作用を in-cell NMR 法を用いて評価することを目的とし、その手法開発を行った。

3.研究の方法

細胞膜の表面に細孔を形成する毒素蛋白質ストレプトリシン O を用いてヒト生細胞内に観測対象となる核酸を導入した。この細胞丸ごとを NMR 試料管に移し、NMR スペクトルを測定することで、ヒト生細胞内に存在する核酸の in-cell NMR スペクトルを取得した。

(i) ヒト生細胞内における核酸構造の解析

得られた in-cell NMR スペクトルを *in vitro* NMR スペクトルと比較することにより、ヒト生細胞内の核酸の構造情報を得た。

(ii) ヒト生細胞内の核酸のダイナミクスの解析

核酸のイミノプロトンは交換性プロトンであり、塩基対を形成していないときには容易に水のプロトンと交換する。一方、塩基対中では水素結合を形成しており、この交換は抑えられている。このため、イミノプロトンと水プロトンの交換速度はその塩基対の開閉のダイナミクスを反映する。本研究では、in-cell NMR 法により、細胞内においてイミノプロトンと水プロトンの交換速度を求めることでその塩基対のダイナミクスを評価した。一次元の 'H-NMR スペクトルを得る際、事前に水のプロトンのみを選択的に反転させることで、水と交換するほどイミノプロトンのシグナル強度が低下する。水反転後の待ち時間を変えて測定することでイミノプロトンと水プロトンの交換速度を算出した。

(iii) ヒト生細胞内の核酸の相互作用解析

ヒト生細胞内に導入した核酸と標的分子の複合体のイミノプロトンシグナルを in-cell NMR 法によって観測し、in vitro NMR スペクトルと比較することにより、ヒト生細胞内核酸と標的分子との相互作用を評価した。

4. 研究成果

(i) ヒト生細胞内における平行型および逆平行型三重鎖構造形成の検出

試験管内においては、二重らせん構造に第三の鎖が配向することで平行型および逆平行型三重鎖構造が形成されることが知られており、疾患との関わりが示唆されている。また、三重鎖構造はアンチジーンドラッグなどの開発においても重要な構造モチーフである。本研究では、試験管内において平行型および逆平行型三重鎖構造を形成する DNA が細胞内でどのような構造を形成するのかを in-cell NMR 法によって検証した。試験管内で平行型および逆平行型三重鎖構造を形成することが報告されている各 DNA をヒト生細胞内に導入し、in-cell NMR スペクトルを測定した。得られた in-cell NMR スペクトルと試験管内で得られた NMR スペクトルを比較したと

ころ、試験管内での NMR スペクトルで観測されていた三重鎖構造に由来するすべてのイミノプロトンシグナルが、in-cell NMR スペクトルにおいても観測された(図 1)。の結果は、実際のヒト生細胞内環境下において各三重鎖構造が形成において各三重鎖構造が形成において、初めてヒト生細胞内において平行型および逆平行型三重鎖構造が形成可能であることの直接的な

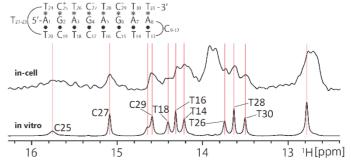


図 1. 平行型三重鎖形成 DNA の in-cell NMR 測定.

(ii) ヒト生細胞内におけるグアニン四重鎖構造の塩基対開閉ダイナミクスの評価

グアニン(G)に富んだ配列を もつ核酸は、グアニン四重鎖 (GQ)と呼ばれる強固な構造体を 形成することが知られている (図 2A)。GQ 構造は、試験管内で は非常に安定であり、その構成 塩基対はほとんど開かないこと が知られているが、細胞内GQ構 造の構造ダイナミクスは不明で ある。本研究では、ヒト染色体末 端テロメア領域に由来する DNA 配列(teloDNA)が形成する GQ 構造について、in-cell NMR 法 を用いることにより、ヒト生細 胞内における G-G 塩基対開裂の ダイナミクスを解析した。

核酸のイミノプロトンは交換性であり、塩基対が開いているときには容易に水分子のプロトンと交換する。一方、塩基対が閉

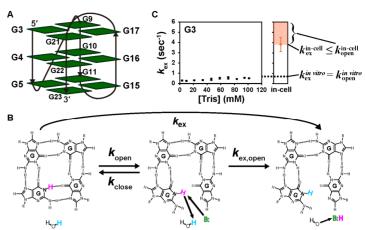


図2. ヒト生細胞内における GQ 構造の塩基対開裂速度の解析. (A) GQ 構造の模式図. 緑の四角形はグアニン塩基. (B) G-G 塩基対の開裂とイミノプロトンの交換スキーム. (C) 細胞内と試験管内における G3 を含む塩基対開裂速度の比較.

じているときは、水素結合の形成によりプロトン交換は抑えられている。このため、イミノプロトンと水プロトンの交換速度 $k_{\rm ex}$ は塩基対の開閉のダイナミクス情報 $(k_{\rm open},\,k_{\rm close})$ を内包している(図 2B)。ここで、プロトンの交換は塩基対が開裂した際にのみ起こるため、 $k_{\rm ex}$ の値は塩基対の開裂速度 $k_{\rm open}$ よりも大きくなることはない。プロトン交換を促進する $(k_{\rm ex,open}$ 値を増大させる)塩基触媒 $({\rm Tris})$ を試験管内 $(in\ vitro)$ で滴定したところ、Tris 濃度増加に伴い teloDNA のすべてのグアニンについて $k_{\rm ex}^{in\ vitro}$ が増大した。その最大値は試験管内環境下における塩基対の開裂速度 $k_{\rm open}^{in\ vitro}$ に等しい(図 2C, 点線)。続いて teloDNA に対して in-cell NMR 測定を行い、全グアニンについてヒト生細胞内環境下におけるプロトン交換速度 $k_{\rm open}^{in\ vitro}$ より大きな値を示した(図 2C)。前述のように、 $k_{\rm ex}^{in\ cell}$ を求めたところ、いずれも $k_{\rm open}^{in\ vitro}$ より大きな値を示した(図 2C)。前述のように、 $k_{\rm open}^{in\ cell}$ がヒト生細胞内環境下における塩基対開裂速度 $k_{\rm open}^{in\ cell}$ を上回ることはないことから、 $k_{\rm open}^{in\ cell}$ は $k_{\rm open}^{in\ vitro}$ より大きいことが言える。従って、ヒト生細胞内では teloDNA の GQ 構造に含まれる全塩基対が、試験管内に比べて頻繁に開裂していることが明らかとなった。本研究により、試験管内とヒト生細胞内における GQ 構造のダイナミクスの違いを初めて塩基対分解能で示すことに成功した。

(iii) ヒト生細胞内における RNA アプタマーとその標的分子との相互作用解析

HIV ウイルスの増殖因子である Tat タンパク質に対して高い親和性で結合し、不活化する RNA アプタマーに着目し、この RNA アプタマーとアルギニンアミドとの複合体形成をヒト生細胞内において観測することを試みた。アルギニンアミドは Tat タンパク質の最小のモデル分子として本 RNA アプタマーと結合することが知られている。 RNA アプタマー - アルギニンアミド複合体をヒト生細胞内に導入し、in-cell NMR スペクトルを測定した。 得られた in-cell NMR スペクトルが試験管内における RNA アプタマー - アルギニンアミド複合体のイミノプロトン領域のスペクトルと良く似ていたことから、 RNA アプタマーは細胞内においてもアルギニンアミドと複合体を形成していることが示唆された。

引用文献

- [1] Yamaoki, Y., Kiyoishi, A., Miyake, M., Kano, F., Murata, M., Nagata, T., & Katahira, M., "The first successful observation of in-cell NMR signals of DNA and RNA in living human cells" *Phys. Chem. Chem. Phys.*, (2018) 20, 2982-2985.
- [2] Yamaoki, Y., Nagata, T., Sakamoto, T., & Katahira, M., "Recent progress of in-cell NMR of nucleic acids in living human cells" *Biophys. Rev.*, (2020) 12, 411-417.
- [3] Sakamoto, T., Yamaoki, Y., Nagata, T., & Katahira, M., "Detection of parallel and antiparallel DNA triplex structures in living human cells using in-cell NMR" *Chem. Commun.*, (2021) 57, 6364-6367.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件(うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件)	
1.著者名 Tomoki Sakamoto, Yudai Yamaoki, Takashi Nagata, Masato Katahira	4.巻 57
2.論文標題 Detection of parallel and antiparallel DNA triplex structures in living human cells using in-	5 . 発行年 2021年
cell NMR 3.雑誌名 Chemical Communications	6 . 最初と最後の頁 6364-6367
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.1039/d1cc01761f オープンアクセス	有
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	
1 . 著者名 Yamaoki Yudai、Nagata Takashi、Sakamoto Tomoki、Katahira Masato	4.巻 17
2. 論文標題 Observation of nucleic acids inside living human cells by in-cell NMR spectroscopy	5 . 発行年 2020年
3.雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6.最初と最後の頁 36~41
掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子) 10.2142/biophysico.BSJ-2020006	 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 Eladl Afaf、Yamaoki Yudai、Hoshina Shoko、Horinouchi Haruka、Kondo Keiko、Waga Shou、Nagata Takashi、Katahira Masato	4.巻 22
2. 論文標題 Investigation of the Interaction of Human Origin Recognition Complex Subunit 1 with G- Quadruplex DNAs of Human c-myc Promoter and Telomere Regions	5 . 発行年 2021年
3.雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6 . 最初と最後の頁 3481~3481
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22073481	 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	4 . 巻
Kurokawa R., Takeuchi A., Shiina N., Katahira M., Yamashita T., Matsuno Y., Hitachi K., Ishigaki S., Hamad N., Yoneda R., Ueda N., Iida K., Hosokawa M., Hagiwara M., Iida M., Mashima T., Yamaoki Y., So M., Nagata T., Sobue G., Kondo K., Watanabe H., Uchihashi T.	5
2.論文標題 Versatility of RNA-Binding Proteins in Living Cells	5 . 発行年 2019年
3.雑誌名 Biomedical Sciences	6 . 最初と最後の頁 7-13
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.11648/j.bs.20190501.12	金読の有無無無
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	4 . 巻
Nesreen Hamad, Tsukasa Mashima, Yudai Yamaoki, Keiko Kondo, Ryoma Yoneda, Takanori Oyoshi, Riki	10
Kurokawa, Takashi Nagata, Masato Katahira	
2.論文標題	5 . 発行年
RNA sequence and length contribute to RNA-induced conformational change of TLS/FUS	2020年
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Scientific Reports	2629
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.1038/s41598-020-59496-0	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	-

1.著者名	4 . 巻
	1.5
Yudai Yamaoki, Takashi Nagata, Tomoki Sakamoto, Masato Katahira	
2 . 論文標題	5 . 発行年
	2020年
Recent progress of in-cell NMR of nucleic acids in living human cells	2020#
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Biophysical Reviews	
BTOPHYSTCAL REVIEWS	
掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子)	査読の有無
10.1007/s12551-020-00664-x	有
オープンアクセス	国際共著
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	
1	-

〔学会発表〕 計30件(うち招待講演 2件/うち国際学会 14件)

- 1 . 発表者名
 - Y. Yamaoki, T. Nagata, K. Kondo, T. Sakamoto, S. Takami, M. Katahira
- 2 . 発表標題

In-cell NMR Analyses of the Structure and Dynamics of Hairpin and G-quadruplex Structures in the Living Human Cells

3 . 学会等名

ISMAR-APNMR-NMRSJ-SEST 2021 (国際学会)

4.発表年

2021年

1.発表者名

A. Eladl, Y. Yamaoki, S. Hoshina, H. Horinouchi, K. Kondo, T. Nagata, S. Waga, M. Katahira

2 . 発表標題

Study of the interaction between human origin recognition complex subunit 1 and G-quadruplex forming nucleic acids

3 . 学会等名

ISMAR-APNMR-NMRSJ-SEST 2021 (国際学会)

4 . 発表年

1. 条表音名 T. Sakanoto, Y. Yanaoki, T. Nagata, M. Katahira 2. 录表语题 First observation of DNA triplex structures in living human cells using in-cell NMR 3. 李全等名 ISMAK-APMMR-MNRSJ-SEST 2021 (国際学会) 4. 竞发音 T. Nagata, Y. Yanaoki, T. Sakanota, K. Kondo, S. Takani, M. Katahira 2. 免表语题 Analysis of Structure and Dynamics of Oligonucleotides in Intracellular Conditions 3. 字合等名 ISMAK-APMMR-MNRSJ-SEST 2021 (国際学会) 4. 竞发者 Y. Yanaoki, T. Sakanoto, K. Kondo, S. Takani, T. Nagata, M. Katahira 2. 免责语题 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3. 字合等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4. 免责者 1. 免责者名 1. Sakanoto, Y. Yanaoki, T. Nagata, M. Katahira 2. 免责者名 T. Sakanoto, Y. Yanaoki, T. Nagata, M. Katahira 3. 字合等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4. 免责者名 T. Sakanoto, Y. Yanaoki, T. Nagata, M. Katahira 2. 免责者名 T. Sakanoto, Y. Yanaoki, T. Nagata, M. Katahira 3. 字合等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4. 免责者名 T. Sakanoto, Y. Yanaoki, T. Nagata, M. Katahira	
First observation of DNA triplex structures in living human cells using in-cell NNR 3 . 学会等名 ISMAR-APNIR-MRSJ-SEST 2021(國際学会) 4 . 聚表著名 T. Nagata, Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, M. Katahira 2 . 聚表標題 Analysis of Structure and Dynamics of Oligonucleotides in Intracellular Conditions 3 . 学会等名 ISMAR-APNIR-NNRSJ-SEST 2021(国際学会) 4 . 聚表库 2021年 1 . 聚表着名 Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2 . 聚表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 1 . 聚素者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2 . 聚素素體置 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR	1 . 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira
1. 発表者名 T. Nagata, Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, M. Katahira 2. 発表標題 Analysis of Structure and Dynamics of Oligonucleotides in Intracellular Conditions 3. 学会等名 ISMAR-APWMR-NWRSJ-SEST 2021(国際学会) 4. 聚表年 2021年 1. 兒表者名 Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2. 兒表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3. 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4. 兒表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2. 兒表表傳題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR 3. 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4. 兒表表傳題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR	
1 . 発表者名 T. Nagata, Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, M. Katahira 2 . 発表標題 Analysis of Structure and Dynamics of Oligonucleotides in Intracellular Conditions 3 . 学会等名 ISMA-MPMMR-MMRSJ-SEST 2021(国際学会) 4 . 発表者名 Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表構題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4 . 発表年 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR	
T. Nagata, Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, M. Katahira 2. 発表標題 Analysis of Structure and Dynamics of Oligonucleotides in Intracellular Conditions 3. 学会等名 ISMAR-APNMR-NMRSJ-SEST 2021(国際学会) 4. 発表者名 Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2. 発表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3. 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4. 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2. 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR	
Analysis of Structure and Dynamics of Oligonucleotides in Intracellular Conditions 3 . 学会等名 ISMAR-APMIR-NMRSJ-SEST 2021 (国際学会) 4 . 雅表年 2021年 1 . 発表者名 Y. Yanaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4 . 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yanaoki, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4 . 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR	
ISMAR-APNMR-NMRSJ-SEST 2021(国際学会) 4. 発表年 2021年 1. 発表者名 Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2. 発表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3. 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4. 発表年 2021年 1. 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2. 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR 3. 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4. 発表年	
1. 発表者名 Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2. 発表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3. 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4. 発表年 2021年 1. 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2. 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR 3. 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4. 発表存	
Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4 . 発表年	
Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021(国際学会) 4 . 発表年	
The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4 . 発表年	
1. 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2. 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR 3. 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4. 発表年	Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題
T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4 . 発表年	Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3 . 学会等名
Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4 . 発表年	Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4 . 発表年
The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4 . 発表年	Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2. 発表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3. 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4. 発表年 2021年
	Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR
	Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Structures and dynamics of oligonucleotides in living human cells evaluated by in-cell NMR 3 . 学会等名 The 48th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2021 (国際学会) 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira 2 . 発表標題 Detection of DNA triplex structures in living human cells by in-cell NMR

-	77
1	举夫老么

T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira

2 . 発表標題

Observation of DNA triplex structures in living human cells using in-cell NMR technique

3.学会等名

2021 Ajou-Kyoto-Zhejiang Joint Symposium on Energy Science (国際学会)

4.発表年

2021年

1.発表者名

O. Eladl, Y. Yamaoki, K. Kondo, A. Eladl, T. Nagata, M. Katahira

2 . 発表標題

Detection of interaction between functional RNA and its target compound in living human cell using 2D in-cell NMR

3 . 学会等名

2021 Ajou-Kyoto-Zhejiang Joint Symposium on Energy Science (国際学会)

4.発表年

2021年

1.発表者名

Y. Yamaoki, T. Sakamoto, K. Kondo, S. Takami, T. Nagata, M. Katahira

2 . 発表標題

In-cell NMR study on the base pair dynamics of nucleic acid in the living human cells

3.学会等名

The 59th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan

4.発表年

2021年

1.発表者名

C. Nakayama, Y. Yamaoki, K. Kondo, T. Nagata, M. Katahira

2 . 発表標題

 $\hbox{Simultaneous monitoring of DNA, RNA, and DNA:RNA hybrid G-quadruplexes, and their interaction with arginine-glycine-rich peptide by $$NMR$ $$

3 . 学会等名

The 59th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan

4.発表年

1.発表者名 阪本知樹,山置佑大,永田崇,片平正人
2.発表標題 ヒト生細胞内における平行型及び逆平行DNA三重鎖構造のin-cell NMR法を用いた初観測
3.学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4.発表年 2021年
2021+
1.発表者名 中山千尋,山置佑大,近藤敬子,永田崇,片平正人
2.発表標題
2 . 光な信題 NMR法によるDNA-RNA八イブリッドグアニン四重鎖とアルギニンーグリシンリッチペプチドの相互作用解析
2.
3.学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4.発表年
2021年
1.発表者名 山置佑大
2.発表標題 In-cell NMR法によるヒト生細胞内環境下の核酸の構造およびダイナミクスの解析
3 . 学会等名 第21回 若手NMR研究会(招待講演)
4.発表年
2021年
1.発表者名
Y. Yamaoki, T. Nagata, T. Sakamoto, S. Takami, M. Katahira
2. 改字4
2 . 発表標題 The structure and dynamics of DNA and RNA in living human cells studied by in-cell NMR
2.
3 . 学会等名 The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1.発表者名 T. Sakamoto, Y. Yamaoki, T. Nagata, M. Katahira
2.発表標題 First observation of DNA triplex structures in living human cells using in-cell NMR
3.学会等名 FIBER日本核酸化学会若手フォーラム
4 . 発表年 2021年
1.発表者名 N. Hamad, R. Yoneda, H. Watanabe, Y. Yamaoki, K. Kondo, T. Uchihashi, T. Nagata, M. Katahira, R. Kurokawa
2.発表標題 Structural analysis of FUS/TLS protein upon binding to promotor-associated non coding RNA
3 . 学会等名 The 11th International Symposium of Advanced Energy Science(国際学会)
4 . 発表年 2020年
1.発表者名 S. Waga, Y. Yamaoki, A. Eladi, S. Hoshina, H. Horinouchi, O. Eladi, K. Kondo, T. Nagata, M. Katahira
2.発表標題 Characterization of the interaction between human origin recognition complex subunit 1 and DNAs
3 . 学会等名 The 11th International Symposium of Advanced Energy Science(国際学会)
4 . 発表年 2020年
1.発表者名 阪本知樹,山置佑大,永田崇,片平正人
2.発表標題 In-cell NMR法による非標準構造を形成するDNAのヒト生細胞内観測
3 . 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4.発表年

1	1	彩	丰	耂	夕	

Afaf Eladl, Yudai Yamaoki, Shoko Hoshina, Haruka Horinouchi, Keiko Kondo, Omar Eladl, Takashi Nagata, Shou Waga, masato Katahira

2 . 発表標題

Investigation of the interaction between human origin recognition complex subunit 1 and G-rich DNAs

3.学会等名

The 43rd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan

4.発表年

2020年

1.発表者名

T. Mashima, M. Iida, Y. Yamaoki, M. So, T. Nagata, M. Katahira

2 . 発表標題

Disruption of the Alzheimer's disease-related complex between prion and amyloid b by an anti-prion aptamer

3. 学会等名

Commemorative International Symposium of the Japan Society of Nucleic Acids Chemistry (CISNAC)(国際学会)

4 . 発表年

2019年

1.発表者名

山置佑大,永田崇,清石彩華,三宅雅之,Lin Kuan-Heng,高見昇平,加納ふみ,村田昌之,片平正人

2 . 発表標題

In-cell NMR法を用いたヒト生細胞内の核酸の構造と安定性の評価

3.学会等名

第21回日本RNA学会年会

4.発表年

2019年

1.発表者名

Y. Yamaoki, A. Kiyoishi, M. Miyake, K. H. Lin, F. Kano, M. Murata, T. Nagata, M. Katahira

2 . 発表標題

The observation of in-cell NMR signals of nucleic acids in living human cells

3 . 学会等名

7th International Meeting on Quadruplex Nucleic Acids (国際学会)

4 . 発表年

1. 発表者名 Y. Yamaoki, T. Nagata, A. Kiyoishi, M. Miyake, F. Kano, M. Murata, M. Katahira
2.発表標題 Evaluation of the structure and dynamics of nucleic acids inside the living human cells by in-cell NMR spectroscopy
3.学会等名 第57回日本生物物理学会年会(招待講演)
4 . 発表年 2019年
1.発表者名 T. Mashima, M. Iida, J. H. Lee, Y. Yamaoki, M. So, Y. O. Kamatari, T. Hayashi, M. Kinoshita, K. Kuwata, T. Nagata, M. Katahira
2.発表標題 Development of anti-prion RNA aptamers and destruction of the Alzheimer's disease-related complex
3.学会等名 International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2019(ISNAC2019)(国際学会)
4.発表年 2019年
1.発表者名 山置佑大,永田崇,高見昇平,阪本知樹,片平正人
2 . 発表標題 In-cell NMR法を用いたヒト生細胞内のDNAおよびRNAの構造安定性評価
3.学会等名 第58回NMR討論会
4 . 発表年 2019年
1.発表者名 N. Hamad, T. Mashima, Y. Yamaoki, K. Kondo, R. Yoneda, R. Kurokawa, T. Nagata, M. Katahira
2.発表標題 Promotor associated non-coding RNA, pncRNA, can diminish the aggregation of TLS caused by shearing stress

3 . 学会等名 第42回分子生物学会

4 . 発表年 2019年

1.発表者名 山置佑大,永田崇,阪本知樹,高見昇平,加納ふみ,村田昌之,片平正人
2 . 発表標題 In-cell NMR法によるヒト生細胞内の核酸の構造およびダイナミクスの解析
3.学会等名 第42回分子生物学会
4 . 発表年 2019年
1 . 発表者名 高見昇平,山置佑大,加納ふみ,村田昌之,坂本秦一,原田和雄,永田崇, 片平正人
2.発表標題 In-cell NMR法によるヒト生細胞内における核酸 リガンド相互作用の解析
3 . 学会等名 第42回分子生物学会
4.発表年 2019年
1.発表者名 阪本知樹,山置佑大,加納ふみ,村田昌之,永田崇, 片平正人
2.発表標題 ヒト生細胞内における核酸の非標準構造および構造安定性のin-cell NMR法を用いた解析
3 . 学会等名 第42回分子生物学会
4 . 発表年 2019年
1.発表者名 阪本知樹,山置佑大,加納ふみ,村田昌之,永田崇, 片平正人
2.発表標題 In-cell NMR法を用いた非標準構造を形成する核酸の構造安定性の解析
3 . 学会等名 第100回日本化学会年会
4 . 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名	4 . 発行年
山置佑大,永田崇,片平正人	2021年
2. 出版社	5.総ページ数
エヌ・ティー・エス	564
3 . 書名	
「生命金属ダイナミクス~生体内における金属の挙動と制御~」(分担)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

_

6 . 研究組織

	10100000000000000000000000000000000000		
	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
---------	---------