

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K14515

研究課題名(和文)細胞内外で活性をスイッチする機能性核酸のIn-cell NMR法等を用いた創製

研究課題名(英文)Development of functional nucleic acid whose activity is altered between inside and outside the cell by utilizing in-cell NMR

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・研究員

研究者番号：00778095

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：カリウムイオン濃度の違いを感知し自身の活性をオン/オフする機能性核酸は細胞内外で活性を自律的にスイッチする新規機能性核酸と成り得る。我々はGGAが繰り返す四重鎖構造形成配列を機能性RNAであるアプタマーと組み合わせることでカリウムイオン応答性アプタマーを開発した。さらに機能性RNAの構造やダイナミクスをこれらの分子が働く場所である生きた細胞内で観測するためにヒト生細胞を用いた核酸のin-cell NMR測定の手法を確立した。これによりヒト生細胞内核酸の構造情報を得ることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

カリウムイオン濃度を感知して細胞内に取り込まれた時のみ活性がオンになる新規機能性RNA分子は細胞内分子を標的とする核酸医薬品および同分野で課題となっているドラッグデリバリーシステム開発の一助と成り得る。また、細胞内は試験管内環境とは異なり、様々な生体分子が密に詰まった分子混雑環境である。このような混雑環境中では核酸の挙動が試験管内環境とは異なる。本研究で確立したヒト細胞を用いた核酸のin-cell NMR法はこのような分子混雑環境下で核酸の挙動を詳細に調べる手法と成り得る。これは核酸の制御する様々な生命現象を調べるツールと成ることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The potassium ion concentration inside cells (100-150 mM) is much higher than that outside the cells (3.5-5.5 mM), therefore functional RNAs that sense the potassium ion concentration can switch their activities ON/OFF between the intra- and extracellular environments. Here we developed an RNA aptamer whose binding activity is altered in response to potassium ion via quadruplex structure formation. Furthermore, in order to monitoring the functional RNA inside the living cells, we tried to measure in-cell NMR spectra of RNAs in living human cells. Here NMR signals of DNA and RNA were successfully observed in living human cells. The observed signals indicated the formation of DNA and RNA hairpin structures in living human cells.

研究分野：構造生物学

キーワード：in-cell NMR 四重鎖核酸 リボザイム アプタマー カリウムイオン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

機能性 RNA は近年急速に注目度が増し、特に核酸医薬品やドラッグデリバリーシステム(DDS) 開発の分野において期待が高まっている。従来の医薬品は膜タンパク質を中心とした細胞外に存在する分子を標的としている。一方で、病理性タンパク質や低分子を捕捉・不活化する RNA アプタマー(標的分子に高い親和性で結合する RNA 分子の総称)や病理性標的分子を切断・不活化するリボザイム(酵素活性を有する RNA 分子の総称)などの機能性 RNA の標的は、細胞外に留まらず細胞内分子を標的とすることが期待されている。細胞内分子を標的とする際、副作用を抑えるという観点から細胞外では機能性 RNA は自身の活性をオフに保っていることが望ましい。一方で細胞内、即ち働くべき場所に取り込まれると高い活性を發揮し、高効率に働くことが求められる。細胞内に取り込まれた時のみ活性がオンになるという新規機能性 RNA 分子は核酸医薬品および同分野で課題となっている DDS 開発の一助と成り得る。

生体内では細胞外のカリウムイオン濃度が約 5 mM と低いのに対し、細胞内では約 100 から 150 mM と高濃度に保たれている。そのため、カリウムイオン濃度を感知し自身の活性を自律的にオン/オフ可能な機能性 RNA を開発することで、細胞の内側と外側で自律的に活性を切り替える新規機能性 RNA 分子が開発可能であると思いついた(図 1)。

また、細胞内は試験管内の希薄で均一な環境とは異なり、様々な生体分子が密に詰まった分子混雑環境である。このような分子の込み合った環境を人工的に模倣した試験管内での実験では核酸の立体構造や活性が希薄溶液条件下とは大きく異なる例が多数報告されていた。そのため、細胞内で働く機能性 RNA を開発するには、実際の生細胞内での RNA の構造やダイナミクスを観測・検証することが必要であった。生きた細胞内に生体高分子を導入し、この生細胞丸ごとを測定試料とすることで細胞内の生体高分子の NMR スペクトルを測定する in-cell NMR 法は、実際の生細胞中の生体高

分子を直接観測可能な手法である。しかし、核酸の in-cell NMR の報告は本研究開始当初はほとんどなく、特にヒト由来の細胞を用いた成功例は皆無であった。

我々の報告以前は、in-cell NMR 測定のための細胞内への核酸導入法として、微細なニードルで細胞内に直接核酸を注入するマイクロインジェクション法が用いられていた。しかしながら、マイクロインジェクション法はアフリカツメガエルの卵母細胞などの限られた巨大な細胞にのみ適用可能であり、ヒト細胞をはじめとした多くの細胞には適用が困難であった。

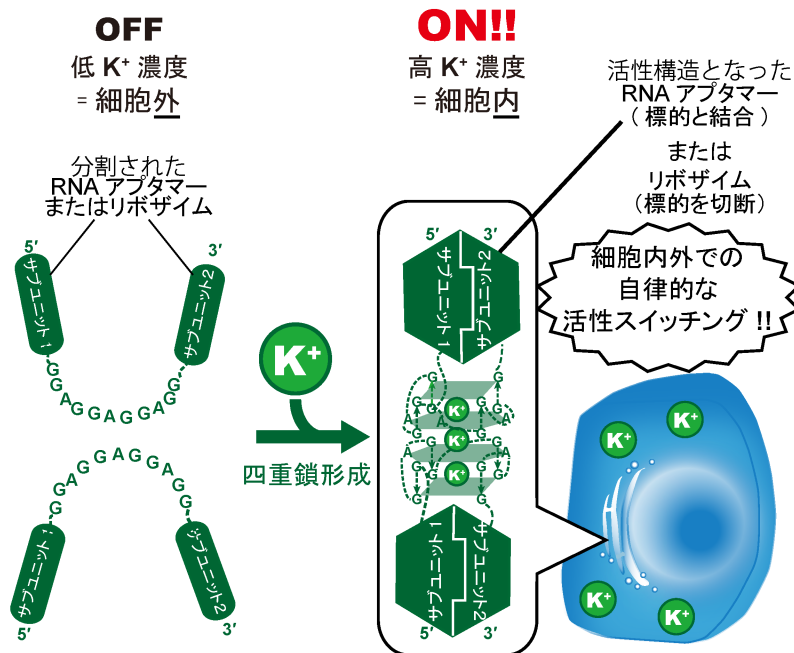


図 1. QHR(リボザイム)、QTAp(アプタマー)の細胞内外での活性スイッチング。(左)細胞外はカリウムイオン濃度が低く、QHR、QTAp は四重鎖を形成せず、活性も發揮しない。(右)細胞内はカリウムイオン濃度が高く、QHR、QTAp は四重鎖を形成し、両端の機能性サブユニットが近接することで活性構造を形成し活性がオンになる。

2. 研究の目的

本研究では、細胞の内側と外側で自律的に活性を切り替えることができるカリウムイオン応答性の新規機能性 RNA の開発を目的とした。加えて、このような機能性 RNA 開発のための方法論として実際の生きたヒト細胞内に存在する機能性 RNA を直接観測可能な in-cell NMR 法の確立も目的とした。

3. 研究の方法

(1)カリウムイオンを感知して活性のオン/オフを制御する RNA アプタマーの開発

我々はこれまでにグアニン - グアニン - アデニンの繰り返し配列 r(GGAGGAGGAGG)を持つ 11 残基の RNA(以下 R11 と呼ぶ)がカリウムイオン存在下でのみグアニン四重鎖構造と呼ばれるコンパクトな構造を形成することを NMR 法による構造解析から明らかにしていた。さらに、この知見に基づき、カリウムイオン濃度に依存した R11 のグアニン四重鎖構造の形成によって活性のオン/オフを切り替える機能性 RNA を開発していた。具体的には機能性分子を 2 つのサブユニット

に分割した上で各サブユニットを R11 の両末端に配置した RNA を設計した。低カリウムイオン濃度下ではサブユニット同士が離れているため活性がオフになり(図 1、左)、一方の高カリウムイオン濃度下では R11 のグアニン四重鎖構造形成によってサブユニット同士が近接して活性型構造を形成するため活性がオンとなる(図 1、右)。我々はこれまでに標的 RNA を分解するハンマーヘッドリボザイムの活性をカリウムイオン依存的にオン/オフ可能な四重鎖ハンマーヘッドリボザイム(Quadruplex Hammerhead Ribozyme, QHR)を開発していた。そこで、本研究では R11 を用いた本手法を RNA アプタマーの活性スイッチングへと応用した。ヒト免疫不全ウイルス(HIV)の病因タンパク質の 1 つである Tat タンパク質を捕捉・不活化する Tat 補足アプタマーを、5'サブユニットと 3'サブユニットに分割し、R11 の両末端に連結した(図 1)。こちらは四重鎖 Tat 補足アプタマー(Quadruplex Tat binding Aptamer, QTAp)とした。QTAp と Tat タンパク質由来ペプチドとの結合の検出には両端を FAM と TMR の二種類の蛍光色素で標識した Tat ペプチドを利用した(図 2C)。Tat 単独の状態では FAM と TMR がコンタクトクエンチングしており、蛍光を発しないが(図 2C)、QTAp と結合することで Tat の構造が変化し、両端の蛍光色素のコンタクトクエンチングが解消されて蛍光を発する(図 2D)。

(2) In-cell NMR 法を用いたヒト生細胞内核酸の構造情報の取得

ヒト生細胞を用いた核酸の in-cell NMR 法を確立するために我々は細胞膜に細孔を形成するバクテリア由来の毒素タンパク質、ストレプトリシン 0 (SLO)を用いてヒト生細胞内に核酸分子を導入した。SLO によって細胞膜上に細孔を形成後、核酸分子とこの細胞をインキュベーションした。その後、カルシウムイオンを添加することで細孔を閉じ、生きた細胞内へ目的の核酸を封入した。この際、細孔形成時に流出する細胞内容物などを補うために、核酸と共に細胞抽出物と ATP 再生系も細胞内へ導入した。SLO 法によって導入した核酸の細胞内での局在は FAM 標識核酸を導入することで、共焦点蛍光顕微鏡を用いて検証した。

4. 研究成果

(1)カリウムイオンを感知して活性のオン/オフを制御する RNA アプタマーの開発

100 mM KCl 条件下において、QTAp と蛍光標識 Tat ペプチドを混合すると、Tat に連結されている蛍光色素に由来する強い蛍光が観測された(図 2A、赤)。これは QTAp が Tat に結合することで Tat の両末端に連結されている FAM と TMR のコンタクトクエンチングが解消されたためである

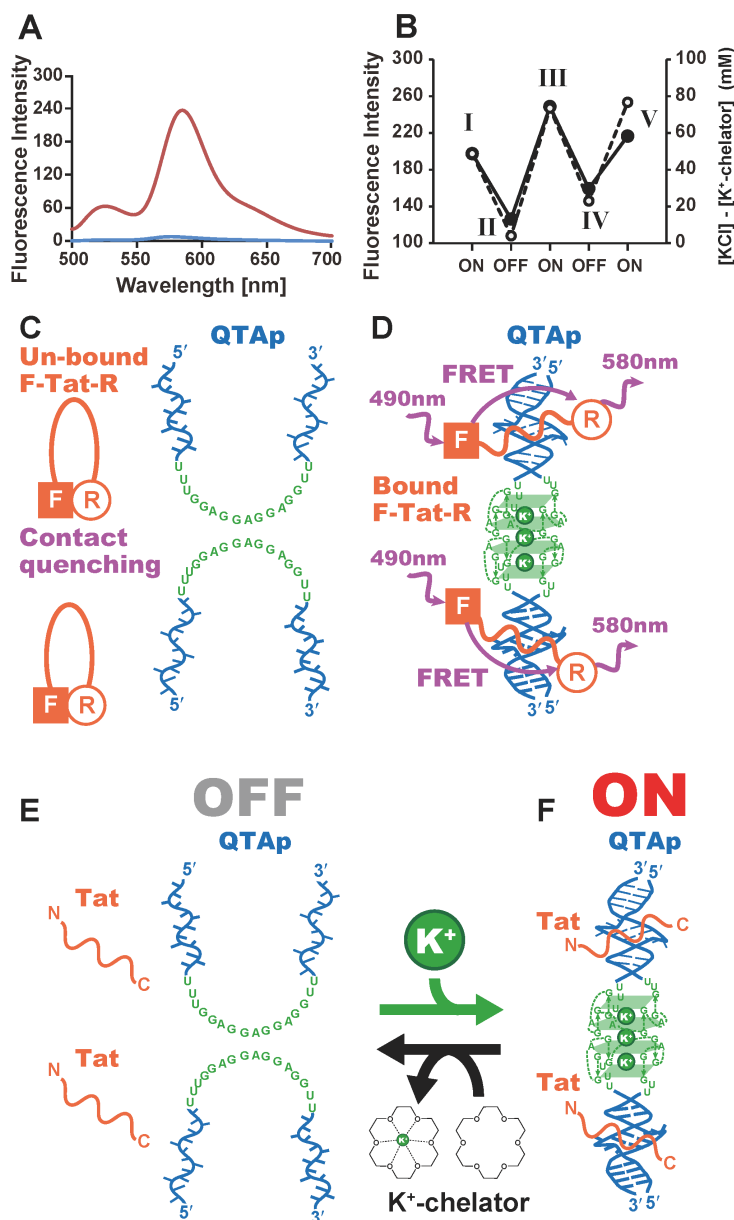


図 2. カリウムイオン依存的な QTAp(四重鎖 Tat 補足アプタマー)の Tat 補足活性のスイッチングと結合アッセイ. (A) 100 mM KCl 条件(赤)と 100 mM NaCl 条件(青)における蛍光標識 Tat の蛍光スペクトル. (B) KCl とカリウムイオンキレート剤(18-クラウン 6-エーテル)を交互に加えた時の遊離のカリウムイオン濃度(○)と各条件下での蛍光標識 Tat の蛍光強度(●). (C、D) 蛍光標識 Tat を用いた QTAp-Tat の結合アッセイの模式図. 図中の F は FAM, R は TMR を表している. (E、F) KCl とカリウムイオンキレート剤による可逆的な活性スイッチングサイクルの模式図.

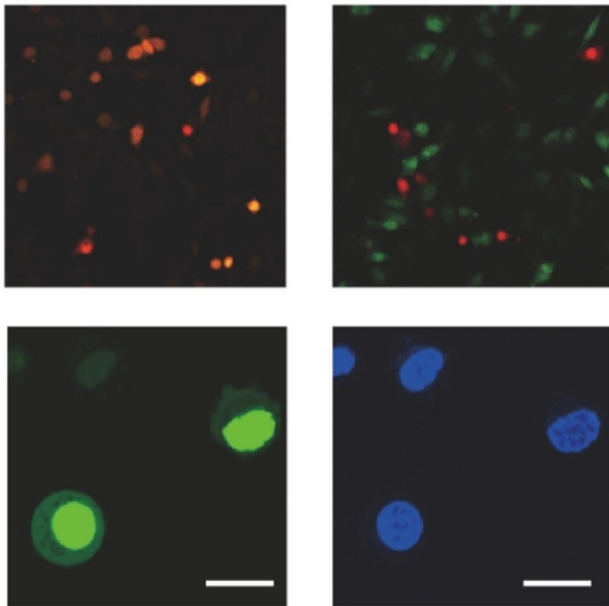


図 3. SLO による HeLa 細胞への物質導入. 細胞抽出液および ATP 再生系の導入なし(左上)とあり(右上)での蛍光色素の導入. 緑は SLO によって細胞内へ導入された蛍光色素 FITC の蛍光. 赤はカルシウムイオンの添加によって細孔が閉じた後に加えた蛍光色素 PI の蛍光. つまり, 緑の蛍光は物質導入に成功した細胞を示し, 赤い蛍光を発している細胞は細孔が閉じず死んだ細胞を意味している. (左下, 右下) SLO によって導入された蛍光標識 RNA の蛍光(緑)と hoechst によって染色した細胞核(青). SLO によって導入された核酸は主に細胞核に存在していた. スケールバー: 20 μm .

(図 2C、D)。つまり、カリウムイオン存在条件下において QTAp が Tat と結合できることが示された。一方、カリウムイオンの代わりに 100 mM NaCl が存在する条件ではほとんど蛍光は見られず、QTAp は Tat と結合していないことが示された(図 2A、青)。これらの結果から、開発した RNA 分子 QTAp はカリウムイオン特異的に活性がオンになるスイッチングアプタマーであることが示された。生体においては細胞内ではカリウムイオン濃度が高く、ナトリウムイオン濃度が低い。一方、細胞外ではこれとは逆に高カリウムイオン濃度、低ナトリウムイオン濃度となっている。我々の開発した QTAp は細胞外の高ナトリウムイオン濃度環境では自身の活性を抑え、一度細胞内へと到達すると細胞内のカリウムイオンを感知して高い活性を発揮することが期待される。

次に KCl とカリウムイオンキレート剤である 18-クラウン 6-エーテルを交互に加え、QTAp の活性のオン/オフを可逆的に制御可能かどうか検証した(図 2E、F)。まず、カリウムイオンを添加することで QTAp は活性構造を形成し、Tat と結合する(図 2B、I、○:遊離のカリウムイオン濃度、●:蛍光強度。図 2E から F 方向)。次に 18-クラウン 6-エーテルを加え、遊離のカリウムイオン濃度を低下させると Tat の蛍光強度も低下し、QTAp と Tat の結合が解離したことが示された(図 2B、II。図 2F から E 方向)。これは遊離のカリウムイオン濃度が低下したことにより、QTAp のグアニン四重鎖構造が不安定になり、活性構造が崩れたためと考えられる。ここに再度カリウムイオンを添加することで QTAp は再び活性構造を形成し、Tat と結合する(図 2B、III)。このように QTAp は周囲のカリウムイオン濃度を感知し、可逆的に活性をオン/オフ可能であることが示された。

(2) In-cell NMR 法を用いたヒト生細胞内核酸の構造情報の取得

細胞膜上に集積し細孔を形成する毒素タンパク質 SLO を用いてヒト生細胞(HeLa 細胞)内に核酸分子を導入した。この際、

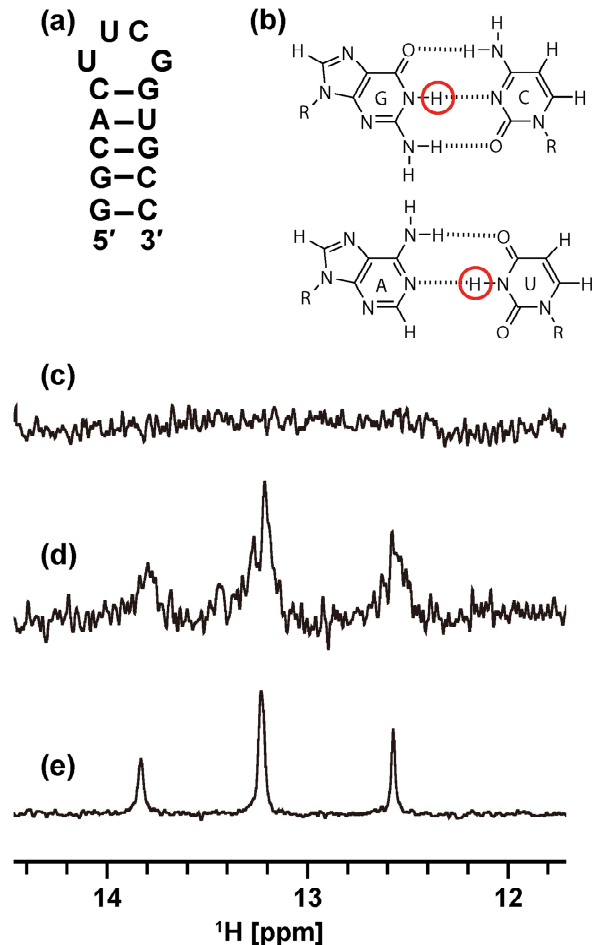


図 4. ヒト生細胞を用いた RNA の in-cell NMR 測定. (a)導入したヘアピン RNA. (b)ワトソン-クリック塩基対の模式図とイミノプロトン(赤丸). (c) SLO 法によって処理するが、RNA 導入は行っていない細胞のスペクトル. (d) SLO 法によって RNA を導入した細胞のスペクトルから測定後の上清のスペクトルを差し引いた差スペクトル(= 正味の細胞内核酸の NMR スペクトル). (e) 試験管内で測定した RNA の NMR スペクトル.

核酸と共に細胞抽出物と ATP 再生系を細胞内へ導入することにより、カルシウムイオン添加による細胞の再封後の回復が促進され、細胞の生存率が劇的に改善した(図 3、左上、右上)。SLO 法によって蛍光標識 RNA を導入し、共焦点蛍光顕微鏡によって細胞内での局在を評価した。Hoechst 色素による細胞核の染色画像と比較した結果、SLO 法によって導入された RNA の多くは細胞核内に存在していることが分かった。

次に、ヒト生細胞を用いた核酸の in-cell NMR 測定を試みた。モデル核酸として試験管内環境ではヘアピン構造を形成する短鎖の DNA および RNA (図 4a)を SLO 法によって HeLa 細胞内に導入し、これらの細胞を懸濁液として NMR 測定試料管へ移して in-cell NMR 測定を行った。ここではグアニンおよびウラシル(またはチミン)塩基がもつイミノプロトン(図 4b、赤)シグナルが見られる領域(およそ 10-15 ppm)に注目した。細胞懸濁液のスペクトルにおいて複数のイミノプロトンシグナルが観測された。ここで、測定後の細胞懸濁液の上清のみを測定したスペクトルにもわずかながらシグナルが観測された。これは測定中に細胞が死に、内部の核酸が上清に漏れ出したためである。そのため、細胞懸濁液のスペクトルから上清のスペクトルを差し引いた差スペクトルとすることで真に細胞内の核酸に由来する in-cell NMR スペクトルを得た(図 4d)。SLO 法によって細孔形成は行おうが核酸は導入しなかった HeLa 細胞の NMR スペクトルを測定し、ここではシグナルが観測されないことも確認した(図 4c)。このように、ヒト細胞内に導入した DNA および RNA の NMR スペクトルを測定することに成功した。今回測定した短鎖 RNA の細胞内のスペクトルは、試験管内で測定した NMR スペクトル(図 4e)とよく一致していた。この結果は試験管内でヘアピン構造を形成する RNA がヒト細胞内においてもその構造を維持していることを示しており、ヒト生細胞内の RNA の構造情報を得ることに成功したことを意味する。さらに、in-cell NMR 法によって核酸の塩基対に含まれるイミノプロトンと周囲に存在する水のプロトンとの交換速度を解析した。その結果、この短鎖 RNA は細胞内においても試験管内と似たヘアピン構造を形成するが、一方で、細胞内ではその構造は試験管内よりも不安定になっていることが示唆された。このように in-cell NMR 法を用いることでヒト生細胞内の核酸の構造およびその構造安定性を評価することに成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Shadi Sedghi Masoud*, Yudai Yamaoki*, (*equally contributed), Yue Ma, Adrien Marchand, Fernaldo Richtia Winnerdy, Valerie Gabelica, Anh Tuan Phan, Masato Katahira and Kazuo Nagasawa	4. 巻 19
2. 論文標題 Analysis of interactions between telomeric i-motif DNA and a cyclic tetraoxazole compound	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 2268-2272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI:10.1002/cbic.201800425	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 該当する
1. 著者名 Mamiko Iida, Tsukasa Mashima, Yudai Yamaoki, Masatomo So, Takashi Nagata and Masato Katahira	4. 巻 286
2. 論文標題 The anti-prion RNA aptamer R12 disrupts the Alzheimer's disease-related complex between prion and amyloid	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 2355-2365
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1111/febs.14819	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 Kurokawa, R., Komiya, R., Oyoshi, T., Matsuno, Y., Tani, H., Katahira, M., Hitachi, K., Iwashita, Y., Yamashita, T., Kondo, K., Yoneda, R., Yamaoki, Y., Ueda, N., Mashima, T., Kobayashi, N., Nagata, T., Kiyoshi, A., Miyake, M., Kano, F., Murata, M., Hamad, N., Sasaki, K. and Shoji, S.	4. 巻 4
2. 論文標題 Multiplicity in long noncoding RNA in living cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomedical Sciences	6. 最初と最後の頁 18-23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.11648/j.bs.20180402.11	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 山置佑大, 永田崇, 片平正人	4. 巻 59
2. 論文標題 ヒト生細胞中における核酸NMRシグナルの初計測	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 18-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.2142/biophys.59.001	査読の有無 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 Onizuka Kazumitsu, Usami Akira, Yamaoki Yudai, Kobayashi Tomohito, Hazemi Madoka E, Chikuni Tomoko, Sato Norihiro, Sasaki Kaname, Katahira Masato, Nagatsugi Fumi	4. 巻 46
2. 論文標題 Selective alkylation of T-T mismatched DNA using vinylidiaminotriazine-acridine conjugate	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 1059 ~ 1068
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1093/nar/gkx1278	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 Yamaoki Yudai, Kiyoshi Ayaka, Miyake Masayuki, Kano Fumi, Murata Masayuki, Nagata Takashi, Katahira Masato	4. 巻 20
2. 論文標題 The first successful observation of in-cell NMR signals of DNA and RNA in living human cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 2982 ~ 2985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.1039/c7cp05188c	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 Yamaoki Yudai, Nagata Takashi, Mashima Tsukasa, Katahira Masato	4. 巻 53
2. 論文標題 Development of an RNA aptamer that acquires binding capacity against HIV-1 Tat protein via G-quadruplex formation in response to potassium ions	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 7056 ~ 7059
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C7CC03312E	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 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 山置佑大
2. 発表標題 In-cell NMR法によるヒト細胞内DNAおよびRNAの観測
3. 学会等名 第2回長鎖非コードRNA勉強会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山置佑大
2. 発表標題 In-cell NMR法によるヒト細胞内DNAおよびRNAの観測
3. 学会等名 第19回若手NMR研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nesreen Hamad, Tsukasa Mashima, Yudai Yamaoki, Keiko Kondo, Hiroki Watanabe, Takayuki Uchihashi, Riki Kurokawa, Takashi Nagata, Masato Katahira
2. 発表標題 Conformational change detection of translocated in liposarcoma, TLS, upon binding to promoter-associated non-coding RNA, pncRNA
3. 学会等名 International Conference on Biochemistry, Molecular Biology and Biotechnology 2018 (ICBMBB2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yudai Yamaoki, Takashi Nagata, Ayaka Kiyoshi, Masayuki Miyake, Fumi Kano, Masayuki Murata, Masato Katahira
2. 発表標題 Observation of imino proton signals of DNA and RNA introduced inside the living human cells by using in-cell NMR spectroscopy
3. 学会等名 XXVIII International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems (ICMRBS2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yudai Yamaoki, Takashi Nagata, Ayaka Kiyoshi, Masayuki Miyake, Kuan-Heng Lin, Shohei Takami, Fumi Kano, Masayuki Murata, Masato Katahira
2. 発表標題 In-cell NMR studies on structure and dynamics of DNA and RNA introduced inside the living human cells
3. 学会等名 The 45th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (ISNAC2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山置佑大, 永田崇, 清石彩華, 三宅雅之, 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DNAおよびRNAの構造とダイナミクスの解析
3. 学会等名 第57回NMR討論会
4. 発表年 2018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法によるヒト生細胞内環境下の核酸の解析
3. 学会等名 核酸化学若手フォーラム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yudai Yamaoki, Takashi Nagata, Ayaka Kiyoshi, Masayuki Miyake, Kuan-Heng Lin, Shohei Takami, Fumi Kano, Masayuki Murata, Masato Katahira
2. 発表標題 In-cell NMR analysis for structure and dynamics of nucleic acids introduced inside the living human cells
3. 学会等名 The 41st Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Nagata, Yudai Yamaoki, Masato Katahira
2. 発表標題 Evaluation of the structural stability and dynamics of nucleic acids inside the living cells by using in-cell NMR spectroscopy
3. 学会等名 The 18th Annual Meeting of the Protein Science Society of Japan (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nagata Takashi, Yamaoki Yudai, Katahira Masato
2. 発表標題 Evaluation of the structural stability and dynamics of nucleic acids inside the living cells by using in-cell NMR spectroscopy
3. 学会等名 The 18th Annual Meeting of the Protein Science Society of Japan
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山置佑大、清石彩華、三宅雅之、加納ふみ、村田昌之、永田崇、片平正人
2. 発表標題 In-cell NMR法によるヒト細胞内DNAおよびRNAの観測
3. 学会等名 第56回 NMR討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Masoud Shadi Sedghi, Yamaoki Yudai, Ma Yue, Katahira Masato, Nagasawa Kazuo
2. 発表標題 Interaction of a cyclic tetraoxazole with i-motif DNA and its effect on this structure
3. 学会等名 The 44rd International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (ISNAC) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Iida Mamiko, Mashima Tsukasa, Yamaoki Yudia, Nagata Takashi, Katahira Masato
2. 発表標題 An anti-prion aptamer inhibits the formation of prion protein-amyloid oligomer complex that is related to Alzheimer's disease
3. 学会等名 第55回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鬼塚和光、宇佐美彬、山置佑大、小林倫仁、Madoka Eurika Hazemi、千国友子、片平正人、永次史
2. 発表標題 DNA中のT-Tミスマッチ構造を選択的にアルキル化する小分子の開発
3. 学会等名 第11回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hamad Nesreen、Mashima Tsukasa、Yamaoki Yudai、Kondo Keiko、Nagata Takashi、Katahira Masato
2. 発表標題 Analysis of conformational changes of translocated in liposarcoma, TLS, upon binding to promoter-associated non-coding RNA, pncRNA
3. 学会等名 3rd International Conference on New Horizons in Basic and Applied Science (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yamaoki Yudai、Mashima Tsukasa、Nagata Takashi、Katahira Masato
2. 発表標題 Invention of RNA aptamer and ribozyme whose activities switch on in response to potassium ion via G-quadruplex formation
3. 学会等名 6th International Meeting on Quadruplex Nucleic Acids (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Masoud Shadi Sedghi、Ma Yue、Marchand Adrien、Gabelica Valerie、Yamaoki Yudai、Katahira Masato、Nagasawa Kazuo
2. 発表標題 Synthesis of cyclic polyoxazole compound as i-motif binder
3. 学会等名 6th International Meeting on Quadruplex Nucleic Acids (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yamaoki Yudai、Kiyoshi Ayaka、Mashima Tsukasa、Kano Fumi、Murata Masayuki、Nagata Takashi、Katahira Masato
2. 発表標題 Development of K+-responsive RNA aptamer and ribozyme, and in-cell NMR of nucleic acids in human cells
3. 学会等名 International Symposium for NMR of Nucleic Acids (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

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