

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02769

研究課題名(和文) 機能性核酸アプタマーを用いたタンパク質間相互作用の汎用計測・制御法の開発

研究課題名(英文) General approach for analysis and control of the specific PPI using functionally-modified DNA/RNA aptamers

研究代表者

井原 敏博 (Ihara, Toshihiro)

熊本大学・大学院先端科学研究部(工)・教授

研究者番号：40253489

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質間相互作用(PPI)の研究の重要性は広く認識されており、この極めて多様で複雑な研究対象に対応できる汎用の研究法の開発が望まれている。本研究では標的タンパク質に結合して関連するPPIと競合する核酸アプタマーを取得し、標的PPIの可逆的制御法を提案する。取得した核酸アプタマーのスプリットGFP(モデルタンパク質)の再構成に与える影響を観察した。アプタマーの $K_i$ は、 $\mu\text{M}$ オーダーであった。これらのアプタマーは細胞中で発現させ、同じ細胞中に共発現させたスプリットGFPの再構成も強く阻害することを確認することができた。この阻害能はアプタマーの相補鎖を導入することで可逆的に中和することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトの場合、約3万のタンパク質が存在し、その複合体は65万以上と言われているが、その主役である多くのタンパク質は未だその機能が解明されていない。疾病の原因となるタンパク質間相互作用(PPI)が特定できれば、そのPPIを調整することがその治療に繋がるため特定のPPIを阻害するタイプの分子を取得することが殆どの製薬の目標となっている。核酸アプタマーはいわゆる中分子のサイズであり、小分子にはできない浅く広いPPI面に結合することが可能である。本研究では試験管中だけでなく細胞中においてもアプタマーで標的PPIを阻害できたこと、さらに、アプタマーの相補鎖により阻害を中和できることを示すことができた。

研究成果の概要(英文)：The importance of studying protein-protein interactions (PPIs) is widely recognized, and the development of general methods to address this extremely diverse and complex research subject is desired. In this study, we propose a method for the reversible regulation of target PPIs by obtaining nucleic acid aptamers that bind to target proteins and compete with related PPIs. We monitored the effect of the acquired nucleic acid aptamer on the reconstitution of split GFP, which was selected as a model protein.

The  $K_i$  of the acquired aptamers were on the order of  $\mu\text{M}$ . These aptamers expressed in cells strongly inhibited the reconstitution of split GFP coexpressed in the same cells. This inhibitory ability could be reversibly neutralized by introducing the complementary strand of the aptamer.

研究分野：核酸化学、生命分析化学、ケミカルバイオロジー

キーワード：RNAアプタマー タンパク質間相互作用 PPI GFP 進化分子工学

## 1. 研究開始当初の背景

PPIとは、生体内のタンパク質分子間に起こる相互作用の総称である。遺伝子発現、シグナル伝達、輸送、代謝などのほとんどすべての生命現象は、細胞内 数万のタンパク質間にはたらく数十万の協調した PPI ネットワークによりその恒常性が維持されている。近年になって、その分子機構に関する理解が進み、PPI は新たな創薬の標的として注目されている。特定の PPI を高感度にモニターしたり、外部刺激により制御したりすることのできる簡便で汎用の手法があれば、PPI 研究を飛躍的に進展させることができる。

特定の PPI をモニターしたり、阻害したりするために、現在は生理活性小分子やその誘導体、または抗体などが利用されている。一般に前者は天然のリード化合物の存在が必須である。分子サイズが小さく、鍵と鍵穴のようなポケットにはまり込むタイプのタイトな相互作用であるため、誘導体化によりその親和性は容易に失われる。後者の抗体は特異性に優れているが高価であり、また高分子であるため細胞内に導入して利用することは不可能であり、そのアプリケーションに限界がある。

核酸アプタマーは、例えば、小分子、タンパク質、細胞、固体表面などの特定の様々な標的に特異的に結合する数十量体の長さの 1 本鎖の DNA、または RNA 分子である。一般には、SELEX 法 (systematic evolution of ligands by exponential enrichment、または in vitro selection) により取得されるので、リード化合物がなくても標的分子に対するアプタマーをゼロから得ることができる。一旦取得され、その塩基配列が確定された後は化学合成により安価に大量合成することができる。さらに中分子サイズであるので抗体に匹敵する高い結合力も期待でき、(鍵と鍵穴ではなく)面と面との相互作用である PPI にはたらきかける(競合する)分子として極めて適している。これまでのアンチセンス法などの研究により酵素耐性の高い人工 DNA やその細胞内導入法などの技術が確立されており、さまざまな目的に応じて細胞内での研究に利用することも可能である。

## 2. 研究の目的

本研究では標的タンパク質に結合して関連する PPI と競合する核酸アプタマーを独自の手法で選択的に取得し、そのアプタマーを用いた標的 PPI の新規 a) モニタリング、および b) 可逆的制御法を提案する。

はじめに、標的タンパク質に結合して当該 PPI と競合する核酸アプタマーを選択的に取得する。このアプタマーに様々な化学修飾を施して、a) PPI の結果としてシグナルを発するような工夫を施した分析システム、および b) 外部刺激によ

って PPI を可逆的に制御できるシステムを構築する (図 1)。ある PPI のプレイヤーであるタンパク質 ( $P_B$ ) と、それと競合する核酸アプタマー ( $D_{Apt}$ ) (またはその相補鎖  $cD_{Apt}$ ) を利用するが、そのどちらを“入力”要素ととらえるかによって (親和性に関して多少のチューニングが必要ではあるが) それぞれ PPI 分析系と PPI 制御系の両方を構築することが可能となる。

核酸アプタマーには、その他の分子基体にはない、以下のようなたいへん優れた特長がある。すなわち、1. 取得した時点でその特異的中和剤 (= 相補鎖) の合成に必要な配列情報を入手できる。しかも、2. その中和能は相補鎖の塩基配列を 1 塩基単位で (長さ調整、ミスマッチ導入など) 変更することで合理的に微調整することが可能である。3. SELEX 法は目的に合わせたカスタマイズが可能であり、適切なカウンターセクションや排除認識 (掻き出し) 操作を組込むと特定のタンパク質を認識しない、あるいは競合するアプタマーを選択的に取得することが

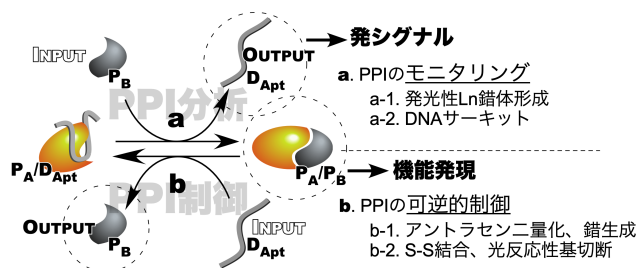


図 1 PPI と競合するアプタマーを用いた PPI 分析・制御 PPI の結果リリースするアプタマー  $D_{Apt}$  を用いた発シグナル系 (a: PPI 分析) を、また  $D_{Apt}$  (またはその相補鎖) により PPI を制御できる系 (b: PPI 制御) を構築する

できる。また、核酸（特に DNA）は化学合成法が確立され、また化学的に安定なので 4. 機能分子を化学修飾してアプタマーの機能を様々に拡張でき、ヌクレアーゼ耐性はもちろん、刺激応答性など多様な人工機能を付与することができる。本研究は、上記の核酸アプタマーの特長すべてを活用して行う PPI 解明に向けた化学的アプローチであり、安価でしかも汎用性が高く、その有効性を示すことができれば、PPI 研究に多大に貢献することになる。

### 3. 研究の方法

モデルタンパクとして緑色蛍光タンパク質（GFP）を用いた。GFP は 11 の  $\beta$  シートからなるバレル構造をとることがわかっているが、1-10 と 11 番目の  $\beta$  シートの間で分断したスプリット GFP（それぞれ  $\beta^{1-10}$ 、 $\beta^{11}$ ）の再構成を PPI のモデルとして使用した。PPI、すなわち  $\beta^{1-10}/\beta^{11}$  の再構成をその蛍光強度によりモニタすることが可能であるので、取得したアプタマーの PPI に与える影響を溶液の蛍光強度から容易にモニターすることができる。

スプリット GFP を東京大学の小澤岳昌 教授からプラスミドとして提供していただいた。このプラスミドから  $\beta^{1-10}$  と  $\beta^{11}$  の発現、精製を行ったが、小さい方のフラグメントである  $\beta^{11}$  に関しては実験に十分な量を上手く単離精製することができなかつたので、化学合成を行うこととした。鳥取大学の櫻井敏彦 准教授（現 近畿大教授）の協力を得て  $\beta^{11}$  を合成していただき、実験に必要なスプリット GFP ペアである  $\beta^{1-10}$  および  $\beta^{11}$  を準備することができた。これらのタンパク質、またはペプチドフラグメント末端にはあらかじめ FLAG タグを導入しており、SELEX 担体への固定化のために利用した。

取得した RNA アプタマー候補の評価は、再構成 GFP の蛍光強度を観察することで行なった。一定濃度の  $\beta^{1-10}$  と  $\beta^{11}$  を含む溶液に対して、取得したアプタマー候補を順次添加し、溶液の蛍光強度を測定した。一つの結合サイトへの競争反応（ $\beta^{11}$  に対する  $\beta^{1-10}$  と RNA アプタマーの競争）を仮定して、アプタマーの結合親和性を GFP 再構成の阻害定数、 $K_i$  として、再構成の  $EC_{50}$  と  $K_d$  の値を用いて Chen-Prusoff の式へのカーブフィッティングにより算出した。また、アプタマーの相補配列を利用して PPI 阻害の中和（阻害）が可能かについても検討を行った。さらに、 $\beta^{11}$ 、 $\beta^{1-10}$ 、および RNA アプタマーをプラスミドを用いて HEK293T にコトランスフェクトし、細胞中においても GFP 再構成 PPI の阻害を検討した。細胞が発する蛍光強度をアプタマーの代わりにスクランブル配列を導入した系と比較することで評価した。

### 4. 研究成果

20 量体の RNA ランダムライブラリーを利用してスプリット GFP のいずれか片方を固定化した担体を使用して標準的な SELEX を行なった。はじめに、 $\beta^{1-10}$  に結合する RNA アプタマーの取得を目指して実験を開始した。当初は競争反応を利用した汎用性の高い手法により目的の RNA アプタマーを取得しようと考えていた。すなわち、タンパク質の広大な表面の一部に結合するアプタマーが、必ずしも標的としている PPI を阻害する保証はないが、当該 PPI 反応により追い出される RNA はまさに着目している PPI 面に結合するものである可能性が高いからである。具体的には、 $\beta^{1-10}$  に結合した RNA 群の中から  $\beta^{11}$  によって競争的に解離する RNA のみを選択的に取得する計画で実験を行なった。しかしながら、SELEX により  $\beta^{1-10}$  に結合する RNA プールを得ることができたが、RNA- $\beta^{1-10}$  固定化担体複合体に高濃度の  $\beta^{11}$  を添加しても RNA はほとんど解離することはなかった。そもそも、ここで使用している GFP はその分子量が大きくなり、 $\beta^{11}$  と  $\beta^{1-10}$  の PPI の親和性に結合した RNA を掻き出せる（競争的に脱離させる）程の強度がなかったと考えた。また、 $\beta^{11}$ - $\beta^{1-10}$  間の PPI、すなわち GFP 再構成反応の速度が非常に遅いこともこの実験を実行上困難なものにしていた。

次に、方針を変え、 $\beta^{11}$  に対する RNA アプタマーを取得することにした。 $\beta^{11}$  は分子量が小さいため、これに結合する恐らく全てのアプタマーはその PPI、すなわち GFP 再構成を阻害すると考えた。SELEX の結果、RNA プールは数種類のシーケンスに収束した。これらの RNA 共存下において蛍光を観測することで、アプタマーのスプリット GFP の再構成 PPI に与える影響を観察したところ、幾つかの RNA は再構成を阻害することが明らかになった。すなわち、これらの RNA はアプタマーとして機能し、 $\beta^{11}$  と  $\beta^{1-10}$  の再結合を競争的に阻害していることが明らかになった。得られた 3 種類の RNA アプタマー Apt1-3 のシーケンス、予測される二次構造、および

再構成後の GFP の蛍光強度を図2に示す。このうち、**Apt2** と **Apt3** はそのシークエンスにかなりの共通性があった。また、3者ともに共通した部分構造を有しており、このことはこれら3つのアプタマーが共通して  $\beta^{11}$  に結合する性質をもつことを示唆している。次に、蛍光滴定実験、すなわちこれら3種のRNAアプタマー添加に伴う GFP 蛍光強度の減少から50%効果濃度  $EC_{50}$ 、および阻害定数  $K_i$  を求めた結果、**Apt1**、**Apt2**、および **Apt3** について、それぞれ4.5、6.1、17  $\mu\text{M}$  であった (図3)。

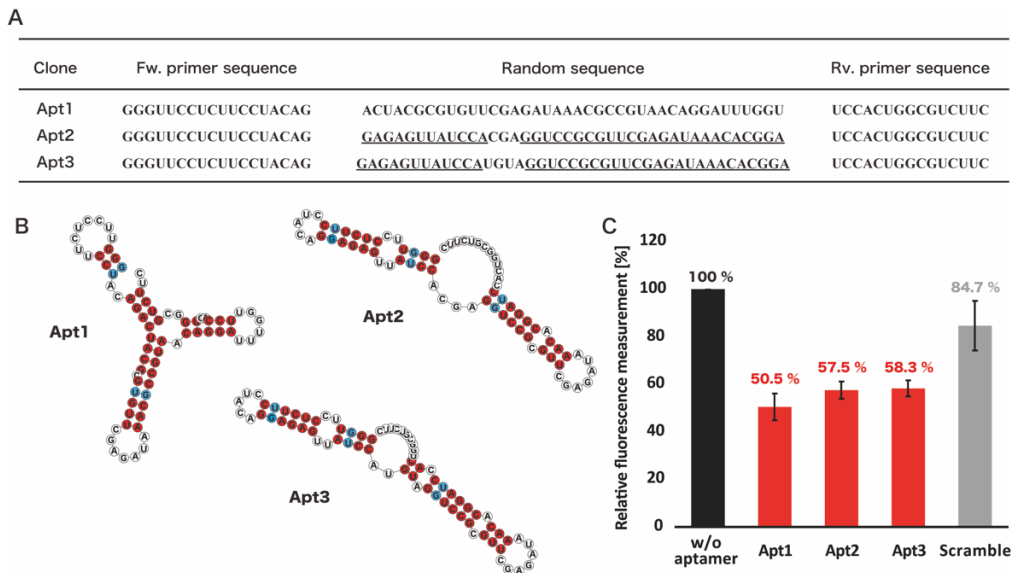


図2 GFP再構成阻害実験 A 得られた3種のRNAアプタマーのシークエンス. B アプタマーの二次構造予測 (Centroid-fold); 赤: Watson-Crick 塩基対, 青: Wobble ペア. C 再構成 GFP の蛍光強度;  $\beta^{11}$ : 0.685  $\mu\text{M}$ ,  $\beta^{1-10}$ : 0.0685  $\mu\text{M}$ , Apt1-3: 6.87  $\mu\text{M}$ ,  $n = 3$

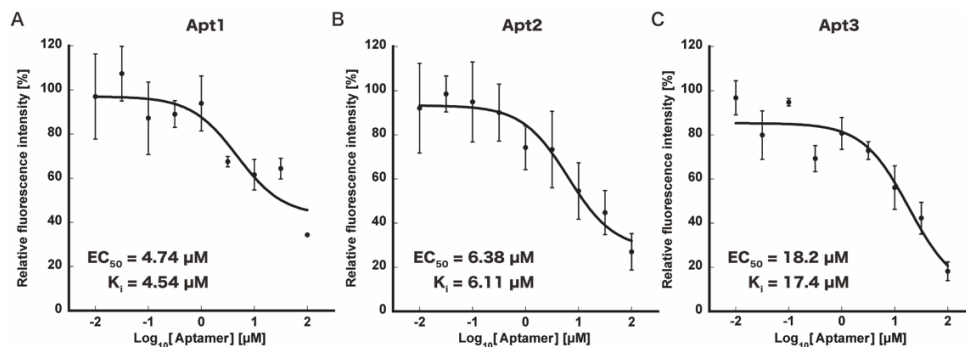


図3 RNAアプタマーによる GFP再構成の阻害実験 **Apt1-3** 添加に伴う GFP の蛍光をモニターすることで、その  $EC_{50}$  より Cheng-Prusoff 式にフィッティングして  $K_i$  を算出した。  $n = 3$

取得した RNA アプタマーを使用した GFP 再構成 PPI の阻害を細胞中においても検討した。すなわち、 $\beta^{11}$  と  $\beta^{1-10}$  に加え、さらにアプタマーの3者をプラスミドを用いて HEK293T にコトランスフェクトしてそれぞれの細胞溶解液の蛍光強度を観察した。アプタマーのスクランブル配列と比較して取得したうち2種類のアプタマーについては再構成 GFP からの発光強度を40%以下にまで抑制することが分かった (図4)。この阻害効果は可逆的であり、アプタマー **Apt1** の相補鎖 **cApt1** を導入することで解除できることを確認することができた (図5)。

研究期間終了には間に合わなかったが、PPI の外部刺激 (光) による制御を目指して得られた RNA アプタマーの末端へのアントラセンの化学修飾に取り組んでいる。アプタマー末端の20量

体を化学合成し末端にアミノ基を導入した。アントラセンカルボン酸の活性エステルとのカップリング反応によりアントラセンを修飾した。残りのアプタマーシーケンスは酵素合成し、両者を T4 リガーゼでライゲーションすることにより目的とするアントラセン修飾 RNA アプタマーを調製する計画である。アプタマーの機能を阻害する相補鎖末端にもアントラセンを導入し、生じる二本鎖末端のアントラセンを光二量化させることができる。これは分子間の二本鎖を分子内二本鎖に変換したことになる。分子内の二本鎖は分子間に比べて著しく安定であるので、標的 PPI がアプタマーと競争的に進行する条件下では、PPI を光で制御することができる。

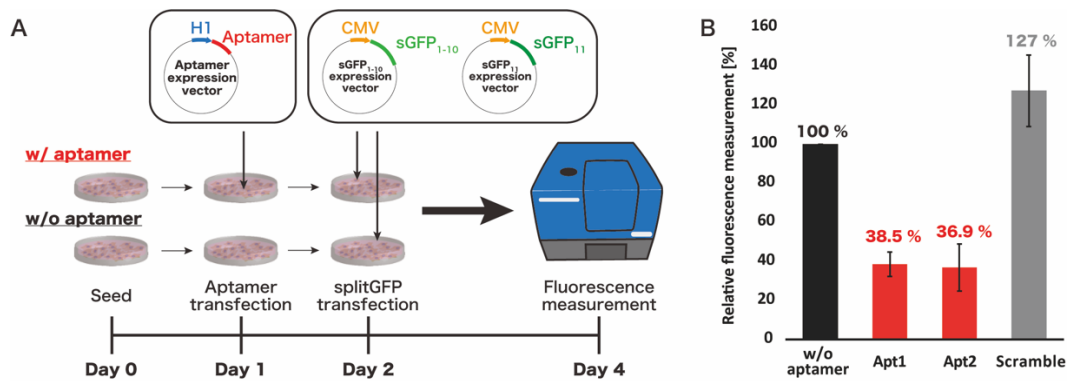


図4 Apt1 および Apt2 を用いた細胞中での GFP 再構成阻害 A 細胞実験スキーム, B Apt1, Apt2, およびスクランブル RNA を発現する細胞 (細胞溶解液) における GFP の蛍光強度

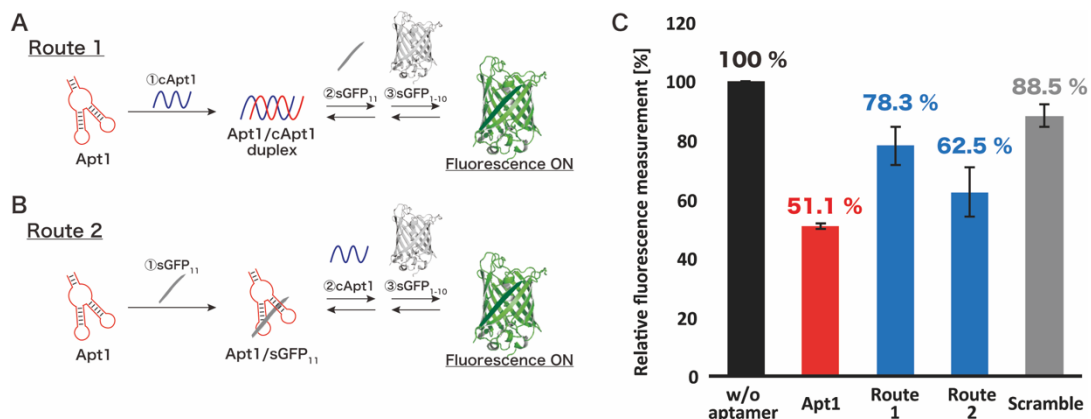


図5 Apt1 の相補鎖 cApt1 を用いたアプタマー機能の中和実験

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ihara Toshihiro, Kitamura Yusuke, Katsuda Yousuke	4. 巻 12
2. 論文標題 Metal Ion-Directed Specific DNA Structures and Their Functions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 686 ~ 686
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/life12050686	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 Kamura Takuto, Katsuda Yousuke, Fuchigami Yusuke, Itsuki Yua, Kitamura Yusuke, Sakurai Toshihiko, Ozawa Takeaki, Ihara Toshihiro	4. 巻 96
2. 論文標題 RNA Aptamer-Based Approach to Inhibiting Split-GFP Reconstruction and the Loss of Inhibitory Activity Using Complementary RNA	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 241 ~ 246
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20220331	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 Katsuda Yousuke, Sato Shin-ichi, Inoue Maimi, Tsugawa Hisashi, Kamura Takuto, Kida Tomoki, Matsumoto Rio, Asamitsu Sefan, Shioda Norifumi, Shioto Shuhei, Oosawatsu Yoshiki, Yatsuzuka Kenji, Kitamura Yusuke, Hagihara Masaki, Ihara Toshihiro, Uesugi Motonari	4. 巻 50
2. 論文標題 Small molecule-based detection of non-canonical RNA G-quadruplex structures that modulate protein translation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 8143 ~ 8153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkac580	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 Kumamoto Seitaro, Fukuyama Souichiro, Nagano Seiya, Yasuda Keiichiro, Kitamura Yusuke, Iwatsuki Masaaki, Baba Hideo, Ihara Toshihiro, Nakanishi Yoshitaka, Nakashima Yuta	4. 巻 13
2. 論文標題 Fabrication of Three-Dimensionally Deformable Metal Structures Using Precision Electroforming	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 1046 ~ 1046
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi13071046	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 S. Kumamoto, S. Fukuyama, S. Nagano, K. Yasuda, Y. Kitamura, M. Iwatsuki, H. Baba, T. Ihara, Y. Nakanishi, Y. Nakashima	4. 巻 13
2. 論文標題 Fabrication of Three-dimensionally Deformable Metal Structures Using Precision Electroforming	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 1046
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi13071046	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 Y. Katsuda, S. Sato, M. Inoue, H. Tsugawa, T. Kamura, T. Kida, R. Matsumoto, S. Asamitsu, N. Shioda, S. Shiroto, Y. Osawatsu, K. Yatsuduka, Y. Kitamura, M. Hagihara, T. Ihara, M. Uesugi	4. 巻 50
2. 論文標題 Small Molecule-based Detection of Non-canonical RNA G-quadruplex Structures That Modulate Protein Translation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res.	6. 最初と最後の頁 8143-8153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkac580	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 T. Kamura, Y. Katsuda, Y. Fuchigami, Y. Itsuki, Y. Kitamura, T. Sakurai, T. Ozawa, T. Ihara	4. 巻 96
2. 論文標題 RNA Aptamer-based Approach to Inhibiting Split-GPT Reconstruction and the Loss of Inhibitory Activity Using Complementary RNA	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bull. Chem. Soc. J.	6. 最初と最後の頁 241-246
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20220331	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 Y. Kitamura, K. Yoshimura, R. Kuramoto, Y. Katsuda, T. Ihara	4. 巻 37
2. 論文標題 Catalytic Amplification of Electrochemical Signal in Homogeneous Solution Using an Entropy-driven DNA Circuit	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 533-537
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20SCN04	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 S. Fukuyama, S. Kumamoto, S. Nagano, S. Hitotsuya, K. Yasuda, Y. Kitamura, M. Iwatsuki, H. Baba, T. Ihara, Y. Nakanishi, Y. Nakashima	4. 巻 228
2. 論文標題 Detection of cancer cells in whole blood using a dynamic deformable microfilter and a nucleic acid aptamer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Talanta	6. 最初と最後の頁 122239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.talanta.2021.122239	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 K. Ono, Y. Kitamura, T. Zhang, H. Tsutsuki, A. Rahman, T. Ihara, T. Akaike, T. Sawa	4. 巻 16
2. 論文標題 Cysteine Hydropersulfide Inactivates $\beta$ -Lactam Antibiotics with Formation of Ring-Opened Carbothioic S-Acids in Bacteria	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Chem. Biol.	6. 最初と最後の頁 731-739
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.1c00027	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 Y. Kitamura, K. Nagai, T. Furuzono, Y. Katsuda, T. Ihara	4. 巻 39
2. 論文標題 Cooperative Recognition of a Repetitive Sequence through Consecutive Formation of Triplex and Duplex Structures	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 97-108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15257770.2019.1679833	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 Y. Kitamura, R. Shobu, H. Matsuura, A. Jyo, T. Ihara	4. 巻 36
2. 論文標題 Xylitol Separation from a Polyol Mixture Using Lanthanide Ion-loaded Resin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 769-773
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.19N032	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 Y. Kitamura, Y. Azuma, Y. Katsuda, T. Ihara	4. 巻 56
2. 論文標題 Catalytic Formation of Luminescent Lanthanide Complexes Using an Entropy-driven DNA Circuit	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem. Commun.	6. 最初と最後の頁 3863-3866
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0cc00602e	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 Y. Kitamura, K. Mishio, P. Arslan, B. Ikeda, C. Imoto, Y. Katsuda, T. Ihara	4. 巻 36
2. 論文標題 Electrochemical Molecular Beacon for Nucleic Acid Sensing in a Homogeneous Solution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 959-964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.19P456	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 Y. Kitamura, T. Taniguchi, M. Tsutsumi, L. Nurdiwijayanto, T. Matsuo, Y. Katsuda, T. Ihara	4. 巻 36
2. 論文標題 A RuO <sub>2</sub> Nanosheet as a Novel Quencher-free Platform for the Detection of Nucleic Acids in a Homogeneous Solution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 397-400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20C004	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 T. Satoh, S. Kouroki, Y. Kitamura, T. Ihara, K. Matsumura, S. Iwase	4. 巻 12
2. 論文標題 Detection of Prostate-specific Antigen in Semen Using DNA Aptamer: an Application of Nucleic Acid Aptamer in Forensic Body Fluid Identification	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anal. Methods	6. 最初と最後の頁 2703-2709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0AY00371A	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 S. Kumamoto, K. Nakatake, S. Fukuyama, K. Yasuda, Y. Kitamura, M. Iwatsuki, H. Baba, T. Ihara, Y. Nakanishi, Y. Nakashima	4. 巻 14
2. 論文標題 A Dynamically Deformable Microfilter for Selective Separation of Specific Substances in Microfluidics	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomicrofluidics	6. 最初と最後の頁 64113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0025927	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 T. Kamura, Y. Katsuda, Y. Kitamura, T. Ihara	4. 巻 526
2. 論文標題 G-quadruplexes in mRNA: A Key Structure for Biological Function	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 261-266
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.02.168	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20件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 五木結愛、勝田陽介、北村裕介、萩原正規、佐藤慎一、井原敏博
2. 発表標題 新規パーキンソン病治療薬開発に向けたStaple核酸による遺伝子発現制御
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第16年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木田朋輝、勝田陽介、北村裕介、萩原正規、佐藤慎一、井原敏博
2. 発表標題 人工核酸型Staple核酸の遺伝子発現抑制に基づく心肥大の進行阻害評価
3. 学会等名 日本核酸医薬学会 第7回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 嘉村匠人、勝田陽介、北村裕介、萩原正規、佐藤慎一、井原敏博
2. 発表標題 RNA特殊構造構築技術を基盤とした肺動脈性肺高血圧症治療薬の開発
3. 学会等名 日本核酸医薬学会 第7回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 勝田陽介、嘉村匠人、木田朋輝、北村裕介、佐藤慎一、萩原正規、井原敏博
2. 発表標題 RNA高次構造変化に伴う新規核酸医薬技術の開発
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第16年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木田朋輝、勝田陽介、嘉村匠人、北村裕介、萩原正規、佐藤慎一、井原敏博
2. 発表標題 核酸医薬への応用を目指したStaple XNAsによる標的遺伝子発現制御
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第15回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 T. Kamura, Y. Katsuda, T. Nakamura, K. Tsujita, Y. Kitamura, M. Hagihara, S. Sato, T. Ihara
2. 発表標題 Development of a nucleic acid medicine based on the formation of RNA G-quadruplex structure
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第6回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北村裕介、阪元峻平、中島雄太、岩槻政晃、安田敬一郎、熊本清太郎、勝田陽介、馬場秀夫、中西義孝、井原敏博
2. 発表標題 核酸の連鎖的鎖交換反応を利用した腫瘍細胞の高感度検出
3. 学会等名 第70回高分子討論会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木田朋輝、勝田陽介、北村裕介、萩原正規、佐藤慎一、井原敏博
2. 発表標題 核酸医薬への応用を指向したStaple XNAsによる標的遺伝子発現抑制
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 北村裕介、阪元峻平、中島雄太、岩槻政晃、安田敬一郎、熊本清太郎、勝田陽介、馬場秀夫、中西義孝、井原敏博
2. 発表標題 核酸の連鎖的鎖交換反応を利用した血中循環腫瘍細胞の検出
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 西村健人、北村裕介、勝田陽介、井原敏博
2. 発表標題 DNAコンジュゲートの光二量化を利用した二本鎖DNAの特異的認識
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 松本理緒、勝田陽介、佐藤慎一、北村裕介、萩原正規、上杉志成、井原敏博
2. 発表標題 Non-canonical ruleにより形成されたNon-canonical structureの発見
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 北村裕介、阪元峻平、勝田陽介、中島雄太、安田敬一郎、岩槻正晃、馬場秀夫、中西義孝、井原敏博
2. 発表標題 核酸の連鎖的鎖交換反応を利用した発光シグナルの増幅と血中循環腫瘍細胞の検出
3. 学会等名 日本分析化学会第70年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 T. Ihara, T. Kamura, H. Ohura, Y. Kitamura, S. Sato, M. Hagihara, Y. Katsuda
2. 発表標題 Regulation of DNAzyme activity and gene expression by structure control of relevant DNA/RNA
3. 学会等名 Asian Conference on Analytical Sciences 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 T. Kida, Y. Katsuda, T. Kamura, Y. Kitamura, M. Hagihara, S. Sato, T. Ihara
2. 発表標題 Next generation nucleic-acid medicine that suppresses gene expression by the induction of RNA structure
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 井原敏博
2. 発表標題 核酸化学に基づいて生命現象を診る・制御する
3. 学会等名 2020年 日本化学会九州支部秋期研究発表会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田 翔;勝田 陽介;北村 裕介;佐藤 慎一;井原 敏博
2. 発表標題 細胞内microRNAの高感度検出を目的とした新規リボスイッチの開発
3. 学会等名 日本分析化学会第69年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小嶋 美鈴;北村 裕介;勝田 陽介;井原 敏博
2. 発表標題 ルテニウム-白金複合錯体を鋳型特異的に放出するDNAプローブの合成とその遺伝子解析への応用
3. 学会等名 日本分析化学会第69年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北村 裕介;工藤 悠暉;勝田 陽介;中島 雄太;安田 敬一郎;熊本 清太郎;岩槻 政晃;馬場 秀夫;中西 義孝;井原 敏博
2. 発表標題 核酸の連鎖的鎖交換反応を利用したシグナル増幅型腫瘍細胞検出法の開発
3. 学会等名 日本分析化学会第69年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小嶋 美鈴;西村 健人;北村 裕介;勝田 陽介;井原 敏博
2. 発表標題 アントラセン光二量化反応を利用した鎖乗り換え型三本鎖核酸の形成
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田 翔;勝田 陽介;佐藤 慎一;北村 裕介;井原 敏博
2. 発表標題 RNA高次構造の分割と再構成による新規リボスイッチの設計
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム2020
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本核酸化学会（分担執筆）	4. 発行年 2020年
2. 出版社 講談社	5. 総ページ数 576
3. 書名 核酸科学ハンドブック	

〔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
研究 分担者	勝田 陽介  (Katsuda Yousuke)  (50632460)	熊本大学・大学院先端科学研究部(工)・准教授   (17401)	



6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	北村 裕介  (Kitamura Yusuke)  (80433019)	熊本大学・大学院先端科学研究部（工）・助教     (17401)	

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