

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：34506

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02864

研究課題名(和文)細胞内の核酸構造の定量的解析を目指した疾患細胞モデル系の構築とその活用

研究課題名(英文) Development and utilization of the model system of disease cell for quantitative analysis of nucleic acid structures in cells

研究代表者

建石 寿枝 (Tateishi-Karimata, Hisae)

甲南大学・先端生命工学研究所・准教授

研究者番号：20593495

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：神経変性疾患の細胞内で形成される液滴には、リピート配列をもつRNAやペプチドが含まれる。この液滴は、細胞毒性を示す場合があるが詳細な液滴形成機構は解明されていなかった。本研究では、細胞の分子環境を再現した細胞モデル系を構築し、細胞内環境が核酸の構造や液滴形成に及ぼす影響を解析した。その結果、液滴の形成には、核酸の四重らせん構造形成が重要であることが示された。さらに、四重らせん構造は周辺の環境によって、安定性を変化させ、液滴の形成を加速させることが示された。つまり、疾患の進行に伴う細胞内の環境変化が、核酸の構造を変化させ、液滴の形成を制御している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

核酸の構造は、周辺環境に応答して変化し、遺伝子発現に関わる反応の変異を誘起させる可能性がある。本研究では、核酸の構造が生命現象を制御する機能をもつことを示す一例として、神経変性疾患に関わるRNA構造に焦点をあてた。その結果、細胞毒性に関わる液滴形成を制御する核酸構造を特定することができた。本知見は、細胞毒性を示す凝集体形成を阻害する化合物の合理的な分子設計に有効である。さらに、本研究で構築した細胞モデル系は、核酸相互作用だけでなく、実細胞内での薬剤と解析対象分子の結合性評価等も簡便に行うことができる。そのため、医療、診断、創薬など実社会に貢献する幅広い応用分野への研究展開が期待される。

研究成果の概要(英文)：Droplets formed in neurodegenerative disease cells contain RNA and peptides with repeat sequences and should exhibit cytotoxicity although the detailed mechanism of droplet formation has not been clarified. In this study, to elucidate the mechanism of droplet formation, we constructed an intracellular molecular environment evaluation system and analyzed the effects of the molecular environment on the structure of nucleic acids and droplet formation. The results indicated that the formation of RNA G-quadruplexes changed depending on surrounding conditions and showed key roles for droplet formation. Interestingly, the droplet formation was accelerated with increasing the G-quadruplex stability. Our results suggested that changes in the intracellular environment associated with disease progression may alter the structure of nucleic acids and regulate the formation of droplets.

研究分野：核酸化学

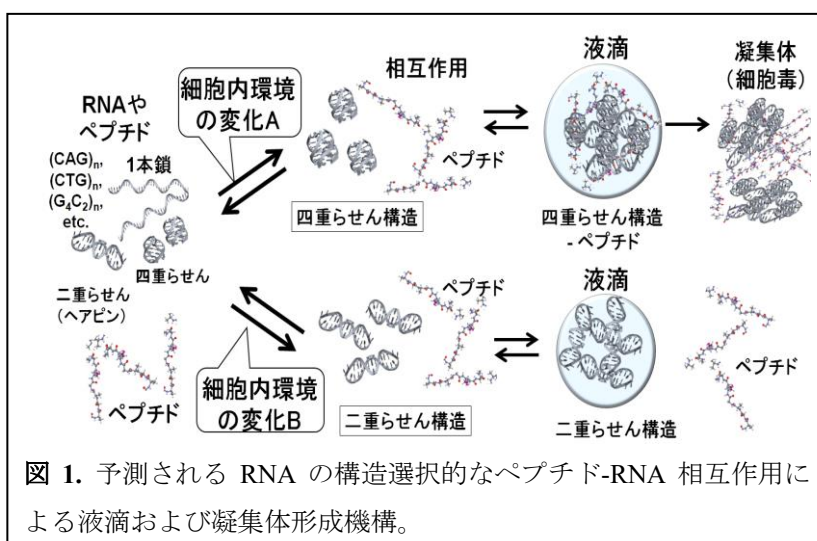
キーワード：核酸構造 擬似細胞内環境 相分離 定量的解析 神経変性疾患 細胞モデル系

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

細胞質内及び核内には、相分離によって形成された多様なタイプの液滴（または顆粒）が存在する。これらの液滴は、可逆的に形成・消失を繰り返し、転写・翻訳反応、タンパク質などの会合反応、アミロイド形成に関わる等（A. J. Prys, et al., *Science*, 361, 329 (2018), C. Dean, et al., *Nature*, 569, 265 (2019)等）、興味深い現象が相次いで報告されている。近年、トリプレットリピート病や筋萎縮性側索硬化症（ALS）などの神経変性疾患に関与する遺伝子上の繰り返し配列から転写される RNA（例えば C9orf72 遺伝子の(GGGGCC)リピート）が、液滴を形成することが報告されている（A. R. Haesler, et al., *Nature*, 507, 195 (2014)、A. Jain, et al., *Nature*, 546, 243 (2017)）。また、細胞毒を示すタンパク質（またはペプチド）の凝集体に RNA が含まれるという報告もある（S. Ambadipudi, et al., *Nat. Commun.*, 8, 275 (2017)）。このような液滴（凝集体）と疾患進行の関連が議論されており、細胞内で液滴（凝集体）形成・解離を制御できれば、神経変性疾患の新規の薬剤開発において重要な知見となるが、これらの液滴構造の形成機構は明らかではない。アミロイドなどで報告があるように、一般的にタンパク質やペプチドとの凝集体の形成は、小分子やイオンなどの Seed となるような分子の添加によって劇的に促進される。一方で、RNA を含めた核酸は溶液環境に応じて、二重らせん、四重らせん構造等のように構造を変化させることを核酸構造の熱力学的解析によって研究代表者らは明らかにしてきた（H. Tateishi-Karimata et al., *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.*, 7, 7.19.1 (2013)など。以降、研究代表者の論文は著者名を省略して記載する）。研究代表者は、近年、悪性がん細胞内では、カリウムイオンを細胞外に放出するチャンネルが過剰発現していることに注目し（L.A. Pardo, et al., *Nat. Rev. Cancer*, 14, 39 (2014)）、イオン環境の摂動が核酸構造に及ぼす影響について解析した。その結果、正常細胞や初期がんの細胞内では、DNA 四重らせん構造が形成されるが、悪性がん細胞内では四重らせんが解離し、このような DNA 構造の変化はがん遺伝子の発現を制御していることを見出した（*J. Am. Chem. Soc.*, 140, 642 (2018)）。疾患の発症と進行に応じたイオンチャンネルの変化は、多数の液滴が形成されている神経疾患細胞でさらに顕著であると報告されているが、神経疾患細胞内での核酸構造の変化や、核酸構造が液滴形成に及ぼす影響については未だ明らかではない。

つまり、疾患の進行に伴う細胞内の環境変化が RNA の構造を変化させ、ペプチドとの相互作用を制御し、さらに液滴や細胞毒となる凝集体の形成を制御している可能性があるのではないか、と研究代表者は着想した（図 1）。このような核酸構造による液滴の制御機構を明らかにできれば、



液滴形成を標的とした薬剤の設計にも有用であるが、細胞内は非常に複雑であるため、分子機構を理解するための相互作用パラメータの算出など物理化学的な解析に適しておらず、細胞外でも細胞内の分子環境を適切に再現できる実験評価系はないため、液滴の形成機構を詳細に解析することは困難であった。

2. 研究の目的

本研究では、RNA の構造変化を介した液滴形成および細胞毒を示す凝集体構造の形成機構を解明し、得られた知見を基に RNA 構造を制御し、細胞毒凝集体の形成を阻害する技術の開発を行うことを目的とする。

細胞内の環境は、細胞小器官や可溶、不溶のタンパク質、細胞骨格などで混みあった分子クラウディング環境である (図 2)。このような環境は、試験管内の実験における標準環境 (100 mM NaCl などを含む希薄な水溶液) 研究代表者は、核酸構造の熱力学的に解析によって得られた相互

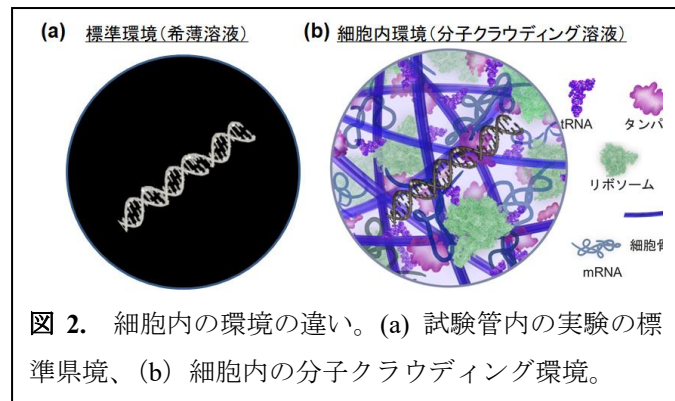


図 2. 細胞内の環境の違い。(a) 試験管内の実験の標準環境、(b) 細胞内の分子クラウディング環境。

作用パラメータを用いて、核酸構造の安定性は、共存するイオンや溶質 (細胞内のクラウディング環境を模倣する分子等) の種類や濃度によって大きく変化することを見出してきた (*J. Am. Chem. Soc.*, 128, 7957 (2006), *J. Am. Chem. Soc.*, 139, 7768 (2017)、*Chem. Commun.*, 51, 6909 (2015) 等)。神経変性疾患の発症と進行に由来する細胞質のタンパク質や、イオンチャネルの発現量の変化によって、細胞内のクラウディング状態やイオン環境は大きく異なり、このような環境変化は核酸構造に影響を及ぼしていると考えられる。RNA による液滴形成に関わる核酸の構造や安定性を知るためには、核酸構造の物理化学的手法による相互作用パラメータの算出が有用であるが、細胞内は非常に複雑であるため、相互作用パラメータは算出できない。そこで本研究では、実細胞の分子環境を再現し、細胞内の分子環境が核酸の構造に及ぼす影響を解析できる細胞モデル系を構築する。本細胞モデル系は、本研究の解析対象とする核酸の相互作用だけでなく、実細胞内における薬剤と解析対象分子の結合性評価なども簡便に行うことができる。そのため、医療、診断、創薬など実社会に貢献する幅広い応用分野への研究展開が期待される。

3. 研究の方法

本研究では、「ペプチド・RNA による液滴構造および凝集体構造は、RNA の構造によって制御されているのではないか」、という仮説を、細胞内の環境を再現した細胞モデル系を用いて検証し、細胞内で液滴形成を制御を目指し、核酸構造を制御する技術の開発を行った。研究は下記の 2 段階の研究計画で遂行した。

(A) 細胞内での核酸構造が液滴形成に及ぼす影響の解明 (知る研究)

本研究において、液滴形成には核酸構造変化が重要であると推察されたことから、細胞内の分子環境が核酸構造に及ぼす影響をまず、解析した。細胞内の環境を再現するために、試験管内に中性高分子や糖などを添加した分子クラウディング環境を構築した。さらに、より細胞内の環境を模倣するために、実細胞により構築した実験系 (細胞モデル系) も構築した。

ALS/FTD 患者の細胞内で細胞毒の原因となるペプチド (poly-GA, poly-GP ペプチド)、ハンチントン病などに関わる r(CAG) リピートおよび poly-Q ペプチドなどの 10 種類の RNA 配列とペプチドの相互作用を分光光度計による懸濁率測定、ダイナミック光散乱高度計、等温滴定型カロリメトリー、分子動力学計算等によって解析した。このような環境下において、凝集体の形成を、凝集体に特異的に結合する蛍光プローブ (チオフラビン T) によって視覚化し、顕微鏡にて解析した。さらに、試験管内で重要であることが予想された相互作用が、細胞内でも重要か否かについて解析を行った。細胞内の液滴構造の形成は共焦点レーザー顕微鏡や、蛍光プレートリーダーで

解析を行った。また、細胞内と試験管内の核酸の挙動を比較し、溶液のどの物理化学的パラメータ（イオン強度、水や溶質の活量、誘電率、粘性、表面張力など）が核酸の構造を決定する因子であるかを考察した。

(B) 核酸構造による液滴形成制御技術の開発（活用する研究）

これまで得られた液滴形成に重要な相互作用を基に、液滴形成を制御する技術の開発を試みた。研究代表者は、四重らせん構造はカリウムイオンによって安定化する一方で、細胞内の代謝産物であるコリンイオンによって劇的に不安定化することを見出している (*Chem. Commun.*, 51, 6909 (2015))。液滴構造を形成する四重らせん RNA に対しても同様の相互作用が考えられるため、RNA 構造を制御できる分子を開発した。まず、試験内で液滴構造および凝集体を形成させ、イオンや人工核酸を添加し、これらの構造の解離、形成を制御することを試みた。これらの構造は分光高度計による懸濁率の解析および蛍光顕微鏡等で観察し、定量的に解析した。また、分子動力学計算によって、RNA、ペプチド（タンパク質）や制御分子（イオンや人工核酸）との相互作用を解析も行った。これらの相互作用を基に、設計通りの RNA 構造変化を誘起できているかを確認し、制御分子を最適化した。

本研究においては、研究代表者が所属する研究施設に設置されている実験装置を活用して研究を行った。また、本研究において高解像度カメラシステムを顕微鏡に付属させて（2020 年度購入）液滴構造を観察し、蛍光顕微鏡落射蛍光投光管（2021 年度購入）を付属させ、効率良く液滴内の構造を観測、定量化した。さらに、本研究では、実験補助を行う研究員を雇用し、細胞モデル系の開発やモデル系を用いた核酸構造解析を迅速に行うことができるように人員体制を整えた。

4. 研究成果

(A) 細胞内での核酸構造が液滴形成に及ぼす影響の解明（知る研究）

細胞内の核酸構造について知るために、中性高分子や代謝産物類字体を用いて細胞内を模倣した環境を構築し、疾患に関わる核酸配列の構造や安定性を解析した。その結果、細胞内の分子環境は核酸の水和やカチオンとの相互作用に摂動を与え、核酸の構造や安定性を変化させることがわかった (*Biochemistry*, 59, 2640 (2020)、*Nucleic Acids Res.*, 48, 12042 (2020)など)。これらの結果から、核酸構造に及ぼす分子環境の重要性が明らかになったため、神経変性疾患の原因となるリピート拡張配列から転写されるリピート RNA (r(G4C2)リピートなど) の凝集体形成に及ぼす分子環境の効果を物理化学的手法によって解析した (図 3a)。その結果、転写されたリピート RNA が含まれる水溶液は、液-液相分離溶液のため、転写開始から溶液が白濁する。転写開始後 30 分後の水溶液を観察した結果、分子クラウディング環境下においては、転写開始から 30 分後には白濁するが、標準環境である希薄溶液中では、相分離は観測されなかった (図 3b)。相分離に及ぼす核酸の構造について解析した結果、相分離には、リピート RNA の四重らせん構造の形成が重要であり、相分離が形成されるまでの速度の指標である t_{\max} (時間) の値は、四重らせん構造の安定性の指標である融解温度 (T_m) が高いほど、 t_{\max} (時間) の値が低くなる (相分離する速度が速くなる) ことが示された (図 3d)。また、四重らせん構造の安定化には G-カルテット面へのカチオンの配置が重要であることが知られており、溶液の誘電率の低下はこのようなカチオンと四重らせん構造の相互作用に有利であると考えられる。物理化学的解析の結果、四重らせん構造を安定化する溶液では、誘電率が低下しており、相分離形成が加速されることが示された (*Biochemistry*, 59, 1972 (2020))。このような相互作用は、疾患細胞内において毒性を示す凝集体形成に重要であると考えられる。さらに、液滴を形成する RNA と液滴とペプチドの相互作用を分

子動力学計算や、細胞内でより詳細に解析した。その結果、液滴形成を促進させる四重らせん構造の相互作用を見出すことができた (*Chem. Commun.*, **58**, 12931 (2022)、第16回バイオ関連化学シンポジウム (2022年)で発表)。

これらの相互作用を細胞内で評価し、また細胞内での核酸構造形成機構を理解するために、実細胞を用いて細胞内の分子環境を再現した細胞モデル系を開発した (特願2022-189538)。本細胞内モデル系において、試験管内の分子クラウディング環境では、解析できな

かった核酸-イオン相互作用の重要性を物理化学的観点から明らかにすることができた。

(B) 核酸構造による液滴形成制御技術の開発 (活用する研究)

凝集体を形成する四重らせん RNA の構造を制御できる分子の開発を試みた。具体的には、イオン環境変化や代謝産物類似体で修飾した人工核酸によって、核酸構造を制御することを試みた。まず、試験内で液滴構造および凝集体を形成させ、イオンや人工核酸を添加し、これらの構造の解離、形成を制御することを試みた。

神経変性疾患やがん細胞などのイオンチャネルの発現バランスに注目し、イオン濃度やクラウディング分子 (中性高分子) 濃度を変化させることによって、細胞内環境評価系を構築した。このような環境下で実験を遂行することにより、細胞内の分子環境が、二重らせん構造が i-モチーフや四重らせん構造への構造遷移する機構や、四重らせん構造のトポロジーに及ぼす周辺環境の重要性を示唆する結果を得ることができた (*J. Am. Chem. Soc.*, **143**, 16458 (2021)、*Chem. Commun.*, **58**, 38 (2021)、*RSC Adv.*, **11**, 37205 (2021))。さらに、これらの構造が疾患に関わる転写や複製反応に及ぼす影響を物理化学的に解析し、核酸の構造変化に応じた反応効率の変化が誘起されることを定量的に明らかにした (*J. Am. Chem. Soc.*, **143**, 16458 (2021)、*Chem. Commun.*, **58**, 38 (2021))。また、神経変性疾患に関わる RNA 構造とペプチドの相互作用が転写に及ぼす影響を解析する研究を遂行し (*Nucleic Acids Res.*, **49**, 7839 (2021))、核酸構造が、細胞の毒性や遺伝子発現阻害に関わる影響を明らかにできつつある。さらに、四重らせん構造に及ぼす細胞内の環境の効果についても検討した (*Chem. Commun.*, **58**, 12459 (2022))。これらの知見を基に、核酸に結合する小分子を使って液滴形成を阻害する技術を開発できた (*Chem. Commun.*, **58**, 4891 (2022)、日本核酸医薬学会第7回年会 (2022年)で発表)。

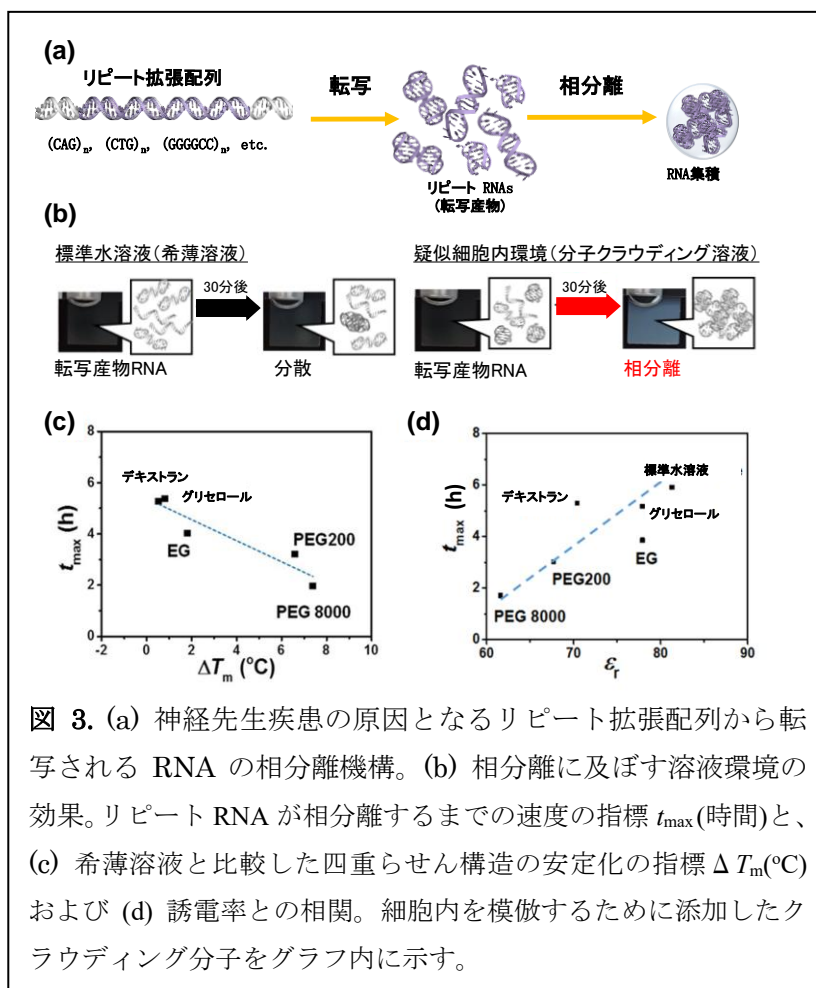


図 3. (a) 神経先生疾患の原因となるリピート拡張配列から転写される RNA の相分離機構。(b) 相分離に及ぼす溶液環境の効果。リピート RNA が相分離するまでの速度の指標 t_{\max} (時間) と、(c) 希薄溶液と比較した四重らせん構造の安定化の指標 ΔT_m (°C) および (d) 誘電率との相関。細胞内を模倣するために添加したクラウディング分子をグラフ内に示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Y. Zhang, H. Tateishi-Karimata, T. Endoh, Q. Jin, K. Li, X. Fan, Y. Ma, L. Gao, H. Lu, Z. Wang, A.E. Cho, X. Yao, C. Liu, N. Sugimoto, S. Guo, X. Fu, Q. Shen, G. Xu, L.R. Herrera-Estrella, and X. Fan	4. 巻 8
2. 論文標題 High-temperature adaptation of an OsNRT2.3 allele is thermoregulated by small RNAs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci. Adv.,	6. 最初と最後の頁 eadc9785
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.adc9785	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 Y. Hashimoto, Y. Imagawa, K. Nagano, R. Maeda, N. Nagahama, T. Torii, N. Kinoshita, N. Takamiya, K. Kawauchi, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto and D. Miyoshi	4. 巻 59
2. 論文標題 Simple and fast screening for structure-selective G-quadruplex ligands	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chem. Commun.	6. 最初と最後の頁 4891-4894
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D3CC00556A	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. Ghosh, S. Takahashi, D. Banerjee, T. Ohyama, T. Endoh, H. Tateishi-Karimata, and N. Sugimoto	4. 巻 51
2. 論文標題 Nearest-neighbor parameters for the prediction of RNA duplex stability in diverse in vitro and cellular-like crowding conditions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res.	6. 最初と最後の頁 gkad020
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkad020	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 M. Tsuruta, T. Torii, K. Kohata, K. Kawauchi, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, and D. Miyoshi	4. 巻 58
2. 論文標題 Controlling liquid-liquid phase separation of G-quadruplex-forming RNAs in a sequence-specific manner	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chem. Commun.	6. 最初と最後の頁 12931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2CC04366A	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. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, and N. Sugimoto	4. 巻 58
2. 論文標題 DNA methylation is regulated by both the stability and topology of G-quadruplex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chem. Commun.	6. 最初と最後の頁 12459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2CC04383A	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. Takahashi, A. Kotar, H. Tateishi-Karimata, S. Bhowmik, Z.-F. Wang, T.-C. Chang, S. Sato, S. Takenaka, J. Plavec, and N. Sugimoto	4. 巻 143
2. 論文標題 Chemical Modulation of DNA Replication along G-Quadruplex Based on Topology-Dependent Ligand Binding	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Am. Chem. Soc.	6. 最初と最後の頁 16458-16469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.1c05468	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 W. Sugimoto, N. Kinoshita, M. Nakata, T. Ohyama, H. Tateishi-Karimata, T. Nishikata, N. Sugimoto, D. Miyoshi, and K. Kawauchi	4. 巻 58
2. 論文標題 Intramolecular G-quadruplex-hairpin loop structure competition of a GC-rich exon region in the TMRSS2 gene	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chem. Commun.	6. 最初と最後の頁 48-51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1cc05523b	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. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, and N. Sugimoto	4. 巻 11
2. 論文標題 Effect of DNA modifications on the transition bet and non-canonical DNA structures in CpG islands during senescence	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RSC Adv.	6. 最初と最後の頁 37205-37217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1RA07201C	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 H. Tateishi-Karimata and N. Sugimoto	4. 巻 49
2. 論文標題 Roles of non-canonical structures of nucleic acids in cancer and neurodegenerative diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res	6. 最初と最後の頁 7839-7855
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkab580	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 N. Sugimoto, T. Endoh, S. Takahashi, and H. Tateishi-Karimata	4. 巻 94
2. 論文標題 Chemical Biology of Double Helical and Non-Double Helical Nucleic Acids: "To B or Not To B, That Is the Question"	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bull. Chem. Soc. Jpn.	6. 最初と最後の頁 1970-1998
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20210131	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 神谷 真子、建石 寿枝、永次 史、山吉 麻子、杉本 直己	4. 巻 41
2. 論文標題 第1章フロントランナーに聞く「令和の時代も進化を続ける核酸化学」	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 CSJカレントレビュー「進化を続ける核酸化学 ゲノム編集、非二重+RC[-1]+RC	6. 最初と最後の頁 2-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 M. Kovacic, P. Podbevsek, H. Tateishi-Karimata, S. Takahashi, N. Sugimoto, and J. Plavec	4. 巻 48
2. 論文標題 Thrombin Binding aptamer G-quadruplex stabilized by pyrene-modified nucleotides	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res.	6. 最初と最後の頁 3975-3986
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkaa118	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 Y. Teng, H. Tateishi-Karimata, and N. Sugimoto	4. 巻 59
2. 論文標題 RNA G-quadruplexes facilitate RNA accumulation in G-rich repeat expansions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1972-1980
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.0c00130	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 S. Ghosh, S. Takahashi, T. Ohyama, T. Endoh, H. Tateishi-Karimata, and N. Sugimoto	4. 巻 117
2. 論文標題 Nearest-neighbor parameters for predicting DNA duplex stability in diverse molecular crowding conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA.	6. 最初と最後の頁 14194-14201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1920886117	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 S. Matsumoto, H. Takeishi-Karimata, S. Takahashi, T. Ohyama, and N. Sugimoto	4. 巻 59
2. 論文標題 Effect of molecular crowding on the stability of RNA G-quadruplexes with various numbers of quartets and lengths of loops	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2640-2649
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.0c00346	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 D. Banerjee, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, S. Ghosh, T. Endoh, S. Takahashi, and N. Sugimoto	4. 巻 48
2. 論文標題 Improved nearest-neighbor parameters for the stability of RNA/DNA hybrids under a physiological condition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res.	6. 最初と最後の頁 12042-12054
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkaa572	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43件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 14件）

1. 発表者名 建石寿枝, 松本咲, 大山達也, Ye Teng, 田中成典, 杉本直己
2. 発表標題 核酸構造の定量的解析を基にしたC9orf72由来のリピートRNAとペプチドの相互作用制御法の開発
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 H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto
2. 発表標題 Functions of nucleic acids regulated by the intracellular molecular environments
3. 学会等名 India EMBO Lecture Course: Functional nucleic acids: Recent landscapes and therapeutic applications (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 建石 寿枝, 大山達也, 田中成典, 杉本 直己
2. 発表標題 神経変性疾患に関わるリピートRNAとペプチドの相互作用解析
3. 学会等名 第16回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 建石寿枝
2. 発表標題 疾患細胞内における非二重らせん核酸の機能解析
3. 学会等名 大阪大学産業科学研究所 次世代有機化学セミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto
2. 発表標題 DNA methylation depending on stability and topology of G-quadruplex
3. 学会等名 Advances in Noncanonical Nucleic Acids 2022 “ANNA2022” (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 T. Ohyama, H. Tateishi-Karimata, S. Takahashi, S. Tanaka, N. Sugimoto
2. 発表標題 Analysis of dynamic behaviors of G-quadruplexes using molecular simulations
3. 学会等名 Advances in Noncanonical Nucleic Acids 2022 “ANNA2022” (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 T. Ohyama, S. Takahashi, H. Tateishi-Karimata, S. Tanaka, N. Sugimoto
2. 発表標題 Analysis of the effect of high-pressure on the stability of nucleic acids using molecular dynamics simulations
3. 学会等名 第49回国際核酸化学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Ghosh, S. Takahashi, D. Banerjee, T. Ohyama, T. Endoh, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto
2. 発表標題 Prediction of RNA duplex stability in physiological crowding conditions based on the nearest-neighbor model
3. 学会等名 第49回国際核酸化学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 D. Banerjee, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, S. Ghosh, T. Endoh, S. Takahashi, N. Sugimoto
2. 発表標題 New parameters for accurate prediction of RNA/DNA hybrid duplex stability and their advantage in CRISPR- Cas9 technique
3. 学会等名 第49回国際核酸化学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto
2. 発表標題 The effect of stability and topology of G-quadruplex on DNA methylation
3. 学会等名 第49回国際核酸化学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto
2. 発表標題 Quantitative analysis for G-quadruplex and i-motif formations in malignant cancers
3. 学会等名 第49回国際核酸化学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 建石寿枝
2. 発表標題 生物種を超えた多元応答機構の解明を目指した核酸構造の解析
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 遠藤 玉樹, 奥田 修二郎, 凌 一葦, 建石 寿枝, 杉本 直己
2. 発表標題 環境応答性を示す非二重らせん核酸構造のスクリーニング法の構築
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 月生雅也, 李先民, Yemima Suryani Budirahardja, 鶴田充生, 橋本佳樹, 高宮渚, 木下菜月, 建石寿枝, 杉本直己, 三好大輔, 川内敬子
2. 発表標題 グアニン四重らせん構造による転移因子 LINE?1 の発現抑制
3. 学会等名 第14回日本女性科学者の会(SJWS)学術会議
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 取井 猛流, 杉本 涉, 建石 寿枝, 木下 菜月, 鶴田 充生, 月生 雅也, 村嶋 貴之, 西方 敬人, 杉本 直己, 三好 大輔, 川内 敬子
2. 発表標題 核小体LLPSにおけるrDNA由来G-quadruplexの役割
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川内 敬子, 取井 猛流, 谷口 慎也, 木下 菜月, 建石寿枝, 杉本 直己, 三好 大輔
2. 発表標題 液-液相分子により形成されるグアニン四重らせん構造集合体の役割
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 李 先民, 月生 雅也, Budirahardja Yemima Suryani, 木下 菜月, 谷口 慎也, 橋本 佳樹, 建石 寿枝, 杉本 直己, 三好 大輔, 川内 敬子
2. 発表標題 グアニン四重らせん構造による転移因子LINE-1の発現制御
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鳥居 柁平、後藤 俊志、建石 寿枝、杉本 直己、西方 敬人
2. 発表標題 ホヤ卵の胚軸形成におけるRNAのG-quadruplex (G4) の局在
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Sarkar, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto
2. 発表標題 Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (83) : Bulge-containing G-quadruplexes is a new target motif to regulate gene expression in therapeutics
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Dipanwita Banerjee, Hisae Tateishi-Karimata, Saptarshi Ghosh, Shuntaro Takahashi, Tatsuya Ohyama, Tamaki Endoh, Maria Toplishek, Marko Trajkovski , Janez Plavec, Naoki Sugimoto
2. 発表標題 Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (82) : Applications of nearest-neighbor parameters for RNA/DNA hybrid duplexes in the advancement of therapeutics
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Saptarshi Ghosh, Shuntaro Takahashi, Dipanwita Banerjee, Tatsuya Ohyama, Tamaki Endoh, Hisae Tateishi-Karimata, Naoki Sugimoto
2. 発表標題 Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (81) : Stability prediction of RNA duplexes under various molecular crowding in vitro and in cell
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 建石 寿枝、川内 敬子、杉本 直己
2. 発表標題 脱ワトソン・クリックの核酸化学 (88): がん細胞内環境変化に応答したC四重らせん構造の形成機構の解明
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大山 達也、建石 寿枝、田中 成典、杉本 直己
2. 発表標題 脱ワトソン・クリックの核酸化学 (85): G4C2 繰り返し配列をもつ RNA 四重鎖とジペプチドの集積メカニズムの解析
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 橋本 佳樹、取井 猛流、木下 菜月、川内 敬子、建石 寿枝、杉本 直己、三好 大輔
2. 発表標題 構造選択的G4リガンドのテロメア長とTERRA発現量に対する効果
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋俊太郎, 建石寿枝, 佐藤しのぶ, 竹中繁織, J. Plavec, 杉本直己
2. 発表標題 トポロジー依存的なリガンド結合でグアニン四重鎖のDNA複製を制御する
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 建石寿枝, 大山達也, 田中成典, 杉本直己
2. 発表標題 神経変性疾患に係るリピートRNAとペプチドの相互作用解析
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 H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto
2. 発表標題 G-quadruplex formation in cancer cells with different expression level of ion channels
3. 学会等名 第48回国際核酸化学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 S. Takahashi, A. Kotar, H. Tateishi-Karimata, S. Bhowmik, Zi-Fu Wang, Ta-Chau Chang, S. Sato, S. Takenaka, J. Plavec, N. Sugimoto
2. 発表標題 Chemical modulation of DNA replication by topology- dependent ligand binding on guanine quadruplexes
3. 学会等名 第48回国際核酸化学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2021年

1 . 発表者名 S. Satpathi, T. Endoh, Y. Chen, S. Matsumoto, T. Ohyama, P. Podbevsek, J. Plavec, K. Onizuka, F. Nagatsugi, N. Sugimoto
2 . 発表標題 Structure-based derivatization of berberine to improve the potency for targeting RNA structures
3 . 学会等名 第21回東北大学多元物質科学研究所研究発表会
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, O. Tatsuya, N. Sugimoto
2 . 発表標題 Effect of DNA modifications on the changes of DNA structure in CpG islands
3 . 学会等名 ICCAES 2021 (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto
2 . 発表標題 Roles of non-canonical DNA structures in cancer cells on mechanism of dimensional response genome
3 . 学会等名 ICCAES 2021 (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 H. Tateishi-Karimata, K. Kawauchi, N. Sugimoto
2 . 発表標題 Regulation transcription by DNA structures responsive chemical stimulus in cells
3 . 学会等名 Pacifichem2021 (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 D. Miyoshi, M. Tsuruta, K. Kohata, W. Sugimoto, T. Torii, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, K. Kawauchi
2 . 発表標題 Liquid-liquid phase separation of G-quadruplexes derived from neurodegenerative disease RNAs
3 . 学会等名 Pacifichem2021 (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 K. Kawauchi, T. Torii, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, T. Nishikata, D. Miyoshi
2 . 発表標題 Structural alterations in ribosomal DNA under nucleolar stress
3 . 学会等名 The 44th Annual Meeting of Molecular Biology Society of Japan (招待講演)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 H. Tateishi-Karimata, K. Kawauchi, T. Ohyama, H. Masaki, A. Natsume, N. Sugimoto
2 . 発表標題 Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (73):Effect of G-quadruplex stability change on transcriptional repression in cancer cells
3 . 学会等名 日本化学会第102回春季年会
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, N. Sugimoto
2 . 発表標題 Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (74): Effect of DNA modifications on the transition between canonical and non-canonical DNA structures in CpG island
3 . 学会等名 日本化学会第102回春季年会
4 . 発表年 2022年

1. 発表者名 鶴田 充生, 取井 猛流, 小島 一起, 川内 敬子, 建石 寿枝, 杉本 直己, 三好 大輔
2. 発表標題 核酸二次構造を標的としたドロップレットの分解
3. 学会等名 日本化学会第102回春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 建石寿枝, Ye Teng, 大山達也, 田中成典, 杉本直己
2. 発表標題 神経変性疾患に関わるリピートRNAによる相分離機構の解析
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 松本咲, 建石寿枝, 高橋俊太郎, 大山達也, 杉本直己
2. 発表標題 異なるGカルテット数とループ長を有するRNAグアニン四重らせんの安定性への分子クラウディングの効果
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 GHOSH Saptarshi, 高橋俊太郎, 大山達也, 遠藤玉樹, 建石寿枝, 杉本直己
2. 発表標題 Stability prediction of DNA duplexes available under diverse molecular crowding conditions
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 BANERJEE Dipanwita, 建石寿枝, 大山達也, GHOSH Saptarshi, 遠藤玉樹, 高橋俊太郎, 杉本直己
2. 発表標題 Development of the prediction method for stability of RNA/DNA hybrids under a physiological condition
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 建石寿枝, 川内敬子, 大山達也, 杉本直己
2. 発表標題 脱ワトソン・クリックの核酸化学(67): DNA四重らせん構造と転写変異に及ぼすがんの悪性進行に伴う細胞内環境変化の影響
3. 学会等名 日本化学会第101回春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大山達也, 建石寿枝, 田中成典, 杉本直己
2. 発表標題 ワトソン・クリックの核酸化学(69): 神経変性疾患に関連するRNA四重鎖とジペプチドリピートの分子シミュレーションによる相互作用の解析
3. 学会等名 日本化学会第101回春季年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 建石寿枝, 杉本直己	4. 発行年 2021年
2. 出版社 東京化学同人	5. 総ページ数 416
3. 書名 第 部 生物学的相分離の理論	

1. 著者名 建石寿枝、杉本直己	4. 発行年 2020年
2. 出版社 講談社	5. 総ページ数 565
3. 書名 核酸科学ハンドブック（第9章）	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 核酸の立体構造を制御する方法及びその用途、並びに、細胞内分子クラウディング環境を再現するための組成物	発明者 建石 寿枝、高橋 俊太郎、川内 敬子、杉本 直己	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-189538	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

甲南大学先端生命工学研究所ホームページ http://www.konan-fiber.jp/index/
--

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			
スロベニア	スロベニア国立NMRセンター			
インド	コルカタ大学			
中国	南京農業大学			