

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：34506

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24655161

研究課題名(和文) G-C塩基対よりA-T塩基対を安定化させることによる新規DNAナノスイッチの開発

研究課題名(英文) Development of new DNA nano-switches based on the stabilization of A-T base pairs relative to G-C base pairs

研究代表者

杉本 直己 (Naoki, Sugimoto)

甲南大学・先端生命工学研究所・教授

研究者番号：60206430

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：核酸ナノテクノロジーの基盤技術である核酸構造スイッチを構築するために、水和イオン液体であるリン酸二水素型コリン(choline dhp)中におけるDNA二重鎖の安定性を熱力学的に解析した。その結果、choline dhp中では、ワトソン・クリック[W・C]塩基対のA-T塩基対がG-C塩基対よりも安定化されることを見出した。また、生化学実験の標準溶液(NaCl水溶液、pH7.0)では非常に不安定なフーグステーン[H]塩基対でも、choline dhp中ではH塩基対が安定に形成された。さらに、W・C塩基対からH塩基対への構造スイッチを構築し、標的三重鎖配列のセンシングシステムの構築も行った。

研究成果の概要(英文)：We attempted the control of stabilities of Watson-Crick base pairs using a hydrated ionic liquid (IL) of choline dihydrogen phosphate (choline dhp), because hydrated ILs are green solvents suitable for a wide range of chemical reactions and may ensure long-term stability of biomolecules. Our quantitative analysis demonstrated that A-T base pairs are more stable than G-C base pairs in 4 M choline dhp. We also found that DNA triplex structures via the formation of Hoogsteen base pairs were significantly stabilized in the choline dhp solution compared to NaCl solutions. Thermodynamic analyses and molecular dynamics calculations revealed that the stabilization of A-T base pairs and Hoogsteen base pairs was due to specific binding of choline ions to DNA grooves. To take advantage of the stabilization of triplex formations to develop the sensing systems of double-stranded DNAs, we designed a DNA molecular beacon and found that the molecular beacon can specifically detect the target duplex.

研究分野：複合化学

科研費の分科・細目：生体関連

キーワード：DNA 液体 ワトソン・クリック塩基対 フーグステーン塩基対 熱力学的解析 分子動力的計算 イオン
液体 分子クラウディング DNAセンサー

1. 研究開始当初の背景

生体内で DNA はワトソン・クリック (W・C) 塩基対を形成することによって遺伝情報を保持する。一方で、その優れた塩基認識能や自己組織化能は、ナノテクノロジーに活用でき、工業的、環境的観点から注目されている。例えば、DNA によって作られたナノ構造をダイナミックに且つ可逆的に制御できる“DNA ナノスイッチ”を構築できれば、DNA コンピュータやバイオセンサー、薬剤運搬のキャリア、機能性分子のアレイの足場などが構築できる。DNA ナノスイッチは、DNA が W・C 塩基対 (A-T および G-C 塩基対) を自発的に形成することに基づいている。この塩基対の認識能 (塩基対の安定性) を制御できれば、DNA ナノスイッチの簡便な構築に繋がる。しかしながら、「A-T 塩基対は、G-C 塩基対ほど安定ではない」という“常識”からか、塩基対の安定性を制御できる技術は皆無であった。

我々は、これまで分子環境 (特に細胞内の分子クラウディング環境) が核酸構造に及ぼす影響を物理化学的観点から定量的に明らかにしてきた (最近では N. Sugimoto et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131, 16881 など)。その結果、核酸の構造やその機能は、核酸の構造に由来する相互作用 (水素結合、スタッキング相互作用、構造エントロピー) と、分子環境に由来する相互作用 (クーロン相互作用、溶媒和) によって決定されていることを見出した。この過程において、分子環境と核酸の相互作用を制御することができれば、W・C 塩基対の A-T 塩基対と G-C 塩基対の安定性を逆転できるのではないかと着想した。そこで、本研究では、2 つの分子環境に着目し、核酸塩基対の安定性を逆転させることを試みる。第一の分子環境は、これまで我々が核酸構造安定に顕著に影響を与えることを見出してきた細胞内の分子クラウディング環境、第二は、イオン液体環境である。イオン液体は、近年、不揮発、不燃の特性を持つため、安全性や環境に優しい点で優れた“Green” solvent としてナノテクノロジー分野で活用されている。DNA を含めたバイオ分子をナノテクノロジーに活用することも生分解性の観点から“Green”であると考えられており、イオン液体とバイオ分子を融合した新規のテクノロジーが開発されれば、環境的観点から有用である。しかし、高塩濃度であるイオン液体は、一般的にバイオ分子を変性させてしまうため、これらの融合は困難であると考えられてきた。本研究によって、核酸の分子レベルでの相互作用を考慮し、熱力学的パラメータからイオン液体と核酸の相互作用の一般的なルールが明らかになれば、イオン液体と核酸を用いた新規ナノテクノロジーの開発が可能となると期待される。

2. 研究の目的

本研究では、分子環境を調整することで、

A-T 塩基対と G-C 塩基対の安定性を逆転させる手法を構築する。また、塩基対の安定性に及ぼす分子環境効果を定量的に解析し、分子レベルでその効果を明らかにする。さらに、これらの知見を基に、DNA ナノスイッチを構築する。

3. 研究の方法

(1) 核酸構造に及ぼす分子環境の効果をエネルギーレベルで解析し、A-T 塩基対が G-C 塩基対より安定化するような条件を模索した。

分子環境の選択

本研究では、分子クラウディング環境とイオン液体環境中における核酸構造を解析した。分子クラウディング環境は、溶液の水の活量を低下させ、核酸の構造安定性を顕著に変化させるポリエチレングリコール (PEG) によって構築した。リン酸二水素コリン (choline dhp) 溶液中では、DNA を長期間安定に保存できるという報告があり DNA ナノスイッチの溶媒として適していると考えられる (図 1) (D. R. MacFrlane et. al, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, 49, 1631)。そのため、4 M choline dhp によってイオン液体環境を構築した。

DNA 配列の選択

解析対象とする DNA 二重鎖として、W・C 塩基対の安定性を評価するために、10 塩基の DNA 二重鎖の末端から連続する A-T 塩基対の数を变化させた DNA 二重鎖を設計した [ODN1 (5'-A₁₀-3'/5'-T₁₀-3')、ODN2 (5'-A₉T-3'/5'-AT₉-3')、ODN3 (5'-A₈T₂-3'/5'-A₂T₈-3')、ODN4 (5'-A₇T₃-3'/5'-A₃T₇-3')、ODN5 (5'-A₆T₄-3'/5'-A₄T₆-3') 及び ODN6 (5'-A₅T₅-3'/5'-A₅T₅-3')。さらに、W・C 塩基対と比較して非常に不安定であるが、優れた塩基認識能をもち、センシングシステムなどの DNA 材料の構築において有用とされているフーグスティーン [H] 塩基対をもつ三重鎖、四重鎖構造も解析対象とした。

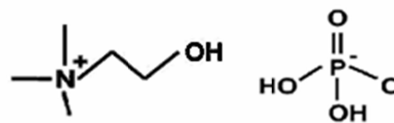


図 1. リン酸二水素コリンの化学構造式。

(2) DNA 構造に及ぼす分子環境の効果の定量的解析

紫外可視分光光度計、円二色性分散計により、核酸構造の融解曲線を測定した。この融解曲線から、当研究所 (FIBER) で開発された手法 (*J. Am. Chem. Soc.*, 131, 9268 (2009)、*Nucleic Acids Res.*, 126, 14330 (2004)) を用いて、DNA 構造形成時の熱力学的パラメータを算出した。これらの知見を基に、分子環境が核酸構造に及ぼす影響をエネルギー的 (ΔH° , ΔS° , ΔG°_{25}) に解析した。安定性の評価は核

酸の定量的解析において標準溶液とされる NaCl 溶液中での安定性と比較することで行った。

また、核酸は負電荷をもつためイオン液体のカチオンは、核酸と積極的に結合すると考えられる。そこで、カチオンと核酸構造の相互作用を微視的に明らかにするために、*in silico* での分子動力学計算によってカチオン-核酸の相互作用を解析した。分子動力学計算は、AMBER12 software package を用いて行い、力場は AMBERff03.r1 force field を用いた。

(3) 溶液環境に応答する DNA ナノスイッチの構築

本研究によって得られた種々の分子環境下における核酸構造の定量的知見を基に、choline dhp 中で機能する HIV 遺伝子を検出する DNA センサーの構築を試みた。このセンサーとなる DNA は 5' 末端に蛍光色素、3' 末端に消光剤で修飾され、W・C 塩基対によりヘアピン構造を形成する。ヘアピン構造形成時には、蛍光色素は消光剤により消光されるが、標的鎖共存下では、H 塩基対によりヘアピン構造が開き（構造スイッチ）、蛍光を発するように設計されている。センサー-DNA の蛍光変化は、蛍光光度計によって測定した。

4. 研究成果

(1) 核酸構造に及ぼす分子環境の影響の解析 分子クラウディング環境下における核酸構造安定性の解析

DNA 二重鎖の W・C 塩基対や H 塩基対、非塩基対部位に及ぼす分子クラウディング効果を解析した。その結果、分子クラウディング環境における塩基対部位の安定性は、塩基対部位の水和構造によって決定されていることを見出した (*Biophys. J.*, 102, 2808 (2012), *J. Phys. Chem. B*, 116, 7406 (2012))。さらに、DNA 四重鎖構造に対する分子環境の効果についても解析した。その結果、分子クラウディング環境下では数珠つなぎ状の特殊な四重鎖構造が形成され、これらの構造形成においても四重鎖構造形成時の脱水和水が重要であることを見出した (*J. Am. Chem. Soc.*, 134, 20060 (2012), *Mol Biosyst.*, 8, 2766 (2012))。以上の結果より、分子クラウディング環境は、核酸の構造の水和状態によって安定性を顕著に変化させることができるため、構造が全く異なる核酸構造（二重鎖と四重鎖など）の安定性を制御できることがわかった。しかし、二重鎖内の A-T 及び G-C 塩基対の水和構造に顕著に差はないため、分子クラウディングによってこれらの構造安定性を逆転させることは困難であることが推察された。

イオン液体環境下における核酸構造安定性の解析

choline dhp によるイオン液体環境中において A-T 塩基対の含有量が異なる 10 塩基対の DNA 二重鎖[ODN1、ODN2、ODN3、ODN4、ODN5 及び ODN6] の熱安定性を測定した。

その結果、標準溶液である NaCl 溶液における DNA 二重鎖の融解温度 (T_m) の値は、二重鎖内の A-T 塩基対の含有量の増加に伴い 45.3 (ODN6) から 30.7 (ODN1)まで低下し(図 2a)、DNA 二重鎖が不安定化することがわかった。一方で、4 M choline dhp 中では、二重鎖内の A-T 含有量の増加に伴って、 T_m 値は 33.3 (ODN6) から 53.3 (ODN1)まで増大し(図 2b)、choline dhp 中では G-C 塩基対よりも A-T 塩基対が安定であることが示された (*Angew. Chem. Int. Ed.*, 51, 1416 (2012)、朝日新聞に掲載)。

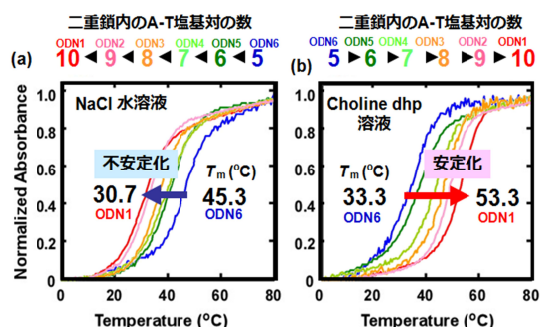


図 2. 5 μ M DNA 二重鎖の融解挙動、(a) NaCl 溶液及び (b) choline dhp 溶液。二重鎖の塩基配列は ODN1(5'-A₁₀-3'/5'-T₁₀-3') [赤]、ODN2(5'-A₉T-3'/5'-AT₉-3') [桃]、ODN3(5'-A₈T₂-3'/5'-A₂T₈-3') [橙]、ODN4(5'-A₇T₃-3'/5'-T₃A₃-3') [黄緑]、ODN5(5'-A₆T₄-3'/5'-A₄T₆-3') [緑] 及び ODN6(5'-A₅T₅-3'/5'-A₅T₅-3') [青]である。グラフ上部の数値は 10 塩基対の二重鎖内に含まれる A-T 塩基対の数を示す。

さらに、choline dhp が H 塩基対に及ぼす影響についても解析を行った。標準溶液 (NaCl 溶液, pH 7.0) では H 塩基対の形成が非常に不安定である DNA 三重鎖 7.5 μ M Ts (5'-C₂T₃CT₂CT-3' / 5'-AGA₂GA₅G₂-3' / 5'-TCT₂CT₃C₂-3') の熱安定性を 4 M choline dhp において解析した。その結果、NaCl 溶液の Ts は融解挙動が確認できないほど、三重鎖構造が不安定であった。一方で、choline dhp 中での Ts は融解挙動を示し、 T_m 値は 37.3 となった。このことから、choline dhp は H 塩基対の形成を安定化させることが示された (*Sci. Rep.*, 4, 3593 (2014)、日刊工業新聞に掲載)。以上の結果より、choline dhp によるイオン液体環境によって、W・C 塩基対の A-T と G-C 塩基対の安定性を逆転させ、非常に不安定な H 塩基対を安定に形成させることに成功した。そこで、今後の研究においては、イオン液体環境下における核酸の挙動に焦点を当てた。

(2) コリンイオンと DNA 構造の相互作用解析

choline dhp 中における DNA 構造の熱力学的解析

熱力学的解析に適した A-T 塩基対の含有量が異なる 2 種類の DNA 二重鎖 (10 塩基対) の構造形成に伴う熱力学的パラメータを算出した。その結果、G-C 塩基対に富んだ DNA

二重鎖の安定化エネルギー(ΔG°_{25})は、choline dhp において NaCl 溶液より $2.6 \text{ kcal mol}^{-1}$ 不安定化し、この安定性の変化はエンタルピー(ΔH°)値の増大によるものであることが示された。このような ΔH° 値の増大は、代謝産物などのアルキルアンモニウムカチオンとグアニンの相互作用においても観測されることから、choline dhp 中では 1 本鎖のグアニン塩基にコリンイオンが結合し、二重鎖形成を阻害している可能性が示唆された。

一方で、A-T 塩基対に富んだ DNA 二重鎖の ΔG°_{25} 値は、choline dhp において NaCl 溶液中より $1.7 \text{ kcal mol}^{-1}$ 安定化し、安定性の変化は ΔH° 値の低下に由来した。さらに、三重鎖構造形成に伴う熱力学的パラメータを算出した結果、choline dhp 中における DNA 三重鎖の安定化も三重鎖構造形成時の ΔH° 値の低下に由来した。これらの結果より、コリンイオンの DNA 構造への特異的な結合など、NaCl 溶液中では見られない新しい相互作用によって、choline dhp では、A-T 塩基対に富んだ二重鎖及び三重鎖の構造が安定化されていることが示唆された。

分子動力学計算によるカチオンと DNA 構造の相互作用解析

Choline dhp 中において構造が顕著に安定化された ODN1 及び Ts を対象にナトリウムイオン及びコリンイオンの DNA 構造の結合様式を 20 ns の分子動力学計算によって解析した。DNA 構造から 3.5 Å 以内に滞在しているカチオンを解析した結果、ナトリウムイオンは DNA の負電荷を遮蔽するようにリン酸基近傍に結合するのに対して、コリンイオンは、リン酸基近傍に結合するだけでなく、DNA のグループ部位にも結合することがわかった(図 3)(*J. Phys. Chem. B.*, 118, 379(2014)[表紙に選定]など)。コリンイオンは水酸基を持つため、核酸構造のグループを形成する塩基や糖などと水素結合を形成し、核酸への部位特異的に結合する。このようなコリンイオンの部位特異的な結合が核酸構造を安定化させていることが示された(*Sci. Rep.*, 4, 3593 (2014)、日刊工業新聞に掲載)。

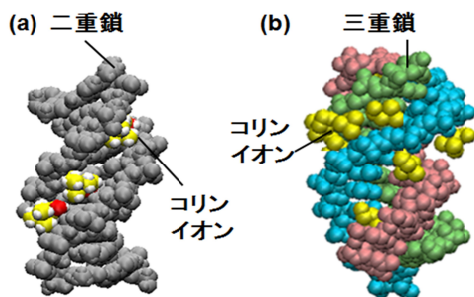


図 3. 分子動力学計算によって予測されるコリンイオンと(a) DNA 二重鎖及び (b) DNA 三重鎖の結合。

(3) DNA 構造スイッチを基にした DNA センサーの構築

H 塩基対は標準溶液中で非常に不安定であるが、塩基認識能が優れていることから、choline dhp 中で H 塩基対を安定に形成できることを活用し、W・C 塩基対(ヘアピン二重鎖構造)から H 塩基対(三重鎖構造)の構造スイッチによる標的 DNA 配列のセンシングシステムの構築を試みた(図 4)。標的 DNA 配列を検出するセンサー DNA として、ヘアピン構造のループ領域に標的 DNA 配列と H 塩基対を介して三重鎖を形成する DNA を設計した。



図 4. W・C 塩基対(ヘアピン構造)から H 塩基対(三重鎖構造)の構造スイッチを活用した標的 DNA 配列のセンシングシステム

HIV-1 由来の配列を持つ $2 \mu\text{M}$ DNA 二重鎖に対して、 $1 \mu\text{M}$ のセンサー DNA を添加したところ、プローブ DNA が標的 DNA 配列に結合したことに由来する蛍光スペクトルの変化が観測された。一方で、NaCl 溶液中においては、H 塩基対を形成できないため、標的 DNA 配列の有無に関わらず、センサー DNA に蛍光強度は変化しなかった。さらに、H 塩基対の形成を介した本センシングシステムでは、従来の W・C 塩基対の形成を介したセンサー DNA と比較して標的 DNA 配列の選択性を 10000 倍向上させることができた(日本化学会第 94 春季年会, 2014 年 3 月)。

以上、本研究結果から、イオン液体である Choline dhp と DNA の相互作用により、W・C 塩基対や H 塩基対の安定性を制御することが可能となった。今後は、G-C 塩基対を介した DNA 構造から A-T 塩基対を介した DNA 構造への DNA ナノスイッチを開発も行う予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 21 件)

H. Tateishi-Karimata, M. Nakano, and N. Sugimoto

Comparable stability of Hoogsteen and Watson-Crick base pairs in ionic liquid choline dihydrogen phosphate, *Sci. Rep.*, 4, 3593 (2014)

DOI: 10.1038/srep03593

M. Nakano, H. Tateishi-Karimata, S.

Tanaka, and N. Sugimoto,

Choline ion interactions with DNA atoms

- explain unique stabilization of A-T base, *J. Phys. Chem. B.*, 査読有, 118, 379-389 (2014)
DOI: 10.1021/jp406647b
- L. Wu, J. Wang, M. Yin, J. Ren, D. Miyoshi, N. Sugimoto, and X. Qu,
Reduced graphene oxide upconversion nanoparticle hybrid for electrochemi luminescent sensing of a prognostic indicator in early-stage cancer, *Small*, 査読有, 10, 330-336 (2014)
DOI: 10.1002/smll.201301273
- H. Tateishi-Karimata and N. Sugimoto,
Control of stability and structure of nucleic acids using cosolutes, *Methods*, 査読有, 67, 151-158(2014)
DOI: 10.1016/j.ymeth.2013.11.002
- T. Endoh, and N. Sugimoto,
Unusual-1 ribosomal frameshift caused by stable RNA G-quadruplex in open reading frame, *Anal. Chem.*, 査読有, 85, 11435-11439 (2013)
DOI: 10.1021/ac402497x
- S. Takahashi and N. Sugimoto,
Effect of pressure on the stability of G-quadruplex DNA: Thermodynamics under crowding conditions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 査読有, 52, 13774-13778 (2013)
DOI: 10.1002/anie.201307714
- H. Yaku, T. Murashima, D. Miyoshi, and N. Sugimoto
A highly sensitive telomerase activity assay that eliminates false-negative results caused by PCR inhibitors, *Molecules*, 査読有, 18, 11751-11767(2013)
DOI: 10.3390/molecules181011751
- A. Marchand, R. Ferreira, H. Tateishi-Karimata, D. Miyoshi, N. Sugimoto, and V. Gabelica,
Sequence and solvent effects on telomeric DNA bimolecular G-quadruplex folding kinetics, *J. Phys. Chem. B*, 査読有, 117, 12391-12401 (2013)
DOI: 10.1021/jp406857s
- S. Nakano, Y. Uotani, Y. Sato, H. Oka, M. Fujii, and N. Sugimoto,
Conformational changes of the phenyl and naphthyl isocyanate-DNA adducts during DNA replication and by minor groove binding molecules, *Nucleic Acids Res.*, 査読有, 41, 8581-8590 (2013)
DOI: 10.1093/nar/gkt608
- Y. Imaizumi, Y. Kasahara, H. Fujita, S. Kitadume, H. Ozaki, T. Endoh, M. Kuwahara, and N. Sugimoto, Efficacy of base-modification on target binding of small molecule DNA aptamers, *J. Am. Chem. Soc.*, 査読有, 135, 9412-9419 (2013)
DOI: 10.1021/ja4012222
- T. Endoh, Y. Kawasaki, and N. Sugimoto,
Suppression of gene expression by G-quadruplexes in open reading frames depends on G-quadruplex stability, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 査読有, 52, 5522-5526 (2013)
DOI: 10.1002/anie.201300058
- T. Fujimoto, S. Nakano, N. Sugimoto, and D. Miyoshi,
Thermodynamics - hydration relationships within loops that affect G-quadruplexes under molecular crowding conditions, *J. Phys. Chem. B*, 査読有, 117, 963-972 (2013)
DOI: 10.1021/jp308402v
- S. Takahashi and N. Sugimoto,
Effect of pressure on thermal stability of G-quadruplex DNA and double-stranded DNA structures, *Molecules*, 査読有, 18, 13297-13319(2013)
DOI: 10.3390/molecules181113297
- H. Tateishi-Karimata, S. Nakano, and N. Sugimoto,
Quantitative analyses of nucleic acid stability under the molecular crowding condition induced by cosolutes, *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.*, 査読有, 7, Unit7.19 (2013)
DOI: 10.1002/0471142700.nc0719s53
- H. Tateishi-Karimata and N. Sugimoto
A-T Base Pairs are More Stable Than G-C Base Pairs in a Hydrated Ionic Liquid, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 査読有, 51, 1416-1419 (2012)
DOI: 10.1002/anie.201106423
- H. Yu, X. Gu, S. Nakano, D. Miyoshi, and N. Sugimoto,
The beads-on-a-string structure of long telomeric DNAs under molecular crowding conditions, *J. Am. Chem. Soc.*, 査読有, 134, 20060-20069 (2012)
DOI: 10.1021/ja305384c
- S. Pramanik, S. Nagatoishi, and N. Sugimoto,
DNA tetraplex structure formation from human telomeric repeat motif (TTAGGG):(CCCTAA) in nanocavity water pools of reverse micelles *Chem. Commun.*, 査読有, 48, 4815-4817 (2012)
DOI: 10.1039/c2cc30622k
- V. Kumar, T. Endoh, K. Murakami and N. Sugimoto,
Dehydration from conserved stem regions is fundamental for ligand-dependent conformational transition of the adenine-specific riboswitch,

Chem. Commun., 査読有, 48, 9693-9695 (2012)

DOI: 10.1039/c2cc34506d

S. Nakano, D. Yamaguchi, H. Tateishi-Karimata, D. Miyoshi, and N. Sugimoto,

Hydration changes upon DNA folding studied by osmotic stress experiments, *Biophys. J.*, 査読有, 102, 2808-2817 (2012)

DOI: 10.1016/j.bpj.2012.05.019

S. Nakano, H. Hirayama, D. Miyoshi, and N. Sugimoto,

Dimerization of nucleic acid hairpins in the conditions caused by neutral cosolutes, *J. Phys. Chem. B*, 査読有, 116, 7406-7415 (2012)

DOI: 10.1021/jp302170f

②1 S. Nagatoishi and N. Sugimoto,

Interaction of water with the G-quadruplex loop contributes to the binding energy of G-quadruplex to protein, *Mol Biosyst*, 査読有, 8, 2766-2770 (2012)

DOI: 10.1039/c2mb25234a

[学会発表](計 14 件)

建石寿枝・杉本直己, イオン液体を使って核酸の機能を制御する、日本化学会第94春季年会(招待講演)、2014年3月27-30日、名古屋

杉本直己, 先制医薬学における核酸の非二重らせん構造の役割、第23回アンチセンスシンポジウム、2013年11月28-29日、徳島市

H. Tateishi-Karimata and N. Sugimoto, New sensing system for DNA sequence based on the interaction between DNA and hydrated ionic liquid, The 15th Asian Chemical Congress, 2013年8月19-23日、Singapore

杉本直己, 核酸の非二重らせん構造はどのような役割を担っているのか?、第20回クロマトグラフィシンポジウム、2013年6月6日、神戸市

H. Tateishi-Karimata and N. Sugimoto, Method for the stabilization of Hoogsteen base pairs by a hydrated ionic liquid Davidson, Gordon Research Conference (Bioinspired Materials), 2012年6月24-29日、Davidson, USA,

H. Tateishi-Karimata and N. Sugimoto, Regulation of the DNA Stability using a Hydrated Ionic Liquid toward the Development of New DNA Sensing Systems, The Second Asian Chemical Biology Conferences (ACBC2012)招待講演、2012年7月4-6日、沖縄

H. Tateishi-Karimata and N. Sugimoto, DNA Stability In A Hydrated Ionic Liquid, XXIRT-20th International Roundtable on

Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, 2012年8月5-9日、Montreal, Canada

N. Sugimoto, H. Yaku, T. Murashima D. Miyoshi, S. Nakano T. Endoh and H. Tateishi-Karimata, Quantitative analysis for the DNA stability toward the development of new functional materials Prague, 4th EuCheMS Chemistry Congress, 2012年8月26-30日、Czech Republic,

杉本直己, 機能性核酸の謎に迫る、第52回生物物理若手の会 夏の学校(招待講演) 2012年8月31日-9月2日、北海道 建石寿枝・中野美紀・杉本直己, 水和イオン液体中におけるワトソン・クリック及びフーグスティーン塩基対安定化の定量的解析、第6回バイオ関連シンポジウム、2012年9月6-8日、北海道

建石寿枝・杉本直己, 新規 DNA センサーの開発を目指した水和イオン液体中における DNA 構造の定量的解析、第61回高分子討論会(招待講演) 2012年9月19-21日、名古屋

杉本直己, 核酸医薬品開発に向けた細胞内環境における核酸の分子設計、日本機械学会第25回計算力学講演会(CMD2012)招待講演、2012年10月6-8日、神戸

杉本直己, 核酸を活用したバイオセンシング、東京農工大学招待講演、2012年11月9日、東京

杉本直己, 脱二重らせんの発想から生まれる新しい機能性核酸の発見、バイオフォーラム(招待講演)、2012年12月17日、京都

[図書](計2件)

杉本直己・三好大輔

シングル解析を目指した機能性核酸の構築、細胞定量解析の最前線 ライフサイエンス構築に向けて、シーエムシー出版、272頁(23-37), (2012)

D. Miyoshi and N. Sugimoto, Molecular crowding and hydration regulating of G-quadruplex formation, *Topics in Current Chemistry (Springer)*, 330, 87-110 (2013)

[その他]

ホームページ等

<http://www.konan-fiber.jp/activities/search.php>

6. 研究組織

(1)研究代表者

杉本 直己 (SUGIMOTO NAOKI)

甲南大学・先端生命工学研究所・教授

研究者番号: 60206430

(2)研究分担者

建石 寿枝 (Hisae Tateishi)

甲南大学・先端生命工学研究所・助教

研究者番号: 20593495