

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25288073

研究課題名(和文) 新規遺伝子発現制御を目指したDNA疎水空間における部位特異的修飾法の開発

研究課題名(英文) Development of the strategy for the site-directed modification in hydrophobic pocket of DNA for the control of gene expression

研究代表者

永次 史(Nagatsugi, Fumi)

東北大学・多元物質科学研究所・教授

研究者番号：90208025

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子に対するアルキル化反応は、抗ガン剤のメカニズムとして知られており、シスプラチンなどが臨床応用されているが、標的遺伝子に対する選択性がないことが問題とされる。遺伝子に対し選択的にアルキル化する方法論の開発は、副作用のない抗ガン剤になる可能性を持つ。本申請研究では、標的遺伝子に1塩基欠失部位を持つオリゴあるいはペプチド核酸を加えることで形成される疎水性空間において部位特異的にアルキル化を誘導できる分子の開発を目指した。これらの分子の開発は選択的な新規遺伝子発現制御の方法論として展開できると期待される。

研究成果の概要(英文)：Alkylation to DNA is one of the mechanisms on the anticancer drug. Some of the alkylating agents, for example, cisplatin, melphalan etc., are used as the anticancer drugs for clinical application. But these drugs did not have the selectivity to target genes, resulted in the serious side effects. The alkylated reactions with high selectivity to target genes have the potential for developing the new anticancer drugs without side effects. In our research, we attempted the development the site directed alkylation activated with proximity effects to a target base in the hydrophobic space. We designed the new alkylated probes activated by hydrogen bonding formation to a target base in hydrophobic space. These probes consisted of alkylating part, 2-amino-6-vinylpurine, and binding part, Hoechst, exhibited high selectivity to thymine. These probes are expected to apply for the new tool as a selective control of gene expression

研究分野：核酸化学、ケミカルバイオロジー

キーワード：アルキル化反応 塩基欠損部位 疎水空間 核酸高次構造 クリックケミストリー 蛍光標識

1. 研究開始当初の背景

ヒトゲノム解析が完了して以来、ここ 10 年間の遺伝子発現機構に関する研究は凄まじい勢いで進展している。特に遺伝情報の単なる仲介役と考えられていた RNA が実に多彩な機能を持つことが明らかになってきており、複雑な高次生命現象の制御に重要な役割をもつことが指摘されている。このような背景のもと、特定の DNA あるいは RNA に対する選択的なアルキル化反応の開発は、標的遺伝子の発現のみを制御できる可能性をもち、新規遺伝子発現制御の方法論として展開できると期待される。DNA に対するアルキル化反応は古くから変異の誘導剤さらには抗がん剤として研究が進められてきた。しかし、現在までに、DNA あるいは RNA を配列選択的にアルキル化する方法論はほとんど開発されていない。

一方、2本鎖 DNA は遺伝子の損傷や複製エラーが生じた際に、バルジ構造あるいはミスマッチ構造をとることがわかってきている。さらに機能性 RNA ではバルジ構造あるいはヘアピン構造がその機能発現に重要な役割を果たしていることがわかってきており、これらの構造に結合する低分子について、精力的な研究が検討されている。これまでの高次構造結合低分子研究の結果から、これらの構造が疎水空間を含んでいることが示唆されており、水素結合がこれらの空間における認識機構として有効に機能することが示されている。

既に、我々は、独自の概念に基づき、標的 DNA あるいは RNA に対して、ピンポイントの選択性を持つアルキル化反応として、標的塩基に対して水素結合を形成し活性化され反応する自己活性化人工核酸を開発してきた。これらの人工核酸を組み込んだオリゴヌクレオチドは標的 DNA あるいは RNA に対して複合体を形成し、反応点同志が接近することで、非常に効率的に反応することを既に報告している。

2. 研究の目的

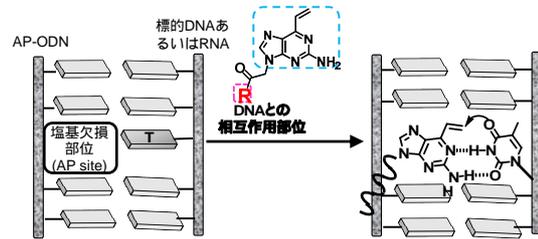
本研究では標的塩基に対し水素結合を形成し活性化される反応性塩基の構造に基づき、標的 DNA や RNA に対して形成される疎水性空間において、ピンポイントの選択性でアルキル化する低分子プローブの開発を目指した。これらの低分子プローブは標的の高次構造内で、選択的にアルキル化反応を誘導することが期待される。核酸高次構造は遺伝子発現制御に働く蛋白質が結合することから、この構造内で核酸塩基をアルキル化することで、人工的に標的遺伝子発現を制御する方法論になりうると考えられる。

3. 研究の方法

DNA あるいは RNA の疎水空間内で標的塩基に対して水素結合を形成し、活性化され反応するアルキル化プローブとして図 1 に示

す分子を設計した。

図 1 塩基欠損部位でアルキル化するプローブの設計
アルキル化反応部位(2-AVP)

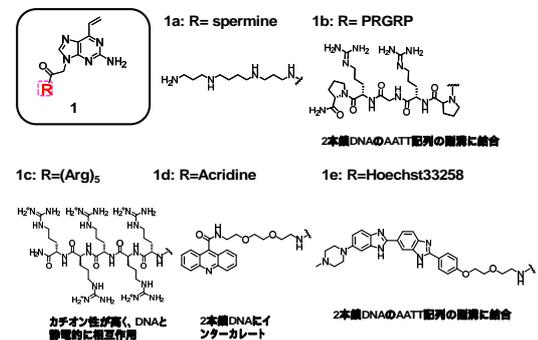


このプローブは、反応性塩基部位として標的塩基に対して水素結合形成により活性化される 2-amino-6-vinylpurine (AVP)及び核酸に対して親和性を向上する部分(R)を持つ。核酸に対して親和性を持つ R 構造部分で標的核酸に対して近接し、核酸の疎水空間で AVP が標的塩基に対し水素結合を形成し選択的にアルキル化することを期待した。まず、R 部分の構造として、結合モードが異なる分子構造を導入し、反応性を検討した。合成したプローブの反応性は塩基欠損部位を持つ 2 本鎖 DNA を用いて検討することとした。

4. 研究成果

まず、親和性を向上する部分(R)としてカチオン性のポリアミンであるスペルミンを導入したプローブ(1a)の合成を検討した。しかし、アミノ基部分と AVP のビニル基が反応することがわかった。そこで次に、スペルミンの代わりに 2 本鎖 DNA のマイナーストランドに結合することが報告されているプロリン-アルギニン-グリシン-アルギニン-プロリンのペプタペプチド(1b)を導入したプローブ合成を検討した。その結果、固相合成によりこのプローブが合成できることがわかった。合成したペプタペプチドを導入したプローブは塩基欠損部位の向かい側のチミンに対して選択的に反応するものの、その効率は非常に低いことがわかった。

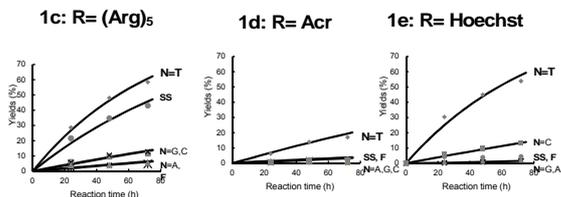
図 2 合成したプローブの構造



そこで、カチオン性を持ち、求核性を持たないペプチドとしてペンタアルギニンを(1c)を導入したプローブを合成し、その反応性を検討した。その結果、チミンに対するアルキル化反応収率は約 60% であり、塩基選択性も高いことがわかった。

図3 塩基欠損部位を持つ2本鎖DNAに対する2-AVPプローブの反応性の比較

DNA1: 3'-d(GTC GCG **AP**TTT AAG CGC TCA)-5' (AP=)
 DNA2: 5'-FAM-d(CAG CGC **NA**AA TTC GCG AGT)-3' (N=T, C, A, G)



SS: single strand (DNA2, N=T) F: full match (DNA1, AP=A, DNA2, N=T)

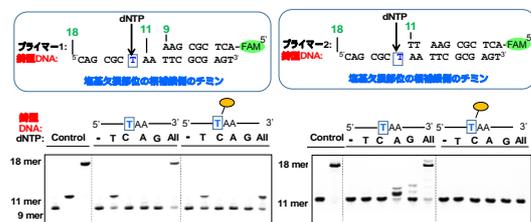
しかし、1本鎖DNAにも同程度、反応することがわかった。この結果はこのプローブがポリカチオン部分で非選択的に1本鎖DNAにも結合し近接することで反応したと考えられる。

これらの結果を踏まえて、次にR部分の構造をさらに検討することとした。2本鎖DNAに対する選択性を向上する方法として、インターカレーターであるアクリジン(1d)、さらにはマイナーグループバインダーであるヘキストを導入したプローブ(1e)を設計した。これらのプローブは、アクリジン及びヘキスト部分の構造を合成した後、AVP部分とカップリングすることで合成した。

合成したプローブの反応性を検討した結果を図3にまとめている。

アクリジンプローブは1本鎖に対してはほとんど反応しないものの反応率はそれほど高くないことがわかった。一方、ヘキストプローブは反応率も高く選択性も高いことがわかった。そこで、このプローブの反応について、さらに詳細に調べた。まず、プローブが付加した構造決定を行うために、脱塩基部位をもつ2本鎖とヘキストプローブを反応させた後、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によりその付加体を単離した。この付加体を用いて、構造決定を容易に行う方法としてヌクレオシドレベルへの酵素加水分解を検討したが、付加体由来の化合物を得ることはできなかった。

図4 Hoechst-AVP付加体を鋳型に用いたプライマー伸長反応



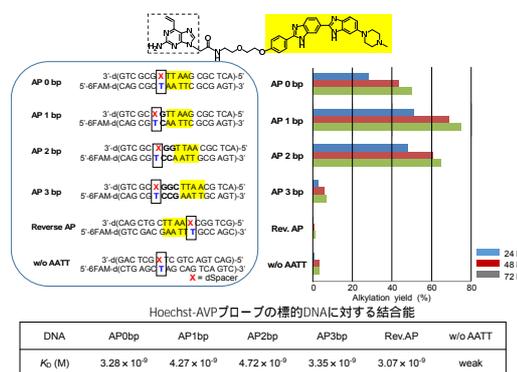
そこで、次に単離した付加体を用いて、プライマー伸長反応を検討した。図4に示す2種類のプライマーを用いて、伸長反応を行ったところ、付加体をもつテンプレートを用いた際には、塩基欠損部位の向かいにあるチミンのところで伸長反応の停止が見られた。この結果はヘキストプローブが塩基欠損部位の

向かいのチミンをアルキル化したことを示唆している。

次に、標的とする塩基欠損部位とプローブ中のヘキストが結合する配列であるAATT部位との距離が異なる2本鎖DNAを用いてアルキル化反応を検討した。

図5に今回、用いた配列及びそれぞれの配列に対する反応性をまとめてある。その結果、プローブの反応性は、Hoechst結合部位であるAATT配列と塩基欠損部位の間が1塩基離れている配列に対して一番高いこと、さらに3塩基離れた配列に対しては、非常に低いことがわかった。Hoechstの結合部位であるAATTが塩基欠損部位の逆側にある配列及びAATT配列のない配列に対して、まったく反応しないことがわかった。

図5 Hoechst-AVP反応性のHoechst結合部位と反応点の距離依存性



次に、反応性を持たないHoechst-AVP(Et)プローブを用いて、今回用いた配列に対する、結合能を評価した。Hoechstは2本鎖DNAに結合することで蛍光強度が増大することから、蛍光滴定により解離定数を算出した。その結果を表にまとめている。この結果から明らかなように、Hoechst-AVP(Et)プローブの結合能は、今回用いたすべての配列でほとんど同等であることがわかった。

これらの結果から、Hoechst-AVPプローブの標的配列に対する反応性の違いは、プローブの結合能の違いによるものではないことさらにはHoechst-AVPプローブの高い反応性には、Hoechst部位がAATT配列に結合し、反応性部位であるAVPを塩基欠損部位の向かいにあるチミンに対して適切な位置に近接することが重要であることがわかった。すなわち、今回用いたプローブの反応性には、Hoechst部位とAVP部位をつなぐリンカーの長さが大きな影響を与えることがわかった。今回の結果において、Hoechstの結合部位であるAATTが塩基欠損部位の逆側にある配列でまったく反応しなかったことは、Hoechst-AVPプローブのHoechst部位が配向性も認識していることを示しており、非常に興味深いと考えている。

以上、本研究では塩基欠損部位を持つ2本鎖DNA内において非常に選択的なアルキル化を実現することができた。本研究で開発した

方法論では、塩基欠損部位を持つオリゴヌクレオチドとプローブを用いることで、DNAおよびRNAの特定の位置を選択的にアルキル化する可能性を持っている。

本成果は特定の遺伝子発現を制御する新しい方法論へとつながるものと期待している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計9件)

- 1) Kusano, S., Ishiyama, S., Lam, Sik Lok, Mashima, T., Katahira, M., Miyamoto, K., Aida, M., Nagatsugi, F. *Nucl.Acids Res.* **43**, 7717-7730 (2015) 査読有10.1093/nar/gkv797
- 2) Sato, N., Tsuji, G., Sasaki, Y., Usami, A., Moki, T., Onizuka, K., Yamada, K. and Nagatsugi, F. A New Strategy for Site-Specific Alkylation of DNA using Oligonucleotides Containing an Abasic site and Alkylating Probes. *Chem. Commun.*, **51**, 14885-14888 (2015). 査読有10.1039/c5cc03915k
- 3) Kikuta, K., H. Piao, J. Brazier, Taniguchi, Y., Onizuka, K., Nagatsugi, F., Sasaki, S. Stabilization of the i-motif structure by the intra-strand cross-link formation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 3307-3310(2015). 査読有10.1016/j.bmcl.2015.05.064
- 4) Akisawa, T., Ishizawa, Y., Nagatsugi, F., Synthesis of Peptide Nucleic Acids Containing a Crosslinking Agent and Evaluation of Their Reactivities. *Molecules*, **20**, 4708-4719 (2015). 査読有10.3390/molecules20034708
- 5) Kusano, S., Haruyama, T., Ishiyama, S., Hagihara, S. and Nagatsugi, F. Development of Crosslinking Reactions to RNA Triggered by Oxidation, *Chem. Commun.*, **50**, 3951-3954 (2014) 査読有10.1039/c3cc49463b
- 6) Onizuka, K., Nagatsugi, F., Ito, Y. and Abe, H. Automatic Pseudorotaxane Formation Targeting on Nucleic Acids Using a Pair of Reactive Oligodeoxynucleotides. *J. Am. Chem. Soc.*, **136**, 7201-7204 (2014). 査読有10.1021/ja5018283
- 7) Hagihara, S. Lin, W.C., Kusano, S., Chao, X.G., Hori, T., Imoto, S., Nagatsugi, F., The crosslink formation of 2'-OMe oligonucleotide containing 2-amino-6-vinylpurine protects mRNA from miRNA-mediated silencing, *ChemBiochem*, **14**, 1427-1429 (2013) 査読有10.1002/cbic.201300382
- 8) Nishimoto, A.; Jitsuzaki, D.; Onizuka, K.; Taniguchi, Y.; Nagatsugi, F.; Sasaki, S. 4-vinyl-substituted pyrimidine nucleosides exhibit the efficient and selective formation of interstrand cross-links with RNA and duplex DNA. *Nucl.Acids Res.* **41**,

6774-6781 (2013) 査読有10.1093/nar/gkt197

- 9) Nagatsugi, F.; Takahashi, Y.; Kobayashi, M.; Kuwahara, S.; Kusano, S.; Chikuni, T.; Hagihara, S.; Harada, N. Synthesis of peptide-conjugated light-driven molecular motors and evaluation of their DNA-binding properties. *Molecular Biosystems*, **9**, 969-973 (2013). 査読有10.1039/c2mb25520k

〔学会発表〕(計111件)

1. Norihiro Sato, Tomohito Kobayashi, Yoshihiro Sasaki, Kazumitsu Onizuka, Ken Yamada, Fumi Nagatsugi, Development of the strategy for the selective chemical modification in a hydrophobic site in DNA or RNA, Pacificchem2015, Hilton Hotel, Hawaii, USA 2015/12/15-20,
2. 永次 史, 秋澤拓也、架橋反応性塩基を持つ擬相補的PNAの合成と2本鎖DNAに対する反応性評価、第1回日本核酸医薬学会年会、京都テルサ(京都) 2015/11/30-12/2
3. Fumi Nagatsugi, Development of the crosslinking reactions to RNA for application in cells, Pharmaceutical Science Symposium 2015, Sakura hall, Sendai, Japan, 2015/10/16-17 招待講演
4. Kenji Kikuta, Piao Haishun, John Brazier, Kazumitsu Onizuka, Fumi Nagatsugi, Yosuke Taniguchi, Shigeki Sasaki, The effect of intra-strand cross-link formation on the stability of DNA i-motif, The 42th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Egret Himeji, Himeji Japan, 2015/9/23-25
5. Fumi Nagatsugi, Shuhei Kusano, Shogo Ishiyama, Sik Lok Lam, Tsukasa Mashima, Masato Katahira, Development of the selective crosslinking reactions to 8-oxoguanine, The 42th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Egret Himeji, Himeji Japan, 2015/9/23-25
6. 永次 史、効率的遺伝子発現制御を目指した選択的化学反应の開発、第32回有機合成セミナー、ニューウェルシティ湯河原(湯河原) 2015/9/15-17 招待講演
7. 山田 研、石山 翔午、鬼塚 和光、永次 史、核酸結合性蛋白質との反応を目指したビニルトリアジン含有する核酸誘導体の開発、第9回バイオ関連化学シンポジウム、熊本大学工学部・黒髪南キャンパス(熊本) 2015/9/10-12
8. 宇佐美 彬、佐藤憲大、鬼塚和光、永次 史、RNAを高次構造選択的に化学修飾する小分子プローブの開発、第9回バイオ関連化学シンポジウム、熊本大学工学部・黒髪南キャンパス(熊本) 2015/9/10-12
9. 菊田健司、朴 海順、John Brazier、鬼塚和光、永次 史、谷口陽祐、佐々木茂貴、鎖内クロスリンク形成によるi-motif

- の安定化、第9回バイオ関連化学シンポジウム、熊本大学工学部・黒髪南キャンパス(熊本)2015/9/10-12
10. 鬼塚和光、Hazemi Madoka Eurika、永次史、生化学ツールのための架橋形成した天然擬似2本鎖RNAの合成、第9回バイオ関連化学シンポジウム、熊本大学工学部・黒髪南キャンパス(熊本)2015/9/10-12
 11. 佐々木欣宏、佐藤憲大、辻徹一郎、山田研、永次史、DNA高次構造選択的にアルキル化する小分子の開発、第9回バイオ関連化学シンポジウム、熊本大学工学部・黒髪南キャンパス(熊本)2015/9/10-12
 12. 永次史、佐藤憲大、佐々木欣宏、辻徹一郎、小林倫仁、山田研、鬼塚和光、核酸高次構造における選択的アルキル化反応の開発、日本ケミカルバイオロジー学会 第11回年会、東北大学 川内萩ホール(仙台)2015/6/10-12
 13. 秋澤 拓也、永次史、遺伝子の発現を効率よく制御可能な架橋反応性ペプチド核酸(PNA)の開発、日本ケミカルバイオロジー学会 第11回年会、東北大学 川内萩ホール(仙台)2015/6/10-12
 14. 山田研、石山 翔午、鬼塚和光、永次史、核酸結合性蛋白質との架橋反応を目指したビニルトリアジン誘導体の開発、日本ケミカルバイオロジー学会 第11回年会、東北大学 川内萩ホール(仙台)2015/6/10-12
 15. 小林倫仁、鬼塚和光、永次史、RNAのミスマッチ構造選択的にアルキル化する分子の開発、日本ケミカルバイオロジー学会 第11回年会、東北大学川内萩ホール(仙台)2015/6/10-12
 16. Norihiro Sato, Gen-ichiro Tsuji, Kazumitsu Onizuka, Fumi Nagatsugi, Development of the Strategy for the Selective Chemical Modification in an Abasic Site of Duplex DNA, 3rd Asian Chemical Biology Conference, Ngee an Kongsi Auditorium, University Town, Singapore, 2014/12/15-17
 17. Fumi Nagatsugi, Shuhei Kusano, Takuya Haruyama, Shogo Ishiyama, Kazumitsu Onizuka, Development of the Crosslinking Reaction Activated by Oxidation 9thInternational Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia (ICCEOCA), Eastin Hotel Petaling Jaya, Selengor, Malaysia, 2014/12/1-5
 18. 佐藤 憲大、辻 徹一郎、茂木 琢真、鬼塚和光、永次史、疎水空間を有する2本鎖DNAを化学修飾する分子プローブの合成と評価、第40回反応と合成の進歩シンポジウム、東北大学川内キャンパス・川内萩ホール(仙台)2014/11/10-11
 19. 阿部 友亮、山田研、井田 裕太、草野 修平、萩原 伸也、永次史、架橋反応性7-デアザ-6-ビニルグアノシン誘導体の合成とその架橋反応特性、第40回反応と合成の進歩シンポジウム、東北大学川内キャンパス・川内萩ホール(仙台)2014/11/10-11
 20. Norihiro Sato, Gen-ichiro Tsuji, Takuma Moki, Kazumitsu Onizuka, Fumi Nagatsugi Development of the Method for Selective Modification of Duplex DNA with a Hydrophobic Pocket, The 41th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Kitakyushu International Conference Center, Kitakyushu, Japan, 2014/11/5-7
 21. F. Nagatsugi, Inhibition of the miRNA Function by Using of Crosslink Reactions, The 1st International Symposium of Chemistry and Biology of RNA Interference, Kitakyushu International Conference Center, Kitakyushu, Japan, 2014/11/4 招待講演
 22. Shuhei Kusano, Takuya Haruyama, Shogo Ishiyama, Kazumitsu Onizuka, Ken Yamada and Fumi Nagatsugi, Development of the Self Activated Cross-linking Agents for the Gene Regulation in Cells, 3rd Switzerland-Japan Biomolecular Chemistry Symposium (SJBCS), Bern University, Bern Switzerland, 2014/10/2-3 招待講演
 23. 永次史、草野修平、井田裕太、阿部友亮、山田研、鬼塚和光、遺伝子標的選択的化学反应の開発とその応用、化学会東北大会、山形大学(米沢)2014/9/23-24 招待講演
 24. 佐藤 憲大、辻 徹一郎、茂木 琢真、鬼塚和光、永次史、酸化反応をトリガーとする架橋反応の開発、第8回バイオ関連化学シンポジウム、岡山大学・津島キャンパス(岡山)2014/9/11-13
 25. 井田 裕太、山田研、草野 修平、萩原 伸也、永次史、架橋反応性7-デアザグアノシン誘導体の合成とその化学的性質、第8回バイオ関連化学シンポジウム、岡山大学・津島キャンパス(岡山)2014/9/11-13
 26. 秋澤 拓也、永次史、架橋反応性核酸塩基をもつペプチド核酸(PNA)の合成と機能性評価、アンチセンス・遺伝子・デリバリー シンポジウム 2014、東京医科歯科大学(東京)2014/9/8-9
 27. Shuhei Kusano, Takuya Haruyama, Shogo Ishiyama, Kazumitsu Onizuka and Fumi Nagatsugi, Highly Efficient Crosslink Reactions Triggered by Oxidation, XXI Round Table on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids Chemical Biology of Nucleic Acids, Lecture-Conference Center of Poznań University of Technology, POZNAŃ, POLAND, 2014/8/24-28 **selected oral**
 28. 秋澤 拓也、石澤 悠樹、永次史、架橋反応性核酸塩基を導入したペプチド核酸の合成と架橋反応性評価、日本ケミカ

- ルバイオロジー学会 第9回年会、大阪大学豊中キャンパス、大阪大学会館(吹田)2014/6/11-13
29. 永次 史、遺伝子発現の化学的制御を目指した機能性分子の創製とその機能性評価、第3回 慶応義塾大学 戦略的研究基盤形成支援事業シンポジウム～グリーンイノベーションとライフイノベーションの架け橋～、慶応義塾大学日吉キャンパス(横浜) 2013/12/21、招待講演
 30. 永次 史、萩原伸也、草野修平、架橋反応性核酸を用いた細胞内における遺伝子発現制御に向けた検討、第23回アンチセンスシンポジウム、徳島大学(徳島) 2013/11/28-29
 31. 秋澤 拓也、石澤 悠樹、永次 史、架橋反応性ペプチド核酸の合成と反応性検討、第23回アンチセンスシンポジウム、徳島大学(徳島) 2013/11/28-29
 32. 永次 史、次世代型核酸医薬を目指した架橋反応性核酸の開発、第7回次世代を担う医療薬科学シンポジウム、片平さくらホール(仙台) 2013/11/23-24、招待講演
 33. Gen-ichiro Tsuji, Norihiro Sato, Takuma Moki, Fumi Nagatsugi, Development of Molecular Probe for the Selective Modification in an Abasic Site, The 40th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2013, Kanagawa University, Yokohama, Japan, 2013/11/13-15
 34. Shuhei Kusano, Takuya Haruyama, Nao Iwamoto, Shinya Hagihara, Fumi Nagatsugi, Development of the Oxidation Induced Crosslink Reaction The 40th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2013, Kanagawa University, Yokohama, Japan, 2013/11/13-15
 35. 石山 翔午, 草野 修平, 永次 史、 Guaninおよび8-オキソグアニンに対する架橋形成ピリミジン誘導体の反応性、第39回反応と合成の進歩シンポジウム、九州大学 医学部 百年講堂(福岡) 2013/11/5-6
 36. 辻巖一郎、佐藤憲大、茂木琢真、永次 史、塩基欠損部位を有する2本鎖DNAに対する化学的修飾法の開発、第39回反応と合成の進歩シンポジウム、九州大学 医学部 百年講堂(福岡) 2013/11/5-6
 37. 永次 史、萩原伸也、草野修平、春山拓哉、架橋反応性核酸を用いたIn Cell Chemistryへの展開(Selected Oral) 第39回反応と合成の進歩シンポジウム、九州大学 医学部 百年講堂(福岡) 2013/11/5-6
 38. Fumi Nagatsugi, Regulation of the Gene Expression by the Use of Reactive Oligonucleotides, Technologies for Medical Diagnostic and Therapy Symposium, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, 2013/10/22-23 招待講演
 39. Fumi Nagatsugi, Shinya Hagihara, Shuhei Kusano, Takuya Akisawa, Effective Chemical Strategy for Regulation of Gene Expression using Cross-linking Reactions, 9th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society, Napoli, Italia, 2013/10/6-8
 40. 井田裕太、萩原伸也、草野修平、永次 史、コンフォメーションを固定した新規架橋反応性核酸の開発、第7回バイオ関連化学シンポジウム、名古屋大学(名古屋) 2013/9/27-29
 41. 草野 修平、岩本 直生、萩原 伸也、永次 史、酸化反応をトリガーとする架橋反応の開発、第7回バイオ関連化学シンポジウム、名古屋大学(名古屋) 2013/9/27-29
 42. Fumi Nagatsugi, Shinya Hagihara, Shuhei Kusano, Norihiro Sato, Development of the Effective Chemical Strategy for Regulation of Gene Expression, Gordon Conference on nucleoside, nucleotide and oligonucleotide, Newport, U.S.A, 2013/6/30-7/6.
 43. 佐藤憲大、茂木琢真、萩原伸也、永次 史、塩基欠損部位を持つ2本鎖DNAにおける化学修飾法の開発、日本ケミカルバイオロジー学会 第8回年会、東京医科歯科大学(東京) 2013/6/19-21
 44. 草野 修平、岩本 直生、萩原 伸也、永次 史、効率的遺伝子発現制御を目指した高い架橋形成能を持つビニルプリン誘導体の開発、日本ケミカルバイオロジー学会 第8回年会、東京医科歯科大学(東京) 2013/6/19-21
 45. 永次 史、細胞内における遺伝子発現制御を目指した選択的架橋反応性核酸の開発、日本薬学会東海支部特別講演会、岐阜薬大(岐阜) 2013/5/24、招待講演
- 〔その他〕
ホームページ等
<http://www.tagen.tohoku.ac.jp/labo/nagatsugi/>
6. 研究組織
- (1)研究代表者
 - 永次 史 (NAGATSUGI, Fumi)
 - 東北大学・多元物質科学研究所・教授
 - 研究者番号：90208025
 - (2)研究分担者
 - 山田 研 (YAMADA, Ken)
 - 東北大学・多元物質科学研究所・助教
 - 研究者番号：70736074