

杉山 弘

京都大学大学院理学研究科・教授

生体分子情報－構造－機能統合ナノシステムの構築

§1. 研究実施体制

(1) 杉山グループ

① 研究代表者: 杉山 弘 (京都大学大学院理学研究科、教授)

② 研究項目

新規 DNA ナノ構造の設計と構築、DNA ナノ構造の選択的な配列と機能化、DNA ナノ構造上での生体分子の 1 分子解析、DNA 認識技術の精密化に向けたポリアミドの開発

(2) 森井グループ

① 主たる共同研究者: 森井 孝 (京都大学エネルギー理工学研究所、教授)

② 研究項目

機能性 RNP の構築、人工光合成デバイスの構築と機能評価、機能性タンパク質の構築、タンパク質センサーの構築、機能性ペプチド組織体の構築と評価

(3) 森グループ

① 主たる共同研究者: 森 泰生 (京都大学大学院工学研究科、教授)

② 研究項目

レセプター・イオンチャネル複合体の高機能化、イオンチャネルの高度集積化の解析、高度集積化ナノデバイスの構築

§ 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

1. DNAナノ構造体の機能化と機能の発現 (A-1, A-2, A-13, A-14)

DNA ナノ構造上に対する機能化のため、配列特異的なタンパクの結合と位置特異的な金粒子の配置を行った(図1)。そのため、配列特異的なピロロール・イミダゾール(PI)ポリアミドの配列特異性の1分子解析を行った(図1A)^{A-14}。DNA ナノ構造体上に導入した2本鎖DNAへのアルキル化反応によって、その特異性を見た。合成したPIポリアミドにはビオチンを結合してあり、反応後ストレプトアビジンでラベルが可能である。この結果、特異的な塩基配列に対してアルキル化がおり、ストレプトアビジンでラベルできることが明らかとなった。また、金粒子を2次元に配置できるDNAナノ構造体を設計・構築した(図1B)^{A-1}。DNA構造体には複数の溝を導入し、チオール導入することで特異的な配列に金粒子を溝の内部に固定することが可能となった。

DNAに光架橋するソラレンを用いてDNAナノ構造体の熱に対する安定性の向上を検討した(図1C)^{A-2}。DNAオリガミは自己集合によって形成されるため60°C以上ではその構造を保つことができない。これに対して光架橋することで85°Cまで構造を保てることが明らかとなった。また、この構造体を1次元に集合させることができ、高温でも集合体を作成することが可能となった。これら方法により、DNAナノ構造体の精密な機能化と熱的に安定なDNAナノ構造体の配列化が可能となった。

また、DNAナノ構造の変換を利用した転写の発現系の構築を行った(図1D)^{A-13}。6本の2本鎖DNAからなるチューブ構造体の内部に転写の鋳型となる2本鎖DNAを導入し、配列特異的な1本鎖DNAによって、この構造を開環できるようにした。この機構で開環できることがわかり、それに伴って転写の活性化が可能であった。

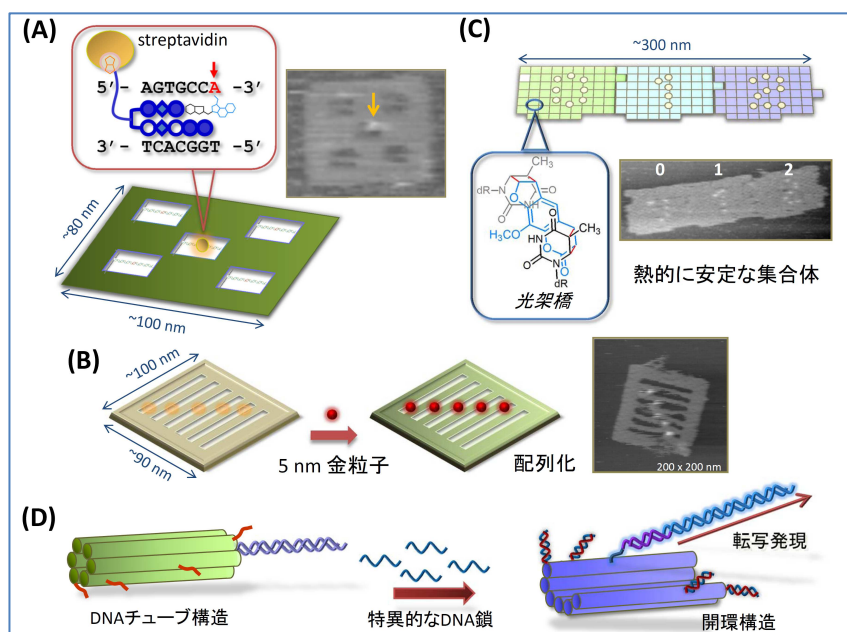


図1 (A) DNA構造体上での配列特異的なアルキル化反応。(B) DNA構造体上での金粒子の配列化。(C)光架橋によるDNA構造体の安定化。(D) DNAナノ構造変換による転写の活性化。

以上のように、DNA構造体への配列・位置選択的な機能化、ナノ構造や集合体の安定化、さらにナノ構造の変換による機能発現を達成した。

2. 設計したDNAナノ構造内での酵素反応の1分子解析

生体分子の構造変化を 1 分子レベルで実時間観察する系の構築を目指し、ナノスケールの構造変化を検出する系を構築した。DNA 組み換え酵素である Cre を用い、その組み換え反応機構を動的にとらえることを検討した。基質となる列を含む 2 本の 2 本鎖 DNA を中空な DNA ナノ構造内に固定した。組み換え反応により、2 本の DNA 鎖のトポロジーが変化する様子を 1 分子で可視化した。また、Cre の 4 量体が反応後に解離する様子と形成の様子も可視化できた。これらの動的な 1 分子観察によって、これまで不明であった 4 量体の形成や解離についてその機構を解析できた。

設計した DNA ナノ構造体上で RNA ポリメラーゼ 1 分子の動的な挙動の観察を行った。T7 RNA ポリメラーゼが転写する鋳型 DNA を 2 次元 DNA ナノ構造体に固定し、RNA ポリメラーゼを加え、転写に関する一連の様子を実時間観測した。RNA ポリメラーゼをナノ構造体に加え、高速 AFM で観察すると、鋳型 DNA 上を RNA ポリメラーゼがスライディングする様子が観測された。また、DNA 構造上で RNA が合成されることが明らかとなり、ヌクレオシド 3 リン酸存在下で、RNA ポリメラーゼが転写を行う一連の様子を高速 AFM によって解析できた。以上のように、設計した DNA ナノ構造体を用いて、DNA 組み換え反応と転写を動的に 1 分子で観察する系の構築に成功した。

3. DNA ナノ構造上に作成した経路上での分子の動きの制御 (A-9)

ナノスケール下で分子の移動を精密に制御するため、開発した移動可能な分子機械(DNA モーター)を DNA ナノ構造体上にさまざまな経路上を制御して動かすことを検討した。DNA 構造体上に 3 箇所分岐した経路を作成し、分岐点にゲートを設けて、DNA モーターの進行方向の制御を行った(図 2A)。AFM 解析と蛍光消光実験の結果、ゲートの開いた方向に DNA モーターは進み、4 つの指定された終着点に移動させることができた(図 2B)。このように、さまざまな経路を DNA 構造体上に作成し、分子の進行方向のナノスケールでの制御を可能とする技術の開発に成功した。

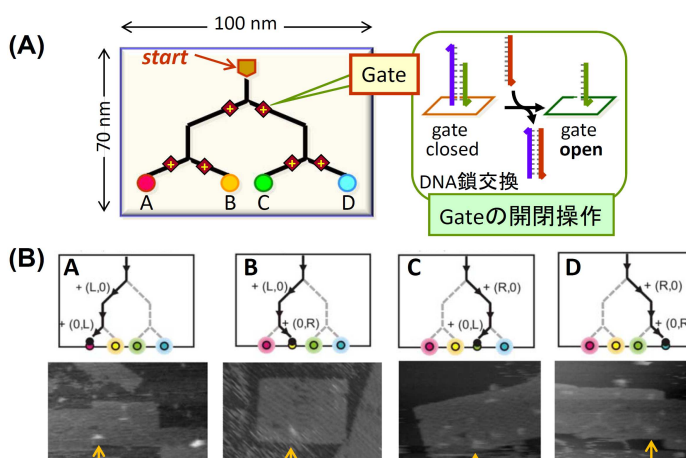


図 2 (A) DNA ナノ構造体上に作成した分岐した経路と分岐に設けたゲートの開閉操作。スタート地点から 4 つの最終地点 A-D まで DNA 分子を誘導する。(B)ゲートの操作により最終地点へ到達した DNA 分子の AFM イメージ。

4. DNA ナノ構造体上への機能性分子固定化技術の開発 (B-6)

DNA ナノ構造体を足場として様々な機能性分子を精微に配置することができれば、バルク中や膜上で混合するだけでは達成困難であった、高効率な物質変換システムの構築や機

能評価システムの構築が可能になると期待できる。しかしながら、これまでもいくつかの報告例はあるものの、生体内での機能面のほとんどをおこなっている蛋白質を自由自在に DNA ナノ構造体へと配置することはいまだできておらず、そのため、集積化したことによる効能についても未知数である。そこで、我々は、DNA 結合性蛋白質である Zinc Finger 蛋白質を用いた DNA ナノ構造体への機能性蛋白質の配置について検討してきた。Zinc Finger 蛋白質は、DNA と強固に結合することができ、そのアミノ酸配列を変えることで、DNA 配列への選択性をテーラーメイドに設計することができる。そこで、異なる 2 種類の Zinc Finger 蛋白質(Zif268 と AZP4)を採用し、これらのキメラ蛋白質を作成し、DNA ナノ構造体への結合能を評価した。その結果、それぞれのキメラ蛋白質は、Zinc Finger 蛋白質を介してアドレス(Zinc Finger 認識配列)特異的に結合していることが明らかとなった。さらに、詳細な検討の結果、一つの DNA ナノ構造体上に 2 つの異なる機能性蛋白質を配置することができることも確認できた。Zinc Finger 蛋白質を用いる長所としては、大腸菌を宿主とした蛋白質発現システムを用いて DNA 結合活性なキメラ蛋白質を容易に調整できることになる。そこで、大腸菌を破碎したのみの夾雑物が多数存在する破碎液中でも DNA ナノ構造体に対してキメラ蛋白質を配置することができれば、煩雑な操作を必要とすることなく、DNA ナノ構造体を機能化することが可能となる。実際に、キメラ蛋白質を含む菌破碎液の希釈用液を DNA ナノ構造体と混合し、ゲルカラム精製を行ったのみで、DNA ナノ構造体上にキメラ蛋白質が配置できたことを確認できた。今後は、これらの知見を活かし、様々な機能性蛋白質を規則的に配向することで、新規な機能を付与したナノ構造体の構築を目指していく。

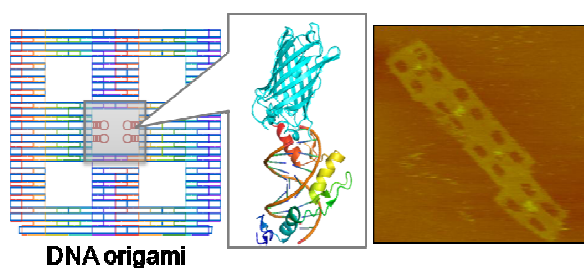


図 3 Zinc Finger 蛋白質を介した DNA ナノ構造体上への機能性タンパク質の固定化。

5. リボヌクレオチドペプチド蛍光センサーの機能拡張 (B-2-4)

生命現象の制御に関わる細胞内シグナル伝達を詳細に解析するためには、それに関与する様々な生体内重要物質を網羅的に検出するための技術が必要である。我々はこれまでに RNA-ペプチド複合体(RNP)を基盤として、リガンドの認識に伴い蛍光変化をするような蛍光性 RNP センサーの構築に成功している(*J. Am. Chem. Soc.* Vol. 133, pp.4567-4579, 2011)。本年度は、本戦略を拡張し、脳内神経伝達物質として知られるドーパミンを検出可能な蛍光性 RNP センサーを、試験管内人工進化法(SELEX 法)を駆使することで調整した。この際に、セレクション方法を工夫することで、選択性や親和性のチューニングに成功している^{B-3}。さらに、各アプタマーモジュール・リンカーモジュール・ペプチドモジュールを自在に組み換えることによってリボヌクレオチドペプチド蛍光センサーの検出対象・検出感度・検出波長などをテーラーメイドに改変することに成功した^{B-2,4}。

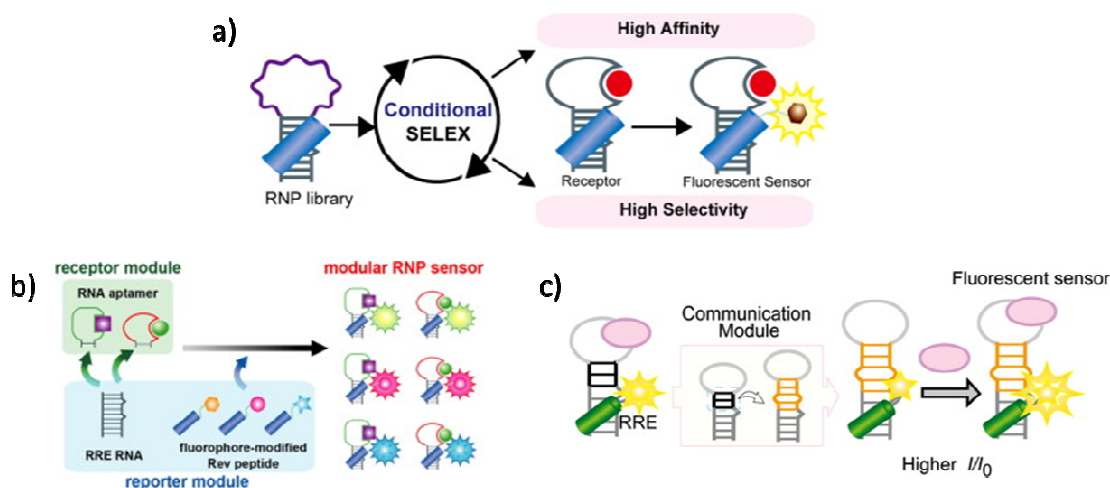


図 4 a)SELEX 法を駆使することにより構築したドーパミン検出用蛍光性 RNP センサー。b), c)モジュールの組み合わせにより構築した蛍光性 RNP センサー。b) アプタマーモジュールまたはペプチドモジュール。c) リンカーモジュールの組み換え例。

6. 酸素濃度を感知する O₂ センサーの同定 (C-9)

生命活動において、酸素(O₂)は必要不可欠な分子である。しかし、高濃度の O₂ は毒性も有することから、生体内においては O₂ 濃度の厳密な制御を可能にする O₂ センサーが不可欠となる。我々は、TRPA1 イオンチャネルが正常 O₂ 分圧から逸脱した O₂ を検知し、生体内の O₂ 濃度を調節していることを明らかにした。高 O₂ 下においては、高い酸化力を有する特定のシステイン残基が

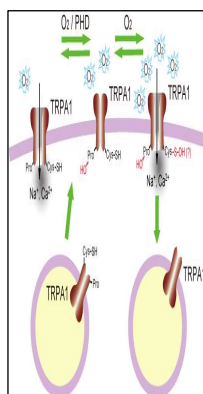


図 5. O₂ センサーTRPA1 の酸素感受性機構

酸化されることで TRPA1 は活性化する。一方、低酸素下においては、プロリンヒドロキシ化酵素 (PHD) によるプロリン残基の水酸化が抑制されることにより TRPA1 は活性化する。また、細胞膜における TRPA1 の発現は、動的に制御されていることも見出した。すなわち、TRPA1 と PHD との複合体の動的な集積化によって、O₂ センサーが細胞表面膜上に構築される。

7. 受容体・イオンチャネル複合体の高機能化

受容体とイオンチャネルの複合体形成を人工的に制御して、高い感受性を有しながら高感度な検出を可能とする生体物質応答細胞システムの構築を目指した。受容体とイオンチャネルの活性を直接連結するために、改変型 G タンパク質(Gα)、改変型 K⁺チャネルを設計し、これらの人工タンパク質を導入したリガンド細胞応答システムを構築した。さらに、受容体・イオンチャネルの高度集積化を可能とする足場タンパク質をこの細胞システムに導入することで、受容体のリガンド認識能をほぼ完全に保持した高感受性細胞の構築にも成功した。この人工細胞システムは、天然に存在する生体システムに比べて100倍のリカンド感受性を有する極めて高感受性な人工的リガンド応答システムである。

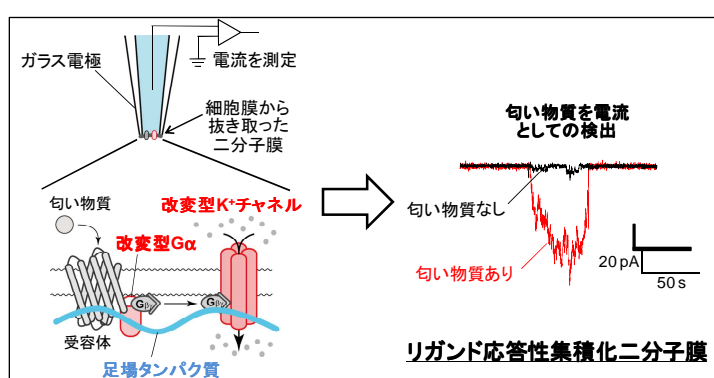


図 6. リガンド応答性集積化二分子膜の応答原理

また、この人工細胞システムからガラス電極を用いて二分子膜を抜き取ることにより高度集積化二分子膜を得た。この集積化二分子膜を用いても、細胞システムと同様のリガンド応答を確認できた。今後は、この集積化二分子膜システムを DNA ナノ構造体上で集積化させ、ナノデバイス構築へと発展させる。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

A. 杉山グループ

- A-1. Endo, M.; Yang, Y.; Emura, T.; Hidaka, K.; Sugiyama, H. “Programmed Placement of gold Nanoparticles onto a silt-type DNA origami Scaffold”. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 10743-10745. (DOI: 10.1039/C1CC13984C)
- A-2. Rajendran, A.; Endo, M.; Hidaka, K.; Sugiyama, H. “Photo-cross-linking-assisted thermal stability of DNA origami structures and its application for higher-temperature self-assembly.” *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133,14488-14491. (DOI: 10.1021/ja204546h)
- A-3. Takagaki, T.; Bando, T.; Kitano, M.; Hashiya, K.; Kashiwazaki, G.; Sugiyama, H. “Evaluation of PI polyamide conjugates with eight-base pair recognition and Improvement of the aqueous solubility by PEGylation.” *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 5986-5902. (doi:10.1016/j.bmc.2011.08.009)
- A-4. Koirala, D.; Dhakal, S.; Ashbridge, B.; Sannohe, Y.; Rodriguez, R.; Sugiyama, H.; Balasubramanian, S.; Mao, H. “Single-Molecule Platform for Investigation of Interaction between G-Quadruplex and small-molecule Ligands.” *Nature Chemistry*, **2011**, 3, 782-787. (doi: 10.1038/nchem.1126)
- A-5. Morinaga, H.; Bando, T.; Takagaki, T.; Yamamoto, M.; Hashiya, K.; Sugiyama, H. “Cysteine Cyclic Pyrrole-Imidazole Polyamide for Sequence-Specific Recognition in the DNA Minor Groove”. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 18924-18930. (DOI: 10.1021/ja207440p)
- A-6. Yasuda, A.; Noguchi, K.; Minoshima, M.; Kashiwazaki, G.; Kanda, T.; Katayama, K.; Mitsunashi, J.; Bando, T.; Sugiyama, H.; Sugimoto, Y. “A DNA Ligand Designed to Antagonize EBNA1 Represses EPSTEIN-BARR Virus-Induced Immortalization.” *Cancer Sci.*, **2011**, 102, 2221-2230. (doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.02098.x)
- A-7. Pandian, G. N.; Shinohara, K.; Ohtsuki, A.; Nakano, Y.; Masafumi, M.; Bando, T.; Nagase, H.; Yamada, Y.; Watanabe, A.; Terada, N.; Sato, S.; Morinaga, H.; Sugiyama, H. “Synthetic Small Molecules for Epigenetic Activation of Pluripotency Genes in Mouse Embryonic Fibroblasts”. *ChemBioChem*, **2011**, 12, 2822-2828. (doi: 10.1002/cbic.201100597)
- A-8. Koirala, D.; Mashimo, T.; Sannohe, Y.; Yu, Z.; Mao, H.; Sugiyama, H. “Intramolecular Folding in Three Tandem Guanine Repeats of Human Telomeric DNA”. *Chem. Commun.*, **2012**, 48,

2006-2008.

- A-9. Rajendran, A.; Endo, M.; Sugiyama, H. "Single-Molecule Analysis Using DNA Origami." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, 51, 874-890. (doi: 10.1002/anie.201102113)
- A-10. Wickham, S. F. J.; Bath, J.; Katsuda, Y.; Endo, M.; Hidaka, K.; Sugiyama, H.; Turberfield, A. J. "A DNA-based molecular motor that can navigate a network of tracks." *Nature Nanotechnology*, **2012**, 7, 169-173. (DOI: 10.1038/NNANO.2011.253)
- A-11. Endo, M.; Miyazaki, R.; Emura, T.; Hidaka, K.; Sugiyama, H. "Transcription Regulation System Mediated by Mechanical Operation of DNA Nanostructure." *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 2852–2855. (DOI: 10.1021/ja2074856)
- A-12. Yoshidome, T.; Endo, M.; Hidaka, K.; Kashiwazaki, G.; Bando, T.; Sugiyama, H. "Sequence-Selective Single-Molecule Alkylation with a Pyrrole-Imidazole Polyamide Visualized in a DNA Nanoscaffold". *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 4654-4660. (DOI: 10.1021/ja209023u)
- A-13. Zhang, W.; Jiang, S.K.; Wu, Y.; Guo, C.X.; Zhang, H. F.; Sugiyama, H.; Chen, X.L. "Discrimination of T/A versus A/T base pairs with pyrrole-imidazole polyamides substituted with a chiral β -hydroxyl- Y-aminobutyric acid/ β - alanine pair." *ChemBioChem*, **2012**, 13, 47-50. (doi: 10.1002/cbic.201100675)
- A-14. Kashiwazaki, G.; Bando, T.; Yoshidome, T.; Masui, S.; Takagaki, T.; Hashiya, K.; Pandian, G. N.; Yasuoka, J.; Akiyoshi, K.; Sugiyama, H. "Synthesis and Biological Properties of Highly Sequence-Specific-Alkylating N-Methylpyrrole-N-Methylimidazole Polyamide Conjugates." *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 2057-2066. (DOI: 10.1021/jm201225z)
- A-15. ASannohe, Y.; Sugiyama, H. "Single Strand DNA Catenane Synthesis Using the Formation of G-Quadruplex Structure." *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 2030-2034. (doi.org/10.1016/j.bmc.2012.01.040)
- A-16. Rajendran, A.; Endo, M.; Sugiyama, H. DNA Origami: "Synthesis and Self-Assembly." *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.* **2012**, 48, 12.9.1-12.9.18. (DOI: 10.1002/0471142700.nc1209s48)
- A-17. Mulholland, N.; Xu, Y.; Sugiyama, H.; Zhao, K. "SWI/SNF-Mediated Chromatin Remodeling Induces Z-DNA Formation on a Nucleosome." *Cell and Bioscience*, (in press). (doi: 10.1186/2045-3701-2-3)

- A-18. Pandian, G. N.; Ohtsuki, A.; Bando, T.; Sato, S.; Hashiya, K.; Sugiyama, H. "Development of Programmable Small DNA-Binding Molecules with Epigenetic Activity for Induction of Core Pluripotency Genes." *Bioorg. Med. Chem.* (in press). (doi.org/10.1016/j.bmc.2012.02.032)
- A-19. Rajendran, A.; Endo, M.; Sugiyama, H. "Structure and Functional Analysis of Proteins by High-Speed Atomic Force Microscopy". *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.* (in press).
- A-20. Endo, M.; Sugiyama, H., "Recent Progress in DNA origami technology." *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.* **2011**, 12.8.1-17.8.19. (DOI: 10.1002/0471142700.nc1208s45)

B. 森井グループ

- B-1. Matsumoto, K.; Takahashi, N.; Suzuki, A.; Morii, T.; Saito, Y.; Saito, I. "Design and synthesis of highly solvatochromic fluorescent 2'-deoxyguanosine and 2'-deoxyadenosine analogs ", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 21, No. 3, pp.1275-1278. (DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.11.129)
- B-2. Nakano, S.; Nakata, E.; Morii, T. "Facile conversion of RNA aptamers to modular fluorescent sensors with tunable detection wavelengths", *Bioorg. Med. Chem. Lett.* Vol. 21, No. 3, pp.4503-4506. (DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.05.120)
- B-3. Liew, F. F.; Hasegawa, T.; Fukuda, M.; Nakata, E.; Morii, T. "Construction of dopamine sensors by using fluorescent ribonucleopeptide complexes", *Bioorg. Med. Chem.* vol.19, No. 15, pp. 4473-4481. (DOI: 10.1016/j.bmc.2011.06.031)
- B-4. Liew, F. F.; Hayashi, H.; Nakano, S.; Nakata, E.; Morii, T. "A ribonucleopeptide module for effective conversion of an RNA aptamer to a fluorescent sensor", *Bioorg. Med. Chem.* vol.19, No. 19, pp. 5771-5775. (DOI: 10.1016/j.bmc.2011.08.031)
- B-5. Anraku, K.; Inoue, T.; Sugimoto, K.; Kudo, K.; Okamoto, Y.; Morii, T.; Mori, Y.; Otsuka, M. "Design and synthesis of biotinylated inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate targeting Grp1 pleckstrin homology domain ", *Bioorg. Med. Chem.* vol.19, No. 22, pp. 6833-6841. (DOI:10.1016/j.bmc.2011.09.035)
- B-6. Nakata, E.; Liew, F. F.; Uwatoko, C. Kiyonaka, S. Mori, Y.; Katsuda, Y.; Endo, M.; Sugiyama, H.; Morii T. "Zinc finger proteins for site-specific protein positioning on DNA origami ", *Angew Chem. Int. Ed.*, **2012**, vol.51, No. 10, pp. 2421-2424. (DOI: 10.1002/anie.201108199)
- B-7. Inoue, M.; Konno, T.; Tainaka, K.; Nakata, E.; Yoshida, H.; Morii, T. "Positional effects of

phosphorylation on the stability and the morphology of tau-related amyloid fibrils”, *Biochemistry*, **2012**, vol.51. No. 10, pp.1396-1406. (DOI: 10.1021/bi201451z)

C. 森グループ

- C-1. Aritomi, S.; Wagatsuma, H.; Numata, T.; Uriu, Y.; Nogi, Y.; Mitsui, A.; Konda, T.; Mori, Y.; Yoshimura, M. “Expression of N-type calcium channels in human adrenocortical cells and their contribution to corticosteroid synthesis.” *Hypertens. Res.*, **34**, 193-201 (2011). (doi: 10.1038/hr.2010.191)
- C-2. Chen, X.; Numata, T.; Li, M.; Mori, Y.; Orser, B. A.; Jackson, M. F.; Xiong, Z. G.; Macdonald, J. F. “The modulation of TRPM7 currents by nafamostat mesilate depends directly upon extracellular concentrations of divalent cations.” *Mol Brain*, **3**, 38 (2011).
- C-3. Weiss, N.; Sandoval, A.; Kiyonaka, S.; Felix, R.; Mori, Y.; De Waard, M. “Rim1 modulates direct G-protein regulation of Ca_v2.2 channels.” *Pflugers Arch.*, **461**, 447-459 (2011). (doi: 10.1007/s00424-011-0926-5)
- C-4. Gandini, M.A.; Sandoval, A.; González-Ramírez, R.; Mori, Y.; de Waard, M.; Felix, R. “Functional Coupling of Rab3-interacting Molecule 1 (RIM1) and L-type Ca²⁺ Channels in Insulin Release”. *J. Biol. Chem.*, **286**, 15757-15765 (2011). (doi: 10.1074/jbc.M110.187757)
- C-5. Kitajima, N.; Watanabe, K.; Morimoto, S.; Sato, Y.; Kiyonaka, S.; Hoshijima, M.; Ikeda, Y.; Nakaya, M.; Ide, T.; Mori, Y.; Kurose, H.; Nishida, M. “TRPC3-mediated Ca²⁺ influx contributes to Rac1-mediated production of reactive oxygen species in MLP-deficient mouse hearts” *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **409**, 108-113 (2011). (doi: 10.1016/j.bbrc.2011.04.124)
- C-6. Kim, M.S.; Lee, K.P.; Yang, D.; Shin, D.M.; Abramowitz, J.; Kiyonaka, S.; Birnbaumer, L.; Mori, Y.; Muallem, S. “Genetic and pharmacologic inhibition of the Ca²⁺ influx channel TRPC3 protects secretory epithelia from Ca²⁺-dependent toxicity” *Gastroenterology*, **140**, 2107-2115 (2011). (doi: 10.1053/j.gastro.2011.02.052)
- C-7. Kitano, M.; Moriyama, S.; Ando, Y.; Hikida, M.; Mori, Y.; Kurosaki, T.; Okada T. “Bcl6 Protein Expression Shapes Pre-Germinal Center B Cell Dynamics and Follicular Helper T Cell Heterogeneity.” *Immunity*, **34**, 961-972 (2011). (doi: 10.1016/j.immuni.2011.03.025)
- C-8. Wang, H.; Koshi, Y.; Minato, D.; Nonaka, H.; Kiyonaka, S.; Mori, Y.; Tsukiji, S.; Hamachi I. “Chemical cell-surface receptor engineering using affinity-guided, multivalent

organocatalysts.” *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 12220-12228 (2011). (doi: 10.1021/ja204422r)

C-9. Takahashi, N.; Kuwaki, T.; Kiyonaka, S.; Numata, T.; Kozai, D.; Mizuno, Y.; Yamamoto, S.; Naito, S.; Knevels, E.; Carmeliet, P.; Oga, T.; Kaneko, S.; Suga, S.; Toshiki, N.; Yoshida, J.; Mori, Y. “TRPA1 underlies a sensing mechanism for O₂.” *Nature Chem. Biol.* **7**, 701-711 (2011). (doi: 10.1038/nchembio.640)

C-10. Xie, Y. F.; Belrose, J.C.; Lei, G.; Tymianski, M.; Mori, Y.; Macdonald, J. F.; Jackson, M. F. “Dependence of NMDA/GSK3beta Mediated Metaplasticity on TRPM2 Channels at Hippocampal CA3-CA1 Synapses.” *Mol. Brain*, **4**, 44 (2011). (doi: 10.1186/1756-6606-4-44)

C-11. Katano, M.; Numata, T.; Aguan, K.; Hara, Y.; Kiyonaka, S.; Yamamoto, S.; Miki, T.; Sawamura, S.; Suzuki, T.; Yamakawa, K.; Mori, Y. “The juvenile myoclonic epilepsy-related protein EFHC1 interacts with the redox-sensitive TRPM2 channel linked to cell death.” *Cell Calcium*, **51**, 179-185 (2012). (doi.org/10.1016/j.ceca.2011.12.011)

(3-2) 知財出願

- ① 平成 23 年度特許出願件数(国内 1 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 5 件)