

図 1 7 無孔性GMAグラフトカプロン酸NHSのミスマッチ評価

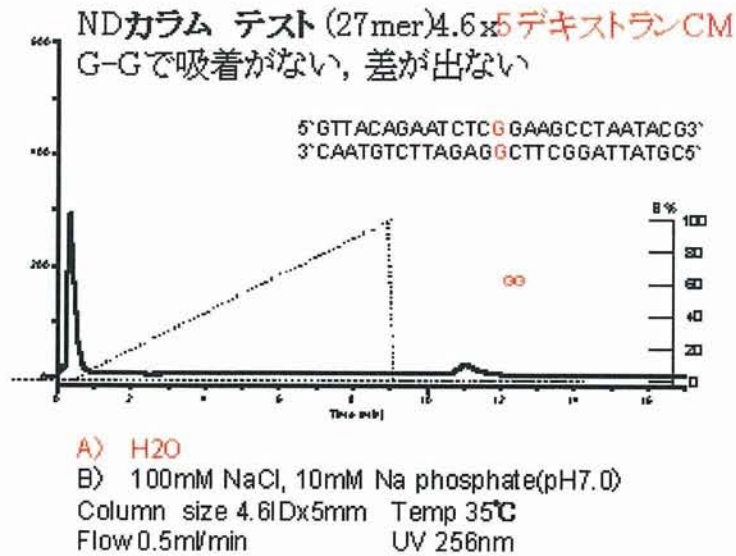


図 1 8 無孔性GMAデキストラン酢酸のミスマッチ評価

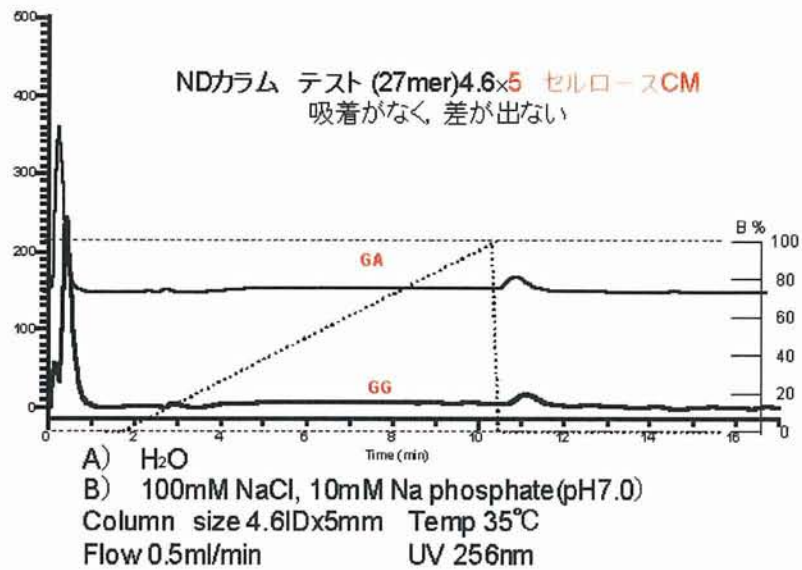


図 1 9 多孔性GMAデキストラン酢酸のミスマッチ評価

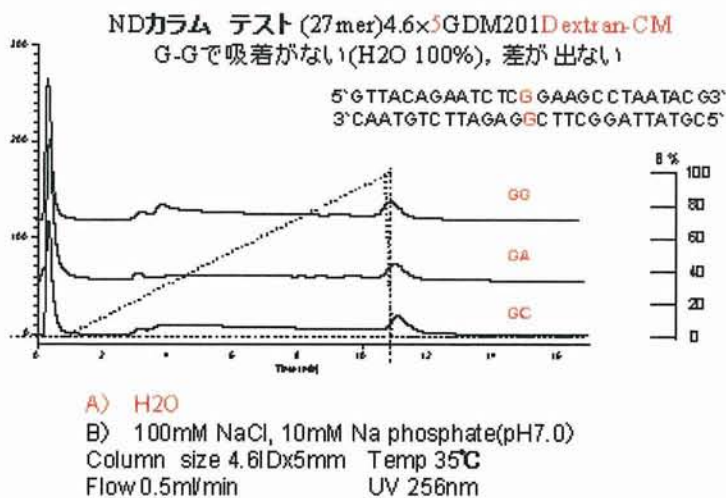


図 2 0 多孔性セルロース酢酸のミスマッチ評価

## MBL 固定化カラムの作製

### A. 研究目的

ミスマッチ結合リガンドとミスマッチ DNA の親和性を利用したアフィニティー HPLC によるヘテロデュプレックス解析法を確立するための HPLC カラムの作成を行なう。

ミスマッチ結合リガンドポリマー作成の検討を行ない HPLC カラムとして、評価を行なう。

### B. 研究方法

#### 1) HPLC カラムとして耐圧性の親水性ポリマーの作成

分離性能から考えると、多孔性ポリマーが最適であるが、大きな DNA をターゲットと考えると無孔性ポリマーが良いと考えられ、親水性表面を持つ多孔性ポリマーと無孔性ポリマーの2種を合成した。

#### 2) 親水性ポリマーへのミスマッチ結合リガンドの結合

ミスマッチ結合リガンドをポリマーに結合方法とミスマッチ結合リガンド量を増やす方法を検討した。それらの結果が実際の分離にどのように影響するかを検討した。

#### 3) ミスマッチ結合固定化ポリマーの HPLC カラムへの充填

4.6mm x 50mm カラムと高分離が期待できる長さ 150mm で検討したが、ミスマッチ結合へのポリマー影響を見

るためには、5mm のショートカラムで十分と考えられたため、ミスマッチ結合リガンドポリマーの評価としては、5mm のショートカラムで行なう事とした。

#### 4) 試作した HPLC カラムを HPLC 装置に接続し、デュプレックス DNA を分析する。

検出は UV260nm、流速は、0.1~1 mL とした。

試料としては、GC 結合、GA 結合、GG 結合を持つ 3 種 DNA を用意して評価を行なった。

#### 5) 分析条件の検討

DNA 自身の分解をさけるため、初期溶離液 pH としては、pH6~pH7 の間とした。分離するためのグラジエント条件としては、塩濃度の増大などで行なう事とした。

#### 6) 分析結果より、ミスマッチ結合リガンド固定化ポリマーの再検討

今年度としては、多孔性ポリマーと無孔性ポリマーの選択、スパーサーとしてのカルボキシル基とアミノ基の選択を行なう事とした

### C. 研究結果

今年度内での結果では、高耐圧で HPLC に使用できるポリマーにミスマッチ結合リガンドを固定化した HPLC カラムにおいて、十分なミスマッチの認識が得られなかったが、改善するための種々の重要な情報が得られた。

#### 1) 無孔性ポリマーおよび多孔性ポリマ

#### 一にミスマッチ結合リガンドを固定化

ミスマッチ結合リガンドを無孔性ポリマーに固定化したカラムと多孔性ポリマーに固定化したカラムと比較すると、多孔性ポリマーを使用した場合には保持が得られたが、無孔性ポリマーでは、ボイド付近に溶出することから、ミスマッチ結合リガンドの固定化量を高める必要があることがわかった。

また、逆に、ミスマッチ結合リガンドであるナフチル 2 量体の結合量で溶出が遅れる事から、ミスマッチ結合を認識している事が示唆された。

#### 2) 無孔性ポリマーにアミノ基を介してミスマッチ結合リガンドを固定化

無孔性ポリマーへのミスマッチ結合リガンドの固定化量を多くするために、アミノ基を介して固定化した。無孔性ゲルでありながら、PCR 産物からの分離が可能となったが、アミノ基による影響が生じる懸念が生じた。アミノ基は、本目的の固定化方法には適していない事が示唆された。

#### 3) 多孔性ポリマーにカルボン酸を介してミスマッチ結合リガンドを固定化

まず、ミスマッチリガンドを結合していない HPLC カラムではすべて、ボイドに溶出したことから、非特異吸着は生じていない事が確認できた。カルボン酸を介して、ミスマッチ結

合リガンドを固定化した HPLC カラムでは、これまで試作したカラムの中でもっとも強く保持された。

ただ、今回の試作 HPLC カラムでは、ミスマッチ認識は得られていないが、固定化量を調整することで、認識が得られる可能性が示唆された。

#### D. 考察

無孔性ゲルを用いて、固定化量を減らした HPLC カラムでのミスマッチの認識は得られる可能性はあると考えられ、その検討を次年度に行なう予定である。前研究において、セファローズに固定化したカラムにおいては、保持は得られないがミスマッチの認識がある事から、今回の耐圧ポリマーへの結合方法の再検討が必要と思われる。セファローズに固定化した場合と同様な表面特性になるような表面処理や固定化方法の検討を次年度に行なう予定である。

#### E. 結論

現在、カルボン酸をグラフト化することで、ナフチル 2 量体が多くつき、保持が大きくなる事は確認できているが、認識能が上がっていない。そのカラムにおいては、分析条件を詳細検討中である。平行して、ノンポーラスで同じように作成している。セファローズゲルでの反応も予定している。ポリマー表面を改質して、それに近い結合様式が作れないかを検討する予定である。

ミスマッチフィンガープリンティングに関する研究

A. 研究目的

1) イントロダクション

ヒトゲノム計画が終了し、DNAの全塩基配列が解明された現在、“遺伝子解析から得られた情報をいかにしてわれわれの生活に還元することができるか”が重要な課題となっている。近年一塩基多型 (SNP) は、DNA中の500-1000塩基に1塩基存在する多型で、薬剤に対する副作用の指標となることからたいへん注目されている。よって、SNP解析デバイスの開発は、将来のオーダーメイド治療の実現において最重要課題のひとつである。

2) SNPタイピング

代表的なSNPタイピング技術には、DNAチップ、DNAマイクロアレイ、モレキュラービーコン、TaqMan PCRなどがある。これらの技術は、核酸の

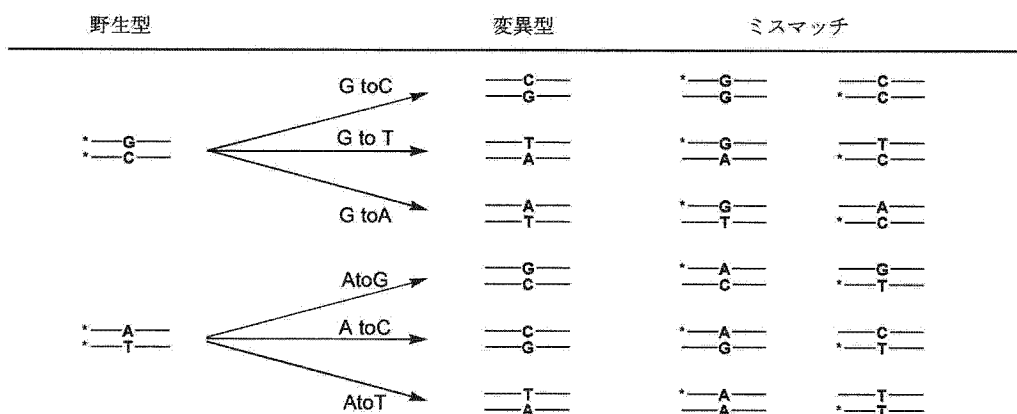
さらに別法として、SNPをミスマッチ塩基対に変換して検出するヘテロデュプレックス解析法が報告されている。この方法では、ミスマッチ塩基対が存在するかどうかでSNPを検出することができる。図1にヘテロデュプレックス解析の模式図を示す。

サンプルDNAをPCRにより増幅した後、野生型のDNAと混合する。混合したサンプルにミスマッチ塩基対が含まれていれば、サンプルが変異型のDNAであることがわかる。ミスマッチ塩基対の識別には修復酵素や、ゲル電気泳動が使用されているが、SNPのハイスループット検出に応用するためにはまだまだ開発の余地を残している。

3) MLB (Mismatch Binding Ligand)

これまでに我々は、有機小分子によるSNP解析法について研究してきた。ヘテロデュプレックス解析により生成させたミスマッチ塩基対をミスマッチ結合リガ

図2 SNPとミスマッチの関係



ハイブリダイゼーション能を利用した方法である。

ンド (Mismatch Binding Ligand: MLB) を用いて検

出す方法である。

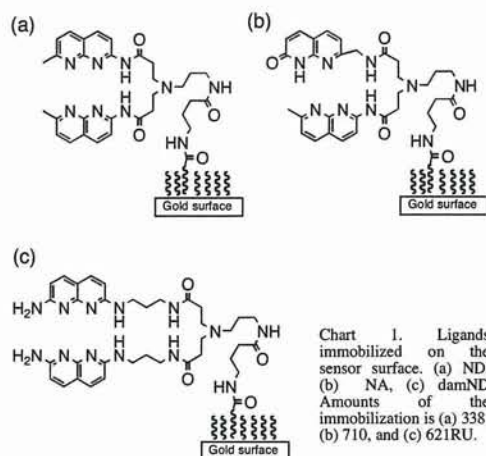
DNA二重鎖中のG-G mismatches塩基対を認識するリガンドとしてナフチリジンダイマー (ND)、C-C mismatches塩基対を認識するリガンドとしてアミノナフチリジンダイマー (amND)、G-AおよびA-A mismatches塩基対を認識するリガンドとしてナフチリジン-アザキノロンハイブリッド (NA) をすでに開発している。ナフチリジンダイマーに関しては、SPRセンサーチップ上に固定化することにより、G-C塩基対がC-G塩基対に変化したSNPの検出にも成功している。

さらに、これらのリガンドは、特定の mismatches塩基対に強固に結合するだけでなく、DNA中の様々な mismatches塩基対に結合することが明らかとなっている。そこで本研究では、Chart 1に示すようなジアミノナフチリジンダイマー (damND)、ND、NAが固定化されたセンサーチップを開発し、それらのリガンドを組み合わせて使用することにより、全ての mismatches塩基対の検出を目指した。

## B. 研究方法

mismatches塩基対を含む二重鎖DNAとMLBとの結合解析には、表面プラズモン共鳴法 (SPR) を用いた。

まず、SPRとそれに用いるセンサーチップについて簡単に説明する。(図2)



SPRの検出系には、金属/液体界面で励起した場合に起こる表面プラズモン共鳴の光学現象を利用している。2分子間の結合と解離に伴ってセンサーチップ表面で生じる微量な質量変化をSPRシグナルとして検出する装置である。このため、サンプルDNAを標識化する必要がなく、ハイスループット解析に適した装置であるといえる。

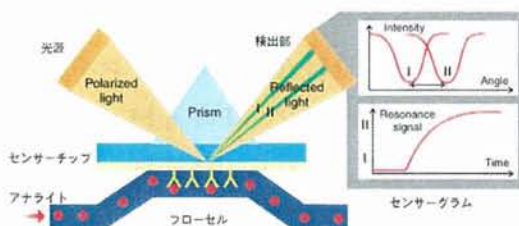


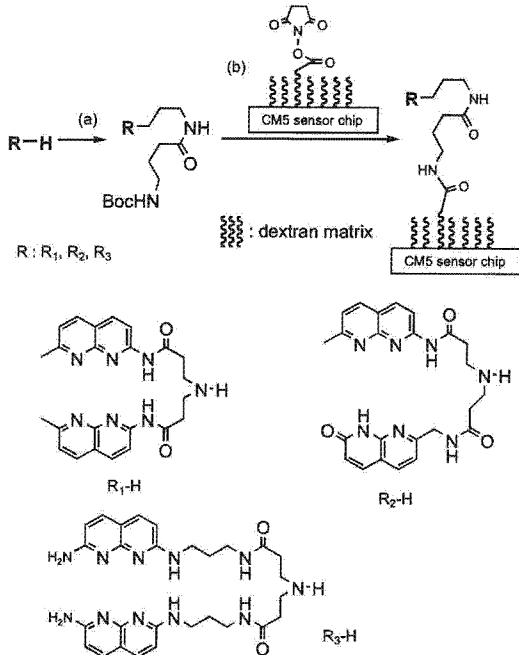
図2 SPR工学検出系概略図

センサーチップには市販のCM5センサーチップ (Biacore) を利用した。このチップの金膜表面には、厚さ100ナノメートルのデキストラン層を介してカルボキシル基が固定化されている。

## MLBの合成

CM5センサー表面上のカルボキシル基

にリガンドを固定化するために、アミノ基を末端にもつ誘導体を合成した。合成行程をスキームに示す。



Scheme . Preparation of ligand immobilized surface  
 Reagents and conditions: (a) 4-(tert-butoxy)carbonylamino-N-(3-oxopropyl)butanamide, NaBH<sub>3</sub>CN, AcOH, MeOH, 1 h. (b) i) 4 N HCl/Ethyl Acetate, 30 min, ii) amine coupling kit.

#### MLB固定化チップの作成

センサーチップにはピアコア社から発売されているCM5を使用した。1枚のチップ上に流路が4レーンあるため、第一レーンをブランクレーンに、第2レーンをジアミノナフチリジンの固定化レーンに、第3レーンをナフチリジンダイマー固定化レーンに、第4レーンをナフチリジン-アザキノロンハイブリッド固定化レーンとした。次にリガンドのセンサー表面への固定化法を示す。

EDCIとNHSで活性化されたカルボキシル基に対して、1 mMのリガンド/ホウ酸バッファー (pH 9. 2) 溶液を

14分間反応させることにより、リガンドを導入した。表面上に残ったカルボキシル機は、エタノールアミンを用いてキャッピングした。

#### 4) サンプルDNAの調整

ミスマッチ塩基対の安定性は、ミスマッチ塩基対の前後に位置するワトソニック塩基対の影響を大きく受けている。また、ミスマッチ塩基対とリガンドが結合した複合体の安定性も前後の塩基対に大きな影響を受けるはずである。そこで、われわれはリガンドとミスマッチ塩基対との結合を評価する際に、前後の塩基対の影響も考慮した評価系を構築することとした。すなわち、一つのミスマッチ塩基対に対して、可能な前後配列すべてを網羅して調べることにより、リガンドとミスマッチ塩基対との精密な結合解析を行った。

測定には、27量体の中央にさまざまな前後配列に挟まれた8種類のミスマッチ塩基対 (G-G, A-A, C-C, T-T, G-A, G-T, C-A, C-T) を含む全104配列のDNA二重鎖とフルマッチDNA二重鎖5種類を用いた。その配列を表1に示す。

#### C. 研究結果

##### 1) センサーチップ

先に示した方法により3種類のリガンドが固定化されたセンサーチップを作成した。それぞれのリガンドの固定化量は、

ジアミノナフチリジン (damND) が 621RU, ナフチリジンダイマー (ND) が 338RU, ナフチリジン-アザキノロン (NA) が 710RUであった。

その1) ミスマッチ塩基対ごとのセンサーグラム

サンプルDNAを3種類のリガンドを固定化したチップに流した際に得られたセンサーグラムを図3に示す。ミスマッチ塩基対を含まないサンプルDNAのセンサーグラムを図3(a) A-Aミスマッチ塩基対の前後配列を変化させた10種のサンプルDNA 27量体を流した際のセンサーグラムを図3(b)に、G-Aミスマッチ塩基対を含むサンプルを図3(c)に、G-Gミスマッチ塩基対を含むサンプルを図3(d)に、G-Tミスマッチ塩基対を含むサンプルを図3(e)に、C-Cミスマッチ塩基対を含むサンプルを図3(f)に、C-Tミスマッチ塩基対を含むサンプルを図3(g)に、T-Tミスマッチ塩基対を含むサンプルを図3(h)に、C-Aミスマッチ塩基対を含むサンプルを図3(i)に示した。測定開始後約100秒後から毎分30 $\mu$ lで180秒間サンプルDNAを流した後、溶液をバッファーに切り替えることによりサンプルDNAの解離を測定した。緑色のセンサーグラムがND、水色のセンサーグラムがdamND、赤色のセンサーグラムがNAを固定化したレーンとサンプルとの結合を

示している。

図3(a)より、DNAを注入後180秒の3種のリガンドから得られたレスポンスを合計した結果、どの配列においても合計が100RU以下であった。よってDNAを注入後180秒後の3種のリガンドから得られたレスポンスを合計した値が100RU以上のサンプルのみ解析を行った。

リガンドごとのミスマッチ塩基認識について調べるために、サンプル注入後180秒後に得られたレスポンスをリガンド別に図4に示した。

図4(a)より、C-Cミスマッチ塩基対を含むDNAの場合、全ての前後配列の場合においてレスポンスが600以上であった。よって、ジアミノナフチリジンの固定化されたレーンを用いることによりフルマッチDNAと区別できることがわかった。さらに、C-TとT-Tミスマッチにおいてもほとんどのミスマッチ配列において、レスポンスが200以上あることからフルマッチDNAと区別できることがわかった。G-G, A-A, G-Aミスマッチの場合は前後配列に関係なくほとんどレスポンスがないことが明らかとなった。

図4(b)より、G-Gミスマッチ塩基対を含むDNAの場合、前後配列がどのような場合であってもレスポンスが300以上あり、ナフチリジンダイマー固定化チップだけでフルマッチDNAと区別



できることがわかった。

そのほかのミスマッチ塩基対に関しては、レスポンスの大きさに大小があるため、NDのみからフルマッチ型と区別するのは難しいことが明らかとなった。

図4(c)から、ナフチリジン-アザキノロンチップはA-Aミスマッチを認識することが明らかとなった。また、G-G, G-A, C-Aミスマッチ塩基対に関しても若干レスポンスがあることが明らかとなった。

#### D. 考察

フルマッチ配列DNAの場合、サンプル注入後180秒後のレスポンスの平均がd a mNDで22RU、NDで23RU、NAで2RUであった。よってどのような試料を用いたときもバックグラウンドとしてのレスポンスが必ず観測されることが明らかとなった。

C-C, C-T, T-Tミスマッチ塩基対に関しては、前後配列がどのように変化してもd a mNDの固定化されたレーンに対して大きなレスポンスを与えることが明らかとなった。この3種のミスマッチの中で最もレスポンスの小さいTTA-TTAの場合においても76RUあり、フルマッチDNAの3倍以上のレスポンスがあった。このことから、ジアミノナフチリジンを固定化したチップを用いることでヘテロデュプレックス解析時にC-C, C-T, T-Tミスマッチ塩基対が形成されるSNPを検出できるこ

とが明らかとなった。

つぎに、G-Gミスマッチ塩基対に関しては、前後配列がどのような組み合わせにおいてもNDの固定化されたレーンで大きなレスポンスが得られた。よって、NDを固定化したチップを用いることでヘテロデュプレックス解析時にG-Gミスマッチが形成されるSNPを検出できることが明らかとなった。

大きなレスポンスが得られなかったミスマッチ塩基対の場合、ミスマッチ塩基対の有無を議論するためには、レスポンスの大きさ以外の評価基準を設定する必要がある。われわれは、レスポンスの大きさ以外の指標として、リガンド間のレスポンスの比をミスマッチの有無の判断に導入した。

図5にA-A, C-A, G-A, G-Tミスマッチ塩基対について、3種類のリガンドの180秒後におけるレスポンスの総和を規格化した図を示す。3種類のリガンドの180秒後におけるレスポンスの総和が100RU以下のサンプルについては、フルマッチ二重鎖との差が二倍程度しかないため、ミスマッチ塩基対は検出できないと判断した。

リガンド間のレスポンスを比較した結果、A-Aミスマッチ塩基対を含む二重鎖のレスポンスは、NAから得られるレスポンスの割合が大きいことがわかった。天然型の二重鎖では、NAから得られたレスポンスが10%以下であることから割合を比較することによりA-Aミスマッ

チ塩基対は天然型二重鎖と区別できることがわかった。

G-A塩基対の特徴は、damNDから得られるレスポンスの割合が20%以下と極端に小さいことである。天然型の二重鎖の場合はレスポンスが30-60%程度あることから両者を区別することができる。

C-A mismatches塩基対については、ACA-TAT, GCA-TAC, GCT-AACの3種類の配列についてのみ、NAから得られたレスポンスの割合が大きいため、天然型二重鎖と区別することができた。

G-T mismatchesについては、天然型の二重鎖から得られるレスポンスと明確な差が得られず、残念ながら識別することができなかった。

よって、3種類のリガンドから得られたセンサーグラムを組み合わせることで、これまで識別することが困難であった一部のG-A, C-A, A-A mismatches塩基対についても識別することが可能になった。

#### E. 結論

3種類の異なるリガンドが固定化されたSPR用センサーチップの開発に成功した。さらにそのチップを使うことで、前後配列を含めた全てのC-C, C-T, T-T, G-G mismatches塩基対を含むDNAを天然型の二重鎖と識別することに成功した。さらに、複数のリガンドか

ら得られた情報を組み合わせることにより、7種類のA-A mismatches塩基対、8種類のG-A mismatches塩基対、3種類のC-A mismatches塩基対を含むDNAを天然型の二重鎖と識別することに成功した。この方法を用いれば少ない数のリガンドで多くの mismatches塩基対を認識することができる。今後リガンドが開発されるにともない飛躍的に検出精度が向上するであろう。

我々が開発したチップをさらに応用することにより、近い将来、簡便で安価なSNP検出を行うことができるようになると思われる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

SPR fingerprinting of mismatched base pair. Kobori, A.; Pang, T.; Hayashi, G.; Nakatani, K. Nucleic Acids Symp. Ser. 48, 2004, 129-130.

##### 2. 学会発表

第31回核酸化学シンポジウム2004年11月東京 SPR センサーを用いた mismatches塩基対のフィンガープリント解析 小堀哲生、彭涛、林剛介、中谷和彦

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

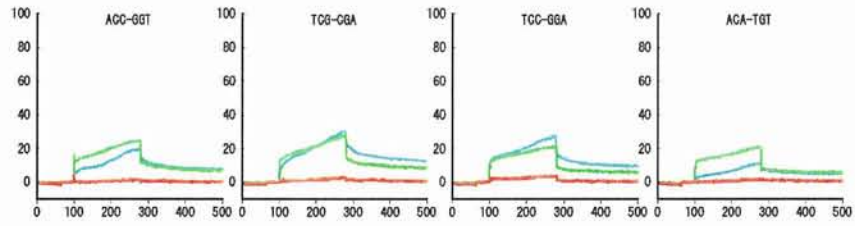
Table 1. Sequence of 27 mer DNA duplex containing a mismatched base pair with various neighbouring Watson-Crick base pair.

5'-d(GTT ACA GAA TCT XM<sub>1</sub>Z AAG CCT AAT ACG)-3'  
3'-d(CAA TGT CTT AGA YM<sub>2</sub>W TTC GGA TTA TGC)-5'

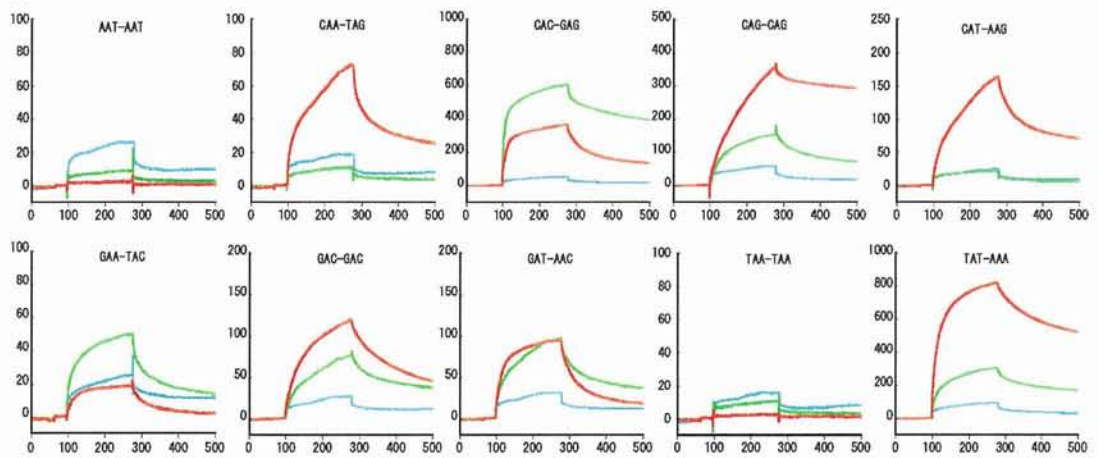
XM <sub>1</sub> Z-WM <sub>2</sub> Y							
G-G	A-A	C-C	T-T	G-A	G-T	C-T	C-A
AGT-AGT	CAC-GAG	GCC-GCC	CTC-GTG	CGC-GAG	CGC-GTG	GCG-CTC	GCG-CAC
TGA-TGA	CAT-AAG	GCT-ACC	CTT-ATG	CGT-AAG	CGT-ATG	GCC-GTC	GCC-GAC
AGA-TGT	CAA-TAG	CCC-GCG	CTA-TTG	CGA-TAG	CGA-TTG	GCA-TTC	GCA-TAC
AGG-CGT	GAC-GAC	GCA-TCC	GTC-GTC	GGC-GAC	GGC-GTC	GCT-ATC	GCT-AAC
AGC-GGT	GAT-AAC	ACT-ACT	GTT-ATC	GGG-CAC	GGG-CTC	CCG-CTG	CCG-CAG
TGC-GGA	GAA-TAC	TCT-ACA	GTA-TTC	GGT-AAC	GGT-ATC	CCC-GTG	CCC-GAG
TGG-CGA	TAT-AAA	CCT-ACG	TTT-ATA	GGA-TCC	GGA-TTC	CCA-TTG	CCA-TAG
CGC-GGG	TAA-TAA	TCA-TCA	TTA-TTA	TGC-GAA	TGC-GTA	CCT-ATG	CCT-AAG
GGC-GGC	AAT-AAT	CCA-TCG	ATT-ATT	TGG-CAA	TGG-CTA	ACG-CTT	ACG-CAT
CGG-CGG	CAG-CAG	CCG-CCG	CTG-CTG	TGT-AAA	TGT-ATA	ACC-GTT	ACC-GAT
				TGA-TAA	TGA-TTA	ACA-TTT	ACA-TAT
				AGC-GAT	AGC-GTT	ACT-ATT	ACT-AAT
				AGG-CAT	AGG-CTT	TCG-CTA	TCG-CAA
				AGT-AAT	AGT-ATT	TCC-GTA	TCC-GAA
				AGA-TAT	AGA-TTT	TCA-TTA	TCA-TAA
				CGG-CAG	CGG-CTG	TCT-ATA	TCT-AAA

資料 SPR センサーグラム

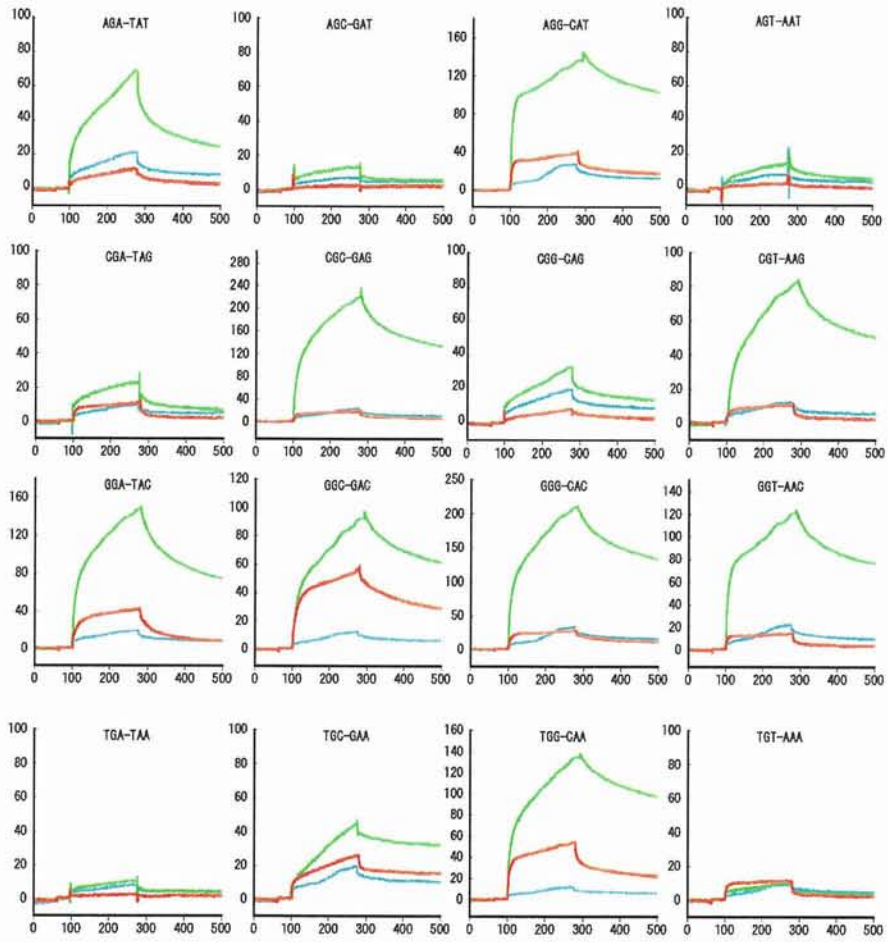
図 3 (a) fully matched sequence



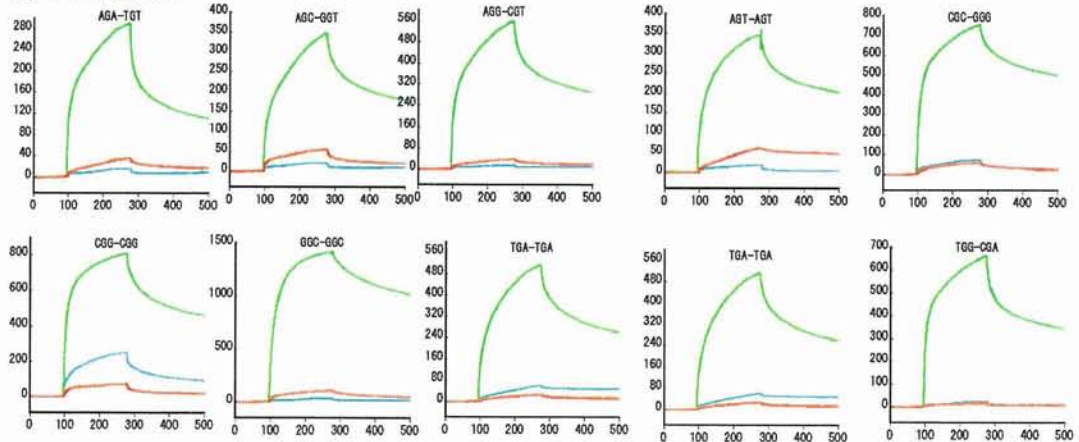
(b) A-A mismatch



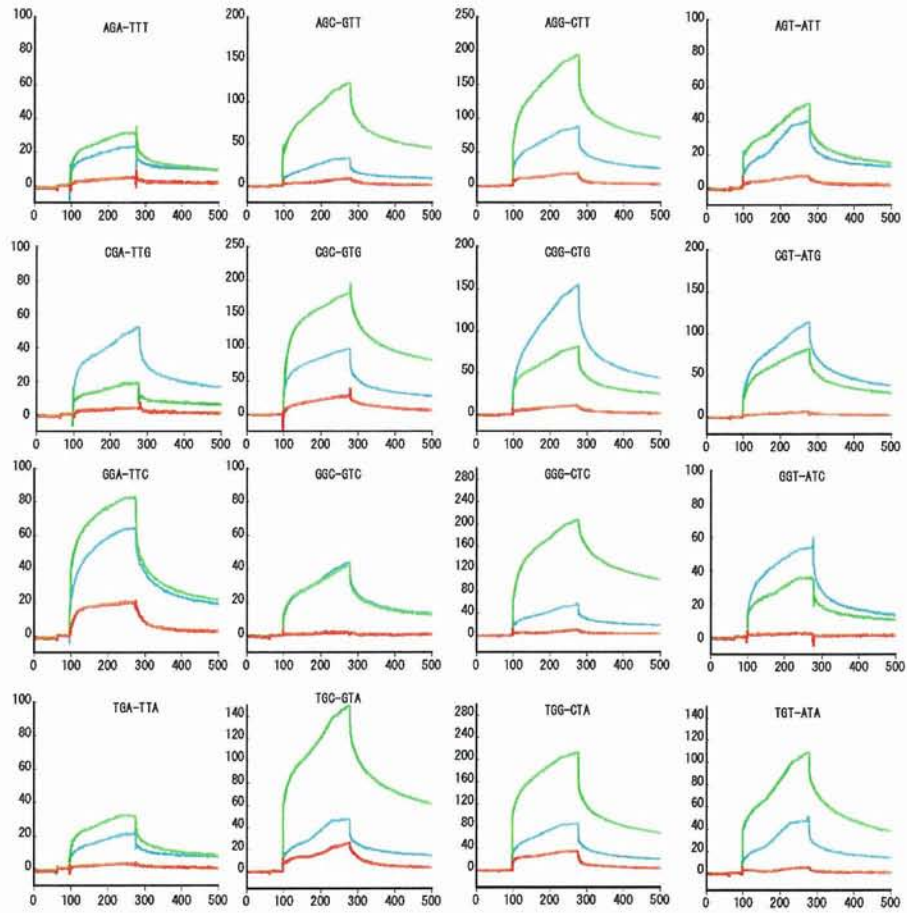
(c) G-A mismatch



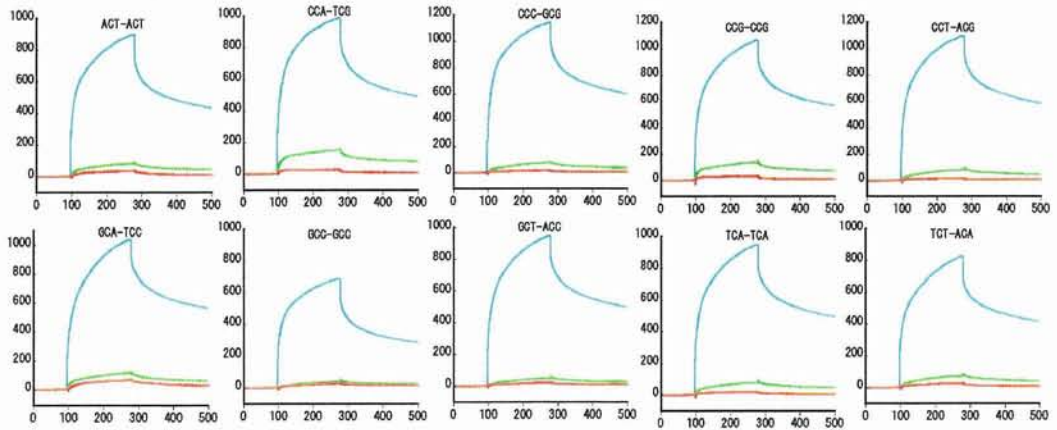
(d) G-G mismatch



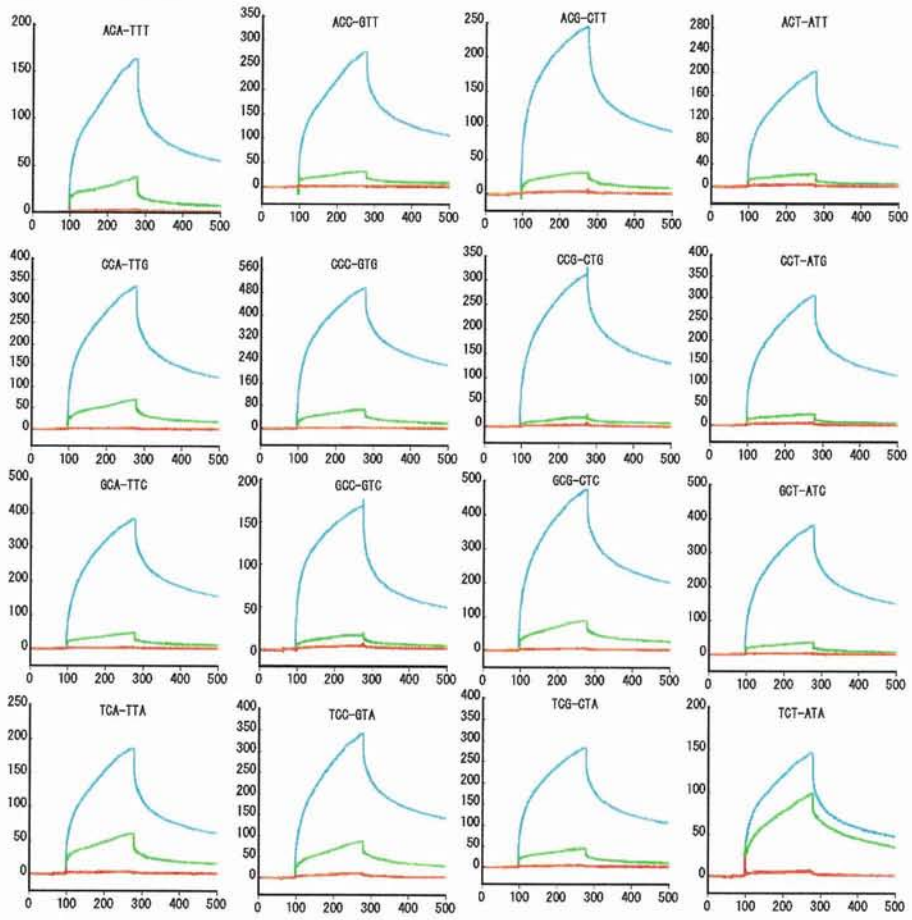
(e) G-T mismatch



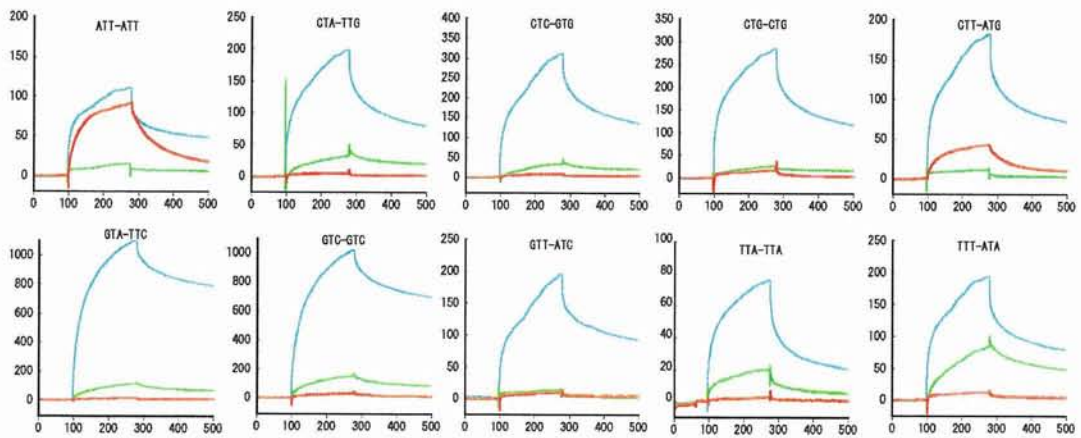
(f) C-C mismatch



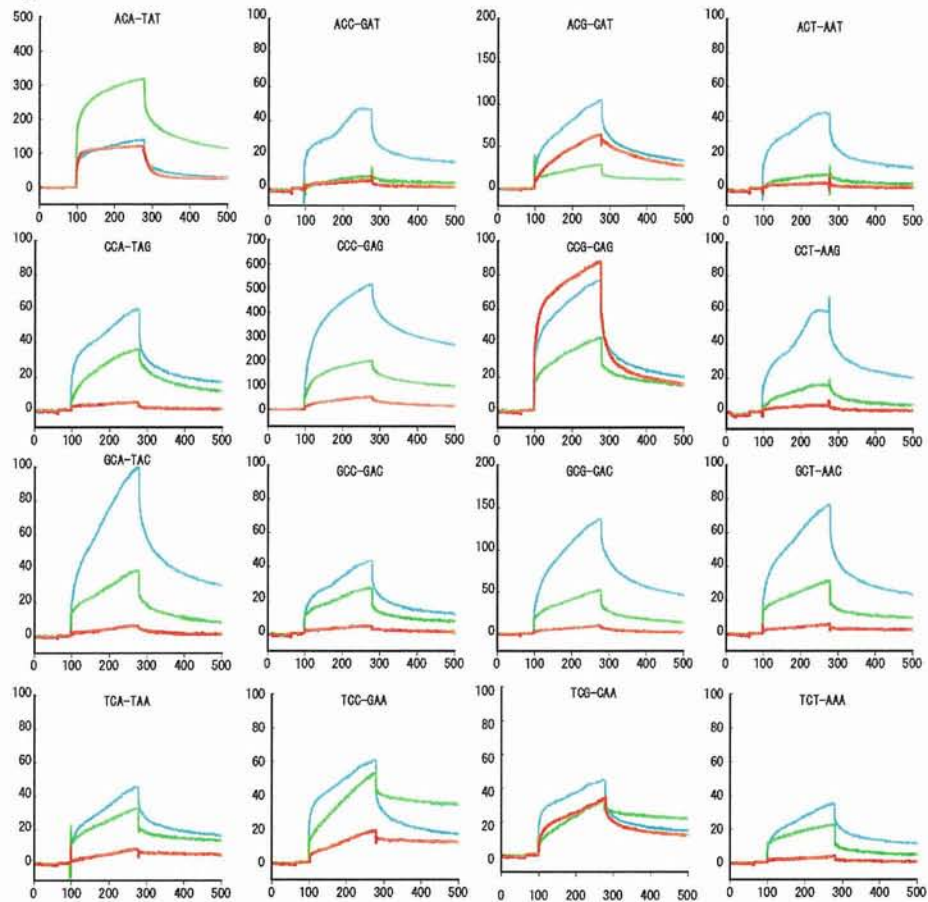
(g) C-T mismatch



(h) T-T mismatch



(i) C-A mismatch



**Figure 3.** SPR sensorgrams for the binding of 27mer 5'-d(GTT ACA GAA TCT XM<sub>1</sub>Z AAG CCT AAT ACG)-3'/3'-d(CAA TGT CTT AGA YM<sub>2</sub>W TTC GGA TTA TGC)-5' (1 μM), Binding was measured in HBS-N (pH 7.4) containing 500 mM NaCl. key : ND (green line), NA(red line), damND (blue line).



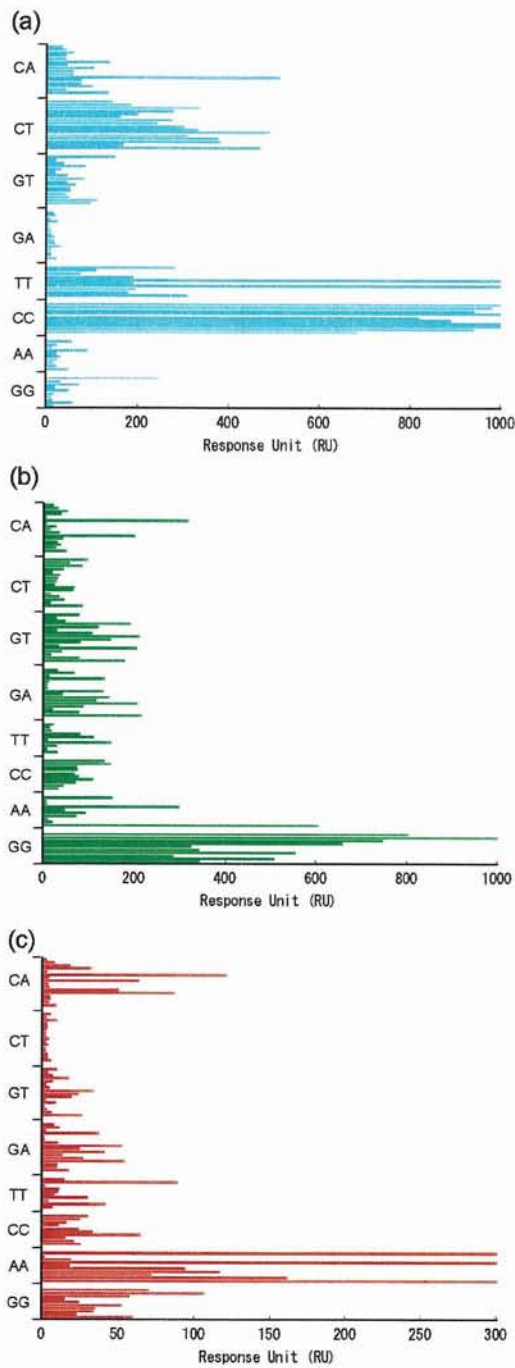


Figure 4. Response unit of (a) damND, (b) ND, and (c) NA immobilized sensor surface at 180 sec after injection of a mismatched base pair containing DNA.

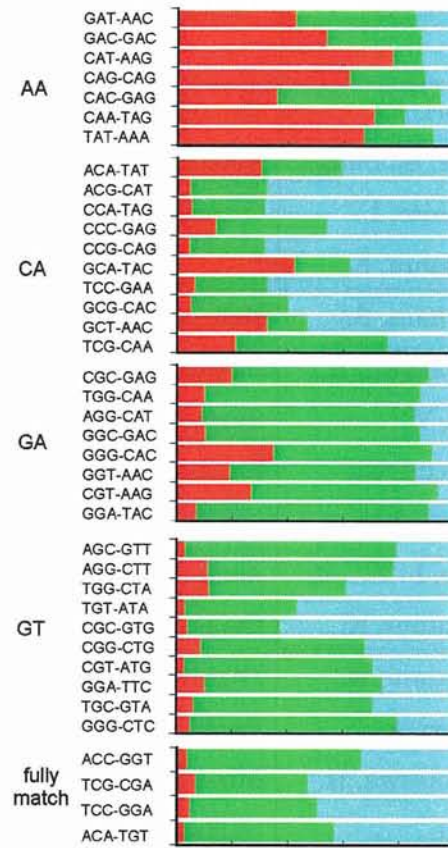


Figure 5. The sum of the responses obtained by damND, ND, and NA immobilized sensor surface at 180 sec after injection of 27mer DNA were normalized. key : green (ND), blue (damND), and red (NA)

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kobori, A.; Horie, S.; Suda, H.; Saito, I.; Nakatani, K.	The SPR Sensor Detecting The Cytosine- Cytosine Mismatches	<i>J. Am. Chem. Soc.</i>	126	557- 562	2004
Hagihara, S.; Kumasawa, H.; Goto, Y.; Hayashi, G.; Kobori, A.; Saito, I.; Nakatani, K	Detection of Guanine- Adenine Mismatches by Surface Plasmon Resonance Sensor carrying Naphthyridine- Azaquinolone Hybrid on the Surface	<i>Nucleic Acids Res.</i>	32	278- 286	2004
Nakatani, K.; Kobori, A.; Kumasawa, H.; Saito	Highly Sensitive Detection of GG Mismatched DNA by Surfaces Immobilized Naphthyridine Dimer through Poly(ethylene oxide) Linkers	<i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i>	14	7500- 7505	2004
Yokojima, S.; Okada, A.; Yanoi, W.; Yoshiki, N.; Kurita, N.; Tanaka, S.; Nakatani, K.	Solvent Effects on the Suppression of Oxidative Decomposition of Guanine by Phenyl Group Attachment in DNA	<i>J. Phys. Chem. B</i>	108	7500- 7505	2004
Nakatani, K.; Kobori, A.; Kumasawa, H.; Goto, Y.; Saito,	The binding of Guanine- Guanine Mismatched DNA to Naphthyridine Dimer Immobilized	<i>Bioorg. Med. Chem.</i>	12	3117- 3123	2004

I.	Sensor Surfaces: Kinetic Aspects				
Kobori, A.; Murase, T.; Suda, H.; Saito, I.; Nakatani, K.	2-Ureidoquinoline: a useful molecular element for stabilizing single cytosine ant thymine bulges	<i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i>	14	3431-3433	2004
Peng, T.; Murase, T.; Goto, Y.; Kobori, A.; Nakatani, K.	A new ligand binding to G-G mismatch having improved thermal and alkaline stability	<i>Bioorg. Med. Chem. Lett</i>	15	259-262	2005
Goto, Y.; Kobori, A.; Suda, H.; Nakatani, K.	Separation of mismatched DNA by using the affinity column immobilizing mismatch-binding ligands	<i>Nucleic Acids Res. Suppl.</i>	4	123-124	2004
Kobori, A.; Peng, T.; Hayashi, G.; Nakatani, K.	SPR fingerprinting of mismatched base pair	<i>Nucleic Acids Res. Suppl.</i>	4	129-130	2004
Peng, T.; Murase, T.; Goto, Y.; Kobori, A.; Nakatani, K.	A new ligand binding to G-G mismatch having improved thermal and alkaline stability	<i>Bioorg. Med. Chem. Lett</i>	15	259-262	2005
Nakatani, K.; Hagihara, S.; Goto, Y.; Kobori, A.; Hagihara, M.; Hayashi, G.; Kyo, M.; Nomura, M.; Mishima, M.;	Small-molecule ligand induces nucleotide flipping in (CAG) <sub>n</sub> trinucleotide repeats,	<i>Nature Chemical Biology</i>	1	39-43	2005

Kojima, C.					
Suda, H.; Kobori, A.; Zhang, J.; Hayashi, G.; Nakatani	<i>N,N'</i> -Bis(3-aminopropyl)- 2,7-diamino-1,8- naphthyridine stabilized a single pyrimidine bulge in duplex DNA	<i>Bioorg.</i> <i>Med.</i> <i>Chem.</i>	13	4507- 4512	<b>2005</b>
Peng, T.; Nakatani, K.	Binding of Naphthyridine Carbamate Dimer to the (CGG) <sub>n</sub> Repeat Resulted in the Disruption of the G-C Base Pairing	<i>Angew.</i> <i>Chem.</i> <i>Int. Ed.</i>	44	7280- 7283	<b>2005</b>
Peng, T.; Nakatani, K.	Molecular Labeling of the CGG trinucleotide repeat	<i>Nucleic</i> <i>Acids Res.</i> <i>Symposiu</i> <i>m Syries</i>	49	39-40	<b>2005</b>
Hayashi, G.; Hagihara, M.; Nakatani K.	Application of L-DNA as a molecular tag	<i>Nucleic</i> <i>Acids Res.</i> <i>Symposiu</i> <i>m Syries</i>	49	261- 262	<b>2005</b>
Nakatani, K.; Horie, S.; Goto, Y.; Kobori, A.; Hagihara, S.	Evaluation of mismatch- binding ligands as inhibitors for Rev-RRE interaction	<i>Bioorg.</i> <i>Med.</i> <i>Chem.</i>	14	5384- 5388	<b>2006</b>
Peng, T.; Dohno, C.; Nakatani, K.	Mismatch binding ligands function as molecular glue for DNA	<i>Angew.</i> <i>Chem.</i> <i>Int. Ed.</i>	45	5623- 5626	<b>2006</b>
Hayashi, G.; Hagihara, M.; Kobori, A.; Nakatani, K.	Detection of L-DNA- Tagged PCR Products by Surface Plasmon Resonance Imaging	<i>ChemBio</i> <i>Chem</i>	8	169- 171	<b>2007</b>
Peng, T.; Dohno,	Bidirectional Control of	<i>ChemBio</i>	8	483-	<b>2007</b>