

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：13302

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02076

研究課題名（和文）光化学的RNA編集を志向した新規RNA操作法の開発

研究課題名（英文）Development of novel RNA manipulation toward for photochemical RNA editing

研究代表者

藤本 健造（FUJIMOTO, KENZO）

北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授

研究者番号：90293894

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：光化学的な塩基変換による遺伝子治療に向け、生理条件下での光化学的な塩基編集法の開発を行った。まず、リン酸基を修飾した脱アミノ化用プローブが脱アミノ化を大きく加速し、生理条件下24時間で80%以上のシトシンをウラシルへ変換できることを見出した。次に試験管内において、種々の光架橋人工核酸を用いてRNA鎖中のシトシンからウラシルへのピンポイント塩基変換をおこない、周辺塩基の水性が高ければ高いほど脱アミノ化反応速度が速いことを明らかにした。次に細胞内RNAの光操作に向け、細胞内mRNAを標的としたアンチセンス効果の検証をおこない、光架橋速度が速ければ速いほど遺伝子抑制効果が高いことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CRISPR-Cas9技術に代表される様に、ゲノム操作のための新しい遺伝子工学的手法の開発は、幹細胞工学、遺伝子治療、遺伝子組み換え植物の技術など幅広い用途・分野において新産業を産み出す力に直結している。本研究では、超高速光架橋法を用いた時空間制御可能な核酸類操作法の新規開発に挑戦した。その結果、操作波長の長波長化・高速化により高次構造を持つ核酸に対してもアクセスが可能となることや、照射エネルギー依存的な活性制御可能であることなど予想を超える結果を得た。この超高速光クロスリンクを用いた遺伝子発現の光制御は、核酸編集のみならず核酸医薬品開発においても有用な技術と期待される。

研究成果の概要（英文）：Toward gene therapy by photochemical base conversion, we developed a photochemical base editing method under physiological conditions. First, we found that a phosphate-modified deamination probe greatly accelerated deamination and converted more than 80% of cytosine to uracil in 24 hours under physiological conditions. Next, in vitro pinpoint base conversion from cytosine to uracil in RNA strands was performed using various photo-crosslinked artificial nucleic acids, and it was found that the higher the aqueousness of the surrounding bases, the faster the deamination reaction rate. Next, for the optical manipulation of intracellular RNA, we verified the antisense effect by targeting intracellular mRNA, and found that the faster the photocrosslinking rate, the more effective the gene suppression.

研究分野：核酸化学

キーワード：光クロスリンク RNA操作 RNA編集

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集 (*Nature*, 2013, 493, 429) は 2020 年のノーベル化学賞にも選ばれ、核酸塩基編集法の可能性は周知の事実である。しかし、遺伝子治療に向けては、オフターゲット効果による重篤な副作用を伴うことが報告されており、遺伝子疾患治療への利用に向け一つの障壁となっている。一方、転写により生産される mRNA を標的とした RNA 編集 (*Nature*, 2017, 550, 249) は持続的な治療は必要なものの、オフターゲット効果による副作用が低減されることから、遺伝子疾患治療に向けた新機軸として注目されている (*Nature*, 2020, 578, 25)。しかし、これら核酸編集法には使用の際に酵素特有の至適 pH、至適温度など制約条件があり、また酵素発現量制御が困難など様々な問題が生じている。

研究代表者はこれまでの研究のなかで、光反応性の人工ヌクレオシドである 3 シアノビニルカルバゾールヌクレオシド (CNVK) を見出し、これを含むオリゴ DNA が相補的 1 本鎖 DNA もしくは RNA と数秒の光照射 (366 nm) で光架橋し熱的に非可逆な 2 本鎖核酸構造を形成する超高速光クロスリンク反応を発見している。また CNVK を用いた可逆的な超高速核酸類光架橋による配列選択的シトシン (C) からウラシル (U) へのピンポイント RNA 編集についても既に報告している (*Chem. Commun.*, 2010, 46, 7545)。通常、C から U への変換は 200 年以上の年月を要するが、シトシンの 5 位と 6 位の二重結合が水素で飽和されたジヒドロシトシンはたった 2 時間程度でジヒドロウラシルへと変換される (*Biochemistry*, 1990, 29, 2532)。そこで、超高速光架橋により架橋されたシトシンがジヒドロシトシン類似構造であることに着目し (*J. Am. Chem. Soc.*, 2013, 135, 16167)、脱アミノ化が加速 (90°C, 2 時間, 95%) されることを見出している。

### 2. 研究の目的

本研究では細胞に対して光毒性のない時空間制御可能な光 RNA 編集の創成をめざし、より長波長光を用いた RNA 編集法を開発し、細胞内でシトシンからウラシルへ変換しようと考えた。成功すれば、光の利点を活かした時空間制御が可能な RNA 編集 (治療) が可能と考えられる。そのためには下記 2 つの要素技術が必要と考え、それぞれの技術開発も本研究の目的とした。

要素技術 1 : 細胞光毒性を軽減する長波長光励起による RNA 操作法の開発

要素技術 2 : 細胞内の生理条件下での化学的なシトシンからウラシルへの編集法の開発

要素技術 3 : アクセスが困難と考えられる高次構造をもつ核酸に対する操作法の開発

### 3. 研究の方法

#### (1) 可視光で駆動する光架橋性塩基の開発 (要素技術 1)

可視光で駆動する光架橋性人工核酸の開発に向け、2-ヒドロキシカルバゾールを出発物質とし、エチルプロピオレートと共に環化させ、ピラノカルバゾール骨格を合成した後、デオキシリボースとカップリングさせたヌクレオシド体を得た。その後、トリチル化、アミダイト化を行い、DNA 合成機により目的のオリゴ DNA を得た。光架橋反応は 400 nm の照射が可能な LED を用い、光照射を行った後、UPLC による反応性解析を行った。

#### (2) 光 RNA 編集に与える周辺環境の影響解析 (要素技術 2)

細胞内での核酸類操作技術の確立に向けて、既に開発済みの研究室独自の人工ヌクレオシド CNVK を含む核酸プローブを設計・合成した。それら核酸プローブを用いて RNA 鎖におけるシトシンからウラシルへの変換に対する周囲の塩基の影響を調べた。通常のグアニン (G) に加え、シトシン (C)、イノシン (I)、シアのビニルカルバゾール (CNVK)、カルボキシビニルカルバゾール (OHVK)、ヒドロキシメトキシビニルカルバゾール (OMeVK)、カルボキシカミドビニルカルバゾール (NH2VK) を用いて、シトシンからウラシルへの変換効率を評価した。オリゴ RNA (ORN) とオリゴ DNA (ODN) の混合物を 4°C で光照射して光架橋体を調製し、HPLC で精製した。光架橋した DNA/RNA 二本鎖を 37°C でインキュベートし、312nm で光切断し、シトシンからウラシルへの変換効率を UPLC で評価した。

#### (3) pDDI を用いた高次構造をもつ核酸操作技術の確立 (要素技術 3)

高次構造と見立てた二本鎖 DNA に対し、光架橋可能な核酸プローブを設計・合成するため、光架橋抑制分子の検討を行った。その後、60 mer 程度の長鎖の DNA に対し、20 mer 程度の核酸プローブを混合し、光照射を行い、二本鎖 DNA に対する光架橋能の評価を行った。

#### (4) 光架橋性核酸プローブを用いた細胞内転写促進効果の評価 (各技術の統合)

各要素技術を実際に細胞内転写抑制効果によって評価を行った。HEK293 細胞における  $\beta$  アクチン蛋白質の 5' UTR を対象とし、その配列に対して相補鎖となる CNVK 含有アンチセンス ODN Probe を用いることで、光による  $\beta$  アクチン発現の促進が可能か調査した (図 2)。HEK293 細胞に対し、合成した光応答性人工 ODN をリポフェクトアミン RNAiMAX を用い細胞内に導入し、385 nm の光照射をおこなった。細胞は光照射後 5h インキュベーションしたものを採取し、ウエスタンブロットティングにより  $\beta$  アクチンの発現量を内部標準タンパク GAPDH の発現量と蛍光比率を用い

て比較することにより評価した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 可視光で駆動する光架橋性塩基の開発

光による核酸類光操作法の細胞内応用に向け、より長波長で操作可能な新規光架橋型人工核酸が求められていた。そこで、長波長励起による RNA 操作のための新規光架橋素子メチルピラノカルバゾール (MEPK) の合成に成功した。H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を触媒とすることで coumarin 誘導体を合成可能な Pechmann 縮合を用いてメチルピラノカルバゾール (MEPK) を合成した (図 1)。この Pechmann 縮合を用いた合成法によって、MEPK は、副生成物が生じることを抑えることができた。そのため、MEPK の塩基部分を 72% と高い合成収率で取得することができた。この MEPK を含むオリゴ核酸の光架橋能を評価したところ、400 nm の光を数秒間照射することにより相補鎖中のチミンと光架橋することを見出した。一方、どれだけ長時間光照射をおこなっても相補鎖中のシトシンと光架橋しないという思いもよらない結果が得られた。この結果の一般性を確認するため、MEPK の周辺配列を変化させた 16 種類のオリゴ核酸を用いて光架橋能を解析したところ、チミンとは超高速 (秒単位) で光架橋するのに対してシトシンとは全く光架橋しないことを見出した。これまでに開発済みの光架橋素子はシトシンと容易に光架橋することから MEPK 固有の反応特性であることを確認した。この光架橋反応は RNA 鎖中のシトシンと反応しないことから、正確な RNA 操作に向けて重要な反応開発に成功したと考えられる。

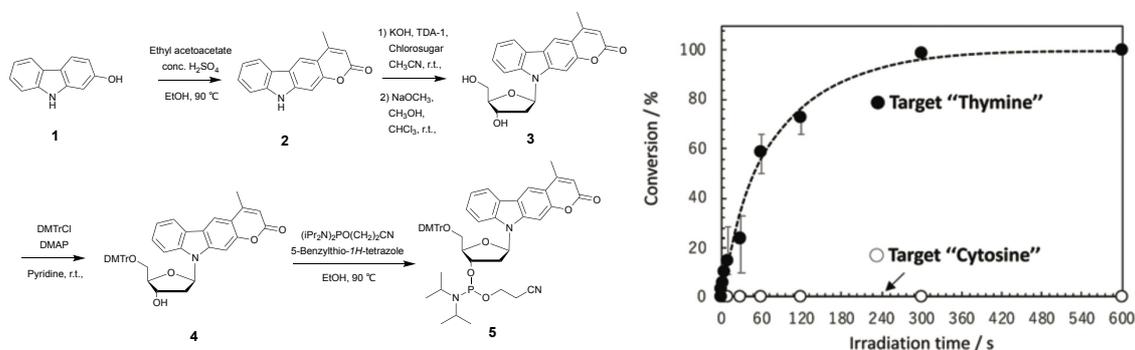


図 1 可視光で駆動する光架橋性人工塩基 (MEPK)

##### (2) 光 RNA 編集に与える周辺環境の影響解析

細胞内で操作可能な光 RNA 編集法に向け、標的シトシンの周辺環境に着目し、DNA 鎖中の標的シトシンの周辺環境の違いによる脱アミノ化への影響を評価した。標的シトシンの塩基対と光架橋素子の置換基を変えることで、標的シトシンの周辺環境が親水性であるほど、脱アミノ化状態を緩和できることを見出した。さらに、周辺部位にミスマッチを導入することでも脱アミノ化が促進されることを見出した。一方、末端にリン酸基を結合させた脱アミノ化プローブを用いると、脱アミノ化が大幅に促進され、これまで困難であった生理的条件下での 24 時間のインキュベーションで、シトシンを 80% 以上の高収率でウラシルに変換できることが実証された。リン酸基の付加による親水性の増加が、シトシンの脱アミノ化の促進に寄与していると考えられる。また、ホスホロチオエート化したプローブでも同様の脱アミノ化の促進が観察された。さらに標的が RNA の場合、生理的条件下で RNA を編集できることを確認した。次に、RNA 鎖におけるシトシンからウラシルへの変換に対する周囲の塩基の影響を調べた。通常のグアニン (G) に加え、シトシン (C)、イノシン (I)、シアのビニルカルバゾール (CNVK)、カルボキシビニルカルバゾール (OHVK)、ヒドロキシメトキシビニルカルバゾール (OMeVK)、カルボキシカミドビニルカルバゾール (NH2VK) を用いて、シトシンからウラシルへの変換効率を評価した (図 2)。37°C でのインキュベーション後、保持時間の異なる新しいピークが観察され、その保持時間は ORN (U) の保持時間と一致したことから、シトシンからウラシルへの変換が確認され、変換率はインキュベーション時間と共に増加した。同様に、周囲の塩基の違いによる変換効率の違いも確認された。最も変換効率の高い組み合わせは、対塩基が I、光架橋素子が OHVK の組み合わせで、37°C で 7 日間培養後、70°C 以上の変換効率が確認された。次いで、対塩基が I で光架橋剤が OHVK の組み合わせであった。次に変換効率が高かったのは、対塩基を I、光架橋素子を NH2VK とした場合であった。この変換効率の差の依存性を調べるために、光架橋剤の分配係数 (LogP) を測定した。各架橋剤を HPLC で測定し、保持時間から logP を算出した。その結果、変換率と分配係数の間に相関が見られた。まず、対塩基イノシンの場合、光架橋剤が OHVK の場合に最も変換効率が高く、次いで NH2VK、CNVK、OMeVK の順であった。対塩基が G と C の場合も同様であった。これらの結果は、親水性が高いほど脱アミノ化反応速度が速いことを示しており、DNA におけるシトシンからウラシルへの変換の場合と同様に、極性が重要であることを示している。これは、ウラシルへの光化学的脱アミノ反応が、シトシンの 4 位の炭素上の水分子の求核置換攻撃によって起こる

ためであり、シトシン周辺の親水性が高いほど、脱アミノ化に必要な水分子がより多く存在できるためではと考えている。以上の通り、末端にリン酸基を有する光 RNA 編集用オリゴ DNA を用いることで生理条件下で RNA 編集可能であることを見出したことから、細胞内での光 RNA 編集操作について明確な道筋をつけることができたと考えられる。

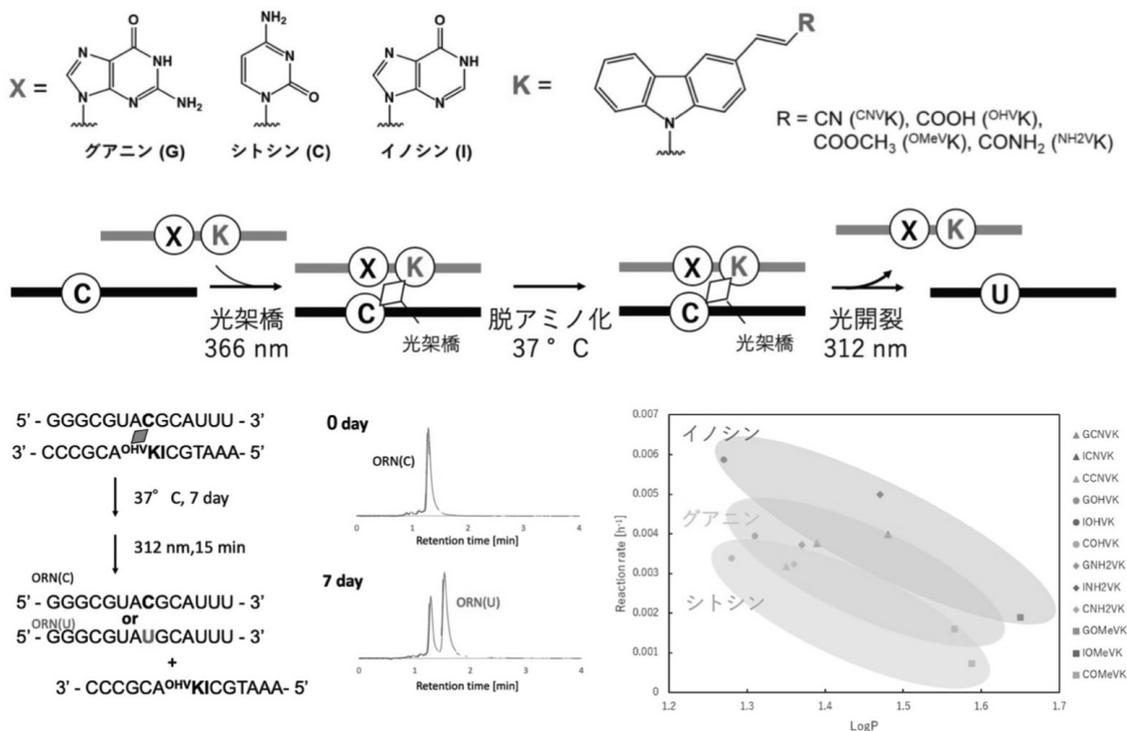


図2 光 RNA 編集に与える周辺環境の影響

### (3) pDDI による核酸操作技術の確立

高次構造を有する RNA ならびにゲノム DNA に対する化学分子を用いた各種操作は、その高次構造に起因するプローブ核酸のアクセスがそもそも難しいことが最大の障壁となっていた。たとえばゲノム DNA 操作であれば、その基質となる DNA2 本鎖が非常に安定な 2 重らせん構造を有することから、オリゴ核酸 (ODN) が DNA2 本鎖に対して相互作用しようとしてもすぐ押し出されてしまうため、DNA2 本鎖に対して配列選択的に相互作用する人工核酸の報告例が殆どなかった。そこで、高次構造をもつ核酸の代表例と考えられる DNA2 本鎖に対する操作法の開発を試みた。CNVK を埋め込んだ人工核酸プローブをそれぞれ片側の DNA 鎖と同時に相互作用させることで double duplex invasion (DDI) という安定な構造を構築できるのではと考えた。まず、CNVK の架橋位置に自己架橋抑制因子となる塩基を 4 種類 (チミン (T)、5-cyanouracil (CNU), Spacer, dSpacer) 検討し、CNU および Spacer が DDI 構築の際に副反応として考えられる光応答性プローブ同士の架橋反応を効率よく抑制することを見出した (図 3)。次にこの CNVK と CNU を併せもつプローブを 400 塩基対の長鎖 ODN に対して相互作用させ 385 nm 光照射を 1 秒おこなったところ、70%以上の高収率で DDI 構造が構築できることを見出した。

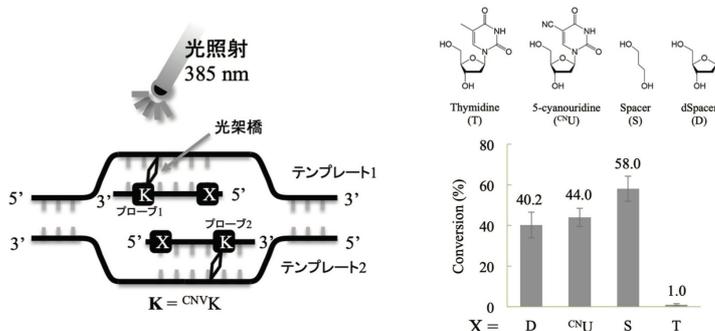


図3 pDDI を用いた高次構造をもつ核酸操作

### (4) 光架橋性核酸プローブを用いた細胞内転写光制御の評価 (発表論文④)

は「光抑制するのではなく特定の蛋白質の発現を光を用いて促進できないか?」と考え研究を進

めることとした。着目したのは既に遺伝子発現を抑制方向に制御する機能が明らかになっていた5'-非翻訳領域(5' UTR)という配列である。この抑制に寄与していた5' UTRに対してアンチセンス法を用いることにより、遺伝子発現抑制機能を光阻害できれば、結果的に特定の遺伝子発現の促進に繋がると考えた。HEK293 細胞に対し、合成した光応答性人工 ODN をリポフェクトアミン RNAiMAX を用い細胞内に導入し、385 nm の光照射後 5h インキュベーションしたものを採取し、ウェスタンブロッティングにより  $\beta$  アクチンの発現量を内部標準タンパク GAPDH の発現量と蛍光比率を用いて比較した。 $\beta$  アクチンと GAPDH の相対蛍光比率を用いて評価した結果、該当プローブ 50 pmol 導入した場合が3倍の蛍光比率となり、特定の蛋白質の発現を光を用いて促進できることを確認した。本手法が細胞内の RNA の光制御へと応用可能であることを実証した。

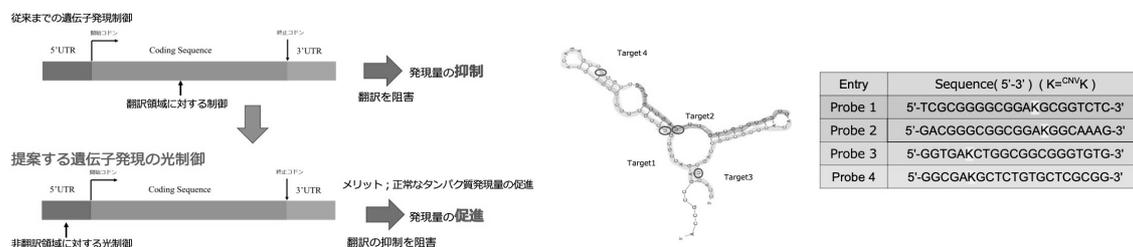


図4 細胞内 RNA 機能の光制御 (転写促進制御)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fujimoto Kenzo, Ichikawa Masakatsu, Nakamura Shigetaka	4. 巻 97
2. 論文標題 Photoinduced aggregation of liposome modified with DNA containing ultrafast DNA photo cross linker	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Technology & Biotechnology	6. 最初と最後の頁 295 ~ 298
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jctb.6941	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 Yako Ryutaro, Ise Daihei, Komiya Ken, Fujimoto Kenzo, Kobayashi Satoshi	4. 巻 40
2. 論文標題 Monotone Control of R Systems	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 New Generation Computing	6. 最初と最後の頁 623 ~ 657
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00354-022-00166-2	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 Sethi Siddhant, Ishino Kanako, Takeda Kai, Nakamura Shigetaka, Fujimoto Kenz	4. 巻 52
2. 論文標題 Effects of base-pair mismatch on the deamination of cytosine photo-crosslinked to 3-cyanovinylcarbazole	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 273 ~ 275
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.230055	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 Fujimoto Kenzo, Licheng Wan, Nakamura Shigetaka	4. 巻 35
2. 論文標題 The effect of 5-substituent in cytosine to the photochemical C to U transition in DNA strand	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 127812 ~ 127812
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2021.127812	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 Mihara Jun-ichi、Fujimoto Kenzo	4. 巻 19
2. 論文標題 Photocrosslinking of DNA using 4-methylpyranocarbazole nucleoside with thymine base selectivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Organic and Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 9860 ~ 9866
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D10B01621K	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 Fujimoto Kenzo、Hirano Ayumu、Watanabe Yasuha、Shimabara Ami、Nakamura Shigetaka	4. 巻 22
2. 論文標題 The inhibition effect of photo-cross-linking between probes in photo-induced double duplex invasion DNA	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 3402 ~ 3405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.202100430	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 Fujimoto Kenzo、Ichikawa Masakatsu、Nakamura Shigetaka	4. 巻 97
2. 論文標題 Photoinduced aggregation of liposome modified with DNA containing ultrafast DNA photo-cross-linker	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Technology and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 295 ~ 298
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jctb.6941	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 Sethi Siddhant、Zumila Hailili、Watanabe Yasuha、Mo Junling、Fujimoto Kenzo	4. 巻 98
2. 論文標題 UltraFast PhotoInduced double duplex DNA invasion into a 400-mer dsDNA target	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 129597 ~ 129597
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2023.129597	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 Sethi Siddhant, Takashima Yasuharu, Nakamura Shigetaka, Wan Licheng, Honda Nozomi, Fujimoto Kenzo	4. 巻 45
2. 論文標題 Acceleration of the Deamination of Cytosine through Photo-Crosslinking	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Current Issues in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 4687 ~ 4700
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cimb45060298	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45件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 成田泰之, 三原純一, Sethi Siddhant, 藤本健造
2. 発表標題 RNA-光FISHに向けたチミン及びウラシル特異的光クロスリンク反応の開発
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第16回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 島原杏実, 渡部康羽, Sethi Siddhant, 藤本健造
2. 発表標題 ゲノム操作を指向した超高速光クロスリンクによる新規DNA 2本鎖侵入法の開発
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第16回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Siddhant Sethi, Shigetaka Nakamura, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Development of C->U mutation technology using reversible photo-cross-linking for prospective in-vivo RNA editing applicationw
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第16回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平野佑樹, 篠崎一世, Sethi Siddhant, 藤本健造
2. 発表標題 微量RNAの定量検出に向けた超高速光核酸クロスリンクプローブ開発
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第16回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Siddhant Sethi, Eita Satonaka, Kei Sakuma, Shu Kawazoe, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Development of photo-cross-linking assisted C->U deamination for in-vivo RNA editing applications
3. 学会等名 Siddhant Sethi, Eita Satonaka, Kei Sakuma, Shu Kawazoe, Kenzo Fujimoto 第23回日本RNA学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sethi siddhant, 中村 重孝, 藤本 健造
2. 発表標題 細胞内RNA光編集に向けた可逆的光架橋を用いたピンポイントC-U変異法開発
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 成田泰之, 三原純一, Sethi Siddhant, 藤本健造
2. 発表標題 細胞内RNA-光FISHに向けたチミン、ウラシル特異的超高速光クロスリンク反応の開発
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 島原杏実, 渡部康羽, Sethi Siddhant, 藤本健造
2. 発表標題 ゲノム光操作のための超高速光クロスリンクによる新規DNA 2本鎖侵入法の開発
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 Siddhant Sethi, Eita Satonaka, Kei Sakuma, Shu Kawazoe, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Site-specific C->U deamination using photo-cross-linkable probe for RNA editing applications
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 里中誓伊太, 成田泰之, 三原純一, Sethi Siddhant, 藤本健造
2. 発表標題 細胞内RNA-光FISH に向けたウラシル特異的超高速光クロスリンク反応の開発
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 島原杏実, 渡部康羽, Sethi Siddhant, 藤本健造
2. 発表標題 超高速光架橋素子を含むオリゴ核酸を用いた長鎖dsDNA侵入法開発
3. 学会等名 日本化学会秋季事業 第12回 CSJ化学フェスタ2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yasuyuki Narita, Jun-ichi Mihara, Siddhant Sethi, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Development of thymine and uracil specific photo-crosslinking using 4-methyl pyranocarbazole and its application to photo-RNA FISH
3. 学会等名 International Symposium of Nucleic Acids Chemistry 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Siddhant Sethi, Kei Sakuma, Kei Sakuma, Eita Satonaka, Shu Kawazoe, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Effect of hydrophilicity on the rate of deamination of 3-cyanovinylcarbazole analogs photo-crosslinked cytosine to uracil in DNA and RNA
3. 学会等名 International Symposium of Nucleic Acids Chemistry 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ami Shimabara, Yasuha Watanabe, Siddhant Sethi, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 3-cyanovinylcarbazole mediated DNA photo-crosslink assisted double duplex invasion for genomic manipulation applications
3. 学会等名 International Symposium of Nucleic Acids Chemistry 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroki Naito, Siddhant Sethi, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Development of fluorine-containing pyranocarbazole derivatives induced photo-crosslinking for <sup>19</sup> F-NMR chemical shift imaging for nucleic acid detection
3. 学会等名 International Symposium of Nucleic Acids Chemistry 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Siddhant Sethi, Eita Satonaka, Kei Sakuma, Shu Kawazoe, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Photo-crosslink accelerated cytosine deamination for development of RNA editing
3. 学会等名 第95回(2022年)日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Siddhant Sethi, Eita Satonaka, Kei Sakuma, Shu Kawazoe, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Photo-cross-linked assisted site-specific nucleic acid editing for C to U conversion for both DNA and RNA manipulation
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会 (MBSJ2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三原純一、渡辺ななみ、橋本実沙季、藤本健造
2. 発表標題 大腸菌16SrRNAを標的とする超高速RNA光架橋を用いた新規FISHの開発
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第15回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 篠崎一世、中島涼、中村重孝、藤本健造
2. 発表標題 ビニルカルバゾール誘導体による超高速DNA光架橋反応を用いたメチルシトシンの検出
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第15回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中村重孝、万李成、藤本健造
2. 発表標題 可逆的DNA光クロスリンクを用いたDNA編集に標的シトシン 5 位の置換基が与える影響
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第15回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Junichi Mihara, Nanami Watanabe, Misaki Hshimoto, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Development of novel FISH using ultrafast RNA photo-cross-linking targeting the difficult-to-detect region of E. coli 16S rRNA
3. 学会等名 第22回日本RNA学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shigetaka Nakamura, Kanako Ishino, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Study of photochemical RNA C to U editing via ultrafast photo-cross-linking using 3-vinylcarbazole derivatives and Inosine
3. 学会等名 第22回日本RNA学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 篠崎一世、万李成、中村重孝、藤本健造
2. 発表標題 超高速光架橋反応を用いたメチルシトシンからチミンへの光化学的塩基編集
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 成田泰之、三原純一、笹子しのぶ、藤本健造
2. 発表標題 ピラノカルバゾール誘導体を含む可視光応答性新規DNA光クロスリンカーの開発
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 川添秀、石野佳奈子、中村重孝、藤本健造
2. 発表標題 標的シトシンの周辺塩基が可逆的RNA光架橋反応を用いたRNA編集に与える影響
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 Jun-ichi Mihara, Kanako Ishino, Shigetaka Nakamura, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Development of DNA/RNA editing with site-specific C->U conversion using reversible photo-cross-linking
3. 学会等名 ISNAC2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Zumila Halili, Nanami Watanabe, Shigetaka Nakamura, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 RNA FISH of 16S rRNA in E. coli using multiple probes containing ultrafast RNA photo-cross-linker
3. 学会等名 ISNAC2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 篠崎一世、万李成、中村重孝、藤本健造
2. 発表標題 超高速光架橋反応を利用したメチルシトシンからチミンへの光化学的ピンポイント核酸塩基編集
3. 学会等名 2021年度北陸地区講演会と研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武田海、石野佳奈子、中村重孝、藤本健造
2. 発表標題 光を用いたピンポイント核酸塩基編集に標的シトシンの対合塩基が与える影響
3. 学会等名 2021年度北陸地区講演会と研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 多田龍生、石野佳奈子、中野雅元、中村重孝、藤本健造
2. 発表標題 可逆的RNA光架橋反応を用いた細胞内RNA光化学的C to U変換
3. 学会等名 2021年度北陸地区講演会と研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成田泰之、三原純一、笹子しのぶ、藤本健造
2. 発表標題 カルバゾール骨格を有する可視光応答性新規光架橋素子の開発
3. 学会等名 2021年度北陸地区講演会と研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三原純一、Hang Yong Chun、藤本健造
2. 発表標題 RNA光架橋反応を用いた細胞内アンチセンス効果の光制御
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成田泰之、橋本美沙希、藤本健造
2. 発表標題 可視光で光架橋可能なピラノカルバゾールを用いたRNA FISH法の開発
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 多田龍生、藤本健造
2. 発表標題 細胞内RNA光編集に向けた光応答性人工核酸開発
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会(2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 篠崎一世、藤本健造
2. 発表標題 RNA定量検出に向けた超高速光架橋核酸プローブの開発
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会(2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 成田泰之、藤本健造
2. 発表標題 光架橋型RNA-FISHにおける配列選択性評価
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会(2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Zumila Hailili, Siddhant Sethi, Yasuha Watanabe, Ami Shimabara, Junling Mo, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 400 mer Double Duplex Invasion Via Ultra-Fast Photo- Cross-Linking
3. 学会等名 The 50h International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kenzo Fujimoto, Shigetaka Nakamura, Toya Odai, Zumila Hailili, Junling Mo, Toshifumi Tsukahara
2. 発表標題 Development of intracellular sequence-specific DNA photocrosslinking by photochemical double duplex invasion DNA
3. 学会等名 The 50h International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 莫竣凌, 小田井柊也, 中村重孝, 塚原俊文, 藤本健造
2. 発表標題 配列選択的な遺伝子治療に向けたDNA 光架橋を用いたDNA 2本鎖侵入法の開発
3. 学会等名 第17回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Zumila Hailili, Nanami Watanabe, Siddhant Sethi, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Multi-probe RNA FISH of 16S rRNA in E. coli using Photo-cross-linker D-threosinol
3. 学会等名 日本核酸医薬学会 第8回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 MO junling, 平野歩, 中村重孝, 塚原俊文, 藤本健造
2. 発表標題 配列特異的遺伝子治療に向けた光駆動型Double duplex invasion DNA 構築
3. 学会等名 日本核酸医薬学会 第8回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 平原令偉, 三原純一, Sethi Siddhan, 藤本健造
2. 発表標題 DNA中のチミンと特異的に架橋する新規DNA光クロスリンク反応の開発
3. 学会等名 日本核酸医薬学会 第8回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Siddhant Sethi, Zhiyong Qiu, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Development of peptide-DNA crosslinking using photo-active 3- cyanovinylcarbazole-based amino acid
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第17回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 MO junlin, 中村重孝, 塚原俊文, 藤本健造
2. 発表標題 CNVK含有Double duplex invasion DNA を用いた配列特異的DNA 治療法の開発
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第17回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Zumila Hailili, Nanami Watanabe, Siddhant Sethi, Kenzo Fujimoto
2. 発表標題 Wash-free RNA FISH of 16S rRNA in E. coli using Multiple Ultrafast Photo-cross-linkable RNA Probes
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第17回年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 チミン選択的光応答性ヌクレチドアナログ	発明者 藤本健造	権利者 国立大学法人北陸先端科学技術大学院大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2024-11378	出願年 2024年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 二重鎖核酸に対してインベージョンして核酸配列特異的に結合可能な人工核酸プローブ、及び該人工核酸プローブを使用して二重鎖核酸中の核酸配列へ配列特異的に人工核酸プローブを結合する方法	発明者 藤本健造	権利者 国立大学法人北陸先端科学技術大学院大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2024-013725	出願年 2024年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

藤本教授らの論文がOrganic & Biomolecular Chemistry誌の表紙に採択 <a href="https://www.jaist.ac.jp/whatsnew/info/2021/11/29-1.html">https://www.jaist.ac.jp/whatsnew/info/2021/11/29-1.html</a>
---

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
---------	---------