

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：13302

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25290072

研究課題名(和文) 遺伝子修復治療を目指した化学的RNA Editing法の確立

研究課題名(英文) Establishment of chemical RNA editing method for genetic code resoration therapy

研究代表者

塚原 俊文 (Tsukahara, Toshifumi)

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：60207339

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：BFP-mRNAに対して脱アミノ化誘起用ODNを用いて光化学的な部位特異的脱アミノ化処理を行った。光化学的RNA editingは、RT-PCR-RFLPとin vitro翻訳したタンパク質の蛍光を確認した。また、光化学的RNA editingした当該mRNAの全長をシーケンスし、他の箇所に変異が生じていないことも確認した。効率的な脱アミノ化を誘起するODNデザインについても検討し、相補的配列長が14塩基で、ヘアピン長が9塩基のODNが12.4%と最も高い光化学的RNA editing効率を示した。この結果は光化学的RNA editing法が疾患治療法として適用可能であることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：Photochemical site-specific deamination was performed toward BFP-mRNA, by using oligodeoxynucleotides, ODNs, for inducing deamination. The base substitution by artificial RNA editing was confirmed by RT-PCR-RFLP analysis and fluorescence of in-vitro-translated proteins. Moreover, the mRNA sample was sequenced after photochemical RNA editing treatments, and confirmed that there was no mutation occurred except the target-site. We also investigated the ODN design that could induce efficient deamination. The ODN with complementary sequence length of 14 bases and hairpin length of 9 bases showed the highest photochemical RNA editing efficiency at 12.4%. This result suggests that the photochemical RNA editing is applicable as a therapeutic method for genetic diseases.

研究分野：分子生物学

キーワード：疾患治療 点変異 RNA editing 脱アミノ化 蛍光タンパク質 遺伝コード修復 RFLP 恒常的発現細胞

### 1. 研究開始当初の背景

RNAの一部は生体内で化学的修飾を受け、遺伝暗号が変化する。例えば、ヒト・アポリポタンパク質Bは組織特異的なC>U変換によって遺伝コードを変化させることで、組織特異的なアイソフォームの発現制御を実現する。このような現象はRNA editingと呼ばれ、生体で広く存在している。RNA editingでは転写されたRNAのアデノシン(A)あるいはシチジン(C)が部位特異的に脱アミノ化され、結果としてイノシン(I)あるいはウリジン(U)に変換される。Iの相補的塩基はCであるため、この反応によって**遺伝コードがA>G変換あるいはC>U変換することになる**。一方、研究分担者である藤本らは光結合性の核酸誘導体を利用した核酸塩基の化学的脱アミノ化技術を開発し、部位特異的なCの脱アミノ化に成功した。そこで、この技術を応用して、細胞内の変異RNAの変異部位を修復するという本研究を着想した。本研究の開始時期までに、遺伝子内にT>C変異を持つ疾患症例(Leigh脳症: mt.8993T>C症例)をモデルに人為的な化学的RNA editingによる変異RNAの修復研究を行ってきた。相補的塩基鎖の末端に光感受性のカルボキシビニルウリジン(<sup>CV</sup>U)を付加することで塩基配列特異性を持たせたオリゴデオキシヌクレオチド(ODN)をT>C変異を有するターゲット核酸に作用させ、変異シチジンの脱アミノ化が可能か否かを検討した。そして、ターゲット核酸へのアニール、光連結、脱アミノ化熱反応、光解裂による<sup>CV</sup>U含有ODNの遊離、といった一連の操作によって**部位特異的なRNAの脱アミノ化(即ち遺伝コードの修復)が、少なくとも*in vitro*では可能であることを示した**。しかし、当該の患者由来細胞は低分子核酸を含め外来遺伝子をほとんど受け付けなければならず、増殖能も低いため、細胞内でのRNA修復研究が困難であった。従って、化学的RNA editingによる*in vivo*変異修復のための簡便な実験系の確立が必要であった。

### 2. 研究の目的

本研究は、RNA内のC塩基のアミノ基を脱アミノ化してUとする生体内機構であるRNA editingと同様の反応を光化学的に人為的に再現することで、点変異したRNAを標的に、細胞内で部位特異的な脱アミノ化を誘起し、遺伝コードを変換・修復する方法を確立することを最終的な目的に、まずは*in vitro*合成した全長のmRNAを標的として修復することを目指した。具体的にはGFP遺伝子の199T>C変異が青色蛍光を発するBFP遺伝子となることに注目し、*in vitro*合成したBFP-mRNAに部位特異的な脱アミノ化を誘起し、199C>UとしてGFPとする方法の確立と、遺伝コード修復を定量的に判定して、遺伝コード修復を実現できる脱アミノ化誘起薬の開発を行うための基礎的研究を行った。

### 3. 研究の方法

下記の研究小テーマを遂行して、脱アミノ化誘起ODNの開発を行い、人為的な化学的RNA editingによるBFP-mRNAの199C>Uの変換を検証し、人為的遺伝コード修復法を確立する。(1) BFP-mRNA脱アミノ化誘起ODNの設計 ODNの相補塩基部やヘアピン構造部が長いほど修復効率が高いというデータも示されており、これらの知見を基に、BFP遺伝子配列の199Tを効率良く脱アミノ化するための、脱アミノ化誘起ODNを設計・合成する。(2) BFP-mRNAのC>U修復に関する研究 上記で有効なODNが確認できれば、*in vitro*転写したBFP-mRNAを対象にRNAの修復実験を行い、*in vitro*翻訳系を用いてタンパク質レベルでBFP→GFP変換が実際に誘起されていることを確認する。脱アミノ化に必要な熱処理に関しては、<sup>CV</sup>Uについては既に*in vitro*で37°C、24時間の反応で十分な変異修復効果が認められている。光照射による脱アミノ化誘起ODNのターゲットへの結合後、24時間あるいはそれ以上の放置によって脱アミノ化反応が進行すると考えられる。遺伝コード修復の有無についてはPCR-RFLPや塩基配列決定によって確認できる。変換効率が高ければ蛍光分光観察や蛍光顕微鏡による蛍光発色の観察によっても簡便に評価できると考えている。(3) 遺伝子修復後のGFPタンパク質生成確認 BFP199C>Uの置換が確認されたら、当該処理を施したmRNAから*in vitro*合成でタンパク質を合成し、抗体を用いたウェスタンブロットや蛍光イメージアナライザーを用いた解析でGFPタンパク質の生合成と変異修復効率について確認できる。また、mRNA全長を塩基配列決定することで、他部位の変換の有無も検証する。

### 4. 研究成果

RNA editing機構を化学的に模倣して部位特異的に塩基を脱アミノ化することで遺伝コードを修復する研究を行うため、まず実験系の構築を行った。GFP遺伝子の199T>C変異体は青発しBFPとなることに注目して、**BFP-mRNAに化学的に199C>U変異を誘起してGFPとするモデルを実験系とした**。光官能基には<sup>CV</sup>Uと

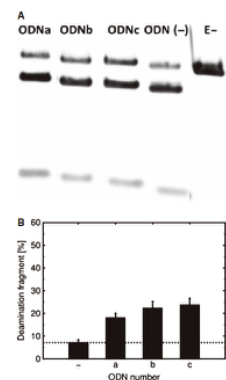


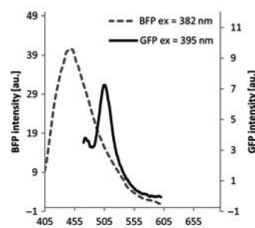
図1. RFLPの結果

<sup>CV</sup>Kを用い、BFP-mRNA配列に相補的な部分を有する化学的脱アミノ化誘起ODNを設計し、合成した。

*In vitro*転写によって調製したBFP-mRNAと<sup>CV</sup>U含有ODNを混合後、光照射による結合、熱処理による脱アミノ化、別波長の光照射によ

る解離による部位特異的脱アミノ化処理を行った。光化学的 RNA editing は、RT-PCR-RFLP で確認した。図 1 の様に一連の操作による変異修復が確認できた。さらに、*in vitro* 翻訳したタンパク質試料に GFP に特異的な緑色蛍光を確認し、化学的 RNA editing による変異修復と機能を有するタンパク質の合成が確認できた (図 2 参照)。

図 2. *In vitro* 合成タンパク質の蛍光波長



さらに、光化学的 RNA editing した当該 mRNA の全長をシークエンスし、他の箇所に変異が生じていないことを確認した。これは、人為的な RNA editing によって、変異した mRNA を人為的に修復できること、即ち本法が疾患治療法として適用可能であることを示唆している。

細胞内での光化学的 RNA editing による遺伝コード修復研究を実施するために必要な BFP 遺伝子の恒常的発現細胞も、HEK293 細胞株を用いて樹立しており、細胞内での遺伝コード修復の成功が待たれる。

一方、研究分担者である藤本は <sup>CNVK</sup> 含有 ODN による光化学的 RNA editing の反応機構の解明を行い、ターゲットとの塩基対形成の安定性が光化学反応に影響していることを見出し、今後の光化学的 RNA editing 誘起用 ODN 開発に重要な知見を与えた。

本研究によって、全長の BFP-mRNA を標的分子とした光化学的 RNA editing (部位特異的脱アミノ化) が可能であること、さらには光化学的 RNA editing を受けた mRNA から機能を有するタンパク質が合成されることが明らかとなった。これは、人為的な RNA editing によって、変異した mRNA を人為的に修復できること、即ち本法が疾患治療法として適用可能であることを示している。また、より効率的な脱アミノ化を誘起する ODN デザインについても検討した。図 4 に示した様に、ODN は BFP-mRNA に相補的な配列と、<sup>CNV</sup>U 官能基およびヘアピン構造で構成される。これらの鎖長を様々に変化させた ODN を設計し、その遺伝コード修復能を調べたところ、図 3 に示す様に、BFP をターゲットとした場合は、相補的配列長が 14 塩基、ヘアピン長が 9 塩基の

ODN が最も効率的であった。この結果をまとめて ODN の構造模式図と共に図 4 に示した。

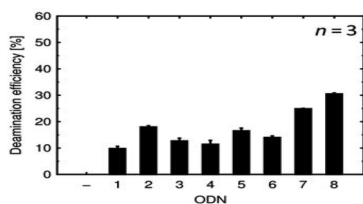


図 3. 各種 ODN による遺伝コード修復能の変化

以上の様に本研究によって、全長の BFP-mRNA

を標的分子とした光化学的 RNA editing (部位特異的脱アミノ化)、さらには修復された RNA から完全長で機能を有したタンパク質合成が可能であることが示され、人為的 RNA editing による疾患治療の可能性が拓かれた。

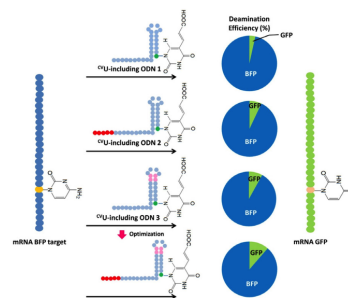


図 4. ODN デザインと遺伝コード修復能

## 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 33 件) 全て査読有

① C-to-U Editing and Site-Directed RNA Editing for Correction of Genetic Mutations, Vu Thi Luyen, Toshifumi Tsukahara, *Bioscience Trends*, (2017) in press. DOI: <http://doi.org/10.5582/bst.2017.01049>

② Development of <sup>19</sup>F-NMR chemical shift detection of DNA B-Z equilibrium using <sup>19</sup>F-NMR, Shigetaka Nakamura, Yang Hui, Chihiro Hirata, Florian Kersaudy, Kenzo Fujimoto, *Organic & Biomolecular Chemistry*, (2017) in press. DOI: [10.1039/C7OB00706J](http://doi.org/10.1039/C7OB00706J)

③ Effect of nucleobase change on cytosine deamination through DNA photo-cross-linking reaction via 3-cyanovinylcarbazole nucleoside, Siddhant Sethi, Minako Ooe, Takashi Sakamoto, Kenzo Fujimoto, *Molecular BioSystems*, (2017) in press. DOI: [10.1039/C7MB00082K](http://doi.org/10.1039/C7MB00082K)

④ Neuron-specific splicing: a review, Nor Hakimah Ab Hakim, Burhanuddin Yeop Majlis, Hitoshi Suzuki, Toshifumi Tsukahara, *Bioscience Trends*, (2017) in press. DOI: [10.5582/bst.2016.01169](http://doi.org/10.5582/bst.2016.01169)

⑤ Characterization of human telomere RNA G-quadruplex structures *in vitro* and in living cells using <sup>19</sup>F NMR spectroscopy, Hong-Liang Bao, Takumi Ishizuka, Takashi Sakamoto, Kenzo Fujimoto, Tamayo Uechi, Naoya Kenmochi, Yan Xu, *Nucleic Acids Research*, (2017) **45**, 5501-5511. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx109>

⑥ Expression Analysis of Fox-2 Alternative Isoforms during Neuronal Differentiation, Nor Hakimah Ab Hakim,

Burhanuddin Yeop Majlis, Hitoshi Suzuki, Toshifumi Tsukahara *Int' l J Advances Chemical Engg. Biological Sciences* (2016) **3**, 102-104. DOI: <http://dx.doi.org/10.15242/IJACEBS.IAE0516407>

⑦ Endogenous Multiple Exon Skipping and Back-splicing at the DMD Mutation Hotspot. Hitoshi Suzuki, Yoshitsugu Aoki, Toshiki Kameyama, Takashi Saito, Satoru Masuda, Jun Tanihata, Tetsuya Nagata, Akila Mayeda, Shin'ichi Takeda, Toshifumi Tsukahara, *Int. J. Mol. Sci.* (2016) **17**(10), 1722, DOI:10.3390/ijms17101722

⑧ Chemical RNA Editing for Genetic Restoration: The Relationship between the Structure and Deamination Efficiency of Carboxyvinyldeoxyuridine Oligodeoxynucleotides, Vu Thi Luyen, Nguyen Thi Kim Thanh, Md Thoufic Anam Azad, Hitoshi Suzuki, Toshifumi Tsukahara, *Chemical Biology & Drug Design*, (2016) **87**, 583-593. DOI: 10.1111/cbdd.12693

⑨ RNA fluorescence in situ hybridization using 3-cyanovinylcarbazole modified oligodeoxyribonucleotides as photo-cross-linkable probes, Kenzo Fujimoto, Kei Toyosato, Shigetaka Nakamura, Takashi Sakamoto, *BioorgMedChem. Lett*, (2016) **26**, 5312-5314. DOI:10.1016/j.bmcl.2016.09.035

⑩ Sequence-Specific DNA Photosplitting of Crosslinked DNAs Containing the 3-Cyanovinylcarbazole Nucleoside by Using DNA Strand Displacement, Shigetaka Nakamura, Hayato Kawabata, Kenzo Fujimoto, *Chem BioChem*, (2016) **17**, 1499-1503. DOI: 10.1002/cbic.201600236

⑪ Effect of 5-substitution of uracil base in DNA photo-cross-linking using 3-cyanovinylcarbazole, Shigetaka Nakamura, Hayato Kawabata, Hodaka Muramatsu, Kenzo Fujimoto, *Chem. Lett.*, (2016), **45**, 8, 887-889. DOI: 10.1246/cl.160382

⑫ Reversible Gel-Sol Transition of Photo-Responsive DNA Gel, Daisuke Kandatsu, Ibuki Kawamata, Shogo Hamada, Shin-ichiro M. Nomura, Kenzo Fujimoto, Satoshi Murata, *ChemBioChem*, (2016) **17**, 12, 1118-1121. DOI: 10.1002/cbic.201600088

⑬ UVA Responsive Anticancer Prodrugs Based on Photoinduced Electron Injection into Oligonucleotide Having 5-Halouracils, Kenzo Fujimoto, Mirei Furusawa, Shigetaka Nakamura, Takashi Sakamoto, *Chem. Lett.*, (2016) **45**, 9, 1078-1080. DOI: 10.1246/cl.160492

⑭ Simultaneous detection of single-nucleotide polymorphisms in a DNA bulge structure using fluorine-modified bisbenzimidazole derivative, Takashi Sakamoto, Daisaku Hasegawa, Kenzo Fujimoto, *Analyst*, (2016) **141**, 1214-1217. DOI: 10.1039/C5AN02389K

⑮ Deletion of exons 3-9 encompassing a mutational hot spot in the DMD gene presents an asymptomatic phenotype, indicating a target region for multiexon skipping therapy, Nakamura A, Fueki N, Shiba N, Motoki H, Miyazaki D, Nishizawa H, Echigoya Y, Yokota T, Aoki Y, Takeda S, *J Hum Genet* (2016) **61**, 663-667. DOI:10.1038/jhg.2016.28

⑯ Changing Blue Fluorescent Protein to Green Fluorescent Protein Using Chemical RNA Editing as a Novel Strategy in Genetic Restoration, Luyen T Vu, Thanh TK Nguyen, Shafiul Alam, Takashi Sakamoto, Kenzo Fujimoto, Hitoshi Suzuki, Toshifumi Tsukahara, *Chemical Biology & Drug Design* (2015) **86**, 1242-1252. DOI: 10.1111/cbdd.12592

⑰ A versatile puromycin-linker using <sup>cmv</sup>K for high-throughput *in vitro* selection by cDNA display. Yuki Mochizu, Takeru Suzuki, Kenzo Fujimoto, Naoto Nemoto, *Journal of Biotechnology*, (2015) **212**, 174-180 DOI: 10.1016/j.jbiotec.2015.08.020

⑱ Critical Effect of Base Pairing of Target Pyrimidine on the Inter-strand Photocross-linking of DNA via 3-Cyanovinylcarbazole Nucleoside, Takashi Sakamoto, Minako Ooe, Kenzo Fujimoto, *Bioconjugate Chemistry*, (2015) **26**, 8, 1475-1478 DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00352

⑲ Photo-cross-linking using trifluorothymidine and 3-cyanovinylcarbazole induced large shifted <sup>19</sup>F MR signal, Shigetaka Nakamura, Kenzo Fujimoto, *Chemical Communications*, (2015) **51**, 11765-11768 DOI: 10.1039/C5CC02972D

- ⑳ Fluorine-modified bisbenzimidazole derivative as a molecular probe for bimodal and simultaneous detection of DNAs by <sup>19</sup>F NMR and fluorescence, Takashi Sakamoto, Daisaku Hasegawa, Kenzo Fujimoto, *Chemical Communications*, (2015) **51**, 8749-8752  
DOI: 10.1039/C5CC01995H
- ㉑ DNA Photo-cross-linking using 3-Cyanovinylcarbazole Modified Oligonucleotide with Threoninol Linker, Takashi Sakamoto, Yuya Tanaka, Kenzo Fujimoto, *Organic Letters*, (2015) **17**, 4, 936-939.  
DOI: 10.1021/acs.orglett.5b00035
- ㉒ G-CSF supports long-term muscle regeneration in mouse models of muscular dystrophy, Hayashiji N, Yuasa S, Miyagoe-Suzuki Y, Hara M, Ito N, Hashimoto H, Kusumoto D, Seki T, Tohyama S, Kodaira M, Kunitomi A, Kashimura S, Takei M, Saito Y, Okata S, Egashira T, Endo J, Sasaoka T, Takeda S, Fukuda K, *Nat Commun* (2015) **6**, 6745. DOI:10.1038/ncomms7745
- ㉓ Computational extraction of a neural molecular network through alternative splicing, S Alam, HT Phan, M Okazaki, M Takagi, K Kawahara, T Tsukahara, H Suzuki *BMC research notes*, (2014) **7** (1), 934  
DOI:10.1186/1756-0500-7-934
- ㉔ Alternative splicing regulation of APP exon 7 by RBFox proteins, Shafiul Alam, Hitoshi Suzukia, Toshifumi Tsukahara, *Neurochemistry International*, (2014) **78**, 7-17,, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.08.001>
- ㉕ A View of Pre-mRNA Splicing from RNase R Resistant RNAs; Hitoshi Suzuki, Toshifumi Tsukahara, *Int. J. Mol. Sci.* (2014) **15**, 9331-9342.  
DOI: 10.3390/ijms15069331
- ㉖ Photo-regulation of constitutive gene expression in living cells by using ultrafast photo-cross-linking oligonucleotides, Takashi Sakamoto, Atsuo Shigeno, Yuichi Ohtaki. Kenzo Fujimoto, *Biomaterials Science*, (2014) **2**, 9, 1154-1157.  
DOI: 10.1039/C4BM00117F
- ㉗ Rapid photopolymerization of oligonucleotides by 3-cyanovinylcarbazole mediated DNA photocross-linking, Shigetaka Nakamura, Kenzo Fujimoto, *J Photopolymer Science and Technology*, (2014) **27**, 4, 485-490.  
DOI: 10.2494/photopolymer.27.485
- ㉘ Short oligonucleotide prodrug having 5-fluoro and 5-iodouracil inhibits the proliferation of cancer cells in a photo-responsive manner, Kenzo Fujimoto, Yu-ki Takematsu, Atsuo Shigeno, Mirei Furusawa, Takashi Sakamoto, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, (2014) **24**, 16, 3736-3738.  
DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.07.002.
- ㉙ Creation of DNA Array Structure Equipped with heat resistance by Ultrafast Photocrosslinking, Shigetaka Nakamura, Kenzo Fujimoto, *J Chemical Technology & Biotechnology*, (2014) **89**, 1086-1090.  
DOI: 10.1002/jctb.4205
- ㉚ Discovery of serum protein biomarkers in the mdx mouse model and cross-species comparison to Duchenne muscular dystrophy patients, Hathout Y, Marathi RL, Rayavarapu S, Zhang A, Brown KJ, Seol H, Gordish-Dressman H, Cirak S, Bello L, Nagaraju K, Partridge T, Hoffman EP, Takeda S, Mah JK, Henricson E, McDonald C, *Hum Mol Genet* (2014) **23**, 6458-6469.  
DOI:10.1093/hmg/ddu366
- ㉛ Nested introns in an intron: Evidence of multi-step splicing of a large intron in the human dystrophin pre-mRNA, Hitoshi Suzuki, Toshiki Kameyama, Kenji Ohe, Toshifumi Tsukahara, Akila Mayeda, *FEBS Letters* (2013) 587, 555-561.  
DOI:10.1016/j.febslet.2013.01.057
- ㉜ Details of the ultra-fast DNA photocrosslinking reaction of 3-cyanovinylcarbazole nucleoside; Cis-trans isomeric effect and the application for SNP based genotyping, Kenzo Fujimoto, Asuka Yamada, Yoshinaga Yoshimura, Tadashi Tsukaguchi, Takashi Sakamoto, *J. Am. Chem. Soc.*, (2013) **135**, 43, 16161-16167  
DOI: 10.1021/ja406965f
- ㉝ Geometric Effect on the Photocross-linking Reaction between 3-Cyanovinylcarbazole Nucleoside and Pyrimidine Base in DNA/RNA Heteroduplex, Kenzo Fujimoto, Satomi Kishi, Takashi Sakamoto, *Photochemistry and Photobiology*, (2013) **89**, 5, 1095-1099.  
DOI: 10.1111/php.12118.

〔学会発表〕(計7件)

① Study of adenosine deaminase acting on RNA (ADAR) isoforms towards genetic code restoration, Md Thoufic Anam Azad, Hitoshi Suzuki, Toshifumi Tsukahara, 2016 Annual Meeting of American Society for Cell Biology, 2016年12月3日~7日、サンフランシスコ(米国)

② Site-directed RNA editing approach by MS2 and adenosine deaminase acting on RNA (ADAR), Md Thoufic Anam Azad, Hitoshi Suzuki, Toshifumi Tsukahara, 第39回日本分子生物学会年会、2016年11月30日~12月2日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

③ シアノビニルカルバゾールを用いた DNA 光架橋反応におけるピリミジン 5 位の置換基 効果, 藤本健造, 第10回バイオ関連化学シンポジウム, 2016年9月8日、石川県立音楽堂(石川県金沢市)

④ 核酸医薬を指向した光化学的 RNA 編集法の開発, 藤本健造, 第55回日本生体医工学会大会, 2016年4月26~28日、富山国際会議場(富山県富山市)

⑤ 光化学的な DNA 及び RNA 操作法の開発, 藤本健造, 第4回ネオバイオ分子研究会, 2016年1月29日、大阪府立大学(大阪府堺市)

⑥ Development about 19F chemical shift imaging of DNA conformation change, Kenzo Fujimoto, World Molecular Imaging Congress (WMIC2015), 2015年9月2~5日、Convention Center, ホノルル、ハワイ(米国)

⑦ Possibility of Genetic Code Restoration by Chemical RNA Editing BIT's, Toshifumi Tsukahara, Vu Thi Luyen, Hitoshi Suzuki, and Kenzo Fujimoto, BIT's Biopharmaceutical Summit 2013, 2013年8月7~8日、フランクフルト(ドイツ)

〔図書〕(計1件)

① **Photo-Cross-Linking reaction in Nucleic Acids: Chemistry and Applications in Modified Nucleic Acids**, Takashi Sakamoto, Kenzo Fujimoto, Springer, (2016) Chapter 7, 145-158. ISBN: 978-3319271095

〔産業財産権〕

○ 出願状況(計4件)

① 名称: 塩基置換手段をスクリーニングする方法  
発明者: 塚原俊文、藤本健造  
権利者: 北陸先端科学技術大学院大学  
種類: 特許

番号: 特願 2015-085414  
出願年月日: 2015年04月17日  
国内外の別: 国内

② 名称: 含フッ素化合物、それを用いる核酸検出方法  
発明者: 藤本健造、坂本隆  
権利者: 北陸先端科学技術大学院大学  
種類: 特許  
番号: 特願 2015-044611  
出願年月日: 2015年03月06日  
国内外の別: 国内

③ 名称: 光架橋核酸二重鎖の光架橋を光開裂させる方法  
発明者: 藤本健造、中村重孝  
権利者: 北陸先端科学技術大学院大学  
種類: 特許  
番号: 特願 2014-224574  
出願年月日: 2014年11月04日  
国内外の別: 国内

④ 名称: 核酸中の塩基を変換する方法、及び核酸塩基変換剤  
発明者: 藤本健造、坂本隆、大江美成子  
権利者: 北陸先端科学技術大学院大学  
種類: 特許  
番号: 特願 2014-073943  
出願年月日: 2014年03月31日  
国内外の別: 国内

○ 取得状況(計0件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

塚原 俊文 (Tsukahara Toshifumi)  
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: 60207339

### (2) 研究分担者

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

鈴木 仁 (Suzuki Hitoshi)  
北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教  
研究者番号: 00447690  
(平成28年10月まで研究分担者)

### (3) 連携研究者

武田 伸一 (Takada Shin'ichi)  
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・所長  
研究者番号: 90171644