

Title	光誘起形超高速DNA二重鎖侵入法の開発とその応用
Author(s)	ZUMILA, HAILILI
Citation	
Issue Date	2026-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	ETD
URL	https://hdl.handle.net/10119/20608
Rights	
Description	Supervisor: 藤本 健造, 先端科学技術研究科, 博士

氏名	ZUMILA, Hailili		
学位の種類	博士 (マテリアルサイエンス)		
学位記番号	博材第 638 号		
学位授与年月日	令和 8 年 3 月 25 日		
論文題目	Development of Photo-induced Ultrafast DNA Duplex Invasion and its Applications		
論文審査委員	藤本 健造	北陸先端科学技術大学院大学	教授
	高村 禅	同	教授
	濱田 勉	同	准教授
	平塚 祐一	同	准教授
	小林 聡	電気通信大学	教授

論文の内容の要旨

In this dissertation, I investigated the engineering of novel photochemical strategies for the sequence-specific recognition and manipulation of double-stranded DNA. Accessing genetic information within the stable DNA double helix remains a primary challenge in molecular biology due to the significant thermodynamic and kinetic barriers presented by Watson-Crick base pairing. While existing technologies like PNA and LNA can invade the duplex, they often require prolonged incubation times, elevated temperatures, or complex designs to achieve high efficiency.

The research centers on the application of 3-cyanovinylcarbazole nucleoside, ^{CNV}K, an ultra-fast photo-cross-linker capable of forming a covalent bond with a complementary pyrimidine base within one second of UV irradiation at 366 nm. First, focusing on Photo-induced Double Duplex Invasion (pDDI), a pair of invasion probes containing both ^{CNV}K and 5-cyanouridine (^CU) was utilized as the photo-cross-linker and photo-cross-linking inhibitor. The result showed successful invasion of the probes. However, with the unexpected discovery of the invasion difference between the paired Forward and Reverse probe, we speculate the possibility of achieving Photo-induced Duplex Invasion (pDI) with a single invasion probe. With a systematic analysis via Job's plots, we confirmed the invasion independence of the paired invasion probes. This discovery led to the development of Photo-induced Duplex Invasion (pDI). And the result showed that pDI achieved superior invasion efficiencies, exceeding 90% in just 60 seconds of photo-irradiation.

Finally, we further applied the photochemical principles to dynamic DNA nanotechnology by constructing a Photo-induced DNA Memory Gate. Driven by toehold-mediated strand displacement (TMSD), this device utilizes the rapid cross-linking of ^{CNV}K to lock the gate into specific "Written" or "Blocked" states based on the order of data inputs. By converting reversible equilibrium reactions into irreversible kinetic traps, this motif overcomes the inherent instability of traditional DNA logic circuits.

Overall, this work establishes ^{CNV}K-mediated photo-cross-linking as a versatile kinetic driver for DNA manipulation. These findings lay the groundwork for a new class of photo-antigenic therapeutics and stateful molecular robotics capable of recording complex biological events with high spatiotemporal precision.

Keywords: 3-cyanovinylcarbazole nucleoside, photo-cross-linker, double-duplex invasion, duplex-invasion, DNA logic circuit, DNA computing

論文審査の結果の要旨

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、組織や動物の疾患モデル、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。本論文は核酸編集において重要と考えるゲノム操作の時空間制御を指向し、超高速光架橋を用いた DNA 操作法の開発をおこなったものであり、以下の点で有用かつ独創的な内容であった。

まず、酵素特有の制約条件の影響を受けずに時空間制御可能な DNA 2 本鎖を配列選択的に操作する手法の開発をおこなった。既に DNA 2 本鎖に対して既に開発済みの光クロスリンカー^{CNV}K を埋め込んだ 2 種類の人工核酸プローブが DNA 2 本鎖に対してそれぞれ片側の DNA 鎖に同時に光架橋させることで double duplex invasion (DDI) という安定な構造を構築できることをオリゴ核酸レベルで見出していた。一方、実際基質となる DNA 2 本鎖は非常に安定な 2 重らせん構造を有することから、DNA 2 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、DNA 2 本鎖に対して相互作用する人工核酸の報告例が殆どなかった。そこで、400 塩基対前後の長鎖 ODN に対して 2 種類の人工核酸プローブが相互作用させ 385 nm 光照射を 1 秒おこなったところ、90% 以上の高収率で DDI 構造が構築できることを見出した。

次に先ほどの DDI に関する研究成果を詳細に解析すると、2 本の人工核酸プローブが DNA 2 本鎖に対して協同的ではなく独立して振る舞っていることを見出した。そこで、光クロスリンカー^{CNV}K を埋め込んだ人工核酸プローブ 1 種類のみを用いて 200 塩基対の長鎖 ODN に対して相互作用させたところ、たった 1 秒の 385 nm 光照射により 80% 以上の高収率で DI 構造が構築できることを見

出した。このことは1種類のプローブで配列選択的に長鎖 DNA を時空間制御できることを意味しており、光化学的なゲノム操作に向けて重要な知見が得られたと考えられる。

DNA はナノスケールのバイオ高分子として知られており、過去数十年の間に様々なナノスケールの分子デバイスの構築に利用されてきた。今回、2本鎖 DNA を操作する光化学的手法を参考に、光エネルギーによって制御可能な新しい DNA 回路の設計に挑戦した。高い DNA 架橋率を実現することで、望ましくない複合体を防ぎつつ、高速に DNA の入力順を計算できる様な光誘起メモリ回路の構築に成功した。

以上、本論文は、時空間制御可能なゲノム操作法を指向した新規核酸類操作法の開発に関するもので、学術的に貢献するところが大きい。よって博士（マテリアルサイエンス）の学位論文として十分価値あるものと認めた。