

## RNA 結合性大規模情報を持つ新規蛍光指示薬の開発と RNA 結合性小分子のスクリーニング

○長澤瞭佑<sup>1,2</sup>・鬼塚和光<sup>1,2</sup>・岩田遼平<sup>1,2</sup>・小松リチャード馨<sup>3,4</sup>・宮下映見<sup>3,4</sup>・壇辻さやか<sup>4</sup>・村瀬裕貴<sup>1,2</sup>・小澤眞美子<sup>1</sup>・齊藤博英<sup>3</sup>・永次史<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>東北大多元研、<sup>2</sup>東北大院理、<sup>3</sup>京大 CiRA、<sup>4</sup>xFOREST Therapeutics)

### Development of novel fluorescent indicators possessing the large-scale information on RNA-small molecule interactions and screening of RNA-binding small molecules

(IMRAM, Tohoku University<sup>1</sup>, Graduate School of Science, Tohoku University<sup>2</sup>, CiRA, Kyoto University<sup>3</sup>, xFOREST Therapeutics<sup>4</sup>) Ryosuke Nagasawa<sup>1,2</sup>; Kazumitsu Onizuka<sup>1,2</sup>; Ryohei Iwata<sup>1,2</sup>; Kaoru R. Komatsu<sup>3,4</sup>; Emi Miyashita<sup>3,4</sup>; Sayaka, Dantsuji<sup>4</sup>; Hiroataka Murase<sup>1,2</sup>; Mamiko Ozawa<sup>1</sup>; Hirohide Saito<sup>3</sup>; Fumi Nagatsugi<sup>1,2</sup>

近年、RNA 標的創薬はオリゴ核酸に加え、経口投与可能な小分子でも効果を期待できる標的が増え、飛躍的に進展している。多様な結合様式・骨格を持った RNA 結合性分子を探索する手法はその可能性の拡張につながるため極めて重要である。蛍光指示薬競合置換(FID)アッセイ<sup>1,2)</sup>は、RNA 結合性分子を効率的に探索するための代表的な方法である(Fig. A)。本アッセイでは、RNA と結合し蛍光が大きく変化する指示薬を用いて、対象化合物との競合置換により、RNA 結合性をハイスループットに評価できる。しかし、既知の蛍光指示薬の結合様式・構造の類似性により探索可能なヒット化合物が限られてしまうことから、指示薬の構造多様化は重要な課題である。

そこで本研究では、

①RNA 結合性大規模情報を持ち、かつ既存の指示薬とは異なる結合様式を持つ指示薬を開発すること、および②FIDアッセイを行い、新たな RNA 結合分子を見出すことの 2 点を目的とした (Fig. B)。

RNA 結合性大規模情報は、我々が最近開

発したマイクロアレイ技術<sup>3)</sup>を利用することで取得が可能であり、大規模情報により FID アッセイで用いる指示薬と RNA の組み合わせを効率的に選択することができる。そこで情報を取得した分子を RNA 結合ユニット、チアゾールオレンジ (TO) 誘導体を蛍光性ユニットとし、それらをコンジュゲートすることで新規蛍光指示薬を設計・合成した。合成した蛍光指示薬の RNA 選択性は蛍光滴定実験により検証した。その結果、RNA 結合ユニットの選択性を概ね維持していることが分かった。さらに疾患関連 pre-miRNA を選択し、FID アッセイを行った結果、既存の TO 系の指示薬では検出できなかった新たなヒット化合物を見出すことに成功した。本発表では新規蛍光指示薬の RNA 選択性および FID アッセイの結果に関して詳しく報告する予定である。

1) K. Nakatani, et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3660. 2) S. Nishizawa, et al. *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 3183. 3) H. Saito, et al. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 6275.

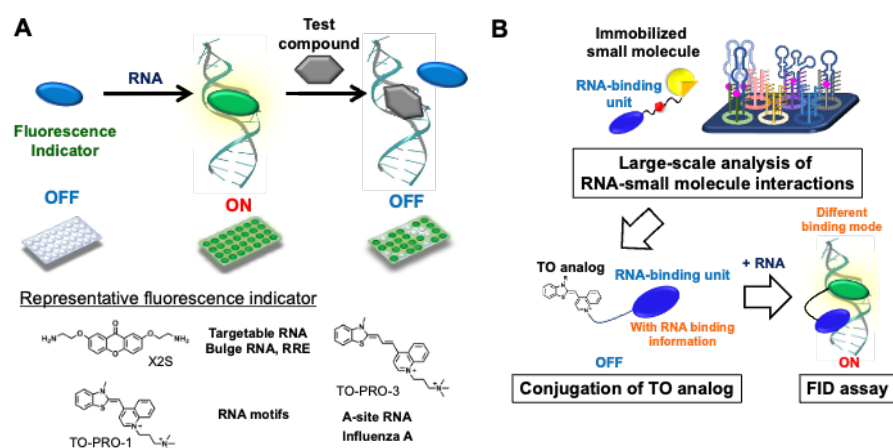


Fig. FID アッセイ(A)と新規蛍光指示薬の概念図(B)