

動的な核酸構造と相互作用する小分子に関する化学生物学研究の展開

(阪大産研¹⁾) ○中谷 和彦¹

Chemical biology research on dynamic nucleic acid structures and small molecule interactions
(¹*SANKEN, Osaka University*) ○Kazuhiko Nakatani¹

Dynamic nucleic acid structures, such as bulges, mismatches, and trinucleotide repeats, are critical to biological functions and disease mechanisms. Our research focuses on designing small molecules that selectively target these structures to modulate their functions. Using an induced-fit design, we synthesized molecules that bind DNA bulges and mismatches, uncovering unique structural insights, including cytosine "flip-out" mimicking uracil-DNA glycosylase (UDG). These findings extended to studying trinucleotide repeats implicated in neurological disorders like Huntington's disease. We further developed small molecules targeting RNA repeats to regulate RNA functions, including splicing and frame-shifting. This work demonstrates the potential of small molecules in modulating dynamic nucleic acid structures, providing a foundation for RNA-targeted drug discovery. This lecture will highlight key findings and their implications in chemical biology.

Keywords : *Bulge; Mismatch; Repeat; DNA; RNA*

私が核酸と低分子の相互作用に興味を抱くようになったきっかけは、(財)相模中央化学研究所において、寺島孜朗先生の下で、ポスドクとして取り組んだ天然物 Neocarzinostatin Chromophore (NCS-Chr) の合成研究である。この研究を通じて、交差共役したジエン-ジイン構造の特徴と DNA 切断機構との関係性を学ばせていただいたことが、私の研究の方向性を決定づけた。それ以前にも、コロンビア大学化学科の Stork 研に研究員として所属していた際、当時のアメリカ化学会の Rising Star であった J.K. Barton 先生が発表された新しい DNA 結合・切断分子に関する研究や、中西香爾先生をお訪ねになられた松浦輝男先生によるブレオマイシンに関するご講演を拝聴する機会に恵まれたが、当時の私には知識が不足しており、これらを十分に理解するには至らなかった。NCS-Chr に関する研究を京都大学の齋藤烈先生や杉山弘先生が進められていることを知り、いつか直接お話を伺うことができると願っていた。出身の大阪市立大学に戻った後、幸運にも齋藤先生の下でスタッフとして研究に参加する機会を頂戴し、京都大学工学部 4 号館に通うこととなった。齋藤研では DNA を効率よくアルキル化するカプリマイシンの全合成研究を起点に、DNA を切断する人工分子の研究を進めていたが、ある国際学会に参加した際に、DNA の損傷を治す修復酵素の重要性を知り、修復酵素機能を模倣する分子の創製を構想し始めた。

修復酵素として知られるウラシル DNA グリコシダーゼ (UDG) を手本に、DNA 損傷や変異によって形成されるバルジ構造やミスマッチ構造などの非二重鎖構造を認識する分子の創製に取り組んだ。DNA は非常に柔軟な分子構造を持ち、低分子との結合により容易に構造を変化させる。言い換えれば、DNA は低分子との結合時に構

造を変化させる「誘導適合型（もしくは配座選択型）」の結合様式を示す場合が多い。このため、結合ポケットの構造を基に分子を設計する **Structure-Based Drug Design (SBDD)** 手法は非二重鎖構造の認識にはあまり効果的ではなかった。そこで、初期構造に基づく設計ではなく、低分子との複合体構造をイメージして結合分子を設計する手法を採用した結果、DNA 二本鎖中のバルジ構造やミスマッチ塩基対に結合する分子の創製に世界で初めて成功した。さらに、創製したミスマッチ結合分子の結合配列特異性を調べたところ、この分子がミスマッチ塩基対に加え、隣接する塩基対も認識することを発見した。特に、ミスマッチ塩基対が C-G 塩基対に挟まれた配列に強く結合する性質を見出した。NMR による複合体構造解析の結果、当初想定した構造とは異なる構造を形成していることが示されたが、水素結合の相補性と隣接塩基対とのスタッキングが複合体構造を安定化させることを確認し、核酸に結合する分子の設計指針として、非常に有効であることを明らかにした。また、複合体では隣接する C-G 塩基対のシトシンが「フリップアウト」しており、これは UDG がウラシルをフリップアウトさせて認識する機能を結果的に模倣していたことがわかった。

この塩基フリップアウト構造に着想を得て、ミスマッチ結合分子が DNA の「分子糊」として機能することを見出した。この成果は、核酸の二次構造形成の制御と機能調節の研究へと大きく発展した。また、この分子が結合する C-G 塩基対に挟まれたミスマッチ塩基対が、偶然にもリピート病と呼ばれる神経変性疾患の原因となるトリヌクレオチドリピート配列であることが判明した。これにより、ハンチントン病 (CAG リピート) や脆弱 X 症候群 (CGG リピート) など、異常伸長リピートを標的とした化学生物学研究へと研究を展開した。リピート病の原因がリピート RNA の毒性にあることから、筋強直性ジストロフィーの原因となる CUG リピートなど、RNA リピートに結合する低分子の創製研究を進めた。RNA を標的とする低分子創薬研究については、1990 年代後半に多くの核酸化学研究者からその有効性に対する期待が発信されていたものの、日本国内では研究が進まなかった。一方、米国では脊髄性筋萎縮症 (SMA) の治療薬として、*SMN1* pre-mRNA のスプライシングを調節する低分子 **Risdiplam®** が開発されるなど、RNA 標的低分子創薬が進展している。

我々は、RNA に結合する低分子が生体内での RNA 機能の調節に関わりうることを示すために、スプライシング調節、リボソームフレームシフト、microRNA の成熟化、バックスプライシングの誘導などについて、RNA 結合性低分子を使って研究した。

講演では、特に RNA 結合性低分子を用いた機能調節に関する我々の研究をご紹介します。RNA 標的低分子創薬研究の可能性をお伝えする予定である。

これまでご指導をいただき、これらの研究に進むきっかけを頂戴した先生がた、並びに、研究を一緒に進めていただいたすべての共同研究者に厚くお礼申し上げます。

1) Nakatani, K. *Proc. Jpn. Acad. B: Phys. Biol. Sci.* **2022**, 98, 30-48. doi.org/10.2183/pjab.98.003.