

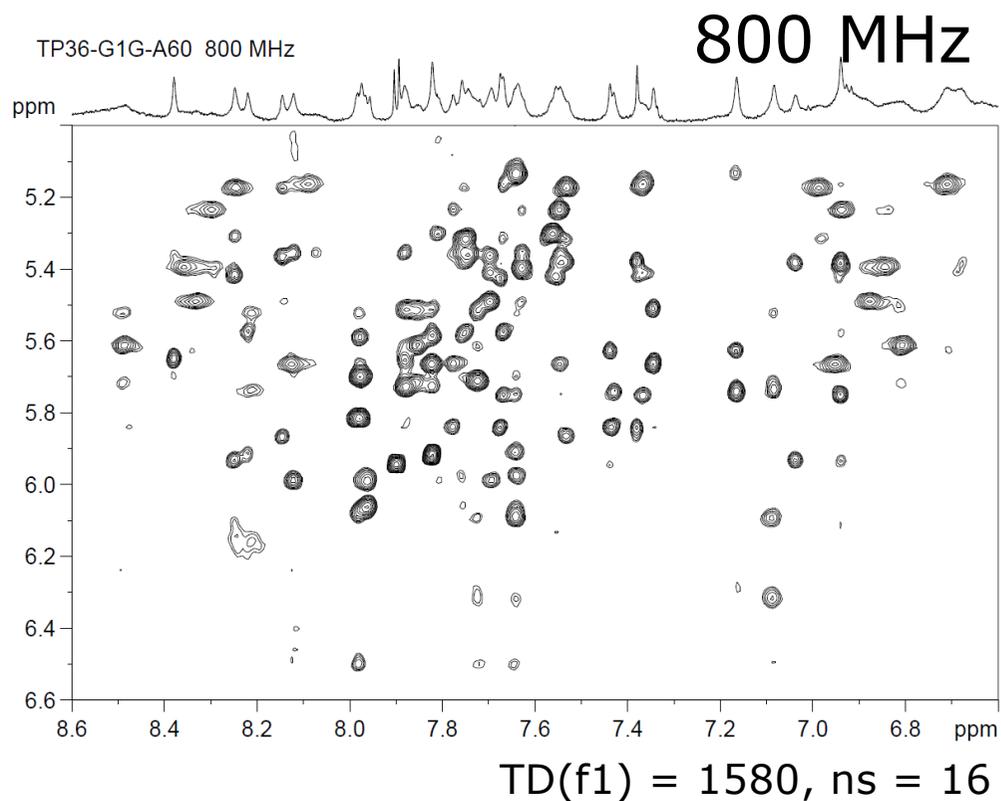
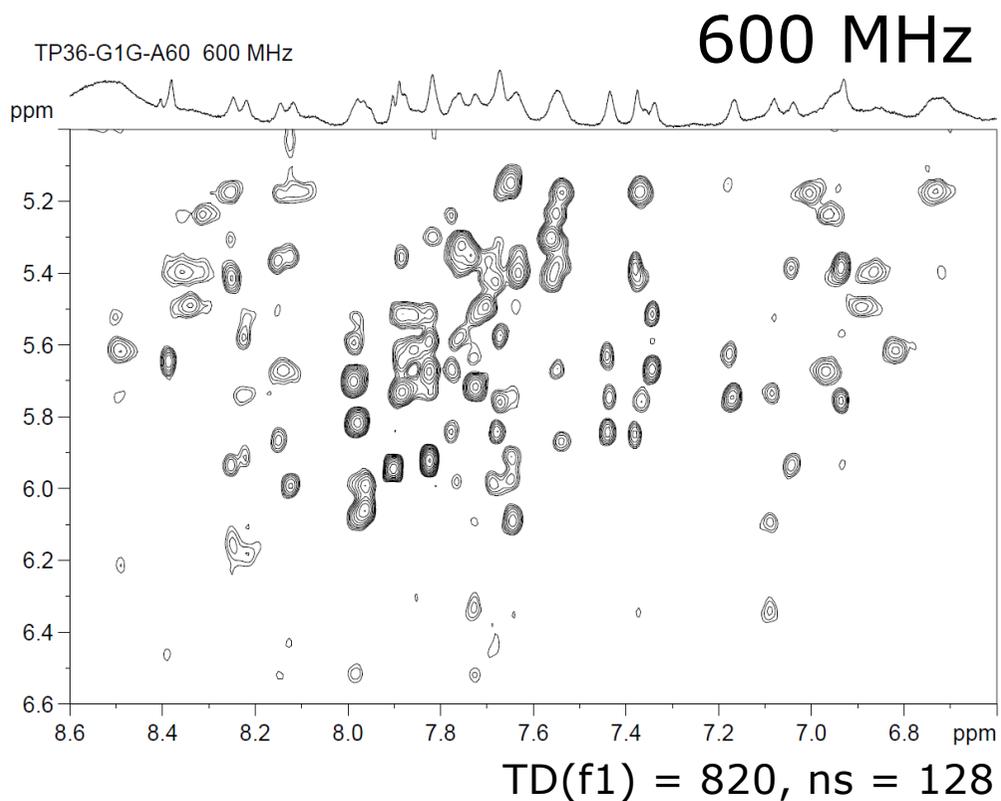
NMRプラットフォームシンポジウム2025

RNAターゲット低分子創薬とNMR

千葉工業大学 河合剛太

高磁場NMRは重要

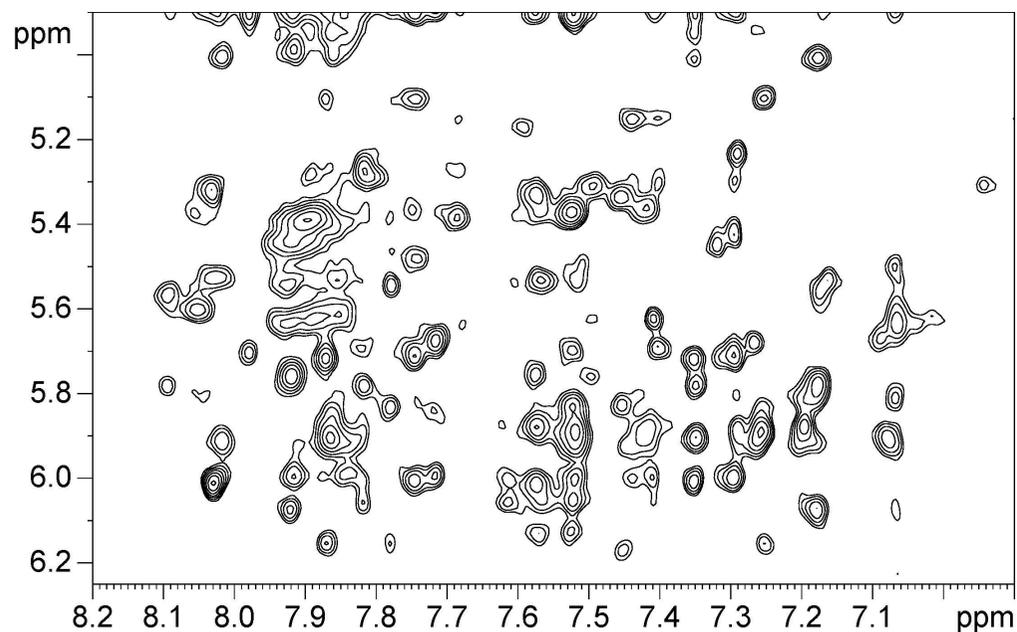
36残基のRNA



高磁場NMRは重要

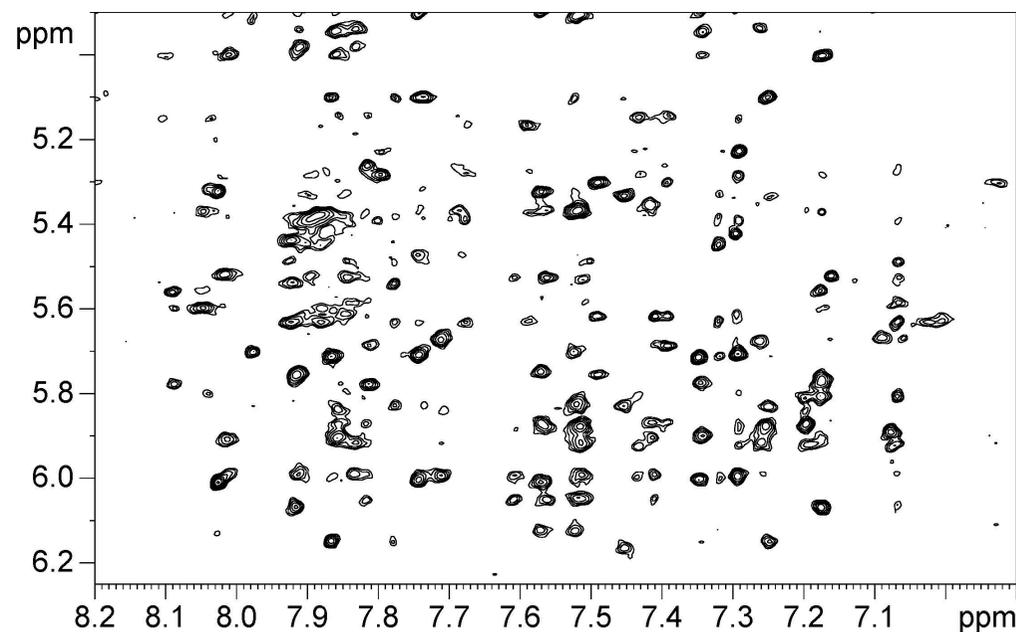
31残基RNA+12残基DNA

600 MHz



TD(f1) = 1024, ns = 32

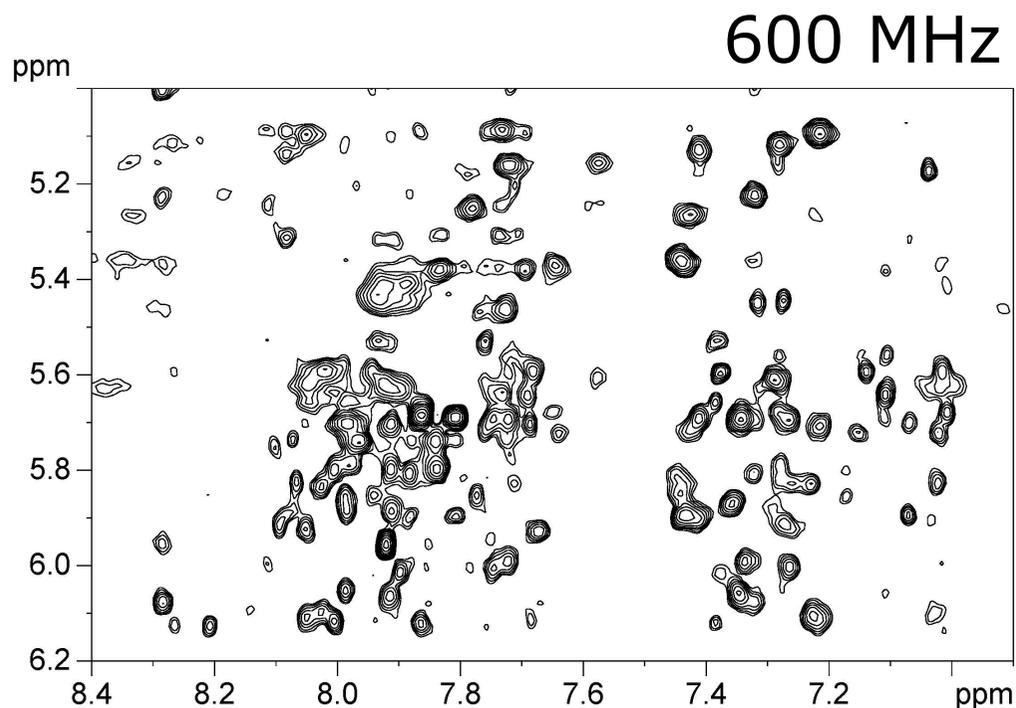
900 MHz



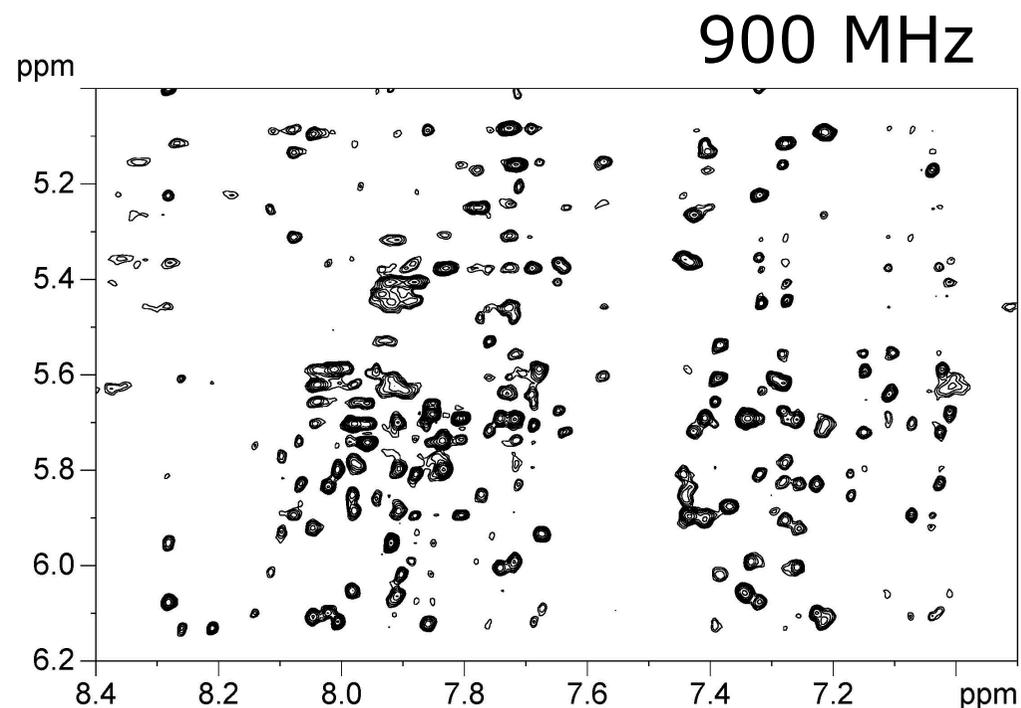
TD(f1) = 2800, ns = 8

高磁場NMRは重要

28残基RNA+28残基DNA

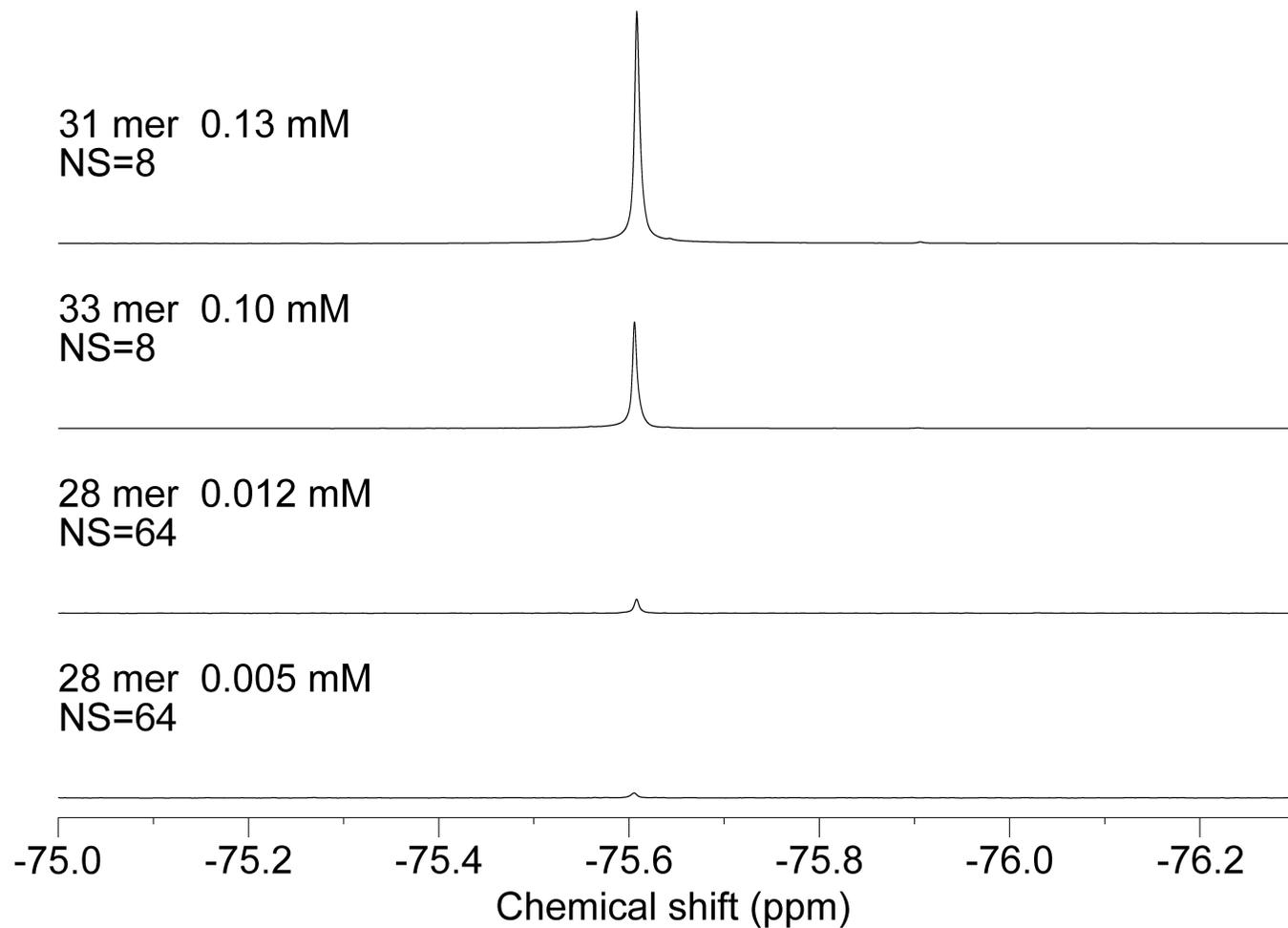
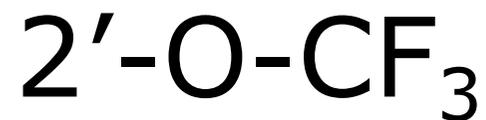


TD(f1) = 2048, ns = 16

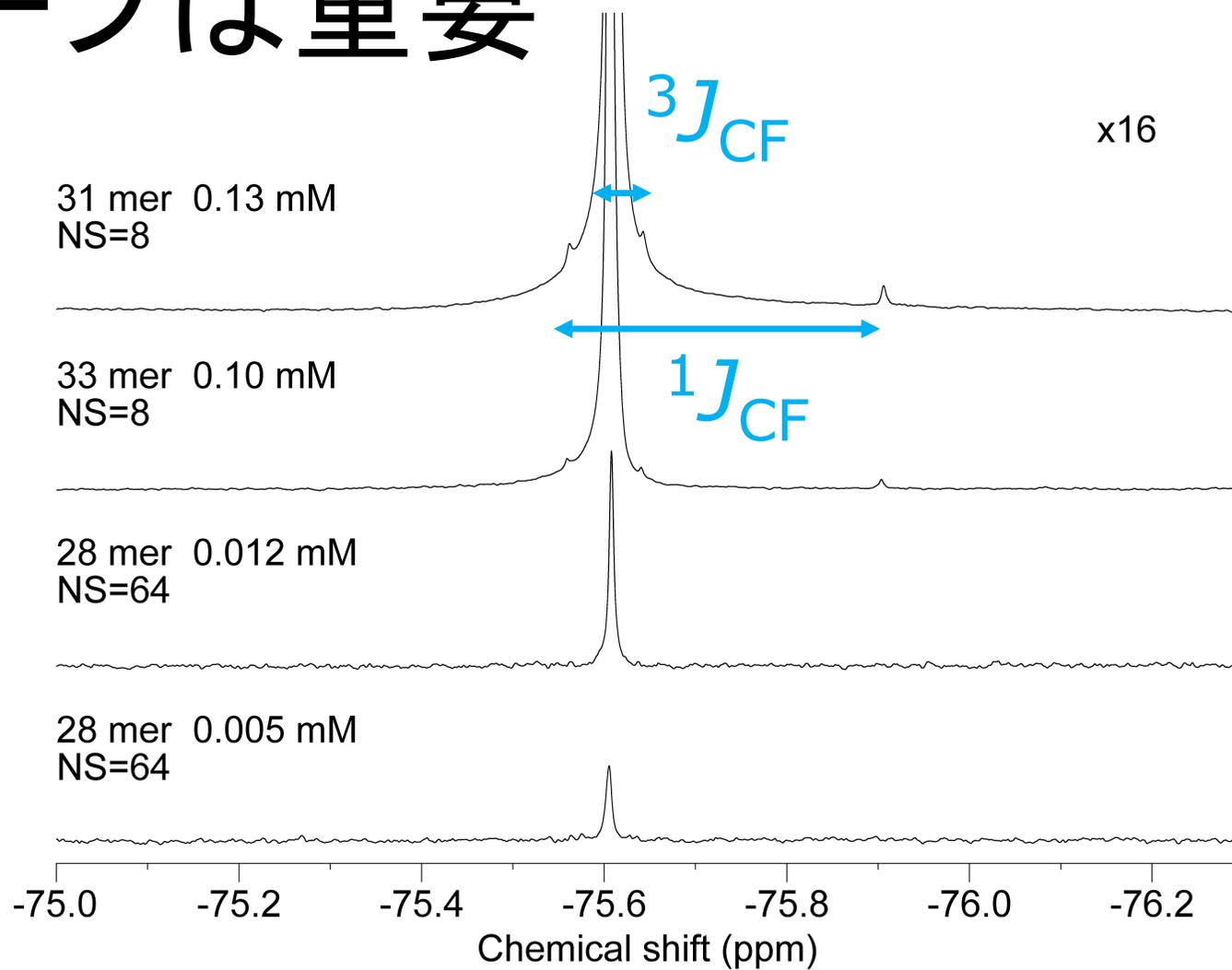
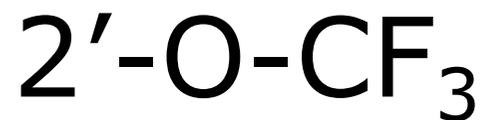


TD(f1) = 3200, ns = 8

専用プローブは重要



専用プローブは重要

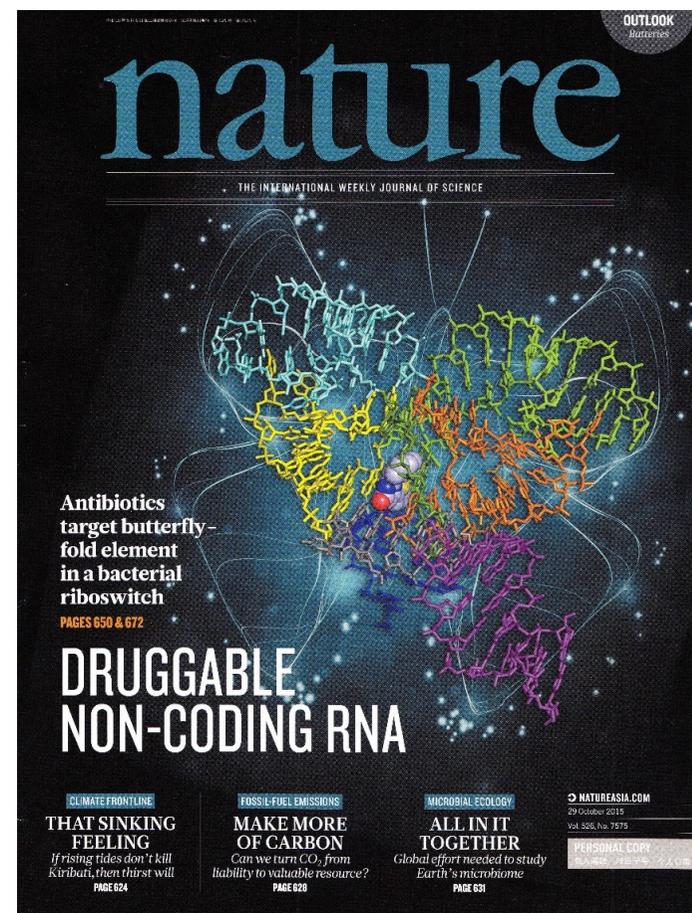


Selective small-molecule inhibition of an RNA structural element

John A. Howe^{1*}, Hao Wang^{1*}, Thierry O. Fischmann^{1*}, Carl J. Balibar¹, Li Xiao¹, Andrew M. Galgoci¹, Juliana C. Malinverni¹, Todd Mayhood¹, Artjohn Villafania¹, Ali Nahvi², Nicholas Murgolo¹, Christopher M. Barbieri¹, Paul A. Mann¹, Donna Carr¹, Ellen Xia¹, Paul Zuck³, Dan Riley³, Ronald E. Painter¹, Scott S. Walker¹, Brad Sherborne¹, Reynalda de Jesus¹, Weidong Pan¹, Michael A. Plotkin¹, Jin Wu¹, Diane Rindgen¹, John Cummings¹, Charles G. Garlisi¹, Rumin Zhang¹, Payal R. Sheth¹, Charles J. Gill¹, Haifeng Tang¹ & Terry Roemer¹

Riboswitches are non-coding RNA structures located in messenger RNAs that bind endogenous ligands, such as a specific metabolite or ion, to regulate gene expression. As such, riboswitches serve as a novel, yet largely unexploited, class of emerging drug targets. Demonstrating this potential, however, has proven difficult and is restricted to structurally similar antimetabolites and semi-synthetic analogues of their cognate ligand, thus greatly restricting the chemical space and selectivity sought for such inhibitors. Here we report the discovery and characterization of ribocil, a highly selective chemical modulator of bacterial riboflavin riboswitches, which was identified in a phenotypic screen and acts as a structurally distinct synthetic mimic of the natural ligand, flavin mononucleotide, to repress riboswitch-mediated *ribB* gene expression and inhibit bacterial cell growth. Our findings indicate that non-coding RNA structural elements may be more broadly targeted by synthetic small molecules than previously expected.

Nature **526**, 672-677 (2015)



FDA NEWS RELEASE

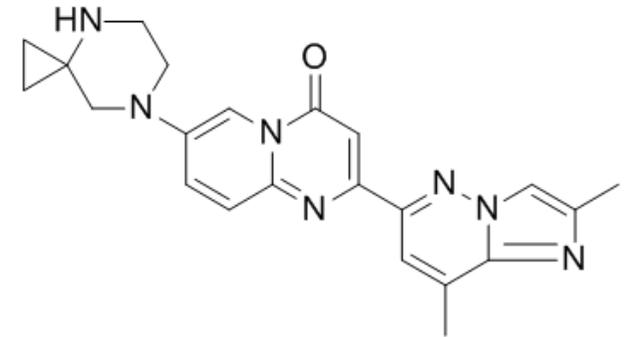
FDA Approves Oral Treatment for Spinal Muscular Atrophy



For Immediate Release: August 07, 2020

The U.S. Food and Drug Administration today approved Evrysdi (risdiplam) to treat patients two months of age and older with [spinal muscular atrophy](#) (SMA), a rare and often fatal genetic disease affecting muscle strength and movement. This is the second drug and the first oral drug approved to treat this disease.

“Evrysdi is the first drug for this disease that can be taken orally, providing an important treatment option for patients with SMA, following the approval of the first treatment for this devastating disease less than four years ago,” said Billy Dunn, M.D., director of the Office of Neuroscience in the FDA’s Center for Drug Evaluation and Research.



Risdiplam

SMN2 pre-mRNA splicing modifier

Roche

国内の活動



NPO 法人
mRNA ターゲット
創薬研究機構

核酸を標的とした低分子創薬研究会

■担当教員

中谷 和彦 教授（大阪大学 産業科学研究所）

■本研究会のねらい

ヒトゲノムの約8割はRNAに転写され、その多くが非翻訳RNAとして機能しています。mRNAやこの非翻訳RNAを含めたDNA・RNA（以下核酸）は、従来創薬標的とされていた蛋白質とともに、今後重要な創薬標的となると考えられます。核酸を標的とする核酸創薬が盛んに研究されていますが、さらにその次の世代は、核酸を標的とする低分子による「低分子核酸創薬」が、製薬企業各社の開発計画に上がりつつあります。

本研究会では、これから本格的に核酸を標的とした低分子創薬を進めようとする企業研究者を対象として、核酸と低分子の相互作用、核酸を標的とした創薬研究に必要な技術と知識を、少人数の講義形式にて、この分野を代表する講師の方々から直接学んでいただける機会を提供いたします。

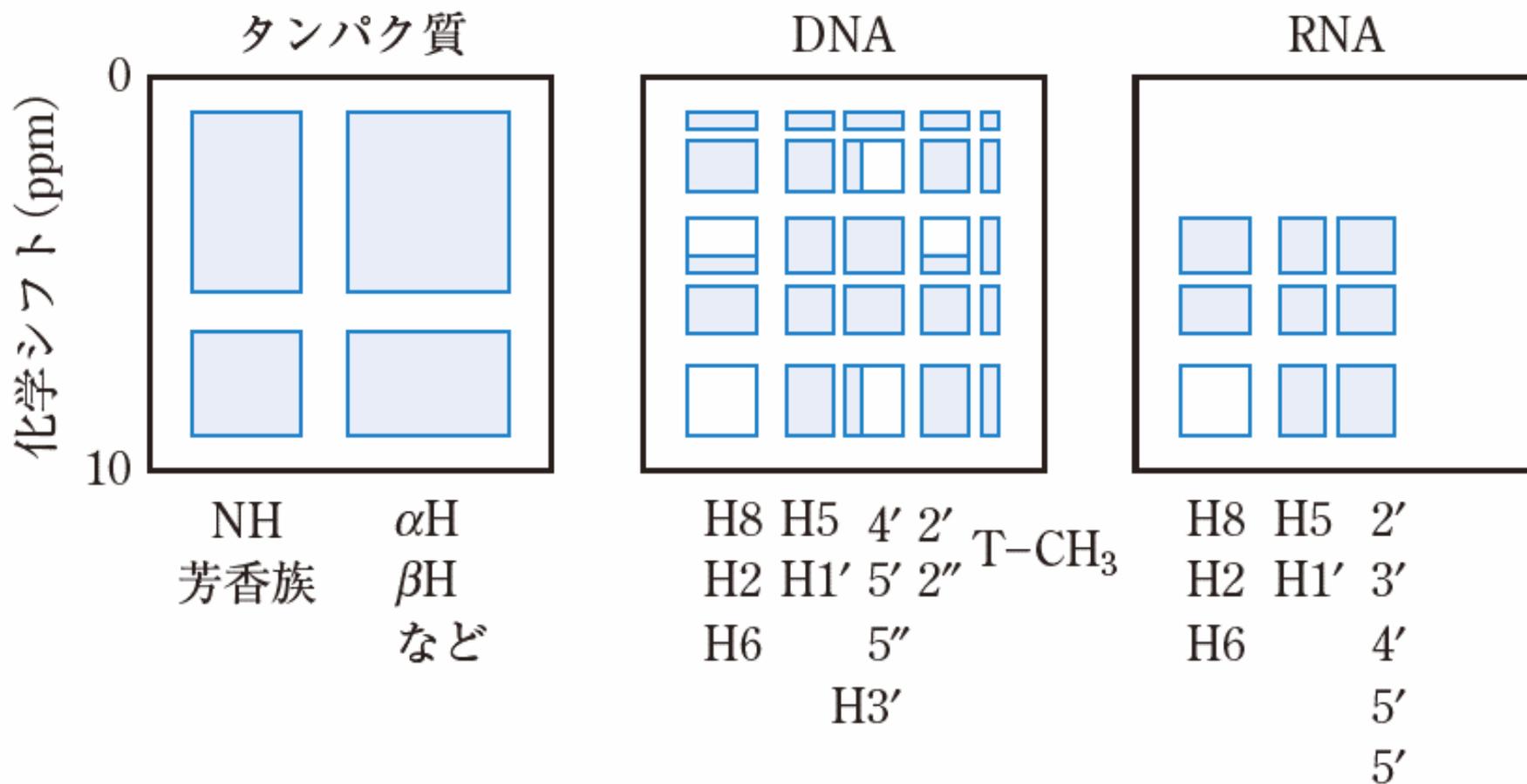
本研究会は主に産業科学研究所の中谷研究室のスタッフで企画・運営いたしますとともに、研究者ネットワークを最大限に活かして、素晴らしい講師の方々にお話し頂く予定です。

いずれも2017年から

NPOでのNMRデータの活用

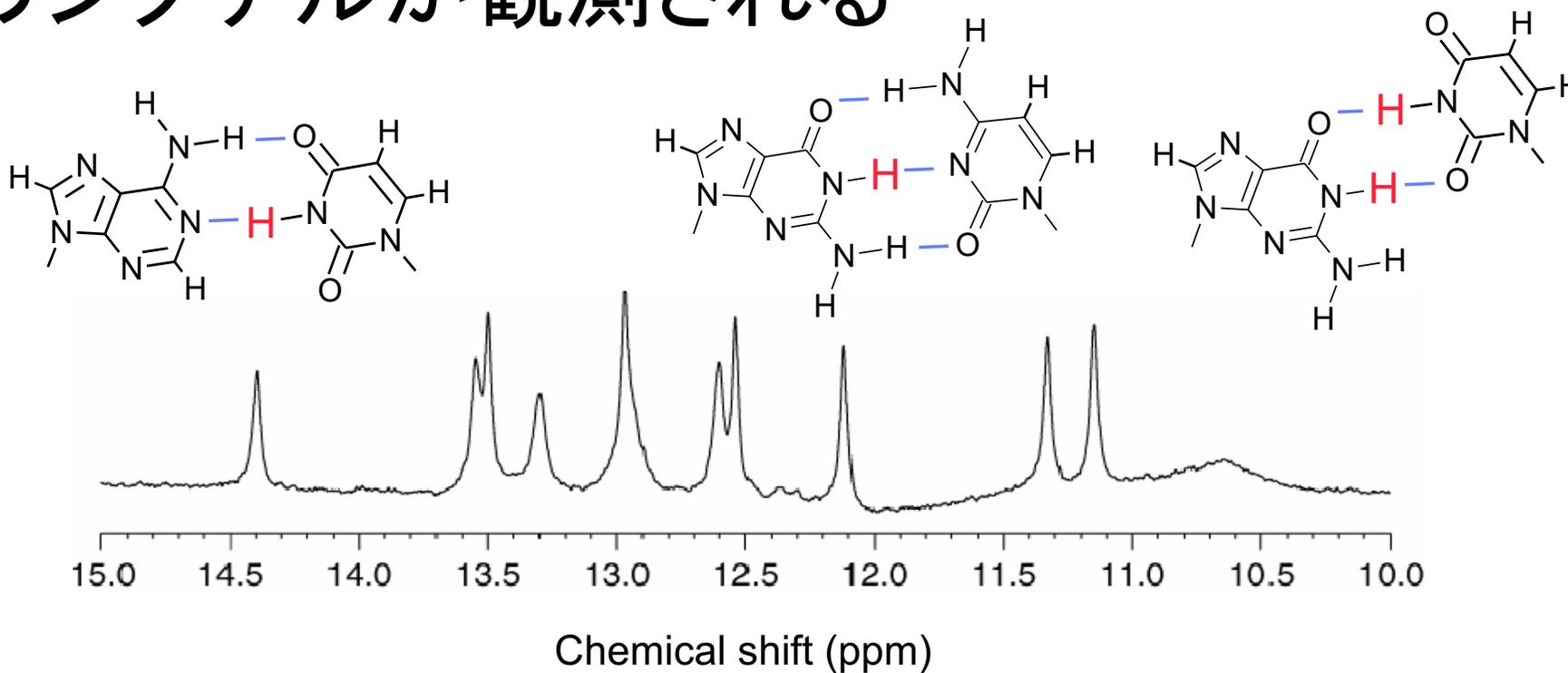
- 令和5年度
 - 2023年10月19日(木) 14:00~16:00
 - 第1回 講習会「NMR法によるRNA解析の実際」
 - 演者 河合 剛太 博士 (千葉工業大学)
- 令和6年度
 - 2024年9月18日(水) 14:00~16:00
 - 第1回 講習会「NMR法によるRNA解析の実際: AptamerとTheophylline」
 - 演者 河合 剛太 博士 (千葉工業大学)

タンパク質と核酸の比較

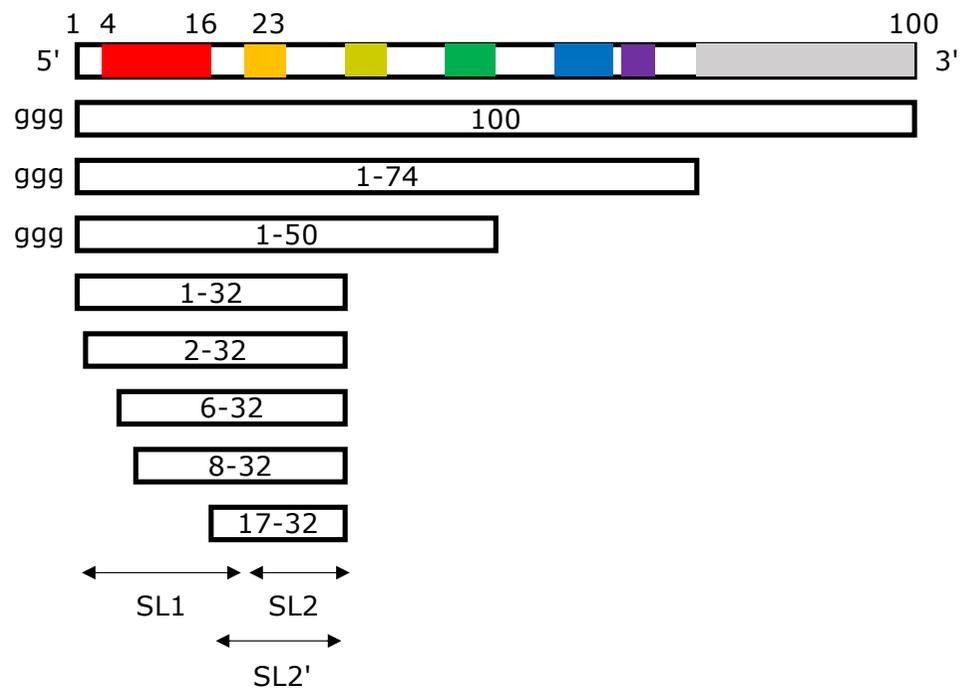
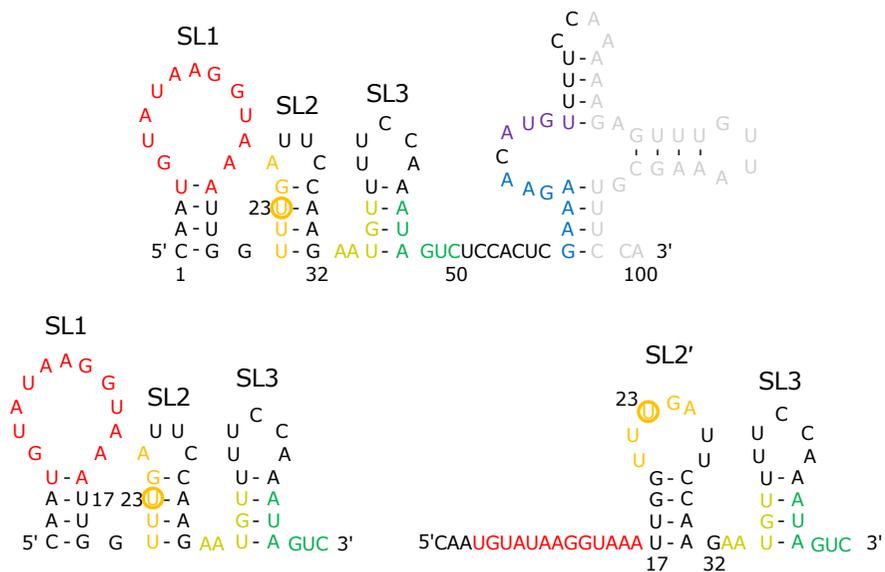
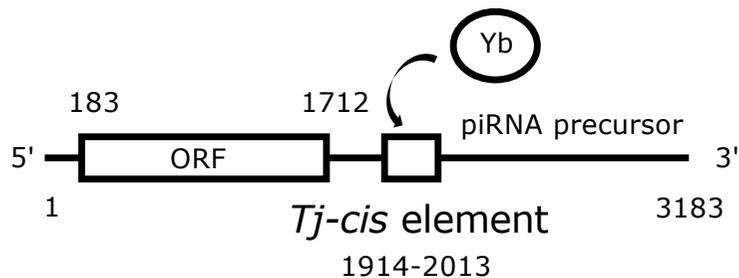


イミノプロトン

- ステムの塩基対については、イミノプロトンのシグナルが観測される



RNAの立体構造決定



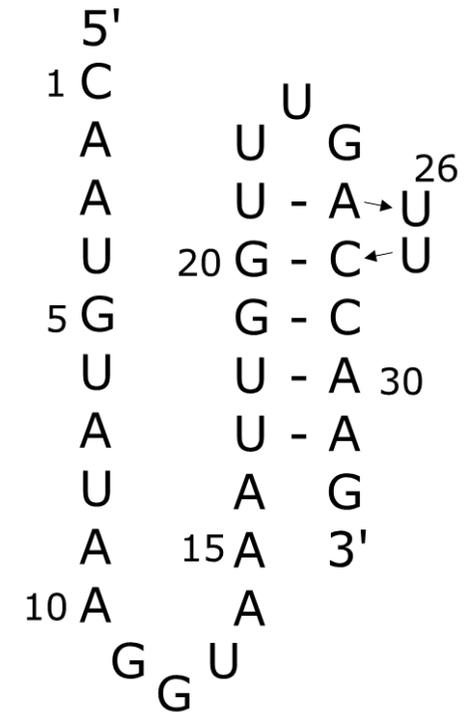
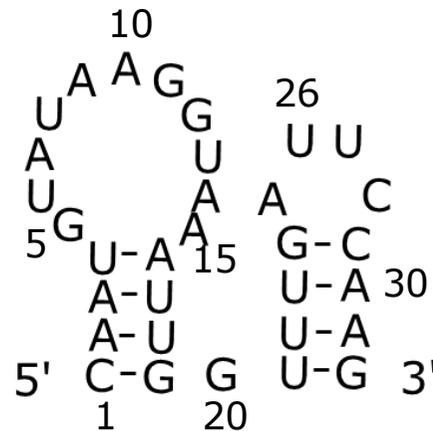
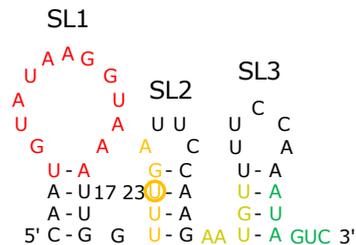
Takase, N. et al., *RNA* **28**, 541–550 (2022)

SL12領域の構造確認

SL1とSL2: 単独ではステムループ構造

SL12: 2つが繋がった領域

→2種類の塩基対の組み方の可能性

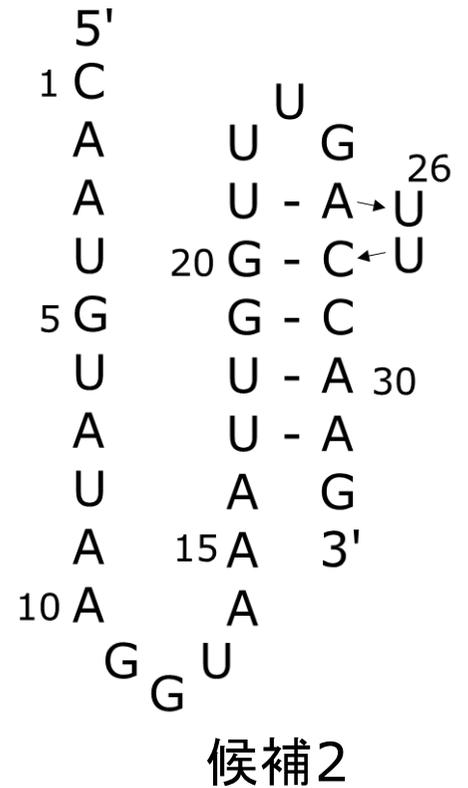
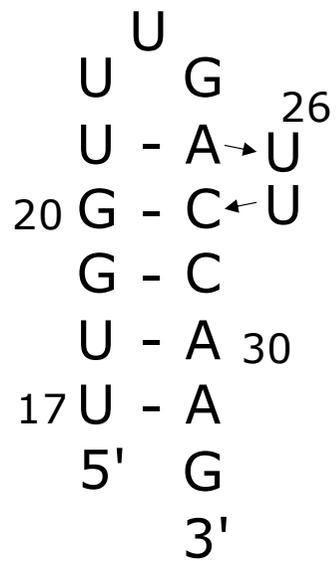
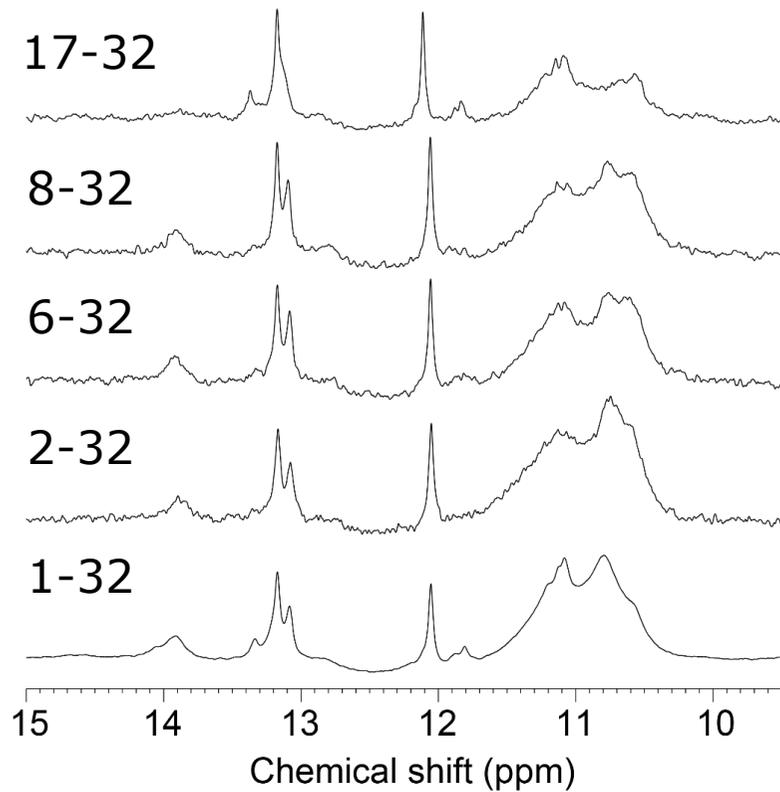


候補1

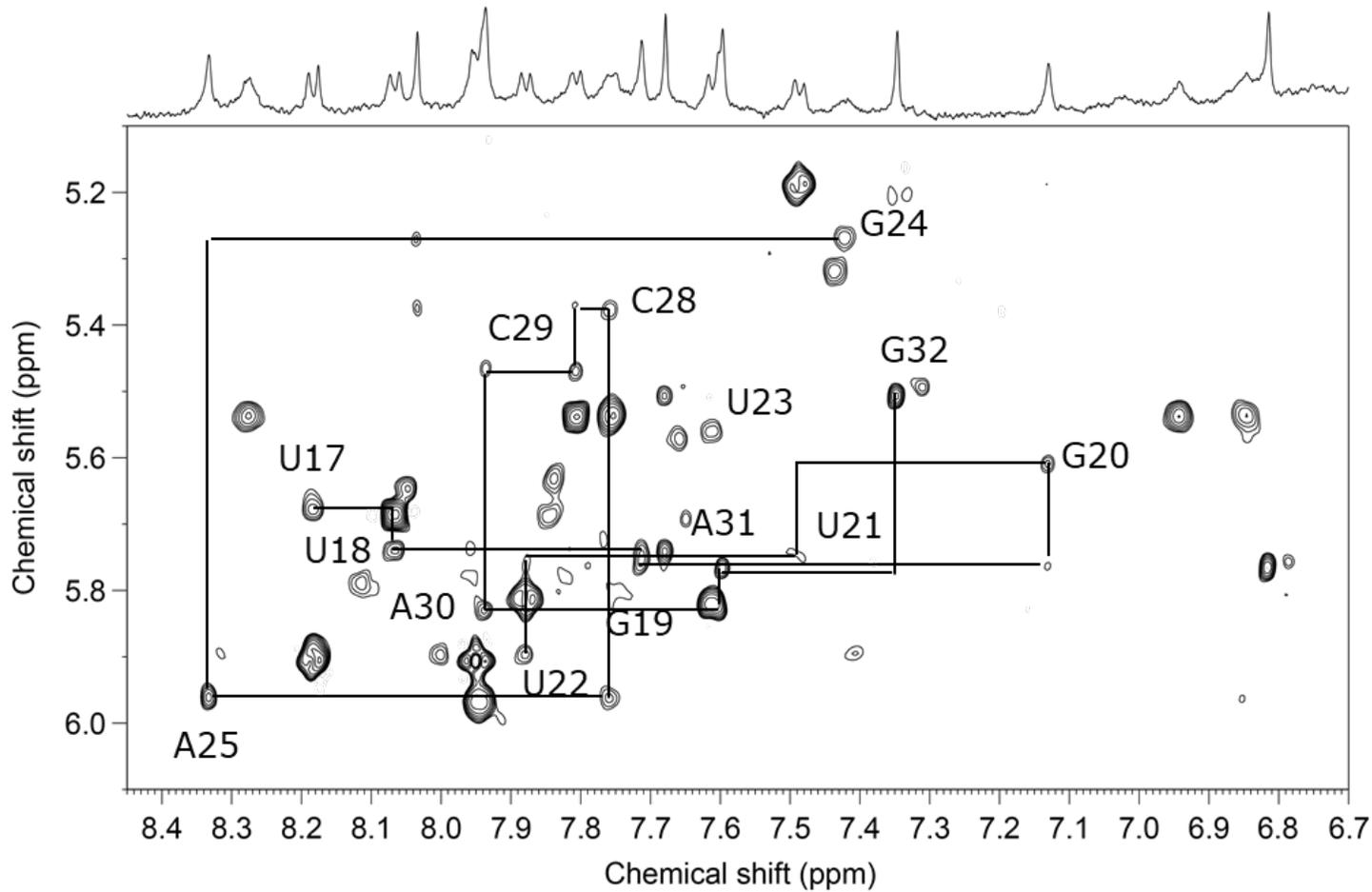
候補2

SL12領域の特徴的な構造

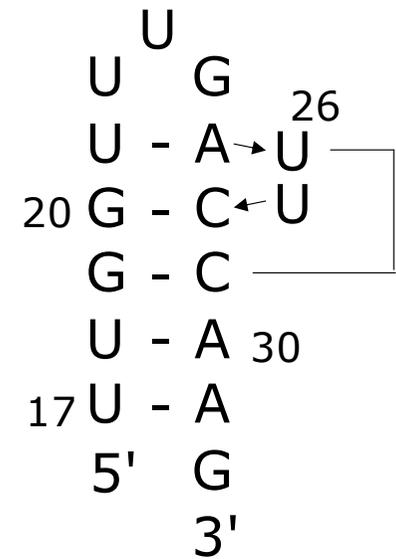
5'側を切り詰めスペクトルを比較



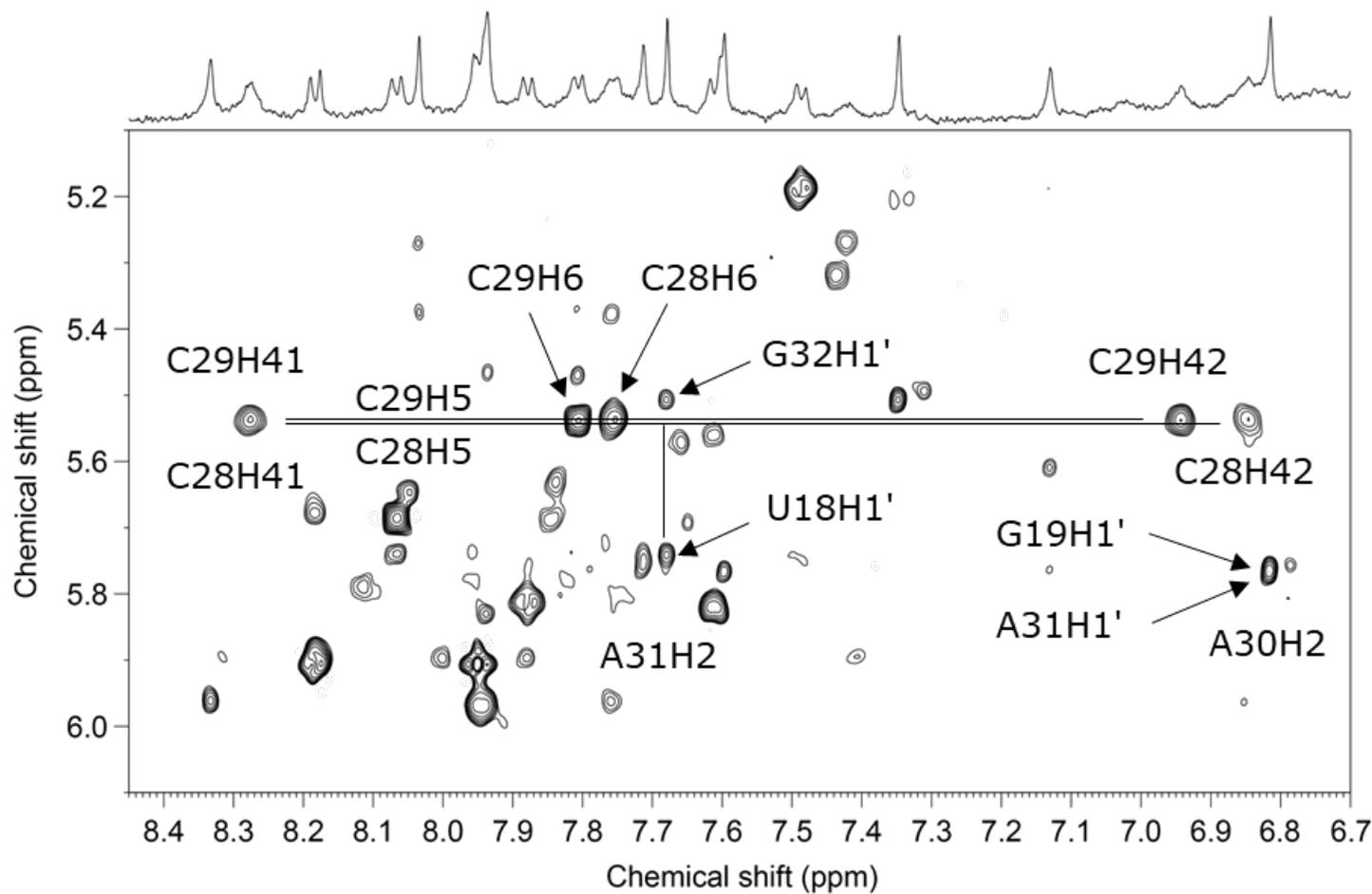
NOESYスペクトルの解析



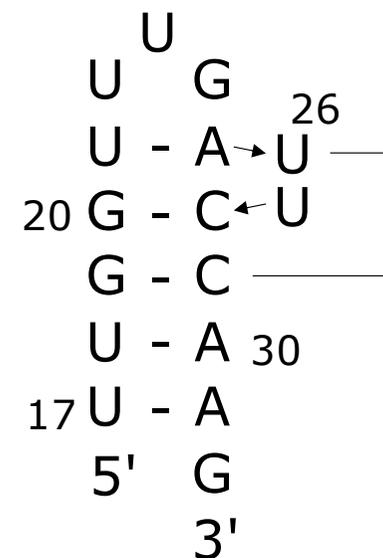
17-32



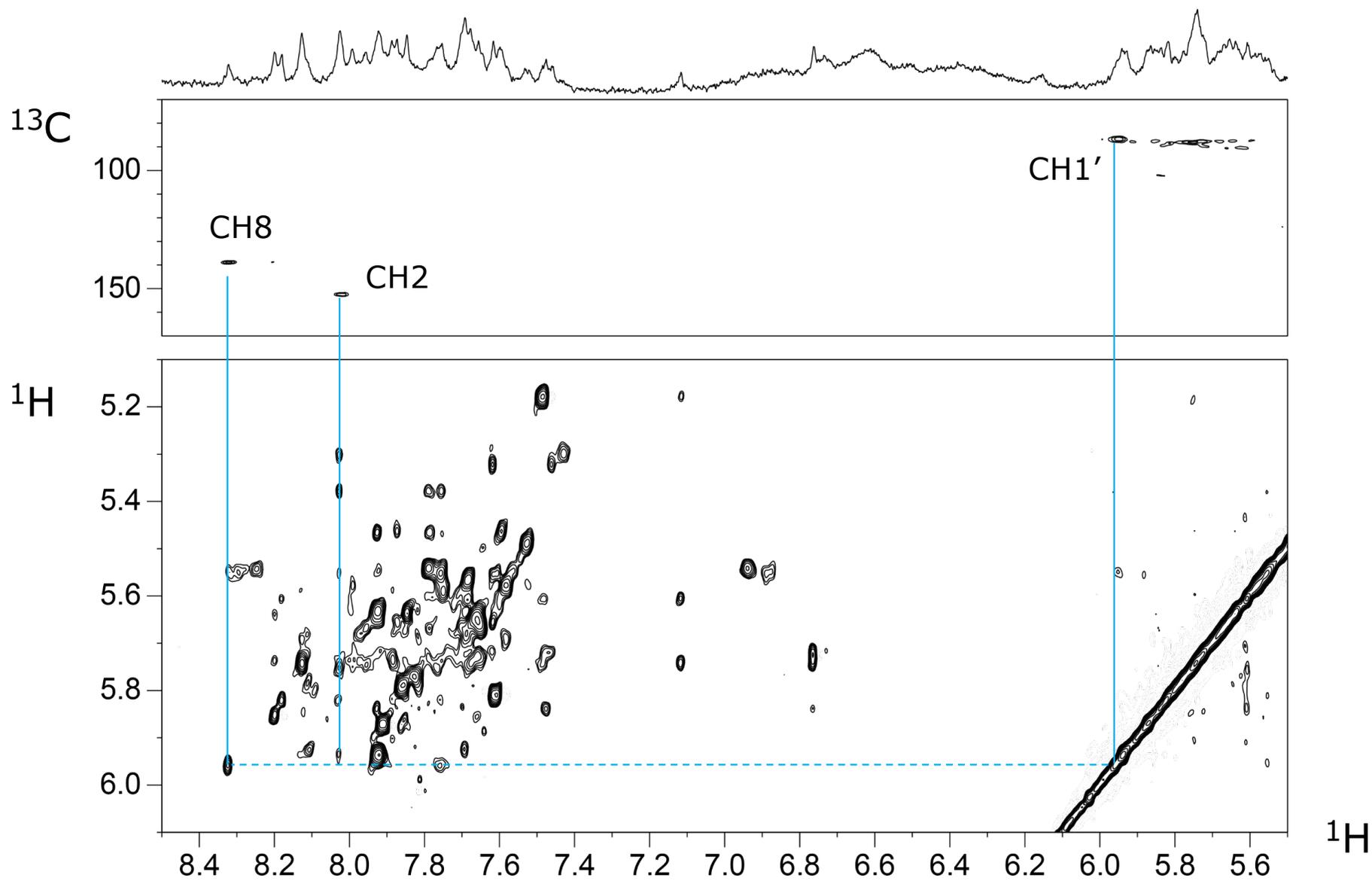
NOESYスペクトルの解析



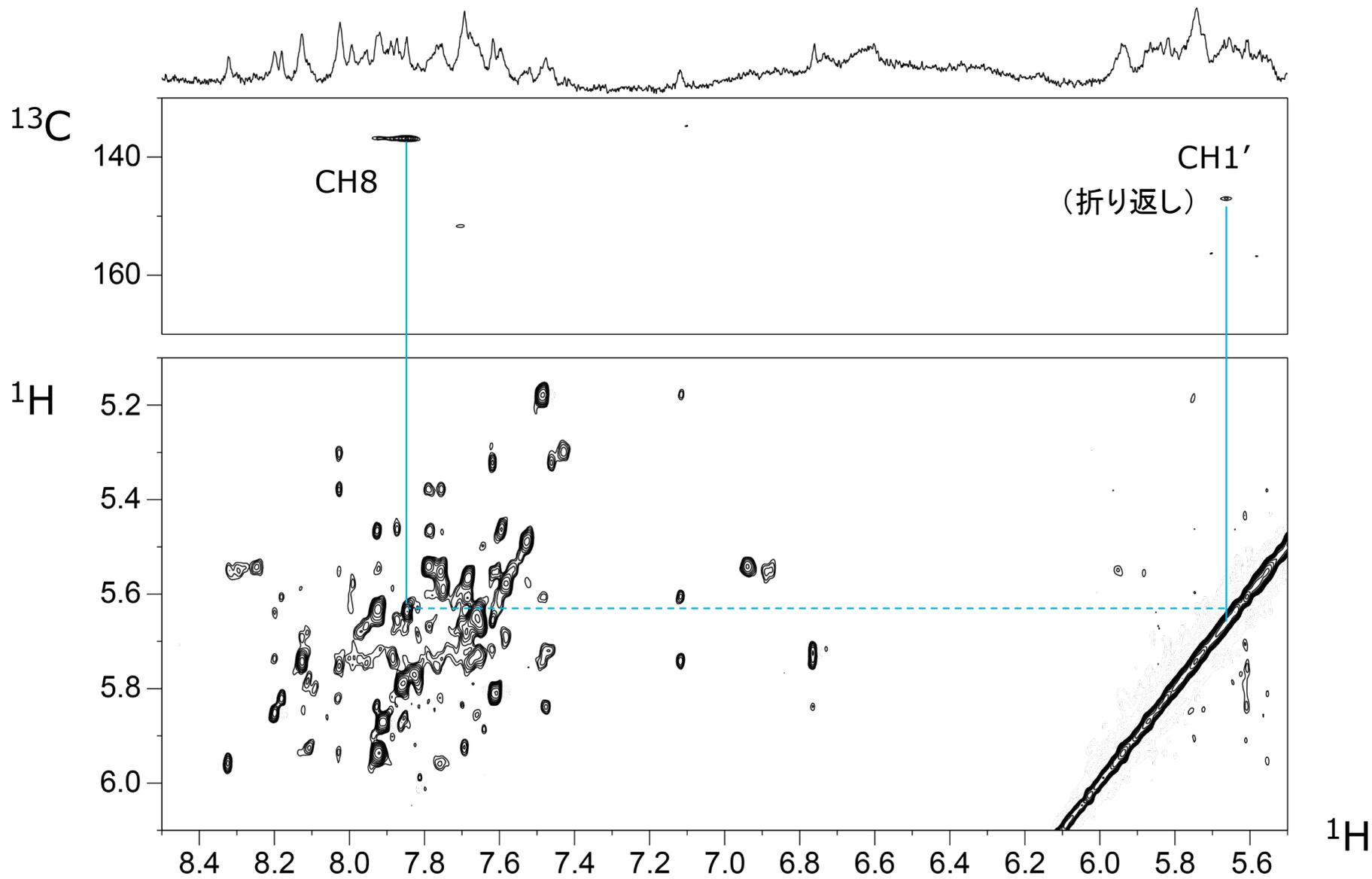
17-32



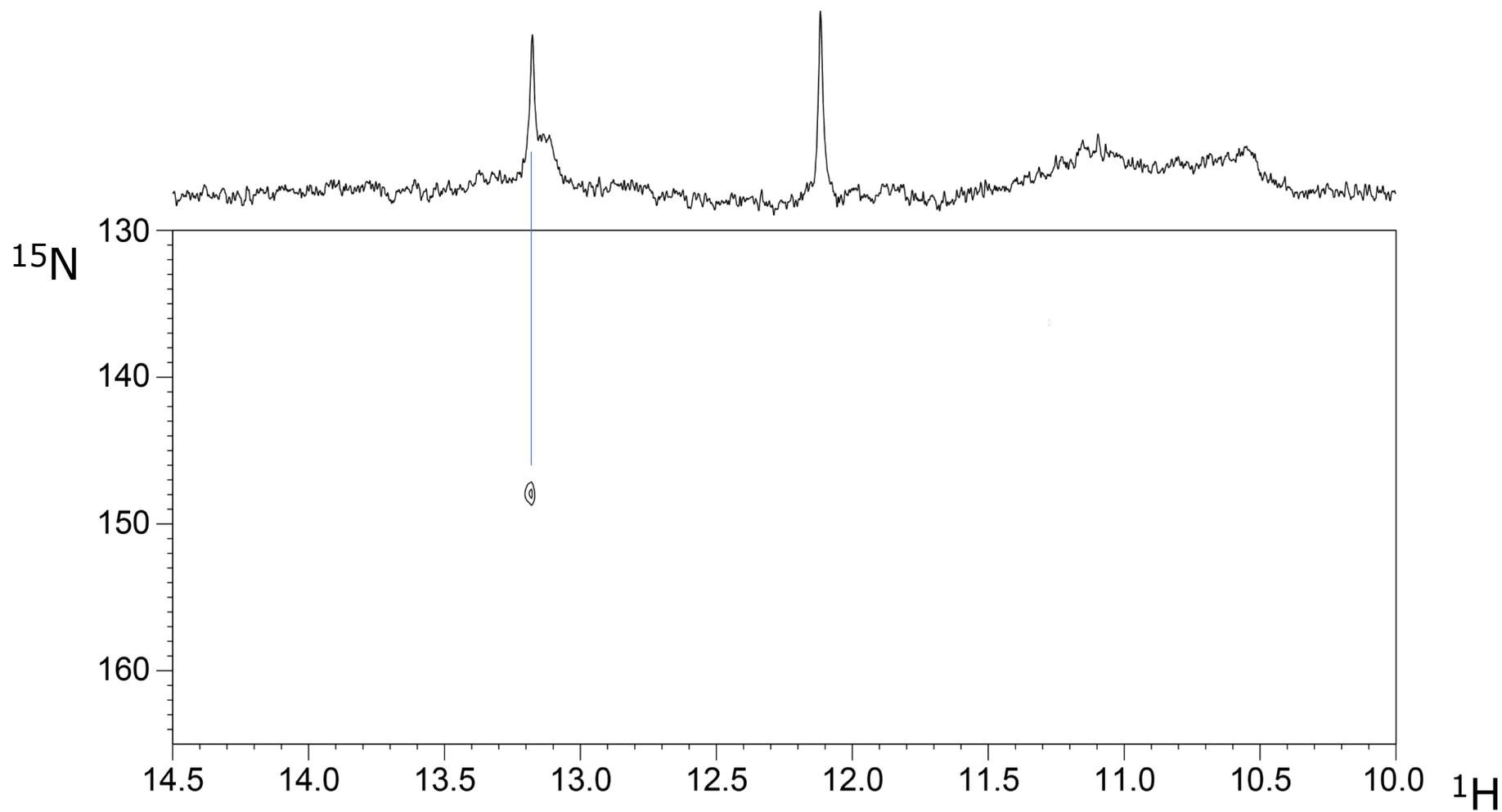
tj-SL-12-A25L



tj-SL-12-G5L

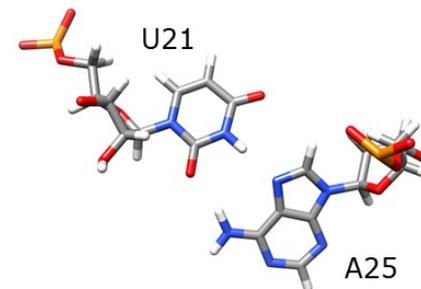
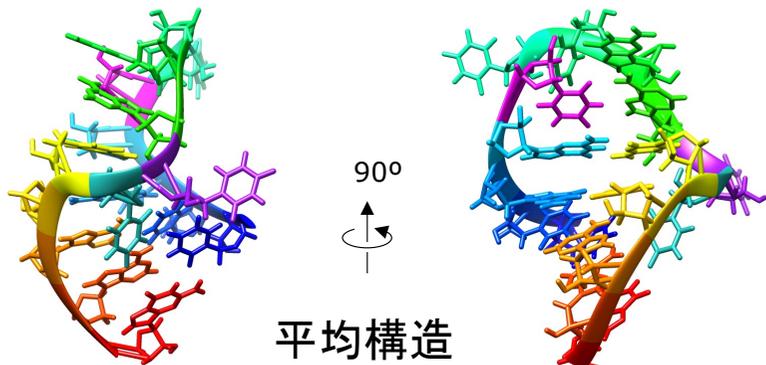


tj-SL12-17-32-G20L



立体構造

U
U G
U - A → U²⁶
20 G - C ← U
G - C
U - A³⁰
17 U - A
5' G 3'



構造計算の結果

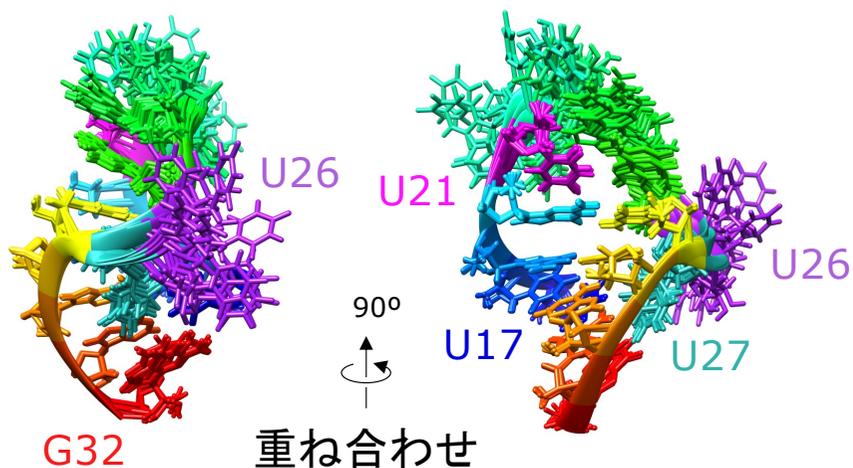
→U21-A25

逆Hoogsteen型塩基対を形成

→U21-A25とG20-C28

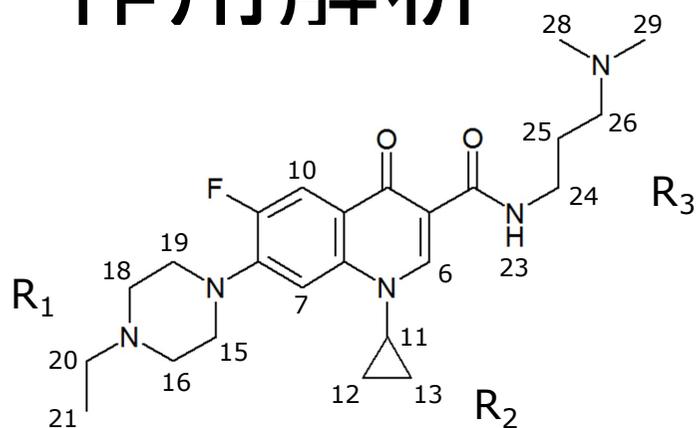
スタック

5つの塩基対を形成



解析例

•フルオロキノロン化合物とRNAの相互作用解析

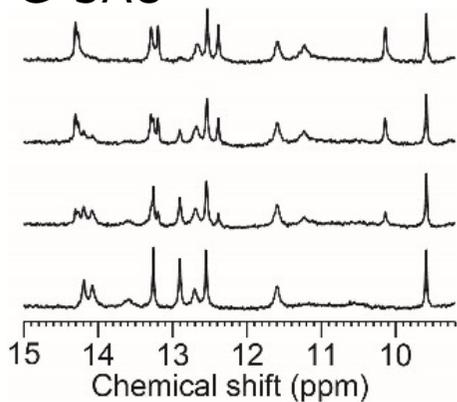


9 U	10 C						
8 U	G 11						
U - A 13		U - A 13		U - A 13		U - A 13	
C - G		C - G		C - G		C - G	
5 G - C 15		5 G - C 15		5 G - C 15		5 G - C 15	
U - A	G/C	A - U	G/C	C - G	G/C	G - C	G/C
A - U		A - U		A - U		A - U	
G - C		G - C		G - C		G - C	
1 G - C 20		1 G - C 20		1 G - C 20		1 G - C 20	
5' 3'		5' 3'		5' 3'		5' 3'	
G-3AU		G-3UA		G-3GC		G-3CG	
C-3AU		C-3UA		C-3GC		C-3CG	

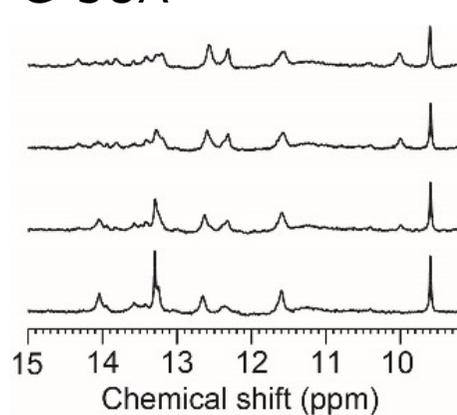
Nagano, K., Kamimura, T. and Kawai, G., *J. Biochem.* **171**, 239–244 (2022)
Ichijo, R., Kamimura, T. and Kawai, G., *Front. Mol. Biosci.* **10**, 1145528 (2023)

NMR titration

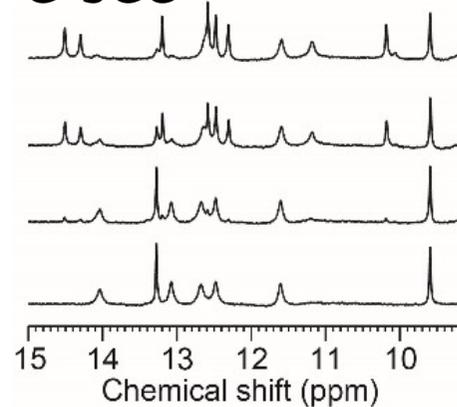
G-3AU



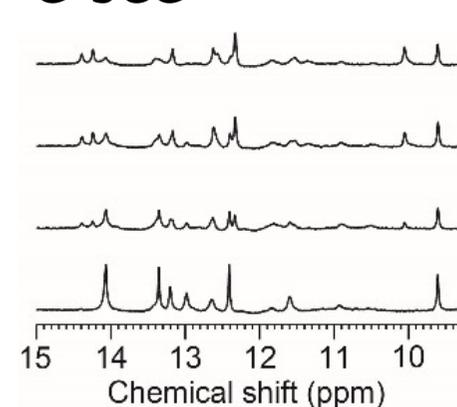
G-3UA



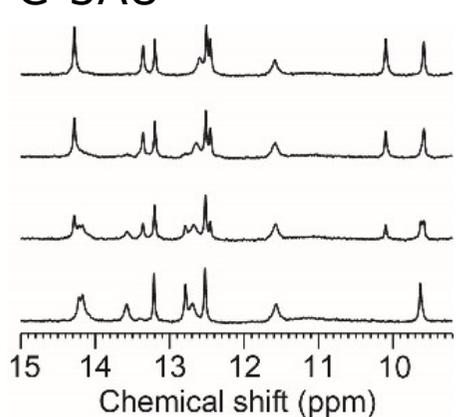
G-3GC



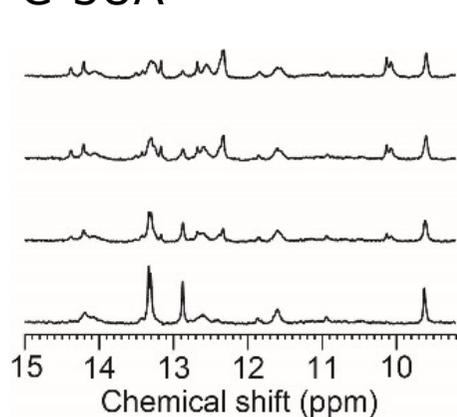
G-3CG



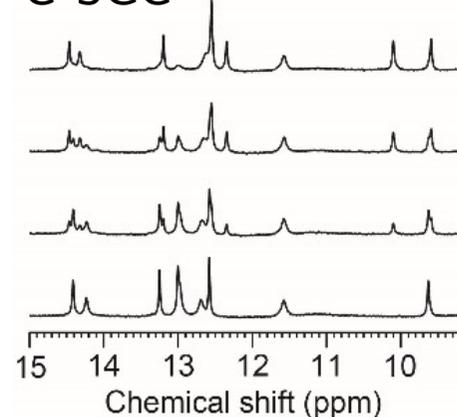
C-3AU



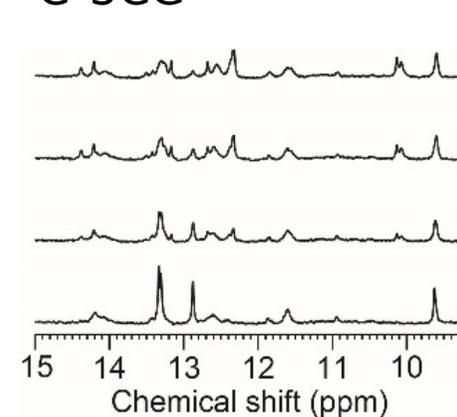
C-3UA



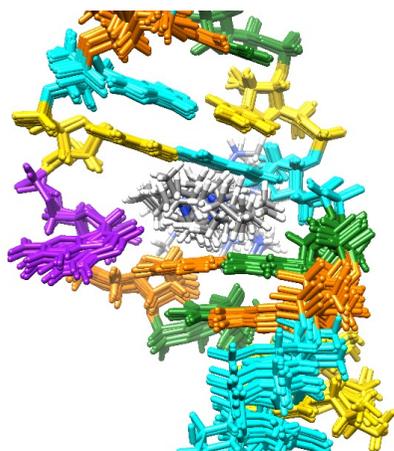
C-3GC



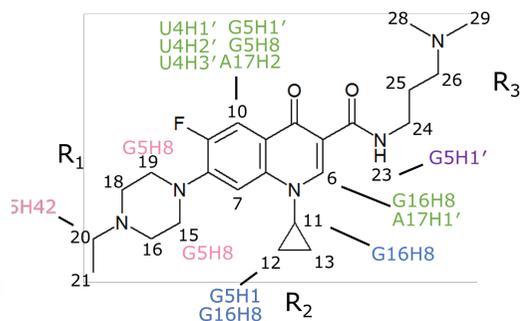
C-3CG



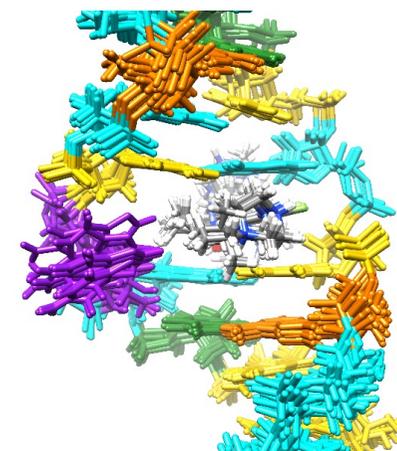
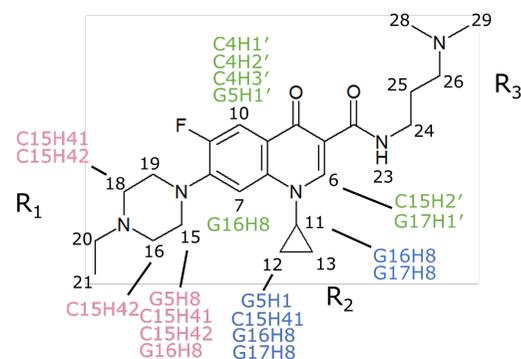
分子間NOEと立体構造



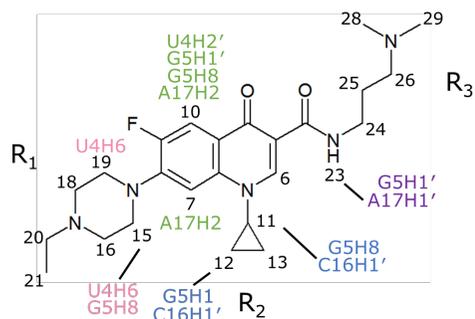
G-3AU



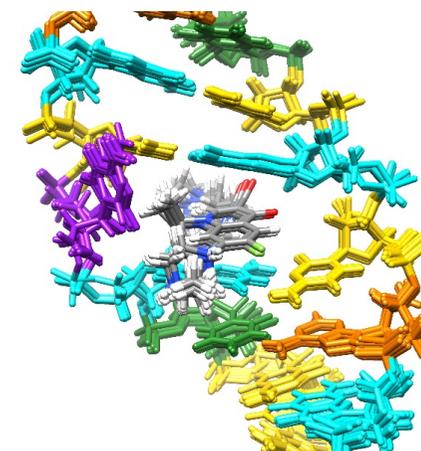
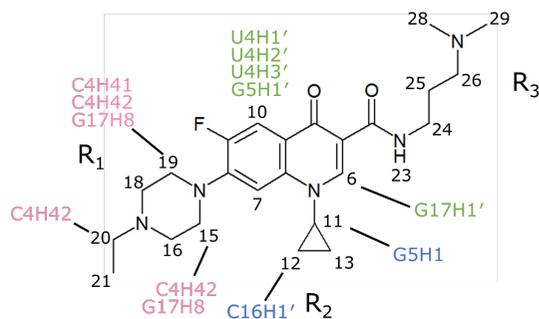
G-3GC



C-3AU

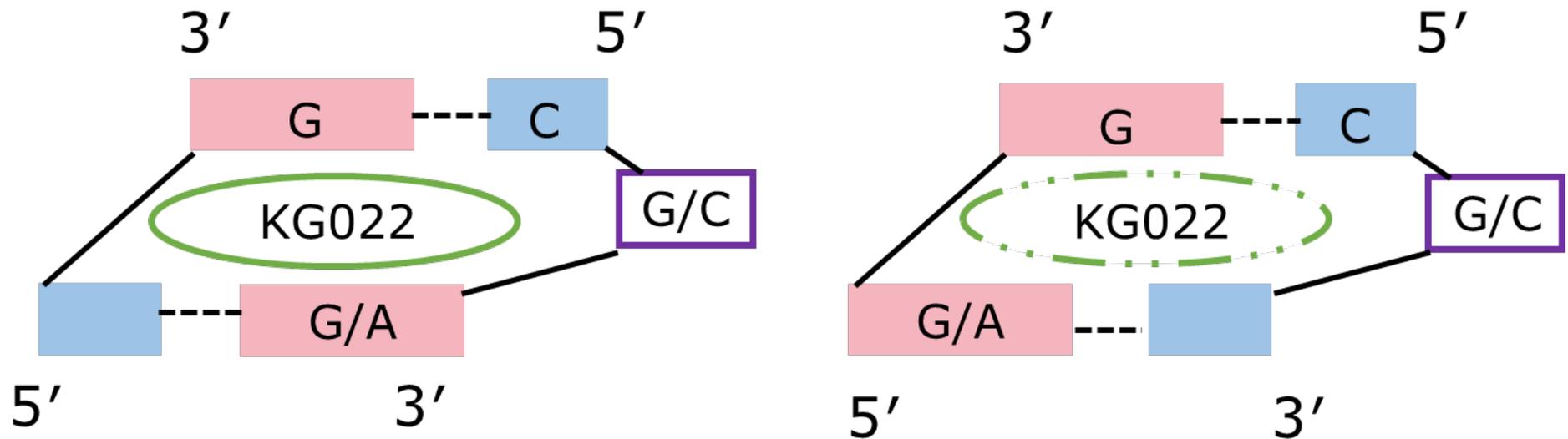


C-3GC



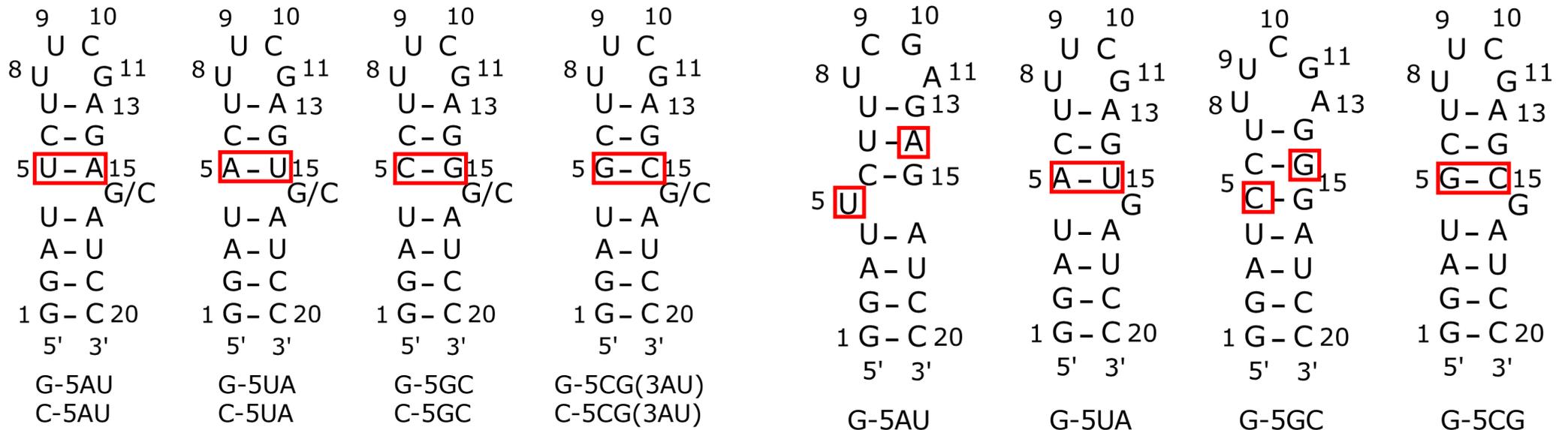
塩基対特異性

- スタッキングによる安定化



RNAの設計

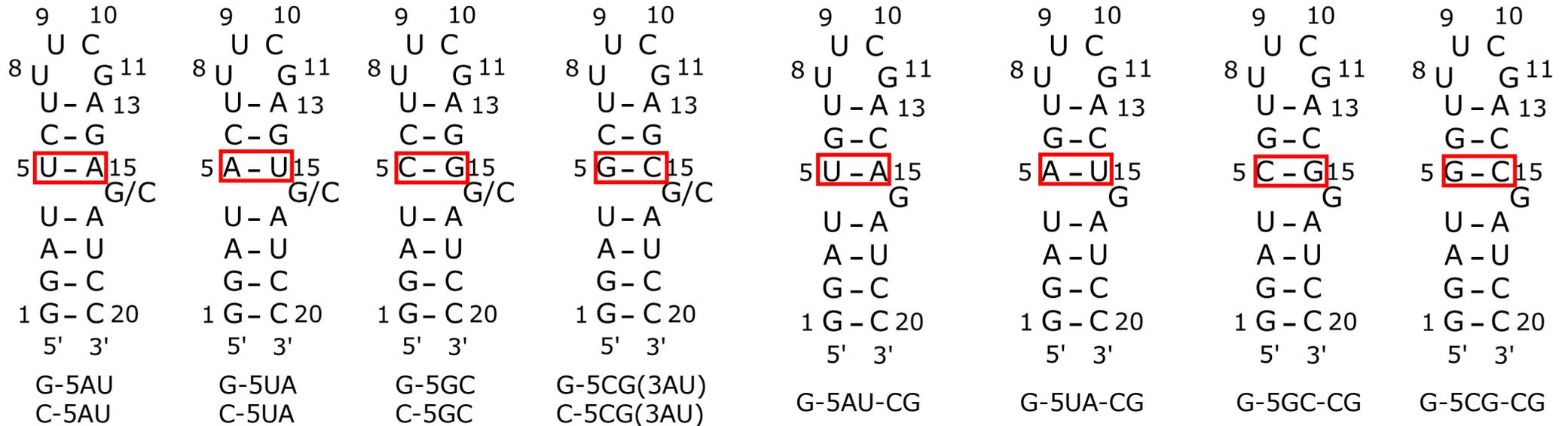
vsfold5による予測構造



Ichijo, R. and Kawai, G., *Biochem. 54*, 2192-2199 (2025)

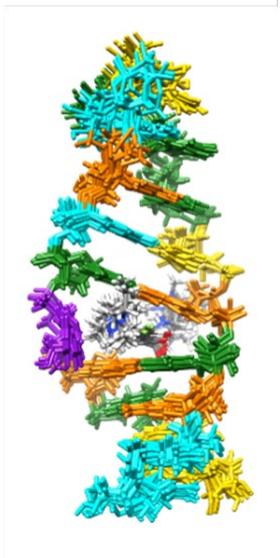
RNAの設計

新しく設計したRNA

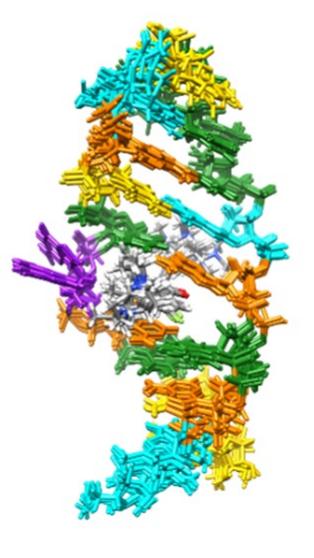


Ichijo, R. and Kawai, G., *Biochem.* 54, 2192-2199 (2025)

C-5UA



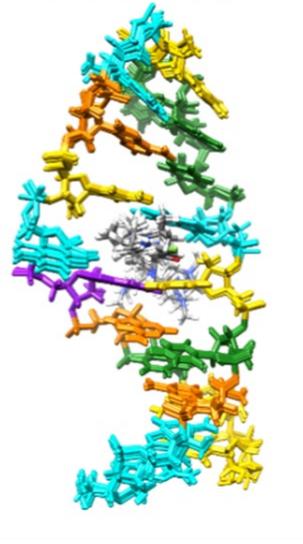
G-5UA



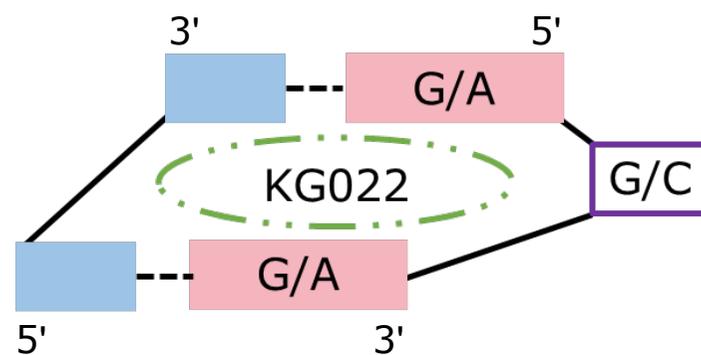
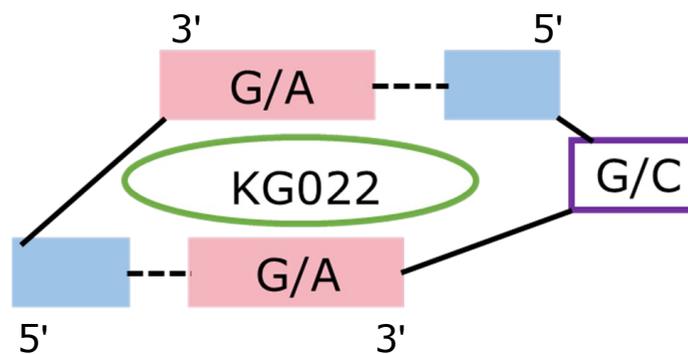
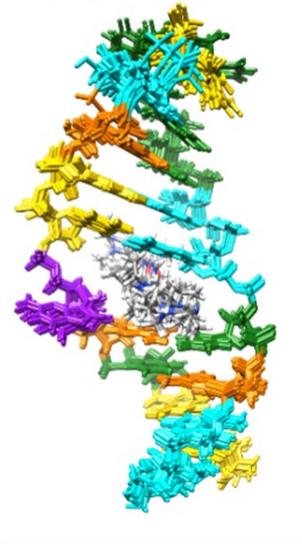
G-5UA-CG



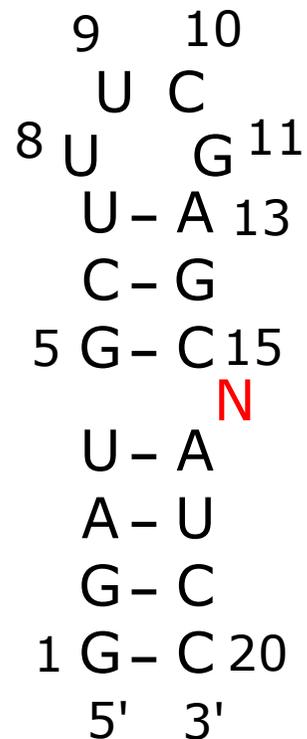
G-5GC-CG



G-5CG-CG

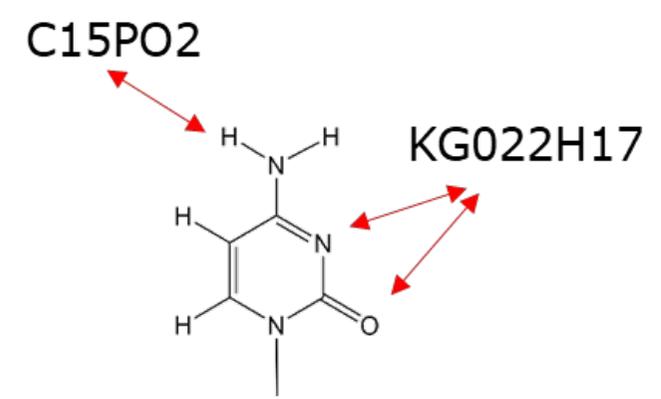
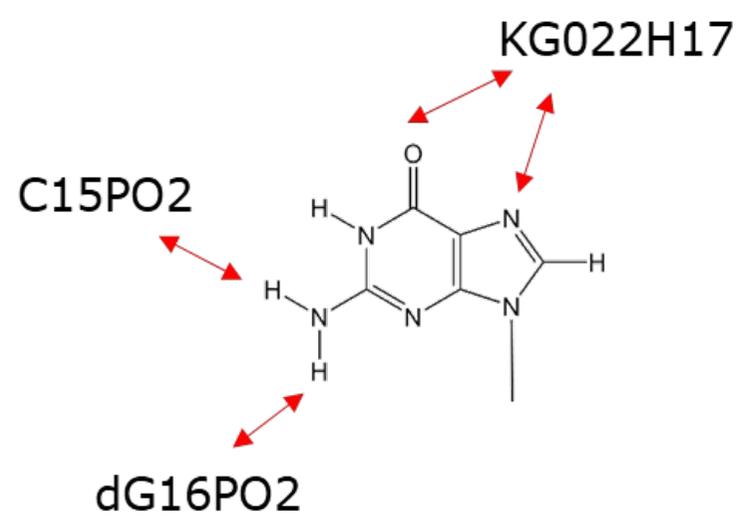
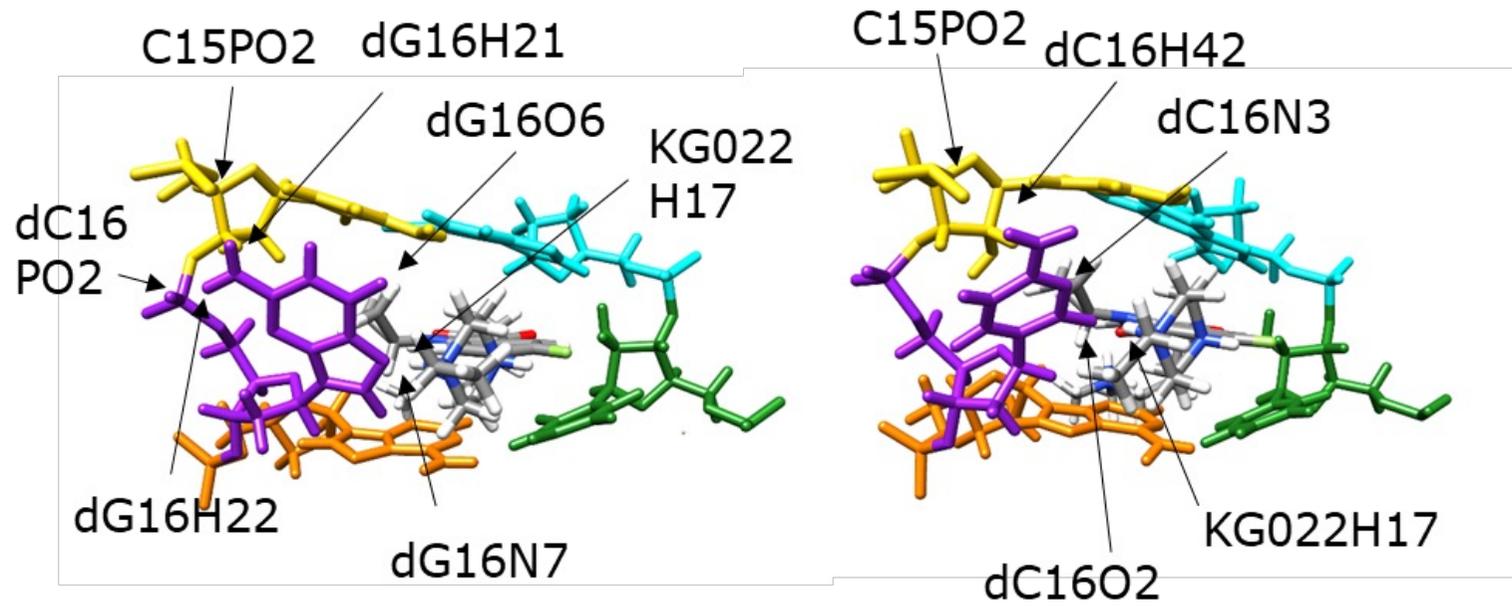


修飾ヌクレオチドを用いた解析



修飾ピリミジン塩基

修飾プリン塩基



株式会社Resorna

- 2022年2月7日 設立
- RNAターゲット創薬に必須のNMR法による受託解析サービスを提供
 - RNA配列や実験条件の選定のアドバイス
 - RNAと低分子化合物の相互作用解析
 - 複合体の立体構造解析
- 成果占有利用を活用

The logo for Resorna, featuring the word "RESORNA" in a bold, blue, sans-serif font. The letter "O" is stylized with a green swoosh that extends from the bottom of the "O" and curves under the "R".

業務のイメージ

大手製薬会社

- 製薬会社1
- 製薬会社2
- 製薬会社3

委託解析

委託解析
共同開発

スタートアップ

- 会社1
- 会社2

RESORNA

成果占有利用(業務)
成果非占有利用(研究)

NMR共同利用施設

理化学研究所
横浜市立大学
大阪大学蛋白質研究所

NMRを利用した
共同研究

大学

研究支援企業

委託分析
安定同位体標識RNA

大陽日酸株式会社

北海道システム・サイエンス株式会社

RNA構造解析が日本で強い理由

- ① RNA研究の“出発点”が早く、しかも基礎寄りだった
- ② NMR・物理化学が異常に強い国だった
- ③ 二次構造解析・予測アルゴリズムの蓄積
- ④ 「RNAは柔らかい」という前提を受け入れた文化
- ⑤ 大規模資金がなくても成立する研究スタイル
- ⑥ 人材が「分野横断」している
- ⑦ 創薬に「向かない」と言われた時代を耐えた

一文でまとめると

日本は「RNAを“不完全で揺らぐ分子”として正面から扱い続けた、
ほぼ唯一の国」

ChatGPT