

次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業
(RNA 標的創薬技術開発)
研究開発中間進捗／成果概要報告書 (公開版)

令和5年9月4日

1. 公募研究開発課題名：標的 RNA の機能解析・構造解析基盤技術開発
2. 研究開発課題名：RNA 標的創薬に資する RNA およびその複合体の機能・構造解析基盤技術の開発
3. 代表機関名：一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム
4. 研究開発代表者名： 嶋田 一夫
5. 所属・役職：特別顧問
6. 全研究開発期間：令和3年8月1日 ～ 令和8年3月31日 (予定)

【研究開発概要】

本研究においては、研究開発計画に従い、「課題①：クライオ電子顕微鏡による RNA およびその複合体の機能・構造解析基盤技術の開発」、「課題②：核磁気共鳴法による RNA およびその複合体の機能・構造解析基盤技術の開発」および「課題③：実証に基づく RNA およびその複合体のインシリコ構造解析技術の開発」の3課題について研究開発を進めた。

【研究開発中間進捗／研究成果概要】

課題①：クライオ電子顕微鏡による RNA およびその複合体の機能・構造解析基盤技術の開発

- ・高性能クライオ電子顕微鏡システムを開発・改良することによって、RNA を中心とする 100kD 以下の標的分子や、その複合体の構造解析を可能にした。具体的には、ほとんど膜に埋まった膜タンパク質や、100 塩基以下の RNA の構造情報を、単粒子解析法を用いて取得する技術開発を進めている。
- ・核磁気共鳴法の研究グループと共同で、脳心筋炎ウイルスの J-K 領域が宿主細胞の2つの翻訳開始因子と結合した構造を解析し、ウイルスが RNA の動的な構造平衡を利用して増えることを解明して Nature Communications 誌に発表した。
- ・RNA 医薬品の透過性・標的到達性を向上させる技術開発を目指して、細胞膜及び細胞間の透過制御のための基盤技術開発を進めている。

課題②：核磁気共鳴法による RNA およびその複合体の機能・構造解析基盤技術の開発

- ・高分子量 RNA の解析に有効な、区分標識および塩基選択的芳香族標識法を確立し、脳心筋炎ウイルスの J-K-St 領域 (108 nt) および TPP リボスイッチの動的構造解析に成功した。またクライオ電顕と NMR の融合による高分子 RNA 複合体の構造決定に成功し、藤吉グループと共同で原著論文を発表した (Imai et al., *Nat. Commun.* (2023))。
- ・創薬上重要な RNA3 種を対象に、2 価カチオン (Mg^{2+} , Ca^{2+}) や温度などによる動的構造変化を介した機能変調を解明するとともに、修飾導入が特異的相互作用に与える影響を動的構造に基づき解明した。
- ・1GHz 超高感度 NMR 装置 (令和4年度に導入) の活用により、J-K-St 領域の構造平衡において、わずかにしか存在しない創薬上重要な構造の特定に成功した。また、バイオ医薬の高感度測定、SARS-CoV-2 PL プロテアーゼと阻害剤の相互作用解析にも成功し (Shiraishi et al., *J. Am. Chem. Soc.* (2023))、当該 NMR 装置の広範なメリットを実証した。

課題③：実証に基づく RNA およびその複合体のインシリコ構造解析技術の開発

- ・RNA 力場 5 種を整備し、開発した自動計算ツールで 711 個の RNA 構造中 68% が分子シミュレーション可能、12 種の RNA について長時間 MD で OL3、YIL 力場が RNA 計算に適することを示した。
- ・ Mg^{2+} 力場を 8 種精査したが全て不適で新規に強電場を扱う理論を開発した (J. Chem. Phys. 投稿中)。
- ・502 個の RNA-低分子複合体構造に対し、RNA 用ドッキングソフトで 58% (RMSD < 3 Å) の精度を達成した。2 種類の MD シミュレーション計算による MD ドッキング手法を開発、抗菌剤標的 FMN リボスイッチと 4 種の低分子に適用し構造予測と基質選択性の再現に成功した (Sci. Rep., BPPB 投稿中)。
- ・TPP リボスイッチと J-K-St 領域に対し、MD シミュレーションで実験情報の再現に成功した。
- ・全国から二重認証方式など最新のセキュリティーの下で利用可能な共用サーバ機を整備した。