195　RNA-小分子間相互作用大規模解析と情報データベース化	鬼塚　和光

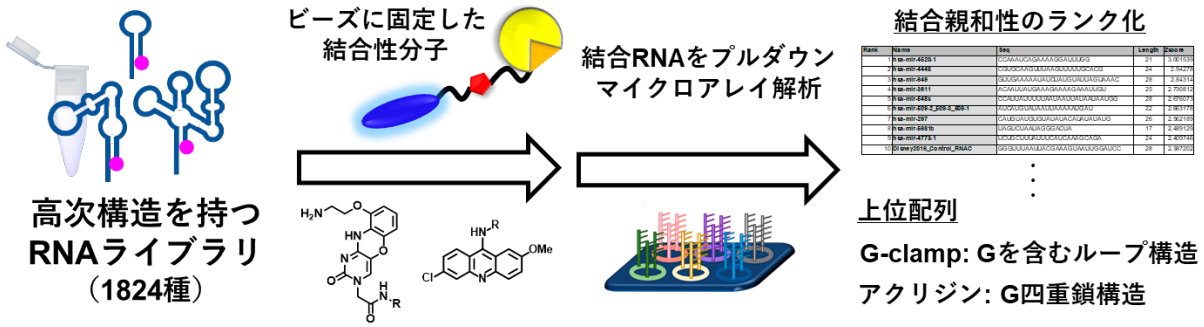
【目的】RNA 標的創薬は近年、オリゴ核酸に加え、経口投与可能な小・中分子でも効果を期待できる標的が増え、飛躍的に進展している。RNA 標的医薬の中には、重篤な遺伝性疾患に対して治療効果が期待できるものもあり、遺伝性・難治性疾患に対する新しい治療法として期待されている。RNA は様々な分子内相互作用により、様々な高次構造を形成することが知られている。創薬標的として、このような高次構造モチーフを小・中分子で狙う場合、多くの類似した構造から標的のみを選択的に認識し、強く結合する必要があるため、高い結合性と選択性を併せ持つ優れた RNA 結合分子の開発は容易ではない。そのため、標的特異的結合分子を創出する優れた評価法・探索法の開発が強く望まれている。このような背景のもと、本研究では RNA－小分子間相互作用の大規模解析技術を構築すること、およびそれら相互作用のデータベース化を目的とした。このような解析技術を確立できれば、化合物ごとに結合嗜好性のビッグデータを得ることができるため、データ駆動型の新たな RNA 化学が切り開けると考えた。

【方法】開発したバーコードマイクロアレイ法にてビーズに固定した化合物（G-clamp 誘導体、チオフラビン T およびアクリジン誘導体）と RNA 構造モチーフ（pre-miRNA およびリピート配列から抽出した 1,824 種の構造モチーフ）との親和性を一挙にランク化した（図）。また、アクリジン誘導体とビニルキナリゾン（VQ）誘導体をコンジュゲートした分子を合成し、類似のバーコードマイクロアレイ法にてアルキル化反応の大規模解析を行った。

【結果】設計した三種類の結合分子の RNA に対する親和性を大規模に解析した結果、G-clamp 誘導体は G を含むループ構造に強く結合し、チオフラビン T やアクリジン誘導体では G 四重鎖構造に対して極めて選択的であることが明らかになった。さらに、上記で得られたランク上位、中位及び下位の配列の RNA を用いて、化合物由来の蛍光変化をもとに解離定数を算出した。その結果、親和性のランクと解離定数は概ね相関したことから、本解析結果の妥当性が示された。アルキル化に関しては、G 四重鎖構造に高い結合選択性を持つアクリジン誘導体を用いたことから、G 四重鎖構造に対して選択的なアルキル化が観測された。

バーコードマイクロアレイ法

本研究で使用した RNA－小分子間相互作用大規模解析法



Rank	Name	Seq	Length	zscore
1	h sa-mir-4626-1	CCAAAUUCAGAAAAGGAAUUUGCG	21	3.061559
2	h sa-mir-4446	CGUGCAAAGUUUAAAGUUUUGCACGG	24	2.543278
3	h sa-mir-448	GUUGGAAAAUAUGUUGUGUGUUAUGUAUAC	28	2.54374
4	h sa-mir-3911	ACAAUUAUGAAAGAAAAGAAAUUGU	25	2.756812
5	h sa-mir-4484	CCAUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGG	28	2.676077
6	h sa-mir-205-2_205-3_205-1	AUGAUGUUUUUUUUUUUUUUUUUU	22	2.963177
7	h sa-mir-297	CAUGUAUGUGUGUAUAUACAUAUACUG	26	2.962189
8	h sa-mir-4461b	UAGUCUUAUUAGGGACUA	17	2.485129
9	h sa-mir-4775-1	UCUBCCUUUUUUUUUUUUUUUUUUCAAGA	24	2.459746
10	Disney2018_Control_RNAC	GGGUUUUAAUUACGAAAGUAAUUUGGAUCC	29	2.387202