構造解析ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
近藤　次郎（上智大学 理工学部 物質生命理工学科・教授）

RNAターゲット創薬のための RNA分子設計・共結晶化・試料調製支援と高度化

補助事業分担者（所属・職名）　なし

高度化における研究背景・目的

RNAはタンパク質に比べて結晶化技術が遅れているため、X線解析のための単結晶調製技術はもちろんのこと、新しい構造解析手段であるクライオ電子顕微鏡や電子線回折のためのRNA-医薬品複合体の単粒子や微結晶試料の調製技術の確立が必要不可欠である。そこで本高度化研究では、申請者の核酸化学、DNA/RNAナノテクノロジー技術を駆使した試料調製技術の確立に取り組む。

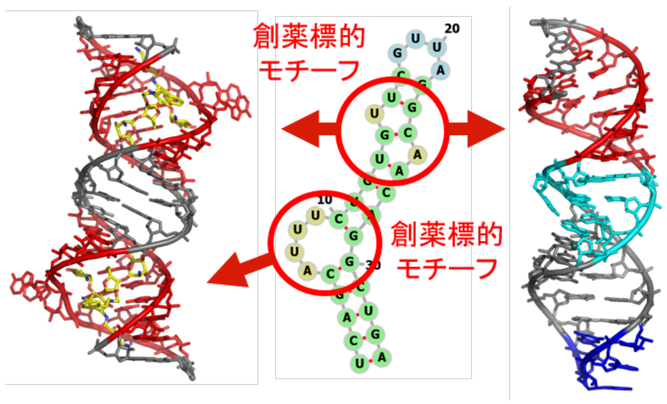
【X線結晶解析の高度化】
RNAはタンパク質とはまったく異なる化学的・構造的特徴をもつことから、タンパク質に対して用いられている結晶化法や構造解析法をそのまま適用することはできない。そこで、RNAに特化した技術を確立する。特に、RNAの構造モチーフが「切り貼り」できる性質を持つことを利用して、結晶化しやすい分子を設計する技術を確立し、結晶化の成功率向上を目指す。また、立体構造を確実に決定するために、RNAに特化した位相決定法を開発する。

【微結晶電子線回折（microED）の高度化】
核酸医薬品の開発には化学修飾を施した人工ヌクレオチドが頻繁に用いられている。また、薬剤標的となるtRNAなどの機能性ノンコーディングRNAにも多様な修飾ヌクレオチドが含まれている。核酸医薬品やRNA標的低分子医薬品を合理的にデザインするためには、修飾ヌクレオチドの正確な構造情報が不可欠であるが、X線結晶解析に利用できるような大型の単結晶を得るのが難しく、CCDCに登録されている立体構造情報は極めて少ない。そこで、化学合成ヌクレオチドの微結晶化条件を探索し、microEDによる構造決定を確立する。

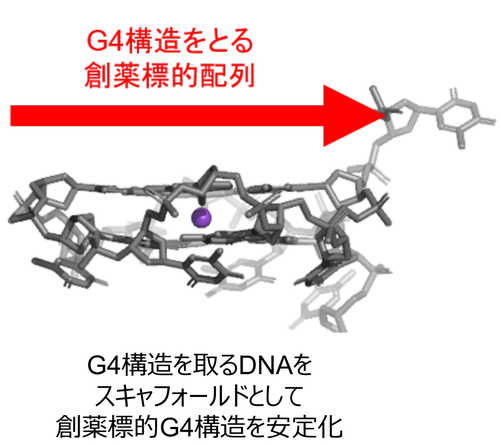
【クライオ電子顕微鏡単粒子解析（CryoEM）の高度化】
天然のRNA（例えばmRNA全長）は安定な単粒子として存在しないため、CryoEMでの観察に不向きである。そこで本研究では、構造安定性が高く単粒子化しやすい高分子量のRNAを探索し、その一部分に薬剤標的配列を導入して構造解析する手法を確立する。

X線結晶解析の高度化の成果

構造解析用モデル分子の設計技術の開発

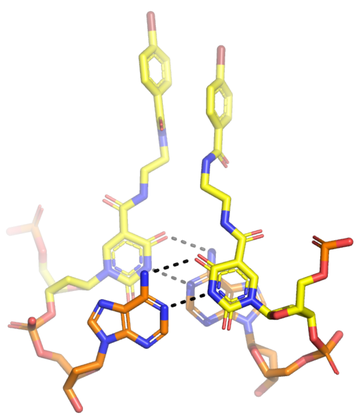


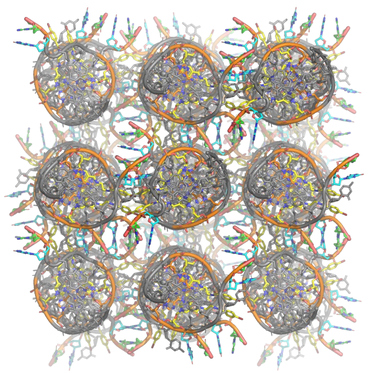
創薬標的モチーフを結晶化しやすい配列に挿入



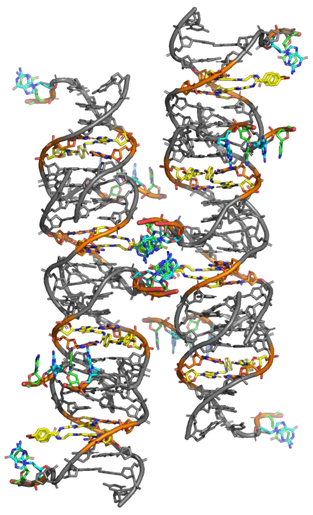
G4構造を取るDNAを
スキャフォールドとして
創薬標的G4構造を安定化

結晶化を促進する技術の開発

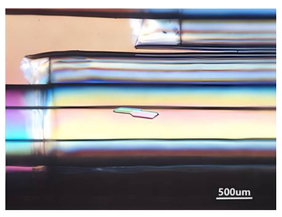




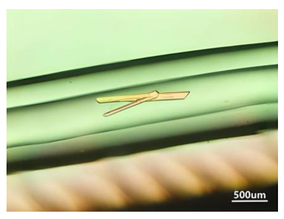
Kosugi *et al.*, 2026 *Submitted*



分解能向上のための微小重力結晶化（JAXAとの連携）

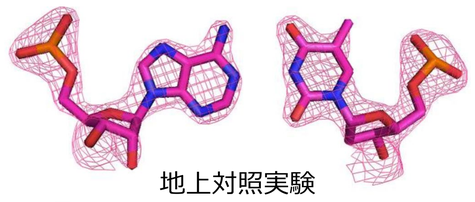


地上対照実験

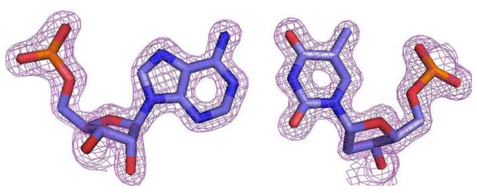


微小重力結晶化

Ando *et al.*, 2025 *Acta Cryst. F*

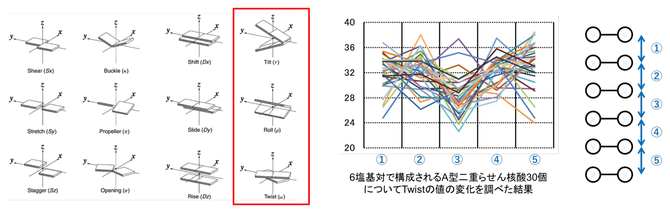


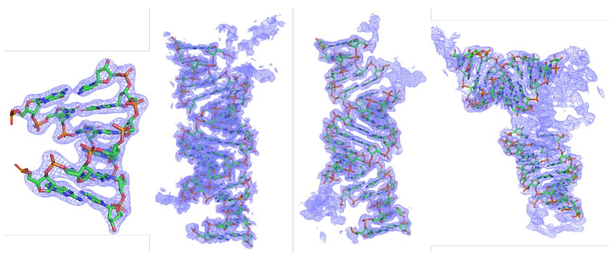
地上対照実験

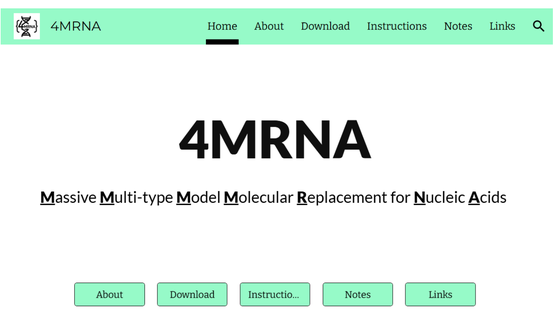


微小重力結晶化

核酸に特化した自動モデル構築・分子置換プログラムの開発

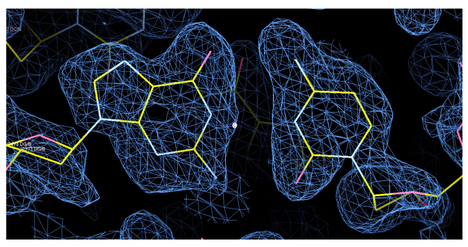




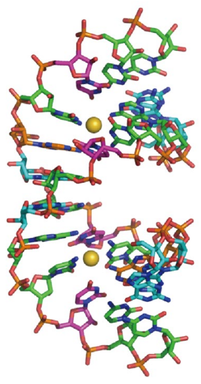


Ando & Kondo 2026 *RNA*

金属仲介塩基対を活用した位相決定法の開発



核酸のリン原子の異常分散効果を活用した
Native P-SAD法による位相決定
（構造解析ユニット・山田悠介先生との連携）





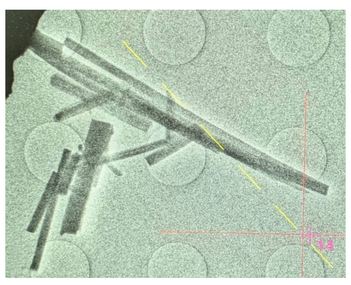
金仲介塩基対を活用した
SAD法による位相決定

Kosugi *et al.*, 2025 *ChemBioChem*

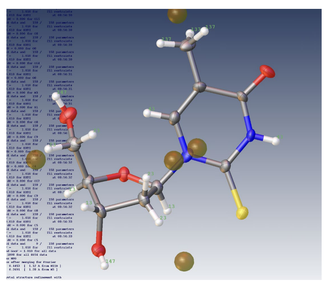
microEDの高度化の成果



CRYOARM200（日本電子）



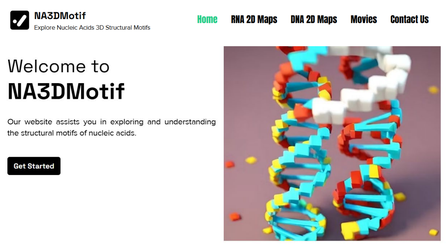
修飾ヌクレオチドの微結晶
（構造解析ユニット・安達成彦先生との連携）



Olex2を用いた構造解析

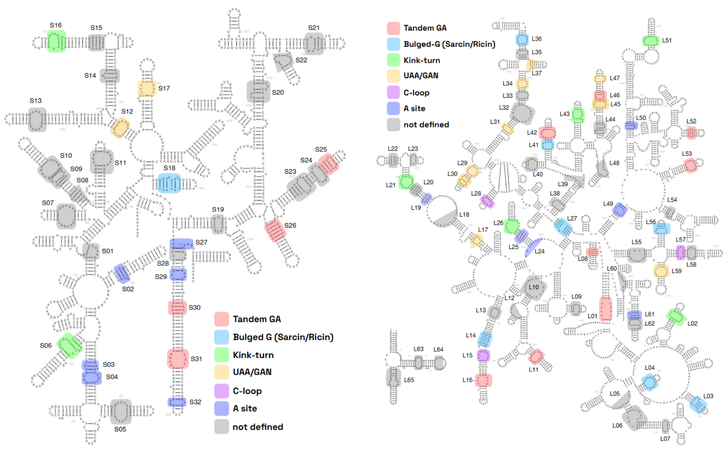
その他の高度化の成果

RNA構造モチーフデータベース・観察トレーニングウェブサイトの開発



RNAの立体構造モチーフを
構造生物学者の視点で実際に観察して
「見た目」で分類したデータベース

配列相同性や座標の類似度に依存しない
「構造生物学者の暗黙知」を基盤とした
新しいタイプのデータベースウェブサイト



Chinone *et al.*, 2024 *NA3DMotif*
https://na3dmotif.com

今後の課題

本研究では、RNAに特化した構造解析法と、それぞれに対する試料調製技術の確立に取り組んだ。結果として、これらの高度化技術を活用した支援研究では、結晶化成功率93%、構造決定成功率93%と、高いレベルでの支援を実現できた。

その一方で、RNAターゲット創薬にチャレンジする製薬企業からは、構造解析よりも手前の技術についても高度化してほしいとの多くの要望が寄せられた。具体的には以下の3点についての関心が高かった。

1）RNAのどの領域・構造モチーフを創薬標的とすべきかを知りたい
2）タンパク質と同様に、RNAの立体構造も高精度に予測したい
3）RNA標的低分子化合物のハイスループットスクリーニングを実現したい

課題1と3についてはFast Track Projectの研究課題として、「創薬標的RNAの立体構造特性の解析技術」と「RNAに特化したスクリーニング技術」の開発を進めている。また課題2については、RNAインフォマティクス研究会と連携した予測技術の開発を進めている。

将来的には、薬剤標的RNAの選別からドラッグスクリーニング、立体構造解析、さらにはSBDDまでを一気通貫した、日本独自のRNA標的創薬研究の支援体制を確立したい。