

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2年 3月 31日現在

機関番号：14401
研究種目：特別推進研究
研究期間：2014～2019
課題番号：26000007
研究課題名（和文） リピート結合分子をプローブとしたトリヌクレオチドリピート病の
化学生物学研究
研究課題名（英文） Chemical Biology Studies on Trinucleotide Repeat Disease
using Repeat-Binding Molecules
研究代表者 中谷 和彦 (NAKATANI, Kazuhiko)
大阪大学・産業科学研究所・教授
研究者番号：70237303
交付決定額（研究期間全体）（直接経費）：310,700,000 円

研究成果の概要（和文）：トリヌクレオチドリピート病に関わる多様な DNA/RNA リピートに結合する分子群を創製し、標的核酸との複合体構造の解析により、新奇な核酸認識様式を明らかにした。リピート病細胞モデル並びにマウスモデルを用いて、開発したリピート結合分子の疾患関連 RNA 毒性の軽減効果を検証し、異常伸張したリピートの短縮を誘導する効果を実証した。これにより、これまで治療法がなかった神経難病の根本的治療へとつながる可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義：トリヌクレオチドリピートに結合する分子が、リピート病発症の根本原因であるリピートの異常伸長を抑制し短縮を誘導するという大発見を、化学的、生化学的、病理学的側面からの多数の科学的根拠で実証するとともに、低分子による難治性神経変性疾患の根本治療の可能性を示した。同時に、本研究成果は、我が国が遅れていた核酸標的的低分子創薬の重要性を繰り返し指摘するとともに、核酸標的的低分子の創製を例示し、さらには製薬企業を刺激し、核酸標的的低分子創薬研究を名実ともに加速させた。

研究成果の概要（英文）：A repeat-binding molecule suppressed the elongation of the repeat and induced the contraction. This significant discovery was proven by many chemical, biochemical, and pathological evidence. Furthermore, these studies demonstrated the possibility of treating neurodegenerative diseases with small molecules. These studies repeatedly pointed out the importance of drug development for nucleic acid-targeting with small molecules and also exemplify the development of such small molecules. We are confident that these studies stimulated Japanese pharmaceutical companies and accelerated their research on the small molecules targeting nucleic acids.

研究分野：生物有機化学、ゲノム科学

キーワード：トリヌクレオチドリピート、核酸結合低分子、神経変性疾患、毒性 RNA

1. 研究開始当初の背景 脆弱 X 症候群、筋緊張性ジストロフィー、ハンチントン病などのトリヌクレオチドリピート病は、遺伝子中のリピート配列の異常伸長を原因とする神経変性遺伝子疾患である。現時点では完治する方法は無い。一方、リピートの伸長程度と発症年齢・症状の重篤さが直接関連するため、リピート伸長抑制による未発症患者の発症抑制や、伸長リピートの短縮による発症後の症状緩和等、生活の質（QOL）を改善する治療法の開発が待ち望まれている。

2. 研究の目的 本研究の基盤となる、我々が世界で初めて開発した d(CAG)_n 結合分子 NA と d(CGG)_n 結合分子 NCD を手掛かり（プローブ）として、リピート伸長を化学的に調節するという視点から分子機構を再検討し、1) リピート結合分子の性能向上と創製、2) 結合分子のリピート不安定化誘導と分子機構の解明・短縮分子探索、3) 結合分子による Toxic RNA の捕捉、4) RAN Translation の分子機構解明と低分子による調節原理導出、を通じて、トリヌクレオチドリピート伸長とリピート RNA の機能を低分子で調節する化学を拓き、トリヌクレオチドリピート病の新しい治療法開発に資する創薬リード化合物の創製を目指した。

3. 研究の方法

3-1) リピート結合分子の性能向上と創製：NA/NCD の化学構造を基に、①NA/NCD の性能向上と、②CAG, CGG リピート以外のリピート認識分子の開発を行なった。さらに、表面プラズモン共

鳴 (SPR) 等を用いた相互作用解析により、標的への結合能と配列選択性を評価し、強い結合を示した化合物に対しては、NMR・X線による複合体構造解析を行った。

3-2) 結合分子のリピート不安定化誘導と分子機構の解明・短縮分子探索：ゲル電気泳動シフトアッセイ (EMSA) 法により NA の CAG/CTG slipped-strand 構造への結合能、in vitro repair assay により DNA 修復制御機構を解析、考察した。モデル細胞を用いて NBD 標識 NA の細胞内局在を、また CAG リピート短縮作用について small pool PCR 法により精密に定量した。ハンチントン病マウスモデルでは、NA による CAG リピート短縮作用ならびに病理学的解析を実施した。

3-3) 結合分子による Toxic RNA の捕捉：リピート RNA (Toxic RNA) の凝集体形成やスプライシング因子の捕捉等による病原性毒性の獲得について、筋強直性ジストロフィー1型 (DM1) の要因となる CUG リピート RNA に注目し、リピート結合分子の CUG リピートへの結合 (SPR 法)、DM1 モデル細胞での RNA 凝集体形成阻害 (蛍光顕微鏡観察)、スプライシング関連タンパク質の捕捉と解離 (EMSA および Filter binding assay)、選択的スプライシング異常の回復効果 (DM1 細胞モデル、マウスモデルを用いた発現解析) を評価、検証した。

3-4) RAN Translation の分子機構解明と低分子による調節原理導出：RAN Translation の分子機構のひとつと考えられている、リボソームフレームシフトへのリピート結合分子の効果、および、5' 非翻訳領域の CXG リピート配列に起因する RNA 二次構造形成へのリピート結合分子の効果を、レポーターアッセイにより検証した。

3-5) 当初に提案した研究計画からの変更点：SCA31 の原因となる UGGAA リピートに結合する低分子を研究室保有のライブラリーより見出し、ヒット化合物と RNA の複合体構造を NMR により解析した。化合物による RNA-タンパク質結合阻害やリピート RNA の核内凝集体形成阻害を、Pull-down や RNA FISH 法等により検証し、ショウジョウバエモデルで表現系への効果を検証した。

4. 研究成果

4-1) リピート結合分子の性能向上と創製

① CAG リピート DNA に結合する NA の性能向上を目指し、リンカー構造や芳香環部を変更した NA 誘導体の構造活性相関を調べた。リンカー構造を変更した誘導体では CAG リピートへの結合能が顕著に低下した。アザキノロン部に芳香環を付加した NBzA は、CAG リピート DNA・RNA への結合親和性が向上した。(論文 14)

② SPR を用いたスクリーニングにより、CAG リピート RNA と強く結合する分子 CMBL 誘導体を見出した。二つのナフチリジン環が環状に結合された構造を有する CMBL 誘導体では、配座固定の効果により新たな結合特性が生じたと考えている。X線構造解析 (ポーランド科学アカデミーの Kiliszek 博士との共同研究) より明らかにした CMBL 誘導体と CAG リピート RNA との複合体構造より、これまで予測していなかったアデニンとナフチリジン環との水素結合など、今後の結合分子開発に有用な知見が得られた。(論文 3, 9, 10)

③ CGG リピートに結合する低分子である NCD の性能向上を目指し、in situ でダイマー化し NCD よりも強固な結合を示す分子群 NCDSh, NCDCC を合成した。また、NCD をダイマー化した分子群 NCT 誘導体 (p-NCTB, NCTPU を合成した。これらの分子は CGG リピートのみならず、FTD/ALS の原因となる G4C2 リピート DNA・RNA にも強固に結合することがわかり、FTD/ALS における RAN 翻訳の影響を解明する上で有用な分子プローブが得られた。(論文 2, 5)

④ CCG リピートに結合する Am-ND の性能向上を目指し、アミノナフチリジン部位の芳香環を拡張した Am-BzND を合成した。Am-BzND は、ナフチリジン部位のスタッキング能の上昇により、CCG リピートへの結合親和性が向上した。また、DNA 中の連続する C を認識する分子として ANP77 を合成した。ANP77 は他の結合分子と異なり、DNA のみならず同様の配列を有する RNA とも高い結合能を示した。ANP77 の複合体構造解析により、DNA 結合分子に比して遅れている RNA 結合分子開発のための新たな知見が得られることを期待している。(論文 6, 8, および投稿中)

⑤ CUG リピートへ結合する分子の創製を目指し、ピロロアミノキノリン、ジアミノフェナントロリン二量体 (DDAP)、イソキノリンなど、ウラシルと相補的な水素結合部位を有する複素環を合成し、これらを様々なリンカーで結合した新規 CUG リピート結合分子群を合成した。CUG リピートへの強い結合を示した DDAP は、後述する Toxic RNA 捕捉実験に用いた。(論文 4, 11)

⑥ 1,3-ジアミノイソキノリンの 5 位に種々の置換基を導入した誘導体を合成し、SPR を用いた構造活性相関を行なった。結果、イソキノリン 5 位の置換基は CUG リピートの結合に決定的な変化を与えることが示唆された。5 位にピペラジニルピリジン基をもつ JM608 は (特許出願中)、CUG リピート選択的な結合を示し、これまでの課題であった CUG と CCG リピートの識別を可能にした。さらに、JM608 の二量体である JM642 (特許出願中) は、より高い親和性に加え、遅い解離速度と標的 CUG リピートの構造変化を特徴とする特異な結合特性を示した。

4-2) 結合分子のリピート不安定化誘導と分子機構の解明・短縮分子探索 (論文 1, 14)

① CAG ヘアピン構造に結合することが判明している NA に、CAG slipped-strand structure への結合特異性を検証するため、共同研究者である Christopher Pearson 博士とともに、CAG/CTG slipped-strand structure 誘導プラスミドをもちいて、EMSA による検討をおこなった。この結果、CAG リピートが長いほど NA が slip-out へ結合すること、CTG slip-out へはほ

とんど結合しないことが証明された。また、ヒト細胞抽出液をもちいた *in vitro* repair assay では、NA は CAG slip-out の修復を阻害するが CTG slip-out の修復は阻害しないこと、また生体の DNA 損傷回復に重要な役割を果たす GT ミスマッチ修復には影響を及ぼさないことが確認された。

② NA の CAG リピート長制御作用を検証するため、ハンチントン病患者由来線維芽細胞 (HD fibroblasts) を用いて伸長 CAG リピート長の解析を行った。まず NBD 標識 NA を用いて、細胞内および核内への良好な移行性を確認した。また、NA の細胞毒性を WST-1 assay と増殖速度で検討し、至適投与濃度を確定した。ついで HD fibroblasts を NA 存在下、非存在下で一か月間培養し、DNA を採取して CAG リピート長の変動を詳細に解析した。NA 投与により明らかに CAG リピートが短縮した細胞が増加し、平均 9.2 リピート短縮した (図 1)。また、他の遺伝子上にある正常長 CAG リピートへの影響がないことも確認した。さらに、COSMIC (catalogue of somatic mutations in cancer) での NA による遺伝子変異原性も検証し、有意な上昇がないことも証明した。

③ NA による CAG リピート短縮機構を解明するため、本研究チームがすでに保有しているリピート病モデル細胞を用いて、様々な条件下でのリピート長変動を解析した。この結果、NA による CAG リピート短縮は、DNA 複製時ではなく、DNA 転写過程で生じる CAG slip-out 形成が関与することが明らかとなった。また、NA が転写時の DNA:RNA hybrid (R-loop) の processing を促進すること、CAG slip-out 修復時に replication protein A (RPA) の働きを阻害して、pol δ や pol β による処理を妨げる機構を解明した。

④ NA の生体での CAG リピート短縮作用を検討するため、ハンチントン病マウスモデル R6/2 の脳線条体組織へ定位脳手術により NA の直接投与を行った。NA を投与した左側線条体と、生理食塩水を投与した右側線条体で伸長 CAG リピート長を比較すると、NA 投与側で CAG リピートの短縮がみられた。NA によるハンチントン病モデルマウスでの CAG リピート短縮は、病態の根底にある脳線条体での異常蛋白凝集体を減少させることも実証した (図 2)。投与部位ではない脳組織でのリピート長変動はなく、また正常長 CAG リピートへの影響もみられなかった。NA による遺伝子全体への変異原性について Hprt1 遺伝子を対象に次世代シーケンサーを用いて解析したが、有意な変異原性は認めなかった。

⑤ こうした NA による伸長 CAG リピート短縮作用および機序について 2020.2 月に Nature Genetics 誌へ発表した (Nakamori et al. *Nature Genet.*, 2020)。 (論文 1) ハンチントン病や脊髄小脳失調症など、CAG リピート異常伸長が原因となるリピート病で、これまで異常伸長リピートを短縮させる治療戦略は考えられたことすらなく、またリピート結合分子によりそれが可能となることは非常に重要な発見であり、Nature Genetics 誌で News & Views で取り上げられ掲載号の表紙を飾ったほか、Science 誌の Editor's choice として紹介された (Science, 2020;367:1208)。リピート結合分子による伸長リピート短縮誘導は、これまで治療法がなかった神経難病の根本的治療へとつながる可能性を持ち、本研究成果は国内外の製薬企業の大きな注目を集めており、核酸標的的低分子による創薬研究の飛躍的な発展につながる契機となった。

4-3) 結合分子による Toxic RNA の捕捉

① DDAP による DM1 モデルのスプライシング異常の回復 : DM1 では、異常伸長した CUG リピートが、MBNL1 などの mRNA 代謝関連タンパク質を捕捉し、選択的スプライシングの異常を引き起こすことが、発症機序に重要である。前項 4-1) で述べた CUG リピート結合分子である DDAP を用いて、毒性 RNA である CUG リピートを捕捉、不活化することで、病原性につながるスプライシング異常の軽減と回復を試みた。まず、r(CUG)₈₀₀ を発現する DM1 細胞モデル (C2C12 細胞由来) を用いて、選択的スプライシングの異常回復効果を調べた結果、単量体では効果が見られなかったが、より親和性の高い DDAP では回復効果が認められた。 (論文 4)

DM1 マウスモデルを用いた *in vivo* 実験においても、同様のスプライシング異常回復効果が観測

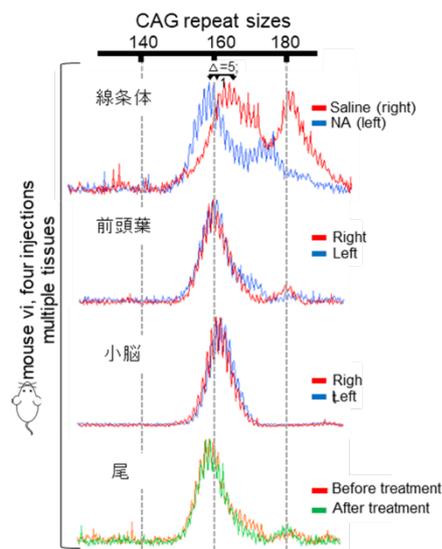


図 1. ハンチントン病モデルマウスでの CAG リピート長短縮

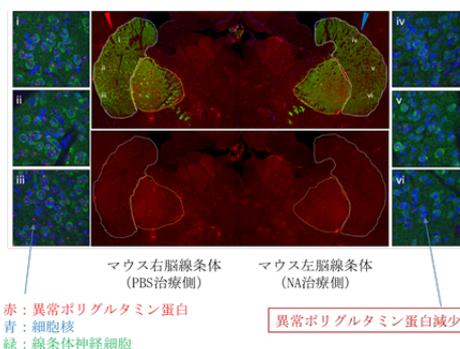


図 2. NA による異常蛋白凝集体抑制効果

された。コントロール WT マウスにおける *Atp2a1* 遺伝子からは、エクソン 22 を含むアイソフォーム (+ex22) のみが発現する。一方、DM1 モデルマウスでは、5 日間の腹腔内 DDAP 投与後 (50 mgkg⁻¹)、発現量が 22.1% から 46.4% に回復した。*Cln1* 遺伝子においても同様のスプライシング異常回復が確認された。DM1 細胞モデルでは、DDAP 処理により RNA 凝集体 (RNA foci) が減少していること、また、ニトロセルロース膜を用いる Filter binding assay により、CUG リピートに捕捉された MBNL1 タンパク質が、DDAP 添加により解放されることを明らかにした。以上の結果から、DDAP が CUG リピートに結合し、RNA 凝集体形成と MBNL1 捕捉を阻害することで、その毒性機能を抑制し、スプライシング異常を回復させることが示唆された。

② JM642 による DM1 モデルのスプライシング異常の回復：DDAP は、CUG リピートに加え、CCG リピートなど他の RNA へも親和性を示し、結合選択性に課題を残していた。計算機シミュレーションと SPR による合成分子の結合データを用いた構造活性相関研究から見出した CUG リピート選択的な結合分子、JM608 とその二量体である JM642 (4-1⑥) を用いてスプライシング異常の回復効果を調べた。

DM1 マウスモデルを評価系とし、5 日間 JM642 を腹腔内投与 (20 mgkg⁻¹) すると、*Atp2a1* の +ex22 アイソフォームの発現量が 15.8% から 73.6% に大きく回復した。*Cln1* 遺伝子においても同様の異常回復が確認された。実際に、DM1 患者由来の筋芽細胞で高頻度に観測される RNA 凝集体が (255 細胞中 41%)、JM642 を添加した細胞では大きく減少する (286 細胞中 6.7%) ことを見出した。以上の結果は、JM642 が CUG リピートに結合し、RNA 凝集体生成を阻害した結果、捕捉されていたスプライシング因子が解放される作用機序を支持する。JM642 の CUG リピートへの選択的かつ親和性の高い結合特性が、スプライシング異常回復効果に重要であると考えられ、JM642 の母骨格である 1,3-ジアミノイソキノリンの 5 位置換基を最適化することで、より高効果、低毒性の結合分子創製が期待される。(JM642 の成果については、論文投稿中)

4-4) RAN Translation の分子機構解明と低分子による調節原理導出

① Repeat Associated Non-AUG (RAN) Translation は、トリヌクレチドリピート RNA が形成する二次構造が、開始コドン (AUG) に依存しない内部翻訳開始シグナルとして機能する現象であり、リピート病の症状発現に関与することが示唆されている。その分子機構として、リピート RNA が形成するヘアピン構造が、IRES 様機能を発現する機構や、リボソームフレームシフトに類似した機構などが考えられる。リピート結合分子の RAN Translation への影響を調べるため、-1 翻訳フレームシフトを検出するレポーター系を用いて評価した。本アッセイ系では、-1 フレームシフトの有無を mCherry-EmGFP 融合タンパク質の発現により検出する。CGG 結合分子である NCT8 の添加によりフレームシフト効率が向上し、二次構造下流の EmGFP の翻訳量が上昇することが示唆された。(論文 7)

② CGG リピート結合分子の RAN Translation への影響を調べるために、レポーター系を用いて翻訳産物の解析を行った。本研究は、共同研究者であるアダムミツケヴィチ大学 Sobczak 教授の協力を得て行った。脆弱 X 随伴振戦/失調症候群 (FXTAS) 発症の原因となる CGG リピート (~99 リピート) を、ルシフェラーゼおよび GFP の 5' 非翻訳領域に導入したレポータープラスミドを構築し、それらを導入した細胞において CGG リピート結合分子 (NCD、Z-NCTS、CMBL 誘導体) の添加に伴う翻訳産物の同定・定量を行った。その結果、CMBL 誘導体のひとつである CMBL4 が、RAN Translation に起因する GFP の生成を抑制することが示唆された。また、CMBL4 は GFP の mRNA 量を変化させなかったことから、CMBL4 の翻訳段階での効果が証明された。(論文投稿準備中)

4-5) 脊髄小脳変性症 31 型を標的とするリピート結合分子 (当初の研究計画からの変更点) (論文投稿中)

脊髄小脳変性症 31 型 (SCA31) は、TGGAA リピート配列の異常挿入を原因とする神経変性遺伝子疾患であり、TGGAA リピートの転写により産生される UGGAA リピート RNA が毒性を示す。SCA31 の発症機構は、リピート RNA の核内凝集体 (RNA foci) 形成や RNA 結合タンパク質 (RBP) の補足など、トリヌクレオチドリピート病が示す生化学的特徴と共通する部分が多いことから、SCA31 を標的とするケミカルバイロジー研究を進めた。

① UGGAA リピート結合低分子探索、複合体構造解析

UGGAA リピートを固定化したセンサーチップを用いた SPR 法により、研究室保有のリピート結合分子ライブラリーのスクリーニングを行い、UGGAA リピート結合分子として NCD を見出した。UGGAA リピートと NCD の結合を詳細に調べるために、UGGAA リピートのヘアピン構造から想定される UGGAA/UGGAA モチーフを含む RNA 二重鎖を用いて NCD の結合特性を評価した。CSI-TOF-MS 及び ITC 測定により、UGGAA/UGGAA モチーフに対して、2 分子の NCD が結合し、解離定数は 32 nM であることが明らかとなった。一方で NCD のナフチリジン環をキノリン環に置換した QCD は結合を示さなかった。また千葉工業大学の河合剛太教授との共同研究により NCD-RNA 複合体の NMR 構造解析に成功した。2 分子の NCD が UGGAA/UGGAA モチーフにグアニンとの相補的な水素結合を介して結合し、2 つのアデニンがフリップアウトすることが明らかとなった。

② UGGAA リピート-RBP 相互作用、RNA foci 形成の阻害

UGGAA リピートは、スプライシング因子などを含む RBP を補足し、細胞核内に RNA foci を形成する。NCD の結合が及ぼす UGGAA リピート RNA-RBP 相互作用への影響を in vitro pull down ア

ッセイにより評価したところ、スプライシング因子などの RBP のリピート RNA への結合が阻害されることが明らかとなった。一方、QCD を用いた場合には、RNA-RBP 相互作用の阻害は見られなかった。また、UGGAA リピートの発現による RNA foci 形成を RNA FISH 法により評価した。QCD は、RNA foci の形成に影響を与えなかったが、NCD 処理した場合、細胞核内の RNA foci が減少することが明らかになった。

② SCA31 ショウジョウバエモデルの複眼変性抑制

NCD の *in vivo* 活性を、ショウジョウバエの複眼に UGGAA リピートが発現し、複眼変性を呈する SCA31 ショウジョウバエモデルを用いて検証した(大阪大学 永井義隆教授との共同研究)。NCD を SCA31 ショウジョウバエモデルの幼虫に給餌したところ、ショウジョウバエ成虫の複眼面積の減少の回復や、色素欠落などの複眼変性の緩和効果を見出した。対照化合物として QCD を給餌したショウジョウバエでは、複眼変性の緩和は観察されず、NCD が RNA-タンパク質相互作用や RNA foci 形成を阻害することにより RNA 毒性を緩和していることが示唆された。これらの結果は、NCD が UGGAA リピートによる RNA 毒性を個体レベルで緩和することを実証した。

4-6) 研究成果のまとめと展望

リピート DNA、RNA と相互作用する低分子を開発し、*in vivo* における活性を確認した。これらの結果から、神経難病の新しい治療方法につながる可能性を示した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 42 件)

1. M. Nakamori (1st), A. Murata (26th), K. Nakatani (30th) 他 29 名 A slipped-CAG DNA-binding small molecule induces trinucleotide-repeat contractions *in vivo*. *Nat. Genet.* **52**, 146–159 (2020). doi: 10.1038/s41588-019-0575-8.
2. Y. Lu, C. Dohno, K. Nakatani Novel Naphthyridine Tetramer that Recognizes Tandem G – G Mismatches by Formation of Interhelical Complex. *Chem. Commun.* **56**, 754–757 (2020). 10.1039/C9CC08111A.
3. S. Mukherjee, L. Błaszczuk, W. Rypniewski, C. Falschlunger, R. Micura, A. Murata, C. Dohno, K. Nakatani, A. Kiliszek Structural insights into synthetic ligands targeting A–A pairs in disease-related CAG RNA repeats. *Nucleic Acids Res.* **47**, 10906–10913 (2019). doi.org/10.1093/nar/gkz832.
4. J. Li, M. Nakamori, J. Matsumoto, A. Murata, C. Dohno, A. Kiliszek, K. Taylor, K. Sobczak, K. Nakatani A dimeric 2,9-diamino-1,10-phenanthroline derivative improves alternative splicing in myotonic dystrophy type 1 cell and mouse models. *Chem. Eur. J.* **24**, 18115–18122 (2018). 10.1002/chem.201804368.
5. T. Yamada, S. Miki, L. Ni, K. Nakatani CGG repeat DNA assisted dimerization of CGG/CGG binding molecule through intermolecular disulfide formation. *Chem. Commun.* **54**, 13072–13075 (2018). 10.1039/C8CC06757K.
6. T. Shibata, K. Nakatani Bicyclic and tricyclic C-C mismatch-binding ligands bind to CCG trinucleotide repeat DNAs *Chem. Commun.* **54**, 7074–7077 (2018). doi: 10.1039/c8cc02393j.
7. S. Matsumoto, N. Caliskan, M. Rodnina, A. Murata, K. Nakatani Small synthetic molecule-stabilized RNA pseudoknot as an activator for –1 ribosomal frameshifting, *Nucl. Acids Res.* **46**, 8079–8089 (2018) doi.org/10.1093/nar/gky689.
8. K. Nakatani, N. Natsuhara, Y. Mori, S. Mukherjee, B. Das, A. Murata Synthesis of naphthyridine dimers with conformational restriction and the binding to DNA and RNA. *Chem. Asian. J.* **12**, 3077–3087 (2017). doi: 10.1002/asia.201701293.
9. S. Mukherjee, C. Dohno, K. Nakatani Design and synthesis of cyclic mismatch binding ligands (CMBLs) with variable linkers by ring closing metathesis and their photophysical and DNA repeat binding properties. *Chem. Eur. J.* **23**, 11385–11396 (2017). DOI: 10.1002/chem.201702064.
10. S. Mukherjee, C. Dohno, K. Asano, K. Nakatani Cyclic mismatch binding ligand CMBL4 binds to the 5'-T-3'/5'-GG-3' site by inducing the flipping out of thymine base. *Nucleic Acids Res.* **44**, 7090–7099 (2016). doi: 10.1093/nar/gkw672.
11. J. Li, J. Matsumoto, L.-P. Bai, A. Murata, C. Dohno, K. Nakatani A ligand that targets CUG trinucleotide repeats. *Chem. Eur. J.* **22**, 14881–14889 (2016). doi: 10.1002/chem.201602741.
12. T. Shibata, K. Nakatani Fluorescence probe for detecting CCG trinucleotide repeat DNA expansion and slip-out. *ChemBioChem* **17**, 1685–1688 (2016). doi: 10.1002/cbic.201600200.
13. J. Matsumoto, J. Li, C. Dohno, K. Nakatani Synthesis of 1H-pyrrolo[3,2-h]quinoline-8-amine derivatives that target CTG trinucleotide repeats. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **26**, 3761–3764 (2016). doi:10.1016/j.bmcl.2016.05.062.
14. J. Li, A. Sakata, H. He, L.-P. Bai, A. Murata, C. Dohno, K. Nakatani Naphthyridine-benzoazaquinolone: Evaluation of tricyclic system for the binding to (CAG)_n Repeat DNA and RNA. *Chem. Asian. J.* **11**, 1971–1981 (2016). doi: 10.1002/asia.201600527.

[学会発表] (計 201 件)

1. K. Nakatani, “Small Molecules targeting Trinucleotide Repeat Sequences causing Neurological

- Disorders” Trends in Nucleic Acid, April 11-13, 2019, Nankai Univ. Tianjin, China (invited)
2. K. Nakatani, “Small Molecules targeting Repeat Sequences causing Neurological Disorders” Sep. 22-24, 2019, The Commemorative International Symposium of the Japan Society of Nucleic Acids Chemistry (CISNAC 2019), Konan Univ. Kobe (invited)
 3. K. Nakatani, “Building Dimeric Form of 1,3-diaminoisoquinoline Derivatives Improved Alternative Splicing in Myotonic Dystrophy Type I Mouse Model” Octo. 11-13, 2019, Asian 3 Roundtable on Nucleic Acids (A3RONA 2019), Himeji Japan (invited)
 4. K. Nakatani, Small Molecules targeting Repeat Sequences causing Neurological Disorders Dec. 15-18, 2019, IUPAC International Symposium on Bioorganic Chemistry (ISBOC-12) Shenzhen, China (invited)

〔図書〕 (計 1 件)

1. Modified Nucleic Acids, Editors: Nakatani, Kazuhiko, Tor, Yitzhak (Eds.), Springer, 2016.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

1. 出願名称: METHODS OF TREATING DISEASES ASSOCIATED WITH REPEAT INSTABILITY、出願国: カナダ、出願番号: 3033590、発明者、C. Pearson, M. Nakamori, K. Nakatani

〔その他〕

1. 核酸標的的低分子創薬研究会を主催し、創薬企業に核酸標的的低分子を用いた創薬研究の重要性を伝えた。WEB: <https://www.sanken.osaka-u.ac.jp/RAIS/business/b2/b2-1/ntm.html>
2. 研究室ホームページ: <https://www.sanken.osaka-u.ac.jp/labs/rbc/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

(1-1) 研究分担者氏名: 堂野 主税

ローマ字氏名: DOHNO, Chikara

所属研究機関名: 大阪大学

部局名: 産業科学研究所

職名: 准教授

研究者番号 (8 桁): 60420395

(1-2) 研究分担者氏名: 武井 史恵 (H26/4/1~H27/3/31)

ローマ字氏名: TAKEI, Fumie

所属研究機関名: 大阪大学

部局名: 産業科学研究所

職名: 助教

研究者番号 (8 桁): 30252711

(1-3) 研究分担者氏名: 村田 亜沙子

ローマ字氏名: MURATA, Asako

所属研究機関名: 大阪大学

部局名: 産業科学研究所

職名: 准教授 (R1.12 に助教より昇任)

研究者番号 (8 桁): 50557121

(1-4) 研究分担者氏名: 中森 雅之 (H27/4/1~)

ローマ字氏名: Nakamori, Masayuki

所属研究機関名: 大阪大学

部局名: 医学 (系) 研究科

職名: 特任講師

研究者番号 (8 桁): 60630233

(2) 研究協力者 (所属機関すべて大阪大学)

(2-1) 研究協力者氏名: 相川 春夫 (H26/4/1~H30/2/28)

ローマ字氏名: AIKAWA, Haruo

(2-2) 研究協力者氏名: 山田 剛史 (H27/7/1~)

ローマ字氏名: YAMADA, Takeshi

(2-3) 研究協力者氏名: 柴田 知範 (H27/7/1~)

ローマ字氏名: SHIBATA, Tomonori

(2-4) 研究協力者氏名: 中森 雅之 (H26/4/1~H27/3/31)

ローマ字氏名: NAKAMORI, Masayuki (H27/4/1 より共同研究者に変更)

(2-5) 研究協力者氏名: 高橋 正紀

ローマ字氏名: TAKAHASHI, Masanori

(2-6) 研究協力者氏名: 永井 健治

ローマ字氏名: NAGAI, Takeharu