

研究種目：若手研究 (A)
研究期間：2007～2010
課題番号：19681023
研究課題名 (和文) 有機化学を活用したケミカルゲノミクスプラットフォームの高度化と応用研究
研究課題名 (英文) Development and application of chemical genomic platforms by use of synthetic organic chemistry
研究代表者
叶 直樹 (KANOH NAOKI)
東北大学・大学院薬学研究科・准教授
研究者番号：40317293

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：マイクロアレイ、有機化学、ケミカルゲノミクス、生物活性物質

1. 研究計画の概要

低分子マイクロアレイや低分子アフィニティービーズなどの低分子化合物-蛋白質相互作用検出技術に、適切な有機化学反応を組み込み、これを利用することで、上記相互作用検出プラットフォームの革新的な改良と応用を目指す。具体的には (1) 低分子マイクロアレイ上に結合した蛋白質を光トラップする手法の開発、(2) クリーバブルリンカーを用いた光親和型固定化の改良、(3) 酵素基質特異性検出アレイの開発、を行う。

2. 研究の進捗状況

(1) 低分子マイクロアレイ上に結合した蛋白質を光トラップする手法の開発：マイクロアレイ基板上に導入したアリアルジアジリン基と、365 nm の紫外光照射によりジアジリン基より副生するジアゾ化合物を用いて、小分子と蛋白質を2段階の光照射により基板上に固定化するべく、基板上にアリアルジアジリン基を導入する検討や、各種ジアジリン化合物を合成してその光分解の解析を行った。

(2) クリーバブルリンカーを用いた光親和型固定化の改良：H20年度までに第一世代型クリーバブル光親和型リンカーを合成し、このプラットフォームが小分子に共有結合する結合蛋白質の検出に有効であることを明らかにした。本プラットフォームを更に改良すべく、第2世代型クリーバブル光親和型リンカーの合成を検討している。

(3) 酵素基質特異性検出アレイの開発：初めに、酸化酵素 Cytochrome P450 の基質特異性を検出すべく、低分子マイクロアレイ上に固定化した小分子群をまず P450 と反応させ、小分子上に付与された官能基 (水酸基など) を検出試薬で検出する手法の開発を目指した。しかし、当初の予想に反して、アレイ基板上に固定化された基質が基質としての酸化を全く受けなくなることが明らかとなった。そこで現在は、アジド化小分子ライブラリーを溶液中で酸化させた後にアルキン修飾基板に導入して、それから検出試薬で検出する方法と、小分子ライブラリーの代わりに補酵素 NADH を基板に固定化しておき、基質の酸化に伴う NADH から NAD⁺への変換を検出するプラットフォームの構築を目指している。アジド化小分子ライブラリーの P450 による酸化は低感度ながら検出に成功しており、NADH 固定化アレイを用いる手法も要素技術の開発に成功している。

3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。
低分子マイクロアレイ上に結合した蛋白質を光トラップする手法の開発については、基板上に導入したジアジリン基と紫外光照射で生成したジアゾ化合物の定量的な解析が行えていないものの、それ以外はおおむね順調に進展している。
クリーバブルリンカーの開発研究はおおむね順調に進行している。酵素基質特異性検出アレイは当初は予期せぬ問題に直面したが、軌道修正後はおおむね順調に研究が進行している。

4. 今後の研究の推進方策

主に、酵素基質特異性検出アレイの開発研究を軌道修正したことを踏まえて、課題(2)、(3)は改めてH22年度に採択された科学研究費補助金基盤研究(B)の課題として推進する。課題(1)は、表面解析を得意とする研究者と共同で、様々な分光学的手法を駆使しながら、新たな予算の枠組みで推進させる予定である。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計15件)

(1) N. Kanoh, H. Takayama, K. Honda, T. Moriya, T. Teruya, S. Simizu, H. Osada, Y. Iwabuchi, *Bioconjugate Chemistry*, **21**, 182 (2010) (査読有)

(2) I. Miyazaki, H. Okumura, S. Simizu, Y. Takahashi, N. Kanoh, Y. Muraoka, Y. Nonomura, H. Osada, *Chembiochem*, **10**, 845 (2009) (査読有)

(3) M. Kawatani, H. Okumura, K. Honda, N. Kanoh, M. Muroi, N. Dohmae, M. Takami, M. Kitagawa, Y. Futamura, M. Imoto, H. Osada, *P Natl Acad Sci USA*, **105**, 11691 (2008) (査読有)

(4) N. Kanoh, T. Nakamura, K. Honda, H. Yamakoshi, Y. Iwabuchi, H. Osada, *Tetrahedron*, **64**, 5692 (2008) (査読有)

〔学会発表〕(計31件)

〔図書〕(計2件)

(1) N. Kanoh in "*Small Molecule Microarrays: Methods and Protocols*" Ed. by S. Q. Yao, M. Uttamchandani, Humana Press, Totowa, in press (2010)

(2) N. Kanoh, H. Osada in "*Protein Targeting with Small Molecules: Chemical Biology Techniques and Applications*" Ed. by H. Osada, Wiley, Hoboken, p 57 (2009)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕