ケミカルゲノミクス研究用ツールとしての低分子有機化合物のマイクロアレイ化技術

叶 直樹*
長田 裕之

Small-Molecule Microarrays as Tools for Facilitating Chemical Genomics: Recent Advances

Naoki Kanoh* and Hiroyuki Osada

The identification of small molecule ligands for cellular proteins of biological importance has not only provided new insights in biology, but has also provided organic chemists with the opportunity to create new synthetic molecules which efficiently regulate specific protein-protein interactions and biological processes. Small-molecule microarrays are recently developed as platforms to screen such small molecule ligands for proteins of interest. The small-molecule microarray technology is highly dependent on chemistry to immobilize small molecules on a variety of solid surfaces, and synthetic organic chemistry will continue to play a significant role in this field. This review covers the recent advances in the field with particular emphasis on the immobilization chemistry, as well as technical advances in the platform optimization and the successful applications of this platform.

Key words: small-molecule microarrays, chemical genetics, chemical genomics, immobilization, high-throughput screening, small-molecule ligand

はじめに

ヒトゲノム配列の精密解読が完了した現在では、得られた情報を、いかにして生命現象や様々な疾病のメカニズムの解明に結びつけるかが重要な課題となっている。多くの生命現象の中では、様々なタンパク質が重要な役割を担っており、これらは疾病治療の標的分子としても重要である。このことから、細胞内で発現するタンパク質とその機能を網羅的に解析するプロテオーム研究が盛んに行われている。

一方、生命現象をシステムとして理解するためには、遺伝子に変異を加えることでその機能を解析する「古典的遺伝学」(genetics)が現在でも重要な役割を担っている。しかし最近、遺伝学における遺伝子変異の代わりに、低分子有機化合物(バイオプローブ¹⁾)を用いて特定のタンパク質の機能を解析する「化学遺伝学」(chemical genetics)の重要性が認知されるようになってきた²⁾。化学遺伝学は化学生物学(ケミカルバイオロジー)の一領域であるが、その成果が基礎研究のみならず、直接、臨床薬開発に応用できる非常に重要な分野である。

化学遺伝学の利点は、標的を遺伝子ではなくタンパク

質とするために、①遺伝子が重複する場合でも、発現するタンパク質が1つであれば1つの化合物でその機能を制御できること、②実験系(細胞培養液など)への低分子化合物の一時的な添加や除去により、タンパク質の機能を一過的に制御できること、③1つのタンパク質中でも特定のドメインの機能を選択的に制御できること、などにある。

ところで、現在の化学遺伝学が克服しなければならない大きな問題点は、その一般性の低さにある。すなわち、現段階において、すべてのタンパク質とそれぞれのドメイン構造に対する低分子モジュレーターが知られているわけではない。

このような状況下、「原理的にはすべてのタンパク質に対する低分子リガンドの取得が可能である」という考えに基づき、ゲノム規模で組織的、系統的に化合物を取得し、生命現象解明のためのツールとして役立てようとする研究領域「ケミカルゲノミクス(chemical genomics, 未だ日本語訳が統一されていないのでカタカナ訳で表記)」が台頭した³⁾。この中で、任意のタンパク質に対する低分子リガンドを探索する技術として、低分子マイクロアレイ(または小分子マイクロアレイ: small-molecule microarrays)が注目されている。

図1にこの手法の概略を示す。まずスライドガラス等の基板上に低分子化合物を個々のマイクロスポットとして導入し、後述する何らかの方法で固定化すると、化合

* 独立行政法人理化学研究所 中央研究所 長田抗生物質研究室 ()

* Antibiotics Laboratory, Discovery Research Institute, RIKEN ()

物のマイクロスポットがずらりと多数整列(array)した基板が作成できる。形成されたアレイを蛍光色素でラベルしたタンパク質で処理すると、タンパク質と結合した低分子化合物のスポット上に蛍光が観測される。すなわち、観測された蛍光スポットは基板上的低分子化合物とタンパク質との相互作用を示す。基板上に数千から数万種類の化合物が導入されていれば、1回の実験で数千から数万のタンパク質結合アッセイが可能である。

Fig. 1

この手法は開発されてからまだ歴史が浅いが、低分子有機化合物を基板上に高密度に固定化することが技術の核となっているため、多様性志向型有機合成⁴⁾や固相上ライブラリー合成技術⁵⁾と同様、その技術の進歩と展開に有機合成化学の果たす役割は極めて大きいと考えられる。

以上の背景のもと、本稿では低分子化合物のマイクロアレイ化の歴史的背景にまず触れたあとで、現行の低分子化合物の固相担体上への導入技術を整理し、それぞれの方法を用いた応用例に関して述べる。

ところで、本論文のタイトルは、「低分子有機化合物のマイクロアレイ化技術」であるが、ステロイドやポリケチド、アルカロイド、複素環化合物などの、いわゆる低分子化合物の他、糖鎖やペプチドなども低分子化合物の範ちゅうに含めた。これは固定化の際の合成化学的取り扱いが似通っているためであるが、低分子化合物⁶⁻⁹⁾、糖鎖^{10,11)}、ペプチド^{12,13)}のマイクロアレイはそれぞれにおいて固有の利用目的がある。このため別々に議論される場合が多く、個々に関する総説も多数著されているので、目的に応じて参考にして頂きたい。また本稿では取り上げないが、有機合成反応の開発に低分子マイクロアレイを利用している興味深い例もあるので、是非参照されたい^{14,15)}。

1. 歴史的背景

マイクロアレイといえは、生命科学研究に関わる多くの人は最初に DNA マイクロアレイを思い浮かべるであ

ろう。しかし、実はその基となった技術は、1984 年に Geysen らにより報告されたペプチドのアレイである¹⁶⁾。彼らは、マイクロタイタープレートのそれぞれのウェルに、ポリエチレン樹脂製のピンが一本ずつ入るように配置した反応器具を作成した。次にコンビナトリアルケミストリーの手法を用いて、それぞれのピン上で 1 種類、計 208 種類のヘキサペプチドライブラリーを合成し、そのままタンパク質との結合アッセイに利用した。この報告は、固相担体上のペプチドを、樹脂上から切り出すことなくタンパク質との相互作用検出に用いた最初の例である。

この報告の後、1992 年に Frank はセルロースシート(いわゆる紙)の上にペプチドライブラリーを作成し、これを抗体との結合アッセイに用いた¹⁷⁾。彼はセルロースシートを切り離すことなく、1 枚のシート上の個々のスポット上で異なるペプチドを作成したことから、この手法は「SPOT synthesis」と呼ばれている。また、同一担体上ではないが、Lam らは 1991 年に樹脂ビーズ上でペプチドを合成し、そのまま抗体との結合アッセイに利用する「one-bead one-peptide」コンビナトリアルライブラリーの概念を発表した¹⁸⁾。

これらはいわゆる「その場(in situ)」でライブラリーを合成する方法であるが、光リソグラフィーの技術と光反応性保護基を巧みに用いて、高密度ペプチドライブラリー合成に発展させたのが、現在の Affymetrix 社の前身である Affymax 社のグループである¹⁹⁾。この手法は後に in situ スクレオチド合成に応用され、DNA マイクロアレイ技術の華々しい幕開けにつながったことは記憶に新しい。しかし、本来のペプチドアレイを作成するには、光反応性保護基で保護された全種類のアミノ酸モノマーを作成するコストや、光照射による脱保護反応の効率等の問題から実用性に未だ難点があり、現在でも改良が進められている^{20,21)}。

In situ 合成法は、望みのものを望みの場所に合成できる長所を持つ反面、1 つ 1 つの分子構築反応をすべて基板で行わなければならないため、作業効率に問題がある。この弱点を回避するために、あらかじめ合成した化合物ライブラリーの溶液を基板上にスポットし、何らかの結合を形成させて固定化する手法が考えられた。DNA マイクロアレイでも、現在ではポリリジンやアミノ基で修飾したガラス基板上にロボット(マイクロアレイヤー)を用いて cDNA を高密度にスポットする、いわゆる Stanford 方式が主流である²²⁾。

スポットした化合物を固定化する方法としては、共有結合を形成させる方法と、非共有結合で固定化する方法に大別される。また共有結合を形成させる方法は、化合物上の特定の官能基と基板上に導入された官能基の間の

選択的反応を用いる方法と、そうではない方法の2つに分けられる。以下の項ではこれらを個々に紹介し、それぞれの特徴をまとめた。

2. 化合物と基板の間に共有結合を形成させる 固定化法

2.1 選択的反応を用いる方法

有機合成化学は歴史的に選択性を迫及する学問である。低分子化合物のマイクロアレイ化もこの例にもれず、あらかじめ特定の官能基を持つように設計された合成低分子化合物ライブラリーを、それに対応した基板上に導入する方法が数多く報告されている。

2.1.1 含チオール化合物ライブラリーのマイクロアレイ化

低分子化合物のマイクロアレイ化法を初めに報告したのは、米国ハーバード大学の MacBeath と Schreiber らのグループである²³⁾(図2)。1999年、彼らはスタンフォード式のマイクロアレイヤーを用いて、システインを導入した化合物ライブラリー(1, 2a-5a)を、マレイミドを導入したガラス基板(A)にマイクロスポットして低分子化合物のマイクロアレイ(B)を作成した。次に各化合物の結合タンパク質(低分子化合物との解離定数： $K_D = 1 \text{ fM} - 10 \text{ nM}$)を蛍光ラベル化し、これらでマイクロアレイBを処理すると、個々の特異的な低分子-タンパク質相互作用が基板上の蛍光として観察された。SH基を持たないアラニンを導入した化合物群2b, 3b, 5bをスポットした場合には蛍光が観測されなかったことから、チオール基と基板上的マレイミド基がMichael付加することで、低分子化合物が固定されることが示唆された。また、低分子化合物として各種のFKBP 12リガンドを、タンパク質として蛍光ラベル化FKBP 12を用いた場合、基板上に観測された蛍光強度は各種FKBP 12リガンドのFKBP 12に対する親和性($K_D = 8.8 \text{ nM} - 2.6 \text{ } \mu\text{M}$)と良い一致を示した。Michael付加反応を用いた方法は糖鎖のマイクロアレイ化にも用いられ^{24,25)}、糖鎖結合性タンパク質の糖鎖認識領域のマッピングに利用されている²⁶⁾。

2.1.2 アルコール化合物ライブラリーのマイクロアレイ化

有機合成化学では水酸基を保護する際にシリル基がしばしば用いられるが、この反応も化合物のマイクロアレイ化に利用されている²⁷⁾(図3)。通常の顕微鏡観察用のシリコンガラス基板(C)をピラニア溶液で洗浄し、続いて触媒量のDMF存在下、塩化チオニルで処理すると、基板を活性化できる。この基板(D)上に一級水酸基を持つ化合物6をスポットすると化合物が固定化された。また固定化された化合物はそれぞれの結合タンパク質で認

Fig. 2

識されることが確認された。Schreiber らはこの方法を用いて、3780個からなる1,3-ジオキサン化合物ライブラリーのマイクロアレイを作成した。さらにこのマイクロアレイを用いて酵母由来のタンパク質Ure 2pのリガンド探索を行い、uretupamine A 7aを見出した(Ure 2pとの解離定数： $K_D = 18.1 \text{ } \mu\text{M}$)²⁸⁾。Ure 2pは酵母の窒素代謝に関わる遺伝子の抑制因子として、また、Torタンパク質の下流で働くことが知られていたタンパク質である。興味深いことに7aと、細胞膜透過性やUre 2p結合能の高い($K_D = 7.5 \text{ } \mu\text{M}$)誘導体uretupamine B 7bは、細胞内でUre 2pの抑制している遺伝子群中の一部の発現のみを解除することが判明し、この結果を発端としてUre 2pの持つ新たな機能の解明につながった。Schreiber らは、他に酵母の転写因子Hap 3pのリガンド探索を行い、阻害剤として働くhaptamide A 8を得ている(Hap 3pとの解離定数： $K_D = 5 \text{ } \mu\text{M}$)²⁹⁾。

水酸基を持つ化合物のマイクロアレイ化法として、同研究グループはジイソシアネート基を用いる手法も報告している³⁰⁾。エチレングリコール鎖を含むリンカーを介してジイソシアネート基を導入した基板に、前述の1,3-ジオキサン化合物ライブラリーをマイクロアレイ化した基板を用いて、 Ca^{2+} 受容タンパク質カルモジュリ

Fig. 3

ンのリガンド 9 ($K_D = 10-20 \mu M$)を見出している。

2.1.3 酸性官能基を持つ化合物ライブラリーのマイクロアレイ化

コンビナトリアル合成で合成される化合物は、水酸基を持つ化合物の他にフェノールやカルボン酸を持つものも多い。通常はカルボン酸を持つ化合物を固相担体に導入する場合は縮合剤を用いるのが一般的であるが、数 nL の容量のマイクロスポット下で反応が行われるマイクロアレイ化反応では、縮合剤を使用しないで、かつ大気中で行える反応が望ましい。そのような要求を満たす手法として、Schreiber らはジアゾベンジリデン基を利用した手法を開発した³¹⁾。すなわち、ジアゾベンジリデン基導入基板(F)に、酸性プロトンを持つ化合物 10 をスポットすると、まずベンジル位炭素がプロトン化され、同時に生じた対アニオンである低分子化合物がベンジル位炭素上で求核置換反応を起こし、窒素の発生を伴って化合物が固定化される(図 4)。検討の結果、この手法で固定化に利用できた官能基は、カルボン酸、フェノール、スルホンアミド等の、 pK_a が 11 以下の官能基であり、16 以上のものは固定化に利用できなかった。ここで作成された酸性化合物ライブラリーのマイクロアレイは、前述のカルモジュリンに対するリガンドのスクリーニングに利用され、calmoduphilin 11²⁾ ($K_D = 0.1 \mu M$)が見出された。

2.1.4 含アミン化合物ライブラリーのマイクロアレイ化

アミンは求核性の官能基であり、温和な条件で様々な求電子性試薬と反応することが知られているため、アミ

Fig. 4

ン化合物ライブラリーを固定化する様々な方法が報告されている。

アミンはアルデヒドと反応してシッフ塩基を形成するが、この反応を用いてアルデヒド導入基板に含アミン化合物ライブラリーを固定化できる。1 級アミンはタンパク質中の N 末端とリジン残基上に普遍的に存在するため、この手法はプロテインアレイ³²⁾およびペプチドアレイ³³⁾の作成に使われている。

アルコキシアミン化合物も、基板に導入されたアルデヒドと反応し、オキシム形成と同時に基板上に固定化される。この固定化法を用いて Ellman らは、基板上にペプチド-クマリン複合体ライブラリー 12 を導入して、プロテアーゼの基質特異性を検出するマイクロアレイを開発している(図 5)³⁴⁾。彼らはペプチドの C 末端側にクマリンを導入したライブラリーを合成して、アルデヒド基板(H)上にアレイ化した。この状態ではクマリンの蛍光は観測されないが、この基板(I)をプロテアーゼで処理すると、プロテアーゼに認識されて切断されたペプチド(peptide B)の固定化されていた箇所に、生成したクマリンによる蛍光が観測された。同様な手法は Yao らによっても報告されている³⁵⁾。

アルコキシアミン化合物は基板に導入したグリオキシリル基(後述)とも反応し固定される³⁶⁾。逆にグリオキシリル基を化合物側に導入してある場合には、セミカルバジド導入基板上的 α -オキシセミカルバゾン形成を用いて固定化する方法も報告されている³⁷⁾。

活性化エステルとアミンの反応も縮合剤を用いずに温和な条件で進行するため、アミン化合物のマイクロアレイ化に有用である。Chang らは N-ヒドロキシルスクシンイミド(NHS)エステルを導入したガラス基板(K)上

Fig. 5

Fig. 6

に、アミンを末端に持つトリアジン化合物ライブラリーをスポットし、マイクロアレイ(L)を作成した³⁸⁾(図6)。彼らはこのプラットフォームを用いてヒトIgG抗体に結合する分子を探索し、化合物14を含む3種の化合物を得た(IgG抗体との解離定数: $K_D = 2-4 \mu\text{M}$)。NHSエステル導入基板へのアミン化合物の反応は糖鎖マイクロアレイの作成にも利用されている³⁹⁾。

アミン化合物はまた、良い脱離基を持った炭素上で求核置換反応を起こすため、tresyl基(2,2,2-trifluoroethanesulfonyl基)を導入した基板に導入することができる(図7)。Gregoriousらはtresyl基を導入したデキストランポリマー(TAD; 15)をアミノ化基板(M)上に導入した後、TAD上に残存するtresyl基を利用してペプチドを固相上に導入する手法を報告している⁴⁰⁾。とこ

ろで、この方法でペプチドをN-末端の α -アミノ基を介して基板に導入したい場合には、リジンやシステイン残基の存在が問題となる。この問題を解決するために、彼らは、あらかじめリジン上のアミノ基とシステイン上のチオールを保護したペプチド16をまず基板(N)上に導入して、作成した基板(O)上でこれらの保護基を脱保護する戦略を用いた⁴¹⁾。個々のペプチドに対する抗体を用いた結果では、予想どおり、リジンとシステインを保護しない状態でペプチドを固定化した場合に比べて、保護したペプチドをまず固定化してから基板上で脱保護した場合の方が、抗体との結合量が多いことが示されている。

2.1.5 含システイン化合物ライブラリーのマイクロアレイ化

システインを含む化合物ライブラリーのマイクロアレイ化として、基板に導入されたグリオキシリル基との反応を用いる例がLamらにより報告されている(図8a)³⁶⁾。グリオキシリル基を導入した基板(Q)にシステイン残基を持つ化合物17をスポットすると、チアゾリジン環形成と同時に化合物が固定化される。

システインを含む化合物ライブラリーのマイクロアレイ化としては、他に、チオエステル基とシステインとのnative chemical ligation法⁴²⁾を用いた報告がある(図8b)。まずシステイン残基上のチオールが基板(S)上のチオエステル基と交換して、チオエステル中間体を与えるが、 β 位の窒素の存在によりこの構造は迅速に転位してアミド結合を形成する。化合物としてペプチドライブラリーを用いた場合、基板上のチオエステル基はN末端のシステイン以外とは反応しないため、Yaoらはこの手法を用いてペプチドアレイを作成している⁴³⁾。

Fig. 7

Fig. 8

2.1.6 含ヒドラジド化合物ライブラリーのマイクロアレイ化

これまで述べた例では化合物中の水酸基、アミノ基、チオール、カルボン酸等を用いて固定化を行っているが、これらの官能基はタンパク質と相互作用する際に重要である可能性が高いと考えられる。また、リガンドによってはこれらの活性基を複数種類有する場合が考えら

れる。この場合、特定の官能基を介して固定化したい場合には、官能基間での選択性が必要となる。Shin らは、アミンやチオールの存在下でも、ヒドラジン基が選択的にエポキシド導入基板と反応することを示している(図 9)⁴⁴⁾。彼らはエポキシド導入基板(V)に、低酸性(pH < 6)バッファ中、ヒドラジンリンカーを導入したフコース誘導体と、チオールリンカーを導入したN-アセチルグルコサミン誘導体の1:1混合物をスポットした後、各々の単糖に対する蛍光ラベル化レクチン(フコースに対してはCy5ラベル化Aleuria aurantia(AA)レクチン、N-アセチルグルコサミンに対してはCy3ラベル化Triticum vulgaris(TV)レクチン)で処理した。その結果、スポットにはラベル化AAレクチン由来の蛍光が選択的に強く観測されたため、含ヒドラジン化合物が選択的に固定化されたことが示された。また、アミン化合物との比較では、ヒドラジン化合物はすべてのpH領域で選択的に基板上に導入された。

Fig. 9

2.1.7 アジド化合物ライブラリーのアレイ化

前述したように、水酸基、アミノ基、チオール、カルボン酸等の極性官能基は、タンパク質と相互作用する際に重要である可能性が高い。アジドは低極性の官能基であり、分子中の他の官能基の存在下、温和な条件でこの官能基を固定化に用いることができれば都合が良い。

Wong らは、オリゴ糖や糖鎖をマイクロタイタープレート上にアレイ化するために、アジドとアルキンとの1,3-双極子付加反応を利用した(図 10a)⁴⁵⁾。すなわち糖の1位にアジド基を導入したアジド糖ライブラリー19と、基板(X)上に導入した共役アルキンを、1価の銅存在下で反応させると、[1,2,3]-トリアゾールを介して糖ライブラリーが固定化できる。この手法を用いて彼らはN-アセチラクトサミン(LacNAc)を導入したマイクロタイタープレート(Z)を作成した(図 10b)。このプレート上で、LacNAc上にGDP-フコース(GDP-Fuc)からフコースを転位させる酵素α-(1,3)-フコシルトランス

Fig. 10

フェラーゼ (FucT) を阻害する低分子化合物をスクリーニングし、 IC_{50} (酵素活性を 50% 阻害する化合物の濃度) が $1-2 \mu M$ の阻害剤 20 を見出している⁴⁶⁾。本固定化手法は、固相担体から糖部分の切り出しが可能なジスルフィドリンカーとの組み合わせで⁴⁷⁾、HIV 抗体 2 G 12 の認識する HIV 上抗原糖鎖構造の解析に利用されている⁴⁸⁾。

ところで、銅触媒を用いた上記の反応は官能基選択性の面では特筆すべきであるが、反応は触媒存在下、溶液中で長時間を要するため、数 nL 程度の化合物溶液をスポットするマイクロアレイフォーマットには適しない可能性がある。そこで Waldmann らは Staudinger 反応を用いたアジド化合物ライブラリーのマイクロアレイ化を報告している⁴⁹⁾ (図 11)。Staudinger 反応は 3 価のリン原子に対するアジドの求電子付加の後、生成したフォスファジドから窒素が脱離してイミノフォスフォラン (アザイリド) が生成する反応であるが⁵⁰⁾、イミノフォスフォランの窒素原子が隣接する求電子体 (活性エステルなど) への求核性を持つことを利用して、生体内もしくは生化学的な条件下でも選択的にアミド結合を形成できる^{51,52)}。

彼らはまず、マイクロアレイ用ガラス基板上に導入できるリガンド量を増やすため、ポリアミドアミン (PAMAM) の dendrimer⁵³⁾ を基板に導入した。その上に 2-(ジフェニルホスホニル)フェノールエステルを導入した基板 (BB) を作成し、この基盤に含アジド化合物 19 をスポットして低分子マイクロアレイ (CC) を作成

Fig. 11

している。同様な手法を用いて、Raines らは、ペプチドおよびタンパク質マイクロアレイを作成している⁵⁴⁾。

2.1.8 含シクロペンタジエン化合物ライブラリーのマイクロアレイ化

Mrksich らは Diels-Alder 反応を用いた化合物の固定化法を開発している⁵⁵⁾。彼らはまず、金の薄膜を蒸着した基板上に、末端ヒドロキノン構造とポリエチレングリコール鎖を持つアルカンチオレートの自己組織化単分子膜を形成させた基板 (DD) を作成した (図 12)。この基板をベンゾキノンの飽和水溶液で処理すると、酸化還元平衡により、基板上のヒドロキノンがキノンに変換される。シクロペンタジエンを末端に持つ単糖ライブラリー 23 をこの基板 (FF) にスポットすると、各化合物は 10 pmol cm^{-2} の密度で固定化された。この手法で得られた単糖アレイは、蛍光色素ラベル化タンパク質を用いた相互作用解析のみならず、SPR (表面プラズモン共鳴) 現象を用いた非ラベル化タンパク質との相互作用解析にも利用されている。彼らは同手法を用いて、ペプチドアレイを作成し、アレイ上で、チロシンキナーゼ c-src による基質ペプチドのリン酸化の定量的解析を行っている⁵⁶⁾。さらに、光解離性保護基であるニトロベアトリルオキシカルボニル (NVOC) 基と光リソグラフィーの技術を利用した基板のパターニングも可能であることを示している⁵⁷⁾。この例では、基板 (EE) にまず紫外線透過フィルター (光マスク) を施し、365 nm の光を照射すると、光が透過した部分のみ NVOC 基が脱保護されてヒドロキノンが生成する。生成したヒドロキノンを経電化学的に酸化したのち、含シクロペンタジエン化合物で処理すると、化合物は Diels-Alder 付加を介して固定化される。紫外光が透過しなかった領域は電化学的酸化条件では酸化されないため、化合物の固定化は観察されなかった。

2.2 非選択的反応を用いる方法

今までに述べた、特定の官能基を利用して化合物を基板上に固定化する手法は、低分子化合物上のタンパク質と相互作用する領域がほぼ決まっている場合 (例えばエ

Fig. 12

ンドプロテアーゼに対するペプチド末端や、レクチンに対する糖鎖など)には非常に有効である。この手法では、低分子化合物上の特定の部位を介して均一に固定化されているため、固定化部位以外と結合するタンパク質に対する検出感度は高く、定量的な解析が可能である。ところで、タンパク質と共有結合する一部の化合物⁵⁸⁾を除くと、一般的には低分子化合物上のどの部位がタンパク質と相互作用するかわからない場合が多い。また、1つの低分子化合物であっても、異なったタンパク質には異なった部位で相互作用する例も報告されている⁵⁹⁾。さらに、低分子化合物上の、基板への固定化に使われる領域がタンパク質と相互作用する領域と重複する場合には、固定化された化合物は全く役に立たない。

選択的反応を用いるもう1つの弱点は、固定化される化合物ライブラリーにある。多くの研究機関で保有している化合物ライブラリーは、天然有機化合物に代表されるように個々に様々な官能基や骨格を持つ化合物の集合であるため、選択的反応を用いたマイクロアレイ化の手法では対応することができなかった。反面、特定の官能基を持つ化合物ライブラリーを充実させて、化合物マイクロアレイを実用化するには、多様性志向型有機合成をフルに活用した経路のデザインと、充実した固相合成技術、ロボティクス設備が必須であるが、現状ですべてを満たす研究機関は、全世界を見回しても数えられるほどしかない。

このような観点から、既存の化合物ライブラリーが利用でき、かつ新規「低分子-タンパク質」相互作用の発見重視型(discovery-oriented)の手法として、我々は低分子化合物上の官能基によらず、高度に官能基非選択的な固定化を指向した方法を開発している。

2.2.1 基板上に発生させた活性基を介した低分子化合物のマイクロアレイ化⁶⁰⁾

個々に様々な骨格や官能基を有した化合物を固定化するには、基板上に①穏和な条件で活性化でき、②発生した活性基が相手の官能基によらず結合する高い活性を持つ官能基を導入しておく必要がある。我々は、タンパク質のフォトアフィニティーラベリングに用いられるアリールジアジリン基がこの目的に合うと考えた。アリールジアジリン基は360 nm付近の紫外線照射によりカルベン種を発生する。このカルベン種は活性化されていないC-H結合にも挿入することが報告されている^{61, 62)}。また、このカルベン種が様々な官能基に挿入することがすでに報告されており⁶³⁾、種々の生体高分子がこの手法で固相上に固定化可能であることもすでに報告されていた^{64, 65)}。この手法を低分子化合物の固定化に応用すべく、我々はアリールジアジリン基を導入した基板(HH)を作成し、この上に複雑な骨格と官能基を有した数種の天然有機化合物24の溶液をスポットした(図13)。この基板を乾燥後、紫外線(365 nm)を照射すると、スポッ

Fig. 13

トされた化合物は紫外線照射量依存的に固定化された。また化合物が固定化されたスポット上には、それぞれの結合タンパク質が結合することが確認された。現在、我々はこの手法の展開として、低分子化合物固定化ビーズへの応用⁶⁶⁾や SPR イメージング技術との融合⁶⁷⁾を図っている。Sprenger らは同様な手法を用いて糖鎖やレクチンのマイクロアレイの作成を報告している⁶⁸⁾。また本手法とは逆に、化合物側に光反応性基を導入しておき、基板と反応させる例も報告されている⁶⁹⁾。

3. 化合物を非共有結合で基板上に固定化する方法

3.1 選択的反応を用いる方法

非共有結合を用いて化合物を基板上に固定化する試みとして、ビオチン-アビジン相互作用を用いる方法と、核酸-核酸相互作用(2重らせん形成)を用いる方法を紹介する。

3.1.1 ビオチン化合物ライブラリーのマイクロアレイ化

ビオチン-アビジン相互作用は、現在知られている非共有結合性の相互作用の中で最も強いものの1つであり($K_D = 10$ fM)、様々な条件下でも安定に存在するため、低分子化合物の固定化にも用いられる。Yao らは、N末端側にビオチンを導入したペプチドライブラリーを合成し、アビジン導入基板上にマイクロアレイ化した⁴³⁾。作成されたペプチドマイクロアレイはキナーゼの基質スクリーニングに利用可能であることが示されている。

3.1.2 ペプチド核酸コンジュゲート化合物ライブラリーのマイクロアレイ化

DNA マイクロアレイは核酸と核酸の相互作用を検出するが、核酸タグを導入した低分子化合物を、相補的な核酸が導入された基板上で検出する手法も開発されてい

る。すなわちこの方法では、核酸間の2重らせん形成を化合物の固定化に利用している。Schultz と Winssinger らのグループでは、この方法を応用して独自の化合物アレイ化技術を展開している^{70,71)}。彼らは核酸の代わりに、化合物ライブラリーへの応用が容易で、DNA とのハイブリダイゼーション能が高いペプチド核酸(PNA)を化合物に導入したライブラリー 25 を構築した(図 14a)。PNA タグには、ライブラリー化合物の合成履歴を保存する識別コードの役割と、マイクロアレイ上に結合した位置から化合物を割り出す位置コードの役割を持たせることができる。PNA と同じ長さを持つオリゴヌクレオチドを導入したマイクロアレイ(デコーディングアレイ: JJ)を、PNA-化合物コンジュゲートのライブラリー 26a-c で処理すると、PNA とオリゴヌクレオチドが基板上で相補的ペアを形成する(図 14b)。PNA タグの末端に蛍光色素を導入しておけば、アレイ(KK)上の化合物が結合した位置に蛍光が観測できる。アレイ上のどの位置に、どんなオリゴヌクレオチドが導入されているかがあらかじめわかっているならば、結合した化合物上の PNA タグのシーケンスは容易に導き出せ、タグのシーケンスから化合物の構造情報も割り出せる、という仕組みになっている。

このプラットフォームを巧妙に利用することで、溶液中の低分子-タンパク質間の相互作用を検出することが可能である(図 14c)。まず PNA-低分子化合物コンジュゲートのライブラリー 26a-c とタンパク質を混合させる。次にゲルろ過により低分子量画分を除くと、タンパク質に結合していないライブラリー化合物 26b, c は除かれ、化合物-タンパク質複合体 27a のみが得られる。これを前述のデコーディングアレイ(JJ)にかけると、結合する位置に蛍光が観測され、その位置から化合物構造

Fig. 14

を割り出すことができる。

そもそも、基板上に固定化された低分子化合物とタンパク質の相互作用は、両者が溶液中で自由に存在している場合の相互作用を完全には反映していないと考えられるため、本手法は巧妙にこの弱点を回避している点で興味深い。このプラットフォームは同研究グループにより、培養細胞抽出液や、アレルギーの原因となる家ダニ抽出物中のプロテアーゼ活性のプロファイリングに応用されている⁷²⁻⁷⁴⁾。

3.1.3 核酸コンジュゲート化合物ライブラリーのマイクロアレイ化

核酸の2重または3重らせん構造形成能とオリゴヌクレオチド導入マイクロアレイを巧みに利用したもう1つの例として、NeriらはESAC(encoded self-assembling chemical)ライブラリー法を報告している⁷⁵⁾。2重らせんを形成する2つのオリゴヌクレオチドの各々の末端に、様々な部分構造を導入した場合、この2つのペアはバーチャルに2座のリガンドとみなすことができる。例えば、あるタンパク質に対する既知のリード化合物に、オリゴヌクレオチドを導入したコンジュゲート28とオリゴヌクレオチド化低分子化合物ライブラリー29a-cを構築する(図15)。ライブラリー29a-c中のオリゴヌクレオチドには28と複合体を形成するドメインと、各々の化合物をコードするドメインを持たせておく。両者を混合すると2重らせん構造を形成した複合体ライブラリー30a-cが形成される。これをアフィニティビーズ上に固定した目的のタンパク質と混合させると、より強く結合した複合体のみがビーズに残る(selection)。次にPCR(ポリメラーゼ連鎖反応法)により、31aのヌクレオチド部分を蛍光標識化とともに増幅して、プローブ32aを調製する。デコード用のヌクレオチドア

レイ(MM)を32aで処理すると、結合する位置に蛍光が観測され、その位置から化合物構造を割り出すことができる。その結果、リード化合物とヒット構造33aが相乗的に働き、タンパク質に強く結合したことがわかるので、後は両者をつなぐリンカー部分を最適化すれば良い。この方法の応用として、彼らはヒト血清アルブミン(HSA)に対するリード化合物ダンシルアミド35の結合能($K_D = 146 \mu\text{M}$)を増強する化合物をスクリーニングし、アミノクマリン化合物36を見出した。また、これらの両者をつなぐリンカーを種々検討した結果、HSAに対してより強い結合能($K_D \leq 4 \mu\text{M}$)を持つ2座リガンド37が創成された。

3.2 非選択的反応(物理吸着など)を用いる方法

化合物を基板上に固定化するには化合物の構造改変が必須であるが、構造改変された化合物は、厳密な意味では元の化合物の性質をすべて保持していると言えない。2.2.1項で示した例は、マイクロアレイの1スポット上に、化合物と基板とを官能基非依存的に結合させたコンジュゲートの集まりを発生させ、バーチャルに化合物のすべての表面を露出させる概念であったが、化合物への影響が少ないのは、基板上に化合物をそのまま存在させる方法である。しかしこの場合、タンパク質処理後の基板を洗浄する際に、化合物はタンパク質とともに基板に吸着され続けなければならない。

Wangらは糖鎖を基板上にマイクロアレイ化する際に物理吸着を利用している⁷⁶⁾。ニトロセルロースコートされた基板を用いた結果、糖鎖の吸着の強さは分子量に依存して減少するものの、高分子量(2,000 kD)のデキストランは基板を十分洗浄した後でも安定に固定された。またこれらの糖鎖は、その抗体との反応性を保持することが示された。

Fig. 15

Wong らも同様に物理吸着による糖鎖ライブラリーのマイクロアレイ化を試みている。彼らは 1 位に C 13-15 の飽和炭化水素を導入した単糖およびオリゴ糖リピドを合成し、これらがポリスチレンプレート上に良く保持されることを見出した⁷⁷⁾。しかし、炭化水素鎖の脂溶性がマイクロアレイ用糖リピドの合成と精製の妨げになるとして、その後 2.1.5 項で述べた 1,3-双極子付加反応を用いるストラテジーへと移行している。

化合物を物理吸着させるのではなく、化合物溶液の 1 つ 1 つのスポット (容量: 約 1 nL) を反応チャンバーとして利用する方法も開発されている。Diamonds らは化合物の 50% グリセロール-DMSO 溶液をガラススライド上にスポットすると、直径 200 μm の液滴がお互いに融合せずに残ることを見出した⁷⁸⁾。この方法で調製した化合物マイクロアレイにタンパク質溶液をエアロゾルとして噴霧すると、アレイ表面上に均一にタンパク質処理がなされ、スポットが融合することなく各スポットにタンパク質が行き渡ることを確認した。彼らはこのプラットフォームを用いてプロテアーゼやプロテアーゼ基質のプロファイリングと、各種酵素の阻害剤のハイスループットスクリーニングが可能であることを示している⁷⁹⁾。

一方、Stockwell らは、基板を生分解性ポリマーでコートし、その上に化合物ライブラリーの溶液をスポットし乾燥させることで、化合物をポリマー上に担持させる手法を開発している⁸⁰⁾。この方法で作成した基板上で細胞を培養すると、生分解性ポリマーが徐々に分解し化合物が放出される。このプラットフォームと画像の情報処理技術を組み合わせて、各化合物が細胞や細胞内器官の形態に与える影響をハイスループットに観察できることが示されている。

おわりに

以上、本稿では低分子化合物のマイクロアレイ化に関する様々な手法をまとめた。なるべく事実に即して記載することを心がけたが、間違いや、重大な論文の欠落があった場合は、ご教示頂ければ幸いである。

最初にも述べたとおり、この分野はまだ歴史が浅く、本稿に述べた報告は、大部分が proof-of-concept レベルにある。今後、本手法がケミカルゲノミクスを推進するツールとして広く利用されるようになるためには、合成化学をはじめ、計測工学、分子生物学、生化学などの分野の研究者が連携して、技術開発を推し進めることが重要であろう。

最後に、本稿で紹介した我々の研究成果の一部は、理化学研究所ケミカルバイオロジー研究、科学研究費補助金、有機合成化学協会第一製薬研究企画賞の助成を受け

て得られたものであり、ここに深謝します。また共同研究者の各位に深く感謝いたします。

(2005 年 12 月 28 日受理)

文 献

- 1) "Bioprobes: Biochemical Tools for Investigating Cell Function" ed. by H. Osada, Springer-Verlag, Tokyo, 2000
- 2) S. L. Schreiber, *Chem. Eng. News*, 81 (9), 51 (2003)
- 3) 吉田稔, タンパク質核酸酵素, 50, 1031 (2005)
- 4) M. D. Burke, E. M. Berger, S. L. Schreiber, *Science*, 302, 613 (2003)
- 5) 高橋孝志, 土井隆行, 有合成, 60, 426 (2002)
- 6) K. S. Lam, M. Renil, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 6, 353 (2002)
- 7) D. P. Walsh, Y. T. Chang, *Combi. Chem. High Throughput Screen.*, 7, 557 (2004)
- 8) M. Uttamchandani, D. P. Walsh, S. Q. Yao, Y. T. Chang, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 9, 4 (2005)
- 9) G. Chiosis, J. L. Brodsky, *Trends Biotech.*, 23, 271 (2005)
- 10) K. R. Love, P. H. Seeberger, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 41, 3583 (2002)
- 11) T. Feizi, F. Fazio, W. Chai, C.-H. Wong, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 13, 637 (2003)
- 12) D. S. Y. Yeo, R. C. Panicker, L. P. Tan, S. Q. Yao, *Combi. Chem. High Throughput Screen.*, 7, 213 (2004)
- 13) R. C. Panicker, X. Huang, S. Q. Yao, *Combi. Chem. High Throughput Screen.*, 7, 547 (2004)
- 14) G. A. Korbel, G. Lalic, M. D. Shair, *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 361 (2001)
- 15) M. W. Kanan, M. M. Rozenman, K. Sakurai, T. M. Snyder, D. R. Liu, *Nature*, 431, 545 (2004)
- 16) H. M. Geysen, R. H. Meloen, S. J. Barteling, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 3998 (1984)
- 17) R. Frank, *Tetrahedron*, 48, 9217 (1992)
- 18) K. S. Lam, S. E. Salmon, E. M. Hersch, V. J. Hruby, W. M. Kazmierski, R. J. Knapp, *Nature*, 354, 82 (1991)
- 19) S. P. A. Fodor, J. L. Read, M. C. Pirrung, L. Stryer, A. T. Lu, D. Solas, *Science*, 251, 767 (1991)
- 20) J. P. Pellois, X. C. Zhou, O. Srivannavit, T. C. Zhou, E. Gulari, X. L. Gao, *Nat. Biotech.*, 20, 922 (2002)
- 21) S. Li, D. Bowerman, N. Marthandan, S. Klyza, K. J. Luebke, H. R. Garner, T. Kodadek, *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 4088 (2004)
- 22) M. Schena, D. Shalon, R. W. Davis, P. O. Brown, *Science*, 270, 467 (1995)
- 23) G. MacBeath, A. N. Koehler, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 7967 (1999)
- 24) S. Park, I. Shin, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 41, 3180 (2002)
- 25) S. Park, M.-r. Lee, S.-J. Pyo, I. Shin, *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 4812 (2004)
- 26) E. W. Adams, D. M. Ratner, H. R. Bokesch, J. B. McMahon, B. R. O'Keefe, P. H. Seeberger, *Chem. Biol.*, 11, 875 (2004)
- 27) P. J. Hergenrother, K. M. Depew, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 7849 (2000)
- 28) F. G. Kuruvilla, A. F. Shamji, S. M. Sternson, P. J. Hergenrother, S. L. Schreiber, *Nature*, 416, 653 (2002)
- 29) A. N. Koehler, A. F. Shamji, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 8420 (2003)
- 30) J. C. Wong, S. M. Sternson, J. B. Louca, R. Hong, S. L. Schreiber, *Chem. Biol.*, 11, 1279 (2004)
- 31) D. Barnes-Seeman, S. B. Park, A. N. Koehler, S. L. Schreiber, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 42, 2376 (2003)
- 32) G. MacBeath, S. L. Schreiber, *Science*, 289, 1760 (2000)
- 33) J. R. S. Newman, A. E. Keating, *Science*, 300, 2097 (2003)
- 34) C. M. Salisbury, D. J. Maly, J. A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.*, 124, 14868 (2002)

- 35) Q. Zhu, M. Uttamchandani, D. Li, M. L. Lesaichere, S. Q. Yao, *Org. Lett.*, **5**, 1257 (2003)
- 36) J. R. Falsey, M. Renil, S. Park, S. Li, K. S. Lam, *Bioconjugate Chem.*, **12**, 346 (2001)
- 37) C. Olivier, D. Hot, L. Huot, N. Ollivier, O. El-Mahdi, C. Gouyette, T. Huynh-Dinh, H. Gras-Masse, Y. Lemoine, O. Melnyk, *Bioconjugate Chem.*, **14**, 430 (2003)
- 38) M. Uttamchandani, D. P. Walsh, S. M. Khersonsky, X. Huang, S. Q. Yao, Y.-T. Chang, *J. Comb. Chem.*, **6**, 862 (2004)
- 39) O. Blixt, S. Head, T. Mondela, C. Scanlan, M. E. Huflejt, R. Alvarez, M. C. Bryan, F. Fazio, D. Calarese, J. Stevens, N. Razi, D. J. Stevens, J. J. Skehel, I. van Die, D. R. Burton, I. A. Wilson, R. Cummings, N. Bovin, C.-H. Wong, J. C. Paulson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 17033 (2004)
- 40) K. Gregorius, S. Mouritsen, H. I. Elsnér, *J. Immunol. Methods*, **181**, 65 (1995)
- 41) K. Gregorius, M. Theisen, *Analytical Biochem.*, **299**, 84 (2001)
- 42) P. E. Dawson, T. W. Muir, I. Clark-Lewis, S. B. H. Kent, *Science*, **266**, 776 (1994)
- 43) M. L. Lesaichere, M. Uttamchandani, G. Y. J. Chen, S. Q. Yao, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **12**, 2079 (2002)
- 44) M.-r. Lee, I. Shin, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 2881 (2005)
- 45) F. Fazio, M. C. Bryan, O. Blixt, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 14397 (2002)
- 46) M. C. Bryan, L. V. Lee, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 3185 (2004)
- 47) M. C. Bryan, F. Fazio, H.-K. Lee, C.-Y. Huang, A. Chang, M. D. Best, D. A. Calarese, O. Blixt, J. C. Paulson, D. Burton, I. A. Wilson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 8640 (2004)
- 48) D. A. Calarese, H.-K. Lee, C.-Y. Huang, M. D. Best, R. D. Astronomo, R. L. Stanfield, H. Katinger, D. R. Burton, C.-H. Wong, I. A. Wilson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 13372 (2005)
- 49) M. Köhn, R. Wacker, C. Peters, H. Schröder, L. Soullère, R. Breinbauer, C. M. Niemeyer, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **42**, 5830 (2003)
- 50) Y. G. Gololobov, L. F. Kasukhin, *Tetrahedron*, **48**, 1353 (1992)
- 51) E. Saxon, C. R. Bertozzi, *Science*, **287**, 2007 (2000)
- 52) K. L. Kiick, E. Saxon, D. A. Tirrell, C. R. Bertozzi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 19 (2002)
- 53) R. Benders, C. M. Niemeyer, D. Drutschmann, D. Blohm, D. Wöhrle, *Nucleic Acids Res.*, **30**, e10 (2002)
- 54) M. B. Soellner, K. A. Dickson, B. L. Nilsson, R. T. Raines, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 11790 (2003)
- 55) B. T. Houseman, M. Mrksich, *Chem. Biol.*, **9**, 443 (2002)
- 56) B. T. Houseman, J. H. Huh, S. J. Kron, M. Mrksich, *Nat. Biotechnol.*, **20**, 270 (2002)
- 57) W. S. Dillmore, M. N. Yousaf, M. Mrksich, *Langmuir*, **20**, 7223 (2004)
- 58) C. Drahl, B. F. Cravatt, E. J. Sorensen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 5788 (2005)
- 59) J. Choi, J. Chen, S. L. Schreiber, J. Clardy, *Science*, **273**, 239 (1996)
- 60) N. Kanoh, S. Kumashiro, S. Simizu, Y. Kondoh, S. Hatakeyama, H. Tashiro, H. Osada, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **42**, 5584 (2003)
- 61) J. Brunner, *Methods Enzymol.*, **172**, 628 (1989)
- 62) J. Brunner, H. Senn, F. M. Richards, *J. Biol. Chem.*, **255**, 3313 (1980)
- 63) M. Platz, A. S. Admasu, S. Kwiatkowski, P. J. Crocker, N. Imai, D. S. Watt, *Bioconjugate Chem.*, **2**, 337 (1991)
- 64) I. Caelen, H. Gao, H. Sigrüst, *Langmuir*, **18**, 2463 (2002)
- 65) 稲垣由夫, 篠木浩, 特開 2001-178472
- 66) N. Kanoh, K. Honda, S. Simizu, M. Muroi, H. Osada, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 3559 (2005)
- 67) N. Kanoh, M. Kyo, K. Inamori, A. Ando, A. Asami, A. Nakao, H. Osada, *Anal. Chem.*, **78**, 2226 (2006)
- 68) S. Angeloni, J. L. Ridet, N. Kusy, H. Gao, F. Crevoisier, S. Guinchard, S. Kochhar, H. Sigrüst, N. Sprenger, *Glycobiology*, **15**, 31 (2005)
- 69) C. B. Herbert, T. L. McLernon, C. L. Hypolite, D. N. Adams, L. Pikus, C.-C. Huang, G. B. Fields, P. C. Letourneau, M. D. Distefano, W.-S. Hu, *Chem. Biol.*, **4**, 731 (1997)
- 70) N. Winssinger, J. L. Harris, B. J. Backes, P. G. Schultz, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 3152 (2001)
- 71) J. L. Harris, N. Winssinger, *Chem. Eur. J.*, **11**, 6792 (2005)
- 72) N. Winssinger, S. Ficarro, P. G. Schultz, J. L. Harris, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 11139 (2002)
- 73) N. Winssinger, R. Damoiseaux, D. C. Tully, B. H. Geierstanger, K. Burdick, J. L. Harris, *Chem. Biol.*, **11**, 1351 (2004)
- 74) J. L. Harris, D. E. Mason, J. Li, K. W. Burdick, B. J. Backes, T. Chen, A. Shipway, G. Van Heeke, L. Gough, A. Ghaemmaghami, F. Shakib, F. Debaene, N. Winssinger, *Chem. Biol.*, **11**, 1361 (2004)
- 75) S. Melkko, J. Scheuermann, C. E. Dumelin, D. Neri, *Nat. Biotechnol.*, **22**, 568 (2004)
- 76) D. Wang, S. Liu, B. J. Trummer, C. Deng, A. Wang, *Nat. Biotechnol.*, **20**, 275 (2002)
- 77) M. C. Bryan, O. Plettenburg, P. Sears, D. Rabuka, S. Wacowich-Sgarbi, C.-H. Wong, *Chem. Biol.*, **9**, 713 (2002)
- 78) D. N. Gosalia, S. L. Diamond, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 8721 (2003)
- 79) H. Ma, K. Y. Horiuchi, Y. Wang, S. A. Kucharewicz, S. L. Diamond, *Assay Drug Dev. Technol.*, **3**, 177 (2005)
- 80) S. N. Bailey, D. M. Sabatini, B. R. Stockwell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 16144 (2004)

PROFILE

叶 直樹 独立行政法人理化学研究所 長田
抗生物質研究室・前任研究員
〔経歴〕 1992 年北海道大学理学部化学科卒業, 1996-98 年日本学術振興会特別研究員, 1997 年北海道大学大学院理学研究科博士課程修了, 理学博士。1997-99 年米国ペンシルバニア大学化学科博士研究員, 1999-2001 年慶應義塾大学理工学部応用化学科助手, 2001 年より理化学研究所研究員。〔専門〕有機合成化学, ケミカルバイオロジー。〔連絡先〕
e-mail: [REDACTED]

長田裕之 独立行政法人理化学研究所 長田
抗生物質研究室・主任研究員
〔経歴〕 1978 年東京大学農学部農芸化学科卒業, 1983 年東京大学大学院農学系研究科博士課程修了, 農学博士。同年理化学研究所入所, 1985-86 年米国 NIH 博士研究員, 1992 年理化学研究所主任研究員, 1999 年埼玉大学大学院理工学研究科客員教授併任。〔専門〕ケミカルバイオロジー