The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	海洋微生物由来の新規生物活性物質の探索研究
Author(s)	伊藤, 卓也
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44158
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【13】

氏　　名	伊　藤　卓　也（いとう たくや）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学　位　記　番　号	第　17769　号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学　位　論　文　名	**海洋微生物由来の新規生物活性物質の探索研究**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　小林　資正 （副査） 教　授　田中　徹明　　教　授　北　　泰行　　教　授　宮本　和久

論　文　内　容　の　要　旨

これまで、天然資源からの医薬リード化合物の探索は、陸棲の動植物や微生物を中心に行われてきた。特に、微生物からはペニシリンやアドリアマイシンをはじめとする数多くの抗生物質が見出されているが、陸棲の微生物からの探索研究が進むにつれ、徐々に新規生物活性物質を得ることが難しくなってきている。

一方、海洋域は陸上と比べ過酷な環境であり、その環境に適応した海洋生物からは、数多くの二次代謝産物が発見されている。しかしながら、海洋微生物由来の生物活性物質の探索研究は始まったばかりということもあり、海洋微生物から見出された活性二次代謝産物は400にも満たない。また、海洋域には人間が踏み入ることのできない未開拓なところがほとんどであり、海洋域には未だ発見されていない微生物が多く棲息していると考えられる。また、これまで人間が分離・培養できた微生物は、全体の1％程度であると言われており、このような海洋に棲息する未開拓な微生物を分離・培養できれば、より高い確率で新規活性物質を見出すことができると期待される。

著者は、陸棲の微生物の探索研究において多くの活性物質が放線菌と真菌から見出されていることから、海洋土壌からこれら微生物を選択的に分離することにした。海洋放線菌および海洋真菌をより選択的に分離する方法を構築し、海底土壌からより高頻度で放線菌および真菌を分離することに成功した。これら分離した海洋微生物について液体培地で培養し、得られた培養液の抽出エキスについて、*Candida albicans*に対する抗真菌活性試験やマウス神経芽細胞腫Neuro 2A細胞に対する神経突起伸展活性試験によるスクリーニングを行った。生物活性の認められた有望な菌株について、大量に培養して活性成分の探索を行った。しかしながら、得られる活性成分は陸棲の微生物から単離された既知化合物がほとんどであった。

一方、微生物から二次代謝産物を供給する方法として、これまで液体培養が中心であり、微生物の培養条件や培地組成を変化させて、産生物質の変化や特定物質の生産量を増加させる工夫が多く試みられてきた。固体培養は、古くから酒や醤油などの麹培養に用いられてきた培養法であるが、生物活性物質の探索において固体培養が使用されるようになったのは、ここ数年のことである。したがって、培養方法をこれまでの液体培養から固体培養に変更することで新たな活性二次代謝産物が産生されることが期待された。

著者は、これまで分離できた海洋微生物について液体培地と同様に固体培地でも培養し、得られた培養物の抽出エキスについて生物活性試験によるスクリーニングを行い、活性の認められた有望な菌株について、活性試験の結果を指標に活性成分の分画・精製を行った。その中で、米を基とする固体培地で培養した放線菌KS3株の培養抽出エキス

は、Neuro 2A 細胞に対して神経突起伸展活性を示した。この抽出エキスを分画・精製したところ、新規アントラサイクリン komodoquinone A（1）と命名した活性成分とそのアグリコン komodoquinone B（2）を得ることができた。

Komodoquinone A（1）と komodoquinone B（2）は、スペクトルデータの解析結果から、新規アミノ糖を含むアントラサイクリンであり、しかもアグリコン D 環上の水酸基にアミノ糖がグリコシド結合している初めてのタイプのアントラサイクリンであることが明らかになった。しかしながら、1の平面構造は、これらスペクトルデータだけでは特定することはできなかった。そこで、化学的手法により、2の B 環部分を還元した誘導体を調製し、その誘導体のスペクトルデータの解析から、1および2の平面構造を明らかにした。

Komodoquinone A（1）の立体化学については、komodoquinone B（2）の NOESY スペクトルの詳細な解析と改良 Mosher 法の適用により、アグリコン部分、および2の絶対立体構造を明らかにした。また、アミノ糖部分の構造については、NOESY スペクトルの詳細な解析から相対構造を決定するとともに、1の糖部分の過ヨウ素酸分解物から導いた 1-(phenylhydrazono)propane-2-ol を調製し、構造既知の 6-deoxy 糖から調製したヒドラゾン誘導体の標品とのキラルカラムによる HPLC 分析により、アミノ糖部分の絶対立体構造を決定し、komodoquinone A（1）の全化学構造を明らかにした。

Komodoquinone A（1）はマウス神経芽細胞腫 Neuro 2A 細胞に対して、1 μg/mL で 50%以上の細胞に対し神経突起伸展を誘導した。また、化学構造の近似する adriamycin には全くこの作用は観察されず、komodoquinone B（2）は 30 μg/mL で弱い活性を示すのみであった。このことから、D 環に結合するアミノ糖の存在が活性発現に重要ではないかと推測できた。

放線菌 KS3 株を米とは別の穀物類を用いて固体培養した。その中で、大麦を基とした固体培地による培養物からは、米培地で培養したときと同様に komodoquinone A（1）および B（2）が産生された。また、1および2は液体培養では産生されないが、米を少量加えた液体培地で培養すると、興味深いことに2のみが産生された。

今後、微生物の固体培養は生物活性物質の探索の上で、さらに重要性が増すと考えられ、新たな二次代謝産物の発見につながると期待できる。

論文審査の結果の要旨

これまで微生物の二次代謝産物からは数多くの抗生物質が見出されているが、陸棲の微生物からの探索研究が進むにつれ、徐々に新規生物活性物質を得ることが難しくなってきている。一方、海洋微生物の二次代謝産物の探索研究については歴史が浅く、海洋に棲息する未開拓な微生物を分離・培養できれば、より高い確率で新規活性物質を見出すことができると期待される。

著者は、海洋放線菌および海洋真菌をより選択的に分離する方法を構築し、海底土壌からより高頻度で放線菌および真菌を分離することに成功した。これら分離した海洋微生物について液体培地で培養し、得られた培養液の抽出エキスについて、抗真菌活性試験やマウス神経芽細胞腫 Neuro 2A 細胞に対する神経突起伸展活性試験により活性成分を探索したところ、得られる活性成分は陸棲の微生物から単離された既知化合物がほとんどであった。

そこで、著者は、海洋微生物を固体培地で培養し、同様の方法で活性試験の結果を指標に活性成分の分画・精製を行った。その中で、米を基とする固体培地で培養した放線菌 KS3 株の培養抽出エキスから、Neuro 2A 細胞に対して神経突起伸展活性を示す新規アントラサイクリン komodoquinone A（1）とそのアグリコン komodoquinone B（2）を発見した。Komodoquinone A（1）は、新規アミノ糖を含むアントラサイクリンであり、しかもアグリコン D 環上の水酸基にアミノ糖がグリコシド結合している初めてのタイプのアントラサイクリンであった。1はマウス神経芽細胞腫 Neuro 2A 細胞に対して神経突起伸展を誘導するが、化学構造の近似する adriamycin は全くこの作用を示さないことから、D 環に結合するアミノ糖の存在が活性発現に重要ではないかと推測できた。

放線菌 KS3 株を大麦を基とした固体培地で培養した場合にも komodoquinone A（1）および B（2）が産生されたが、液体堵地では生産されない。しかし、米を少量加えた液体培地で培養したところ、興味深いことに2のみが産

生されている。

今後、微生物の固体培養は生物活性物質の探索の上で、さらに重要性が増すと考えられ、新たな二次代謝産物の発見につながると期待できる。

以上の成果は、博士（薬学）の学位論文として十分価値のあるものと認められる。