

Title	フッ化アンフォテリシンBの合成およびその分子複合体における相互作用に関する研究
Author(s)	土川, 博史
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/47686
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	つちかわひろし 土川博史
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 20744 号
学位授与年月日	平成 18 年 12 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	フッ化アンフォテリシン B の合成およびその分子複合体における相互作用に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 村田 道雄 (副査) 教授 深瀬 浩一 教授 加藤 修雄

論文内容の要旨

アンフォテリシン B (AmB) は、放線菌 *Streptomyces nodosus* の生産する抗真菌性抗生物質であり、現在でも重要な抗真菌剤として感染症治療に広く使われている。AmB は、生体膜中でステロールやリン脂質と相互作用してイオン透過性チャネルを形成すると考えられている。また、膜に含まれるステロールの違いを認識し、エルゴステロールを含む真菌に対し選択毒性を発現する。しかし、長年にわたる研究にもかかわらず、AmB チャネル複合体の形成を直接証明するような実験結果は未だに得られておらず、推測の域を出ていない。当研究室では、膜系の測定に有効な固体 NMR、特に異種核間距離測定法の一つである REDOR 法を適用することで、複合体形成時における AmB-AmB、AmB-ステロール、AmB-リン脂質間の分子間相互作用を観測することを検討している。その中でも AmB-AmB について、生合成的に調製した全炭素 ^{13}C 標識化 AmB ($[\text{U-}^{13}\text{C}] \text{AmB}$) と AmB から 5 段階で調製した 14 位フッ素標識化 AmB (14-F-AmB) を用いた ^{13}C $\{^{19}\text{F}\}$ REDOR 測定により、AmB の親水性部分の分子間相互作用を観測することに成功している。しかし、AmB が形成するチャネルの全体像をより明確にするには、さらにチャネルの外側である疎水性部分の構造情報も取得する必要がある。そのため、AmB 分子のヘプタエン部分にフッ素原子を導入する必要がある。そこで本研究では、ヘプタエン部分である 28 位を位置特異的にフッ素標識化した誘導体を調製し、 $[\text{U-}^{13}\text{C}] \text{-AmB}$ との REDOR 測定を行うことで、AmB の疎水性部分 (チャネルの外側) の分子間相互作用を観測することを目的とした。フッ素の導入位置としては、最も合成しやすくかつ中央部に位置するため、28 位を選択した。

28 位にフッ素を導入するには、天然物からの簡単な誘導化では不可能である。また、全合成による調製を行うと、多段階を要する上に、糖部分の導入が困難であることが予想される。そこで、化学合成と天然物の分解を組み合わせることで、より効率的に標識体を調製しようと考え、調製を検討した。糖を含むポリオール部分である C1-C21 セグメントは大量に入手可能な天然物から調製し、フッ素を含むポリエーテル部分である C22-C37 セグメントは、化学合成により合成した。続いて両セグメントを Stille カップリングにより連結後、マクロラクトン化により環化させ、最後に保護基を脱保護することで、28-F-AmB の合成に成功した。次に、合成した 28-F-AmB メチルエステル (F-AME) と生合成的に調製した $[\text{U-}^{13}\text{C}] \text{-AmB}$ を用いて、観測核の同核相互作用を抑えた RDX (REDOR of X clusters) 測定を行ったところ、ヘプタエン部分に有意な REDOR 減衰が観測された。また、エルゴステロールの有無により、得ら

れるヘプタエン部の減衰の割合は変化しなかった。以上の結果から、AmB 複合体中において AmB のヘプタエン同士が近い位置に存在していることが確認された。また、AmB のヘプタエン部分の分子間相互作用は、DMPC 膜中ではエルゴステロールの影響をほとんど受けないことが示唆された。さらに、今回の条件において 28-F-AME の分子間相互作用が観測されたことから、28-F-AME が固体 NMR による AmB 複合体の構造解析に有用であることが証明された。

論文審査の結果の要旨

アンフォテリシン B は発見以来 50 年を経ても今なお重要な抗生物質であり、真菌の細胞膜にイオン透過性チャネルを形成することによって生物活性を発現することが知られている。しかし、長年の研究にもかかわらず、その作用機構の詳細は不明である。一方、生体膜中に形成される分子複合体の構造解析に、固体 NMR が適用される事例が増加している。しかし、今までの研究はペプチドを対象としたものが多くこのような天然物に応用された例はほとんどなかった。土川君は、博士論文研究において、固体 NMR の測定に最適なアンフォテリシン B フッ素標識体の短段階かつ効率的な調製方法を開発した。これは、天然物から誘導した糖を含むポリオール部分に対して、合成したポリエーテル部分を接続する方法である。したがって、ポリエーテルの任意位置にフッ素および炭素-13 を導入できるので、アンフォテリシン B の複合体構造解明に必要なプローブ分子の効率的調製が可能になる。ついで、28 位にフッ素導入した誘導体を用いて、固体 NMR の原子間距離測定法の一つである RDX スペクトルが測定された。測定は、フッ素標識体と ^{13}C -標識アンフォテリシン B をリン脂質二重膜に混合して行われた。その結果、フッ素原子との空間的な近接を示す顕著なシグナルの減衰が、アンフォテリシン B の共役二重結合部分に認められ、チャネル複合体においても、二重結合同士が近接していることを直接証明することに成功した。これらの研究成果は、抗生物質の作用機構の解明にとどまらず、膜タンパク質や複合脂質などが関与する生体膜中の分子複合体の構造解析に道を開くものであり、学術的な意義も大きいといえる。以上のように、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。