

Title	Design and Synthesis of Inhibitors Targeting Autoinducer-2-dependent Quorum Sensing System in <i>Vibrio harveyi</i>
Author(s)	平岡, 正光
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/48771">https://hdl.handle.net/11094/48771</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	ひら 平	おか 岡	まさ 正	みつ 光
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)			
学位記番号	第 2 1 7 6 0 号			
学位授与年月日	平成 20 年 3 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	Design and Synthesis of Inhibitors Targeting Autoinducer-2-dependent Quorum Sensing System in <i>Vibrio harveyi</i> (オートインデューサー 2 依存型クォーラムセンシング阻害剤の合成研究)			
論文審査委員	(主査) 教授 加藤 修雄  (副査) 教授 笹井 宏明    教授 深瀬 浩一    准教授 大神田淳子			

### 論 文 内 容 の 要 旨

バクテリアの多くはクォーラムセンシング (QS) と呼ばれる遺伝子制御システムをもつ。QS システムはバクテリア自らが産生する情報伝達物質 (オートインデューサー、AI) によって制御されており、AI の環境濃度が一定以上になってはじめて機能する。これにより、バクテリアはさまざまな遺伝子発現を同調的に制御し、生存に有利な集団として環境に適応してきた。また、このシステムは病原性遺伝子の発現も制御していることから、近年、阻害剤開発の新たなターゲットとして注目されている。本論文では、数種の QS システムのうち autoinducer-2 (AI-2) 依存型システムを研究対象とした。

AI-2 は furanosyl borate diester 構造をもつシグナル分子であり、海洋性細菌 *Vibrio harveyi* における QS システムの受容体 LuxP に結合することでその立体構造を活性型へ誘起する働きをもつ。その結果 QS システムが活性化され、ルシフェラーゼ遺伝子が発現、発光が起こる。そこで本研究では、apoLuxP (open form、リガンド非結合型) から holoLuxP (closed form、リガンド結合型) への立体構造変化の阻害を目的として、apoLuxP を標的とした QS 阻害剤 (AI-2 アンタゴニスト) の分子設計と合成を検討した。

L-serine 誘導体を出発原料とし、骨格上の二つの置換基導入部にさまざまな置換基を配した *N,N'*-disubstituted 8-amino-9-hydroxy-3,6-dioxo-1-azaspiro[4.4]nonan-2-one 誘導体 (スピロ型 oxazolidinone 誘導体) を 12-15 ステップで合成し、*V. harveyi* (BB170 株) の発光を利用したアッセイにより阻害活性を評価した。その結果、スピロ型 oxazolidinone 誘導体の幾つかが濃度依存的に強い AI-2 アンタゴニスト活性を有することを見出した。最も高い活性をもつ誘導体は 100  $\mu$  M において 96% の発光抑制効果 (QS 阻害活性) をもち、かつ細胞毒性を示さない。さらに構造活性相関に対する考察から、置換基におけるアルキルリンカーの長さ、芳香環の有無が活性に大きな影響を与えることも明らかにした。

以上の結果から、スピロ型 oxazolidinone 誘導体が、バクテリアを殺すのではなく QS をコントロールすることで毒性を抑えるという、新たな感染症治療薬となり得ることを示した。また、AI-2 が種特異性をもたないことから、AI-2 アンタゴニストは広い抗菌スペクトルを示すことが予想され、未知のクォーラムセンシング機構解明ツールとしても期待される。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、情報伝達物質（オートインデューサー：AI）を介したクォーラムセンシング（QS）と呼ばれるバクテリア個体間遺伝子発現制御機構の中で、furanosyl borate diester (AI-2) を情報伝達物質とする AI-2 依存型 QS システムに対する阻害剤の設計・合成・活性評価に関する研究成果を纏めたものである。この QS システムの細胞内信号伝達が、受容体たんぱく質である LuxP の AI-2 との結合による大きな構造変化に端を発することに着目し、LuxP のリガンド非結合型構造と会合能を持ちながら、結合型への構造変化を妨げ得る有機低分子を合理的に設計・合成した。そして、海洋性細菌 *Vibrio harveyi* の AI-2 依存型 QS システムによって発現するルシフェラーゼの発光を指標とした合成化合物の活性評価を行った。その結果、*N,N'*-disubstituted 8-amino-9-hydroxy-3,6-dioxo-1-azaspiro[4.4]nonan-2-one 誘導体が他例のない AI-2 アンタゴニスト活性を有することを見出した。さらに、2つの窒素上の置換基に関する focused library を構築することで構造活性相関研究へ展開し、強い阻害活性を有す誘導体の創出にも成功している。

AI-2 依存型 QS は、情報伝達物質である AI-2 の化学的不安定性のため、他の QS システムに比して研究が立ち後れている。本研究において、再現性の高い評価系構築のために、化学的に安定な AI-2 アゴニストの探索も行い、1-deoxy-L-xylulose を見出している点も特筆すべき成果である。

QS による遺伝子発現によって、病原性毒性物質の産生やバイオフィーム形成が起こることが知られている。したがって、QS システムの阻害剤には従来の抗生物質とは全く異なり、バクテリアを殺すこと無く毒性を抑えると言う新たな感染症治療薬としての期待が持たれている。本研究の成果として得られた AI-2 アンタゴニストは斯様な治療薬としての可能性を持つとともに、AI-2 依存型 QS システムに対する機構解明ツールとしての利用価値も高く、分子細胞生物学の発展に寄与するものである。よって、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。