

氏名	もり した あつ き 森 下 篤 機
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 2554 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Exploration of bioactive substances from microbial products (発酵生産物中からの新規生理活性物質の探索研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 清 水 昌 教 授 加 藤 暢 夫 教 授 宮 川 恒

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、微生物培養液を用いて、各種生理活性を指標にしたスクリーニングを実施し、新規な生理活性物質の探索と開発を行った結果をまとめたものである。主な内容は次の通りである。

(1) 新規抗生物質の探索を目的として、土壌微生物培養液を用いてスクリーニングを行った。その結果、*Saccharopolyspora* sp. L53-18 株が新規マクロライド系抗生物質を生産している知見を得、本物質を sporeamicin A (SRM-A) と命名した。SRM-A の単離精製方法を確立し、精製した物質の構造を決定した。また、本物質の物理化学的及び生物学的性状を調べた結果、以下の特徴を有することを認めた。

① SRM-A は14員環マクロライドの中でもユニークな骨格構造を持っている。②抗菌活性は、類似抗生物質 erythromycin (EM) に比べて一段階低い。③マウスでの感染治療効果は、EM に比べて同程度かやや劣っている。④酸性 pH での安定性は EM より良い。⑤ラットでの経口投与時における血中濃度は EM より高値を示す。⑥ラットでの組織移行性は EM よりも良好である。⑦一般毒性においては、EM とほぼ同程度である。

以上のように、SRM-A はいくつかの優れた特徴をもち、医薬品の誘導体原料となりうることが示された。

(2) SRM-A 生産株 L53-18 を大量培養し、同一アグリコンを持つマイナー成分 sporeamicin B 及び C を単離精製した。それぞれの物理化学的性状を解析し、構造を決定した結果、いずれも新規物質であることを明らかにした。両成分とも抗菌活性を有していたが、活性の強さは、主成分である SRM-A に比べ、2～数倍弱いものであった。

(3) チオールプロテアーゼの特異的な阻害剤を微生物培養液中より探索した。すなわち、パパイン阻害活性を指標にしたスクリーニングを実施し、*Myceliophthora thermophila* M4323 培養液中より、新規物質 estatin A 及び B を発見し、その構造を決定した。本物質は IgE 抗体の産生を特異的に抑制した。

次に、カテプシン B 阻害活性を指標にしたスクリーニングを実施し、*Chromelosporium fulvum* M4299 が新規阻害剤 AM4299A 及び B を生産している知見を得た。2成分の単離精製方法を確立し、それぞれの構造を決定した。両物質の物理化学的及び生物学的性状を調べた結果、チオールプロテアーゼに特異的で強力な阻害活性を示すことを認めた。

(4) 遺伝子組換え技術を使い、標的酵素を明らかにして、病原菌と哺乳動物に対する選択毒性を簡便にスクリーニングできる評価系を構築した。

すなわち、真菌の細胞膜生合成酵素遺伝子と、哺乳動物のコレステロール生合成酵素遺伝子を、それぞれ導入した組換え酵母を作成し、サンプルと共に培養すると、酵素阻害の特異性を増殖の差で評価できることを明らかにした。本評価系を使い、微生物培養液を含む大量のスクリーニングソースの中から、ひとつの合成物質が選択的酵素阻害を示すことを明らかにした。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

これまで、抗生物質を始めとして、様々な生理活性物質が微生物発酵生産物中より発見され、医薬品として実用化されて

いる。また、発酵生産物は、その骨格の多様性から、各種生理活性を持つことが明らかにされ、医薬品探索のスクリーニングソースとして注目されている。本論文では、医薬品の開発を目指した新規生理活性物質の探索に焦点を当て、スクリーニング手法、構造解析、生物学的性状解析について検討した結果がまとめられている。以下に示す点が成果として評価できる。

(1) 著者は、ユニークな骨格を有する新規抗生物質 SRM-A を発見した。その過程で、発酵生産物探索の基礎となる生産菌の分類、培養条件検討などの研究を完遂した。特に、カラムクロマトグラフィーを一切使わない、収率の高いユニークな単離精製法を確立した。また、本物質の各種機器分析、特に二次元 NMR による詳細な解析を通して、複雑な新規構造を決定するとともに、医薬品として開発する上での各種特徴、すなわち、肺への組織移行性が高いこと、胃酸に近い pH で安定性が良好なこと等、有利な特徴を見出した。

(2) SRM-A の骨格の独自性から、類似骨格を持つマイナー成分が存在すれば、有望な研究対象になると考えられる。著者は、大量培養技術と微量成分単離精製技術を駆使して、2 種類の新規物質をマイナー成分として発見した。これによって、SRM の生合成経路の解明など、更なる研究への展開の可能性が開かれた。

(3) 抗菌活性以外の生理作用として、チオールプロテアーゼ阻害剤の探索を実施した。その過程で、新規物質 *estatin A*, *B* と *AM4299 A, B* を発見し、それぞれの構造を明らかにした。また、これらの新規物質の阻害活性はチオールプロテアーゼに特異的であることを認め、抗アレルギー薬や骨粗鬆症治療薬として開発できる可能性を示した。

(4) 組換え酵母を用いて、真菌の細胞膜生合成酵素の特異的阻害物質を探索できる、新たな評価系を構築した。本法は、高効率化が可能な上、標的真菌、標的酵素を任意に変更できるため、有用物質発見の機会を向上させる可能性が高い。

以上のように、本論文は発酵生産物中からの新規生理活性物質の探索と開発について基礎・応用両面にわたって検討を加えたものである。得られた結果は、7 種類の新規物質発見と、ユニークな新規評価系構築として結実しており、応用微生物学、天然物有機化学に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、平成17年1月13日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。