

# 活性天然物の生産とその分子機構解析および生合成工学への応用

## Production of Bioactive Natural Products, and Analysis and Application of its Molecular Mechanism to Biosynthetic Engineering

(研究プロジェクト番号：JSPS-RFTF 96I00301)

### プロジェクトリーダー

瀬戸 治男 東京大学分子細胞生物学研究所・教授 (平成8年9月～平成12年3月)

早川 洋一 東京大学分子細胞生物学研究所・助教授 (平成12年4月～平成13年3月)

### コアメンバー

作田 庄平 東京大学大学院農学生命科学研究科・助教授

松永 茂樹 東京大学大学院農学生命科学研究科・助教授

坂神 洋次 名古屋大学大学院生命農学研究科・教授 (平成8年9月～平成11年3月)



## 1. 研究目的

生物が生産する多種多様な有機化合物は人間生活に広く利用されるとともに、近代有機化学の発展に大きく貢献してきた。しかしながら、生物資源が有限であることを考慮すると、生物の多彩な生合成能を活用した有用化合物の生産体系を確立することが重要である。本プロジェクトは、このような観点から、最新の生命科学的手法を用いて新しい活性天然有機化合物を探索するとともに、生合成の分子機構を解明し、生物による有用物質生産の新世代技術を確立することを目的として行った。

## 2. 研究成果概要

### 2.1 テロメラーゼ阻害物質テロメスタチン

真核生物の染色体末端はテロメアと呼ばれる特殊な構造から構成されている。テロメアは染色体複製の度に短縮し、テロメア長が細胞の分裂寿命を決定している。しかしながら癌細胞では、このテロメアを伸張させるためのテロメラーゼと呼ばれる酵素が発現し、テロメア長を維持することにより、無限の増殖能を獲得している(図1)。

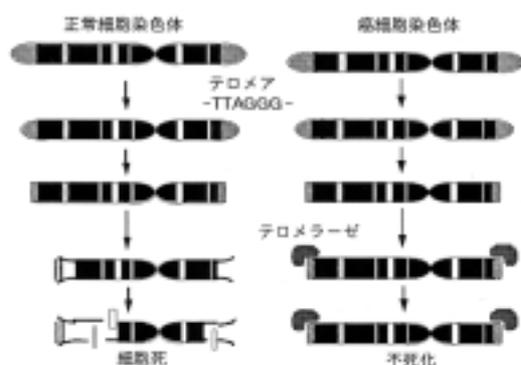


図1 癌細胞におけるテロメアの維持機構

テロメラーゼの阻害剤は、癌細胞のみに作用する選択性の高い抗癌剤となる可能性が期

待される。我々は、微生物代謝産物から新しいテロメラーゼ阻害物質テロメスタチンを見出し、テロメスタチンが最も強力なテロメラーゼ阻害剤であり、癌細胞のテロメア長を短縮し細胞老化を誘導することを明らかにした。

### 2.2 粘液細菌が生産する抗生物質

培養が困難なため最近まで良く研究されていなかった粘液細菌(図2)から、高い抗菌性と抗腫瘍性を示す新しい抗生物質シストチアゾール類を発見し、その化学合成を行うとともに、生合成、代謝について研究した。



図2 粘液細菌の一種

### 2.3 アオコ由来のプロテアーゼ阻害物質

夏季に湖沼で"アオコ"を形成する淡水産藍藻類は様々なペプチドを生産する。*Anabaena* 属、*Oscillatoria* 属、*Aphanizomenon* 属などが産生するアナベノペプチン類は、カルボキシペプチダーゼを極めて強く阻害することを見出した。カルボキシペプチダーゼは金属を含むモデル酵素として重要であり、その阻害物質は酵素の触媒機構解明に必要な生化学試薬として不可欠である。

### 2.4 カリクリンAの作用メカニズム

カリクリンAは伊豆半島沿岸に生息するチヨコガタイシカイメンに含まれる抗腫瘍物質であり、タンパク質脱リン酸化酵素を強く阻害する。様々なカリクリンA類縁化合物の酵素阻害活性を調べることにより、カリクリンAの化学構造中で酵素との結合に重要な働きをしている部位を明らかにした。さらに、X

線結晶構造解析からカリクリンAがどのような形で酵素と結合しているのか解明した。

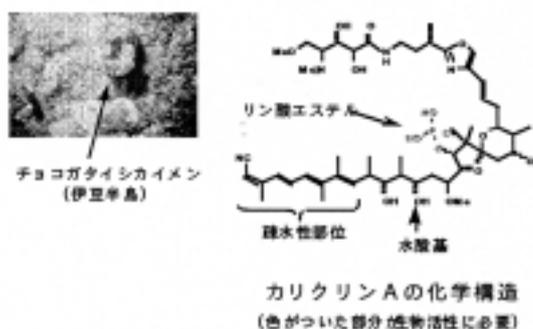
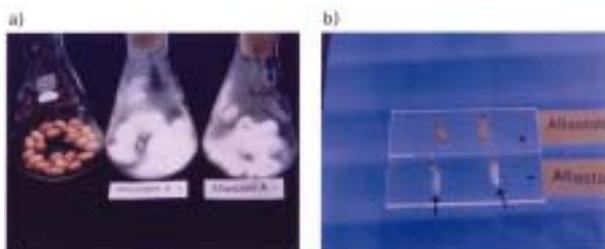


図3 カリクリンAの構造と活性

## 2.5 農作物をカビ毒汚染から守る

*Aspergillus* 属のカビが生産するアフラトキシンは強力な発癌性を示す。我々は、アフラトキシンの生産を抑制する物質としてアフラスタチンを発見した。アフラスタチンをピーナッツの表面に塗布してアフラトキシン生産菌を植えると、カビはピーナッツの表面で通常通り成育したが、アフラトキシンの蓄積は抑制された。また、アフラスタチンがアフラトキシン生産のごく初期の代謝調節系に作用することを明らかにした。



a) 左フラスコ：アフラトキシン生産菌を培養する前のピーナッツ、中央：アフラスタチンをピーナッツに塗布（2 ppm）後培養、右：アフラスタチン無添加ピーナッツに培養  
b) a) のピーナッツを取り出したあと切片とし（上2つ：中央のフラスコ由来、下2つ：右のフラスコ由来）、内部のアフラトキシン量を観察（矢印の青い蛍光の強さがアフラトキシン量を表す）。

図4 アフラスタチンの作用

## 2.6 原核生物におけるイソプレノイド生合成

ステロイドやカロテノイドのようにイソプレンを構成単位とする一連の化合物をイソプレノイドと呼ぶ。我々は、細菌のイソプレノイド生合成に不可欠な酵素、1-デオキシ-D-キシルロース5リン酸レダクトイソメラーゼを発見し、抗生物質ホスミドマイシンがこの酵素を阻害することを明らかにした。現在、ホスミドマイシンの抗マラリア作用が注目されている。また、イソプレノイド抗生物質テルペンテシンの生産菌から、微生物起源としては初めてのジテルペンサイクラーゼ遺伝子の同定に成功した。このサイクラーゼは、炭素数20の直鎖状イソプレノイドを環化する反応を触媒することがわかった。

## 2.7 抗生物質を2つつないでみると

抗カビ抗生物質であるアンフォテリシンBを2つ化学的につなげた分子（二量体）を合

成してみたところ、非常に強い作用を示した（図5）。この二量体は、アンフォテリシンBの作用メカニズムを研究するにはちょうどいい分子であることが分かった。

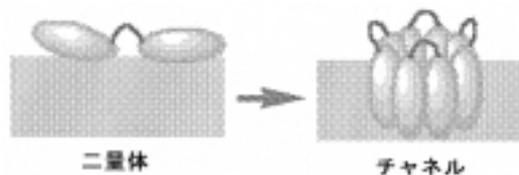


図5 アンフォテリシンBで形成されるチャネル

## 主な発表論文

- (1) K. Shin-ya, K. Wierzba, K. Matsuo, T. Ohtani, Y. Yamada, K. Furihata, Y. Hayakawa, H. Seto: Telomestatin, a novel telomerase inhibitor from *Streptomyces anulatus*. *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 1262-1263 (2001).
- (2) M. Ojika, Y. Suzuki, A. Tsukamoto, Y. Sakagami, R. Fudou, T. Yoshimura, S. Yamanaka: Cystothiazoles A and B, New Bithiazole-type Antibiotics from the Myxobacterium *Cystobacter fuscus*. *J. Antibiot.* 51, 275-281 (1998).
- (3) Y. Itou, S. Suzuki, K. Ishida, M. Murakami: Anabaenopeptins G and H, potent carboxypeptidase A inhibitors from the cyanobacterium *Oscillatoria agardhii*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 9, 1243-1246 (1999).
- (4) S. Sakuda, M. Ono, K. Furihata, J. Nakayama, A. Suzuki, A. Isogai: Aflastatin A, a novel inhibitor of aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus*, from *Streptomyces*. *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 7855-7856 (1996).
- (5) T. Kuzuyama, T. Shimizu, S. Takahashi, H. Seto: Fosmidomycin, a specific inhibitor of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reducto-isomerase in the nonmevalonate pathway for terpenoid biosynthesis. *Tetrahedron Lett.* 39, 7913-7916 (1998).
- (6) T. Dairi, Y. Hamano, T. Kuzuyama, N. Itoh, K. Furihata, H. Seto: Eubacterial diterpene cyclase genes essential for production of the isoprenoid antibiotic terpentecin. *J. Bacteriol.*, 183, 6085-6094 (2001).