

論文内容の要約 Summary of Thesis Contents

1. 主論文要旨(論文提出時のもの) Abstract of Doctoral Thesis (summarized at the time of submission)

論文名 Title of Thesis

微生物由来生理活性物質の探索と作用メカニズムに関する研究

なかがわ かずや
氏名 中川 和也

微生物代謝産物から2種類の生理活性物質の探索を行い、活性物質の化学的解明、活性についての検討を行うとともに、結合タンパク質の同定を行った。

第一は、テルペノイド生合成単位であるイソプレンの第2の生合成経路として、20世紀末に見出された非メバロン酸 (MEP) 経路の阻害剤であり、抗マラリア薬、除草剤などへの応用が期待できる。2段階からなるスクリーニング系を構築し、新たな MEP 経路阻害物質を *Bacillus* sp. KN07 株から単離し、既知物質 maculosin (MC) の cyclo(L-Tyr-L-Pro)と立体化学を含めて同定した。MC の活性発現に不可欠な Tyr の水酸基を残したビオチン標識体を合成し、MEP 経路の各酵素を過剰発現させた大腸菌の可溶性タンパク質画分とアビジンビーズを用いて結合タンパク質を求めた。その結果、結合タンパク質は MEP 経路6番目の酵素である IspG であり、MC は初の IspG 阻害剤と考えられる。また、IspG 発現量、MC 量に応じて大腸菌の細胞が、多核フィラメント化することを見出し、MEP 経路中間体が細胞分裂に関与している可能性を示した。

第二は、動植物への病原性を示すものが多い卵菌類の一つで、淡水養殖場で被害をもたらす *Saprolegnia parasitica* (ミズカビ) への選択的な活性物質である。抗ミズカビ剤には優れた市販薬が無く、環境負荷の少ないものが望まれている。探索の結果、*Streptomyces* sp. TK08046 株から活性物質を5種単離し、主として二次元 NMR 解析から新規アングサイクリン系化合物であることを明らかにして saprolmycin (SP) A~E と命名した。SP 類は植物プランクトンを含む他の生物へは殆ど活性を示さず、ミジンコ、HeLa 細胞への毒性は $5 \mu\text{g/mL}$ 程度であった。一方、*S. parasitica* への活性は A と E が強く、それぞれ 0.004 、 $0.008 \mu\text{g/mL}$ と極めて選択的であった。SP 類は蛍光を有しており、HeLa 細胞、ミズカビ菌糸、胞子内での局在性を蛍光顕微鏡で観察するとともに、細胞への影響を種々検討した。また、構造中の不飽和糖 aculose とタンパク質との結合が示唆されていたことから、ミズカビ菌糸の可溶性タンパク質画分と SP-E を混合後、直接 SDS-PAGE に供して蛍光検出し、結合タンパク質2種を得た。ペプチドマスフィンガープリント法の結果を用いたデータベース検索から、いずれも nucleoside diphosphate kinase (NDPK) と考えられた。そこで、NDPK の組み換え酵素を用いて、SP-E の酵素阻害活性を測定したが低く、抗ミズカビ活性は近年報告されている NDPK の多機能性に関わるものと考察した。

2. 論文に関するリスト List on thesis

(1) 学位論文の基礎となった学術論文【査読あり】

The academic thesis that became a basis of your thesis 【With review】

① (記入例) 著者名、「論文タイトル」、掲載誌等名、出版社名、掲載ページ数、掲載年月

- ① Kazuya Nakagawa, Choko Hara, Shinji Tokuyama, Kentaro Takada and Nobutaka Imamura, Saprolmycins A–E, new angucycline antibiotics active against *Saprolegnia parasitica*, *The Journal of Antibiotics*, 65, 599–607, 2012.
- ② Kazuya Nakagawa, Akihiro Hiraoka and Nobutaka Imamura, Diepoxyactinorhodin: a new pyranonaphthoquinone dimer from *Streptomyces* sp, *The Journal of Antibiotics*, 66, 295–297, 2013.
- ③ Kazuya Nakagawa, Kentaro Takada and Nobutaka Imamura, Novel MEP Pathway Inhibitor and Its Binding Protein, IspG, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(7), 1449–1454, 2013.

(2) 国際会議発表【査読あり】

Presentation in International Conference 【With review】

【口頭】 【Oral presentation】

- ① Kazuya Nakagawa, Kentaro Takada, Nobutaka Imamura, Study on a Target Molecule for Novel Inhibitor of MEP Pathway, Sixth International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments, Short talks by selected poster presenters S-1, 滋賀, 2010年6月

【ポスター】 【Poster presentation】

(3) 学会誌に公刊された総説・解説

General remarks and Commentary published on Official journal of a Scientific society

(4) 国内学会発表 Presentation in Domestic Society

口頭発表

- ① 中川和也、高田健太郎、今村信孝、新規 MEP 経路阻害剤の標的酵素について、第 130 年会 日本薬学会、岡山、2010 年 3 月
- ② 中川和也、高田健太郎、今村信孝、新規 MEP 経路阻害剤の標的分子について、第 54 回 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、山梨、2010 年 10 月
- ③ 小畑利樹、桑原大輔、中川和也、高田健太郎、今村信孝、抗 *S. parasitica* 活性

を有する新規化合物オリダマイシン A の生物に及ぼす影響について、第 60 回 日本薬学会近畿支部会総会・大会、大阪、2010 年 10 月

④桑原大輔、小畑利樹、中川和也、高田健太郎、今村信孝、KS84 株が生産する物質と培地成分の変化による生産物質の変化について、第 60 回 日本薬学会近畿支部会総会・大会、大阪、2010 年 10 月

⑤中川和也、林万里、石原麻衣、徳山真治、高田健太郎、今村信孝、タイ産放線菌由来抗ミズカビ活性物質に関する研究、第 60 回 日本薬学会近畿支部会総会・大会、阪、2010 年 10 月

⑥中川和也、高田健太郎、今村信孝、新規 MEP 経路阻害剤の標的分子に関する研究、第 131 年会 日本薬学会、静岡、2011 年 3 月

⑦中川和也、松尾洋孝、原兆子、徳山真治、高田健太郎、今村信孝、放線菌由来抗ミズカビ物質の探索研究、第 132 年会 日本薬学会、北海道、2012 年 3 月

⑧松尾洋孝、近藤義幸、中川和也、今村信孝、放線菌由来抗肥満物質の探索研究、第 132 年会 日本薬学会、北海道、2012 年 3 月

⑨平井大士、吉田康晃、鈴木直太、中川和也、山田陽一、塩田澄子、今村信孝、土屋友房、黄色ブドウ球菌のバイオフィルム形成を抑制する物質の探索、第 24 回 微生物シンポジウム 微生物学の進歩～その基礎から応用まで～、大阪、2012 年 9 月

ポスター発表

①中川和也、高田健太郎、今村信孝、MEP 経路阻害剤探索系の構築と微生物由来活性物質について、第 129 年会 日本薬学会、京都、2009 年 3 月

②中井俊樹、中川和也、山口幸祐、阿波沙耶花、川崎崇、高田健太郎、今村信孝、放線菌の二次代謝誘導に関する研究、第 62 回 日本薬学会近畿支部総会・大会、兵庫、2012 年 10 月

③中川和也、松尾洋孝、角谷幸一郎、川崎崇、今村信孝、新規抗卵菌物質 saprolmycinE の作用機作研究、第 133 年会 日本薬学会、横浜、2013 年 3 月

④松尾洋孝、近藤義幸、中川和也、今村信孝、脂肪細胞分化抑制作用を有する放線菌由来化合物の探索研究、第 133 年会 日本薬学会、横浜、2013 年 3 月

⑤川崎崇、渡遥あゆみ、中川和也、今村信孝 Saprolmycin 生合成遺伝子の取得、第 133 年会 日本薬学会、横浜、2013 年 3 月