

Streptomyces griseochromogenes の PP1 阻害剤生産性の改良

生命分子化学講座 木質生命化学分野

柳田 進太郎

【背景と目的】 ポリケチド化合物であるトウトマイセチン(以下 TC)は、1989年に理化学研究所において放線菌 *Streptomyces griseochromogenes* から単離・構造決定され(図)、プロテインホスファターゼ 1 型(PP1)の特異的阻害剤であることが当研究室および Kikuchiらのグループ(北大遺制研)との共同研究によって見出された。TCを用いた研究は、タンパク質の可逆的なリン酸化を介する多様な細胞機能の機構解明に重要な役割を果たすことが期待されている。しかし、TC はそれ自体不安定な構造をしており、TC に代わるプロテインホスファターゼ阻害剤の探索は有用である。本研究では、TC 産生菌である *Streptomyces griseochromogenes* に変異を誘導することで、PP1 に対し特異的かつより安定な構造をもつ新規化合物を探索し、その生産性を改良することを目的とした。

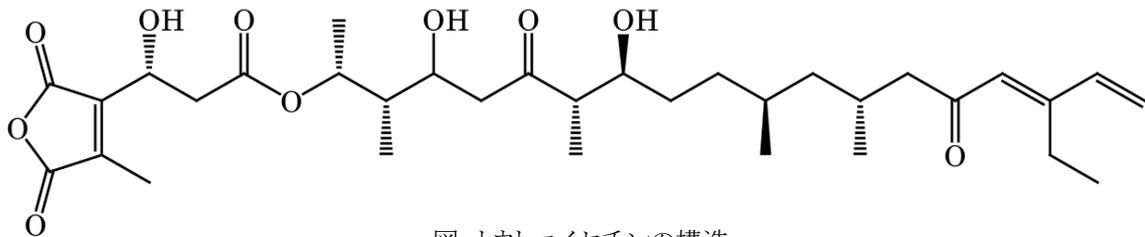


図 トウトマイセチンの構造

【実験】 変異の誘導は、クリーンベンチの室内殺菌用の紫外線を変異原として用いて行なった。取得した変異株は、二種の評価系を用いてスクリーニングが行なわれた。まず、取得した変異株のうち PP1 阻害活性試験により、活性の高い株を選定した。次に、PP1 阻害剤が、ヒト細胞の形態変化を誘導することが報告されているため(Magae J., *et al: Proc. Jpn. Acad. B: Phys. Biol. Sci.*, **66**, 209-212, 1990)、これを指標として HeLa 細胞の形態変化を誘導する株の選定を行なった。さらに HPLC 分析によって、選定した株が TC とは異なる保持時間および吸収スペクトルを示す化合物を産生するかを調べた。HPLC 分析で検出した化合物を同定するにあたって、効率良く目的化合物を得るために Ubukata らの方法(*J.Chem.Soc.*, **19**, 2399-2404, 1995)を参考に、TC の前駆体を培養液に添加して生産性の増強を試みた。

【結果と考察】 採取した 180 株の変異株から、PP1 阻害活性が高く HeLa 細胞の形態変化を誘導する株を 7 株まで選定した。そのなかで最も PP1 阻害活性の高かった株 (mutant 53) の抽出物は、HPLC 分析によって TC の標品と異なる保持時間および UV スペクトルを示したことから、TC とは異なる構造の化合物であることが示唆された。また、前駆体添加実験では、マロン酸およびメチルマロン酸を培地に添加したときに高い PP1 阻害活性を示した。したがって、マロン酸は PP1 阻害活性物質の生合成促進に寄与していることが示唆された。なお、現在は活性物質の単離・構造決定を検討している。