

モリノカレバタケ属菌糸体培養物からのオートファジー誘導物質の探索

生命分子化学講座 木質生命化学研究室

新藤 千波耶

【緒言】細胞内タンパク質分解機構の一つであるオートファジーは、飢餓対応や細胞内環境維持のほか、ガンや神経疾患などに関わりのある重要な生理機能である。オートファジー誘導物質は、細胞機能の解明及び薬剤への応用が期待出来る。当研究室ではニカワウロコタケから hirsutanol A を単離し、その絶対配置を決定した¹⁾。最近、hirsutanol A がオートファジーを誘導することが報告された²⁾。北海道の野生キノコ株の培養菌糸体からオートファジー誘導剤を探索することを目的として、採取したキノコの培養菌糸体抽出物における誘導活性を調べ、活性がみられたモリノカレバタケ属の一種 (*Gymnopus* sp.) 培養菌糸体からのオートファジー誘導物質(1)の単離、構造決定を行った。

【方法・結果】キノコ 27 株の菌糸体培養抽出物を用いてオートファジー誘導活性の一次スクリーニングを行った。3.3×10⁴ cells/well の NHI3T3 細胞を 6 穴プレートに播種し、各菌糸体の抽出物を最終濃度 100 μg/ml で加え、4 時間処理した後に回収した。次に、ウェスタンブロット法により細胞内のオートファジー関連タンパク質 LC3-II を検出することでオートファジー誘導活性を評価した。ポジティブコントロールとして既存のオートファジー誘導物質ラパマイシン (Rap) 5 μM を、コントロールには DMSO のみで処理したものをを用いた。27 菌株の抽出物のうち菌株 23 のオートファジー誘導活性が最も高かった。

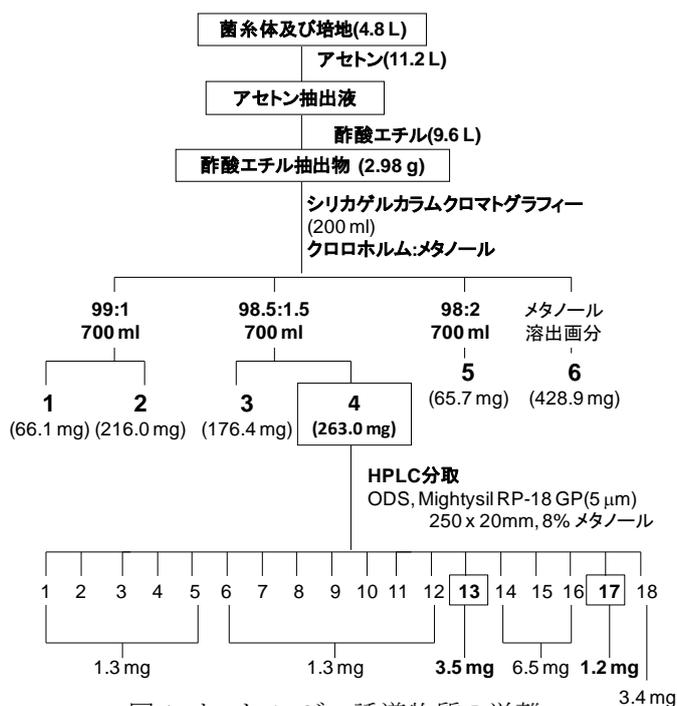


図1 オートファジー誘導物質の単離

菌株 23 について、活性物質の単離を行った (図1)。シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分画後、活性の高かった画分 4 について HPLC 分取を行い、主要ピークを濃縮乾固して細胞活性試験を行った。その結果、画分 13 及び 17 に活性物質があることがわかった。画分 13、17 についてマススペクトル測定及び NMR 測定により構造決定を行った結果、画分 13 及び 17 は溶媒中で互変異性体を取る同一物質であることが明らかとなり、化合物 1 とした (図2)。NMR スペクトルから、図2のうち、環状の互変異性体が優勢であることが明らかとなった。類縁体である (+)-cerulenin との比旋光度、NMR ケミカルシフトの比較により化合物 1 の絶対配置を決定した³⁾。化合物 1 を用いてオートファジー誘導活性及び細胞死誘導活性を評価した結果、濃度依存的に活性があることが示された。

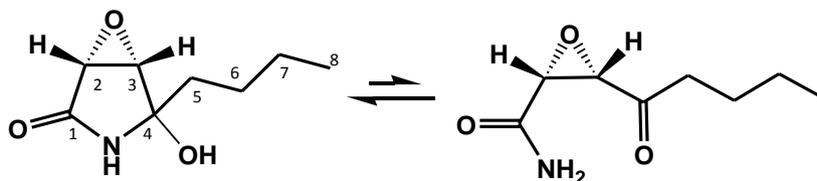


図2 化合物 1 の構造

1) Ryo Asai, et al., *Journal of Antibiotics*, 2011. vol.64, 693-696

2) Fen Yang, et al., *Chinese Journal of Cancer*, 2010, vol.29, 655-660

3) Neelakandha S, et al., *The Journal of Organic Chemistry*, 1997, Vol.62, 636-640