

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 奥 直也

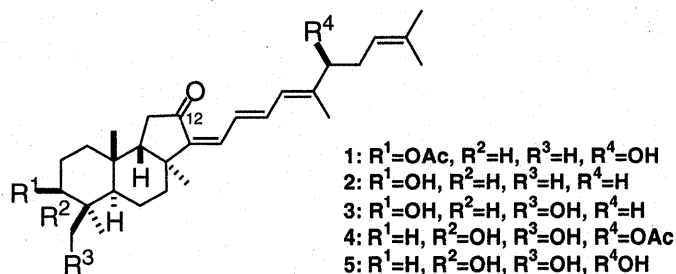
増殖、分化、運動、老化、細胞死など、細胞の諸機能にはタンパク質を始めとする様々な生体分子が関わっているが、このような分子を特定してその機能を解明するツールとして、特定の分子の機能を阻害または亢進する低分子プローブは非常に重要になっている。そこで本研究では、細胞内の生理的変化が形態の変化に反映されることを利用したアッセイ系を構築し、海洋無脊椎動物より新たなツールとなりうる物質の探索を試みた。その概要は以下の通りである。

アッセイ系の構築とスクリーニング

アッセイには、よく伸展して形態が観察し易く、かつ継代も簡単で性質が正常細胞に近い 3Y1 ラット胎児由来繊維芽細胞を用いた。作用機序が分かっている 26 種の化合物がどのような形態変化を引き起こすのかを観察したところ、12 種の化合物が特徴的な形態変化を引き起こした。そこで、各地で採集した計 437 検体の海綿、腔腸動物、コケムシ、ホヤから調製した脂溶性および水溶性画分について調べたところ、探索源として海綿が最も有望であることが明らかになった。次に、有望な活性を示した試料から活性物質の単離と構造解析を試みた。

馬毛島産海綿 *Stelletta globostellata* からの紡錘形の細胞形態を誘導する物質の単離と構造決定およびトカラ列島産スナギンチャクからの palytoxin の単離と同定

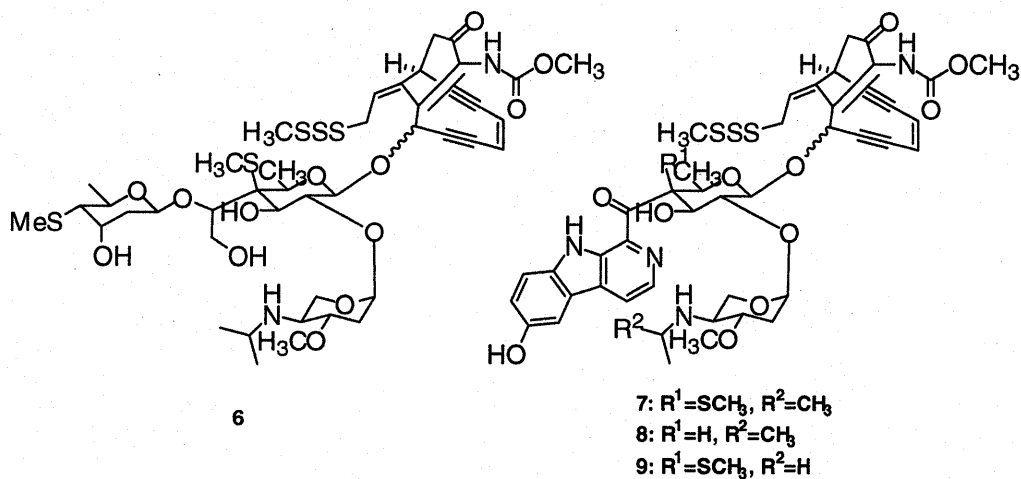
鹿児島県馬毛島産海綿 *S. globostellata* から上記活性を示す物質の単離・構造決定を試みたところ、既知物質のイソマラバリカントリテルペン stelliferin A (1) および D (2) および 29-hydroxystelliferin D (3)、3-*epi*-29 hydroxystelliferin E (4)、と 3-*epi*-29-hydroxystelliferin E (5) が得られた。これらの化合物は、0.2 μ M で 24 時間以内に形態変化を誘導した。



一方、トカラ列島の中之島採集したスナギンチャク *Plythoa aff. margaritae* の抽出液は、短時間で細胞を破裂させた。活性物質の探索を行ったところ、palytoxin が得られた。本物質は 5 nM で活性を示した。

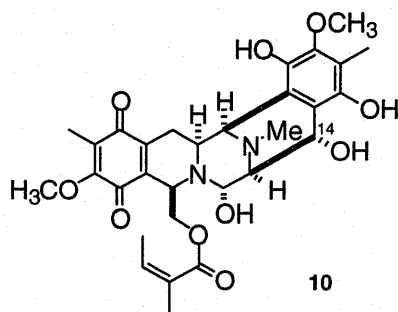
天草諸島産ミナミウスボヤ *Didemnum proliferum* からの shishijimicin 類の単離と構造決定

上記ホヤの抽出液は、3Y1 細胞の核膜を消失させる特異な活性を示したので、活性物質の単離と構造決定を試みたところ、既知の *namenamicin* (6) とともに、新規で特異な構造を有する *shishijimicin A-C* (7-9) を発見することができた。主要な *shishijimicin B* (8) は 40 nM の濃度で 24 時間以内に半数近くの細胞に上記の形態変化を誘導した。また、各種細胞に対して IC_{50} 0.47-6.3 pM の細胞毒性を示した。



口永良部島産未同定海綿からの *renieramycin J* の単離と構造決定

鹿児島県口之永良部島産未同定海綿の抽出物は、細胞毒性を発現する際、核小体の縮小、および隣り合う細胞同士の境界を不明瞭にする作用を示した。そこで活性物質の検索を行った結果、二量体型イソキノリンアルカロイドの *renieramycin J* (10) が得られた。この化合物は、86 nM で上記の形態変化を引き起こした。また、3Y1、HeLa、および P388 細胞に対する細胞毒性は、それぞれ IC_{50} 5.2, 12.3, および 0.52 nM であった。



以上、本研究は細胞の形態変化を指標としたアッセイ系を用いて、437 検体の海洋無脊椎動物をスクリーニングし、特異化合物探索源として多くの種類を発掘するとともに、有望な活性を示した 2 種の海綿、および各 1 種類のスナギンチャクとホヤから、7 種の新規化合物を含む 11 種の化合物を活性物質として単離、同定したもので、学術上、応用上寄与するところは大い。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。