

P105

小胞体-ゴルジ体間セラミド輸送の再構成系の樹立と解析

国立感染研・細胞化学 ○安田 智、船越 智子、深澤 征義、西島 正弘、花田 賢太郎

【目的】スフィンゴ脂質は細胞膜の重要な脂質成分の一つである。また、細胞膜脂質の代謝では、基質となる脂質が酵素機能の場である各オルガネラへ正確に輸送されなければならない。セラミド(Cer)は小胞体の細胞質側でCer合成酵素により合成された後、ゴルジ体に輸送され、内腔側でスフィンゴミエリン(SM)合成酵素によりSMに、細胞質側でグルコシルセラミド(GlcCer)合成酵素によりGlcCerに変換される。我々は、CHO変異株(LY-A株)の示すSM量低下が、ATP依存性の小胞体-ゴルジ体間Cer輸送の欠損であることを見いだしている[1]。今回、Cer輸送の詳細を明らかにするとともに、本機能の阻害剤の探索系を開発する目的で、マクロ分子の通過可能な膜開孔細胞を用い、無傷細胞での性質を反映するin vitro再構成系の樹立を試みた。

【方法】低張・剥離処理により調製した膜開孔細胞を、15°Cで³H-スフィンゴシン標識することにより、³H-SMをほとんど蓄積させることなく³H-Cerを蓄積させた。Cer合成酵素の阻害剤であるfumonisins B₁存在下、37°Cでの³H-Cerから³H-SMへの変換を小胞体-ゴルジ体間輸送の指標とし、その性質について検討した。

【結果・考察】野生型の膜開孔細胞と無傷細胞のCer→SM変換活性を比較したところ、変換速度、温度依存性が一致した。野生型の膜開孔細胞と細胞質画分を用いると、ATP依存性のCer→SM変換が見られ、LY-Aの膜開孔細胞と細胞質画分の場合は野生型に比べCer→SM変換活性が低かった。以上は、無傷細胞の結果と一致している。さらに、細胞質を相互に交換すると、LY-A膜開孔細胞はATP依存性のCer→SM変換活性が野生型まで回復し、野生型膜開孔細胞ではLY-A細胞のレベルまで低下した。膜開孔細胞におけるSM合成酵素活性自体はATP、細胞質依存性を示さなかった。これらの結果は、無傷細胞のCer輸送を反映するin vitro再構成系を用いて、小胞体-ゴルジ体間Cer輸送には細胞質因子が必要であること、LY-A細胞のCer→SM変換活性低下は細胞質因子の欠損によることを示している[2]。また、今回確立したCer輸送の再構成系を用いて、今まで未開発であるCer輸送阻害剤の探索も可能となった。

【文献】 [1] M. Fukasawa, M. Nishijima and K. Hanada, *J. Cell Biol.*, 144, 673-685 (1999)

[2] T. Funakoshi, S. Yasuda, M. Fukasawa, M. Nishijima and K. Hanada, *J. Biol. Chem.*, in press.

P106

抗真菌性物質 Australifungin の全合成と絶対立体配置の決定

東理大・薬

○元木 貴史・山田 博保・原 敦治

内呂 拓実・小林 進

1994年、Merck社により糸状菌 *Sporormiella australis* から単離、構造決定された Australifungin はスフィンゴ脂質生合成における Sphinganine *N*-acyltransferase を特異的に阻害することにより強力な抗カビ活性を示す。真菌症には白癬症(水虫)、クリプトコックス症、ガンジダ症等があり近年、様々な作用機序を有する薬剤が開発され使用されているが、耐性菌の出現や Amphotericin B の強い毒性ゆえに、異なる作用機序を有し、全身投与が可能な新薬の必要性が叫ばれている。

また、*trans*-decalin 環を母核とし、 α -ジケトン、 β -ケトアルデヒドを併せ持つ、合成的にも興味深い構造を有している。我々は Australifungin の構造と活性に興味を持ち、3の分子内 Diels-Alder 反応(IMDA 反応)を鍵段階とする合成研究を行ってきた。

γ -グルタミン酸および(S)-ヒドロキシイソ酪酸メチルから数工程を経て合成される中間体 4、5 を Horner-Emmons 反応によりカップリングし、さらに数工程を経て 3 を得た。鍵反応である IMDA 反応を経由しエキソ付加体 2 を得、オレフィンおよびエステル部位をそれぞれ α -ジケトン、 β -ケトアルデヒドに変換するルートを確認することによって Australifungin の最初の全合成を達成することができた。得られた標的物質の各種スペクトルデータは文献と良い一致を示し、その構造を確認することができた。また旋光度の比較により、天然型の絶対立体配置ははじめに報告されたものと逆で、以下の図に示すとおりであると決定できた。

