

微生物の病原性抑制効果を有する 新規シクロデキストリン誘導体

宇都宮大学大学院工学研究科物質環境化学専攻



UTSUNOMIYA UNIVERSITY

超分子化学講座 助教 伊藤智志

生物工学講座 助教 諸星知広

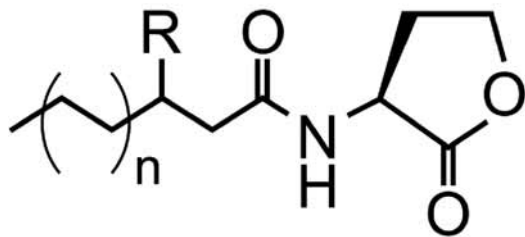
教授 池田 宰

ソフトマテリアル講座 教授 加藤紀弘

研究背景

細菌はシグナル分子を介して菌体密度を認識する。

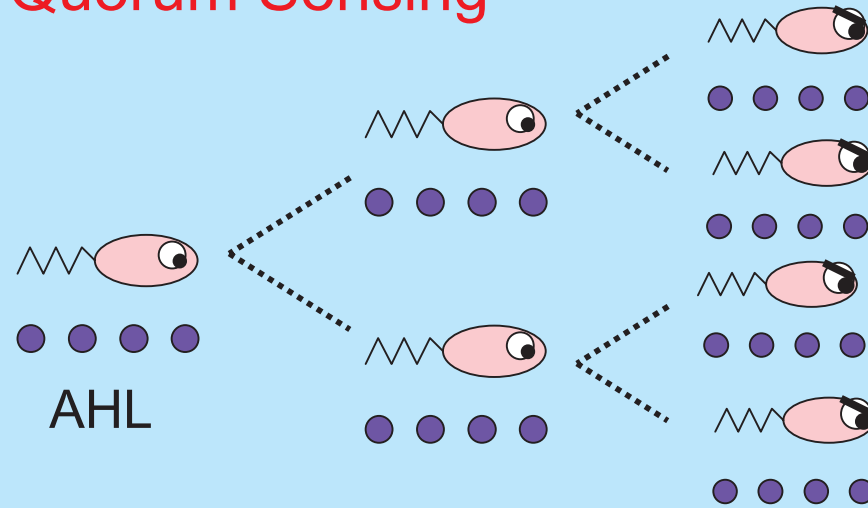
グラム陰性細菌のシグナル分子は、アシル鎖とラクトン環がアミド結合した構造を基本とする種々のアシル化ホモセリンラクトン(AHL)である。



$n = 0, 1, 2, 3, \dots$ $R = H, OH \text{ or } O$

アシル化ホモセリンラクトン(AHL)

菌体密度がある一定値に達すると、特定の遺伝子の発現が活性化される
=Quorum Sensing



低菌体密度:不活性

高菌体密度:活性

病原性の発現、抗生物質の生産、
生物発光、バイオフィルムの形成

Quorum Sensingは直接細菌の生死には関わらない
増殖にともない、基本的には増殖に影響のない細菌の
機能の一部（遺伝子の発現）を制御している

→ その機能は眠っていても細菌は生きている

抗生物質 → 細菌を殺す → 耐性菌の出現が問題

Quorum Sensing制御 → 細菌の機能の一部を制御

→ ある機能は停止しても細菌は生きている

→ 耐性菌は出現しない！

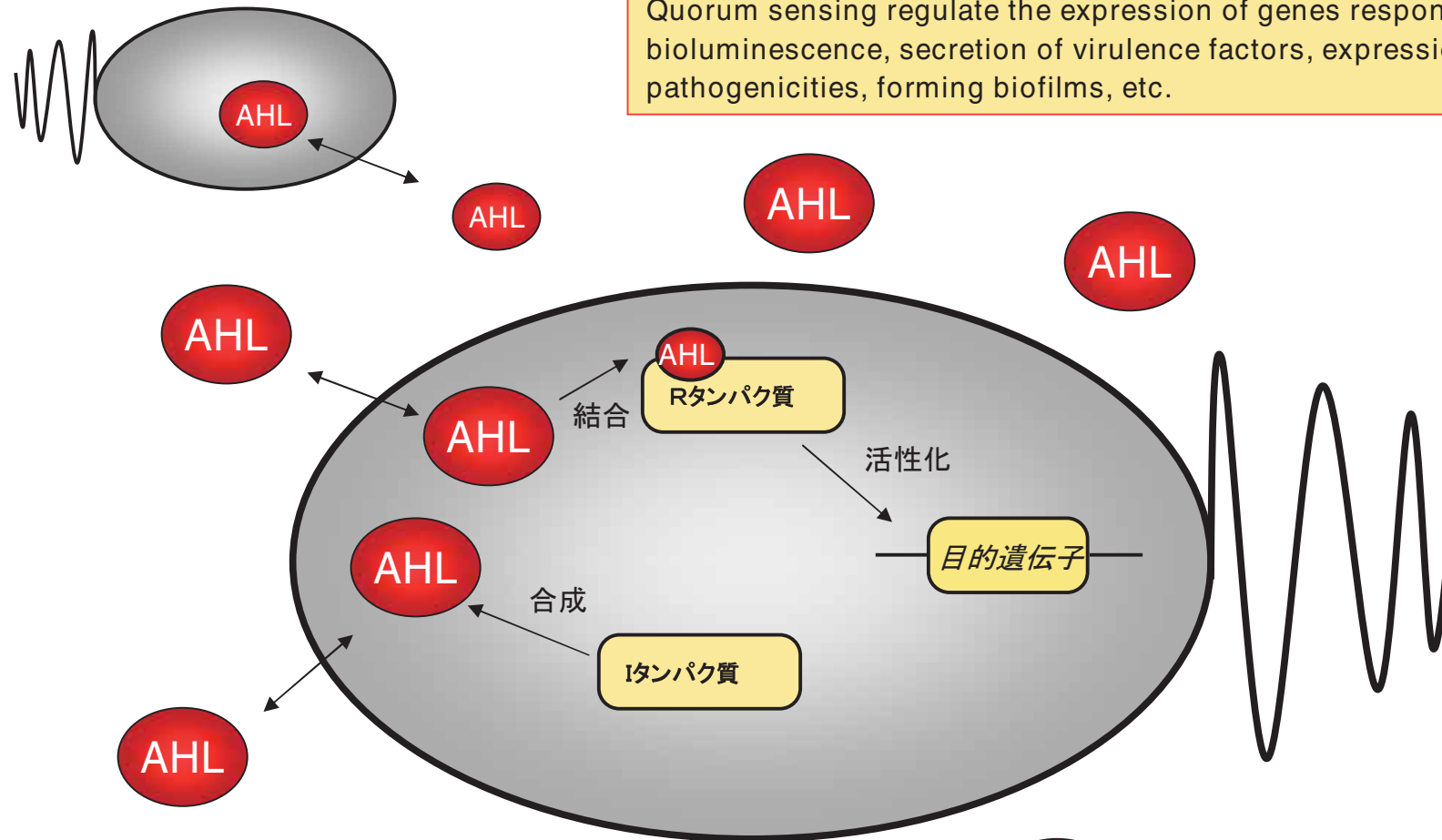


Quorum Sensingを制御することで

新たな感染症・バイオフィルム対策などが開発できる？

グラム陰性細菌におけるQuorum Sensing 機構

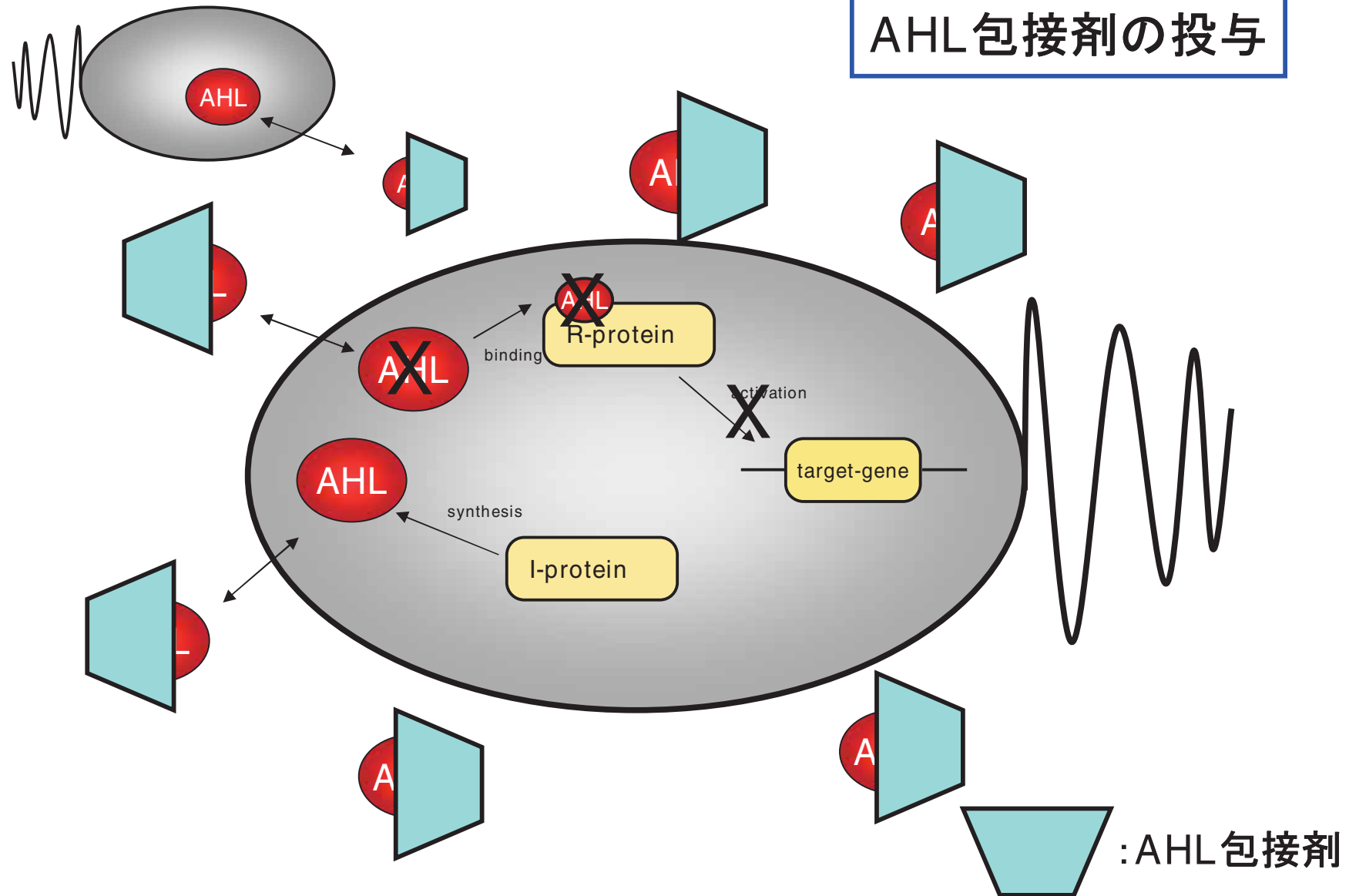
Quorum sensing regulate the expression of genes responsible for bioluminescence, secretion of virulence factors, expression of pathogenicities, forming biofilms, etc.



AHL : オートインデューサー

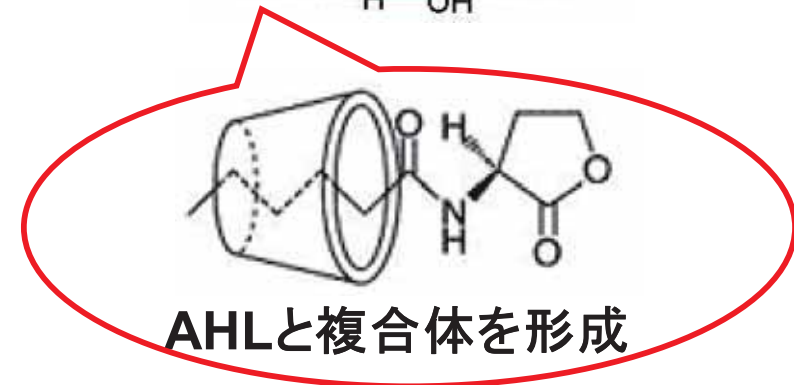
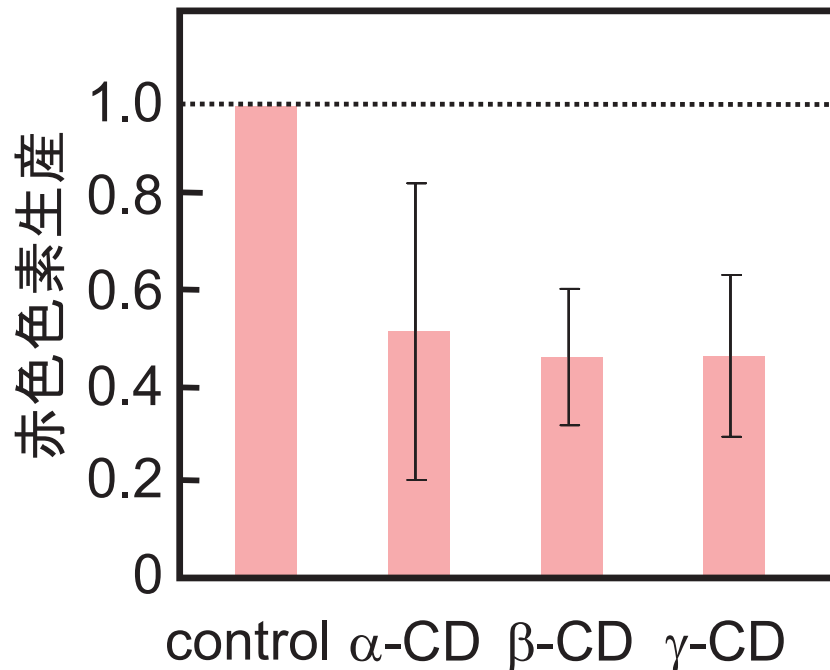
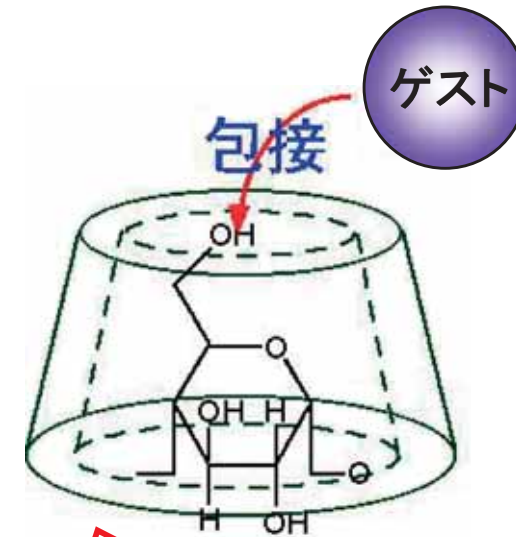
Quorum Sensing制御方法

AHL 包接剤の投与



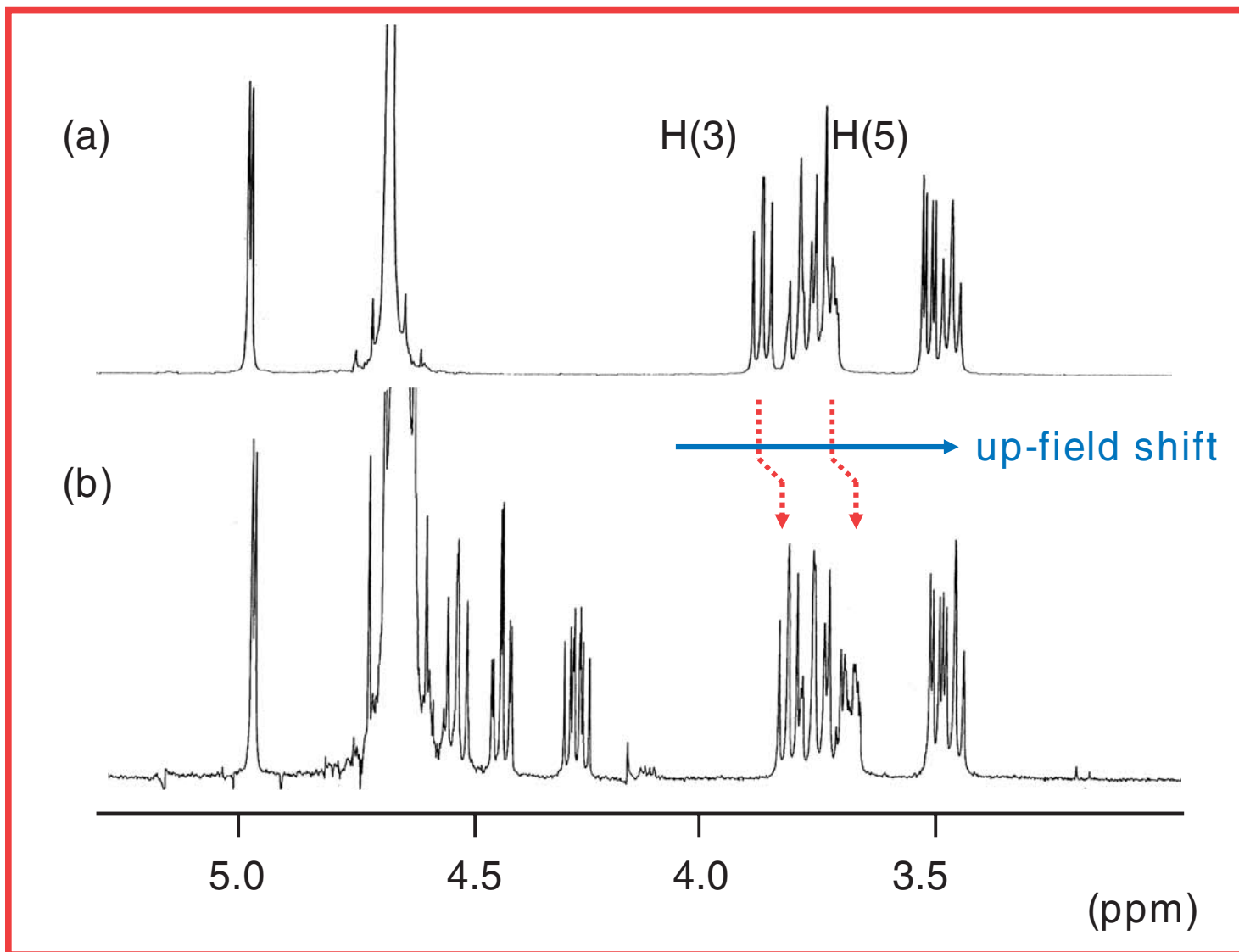
β -シクロデキストリン(β -CD)について

- ・グルコースが7個環状になった天然に存在する化合物
- ・空孔内は疎水性、外側は親水性
- ・食品、医療品などの幅広い分野で利用されている

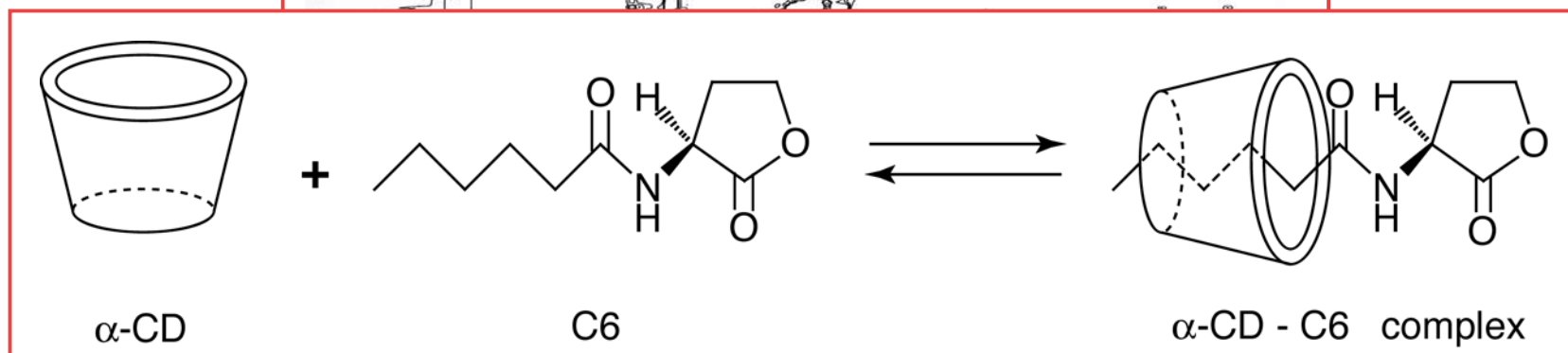
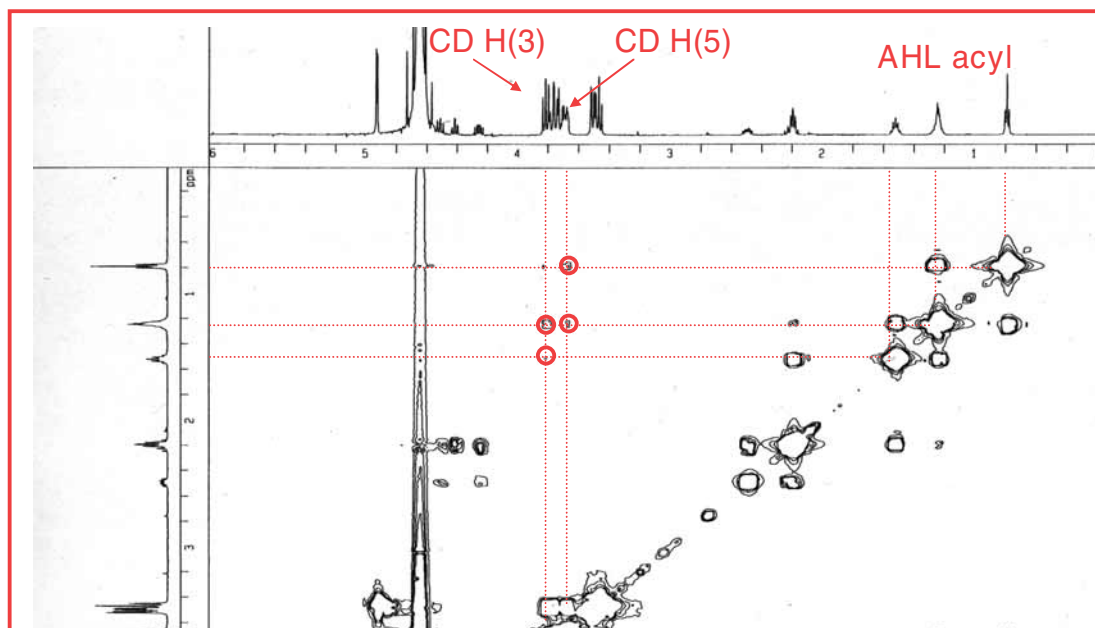


無置換のCDには選択性がな
いため**50%程度**のQS阻害効
果しか示さない

^1H -NMR spectra of (a) α -CD and (b) α -CD-C6-HSL complex

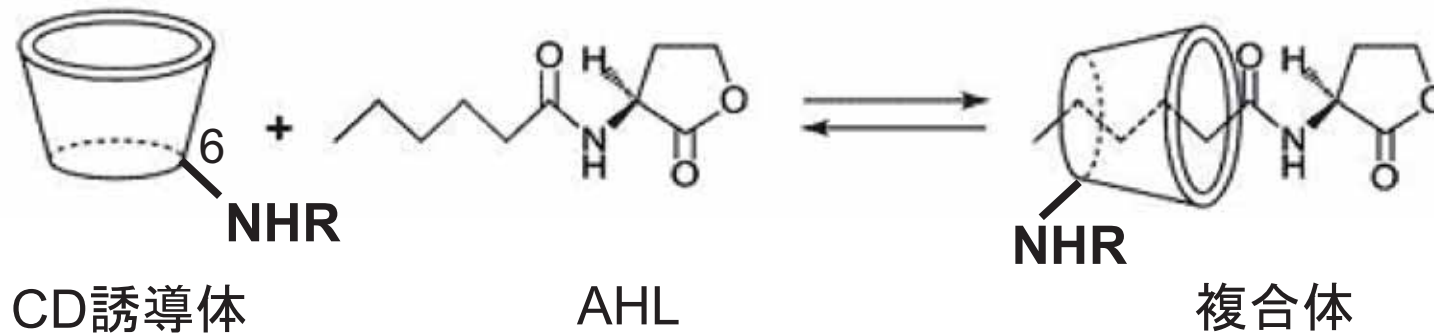


ROESY spectrum of α -CD-C6-HSL complex in D_2O



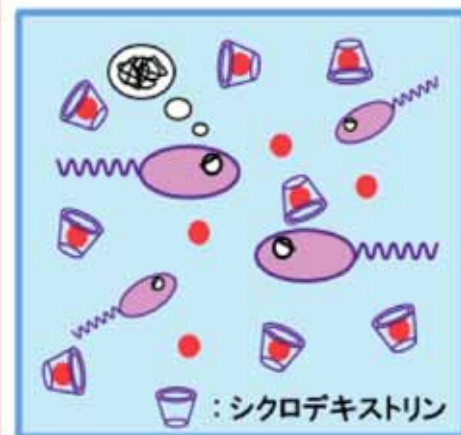
本研究の目的

新規CD誘導体の選択性の向上



Scheme 1. CD誘導体によるAHLの認識

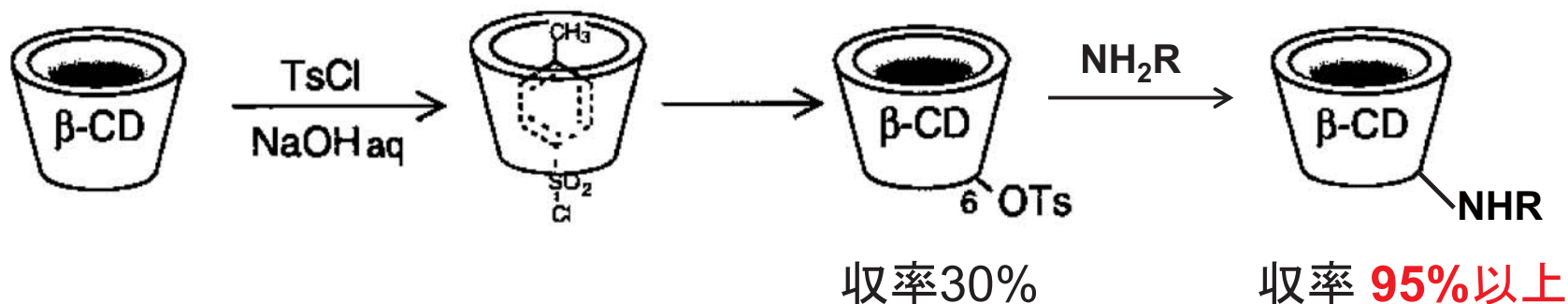
QSが阻害され、病原性の発現の抑制が可能



新規の感染症治療薬

- ・ 抗生物質と違い、菌を殺す薬剤を投与しないので、耐性菌の蔓延の**リスクが非常に低い**
- ・ AHLの基本骨格は共通しており、**幅広いグラム陰性細菌に応用できる**

新規CD誘導体の合成



Scheme 2. 新規CD誘導体の合成



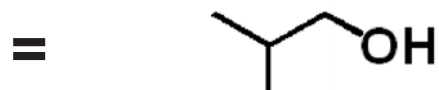
: 直鎖アルキル



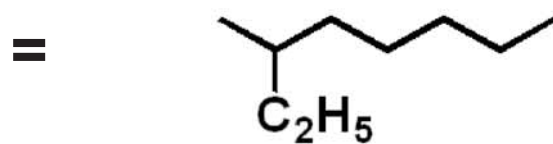
: アルキル末端に芳香環



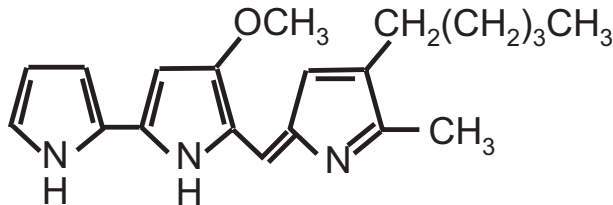
: エチレンアミン、
ポリエチレングリコール



: 枝分かれアルキル



CDの阻害効果を調べるためのモデル病原菌



赤色色素 **Prodigiosin** 生産
Serratia marcescens AS-1
(セラチア菌)

グラム陰性細菌、日和見感染菌

複数のAHL生産



クォーラムセンシングにより
運動性、バイオフィルム形成など
複数の病原性因子

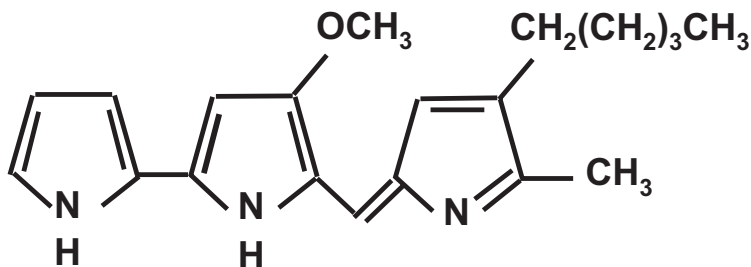
+ 赤色色素生産 を制御

クォーラムセンシング(病原性)に対する 阻害効果 を
赤色色素生産の減少 として視覚的に確認できる



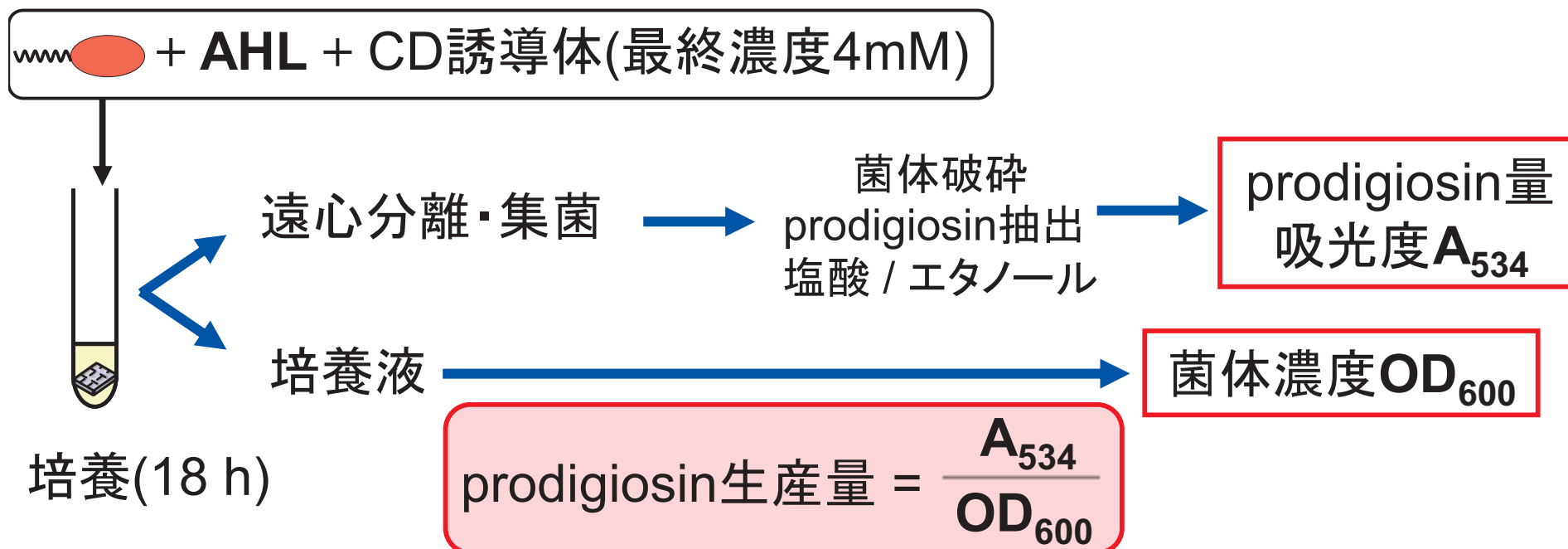
CD誘導体の阻害効果の評価を ハイスループット化

Prodigiosin生産量の測定

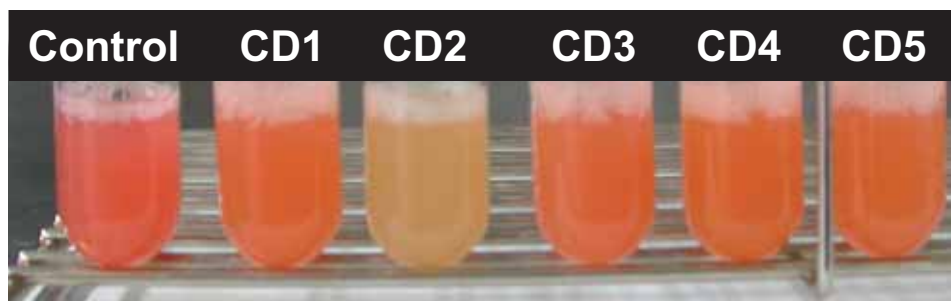
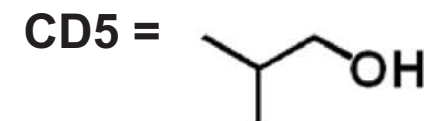
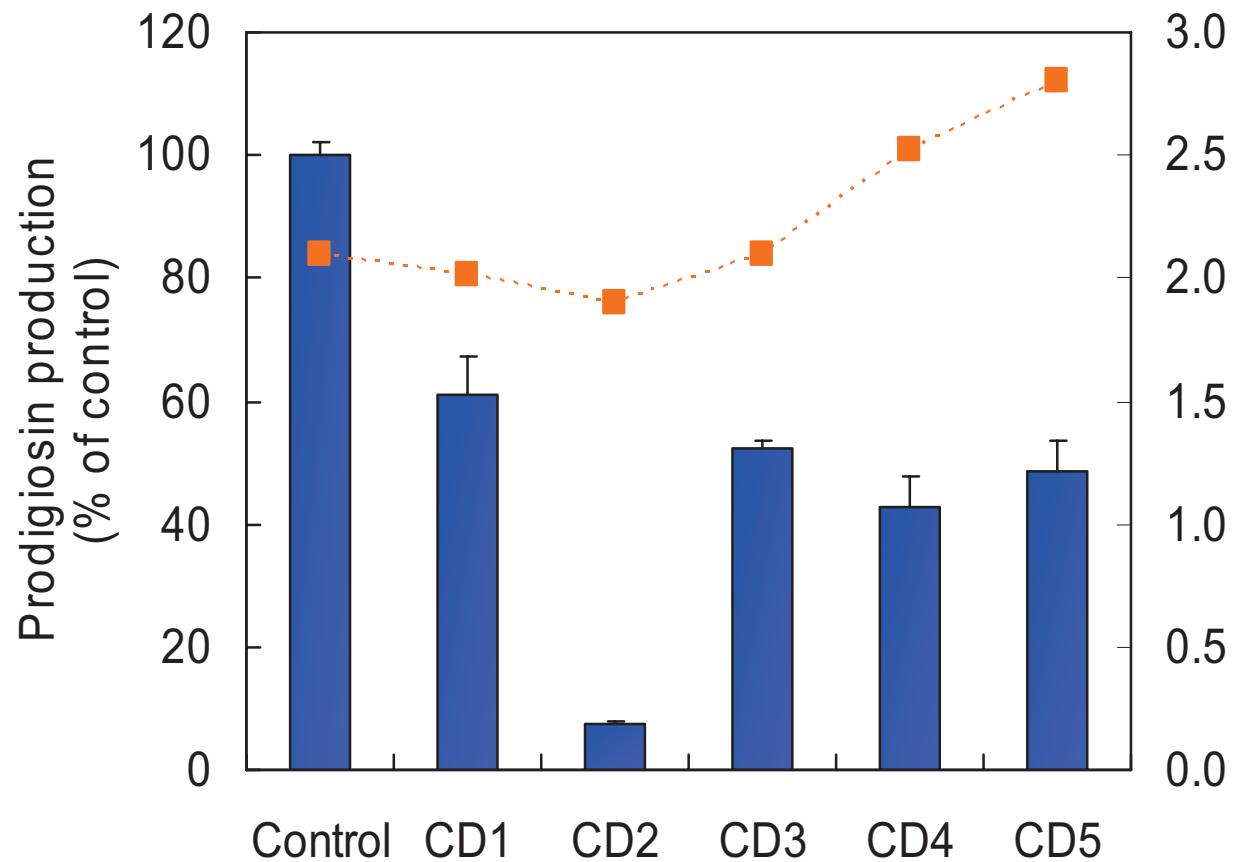


赤色色素 **prodigiosin**

Serratia marcescens AS-1 (セラチア菌)

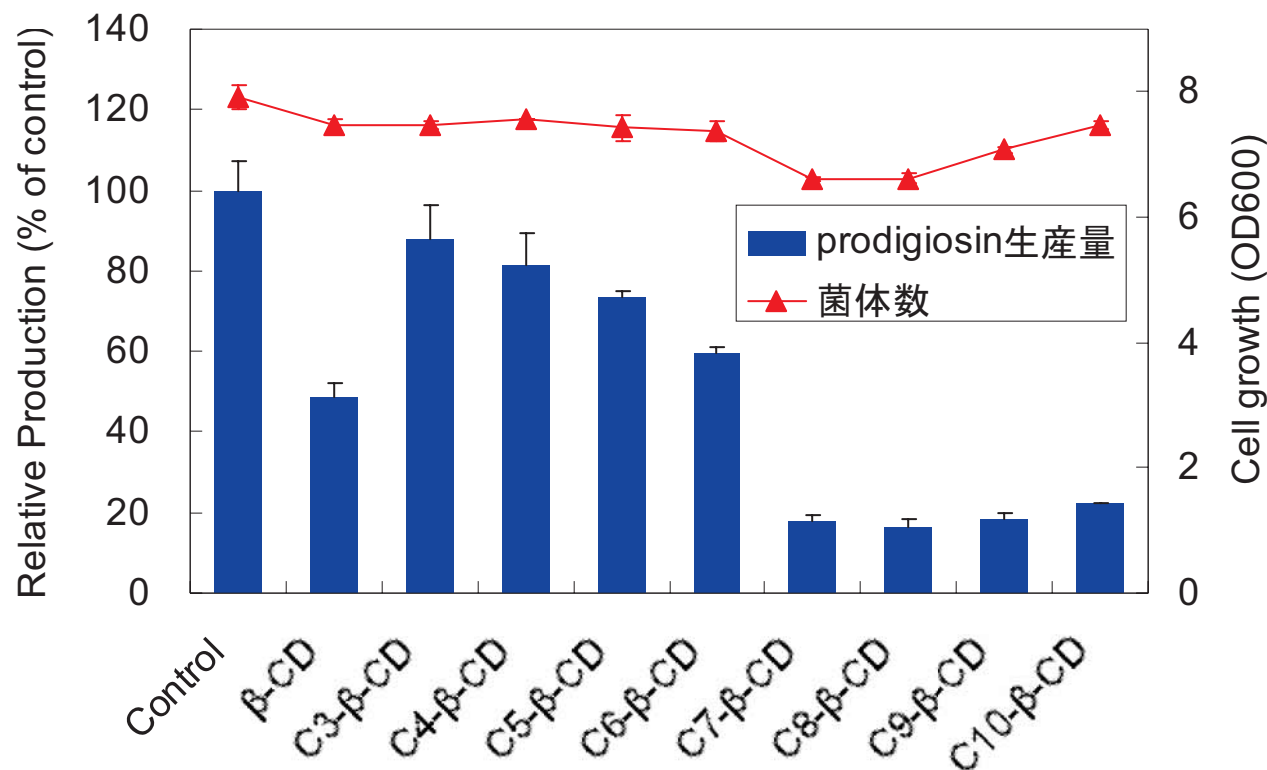


QS阻害効果



直鎖で、ある程度の長さがあるアルキル鎖のものにQS阻害効果あり

新規CD誘導体のQS阻害結果



・アルキル鎖がC7以上のアミノCD誘導体は**80%以上**のQS阻害効果が見られた

・C9,C10アミノCD誘導体の菌体数の変化は少なく、毒性が低い

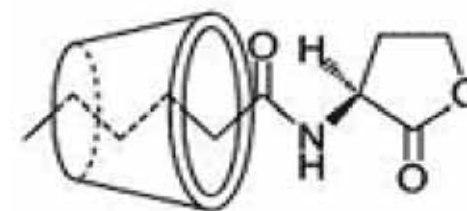
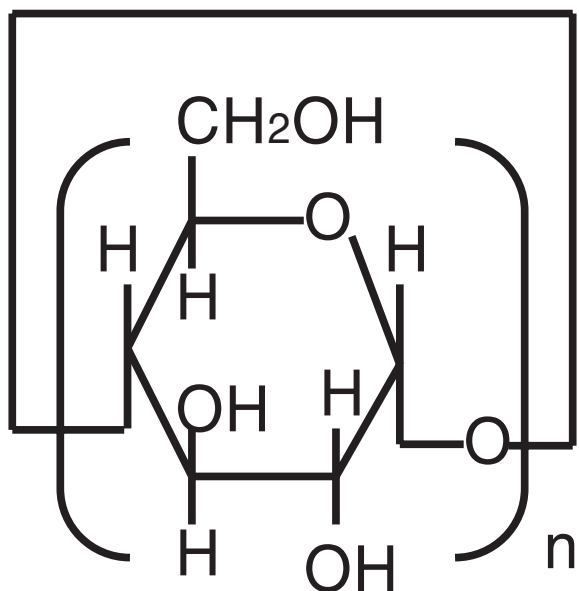


Figure 1. C3~C10アミノ β -CDの添加によるAS-1株のprodigiosin生産に対するQS阻害効果

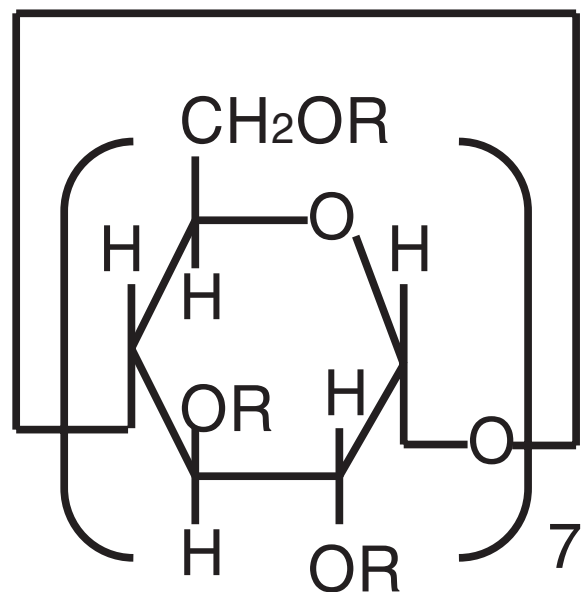
現在合成済みまたは合成中のCD誘導体



$n = 6 : \alpha\text{-CD}$

$n = 7 : \beta\text{-CD}$

$n = 8 : \gamma\text{-CD}$

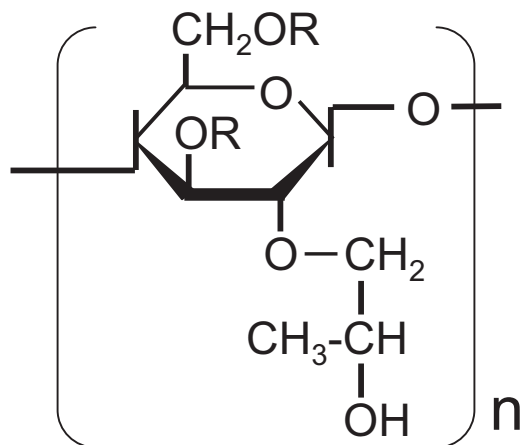


$R = -\text{CH}_3$ or $-\text{H}$

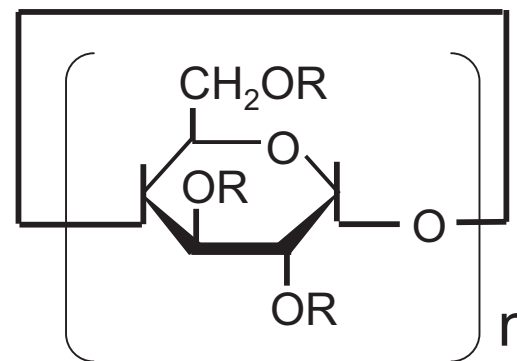
$R = -\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$

or
 $-\text{H}$

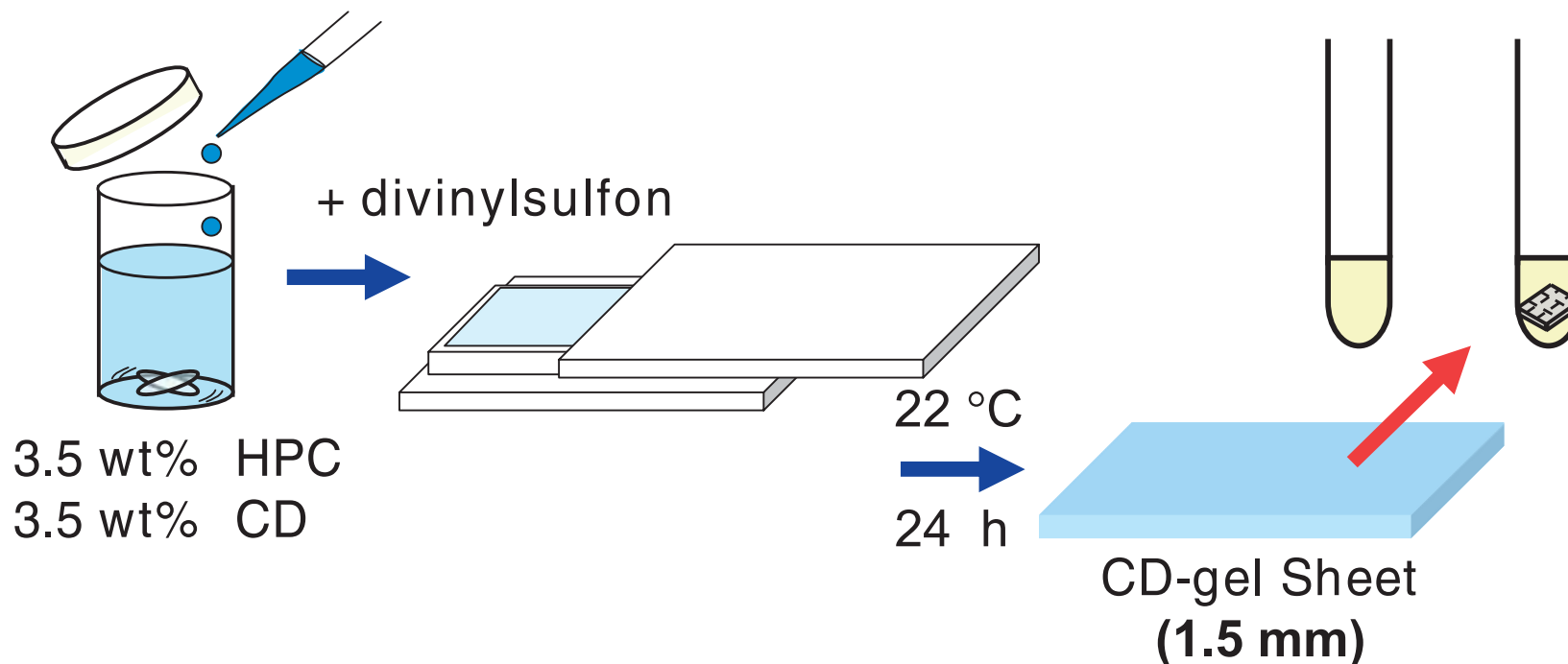
CD含有ゲルシートの合成 (応用例)



Hydroxypropyl cellulose (HPC)
Mw 100,000



α -CD, γ -CD, HP- β -CD
R = -CH₂CH(OH)CH₃ or -H



結論



アルキル鎖が直鎖で、C7以上のアミノ β -CD誘導体はAS-1株のprodigiosin生産に対するQS阻害効果が見られた。

アルキル鎖がC7以上のアミノ β -CD誘導体はAHLと複合体を形成しやすいと推測される。

特にアルキル鎖がC9,C10アミノ β -CD誘導体のQS阻害効果が高いにも関わらず、菌体数の変化は少なく、極めて毒性が低いことが明らかとなった。

ゲルに練りこんでもQS阻害効果は維持される。

新技術の特徴・従来技術との比較



- 消毒剤とは異なり、毒性がきわめて低い
ため、安全性が高い。
- 従来必要不可欠であった遺伝子操作が
全く必要ない。
- 耐性菌の出現の心配が無い。
- 安価な市販試薬から容易に合成が可能。

想定される用途

- 家庭内の排水溝の「ぬめり」防止剤
- 医療機関で用いられるカテーテル表面での病原菌の増殖防止添加剤
- 下水処理場等の水質浄化剤

など

想定される業界

- 利用者・対象
一般家庭、事業所、工場、医療機関
など
- 市場規模
相当の市場規模（用途が多岐にわたる
ため予測不能）

実用化に向けた課題



- セラチアや緑膿菌に対するQS阻害効果を有するCD誘導体を得ることに成功したが、今後も引き続き、更なる性能の向上を図る。
- その他の病原体に対するQS阻害効果を有するものの合成も検討する。
- 毒性についての知見を得る。

企業への期待



- 化合物の合成は極めて容易であるため、商品化を視野に入れた民間企業との共同研究を強く望みます（他テーマで共同研究の実績あり：今年度で6年目で継続）。
- 企業の視点からのアイデアを強く望みます。

本技術に関する知的財産権



- 発明の名称：
シクロデキストリン誘導体、シクロデキストリン
誘導体の製造方法、及びクオラムセンシング
の阻害方法
- 出願番号：特願2008-135674
- 出願人：宇都宮大学
- 発明者：伊藤智志、諸星知広、池田宰、
加藤紀弘



お問い合わせ先

宇都宮大学

特任教授 近藤 三雄（弁理士）

TEL 028-689-6325

FAX 028-689-6325

e-mail kondou@cc.utsunomiya-u.ac.jp