

27U-am09

微生物培養液からの赤痢アメーバ特異的システイン合成経路阻害物質の探索
○深澤 航¹, 柘植 聡志², 森 美穂子^{2,3}, 野中 健一^{2,3}, 松本 厚子^{2,3}, 野崎 智義⁴, 大村 智³,
塩見 和朗^{2,3} (北里大理,²北里大感染制御,³北里大生命研,⁴感染研)

【目的】赤痢アメーバ症は単細胞の寄生虫(原虫)である赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) が大腸に寄生することにより起こる下痢症で、脳や肝臓に本原虫が侵入すると膿瘍を形成し、死に至るケースもある。感染者は世界で 5,000 万人、死亡者数は 10 万人と推定されている。治療薬として主にメトロニダゾールが用いられているが、耐性原虫の出現が報告されており、異なる作用機序を持つ新薬の開発が望まれている。赤痢アメーバは生育に必須なシステインをセリン-アセチル転移酵素 (EhSAT) とシステイン合成酵素 (EhCS) から成る赤痢アメーバ特異的な合成経路で合成している。この赤痢アメーバ特異的な経路上の酵素を阻害する物質は抗赤痢アメーバ薬のシーズとなりうると考え、微生物培養液から酵素阻害物質を探索した。

【方法】本研究では赤痢アメーバが持つ 3 種類の CS のうち、アミノ酸相同性の低い EhCS1 と EhCS3 を阻害する物質を探索した。96 穴プレートに乾固させたサンプルを DMSO 水溶液で溶解後、*O*-アセチルセリンと無機硫黄、酵素を加え 37°C で 10 分間反応させた。次に酸ニンヒドリン試薬を加え 95°C で 10 分間加熱した後、エタノールを加えて反応を止め、550 nm の吸光度を測定して酵素反応により生成したシステインを検出した。糸状菌および放線菌の培養液は等量のエタノールを加えて抽出後、遠心分離し得られた上清をスクリーニングに用いた。

【結果と考察】微生物培養液 2,660 サンプル (糸状菌 1,600 サンプル、放線菌 1,060 サンプル) 中 125 サンプル (糸状菌 65 サンプル、放線菌 60 サンプル)、天然化合物ライブラリー 134 化合物中 9 化合物に CS 阻害活性を見出した。スクリーニングで強い阻害活性を示した *Aspergillus* 属糸状菌の培養物より、ナフトキノ系化合物を酵素阻害物質として単離した。