

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H04975

研究課題名(和文) 含ハロゲン船底防汚物質のケミカルバイオロジー

研究課題名(英文) Chemical Biology of Halogenated Antifouling Compounds

研究代表者

沖野 龍文 (Okino, Tatsufumi)

北海道大学・地球環境科学研究所・教授

研究者番号：30280910

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：紅藻マギレソゾのバナジウム依存型プロモペルオキシダーゼのスクワレンテトラエボキンドについて、反応条件を最適化することに成功し、MSレベルで産物を同定した。海洋藍藻から、塩素を含む長鎖アシルアミドであるコロンバマイド、含塩素ペプチドのリングピアベリンを単離・構造決定し、一部は全合成にも成功した。また、臭素を含むオマエザレンの誘導体を合成し、その付着阻害活性を評価した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臭素や塩素などのハロゲンを含む化合物は海洋天然物に多いことが知られているが、本研究においても海洋藍藻からそのようなユニークな化合物を発見することができた。また、海藻由来のハロゲンを導入する酵素についても、その性質を明らかにすることができ、医薬品の候補物質等にハロゲンを導入することに使える可能性がある。発見した化合物は船底防汚塗料として開発されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Reaction condition of vanadium-dependent bromoperoxidase from the red alga *Laurencia saitoi* was optimized to propose its products by MS. Chlorinated compounds were isolated from marine cyanobacteria.

研究分野：天然物化学

キーワード：フジツボ 絶対立体配置 付着阻害 藍藻 プロモペルオキシダーゼ ペプチド 塩素 臭素

1. 研究開始当初の背景

船底防汚塗料は、付着生物を防止するために必要不可欠である。しかしながら、有機スズ化合物の国際条約による禁止に続き、有機スズに代わる代替防汚塗料も一部では禁止の措置がとられていた。水生生物の皮膚を模倣したヒドロゲルなど新しい技術も使われ始めたが、付着防止機能は十分でない。そこで、環境に優しく効果の高い防汚物質の開発が世界的に求められていたし、この状況は現在も続いている。

我々は、紅藻ソゾ由来の多くの含ハロゲン化合物にフジツボ幼生に対する付着阻害活性を見いだしていた。特に、2015年度で終了した科研費基盤研究では、オマエザレンの構造決定を全合成に成功していた。また、ポリエーテルトリテルペノイドであるチルシフェロール類にも付着阻害活性が見いだされていた。

これら化合物の開発を進めるにあたって生合成研究が重要である。紅藻ウラソゾでは、我々が全研究でバナジウム依存型プロモペルオキシダーゼのクローニングに成功し、組み換えタンパク質を用いて末端を保護した前駆体のローレジオールからデアセチルローレンシンに変換する反応を触媒することを示していた。しかしながら、その当時は、反応収率の低さが問題点として残され、トリテルペノイドなど多様な化合物に対して同じような酵素が関与するかという疑問も残っていた。

2. 研究の目的

第一に、藍藻類から船底防汚塗料に利用できるフジツボ幼生付着阻害物質および含ハロゲン化合物を探索する。

第二に、紅藻マギレソゾのトリテルペノイドの生合成反応のキーステップである臭素化反応の解明を目指す。

第三に、有機合成により含ハロゲン付着阻害物質の供給を目指す。

3. 研究の方法

(1) 藍藻の付着阻害物質および含ハロゲン化合物

マレーシア産の海洋藍藻からタテジマフジツボ幼生付着阻害活性を指標に含ハロゲン化合物の単離・精製および機器分析・化学変換による構造決定を行う。

(2) 紅藻マギレソゾのバナジウム依存型プロモペルオキシダーゼ

マギレソゾから得られたバナジウム依存型プロモペルオキシダーゼの組み換えタンパク質を用いて、有機合成により調製したスクワレンテトラエポキシドを前駆体として反応を行った。反応条件を種々検討し、得られた産物をLC/MSおよびNMRにより分析した。

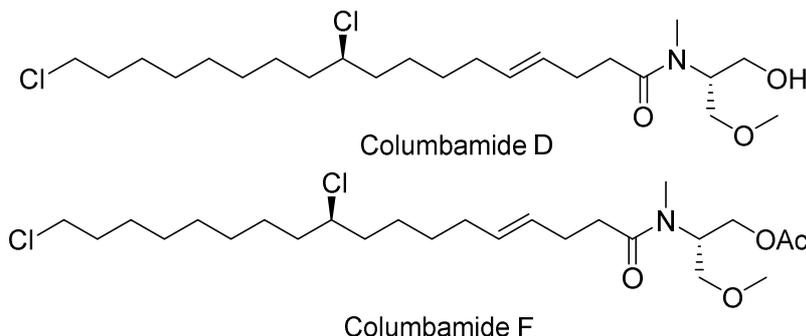
(3) 有機合成

各種付着阻害物質を合成し、タテジマフジツボ幼生付着阻害活性試験に供した。

4. 研究成果

(1) 藍藻の付着阻害物質および含ハロゲン化合物

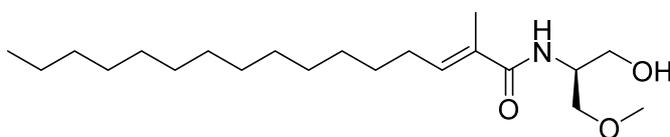
塩素を長鎖アシル基の中央部に含むアミド columbamides D-H をマレーシア・サバ州の海洋藍藻 *Moorea bouillonii* から単離し、構造を決定した。特に2つの不斉炭素のうち塩素が結合する炭素の立体配置を決定するのは困難である。Columbamide Dでは、2種の立体異性体を全合成し、キラルHPLCにより天然物と比較することでその立体配置を決定した。次に、columbamide Fでは、アシル基の部分だけに対して大類試薬により誘導化した2種類の立体異性体を調製した。また、天然物の加水分解物から大類誘導体を調製し、キラルHPLCで比較した。通常大類誘導体の分離は-40程度の低温でHPLCを実施するという極めて困難なものであるが、キラルHPLCで分析することで短時間に室温条件で実施することができ、絶対立体配置の決定に至った。全合成の必要性がないという意味でこの種の脂肪酸アミドの立体配置決定を容易にするとともに、大類法をより容易に使用することを示すことができた。



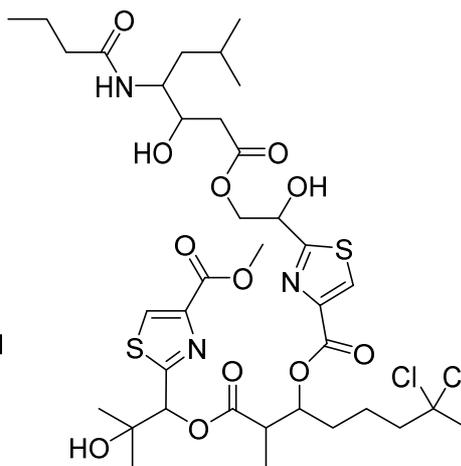
サウジアラビアで採集した海洋藍藻 *Okeania* sp. から塩素を有するペプチドである lyngbyabellin 類を単離し、2 種の新規化合物について、絶対立体配置を含めて構造決定することができた。既知化合物を含めて 4 種の lyngbyabellin 類についてタテジマフジツボのキブリス幼生に対する付着阻害活性と MCF-7 に対する細胞毒性を調べたところ、顕著な活性が認められる一方、活性に重要な構造部位が異なることが明らかになった。

同じ藍藻から得られた脂肪酸アミドの serinolamides C, D は、フジツボ幼生の付着を遅らせる効果があった。

さらに、同じ藍藻から環状ペプチドの dolastatin 16 が得られた。既に dolastatin 16 の非常に強い付着阻害活性が報告されているが、我々が得た天然物でもその活性が確かめられた。



Serinolamide C



Lyngbyabellin P

(2) 紅藻マギレソゾのバナジウム依存型プロモペルオキシダーゼ

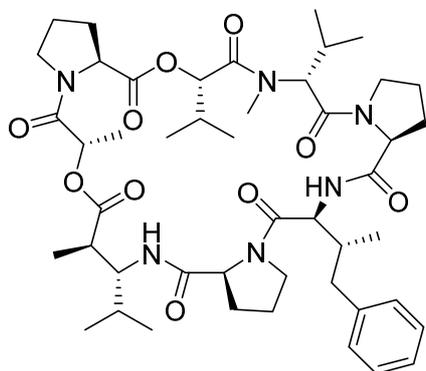
第一に、組み換え酵素の精製法を改良し、安定な酵素を大量に調製することが可能となった。APCI イオン源を用いた LC/MS を用いることにより前駆体と産物を高感度に分析することが可能となった。さらに、pH、反応時間、その他反応条件を最適化することにより天然の藻体内で起きている反応の産物と考えられる 2 種の化合物の収率を上げることができた。うち 1 種については MS のレベルで天然物と同定した。残りの 1 種については天然物に近い構造を有すると推定しており、収量の増加により構造決定の目途が立った。

(3) 有機合成

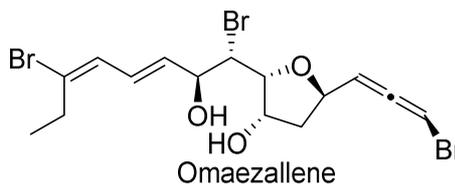
前述の通り columbamide D の全合成に成功し、天然物の絶対立体配置の決定に寄与した。

Dolastatin 16 の単離は上に述べているが、全合成にも成功した。Dolastatin 16 は、最初の単離報告で極めて強い細胞毒性が報告されたが、その後の単離報告では細胞毒性が弱いというデータもあった。一方、強い付着阻害活性の報告も出ていた。その後、我々の報告に先立って全合成の報告があり細胞毒性がないことが示された。今回合成した dolastatin 16 を使った試験の結果、確かに細胞毒性はない一方で、強い付着阻害活性が確かにあることが確認された。

ソゾの一種から以前報告した臭素を含む omaezallene について、各種類縁体、構造の一部を除いたもの、蛍光官能基を結合させた化合物などを合成して、付着阻害活性を評価した。



Dolastatin 16



Omaezallene

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 9件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Nakamura Fumiaki, Maejima Hiroshi, Kawamura Midori, Arai Daisuke, Okino Tatsufumi, Zhao Meng, Ye Tao, Lee Jungyeol, Chang Young-Tae, Fusetani Nobuhiro, Nakao Yoichi	4. 巻 28
2. 論文標題 Kakeromamide A, a new cyclic pentapeptide inducing astrocyte differentiation isolated from the marine cyanobacterium <i>Moorea bouillonii</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 2206 ~ 2209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.04.067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kumagai Momochika, Nishikawa Keisuke, Matsuura Hiroshi, Umezawa Taiki, Matsuda Fuyuhiko, Okino Tatsufumi	4. 巻 23
2. 論文標題 Antioxidants from the Brown Alga <i>Dictyopteris undulata</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 1214 ~ 1214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.3390/molecules23051214	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Umezawa Taiki, Prakoso Nurcahyo Iman, Kannaka Miho, Nogata Yasuyuki, Yoshimura Erina, Okino Tatsufumi, Matsuda Fuyuhiko	4. 巻 16
2. 論文標題 Synthesis and Structure-Activity Relationship of Omeazallene Derivatives	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemistry & Biodiversity	6. 最初と最後の頁 e1800451
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbdv.201800451	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Susilowati Fitria, Tri Swasono Respati, Okino Tatsufumi, Haryadi Winarto	4. 巻 12
2. 論文標題 IN VITRO CYTOTOXIC ANTICANCER POTENTIAL OF BIOACTIVE FRACTION ISOLATED FROM INDONESIAN TIDAL SPONGE <i>CALTHROPELLA</i> SP.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research	6. 最初と最後の頁 380 ~ 380
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i1.23655	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shiomoto Shohei, Yamaguchi Yuka, Yamaguchi Kazuo, Nogata Yasuyuki, Kobayashi Motoyasu	4. 巻 51
2. 論文標題 Adhesion force measurement of live cypris tentacles by scanning probe microscopy in seawater	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Polymer Journal	6. 最初と最後の頁 51 ~ 59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1038/s41428-018-0120-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Umezawa Taiki, Matsuda Fuyuhiko	4. 巻 35
2. 論文標題 A study on synthesis of antifouling natural products and their derivatives	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sessile Organisms	6. 最初と最後の頁 35 ~ 44
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.4282/sosj.35.35	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Lopez Julius Adam V., Petitbois Julie G., Vairappan Charles S., Umezawa Taiki, Matsuda Fuyuhiko, Okino Tatsufumi	4. 巻 19
2. 論文標題 Columbamides D and E: Chlorinated Fatty Acid Amides from the Marine Cyanobacterium Moorea bouillonii Collected in Malaysia	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 4231 ~ 4234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.7b01869	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Oguri Yuko, Watanabe Mami, Ishikawa Takafumi, Kamada Takashi, Vairappan Charles, Matsuura Hiroshi, Kaneko Kensuke, Ishii Takahiro, Suzuki Minoru, Yoshimura Erina, Nogata Yasuyuki, Okino Tatsufumi	4. 巻 15
2. 論文標題 New Marine Antifouling Compounds from the Red Alga Laurencia sp.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Marine Drugs	6. 最初と最後の頁 267 ~ 267
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/md15090267	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Petitbois Julie G., Casalme Loida O., Lopez Julius Adam V., Alarif Walied M., Abdel-Lateff Ahmed, Al-Lihaibi Sultan S., Yoshimura Erina, Nogata Yasuyuki, Umezawa Taiki, Matsuda Fuyuhiko, Okino Tatsufumi	4. 巻 80
2. 論文標題 Serinolamides and Lyngbyabellins from an Okeania sp. Cyanobacterium Collected from the Red Sea	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 2708 ~ 2715
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.7b00449	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Petitbois, Julie, 沖野龍文	4. 巻 52
2. 論文標題 海洋生物由来の天然有機化学物質による付着生物阻害効果	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本マリンエンジニアリング学会誌	6. 最初と最後の頁 33-37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Casalme, L. O., Yamauchi, A., Sato, A., Petitbois, J. G., Nogata, Y., Yoshimura, E., Okino, T., Umezawa, T., & Matsuda, F.	4. 巻 15
2. 論文標題 Total synthesis and biological activity of dolastatin 16	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Org. Biomol. Chem.	6. 最初と最後の頁 1140-1150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c6ob02657e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kamada Takashi, Phan Chin-Soon, Okino Tatsufumi, Vairappan Charles Santhanaraju	4. 巻 6
2. 論文標題 Cytotoxicity and Antibacterial Potential of Halogenated Chamigrenes from Malaysian Red Alga, Laurencia majuscula	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Planta Medica International Open	6. 最初と最後の頁 e36 ~ e40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/a-0977-4418	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Mehjabin Jakia Jerin, Wei Liang, Petitbois Julie G., Umezawa Taiki, Matsuda Fuyuhiko, Vairappan Charles S., Morikawa Masaaki, Okino Tatsufumi	4. 巻 83
2. 論文標題 Biosurfactants from Marine Cyanobacteria Collected in Sabah, Malaysia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.0c00164	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Al-Lihaibi Sultan Semran, Abdel-Lateff Ahmed, Alarif Walied Mohamed, Alorfi Hajer Saeed, Nogata Yasuyuki, Okino Tatsufumi	4. 巻 2019
2. 論文標題 Environmentally Friendly Antifouling Metabolites from Red Sea Organisms	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Chemistry	6. 最初と最後の頁 1~15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2019/3278394	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 沖野龍文	4. 巻 54
2. 論文標題 海洋生物由来の天然有機物質による付着生物阻害効果	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 塗装工学	6. 最初と最後の頁 452~456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件(うち招待講演 6件/うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Tatsufumi Okino
2. 発表標題 Chemical and Biological Diversity of Marine Cyanobacteria
3. 学会等名 6th Biennial International Conference on New Developments in Drug Discovery from Natural Products and Traditional Medicines (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 梅澤大樹
2. 発表標題 Total Synthesis of Antifouling Natural Products toward Development of Molecular Probe
3. 学会等名 International Congress on Pure & Applied Chemistry Langkawi (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水谷央・梅澤大樹・松田冬彦
2. 発表標題 オマエザレン誘導体の合成研究
3. 学会等名 第30回記念 万有札幌シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水谷央・梅澤大樹・松田冬彦
2. 発表標題 オマエザレン鏡像体の合成研究
3. 学会等名 北海道支部2018年夏季研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 沖野龍文
2. 発表標題 付着阻害物質研究の進展
3. 学会等名 2017年度日本付着生物学会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 沖野龍文
2. 発表標題 Antifouling Marine Natural Products---Secondary Metabolites from Red Algae <i>Laurencia</i> spp. and Cyanobacteria
3. 学会等名 11th International Symposium on Marine Engineering (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 沖野龍文
2. 発表標題 Potential of Marine Cyanobacteria as Anti-Cancer Agent Sources
3. 学会等名 8th Asian Pacific Phycological Forum (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Petitbois Julie, Casalme Loida, Lopez Julius, Alarif Walied, Abdel-Lateff Ahmed, Al-Lihaibi Sultan, 吉村えり奈、野方靖行、梅澤大樹、松田冬彦、沖野龍文
2. 発表標題 Antifouling Lyngbyabellins from an Okeania sp. Cyanobacterium
3. 学会等名 化学系学協会北海道支部2018年冬季研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Julie Gabrielle Petitbois, Ahmed Abdel-Lateff, Walied M. Alarif, Seif-Eldin N. Ayyad, Sultan S. Al-Lihaibi, Erina Yoshimura, Yasuyuki Nogata, Tatsufumi Okino
2. 発表標題 Antifouling strategy compounds from Red Sea organisms
3. 学会等名 18th International Congress on Marine Corrosion and Fouling (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Julie Gabrielle Petitbois, Julius Adam Velasco Lopez, Sultan S. Al-Lihaibi, Walied M. Alarif, Ahmed Abdel-Lateff, Charles S. Vairappan, Tatsufumi Okino
2. 発表標題 Acyl amides from the cyanobacteria Okeania sp. collected in the Red Sea and Moorea bouillonii in Malaysia
3. 学会等名 第58回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Julie Gabrielle Petitbois, Sultan S. Al-Lihaibi, Walied M. Alarif, Ahmed Abdel-Lateff, Tatsufumi Okino
2. 発表標題 Isolation of Lyngbyabellins from Okeania sp.
3. 学会等名 平成29年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Julius Adam Lopez, Charles S. Vairappan & cedil; Tatsufumi Okino
2. 発表標題 Cytotoxic Natural Products from Moorea bouillonii Collected from Malaysia
3. 学会等名 第18回マリンバイオテクノロジー学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Okino Tatsufumi
2. 発表標題 Structure Elucidation of Cytotoxic Compounds from Marine Cyanobacteria
3. 学会等名 24th National Symposium of Natural Products Chemistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 沖野龍文
2. 発表標題 ラン藻のつくる機能性物質の多様性
3. 学会等名 平成28年度 公益社団法人日本農芸化学会 北海道支部第1回講演会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Mehjabin J. J., Petitbois, 梅澤大樹、松田冬彦、沖野龍文
2. 発表標題 藍藻Moorea bouilloniiから得られたバイオサーファクタント
3. 学会等名 令和2年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mehjabin J. J., Petitbois, J. G., Liang W., Okino, T.
2. 発表標題 Isolation of Secondary Metabolites from Marine Cyanobacteria and their Biosurfactant Activity
3. 学会等名 23rd International Seaweed Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mehjabin J. J., Petitbois, J. G., Liang W., Okino, T.
2. 発表標題 Biosurfactants from Marine Cyanobacteria
3. 学会等名 第14回化学生態学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mehjabin J. J., Petitbois, J. G., Liang W., Okino, T.
2. 発表標題 Biosurfactants from Marine Cyanobacteria
3. 学会等名 ASP Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mehjabin J. J., Lopez, J. A. V., Umezawa, T., Matsuda, F., Okino, T.
2. 発表標題 Halogenated biosurfactants from Moorea bouillonii collected in Sabah Malaysia
3. 学会等名 Marine Biotechnology Conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野方 靖行 (Nogata Yasuyuki) (10371535)	一般財団法人電力中央研究所・環境科学研究所・上席研究員 (82641)	
研究分担者	梅澤 大樹 (Umezawa Taiki) (20503618)	北海道大学・地球環境科学研究所・准教授 (10101)	
研究分担者	森本 善樹 (Morimoto Yoshiki) (90244631)	大阪市立大学・大学院理学研究科・教授 (24402)	