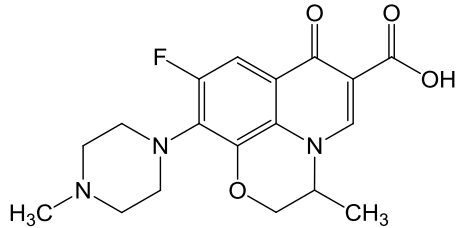


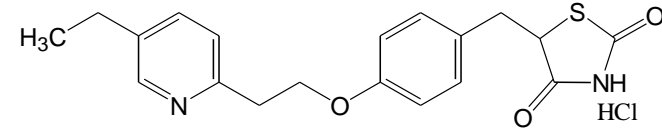
醜酵産物の医薬品資源としての価値 とプロセス研究による価値創造

2013.06.06
アステラス製薬(株)
日野資弘

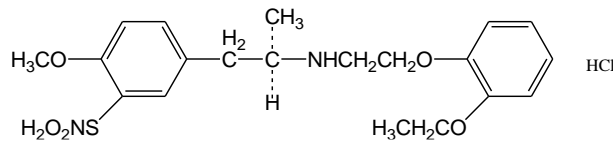
合成化合物由来の医薬品



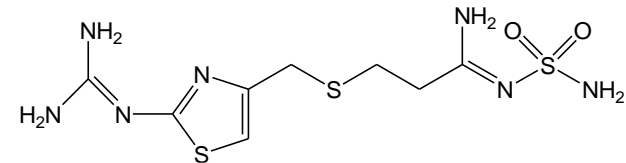
Levofloxacin
抗生剤



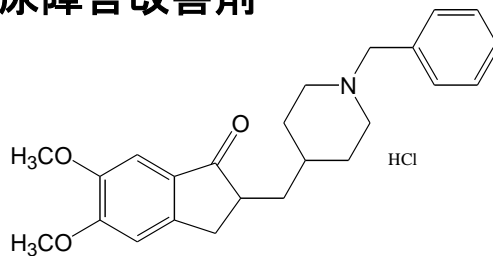
Pioglitazone hydrochloride
血糖降下剤



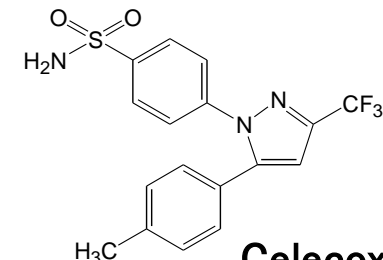
Tamsulosin
前立腺肥大症の
排尿障害改善剤



Famotidine
H2 拮抗剤

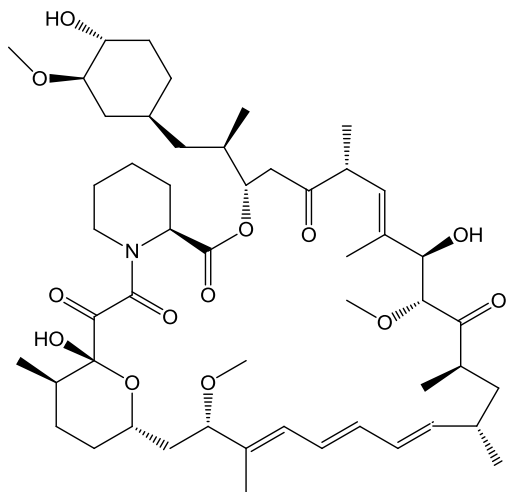


Donepezil hydrochloride
アルツハイマー治療剤

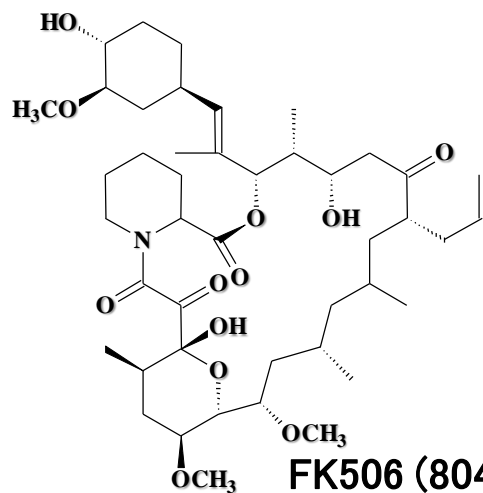


Celecoxib
抗炎症剤

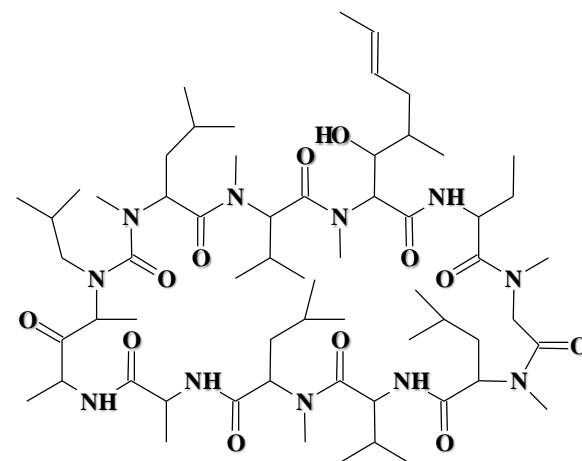
醜酵産物の化学的多様性



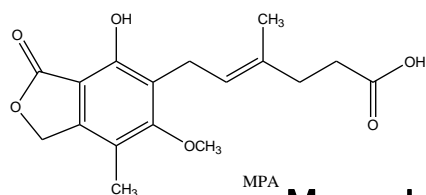
Rapamycin (914)
免疫抑制剤



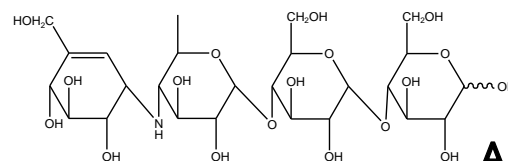
FK506 (804)
免疫抑制剤



Cyclosporin A (1202)
免疫抑制剤



Mycophenolic acid (320)
免疫抑制剤

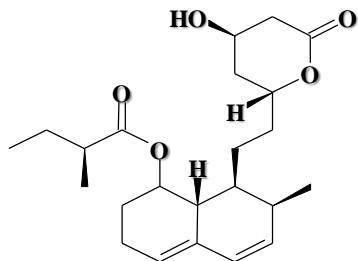


Acarbose (645)
血糖降下剤

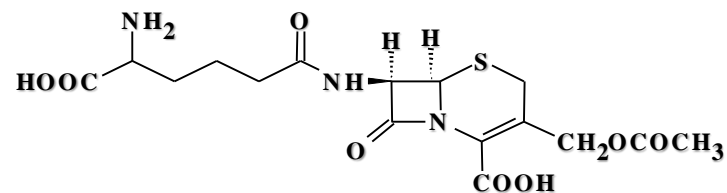
LipinskiのRule of 5

- 分子量 (<500)
 - 水素結合受容体(NとO) (<10)
 - 水素結合供与体(OH, NH) (<5)
- に該当しない多様な構造を有した経口剤

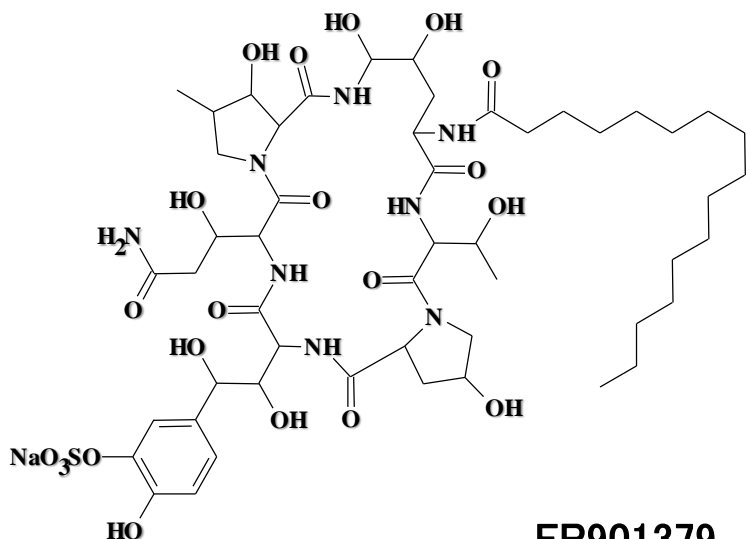
醜酵産物の化学的多様性



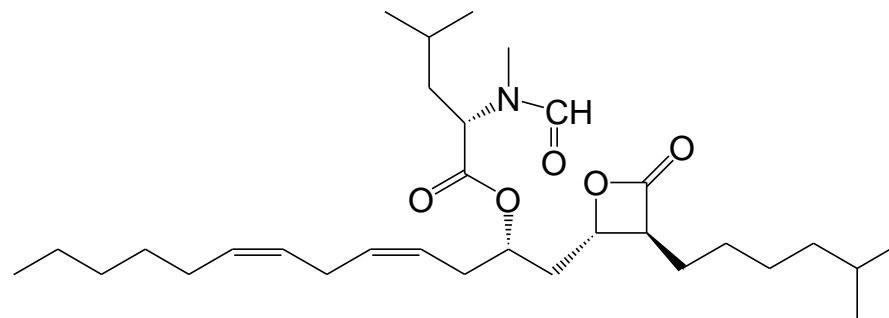
ML236B
脂質低下剤



CCNa
抗細菌剤



FR901379
抗真菌剤(注射)



Lipstatin
抗肥満剤

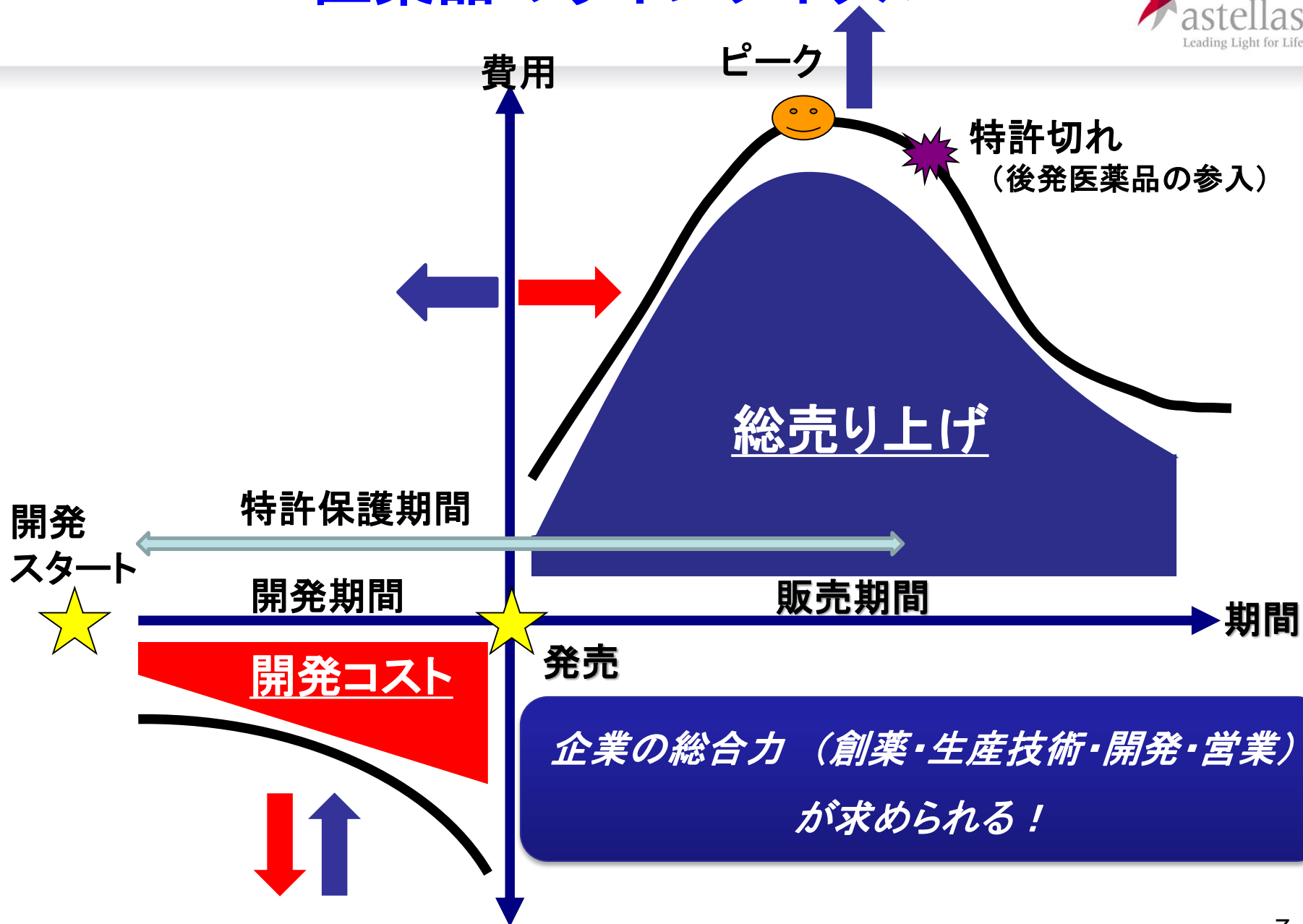
醱酵産物由来医薬品の抗微生物活性

薬剤	薬理作用	抗微生物活性
Penicillin	抗細菌	細胞壁合成阻害
Cephalosporin	抗細菌	細胞壁合成阻害
Erythromycin	抗細菌	蛋白合成阻害
Pneumocandin B0	抗真菌	細胞壁合成阻害
Amphotericin B	抗真菌	細胞膜障害
.....		
FK506	免疫抑制	菌糸伸長阻害
Cyclosporin	免疫抑制	菌糸伸長阻害
Rapamycin	免疫抑制	酵母増殖阻害
Bredinin	免疫抑制	酵母増殖阻害
Mycophenolic acid	免疫抑制	酵母増殖阻害
Sperugualin	免疫抑制	細菌増殖阻害
ML236B	脂質低下	真菌増殖阻害
Acarbose	血糖降下	糖代謝阻害

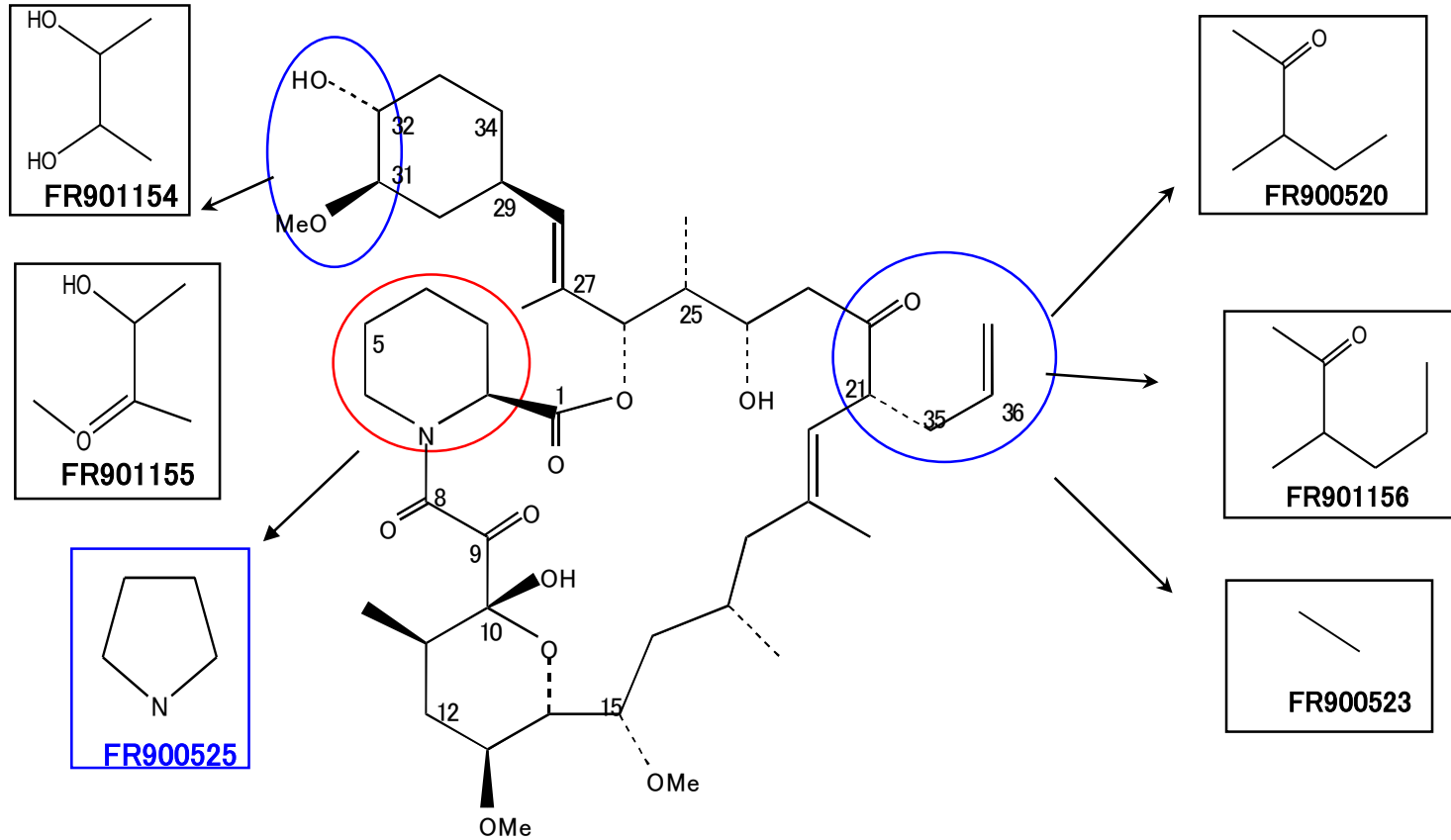
醗酵産物の有用性

	醗酵産物	抗体	化学合成低分子
特異性	○	◎	○
細胞表層・外単一標的への作用	△	◎	○
細胞内単一標的への作用	○	×	◎
細胞内蛋白複合標的への作用 (蛋白・蛋白相互作用)	◎	×	△
細胞内移行性	○	×	○
経口吸収性	△	×	○
特許性	○(生産菌)	◎	△
製造コスト	○	△	○
量産化	○	○	◎
分子量	300-1500	150000	-500

医薬品のライフサイクル



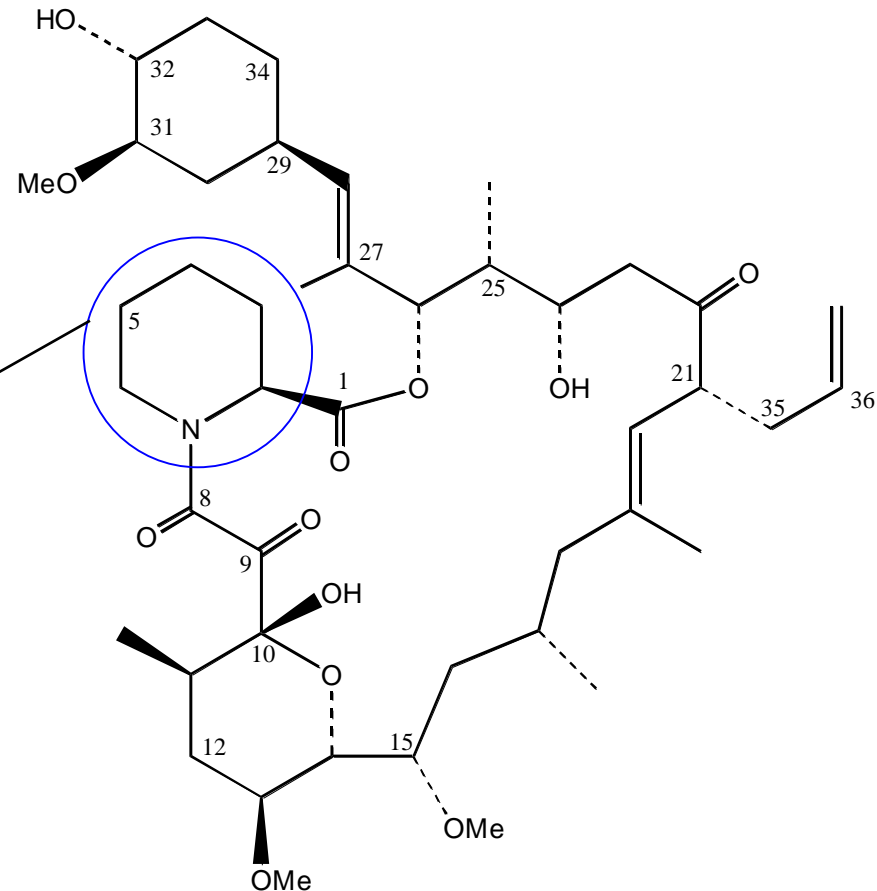
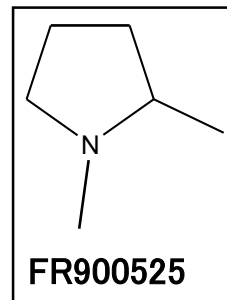
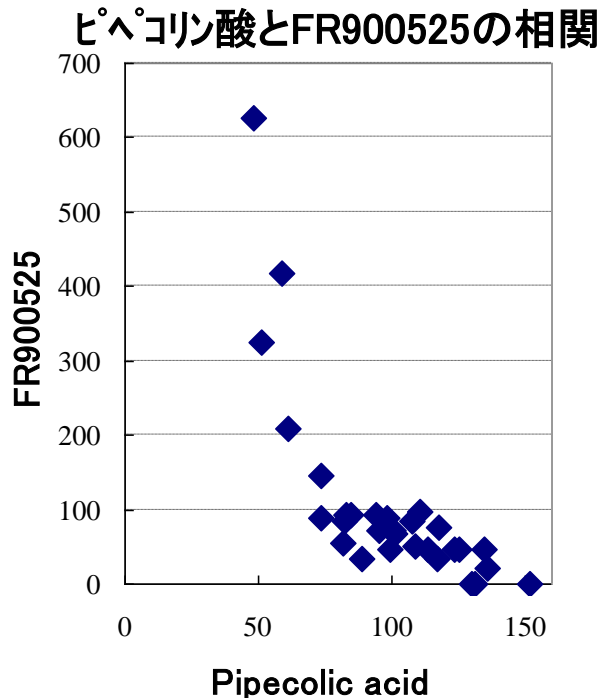
FK506 類縁体



前駆体添加によるFR900525の抑制

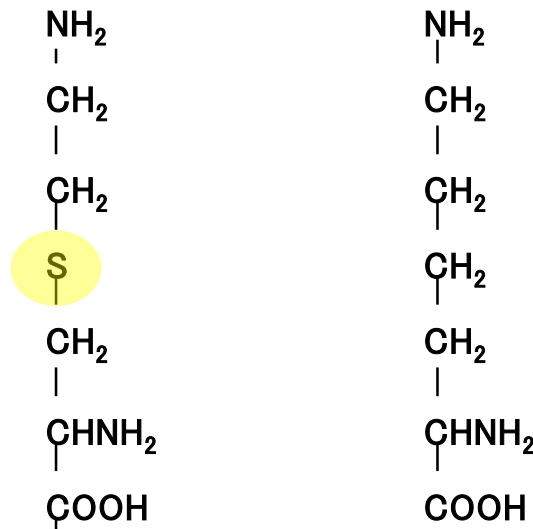
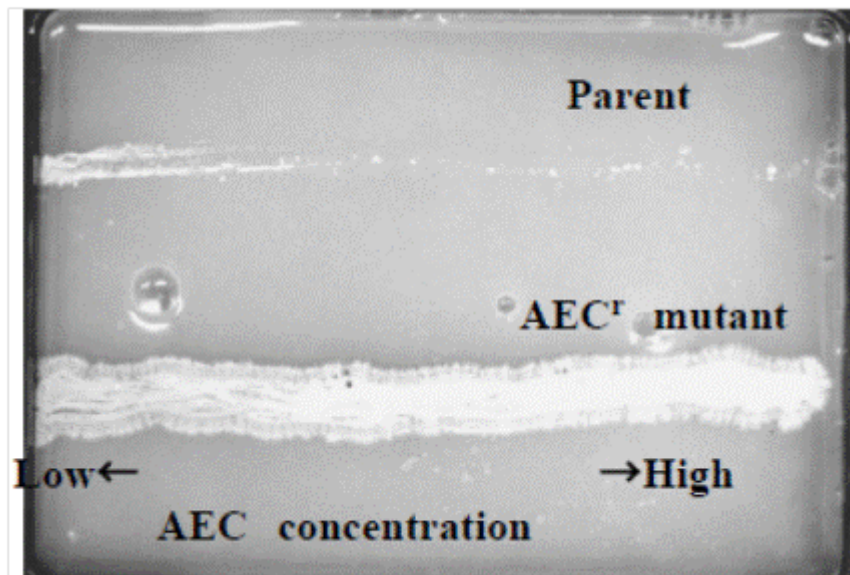
添加物	FR900525 (%)
None	100
Pipecolic acid	16
Lysine	23
AEC	300

* AEC; *S*-aminoethyl *L*-cysteine
(リジンアナログ)



FK506前駆体であるピペコリン酸が不足すると、
FR900525の前駆体であるプロリンが取り込まれ、
FR900525が生成。

AEC耐性株による類縁体FR900525の抑制



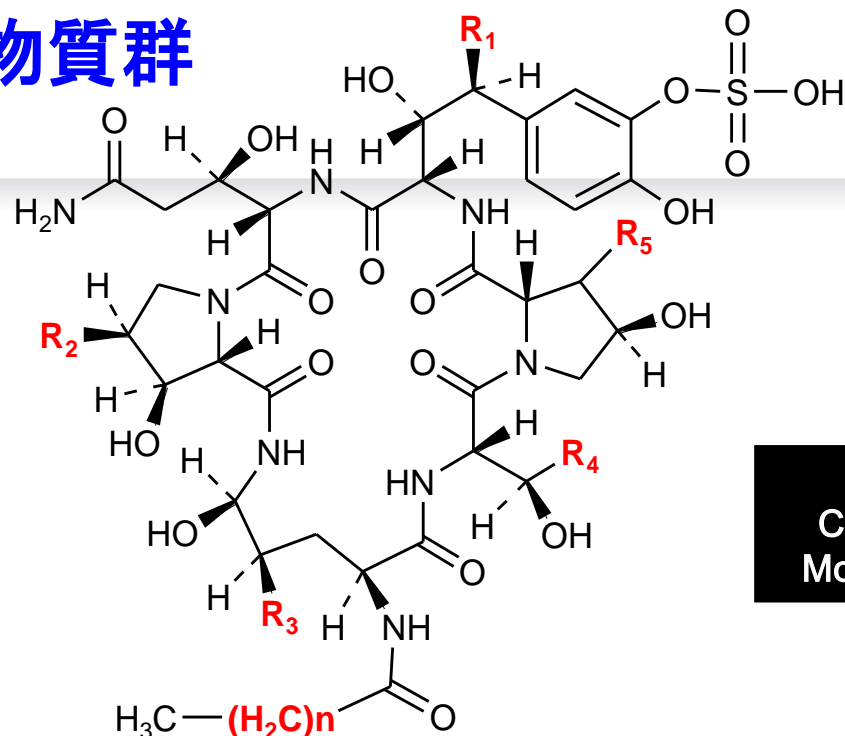
S-aminoethyl *L*-cysteine (AEC)

Lys

Strain	FK506生産性 (%) *	R900525生産性 (%) *	ピペコリン酸 (%) *
Parent	100	100	100
AEC ^r mutant	111	11	315

* 親株に対する相対値で表示

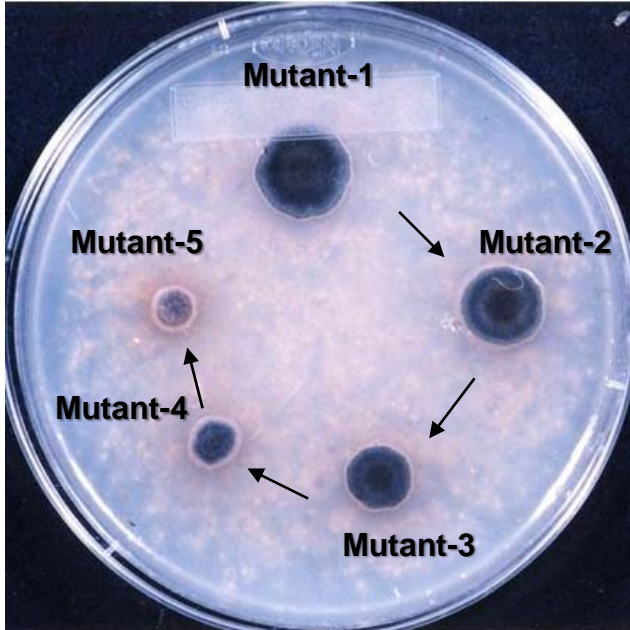
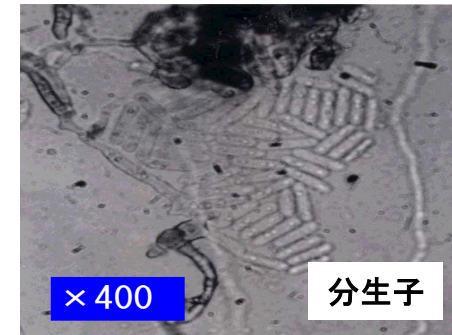
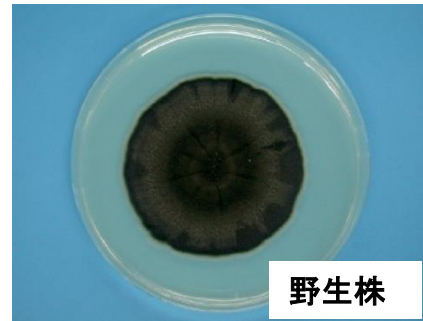
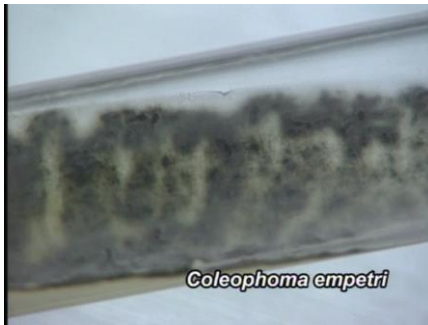
FR901379類縁物質群



FR901379
 $C_{51}H_{81}N_8NaO_{21}S$
 Mol. Wt: 1197.2846

	R1	R2	R3	R4	R5	CH ₃ (CH ₂) _n CO- (Side chain)
FR901379 (WF11899A)	OH	CH₃	OH	CH₃	H	n=14
FR901381 (WF11899B)	H	CH ₃	OH	CH ₃	H	14
FR901382 (WF11899C)	H	CH ₃	H	CH ₃	H	14
WF11899α	OH	CH ₃	OH	CH ₃	H	12
WF11899β	OH	CH ₃	OH	CH ₃	H	13
FR209523 (WF11899γ)	OH	H	OH	CH ₃	H	14
Epi-FR901379	OH	CH ₃	OH	CH ₃	H	14
FR240727	OH	CH ₂ OH	OH	CH ₃	H	14
FR240728	OH	CH ₃	OH	CH ₃	OH	14
FR238230	OH	CH ₃	OH	H	OH	14
FR248810	H	CH ₃	OH	CH ₃	OH	14
FR209602	H	CH ₃	OH	H	H	14
FR209604	H	CH ₃	H	H	H	14

菌株育種によるFR901379生産性向上



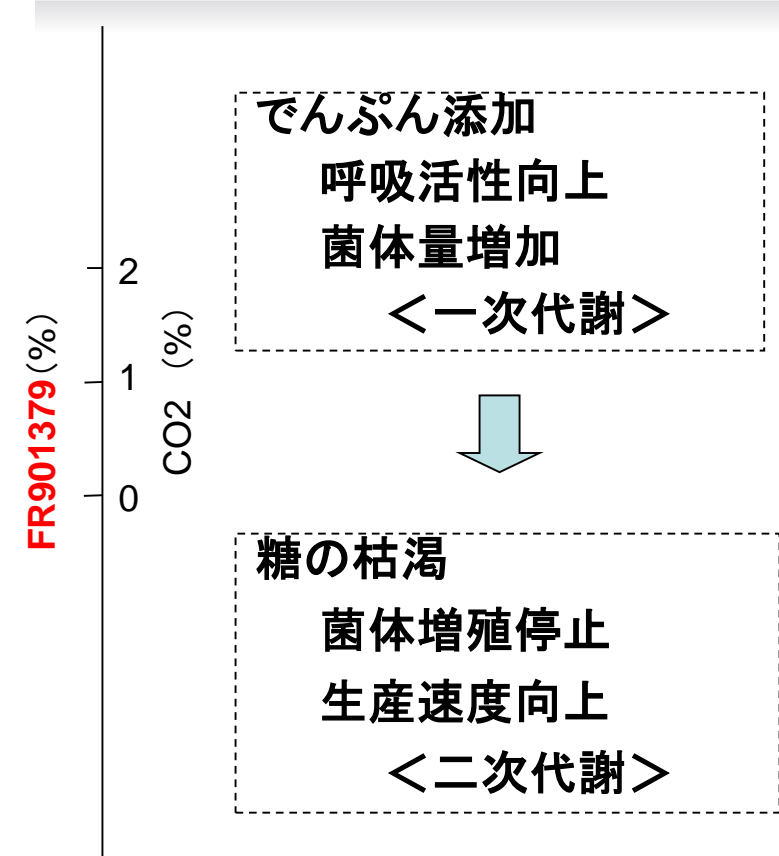
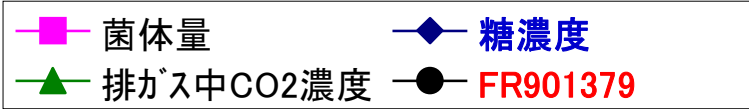
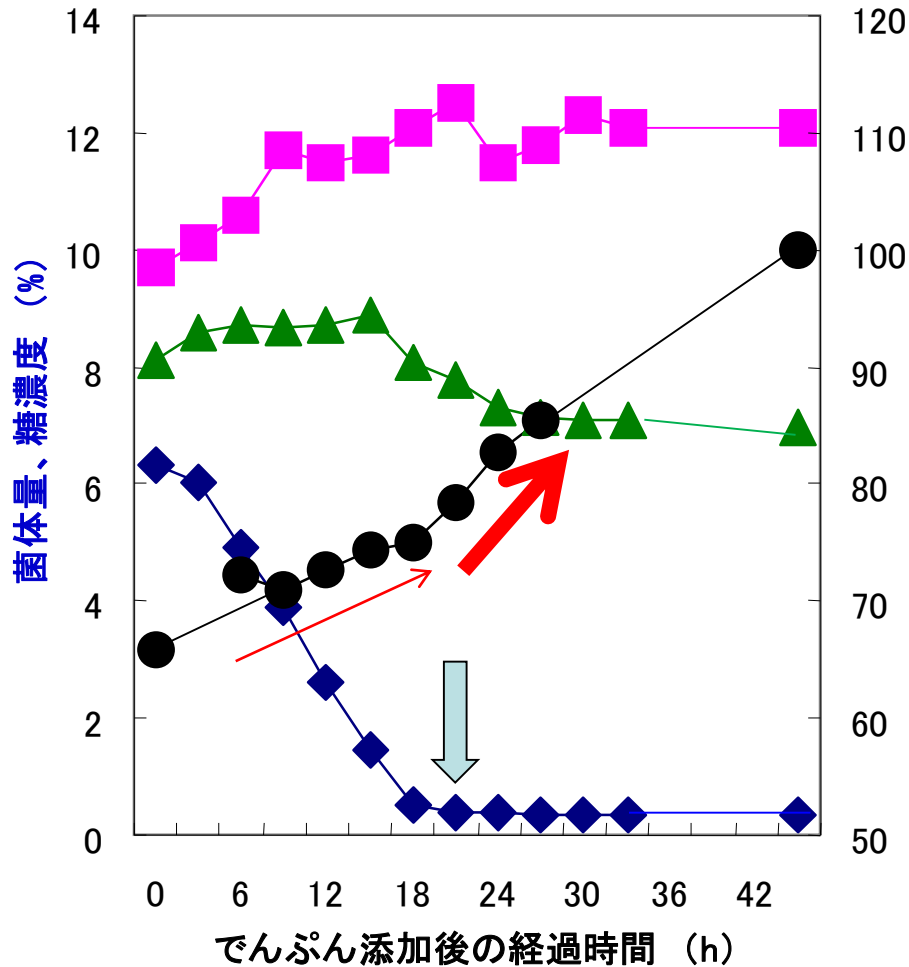
野生株より8世代にわたり育種改良を実施
分生子、プロトプラストにUV照射し変異株を取得

生産性向上と形態変化

- 1) コロニーサイズが小さくなる
- 2) 黒色色素生産性が弱くなる

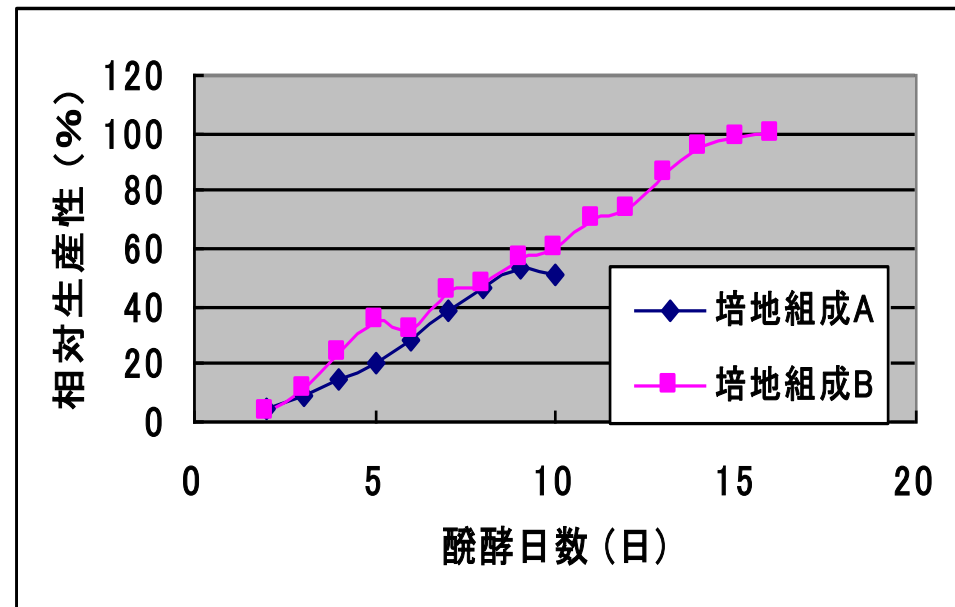
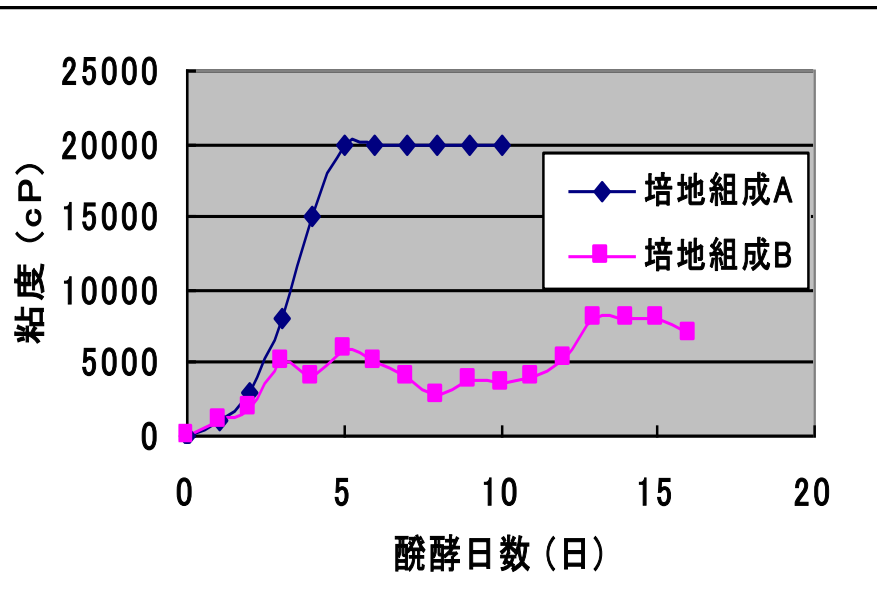
生産性： 菌株育種で50倍向上
醗酵条件検討と合わせて100倍向上

糖消費と物質生産



でんぷんの間欠添加によって
一次代謝と二次代謝を連続的に
制御する高生産培養方法構築

フェドバッチによる生産性向上



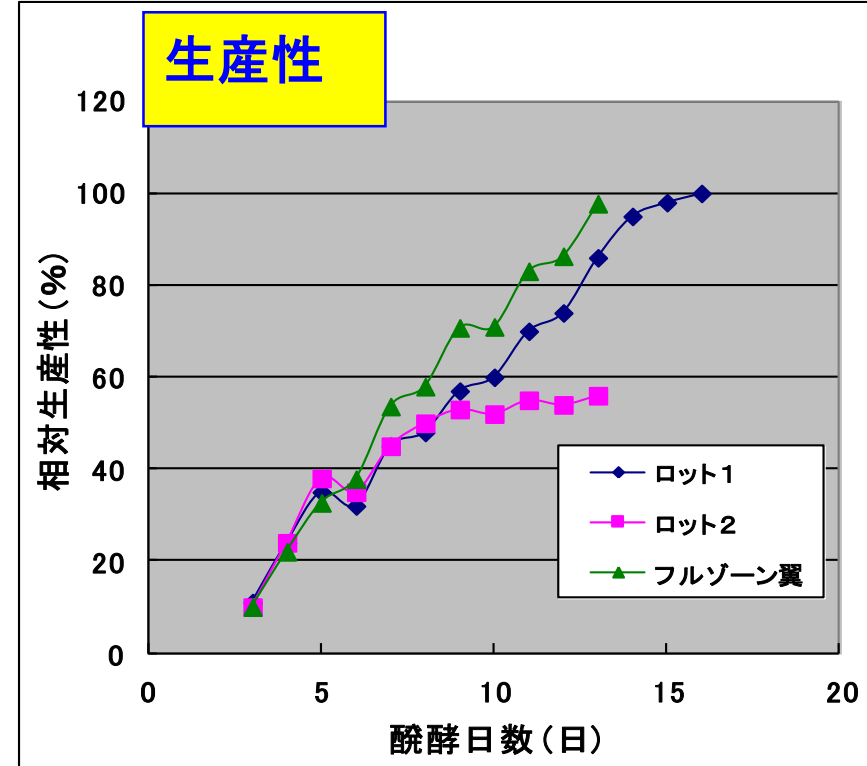
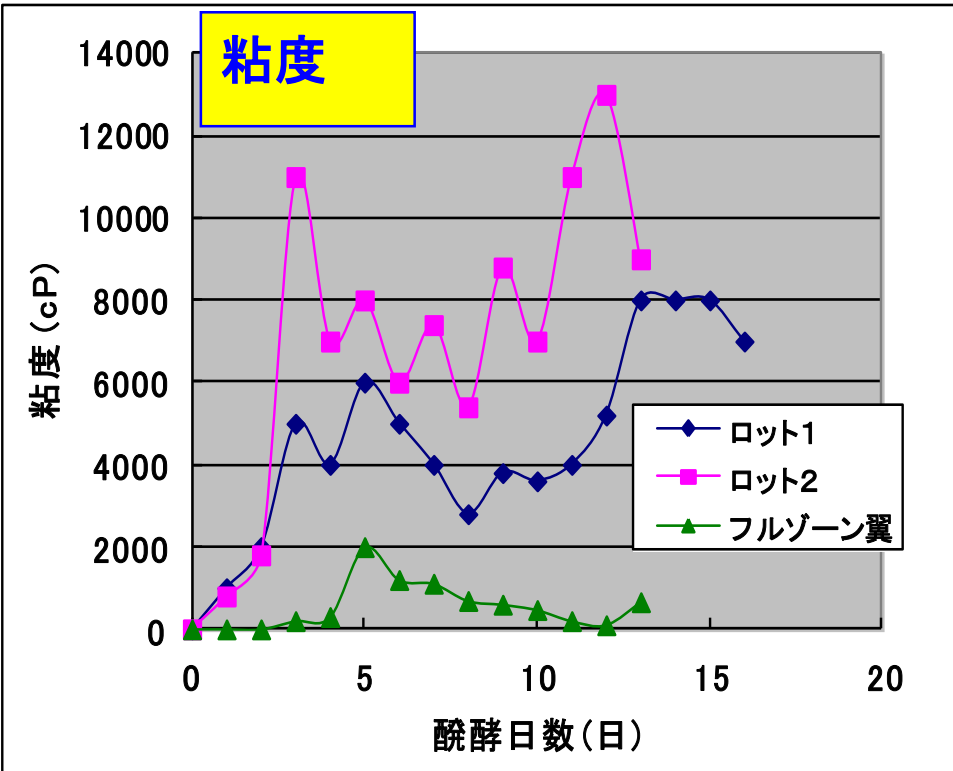
①希アンモニア水連続添加 (pH制御)

②有機窒素源変更

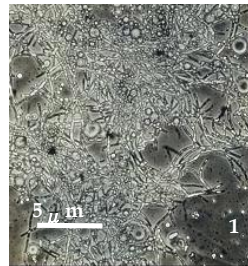
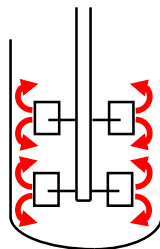
③フェドバッチによる糖添加

→ 低粘性・高生産性

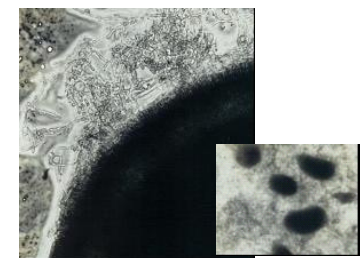
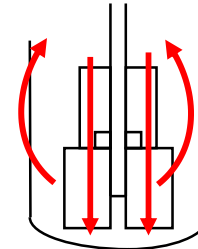
フルゾーン翼導入の効果



タービン翼

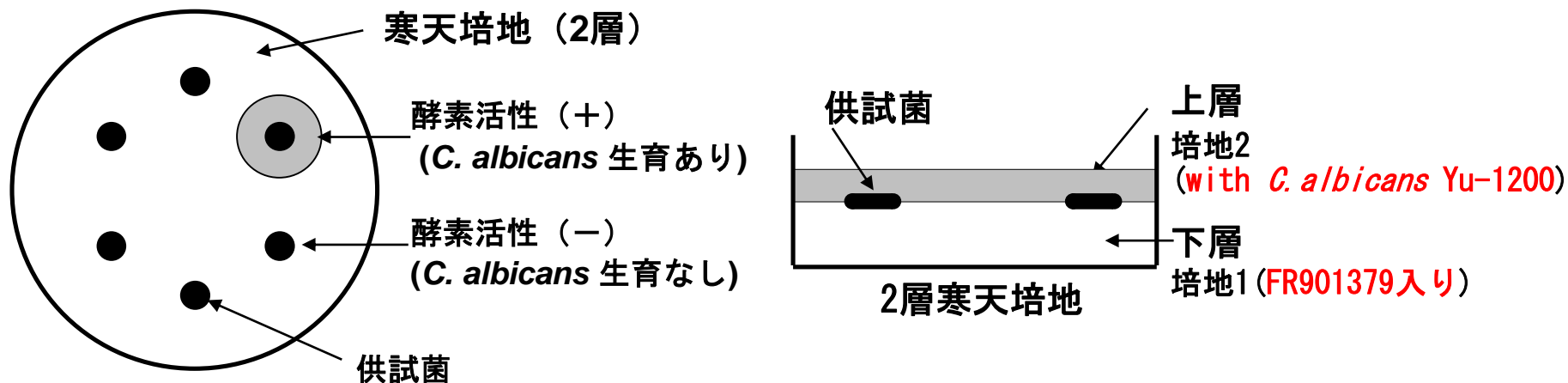


フルゾーン翼



「FR901379 アシラーゼ」のスクリーニング

1次スクリーニング



Candida albicans Yu-1200 に対するIC50

FR901379 0.38 $\mu\text{g}/\text{mL}$

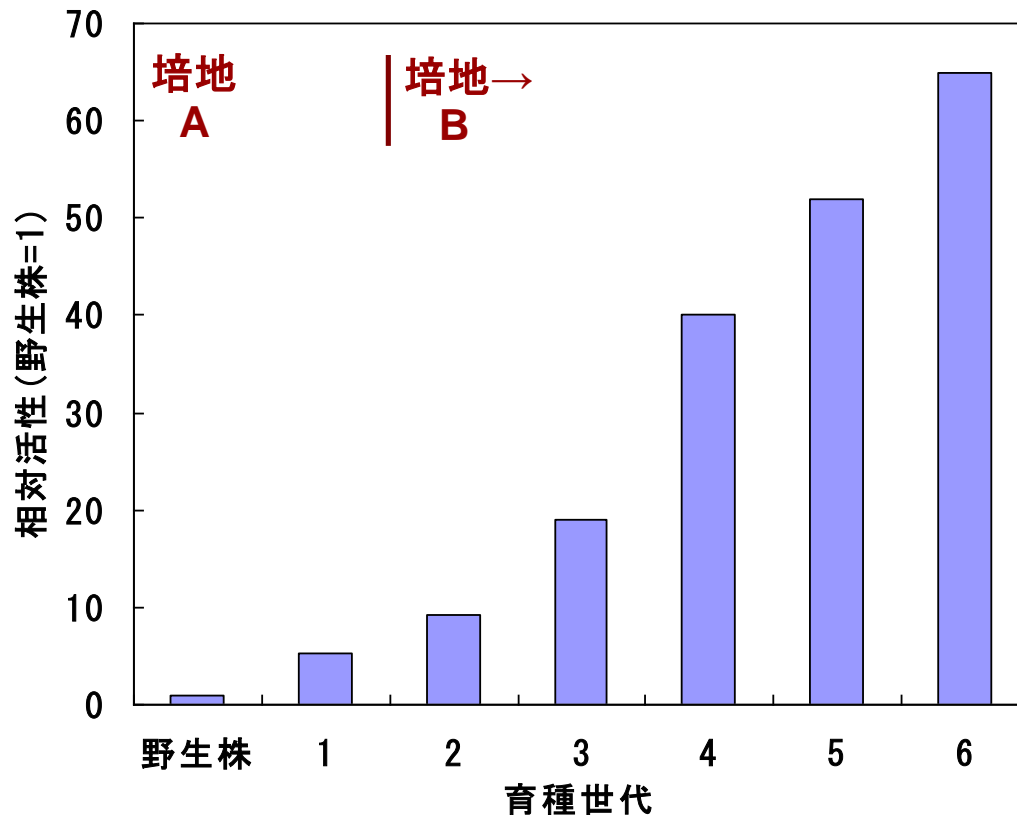
FR179642 >100 $\mu\text{g}/\text{mL}$

抗菌活性を利用した1次スクリーニング法

FR901379アシラーゼ生産菌の1次スクリーニング

- 1) FR901379を含む寒天培地に供試菌を植菌（培地1:下層）
- 2) *C. albicans* Yu-1200を植菌した培地2を培地1の上に注ぐ
- 3) *C. albicans* の生育を観察

アシラーゼ生産性の向上



	培地 A	培地 B
グルコース	4	-
マルトース	-	8
酵母エキス	1	-
ポテトプロテイン	-	2
脱脂大豆粉	-	2
小麦胚芽	-	2

菌株育種と培地改良により65倍の活性向上

酵素活性向上により、反応を2時間に短縮

短時間反応にし、生成物の分解、不純物生成を抑制

精製方法の最適化(品質の安定化)

