

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

## 主論文の要旨

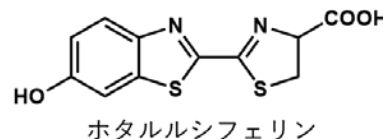
論文題目 ホタルルシフェリンの生合成研究

氏名 蟹江 秀星

## 論文内容の要旨

本論文は、有機化学的な現象を起点としたホタルルシフェリンの生合成研究について述べたものである。

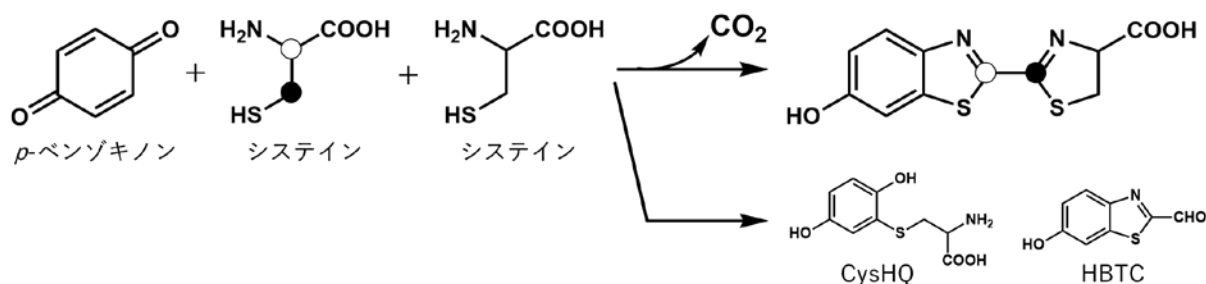
ホタルルシフェリンはホタルをはじめとする発光性甲虫の発光システムの鍵となる天然有機化合物である。近年、発光性甲虫の発光システムは生命科学研究のツールに応用されているため、そのシステムの鍵物質であるホタルルシフェリンは我々にとって価値のある化合物といえる。ホタルルシフェリンの合成に関して、これまでにいくつもの化学合成法が報告されている一方、単離構造決定から半世紀以上を経てなお、その生合成の全容解明には至っていない。ホタルルシフェリンの生合成の理解は、簡便で環境負荷の少ない化学的あるいは生物工学的な合成法の確立、そして、ホタルの発光システムを利用した生物発光イメージングの改良につながる可能性がある。学術面でも、ホタルルシフェリンはベンゾチアゾール環とチアゾリン環からなる天然には珍しい化学構造を有する化合物であるため、名古屋大学の後藤俊夫らをはじめとした研究者がその研究に携わるなど、その生合成には興味を持たれている。そこで、本研究ではホタルルシフェリンの生合成の全容解明を目的とした。



### 1. ホタルルシフェリンの生合成に類似した現象のメカニズムの解析

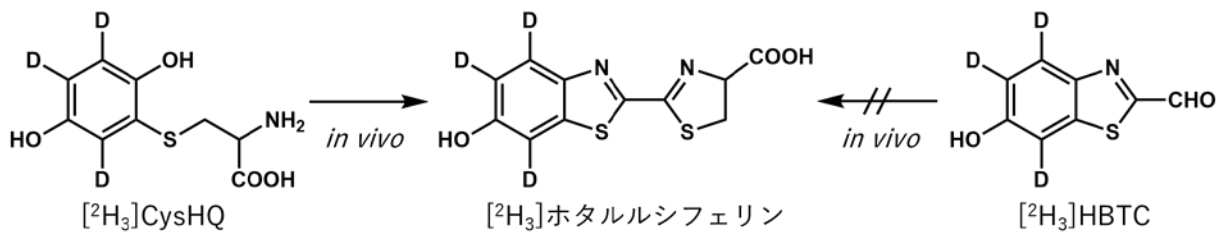
筆者はホタルルシフェリンの生合成基質であるシステインと *p*-ベンゾキノン (ホタルルシフェリンの生合成基質であるヒドロキノンの酸化体) に着目した生合成研究の過程で、*p*-ベンゾキノンとシステインを大気下、中性バッファー中で混ぜるだけでホタルルシフェリンが生成すること (ホタルルシフェリンのワンポット生成現象) を見出した。生合成との原料の類似性から、ホタルルシフェリンのワンポット生成現象を理解することが生合成解明の手がかりになるのではないかと筆者は考え、そのメカニ

ズムの解明を試みた。反応条件に関して、各種条件でのホタルルシフェリンの収率を調べることで、ホタルルシフェリンの生成には、システイン対して1当量を超えないように *p*-ベンゾキノンを使用すること、反応溶媒として中性バッファーを用いること、酸素の存在下で反応を行うことが必要であることが明らかになった。ホタルルシフェリンのベンゾチアゾール環の形成メカニズムに関して、*p*-ベンゾキノンと  $^{13}\text{C}$  で標識したシステインとのワンポット反応から得られたホタルルシフェリンを HMBC 解析に供することで、ベンゾチアゾール環が一分子のシステインの脱炭酸と炭素-硫黄結合の転位を経て形成されることが明らかになった。その脱炭酸に関する知見は、ホタルルシフェリンの生合成過程で起きるシステインの脱炭酸の知見と一致していた。*p*-ベンゾキノンとシステインのワンポット反応で生成するホタルルシフェリンの立体配置に関して、ワンポット反応で生成したホタルルシフェリンをキラル HPLC 分析に供することで、反応に L-システインを用いた場合には L 体のホタルルシフェリンが生成し、D-システインを用いた場合には D 体のホタルルシフェリンが生成することが明らかになった。また、*p*-ベンゾキノンとシステインのワンポット反応で得られるホタルルシフェリン以外の生成物を詳細に解析することで、そのワンポット反応においてホタルルシフェリンへとつながる中間体の可能性がある 2-*S*-cysteinylhydroquinone (CysHQ) と 6-hydroxybenzothiazole-2-carbaldehyde (HBTC) が生成していることも明らかになった。



## 2. ホタルルシフェリンの生合成中間体の特定

ホタルルシフェリンのワンポット生成現象と生合成は原料という点だけでなく、ホタルルシフェリン生成過程でのシステインの脱炭酸という点でも類似していた。そのため、筆者は前述の CysHQ と HBTC が生合成中間体なのではないかと考えた。そこで、さなぎから成虫の異なる成長段階のヘイケボタル *Luciola lateralis* 生体に対して、 $[^2\text{H}_3]\text{CysHQ}$  と  $[^2\text{H}_3]\text{HBTC}$  の取り込み実験を行った。その結果、 $[^2\text{H}_3]\text{CysHQ}$  を取り込ませた個体で  $[^2\text{H}_3]$  ホタルルシフェリンが生成することを確認した。さらに、各成長段階での  $[^2\text{H}_3]$  ホタルルシフェリンの生成量を比較すると、 $[^2\text{H}_3]$  ホタルルシフェリンの生成量は成虫よりもさなぎで多かった。この結果は、ホタルルシフェリンが成虫よりもさなぎで活発に生合成されることを示唆する。また、ホタル抽出物を用いることで *in vitro* でも CysHQ からホタルルシフェリンが生成することを確認した。その一方で、 $[^2\text{H}_3]\text{HBTC}$  を取り込ませた個体では  $[^2\text{H}_3]$  ホタルルシフェリンの生成は確認できなかった。この結果は HBTC が生合成中間体ではないことを示唆する。



以上，本研究ではホタルルシフェリンの生合成中間体の一つを特定し，ホタル抽出物を用いた *in vitro* でのホタルルシフェリンの合成にも成功した．本研究の成果は今後のホタルルシフェリンの生合成の全容解明につながるものと期待される．