IMC 微生物化学研究所
Institute of Microbial Chemistry

微生物化学研究所

微生物化学研究会の目的

微生物、微生物生産物及びその関連物質に関する研究を行い、
広く有益な物質を発見し、開発利用を図ることにより、
人類の健康増進と福祉の向上に寄与するとともに、
科学・技術の振興を目的とする。

Purpose

The Microbial Chemistry Research Foundation (MCRF) conducts biological and chemical research on microbial products and related types of substances to discover new beneficial substances for the prevention and treatment of diseases. MCRF strives to contribute to public health and welfare by promoting the development and utilization of these beneficial substances and by supporting advanced academic research.

平成27年5月完成した新研究棟
New reseach building finished in May 2015

所長挨拶
Message

微生物化学研究所
所　長

柴﨑　正勝

Director
Institute of Microbial Chemistry

Masakatsu Shibasaki

微生物化学研究所は、創立以来、微生物が生産する抗生物質などの二次代謝産物ならびに微生物細胞の構成成分などから、新規生理活性物質を発見、創製することを業務の主目的としている。

創立当時の精神を踏襲した当研究所の基本理念は、微生物の多面的な有効利用に関する基盤研究を行い、その分野での最新の科学の進歩に貢献するばかりでなく、その成果に立脚した応用研究を行うことにより、最終的には現代社会で人類が健康で幸せな人生を送るために資する化合物を創製し実用化することである。

当研究所は、生物学と化学の融合を最大の特徴としている。

基盤研究として、当研究所の得意分野であり実績もある、微生物および微生物の構成成分、代謝産物などに関する応用面を見据えた研究を行う。また今後は、微生物等による病原性発現機構の解明、さらには有用物質の環境調和型生産を可能とする触媒開発などの基盤研究も加える。また、上記基盤研究に立脚した応用研究として、新規生理活性物質を発見し、最終的にはこれらの化合物から、社会の要請に応えられるよう、ヒトの医薬品および動物の予防・治療薬、農薬さらには環境汚染物質浄化剤などの開発研究を行う。

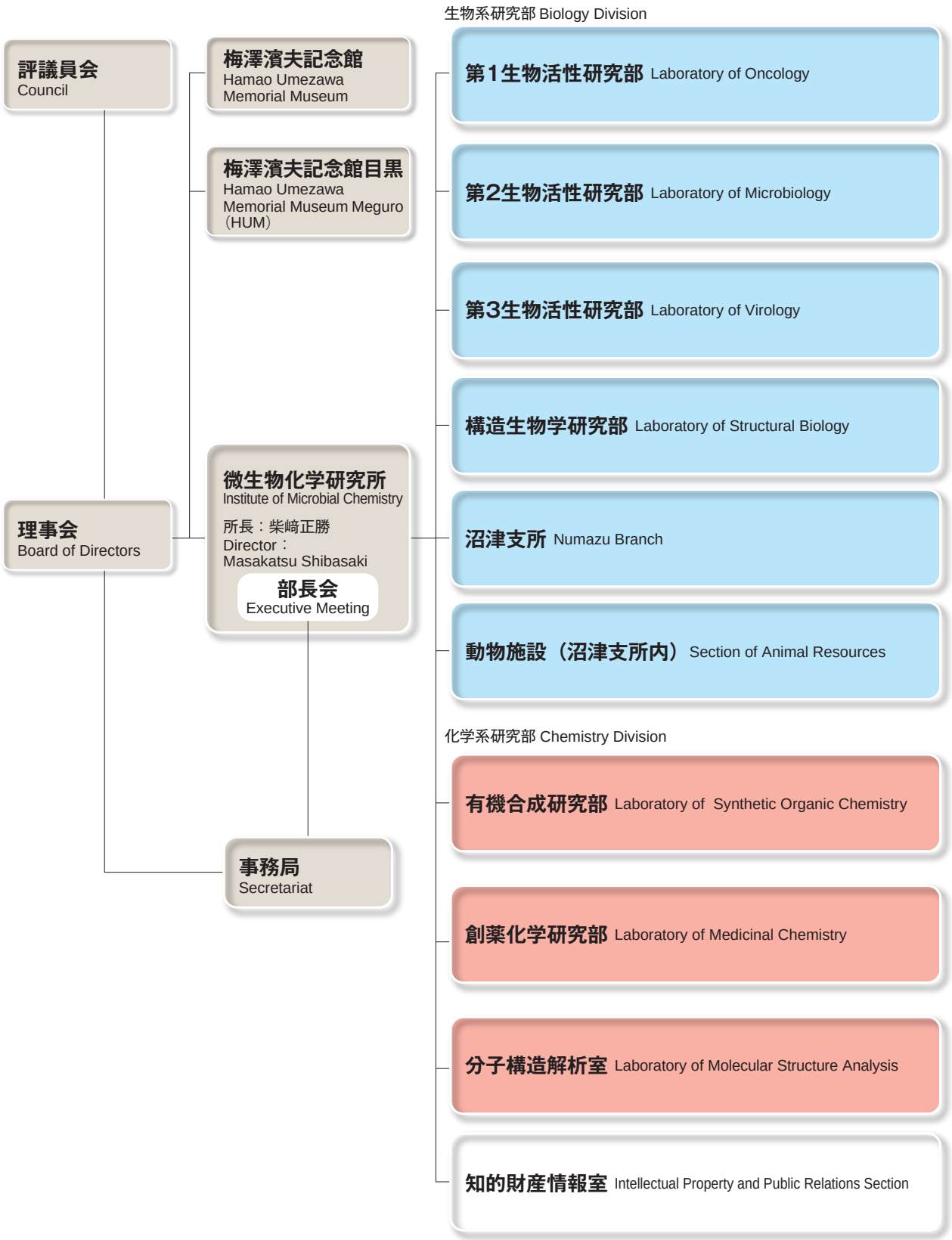
IMC was established with the aim of focusing intense expertise on the comprehensive investigation of microorganisms and their secondary metabolites.

Our central objective is to identify and develop novel biologically active and therapeutically relevant substances that originate from microorganisms. The strong stewardship and commitment of our scientists has contributed to the global advancement of basic science and human health through comprehensive and collaborative research.

The unique cross-disciplinary culture of biology and chemistry is a particularly valuable feature of IMC.

By harnessing our world-class expertise on microorganisms, the Biology Division leads projects to determine the molecular basis of the pathogenesis and production of biologically active metabolites. These investigations are coupled closely and reinforced with the Chemistry Division, which provides cutting-edge technologies to produce the required chemical entities through state-of-the-art asymmetric catalysis and organic synthesis. IMC is empowered by collaborative research across scientific disciplines and is committed to the development of novel therapeutics, agrichemicals, and specific antipollution chemicals to enhance the future of human society.

組織図


評議員会
Council
理事会
Board of Directors
梅澤濱夫記念館
Hamao Umezawa
Memorial Museum
梅澤濱夫記念館目黒
Hamao Umezawa
Memorial Museum Meguro
（HUM）
微生物化学研究所
Institute of Microbial Chemistry
所長：柴﨑正勝
Director：
Masakatsu Shibasaki
部長会
Executive Meeting
事務局
Secretariat
生物系研究部 Biology Division
第1生物活性研究部 Laboratory of Oncology
第2生物活性研究部 Laboratory of Microbiology
第3生物活性研究部 Laboratory of Virology
構造生物学研究部 Laboratory of Structural Biology
沼津支所 Numazu Branch
動物施設（沼津支所内） Section of Animal Resources
化学系研究部 Chemistry Division
有機合成研究部 Laboratory of Synthetic Organic Chemistry
創薬化学研究部 Laboratory of Medicinal Chemistry
分子構造解析室 Laboratory of Molecular Structure Analysis
知的財産情報室 Intellectual Property and Public Relations Section

第1生物活性研究部

Laboratory of Oncology

メンバー／ Member

部　　長：川田　学　　Laboratory Head ：Manabu Kawada
メンバー総数：10 名　　Number of Members : 10

第1生物活性研究部は、「がん」を主な研究の対象として、がんの特性を利用した治療標的および治療法の開発を目指している。また、それらの研究成果から実験系を構築し、放線菌やカビなどの培養液から生物活性物質を探索することで新しい抗がん剤の創薬基礎研究を行っている。

Our research mainly focuses on “cancer.” We are studying cancer biology at the molecular level in order to identify new therapeutic targets and strategies for cancer. Furthermore, based on our findings, we are developing new candidates for anticancer drugs by screening for bioactive natural compounds in microbial cultures using our original experimental systems.

テーマ／ Theme

1）がん－間質相互作用をターゲットとしたがん研究
　a）がん－間質相互作用の制御
　b）慢性炎症とがんの発症
　c）自然免疫（がん免疫）の制御
　d）動物実験モデルの開発
　e）がん研究者の支援活動
2）*EGFRvIII* に依存した３Dスフェア形成抑制物質の探索
3）細胞ベースの各種スクリーニングによる抗腫瘍剤を中心とした非感染性疾患治療薬の探索と開発

1）Cancer research targeting tumor-stroma interactions
　a）Regulation of tumor–stromal cell interactions
　b）Relationship between chronic inflammation and tumors
　c）Augmentation of innate immunity
　d）Development of experimental animal models
　e）Supporting the activity of cancer researchers
2）Screening for 3D-sphere formation inhibitors of transformed *EGFRvIII*-dependent cells
3）Search and development of drugs for non-communicable diseases with emphasis on cancer, employing cell-based screening systems

テーマ概要／ Theme Outline

1）がん－間質相互作用をターゲットとしたがん研究

固形がんのほとんどは上皮細胞層から発生し、そのがん組織はがん細胞のみでなく周辺の間質と混在する形で成り立っている。間質は血管、マクロファージ、繊維芽細胞や細胞外基質などによって構成されており、間質は接着や分泌因子などを介してがんの増殖や転移を制御している。興味深い事に、このようながん－間質相互作用はがんの進展を促進する場合と逆に抑制する場合があることが分かってきた。そこで我々は、このがん細胞とがんではない正常な細胞との相互作用を利用した新しいがんの治療法の可能性について着目し、以下のような研究テーマについて検討している。(a) がん－間質相互作用の制御。(b) 慢性炎症とがんの発症。(c) 自然免疫(がん免疫）の制御。(d）動物実験モデルの開発。また、文部科学省新学術領域研究 学術研究支援基盤形成 先端モデル動物支援プラットフォーム「分子プロファイリング支援」に参画し、ケミカルバイオロジー研究のサポートを行っている（http://model.umin.jp/about/profiling.html）。

1）Cancer research targeting tumor-stroma interactions.

Most of the solid tumors originate from epithelial layers, and the tumor tissues consist of not only tumor cells but also stroma surrounding the tumor cells. Stroma includes various types of components such as blood vessels, macrophages, fibroblasts, and extracellular matrix. The stroma regulates tumor development through diffusible factors and direct adhesion. Thus, these tumor–stroma interactions are closely associated with the growth and metastasis of tumor cells. It is noteworthy that tumor–stroma interactions can both accelerate and suppress tumor growth. We hypothesized that manipulation of the interactions between tumor cells and non-tumor host cells such as stroma results in the suppression of tumors. In order to achieve our goal, we are conducting experiments for the following: (a) regulation of tumor–stromal cell interactions, (b) relationship between chronic inflammation and tumors, (c) augmentation of innate immunity, and (d) development of experimental animal models.

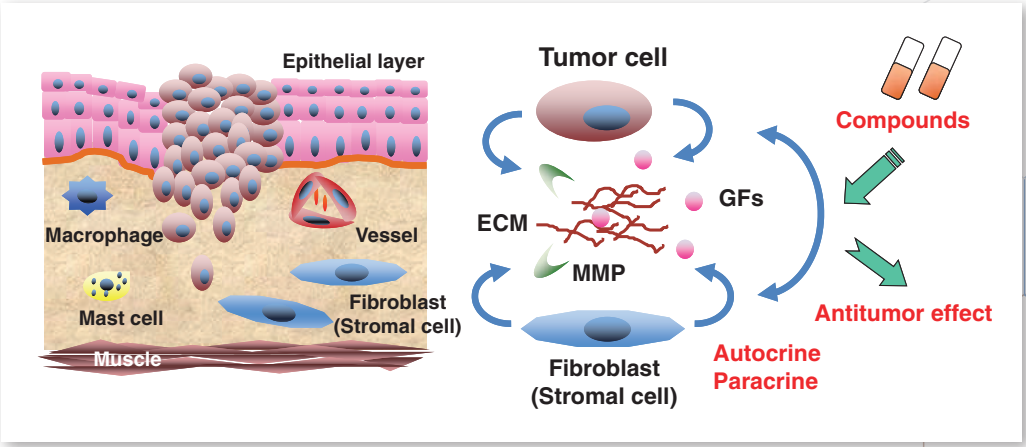


Fig.1 がん－間質相互作用
Tumor-stromal cell interactions

2）*EGFRvIII* に依存した 3D スフェア形成抑制物質の探索

EGFRvIII は *EGFR*（上皮成長因子受容体）のリガンド結合部位の欠失した癌細胞にのみ発現が見られる変異体である。*EGFRvIII* は、難治性で悪性の神経膠芽腫の 30% 以上で発現しており、非小細胞肺癌、乳癌、口腔癌、甲状腺癌などでも発現が見られる。正常培養細胞に遺伝子を導入して *EGFRvIII* を発現させると、癌細胞の特徴である足場非依存性を獲得する。すなわち低接着性フラスコにおいて（3D 培養）を行うと足場依存性を示す正常細胞は死滅するが、*EGFRvIII* 発現細胞はスフェアを形成して生育する。また *EGFRvIII* 発現細胞をヌードマウスに移植すると顕著な造腫瘍性を示す。そこで正常細胞の通常の足場依存性（2D 培養）増殖に影響を与えず、*EGFRvIII* 発現細胞の３D培養におけるスフェア生育を抑制する物質を探索する系を構築した。そして微生物培養上清ほか様々なソースより *EGFRvIII* 依存的な足場非依存性増殖阻害物質の探索を行っている。

2）Screening for 3D-sphere formation inhibitors of transformed *EGFRvIII*-dependent cells

EGFRvIII is a mutant form of the epidermal growth factor receptor (*EGFR*) gene that lacks a ligand binding site. *EGFRvIII* expression is believed to be limited to cancer cells and is found in >30% of all glioblastomas, which are intractable and malignant. It also appears in non-small-cell lung, breast, oral, and thyroid carcinomas. Cells overexpressing *EGFRvIII* were able to grow in an anchorage-independent fashion and form spheres, a feature of cancer cells, whereas anchorage-dependent parent cells were killed on ultra-low attachment plates (3D cultures). Cells overexpressing *EGFRvIII* were tumorigenic in athymic nude mice. Thus, we have developed a high-throughput screening method to identify substances that inhibit 3D-sphere formation induced by *EGFRvIII* without affecting the normal 2D-growth of parent cells on cell adhesion surface plates. We are now screening for inhibitors from various sources, including microbial metabolites.

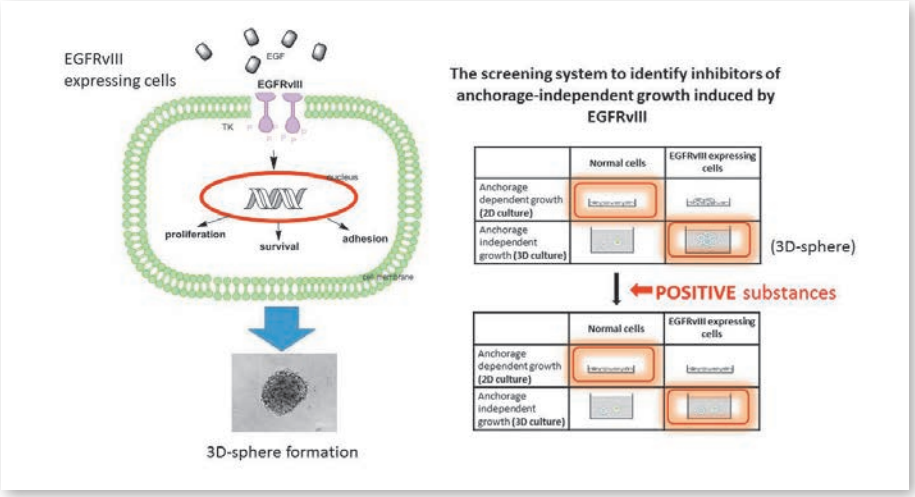


Fig.2 *EGFRvIII* 発現細胞の 3D-sphere 形成阻害剤の探索
Screening for inhibitors of 3D-sphere formation induced by *EGFRvIII* expression

3）細胞ベースの各種スクリーニングによる抗腫瘍剤を中心とした非感染性疾患治療薬の探索と開発

微生物化学研究所が有する世界トップクラスの放線菌株および放線菌代謝産物ライブラリーを背景として、本研究部では培養細胞を用いたスクリーニング系により、抗腫瘍剤を始めとした各種の非感染性疾患治療薬の探索を行っている。現在、抗腫瘍剤としては EGFR、tubulin、MEK、PI3K、プロテアソーム、HDAC、HSP90、DNA あるいはその結合タンパク質などといった分子を標的とした薬剤の探索を行っている。また、強心剤、鎮痛剤、脂質異常症、あるいは神経変性疾患などの治療薬の探索も並行して行っている。その過程で得られた新規化合物については、構造と生物活性を評価、考慮し、それぞれに適した形での実用化に向けた検討を行う。特に現在は *Lentzea* 属放線菌から得られた酵素安定性の高い trehalose 類縁体である lentztrehalose 類化合物について、trehalose 代替品としての開発や神経変性疾患治療薬としての開発を目指した検討を行っている。

3）Search and development of drugs for non-communicable diseases with emphasis on cancer, employing cell-based screening systems

Using the world's top class collections of actinomycete strains and secondary metabolites of BIKAKEN, the screenings of drugs for cancer and other non-communicable diseases are being conducted in our laboratory. At present, a parallel search for cancer drugs targeting molecules such as EGFR, tubulin, MEK, PI3K, proteasome, HDAC, HSP90, and DNA and its binding proteins as well as for cardiotonic drugs, analgesics, hypolipidemics, and drugs for neurodegenerative diseases is being conducted. The promising new compounds' structure and bioactivities found in these screenings are evaluated for practical use for which each drug is best suited. The new enzyme-stable trehalose analog lentztrehalose is now under investigation for development as a substitute for trehalose or as drugs for neurodegenerative diseases.

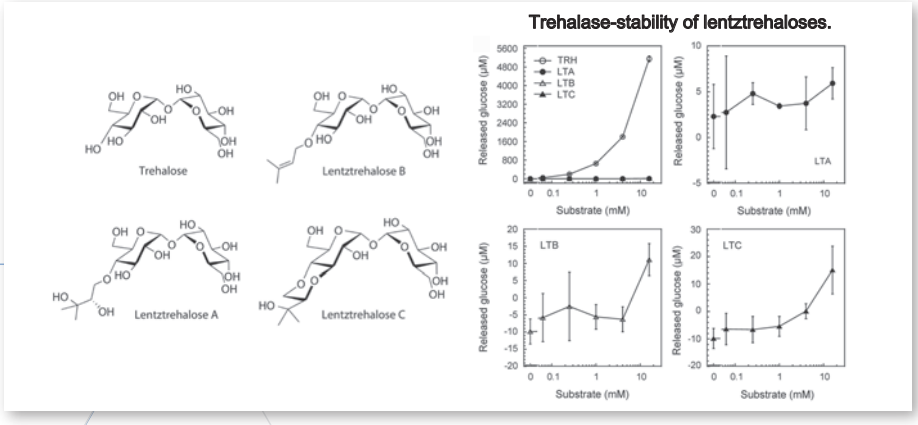


Fig.3 新規 trehalose 類縁体 lentztrehalose A, B, C
Novel trehalose analogs lentztrehaloses A, B and C

第2生物活性研究部

Laboratory of Microbiology

メンバー／Member

部　　長：五十嵐　雅之	Laboratory Head ：Masayuki Igarashi
主席研究員：村松　秀行	Chief Researcher ：Hideyuki Muramatsu
主任研究員：橋爪　秀樹	Senior Researcher：Hideki Hashizume
主任研究員：石崎　仁將	Senior Researcher：Yoshimasa Ishizaki
メンバー総数：18 名	Number of Members : 18

第2生物活性研究部では、創薬に焦点を当て研究を行っている。感染症の病原性発現機構に基づいた独自のスクリーニング系を構築し、微生物培養液から活性物質を探索している。得られた活性物質について作用機序解析を行い、全所的に薬への最適化を図る。併せて、多様性に富んだスクリーニングソース確保のため、土壌、水圏などから微生物を新たに分離し、微生物ライブラリーを構築している。

The Laboratory of Microbiology focuses on drug discovery. We have screened for novel bioactive molecules in microbial metabolites by developing a drug screening system based on the mechanism of pathogenesis of infectious diseases. Followed by detailed studies on the mode of action, the pharmacological and drug-like properties of potential molecules are commonly optimized in this institute. In addition, we have constructed a microorganism library containing various microbes from the soil, hydrosphere and so on.

テーマ／Theme

1）抗多剤耐性結核菌薬の開発
2）抗菌薬トリプロペプチン C の開発
3）新型βラクタマーゼ NDM-1 の伝播機構に関する研究
4）土壌・水圏微生物に関する研究
5）新規抗生物質の探索

1）Development of new antibiotics against XDR-TB (extensively drug-resistant tuberculosis)
2）The antibacterial agent tripropeptin C
3）A study on the spreading mechanism of NDM-1, a novel β-lactamase
4）Study of the aquatic and terrestrial microorganisms for drug discovery
5）Screening for new antibiotics

テーマ概要／Theme Outline

1）抗多剤耐性結核菌薬の開発

結核は、世界三大感染症（結核、HIV、マラリア）の一つであり、2013 年には 900 万人の新規感染者が発生し、150 万人の死亡者を出している。特に、HIV との重複感染および既存薬が効かない多剤耐性結核菌（MDR-TB）、超多剤耐性結核菌（XDR-TB）の蔓延が深刻な問題となっている。

研究所の創設者、梅澤濱夫博士が日本初の抗結核薬カナマイシンを発見して以来 50 余年に渡り、我々は多くの抗結核薬の開発研究を続けてきた。その一連の研究の過程で、結核菌に有効な化合物としてカプラザマイシン類を放線菌の代謝産物中より発見した。更にカプラザマイシン類をリード化合物ととした構造活性研究の結果、カプラザマイシン類より高活性で物性に優れ、動物実験において多剤耐性結核菌に対しても有効な誘導体 CPZEN-45 を創出した。

次いで作用機序解析を行い、CPZEN-45 が細胞外壁の生合成に関与する酵素 WecA を阻害することを明らかにした。この作用機序は臨床で使われているどの抗結核薬とも異なることから、既存薬に耐性の結核菌の多くに有効であることが期待できる。

なお、本物質を一刻も早く医療現場に提供するため、米国で世界の結核患者を救済するために創立された半官半民の組織である "The Lilly TB Drug Discovery Initiative" に 2008 年より参画し、開発を急いでいる。

1）Development of new antibiotics against XDR-TB

Tuberculosis (TB), caused by *Mycobacterium tuberculosis*, has been the most serious infectious disease for centuries. In 2013, 9.0 million people developed TB and 1.5 million died from the disease, 360,000 of whom were HIV-positive. In addition, the spread of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB), including extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB), which mainly results from inappropriate doses of chemotherapy, is now recognized as an additional problem. In response to this serious situation, we at BIKAKEN have explored antitubercular agents since the establishment of BIKAKEN in 1962 by Dr. Hamao Umezawa, who discovered kanamycin, the first antitubercular drug developed in Japan. Therefore, we have isolated promising candidate compounds named caprazamycins from the culture broth of a *Streptomyces* strain. We then modified them and finally established CPZEN-45 as the most promising derivative. CPZEN-45 is superior to caprazamycins in terms of some properties, including antitubercular activity against MDR- and XDR-TB. In addition, CPZEN-45 showed excellent therapeutic efficacy in the treatment of mice infected with XDR-TB.

We also evaluated the mechanism of action of CPZEN-45. We observed that CPZEN-45 strongly inhibited the activity of the integral membrane protein WecA transferase, involved in the biosynthesis of the cell envelope. This mechanism is different from any other currently studied mechanisms, implying that CPZEN-45 would be effective against most MDR-TB strains. In 2008, we joined "The Lilly TB Drug Discovery Initiative" and collaborated on further studies for developing this candidate drug in a short period of time.

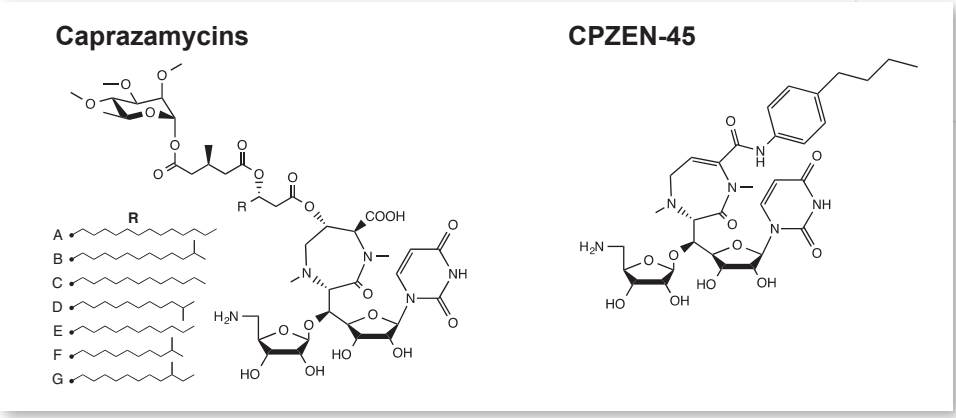


Fig.1 カプラザマイシン類と CPZEN-45 の構造
Strucures of caprazamycins and CPZEN-45

2）抗菌薬トリプロペプチン C の開発

MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）は常在性のグラム陽性好気性菌で日和見感染菌として知られており、易感染性宿主に敗血症・肺炎・心内膜炎などの難治性の重症感染症を惹き起こす。さらにほとんどの既存薬に耐性を示すことから、新薬の開発が急務となっている。

我々は、上記の病原菌に有効な化合物を微生物代謝産物から探索し、沖縄の土壌から分離したライソバクター属細菌の培養液中から新規リポペプチド系化合物トリプロペプチン C（TPPC）を発見した。

TPPC は

1 既存薬と交差耐性を示さず、MRSA, VRE（バンコマイシン耐性腸球菌）, PRSP(ペニシリン系薬剤耐性肺炎球菌) に優れた抗菌力を示した。
2 静脈内投与で安全性が高く、マウスの MRSA および VRE 全身感染モデルにおいてバンコマイシンより優れた治療効果を示した。
3 既存薬とは異なる機序で細胞壁合成を阻害した。
4 ベータラクタムと併用することでベータラクタムの MRSA に対する抗菌活性を復活させ相乗的に強い抗菌活性を示した。なお、MRSA は、ごく一部を除くすべてのベータラクタム剤に高度耐性を示す。

現在、TPPC 単剤ならびにベータラクタムとの併用で新規抗 MRSA 薬としての開発を目指して様々なマウスの感染モデルに対する治療効果試験を行っているほか、より治療効果の優れた化合物の創製を目指して半合成誘導体を合成し、その評価を進めている。

2）The antibacterial agent tripropeptin C

MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) and VRE (vancomycin resistant *Enterococcus faecalis/faecium*) are Gram-positive bacteria and two of the normal microbial flora; they are also known as opportunistic pathogens. They cause severe infections, such as sepsis, pneumonia, and endocarditis, in immunocompromised hosts and have the ability to acquire resistance to available drugs. Vancomycin has been the last resort for the treatment of MRSA, but its efficacy is limited because of the emergence of vancomycin intermediate and highly resistant bacteria. Thus, new drugs effective against these pathogens are urgently required.

Tripropeptin C, a cyclic lipopeptide antibiotic produced by *Lysobacter sp*., isolated from a soil sample collected in Okinawa prefecture, was discovered in 2001 (Fig. 1). The discovery of TPPC stemmed from research on compounds effective against MRSA without cross-resistance to existing drugs including vancomycin.

TPPC:

- exhibited very potent antimicrobial activity against Gram-positive bacteria including resistant strains (MRSA, VRE, PRSP)
- demonstrated excellent therapeutic efficacy in a mouse staphylococcal septicemia model when administered intravenously (45th ICAAC, Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy) Distribution data supported a marked therapeutic efficacy of TPPC in mice.
- inhibited of peptidoglycan biosynthesis with different mode of action from vancomycin and bacitracin.
- revitalized and synergistically potentiated the activity of beta-lactams against MRSA.

These results strongly indicate that TPPC is the promising candidate for novel anti-MRSA drug.

At present, the efficacies of TPPC and TPPC/beta-lactam combination treatments in a mouse-MRSA infection models are under evaluation.

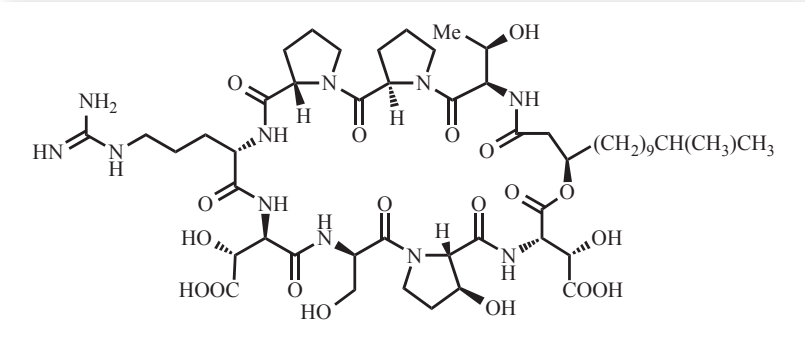


Fig.2 Structure of tripropeptin C.

3）新型 β ラクタマーゼ NDM-1 の伝播機構に関する研究

抗生物質の効かない病原菌が蔓延し、我々人類の健康の脅威となって久しい。それら耐性に寄与する遺伝子群の多くは可動性のプラスミド上に存在し、同種、異種間を問わず伝播し、急速に広がっていく。すなわち、この伝搬機構の解明こそ、薬剤耐性拡大の抑制に有効であると考えられる。

NDM-1 は、2008 年に初めて報告された新型 β ラクタマーゼである。NDM-1 をコードする遺伝子 bla_{NDM-1} も可動性プラスミド上に存在し、発見以来、南アジアやヨーロッパを中心に急激に拡大している。日本でも 2009 年に獨協医科大学病院において、国内初の NDM-1 生産大腸菌が単離された。

本研究テーマは、独協医科大学と協力し、NDM-1 の非常に効率的な伝播機構を解明することを目的とする。これまでに、bla_{NDM-1} をコードするプラスミド (約 200kbp) の塩基配列の解析を終了している。今後はこの配列を基に詳細な伝播機構の解明を目指す。

3）A study on the spreading mechanism of NDM-1, a novel β-lactamase

The dissemination of drug-resistant pathogens has constituted a major threat to human life for a long period of time. Many of the genes responsible for the development of this resistance exist on movable plasmids and are transmissible between microorganisms. As a consequence, these genes have rapidly spread worldwide. Accordingly, it is considered that a study of the spreading mechanism may contribute to control of the proliferation of drug resistance in pathogens.

NDM-1 was first characterized as a novel class of β-lactamase in 2008. The gene bla_{NDM-1}, which encodes NDM-1, exists on a mobile plasmid ; since its discovery this gene has disseminated throughout the world, particularly in South Asia and Europe. The first case in Japan was a NDM-1 producing strain of *Escherichia coli*, isolated at Dokkyo Medical University Hospital in 2009. One of our goals in collaboration with Dokkyo Medical University is to determine the very effective spreading mechanism of NDM-1. Until date, a large plasmid (ca. 200 kbp) encoding bla_{NDM-1} has been sequenced. We are now investigating the detail of the spreading mechanism using this sequence data.

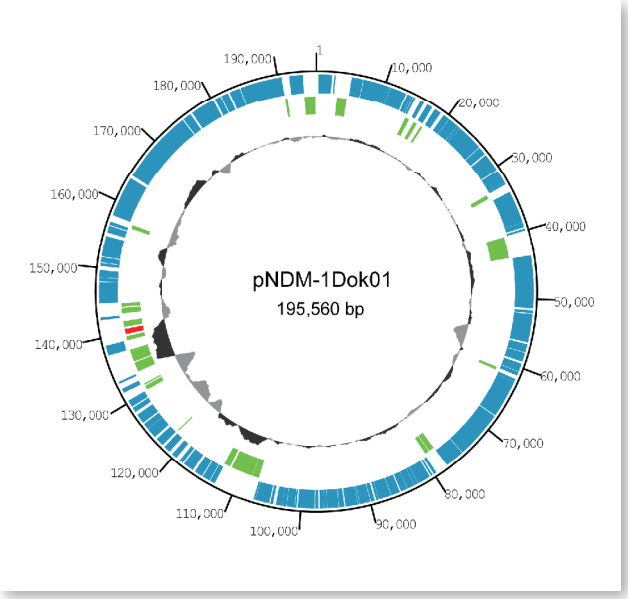


Fig.3 Plasmid map of pNDM-1 Dok01 from *Escherichia coli* NDM-1Dok01. The gene bla_{NDM-1} was shown as red.

4）土壌・水圏微生物に関する研究

我々は，有益な生物活性を有する物質を探索するため，現在までに 4 万株を超える微生物から培養物ライブラリーを構築している。この微生物培養物ライブラリーの多様性や質は，医薬品になりうる生物活性物質の探索の成否に大きく影響することから，多様性の確保や質の維持管理は当研究部の重要な課題となっている。

放線菌は多様な生物活性をもつ多くの二次代謝産物を作ることから、医薬の探索に最も適したスクリーニングソースの一つである。実際に，臨床上重要な医薬品であるカナマイシン、ブレオマイシン，ジョサマイシン，そしてアクラシノマイシンなどが当研究部で単離された放線菌の二次代謝産物中に発見されている。

そこで我々は，放線菌を中心に、ライブラリーの元となる微生物を従来の土壌サンプルより採取するとともに、多様性確保のため、近年では特に深海底泥に焦点を絞り積極的に微生物の単離を行っている。またこれら菌株ライブラリーの多様性を示すために 16S rRNA の塩基配列を指標とした遺伝学的な解析手法により菌株の分類を行っている。さらにこれに加え新たな試みとして、MALDI-TOF MS を用いた微生物の多様性解析についても解析手法の確立を進めている。

4）Study of the aquatic and terrestrial microorganisms for drug discovery

We are expanding our stock culture library for the discovery of new bioactive metabolites and at present, we have > 40,000 pure cultures of soil bacteria. Fermentation broths of these bacteria are used for the screening of useful bioactive compounds. The screening results, therefore, directly depend on the quality and diversity of the library. Our library is composed mainly of actinomycetes, which are an excellent source for the discovery of novel secondary metabolites with diverse biological activities; hence, they are regarded as the best screening sources for drug discovery. At our institute, the clinically important drugs kanamycin, bleomycin, josamycin, and aclacinomycin were discovered from secondary metabolites of actinomycetes. High quality and as yet undiscovered isolates for screening sources are essential to the discovery of new metabolites. Our focus for isolating strains is based on poorly studied habitats within the extremobiosphere and underused samples as well as soil samples. We are principally focusing attention on isolating bacteria from deep-sea sediment and aquatic organisms. To evaluate the diversity of these strains, we are performing a genotyping study based on 16S rRNA gene sequences of isolated bacteria. In addition, we have recently developed a new analysis method, MALDI-TOF MS typing, for actinomycetes.

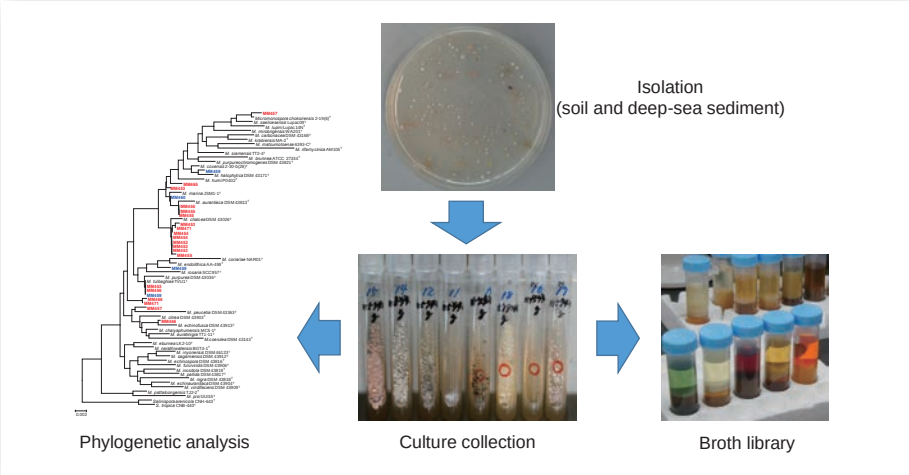


Fig.4 菌株ライブラリーおよびブロスライブラリー構築の流れ
Construction work flow of culture collection and broth library

5）新規抗生物質の探索

薬剤耐性菌は既存のほとんどの抗生物質に対して、先進国、開発途上国の如何を問わず世界的に増加しており、これによって発症する感染症によって人類の健康は今後、大きく脅かされることが懸念されている。特に、ESKAPE（腸球菌、黄色ブドウ球菌、クレブシエラ属、アシネトバクター・バウマンニ、緑膿菌、エンテロバクター属）と呼ばれる病原菌は、院内感染症の原因となる薬剤耐性病原菌であり、これらは例えば、ESBL (Extended Spectrum β-Lactamases：基質拡張型β- ラクタマーゼ) や修飾酵素によって抗生物質を不活化させるだけでなく、抗生物質の標的を変化させ薬剤との親和性を低下させて耐性化を誘導する。

近年、抗生物質の標的を変化させる酵素である 16S rRNA メチラーゼは特に問題となっており、マクロライド耐性ブドウ球菌やアミノグリコシド耐性の緑膿菌、アシネトバクター・バウマンニ、エンテロバクター属などに見られる。

我々は微生物代謝物質からこの 16S rRNA メチラーゼ産生菌に有効な新規アミノグリコシド系抗生物質の探索を精力的に進めている。

5）Screening for new antibiotics

Drug-resistant bacterial infections are a global concern for human health. The development of resistant bacteria has occurred in almost all major classes of antibiotics. The number of pathogenic bacteria, which have acquired tolerance to multiple classes of antibiotics, is steadily increasing worldwide in both developed and developing countries. In nosocomial infections, *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter* species are some of the most problematic. These pathogens are capable of not only producing the enzymes that inactivate antibiotics, such as extended spectrum β lactamases and aminoglycoside-modifying enzymes, but also altering antibiotics' targets using their modification enzymes. This results in decreased affinity of the antibiotics for their targets.

Recently, 16S rRNA methylase was found to be one of the most problematic enzymes. This enzyme is produced by macrolide-resistant *Staphylococcus* and aminoglycoside-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, and *Enterobacter* species. We have, therefore, been screening for new aminoglycoside antibiotics that are effective against the methylase-producing bacteria from microbial metabolites.

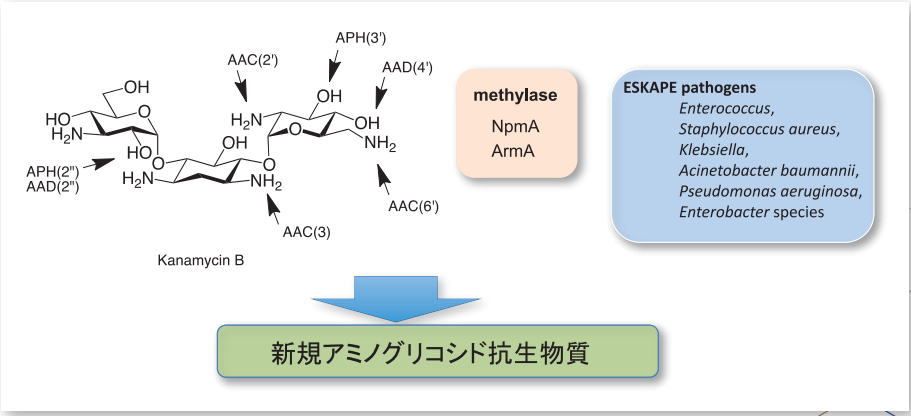


Fig.5 新規アミノグリコシド抗生物質の探索
Screening for new aminoglycoside antibiotics

第3生物活性研究部

Laboratory of Virology

部　　長：柴崎　正勝
チームリーダー：斎藤　泉
メンバー総数：12 名

Laboratory Head ：Masakatsu Shibasaki
Team Leader ：Izumu Saito
Number of Members : 12

第3生物活性研究部では、生体反応の素過程を、分子生物学・生化学（酵素学）・細胞生物学の手法を駆使して解明することを目的とする。その中から生まれる創薬研究を自ら推進するとともに、新規化合物の作用機序検証系の構築などを行い、微化研全体の創薬研究を技術面から支える。具体的には、ウイルス疾患の発症機構の解明を追求するとともに、得られた知見に基づく抗ウイルス剤の開発や新たな検出法への活用を目指す。さらに、難治性筋疾患に関する創薬研究を推進する。

The research purpose of our laboratory is to elucidate the elementary processes of vital reactions by making full use of techniques based on molecular biology, biochemistry (enzymology), and cell biology. We promote original drug discovery research based on the results obtained in our studies. Furthermore, we provide technical support for the drug discovery research of IMC by developing experimental systems that can verify the mode of action of novel compounds. We have particularly elucidated the elementary processes underlying the systems of viral and intractable diseases and developed new agents against these diseases.

テーマ／ Theme

1）インフルエンザウイルス研究
2）B 型肝炎ウイルス研究
3）難治性神経筋疾患研究

1）Influenza virus
2）Hepatitis B virus (HBV)
3）Neuromuscular diseases

テーマ概要／ Theme Outline

1）インフルエンザウイルス研究

インフルエンザウイルスの増殖の過程は、①ウイルス粒子の宿主細胞への吸着、②エンドサイトーシスによる細胞内侵入、③膜融合によるウイルスゲノムの細胞質への放出、④核内におけるゲノムの転写・複製、⑤新生したウイルスタンパク質およびゲノムの集合、そして⑥子孫ウイルス粒子の出芽と放出から成り立つ（図）。従って、これらの過程のいずれかを遮断することによりウイルスの増殖を抑制することが可能となる。実際、既存の抗インフルエンザウイルス薬であるアマンタジンは膜融合（③）を、また同タミフルやリレンザは子孫ウイルスの放出（⑥）を阻害することにより治療効果を示すとされる。しかしながら、これらに耐性をもつウイルスが高率に出現してきたことから、新たな治療薬の開発が急務となっている。このような背景から、我々はゲノムの転写・複製（④）およびウイルス粒子形成（⑤）に着目し、これら過程の分子機構を酵素化学的および分子遺伝学的に明らかにするとともに、得られた成果から新たな発想に基づいた抗インフルエンザウイルス薬やワクチンの開発を目指す。

1）Influenza virus

Influenza virus binds to sialic acid on the cell surface (1) and is incorporated into the cell by endocytosis (2). Influenza virus genome RNA is released into the cytoplasm (3) and transported to the cell nucleus. In the nucleus, the viral genome is transcribed to produce viral mRNAs; it is also replicated to produce progeny genome RNAs (4). After transcription and replication, viral mRNAs as well as progeny genome RNAs are transported to the cytoplasm. The viral mRNAs are translated to synthesize viral proteins. Viral proteins and progeny genome RNAs are assembled at the plasma membrane (5), and progeny virions are released from the cell surface (6). Amantadine inhibits membrane fusion during viral genome RNA release into the cytoplasm, and Tamiflu and Relenza inhibit release of progeny virions from the cell surface. However, it is necessary to develop new anti-influenza drugs because viruses resistant to these drugs have been isolated. Thus, we now analyze the molecular mechanisms of transcription and replication of the influenza virus genome as well as the assembly of viral particles and attempt to develop new anti-influenza agents (drugs) and vaccine based on our findings.

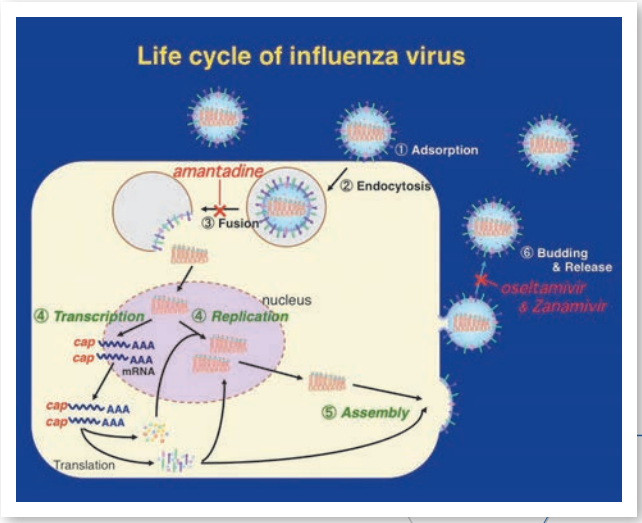


Fig.1 インフルエンザウイルスのライフサイクル
Life cycle of influenza virus

2）B 型肝炎ウイルス研究

B 型肝炎ウイルス（Hepatitis B virus: HBV）の持続感染による慢性肝炎は、肝硬変・肝癌の発症リスクを著しく高めることから、抗ウイルス剤による治療が必要となる。現在、治療にはインターフェロンと核酸アナログ製剤が用いられている。しかし、インターフェロンによる治療効果は投与患者の 20 ～ 40% に留まり、高頻度に副作用が認められる。また、核酸アナログ製剤は高率な治療効果を示すものの、薬剤耐性ウイルスの出現が問題となっている。このことから、新たな薬剤の開発により治療戦略を拡充することが切望されている。我々は HBV の特異なゲノム複製機構（図）に着目し、この過程を制御する低分子化合物の探索研究を進め、抗 HBV 薬の創製を目指す。

2）Hepatitis B virus (HBV)

Chronic infection of HBV is associated with an elevated risk of developing liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma, emphasizing that antiviral drugs are extremely useful for therapeutic treatment to control the infection as well as contributing to a reduction in cirrhosis and cancer development. Although current antiviral drugs, such as interferon alpha (IFN-α), and nucleos(t)ide analogs are effective against HBV infections, these drug classes have certain limitations, such as (1) for IFN-α, a partial efficacy and side effects exist and (2) for nucleos(t)ide analogs, the emergence of drug-resistant virus strains has occurred. Thus, there remains an unmet need for the development of novel anti-HBV drugs. Therefore, we are dedicated to identifying new anti-HBV compounds with emphasis on targeting the virus's unique genome replication cycle.

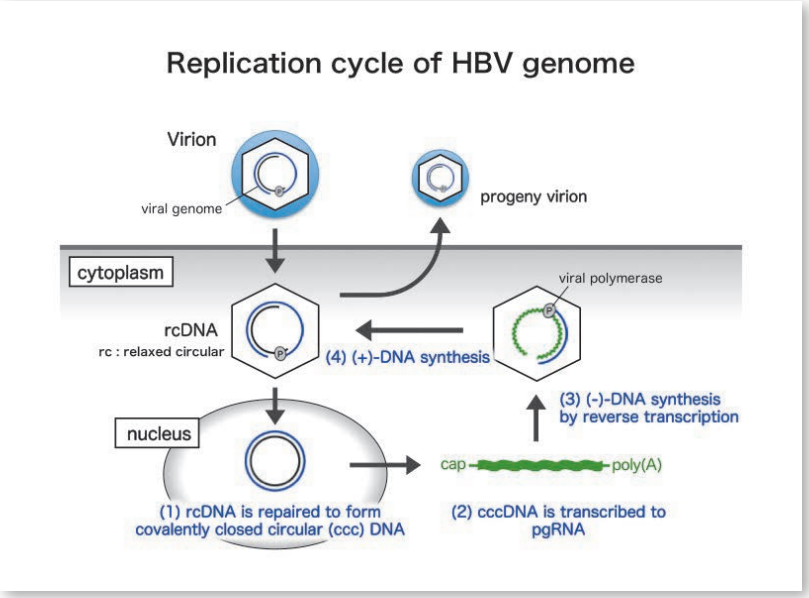


Fig.2 HBV ゲノムの複製サイクル
Replication cycle of HBV genome

3）難治性神経筋疾患に対する治療薬を目指した基盤研究

難治性神経筋疾患は、多くが遺伝性疾患であり現在もそのほとんどの疾患で治療法が無い。多くの難治性神経筋疾患では、神経筋接合部の機能不全が知られている。我々は、神経筋接合部を治療標的としたスクリーニング系を構築し、微生物培養物または化合物ライブラリーを用いたスクリーニングを行っている。また、難治性神経筋疾患の一つである脊髄性筋萎縮症の治験プロジェクトに参画し、原因遺伝子産物である SMN 蛋白質の新規測定法の開発やその技術を基に薬剤探索系スクリーニング系の構築を進めている。

3）Neuromuscular diseases

Many neuromuscular diseases are caused by gene mutations, and frequently the current available therapeutic treatments are not sufficient. Additional, improved treatments are required for targeting these diseases. These diseases are known to cause dysfunction of the neuromuscular junction, the site of connection between motor nerves and skeletal muscles. Therefore, we are attempting to search for new drugs from both natural products and chemical libraries, targeting the neuromuscular junction as a new therapeutic approach for neuromuscular diseases.

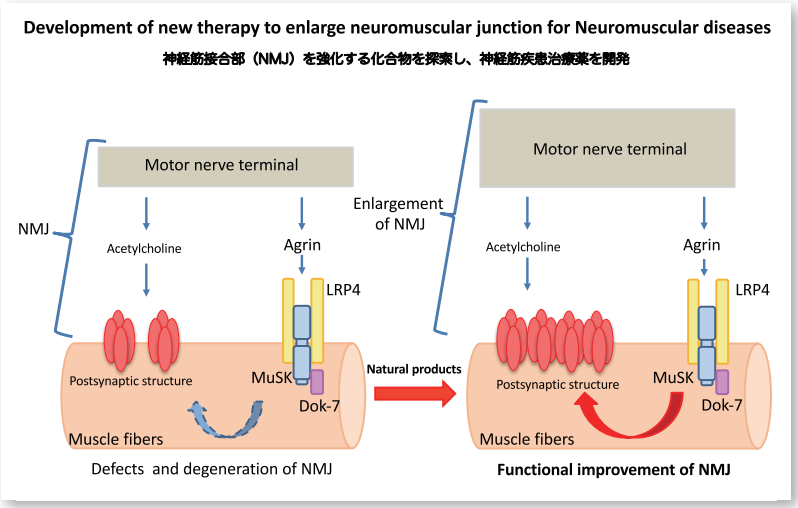


Fig.3 神経筋接合部強化物質の探索
New therapeutic approach to enlarge the neuromuscular junction for Neuromuscular diseases

構造生物学研究部

Laboratory of Structural Biology

メンバー／ Member

部　　長：野田　展生　　Laboratory Head：Nobuo Noda
メンバー総数：11 名　　Number of Members：11

創薬の標的となりうる生命現象について、構造生物学的手法を用いて分子レベルでのメカニズム解明を行なうとともに、その現象を制御する生物活性物質と標的蛋白質との複合体の構造解析を行い、より活性の強い薬剤の設計を行う。

We have elucidated the basic mechanism of life phenomena using structural biology methods. Furthermore, we are creating a basis for designing more potent drugs that regulate the phenomena through the structural analysis of drug–target complexes.

テーマ／ Theme

1）オートファジーの構造生物学的研究
2）薬剤－標的タンパク質複合体の構造解析

1）Structural biology of autophagy
2）Structural analysis of drug–protein complexes

テーマ概要／ Theme Outline

1）オートファジーの構造生物学的研究

オートファジーは真核生物に普遍的に保存された細胞内分解システムである。オートファジーは様々な生理機能を担っており、その異常は神経変性疾患やがんなど重篤な疾病をもたらす。オートファジーは二重膜構造体オートファゴソームの新生を介して分解対象を隔離し、分解の場であるリソソームへと輸送することで分解を行う。オートファジーを担う因子として 40 種類以上の Atg 蛋白質が同定されているが、それら Atg 蛋白質がどのような機能を担うことでオートファジーが進行するのか、詳細な分子機構は不明である。我々は Atg 蛋白質群の網羅的構造解析を行い、立体構造に基づいた機能解析を行うことで、オートファジーの基本的分子機構の解明を進めている。また得られた構造機能情報に基づき、オートファジーを制御する薬剤の開発も進めている。

1）Structural biology of autophagy

Autophagy is an intracellular degradation system conserved in eukaryotes. It has various physiological roles and its dysfunction causes various severe diseases such as neurodegeneration and cancer. During autophagy, doublemembrane structures called autophagosomes are generated, which sequester degradation targets and deliver them to the lytic compartment, the lysosome, where they are degraded by hydrolases. Over 40 Atg proteins have been identified as critical factors for autophagy; however, the molecular mechanism of how these Atg proteins mediate each process of autophagy remains to be elucidated. We are attempting to determine the molecular mechanism of autophagy through a comprehensive structural study of Atg proteins and a functional study based on structural information. Based on the structural and functional information obtained, we are developing drugs that regulate autophagy.

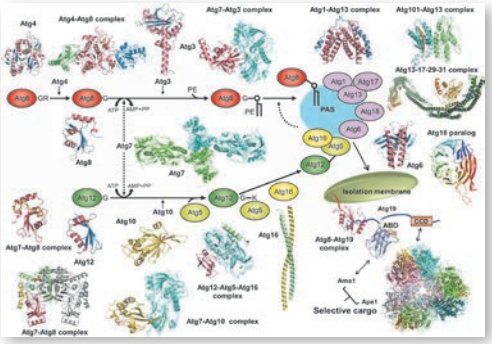


Fig.1 これまでに構造決定に成功した Atg 蛋白質群の立体構造
Atg protein structures that have been determined

2）薬剤－標的タンパク質複合体の構造解析

当研究所で発見された生理活性物質について、その標的蛋白質との複合体の X 線結晶構造解析を進めている。得られた複合体の構造情報に基づき、生理活性物質の作用機序の解明およびより親和性の高い化合物の設計を行っている。現在、抗 MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）薬とその標的蛋白質である DNA gyrase および DNA との三者複合体、がんの原因となる異常活性型変異を持ったキナーゼとその阻害剤の複合体、インフルエンザウイルス由来エンドヌクレアーゼとその阻害剤の複合体などの X 線結晶構造解析に取り組んでいる。

2）Structural analysis of drug–protein complexes

We are performing structural studies of the physiologically active substances, which were developed in IMC, as a complex with their target proteins using X-ray crystallography. Based on the structural information of the compound–target complex obtained, we are elucidating the mechanism of action for the compounds and designing a new compound that has a higher affinity for the target protein. For example, we are using X-ray crystallography to determine the ternary complex formed between a new anti-MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) drug, DNA gyrase, and DNA.

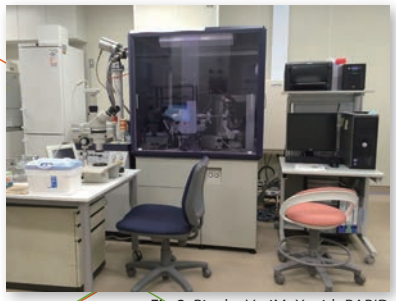


Fig.2 Rigaku VariMaX with RAPID

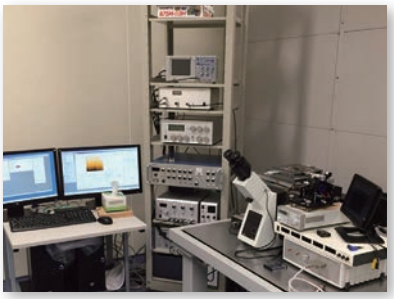


Fig.3 RIBM Nano Explorer High-Speed Atomic Force Microscopy

沼津支所
Numazu Branch

メンバー／ Member

支　所　長：川田　学	Branch Head　：Manabu Kawada
主席研究員：安達　勇光	Chief Researcher：Hayamitsu Adachi
主席研究員：百瀬　功	Chief Researcher：Isao Momose
主任研究員：坂本　修一	Senior Researcher：Shuichi Sakamoto
メンバー総数：14 名	Number of Members：14

沼津支所は、主に「がん」を研究の対象として、がんの病態を分子レベルで解析することで新たな治療標的および治療法の開発を目指している。また、それらの研究成果から実験系を構築し、放線菌やカビなどの培養液から生物活性物質を探索することで新しい抗がん剤の創薬基礎研究を行っている。

一方、微生物の環境分野への応用や新たな微生物ソースとして冬虫夏草などから昆虫病原糸状菌の分離を行っている。

Our research focuses on “cancer.” We are studying cancer biology at the molecular level in order to identify new therapeutic targets and strategies for cancer. Furthermore, based on our findings, we are developing new candidates for anticancer drugs by screening for bioactive natural compounds in microbial cultures using our original experimental systems.

Furthermore, we apply microbes to environmental field and also isolate entomophathogenic fungi as a new screening source.

テーマ／ Theme

1）ユビキチン - プロテアソーム経路の阻害剤の探索
　プロテアソーム阻害剤
　IAP 阻害剤
　Mdm2 阻害剤
2）がん微小環境を標的とした抗がん剤の開発
3）新規アンドロゲンレセプター機能阻害物質の探索
4）独自の自然転移モデルを活用した小細胞肺癌の治療シーズの探索
5）微生物の環境分野への応用
6）冬虫夏草などの昆虫病原糸状菌からの生理活性物質の探索

1）Development of inhibitors of the ubiquitin–proteasome pathway
　Proteasome inhibitors
　IAP inhibitors
　Mdm2 inhibitors
2）Development of tumor microenvironment-oriented anticancer drugs
3）Development of androgen receptor inhibitors
4）Searching for new treatment strategies against small-cell lung cancer by using an original orthotopic metastasis model
5）Application of microbes to microenvironments
6）Screening of bioactive compounds from entomopathogenic fungi

テーマ概要／ Theme Outline

1）ユビキチン - プロテアソーム経路の阻害剤の探索

ユビキチン - プロテアソーム経路は、主要な生体内タンパク質分解経路である。特に細胞増殖や炎症に関わる鍵タンパク質がこの経路により分解されることから、がんとの関わりに関心が高まっている。そこで、我々は下記の経路に関する阻害剤を探索している。

1）Development of inhibitors of the ubiquitin–proteasome pathway

The ubiquitin–proteasome pathway is involved in many biological processes. It degrades numerous regulatory proteins critical for tumor growth. We are presently attempting to identify the inhibitors of this pathway.

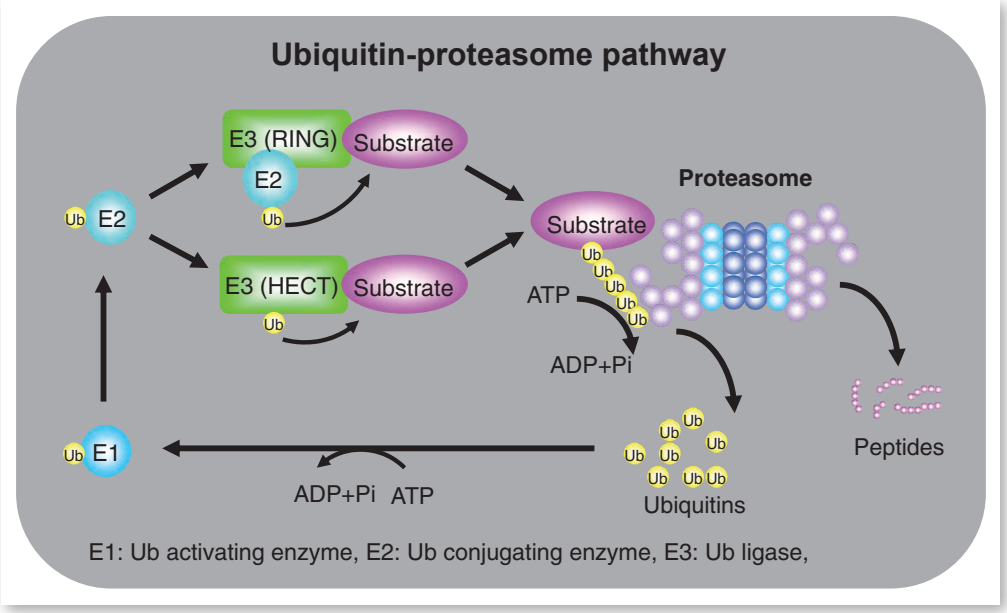


Fig.1 ユビキチンープロテアソーム経路
Ubiquitin-proteasome pathway

プロテアソーム阻害剤：

タンパク質分解酵素複合体であるプロテアソームは、がんの増殖や悪性化に関わる様々なタンパク質を分解している。プロテアソーム阻害剤は、これらのタンパク質の分解を阻害することにより腫瘍の増殖を抑制する。実際にプロテアソーム阻害剤は、多発性骨髄腫やマントル細胞リンパ腫の治療薬として利用されている。そこで経口投与にて有効なプロテアソーム阻害剤をインビボイメージングを用いて探索している。

Proteasome inhibitors:

The proteasome is an abundant multi-enzyme complex that has protease activities. Proteasome inhibitors can stabilize numerous regulatory proteins and cause apoptosis, thereby limiting tumor development. Therefore, proteasome inhibition is an attractive therapeutic strategy for human malignancy. We are presently developing orally active proteasome inhibitors using in vivo imaging system.

Fig.2 腫瘍内でのプロテアソーム阻害剤の *in vivo* イメージング
In vivo imaging of proteasome inhibition in tumors

IAP 阻害剤：

IAP はアポトーシス実行タンパク質であるカスパーゼのユビキチンリガーゼであり、カスパーゼの活性を抑制する働きがある。そこで IAP とカスパーゼの結合を阻害し、がん細胞にアポトーシスを誘導する化合物を探索している。

IAP inhibitors:

IAPs act as E3 ubiquitin ligases for caspase; furthermore, they act as inhibitors of caspase activities. Inhibition of IAP–caspase interaction activates the caspase cascade leading to enhanced apoptosis.

Mdm2 阻害剤：

Mdm2 はがん抑制タンパク質 p53 のユビキチンリガーゼであり、p53 をユビキチン化し分解へと導く。そこで p53 と Mdm2 の結合を阻害し、p53 を安定化することによりアポトーシスを誘導する化合物を探索している。

Mdm2 inhibitors:

Mdm2 functions as an E3 ubiquitin ligase for p53 tumor suppression and as an inhibitor of p53 transcriptional activation. Inhibition of Mdm2–p53 interaction activates the p53-dependent apoptosis pathway and induces inhibition of tumor growth.

2）がん微小環境を標的とした抗がん剤の開発

がん微小環境はがんの進展や悪性化に大きな影響を及ぼしている。多くの固形がんは不十分な血管形成ならびに血流量の欠乏による慢性的な栄養欠乏・酸素不足状態にある。正常組織を栄養欠乏・酸素欠乏状態にすると細胞は速やかに死滅するが、膵臓がんのような腫瘍血管の少ないがん細胞は、栄養欠乏・酸素欠乏状態に耐えて生存できる能力を持っている。このような正常組織には見られないがん微小環境特有の現象を利用すれば新たな抗がん剤の開発に繋がると考え、低栄養や低酸素環境下の細胞に選択的に作用する化合物を探索している。

2）Development of tumor microenvironment-oriented anticancer drugs

The tumor microenvironment has an important influence on cancer progression, particularly in cases where large areas of a tumor are nutrient-starved and hypoxic because of a disorganized vascular system. Because chronic deprivation of nutrients or hypoxia is rare in normal tissues, nutrient-deprived or hypoxic cancer cells are potential targets for new anticancer agents. We are presently screening cytotoxic agents that function preferentially under nutrient-deprived or hypoxic conditions.

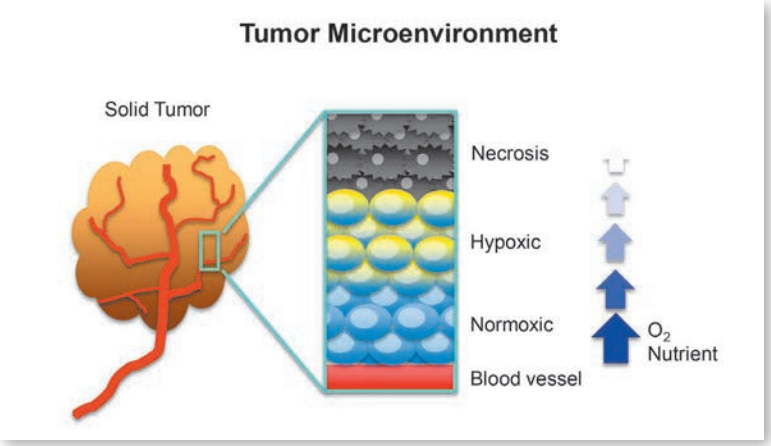


Fig.3 がん微小環境
Tumor microenvironment

3）新規アンドロゲンレセプター機能阻害物質の探索

前立腺がんは日本において死亡率および罹患率が急増している。このがんは男性ホルモンであるアンドロゲンに依存性を示すがんであるが、がんの進行と共にアンドロゲン依存性が喪失し、ホルモン療法に抵抗性を示すようになる。近年、アンドロゲン依存性を喪失した前立腺がんにおいてもアンドロゲンレセプターの機能を阻害することによって、がんの増殖を抑制できることが明らかになってきた。我々は従来の機序とは異なるアンドロゲンレセプター機能を阻害する化合物を探索している。

3）Development of androgen receptor inhibitors

Prostate cancer initially occurs as an androgen-dependent tumor and responds favorably to androgen ablation therapy. However, prostate cancer progresses from an androgen-dependent to an androgen-independent stage and acquires resistance to androgen ablation therapy. Most androgen-independent prostate cancer cells still express androgen receptors (ARs), indicating that these cells maintain the AR signaling pathway. Therefore, we are currently attempting to identify novel AR inhibitors that could be potential drugs for treating advanced prostate cancer.

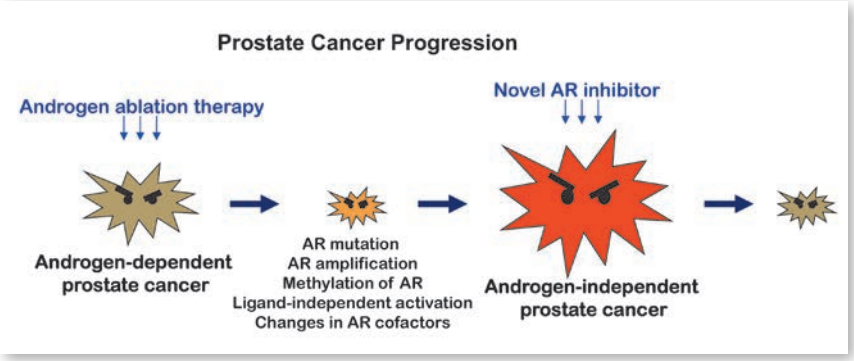


Fig.4 前立腺がんの進展
Prostate cancer progression

4）独自の自然転移モデルを活用した小細胞肺癌の治療シーズの探索

肺癌の２割程度を占める小細胞肺癌は、診断時に高率に遠隔転移を認める予後の悪い癌であり、５年生存率は10%以下に過ぎない。この治療成績は過去数十年に渡って改善されておらず、新たな治療法の開発が急務である。しかしながら、治療法開発において重要な、小細胞肺癌の癌進展および転移の機構については、未だ不明な点が多い。最近我々は、ヒト小細胞肺癌をヌードマウス肺へ同所移植することで遠隔臓器に転移巣を形成させるモデルを、独自に開発した。本モデルは、従来の小細胞肺癌の同所移植モデルと比較して遠隔転移頻度が高い点で優れている。現在我々はこれを活用して、(1) 転移機構（特に脳転移）の解析、(2) 治療標的分子の探索、(3) 治療薬シーズ化合物の探索、に取り組んでいる。

4）Searching for new treatment strategies against small-cell lung cancer by using an original orthotopic metastasis model

Small-cell lung cancer (SCLC) accounts for approximately 20% of lung cancer cases and is one of the most aggressive cancers due to its ability to form early and widespread metastases. The overall survival of SCLC at five years has been approximately 10% over the last several decades. Hence, the development of novel strategies for the treatment of SCLC is urgently required. However, the details of SCLC biology, which is important for the development of novel SCLC treatments remains unclear. Recently, we have successfully established a new orthotopic transplantation model of SCLC in nude mice. Our model has a superior distant metastases-forming ability compared with that of other orthotopic SCLC models. Using this model, we are currently addressing several projects as follows: (1) the analysis of the molecular mechanisms of distant metastases formation of SCLC (particularly brain metastasis), (2) searching for novel molecular targets for the treatment of SCLC, and (3) searching for parent-compounds of drugs against SCLC.

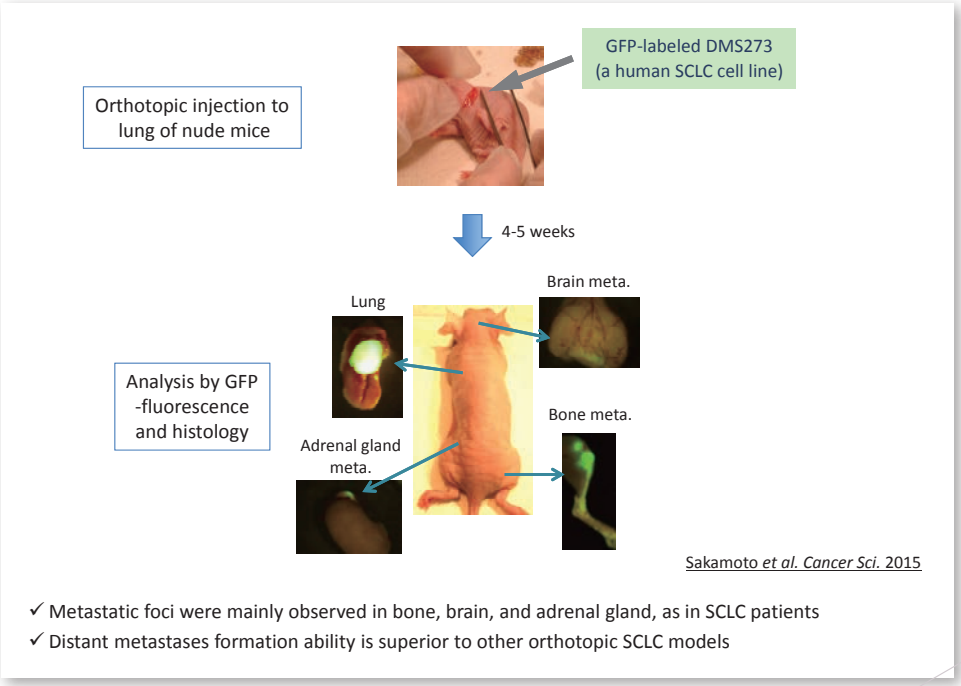


Fig.5 微化研で独自に開発した小細胞肺癌の自然転移モデル
A new orthotopic metastasis model for SCLC

5）微生物の環境分野への応用

微生物の利用を環境分野に展開している。特に火力発電所や原子力発電所などで、冷却水とともに大量に陸揚げされる通常の処理が困難なクラゲ類の分解、および廃水処理を実用化している。当研究会で発見した強力な微生物分解酵素を利用し、クラゲ類を分解した後に生ずる大量の塩分を含む有機廃水を処理できる単一繊毛虫での処理系を構築した。本技術をさらに発展させ、海産廃棄物に特化した応用を進めている。本技術はすでに商品化している。

5）Application of microbes to microenvironments

We applied microbes to environmental improvement and promoted a procedure to degrade jellyfish, which is difficult to process in thermal and nuclear power plants (Figure 6). We developed an original processing system of jellyfish, which included enzymatic degradation and brine waste water processing by a single ciliate. We also developed this methodology for application to marine waste.

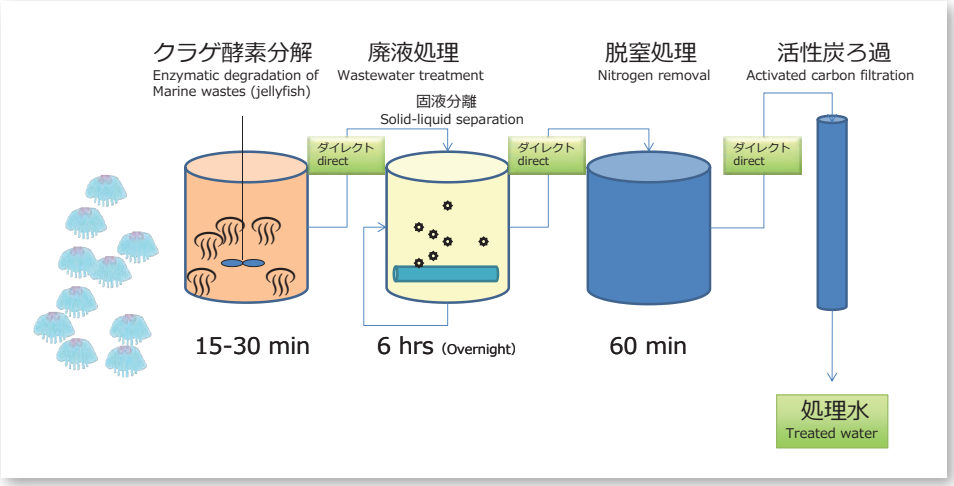


Fig.6 クラゲ分解処理概略図
Flowchart of jellyfish degradation

6）冬虫夏草などの昆虫病原糸状菌からの生理活性物質の探索

我々は、新しい医薬探索源として冬虫夏草を含む昆虫病原糸状菌の収集・分離を行っている。昆虫病原糸状菌は、昆虫への寄生、増殖、殺虫といったライフサイクルの中で様々な生理活性物質を生産していると考えられる。それらの生理活性物質はユニークな構造・機能を有し、医薬品の種化合物として有用であると期待されている。我々は、抗がん剤を中心に生理活性物質の探索を行っており、さらに菌の代謝産物の多様性を拡げるため二次代謝の活性化の検討を行っている。

6）Screening of bioactive compounds from entomopathogenic fungi

We have isolated *Cordyceps* and related entomopathogenic fungi as screening resources for drug discovery. Entomopathogenic fungi are known to produce various bioactive molecules in it's life cycle, infection process of insects, proliferation and death of insects. The molecules produced by these microbes are expected to possess unique structures and biological functions and may represent seed compounds for drugs. We screen bioactive molecules focusing on antitumor compounds and furthermore investigate the activation of fungal secondary metabolism to broaden diversity of metabolites.

Fig.7 冬虫夏草
Photographs of Cordyceps

動物施設
Section of Animal Resources

メンバー／Member

施　設　長：川田　学　　Director : Manabu Kawada
主任研究員：大石　智一　　Senior Researcher : : Tomokazu Ohishi
メンバー総数：5名　　Number of Members : 5

所員から提出された微生物抽出物及び化合物について動物実験系を使用して評価している。

In vivo evaluation of the compounds isolated from microbial metabolites or synthesized in the laboratory.

試験一覧／Animal evaluation system

1）毒性試験及び薬物動態

①急性毒性試験
- 体重変化
- 経過観察
- 解剖所見

14日観察

②薬物動態試験
- 血清
- 尿
- 糞

採取、分析

2）抗腫瘍関連試験

① 抗腫瘍試験

ヒト移植性腫瘍
- Lung : LX-1, DMS-273
- Pancreatic : Capan-1, PANC-1
- Colon : DLD-1
- Prostate : LNCaP, PC-3, DU-145
- Breast : BSY-1
- Melanoma : LOX
- Others

マウス移植性腫瘍
- Ehrlich carcinoma
- IMC carcinoma
- Sarcoma : S180
- Fibro sarcoma : Meth-A
- Leukemia : L1210, EL4
- Colon cancer : Colon26
- Melanoma : B16-F10, B16-BL6
- Others

1）Toxicity and PK/PD studies

① Acute toxicity
- Weight changes
- External changes
- Anatomy findings

Observation for 14 days

② Pharmacokinetic examination
- Serum
- Urine
- Excrement

2）Antitumor studies

① Antitumor examination

Human transplantable tumor
- Lung : LX-1, DMS-273
- Pancreatic : Capan-1, PANC-1
- Colon : DLD-1
- Prostate : LNCaP, PC-3, DU-145
- Breast : BSY-1
- Melanoma : LOX
- Others

Mouse transplantable tumor
- Ehrlich carcinoma
- IMC carcinoma
- Sarcoma : S180
- Fibro sarcoma : Meth-A
- Leukemia : L1210, EL4
- Colon cancer : Colon26
- Melanoma : B16-F10, B16-BL6
- Others

②血管新生阻害試験

② Antiangiogenic examination

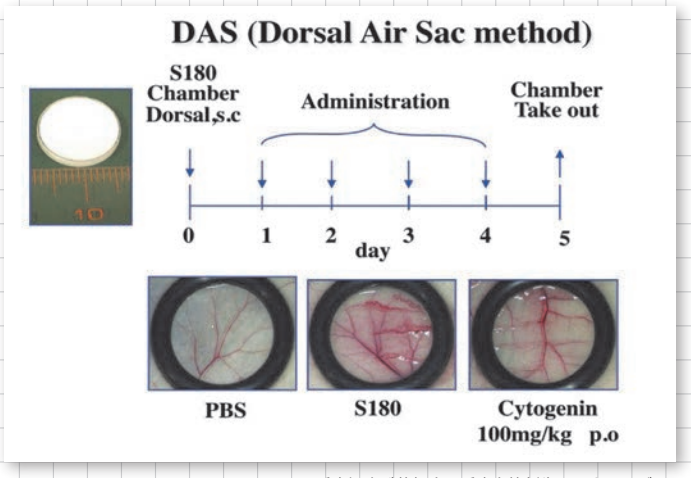


Fig.1 腫瘍細胞が惹起する腫瘍血管新生のマウスモデル
Model of the tumor angiogenesis.

③ 抗転移試験

③ Antimetastatic examination

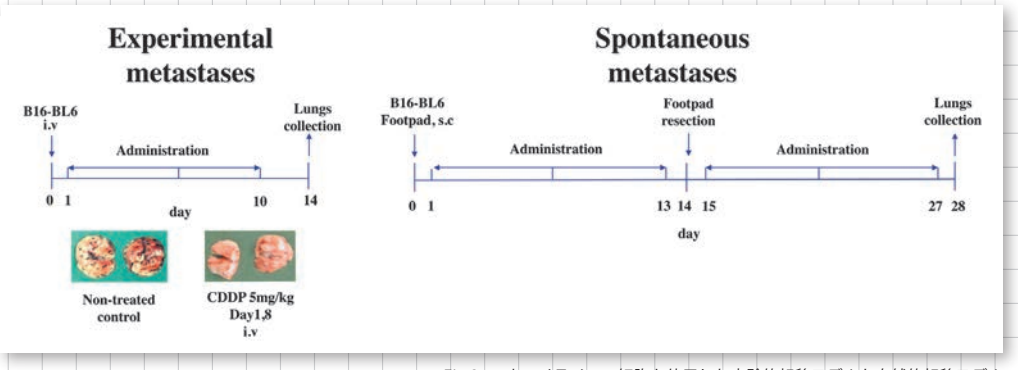


Fig.2 マウスメラノーマ細胞を使用した実験的転移モデルと自然的転移モデル
Experimental and spontaneous metastasis model.

3）感染治療試験

マウス全身感染モデル

Staphylococcus aureus Smith

MRSA

Staphylococcus aureus MS5935-3

Staphylococcus aureus BASA56

マウスヘリコバクターピロリ感染モデル

Helicobacter pylori Sidney Strain 1 (SS1)

3）Antibacterial study

Model of the systemic infection

Staphylococcus aureus Smith

MRSA

Staphylococcus aureus MS5935-3

Staphylococcus aureus BASA56

Mouse model of *Helicobacter pylori* infection

H. Pylori SS1

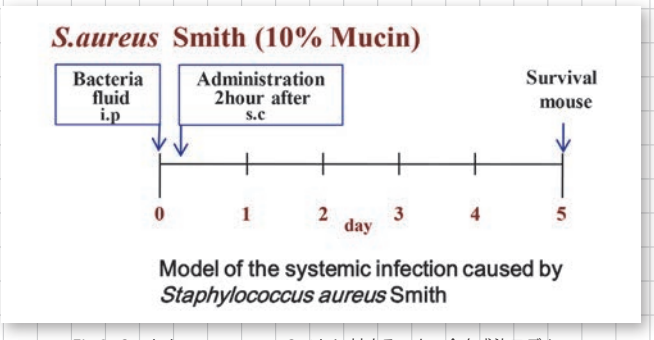


Fig.3 *Staphylococcus aureus* Smith に対するマウス全身感染モデル
Model of the systemic infection caused by *Staphylococcus aureus* Smith.

4）抗関節炎試験

マウスにタイプ II コラーゲン・Freund' complete adjuvant (FCA) を 0 日目に投与、21 日目にコラーゲン・FCA を再投与して関節炎を誘発し、経時的に左右後肢の容積及び四肢の 5 段階の関節病変スコアーで評価をする。

4）Antiarthritic study

To induce the arthritis, type II collagen complete adjuvant (FCA) is inoculated to the mouse on day 0 and 21. Footpad volumes and joint changes of limb are measured.

動物実験は「微生物化学研究所における動物実験指針」に基づき実施している。
The experiment is performed in accordance with the Guideline for Animal Experiment in the MCRF.

有機合成研究部
Laboratory of Synthetic Organic Chemistry

メンバー／ Member

部　　長：渡辺　匠
主 席 研 究 員：熊谷　直哉
メンバー総数：22 名

Laboratory Head : Takumi Watanabe
Chief Researcher : Naoya Kumagai
Number of Members : 22

有機合成研究部では、新しい概念を含んだ新規不斉触媒反応の開発と、その反応を駆使した有用生物活性化合物群の効率的不斉合成法開発の両軸を密接にリンクさせた研究展開を行っている。新規不斉触媒反応開発は廃棄物を副生しない高原子効率の反応にターゲットを絞り、最終的にはクリーンな大規模合成への適用を視野に入れている。本不斉触媒方法論により効率的に生み出された光学活性化合物群を、医薬品をはじめとする人類社会に大きく貢献する有用化合物へと導くのが私たちの使命である。

Our mission is to 1) develop a novel catalytic asymmetric reaction based on a new concept and 2) apply it to the efficient synthesis of therapeutics. We focus specifically on the development of C–C bond-forming reactions that proceed via proton transfer between substrates, achieving perfect atom economy. These processes should be sufficiently robust to be amenable to industrial application and to streamline the synthetic routes of optically active therapeutics. We believe our collection of state-of-the-art asymmetric catalysts enables the production of a myriad of compounds that enhance human health and improve society.

テーマ／ Theme

1）希土類金属 / アミド配位子錯体を用いた触媒的不斉反応の開発
2）ソフト Lewis酸 /ハード Brønsted塩基協奏機能触媒系を用いた触媒的不斉反応の開発
3）触媒的不斉反応の開発を基盤とした重要医薬品の触媒的不斉合成および医薬化学的展開
4）カプラザマイシン関連化合物の不斉合成研究

1）Development of asymmetric reactions catalyzed by rare-earth metal/amide-based ligand complexes
2）Soft Lewis acid/hard Brønsted base cooperative catalysis
3）Catalytic asymmetric synthesis of therapeutically important compounds and their medicinal chemistry
4）Studies of asymmetric synthesis of caprazamycin-related compounds

テーマ概要／ Theme Outline

1）希土類金属 / アミド配位子錯体を用いた触媒的不斉反応の開発

多くの配位形式を示現する希土類金属、適度な剛直性と柔軟性を持ったアミド配位子の特徴を生かした触媒的不斉反応の設計を行っている。本方法論は多くの不斉触媒が不得意とする高配位性・多官能基性基質に対する反応においても高い触媒活性・立体選択性を発現する。さらに、希土類金属の適切な選択による触媒のドラスティックな構造遷移も本触媒系の大きな特徴で、反応系中での触媒機能のスイッチング機構や、アルカリ金属と組み合わせたヘテロバイメタリック不均一系触媒の開発も行っている。アミド配位子を中核とし、多機能化と触媒の動的構造変化を両キーワードにさらなる反応開発を行っている。

1）Development of asymmetric reactions catalyzed by rare-earth metal/amide-based ligand complexes

We have focused on the development of catalytic asymmetric reactions based on the unique characteristics of rare-earth metal/amide-based ligand complexes: rare-earth metals can adopt multiple coordination modes, and amide-based ligands can exhibit appropriate structural rigidity and flexibility. These complexes have exhibited high performance in reactions with highly coordinative substrates. Their structural flexibility permitted in-situ switching of catalytic functions through dynamic structural changes. Combination with an alkali metal produced a heterobimetallic heterogeneous catalyst, which is effective for anti-selective catalytic asymmetric nitroaldol reactions.

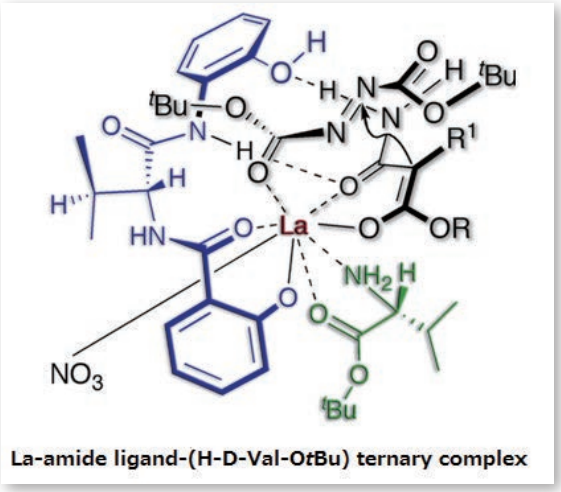


Fig.1 アミノ化反応への推定遷移状態
Proposed transition state model for asymmetric amination.

2）ソフト Lewis 酸 / ハード Brønsted 塩基協奏機能触媒系を用いた触媒的不斉反応の開発

アルキルニトリル、チオアミド、アルキンといったソフトな Lewis 塩基性を有する反応基質を用いるプロトン移動型触媒的不斉反応の開発を行っている。ソフト Lewis 酸 / ハード Brønsted 塩基協奏機能触媒系によるソフト Lewis 塩基性官能基の選択的・求核的活性化により、反応基質の事前活性化を必要とすることなく基質間のプロトン移動のみで反応が進行し、クリーンな反応系の構築が可能になる。

2）Soft Lewis acid/hard Brønsted base cooperative catalysis

We have focused on the development of catalytic asymmetric reactions using soft Lewis basic substrates, e.g., alkyl nitrile, thioamide, and terminal alkynes. When the designed soft Lewis acid/hard Br ønsted base cooperative catalysts are used, the soft Lewis acid selectively activates soft Lewis basic functionalities, and the hard Br ønsted basic alkali metal aryloxide deprotonates pronucleophiles activated in-situ under mild basic conditions. This strategy of cooperative catalysis allows us to develop atom-economical catalytic C–C bond-forming methodologies to construct a chiral tetrasubstituted carbon center and synthetically useful chiral building blocks.

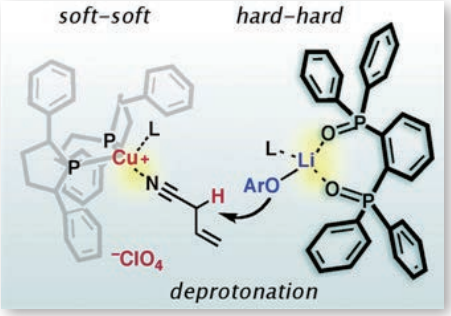


Fig.2 協奏的脱プロトン化機構
Deprotonation by cooperative catalysis.

3）触媒的不斉反応の開発を基盤とした重要医薬品の触媒的不斉合成および医薬化学的展開

上記で開発した触媒的不斉反応群を鍵工程として利用し、重要医薬品・生物活性化合物群の効率的な触媒的不斉合成研究を展開している。現在までに、抗インフルエンザ薬であるタミフル及びリレンザや、糖尿病性神経症治療候補薬剤であるラニレスタット、高脂血症治療薬アトルバスタチン等の効率的触媒的不斉合成法の開発に成功している。また、開発した効率的不斉合成経路を基盤とした創薬化学的研究も展開している。

3）Catalytic asymmetric synthesis of therapeutically important compounds and their medicinal chemistry

We have applied the arsenal of catalytic asymmetric reactions developed in our group to the efficient catalytic asymmetric synthesis of therapeutics. We have synthesized the neuraminidase inhibitor Tamiflu (anti-influenza), Relenza(anti-influenza) and the aldose reductase inhibitor Ranirestat (for the treatment of diabetic neuropathy). We are also interested in the medicinal chemistry of the targets based on our synthetic methodology.

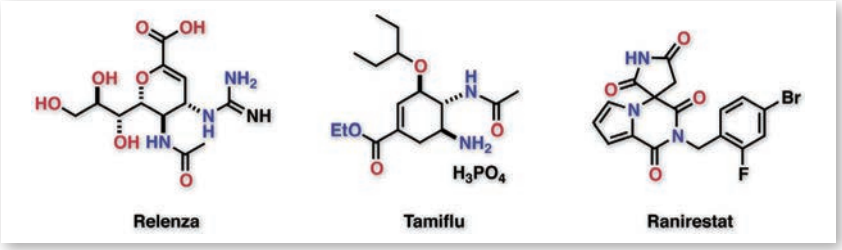


Fig.3 構造式
Structures of synthetic targets.

4）カプラザマイシン関連化合物の不斉合成研究

当研究部では「微化研プロジェクト：CPZEN-45」の一環として関連化合物の有機化学的研究を行っている。すなわち CPZEN-45 の親化合物であるカプラザマイシン類の触媒的不斉全合成の達成とその医薬化学研究への応用である。下図には合成途上、立体選択的に構築される部分構造を赤枠にて示した。これらに対し我々は、主として本研究室において開発された多中心不斉金属触媒による各種エナンチオ選択的反応を適用した。現在は天然物より調製の困難な新規カプラザマイシン誘導体の構造活性相関研究に本合成法を利用し、特に XDR-TB（超多剤耐性結核菌）に有効な抗結核薬の有機化学的探索研究を実施している。

4）Studies of asymmetric synthesis of caprazamycin-related compounds

We participate in the CPZEN-45 project and confront the asymmetric total synthesis of caprazamycins, from which CPZEN-45 has been chemically derived. To stereoselectively construct the key substructures of caprazamycin B, depicted in the figure below (red), the synthesis utilizes the multimetallic asymmetric catalysts we have developed. A diverse array of caprazamycin analogs inaccessible from the natural sources will be prepared by this synthetic procedure for the screening for anti-extremely drug-resistant tuberculosis medicines.

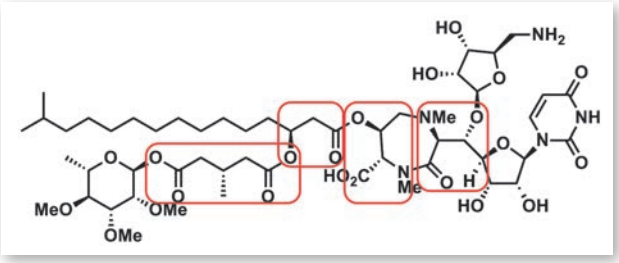


Fig.4 カプラザマイシン B の全体構造
Structure of caprazamycin B.

創薬化学研究部
Laboratory of Medicinal Chemistry

メンバー／ Member

部　　長：高橋　良昭　　Laboratory Head：Yoshiaki Takahashi
メンバー総数：10 名　　Number of Members：10

1974 年に日吉に設立された微生物化学研究所付属生物有機化学研究所がその前身である。その後、2003 年に微生物化学研究センター日吉創薬化学研究所、2010 年に微生物化学研究所日吉支所と改称され、2015 年の微生物化学研究所新研究棟への移転に伴って現在の創薬化学研究部が発足した。設立当初から有機化学の手法を用いて抗生物質の合成研究およびその開発研究に取り組み、数々の新規医薬品候補化合物を創製して国内外の製薬企業と共同開発研究を行っている。

The predecessor of our laboratory was the Institute of Bioorganic Chemistry, established in Hiyoshi in 1974. It was renamed the Hiyoshi Medicinal Chemistry Research Institute as an affiliate to the Microbial Chemistry Research Center in 2003 and was renamed again as The Institute of Microbial Chemistry, Hiyoshi in 2010. The current Laboratory of Medicinal Chemistry started in accordance with the transfer to the new research building of The Institute of Microbial Chemistry in 2015. Since its establishment, we have continuously conducted studies on the synthetic chemistry of antibiotics.

テーマ／ Theme

1）アミノ配糖体抗生物質の合成研究
2）新規マクロライド系抗生物質の開発
3）新しい抗結核薬 CPZEN-45 の創製
4）リポペプチド系抗生物質トリプロペプチンCの開発研究

1）Synthetic study of aminoglycoside antibiotics
2）Development of new macrolide antibiotics
3）Discovery of a novel antituberculosis drug CPZEN-45
4）Synthetic study of lipopeptide antibiotic Tripropeptin C derivatives

テーマ概要／ Theme Outline

1）アミノ配糖体抗生物質の合成研究

当研究所ではカナマイシン耐性菌の薬剤耐性機構の研究に基づいて、耐性菌に有効な多くの誘導体の合成が行われてきた。この一連の研究によって、耐性菌に対して有効な誘導体の構造をデザインし、合成する道が開かれた。さらに、糖化学における基礎的な各種デオキシ化反応、各種フッ素糖の合成法や位置選択的なアミノ基の保護法などの研究を通じ、抗菌化学療法剤ジベカシンや我国初の抗メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）薬アルベカシンの開発などの成果を挙げている。

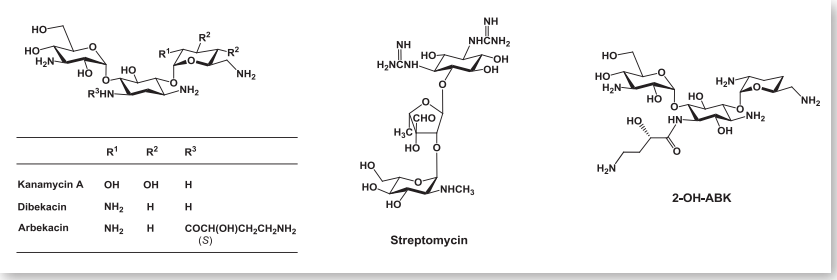
また、設立時のカナマイシン類を始めとして、代表的アミノ配糖体抗生物質であるストレプトマイシンやネオマイシン C などの全合成を達成している。

最近では、副作用が軽減化され、抗菌活性が強化された第 4 世代のカナマイシン誘導体である 2-OH-ABK の創製に成功している。本物質は、その優れた特性から重症細菌感染症治療におけるコンビネーション療法の軸となる薬剤に発展することが期待されている。

1）Synthetic study of aminoglycoside antibiotics

We have synthesized a large number of kanamycin derivatives based on the drug resistance mechanisms of kanamycin-resistant bacteria and examined their antibacterial activity against resistant strains. Our on-going studies have led the way for designing and synthesizing aminoglycosides with improved activity against resistant bacteria. Furthermore, basic studies of sugar chemistry, such as deoxygenation and fluorination, and regioselective protection of the amino or hydroxyl groups of aminoglycosides have been conducted at this institute. Through these studies, we have succeeded in developing the antibacterial chemotherapeutic agent dibekacin and the anti-MRSA drug arbekacin. In addition to kanamycins, many aminoglycoside antibiotics, such as streptomycin and neomycin C, were completely synthesized at this institute.

Recently, we synthesized a fourth generation kanamycin derivative, 2-OH-ABK, displaying less toxicity and excellent antibacterial activity. This compound is expected to develop as a core drug in combination therapy against severe infectious diseases because of its excellent properties.



	R^1	R^2	R^3
Kanamycin A	OH	OH	H
Dibekacin	NH_2	H	H
Arbekacin	NH_2	H	$COCH(OH)CH_2CH_2NH_2$ (S)

Fig.1 アミノ配糖体抗生物質
Structures of aminoglycoside antibiotics.

2）新規マクロライド系抗生物質の開発

我々は過去 30 年以上に渡りマクロライド系抗生物質の化学修飾を精力的に進め、グラム陰性菌にも良好な抗菌力を示す誘導体を多数合成してきた。最近合成されたタイロシン誘導体のチルジピロシンは、牛の呼吸器感染症の原因菌であるパスツレラ菌などに対して選択的に強い抗菌活性を示すことが見出された。本物質は肺への移行性に優れ、自然感染した牛の肺炎に対しても既存薬より優れた治療効果を示したことから開発が進められ、2013 年より抗菌動物薬（商品名：ZUPREVO）として世界的規模での販売が開始された。

2）Development of new macrolide antibiotics

Our institute has undertaken extensive studies on the chemical modifications of 16-membered macrolide antibiotics. This research has led to the development of semisynthetic macrolide antibiotics that are remarkably active against Gram-negative bacteria, although standard macrolide antibiotics are inactive against them.

Recently, tildipirosin (20, 23-dipiperidinomycaminosyl tylonolide) was derived from tylosin in our laboratory and was found to exhibit strong antimicrobial activity against *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida*, which cause bovine respiratory disease (BRD). In a joint development project (duration, six years) with a foreign pharmaceutical company, this compound was proved to be safe and effective against bovines with pneumonia in the field tests conducted in Europe and the United States. This compound was marketed on a global scale from 2013 as an antimicrobial animal drug (brand name, ZUPREVO).

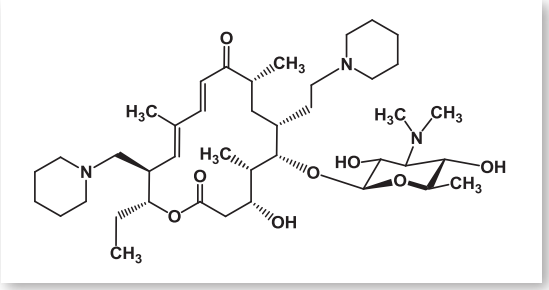


Fig.2 チルジピロシンの構造
Structure of tildipirosin.

3）新しい抗結核薬 CPZEN-45 の創製

結核は、世界三大感染症（結核、HIV、マラリア）の一つであり、世界中でおよそ 20 億人が感染しており、毎年 150 万人以上が死亡している疾病である。最近の多剤耐性結核（MDR-TB）、有効な薬剤が皆無である超多剤耐性結核（XDR-TB）、およびエイズ患者にみられる難治性結核の増加は、世界の人々の健康にとって非常に深刻な問題となっている。

2003 年、微生物化学研究所において結核菌に有効な物質としてリボヌクレオシド系化合物のカプラザマイシン類が放線菌の代謝産物中より発見された。我々はカプラザマイシンの広範な構造活性相関研究を開始し、より一層の優れた抗菌力と物性を示す誘導体 CPZEN-45 の創製に成功した。本物質は感染動物モデルを用いた試験において超多剤耐性結核菌に対しても優れた有効性を示した。作用機序解析により、CPZEN-45 は細胞外壁の生合成に関与する酵素 WecA を阻害することが明らかとなった。この作用機序は臨床で使われているどの抗結核薬とも異なることから、既存薬に耐性を示す結核菌の多くに有効であることが期待できる。

現在、抗多剤耐性結核菌薬としての開発を目指して CPZEN-45 の前臨床研究が進められている。

3）Discovery of a novel antituberculosis drug CPZEN-45

Fifty years after the first tuberculosis (TB) drugs were introduced, TB remains one of the deadliest human diseases, killing over 1.5 million people worldwide each year. The recent increase in MDR-TB, XDR-TB, and refractory TB in AIDS patients is one of the most important issues for worldwide public health.

In 2003, we discovered the anti-TB antibiotics caprazamycins, which are produced by the Actinomycete strain *Streptomyces sp*. MK730-62F2. Subsequently, we found that some of the derivatives from caprazamycin exhibited potent and selective activities against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv *in vitro* and have excellent water solubility, which is superior to the parent compound. In particular, CPZEN-45 exhibited good activity against MDR- and XDR-TB strains *in vitro* and showed excellent therapeutic efficacy in the treatment of mice infected with XDR-TB.

Analysis of the mode of action revealed that CPZEN-45 exhibits antitubercular activity by inhibiting the activity of the WecA transferase, involved in the biosynthesis of the cell envelope. This mechanism is different from any other currently used remedies, implying that CPZEN-45 would be effective against most of MDR-TB strains. CPZEN-45 is, therefore, undergoing pre-clinical trials as a drug against multidrug-resistant TB.

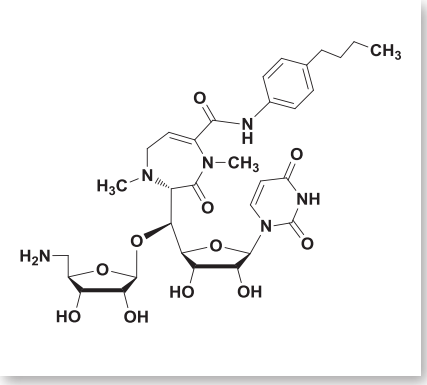


Fig.3 CPZEN-45 の構造
Structure of CPZEN-45.

4）リポペプチド系抗生物質トリプロペプチン C の開発研究

多剤耐性菌の出現とその広範囲への拡散は細菌感染症の治療をますます困難にしている。特に、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）とバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）は院内感染において深刻な問題となっている。そのため、これ等の薬剤耐性菌に対して新しい作用機序で効果を示す有効な薬剤の開発が緊急の課題となっている。

当研究所において天然より発見された新規リポペプチド系抗生物質トリプロペプチン C は既存薬とは異なる機序で細胞壁合成を阻害し、MRSA や VRE に対して良好な抗菌活性を示す。我々はトリプロペプチン C をリード化合物として、臨床応用が期待される誘導体の創製を目標に、その構造活性相関研究を鋭意進めている。

4）Synthetic study of lipopeptide antibiotic Tripropeptin C derivatives

The emergence and widespread frequency of multiple drug-resistant bacteria have made the treatment of bacterial infections increasingly difficult. MRSA and VRE have been an exceptionally serious problem in nosocomial infections. Therefore, the development of effective drugs having a new mode of action against these drug-resistant pathogens is urgently required.

Tripropeptin C for example, a novel cyclic lipodepsipeptide antibiotic, was found to be a promising novel class of antibiotic for the treatment of MRSA and VRE because of its excellent antibacterial activity and novel mechanism of action. Structure–activity relationship studies of Tripropeptin C are being conducted to produce promising derivatives.

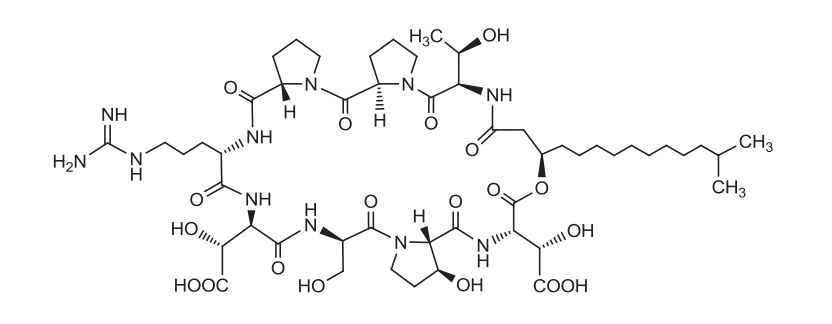


Fig.4 トリプロペプチン C の構造
Structure of tripropeptin C.

分子構造解析室
Laboratory of Molecular Structure Analysis

メンバー／ Member

上 席 室 長：澤 竜一　　Laboratory Head：Ryuichi Sawa
メンバー総数：7名　　Number of Members：7

分子構造解析室では、主として核磁気共鳴 (NMR)、質量分析 (MS) あるいは単結晶 X 線回折などの分析手法を用いて様々な生物活性物質あるいはその誘導体、合成化合物の構造解析を行っている。

At the Laboratory of Molecular Structure Analysis, we use analytical apparatus such as nuclear magnetic resonance (NMR), mass spectrometry (MS), and X-ray crystal structure analysis for the structural analysis of a wide range of biologically active substances found in assay systems and also derivatives of these substances and synthetic compounds.

テーマ／ Theme

1）微生物代謝物のメタボローム解析
2）微化研化合物の再評価による新たな有用性の開発

1）Metabolome analysis of microbial secondary metabolites
2）BIKAKEN products-repositioning and reproducing

テーマ概要／ Theme Outline

1）微生物代謝物のメタボローム解析

微生物由来の二次代謝産物は、構造的・作用的に多種多様で化合物の宝庫と言われ、多くの生物活性物質が同定されている。一方でこれまで長年にわたる生理活性物質の探索においてきわめて多くの種類の物質が発見されてきたことから、従来の研究手法による新規活性物質の発見は非常に困難となってきている。我々は高精度 LTQ Orbitrap LC-MS を駆使する微生物培養液中のターゲット・ノンターゲットスクリーニング分析を推進し、既知物質迅速同定およびそれに基づいた効率的な新規生理活性物質の探索に取り組んでいる。

1）Metabolome analysis of microbial secondary metabolites

Microbial secondary metabolites have diverse chemical structures and biological activities. On the other hand, the discovery of new bioactive substances has become very difficult because of the numerous types of materials that have been found by intensive screening over a long period of time. We have carried out the very small amount dereplication system and an effective search of new bioactive substance has been conducted by the target-non target screening analysis using high resolution high accuracy apparatus of LTQ Orbitrap LC-MS.

Fig.1 JEOL ECZ600R

Fig.2 Bruker AVANCE III 600

Fig.3 Thermo Fisher Scientific LTQ Orbitrap

2）微化研化合物の再評価による新たな有用性の開発

微化研で発見された天然化合物を新たな評価方法で新しい有用性について研究している。現在、抗原虫活性を指標にした微化研化合物の再評価を行い，新たな有用化合物の開発を進めている。さらに原虫感染症の治療および予防につながる有効なターゲットの探索を質量分析および顕微鏡観測によって行っている。

2）BIKAKEN products-repositioning and reproducing

We study new utility of BIKAKEN products by new approach and evaluation. In the current study, we reevaluate the new ability of BIKAKEN products by an index of anti-protozoan activity. We also identify the protozoan targets for the development of the infectious disease-treatment and prevention by using MS analysis and microscopes observation.

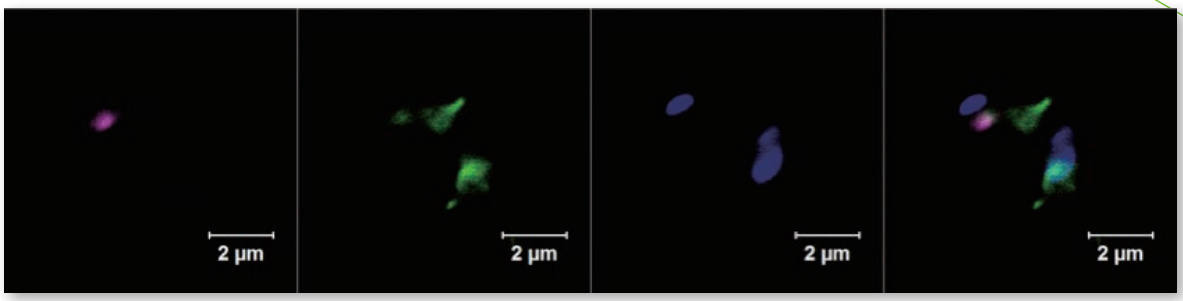


Fig.4 間接蛍光抗体染色による原虫の細胞小器官の観測（紫，COPI-delta/ 緑，GRIP/ 青，DAPI）
Observation of intracellular organelles in a protozoa by IFA（Purple, COPI-delta/ green, GRIP/ blue, DAPI）

■ アクセス＆問い合せ Access

微生物化学研究所

〒141-0021
東京都品川区上大崎 3-14-23
Tel: 03-3441-4173
Fax: 03-3441-7589
office@bikaken.or.jp
JR 山手線、東急目黒線、東京メトロ南北線、都営地下鉄三田線 各線　目黒駅より徒歩 15 分
JR 山手線、東急池上線、都営地下鉄浅草線 各線　五反田駅より徒歩 10 分

Institute of Microbial Chemistry
3-14-23 Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141-0021
Tel: +81-3-3441-4173 / Fax: +81-3-3441-7589
office@bikaken.or.jp
Access
15min walk from Meguro Station on the following lines: JR Yamanote Line, Tokyu Meguro Line, Subway Namboku Line and Subway Mita Line.
10min walk from Gotanda Station on the following lines: JR Yamanote Line, Tokyu Ikegami Line and Subway Asakusa Line.

微生物化学研究所沼津支所

〒410-0301
静岡県沼津市宮本 18-24
Tel: 055-924-0601
Fax: 055-922-6888
numazu@bikaken.or.jp
JR 沼津駅南口　富士急バス２番乗場　富士通行き（約 30 分）ニューウェルサンピア沼津下車　徒歩５分
JR 沼津駅より、タクシー 20 分、ＪＲ三島駅より、タクシー 30 分

Institute of Microbial Chemistry, Numazu
18-24 Miyamoto, Numazu-shi Shizuoka 410-0301
Tel: +81-55-924-0601 / Fax: +81-55-922-6888
numazu@bikaken.or.jp
Access
Take a taxi from JR Numazu Station (20min ride) or JR Mishima Station (30min ride).
Take Fujikyu Bus for Fujitsu at JR Numazu Station (30min ride) and get off at New-Well-Sunpia-Numazu Bus Stop.
5min walk from the Bus Stop.

IMC 微生物化学研究所
Institute of Microbial Chemistry

Copyright © 2012.　Institute of Microbial Chemistry

Ver.1.6.4 Published in May 2018