(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2014-176384
(P2014-176384A)
(43)公開日　平成26年9月25日(2014.9.25)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N 15/00	ZNAA	4B024

審査請求 有　請求項の数 1　OL　（全 152 頁）

(21)出願番号	特願2014-80591 (P2014-80591)
(22)出願日	平成26年4月9日 (2014.4.9)
(62)分割の表示	特願2009-255660 (P2009-255660)の分割
原出願日	平成15年7月16日 (2003.7.16)
(31)優先権主張番号	0216509.0
(32)優先日	平成14年7月16日 (2002.7.16)
(33)優先権主張国	英国 (GB)
(31)優先権主張番号	0224922.5
(32)優先日	平成14年10月25日 (2002.10.25)
(33)優先権主張国	英国 (GB)

(71)出願人　505012977
バイオチカ　テクノロジー　リミテッド
グレート・ブリテン及び北部アイルランド連合王国　エヌアール１　１エヌイー　ノーウィッチ　セント　フェース　レーン　９０
(74)代理人　100097456
弁理士　石川　徹
(72)発明者　アラン　マチュウ　グレゴリー
グレートブリテン及び北アイルランド連合王国　ＣＢ１０　１ＸＬ　エセックス　ノル　サッフロン　ワルデン　リトル　チェスターフォード　チェスターフォード　リサーチ　パーク　バイオチカ　テクノロジー　リミテッド内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ポリケチド、及び他の天然物の製造

(57)【要約】　（修正有）
【課題】FKBP類似体を産生する菌株、及びクローン遺伝子、又は遺伝子カセットが、ポリケチド（特に、ラパマイシン）FKBP-リガンド類似体のような新規化合物を生成するように発現する組換え型細胞の効率的形質転換方法、及びこれらの調製、及びその中（例えば、核酸、ベクター、遺伝子カセット、及び遺伝学的に修飾された菌株）に使用される手段の提供。
【解決手段】ポリケチド、及び他の天然物の製造、及び化合物、及び個々の新規化合物のライブラリーであり、一つの重要な領域は、新規FKBP-リガンド類似体の単離、及び潜在的用途、並びにこれらの化合物を産生する宿主細胞。特に、FKBP類似体を産生する菌株、及びクローン遺伝子、又は遺伝子カセットが、ポリケチド（特にラパマイシン）FKBP-リガンド類似体のような新規化合物を生成するように発現する組換え型細胞の効率的形質転換方法。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
宿主株を、一以上の遺伝子が除去又は不活性化されている、FKBP-リガンドをコードする生合成クラスターを含む組換え型菌株に転換する方法であって、下記工程を含む前記方法：
（ａ）dam⁻、dcm⁻、又はdam⁻及びdcm⁻であるE.コリ株中に、接合性欠失プラスミドを構築する工程；
（ｂ）接合に適した前記宿主株から胞子を生成する工程、ここで、前記菌株を、湿度10％～40％で成長させ、かつ該胞子を、5～30日で収集し；
（ｃ）１リットルにつき：
i）　コーン浸透粉0.5 g～5 g；
ii）　酵母エキス0.1 g～5 g；
iii）　炭酸カルシウム0.1 g～10 g；及び
iv）　硫酸鉄0.01 g～0.5 g；
を含む培地上で、工程（ａ）のE.コリ株と工程（ｂ）から得られた胞子とを接合させる工程であって、前記培地は、さらに、BACTO-寒天、及びデンプンを含み、かつ1～20重量％減少するように乾燥させており；かつ
（ｄ）ポリケチド産生に適した条件下で、前記組換え型菌株を、任意に培養する工程。
【請求項２】
除去又は不活性化されるべき該遺伝子が、ポリケチドシンターゼ遺伝子クラスター、又は非リボソーム型ペプチドシンターゼ遺伝子クラスターからのものである、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
該遺伝子が、補助遺伝子である、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
工程（ａ）の該E.コリ株が、damである、請求項１～３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５】
工程（ａ）の該E.コリ株が、dcmである、請求項１～３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
工程（ａ）の該E.コリ株が、dam、及びdcmである、請求項１～５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７】
工程（ｂ）において、該胞子を10～25日で収集する、請求項１～６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８】
工程（ｂ）において、該胞子を14～21日で収集する、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
工程（ｂ）において、該胞子を湿度10～20％で成長させる、請求項１～８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０】
工程（ｃ）において、該培地が、デンプン、及びBACTO-寒天に加えて、１リットルあたり：
i）　コーン浸透粉1 g～4 g；
ii）　酵母エキス1 g～4 g；
iii）　炭酸カルシウム1 g～5 g；及び
iv）　硫酸鉄0.2 g～0.4 g；
を含む、請求項１～９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１１】
工程（ｃ）において、該培地が、デンプン、及びBACTO-寒天に加えて、１リットルあたり：

i）　コーン浸透粉2.5ｇ；
ii）　酵母エキス3ｇ；
iii）　炭酸カルシウム3ｇ；及び
iv）　硫酸鉄0.3ｇ；
を含む、請求項１～１０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１２】
該菌株が、下記菌株からなる群から選択される、請求項１～１１のいずれか１項に記載の方法：ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスNRRL 5491、アクチノプラネスsp. N902-109 FERM BP-3832、ストレプトマイセスsp. AA6554、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6475 ATCC 14891、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6678 ATCC 55087、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6674、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスATCC 55276、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.アスコマイセティカスATCC 14891、ストレプトマイセス ツクバエンシスNo.9993 FERM BP-927、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ヤクシマエンシス、ストレプトマイセスsp. DSM 4137、ストレプトマイセスsp. DSM 7348、ミクロモノスポラn. sp. A92-306401 DSM 8429、及びストレプトマイセスsp. MA 6858 ATCC 55098。
【請求項１３】
該菌株が、S.ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスNRRL 5491、及びS.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスATCC 14891からなる群から選択される、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
該菌株が、ラパマイシン産生株S.ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスNRRL 5491である、請求項１３に記載の方法。
【請求項１５】
収集された該胞子が、暗灰色である、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】
ポリケチドシンターゼ、又は非リボソーム型ペプチドシンターゼ遺伝子クラスターから、一以上の遺伝子が除去又は不活性化されている、FKBP-リガンドをコードする生合成クラスターを含む組換え型菌株の生産方法であって、一以上の前記除去又は不活性化された遺伝子が、相補性により復元されている、前記方法。
【請求項１７】
前記除去又は不活性化された遺伝子が、ポリケチドシンターゼ、又は非リボソーム型ペプチドシンターゼ遺伝子クラスターの補助遺伝子である、請求項１６に記載の方法。
【請求項１８】
該組換え型菌株が、請求項１～１５のいずれか１項に従って生産される、請求項１６、又は１７に記載の方法。
【請求項１９】
該除去された遺伝子の復元プロセスが：
（ａ）一以上の該除去された遺伝子を含む遺伝子カセットを構築すること、及び
（ｂ）FKBP-リガンドをコードする生合成クラスターを含む前記組換え型菌株を、前記遺伝子カセットを用いて形質転換することを含む、請求項１６～１８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２０】
前記遺伝子カセットが、直接、発現ベクター内で組み立てられる、請求項１９に記載の方法。
【請求項２１】
前記発現ベクターが、二つの制限酵素認識部位を含み、その一つが、damメチル化に感受性である、請求項２０に記載の方法。

【請求項２２】
該damメチル化感受性制限酵素認識部位が、復元されるべき補助遺伝子に対し5’である、請求項２１に記載の方法。
【請求項２３】
該相補性が、相同的である、請求項１６～２２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２４】
該相補性が、非相同的である、請求項１６～２２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２５】
前記一以上の除去され又は不活性化された補助遺伝子が、開始単位供給遺伝子、アミノ酸前駆体供給遺伝子、シトクロムP-450モノオキシゲナーゼ、フェレドキシン、及びSAM-依存性0-メチルトランスフェラーゼからなる群から選択される、請求項３～１５、又は請求項１７～２４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２６】
該除去され又は不活性化された遺伝子が、rapL、rapN、rapO、rapM、rapK、rapQ、rapI、及びrapJからなる群から選択される、請求項２５に記載の方法。
【請求項２７】
工程（ｃ）において、前記デンプンが、小麦デンプンである、請求項１～２６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２８】
請求項１～２７のいずれか１項に記載の方法を用いて生産された組換え型菌株を培養することを含む、FBKP-リガンド類似体の生産方法。
【請求項２９】
さらに、一以上の天然、又は非天然開始単位、及び／又はピペコリン酸、又はピペコリン酸類似体を供給することを含む、請求項２８に記載の方法。
【請求項３０】
さらに、そのようにして生産された該化合物を単離する工程を含む、請求項２８、又は２９に記載の方法。
【請求項３１】
ポリケチドシンターゼ遺伝子クラスター、又は非リボソーム型シンターゼ遺伝子クラスターから、一以上の遺伝子が、除去又は不活性化された、FKBP-リガンドをコードする生合成クラスターを含む組換え型菌株のコロニーライブラリーを構築する方法であって、
（ａ）一以上の前記遺伝子を除去する工程、
（ｂ）一以上の前記除去された遺伝子を含む遺伝子カセットの混合物を用いて、前記コロニーを形質転換する工程、
（ｃ）該形質転換された細胞を、個々のコロニーに分離する工程、及び
（ｄ）該コロニーを培養する工程、を含む前記方法。
【請求項３２】
該遺伝子が、補助遺伝子である、請求項３１に記載の方法。
【請求項３３】
工程（ａ）が、請求項１～２７のいずれか１項に記載の方法を用いる、前記遺伝子の除去、又は不活性化を含む、請求項３１、又は３２に記載の方法。
【請求項３４】
前記遺伝子カセットが、直接、発現ベクター中で組み立てられる、請求項３１～３３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３５】
前記発現ベクターが、二つの制限酵素認識部位を含み、その一つが、damメチル化に感受性である、請求項３４に記載の方法。
【請求項３６】
該damメチル化感受性制限酵素認識部位が、復元すべき該補助遺伝子に対し5’である、請求項３５に記載の方法。

【請求項３７】
請求項３１～３６のいずれか１項に記載の方法により得たコロニーライブラリーを、前記FBKP-リガンド類似体が産生される条件下で培養することを含む、FKBP-リガンド組換えライブラリーの製造方法。
【請求項３８】
請求項３１～３７のいずれか１項に記載の方法で製造された、FBKP-リガンド類似体のライブラリー。
【請求項３９】
該菌株が、下記菌株からなる群から選択される、請求項３１～３７のいずれか１項に記載の方法：ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスNRRL 5491、アンチノプラネスsp. N902-109 FERM BP-3832、ストレプトマイセスsp. AA6554、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6475 ATCC 14891、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6678 ATCC 55087、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6674、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスATCC 55276、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.アスコマイセティカスATCC 14891、ストレプトマイセス ツクバエンシスNo.9993 FERM BP-927、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ヤクシマエンシス、ストレプトマイセスsp. DSM 4137、ストレプトマイセスsp. DSM 7348、ミクロモノスポラn. sp. A92-306401 DSM 8429、及びストレプトマイセスsp. MA 6858 ATCC 55098。
【請求項４０】
該菌株が、S.ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスNRRL 5491、及びS.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスATCC 14891からなる群から選択される、請求項３９に記載の方法。
【請求項４１】
該菌株が、ラパマイシン産生株S.ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスである、請求項４０に記載の方法。
【請求項４２】
前記遺伝子カセットが、直接、発現ベクター内で組み立てられる、請求項３１～３７、又は請求項３９～４１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項４３】
少なくとも該rapK相同体が除去又は不活性化されている、FKBP-リガンドをコードする生合成クラスターを含む組換え型菌株。
【請求項４４】
該菌株が下記菌株からなる群から選択された、請求項４３に記載の組換え型菌株：ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスNRRL 5491、アンチノプラネスsp. N902-109 FERM BP-3832、ストレプトマイセスsp. AA6554、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6475 ATCC 14891、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6678 ATCC 55087、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6674、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスATCC 55276、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.アスコマイセティカスATCC 14891、ストレプトマイセス ツクバエンシスNo.9993 FERM BP-927、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ヤクシマエンシス、ストレプトマイセスsp. DSM 4137、ストレプトマイセスsp. DSM 7348、ミクロモノスポラn. sp. A92-306401 DSM 8429、及びストレプトマイセスsp. MA 6858 ATCC 55098。
【請求項４５】
該菌株が、S.ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスNRRL 5491、及びS.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスATCC 14891からなる群から選択される、請求項４４に記載の組換え型菌株。
【請求項４６】

該菌株が、ラパマイシン産生株S.ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスNRRL 5491である、請求項４５に記載の組換え型菌株。
【請求項４７】
該除去又は不活性化された補助遺伝子が、欠失したrapK、rapL、rapN/O、rapQ、rapM、rapI、及びrapJからなる群から選択され、ここで前記欠失が、rapQrapN/OrapMrapLではない、請求項４６に記載の組換え型菌株。
【請求項４８】
該除去又は不活性化された遺伝子がrapK、rapL、rapN/O、rapQ、rapM、rapI、及びrapJである、請求項４７に記載の組換え型菌株。
【請求項４９】
非天然開始単位を組込んだFBKP-リガンド類似体の製造方法であって、
（ａ）少なくとも該rapK相同体が除去又は不活性化された組換え型菌株を製造する工程；及び
（ｂ）前記菌株に、非天然開始単位を与える工程、を含む前記方法。
【請求項５０】
さらに、一以上の補助遺伝子を除去する工程を含む、請求項４９に記載の方法。
【請求項５１】
さらに、相補性により、一以上の該除去された遺伝子を復元する工程を含む、請求項４９、又は５０に記載の方法。
【請求項５２】
さらに、産生した該FKBP-リガンド類似体を単離し、かつ精製する工程を含む、請求項４９～５１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５３】
非天然開始単位を組込んだFBKP-リガンド類似体の製造方法であって、
（ａ）請求項１～２７のいずれか１項に記載の方法を用いて、少なくとも該rapK相同体が除去又は不活性化された組換え型菌株を製造する工程、及び
（ｂ）前記菌株に、非天然開始単位を与える工程、を含む前記方法。
【請求項５４】
さらに、一以上の補助遺伝子を除去する工程を含む、請求項５３に記載の方法。
【請求項５５】
さらに、相補性により、一以上の該除去された遺伝子を復元する工程を含む、請求項５３、又は５４に記載の方法。
【請求項５６】
さらに、産生した該FKBP-リガンド類似体を単離し、かつ精製する工程を含む、請求項５１～５５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５７】
前記非天然開始単位が、下記化合物からなる群から選択される、請求項５１～５６のいずれか１項に記載の方法：
2-ノルボルナンカルボン酸；
2-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
3-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
2-（cis/trans）-メチルシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-メチルシクロヘキサンカルボン酸；
3-（cis/trans）-メトキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-メトキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-オキソシクロヘキサンカルボン酸；
2-オキソシクロヘキサンカルボン酸；
4-trans-n-ペンチルシクロヘキサンカルボン酸；
2-trans-アミノシクロヘキサンカルボン酸；

4-cis-アミノシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸；
シクロペンタンカルボン酸；
シクロブタンカルボン酸；
1-メチルシクロヘキサンカルボン酸；
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸；
3-cis-ヒドロキシ-4-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸；
3-cis-ヒドロキシ-4-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸;
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸；
3-trans-シクロヘキセンオキシドカルボン酸；
3-cis-シクロヘキセンオキシドカルボン酸；
3,4-cis-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、及び3,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；シクロヘキサン酢酸；
シクロヘキサンプロピオン酸、及び4-cis/trans-tert-ブチルシクロヘキサンカルボン酸、又はこれらの単純エステル、又はこれらの塩。

【請求項５８】

前記非天然開始単位が、下記化合物からなる群から選択される、請求項５７に記載の方法：
3-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
3-（cis/trans）-メトキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-メトキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-オキソシクロヘキサンカルボン酸；
シクロブタンカルボン酸；
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸；
3-cis-ヒドロキシ-4-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸；
3-cis-ヒドロキシ-4-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸；
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸；
3-trans-シクロヘキセンオキシドカルボン酸；
3-cis-シクロヘキセンオキシドカルボン酸；
3,4-cis-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、及び3,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
シクロヘキサンプロピオン酸；
4-cis/trans-tert-ブチルシクロヘキサンカルボン酸、又はこれらの単純エステル、又はこれらの塩。

【請求項５９】

請求項４９～５６のいずれか１項に記載の方法により製造される化合物、ただし、前記組換え型菌株に与えられる該非天然開始剤は：
シクロヘキサンカルボン酸、
3-cis,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、
1-シクロヘキセンカルボン酸、
3-シクロヘキセンカルボン酸、

シクロヘプタンカルボン酸、
3-（cis/trans）-メチルシクロヘキサンカルボン酸、
4-（cis/trans）-メチルシクロヘキサンカルボン酸、
1-シクロヘプテンカルボン酸、又は5-cis-ヒドロキシル-3-シクロヘキセンカルボン酸ではないものとする。

【請求項６０】

前記組換え型菌株に与えられる該非天然開始が、下記化合物からなる群から選択される、請求項４９～５６のいずれか１項に記載の方法により提供される化合物：
3-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
3-（cis/trans）-メトキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-メトキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-オキソシクロヘキサンカルボン酸；
シクロブタンカルボン酸；
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸；
3-cis-ヒドロキシ-4-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸；
3-cis-ヒドロキシ-4-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸；
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸；
3-trans-シクロヘキセンオキシドカルボン酸；
3-cis-シクロヘキセンオキシドカルボン酸；
3,4-cis-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、及び3,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；シクロヘキサンプロピオン酸；
4-cis/trans-tert-ブチルシクロヘキサンカルボン酸。

【請求項６１】

より高度な好ましい実施態様において、本発明が提供する下記のFK520類似体から選択される化合物：
31-デスメトキシ-31-メチル-FK520、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-FK520、
31-デスメトキシ-31-クロロ-FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-プロリル-FK520、
30-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK520、

28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、

8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK5

20、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0

.]FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520。
【請求項６２】
下記化合物からなる群から選択された化合物：
31-デスメトキシ-31-メチル-FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3

-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

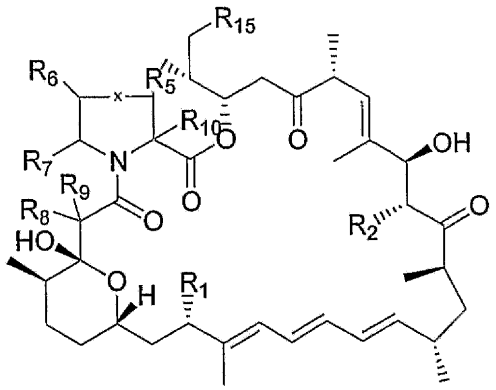
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK5

06、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506。

【請求項６３】

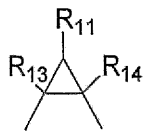
下記式の化合物：

【化１】



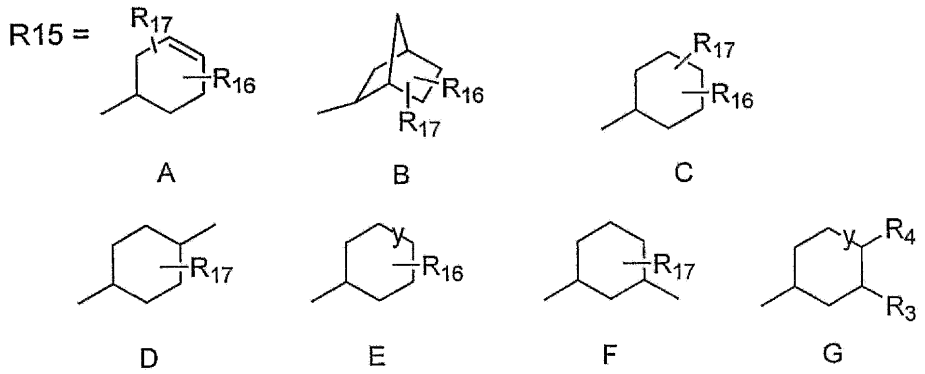
式中：x =結合、又はCHR_{11}であるか、又はCHR_6-x-CHR_5が、

【化２】



であり、

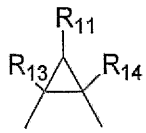
【化３】



R1 = OH、OCH_3、R2 = H、OH、OCH_3、R3 = H、OH、CH_3、F、Cl、OCH_3、R4 = H、OH、CH_3、F、Cl、R5 = H、OH、R6 = H、OH、R7 = H、R8 = H、ケト、R9 = H、ケト、R10 = H、R11 = H、R13 = HR14 = H、R16 = OH、OCH_3、R17 = H、OH、Cl、F、及びy = 結合、CH_2であ

るが、
但し、前記化合物は、下記のものを含まない：
i） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OH、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
ii） 該式中、R_1 = OHの場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OH、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
iii） 該式中、R_1 = OHの場合、R_2 = OH、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 =ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
iv） 該式中、R_1 = OHの場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
v） 該式中、R_1 = OCH_3の場合R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OH、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
vi） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
vii） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OH、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せを除く；
viii） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
ix） 該式中、R_1 = OHの場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
x） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OH、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
xi） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
xii） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OH、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
xiii） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、x = 結合との組合せ；
xiv） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、x = 結合との組合せ；
xv） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OH、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、x = 結合との組合せ；
xvi） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、x = 結合との組合せ；
xvii） 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = H、R_{17} = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
xviii） 該式中、CHR_6-x-CHR_5が

【化４】



、かつR_{11} = H、R_{13} = H、R_{14} = Hの場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_7 = H、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

xix） 該式中、R_{15} = G、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = OH、R_7 = H、R_{11} = H、x = 結合、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

xx） 該式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = trans-OH、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = H との組合せ；

xxi） 該式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

xxii） 該式中、R_{15} = G、R_3 = cis-OH、R_4 = H、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

xxiii） 該式中、R_{15} = G、R_3 = CH_3、R_4 = OH、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

xxiv） 該式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；

xxv） 該式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；

xxvi） 該式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；

xxvii） 該式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；

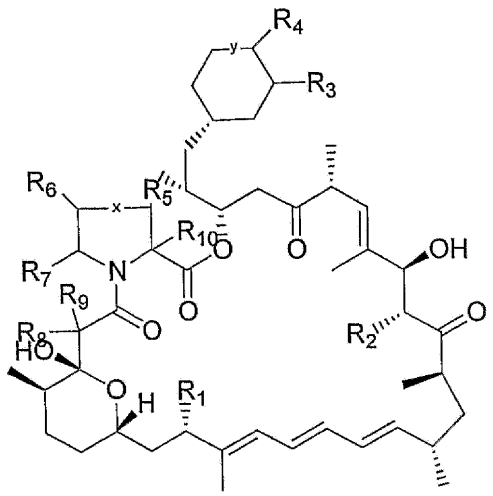
xxviii） 該式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

xxix） 該式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ。

【請求項６４】

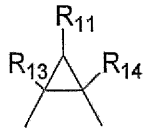
下記式の化合物：

【化５】



式中：R_1 = OH、OCH_3、R_2 = H、OH、OCH_3、R_3 = H、OH、CH_3、OCH_3、R_4 = H、OH、R_5 = H、R_6 = H、OH、R_7 = H、R_8 = H，ケト、R_9 = H，ケト、R_{10} = H、x = 結合、CH_2、又はCHR_6-x-CHR_5が

【化６】



であり、R_{11} = H、R_{13} = H、R_{14} = H、y = 結合、CH_2；

但し、前記化合物は、下記のものを含まない：

i) 該式中、R_3 = H、R_4 = trans-OH、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H との組合せ；

ii) 該式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

iii) 該式中、R_3 = cis-OH、R_4 = H、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

iv) 該式中、R_3 = CH_3、R_4 = OH、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

v) 該式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；

vi) 該式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；

vii) 該式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8 = R_9 = H、R_{10} = H との組合せ；

viii) 該式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；

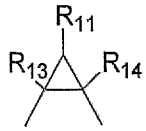
ix) 該式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

x) 該式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

xi) 該式中、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = OH、R_7 = H、x = 結合、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

xii) 該式中、CHR_6-x-CHR_5が

【化７】



、かつR_{11} = H、R_{13} = H、R_{14} = Hの場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；

xiii) 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、x = 結合、y = 結合との組合せ；

xiv) 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OCH_3、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、x = 結合、y = 結合との組合せ；

xv) 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OH、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、x = 結合、y = 結合との組合せ；

xvi) 該式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、x = 結合、y = 結合との組合せ；

xvii) 該式中、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_3 = OH、R_4 = OH、R_8 = H、R_9 = H;

xviii) 該式中、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_8 = H、R_9 = H;

xiv） 該式中、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_3 = OH、R_4 = OH、R_8, R_9 = ケト;
xv） 該式中、R_1 = OH、R_2 = OH、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_8, R_9 = ケト;
xvi） 該式中、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R3 = OH、R_4 = OH、R_8, R_9 = ケト;
xvii） 該式中、R_1 = OCH_3、R_2 = OH、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_8, R_9 = ケト;
xviii） 該式中、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_8 = H、R_9 = H。

【請求項６５】

下記からなる群から選択された化合物：

9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシン（前駆ラパマイシン）、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-ラパマイシン、
27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン（前駆プロリルラパマイシン）、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、

9-デオキソ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシシクロヘキセニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ジヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシノルボルニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-メチル-4-ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（4-メチル ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-フルオロ-4-ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-ヒドロキシ-4-フルオロシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-クロロ-4-ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-ヒドロキシ-4-クロロシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-cis-4-cis-ジヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-trans-4-trans-ジヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-0-デスメチルラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-270-デスメチル-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシシクロヘキセニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシノルボルニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（4-メチルヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン。

【請求項６６】

癌治療用、真菌感染症治療用、増殖性疾患治療用、又は免疫抑制維持用の薬剤製造における、請求項５９～６５のいずれか１項で規定した化合物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】
（本発明の分野）
本発明は、ポリケチド、及び他の天然物の製造、及び化合物、及び個々の新規化合物のライブラリーに関するものである。一つの重要な領域は、新規FKBP-リガンド類似体の単離、及び潜在的用途、及びこれらの化合物を産生する宿主細胞である。特に、本発明は、FKBP類似体を産生する菌株、及びクローン遺伝子、又は遺伝子カセットが、ポリケチド（特に、ラパマイシン）FKBP-リガンド類似体のような新規化合物を生成するように発現する組換え型細胞の効率的形質転換方法、及びこれらの調製、及びその中（例えば、核酸、ベクター、遺伝子カセット、及び遺伝学的に修飾された菌株）に使用される手段に関するものである。
【背景技術】
【０００２】
（本発明の背景）
ラパマイシン（シロリムス）（図１）は、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスNRRL 5491（Sehgalらの論文（1975）；Vezinaらの論文（1975）；米国特許第3,929,992号；米国特許第3,993,749号）により生産され、ピペコリン酸ラクトン（Paivaらの論文（1991））と結合した1,2,3-トリカルボニル部位を有する、親油性マクロライドである。他の関連マクロライド（図２）には、FK506（タクロリムス）（Schreiber、及びCrabtreeの論文（1992））、FK520（アスコマイシン（ascomycin）、又はイムノマイシン（immunomycin））（Wuらの論文（2000））、FK525（Hatanaka H.らの論文（1989））、FK523（Hatanaka H.らの論文（1988））、アンタスコマイシン（antascomicin）（Fehr, T.らの論文（1996））、及びメリダマイシン（meridamycin）（Salituroらの論文（1995））がある。本発明のためには、ラパマイシンは、Findlayらの番号付与慣例、又はケミカルアブストラクト（第１１番加インデックス、1982-1986 p60719CS）よりも、McAlpineら（1991）の番号付与慣例により記述される。
【０００３】
ラパマイシン作用の多様な形態は、該化合物の薬理学的価値により示されており、かつ薬としての新規誘導体を単離する必要性が強張されている。ラパマイシンは、適度の抗真菌活性を示し、主にカンジダ（Candida）種に対してだけでなく、糸状菌に対しても活性を示す（Bakerらの論文（1978）；Sehgalらの論文（1975）；Vezinaらの論文（1975）；米国特許第3,929,992号；米国特許第3,993,749号））。ラパマイシンは、様々な細胞種のシグナル伝達経路を狙うことで、細胞増殖を抑制する。例えば、細胞周期のG1からS-phaseに進行するシグナル伝達経路を抑制する（Kuoらの論文（1992））。T細胞において、ラパマイシンは、IL-2レセプターからのシグナル、及び続く該T細胞の自己増殖を抑制し、免疫抑制をもたらす。ラパマイシンの抑制効果は、T細胞に限らず、多くの哺乳類細胞種の増殖を抑制する（Brunnらの論文（1996））。従って、ラパマイシンは、組織の同種移植拒絶反応の予防、及び自己免疫疾患の治療において、治療的応用が確立、又は予測される、潜在的な免疫抑制剤である（Kahanらの論文（1991））。標準的な拒絶反応抑制治療よりも、副作用が少ないようである（Naviaらの論文（1996））。40-O-（2-ヒドロキシ）エチル-ラパマイシン（SDZ RAD、セルチカン、エベロリムス）は、ラパマイシンの半合成類似体であり、免疫抑制の薬理効果を示す（Sedrani, R.らの論文（1998）；米国特許第5,665,772号）。該薬剤の臨床効果は、Phase III臨床試験において、現在調査されている（Kirchnerらの論文（2000））。該ラパマイシンエステルCCI-779（ワイエス-アイエルスト（Wyeth-Ayerst））は、インビトロにおいて、細胞増殖を抑制しかつ、インビボにおいて腫瘍増殖を抑制する（Yuらの論文（2001））。現在、該薬剤は、Phase III臨床試験中である。慢性プラーク乾癬の治療におけるラパマイシンの有用性（Kirby、及びGriffithsの論文（2001））、PC12細胞における神経突起成長刺激のような効果の潜在的用途（Lyonsらの論文（1994））、機械的損傷後の血管、及び平滑筋細胞による、サイトカインへの増殖応答阻害（Gregoryらの論文（1993））、及び同種移植線維症予防におけるその役割（Waller、及びNicholsonの論文（2001））は、集中的に調査されている領域である（Kah

an、及びCamardoの論文（2001））。最近の報告は、ラパマイシンが、他の免疫抑制療法よりも、長期的な免疫抑制療法を受けている組織同種移植患者において、癌発生率の低下に関わっており、かつこの癌発生率の低下は、血管形成阻害のためであることを示している（Gubaらの論文（2002））。イムノフィリンリガンドの神経栄養性活性は、これらの免疫抑制活性とは独立の関係にあり（Steinerらの論文（1997））、かつ神経成長刺激は、特許出願WO 01/03692に略述されている成熟ステロイドレセプター複合体の破壊により、促進されることが報告されている。高脂血症、及び血小板減少症、並びに潜在的催奇性作用のような副作用が報告されている（Hentgesらの論文（2001）；Kahan、及びCamardoの論文（2001））。

【０００４】

ラパマイシンのポリケチド骨格は、シクロヘキサンカルボン酸開始単位から誘導されたシキメート（シキミ酸塩、又はエステル）に対し、全部で、７つのプロピオネート（プロピオン酸塩、又はエステル）と７つのアセテート（酢酸塩、又はエステル）単位との頭-尾縮合により合成される（Paivaらの論文（1991））。L-リジン誘導イミノ酸、ピペコリン酸は、該ポリケチド骨格の末端アセテートにアミド結合を介して縮合され（Paivaらの論文（1993））、かつ続いて、マクロサイクルを形成するようにラクトン化される。生合成遺伝子クラスターを含む、107 kbの遺伝子領域は、配列決定されている（Schweckeらの論文（1995））。該オープンリーディングフレームの分析により、モジュラーポリケチドシンターゼ（PKS）をコードする、３つの大きな遺伝子が明らかにされた（Aparicioらの論文（1996）；Schweckeらの論文（1995））。該PKS遺伝子間に組込まれるものは、非リボソーム型ペプチドシンターゼの活性領域と類似する配列を有するタンパク質をコードするrapP遺伝子であり、同様の作用を有すると考えられている（Konigらの論文（1997））。該PKS遺伝子をコードする領域は、ラパマイシンの生合成に必要であると考えられている、酵素をコードする24付加オープンリーディングフレームの両側に位置する（Molnarらの論文（1996））。これらは、下記ポスト-ポリケチド修飾酵素：RapJ、及びRapNと命名された２つのシトクロムP-450モノオキシゲナーゼ、付随フェレドキシンRapO、及び３つの潜在的SAM-依存性O-メチルトランスフェラーゼRapI、RapM、及びRapQを含む。他の隣接遺伝子は、ラパマイシンの調節、及び輸送と推定されている役割を有する（Molnarらの論文（1996））。また、該クラスターは、該遺伝子rapLを含み、その産物RapLは、L-リジンのシクロ脱アミノ化を通して、ラパマイシン前駆体L-ピペコリン酸の形成を触媒することが提唱されている（Khawらの論文（1998）；Paivaらの論文（1993））。rapL中にフレームシフト突然変異を導入することは、有効量のラパマイシン生成ができない変異体を生じ、かつ該生育培地にL-ピペコリン酸を供給することにより、野生型水準量のラパマイシン生成に復元される（Khawらの論文（1998））。ラパマイシンのシクロヘキサン環に対する該生合成前駆体は、シキミ酸経路が起源である（Lowdenらの論文（1996）；Lowdenらの論文（2001））。FK506（タクロリムス）（Schreiber、及びCrabtreeの論文（1992））、FK520（アスコマイシン、又はイムノマイシン）（Wuらの論文（2000））、アンタスコマイシン（Fehr, T.らの論文（1996））、及びメリダマイシン（Salituroらの論文（1995））のような、他の親密に関連したマクロライドは、共通の薬理作用団を共有しており、FK506-結合タンパク（FKBPs）（図２）と相互作用する。従って、ラパマイシン、及び関連化合物は、制限はないが、例えば、FK506、FK520、’hyg’、FK523、メリダマイシン、アンタスコマイシン、FK525、及びツクバマイシン（tsukubamycin）は、”FKBP-リガンド”と考えることができる。該FK506遺伝子クラスター（Motamediらの論文（1996）；Motamediらの論文（1997）；Motamedi、及びShafieeの論文（1998））、該’hyg’クラスター（Ruanらの論文（1997））の部分配列、及び該FK520遺伝子クラスターの完全配列は、公表されている（Wuらの論文（2000）；米国特許第6,150,513号）。これらのクラスター、及び該ラパマイシン生合成遺伝子クラスター内の遺伝子と酵素機能における類似点との間に、有意な相同性がある（Motamediらの論文（1996））。

【０００５】

ラパマイシンの薬理作用は、データとして特徴付けされ、FKBPs、又はイムノフィリン

と称される細胞質ゾルレセプターの相互作用により媒介されると考えられている。イムノフィリン（この用語は、免疫抑制剤結合タンパクを意味するように使用される。）は、シス、及びトランスペプチジル-プロリン結合の異性化を触媒し、かつ広く様々な生物で見つかる、高度に保存された酵素群に属する（Rosen、及びSchreiberの論文（1992））。イムノフィリン群に属する酵素の２つの大きなグループは、FKBPs、及びサイクロフィリンに代表される（Schreiber、及びCrabtreeの論文（1992））。真核T-細胞内の該主要な細胞内ラパマイシンレセプターは、FKBP12（DiLella、及びCraigの論文（1991））であり、かつ得られる複合体は、標的タンパク質に特異的に相互作用し、該細胞のシグナル伝達カスケードを阻害する。また、ラパマイシンに構造的に関連した免疫抑制剤FK506も、FKBP12に特異的に結合するが、異なる機序により免疫抑制効果を示す（Changらの論文（1991）；Sigal、及びDumontの論文（1992））。ラパマイシン、及びFK506は、同一の結合部位に対し競合し、従って該２つの薬剤が一緒に使用された場合、FK506は、ラパマイシンと拮抗作用を示し得る（Caoらの論文（1995））。該FKBP12-ラパマイシン複合体の結晶構造分析は、「結合ドメイン」と称されるラパマイシン結合性薬理作用団が確認された（Van Duyneらの論文（1993））（図１参照）。該「結合ドメイン」は、該イムノフィリンとの相互作用に必須であり、かつFK506、及びラパマイシンに関し、エステル結合、ピペコニル環（pipecolinyl ring）、ジカルボニル、及びヘミケタール環を含む、C-1からC-14領域からなる（図２参照）。該相互作用は、多くの疎水的接触、及び該シクロヘキサン環上のヒドロキシル基に対する１を含む、若干の水素結合を特徴とする。その疎水性結合キャビティーと結合する、高度に保存された芳香族アミノ酸残基により囲まれている場合、該ピペコリニル環（C2～N7）は、該タンパク質内の最も深くに侵入する。該C1、及びC8カルボニル基は、水素結合に関与し、かつ該C9カルボニル基は、FKBP12内の３つの完全に保存された芳香族アミノ酸残基（１つのチロシン、及び２つのフェニルアラニン酸残基）により形成されたポケット内に突き出る。標的タンパク質と相互作用する該イムノフィリン-リガンド複合体のドメインは、FKBPから離れて突き出ている。

【０００６】

該ラパマイシン-FKBP12複合体の標的は、酵母菌中で、TOR（標的ラパマイシン）として確認されており（Alarconらの論文（1999））、かつ哺乳類のタンパク質は、FRAP（FKBP-ラパマイシン付随タンパク質）、又はmTOR（哺乳類の標的ラパマイシン）として知られている（Brownらの論文（1994））。これらのタンパク質は、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ類のホスホトランスフェラーゼドメインとの有意な類似性を示し、かつmTORのFKBP12-ラパマイシン結合ドメイン（FRB）の点変異が、mTORキナーゼ活性を消滅させるという観測は、該キナーゼドメインの機能にFRBが関与しているという証拠を示している（Vilella-Bachらの論文（1999））。従って、該FRBドメインを含むmTORの切断された形態を有するFKBP12-ラパマイシンの結晶構造（Chenらの論文（1995））は、ラパマイシンの’エフェクター’ドメインを規定している（Choiらの論文（1996）；Liangらの論文（1999））。該結晶構造の分析は、タンパク質-タンパク質接触が、ラパマイシンと各タンパク質との間の相互作用と比較して、比較的制限されることを示した。ラパマイシンとFRBとの間に水素結合は同定されなかった。相互作用は、ラパマイシンのトリエン領域とFRBの主要な芳香族残基との間の一連の疎水的接触に集中される（Liangらの論文（1999））。ラパマイシンの最も深く埋められている原子は、C23に付いているメチル基である（図２参照）。ラパマイシンのC23からC34領域、及びシクロヘキシル環は、FRBと表面的な疎水的接触をする。ラパマイシンの小さな構造変化により、２成分の、及び３成分の複合体になることが、明らかとなった（Liangらの論文（1999））。

【０００７】

C16メトキシ基ラパマイシン類似体の生物学的作用とFKBP12に結合するその能力との相違点が検出され、かつFKBP12とmTORとの間の界面空間に、C16置換基が配置されることが仮定された（Luengoらの論文（1995））。非免疫抑制性28-O-メチルラパマイシンと結合したFKBP12の結晶構造分析により、mTOR結合の開裂を起こし得る、該シクロヘキシル環の配向で、有意な相違点が見出された（Kallenらの論文（1996））。

ラパマイシンは、リボソームタンパク質S6をリン酸化する高等真核生物内のセリン／スレオニンキナーゼであるp70^{S6k}キナーゼの阻害により、該細胞内のシグナルカスケードに影響を与える（Ferrariらの論文（1993）；Kuoらの論文（1992））。該S6タンパク質は、リボソーム40Sサブユニット内にあり、かつtRNAとmRNAとの結合に関与する重要な機能部位であると考えられている。p70^{S6k}による、S6リン酸化を介する、mRNA翻訳に対する調節機能が、仮定されている（Kawasomeらの論文（1998））。ラパマイシンは、サイクリン-依存キナーゼの活性、cAMP-応答性エレメントモジュレータ（CREM）リン酸化、及び延長因子結合タンパク質4E-BP1（PHAS1）のリン酸化を含む、他の生育関連現象に対し、その効果を通してタンパク質合成を阻害する（Hungらの論文（1996））。該薬剤は、該翻訳抑制因子eIF-4Eに結合する、4E-BP1の脱リン酸化種の蓄積を誘導し、それにより、キャップ-依存mRNAの翻訳開始を阻害する（Haraらの論文（1997）；Raughtらの論文（2001））。

【０００８】

mTORシグナル伝達とニューロン内における局在化されたタンパク質合成との間の関連性；翻訳制御に伴うタンパク質リン酸化状態への影響；転写、及び翻訳レベルでの、該翻訳機構の構成要素の存在量；アミノ酸透過酵素活性の制御、及び代謝経路に含まれる多くの酵素の転写連携が記載されている（Raughtらの論文（2001））。また、ラパマイシン感受性シグナル伝達経路は、胎児の脳発達、学習、及び記憶形成に重要な役割を担うようである（Tangらの論文（2002））。また、酵母におけるTORタンパク質の研究により、栄養分感受性シグナル伝達経路の調整におけるその機序が明らかになった（Hardwickらの論文（1999））。同様に、mTORは、タンパク質キナーゼBの活性に対する直接的な標的物として同定されており、かつインシュリンシグナル伝達において、重要な役割を有する（Shepherdらの論文（1998）；Naveらの論文（1999））。また、哺乳類のTORは、該アクチン細胞骨格の極性化、及び翻訳開始の調節に関与している（Alarcon（1999））。mTORのようなホファチジルイノシト-ル3-キナーゼは、細胞周期の進行、接着、細胞生存、及び血管新生のような、幾つかの態様の腫瘍の病原性において機能する（Roymans、及びSlegers（2001））。

【０００９】

FAP48、及びFAP1のような、FKBP-付随タンパク質（FAP）と称されるFKBPsの天然リガンドの候補が報告されているが、ほとんどのイムノフィリンは、免疫抑制活性に直接関与しないようであり、かつこれらの天然リガンドと関係があるものは、比較的少量であることが知れらている。用量依存的な方法において、複合体形成の間のFKBPsとFAPsとの該特異的相互作用は、ラパマイシンにより妨げられた（Chambraudらの論文（1996）；Kunzらの論文（2000））。イムノフィリンは、タンパク質の折込み；タンパク質の組立て、及び輸送；熱ショックタンパク質を含む、分子複合体の共調節；ステロイドレセプター；イオンチャネル；細胞間相互作用、及び遺伝子の転写、及び翻訳のような、広範囲の細胞活性において、機能するようである（Galat（2000）；Hamilton、及びSteinerの論文（1998））。すべてのイムノフィリンは、ペプチジル-プロリル シス-トランス異性化のタンパク質折畳み特性を有し、かつ幾つかのイムノフィリンは、細胞内のタンパク質合成の主要部分である小胞体内にあることが見い出された。FKBP12（米国特許第5,109,112号）に加えて、他のイムノフィリンは、FKBP12.6（米国特許第5,457,182号）、FKBP13（Hendricksonらの論文、1993；米国特許第5,498,597号）、FKBP25（Hung、及びSchreiberの論文（1992）；Jinらの論文（1992））、FKBP14.6（米国特許第5,354,845号）、FKBP52（米国特許第5,763,590号）、FKBP60（Yemらの論文（1992））、及びFKBP65（Patterson（2000））がある。

【００１０】

また、異なる細胞種の中にある、FKBPの多様性は、潜在的に変化する結合、及び／又はエフェクタードメインを有する、新規FKBP-リガンド類似体の単離での利用性を明確にしている。

ラパマイシン、及びラパマイシン類似体の薬物動態学的研究は、溶液中でさらに安定であり、代謝攻撃にさらに耐性があり、生体利用可能性を改善し得る、新規ラパマイシン化

合物の開発の必要性を示している。該分子上の化学的利用可能な位置での修飾が行われているが、このアプローチには、化学修飾に利用できる部位が制限され、かつ特定の位置を選択的に修飾する能力に乏しいので利用が制限されている。新規ラパマイシン類似体を生産する生物学的アプローチは、S.ハイグロスコピカスから、ラパマイシンの生合成遺伝子クラスターの配列を利用できるにもかかわらず（Schweckeらの論文（1995））、該生体機能において、直面する困難性のため、成功し難かった（Lomovskayaらの論文（1997）；Kieserらの論文（2000））。

【００１１】

該分子の化学的利用可能な部位を用いて、合成されたラパマイシン類似体の範囲が報告されている。下記化合物の記載は、図１に記載されている該ラパマイシン分子の付番方式を適合した。該分子の誘導体化、又は置換に対し、化学的利用可能な部位は、C40、及びC28ヒドロキシル基（例えば、米国特許第5,665,772号；米国特許第5,362,718号）、C39、及びC16メトキシ基（例えば、WO 96/41807；米国特許第5,728,710号））、C32、C26、及びC9ケト基（例えば、米国特許第5,378,836号；米国特許第5,138,051号；米国特許第5,665,772号）がある。トリエンを狙った、C17、C19、及び／又はC21での水素化は、抗真菌活性は保持されるが、免疫抑制性が低下する結果を得た（例えば、米国特許第5,391,730号；米国特許第5,023,262号）。該分子の安定性において、有意な改善（例えば、C32、C40、及び／又はC28で、オキシムの形成、米国特許第5,563,145号、米国特許第5,446,048号）、代謝攻撃に対する耐性（例えば、米国特許第5,912,253号）、生体利用可能性（例えば、米国特許第5,221,670号；米国特許第5,955,457号；WO 98/04279）、及びプロドラッグの生産（例えば、米国特許第6,015,815号；米国特許第5,432,183号）は、誘導体化により達成されている。しかし、化学修飾は、有意な量のラパマイシン鋳型を必要とし、かつ塩基、及び酸に不安定な化合物であるので、作用させることが難しい。化学的誘導体化を、基選択的とした場合、しばしば、部位選択的にすることは難しい。従って、常に、化学修飾は、複数の保護、及び脱保護工程、及び手順を必要とし、変わりやすい収率の混合生成物を生成する。

【００１２】

また、生体内変換、及びファージ-ベース遺伝子修飾のような生物学的方法を用いたラパマイシン類似体の単離も記載されている。変異株、及びラパマイシン産生株、双方からの微量代謝産物の単離は、多くのラパマイシン類似体を少量提供する。多くの場合、これらの菌株は、低収率であり、かつラパマイシン類似体の混合物を産生する。S.ハイグロスコピカスNCIMB 40319の培養液の上清から、27-O-デスメチルラパマイシン、及び27-デスメトキシラパマイシンの単離が報告された（Boxらの論文（1995））。27-O-デスメチルラパマイシンの抗真菌活性は、ラパマイシンよりも低いが、FKBP12 PPIase活性の抑制は、増加するようである。マウス脾臓T細胞のConA-刺激増殖の抑制、及びマウス脾臓B細胞のLPS-刺激増殖の抑制は、ラパマイシンと比較した場合、低下した（Boxらの論文（1995））。同様に、ラパマイシン誘導体プロリルラパマイシン、27-O-デスメチルラパマイシン、及び27-デスメトキシラパマイシンの抗真菌活性は、ラパマイシンの活性よりも低かった（Wongらの論文（1998））。また、ラパマイシン類似体（16-O-デスメチルラパマイシン、27-O-デスメチルラパマイシン、39-O-デスメチルラパマイシン、16,27-O-ビスデスメチルラパマイシン、プロリルラパマイシン、26-O-デスメチルプロリルラパマイシン、9-デオキソラパマイシン、27-デスメトキシラパマイシン、27-デスメトキシ-39-O-デスメチルラパマイシン、9-デオキソ-27-デスメトキシラパマイシン、28-デヒドロラパマイシン、9-デオキソ-27-デスメトキシ-39-O-デスメチルラパマイシン）は、シトクロムP450阻害剤、及び／又は該培養液に供給される前駆体の添加後、又は単離されたラパマイシンの生体内変換後、アクチノプラネスsp N902-109から単離された（Nishidaらの論文（1995））。しかし、そのような阻害剤の使用は、特定の酵素機能を標的とした時のみ可能であり、かつ部位選択的ではない。単一の選択された類似体の合理的生産は、この方法からでは、不可能である。所望される単一生成物よりもむしろ、ラパマイシン類似体の混合物から得られた生成物は、収率に影響を与える。該化合物の混合リンパ球反応（MLR）阻害活性を評

価し、かつC27、又は／及びC16のメチル基の損失により、該活性の効果がなくなることが発見された。さらに、9-デオキソラパマイシンは、活性において、さらに有意な低下を示し、かつC27のメトキシ基の損失、C28のヒドロキシ基、及びプロリル基に対し、ピペコニリル基の置換は、効力の低下を起こした（Nishidaらの論文（1995））。同様に、ラパマイシンの生体内変換、及び16,39-O-ビスデスメチルラパマイシンの単離が、報告されている（WO 94/09010）。例えば、SDZ RADなどの39-O-デスメチルラパマイシン、及びC40修飾体である、シクロヘキシル環が修飾された化合物による細胞増殖アッセイにおける、阻害活性の保持は、新規ラパマイシン類似体を生産することを標的として、該分子のこの領域を同定する。S.ハイグロスコピカスの培養液に下記化合物を供給した後に、S.ハイグロスコピカスの培養を行ったところ、新規ラパマイシン類似体が報告された：シクロヘキサンカルボン酸、シクロヘプタンカルボン酸、シクロヘキサ-1-エンカルボン酸、3-メチルシクロヘキサンカルボン酸、シクロヘキサ-3-エンカルボン酸、3-ヒドロキシシクロヘキサ-4-エンカルボン酸、及びシクロヘプタ-1-エンカルボン酸である。従って、それによりラパマイシンポリケチドシンターゼのロードモジュールにおいて、柔軟性が示されている（P.A.S. Lowdenの博士論文、ケンブリッジ大学（1997））。これらの新規ラパマイシン類似体は、該天然開始剤である、4、5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸と競合し、収率の低下、及び混合生成物を生じる。

【００１３】

ファージ技術を介した生物学的方法（Lomovskayaらの論文（1997））を用いる、様々なラパマイシン類似体を産生する組換え型S.ハイグロスコピカス菌株の単離が報告されている。添加されたプロリン誘導体の存在下、S.ハイグロスコピカスrapL除去変異株は、新規ラパマイシン類似体、プロリルラパマイシン、4-ヒドロキシプロリルラパマイシン、及び4-ヒドロキシプロリル-26-デスメトキシ-ラパマイシンを合成した（Khawらの論文（1998））。同様に、該新規ラパマイシン類3-ヒドロキシ-プロリル-ラパマイシン、3-ヒドロキシ-プロリル-26-デスメトキシ-ラパマイシン、及びtrans-3-アザ-ビシクロ[3,1,0]ヘキサン-2-カルボン酸ラパマイシンは、WO 98/54308に記載されているように同定されている。プロリルラパマイシン、及び4-ヒドロキシプロリル-26-デスメトキシ-ラパマイシンの活性は、増殖アッセイ内で評価され、かつ該後者の化合物の阻害活性は、ラパマイシンの該活性よりも、有意に低かった（Khawらの論文（1998））。ファージ-ベースの方法論を用い、S.ハイグロスコピカスATCC29253において、５つの隣接遺伝子rapQONML（C16、C27、及びL-ピペコリン酸生成物のポスト-ポリケチド修飾体に関連する。）が除去され、かつネオマイシン耐性マーカーを有するこれらの置換体は、ピペコリン酸を供給した場合、16-O-デスメチル-27-デスメトキシラパマイシンを生じた（Chungらの論文（2001））。この除去変異体の相補性がないことは、この技術を用いて示されている。さらに、rapM、及びrapQの該部位特異的機能は、明らかとなっていない。従って、C16-OH、又はC27-OHでメチル化を必要とするラパマイシン類似体の合理的設計はできていない。該ファージ-ベースの方法論は、さらに詳細に下記に記載されているように、多くの欠点がある。それは技術操作された菌株を得るための難しく、かつ長い工程があり、かつ本明細書中で開示している方法論と比較して多様性が低い。

【００１４】

生物学的方法を用いて、ラパマイシン修飾遺伝子を操作する通常のアプローチは、宿主株の染色体内の個々の遺伝子の変異、又は除去、又は／及び個々に相同的、又は非相同的遺伝子の転写物、又は遺伝子カセットのような、個々の遺伝子の挿入を含む（WO 01/79520、WO 03/048375）。しかし、そのような生物学的方法を用いた新規ラパマイシン類似体の単離は、ラパマイシン産生生物株S.ハイグロスコピカスの形質転換の困難性のため、制限されている。通常に使用されるプラスミドDNAを用いた形質転換、又は接合伝達方法は、該ラパマイシン産生株では失敗したことが報告されている（Lomovskyaらの論文（1997）、Schwekeらの論文（1995）、Kieserらの論文（2000））。該技術の現状は、Lomovskyaら（1997）の方法論を用いており、労働集中的なファージベースの方法は、S.ハイグロスコピカスに形質転換されるクローンDNA断片のサイズにより、大幅に制限される（Kieser

らの論文（2000））。この技術は、最大6.4 kbのクローンDNAの形質転換に制限される。従って、この技術を用いて除去変異体を補う場合、熟練者は、所望のプロモーター、相同的領域、及び耐性マーカーの他に、～２機能性遺伝子の包括に制限される。該ラパマイシン生合成遺伝子クラスターの該遺伝情報は、1995から利用可能である（Schweckeらの論文（1995））が、この分野における進歩は限られている（Khawらの論文（1998）；Chungらの論文（2001）；WO 01/34816）。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【００１５】

本発明は、FKBPリガンドをコードする生合成クラスターを含む菌株に効率的に形質転換するための組換え方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【００１６】

（発明の要約）

本発明は、FKBPリガンドをコードする生合成クラスターを含む菌株に効率的に形質転換するための組換え方法を提供し、該菌株には、制限はないが、例えば、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカス（Streptomyces hygroscopicus subsp. hygroscopicus）NRRL 5491、アクチノプラネスsp.（Actinoplanes sp.）N902-109 FERM BP-3832、ストレプトマイセス sp.（Streptomyces sp.）AA6554、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス（Streptomyces hygroscopicus var. ascomyceticus）MA 6475 ATCC 14891、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6678 ATCC 55087、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6674、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスATCC 55276、ストレプトマイセス ツクバエンシス（Streptomyces tsukubaensis）No.9993 FERM BP-927、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ヤクシマエンシス（Streptomyces hygroscopicus subsp. yakushimaensis）、ストレプトマイセスsp. DSM 4137、ストレプトマイセスsp. DSM 7348、ミクロモノスポラn.sp.（Micromonospora n.sp.）A92-306401 DSM 8429、ストレプトマイセスsp. MA 6858 ATCC 55098、ストレプトマイセスsp. MA 6848がある。前記方法は、下記工程を含む：

（ａ）dam$^-$、dcm$^-$、又はdam$^-$及びdcm$^-$であるE.コリ株中に、接合性欠失プラスミドを構築する工程；

（ｂ）接合に適した前記宿主株から胞子を生成する工程、ここで、前記菌株を、湿度10％～40％で生育させ、かつ該胞子を、5～30日で収集し；

（ｃ）１リットルにつき：

i）　コーン浸透粉0.5 g～5 g；

ii）　酵母エキス0.1 g～5 g；

iii）　炭酸カルシウム0.1 g～10 g；及び

iv）　硫酸鉄0.01 g～0.5 g；

を含む培地上で、工程（ａ）のE.コリ株と工程（ｂ）からの胞子とを接合させる工程であって、前記培地は、さらに、BACTO-寒天、及びデンプンを含み、かつ１～20重量％減少するように乾燥させており；かつ

（ｄ）ポリケチド産生に適した条件下で、前記組換え型菌株を、任意に培養する工程。

【００１７】

好ましい実施態様において、前記方法は、下記菌株を形質転換に使用する：

ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカス（例えば、NRRL 5491）、アクチノプラネスsp. N902-109（例えば、FERM BP-3832）、ストレプトマイセスsp. AA6554、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス（例えば、MA 6475 ATCC 14891）、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス（例えば、MA 6678 ATCC 55087）、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス（例えば、MA 6674）、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.ア

スコマイセティカス（例えば、ATCC 55276）、ストレプトマイセス ツクバエンシスNo.9993（例えば、FERM BP-927）、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ヤクシマエンシス、ストレプトマイセスsp.（例えば、DSM 4137）、ストレプトマイセスsp.（例えば、DSM 7348）、ミクロモノスポラn.sp. A92-306401（例えば、DSM 8429）、又はストレプトマイセスsp.（例えば、MA 6858 ATCC 55098）。さらに好ましい実施態様において、前記方法は、下記菌株を形質転換に使用する：
S.ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカス（例えば、NRRL 5491）、又はS.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス（例えば、ATCC 14891）。また、さらに好ましい実施態様において、前記方法を、ラパマイシン産生株S.ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカス（例えば、NRRL 5491）の形質転換に使用する。

【００１８】

従って、また、本発明は、FKBP-リガンドをコードする生合成クラスターを含む組換え型菌株を提供し、ここで、一以上の補助遺伝子は、本明細書中で記載した方法を用いて除去又は不活性化されている。

さらに、一態様において、本発明は、新規ポリケチド類似体を生成するように、ポリケチド修飾酵素の組合せを発現するための組換え方法、及び物質を提供する。特定の実施態様において、本発明は、制限はないが、例えば、ラパマイシン、FK506、FK520、FK523、FK525、アンタスコマイシン、メリダマイシン、ツクバマイシン、及びその類似体のようなFKBP-リガンドをコードする生合成クラスターから供給されるポスト-PKS修飾体、及び／又は前駆体供給に関与する酵素の組合せを発現するための組換え方法、及び物質、及び組換え型宿主細胞内に類似体を生産する方法を提供する。好ましい実施態様において、前記組換え方法、及び物質は、ラパマイシン、FK520、FK506、及び’hyg’の生合成において、ポスト-PKS修飾体、及び／又は前駆体供給に関与する酵素の組合せを発現するために、かつ組換え型宿主細胞内にラパマイシン、FK520、FK506、及び’hyg’類似体を産生する方法のために使用される。さらに高度に好ましい実施態様において、前記組換え方法、及び物質は、ラパマイシンの生合成において供給されるポスト-PKS修飾体、及び／又は前駆体供給に関与する酵素の組合せを発現するために、かつ組換え型宿主細胞内にラパマイシン類似体を産生する方法のために使用される。

【００１９】

広く、本発明は、基礎生成物の生産に関与するコア部分を有する遺伝子システムの改変、及び例えば、該基礎生成物の効果的なグリコシル化、酸化、還元、アルキル化、脱アルキル化、アシル化、又は環化のような、該基礎生成物の比較的小さい効果的な修飾に関与する修飾遺伝子の多様性、及び特定の前駆化合物（例えば、ピペコレート；4,5 ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸）の生産に伴う前駆体供給遺伝子の多様性に関連する。従って、該基礎生成物は、モジュールポリケチドとなることができ、かつ該修飾遺伝子は、グリコシル化、及び／又はポリケチド鎖の他の修飾に関連され得、かつ該前駆体供給遺伝子は、天然、又は非天然前駆体（例えば、該ラパマイシンシステムにおいて、ピペコレート、及び／又は4,5ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸）の生産、及び／又は取込みを伴い得る。

該コア部分は、前駆体供給遺伝子がない場合において、（天然、又は非天然前駆化合物が供給され、又は他に利用されるまで）適切に、又は一様に全く機能しなくてもよい。

一態様において、本発明は、前駆体供給遺伝子の除去又は不活性化のため、機能することができないコア部分を有する遺伝子システムの改変方法を提供する。適切な遺伝子システムは、制限はないが、該ラパマイシン、アンタスコマイシン、FK520、FK506、’hyg’、FK523、メリダマイシン、FK525、及びツクバマイシン生合成クラスターを含む。本発明のこの態様において、好ましくは、該欠如された前駆体供給遺伝子は、rapK、又は相同的rapKである（例えば、該FK506、又はFK520遺伝子クラスター内のfkb0）。好ましくは、該遺伝子システムは、該ラパマイシンクラスターである。さらに好ましくは、該欠如された前駆体供給遺伝子は、rapKである。本発明のこの態様は、天然、又は非天然前駆体（例えば、4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸）の取込みを通して、多様な基礎

生成物を効果的に生産する方法を提供する。また、下記に示すように、方法は、態様を統合することができる。

【００２０】

他の種類のシステムには、非リボソーム型ペプチド（”NRP”）システムがあり、ここで、該基礎生成物は、ペプチドであり、かつ該修飾遺伝子は、ペプチド修飾（グリコシル化、還元等）に関与する遺伝子であり、かつ該前駆体供給遺伝子は、該ペプチドを取込むべき特有のアミノ酸残基の生産を伴う遺伝子である。また、システムは、混合型でもよく、例えば、ポリケチド部分と異なる生合成基点を有する部分を持ち、例えば、NRPがある。実際には、該ピペコレート残基は、NRPシステムに見られるものと同じ酵素により付加されたアミノ酸残基であるので、ラパマイシンは、これを例として見なされ得る。

これらの修飾遺伝子、及び前駆体供給遺伝子を、ポリケチド合成の補助遺伝子として見なすことができ、かつ本明細書中で使用される該用語”補助遺伝子”は、修飾遺伝子、前駆体供給遺伝子、又はその両方を意味することができる。

該遺伝子システムの改変は、一組の補助遺伝子が改変されている機能改変システムの作成を含む。従って、一以上の補助遺伝子（及び好ましくは２以上、３以上、４以上、５以上、６以上、又は７以上）を除去し（又は機能性をなくす）、かつ／又は異なる遺伝子に置換してもよい。

これは、機能性補助遺伝子の多様性を欠いた遺伝子システムをコードする核酸を含む”除去システム”を含むことができる。次いで、この除去システムを、一以上の機能性補助遺伝子（置換される該遺伝子と同じ、又は異なっていてもよい）で補うことができる。これは、組合せて行うことができ、除去システムは、異なる遺伝子、及び複数組の遺伝子の多様性により補われる。

【００２１】

一以上の修飾機能を欠いた該天然システムと異なる改変システムは、

（a）除去システムを作り、かつ除去遺伝子の全てよりも少ない相補性により復元すること；又は

（b）現行システムの遺伝子を選択的に除去又は不活性化することにより作り出すことができた。（b）に従い作られた改変システムにおいて、遺伝子を、タンパク質機能において重要な活性部位に直接的に変異生成することにより、フレームシフト変異を通して該遺伝子の切断により、その機能に重要な該遺伝子部位のインフレーム除去により、不活性化することができ、活性部位；点変異により部分的除去又は不活性化がある。これらはすべて、変異遺伝子型の二重組換え、及び選択により、又は一つの組換えにより行うことができた。好ましい実施態様において、該改変システムは、方法（a）により作られる。また、そのような方法は、除去システムの作成に使用される。好ましくは、”復元された”遺伝子は、同じ遺伝子クラスターからのものであるので、該”相補性”アプローチ（a）は相同的であるが、該”復元された”遺伝子が、FKBP-リガンドをコードする異なる生合成クラスターから選択された非相同的相補性も、本発明では意図される。好ましい実施態様において、該”復元された”遺伝子は、該除去された遺伝子と本質的に同じであり、又は同じ機能を持つその変異体である。

さらに、本発明の態様において、除去された（又は非機能化）前駆体供給遺伝子を用いた改変システムは、変異生成物を生産するように、代わりの前駆体が供給されてもよい。

【００２２】

ポリケチドシンターゼ（”PKS”）システムに適用するように、一つの好ましい型の実施態様は、ポリケチド生成方法であり、該方法は：

（a）機能性PKSを産生するように発現することが可能な、一以上のPKS遺伝子を含む生物体の菌株を製造すること、例えば、FKBP-リガンドをコードするPKS遺伝子のように、該機能性PKSは、該生物体内でポリケチドを生成することができ、該生物体は、該ポリケチドの効果的な各修飾が可能である遺伝子産物をコードする前記PKS遺伝子に自然に付随した、一以上の機能性補助遺伝子がなく；かつ

（b）前記生物体が、一以上の補助遺伝子を発現するように相補性をもたらすこと、該発

現された修飾遺伝子は、前記PKS遺伝子に自然に付随した一組の不完全な補助遺伝子を構築し、かつ／又は一以上の変異補助遺伝子を含み；かつ
（c）前記菌株を培養し、かつ産生された該ポリケチド類似体を任意に単離することを含む。
一以上のPKS遺伝子を含む生物体の菌株を製造する工程は、前記一以上のPKS遺伝子を含み、かつ前記一以上の補助遺伝子が欠如された遺伝子クラスターをコードする核酸を提供し；かつ前記核酸を、前記生物体内に導入する工程を含むことができる。
【００２３】
好ましくは、該PKS遺伝子は、ラパマイシン遺伝子である。該欠如された補助遺伝子は、好ましくは一以上のrapK、rapI、rapQ、rapM、接触遺伝子rapN、及び0（本明細書中では、rapN/0と表す。）、rapL、及びrapJである。本発明により意図される特定の実施態様において：
i） １の補助遺伝子の欠如、例えば、rapK；rapI；rapQ；rapM；rapL、rapN/0、又はrapJの欠如；好ましくはrapK；rapI；rapQ；rapM；rapN/0、及びrapJからなる群から選択される一補助遺伝子を欠如する；
ii） １の補助遺伝子の欠如、例えば、：rapKrapI；rapKrapQ；rapKrapM；rapKrapN/0；rapKrapL；rapKrapJ；rapkIrapQ；rapIrapM；rapIrapN/0；rapIrapL；rapIrapJ；rapQrapM；rapQrapN/0；rapQrapL；rapQrapJ；rapMrapN/0；rapMrapL；rapMrapJ；rapN/0rapL；rapN/0rapJ、又はrapLrapJを欠如する；
iii） ３の補助遺伝子の欠如、例えば：rapKrapIrapQ；rapKrapIrapM；rapKrapIrapN/0；rapKrapIrapL；rapKrapIrapJ；rapKrapQrapM；rapKrapQRapN/0；rapKrapQrapL；rapKrapQrapJ；rapKrapMrapN/0；rapKrapMrapL；rapKrapMrapJ；rapKrapN/0rapL；rapKrapN/0rapJ；rapKrapLrapJ；rapIrapQrapM；rapIrapQrapN/0；rapIrapQrapL；rapIrapQrapJ；rapIrapMrapN/0；rapIrapMrapL；rapIrapMrapJ；rapIrapN/0rapL；rapIrapN/0rapJ；rapIrapLrapJ；rapQrapMrapN/0；rapQrapMrapL；rapQrapMrapJ；rapQrapN/0rapL；rapQrapN/0rapJ；rapQrapLrapJ；rapMrapN/0rapL；rapMrapN/0rapJ；rapMrapLrap、又はrapN/0rapLrapJを欠如する；
【００２４】
iv） ４の補助遺伝子の欠如、例えば：rapKrapIrapQrapM；rapKrapIrapQrapN/0；rapKrapIrapQrapL；rapKrapIrapQrapJ；rapKrapIrapMrapN/0；rapKrapIrapMrapL；rapKrapIrapMrapJ；rapKrapIrapN/0rapL；rapKrapIrapN/0rapJ；rapKrapIrapLrapJ；rapKrapQrapMrapN/0；rapKrapQrapMrapL；rapKrapQrapMrapJ；rapKrapQrapN/0rapL；rapK、rapQ、rapN/0、rapJ；rapKrapQrapLrapJ；rapKrapMrapN/0rapL；rapKrapMrapN/0rapJ；rapKrapMrapLrapJ；rapKrapN/0rapLrapJ；rapIrapQrapMrapN/0；rapIrapQrapMrapL；rapIrapQrapMrapJ；rapIrapQrapN/0rapL；rapIrapQrapN/0rapJ；rapIrapQrapLrapJ；rapIrapMrapN/0rapL；rapIrapMrapN/0rapJ；rapIrapMrapLrapJ；rapIrapN/0rapLrapJ；rapQrapMrapN/0rapL；rapQrapMrapN/0rapJ；rapQrapMrapLrapJ；rapQrapN/0rapLrapJ、又はrapMrapN/0rapLrapJを欠如する；
v） ５の補助遺伝子の欠如、例えば：rapKrapIrapQrapMrapN/0；rapKrapIrapQrapMrapL；rapKrapIrapQrapMrapJ；rapKrapIrapQrapN/0rapL；rapKrapIrapQrapN/0rapJ；rapKrapIrapQrapLrapJ；rapKrapIrapMrapN/0rapL；rapKrapIrapMrapN/0rapJ；rapKrapIrapMrapLrapJ；rapKrapIrapN/0rapLrapJ；rapKrapQrapMrapN/0rapL；rapKrapQrapMrapN/0rapJ；rapKrapQrapMrapLrapJ；rapKrapQrapN/0rapLrapJ；rapKrapMrapN/0rapLrapJ；rapIrapQrapMrapN/0rapL；rapIrapQrapMrapN/0rapJ；rapIrapQrapN/0rapLrapJ；rapIrapMrapN/0rapLrapJ；rapQrapMrapN/0rapLrapJ、又はrapIrapQrapMrapLrapJを欠如する；
vi） ６の補助遺伝子の欠如、例えば：
rapKrapIrapQrapMrapN/0rapL；rapKrapIrapQrapMrapN/0rapJ；
rapKrapIrapQrapMrapLrapJ；rapKrapIrapQrapN/0rapLrapJ；
rapKrapIrapMrapN/0rapLrapJ；rapKrapQrapMrapN/0rapLrapJ、又は
rapIrapQrapMrapN/0rapLrapJを欠如する；又は

vii） ７の補助遺伝子の欠如、例えば：rapKrapIrapQrapMrapN/0rapLrapJを欠如する。

【００２５】

該表現”一以上の機能性補助遺伝子を欠如する”は、遺伝子の欠如と遺伝子の存在と、両方を包含するが、例えば、特異的に損傷されている、非機能性状態は包含しない。

一態様において、本発明は、FKBP-リガンド中に天然、又は非天然前駆体を効率的に取込むための新規かつ迅速な経路を提供する。制限はないが、これらは、該ラパマイシン、アンタスコマシン、FK520、FK506、’hyg’、FK523、メリダマイシン、FK525、及びツクバマイシンポリケチドシンターゼ／非リボソーム型ペプチドシンターゼシステムを含み、従って、本発明は、これらの各天然産物の新規類似体を提供する。特定の態様において、本発明は、新規ラパマイシン類似体を提供する天然、又は非天然前駆体を効率的に取込むための新規かつ迅速な経路を提供する。

従って、一態様において、本発明は、非天然開始単位を組込んだFBKP-リガンド類似体の生成方法を提供し、前記方法は：

（ａ）少なくとも該rapK相同体が除去又は不活性化された組換え型菌株を生成する工程；及び

（ｂ）前記菌株に、非天然開始単位を供給する工程；

を含む。

【００２６】

好ましい実施態様において、該組換え型菌株を、本発明の方法を用いて製造する。

さらに態様において、本発明は、このようなシステムに利用できる化合物、及び個々の化合物のライブラリーを提供する。従って、標準的化合物は、基礎生成物の生産に関与するコア部分、及び該基礎生成物の効果的な比較的小さい修飾に関与する補助遺伝子の多様性を有する遺伝子システムにより自然に生産された化合物の変異体であり、該変異体は、一以上の該補助遺伝子がなく、非機能的であり、又は機能性変異体により置換されるように改変されたシステムにより生産可能である。化合物の好ましい種類は、ラパマイシンシステム産物に対応するラパマイシン類似体であり、ここで、rapK、rapI、rapQ、rapM、rapN、rap0、rapL、及びrapJからなる群から選択された、一以上の該遺伝子がなく、非機能的であり、又は変異体である。

さらに態様において、本発明は、新規FKBP-類似体を提供し、好ましい実施態様において、本発明は、新規ラパマイシン類似体を提供する。そのような化合物は、一以上の有用な特性を有していてもよく、制限はないが、例えば、免疫抑制剤、抗真菌剤、抗癌剤、神経生成剤、又は乾癬、関節リウマチ、線維症及び他の高増殖性疾患の治療薬剤として利用する。

【００２７】

（定義：）

本明細書中で使用される用語”修飾遺伝子”は、該ポリケチドのポスト-ポリケチドシンターゼ修飾に必要な該遺伝子を含み、制限はないが、例えば、シトクロムP-450モノオキシゲナーゼ、フェレドキシン、及びSAM-依存性0-メチルトランスフェラーゼがある。該ラパマイシンシステムにおいて、これらの修飾遺伝子は、rapN/0、rapM、rapI、rapQ、及びrapJを含むが、当業者は、ラパマイシンに関するPKSシステム（制限はないが、例えば：FK506、FK520、アンタスコマイシン、’hyg’、FK523、メリダマイシン、FK525、及びツクバマイシン）が、相同的なこれらの遺伝子の少なくとも一サブセットを有するであろうことを理解するであろう。その幾つかは、さらに下記で考察されている。

本明細書中で使用される用語”前駆体供給遺伝子”は、該天然、又は非天然前駆体の供給に必要な遺伝子、すべての自然に、又は非自然に取込まれる前駆体の合成に必要な遺伝子、及びすべての自然、非自然に取込まれる前駆体の取込みに必要な遺伝子を含む。制限はないが、例えば、ラパマイシンシステムにおいて、これらの遺伝子は、rapL、rapK、及びrapPを含むが、当業者は、ラパマイシンに関するPKSシステム（制限はないが、例えば：FK506、FK520、アンタスコマイシン、’hyg’、FK523、メリダマイシン、FK525、及びツクバマイシン）が、相同的なこれらの遺伝子を有するであろうことを理解するであろう

。その幾つかは、さらに下記で議論されている。
【００２８】
本明細書中で使用される用語”補助遺伝子”は、修飾遺伝子、前駆体供給遺伝子、又は修飾遺伝子、及び前駆体供給遺伝子の両方の意味を含む。
本明細書中で使用される用語”前駆体”は、該天然開始単位（すなわち、4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸）、非天然開始単位、及び自然に取込まれるアミノ酸（すなわち、ピペコリン酸）、及び非自然に取込まれるアミノ酸を含む。
本明細書中で使用される用語”非天然開始単位”は、ポリケチド合成において、開始単位として取込まれ得るすべての化合物のことを言い、PKSにより通常に選択された開始単位ではない。
本明細書中で使用される用語”FKBP-リガンド”は、イムノフィリンFKBPに結合する化合物のことを言い、そのような化合物は、α,β-ジケトアミドを優先的に含み、ここで、該β-ケトは、ヘミアセタールとしてマスクされている。制限はないが、そのような化合物には、ラパマイシン、FK520、FK506、アンタスコマイシン、’hyg’、FK523、メリダマイシン、FK525、及びツクバマイシンがある。
【００２９】
本明細書中で使用される用語”FKBP-リガンドをコードする生合成クラスター”は、制限はないが、ラパマイシン、FK506、FK520、’hyg’、FK523、アンタスコマイシン、メリダマイシン、FK525、及びツクバマイシンの合成を支配する遺伝子クラスターを含む。
本明細書中で使用される用語”FKBP-リガンドをコードする生合成クラスターを含む菌株”は、制限はないが、下記菌株を含む：
ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカス（例えば、NRRL 5491）、アクチノプラネスsp. N902-109（例えば、FERM BP-3832）、ストレプトマイセスsp. AA6554、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6475（例えば、ATCC 14891）、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6678（例えば、ATCC 55087）、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6674、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス（例えば、ATCC 55276）、ストレプトマイセス ツクバエンシスNo.9993（例えば、FERM BP-927）、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ヤクシマエンシス、ストレプトマイセスsp.（例えば、DSM 4137）、ストレプトマイセスsp.（例えば、DSM 7348）、ミクロモノスポラn.sp. A92-306401（例えば、DSM 8429）、又はストレプトマイセスsp. MA 6858（例えば、ATCC 55098）。
【００３０】
本明細書中で使用される用語”rapK相同体”は、FKBP-リガンドをコードする他の生合成クラスターからの該ラパマイシン遺伝子rapKの相同体のことを言い、制限はないが、例えば：FK520クラスターからのfkbO遺伝子、FK506クラスターからのfkbO遺伝子、及び’hyg’クラスター内のOrf5がある。そのようなrapK相同体は、これらの関連したFKBP-リガンドの合成において、rapKと同じように機能し、すなわち、該天然開始単位の供給に必要である。好ましくは、そのようなrapK相同体は、rapKの配列に対し、少なくとも40％の同一配列、好ましくは、少なくとも60％、少なくとも70％、少なくとも80％、少なくとも90％、又は図２７に示されているように、少なくとも95％の同一配列を有する（配列番号：13）。
【図面の簡単な説明】
【００３１】
（図の簡単な説明）
【図１】ラパマイシンの構造、描線の左部分は結合領域を示し、かつ右部分はエフェクター領域を示す。
【図２】ラパマイシン（A）、FK-506（B）、FK-520（C）、及びメリダマイシン（D）の構造。
【図３】pMG55のプラスミドマップ、RpsLポジティブ選択、及び接合点oriTを有する二重

の組換えベクター。
【図４】MG2-10を作成するため、pMAG144-16を単離するクローニング戦略を示すフローチャート。
【図５】遺伝子カセットの概観。
【図６】9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチルラパマイシンの構造。
【図７】9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチルプロリルラパマイシンの構造。
【図８】9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシラパマイシンの構造。
【図９】16-0-デスメチル-27-デスメトキシラパマイシンの構造。
【図１０】化合物１、２、４、５、６、８、９、１５、１６、１７、１８、及び１９の構造。
【００３２】
【図１１】化合物３、７、１０、１１、１２、１３、１４、２０、２１、２２、及び２３の構造。
【図１２】化合物２４、２５、２７、２８、２９、３１、３２、３８、３９、４０、４１、及び４２の構造。
【図１３】化合物２６、３０、３３、３４、３５、３６、３７、４３、４４、４５、及び４６の構造。
【図１４】化合物４７、４８、５０、５１、５３、及び５７の構造。
【図１５】化合物４９、５２、５４、５５、５６、及び５８の構造。
【図１６】化合物６１、６４、６６、６７、６８、及び７０の構造。
【図１７】化合物５９、６０、６２、６３、６５、及び６９の構造。
【図１８】前駆ラパマイシンの異核多重結合コヒーレンス（HMBC）。
【図１９】前駆ラパマイシンの異核多重量子コヒーレンス（HMQC）。
【図２０】実線矢印で示された前駆ラパマイシンの相関分光法（COSY）、点線矢印で示された前駆ラパマイシンの全相関分光法（TOCSY）。
【００３３】
【図２１】rapNのDNA配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：１）、かつ公表された配列（acc no：X86780、nt 91764-92978）を下に示す（配列番号：２）。
【図２２】RapNのアミノ酸配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：３）、かつ公表された配列（acc no：X86780）を下に示す（配列番号：４）。
【図２３】rapMのDNA配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：５）、かつ公表された配列（acc no：X86780、nt 92992-93945相補体）を下に示す（配列番号：６）。
【図２４】RapMのアミノ酸配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：７）、かつ公表された配列（acc no：X86780）を下に示す（配列番号：８）。
【図２５】rapLのDNA配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：９）、かつ公表された配列（acc no：X86780、nt 94047-95078相補体）を下に示す（配列番号：10）。
【図２６】RapLのアミノ酸配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：11）、かつ公表された配列（acc no：X86780）を下に示す（配列番号：12）。
【図２７】rapKのDNA配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：13）、かつ公表された配列（acc no：X86780、nt 95430-96434）を下に示す（配列番号：14）。
【図２８】RapKのアミノ酸配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：15）、かつ公表された配列（acc no：X86780）を下に示す（配列番号：16）。
【図２９】rapJのDNA配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：17）、かつ公表された配列（acc no：X86780、nt 96465-97625）を下に示す（配列番号：18）。
【図３０】RapJのアミノ酸配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：19）、かつ公表された配列（acc no：X86780）を下に示す（配列番号：20）。
【００３４】

【図３１】rapIのDNA配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：21）、かつ公表された配列（acc no：X86780、nt 97622-98404）を下に示す（配列番号：22）。
【図３２】RapIのアミノ酸配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：23）、かつ公表された配列（acc no：X86780）を下に示す（配列番号：24）。
【図３３】rapQのDNA配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：25）、かつ公表された配列（acc no：X86780、nt 90798-91433）を下に示す（配列番号：26）。
【図３４】RapQのアミノ酸配列の補正、該補正した配列を上に示し（配列番号：27）、かつ公表された配列（acc no：X86780）を下に示す（配列番号：28）。
【図３５】MG3を作成するため、pMG278-1を単離するクローニング戦略を示すフローチャート。
【図３６】MG4を作成するため、pMG267-1を単離するクローニング戦略を示すフローチャート。
【発明を実施するための形態】
【００３５】
（発明の詳細な説明）
一態様において、本発明は、本発明は、S.ハイグロスコピカスを形質転換する新規かつ迅速な方法を提供する。S.ハイグロスコピカスの遺伝学的に修飾された菌株を単離するファージ技術の使用は、以前に記載されている（Khawらの論文（1998）；Lomovskayaらの論文（1997））。しかし、ラパマイシン産生株S.ハイグロスコピカス内にDNAを導入する、トランスフェクション以外の方法は、未だ報告されていない。実際には、プラスミドDNA、又は接合伝達を用いた、一般に使用される形質転換方法は、該ラパマイシン産生株では、失敗に終ったことが以前に示されている（Lomovskayaらの論文（1997）、Kieserらの論文（2000）；Schwekeらの論文（1995））。
本発明において、意外にも、実施例１に記載されているように、S.ハイグロスコピカスの形質転換に成功した接合プロトコルが確立された。該方法論を、S.ハイグロスコピカスMG2-10（実施例２）における、除去変異体の単離により、かつ実施例３、５、及び１５に記載されている遺伝子、及び遺伝子組合せの発現により示した。
【００３６】
従って、一態様において、本発明は、一以上の補助遺伝子が、除去又は不活性化されている、FKBP-リガンドをコードする生合成クラスターを含む組換え型菌株を製造する方法を提供し、前記方法は下記工程を含む：
（ａ）dam^-、dcm^-、又はdam^-、及びdcm^-であるE.コリ株中に、接合性欠失プラスミドを構築する工程；
（ｂ）接合に適した前記菌株から胞子を生成する工程、ここで、前記菌株を、湿度10％～40％で生育させ、かつ該胞子を、5～30日で収集し；
（ｃ）１リットルにつき：
i）　コーン浸透粉0.5 g～5 g；
ii）　酵母エキス0.1 g～5 g；
iii）　炭酸カルシウム0.1 g～10 g；及び
iv）　硫酸鉄0.01 g～0.5 g；
を含む培地上で、工程（ａ）のE.コリ株と工程（ｂ）から得られた胞子とを接合させる工程であって、前記培地は、さらに、BACTO-寒天、及びデンプンを含み、かつ1～20重量％減少するように乾燥させており；かつ
（ｄ）ポリケチド産生に適した条件下で、前記菌株を、任意に培養する工程。
好ましくは、工程（a）の該E.コリ菌株は、dam^-、及びdcm^-である。
好ましくは、工程（b）の該胞子は、10～25日で、又は14～21日で収集される。他の実施態様において、工程（b）において、該菌株は、湿度10～20％で生育される。
特定の実施態様において、工程（c）の該培地中のデンプンは、小麦デンプンである。
好ましい実施態様において、工程（c）に使用される該培地は、1リットルあたり、コーン浸透粉1 g～4 g、酵母エキス1 g～4 g、炭酸カルシウム1 g～5 g、及び硫酸鉄0.2 g～0

.4 gを含む。さらに好ましい実施態様において、該培地は、1リットルあたり、コーン浸透粉2.5 g、酵母エキス3 g、炭酸カルシウム3 g、及び硫酸鉄0.3 gを含む。

【００３７】

本発明において開示された相補性戦略は、各補助遺伝子（すなわち、ラパマイシン生合成におけるrapK、rapQ、rapN/O、rapM、rapL、rapJ、及び／又はrapI）の機能を評価し、かつ同定する迅速な方法を提供する。該遺伝子産物RapKは、以前に、ラパマイシン生合成の酸化工程も触媒し得るプテリジン-依存性ジオキシゲナーゼの興味深い候補として同定されている（Molnarらの論文（1996））。該相同的遺伝子fkbOは、FK506の生合成遺伝子クラスターにおいて同定され、かつラパマイシン、及びFK506の構造同一性のため、C9 OH基の酸化におけるrapKの役割が仮定された（Motamediらの論文（1996））。S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetrapK]による前駆ラパマイシンのrapK-依存性産物を記載している実施例３、４、及び６の結果は、ラパマイシン生合成において、RapKが少なくとも付加的機能を有することを示唆している。

【００３８】

従って、他の態様において、本発明の方法は、RapKの機能解明へと導いた。すなわち、該rapK遺伝子の発現は、すべての環化マクロライド生成物の集積が必要である。さらに態様において、本発明は、該FK520クラスターからのrapK相同体であるfkbOを有するS.ハイグロスコピカスMG2-10の相補性を記載、S.ハイグロスコピカスMG2-10[pMG169-1]による前駆ラパマイシンのfkbO依存性産物の意外な観測を有する（実施例１１）。当業者は、FK520生産において、fkbOが、前駆ラパマイシン生産における、rapK、及びfkbOと同じ機能を果すように見ることができる。さらに、当業者は、制限はないが、FK506クラスター内のfkbO、FK520クラスター内のfkbO、及び’hyg’クラスター内のOrf5を含む他のrapK相同体が、同じ機能を果すことを理解するであろう。さらに、本発明の態様において、制限はないが、FK506、FK520、FK525、アンタスコマイシン、FK523、ツクバマイシン、及び’hyg’を含む、FKBP-リガンドをコードする生合成クラスター内のrapK相同体を、除去又は不活性化し、公知であるこれらの各天然産物を作ることのできない菌株を提供することができる。同様に、上述された該相補性戦略は、他のポリケチド、又は非リボソーム型ペプチドの生合成において、補助遺伝子の発現産物の機能、特異性、及び要求を調査する迅速な方法を提供する。

【００３９】

実施態様の好ましい種類において、本発明は、ラパマイシン類似体の生産が可能な組換え型宿主株の製造方法を提供し、さらに、ゲノム除去体の構築を伴い、制限はないが、S.ハイグロスコピカス内に導入されるrapQONMLKJI、及び単一遺伝子、又は遺伝子組合せの発現により、相補性、又は部分的相補性を含み、遺伝子カセット内に、制限はないが、rapK、rapI、rapQ、rapM、接触遺伝子rapN、及びO（本明細書中では、rapN/Oと表す。）、rapL、及びrapJを含む。さらに、本発明は、前記組換え型宿主株を培養し、かつ生産された該ラパマイシン類似体を任意に単離することにより、前記ラパマイシン類似体を生産する方法を提供する。従って、ゲノム除去菌株S.ハイグロスコピカスMG2-10の相補性により製造された、rapKを有する、該組換え型菌株MG2-10[pSGsetrapK]を培養し、9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン（前駆ラパマイシン）を生産した。

【００４０】

さらに、本発明のこの種の態様において、該戦略は、上述の該S.ハイグロスコピカス除去変異株内に、制限はないが、rapK、rapI、rapQ、rapM、rapN、rapO、rapL、及びrapJを含む遺伝子のサブセットを含むベクターの組込みを伴う。様々な利用可能な組込み機能体を用いて、そのような組込みを行うことができ、該機能体は、制限はないが：ΦC31-ベースベクター、pSAM2インテグラーゼ（例えば、pM927（Smovkinaらの論文（1990））、R4インテグラーゼ（例えば、pAT98（Matsuuraらの論文（1996））、ΦVWBインテグラーゼ（例えば、pKT02（Van Mellaertらの論文（1998））、ΦBT1インテグラーゼ（（例えば、pRT801）Gregoryらの論文、印刷中）、及びL5インテグラーゼ（例えば、Leeらの論文（1991

））を基盤としたベクターがある。ある場合において、これは、該宿主株の改変を必要としてもよく、インテグラーゼの特異的attB部位の付加により、高効率の組込みが可能となる。また、ΦC31-ベースベクターに置換、又は付加するように、複製ベクターを使用することもできる。これらは、制限はないが、pIJ101（例えば、pIJ487、Kieserらの論文（2000））、pSG5（例えば、pKC1139、Biermanらの論文（1992））、及びSCP2*（例えば、pIJ698、Kieserらの論文（2000））を基盤としたベクターを含む。この方法論は、ΦBT1、及びΦC31部位特異的組込み機能体の使用により、本明細書中で実証されている。

【００４１】

S.ハイグロスコピカス内の遺伝子カセットの組込みは、本発明において、該ΦBT1、及び該ΦC31部位特異的組込み機能体を用いて実証されているが、当業者は、原核生物の、又はさらに好ましくは放線菌宿主株の中に、そのような遺伝子カセットの導入に使用することができる上述のものを含む、文献に記載された多くの異なる戦略があることを理解するであろう。これらは、上述の、及び下記論文に記載されているような改変部位特異的組込み型ベクターの使用を含む（Kieserらの論文（2000）；Van Mellaertらの論文（1998）；Leeらの論文（1991）；Smovkinaらの論文（1990）；Matsuuraらの論文（1996））。代わりに、該遺伝子カセットを含むプラスミドを、相同的組換え部分を用いて、染色体上の中性部位に組込むことができる。さらに、S.ハイグロスコピカスを含む、多くの放射菌宿主株に対し、該遺伝子カセットを、自己複製プラスミドに導入することができる（Kieserらの論文（2000）；WO 98/01571）。

【００４２】

さらに、この種の態様において、本発明は、該組換え型S.ハイグロスコピカス除去菌株の相補性のための遺伝子カセットを提供する。マクロライドをグリコシル化した混成体を生産するように使用された遺伝子カセット及びこれらの非相同体の構築方法は、以前に記載されている（Gaisserらの論文（2002）；WO 01/79520、WO 03/048375）。本発明の該遺伝子カセットの単離に使用されたクローニング方法は、以前に記載されたアプローチと有意に異なり、該遺伝子カセットは、pUC18/19-プラスミド内で遺伝子を前組立てするよりもむしろ、発現ベクター内で直接組立てられ、従って、迅速なクローニング手順である。該アプローチは、実施例３、４、５、９、及び１５で実証されている。本明細書中で記載するように、適切なベクター（制限はないが、例えばpSGLit1）を、前記遺伝子カセットの構築に使用するために構築することができ、ここで、damメチル化に感受性の適切な制限酵素認識部位（制限はないが、例えばXbaI）を、対象となる該遺伝子に対し5’に挿入し、かつ第二の制限酵素認識部位（例えば、XbaI）を、対象となる該遺伝子に対し3’に挿入することができる。当業者は、他の制限酵素認識部位を、XbaIの代わりとして使用することができ、かつ該メチル化感受性部位を、対象となる該遺伝子に対し5’、又は3’にすることができることを理解するであろう。

【００４３】

遺伝子カセットの使用により、単一のS.ハイグロスコピカス除去菌株からの修飾遺伝子の幾つかの組合せが除去された、多様性組換え型菌株の迅速、かつ平行した製造を行うことができる。該クローニング戦略は、直接的、又は任意の方法において、遺伝子カセットの組立てを容易にし、かつ従って、排他的な制限はないが、下記化合物を含む、新規ラパマイシン類似体の組合せ製造の有効な手段である：

9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシン（前駆ラパマイシン）、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-ラパマイシン、

27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン（前駆プロリルラパマイシン）、
【００４４】
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
【００４５】
16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、

38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
【００４６】
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシシクロヘキセニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ジヒドロキシ シクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシノルボルニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-メチル-4-ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（4-メチル ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-フルオロ-4-ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-ヒドロキシ-4-フルオロシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-クロロ-4-ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
【００４７】
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-ヒドロキシ-4-クロロシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-cis-4-cis-ジヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-trans-4-trans-ジヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-O-デスメチル ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-270-デスメチル-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシシクロヘキセニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシノルボルニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（4-メチル ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン。
【００４８】
さらに、この種類の態様において、本発明は、ラパマイシン類似体を産生することができる組換え型宿主株の組合せ製造システムを提供し、S.ハイグロスコピカス内に導入されるゲノム除去rapQONMLKJIの構築、及び１の、又は複数の除去された補助遺伝子rapQ、rapN/O、rapM、rapL、rapK、rapJ、及びrapIを含む遺伝子カセットの組合せライブラリーによる、その部分的相補性の構築を伴う。
略述した該アプローチは、遺伝子を組合せる、部分的なクローニング戦略として含まれ、排他的な制限はないが、該遺伝子には、rapK、rapI、rapQ、rapM、rapN/O、rapL、及びrapJ、及び／又は幾つかの可能な遺伝子の組合せ、及び遺伝子順序における、類似した遺伝子機能を有する遺伝子がある。
【００４９】
本発明の他の態様は、遺伝子カセット内の遺伝子順序を変えることにより、遺伝子発現の増加を可能にする。好ましい種類に適用されるものとして、該遺伝子は、一以上のrapK、rapI、rapQ、rapM、rapN/O、rapL、及びrapJ、及び／又は類似した遺伝子機能を有する遺伝子を含むことができ、実施例５に略述したように、多数の変更の中での該遺伝子の配向が可能である。
また、本発明中に略述した該クローニング戦略は、遺伝子発現を高めるように、該遺伝

子カセットの3’のターミネータ配列と組合せて、ヒスチジンタグの導入が可能である。当業者は、他のターミネータ配列を使用することができることを、理解するであろう。

本発明の他の態様は、遺伝子発現を最適化するように、組立てられた遺伝子カセット内に、多様なプロモーターの使用を記載する。

【００５０】

現在、当業者は、S.ハイグロスコピカス除去菌株を構築することができることは、明らかであろう。該除去とは、制限はないが、該遺伝子rapQ、rapN/O、rapM、rapL、rapK、rapJ、及びrapIの遺伝子、又はサブセットを含む。この場合、通常、相補性、又は部分的相補性のための遺伝子カセットは、該除去された遺伝子のサブセットから選択される、単一の遺伝子、又は複数の遺伝子を含む。

当業者にとって、FK506（Motamediらの論文（1996）；Motamediらの論文（1997）；Motamedi、及びShafieeの論文（1998））、及びFK520（Wuらの論文（2000））を含む、密接に関連したシステムの遺伝子クラスター内に、幾つかのラパマイシン修飾、及び前駆体供給遺伝子の相同体があることは周知であろう。これらは、次の下記表1に記載されているようなものを含む。

【００５１】

【表１】

（表Ｉ）

ラパマイシン遺伝子	FK506 相同体	FK520 相同体	‘hyg’
rapI (Acc No CAA60470)	fkbM (Acc No AAC44360)	fkbM (Acc No AAF86398)	
rapJ (Acc No CAA60469)	fkbD (Acc No AAC44359)	fkbD (Acc No AAF86397)	
rapK (Acc No CAA60468)	fkbO (Acc No AAC68817)	fkbO (Acc No AAF86394)	Orf5 (Acc No AAC38060)
rapL (Acc No CAA60467)	fkbL (Motamedi 及び Shafiee, 1998)	fkbL (Acc No AAF86391)	

【００５２】

他の密接に関連したシステムの遺伝子クラスターは、制限はないが、FK523、メリダマイシン、FK525、アンタスコマイシン、及びツクバマイシンの生合成のための、まだ配列決定されていないクラスターを含み、これらは、決定されているその配列に、密接な類似点を有することを示し、かつ特に、これらの遺伝子クラスターは、幾つかのラパマイシン修飾、及び前駆体供給遺伝子と近い相同体を含むであろうことを予測することができる。従って、さらに、本発明の態様において、制限はないが、FK506、FK520、FK523、アンタスコマイシン、メリダマイシン、FK525、’hyg’、及びツクバマイシンを含む、そのような密接に関連したシステムからの非相同的遺伝子クラスターの遺伝子は、１つの遺伝子除去、又は複数の遺伝子除去されている、ラパマイシン産生株の相補性、及び／又は部分的相補性に対し、これらのラパマイシン類似体の代わり、又は追加として、遺伝子カセット内に含むことができ、制限はないが、該遺伝子rapK、rapI、rapQ、rapM、rapN/O、rapL、及びrapJを含む。

【００５３】

当業者にとって、ポリケチド遺伝子クラスターが、異種宿主中で発現してもよいことは、周知のことである（Pfeifer、及びKhoslaの論文（2001））。結果的に、本発明は、異種宿主中の相補性のため、耐性、及び調節遺伝子の有無にかかわらず、完全な、又は欠失を含む、ラパマイシン生合成遺伝子クラスターの伝達を含む。そのような大きなDNA断片の上記規定した該伝達のための方法、及びベクターは、当業者にとって、周知である（Rawlingsの論文（2001）；Staunton、及びWeissmanの論文（2001））、又は開示された方法として、本明細書中に提供される。この状況において、好ましい宿主細胞株は、原核生物であり、さらに好ましくは、放線菌、又はエシェリキアコリ、またさらに好ましくは、制限はないが、下記菌株を含む：

S.ハイグロスコピカス、S.ハイグロスコピカスsp.、S.ハイグロスコピカスvar.アスコマ

イセティカス、ストレプトマイセス ツクバエンシス、ストレプトマイセス コエリコロー、ストレプトマイセス リビダンス、サッカロポリスポラ エリスラエア、ストレプトマイセス フラジアエ、ストレプトマイセス アベルミチリス、ストレプトマイセス シナモネンシス、ストレプトマイセス リモスス、ストレプトマイセス アルブス、ストレプトマイセス グリセオフスカス、ストレプトマイセス ロンギスポロフラバス、ストレプトマイセス ベネズエラ、ミクロモノスポラ グリセオルビダ、アミコラトプシス メディテラーネイ、又はアクチノプラネスsp. N902-109。

【００５４】

他の態様において、本発明の該ラパマイシン類似体を、下記工程を含む、プロセスにより得ることができる：

a） 該遺伝子本発明の方法により、除去された菌株を構築する工程、該除去とは、制限はないが、遺伝子rapK、rapQ、rapN/O、rapM、rapL、rapJ、及びrapI、又はそのサブセットを含む；

b） ポリケチド産生に適切な条件下で、該菌株を培養する工程；

c） 産生されたラパマイシン類似中間体を任意に単離する工程；

d） 該除去された遺伝子のすべて、又はサブセットを含む遺伝子カセットを含有した、生体内変換型菌株を構築する工程;

e） 培養液上清中の、又は工程c）において単離された、該ラパマイシン類似中間体を、適切な生体内変換条件下で、該生体内変換型菌株の培養液に供給する工程；

f） 産生されたラパマイシン類似体を任意に単離する工程。

【００５５】

生体内変換型菌株の構築に適切な宿主株は、該ラパマイシン生合成遺伝子クラスターが除去されている、又はポリケチド合成を廃止するように、実質的に除去され、又は不活性化されている天然菌株、又は非相同的宿主株を含む。非相同的菌株内において、１つ、又は複数修飾する、又は前駆体供給する遺伝子を含む、遺伝子カセットの発現方法は、WO 01/79520に記載されている。この状況において、前記FKBP-リガンド類似中間体の生体内変換に適した非相同的菌株は、制限はないが、下記菌株がある：

S.ハイグロスコピカス、S.ハイグロスコピカスsp.、S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス、ストレプトマイセス ツクバエンシス、ストレプトマイセス コエリコロー、ストレプトマイセス リビダンス、サッカロポリスポラ エリスラエア、ストレプトマイセス フラジアエ、ストレプトマイセス アベルミチリス、ストレプトマイセス シナモネンシス、ストレプトマイセス リモスス、ストレプトマイセス アルブス、ストレプトマイセス グリセオフスカス、ストレプトマイセス ロンギスポロフラバス、ストレプトマイセス ベネズエラ、ミクロモノスポラ グリセオルビダ、アミコラトプシス メディテラーネイ、エシェリキアコリ、及びアクチノプラネスsp. N902-109。

【００５６】

ラパマイシンとFK506、FK520、FK523、’hyg’、メリダマイシン、アンタスコマイシン、FK525、及びツクバマイシン、特にラパマイシンの生合成を伴う遺伝子とFK506、及びFK520との間に構築された相同体（上記参照）との間の近い構造的な関連性は、これらの密接に関連したシステムに対し、本発明の方法の適用を明確に示す。さらに態様において、従って、本発明は、密接に関連した化合物：制限はないが、FK506、FK520、FK523、’hyg’、アンタスコマイシン、メリダマイシン、FK525、及びツクバマイシンを含む、産生菌株の除去菌株の構築を含み、遺伝子除去、又は修飾する、及び／又は前駆体を供給する遺伝子の除去を含み、かつさらに特に、制限はないが、rapK、rapI、rapQ、rapM、rapN/O、rapL、及びrapJと類似した機能を有する遺伝子、及び除去された相同的遺伝子のすべて、又はサブセット、又は非相同的遺伝子クラスターからのこれらの機能性相同体を含む、遺伝子、又は遺伝子カセットを有するこれらの相補性、又は部分的相補性を含み、制限はないが、代わりの前駆体の取込み、及び／又はポスト-PKS修飾の範囲において、本源ポリケチドから変わった、ポリケチド類似体を産生することができる組換え型菌株を製造するように、rapK、rapI、rapQ、rapM、rapN/O、rapL、及びrapJを含む。さらに、本発明は、前

記組換え型宿主株を培養し、かつ産生された該ポリケチド類似体を任意に単離することにより、前記ポリケチド類似体を生産する方法を提供する。

【００５７】

さらに態様において、本発明は、代わりの前駆体の取込み、及び／又はポスト-PKS修飾の範囲において、親ポリケチドから変わる、ポリケチドFKBP-リガンド類似体（ラパマイシン以外）を産生することができる組換え型宿主株の製造方法を提供し、該補助遺伝子のすべて、又は一部が除去されている、ゲノム除去菌株の構築、及び１、又は複数除去された遺伝子、及び／又はこれらの相同体を含む遺伝子カセットによる、その部分的相補性を含み、かつさらに、前記組換え型宿主株を培養し、かつ産生された該ポリケチド類似体を任意に単離することにより、前記ポリケチド類似体を生産する方法を提供する。多くの場合、補助遺伝子は、遺伝子クラスター内のポリケチドシンターゼ遺伝子と同位置にあり（Hopwoodの論文（1997）；Motamedi、及びShafieeの論文（1998）；Wuらの論文（2000））、従って、該除去菌株の作成が容易であることは、当業者にとって、周知のことである。除去されるべき該補助遺伝子が、連続した配列を自然に形成しても、しなくてもよいが、該除去菌株は、遺伝子カセットにより、該部分的相補性が作成されていると、１、又は複数の前記遺伝子が除去されている組換え型菌株製造の迅速なアプローチを与える。従って、さらに態様において、本発明は、代わりの前駆体の取込み、及び／又はポスト-PKS修飾の範囲において、親ポリケチドから変化した、ポリケチドFKBP-リガンド類似体（ラパマイシン以外）を産生することができる組換え型宿主株の組合せ製造方法を提供し、１、又は複数の除去遺伝子を含む遺伝子カセットの組合せライブラリーによる、ゲノム除去菌株の部分的相補性を含み、かつさらに、ポリケチド産生に適した条件下で、前記組換え型宿主株を培養し、かつ産生された該ポリケチド類似体を任意に単離することにより、前記ポリケチド類似体を生産する方法を提供する。この状況において、好ましい宿主細胞株は、原核生物であり、さらに好ましくは、アクチノマイセート（actinomycete）、またさらに好ましくは、下記から選択される宿主細胞株である：

S.ハイグロスコピカス、S.ハイグロスコピカスsp.、S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス、ストレプトマイセス ツクバエンシス、ストレプトマイセス コエリコロー、ストレプトマイセス リビダンス、サッカロポリスポラ エリスラエア、ストレプトマイセス フラジアエ、ストレプトマイセス アベルミチリス、ストレプトマイセス シナモネンシス、ストレプトマイセス リモスス、ストレプトマイセス アルブス、ストレプトマイセス グリセオフスカス、ストレプトマイセス ロンギスポロフラバス、ストレプトマイセス ベネズエラ、ミクロモノスポラ グリセオルビダ、アミコラトプシス メディテラーネイ、又はアクチノプラネスsp. N902-109。

【００５８】

当業者は、本発明が、遺伝子操作により、修飾ラパマイシン、又は他のポリケチド類似体を発現するように、該ポリケチドシンターゼ（PKS）が改変されている組換え型宿主株に応用され得ることを理解するであろう。先行技術には、個々のドメインの除去、又は不活性化（WO 93/13663、WO 97/92358）、混成ポリケチドシンターゼの構築（WO 98/01546、WO 00/00618、WO 00/01827）、又は部位特異的な突然変異生成によるドメイン特異性の変化（WO 02/14482）による、新規ポリケチドの幾つかの生産方法を記載する。

【００５９】

当業者にとって、非リボソーム型ペプチドが、ポリケチド生合成と類似したプロセスにおいて、連続的なアミノ酸成分の段階的縮合を介して、非リボソーム型ペプチドシンターゼ（NRPSs）により生合成されていることは周知である（参照：Marahielらの論文（1997）；Schwarzer、及びMarahielの論文（2001））。幾つかの非リボソーム型ペプチドは、特異的なアミノ酸残基、及びカルボキシ酸を含み、該生合成遺伝子は、該非リボソーム型ペプチドシンターゼ遺伝子と同一位置にあることは、周知である（Marahielらの論文（1997）；Konz、及びMarahielの論文（1999）；Blancらの論文（1997））。幾つかの場合において、最初に、該NRPSからされた該非リボソーム型ペプチドは、制限はないが、グリコシルトランスフェラーゼ、レダクターゼ、アシル化、又は複素環形成を含む、一組の酵素

によりさらに修飾される（Konz、及びMarahielの論文（1999）；Blancらの論文（1995））。これらは、抗生物質クロロエレモマイシン（chloroeremomycin）、プリスチナマイシン、バンコマイシン、及びブレオマイシンを含む（Konz、及びMarahielの論文（1999）；Duらの論文（2000））。また、通常、これらのポスト-NRPS酵素の該遺伝子は、該生合成遺伝子クラスター内の同一位置にある（Marahielらの論文（1997）；Schwarzer、及びMarahielの論文（2001））。従って、さらに態様において、本発明は、代わりの前駆アミノ酸の取込み、及び／又はポスト-NRPS修飾の範囲において、本源非リボソーム型ペプチドから変化した、非リボソーム型ペプチド類似体の生産方法を含み、天然アミノ酸前駆体合成、及び／又はポスト-NRPS酵素をコードする該遺伝子のすべて、又は一部が除去されている、ゲノム除去菌株の構築、及び１、又は複数除去された遺伝子、及び／又はこれらの相同体を含む遺伝子カセットによる、その部分的相補性を含み、かつさらに、前記組換え型宿主株を培養し、かつ産生された非リボソーム型ペプチド類似体を任意に単離することにより、非リボソーム型ペプチド類似体を生産する方法を含む。除去されるべき該ポスト-NRPS、及び生合成遺伝子は、隣接する配列を自然に形成しても、しなくてもよいが、該除去菌株は、遺伝子カセットにより、該部分的相補性が作成されていると、１、又は複数の前記遺伝子が除去されている組換え型菌株製造の迅速なアプローチを与える。従って、さらに態様において、本発明は、代わりの前駆体の取込み、及び／又はポスト-NRPS修飾の範囲において、本源非リボソーム型ペプチドから変化した、非リボソーム型ペプチド類似体を産生することができる、組合せ組換え型宿主株の製造方法を提供し、１、又は複数除去された遺伝子を含む遺伝子カセットの組合せライブラリーによる、前記ゲノム除去菌株の部分的相補性を含み、かつさらに、非リボソーム型ペプチド産生に適した条件下で、前記組換え型宿主株を培養し、かつ産生された非リボソーム型ペプチド類似体を任意に単離することにより、前記非リボソーム型ペプチド類似体を生産する方法を含む。この状況において、好ましい組換え型宿主細胞株は、原核生物であり、さらに好ましくは、アクチノマイセート、またさらに好ましくは、下記から選択される宿主細胞株である：
S.ハイグロスコピカス、S.ハイグロスコピカスsp.、S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス、ストレプトマイセス ツクバエンシス、ストレプトマイセス コエリコロー、ストレプトマイセス リビダンス、サッカロポリスポラ エリスラエア、ストレプトマイセス フラジアエ、ストレプトマイセス アベルミチリス、ストレプトマイセス シナモネンシス、ストレプトマイセス リモスス、ストレプトマイセス アルブス、ストレプトマイセス グリセオフスカス、ストレプトマイセス ロンギスポロフラバス、ストレプトマイセス ベネズエラ、ミクロモノスポラ グリセオルビダ、アミコラトプシス メディテラーネイ、又はアクチノプラネスsp. N902-109。

【００６０】

多くのアクチノマイセートは、ポリケチド、及び非リボソーム型合成ペプチドを含む、種々の２次代謝産物の多重な生合成遺伝子クラスターを含むことがよく知られている。特に、S.ハイグロスコピカスの菌株は、様々なポリケチド、及び非リボソーム型合成ペプチド、さらにラパマイシン、FK506、FK520、FK523、メリダマイシン、FK525、アンタスコマイシン、及びツクバマイシンを産生することを示している。これらは、制限はないが、エライオフィリン、ビアラホス、イグロマイシン、オーガストマイシン、エンドマイシン（A、B）、グレボマイシン、ハイグロスコピン、オサマイシン、及びニゲリシンを含む。これらの付加的生合成遺伝子クラスターは、生合成前駆体の競合する要求、及び該宿主株の付加的な代謝要求を示す。従って、所望のラパマイシン、又は他のポリケチド類似体の生産を向上させるため、該宿主株内に存在する他の生合成遺伝子クラスターのすべてを、除去、又は不活性化するのに都合よくすることができる。生合成遺伝子クラスターの除去、又は不活性化方法は、技術において、周知のものである。

さらに、この種の態様において、本発明は、組換え型除去菌株の相補性のための変異合成方法論を提供する。

【００６１】

さらに態様において、rapL除去を含む、本発明のS.ハイグロスコピカス菌株に、自然に

取込まれるアミノ酸類似体、ピペコリン酸を供給することができ、該ピペコリル残基が置換された、新しいラパマイシン類似体を生産する。先行技術は、該培養液にL-ピペコリン酸を添加することにより、rapL変異が補われることを記載している（Khawらの論文（1998））。同様に、ラパマイシン類似体は、L-ピペコリン酸類似体、L-プロリン、L-trans-4-ヒドロキシプロリン、L-cis-4-ヒドロキシプロリン、L-cis-3-ヒドロキシプロリン、trans-3-アザ-ビシクロ[3,1,0]ヘキサン-2-カルボン酸の該供給、及び取込み後に単離されることを示している（WO 98/54308）。rapL、又はrapL相同体を含まない、ポスト-PKS修飾工程をコードする遺伝子、又は遺伝子カセットを発現する菌株として、S.ハイグロスコピカスMG2-10を用い、S.ハイグロスコピカス菌株のライブラリーを作成し、L-ピペコリン酸類似体を供給することにより、複数の修飾生成物を産生することができる。適切なL-ピペコリン酸類似体は、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-、及びアミノ-置換ピペコリン酸、及びプロリンを含み、かつさらに、特に、L-プロリン、L-trans-4-ヒドロキシプロリン、L-cis-4-ヒドロキシプロリン、L-cis-3-ヒドロキシプロリン、trans-3-アザ-ビシクロ[3、1、0]ヘキサン-2-カルボン酸、及びL-ピペコリン酸類似体は、下記化合物を含む、改良されたリップマンの方法（Nielsenらの論文（1991））により測定されたPP-ATP交換を触媒することが示された：L-4-ヒドロキシプロリン、1-ヒドロキシプロリン、2-ヒドロキシプロリン、3- ヒドロキシプロリン、trans-3-メチル-L-プロリン、cis-3-メチルプロリン、cis-3-メチル-DL-プロリン、cis,trans-4-メチルプロリン、cis-4-メチル-DL-プロリン、trans-4-メチル-DL-プロリン、trans-4-アミノプロリン、cis-4-クロロ-L-プロリン、5-イミノプロリン塩酸塩、cis-5-メチル-DL-プロリン、（+）-ピペラジン酸、5-クロロピペコリン酸、5-ヒドロキシピペコリン酸、cis-4-ヒドロキシル-ピペコリン酸、trans-4-ヒドロキシ-D-ピペコリン酸、4-ヒドロキシアロピペコリン酸、チアゾリジン-4-カルボン酸（Nielsenらの論文（1991））。このアプローチは、実施例７に例示されている。

【００６２】

該天然4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸開始単位に構造が近い類似体を、S.ハイグロスコピカスの培養液に供給した後の限られた数の新規ラパマイシン類似体の生産は、以前に記載されており、従って該ラパマイシンのロードモジュールは、該開始酸に対して、幾らかの柔軟性を有することを示している（P.A.S. Lowdenの博士論文、ケンブリッジ大学（1997））。しかし、これらの方法は、混合生成物が生産される。さらに、態様において、本発明は、本発明の菌株に、自然に取込まれる4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸開始単位の類似体を供給することにより、ラパマイシン、及び関連したFKBP-リガンド類似体の生産を可能にし、制限はないが、下記化合物を含む、代わりの開始単位を取込んだ、ラパマイシン類似体を生産する：

シクロヘキサンカルボン酸、
3-cis-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、
1-シクロヘキセンカルボン酸、
3-シクロヘキセンカルボン酸、
シクロヘプタンカルボン酸、
2-ノルボルナンカルボン酸、
3-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、
4-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、
3-メチルシクロヘキサンカルボン酸、
4-メチルシクロヘキサンカルボン酸、
3-（cis/trans）メトキシシクロヘキサンカルボン酸、
4-（cis/trans）メトキシシクロヘキサンカルボン酸、
4-オキソシクロヘキサンカルボン酸、
3-フルオロ-4-ヒドロキシカルボン酸、及び4-フルオロ-3-ヒドロキシカルボン酸、
3-シクロヘキサンオキシドカルボン酸、
3-cis-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、
3-クロロ-4-ヒドロキシカルボン酸、及び4-クロロ-3-ヒドロキシカルボン酸（及び向かい

合うジアステレオマーの対）、
シクロヘキシルプロピオン酸、
4-tert-ブチルシクロヘキサンカルボン酸、及びそれらの単純エステル、及び塩。このアプローチは、実施例８、１９、及び２０に例示されている。

【００６３】

さらに、4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸開始単位の生合成前駆体の構造的類似体を、供給することができ（Lowdenらの論文（2001））、代わりの開始単位を取込んだ、新規ラパマイシン類似体の生産を導く。

しかし、これらの方法は、生成物の混合されたグループの生産を導くことができ；従って、さらに、本発明は、内生的に生産される開始単位と、新規ラパマイシン類似体の効率的生産を改善するために供給された、代わりの開始酸類似体との間の競合を取り除く方法を提供する。

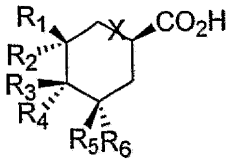
該内生的に生産される開始単位と、該供給された代わりの開始酸との間の競合を取り除くため、該天然4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸開始単位の生合成を中断させることが好ましい。これは、シキミ酸からの天然4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸開始単位の生合成（Lowdenらの論文（2001））、又はシキミ酸それ自身の生合成を伴う、一以上の該遺伝子の除去、又は不活性化により達成することができる。後者の場合、培養液を芳香族アミノ酸（フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン）で補う必要があってもよい。さらに、該天然4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸開始単位の内生的生成物を、シキミ酸生合成の化学的阻害剤の添加により、抑制してもよい。そのような阻害剤は、文献において、周知である。

さらに、局面において、本発明は、rapKが、ラパマイシンの4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸開始単位のような該生合成前駆体の供給に含まれるという意外な発見に役立ち、かつ従って、rapK、又はrapK相同体の除去、又は不活性化は、該天然開始単位と、供給される非天然開始単位との間の競合がない菌株を提供する。他の態様において、本発明は、制限はないが、下記を含む供給酸の効率的取込み方法を提供する。

従って、本発明の一態様において、該方法は、下記式の開始単位を供給することを含む。

【００６４】

【化８】



【００６５】

式中X = 結合、又はCH_2であり、かつR_1、R_2、R_3、R_4、R_5、及びR_6は、同一、又は異なっていてもよく、かつ独立してCl、F、OH、SH、H、アルキル、CN、Br、R_7、OR^7、C（O）R_7、又はHNR_7であってもよく、式中R_7が、C1-C4アルキル；R_1とR_3、R_2とR_4、R_3とR_5、R_4とR_6、R_1とR_5、又はR_2とR_6は、置換、又は無置換メチレン鎖、エーテル鎖、チア鎖、又はアミノ鎖として結合してもよく、R_1とR_2、R_3とR_4、又はR_5とR_6は、ケトンとしてまとめてもよく；R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の４つ以下が、Clであってもよい場合；R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つ以下がHNR_7であってもよく；R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つ以下が、SHであってもよく、かつ該環上の１つの炭素からの両方のR基はOHでない。

好ましい実施態様において、該開始単位は、シクロヘキサンカルボン酸、3-cis,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、シクロヘプタンカルボン酸、及び3-（cis/trans）-メチルシクロヘキサンカルボン酸からなる群から選択されない。

【００６６】

好ましい実施態様において：式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6は、F、及びOH置換の組合せであり、R_{1-6}の３つ以下が置換されており、かつ残りは、Hである。式中R_1、R_2、R_3

、R_4、R_5、又はR_6は、Cl、及びOH置換の組合せであり、R_{1-6}の３つ以下が置換されており、かつ残りは、Hである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の任意の２つが、OHであり、残りR基の任意の２つが、一つの炭素上にFを有し、残りがHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Clであり、残りがHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Clであり、同一炭素が起源ではなく、かつさらにRが、OHであり、残りがHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、アルキルであり、かつ残りがHである；該アルキル基は、炭素３つ以下の直線的な長さを有するであろう。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、NHR_7であり、残りがHである。

【００６７】

より高度に好ましい実施態様において：式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、OHであり、かつ第三のR基がFであり、残りはHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Fであり、残りはHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、OHであり、残りはHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、OHであり、かつ第三のR基がClであり、残りはHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Fであり、かつ第三のR基がOHであり、残りはHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、SHであり、残りはHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、SHであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。

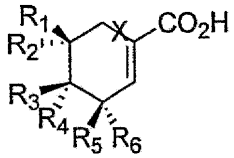
【００６８】

さらに、より高度に好ましい実施態様において：式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Fであり、残りはHである。R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の式中が、Clであり、残りはHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Fであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Clであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、アルキル基であり、かつ残りはHである；該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、アルキルであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである；該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。

さらに、本発明の態様は、下記式の開始単位を供給することを含む。

【００６９】

【化９】



【００７０】

式中X = 結合、又はCH_2であり、かつR_1、R_2、R_3、R_4、R_5、及びR_6は、同一、又は異なっていてもよく、かつ独立してCl、F、OH、SH、H、アルキル、CN、Br、R_7、OR^7、C（O）R_7、又はHNR_7であってもよく、式中R_7が、C1-C4アルキル；R_1とR_3、R_2とR_4、R_3とR_5、R_4とR_6、R_1とR_5、又はR_2とR_6は、置換、又は無置換メチレン鎖、エーテル鎖、チア鎖、又はアミノ鎖として結合してもよく、R_1とR_2、R_3とR_4、又はR_5とR_6は、ケトンとしてまとめてもよく；R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の４つ以下が、Clであってもよい場合；R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つ以下がHNR_7であってもよく；R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つ以下が、SHであってもよく、かつ該環上の１つの炭素からの両方のR基はOHでない。

好ましい実施態様において、該開始単位は、1-シクロヘキセンカルボン酸、及び1-シクロヘプテンカルボン酸からなる群から選択されない。

【００７１】

好ましい実施態様において、式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6は、F、及びOH置換の組合せであり、R_{1-6}の３つ以下が置換されており、かつ残りは、Hである。式中R_1、R_2、R_3

、R_4、R_5、又はR_6は、Cl、及びOH置換の組合せであり、R_{1-6}の３つ以下が置換されており、かつ残りは、Hである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の任意の２つは、OHであり、同一炭素上の残りのR基２つがFであり、残りは、Hである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Clであり、残りは、Hである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Clであり、同一炭素が起源ではなく、かつさらにR基がOHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、アルキルであり、かつ残りは、Hである；該アルキル基は、炭素３つ以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、NHR_7であり、残りはHである。

より高度に好ましい実施態様において：式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、OHであり、かつ第三のR基がFであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Fであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、OHであり、かつ第三のR基がClであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Fであり、かつ第三のR基がOHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、SHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、SHであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。

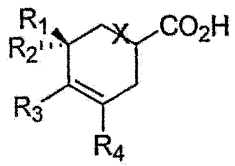
【００７２】

さらに、より高度に好ましい実施態様において:式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Fであり、残りはHである。R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の式中が、Clであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Fであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Clであり、第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、アルキルであり、かつ残りはHである；該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、アルキルであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである；該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。

さらに、本発明の態様は、下記式の開始単位を供給することを含む。

【００７３】

【化１０】



【００７４】

式中X = 結合、又はCH_2であり、かつR_1、及びR_2は、同一、又は異なっていてもよく、かつ独立してF、Cl、OH、SH、H、CN、OR_7、C（O）R_7、又はHNR_7であってもよく、式中R_7が、C1-C4 アルキルであり、また、R_1とR_2は、ケトン、スピロシクロプロピル基、又は-OCH_2-、-CH_2O-、-SCH_2-、又は-CH_2S-を形成するようにまとめられていてもよく；さらに、該環上の一つの炭素からのR基両方がOHでない場合、R_3とR_4は同一、又は異なっていてもよく、かつ独立してF、Cl、Br、OR_7、H、又はCNであってもよい。

好ましい実施態様において、該開始単位は、5-cis-ヒドロキシル-3-シクロヘキセンカルボン酸とはならないであろう。

好ましい実施態様において：式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の２つが、Fであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Clであり、残りはHである。式中R_3、又はR_4の１つが、Fであり、R_1、又はR_2の一つがOHであり、残りはHである。式中R_3、又はR_4の１つが、Clであり、かつR_1、又はR_2の一つがOHであり、残りはHである。式中R_1、又はR_2の１つが、SHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、アルキルであり、残りはHである；該アルキル基は、４炭素以下を含み、３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_3、又はR_4の１つが、アルキルであり、かつR_1、又はR_2の一つがOHであり、

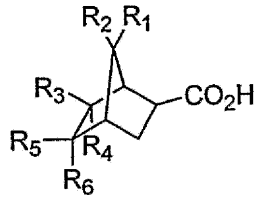
残りはHである；該アルキル基は、４炭素以下を含み、３炭素以下の直線的長さを有するであろう。

より高度に好ましい実施態様において、式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Fであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Clであり、残りはHである。

さらに、本発明の態様は、下記式の開始単位を供給することを含む。

【００７５】

【化１１】



【００７６】

R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、及びR_6は、同一、又は異なっていてもよく、かつ独立してCl、F、OH、SH、H、アルキル、CN、Br、R_7、OR^7、C（O）R_7、又はHNR_7であってもよく、式中R_7が、C1-C4 アルキル；該環上の１つの炭素からの両方のR基はOHでない場合、R_1とR_3、R_2とR_4、R_3とR_5、R_4とR_6、R_1とR_5、又はR_2とR_6は、置換、又は無置換メチレン鎖、エーテル鎖、チア鎖、又はアミノ鎖として結合してもよく、R_3とR_4、又はR_5とR_6は、ケトンとしてまとめてもよい。

好ましい実施態様において：式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Fであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、OHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、OHであり、かつ第三のR基がFであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、OHであり、かつ第三のR基がClであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Fであり、かつ第三のR基がOHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Brであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Brであり、かつ第二のR基がOHであり、残りはHである。

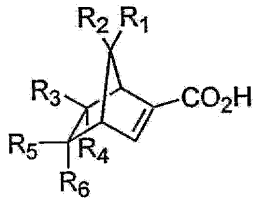
【００７７】

さらに好ましい実施態様において：式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Fであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Clであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Fであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Clであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、SHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、SHであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、アルキルであり、かつ残りはHである；該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、アルキルであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである；かつ該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。

さらに、本発明の態様は、下記式の開始単位を供給することを含む。

【００７８】

【化１２】



【００７９】

R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、及びR_6は、同一、又は異なっていてもよく、かつ独立してCl、F、OH、SH、H、アルキル、CN、Br、R_7、OR^7、C（O）R_7、又はHNR_7であってもよく、式中R_7が、C1-C4アルキル；該環上の１つの炭素からの両方のR基はOHでない場合、R_1とR_3、R_2とR_4、R_3とR_5、R_4とR_6、R_1とR_5、又はR_2とR_6は、置換、又は無置換メチレン鎖、エーテル鎖、チア鎖、又はアミノ鎖として結合してもよく、R_3とR_4、又はR_5とR_6は、ケトンとしてまとめてもよい。

好ましい実施態様において：式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6は、F、及びOH置換の組合せであり、R_{1-6}の３つ以下が置換されており、かつ残りは、Hである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6は、Cl、及びOH置換の組合せであり、R_{1-6}の３つ以下が置換されており、かつ残りは、Hである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つは、OHであり、一つの炭素上の残りの２つのR基は、Fであり、残りは、Hである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Clであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Clであり（同一炭素が起源ではない）、第三のR基はOHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、アルキルであり、かつ残りはHである；該アルキル基は、３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、SHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、HNR_7であり、残りはHである。

【００８０】

さらに好ましい実施態様において：式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Fであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、OHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、OHであり、かつ第三のR基はFであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、OHであり、かつ第三のR基がClであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の２つが、Fであり、かつ第三のR基がOHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Brであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Brであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、SHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、SHであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。

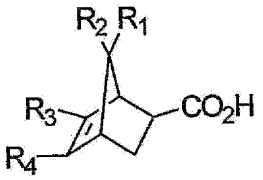
【００８１】

さらに好ましい実施態様において：式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Fであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Clであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Fであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、Clであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、アルキルであり、かつ残りはHである；該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、又はR_6の１つが、アルキルであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである；かつ該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。

さらに、本発明の態様は、下記式の開始単位を供給することを含む。

【００８２】

【化１３】



【００８３】

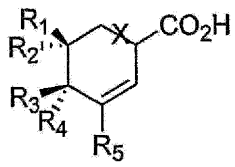
R_1、及びR_2は、同一、又は異なっていてもよく、かつ独立してF、Cl、OH、SH、H、CN、OR_7、C（O）R_7、又はHNR_7であってもよく、式中R_7が、C1-C4 アルキルであり、また、R_1とR_2は、ケトン、スピロシクロプロピル基、又は-OCH_2-、-CH_2O-、-SCH_2-、又は-CH_2S-を形成するようにまとめられていてもよく；さらに、該環上の一つの炭素からのR基両方がOHでない場合、R_3とR_4は同一、又は異なっていてもよく、かつ独立してF、Cl、Br、OR_7、H、又はCNであってもよい。

好ましい実施態様において:式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Fであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Clであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Fであり、かつ第二のR基はOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Clであり、かつ第二のR基はOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、SHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、アルキルであり、かつ残りはHである；該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、アルキルであり、かつ第二のR基はOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである；かつ該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の２つが、Fであり、残りはHである。

さらに、本発明の態様は、下記式の開始単位を供給することを含む。

【００８４】

【化１４】



【００８５】

式中X = 結合、又はCH_2であり；かつR_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5は、同一、又は異なっていてもよく、かつ独立してCl、F、OH、SH、H、アルキル、CN、Br、R_7、OR_7、C（O）R_7、又はHNR_7であってもよく、式中R_7が、C1-C4アルキルであり、R_1とR_3、R_2とR_4は、ケトンとしてまとめられるか、又は置換、又は無置換メチレン鎖、エーテル鎖、チア鎖、又はアミノ鎖として結合してもよく、R_1とR_2、又はR_3とR_4は、スピロシクロプロピル基、又は-OCH_2-、-CH_2O-、-SCH_2-、又は-CH_2S-を形成するようにまとめられていてもよく；さらに、R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の２つ以下はSHであり、かつ一つの炭素に固定されている、R基両方がOHでない場合、R_5はF、CL、OR_7、H、又はCNであってもよい。

好ましい実施態様において:式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5は、F、及びOHの組合せであり、R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の３つ以下が置換されており、かつ残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5は、Cl、及びOHの組合せであり、R_{1-5}の３つ以下が置換されており、かつ残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5は、２つの組合せであり、OHであり（同一炭素上ではない）かつ２つは、一つの炭素上のFであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の２つは、Clであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の２つは、Clであり（同一炭素が起源ではない）、かつ第三のR基がOHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の１つが、アルキルであり、かつ残りはHである；かつ該アルキル基は、３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の２つが、SHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の１つが、NHR_7であり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の１つが、SHであり、残りはHである。

【００８６】

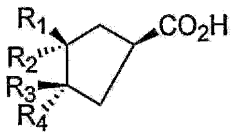
より高度に好ましい実施態様において:式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の１つが、OHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の１つが、Fであり、残りはHである。

式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の１つが、Clであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の１つが、Fであり、かつ第二のR基はOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の１つが、Clであり、かつ第二のR基はOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の１つが、SHであり、かつ第二のR基はOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の１つが、アルキルであり、残りはHである；かつ該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の１つが、アルキルであり、かつ第二のR基がOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである；かつ該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の２つが、Fであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の２つが、OHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の２つが、OHであり、かつ第三のR基はFであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の２つが、OHであり、かつ第三のR基はClであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、R_4、又はR_5の２つが、Fであり、かつ第三のR基はOHであり、残りはHである。

さらに、本発明の態様において、下記式の開始単位を供給することを含む。

【００８７】

【化１５】



【００８８】

R_1、R_2、R_3、又はR_4は、同一、又は異なっていてもよく、かつ独立してCl、F、OH、SH、H、アルキル、CN、Br、R_7、OR_7、C（O）R_7、又はHNR_7であってもよく、式中R_7が、C1-C4アルキルであり、同一炭素に固定されている２つのR基が、両方OHではない場合、R_1とR_2、又はR_3とR_4は、ケトンを形成するようにまとめられていてもよい。

【００８９】

好ましい実施態様において:式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Fであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Clであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Brであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、OHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Fであり、かつ第二のR基はOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、Clであり、かつ第二のR基はOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、SHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、SHであり、かつ第二のR基はOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、アルキルであり、残りはHである；該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の１つが、アルキルであり、かつ第二のR基はOHであり（同一炭素が起源ではない）、残りはHである；かつ該アルキル基は、４炭素以下を含み、かつ３炭素以下の直線的長さを有するであろう。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の２つが、Fであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の２つが、OHであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の２つが、OHであり、かつ第三のR基はFであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の２つが、OHであり、かつ第三のR基はClであり、残りはHである。式中R_1、R_2、R_3、又はR_4の２つが、Fであり、かつ第三のR基はOHであり、残りはHである。

【００９０】

好ましい実施態様において、本発明は、除去された、又は不活性化されたrapK、又はrapK相同体を有する菌株により、FKBP-リガンド類似体に、下記化合物を効率的に取込む方法を提供する：

2-ノルボルナンカルボン酸;
2-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
3-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
2-（cis/trans）-メチルシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-メチルシクロヘキサンカルボン酸；
3-（cis/trans）-メトキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-メトキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-オキソシクロヘキサンカルボン酸；
2-オキソシクロヘキサンカルボン酸エチル；
4-trans-n-ペンチルシクロヘキサンカルボン酸；
2-trans-アミノシクロヘキサンカルボン酸；
4-cis-アミノシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸；
シクロペンタンカルボン酸；
シクロブタンカルボン酸；
1-メチルシクロヘキサンカルボン酸；
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸；
3-cis-ヒドロキシ-4-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸；
3-cis-ヒドロキシ-4-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸；
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸；
3-trans-シクロヘキセンオキシドカルボン酸；
3-cis-シクロヘキセンオキシドカルボン酸；
3,4-cis-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、及び3,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
シクロヘキサン酢酸；
シクロヘキサンプロピオン酸、又は4-cis/trans-tert-ブチルシクロヘキサンカルボン酸、又はそれらの単純エステル、又は塩。

【００９１】

さらに好ましい実施態様において、本発明は、除去された、又は不活性化されたrapK、又はrapK相同体を有する菌株により、FKBP-リガンド類似体に、下記化合物を効率的に取込む方法を提供する：

3-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
3-（cis/trans）-メトキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-（cis/trans）-メトキシシクロヘキサンカルボン酸；
4-オキソシクロヘキサンカルボン酸；
シクロブタンカルボン酸；
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸；
3-cis-ヒドロキシ-4-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸；
3-cis-ヒドロキシ-4-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸；
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸；

3-trans-シクロヘキセンオキシドカルボン酸；
3-cis-シクロヘキセンオキシドカルボン酸；
3,4-cis-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、及び3,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸；
シクロヘキサンプロピオン酸；
4-cis/trans-tert-ブチルシクロヘキサンカルボン酸、又はそれらの単純エステル、又は塩。

【００９２】

本発明の特定の実施態様において、供給される開始単位は、下記化合物ではない：
シクロヘキサンカルボン酸、
3-cis,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、
1-シクロヘキセンカルボン酸、
3-シクロヘキセンカルボン酸、
シクロヘプタンカルボン酸、
3-（cis/trans）-メチルシクロヘキサンカルボン酸、
4-（cis/trans）-メチルシクロヘキサンカルボン酸、
1-シクロヘプテンカルボン酸、又は
5-cis-ヒドロキシル-3-シクロヘキセンカルボン酸。

【００９３】

上述した実施態様に使用される菌株は、下記菌株から選択される：
ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスNRRL 5491、アクチノプラネスsp. N902-109 FERM BP-3832、ストレプトマイセスsp. AA6554、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス MA 6475 ATCC 14891、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス MA 6678 ATCC 55087、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス MA 6674、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス ATCC 55276、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.アスコマイセティカス ATCC 14891、ストレプトマイセス ツクバエンシス No.9993 FERM BP-927、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ヤクシマエンシス、ストレプトマイセスsp. DSM 4137、ストレプトマイセスsp. DSM 7348、ミクロモノスポラn.sp. A92-306401 DSM 8429、ストレプトマイセスsp. MA 6858 ATCC 55098、ストレプトマイセスsp. MA 6848。

【００９４】

好ましい実施態様において、前記菌株は、下記菌株からなる群から選択される：
ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスNRRL 5491、アクチノプラネスsp. N902-109 FERM BP-3832、ストレプトマイセスsp. AA6554、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス MA 6475 ATCC 14891、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6678 ATCC 55087、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMA 6674、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスATCC 55276、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.アスコマイセティカスATCC 14891、ストレプトマイセス ツクバエンシスNo.9993 FERM BP-927、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスsubsp.ヤクシマエンシス、ストレプトマイセスsp. DSM 4137、ストレプトマイセスsp. DSM 7348、ミクロモノスポラn.sp. A92-306401 DSM 8429、又はストレプトマイセスsp. MA 6858 ATCC 55098。

【００９５】

さらに高度に好ましい実施態様において、該菌株は、ラパマイシン産生株S.ハイグロスコピカスsubsp.ハイグロスコピカスである。

上述した、供給されたカルボン酸の効率的な取込み方法において、該生産される化合物は、本明細書中で記載したような、該FKBP-リガンド類似体であり、例えば、制限はないが：ラパマイシン、FK506、FK520、FK523、FK525、アンタスコマイシン、メリダマイシン、及びツクバマイシンがある。好ましい実施態様において、該生産される化合物は、ラパ

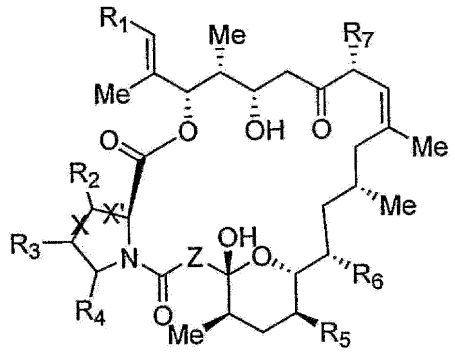
マイシン、FK506、又はFK520の類似体である。さらに高度に好ましい実施態様において、該生産される化合物は、ラパマイシン類似体であり；これらの化合物は、下記式II、又は式IIIに対応する。

さらに、上述した該方法を用いて、下記式Iに対応する新規FK506、及びFK520の類似体を生成することができる。

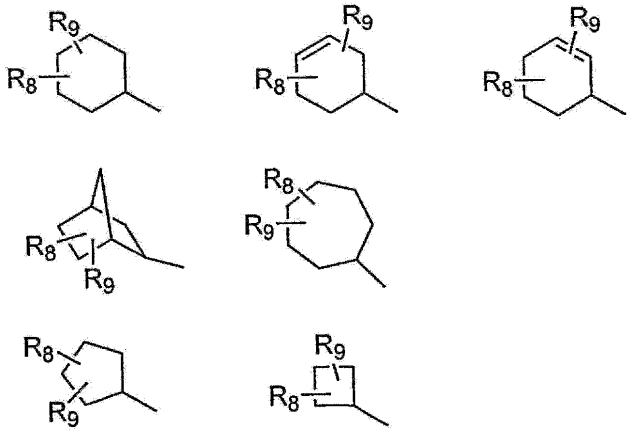
【００９６】

【化１６】

式（I）



R1 =



R_8 = H、OH、R_9 = H、OH、ハロ、チオール、アルキル。

【００９７】

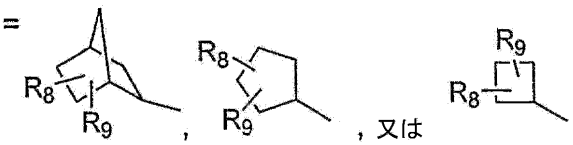
R_2 = H、アルキル、ハロ、ヒドロキシル、チオール、R_3 = H、アルキル、ハロ、ヒドロキシル、チオール、R_4 = H、アルキル、ハロ、ヒドロキシル、チオール、R_5 = OMe、Me、又はH、R_6 = OMe、Me、又はH、R_7 = CH_2CH_3、又は$CH_2CH{=}CH_2$、Z = ケト、又はCH_2、X = X’= 結合；X=結合、及びX’= CH_2、S、O、又はシクロプロピル単位を融合したX = CH_2、S、O、及びX’= 結合である。

好ましい実施態様において、

【００９８】

【化１７】

R_1 =



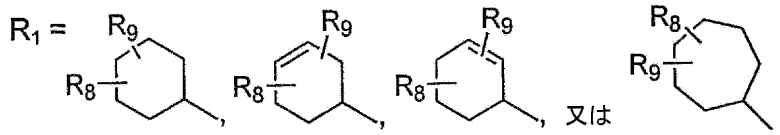
，又は

式中R_8 = OH、及びR_9= H、OH、ハロ、アルキル、又はチオールである。

さらに好ましい実施態様において

【００９９】

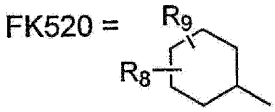
【化１８】



式中R_8 = OH、及びR_9= ハロである。

【０１００】

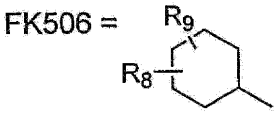
【化１９】



式中R_8 = 4-trans-OH、R_9 = 3-cis-OCH_3、及びR_2 = R_3 = R_4 = H、X = CH_2、X’= 結合、Z = ケト、R_5 = R_6 = OCH_3、及びR_7 = CH_2CH_3である。

【０１０１】

【化２０】



【０１０２】

式中R_8 = 4-trans-OH、R_9 = 3-cis-OCH_3、及びR_2 = R_3 = R_4 = H、X = CH_2、X’= 結合、Z = ケト、R_5 = R_6 = OCH_3、及びR_7 = $CH_2CH=CH_2$である。

従って、例えば、該組換え型菌株S.ハイグロスコピカスMG2-10を、シクロヘキサンカルボン酸の存在下で培養し、9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシンを生産することができる（実施例１２）。制限はないが、FK506、FK520、FK523、FK525、メリダマイシン、ツクバマイシン、アンタスコマイシン、及び’hyg’を含む、FKBP-リガンドをコードする、他の生合成クラスター内のrapK相同体を、新規類似体の生産へと導く開始単位カルボン酸の効率的供給を可能にするように、除去し、又は不活性化することができると、当業者は見ることができる。

【０１０３】

他の態様において、本発明のS.ハイグロスコピカス菌株（rapL、又はrapL相同体を含む、又はrapL、又はrapL相同体を含まない、及び／又はrapK、又はrapK相同体を含む、又はrapK、又はrapK相同体を含まない。）に、上述した天然4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸開始単位類似体と組合せて、上述したL-ピペコリン酸類似体を供給し、該開始単位とピペコリル残基との両方が置換されているラパマイシン類似体を生産することができる。このアプローチは、実施例１０、１１、及び１２に例示されている。

本発明は、ポスト-PKS修飾の範囲内で変化している、及び／又はピペコリン酸残基が置換されており、かつ任意の開始剤4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸残基が置換されている、FKBP-リガンド類似体の生産方法を提供し、この方法は、該ラパマイシン　ポリケチド／NRPS鋳型の生合成に要求される該前駆体化合物、L-ピペコリン酸、及び／又は4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エンカルボン酸の産生、及び／又はその後のポスト-PKS修飾を伴う、微生物宿主細胞内の一以上の遺伝子を除去、又は不活性化する工程を含み、それによって、該天然産物の生産を抑制する。さらに、該方法は、ポリケチド産生を復元するように、ポリケチド-修飾遺伝子をコードする核酸を有する該微生物宿主細胞を形質転換し、該形質転換された宿主細胞をポリケチド産生に適した条件下で培養し、かつ産生された該ラパマイシン類似体を任意に単離することを含む。

【０１０４】

本発明は、制限はないが、ポスト-PKS修飾の範囲内で変化する、FK506、FK520、FK523、FK525、ツクバマイシン、アンタスコマイシン、メリダマイシン、及び’hyg’を含み、

及び／又は該アミノ酸残基が置換されており、かつ任意の開始単位が置換されている、FKBP-リガンド類似体の生産方法を提供する。この方法は、該ポリケチド/NRPS鋳型の生合成に要求される、該前駆体アミノ酸残基、及び／又は開始単位の産生、及び／又はその後のポスト-PKS修飾を伴う、微生物宿主細胞内の一以上の遺伝子を除去、又は不活性化する工程を含み、それによって、該天然産物の生産を抑制する。さらに、該方法は、ポリケチド産生を復元するように、ポリケチド-修飾遺伝子をコードする核酸を有する該微生物宿主細胞を形質転換し、該形質転換された宿主細胞をポリケチド産生に適した条件下で培養し、かつ産生されたポリケチド類似体を任意に単離することを含む。

本発明は、新規FKBP-リガンド類似体を提供する。

【０１０５】

さらに一態様において、本発明は、下記のFK520類似体を提供する：

31-デスメトキシ-FK520、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK520、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-FK520、
31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-FK520、
31-O-デスメチル-FK520、
31-デスメトキシ-31-メチル-FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-FK520、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-FK520、
31-デスメトキシ-31-クロロ-FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-FK520、

【０１０６】

9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
30-デスメトキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、

30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-プロリル-FK520、
【０１０７】
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-プロリル-FK520、
30-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-プロリル-FK520、
【０１０８】
30-デスメトキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、

28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
【０１０９】
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
【０１１０】
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、

8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、

【０１１１】

8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、

【０１１２】

31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[

3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
【０１１３】
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520。
【０１１４】
好ましい実施態様において、本発明は、下記のFK520類似体を提供する：
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK520、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-FK520、
31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK520、
31-デスメトキシ-31-メチル-FK520、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-FK520、
31-デスメトキシ-31-クロロ-FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
【０１１５】
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK520、

30-デスメトキシ-30-フルオロ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-プロリル-FK520、
30-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-プロリル-FK520、

【０１１６】

8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、

【０１１７】

30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プ

ロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
【０１１８】
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
【０１１９】
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-

プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
【０１２０】
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
【０１２１】
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、

9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520。

【０１２２】

さらに高度に好ましい実施態様において、本発明は、下記の新規FK520類似体を提供する：

31-デスメトキシ-31-メチル-FK520、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-FK520、
31-デスメトキシ-31-クロロ-FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-プロリル-FK520、
30-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK520、

【０１２３】

28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-プロリル-FK520、

8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、

【０１２４】

30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、

【０１２５】

8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、

8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-0-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、

【０１２６】

30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-デスメトキシ-30-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、

【０１２７】

8-デオキソ-30-0-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シク

ロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK520、
31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、

【０１２８】
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、

【０１２９】
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK520。

【０１３０】

さらに態様において、本発明は、下記の新規FK506類似体を提供する：
31-デスメトキシ-FK506、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK506、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-FK506、
31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-FK506、
31-O-デスメチル-FK506、
31-デスメトキシ-31-メチル-FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-FK506、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-FK506、
31-デスメトキシ-31-クロロ-FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-FK506、
【０１３１】
9-デオキソ-31-O-デスメチル-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
30-デスメトキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-クロロ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK506、
【０１３２】

28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

【０１３３】

30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-0-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-0-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

【０１３４】

8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

【０１３５】

30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

【０１３６】

8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、

【０１３７】

31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、

【０１３８】

9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]F

K506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506。

【０１３９】

好ましい実施態様において、本発明は、下記のFK506類似体を提供する：
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK506、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-FK506、
31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK506、
31-デスメトキシ-31-メチル-FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、

【０１４０】

29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

【０１４１】

8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シク

ロヘプチル）-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

【０１４２】

30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

【０１４３】

8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

【０１４４】

28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

【０１４５】

8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、

31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、

【０１４６】

29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、

【０１４７】

9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506。

【０１４８】

さらに高度に好ましい実施態様において、本発明は、下記のFK506類似体を提供する：
31-デスメトキシ-31-メチル-FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-FK506、

9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-プロリル-FK506、
【０１４９】
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
【０１５０】
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506

、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-3-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

【０１５１】

30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-デスメトキシ-30-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-31-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-cis-ヒドロキシ-31-cis-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-trans-ヒドロキシ-31-trans-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

【０１５２】

8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-メチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-フルオロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、

8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-クロロ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-デスメトキシ-30-クロロ-3-ヒドロキシ-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-30-O-デスメチル-31-デヒドロキシ-31-tert-ブチル-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
8-デオキソ-28-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-28-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-4-ヒドロキシ-プロリル-FK506、
31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、

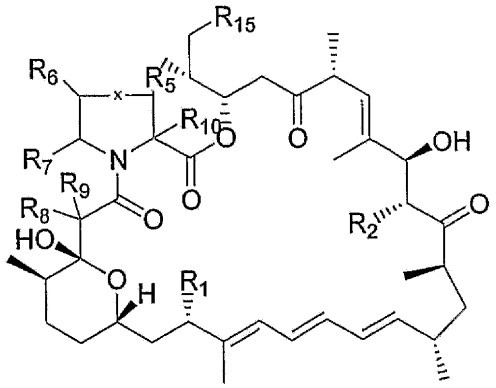
【０１５３】

31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-cis-ヒドロキシ-32-cis-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-trans-ヒドロキシ-32-trans-ヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、

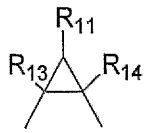
【０１５４】

9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-メチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-フルオロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-デスメトキシ-31-クロロ-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-31-O-デスメチル-32-デヒドロキシ-32-tert-ブチル-trans-3-ビシクロ[3.1.0

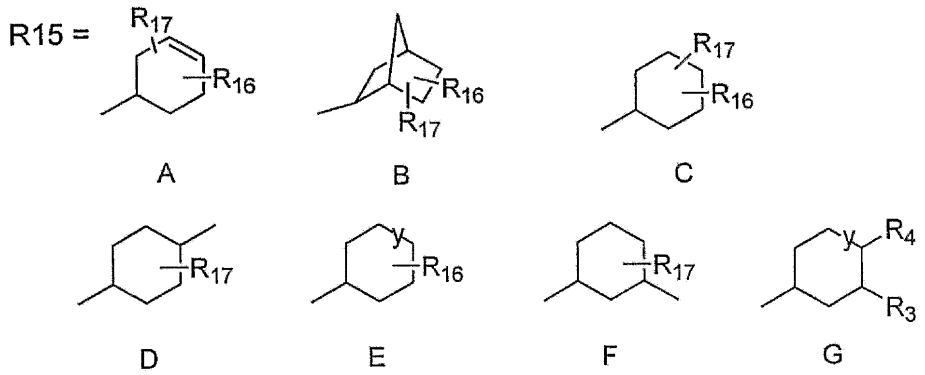
.]FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-シクロヘプチル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506、
9-デオキソ-29-デ（3-メトキシ-4-ヒドロキシ-シクロヘキシル）-29-（ヒドロキシ-ノルボルニル）-trans-3-ビシクロ[3.1.0.]FK506。
さらに態様において、本発明は、下記化合物を提供する：
A:下記式の化合物：
【０１５５】
【化２１】



【０１５６】
式中:x = 結合、又はCHR_{11}であるか、又はCHR_6-x-CHR_5が
【０１５７】
【化２２】



であり、
【０１５８】
【化２３】



【０１５９】
R1 = OH、OCH_3、R2 = H、OH、OCH_3、R3 = H、OH、CH_3、F、Cl、OCH_3、R4 = H、OH、CH_3、F、Cl、R5 = H、OH、R6 = H、OH、R7 = H、R8 = H、ケト、R9 = H、ケト、R10 = H、R11 = H、R13 = H、R14 = H、R16 = OH、OCH_3、R17 = H、OH、Cl、F、及びy = 結合、CH_2であるが、但し、前記化合物は、下記のものを含まない：
【０１６０】
i） 式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OH、R_{17} = trans-4-OH、R

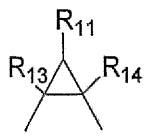
$_5$ = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
ii)　式中、R_1 = OHの場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OH、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
iii)　式中、R_1 = OHの場合、R_2 = OH、R_{15} = C、R16 = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 =ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
iv)　式中、R_1 = OH の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
v)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OH、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
vi)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
vii)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OH、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ以外；
viii)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
ix)　式中、R_1 = OHの場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；

【０１６１】

x)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OH、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
xi)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
xii)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OH、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
xiii)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、x = 結合との組合せ；
xiv)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、x = 結合との組合せ；
xv)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OH、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、x = 結合との組合せ；
xvi)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、x = 結合との組合せ；
xvii)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = H、R_{17} = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}との組合せ；
xviii)　式中、CHR_6-x-CHR_5が

【０１６２】

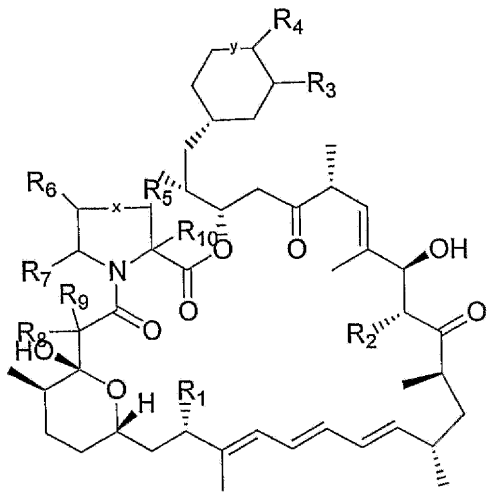
【化２４】



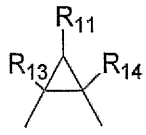
【０１６３】

、かつR_{11} = H、R_{13} = H、R_{14} = Hの場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_{15} = C、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、R_7 = H、R_8，R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
xix)　式中、R_{15} = G、R_{16} = cis-3-OCH_3、R_{17} = trans-4-OH、y = 結合、の場合、R_1 =

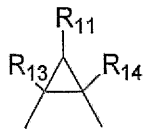
OCH_3、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = OH、R_7 = H、R_{11} = H、x = 結合、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
xx） 式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = trans-OH、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
xxi） 式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
xxii） 式中、R_{15} = G、R_3 = cis-OH、R_4 = H、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
xxiii） 式中、R_{15} = G、R_3 = CH_3、R_4 = OH、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
xxiv） 式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；
【０１６４】
xxv） 式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；
xxvi） 式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；
xxvii） 式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；
xxviii） 式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
xxix） 式中、R_{15} = G、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_{11} = H、x = CHR_{11}、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ。
B.下記式の化合物：
【０１６５】
【化２５】



【０１６６】
式中：R_1 = OH、OCH_3、R_2 = H、OH、OCH_3、R_3 = H、OH、CH_3、OCH_3、R_4 = H、OH、R_5 = H、R_6 = H、OH、R_7 = H、R_8 = H、ケト、R_9 = H、ケト、R_{10} = H、x = 結合、CH_2、又はCHR_6-x-CHR_5が
【０１６７】
【化２６】



【０１６８】
であり、R_{11} = H、R_{13} = H、R_{14} = H、y = 結合、CH_2；
但し、前記化合物は、下記のものを含まない：
i)　式中、R_3 = H、R_4 = trans-OH、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
ii)　式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
iii)　式中、R_3 = cis-OH、R_4 = H、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
iv)　式中、R_3 = CH_3、R_4 = OH、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
v)　式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；
【０１６９】
vi)　式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；
vii)　式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；
viii)　式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8 = R_9 = H、R_{10} = Hとの組合せ；
ix)　式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OH、R_2 = OCH_3、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
x)　式中、R_3 = H、R_4 = OH、y = CH_2の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、x = CH_2、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
xi)　式中、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、y = 結合の場合、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_5 = H、R_6 = OH、R_7 = H、x = 結合、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
xii)　式中、CHR_6-x-CHR_5が
【０１７０】
【化２７】



【０１７１】
、かつR_{11} = H、R_{13} = H、R_{14} = Hの場合、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_7 = H、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = Hとの組合せ；
xiii)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、x = 結合、y = 結合との組合せ；
xiv)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OCH_3、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8 = H、R_9 = H、R_{10} = H、x = 結合、y = 結合との組合せ；
xv)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = OH、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = H、x = 結合、y = 結合との組合せ；
xvi)　式中、R_1 = OCH_3の場合、R_2 = H、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_5 = H、R_6 = H、R_7 = H、R_8, R_9 = ケト、R_{10} = H、x = 結合、y = 結合との組合せ；
xvii)　式中、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_3 = OH、R_4 = OH、R_8 = H、R_9 = H；
xviii)　式中、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_8 = H、R_9 = H；
xix)　式中、R_1 = OCH_3、R_2 = H、R_3 = OH、R_4 = OH、R_8, R_9 = ケト；
xx)　式中、R_1 = OH、R_2 = OH、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_8, R_9 = ケト；
xxi)　式中、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_3 = OH、R_4 = OH、R_8, R_9 = ケト；
xxii)　式中、R_1 = OCH_3、R_2 = OH、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_8, R_9 = ケト；

xxiii）　式中、R_1 = OCH_3、R_2 = OCH_3、R_3 = OCH_3、R_4 = OH、R_8 = H、R_9 = H。
【０１７２】
C.下記化合物からなる群から選択される化合物：
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシン（前駆ラパマイシン）、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-ラパマイシン、
27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-ラパマイシン、
9-デオキソ-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン（前駆プロリルラパマイシン）、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
【０１７３】
8-デオキソ-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
16-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
【０１７４】
27-0-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
9-デオキソ-39-デスメトキシ-ラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン

、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
、
15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-15-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
15-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
8-デオキソ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシシクロヘキセニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ジヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシノルボルニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-メチル-4-ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（4-メチルヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、

【０１７５】

9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-フルオロ-4-ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-ヒドロキシ-4-フルオロシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-クロロ-4-ヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-ヒドロキシ-4-クロロシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-cis-4-cis-ジヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（3-trans-4-trans-ジヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-0-デスメチルラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシシクロヘキセニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（ヒドロキシノルボルニル）ラパマイシン、
9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-36-デ（3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル）-36-（4-メチルヒドロキシシクロヘキシル）ラパマイシン。

【０１７６】

特定の実施態様において、本発明は、下記化合物を提供し、かつ任意に単離する方法を記載する（図10、図11、図12、図13、及び図14、15、16、及び図17）：

【０１７７】

【表２Ａ】

（表II）

化合物番号:	名称:
1.	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシン（前駆ラパマイシン）
2.	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン
3.	16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシン
4.	9-デオキソ-27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシン
5.	9-デオキソ-16-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン
6.	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシン
7.	16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン
8.	9-デオキソ-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン
9.	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-ラパマイシン
10.	16-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン
11.	16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-ラパマイシン
12.	16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシン
13.	27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシン
14.	27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン
15.	9-デオキソ-16-0-デスメチル-ラパマイシン
16.	9-デオキソ-27-デスメトキシ-ラパマイシン
17.	9-デオキソ-27-0-デスメチル-ラパマイシン
18.	9-デオキソ-39-0-デスメチル-ラパマイシン
19.	9-デオキソ-ラパマイシン
20.	16-0-デスメチル-ラパマイシン
21.	27-0-デスメチル-ラパマイシン
22.	27-デスメトキシ-ラパマイシン
23.	39-0-デスメチル-ラパマイシン
24.	8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン（前駆プロリルラパマイシン）
25.	8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
26.	15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
27.	8-デオキソ-26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
28.	8-デオキソ-15-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
29.	8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
30.	15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
31.	8-デオキソ-26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
32.	8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
33.	15-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
34.	15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
35.	15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
36.	26-デスメトキシ-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
37.	26-0-デスメチル-38-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
38.	8-デオキソ-15-0-デスメチル-プロリルラパマイシン
39.	8-デオキソ-26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
40.	8-デオキソ-26-0-デスメチル-プロリルラパマイシン

【表２Ｂ】

化合物番号:	名称:
41.	8-デオキソ-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
42.	8-デオキソ-プロリルラパマイシン
43.	15-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
44.	26-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
45.	26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
46.	38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
47.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン
48.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン
49.	16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン
50.	9-デオキソ-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン
51.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン
52.	16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン
53.	9-デオキソ-27-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン
54.	16-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン
55.	27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン
56.	27-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン
57.	9-デオキソ-39-デスメトキシ-ラパマイシン
58.	39-O-デスメトキシ-ラパマイシン
59.	8-デオキソ-15-O-デスメチル-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
60.	8-デオキソ-15-O-デスメチル-26-O-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
61.	15-O-デスメチル-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
62.	8-デオキソ-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
63.	8-デオキソ-15-O-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
64.	15-O-デスメチル-26-O-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
65.	8-デオキソ-26-O-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
66.	15-O-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
67.	26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
68.	26-O-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
69.	8-デオキソ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
70.	38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
71	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ヒドロキシシクロヘキセニル)ラパマイシン
72	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ジヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
73	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ヒドロキシノルボルニル)ラパマイシン
74	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-メチル-4-ヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
75	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(4-メチルヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
76	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-フルオロ-4-ヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン

【表２Ｃ】

化合物番号:	名称:
77	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-ヒドロキシ-4-フルオロシクロヘキシル)ラパマイシン
78	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-クロロ-4-ヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
79	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-ヒドロキシ-4-クロロシクロヘキシル)ラパマイシン
80	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-cis-4-cis-ジヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
81	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-trans-4-trans-ジヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
82	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-O-デスメチルラパマイシン
83	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ヒドロキシシクロヘキセニル)ラパマイシン
84	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ヒドロキシノルボルニル)ラパマイシン
85	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(4-メチル ヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
86	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ヒドロキシシクロヘプチル)ラパマイシン
87	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ヒドロキシシクロヘプチル)ラパマイシン

【０１７８】

さらに一態様において、本発明は、下記の新規ラパマイシン類似体を提供する：

【０１７９】

【表３Ａ】

(表III)

化合物番号:	名称:
1.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン（前駆ラパマイシン）
2.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-O-デスメチル-ラパマイシン
3.	16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン
5.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-39-O-デスメチル-ラパマイシン
6.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシン
7.	16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-O-デスメチル-ラパマイシン
8.	9-デオキソ-27-O-デスメチル-39-O-デスメチル-ラパマイシン
9.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-ラパマイシン
14.	27-O-デスメチル-39-O-デスメチル-ラパマイシン
15.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-ラパマイシン
18.	9-デオキソ-39-O-デスメチル-ラパマイシン
24.	8-デオキソ-15-O-デスメチル-26-デスメトキシ-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン (前駆プロリルラパマイシン)
25.	8-デオキソ-15-O-デスメチル-26-O-デスメチル-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
26.	15-O-デスメチル-26-デスメトキシ-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
27.	8-デオキソ-26-デスメトキシ-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
28.	8-デオキソ-15-O-デスメチル-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
29.	8-デオキソ-15-O-デスメチル-26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
30.	15-O-デスメチル-26-O-デスメチル-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
31.	8-デオキソ-26-O-デスメチル-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
32.	8-デオキソ-15-O-デスメチル-26-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
33.	15-O-デスメチル-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
34.	15-O-デスメチル-26-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
35.	15-O-デスメチル-26-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
36.	26-デスメトキシ-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
37.	26-O-デスメチル-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
38.	8-デオキソ-15-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
40.	8-デオキソ-26-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
41.	8-デオキソ-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
43.	15-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
46.	38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン
47.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン
48.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン
49.	16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン
50.	9-デオキソ-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン
51.	9-デオキソ-16-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン
52.	16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン
53.	9-デオキソ-27-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン
54	16-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン
55.	27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン
56.	27-O-デスメチル-39-デスメトキシ-ラパマイシン

【表３Ｂ】

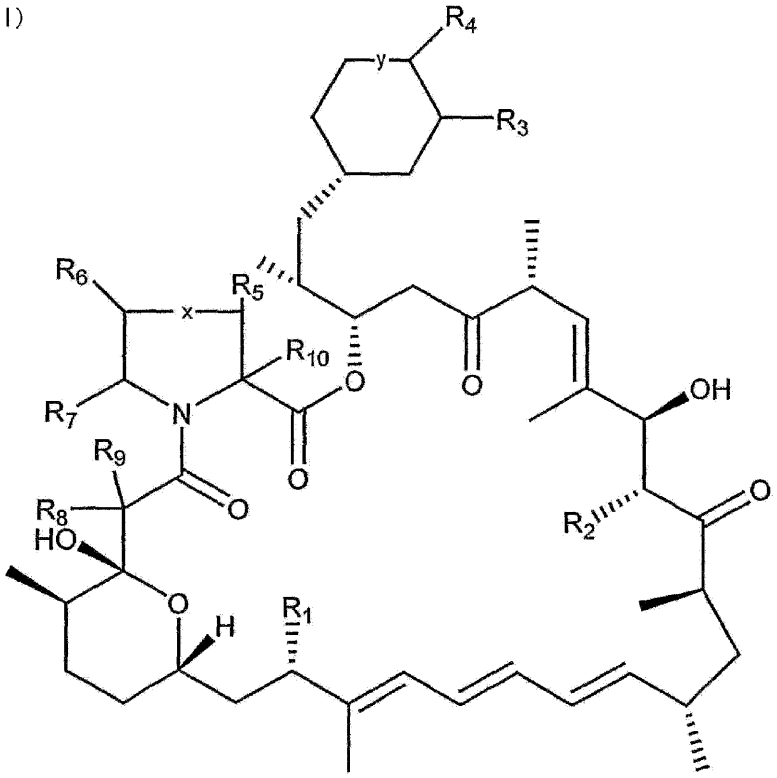
化合物番号:	名称:
57.	9-デオキソ-39-デスメトキシ-ラパマイシン
59.	8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
60.	8-デオキソ-15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
61.	15-0-デスメチル-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
62.	8-デオキソ-26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
63.	8-デオキソ-15-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
64.	15-0-デスメチル-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
65.	8-デオキソ-26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
66.	15-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
67.	26-デスメトキシ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
68.	26-0-デスメチル-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
69.	8-デオキソ-38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
70.	38-デスメトキシ-プロリルラパマイシン
71	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ヒドロキシシクロヘキセニル)ラパマイシン
72	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ジヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
73	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ヒドロキシノルボルニル)ラパマイシン
74	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-メチル-4-ヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
75	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(4-メチルヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
76	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-フルオロ-4-ヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
77	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-ヒドロキシ-4-フルオロシクロヘキシル)ラパマイシン
78	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-クロロ-4-ヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
79	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-ヒドロキシ-4-クロロシクロヘキシル)ラパマイシン
80	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-cis-4-cis-ジヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
81	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(3-trans-4-trans-ジヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン
82	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-39-0-デスメチルラパマイシン
83	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ヒドロキシシクロヘキセニル)ラパマイシン
84	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(ヒドロキシノルボルニル)ラパマイシン
85	9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-0-デスメチル-36-デ(3-cis-メトキシ-4-trans-ヒドロキシシクロヘキシル)-36-(4-メチルヒドロキシシクロヘキシル)ラパマイシン

【０１８０】

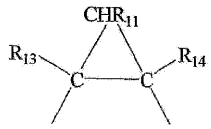
さらに一態様において、本発明は、下記式IIの新規ラパマイシン類似体を提供する：

【０１８１】
【化２８】

式（II）



【０１８２】
式中：x = 結合、又はCHR_{11}であるか、又はCHR_6-x-CHR_5- が
【０１８３】
【化２９】

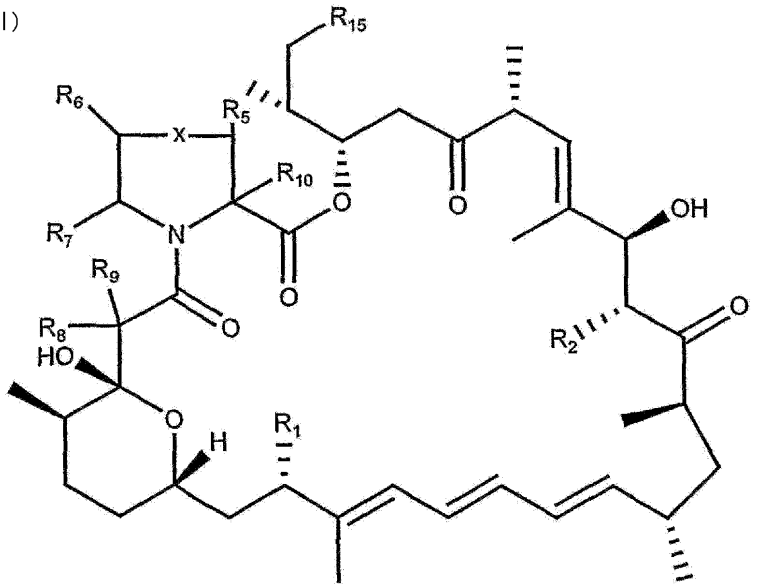


【０１８４】
であり、y = 結合、又はCHR_{12}、R_1 = OH、OCH_3、R_2 = H、OH、OCH_3、R_3 = H、OH、OCH_3、アルキル-、ハロ-、アミノ-、チオール-残基、R_4 = H、OH、OCH_3、アルキル-、ハロ-、アミノ-、チオール-残基、R_5 = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_6 = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_7 = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_8, R_9 = 〓O、又はH, H、R_{10} = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_{11} = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_{12} = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_{13} = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_{14} = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基である。

さらに、また、本発明は下記式IIIの新規ラパマイシン類似体を提供する：
【０１８５】

【化３０】

式（III）

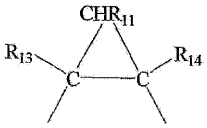


【０１８６】

式中：x = 結合、又はCHR_{11}であるか、又はCHR_6-x-CHR_5-が

【０１８７】

【化３１】



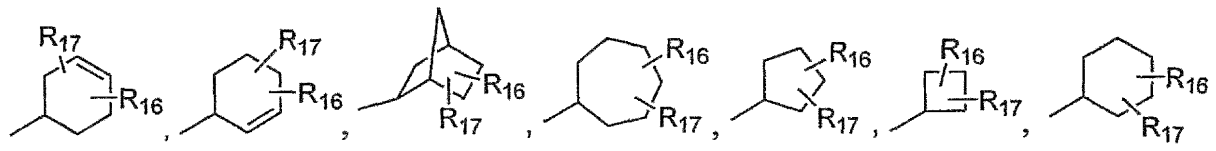
【０１８８】

であり、R_1 = OH、OCH_3、R_2 = H、OH、OCH_3、R_5 = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_6 = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_7 = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_8, R_9 = 〓O、又はH, H、R_{10} = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_{11} = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_{12} = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_{13} = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、R_{14} = H、アルキル-、ハロ-、ヒドロキシ-残基、

【０１８９】

【化３２】

R_{15}=



【０１９０】

R_{16} = OH、R_{17} = H、OH、ハロ-、チオール-、アルキル-である。

該新規ラパマイシン類似体は、直接的に、かつさらに半合成の、又は生物変換の鋳型として有用であり、免疫抑制剤、抗真菌剤、抗癌剤、神経再生剤、又は乾癬、関節リウマチ、線維症、及び他の過剰増殖性疾患の治療用薬剤として有用である化合物を生成する。

従って、さらに一態様において、本発明は、癌治療用、真菌感染症治療用、自己免疫性、炎症性、増殖性、及び過剰増殖性疾患治療用、又は免疫抑制維持用の薬剤製造において、生成したFKBP-リガンド類似体の使用を提供する。

当業者は、慣例の実験により、及び例えば、制限は無いが、実施例１９に記載した方法を用いて、真菌増殖を抑制するような（例えば、Baker, H.らの論文（1978）：酵母用培

養液希釈抗真菌試験のNCCLS参照方法：認定規格M27-A、17（9）（1997））、これらの化合物の能力を測定することができるであろう。さらに、当業者は、慣例の実験により、例えば制限は無いが、実施例１９に記載の方法を用いて、腫瘍細胞増殖を抑制するような、これらの化合物の能力を測定することができるであろう（Dudkin, L.らの論文（2001）；Yuらの論文（2001））。さらに一態様において、本発明の化合物は、免疫抑制の誘導に有用であり、かつ従って器官、又は組織移植の拒絶反応の治療、又は予防のため、自己免疫性、炎症性、増殖性、及び過剰増殖性疾患（包括的な制限はないが、例えば、自己免疫疾患、一型糖尿病、器官、又は組織移植の急性、又は慢性の拒絶反応、喘息、腫瘍、又は過剰増殖障害、乾癬、湿疹、関節リウマチ、線維症、アレルギー、及び食物に関連したアレルギーがある。）の治療のため、人の、又は動物の免疫システムの抑制を、治療的に、又は予防的に誘導する方法に関する。このようなアッセイは、当業者にとって周知のものであり、制限は無いが、例えば：免疫抑制活性-Warner L.M.らの論文（1992）、Kahanらの論文（1991）、及びKahan、及びCamardoの論文（2001）；同種移植-Fishbein T.M.らの論文（2002）、Kirchnerらの論文（2000）；自己免疫性/炎症性/喘息-Carlson R.P.らの論文（1993）、Powell N.らの論文（2001）；一型糖尿病-Rabinovitch A.らの論文（2002）；乾癬-Reitamo S.らの論文（2001）；関節リウマチ-Foey A.らの論文（2002）；線維症-Zhu J.らの論文（1999）、Jain S.らの論文（2001）、Gregoryらの論文（1993）がある。

【０１９１】

免疫抑制を誘導する本発明の化合物の能力を、この目的に用いられる標準試験、例えば、制限は無いが、実施例１９に記載の方法を用いて、明らかにすることができる。さらに一態様において、本発明の化合物は、抗線維性、神経再生、及び抗血管形成の機序に関して有用であり、当業者は、慣例の実験により、血管形成を防ぐようなこれらの化合物の能力を測定することができるであろう（例えば、Guba M.らの論文（2002））。当業者は、慣例の実験により、ステント内で、これらの化合物の有用性を測定することができるであろう（例えば、Morice M.C.らの論文（2002））。さらに、当業者は、慣例の実験により、これらの化合物の神経再生能力を測定することができるであろう（例えば、Myckatyn T.M.らの論文（2002）、Steinerらの論文（1997））。

【０１９２】

（材料、及び方法）

（材料）

分子生物学的酵素、及び試薬のすべては、商業的な提供先のものである。D/Lピペコリン酸は、シグマ（Sigma）から得た。

【０１９３】

（開始単位）

表４は、実験の項に記述した供給実験に使用した酸の提供先を示す。購入したこれらの化合物にとって、該提供先の詳細を示す。会社内で合成した開始酸の簡単な合成方法を示す。当業者は、記述した方法の変化は、慣例であり、かつ本発明の範囲内にあることを理解するであろう。

【０１９４】

【表４】

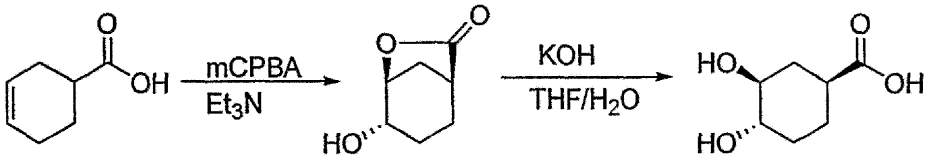
(表IV)

酸	会社名	ｽﾄｯｸ番号	合成
シクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	10,183-4	
3-cis,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸			ラウデン（Lowden）博士論文の方法により会社内で行った。
1-シクロヘキセンカルボン酸	アルドリッチ	32,836-7	
3-シクロヘキセンカルボン酸	アルドリッチ	45,375-7	
シクロヘプタンカルボン酸	アルドリッチ	C9,850-0	
2-ノルボルナンカルボン酸メチル	アルドリッチ	S40,932-4	
2-(cis/trans)-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸	ユー．ノッティンガム		Rゴス博士による合成
3-(cis/trans)-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸	ユー．ノッティンガム		Rゴス博士による合成
4-(cis/trans)-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸	ユー．ノッティンガム		Rゴス博士による合成
2-(cis/trans)-メチルシクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	33,060-4	
3-(cis/trans)-メチルシクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	33,061-2	
4-(cis/trans)-メチルシクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	33,062-0	
3-(cis/trans)-メトキシシクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	33,283-6	
4-(cis/trans)-メトキシシクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	33,284-4	
4-シクロヘキサノンカルボン酸エチル	アルドリッチ	32,062-5	
2-シクロヘキサノンカルボン酸エチル	アルドリッチ	16,699-5	
4-trans-n-ペンチルシクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	26,160-2	
2-trans-アミノシクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	A7331	
4-cis-アミノシクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	40,485-3	
4-(cis/trans)-(アミノメチル)-シクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	S42,955-4	
シクロペンタンカルボン酸	アルドリッチ	C11,200-3	
シクロブタンカルボン酸	アルドリッチ	C9,560-9	
1-メチルシクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	14,282-4	
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-フルオロシクロヘキサンカルボン酸の混合物、又は3-cis-ヒドロキシ-4-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-フルオロシクロヘキサンカルボン酸の混合物			方法Bにより、会社内で行った。
3-cis-ヒドロキシ-4-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-cis-ヒドロキシ-3-trans-クロロシクロヘキサンカルボン酸の混合物			方法Cにより、会社内で行った。
3-trans-ヒドロキシ-4-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸、及び4-trans-ヒドロキシ-3-cis-クロロシクロヘキサンカルボン酸の混合物			方法Cにより、会社内で行った。
3-trans-シクロヘキセンオキシドカルボン酸			方法Aにより、会社内で行った。
3-cis-シクロヘキセンオキシドカルボン酸			方法Aにより、会社内で行った。
3,4-cis-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、及び3,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸の混合物			方法Dにより、会社内で行った。
シクロヘキサン酢酸	アルドリッチ	C10,450-7	
シクロヘキサンプロピオン酸	アルドリッチ	16,147	
4-cis/trans-tert-ブチルシクロヘキサンカルボン酸	アルドリッチ	37,493-8	

【０１９５】

3-cis,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸の合成

【化３３】



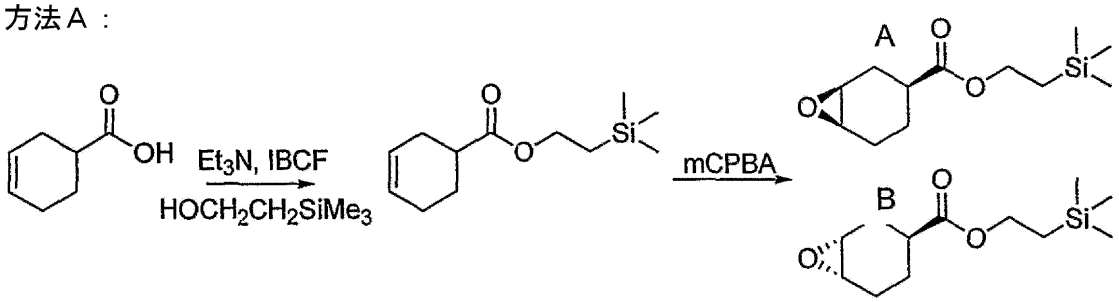
【０１９６】

ラセミ体3-cis,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸を、商業的に入手可能なラセミ体3-シクロヘキセンカルボン酸から容易に得ることができた。この酸を、メタ-クロロ過安息香酸で処理することによりエポキシ化し、かつ塩基（トリエチルアミン）の添加により、その場で、ラクトンへと変換し、それにより関連する立体化学配置とした。次いで、このラクトンを、水酸化カリウム水溶液の作用により加水分解し、かつ最終生成物をイオン交換樹脂で精製した（参照：PAS Lowdenの論文（1997）、Corey E. J.、及びHuang H.の論文（1989））。

【０１９７】

【化３４】

方法Ａ：



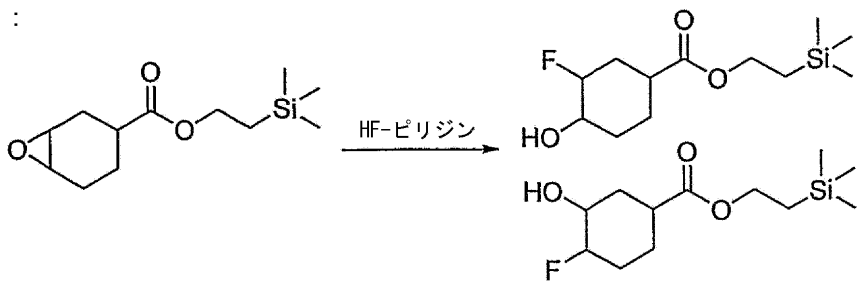
【０１９８】

エポキシドＡ、及びＢを、標準的工程により合成した。シクロヘキサ-3-エンカルボン酸を、イソブチルクロロホルメート、及びトリエチルアミンを用いて活性化した後、2-トリメチルシリルエタノールを用いて保護した。得られたエステルを、メタ-クロロ過安息香酸で処理し、かつその結果得られたジアステレオマーのラセミ体混合物を、順相シリカで分離した。該エポキシドを、下記のように反応させるか、又はトリフルオロ酢酸の処理により直接脱保護し、それぞれの遊離酸を遊離した。

【０１９９】

【化３５】

方法Ｂ：



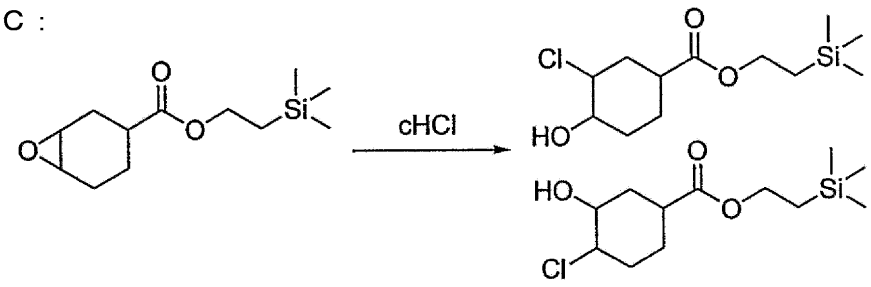
【０２００】

保護されたエポキシドを、開環するように、無水HF-ピリジンで処理し、トランス配置にＦ、及びOHを含む（先のシクロヘキセンオキシドで示したとおりの）、一対のラセミ位置異性体を生成した。次いで、該エステルを、トリフルオロ酢酸で脱保護し、該遊離酸を遊離した（Welch J.T.、及びSeper K.W.（1988））。

【０２０１】

【化３６】

方法Ｃ：



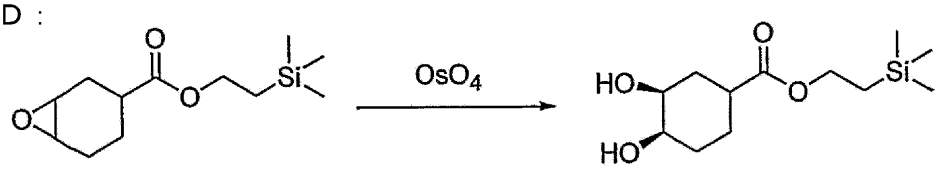
【０２０２】

保護されたエポキシドを、開環するように、高濃度塩酸懸濁有機溶媒で処理し、トランス配置に、Cl、及びOHを含む（先のシクロヘキセンオキシドで示したとおりの）、一対のラセミ位置異性体を生成した。次いで、該エステルをトリフルオロ酢酸で脱保護し、該遊離酸を遊離した（参照：Chini M.、Crotti P.らの論文（1992））。

【０２０３】

【化３７】

方法Ｄ：



【０２０４】

保護されたエポキシドを、共酸化剤とともに触媒量の四酸化オスミウムで処置することにより、cis-ジヒドロキシシクロカルボン酸を生成した。次いで、該エステルをトリフルオロ酢酸で脱保護し、該遊離酸を遊離した。

【０２０５】

（細菌の菌株、及び増殖条件）

エシュリキア コリDH10B（GibcoBRL）を、Sambrookらの論文（1989）に記載されているように、2xTY培地中で増殖させ、かつMacNeilらの論文（1992）に記載されているE.コリET12567（pUB307）、及びPagetらの論文（1999）に記載されているE.コリET12567（pUZ8002）を、カナマイシンを含む2xTY培地中で増殖させた。該ベクターpUC18、及びリトマス28は、ニューイングランドバイオラボから得た。ベクターpSET152は、Biermanらの論文（1992a）に記載されている。E.コリの形質転換体を、アンピシリン100μg/ml、又はアプラマイシン50μg/mlで選択した。

該ラパマイシン産生株S.ハイグロスコピカスATCC29253、及びその誘導株を、26℃で培地１寒天プレート（下記参照）上に維持させ、かつ（Khawらの論文（1998））に記載されているTSBGM（グルコース1.0 %、及びMES 100 mMを有し、pH 6.0であるトリプシン ソイブロス）中で培養し、必要な場合、アプラマイシン100μg/mlを追加した。

液体培養液を、サイドバッフル三角フラスコ中、300 rpmで振盪しながら、25℃で増殖させた。

該ストレプトマイシン耐性変異株S.ハイグロスコピカスMG1Cを、標準の手順を用いて選択し、かつストレプトマイシン（50 mg/ml）を有する培地１上に維持させた。

【０２０６】

（供給方法：）

全菌株の胞子ストックを、培地１上で増殖させた後に調製し、水で希釈した、グリセロール20%w/v：ラクトース10%w/v中に保存し、かつ80℃で貯蔵した。栄養培養液を、250 mlフラスコ中、50 mlの培地６中に冷凍ストック100μlを接種させることにより調製した。該培養液を、36～48時間、28℃、250 rpmでインキュベートした。

供給手順：栄養培養液を、50 mlチューブ中、7 mlの培地7中に、0.5 ml接種した。培養

を、7日間、26℃、250 rpmで行った。該選択したカルボン酸（”非天然開始剤”、又は”天然開始剤”）の供給／添加を、接種後24～48時間で行い、かつ1 mM、又は3 mMを供給した。

【０２０７】

（培地１：改質Ａ培地）

成分	提供先	カタログ#	g／l
コーン浸透粉	シグマ	Ｃ－８１６０	２．５ g
酵母エキス	ディホック	０１２７－１７	３ g
炭酸カルシウム	シグマ	Ｃ５９２９	３ g
硫酸鉄	シグマ	Ｆ８６３３	０．３ g
ＢＡＣＴＯ　寒天			２０ g
小麦デンプン	シグマ	Ｓ２７６０	１０ g
水			１ L

次いで、該培地を１２１℃で１５分間、高圧蒸気滅菌した。

【０２０８】

（培地２：（Boxらの論文（１９９５））

成分	g／L
大豆ペプトン－ＳＬ（マルコル）	１０
グルコース（シグマＧ－７０２１）	２０
パン酵母	5
ＮａＣｌ（シグマ）	2
微量元素	
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	０．０５
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	０．１２５
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	０．０１
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	０．０２
ｐＨを、７．０に調節	

【０２０９】

（培地３：（Wilkinsonらの論文（２０００））

成分	g／L
デキストロース（シグマ）	１５
グリセロール（ＢＤＨ－メルク）	１５
大豆ペプトン（マルコル－ＳＬ）	１５
ＮａＣｌ（フィッシャー）	3
$CaCO_3$（シグマ）	1

【０２１０】

（培地４：（米国特許第3,993,749号）

成分	g／L
大豆粉（アルカソイ５０）	３０
グルコース（シグマＧ－７０２１）	２０
硫酸アンモニウム	１５
KH_2PO_4（シグマ）	5
微量元素	
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	０．０５
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	０．１２５
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	０．０１
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	０．０２
ｐＨを、６．０に調節	

【０２１１】

（培地５：（Boxらの論文（１９９５））

成分	g／L
大豆粉（アルカソイ５０）	２０
グルコース（シグマG－７０２１）	２０
パン酵母	6
K_2HPO_4（シグマ）	２．５
KH_2PO_4（シグマ）	２．５
ＮａＣｌ（シグマ）	5
グリセロール（ＢＤＨ）	３０
大豆油	１０
微量元素	
$ZnSO_4 . 7H_2O$	０．０５
$MgSO_4 . 7H_2O$	０．１２５
$MnSO_4 . 4H_2O$	０．０１
$FeSO_4 . 7H_2O$	０．０２
ｐＨを、６．４に調節	

【０２１２】

（培地６：ＲａｐＶ７種培地）

成分	１　Ｌにつき
大豆粉（滋養大豆）	５　ｇ
デキストリン（白、プロラボ）	３５　ｇ
コーン浸透固体（シグマ）	４　ｇ
グルコース	１０　ｇ
$(NH_4)_2SO_4$	２　ｇ
乳酸（８０％）	１．６　ｍｌ
$CaCO_3$（シグマ）	７　ｇ
ｐＨを、１　Ｍ　ＮａＯＨで７．５に調節	

【０２１３】

（培地７：ＭＤ６培地（発酵培地））

成分	１　Ｌにつき
大豆粉（滋養大豆）	３０　ｇ
コーンスターチ（シグマ）	３０　ｇ
デキストリン（白、プロラボ）	１９　ｇ
フルクトース	２０　ｇ
酵母（アリンソン）	３　ｇ
コーン浸透固体（シグマ）	１　ｇ
Ｌ－リジン	２．５　ｇ
KH_2PO_4	２．５　ｇ
K_2HPO_4	２．５　ｇ
$(NH_4)_2SO_4$	１０　ｇ
ＮａＣｌ	５　ｇ
$CaCO_3$（カルテック）	１０　ｇ
$MnCL_2{}^x 4H_2O$	１０　ｍｇ
$MgSO_4{}^x 7H_2O$	２．５　ｍｇ
$FeSO_4{}^x 7H_2O$	１２０　ｍｇ
$ZnSO_4{}^x 7H_2O$	５０　ｍｇ
ＭＥＳ（２－モルホリノエタンスルホン酸－水和物）	２１．２　ｇ
ｐＨを、１Ｍ　ＮａＯＨで６．０に合わせた	

滅菌前に、シグマα-アミラーゼ（BAN 250）0.4 mlを、1 Lの培地に加えた。培地を、20分間、121℃で滅菌した。

【０２１４】

（培地８：ＭＤ３　培地（発酵培地））

成分	１　Ｌにつき
大豆粉（滋養大豆）	３１．２５　ｇ
白デキストリン（プロラボ）	１８．７５　ｇ
KH_2PO_4	５　ｇ
$(NH_4)_2SO_4$	１．２５　ｇ
$MnCl_2.4H_2O$	１０　ｍｇ
$MgSO_4.7H_2O$	２．５　ｍｇ
$FeSO_4.7H_2O$	１２０　ｍｇ
$ZnSO_4.7H_2O$	５０　ｍｇ
ＳＡＧ　４１７	１．２　ｍＬ
ｐＨを、ＮａＯＨで６．４に調節	
Ｌ－リジン	０．６２５　ｇ
グルコース（４０％ｗ／ｖ）	５０　ｍＬ

【０２１５】

（菌株の説明）

すべての菌株は、乳脂栄養菌体を有する野生型形態と、黒色に変わる灰色胞子を発芽させ、かつ特徴的吸湿性を示す白気菌糸とに分けた。

好ましくは、本明細書中に記載した該組換え型菌株の生成に用いる胞子は、Fan 4、202 C～Bで規定されている暗灰色であり、さらに好ましくは、Fan 4、202 Bで規定されている色（英国王立園芸協会から利用可能な英国王立園芸協会カラーチャート（2001）、80ビンセントスクウェア、ロンドン、SW1P 2PE）である。

【０２１６】

（DNA操作、及び配列決定）

DNA操作、PCR、及び電気穿孔法手順を、Sambrookらの論文（1989）に記載されているように行った。サザンハイブリダイゼーションを、製造会社（ベーリンガーマンハイム）により記載されたようにDIG DNAラベリングキットを使用し、ジゴキシゲニンでラベルしたプローブを用いて行った。DNA配列決定を前述（Gaisserらの論文（2000））のように行った。

【０２１７】

（ストレプトマイセス ハイグロスコピカス菌株の発酵）

ストレプトマイセス ハイグロスコピカス菌株を、培地１（「物質、及び方法」を参照）上で、冷凍保存中の冷凍胞子ストック（蒸留水中、20% グリセロール、10% ラクトースw/v）から培養し、かつ胞子を29℃で10～20日間成長させた後に収集した。あるいは、冷凍通常ストックからの胞子を、前培養培地中に直接接種した。第一前培養を、収集した胞子で接種させ、かつ50 mlの培地６（「物質、及び方法」を参照）を含む、250 ml三角フラスコ中で培養し、偏心距離5.08 cm（2インチ）、250 rpm、30℃で、２日間振盪した。該第一前培養を用い、培地６（「物質、及び方法」を参照）の第二前培養を10%v/vで接種させ、偏心距離2.54 cm（1インチ）、300 rpm、28℃で、さらに24時間振盪した。第二前培養を用い、0.01%v/v SAG 417消泡剤を含む製造培地８（「物質、及び方法」を参照）を10%v/vで接種し、かつ26℃で5～7日間、攪拌したバイオリアクター中で発酵させることができた。気流を0.75 vvmにし、全圧力を50 kPa（0.5 bar）、及び羽根車先端速度を0.98 ms^{-1}～2.67 ms^{-1}に制御した。さらにSAG 417を、要求に応じて添加した。アンモニウム（10%v/v）、又は硫酸（1 M）を用いて、pHを6～7に調製し、かつグルコース溶液（40%w/v）を、アンモニウム要求の開始時に、滴下供給した。

【０２１８】

（抽出、及び高速液体クロマトグラフィー（HPLC）分析方法（A））

遠心分離を、50 mlの該発酵液体培地に対して行い、かつ上清、及び菌糸体を下記のように、別々に分離した。該菌糸体を、H_2Oで洗い、かつ4℃で16時間、50 mlのメタノールで抽出した。該細胞片を遠心分離で除き、該メタノールを蒸留し、次いで200μlのメタノ

ールで溶解させた。該発酵液体培地の上清を、等量の酢酸エチルで2回抽出した。該有機層を、Na_2SO_4で乾燥させ、蒸留し、かつ次いで200μlのメタノールで溶解させた。HPLC分析を、可変波長検出器、又はフィニガンMAT LCQ（フィニガン、CA）装置を用い、ヒューレットパッカード（ブルカー、ブレーメン、RFG）HP1100液体クロマトグラフィーで行った。高分解能スペクトルを、ブルカー バイオアペックスII 4.7 T フーリエ変換-イオンサイクロトロン共鳴（FT-ICR）質量分析計（ブルカー、ブレーメン、FRG）により得た。

NMR分析のため、上述のように、細菌液体培地を遠心分離し、該上清を３等量の酢酸エチルで抽出し、かつ該菌糸体をメタノールで抽出した。該抽出液を混合し、乾燥（Na_2SO_4）させ、かつ減圧下で蒸留し、白色固体を得た。

プロトン検出NMRスペクトル（^1H、DQF-COSY、TOCSY、HMQC、HMBC、NOESY）を、27℃、500 MHzで作動（実施例６は除く）させた、ブルカーアドバンスDRX500分光計で記録した。実施例６では、10℃、500 MHzで操作した、ブルカーアドバンスDRX500分光計で記録した。化学シフトを、δスケール上、百万分率（ppm）で記述し、$CHCl_3$のδ_H 7.26（^1H）、及び$CHCl_3$のδ_C 77.0（^{13}C）を参照した。J値は、ヘルツ（Hz）で示した。

【０２１９】

（抽出、単離、及び分析手順（B））

（抽出、及び精製手順：）

該発酵液体培地を、遠心分離し、上清、及び細胞を得た。該上清を、商標Diaion HP20樹脂（スペルコ）のカラム（16×15 cm）に流し、水、続いて75% MeOH/H_2Oで洗い、かつ次いでMeOHで溶出した。該細胞を、等量のアセトンを用いて、均一に混合した。少なくとも30分後、該アセトン懸濁液を、遠心分離し、かつ上清をデカントした。該沈殿物を、同様にアセトンでさらに2回抽出した。該アセトン抽出液を、該HP20カラムからのMeOHと混合し、かつ該溶媒を、真空中で除去し、水を含む濃縮物を得た。該水（通常1～2 L）を、EtOAc（3×12 L）で抽出し、かつ該溶媒を、真空中で除去し、油状粗抽出物を得た（通常20 g）。該油状残渣を、最小量のEtOAc中に溶解させ、シリカ上で乾燥させた。該被覆シリカを、シリカカラム（400 g、36×6 cm）に適用し、アセトン／ヘキサン混合液を用い、最初アセトン25%からアセトン100%に変化させ、連続的に溶出した。ラパマイシン類似体を含む分画を、ここで記述した条件を用いて、HPLC（280 nm）により同定した。

該ラパマイシン類似体含有分画を、混合し、かつ該溶媒を真空下で除去した。さらに、該残渣を、セファデックスLH20のクロマトグラフィーにかけ、10:10:1のクロロホルム／ヘプタン／エタノールで溶出した。該半精製ラパマイシン類似体を、ギルソンのHPLC、21 mL/minで溶出するフェノメネックス21.2×250 mmルナ5μm C18 BDSカラム、該ラパマイシン類似体の極性に依存する50%～70% CH_3CN/H_2O混合液を有する定組成溶出液を用いて、逆相（C18）高速液体クロマトグラフィーで精製した。

【０２２０】

（培養液体培地の分析）

全液体培地（1 ml）の一定分量を、CH_3CN（1 mL）で、30分間振盪した。該混合液を遠心分離し、かつ該上清を、ダイオードアレイ検出器を有するHPLCで分析した。BDS HYPERSIL C18 3μm 4.6×150 mmカラムを備えた、アギレントHP1100を含む、該HPLCシステムを、40℃に加熱した。該勾配溶出は、10分で55%移動層B～95%移動層Bにし、続いて、流速1 mL/minで95%移動層Bを２分間、定組成に保持した。移動層Aは、酢酸アンモニウム10 mM、及びトリフルオロ酢酸0.1%を含む、10%アセトニトリル:90%水であり、移動層Bは、酢酸アンモニウム10 mM、及びトリフルオロ酢酸0.1%を含む、90%アセトニトリル:10%水である。ラパマイシン類似体を、中心278 nmの特徴的なラパマイシントリエンの存在により同定した。FK506、及びFK520類似体を、LC-MS分析により同定した。

【０２２１】

（LCMSによる分析）

上述した該HPLCシステムを、ブルカー ダルトニクス エスクワイヤ3000エレクトロスプレー質量分析計と組合せた。上述した同一のカラム、及び勾配溶出スキームを使用した。移動層Aを水、移動層Bをアセトニトリルとした。ポシティブネガティブスイッチを、500

～1000ダルトンの走査範囲で使用した。
【実施例】
【０２２２】
（実施例１）
（S.ハイグロスコピカスの接合）
S.ハイグロスコピカス中に接合されるべきプラスミドを、MacNeilらの論文（1992）に記載されているpUB307、又はPagetらの論文（1999）に記載されているpUZ8002を含む、dam⁻ dcm⁻ ET12567 E.コリ菌株中に、電気穿孔法により形質転換した。前培養液を用い（30℃で一晩培養）、1/25に希釈した新しい2xTY（アプラマイシン50μg/ml、及びカナマイシン25μg/ml）を接種し、かつ595 nmにおける光学密度0.25～0.6に至るまで37℃で振盪し増殖した。この液体培地からの細胞を、2xTYで2度洗浄し、次いで原培養液25 mlにつき、2xTY 0.5 mlを用いて、再懸濁した。使用した該胞子ストックの質は、この方法の成功に重要である。この状況において、収集された場合、該胞子の時期、及び培地１の使用は、高品質胞子懸濁液の単離に非常に重要である。S.ハイグロスコピカスの高品質胞子懸濁液を単離するため、培地１寒天（「物質、及び方法」の項を参照）の前乾燥プレートに、標準的な微生物学的技術を用いて、S.ハイグロスコピカス胞子、又は菌糸体を塗り広げ、続いて、26～28℃で、14～21日間インキュベートした。胞子を、標準的技術により滅菌した20％w/vグリセロール、又は水1～2 mlの添加により収集した。該S.ハイグロスコピカス胞子懸濁液200μlの一定分量を、500μlの2xTYで洗浄し、500μlの2xTYで再懸濁し、50℃で10分間の熱ショックを与え、次いで氷上で冷やした。該E.コリ懸濁液0.5 mlの一定分量を、該熱ショック胞子と混合し、かつこの混合液を培地１寒天プレート上で培養した。これらのプレートを、１プレートにつき、ナリジクス酸1 mg、及びアプラマイシン1 mgを塗る前に、26～28℃で16時間インキュベートした。通常、接合完了体コロニーは、3～7日後に現われた。
【０２２３】
（別の組込み型ベクター（pRT801）のS.ハイグロスコピカスMG2-10における使用）
先に記載したように、また、接合を、S.ハイグロスコピカスMG2-10中に、該ΦBT1-基盤組込み型ベクターpRT801を用いて行った。接合完了体を、アプラマイシン50μg/ml、及びナリジクス酸50μg/mlを含む培地１にパッチし、かつアプラマイシン耐性であることを示した。
【０２２４】
（実施例２）
（rapQONMLKJIの染色体除去を行った該S.ハイグロスコピカス変異株MG2-10の単離（図４））
ラパマイシン改質遺伝子rapQ、rapO/N、rapM、rapL、rapK、rapJ、及びrapIが除去された該S.ハイグロスコピカス変異株（MG2-10）を、下記のように構築した。
【０２２５】
（該ストレプトマイシン耐性変異株MG1Cの単離）
S.ハイグロスコピカスNRRL5491菌糸体を、ストレプトマイシン50 mg/mlを含む培地１のプレート上に塗り広げた。３つのコロニーを単離し、かつMG1A、MG1B、及びMG1Cと名付けた。S.リビダンス（S. lividans）TK24から該rpsL遺伝子を含むpSET152の誘導体であるプラスミドpMG49で、実施例１のように接合した。培地１が、アプラマイシン50 mg/ml、及びナリジクス酸50 mg/mlを含む場合、これらの接合体の各々から接合完了体を、プレート上にパッチし、該プラスミドpMG49の存在を確認した。該最初の菌株MG1A、MG1B、及びMG1Cとともに、抗生物質を含まない培地１のプレート、及びストレプトマイシン50 mg/mlを含む培地１のプレート、両方の上に画線培養した。生育は、ストレプトマイシン上のMG1A[pMG49]、MG1B[pMG49]、及びMG1C[pMG49]のストリークを除いて、すべての場合に見られ、S.リビダンスTK24からのw.t. rpsL遺伝子は、これらの菌株に、優性のストレプトマイシン感受性を与えたことを示している。前駆ラパマイシンの産生を、MG1A、MG1B、及びMG1Cにおいて測定し、かつ最良の産生株MG1Cを、さらに研究し続けた。

【０２２６】
（S.ハイグロスコピカスMG1Cの接合）
接合を、実施例１に記載されているように、該ストレプトマイシン耐性株S.ハイグロスコピカスMG1Cを用いて行い、かつ誘導されたベクターpMG55を構築した。
（接合性二重組換え型ベクターpMG55の構築（図３））
下記プライマーを用い、鋳型として該プラスミドpRPSL21（Shimaらの論文（1996））を用いてS.リビダンスrpsL遺伝子を増幅した。該PCR断片を、SphI、及びHindIIIで消化し、SphI、及びHindIIIで消化されたpSET152の3.2 kb断片を単離し、かつ連結した。E.コリDH10B中に形質転換後、プラスミドpMG55を単離した。このプラスミドを、配列決定法により確認した。プラスミドpMG55は、該rpsL遺伝子を含み、二重組換え体を選択できる（Hosted、及びBaltz（1997））：
MAG47：5’-GCAAGCTTGGTACCGACACGCTCGCCGAACAGG-3’（配列番号：29）；及び
MAG48：5’-GCGCATGCCCTAGGGTGTACATTACTTCTCC-3’（配列番号：30）。
【０２２７】
（rapQONMLKJIの染色体除去を行うS.ハイグロスコピカス変異株MG2-10の単離（図４））
下記プライマーを用いて、S.ハイグロスコピカスNRRL5491から調整されたゲノムDNAを、鋳型として使用し、相同関係の左側領域（Schweckeらの論文（1995））に記載されているように、該ラパマイシンクラスターのnt 89298からnt 90798）を増幅した：
MAG23：5’-TATCTAGACTTCGCACGTGCCTGGGACA-3’（配列番号：31）；及び
MAG24：5’-AGAAGCTTACCCAATTCCAACATCACCT-3’（配列番号：32）。
1.5 kbのPCR産物をXbaI、及びHindIIIで消化し、かつXbaI、及びHindIIIで切ったpUC18内に連結した。E.コリDH10B内に形質転換後、該プラスミドpMAG127-8を単離した。下記プライマーを用いて、S.ハイグロスコピカスNRRL5491から調整されたゲノムDNAを、鋳型として使用し、相同関係の左側領域（Schweckeらの論文（1995））に記載されているように、該ラパマイシンクラスターのnt 98404からnt 99904）を増幅した：
MAG25：5’-GGAAGCTTTGACCACACGCCGCCCGTTC-3’（配列番号：33）；及び
MAG26：5’-ATGCATGCCCGCCGCAACCCGCTGGCCT-3’（配列番号：34）。
【０２２８】
1.5 kbのPCR産物をHindIII、及びSphIで消化し、かつHindIII、及びSphIで切ったpUC18内に連結した。E.コリDH10B内に形質転換後、該プラスミドpMAG128-2を単離した（図４）。両プラスミドを、配列分析により確認した。該プラスミドpMAG127-8をSphI、及びHindIIIで消化し、該プラスミドpMAG128-2をXbaI、及びHindIIIで消化し、かつ該1.5 kb断片を、両プラスミドから単離した。これらの断片を、SphI、及びXbaIで切ったpUC18内に連結し、かつE.コリDH10Bの形質転換に使用した。該プラスミドpMAG131-1を単離した。このプラスミドを、SphI、及びXbaIで消化し、該3 kb断片を単離し、かつSphI、及びAvrIIで切ったpMG55内に連結し、そして該DNAを、E.コリDH10Bの形質転換に使用した。該プラスミドpMAG144-16を単離し、かつS.ハイグロスコピカスMG1Cの接合に使用した。アプラマイシン耐性S.ハイグロスコピカス コロニーを単離し、TSBGM中、26℃で24時間振盪し、生育し、かつストレプトマイシン50μg/lを含む培地１の寒天プレート上に塗り広げた。ストレプトマイシン耐性コロニーを単離し、かつアプラマイシン感受性であることを示した。該ラパマイシンクラスターのrapQONMLKJI領域の7606 nt染色体除去を、MAG23、及びMAG24の1.5 kbのPCR産物を用いて、該変異株内に確認し、EcoRI-、及びBamHI-消化染色体DNAを探査した。野生型S.ハイグロスコピカスの分析は、ハイブリッド形成後、予期された5.8 kb EcoRI、及び5.9 kb BamHIバンドを示した。MG2-10の染色体DNAを同様に処理し、rapQONMLKJIが除去されていることを示す、9.6 kb EcoRI、及び7.6 kb BamHIバンドを検出した。
【０２２９】
（実施例３）
（rapQONMLKJIの染色体除去を行った該S.ハイグロスコピカス変異株MG2-10中のrapKの発現）
（発現ベクターpSGset1の構築）

ベクターpCJR336（クリスティーヌ マーチン、及びコリーヌ スクワイヤーにより提供）から誘導された該pSET152（Biermanらの論文（1992a））を、標準的な分子生物学的技術を用いて、PvuII消化したpSET152内に、下記のプライマーダイマーをクローニングし、そして、pSET152内の制限酵素SpeI、NdeI、及びXbaIの部位に導入することで作成した：
CR347：5’-TAAACTAGTCCATCTGAGAGTTTCATATGGCCCTATTCTGCCCAGCCGCTCTAGAAAT-3’（配列番号：35）；及び
CR348：5’-ATTTCTAGAGCGGCTGGGCAGAATAGGGCCATATGAAACTCTCAGATGGACTAGTTTA-3’（配列番号：36）。

該挿入部の配向を、配列決定法により確認した。プラスミドpCJR336を、該制限酵素NdeI/SpeIを用いて消化し、かつベクターpSG142（Gaisserらの論文（2000））を、同様に消化した。pCJR336の約5.4 kb、及びpSG142の約1.2 kbの得られたDNAバンドを単離し、続いて連結をE.コリDH10Bを形質転換するために使用した。actII-ORF4調節領域を含むベクター構築体を単離し、かつ該制限酵素XbaIを用いて消化し、続いて標準プロトコルに従って、アルカリホスファターゼ処理した。該単離されたDNAを、プラスミドpEXoleG2cas（制限酵素XbaI、及びNheIで消化されたpSGcasOleG2（WO 01/79520）の約1.2 kb NdeI/BglII断片を含む、pSG142誘導体）からの約200 bp断片と連結した。ベクターpSGset1を単離し、かつ該挿入部の正確な配列を、制限消化、及び配列分析を用いて確認した。プラスミドpSGset1は、該actII-ORF4調節因子、該P_{actI}プロモーター、及び6xHis-タグをコードする配列、並びにラムダt_0転写終結領域（プラスミドpQE-16由来）を含み、かつΦC31付着部位に、部位特異的に組込むことができる。

【０２３０】
（rapKのクローニング）

該遺伝子rapKを、下記プライマーを用いて、PCRにより増幅し、rapKの5’末端にNdeI部位、及びrapKの3’端にXbaI部位を導入した：
BIOSG8：5’-GGGCATATGAGGCAATTGACTCCGCCGGTCACGGCACCGTACTGCC -3’（配列番号：37）；及び
BIOSG9：5’-GGGGTCTAGAGGTCACGCCACCACACCCTCGATCTCGACC -3’（配列番号：38）。

プラスミドpR19（Schweckeらの論文（1995））を鋳型として使用した。標準的技術を用いて、T4ポリヌクレオチドキナーゼで処理した後、該PCR産物を、SmaI-切断pUC18に連結し、かつそれを用いてE.コリDH10Bを形質転換した。該単離されたプラスミドpUCrapKにおけるrapKのDNA配列を、配列分析により確認した。公表された配列（acc. no. X86780）と比較された該DNA配列の相違を、図27に示す。RapKで生じる変化を、図28に示す。

【０２３１】
（pSGsetrapKの単離）

プラスミドpUCrapKを、NdeI、及びXbaIで消化し、かつ該挿入断片を単離し、かつ同様に消化されたpSGset1内に連結した。該連結体を用いて、標準的手順を使用して、E.コリDH10Bを形質転換し、かつ該形質転換体を分析した。プラスミドpSGsetrapKを単離し、かつ該構築体を、制限消化、及び配列分析を使用して確認した。

【０２３２】
（実施例４）
（9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシンの同定
（前駆ラパマイシン（図６））

9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン（前駆ラパマイシン）を、実施例１に記載されたように、pSGsetrapKを用いて、該S.ハイグロスコピカス菌株MG2-10に接合し、かつ発酵の時に生産された生成物を単離することにより得た。これは、MG2-10菌株のrapKの除去を補うことが可能であり、もし、該菌株に、ピペコリン酸を供給した場合、ポスト-PKS改質を欠いた類似体である前駆ラパマイシンを生成することを示している。

該プラスミドpSGsetrapKを、S.ハイグロスコピカスMG2-10中に接合し、かつ該菌株を、ピペコリン酸2 mg/lが供給されたTSBGM中、25℃で振盪し、生育した。該菌糸体を、メタ

ノールで抽出し、かつ前述のように、該培養液体培地を酢酸エチルで抽出した。
280 nmのUV検出器を有するHPLCによる、該ピペコリン酸を供給したS.ハイグロスコピカス変異株MG2-10[pSGsetrapK]の培養液体培地の分析は、保持時間4.0、及び5.1分の２つの主要な新しいピークの存在を示した。これらのピークのエレクトロスプレー質量分析は、双方ともMW841.5の化合物に対応するイオンを含むことを示した。これらのピークは、該rapK発現プラスミドpSGsetrapKのない、該S.ハイグロスコピカスNRRL 5491菌株、又は該変異菌株MG2-10の培養液抽出液には見られなかった。m/z 864の該イオン（前駆ラパマイシンのナトリウム付加体に対応する）のMS/MS分析は、m/z 129（ピペコリン酸）の損失に対応するm/z 735のイオン、又はm/z 308（前駆ラパマイシンのC28～C42）の損失に対応するm/z 556のイオンのフラグメントを示した。このイオン自身は、m/z 250（前駆ラパマイシンのC14～C27）の損失に対応するm/z 306のイオンに、さらにフラグメント化した。このフラグメント化パターンは、ラパマイシンに見られたパターンと同じであったが、C39 O-メチル基の損失に対応する14減少したm/z（-308）の第二損失、C27メトキシ、及びC16 O-メチル基の損失に対応する44減少したm/z（-250）の第三損失、及びC9ケトン基の損失に対応する14減少した質量を有する該最終イオン（306）を有していた。これは、MW 841.5の化合物が、9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン（前駆ラパマイシン）を表していることを明らかにした。

【０２３３】

（実施例５）

（S.ハイグロスコピカスMG2-10中で発現する遺伝子カセットの調製）

様々なラパマイシン改質遺伝子の直接的発現が可能である遺伝子カセット、及び修飾遺伝子の結合体を、下記のように構築した。

【０２３４】

（rapN/Oのクローニング）

該隣接遺伝子rapK、及びrapO（以下rapN/Oと表す）を、下記プライマーを用いて、PCRにより増幅し、rapN/Oの５’末端にNdeI部位、及びrapN/Oの３’末端にXbaI部位を導入した：

BIOSG2：５’-GGGCATATGTCGACGACCGATCAGGGTGAGACCGGAAAGGCCTG -３’（配列番号：39）；及び

BIOSG3：５’-GGGGTCTAGAGGTCAGTCCTGGGGTTCGAGAAGCTCGCCGGTCTCCTT-３’（配列番号：40）。

プラスミドpR19（Schweckeらの論文（1995））を鋳型として使用した。標準的技術を用いて、T4ポリヌクレオチドキナーゼで処理した後、該PCR産物を、SmaI-切断pUC18に連結し、かつそれを用いてE.コリDH10Bを形質転換した。該単離されたプラスミドpUCrapN/OにおけるrapN/OのDNA配列を、配列分析により確認した。公表された配列（acc. no. X86780）と比較された該DNA配列の相違を、図21に示す。RapNで生じる変化を、図22に示す。

【０２３５】

（rapMのクローニング）

該遺伝子rapMを、下記プライマーを用いて、PCRにより増幅し、rapMの５’末端にNdeI部位、及びrapMの３’末端にXbaI部位を導入した：

BIOSG4：５’-GGGCATATGATCCAACCCGACGTCGTGACCGCCTTCACAGCGG -３’（配列番号：41）；及び

BIOSG5：５’-GGGGTCTAGAGGTCACACGCGGACGGCGATCTGGTGCCGATAGG -３’（配列番号：42）。

プラスミドpR19（Schweckeらの論文、1995）を鋳型として使用した。標準的技術を用いて、T4ポリヌクレオチドキナーゼで処理した後、該PCR産物を、SmaI-切断pUC18に連結し、かつそれを用いてE.コリDH10Bを形質転換した。該単離されたプラスミドpUCrapMにおけるrapMのDNA配列を、配列分析により確認した。公表された配列（acc. no. X86780）と比較された該DNA配列の相違を、図23に示す。RapMで生じる変化を、図24に示す。

【０２３６】

（rapLのクローニング）

該遺伝子rapLを、下記プライマーを用いて、PCRにより増幅し、rapLの5’末端にNdeI部位、及びrapLの3’末端にXbaI部位を導入した：
BIOSG6：5’-GGGCATATGCAGACCAAGGTTCTGTGCCAGCGTGACATCAAG -3’（配列番号：43）；及び
BIOSG7：5’-GGGGTCTAGAGGTCACTACAGCGAGTACGGATCGAGGACGTCCTCGGGCG -3’（配列番号：44）。
プラスミドpR19（Schweckeらの論文（1995））を鋳型として使用した。標準的技術を用いて、T4ポリヌクレオチドキナーゼで処理した後、該PCR産物を、SmaI-切断pUC18に連結し、かつそれを用いてE.コリDH10Bを形質転換した。該単離されたプラスミドpUCrapLにおけるrapLのDNA配列を、配列分析により確認した。公表された配列（acc. no. X86780）と比較された該DNA配列の相違を、図25に示す。RapLで生じる変化を、図26に示す。

【０２３７】

（$rapL_{his}$のクローニング）

該遺伝子rapLを、下記プライマーを用いて、PCRにより増幅し、rapLの5’末端にNdeI部位、及びrapLの3’末端にBglII部位を導入した：
BIOSG6：5’-GGGCATATGCAGACCAAGGTTCTGTGCCAGCGTGACATCAAG -3’（配列番号：43）；及び
BIOSG45：5’-GGAGATCTCAGCGAGTACGGATCGAGGACGTCCTCGGGCG -3’（配列番号：45）。
プラスミドpR19（Schweckeらの論文（1995））を鋳型として使用した。標準的技術を用いて、T4ポリヌクレオチドキナーゼで処理した後、該PCR産物を、SmaI-切断pUC19に連結し、かつそれを用いてE.コリDH10Bを形質転換した。該単離されたプラスミドpUC19$rapL_{his}$におけるrapLのDNA配列を、配列分析により確認した。

【０２３８】

（rapKのクローニング）

該遺伝子rapKを、下記プライマーを用いて、PCRにより増幅し、rapKの5’末端にNdeI部位、及びrapKの3’末端にXbaI部位を導入した：
BIOSG8：5’-GGGCATATGAGGCAATTGACTCCGCCGGTCACGGCACCGTACTGCC -3’（配列番号：37）；及び
BIOSG9：5’-GGGGTCTAGAGGTCACGCCACCACACCCTCGATCTCGACC -3’（配列番号：38）。
プラスミドpR19（Schweckeらの論文（1995））を鋳型として使用した。標準的技術を用いて、T4ポリヌクレオチドキナーゼで処理した後、該PCR産物を、SmaI-切断pUC18に連結し、かつそれを用いてE.コリDH10Bを形質転換した。該単離されたプラスミドpUCrapKにおけるrapKのDNA配列を、配列分析により確認した。公表された配列（acc. no. X86780）と比較された該DNA配列の相違を、図27に示す。RapKで生じる変化を、図28に示す。

【０２３９】

（pSGsetrpaN/O、pSGsetrapJ、pSGsetrapM、pSGsetrapQ、pSGsetrapI、pSGsetrapK、及びpSGsetrapLの単離）

プラスミドpUCrapN/O、pUCrapJ、pUCrapM、pUCrapI、pUCrapL、pUCrapK、及びpAHL42を、NdeI、及びXbaIで消化し、かつ該挿入断片を単離し、かつ同様に消化されたpSGset1内に連結した。該連結体を用いて、標準的手順を使用して、E.コリDH10Bを形質転換し、かつ該形質転換体を分析した。プラスミドpSGsetrpaN/O、pSGsetrapJ、pSGsetrapM、pSGsetrapQ、pSGsetrapI、pSGsetrapK、及びpSGsetrapLを単離し、かつ該構築体を、制限消化、及び配列分析を使用して確認した。

【０２４０】

（rapJのクローニング）

該遺伝子rapJを、下記プライマーを用いて、PCRにより増幅し、rapJの5’末端にNdeI部位、及びrapJの3’末端にXbaI部位を導入した：
BIOSG10：5’-GGGCATATGAGCACCGAAGCTCAGCAAGAGAGCACGCCCACCGCACGCT-3’（配列番号：46）；及び
BIOSG11：5’-GGGGTCTAGAGGTCACTCCGCTCCCCAGGTGACCCGGAGCTCGGC -3’（配列番号：47）

。
プラスミドpR19（Schweckeらの論文、1995）を鋳型として使用した。標準的技術を用いて、T4ポリヌクレオチドキナーゼで処理した後、該PCR産物を、SmaI-切断pUC18に連結し、かつそれを用いてE.コリDH10Bを形質転換した。該単離されたプラスミドpUCrapJにおけるrapJのDNA配列を、配列分析により確認した。公表された配列（acc. no. X86780）と比較された該DNA配列の相違を、図29に示す。RapJで生じる変化を、図30に示す。

【０２４１】

（rapIのクローニング）

該遺伝子rapIを、下記プライマーを用いて、PCRにより増幅し、rapIの5’末端にNdeI部位、及びrapIの3’末端にXbaI部位を導入した：

BIOSG12：5’-GGGCATATGAGCGCGTCCGTGCAGACCATCAAGCTGCC -3’（配列番号：48）；及び

BIOSG13：5’-GGGGTCTAGAGGTCAGGCGTCCCCGCGGCGGGCGACGACCT -3’（配列番号：49）。

該rapIを含むpUC18から誘導されたプラスミドpAHL2（Huai-Lo Leeにより提供）を鋳型として使用した。標準的技術を用いて、T4ポリヌクレオチドキナーゼで処理した後、該PCR産物を、SmaI-切断pUC18に連結し、かつそれを用いてE.コリDH10Bを形質転換した。該単離されたプラスミドpUCrapIにおけるrapIのDNA配列を、配列分析により確認した。公表された配列（acc. no. X86780）と比較された該DNA配列の相違を、図31に示す。RapIで生じる変化を、図32に示す。

【０２４２】

（rapQのクローニング）

該遺伝子rapQを、下記プライマーを用いて、PCRにより増幅し、rapQの5’末端にNdeI部位、及びrapQの3’末端にXbaI部位を導入した：

AHL21：5’-CATATGTTGGAATTGGGTACCCGCCTG-3’（配列番号：50）；及び

AHL22：5’-TCTAGACGCTCACGCCTCCAGGGTG -3’（配列番号：51）。

プラスミドpR19（Schweckeらの論文（1995））を鋳型として使用した。標準的技術を用いて、T4ポリヌクレオチドキナーゼで処理した後、該PCR産物を、SmaI-切断pUC18に連結し、かつそれを用いてE.コリDH10Bを形質転換した。該単離されたプラスミドpAHL42におけるrapQのDNA配列を、配列分析により確認した。公表された配列（acc. no. X86780）と比較された該DNA配列の相違を、図33に示す。RapQで生じる変化を、図34に示す。

【０２４３】

（pUC18eryBVcasの単離）

該遺伝子eryBVを、下記プライマー、及び鋳型としてpSG142（Gaisserら（2000））を用いて、PCRにより増幅した：

casOleG21（WO 01/79520）；及び

7966：5’-GGGGAATTCAGATCTGGTCTAGAGGTCAGCCGGCGTGGCGGCGCGTGAGTTCCTCCAGTCGCGGGACGATCT -3’（配列番号：52）。

該PCR断片を、標準的手順を用いてクローニングし、かつプラスミドpUC18eryBVcasを、開始コドンeryBVと重複しているNdeI部位で、及び終止コドンの後のXbaI、及びBglII部位で単離した。該構築体を、配列分析により確認した。

【０２４４】

（ベクターpSGLit1の単離）

該遺伝子eryBVを、下記プライマーを用いて、PCRにより増幅し、eryBVの5’末端にdamメチル化感受性XbaI部位、及びeryBVの3’末端にXbaI部位とBglII部位とを導入した：

BIOSG1：5’-GGGTCTAGATCCGGACGAACGCATCGATTAATTAAGGAGGACACATA -3’（配列番号：53）；及び

7966：5’-GGGGAATTCAGATCTGGTCTAGAGGTCAGCCGGCGTGGCGGCGCGTGAGTTCCTCCAGTCGCGGGACGATCT -3’（配列番号：52）。

プラスミドpUC18eryBVcasを鋳型として使用した。標準的技術を用いて、T4ポリヌクレオチドキナーゼで処理した後、該PCR産物を、SmaI-切断pUC18に連結し、かつそれを用いてE.コリDH10Bを形質転換した。次いで、該構築体をBamHI/BglIIで消化し、かつ約1.3 kb

のDNAバンドを、アガロースゲルから単離し、続いて、標準的手順を用いて、BamHI/BglII消化リトマス28ベクターDNAに連結した。該ベクターpSGLit1を単離し、かつ該挿入体のDNA配列を、配列分析により確認した。

【０２４５】

（pSGsetrpaN/O、pSGsetrapJ、pSGsetrapM、pSGsetrapQ、pSGsetrapI、pSGsetrapK、及びpSGsetrapLの単離）

プラスミドpUCrapN/O、pUCrapJ、pUCrapM、pUCrapI、pUCrapL、pUCrapK、及びpAHL42を、NdeI、及びXbaIで消化し、かつ該挿入断片を、サイズ約1.3 kb～0.7 kbの範囲で単離し、かつ同様に消化されたpSGset1内に連結した。該連結体を用いて、標準的手順を使用して、E.コリDH10Bを形質転換し、かつ該形質転換体を分析した。プラスミドpSGsetrpaN/O、pSGsetrapJ、pSGsetrapM、pSGsetrapQ、pSGsetrapI、pSGsetrapK、及びpSGsetrapLを単離し、かつ該構築体を、制限消化、及び配列分析を使用して確認した。

【０２４６】

（pSGLitrapN/O、pSGLitrapJ、pSGLitrapM、pSGLitrapQ、pSGLitrapI、pSGLitrapK、pSGLitrapL、及び$pSGLitrapL_{his}$の単離）

pSGsetrpaN/O、pSGsetrapJ、pSGsetrapM、pSGsetrapQ、pSGsetrapI、pSGsetrapK、pSGsetrapL、及びpUC19rapLhisを、NdeI／XbaI制限酵素で消化し、かつバンド約0.7 kb～1.3 kbの範囲のバンドを単離し、続いてNdeI／BglIIで消化されたpSGLit1に連結した。該連結体を用いて、標準的手順を使用して、E.コリDH10Bを形質転換し、かつ該形質転換体を分析した。プラスミドpSGLitrapN/O、pSGLitrapJ、pSGLitrapM、pSGLitrapQ、pSGLitrapI、pSGLitrapK、pSGLitrapL、及び$pSGLitrapL_{his}$を単離した。

【０２４７】

（プラスミドpSGsetrapKI、pSGsetrapKM、pSGsetrapKN/O、pSGsetrapKL、pSGsetrapKQ、及びpSGrapKJの単離）

プラスミドpSGLitrapN/O、pSGLitrapJ、pSGLitrapM、pSGLitrapQ、pSGLitrapI、及びpSGLitrapLを、標準の分子生物学的技術を用いて、XbaIを用いて消化し、かつ約0.8 kb～1.3 kbの範囲の断片を単離し、続いてXbaIで消化されたpSGLit1に連結し、そしてアルカリホスファターゼで処理した。該連結体を用いて、E.コリDH10Bを形質転換し、かつ該形質転換体を分析した。プラスミドpSGsetrapKI、pSGsetrapKM、pSGsetrapKN/O、pSGsetrapKL、pSGsetrapKQ、及びpSGrapKJを単離し、かつ該挿入の配向を、制限消化分析により確認した。$rapL_{his}$付加のため、これらの構築体を、BglII／XbaIで消化し、続いて適切にBglIIで部分消化し、かつ該単離されたベクター断片を、$pSGLitrapL_{his}$の～1 kb Xbal/BglII断片に連結した。

【０２４８】

（プラスミドpSGsetrapKIJ、pSGsetrapKIM、及びpSGsetrapKIQの単離）

該プラスミドpSGLitrapJ、pSGLitrapM、及びpSGLitrapQを、標準の分子生物学的技術を用いて、XbaIを用いて消化し、かつ約0.8 kb～1.3 kbの範囲の断片を単離し、続いてXbaIで消化されたpSGsetrapKIに連結し、そしてアルカリホスファターゼで処理した。該連結体を用いて、E.コリDH10Bを形質転換し、かつ該形質転換体を分析した。プラスミドpSGsetrapKIJ、pSGsetrapKIM、及びpSGrapKIQを単離し、かつ該挿入の配向を、制限消化分析により確認した。$rapL_{his}$付加のため、これらの構築体を、BglII／XbaIで消化し、続いて適切にBglIIで部分消化し、かつ該単離されたベクター断片を、$pSGLitrapL_{his}$の～1 kb Xbal/BglII断片に連結した。

【０２４９】

（プラスミドpSGsetrapKN/OI、pSGsetrapKN/OQ、pSGsetrapKN/OM、及びpSGsetrapKN/OJの単離）

該プラスミドpSGLitrapI、pSGLitrapM、pSGLitrapJ、及びpSGLitrapQを、標準の分子生物学的技術を用いて、XbaIを用いて消化し、かつ約0.8 kb～1.3 kbの範囲の断片を単離し、続いてXbaIで消化されたpSGsetrapKN/Oに連結し、そしてアルカリホスファターゼで処理した。該連結体を用いて、E.コリDH10Bを形質転換し、かつ該形質転換体を分析した。

該連結体を用いて、E.コリDH10Bを形質転換し、かつ該形質転換体を分析した。プラスミドpSGsetrapKN/OI、pSGsetrapKN/OQ、pSGsetrapKN/OM、及びpSGrapKN/OJを単離し、かつ該挿入の配向を、制限消化分析により確認した。rapL$_{his}$付加のため、これらの構築体を、BglII／XbaIで消化し、続いて適切にBglIIで部分消化し、かつ該単離されたベクター断片を、pSGLitrapL$_{his}$の～1 kb Xbal/BglII断片に連結した。

【０２５０】

（プラスミドpSGsetrapKJM、及びpSGsetrapKJQの単離）

該プラスミドpSGLitrapM、及びpSGLitrapQを、標準の分子生物学的技術を用いて、XbaIを用いて消化し、かつ約0.8 kb～1.1 kbの範囲の断片を単離し、続いてXbaIで消化されたpSGsetrapKJに連結し、そしてアルカリホスファターゼで処理した。該連結体を用いて、E.コリDH10Bを形質転換し、かつ該形質転換体を分析した。該連結体を用いて、E.コリDH10Bを形質転換し、かつ該形質転換体を分析した。プラスミドpSGsetrapKJM、及びpSGrapKJQを単離し、かつ該挿入の配向を、制限消化分析により確認した。rapL$_{his}$付加のため、これらの構築体を、BglII／XbaIで消化し、続いて適切にBglIIで部分消化し、かつ該単離されたベクター断片を、pSGLitrapL$_{his}$の～1 kb Xbal/BglII断片に連結した。上述の同じ方法を用い、下記の遺伝子カセットを単離した：

pSGsetrapKIJM	pSGsetrapKN/OJI	pSGsetrapKIQN/OM
pSGsetrapKIJQ	pSGsetrapKJMN/O	pSGsetrapKJMN/OQ
pSGsetrapKIJN/O	pSGsetrapKJQN/O	pSGsetrapKIJN/OMQ
pSGsetrapKIMN/O	pSGsetrapKIJN/OM	pSGsetrapN/OQ
pSGsetrapKIQN/O	pSGsetrapKIJN/OQ	pSGsetrapKIJMN/OQ
pSGsetrapKN/OMQ	pSGsetrapKIMN/OQ。	

概観を図５に示す。rapL$_{his}$付加のため、これらのカセット構築体を、BglII／XbaIで、又はXbaIで消化し、続いて適切にBglIIで部分消化し、かつ該単離されたベクター断片を、pSGLitrapL$_{his}$の～1 kb Xbal/BglII断片に連結した。

【０２５１】

（実施例６）

（9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン（前駆ラパマイシン、図6）の単離）

9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン（前駆ラパマイシン）を、下記のように、pSGsetrapKを用いて、該S.ハイグロスコピカス菌株MG2-10に接合し、かつ生産された生成物を単離することにより得た。これは、該MG2-10菌株内のrapK、及びrapLの除去を補うことが可能であり、ポスト-PKS改質を欠いた類似体である前駆ラパマイシンを生成することを示している。rapLが、補足される場合、該ピペコリン酸供給は必要なく、rapLがラパマイシン生成物内にピペコリン酸供給の役割を担うことを確認した。

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetrapKL]を、培地１上で、冷凍保存にある冷凍通常胞子ストック（蒸留水中、20％グリセロール、10％ラクトースw/v）から培養し（「物質、及び方法」を参照）し、胞子を、14日間、29℃で生育後収集した。第一前培養液を、収集した胞子で接種させ、かつ50 mlの培地３（「物質、及び方法」を参照）を含む、２つの250 ml三角フラスコ中で培養し、偏心距離5.08 cm（2インチ）、250 rpm、30℃で、２日間振盪した。該第一前培養液を用い、培地２（「物質、及び方法」を参照）、及び培地３の２つの第二前培養液を10％v/vで接種させ、偏心距離2.54 cm（1インチ）、300 rpm、25℃で、さらに24時間振盪した。培地４（「物質、及び方法」を参照）、及び培地５（「物質、及び方法」を参照）を、プルロニックL101消泡剤（BASF）を0.01％v/v含むように調整した。製造培地４に、培地２の第二前培養液を接種させ、かつ製造培地５に、培地３の第二前培養液を10％v/v接種させ、かつ25℃で5～7日間、7 Lの攪拌されたバイオリアクター内で、発酵させることができた。気流を0.75 vvmにし、かつ羽根車先端速度を0.98 ms^{-1}～2.67 ms^{-1}に制御した。さらにプルロニックL101を、要求に応じて添加した。

9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン（前駆

ラパマイシン）の構造を確認するため、培地４、及び培地５からの培養液を酢酸エチルで抽出し、かつ蒸留により、粗抽出物になるまで減らした。該抽出物を、ヘキサン：メタノール：水の分配により脱脂し、かつヘキサンで始まり、かつアセトンで終る、70 gのシリカカートリッジに通した。各発酵からの前駆ラパマイシン分画を、貯蔵し、かつ水で始まり、かつメタノールで終るC18カートリッジに通した。前駆ラパマイシン（8.5 mg）を、移動層として、ヘプタン、クロロホルム、エタノールを用いたSephadex LH20のクロマトグラフィー後に、単離した。この化合物を分析し、かつ該構造を、NMRにより十分に確認した（図18～20）。該^{1}H、及び^{13}C NMRデータを、下記表５に示す。

【０２５２】

【表５Ａ】

表Ｖ：前駆ラパマイシンの ^{1}H、及び ^{13}C NMR

位置	δ_H	多重度	カップリング	δ_C
1				171.8
2	5.49			52.7
3a	1.76			25.9
3b	2.21			
4a	1.21			20.9
4b	1.75			
5a	1.47			25.0
5b	1.74			
6a	3.27			45.1
6b	3.87	br. d	12.8	
8				171.6
9a	2.46	d	12.8	41.4
9b	3.23	d	12.8	
10				98.9
11	1.60			38.1
12a	1.52			27.6
12b	1.65†			
13a	1.38			31.6
13b	1.53			
14	4.00			71.5
15a	1.48			40.6
15b	1.70			
16	3.95	br. d	8.1	75.5
17				139.2
18	6.39			122.6
19	6.33			128.1
20	6.17	dd	14.3, 10.7	131.4
21	6.04			130.9
22	5.26			138.1
23	2.21			37.2

† 仮の割当て

【表５Ｂ】

位置		δ_H	多重度	カップリング	δ_C
24a		1.26			39.8
24b		1.64			
25		2.30			45.8
26					215.3
27a		2.42	dd	15.1, 4.7	44.8
27b		2.89	dd	15.1, 5.8	
28		4.32	dd	5.5, 4.9	71.4
29					138.6
30		5.26			123.7
31		3.20			45.5
32					208.2
33a		2.58	dd	18.1, 4.3	41.5
33b		2.78	dd	18.1, 9.6	
34		5.18			76.0
35		1.72			31.9
36a		1.00			37.3
36b		1.07			
37		1.30			33.1
38a	Ax.	0.62	ddd	11.9, 11.9, 11.9	38.2
38b	eq.	1.83			
39		3.24			74.9
40		3.25			75.9
41a		1.28			31.5
41b		1.94			
42a		0.98			32.2
42b		1.61			
43		0.98	d	6.6	16.5
44		1.61	s		14.1
45		1.04	d	6.8	21.3
46		0.95	d	6.8	15.2
47		1.66	d	0.9	14.1
48		0.99	d	6.8	15.7
49		0.89	d	6.6	17.4

【０２５３】

（実施例７）

（8-デオキソ-15-O-デスメチル-26-デスメトキシ-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン（前駆プロリルラパマイシン、図７）の単離）

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSEGrapK]に、プロリン酸を供給することにより、下記のように前駆プロリルラパマイシン生成物を得た。これは、rapLがない場合、代わりにピペコリン酸類似体が、取込まれることを示している。

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetrapK]を、プロリン1 mg/lが供給されたTSBGM中、25℃で振盪し、生育した。該菌糸体を、メタノールで抽出し、かつ前述のように、該培養液体培地を酢酸エチルで抽出した。280 nmのUV検出器を有するHPLCによる、該プロリンを供給したS.ハイグロスコピカス変異株MG2-10[pSGsetrapK]の培養液体培地の分析は、保持時間4.5、及び4.6分の２つの主要な新しいピークの存在を示した。これらのピークのエレクトロスプレー質量分析は、双方ともMW 827.5の化合物に対応するイオンを含むことを示した。これらのピークは、該rapK発現プラスミドpSGsetrapKのない、S.ハイグロスコピカスNRRL 5491、S.ハイグロスコピカスMG1C、又はS.ハイグロスコピカスMG2-10の培養液中には見られなかった。m/z 850の該イオン（前駆プロリルラパマイシンのナトリウム付加体に対応する）のMS/MS分析は、m/z 115（プロリン）の損失に対応するm/z 735のイオン、又はm/z 308（前駆プロリルラパマイシンのC27～C41）の損失に対応するm/z 542のイオンのフラグメントを示した。このイオン自身は、m/z 250（前駆プロリルラパマイシンのC13～C26）の損失に対応するm/z 292のイオンに、さらにフラグメント化した。このフラグメント化パターンは、ラパマイシンに見られたパターンと同じであったが、該アミノ酸にとって、ピペコリン酸からプロリンへの変化に対応する14減少したm/z（-115）の第一損失、C38 O-メチル基の損失に対応する、14減少したm/z（-308）の第二損失、C26メトキシ、及びC15 O-メチル基の損失に対応する、44減少したm/z（-250）の第三損失、及びC8ケトン基の損失、及びピペコリン酸からプロリンへの変化に対応する14減少した質量を有する該最終イオン（306）を有していた。これは、MW 827.5の化合物が、8-デオキソ-15-O-デスメチル-26-デスメトキシ-38-O-デスメチル-プロリルラパマイシン（前駆プロリルラパマイシン）を表していることを明らかにした。

【０２５４】

（実施例８）

（9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン（39-デヒドロキシ前駆ラパマイシン、図８）の単離）

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetrapK]に、ピペコリン酸、及びシクロヘキサンカルボン酸を供給することにより、２つの主要な化合物、該天然開始単位の取込みに対応する前駆ラパマイシン、及び該供給開始単位の取込みに対応する39-デヒドロキシ前駆ラパマイシンを生成した。

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetrapK]を、ピペコリン酸2 mg/l、及びシクロヘキサンカルボン酸1 mMが供給されたTSBGM中、25℃で振盪し、生育した。該培養液体培地を、前述のように酢酸エチルで抽出した。280 nmのUV検出器を有するHPLCによる、該シクロヘキサンカルボン酸を供給したS.ハイグロスコピカス変異株MG2-10[pSGsetrapK]の培養液体培地の分析は、保持時間5.8分の１つの主要な新しいピークの存在を示した。このピークのエレクトロスプレー質量分析は、MW 825.5の化合物に対応するイオンを含むことを示した。このピークは、該rapK発現プラスミドpSGsetrapKのない、S.ハイグロスコピカスNRRL 5491、S.ハイグロスコピカスMG1C、又はS.ハイグロスコピカスMG2-10の培養液中には見られなかった。m/z 848の該イオン（39-デヒドロキシ前駆ラパマイシンのナトリウム付加体に対応する）のMS/MS分析は、m/z 129（ピペコリン酸）の損失に対応するm/z 719のイオン、又はm/z 292（39-デヒドロキシ前駆ラパマイシンのC28～C42）の損失に対応するm/z 556のイオンのフラグメントを示した。このイオン自身は、m/z 250（39-デヒドロキシ前駆ラパマイシンC14～C27）の損失に対応するm/z 306のイオンに、さらにフラグメント化した。このフラグメント化パターンは、前駆ラパマイシンに見られたパターンと同じであったが、C39ヒドロキシ基の損失に対応する、16減少したm/z（-292）の第二損失を有していた。これは、MW 825.5の化合物が、9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-3

9-デスメトキシ-ラパマイシン（39-デヒドロキシ-前駆ラパマイシン）を表していることを明らかにした。

【０２５５】

（実施例９）

（16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシン（図９）の単離）

該S.ハイグロスコピカス菌株MG2-10を、実施例１に記載されているように、pSGsetrapKIJで接合した。この菌株にピペコリン酸を供給し、かつ発酵により生産された生成物を単離することにより、16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシンを得た。該プラスミドpSGsetrapKIJ（図５）を、S.ハイグロスコピカスMG2-10内に接合し、かつ該菌株を、ピペコリン酸2 mg/lが供給されたTSBGM中、25℃で振盪し、生育した。該菌糸体を、メタノールで抽出し、かつ前述のように、該培養液体培地を酢酸エチルで抽出した。

エレクトロスプレー質量分析による、該S.ハイグロスコピカス変異株MG2-10[pSGsetrapKIJ]の抽出液の分析は、MW 869の化合物に対応するピークを含む、保持時間4.3分の一つの新しい主要なピークの存在を示した。このピークは、該rapK発現プラスミドpSGsetrapKの有無にかかわらず、S.ハイグロスコピカスNRRL 5491、S.ハイグロスコピカスMG1C、S.ハイグロスコピカスMG2-10の培養液中には見られなかった。m/z 892の該イオン（16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシンのナトリウム付加体に対応する）のMS/MS分析は、m/z 129（ピペコリン酸）の損失に対応するm/z 763のイオン、又はm/z 322（16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシンのC28～C42）の損失に対応するm/z 570のイオンのフラグメントを示した。このイオン自身は、m/z 250（16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシンのC14～C27）の損失に対応するm/z 320のイオンに、さらにフラグメント化した。このフラグメント化パターンは、ラパマイシンに見られたパターンと同じであったが、C16メチル、及びC27メトキシ基の損失に対応する、44減少したm/z（-250）の第三損失を有していた。これは、MW 869の化合物が、16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシンを表していることを明らかにした。

【０２５６】

（実施例１０）

（アレイ供給）

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetrapKI]を用い、アレイ供給を行った。主要栄養培養液を、該「物質、及び方法」に記載されているような胞子ストック未接種培地により調製した。TSB GM培地を、「物質、及び方法」欄に記載されているような方法を用いて、10%v/v接種した。下記表６に示されている下記化合物を加えた。

【０２５７】

【表６】

（表VI）

	シクロヘキサンカルボン酸（1 mM）	シクロヘキサ-1-エンカルボン酸（1 mM）	シクロヘプタンカルボン酸（1 mM）
L-リシン（25.3 mM）	X	X	X
L-プロリン（44.7 mM）	X	X	X
DL-ピペコリン酸（39.8 mM）	X	X	X
trans-4-ヒドロキシプロリン（13 mM）	X	X	X
cis-4-ヒドロキシプロリン（0.2 mM）	X	X	X

【０２５８】

該培養液を、「物質、及び方法」欄に記載されている技術を用いて、インキュベートし、抽出し、かつ測定した。表７は、開始カルボン酸、及びアミノ酸の各々の組合せで観測

されたイオン（m/z）を示す分析結果を示す：

【０２５９】

【表７】

（表VII）

	シクロヘキサンカルボン酸	シクロヘキサ-1-エンカルボン酸	シクロヘプタンカルボン酸
L-リシン	848.5	848.5	862.4
L-プロリン	834.5	834.5	848.5
DL-ピペコリン酸	848.5	848.5	862.4
trans-4-ヒドロキシプロリン	850.5	850.5	864.5
cis-4-ヒドロキシプロリン	850.5	n.a.	864.5

これらのデータは、該供給化合物の取込みを示している。

【０２６０】

（実施例１１）

（fkbOを有するS.ハイグロスコピカスMG2-10の相補性）

S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス、及びS.ツクバエンシス内のfkbOのようなrapK相同的遺伝子、及び部分的配列決定された’hyg’クラスター内のorf5（Ruanらの論文（1997））が同じ機能を果すかどうか評価するため、下記のようなfkbOを用いて、相補性アッセイを行った。

【０２６１】

（pMG169-1の単離）

FK520産生株であるストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス（ATCC 14891）からの遺伝子fkbOを、下記プライマーを用いて、PCRで増幅し、fkbOの5’端にNdeI部位、及び3’端にXbaI部位を導入した：

fkbof：5’-GGGCATATGACCGATGCCGGACGCCA-3’（配列番号：54）；及び

fkbor：5’-GGGGTCTAGATCACGCCACCATGCCTTCGA-3’（配列番号：55）。

S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス（ATCC 14891）から単離されたゲノムDNAを、鋳型として使用した。該増幅されたPCR産物を、NdeI、及びXbaIで消化し、かつpSGsetIを切ったNdeI-XbaIで連結した。該連結体を用い、E.コリDH10Bを形質転換し、かつ該形質転換体を、「物質、及び方法」欄に記載されている方法を用いて分析した。プラスミドpMG169-1を単離し、かつ制限消化により確認し、かつS.ハイグロスコピカスMG2-10を、「物質、及び方法」欄に記載されている方法を用いて、形質転換した。

【０２６２】

（fkbOによる、rapKの非相同的相補性）

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pMG169-1]を、ピペコリン酸2 mg/lが供給されたTSBGM中、25℃で振盪し、生育した。該培養液体培地、及び菌糸体を、「物質、及び方法」（方法A）に記載されている方法を用いて抽出した。280 nmのUV検出器を用いた、該抽出液の分析は、保持時間4.5、及び4.6分の２つの主要な新しいピークの存在を示した。これらのピークのエレクトロスプレー質量分析は、双方とも、前駆ラパマイシンの２つの異性体に対応する、MW 827.5のイオンを含んでいることを示した（実施例７）。

【０２６３】

（実施例１２）

（rapKノックアウト変異株に供給する内在性開始単位により、競合性がない場合における、9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシ-ラパマイシン（39-デヒドロキシ前駆ラパマイシン、図８）の効率的生成）

異なる開始単位、シクロヘキサンカルボン酸を取込む、S.ハイグロスコピカス菌株MG2-10、及びMG2-10[pSGsetrapK]の能力を、下記のように比較した。シクロヘキサンカルボン酸、及びピペコリン酸を供給した場合、MG2-10は、供給された開始単位の取込みにのみ対応する単一化合物（39-デヒドロキシ前駆ラパマイシン）のみを生成した。一方、MG2-10[pSGsetrapK]は、1:1の比で二つの化合物、39-デヒドロキシ前駆ラパマイシン、及び前駆ラパマイシンを生成した。これは、rapKが、天然内在性開始単位の取込みを必要とし、かつrapKノックアウト菌株は、供給開始単位と内在性開始単位との競合はないことを示している。

S.ハイグロスコピカスMG2-10を、ピペコリン酸2 mg/L、及びシクロヘキサンカルボン酸1 mMを供給したTSBGM上で、25℃で振盪し、増殖させた。該培養液体培地を、前述のように酢酸エチルで抽出した。280 nmのUV検出器を有するHPLCによる抽出液の分析は、保持時間5.8分の一つの新しい主要なピークの存在を示した。しかし、S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetrapK]（実施例４）は、シクロヘキサンカルボン酸（実施例８、図８）を供給した場合、～1:1の比に加えて前駆ラパマイシン（図６）を生産する。意外にも、S.ハイグロスコピカスMG2-10に、シクロヘキサンカルボン酸を供給することにより、単一生成物、39-デドロキシ前駆ラパマイシンを得た。該内在性開始剤、4,5-ジヒドロキシシクロヘキサ-1-エン カルボン酸は、rapKのない場合に取込まれない。従って、該供給カルボン酸、及び該内在性開始剤の取込みの間に競合はない。

【０２６４】

（実施例１３）

（RapMの機能の解明）

ストレプトマイセス リビダンスTK24、S.リビダンスTK24[pSGsetrapM]、及びS.リビダンスTK24[pSGsetrapQ]の培養液を、TSBGM中、30℃で振盪して、生育し、かつ前駆ラパマイシン20μg/mlを供給した。コントロールは、供給せずに残した。さらに5日間インキュベーションした後、該培養液を酢酸エチルで抽出し、乾燥させた。再構築、及びLC-MSによる分析により、未供給コントロールにおいて、ラパマイシン類似体の生成がないことを確認した。前駆ラパマイシンを供給したS.リビダンスTK24[pSGsetrapM]の抽出液中に、１つは2.5分であり、かつ一つは7.9分である、２つの主要な新しいピークを、確認した。これらのピークのエレクトロスプレー質量分析は、双方ともに9-デオキソ-16-O-メチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン（16-O-メチル-前駆ラパマイシン）と一致するMW 855.6の化合物に対応するイオンを含むことを示した。TFAの欠如において、抽出液をLC-MSで分析した場合、通常２つの異性体が観測された。新たなピークは、S.リビダンスTK24、又はS.リビダンスTK24[pSGsetrapQ]の抽出液中には確認されなかった。未修飾前駆ラパマイシンであることは、明らかである。RapMは、明らかにC16ヒドロキシルでのメチル化に関与しており、RapQは、この部位に特異的でない。

【０２６５】

（実施例１４）

（RapJの機能の解明）

S.リビダンスTK24、S.リビダンスTK24[pSGsetrapK]、S.リビダンスTK24[pSGsetrapJ]、及びS.リビダンスTK24[pSGsetrapKJ]の培養液を、TSBGM中、30℃で振盪して、生育し、かつ前駆ラパマイシン40μg/lを供給した。コントロールは、供給せずに残した。さらに5日間インキュベーションした後、該培養液を酢酸エチルで抽出し、乾燥させた。再構築、及びLC-MSによる分析により、未供給コントロールにおいて、ラパマイシン類似体の生成がないことを確認した。前駆ラパマイシンを供給したS.リビダンスTK24[pSGsetrapKJ]、及びS.リビダンスTK24[pSGsetrapJ]の抽出液中に、4.9分の１つの主要な新しいピークを確認した。このピークのエレクトロスプレー質量分析は、16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン（C9オキソ-前駆ラパマイシン）と一致するMW 855.5の化合物に対応するイオンを含むことを示した。前駆ラパマイシンが供給されたS.リビダンスTK24、及びS.リビダンスTK24[pSGsetrapK]の抽出液において、新しいピークは確認されなかった。未修飾前駆ラパマイシンであることは、明らかであった。

該FK506、及びFK520クラスターのFkbDとRapJの同一性のため、RapJは、前駆ラパマイシンのC9を酸化し、9-ヒドロキシ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン（C9 OH-前駆ラパマイシン）にすると仮定されている。さらに、RapKは、ケトンへの変換に関与すると仮定されている。意外にも、RapJの存在下、RapKの非存在下、16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシン（C9ケト-前駆ラパマイシン）が、形成された。明らかにRapJは、C9での酸化機能を有し、ケトンに完全に変換することが観測された。RapKは、C9での酸化機能を有していない。

【０２６６】

（実施例１５）

ラパマイシン修飾遺伝子の下記組合せを含むプラスミドを、下記のように構築した：pMG260（rapI、rapJ、rapN、rapO、及びrapL）、pMG261（rapI、rapJ、rapN、rapO、rapM、及びrapL）、pMG262（rapI、rapJ、rapN、rapO、rapM、rapQ、及びrapL）、pMG236（rapN、rapO、rapQ、及びrapL）、及びpMG238（rapJ、及びrapL）。

【０２６７】

（プラスミドpMG236、及びpMG238の単離）

該プラスミドpSGsetrapNOQ、及びpSGsetrapJを、BglII/XbaIを用いて消化し、かつ該単離されたベクター断片に、pSGLitrapLhisのXbaI/BglII断片1 kbを連結した。プラスミドpMG236（rapN、rapO、rapQ、及びrapLを発現する）、及びpMG238（rapJ、及びrapLを発現する）をそれぞれ単離した。

【０２６８】

（プラスミドpMG260、pMG261、及びpMG262の単離）

該プラスミドpSGSetrapKIJNOL、pSGSetrapKIJMNOL、及びpSGSetrapKIJMNOQLを、BglIIを用いて消化し、かつ単離された挿入断片（rapIのBglII部位から、rapLの後のBglII部位に該ラパマイシンクラスター遺伝子を含む）を、BglIIで消化されたpSGSetrapIからのベクター含有断片で連結した。プラスミドpMG260（rapI、rapJ、rapN、rapO、及びrapLを発現する）、pMG261（rapI、rapJ、rapN、rapO、rapM、及びrapLを発現する）、及びpMG262（rapI、rapJ、rapN、rapO、rapM、rapQ、及びrapLを発現する）を、単離した。

【０２６９】

（実施例１６）

rapKの染色体除去を行ったS.ハイグロスコピカス変異株（MG3）を、下記のように構築した。次いで、fkbOを有するrapKの相同的相補性を、記載のように行うことができ、かつラパマイシン生成物の復元を起こすであろう。fkbOは、S.ハイグロスコピカスのrapKの機能を補うことができることを示している。

【０２７０】

（rapKの染色体除去を行ったS.ハイグロスコピカス変異株MG3の単離）

下記プライマーを用い、該遺伝子rapKの外側の相同的左側領域（Schweckeらの論文（1995）に記載されている、該ラパマイシンクラスター中、nt94403からnt95429）を、S.ハイグロスコピカスNRRL5491から調製したゲノムDNAを鋳型として用いて増幅した：

RAPKF1：5’-CAAAGCTTCCTGGCGCGGTTCGGCCGGCA-3’（配列番号：56）；及び

RAPKF2：5’-TGGCATGCCCTTCCCCGCCGTTCCCTGGC-3’（配列番号：57）。

該PCR産物1kbを、T4ポリヌクレオチドキナーゼを用いてリン酸化し、かつ脱リン酸化されたSmaI切断pUC18内に連結した。E.コリDH10B中に形質転換した後、該プラスミドpMG233-7を単離した。下記プライマーを用いて、該遺伝子rapKの外側の相同性左側領域（Schweckeらの論文（1995）に記載されている、該ラパマイシンクラスター中、nt96435からnt97428）を、S.ハイグロスコピカスNRRL5491から調製したゲノムDNAを鋳型として用いて増幅した：

RAPKR1：5’-TGGCATGCCCCCGCCGAGCTGACCTGGAA-3’（配列番号：58）；及び

RAPKR2：5’-GTTCTAGAGCTTACGCGTGATGTCGAACG-3’（配列番号：59）。

【０２７１】

該1 kb PCR産物1kbを、T4ポリヌクレオチドキナーゼを用いてリン酸化し、かつ脱リン

酸化されたSmaI切断pUC18中に連結した。E.コリDH10B中に形質転換した後、該プラスミドpMG257-7を単離した。両方のプラスミドは、配列分析により確認した。該プラスミドpMG233-7をSphI/XbaIで消化し、3.7kb断片を単離し、pMG257-7をSphI/XbaIで消化し、かつ1kb断片を単離した。これらの断片を連結し、かつE.コリDH10Bの形質転換に使用した。該プラスミドpMG268-12を単離した。このプラスミドを、HindIII/XbaIで消化し、かつ2 kb断片を単離し、かつHindIII/XbaIで切ったpMG55中に連結し、かつ該DNAを用いて、E.コリDH10Bを形質転換した。該プラスミドpMG278-1を単離し、かつS.ハイグロスコピカスMG1Cの接合に用いた。

アプラマイシン耐性コロニーを単離し、かつTSBGM中24時間、30℃で振盪し、生育し、かつストレプトマイシン50 ug/lを含む培地１寒天プレート上に塗り広げた。ストレプトマイシン耐性コロニーを単離し、かつアプラマイシン感受性になることを示した。rapKの1004nt染色体除去を、該変異株MG3において、サザンブロッティングにより確認することができる。図35に概観を示す。

S.ハイグロスコピカスMG3を、TSBGM中、26℃で振盪し、生育した。該培養液体培地、及び菌糸体を、「物質、及び方法」欄に記載されている方法を用いて抽出した。UV検出器を用いた、該抽出液の分析は、特徴的ラパマイシントリエンのピークがないことを示した。

【０２７２】

（rapK染色体除去を行ったS.ハイグロスコピカス変異株MG3中のfkbOの発現）

プラスミドpMG169-1（実施例１１に記載）を、「物質、及び方法」欄に記載されている方法を用いて、S.ハイグロスコピカス変異株MG3中に形質転換した。

（fkbOによるrapKの非相同的相補性）

S.ハイグロスコピカスMG3pMG169-1を、TSBGM中、26℃で振盪し、生育した。該培養液体培地、及び菌糸体を、「物質、及び方法」欄に記載されている方法を用いて抽出した。280 nmのUV検出器を用いた、該抽出液の分析は、２つの主要な新しいピークの存在を示した。これらのピークのエレクトロスプレー質量分析は、これらはラパマイシンに対応するMW913のイオンを含むことを示した。

【０２７３】

（実施例１７）

（fkbO染色体除去を行った、該S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス変異株MG4の単離、及び非相同的相補性）

（fkbO染色体除去を行った、該S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス変異株MG4の単離）

下記プライマーを用いてS.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスATCC14891から調製されたゲノムDNAを、鋳型として使用し、相同関係の左側領域（Wuらの論文（2000）に記載されているように、該アスコマシインクラスターのnt45750からnt46751）を増幅した：

FKOF1：５’-GCTCTAGAGCCCGCGGCTCGCCGGACACG-３’（配列番号： 60）；及び

FKOF2：５’-CCCCTGCAGGCGTCCGGCATCGGTCATCAG-３’（配列番号：61）。

該PCR産物1 kbを、T4ポリヌクレオチドキナーゼを用いてリン酸化し、かつ脱リン酸化されたSmaI切断pUC18内に連結した。E.コリDH10B中に形質転換した後、該プラスミドpMG258-4を単離した。下記プライマーを用い、S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスATCC14891から調整されたゲノムDNAを、鋳型として使用し、相同関係の左側領域（Wuらの論文（2000）に記載されているように、該ラパマイシンクラスターのnt47785からnt48781）を増幅した：

FKOR1：５’-CGCCTGCAGGGATACGGTCCGCCGGGTCTGC-３’（配列番号：62）；及び

FKOR2：５’-CCAAGCTTGTACGGTTCGCCACGGGCGTGC-３’（配列番号：63）。

該PCR産物1 kbを、T4ポリヌクレオチドキナーゼを用いてリン酸化し、かつ脱リン酸化されたSmaI切断pUC18内に連結した。E.コリDH10B中に形質転換した後、該プラスミドpMG259-5を単離した。両プラスミドを、配列分析により確認した。該プラスミドpMG258-4をSbfI/HindIIIで消化し、かつ該3.7 kb断片を単離し、pMG259-5をSbfI/HindIIIで消化し、か

つ該1 kb断片を単離した。これらの断片を連結し、かつE.コリDH10Bの形質転換に使用した。該プラスミドpMG265-1を単離した。このプラスミドを、HindIII/EcoRIで消化し、かつ該2 kb断片を単離し、かつHindIII/EcoRIで切ったpMG55内に連結し、そして該DNAを、E.コリDH10Bの形質転換に使用した。該プラスミドpMG267-1を単離し、かつS.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスATCC14891の接合に使用した。

アプラマイシン耐性コロニーを単離し、かつTSBGM中、30℃で24時間振盪し、生育し、かつストレプトマイシン50μg/lを含む培地１の寒天プレート上に塗り広げた。ストレプトマイシン耐性コロニーを単離し、かつアプラマイシン感受性であることを示した。fkbOの該1034nt染色体除去を、サザンブロッティングにより、該変異株MG4内に確認した。概観を図３６に示す。

【０２７４】

（fkbOの染色体除去を行った、該S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカス変異株MG4のRapKの発現）

プラスミドpSGsetRapKを、「物質、及び方法」欄に記載されているように、S.ハイグロスコピカス変異株MG4内に形質転換した。

【０２７５】

（rapKによる、fkbOの非相同的相補性）

S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMG4 pSGSetRapKを、TSBGM中26℃で振盪し、生育した。該培養液体培地、及び菌糸体を、「物質、及び方法」欄に記載されている方法を用いて抽出する。該抽出液のLC-MS分析は、１つの主要な新しいピークを示し、かつFK520（アスコマイシン）に対応するイオンを含むことを示した。

【０２７６】

（実施例１８）

該rapK相同体が、ここに記載されている方法を用いて、除去又は不活性化されるように、FKBP-リガンド（例えば、FK506）をコードする他の生合成クラスターを改質することができることは、当業者にとって、明らかである。FK506において、例えば、これは、該fkbO遺伝子（配列受入番号AF082099、AF082100）のどちらか側の領域に対し、PCR産物を増幅すること、pMG55のようなベクター中に共にこれらを連結すること、FK506-産生菌株を形質転換すること、該二重の重複部分を選択すること、及びサザンブロッティングにより該fkbO遺伝子の除去を確認することにより、行うことができる。

【０２７７】

（実施例１９）

（内在性天然開始単位による競合のない場合に、該rapK除去菌株、S.ハイグロスコピカスMG2-10によるラパマイシン類似体中への非天然開始単位の取込み）

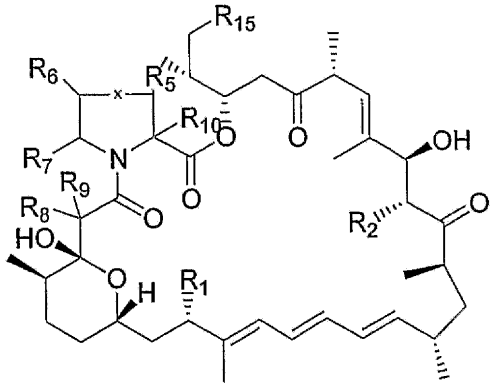
実施例１０、及び１２で示されているように、該ラパマイシンPKSは、非天然開始単位にとって、高度の柔軟性を有し、かつrapKのない場合、該システムは、該天然開始剤からの競合性がなくなる。この実施例において、柔軟性の度合いを、さらに説明する。

S.ハイグロスコピカスMG2-10を、「物質、及び方法（方法B）」に概説した供給、抽出、及び分析方法に従って生育し、供給し、かつ抽出した。生成された化合物とともに、供給されたカルボン酸類の範囲を下記に記載する。意外にも、記載した該カルボン酸のすべてが取込まれ、278 nmの特徴的UV発色団、及びエレクトロスプレー質量分析の観測により測定され、かつラパマイシン類似体の生成物を得た。

生成した該ラパマイシン類似体は、表８に記載されている下記式に対応していた。

【０２７８】

【化３８】



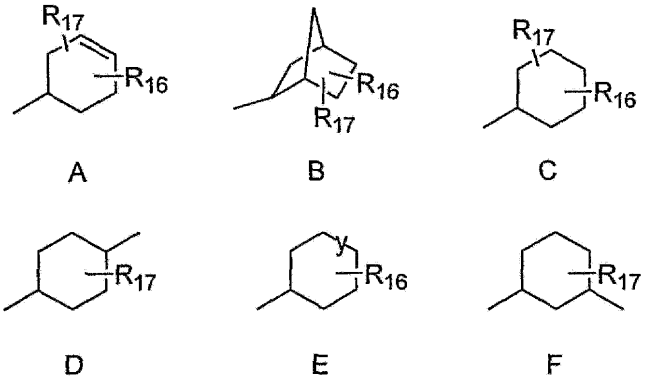
【０２７９】

R_{16} = OH、R_{17} = H、OH、ハロ、チオール、アルキル、y = 結合、CH_2

【０２８０】

【化３９】

R15 =



【０２８１】

【表８】

(表VIII)

供給されたカルボン酸開始単位	M-H	[M+K]	生成された化合物
シクロヘキサンカルボン酸	824.7	864.6	R_{15} = E, R_{16} = 4-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
3-cis,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸	840.5	880.4	R_{15} = C, R_{16} = 3-cis-OH, R_{17} = 4-trans-OH と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2 との組合せ
1-シクロヘキセンカルボン酸	824.4	864.3	R_{15} = E, R_{16} = 3-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
3-シクロヘキセンカルボン酸	840.5	880.4	R_{15} = C, R_{16} = OH, R_{17} = OH と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
	822.4	862.3	R_{15} = A, R_{16} = OH, R_{17} = H と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
シクロヘプタンカルボン酸	838.4	878.3	R_{15} = E, R_{16} = OH, y = CH_2 と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
2-ノルボルナンカルボン酸メチル	836.2	876.2	R15 = B, R16 = OH, R17 = H と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
3-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸	824.7	864.6	R_{15} = E, R_{16} = 3-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
4-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸	824.6	864.6	R_{15} = E, R_{16} = 4-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
3-メチルシクロヘキサンカルボン酸	838.4	878.3	R_{15} = F, R_{17} = OH と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
4-メチルシクロヘキサンカルボン酸	838.4	878.3	R_{15} = D, R_{17} = OH と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
3-(cis/trans)メトキシシクロヘキサンカルボン酸	824.3	864.2	R_{15} = E, R_{16} = 3-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
4-(cis/trans)メトキシシクロヘキサンカルボン酸	824.2	864.2	R_{15} = E, R_{16} = 4-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
4-シクロヘキサノンカルボン酸エチル	824.3	864.2	R_{15} = E, R_{16} = 4-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
3-フルオロ-4-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、及び4-フルオロ-3-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸	843.0	882.0	R_{15} = C, R_{16} = OH, R_{17} = F と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
3-シクロヘキサンオキシドカルボン酸	841.0	880.8	R_{15} = C, R_{16} = 3-cis-OH, R_{17} = 4-trans-OH と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2 との組合せ
3,4-cis-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸	841.2	881.1	R_{15} = C, R_{16} = 3-cis-OH, R_{17} = 4-cis-OH と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
	841.2	881.1	R_{15} = C, R_{16} = 3-trans-OH, R_{17} = 4-trans-OH と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2 との組合せ
3-クロロ-4-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、及び4-クロロ-3-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸 (及び向かい合うジアステレオマーの対)	858.8	898.8	R_{15} = C, R_{16} = OH, R_{17} = Cl と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
シクロヘキシルプロピオン酸	825.0	864.9	R_{15} = C, R_{16} = 3-cis-OH, R_{17} = 4-trans-OH と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2 との組合せ TBC

【０２８２】

（実施例２０）

（内在性天然開始単位による競合のない場合に、該rapK除去菌株、S.ハイグロスコピカス

MG2-10[pSGsetrapN/OQL$_{his}$]による、ラパマイシン類似体中への非天然開始単位の取込み
）

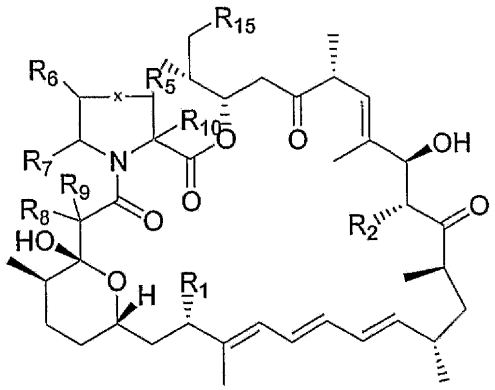
実施例１０、１２、及び１９で示されているように、該ラパマイシンPKSは、非天然開始単位にとって、高度の柔軟性を有し、かつrapKのない場合、該システムは、該天然開始剤からの競合性がなくなる。この実施例において、柔軟性の度合いを、さらに説明する。

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetrapN/OQL$_{his}$]を、「物質、及び方法（方法B）」に概説した供給、抽出、及び分析方法に従って生育し、供給し、かつ抽出した。生成された化合物とともに、供給されたカルボン酸類の範囲を下記に記載する。意外にも、記載した該カルボン酸のすべてが取込まれ、278 nmの特徴的UV発色団、及びエレクトロスプレー質量分析の観測により測定され、かつラパマイシン類似体の生成物を得た。

生成した該ラパマイシン類似体は、表９に記載されている下記式に対応していた。

【０２８３】

【化４０】

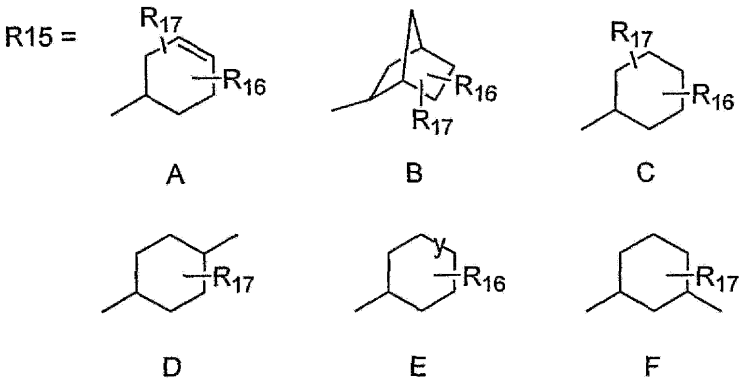


【０２８４】

R_{16} = OH、R_{17} = H、OH、ハロ、チオール、アルキル、y = 結合、CH_2

【０２８５】

【化４１】



【０２８６】

【表９】

（表IX）

供給されたカルボン酸開始単位	M-H	[M+K]	生成された化合物
シクロヘキサンカルボン酸	840.4	880.4	R_{15} = E, R_{16} = 4-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = OH, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
3-cis,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸	840.4	880.4	R_{15} = C, R_{16} = 3-cis-OH, R_{17} = 4-trans-OH と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
	856.4	896.4	R_{15} = C, R_{16} = 3-cis-OH, R_{17} = 4-trans-OH と、R_1 = OH, R_2 = OH, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
1-シクロヘキセンカルボン酸	824.4	864.4	R_{15} = E, R_{16} = 3-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
	840.4	880.4	R_{15} = E, R_{16} = 3-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = OH, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
3-シクロヘキセンカルボン酸	840.4	880.4	R_{15} = C, R_{16} = OH, R_{17} = OH と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
	822.4	862.4	R_{15} = A, R_{16} = OH, R_{17} = H と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
	840.4	880.4	R_{15} = A, R_{16} = OH, R_{17} = H と、R_1 = OH, R_2 = OH, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
シクロヘプタンカルボン酸	854.4	894.4	R_{15} = E, R_{16} = OH, y = CH_2 と、R_1 = OH, R_2 = OH, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
メチル-2-ノルボルナンカルボン酸	852.4	892.4	R_{15} = B, R_{16} = OH, R_{17} = H と、R_1 = OH, R_2 = OH, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
3-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸	824.4	864.4	R_{15} = E, R_{16} = 3-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
4-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸	840.4	880.4	R_{15} = E, R_{16} = 4-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
	824.4	864.4	R_{15} = E, R_{16} = 4-OH, y = 結合 と、R_1 = OH, R_2 = OH, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
4-メチルシクロヘキサンカルボン酸	838.4	878.4	R_{15} = D, R_{17} = OH と、R_1 = OH, R_2 = H, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ
	854.4	894.4	R_{15} = D, R_{17} = OH と、R_1 = OH, R_2 = OH, R_5 = H, R_6 = H, R_7 = H, R_8 = H, R_9 = H, R_{10} = H, x = CH_2との組合せ

【０２８７】

（実施例２０）

（内在性天然開始単位による競合のない場合に、該rapK除去菌株、S.ハイグロスコピカスMG3による、ラパマイシン類似体中への非天然開始単位の取込み）

実施例１０、１２、及び１９で示されているように、該ラパマイシンPKSは、非天然開始単位にとって、高度の柔軟性を有し、かつrapKのない場合、該システムは、該天然開始剤からの競合性がなくなる。この実施例において、柔軟性の度合いを、さらに説明する。

S.ハイグロスコピカスMG3を、「物質、及び方法（方法B）」に概説した供給、抽出、及び分析方法に従って生育し、供給し、かつ抽出した。生成された化合物とともに、供給されたカルボン酸類の範囲を下記に記載する。記載した該カルボン酸の取込み、及びラパマイシンの生成は、278 nmの特徴的UV発色団、及びエレクトロスプレー質量分析の観測により決定された。

【０２８８】

供給することができるカルボン酸開始単位は、下記化合物を含む：

シクロヘキサンカルボン酸、

3-cis,4-trans-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、

1-シクロヘキセンカルボン酸、

3-シクロヘキセンカルボン酸、
シクロヘプタンカルボン酸、
2-ノルボルナンカルボン酸メチル、
3-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、
4-ヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、
3-メチルシクロヘキサンカルボン酸、
4-メチルシクロヘキサンカルボン酸、
3-（cis/trans）メトキシシクロヘキサンカルボン酸、
4-（cis/trans）メトキシシクロヘキサンカルボン酸、
4-シクロヘキサノンカルボン酸エチル、
3-フルオロ-4-ヒドロキシカルボン酸、及び4-フルオロ-3-ヒドロキシカルボン酸、
3-シクロヘキサンオキシドカルボン酸、
3,4-cis-ジヒドロキシシクロヘキサンカルボン酸、
3-クロロ-4-ヒドロキシカルボン酸、及び4-クロロ-3-ヒドロキシカルボン酸（及び向かい合うジアステレオマーの対）、
シクロヘキシルプロピオン酸、及び4-tert-ブチルシクロヘキサンカルボン酸。

【０２８９】

（実施例２１）

（内在性天然開始単位による競合のない場合に、該fkbO除去菌株、S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMG4による、FK520類似体中への非天然開始単位の取込み）

実施例１０、１２、１９、及び２０で示されているように、該ラパマイシンPKSは、非天然開始単位にとって、高度の柔軟性を有し、かつfkbOのない場合、該FK520システムは、該天然開始剤からの競合性がなくなる。この実施例において、該FK520 PKSの柔軟性の度合いを調査し、該天然開始剤からの競合性がないことを示す。

S.ハイグロスコピカスvar.アスコマイセティカスMG4を、「物質、及び方法（方法B）」に概説した供給、抽出、及び分析方法に従って生育し、供給し、かつ抽出した。供給することができるカルボン酸類の範囲の例を、表４に示す。記載した該カルボン酸の取込み、及びFK520類似体の生成は、エレクトロスプレー質量分析により決定された。

【０２９０】

（実施例２２）

（内在性天然開始単位による競合のない場合に、該fkbO除去菌株、S.ツクバエンシスによる、FK506類似体中への非天然開始酸の取込み）

S.ツクバエンシスのfkbO除去変異株を、「物質、及び方法」に概説した供給方法に従って生育し、かつ供給した。表４に記載した該カルボン酸のサブセットを供給した。分析を、「物質、及び方法」の方法（B）に記載されているように行った。

【０２９１】

（実施例２３）

（S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetrapKILh]の発酵からの生成物の単離）

9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシンを、該S.ハイグロスコピカス菌株MG2-10を、pSGsetrapKILhで接合し、かつ下記のように生成された発酵生成物を単離することにより得た。これは、該MG2-10菌株のrapK、rapI、及びrapLの除去を補うことが可能であり、ポスト-PKS修飾を欠いた類似体である9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシンを生成することを示している。rapLが補われる場合、ピペコリン酸の供給は必要とせず、ラパマイシンの生成において、rapLが、ピペコリン酸供給の役割を果すことを確認した。

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKILhis]を、発酵し（「物質、及び方法」参照）、「物質、及び方法」に概説されている方法（B）を用いて抽出し、かつ単離した。分取HPLCに使用された該定組成溶媒システムは、60％ CH_3CN/H_2Oとした。

9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシラパマイシン（化合物６）は、下記特徴を有する。

単離収量：22 mg
分子量：856
分子式：$C_{49}H_{77}NO_{11}$
UV（HPLC分析の間のダイオードアレイ検出器による）：268 nm、278 nm、288 nm
エレクトロスプレーMS：MNa^+のm/z = 878、M-Hのm/z = 854。
　下記表１０は、$CDCl_3$中での9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシラパマイシンの^1H、及び^{13}C NMRデータをまとめたものである。
【０２９２】

【表１０】

(表X)

プロトン		δ_H		多重度		カップリング		δ_C	
1								169.0	171.5
2		4.37	5.40					55.6	52.5
3a		1.51	1.75 a					26.5	26.3
3b		2.40	2.19						
4a									20.9
4b									
5a		1.30	1.48						25.1
5b		1.68	1.72						
6a		4.45	3.26					39.0	44.4
6b		2.16	3.83						
8								171.7	172.4
9a		2.41	2.54					38.7	40.2
9b		2.67	2.89						
10								98.4	99.7
10-OH		6.62	5.34	br. s					
11		1.37	1.51					38.7	38.7
12a		1.67	1.62					27.3	27.6
12b		1.48	1.48						
13a		1.29	1.32						
13b									
14		4.21	3.87					71.3	69.6
15a		1.47 b	1.50						
15b		1.66	1.65						
16		4.21	4.06		dd		6.1, 6.1	76.0	75.6
17								141.6	138.4
18		6.08	6.22	d	d	11.2	11.2	122.5	125.0
19		6.38	6.31	dd	dd	14.0, 11.2	14.7, 11.2	128.6	127.7
20		6.01	6.17		dd		14.5, 10.5	131.1	132.2
21		6.04	6.04					130.3	130.3
22		5.18	5.30	dd	dd	14.1, 9.1	14.9, 9.3	139.4	139.1
23		2.11	2.15					39.5	37.3
24a		1.34	1.35					40.3	40.3
24b		1.68	1.67						
25		2.43	2.44					45.5	46.3
26								215.2	216.1
27a		2.53	2.60					46.7	47.9
27b		2.65	2.43						
28		4.33	4.39	dd		7.9, 3.2		71.7	71.9
29								139.6	139.6
30		5.36	5.45		d		9.9	123.7	125.4
31		3.24	3.37					46.4	45.6
32								209.0	209.1
33a		2.63	2.63					39.4	39.4
33b		2.95	2.95						
34		5.13	5.38					76.0	74.2
35		1.93	1.98 b					32.7	32.7
36a		1.04	1.03					37.8	39.8
36b		1.17	1.16						
37		1.34	1.38					33.2	33.2
38a	ax.	0.61	0.73	ddd	ddd	11.9, 11.9, 11.9	11.9, 11.9, 11.9	33.9	34.5
38b	eq.	2.04	2.09						
39		2.90	2.91					84.5	84.4
40		3.37	3.37					73.8	73.8
41a		1.31	1.31					31.2	31.2
41b		1.97	1.97						
42a		0.97	0.97					31.7	31.7
42b									
43		0.93	0.93	d	d	6.5	6.5	16.8 c	16.9 c
44		1.78	1.63	s	s			15.6	12.7
45		0.98	1.00					21.7	21.7
46		1.00	1.02					16.7	19.1
47		1.58	1.48	s	s			13.1	11.7
48		1.07	1.00	d		6.9		16.2	14.6
49		0.89	0.89	d	d	6.8	6.8	14.6 d	15.2 d
50		3.37	3.37	s	s			56.5	56.5

a：H4aに代えて割当て得る。

b：仮の割当て。
c：該割当ては相互に変え得る。
d：該割当ては相互に変え得る。
【０２９３】
化合物６は、$CDCl_3$中、配座異性体の1:1混合物として存在する。上記の該データは、配座異性体両方である。点線は、該表を横切って書かれており、スピンシステムの間の結合性を測定することはできなく、従って、特定の配座異性体に対するデータを割当てることはできない。
【０２９４】
（実施例２４）
（S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetrapKIMLh]の発酵からの産物の単離）
9-デオキソ-27-デスメトキシ-ラパマイシンを、実施例１に記載されているように、S.ハイグロスコピカスMG2-10菌株を、$pSGsetKIML_{his}$で接合し、かつ発酵により生成された生成物を単離することにより得た。これは、該MG2-10菌株のrapK、rapI、及びrapLの除去を補うことが可能であり、幾らかのポスト-PKS修飾を欠いたラパマイシン類似体を生成することを示している。
S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKIMLhis]を、「物質、及び方法」に概説した方法（B）を用いて、発酵し（「物質、及び方法」を参照）、抽出し、かつ単離した。分取HPLCに使用された該定組成溶媒システムは、75% CH_3CN/H_2Oとした。9-デオキソ-27-デスメトキシ ラパマイシン（化合物１６）は、下記特徴を有する。
単離収量：24 mg
分子量：870
分子式：$C_{50}H_{79}NO_{11}$
UV（HPLC分析の間のダイオードアレイ検出器による）：268 nm、278 nm、288 nm
エレクトロスプレーMS：MNa^+のm/z = 892、M-Hのm/z = 868。
下記表１１は、$CDCl_3$中での9-デオキソ-27-デスメトキシラパマイシンの^1H、及び^{13}C NMRデータをまとめたものである。
【０２９５】

【表１１】

(表XI)

位置		δ_H	多重度	カップリング	δ_C
1					171.0
2		5.37	m		52.0
3a		1.73	m		26.8
3b		2.22	m		
4a		1.39	m		20.5
4b		1.73	m		
5a		1.56	m		25.1
5b		1.77	m		
6a		3.34	m		43.5
6b		3.85	br. d	12.9	
8					173.4
9a		2.43	d	14.4	38.8
9b		2.74	d	14.4	
10					98.0
10-OH		6.02	s		
11		1.43	m		39.1
12a		1.44	m		27.5
12b		1.58	m		
13a		1.28	m		32.2
13b		1.45	m		
14		3.61	m		65.8
15a		1.55	m		38.6
15b		1.64	m		
16		3.70	dd	10.8, 4.7	84.5
17					134.8
18		5.98	d	9.2	130.8
19		6.34	m		126.9
20		6.32	m		133.1
21		6.11	dd	15.3, 9.0	130.6
22		5.46	dd	15.2, 8.6	139.3
23		2.22	m		35.7
24a		1.28	m		40.2
24b		1.49	m		
25		2.58	m		44.8
26					215.0
27a		2.65	m		46.2
27b		2.65	m		
28		4.37	m		73.1
29					139.8
30		5.32	d	9.9	124.5
31		3.38	m		46.3
32					208.9
33a		2.59	m		41.4
33b		2.59	m		
34		5.04	ddd	5.2, 5.2, 5.2	75.7
35		1.97	m		33.4
36a		1.11	m		38.6
36b		1.26	m		
37		1.41	m		33.1
38a	ax.	0.69	ddd	12.3, 12.3, 12.3	34.1
38b	eq.	2.11	m		
39		2.93	m		84.4
40		3.37	m		73.9
41a		1.32	m		31.2
41b		1.97	m		
42a		1.00	m		31.6
42b		1.68	m		
43		0.88	d	6.4	16.9
44		3.10	s		55.6
45		1.59	s		9.9
46		1.02	d	7.2	20.5
47		1.03	d	7.1	15.7
48		1.67	s		12.2
49		1.12	d	6.8	16.3
50		0.92	d	6.8	15.8
51		3.39	s		56.5

【０２９６】

（実施例２５）
（S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKIN/OLh]の発酵からの生成物の単離）
9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-ラパマイシンを、実施例１に記載されているように、S.ハイグロスコピカスMG2-10 菌株を、pSGsetKIN/OL_{his}で接合し、かつ発酵により生成された生成物を単離することにより得た。これは、該MG2-10菌株のrapK、rapI、rapN/O、及びrapLの除去を補うことが可能であり、幾らかのポスト-PKS修飾を欠いたラパマイシン類似体を生成することを示している。
S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKIN/OL_{his}]を、「物質、及び方法」に概説した方法（B）を用いて、発酵し（「物質、及び方法」を参照）、抽出し、かつ単離した。
分取HPLCに使用された該定組成溶媒システムは、60% CH_3CN/H_2Oとした。9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチルラパマイシン（化合物９）は、下記特徴を有する。
単離収量：77 mg
分子量：872
分子式：$C_{49}H_{77}NO_{12}$
UV（HPLC分析の間のダイオードアレイ検出器による）：268 nm、278 nm、288 nm
エレクトロスプレーMS：MNa^+のm/z = 894、M-Hのm/z = 870。
下記表１２は、$CDCl_3$中での9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチルラパマイシンの^1H、及び^{13}C NMRデータをまとめたものである。
【０２９７】

【表１２】

（表XII）

位置		δ_H	多重度	カップリング	δ_C
1					172.1
2		5.55	m		52.8
3a		1.74	m		26.0
3b		2.21	m		
4a		1.18	m		21.1
4b		1.73	m		
5a		1.44	m		25.2
5b		1.73	m		
6a		3.28	m		45.7
6b		3.87	m		
8					171.6
9a		2.41	d	12.5	42.3
9b		3.34	d	12.5	
10					99.2
10-OH		4.15	m		
11		1.61	m		38.3
12a		1.50	m		27.9
12b		1.61	m		
13a		1.36	m		31.5
13b		1.52	m		
14		3.99	m		72.5
15a		1.45	m		40.9
15b		1.70	m		
16		3.86	m		75.3
17					140.0
18		6.44	d	11.4	121.9
19		6.33	dd	14.4, 11.4	128.6
20		6.20	dd	14.8, 10.6	131.2
21		6.02	dd	14.9, 10.6	131.2
22		5.25	m		137.4
23		2.26	m		35.3
24a		1.21	m		41.1
24b		1.21	m		
25		2.37	m		40.9
26					212.8
27		4.55	d	2.3	74.9
28		4.20			77.3
29					135.8
30		5.25	m		124.9
31		3.29	m		44.9
32					208.0
33a		2.53	dd	18.2, 4.0	42.2
33b		2.81	dd	18.2, 10.6	
34		5.28	ddd	4.0, 4.0	75.8
35		1.71	m		31.2
36a		0.92	m		36.9
36b		1.04	m		
37		1.23	m		32.6
38a	ax.	0.28	ddd	11.9, 11.9, 11.9	34.2
38b	eq.	1.88	m		
39		2.85			84.8
40		3.29	m		74.1
41a		1.26	m		31.3
41b		1.92	m		
42a		0.88	m		32.3
42b		1.57	m		
43		0.98	d	6.2	16.6
44		1.59	s		14.6
45		1.01	d	6.4	21.4
46		0.89	d	6.4	12.0
47		1.90	s		15.7
48		0.92	d	6.4	15.6
49		0.84	d	6.8	17.6
50		3.37	s		57.5

【０２９８】

（実施例２６）
（S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKJLh]の発酵からの生成物の単離）
16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシンを、実施例１に記載されているように、S.ハイグロスコピカスMG2-10菌株を、pSGsetKJL$_{his}$で接合し、かつ発酵により生成された生成物を単離することにより得た。これは、該MG2-10菌株のrapK、rapJ、及びrapLの除去を補うことが可能であり、幾らかのポスト-PKS修飾を欠いたラパマイシン類似体を生成することを示している。
S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKJL$_{his}$]を、「物質、及び方法」に概説した方法（B）を用いて、発酵し（「物質、及び方法」を参照）、抽出し、かつ単離した。
分取HPLCに使用された該定組成溶媒システムは、55% CH_3CN/H_2Oとした。16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチルラパマイシン（化合物３）は、下記特徴を有する。
単離収量：176 mg（２つの相互変換する異性体の混合物）
分子量：856
分子式：$C_{48}H_{73}NO_{12}$
UV（HPLC分析の間のダイオードアレイ検出器による）：268 nm、278 nm、288 nm
エレクトロスプレーMS：MNa^+のm/z = 878、M-Hのm/z = 854。
MSフラグメント：ナトリウム付加体（m/z 878）は、３つのフラグメントを与えるように、フラグメント化された：C8-C42、m/z MNa+ 749；C1-C27、m/z MNa^+ 570；C28-C42+C1-C14、m/z MNa^+ 628。該フラグメントイオン628、及び570は、同じフラグメントを与えるようにさらにフラグメント化された：C1-C14、m/z MNa^+ 320。このC1-C14フラグメントの質量は、9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチルラパマイシン（化合物１）のナトリウム付加体のフラグメント化からの等価フラグメントよりも、14質量単位大きく、C9での酸化体と一致する。
【０２９９】
（実施例２７）
（S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKMNOLh]の発酵からの生成物の単離）
9-デオキソ-27-O-デスメチル-39-O-デスメチル-ラパマイシンを、実施例１に記載されているように、S.ハイグロスコピカスMG2-10菌株を、pSGsetKMN/OL$_{his}$で接合し、かつ発酵により生成された生成物を単離することにより得た。これは、該MG2-10菌株のrapK、rapM、rapN/O、及びrapLの除去を補うことが可能であり、幾らかのポスト-PKS修飾を欠いたラパマイシン類似体を生成することを示している。
S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKMN/OL$_{his}$]を、「物質、及び方法」に概説した方法（B）を用いて、発酵し（「物質、及び方法」を参照）、抽出し、かつ単離した。
分取HPLCに使用された該定組成溶媒システムは、60% CH_3CN/H_2Oとした。9-デオキソ-27-O-デスメチル-39-O-デスメチルラパマイシン（化合物８）は、下記特徴を有する。
単離収量：6 mg
分子量：872
分子式：$C_{49}H_{77}NO_{12}$
UV（HPLC分析の間のダイオードアレイ検出器による）：268 nm、278 nm、288 nm
エレクトロスプレーMS：MNa^+のm/z = 894、M-Hのm/z = 870。
MSフラグメント：ナトリウム付加体（m/z 894）は、３つのフラグメントを与えるように、フラグメント化された：C8-C42、m/z MNa^+ 765；C1-C27、m/z MNa^+ 586；C28-C42+C1-C14、m/z MNa^+ 614。該フラグメントイオン614、及び586は、同じフラグメントを与えるようにさらにフラグメント化された：C1-C14、m/z MNa^+ 306。このC1-C14フラグメントの質量は、9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチルラパマイシン（化合物１）のナトリウム付加体のフラグメント化から得られるフラグメントと同じである；該化合物は、9-デオキソ体である。該C1-C27フラグメントは、9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチルラパマイシンからの等価フラグメントよりも、30質量単位大きく、１つのヒドロキシル化、及び１つのメチル化と一致する。RapMは、C-16

のヒドロキシ基をメチル化（pSGsetKIML$_{his}$の実施例２３とともに、pSGsetKIL$_{his}$の実施例２２を参照）し、かつRap0と組合せたRapNは、C27をヒドロキシル化し、それにより該データは、該化合物が、9-デオキソ-27-0-デスメチル-39-0-デスメチルラパマイシン（化合物８）であることと一致する。

【０３００】

（実施例２８）

（S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKIJLh]の発酵からの生成物の単離）

16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシンを、実施例１に記載されているように、S.ハイグロスコピカスMG2-10菌株を、pSGsetKIJL$_{his}$で接合し、かつ発酵により生成された生成物を単離することにより得た。これは、該MG2-10菌株のrapK、rapI、rapJ、及びrapLの除去を補うことが可能であり、幾らかのポスト-PKS修飾を欠いたラパマイシン類似体を生成することを示している。

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKIJL$_{his}$]を、「物質、及び方法」に概説した方法（B）を用いて、発酵し（「物質、及び方法」を参照）、抽出し、かつ単離した。

分取HPLCに使用された該定組成溶媒システムは、60% CH_3CN/H_2Oとした。16-0-デスメチル-27-デスメトキシラパマイシン（化合物１２）は、下記特徴を有する。

単離収量：11 mg

分子量：870

分子式：$C_{49}H_{75}NO_{12}$

UV（HPLC分析の間のダイオードアレイ検出器による）：268 nm、278 nm、288 nm

エレクトロスプレーMS：MNa^+のm/z = 892、M-Hのm/z = 868。

【０３０１】

（実施例２９）

（S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKL$_{his}$]の発酵からの生成物の単離）

9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシンを、実施例１に記載されているように、S.ハイグロスコピカスMG2-10菌株を、pSGsetKL$_{his}$ で接合し、かつ発酵により生成された生成物を単離することにより得た。これは、該MG2-10菌株のrapK、及びrapLの除去を補うことが可能であり、幾らかのポスト-PKS修飾を欠いたラパマイシン類似体（前駆ラパマイシン）を生成することを示している。

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKL$_{his}$]を、「物質、及び方法」に概説した方法を用いて、発酵し、抽出し、かつ単離した。

分取HPLCに使用された該定組成溶媒システムは、60% CH_3CN/H_2Oとした。9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチルラパマイシン（化合物１）は、下記特徴を有する。

単離収量：24 mg

分子量：842

分子式：$C_{48}H_{75}NO_{11}$

UV（HPLC分析の間のダイオードアレイ検出器による）：268 nm、278 nm、288 nm

エレクトロスプレーMS：MNa^+のm/z = 864、M-Hのm/z = 840。

MSフラグメント：ナトリウム付加体（m/z 864.5）は、４つのフラグメントを与えるように、フラグメント化された：C8-C42、m/z MNa^+ 735；C1-C27、m/z MNa^+ 556；C28-C42+C1-C14、m/z MNa^+ 614、C1-C14、m/z MNa^+ 306。これらのフラグメントの予期されるm/zは、報告されているラパマイシンのフラグメント（J. A. Reather、博士論文、ケンブリッジ大学（2000））と比較して決定された。これらのフラグメントは、9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチルラパマイシンのフラグメントの予期されたm/zと同じm/zを有する。

【０３０２】

（実施例３０）

（シクロヘキサンカルボン酸を供給したS.ハイグロスコピカスMG2-10の発酵からの生成物の単離）

9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシンを、S.ハイグロスコピカスMG2-10に、シクロヘキサンカルボン酸を供給し、かつ発酵により生成された生成物を単離することにより得た。得られた変異合成体は、該MG2-10菌株のrapKの除去を補うことが可能であり、天然内在性開始剤がない場合、ポスト-PKS修飾を欠いた、ラパマイシン類似体の生成物を得ることを示している。

S.ハイグロスコピカスMG2-10を、「物質、及び方法」に概説した方法（B）を用いて、発酵し（「物質、及び方法」を参照）、抽出し、かつ単離した。

分取HPLCに使用された該定組成溶媒システムは、60% CH_3CN/H_2Oとした。99-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシラパマイシン（化合物４７）は、下記特徴を有する。

単離収量：12 mg
分子量：826
分子式：$C_{48}H_{75}NO_{10}$
UV（HPLC分析の間のダイオードアレイ検出器による）：268 nm、278 nm、288 nm
エレクトロスプレーMS：MNa^+のm/z = 848.5、M-Hのm/z = 825。

MSフラグメント：ナトリウム付加体（m/z 848.5）は、４つのフラグメントを与えるように、フラグメント化された：C8-C42、m/z MNa^+ 719；C1-C27、m/z MNa^+ 556；C28-C42+C1-C14、m/z MNa^+ 598、C1-C14、m/z MNa^+ 306。これらのデータは、化合物４７と9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチルラパマイシン（化合物１）との間の相違が、C28-C42の範囲にあることを示している。化合物４７にとって、このフラグメントは、化合物１よりも16質量単位小さく、化合物４７は、9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシラパマイシンであることと一致する。

【０３０３】

（実施例３１）

（S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKNOLh]の発酵からの生成物の単離）

9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-O-デスメチル-ラパマイシンを、実施例１に記載されているように、S.ハイグロスコピカスMG2-10菌株に、$pSGsetKN/OL_{his}$を接合し、かつ発酵により生成された生成物を単離することにより得る。これは、該MG2-10菌株のrapK、rapN/O、及びrapLの除去を補うことが可能であり、幾らかのポスト-PKS修飾を欠いたラパマイシン類似体（前駆ラパマイシン）を生成することを示している。

S.ハイグロスコピカスMG2-10[$pSGsetKN/OL_{his}$]を、「物質、及び方法」に概説した方法（B）を用いて、発酵し（「物質、及び方法」を参照）、抽出し、かつ単離した。分取HPLCに使用された該定組成溶媒システムは、60% CH_3CN/H_2Oとした。9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-O-デスメチルラパマイシン（化合物２）は、下記特徴を有する。

分子量：858
分子式：$C_{48}H_{75}NO_{12}$
UV（HPLC分析の間のダイオードアレイ検出器による）：268 nm、278 nm、288 nm
エレクトロスプレーMS：MNa^+のm/z = 896、M-Hのm/z = 856。

【０３０４】

（実施例３２）

（S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKJNOLh]の発酵からの生成物の同定）

16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-O-デスメチル-ラパマイシンを、実施例１に記載されているように、S.ハイグロスコピカスMG2-10菌株に、$pSGsetKJN/OL_{his}$を接合し、かつ発酵により生成された生成物を分析することにより得た。これは、該MG2-10菌株のrapK、rapJ、rapN/O、及びrapLの除去を補うことが可能であり、幾らかのポスト-PKS修飾を欠いたラパマイシン類似体を生成することを示している。

該発酵培養液（1 mL）を、「物質、及び方法」に記載されている抽出、単離、及び分析の方法（B）に記載されているように処理した。該HPLCクロマトグラム（280 nm）は、特徴的ラパマイシントリエン（268 nm、278 nm、288 nm）を有するピークを得た。このピー

クは、該カセットのないS.ハイグロスコピカスMG2-10から抽出されたコントロール試料の該クロマトグラムでは観測されなかった。該新規ラパマイシン類似体ピークのLCMS（「物質、及び方法」の方法Bを参照）は、m/z 895（MNa^+）、及び871（M-H）のイオンを与えた。これらのイオンは、該新規ラパマイシン類似体の分子量が872であり、9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチルラパマイシン（化合物１）よりも30質量単位大きく、C9での酸化（rapJ）、及びC27でのヒドロキシル化（rapN/O）と一致することを確認する。これらのデータは、該化合物が、16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-O-デスメチルラパマイシン（化合物７）であることと一致する。

【０３０５】

（実施例３３）

（S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKJNOLh]の発酵からの生成物の単離）

16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-O-デスメチル-ラパマイシンを、実施例１に記載されているように、S.ハイグロスコピカスMG2-10菌株に、pSGsetKJN/OL_{his}を接合し、かつ発酵により生成された生成物を単離することにより得た。これは、該MG2-10菌株のrapK、rapJ、rapN/O、及びrapLの除去を補うことが可能であり、幾らかのポスト-PKS修飾を欠いたラパマイシン類似体を生成することを示している。

S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKJN/OL_{his}]を、「物質、及び方法」に概説した方法（B）を用いて、発酵し（「物質、及び方法」を参照）、抽出し、かつ単離した。

分取HPLCに使用された該定組成溶媒システムは、60% CH_3CN/H_2Oとした。16-O-デスメチル-27-O-デスメチル-39-O-デスメチルラパマイシン（化合物７）は、下記特徴を有する。

分子量：872

分子式：$C_{48}H_{73}NO_{13}$

UV（HPLC分析の間のダイオードアレイ検出器による）：268 nm、278 nm、288 nm

エレクトロスプレーMS：MNa^+のm/z = 895、M-Hのm/z = 871。

【０３０６】

（実施例３４）

（S.ハイグロスコピカスMG2-10[pSGsetKIJNOQLh]の発酵からの生成物の同定）

16-O-デスメチル-ラパマイシンを、実施例１に記載されているように、S.ハイグロスコピカスMG2-10菌株に、pSGsetKIJN/OQL_{his}を接合し、かつ発酵により生成された生成物を分析することにより得た。これは、該MG2-10菌株のrapK、rapI、rapJ、rapN/O、rapQ、及びrapLの除去を補うことが可能であり、C16-OHでのメチル化を欠いたラパマイシン類似体の生成を示している。さらに、明らかに、C27-OHのメチル化に関与する該SAM-依存性O-メチルトランスフェラーゼとして、RapQが同定された。

S.ハイグロスコピカス[pSGsetKIJN/OQL_{his}]を、「物質、及び方法」に概説した方法（B）を用いて、発酵し（「物質、及び方法」を参照）、抽出し、かつ分析した。

該発酵培養液（1 mL）を、「物質、及び方法」に記載されているように処理した。該HPLCクロマトグラム（280 nm）は、特徴的ラパマイシントリエン（268 nm、278 nm、288 nm）を有するピークを得た。このピークは、該カセットのないS.ハイグロスコピカスMG2-10から抽出されたコントロール試料の該クロマトグラムでは観測されなかった。該新規ラパマイシン類似体ピークのLCMS（「物質、及び方法」を参照）は、m/z 923（MNa^+）、及び899（M-H）のイオンを与えた。これらのイオンは、該新規ラパマイシン類似体の分子量が900であり、ラパマイシンよりも14質量単位小さいことを確認する。該ポスト-PKS遺伝子は、C16-OHをメチル化する該カセットrapMのみを含まず、従って該新規ラパマイシンは、16-O-デスメチルラパマイシン（化合物２０）であり、かつrapQは、C27でのO-メチル化に機能し、かつ行うことを示すことがすでに定着している。

【０３０７】

（実施例３５）

（ラパマイシン類似体のバイオアッセイ：）

（1） = 9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチル-ラパマイシ

ン（前駆ラパマイシン）、
（6） = 9-デオキソ-16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-ラパマイシン、
（16） = 9-デオキソ-27-デスメトキシ-ラパマイシン、
（3） = 16-0-デスメチル-27-デスメトキシ-39-0-デスメチル-ラパマイシン、
（9） = 9-デオキソ-16-0デスメチル-27-0-デスメチル-ラパマイシン、
（8） = 9-デオキソ-27-0-デスメチル-39-0-デスメチル-ラパマイシン。
【０３０８】
（癌細胞系統：）
悪性腫瘍HT29（結腸）、及びMCF-7（乳房）の付随的な人腫瘍細胞系統の成長阻害を、マイクロ滴定プレートを使用し、MTT（3-（4,5-ジメチルチアゾール-2-イル）-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミド）アッセイを用いて、インビトロで処理した（Sieuwerts A.M.らの論文（1995））。全細胞系統を、ATCC（American Type Culture Collection）、又はECACC（European Collection of Cell Cultures）から得た。すべての細胞系統を冷凍ストックから生育し、かつRPMI 1640に使用する前に、少なくとも一度、RPMI 1640内に通過させた。細胞を、最小のトリプシン処理を用いてサブ-融合性培養液から収集した。細胞を、RPMI 1640内の各細胞系統にとって、適切な密度に希釈し（細胞倍加時間に依存）、１ウェルにつき100μｌの容量で、96ウェルプレートの60ウェル内に接種した（すなわち、該プレートの外側のウェルを使用しなかった。）。プレートを、37℃で一晩、インキュベートした。このインキュベーション後、参照、及び試験物質のログスケール希釈液を、１ウェルにつき100μｌ加え、６つの複製を使用し、すべての試験化合物、参照化合物、及び培地コントロールを試験した。分析の前に、プレートを、さらに72時間インキュベートした。MTT（5 mg/ml）を、各ウェルに加え、かつプレートを、3～4時間、再びインキュベートした。未反応MTTを、該ウェルから除去し、かつ該MTTから形成されたホルマザン結晶を、DMSO中に溶解し、そして570 nmの特徴的な吸収を示した。最大阻害度の50％（IC50）を得るように、各試験化合物、及び参照化合物の濃度（nM）を、各ウェル系統に対して計算し、かつ観測される阻害の最大パーセンテージ（Im）とともに見積もった（表１３参照）。参考として、ラパマイシンは、該HT-29細胞系統内で、200nMのIC50、及び40％のIm、及び該MCF-7細胞系統内で、0.03 nMのIC50、及び56％のImを有する。
【０３０９】
【表１３】
(表XIII)

アッセイ	1		6		16		3		9		8	
	IC_{50}	I_m	IC_{50}	I_m	IC_{50}	I_m	IC_{50}	I_m	IC_{50}	I_m	IC_{50}	I_m
HT29	50.1	38	25	38	15.8	25	63.1	37	12.6	35	63	30
rIC_{50}												
MCF-7	3.2	38	126	48	2	32	20	38	17.8	40	20	38
rIC_{50}												

【０３１０】
（混合リンパ球反応（MLR）：）
同種移植に先立ち、組織適合性評価に独創的に開発されたMLRは、インビトロにおける免疫反応の確立されたモデルを提供する（SOULILLOU J.P.らの論文（1975）；T. Meo.”免疫学的方法”、L. Lefkovits、及びB. Pernisの論文、アカデミックプレス社、N.Y. pp. 227-239（1979））。MLRを、C57BL/6マウス（5×105細胞）から単離した脾臓リンパ球と、CBAマウス（2.5×105細胞）からの阻害された脾臓リンパ球とを混合することにより行った。該阻害CBAリンパ球は、C57BL/6リンパ球において、増殖応答を示し、かつこれは、C57BL/6マウスから単離された脾臓リンパ球増殖の測定として、DNA内に取込まれた[3H] thymidineにより測定した。増殖阻害効果を、参照化合物、試験化合物、及び培地コントロールのログスケール希釈液の存在下、72時間、終了まで37℃で評価した。リンパ球増殖

が50％阻害（IC50）される、各試験化合物、及び参照化合物の濃度を、コントロールの増殖と比較し、各ウェル系統に対して計算し、かつリンパ球増殖の50％阻害に必要なラパマイシン濃度（rIC50）の比として見積もった（表１４参照）

【０３１１】

【表１４】

(表XIV)

アッセイ	1	6	16	3	9	8
MLR	9.4	8.8	>14.7	7.9	6.5	4.1
rIC_{50}						

【０３１２】

（抗真菌アッセイ：）

参照、及び試験化合物の比較の抗真菌活性を、病原性真菌のカンジダ アルビカンスDSM 5816、カンジダ アルビカンスDSM 1386、及びカンジダ グラブラータDSM 11226に対して測定した。これは、酵母菌用培養液希釈抗真菌感受性試験：認定規格（M27-A、vol. 17 No. 9.（1997））のNCCLS参考方法のマイクロタイタープレート適合を用いて達成された。酵母菌株を、MOPS 0.165 mMを含む、pH 7のRPMI 1640培地に接種した（104 cfu/ml）。37℃で振盪し、インキュベーション後、生育を、参照化合物、試験化合物、及び培地コントロールのログスケール希釈液の存在下で測定した。最小阻止濃度（MIC）、及び最小殺真菌活性（MFC）を、試験化合物に対し測定し、かつラパマイシン最小阻止濃度（rMIC）の比として表した（表１５参照）。

【０３１３】

【表１５】

(表XV)

アッセイ	1	6	16	3	9	8
C. アルビカンス (C. albicans) DSM 5816 rMIC	1	1	1	1	1	1
C. アルビカンス (C. albicans) DSM 1386 rMIC	5	5	5	1	1	1
C. グラブラタ (C. glabrata) DSM 11226 rMIC	5	5	5	1	1	1

【０３１４】

（参考文献）

Alarcon, C.M.、Heitman, J.、及びCardenas, M.E.（1999）「酵母菌内の標的ラパマイシンTORタンパク質の毒性エフェクタードメインのタンパク質キナーゼ活性、及び同定」（Molecular Biology of the Cell 10：2531-2546）

Aparicio, J.F.、Molnr, I.、Schwecke, T.、Knig, A.、Haydock, S.F.、Khaw, L.E.、Staunton, J.、及びLeadlay, P.F.（1996）「ストレプトマイセス ハイグロスコピカスにおける、ラパマイシンの生合成遺伝子クラスターの構成：モジュラーポリケチドシンターゼ内の酵素ドメインの分析」（Gene 169：9-16）

Baker, H.、Sidorowicz, A.、Sehgal, S.N.、及び Vzina, C.（1978）「ラパマイシン（AY-22,989）、新しい抗真菌性抗生物質III インビトロ、インビボにおける評価」（Journal of Antibiotics 31：539-545）

Bierman, M.、Logan, R.、O’Brien, K.、Seno, E.T.、Nagaraja Rao, R.、及びSchoner, B.E.（1992）「エシェリキアコリからストレプトマイセスspp.へのDNA接合伝達のためのプラスミドクローニングベクター」（Gene 116：43-49）

Blanc, V.、Lagneaux, D.、Didier, P.、Gil, P.、Lacroix, P.、及びCrouzet, J.（1995）「プリスチナマイシンIIBからプリスチナマイシンIIA（PIIA）への変換に伴う酵素をコードするストレプトマイセス プリスチナエスピラリスからの構造遺伝子のクローニング、及び分析：PIIAシンターゼ、及びNADH：リボフラビン5’-リン酸オキシレダクターゼ」（Journal of Bacteriology 177：5206-5214）

Blanc, V.、Gil, P.、Bamas-Jacques, N.、Lorenzon, S.、Zagorec, M.、Schleuniger, J.、Bisch, D.、Blanche, F.、Debussche, L.、Crouzet, J.、及びThibaut, D.（1997）「プリスチナマイシンIの4-ジメチルアミノ-L-フェニルアラニン前駆体の生合成を伴う酵素をコードする、ストレプトマイセス プリスチナエスピラリスからの遺伝子の同定、及び分析」（Molecular Microbiology 23：191-202）

【０３１５】

Box, S.J.、Shelley, P.R.、Tyler, J.W.、Verrall, M.S.、Warr, S.R.C.、Badger, A.M.、Levy, M.A.、及びBanks, R.M.（1995）「27-O-デメチルラパマイシン、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスの新規菌株により製造された免疫抑制化合物」（Journal of Antibiotics 48：1347-1349）

Brown, E.J.、Albers, M.W.、Shin, T.B.、Ichikawa, K.、Keith, C.T.、Lane, W.S.、及びSchreiber, S.L.（1994）「G1-抑止ラパマイシン-レセプターの標的とされる哺乳類のタンパク質」（Nature 369：756-758）

Brunn, G.J.、Williams, J.、Sabers, C.、Wiederrecht, G.、Lawrence, J.C.、及びAbraham, R.T.（1996）「ホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤による、ラパマイシンの標的の哺乳動物のシグナル伝達機能の直接阻害、ワートマニン、及びLY294002」（EMBO Journal 15：5256-5267）

Cao, W.、Mohacsi, P.、Shorthouse, R.、Pratt, R.、及びMorris, R.E.（1995）「血管平滑筋細胞DNA合成を刺激する成長因子に対するラパマイシンの効果　塩基性線維芽細胞成長因子、及び血小板由来成長因子の作用の阻害、及びFK506によるラパマイシンの拮抗作用」（Transplantation 59（3）：390-395）

Carlson, R.P.、Hartman, D.A.、Tomchek, L.A.、Walter, T.L.、Lugay, J.R.、Calhoun, W.、Sehgal, S.N.、及びChang, J.Y.（1993）「ラパマイシン、潜在的疾患修飾抗関節炎剤」（J. Pharmacol. Exp. Ther. 266（2）:1125-38）

Chambraud, B.、Radanyi, C.、Camonis, J.H.、Shazand, K.、Rajkowski, K.、及びBaulieu, E.E.（1996）「FAP48、イムノフィリンFKBP59、及びFKBP12の両方の特有の複合体を形成する新しいタンパク質　免疫抑制剤FK506、及びラパマイシンによる予防」（Journal of Biological Chemistry 271：32923-32929）

【０３１６】

Chang, J.Y.、Sehgal, S.N.、及びBansbach, C.C.（1991）「FK50、及びラパマイシン：免疫応答の新規薬理学的プローブ」（Trends in Pharmacological Sciences 12：218-223）

Chen, J.、Zheng, X.F.、Brown, E.J.、及びSchreiber, S.L.（1995）「FKBP12-ラパマイシン-付随タンパク質289-kDa内のFKBP12-ラパマイシン-結合ドメイン11-kDaの同定、及び重要なセリン残基の特徴」（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 92：4947-4951）

Chini, M.、Crotti, P.、Gardelli, C.、及びMacchia, F.（1992）（Tetrahedron、48、3805-3812）

Choi, J.W.、Chen, J.、Schreiber, S.L.、及びClardy, J.（1996）「人FRAPの結合ドメインと相互作用するFKBP12-ラパマイシン複合体の構造」（Science 273：239-242）

Chung, L.、Liu, L.、Patel, S.、Carney, J.R.、及びReeves, C.D.（2001）「ストレプトマイセス ハイグロスコピカスのラパマイシン遺伝子クラスターのrapQNML除去は、生成物16-O-デスメチル-27-デスメトキシ類似体を与える」（Journal of Antibiotics 54：250-256）

Corey, E. J.、及びHuang, H.（1989）（Tetrahedron Lett.、30、5235-5238）

DiLella, A.G.、及びCraig, R.J.（1991）「人のFKBP-12遺伝子のエキソンの構成：構造と機能性タンパク質ドメインとの相関」（Biochemistry 30：8512-8517）
Du, L.C.、Snchez, C.、Chen, M.、Edwards, D.J.、及びShen, B.（2000）「非リボソーム型ペプチドシンテターゼとポリケチドシンターゼとの間の機能的相互作用をサポートするストレプトマイセス バーティシルスATCC15003からの抗腫瘍剤ブレオマイシンの生合成遺伝子クラスター」（Chemistry & Biology 7：623-642）
Dudkin, L.、Dilling, M.B.、Cheshire, P.J.、Harwood, F.C.、Hollingshead, M.、Arbuck, S.G.、Travis, R.、Sausville, E.A.、及びHoughton, P.J.（2001）「ラパマイシンエステルCCI-779によるmTOR阻害と腫瘍成長阻害との生物学的相関」（Clin. Cancer Res. 7（6）:1758-64）
Fehr, T.、Sanglier, J-J.、Schuler, W.、Gschwind, L.、Ponelle, M.、Schilling, W.、及びWioland, C.（1996）「アンタスコミシンA、B、C、D、及びE：ミクロモノスポラ菌株からの新規FKBP12結合性化合物」（J. Antibiot. 49（3）：230-233）
【０３１７】
Ferrari, S.、Pearson, R.B.、Siegmann, M.、Kozma, S.C.、及びThomas, G.（1993）「免疫抑制剤ラパマイシンは、新規な一組の部位の脱リン酸化を介して、P70s6kの不活性化を誘導する」（Journal of Biological Chemistry 268：16091-16094）
Findlay, J.A、及びRadics, L.（1980）（Canadian Journal of Chemistry 58:579）
Fishbein, T.M.、Florman, S.、Gondolesi, G.、Schiano, T.、LeLeiko, N.、Tschernia, A.、及びKaufman, S.（2002）「シロリムスの導入前、及び導入後の腸移植」（Transplantation. 73（10）:1538-42）
Foey, A.、Green, P.、Foxwell, B.、Feldmann, M.、及びBrennan, F.（2002）「サイトカイン-刺激性T細胞は、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ、及びp70S6Kに依存する、マクロファージIL-10製造を誘導する：関節リウマチとの関係」（Arthritis Res. 4（1）:64-70. Epub 2001 Oct 10）
Gaisser, S.、Reather, J.、Wirtz, G.、Kellenberger, L.、Staunton, J.、及びLeadlay, P.F.（2000）「サッカロポリスポラ エリスラエアにおける、混成マクロライド生合成のための規定されたシステム」（Molecular Microbiology 36：391-401）
Gaisser, S.、Lill, R.、Staunton, J.、Mendez, C.、Salas, J.、Leadlay, PF.（2002）「サッカロポリスポラ エリスラエアにおける、14員環ポリケチドマクロラクトンの酸化に並行する経路」（Mol Microbiol 44:771-81）
Galat, A.（2000）「幾つかの異なるゲノムにおける、FK506-結合タンパク質の配列の多様性」（European Journal of Biochemistry 267：4945-4959）
Gregory, C.R.、Huie, P.、Billingham, M.E.、及びMorris, R.E.（1993）「ラパマイシンは、同種免疫、及び機械的損傷の両方により引き起こされる動脈内膜肥厚を抑制する損傷した血管における、細胞、成長因子、及びサイトカイン応答のその効果」（Transplantation 55（6）:1409-1418）
Gregory, MA、Till, R、及びSmith, MCM.（in Press）「ストレプトマイセスファージΦBT1の組込み部位、及び部位特異的組込み型ベクターの開発」（J Bacteriol）
Guba, M.、von Breitenbuch, P.、Steinbauer, M.、Koehl, G.、Flegel, S.、Hornung, M.、Bruns, C.J.、Zuelke, C.、Farkas, S.、Anthuber, M.、Jauch, K.W.、及びGeissler, E.K.（2002）「ラパマイシンは、抗血管新生により、主要、かつ転移性の腫瘍成長を阻害する：血管内皮細胞増殖因子の関与」（Nature Medicine 8：128-135）
【０３１８】
Hamilton, G.S.、及びSteiner, J.P.（1998）「イムノフィリン：免疫抑制剤を凌駕する」（Journal of Medicinal Chemistry 41：5119-5143）
Hara, K.、Yonezawa, K.、Kozlowski, M.T.、Sugimoto, T.、Andrabi, K.、Weng, Q.P.、Kasuga, M.、Nishimoto, I.、及びAvruch, J.（1997）「mTORによる、eIF-4E BP1リン酸化の調節」（Journal of Biological Chemistry 272：26457-26463）
Hardwick, J.S.、Kuruvilla, F.G.、Tong, J.K.、Shamji, A.F.、及びSchreiber, S.L.

（1999）「ラパマイシン転写調節は、Torタンパク質により直接制御される、栄養素感受性シグナル伝達経路を規定する」（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 96：14866-14870）
Hatanaka, H.、Kino, T.、Miyata, S.、Inamura, N.、Kuroda, A.、Goto, T.、Tanaka, H.、Okuhara, M.（1988）「FR-900520、及びFR-900523、ストレプトマイセスから単離された新規免疫抑制剤II　発酵、単離、及び物理-化学、及び生物学的特性」（J. Antibiot.（Tokyo）. 41（11）:1592-601）
Hatanaka, H、Kino, T、Asano, M、Goto, T、Tanaka, H、Okuhara, M.（1989）「ストレプトマイセス ツクバエンシスNo.9993により製造された、FK-506関連化合物」（J. Antibiot.（Tokyo）. 42（4）:620-2）
Hendrickson, B.A.、Zhang, W.、Craig, R.J.、Jin, Y.J.、Bierer, B.E.、Burakoff, S.、及びDiLella, A.G.（1993）「人の、及びマウスのFK506結合タンパク質（FKBP）13をコードする遺伝子の構造機構、及びFKBP1との比較」（Gene 134：271-275）
Hentges, K.E.、Sirry, B.、Gingeras, A.C.、Sarbassov, D.、Sonenberg, N.、Sabatini、D.、及びPeterson、A.S.（2001）「FRAP/mTORは、マウスの胚発生の間の増殖、及び様式に必須である」（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98：13796-13801）
Hopwood, D.A.（1997）「ポリケチドシンターゼを理解する遺伝的関与」（Chemical Reviews 97：2465-2497）
【０３１９】
Hosted, T.J.、及びBaltz, R.H.（1997）「ストレプトマイセス ロセオスポラスにおける、支配的選択、及び遺伝子置換のためのrpsLの用途」（Journal of Bacteriology 179：180-186）
Hung, D.T.、及びSchreiber, S.L.（1992）「人のFK506、及びラパマイシン結合タンパク質25 kDaのcDNAクローニング」（Biochemical and Biophysical Research Communications 184：733-738）
Hung, D.T.、Jamison, T.F.、及びSchreiber, S.L.（1996）「天然物を用いる細胞サイクルの理解、及び制御」（Chemistry & Biology 3：623-639）
Jain, S.、Bicknell, G.R.、Whiting, P.H.、及びNicholson, M.L.（2001）「ラパマイシンは、腎虚血再潅流傷害の実験モデルにおいて、線維症関連遺伝子の発現を低下する」（Transplant Proc. 33（1-2）:556-8）
Jin, Y.J.、Burakoff, S.J.、及びBierer, B.E.（1992）「高親和性ラパマイシン結合タンパク質25-kDa、FKBP25の分子クローニング」（Journal of Biological Chemistry 267：10942-10945）
Kahan, B.D.、Chang, J.Y.、及びSehgal, S.N.（1991）「新しい潜在的免疫抑制剤の前臨床評価、ラパマイシン」（Transplantation 52：185-191）
Kahan, B.D.、及びCamardo, J.S.（2001）「ラパマイシン：臨床結果と将来の機会」（Transplantation 72:1181-1193）
Kallen, J. A.、Sedrani, R.、及びCottens, S.（1996）「FKBP12と複合した28-O-メチルラパマイシンのX-線結晶構造：ラパマイシンのエフェクタードメインは、シクロヘキシル部位なのか？」（Journal of the American Chemical Society 118：5857-5861）
Kawasome, H.、Papst, P.、Webb, S.、Keller, G.M.、Johnson, G.L.、Gelfand, E.W.、及びTerada, N.（1998）「p70s6kの狙った破壊は、タンパク質合成、及びラパマイシン感受性において、その役割を規定する」（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 95：5033-5038）
Khaw, L.E.、Bhm, G.A.、Metcalfe, S.、Staunton, J.、及びLeadlay, P.F.（1998）「想定されるリジンシクロデアミナーゼをコードするrapLを破壊したストレプトマイセス ハイグロスコピカスNRRL 5491の菌株による、新規ラパマイシンの変異生合成」（Journal of Bacteriology 180：809-814）
【０３２０】

Kieser, T.、Bibb, M.J.、Buttner, M.J.、Chater, K.F.、及びHopwood, D.A.（2000）「実用的ストレプトマイセス遺伝学」（John Innes Foundation、Norwich）
Kirby, B.、及びGriffiths, C.E.M.（2001）「乾癬：その未来」（British Journal of Dermatology 144:37-43）
Kirchner, G.I.、Winkler, M.、Mueller, L.、Vidal, C.、Jacobsen, W.、Franzke, A.、Wagner, S.、Blick, S.、Manns, M.P.、及びSewing, K.-F.（2000）「７人の腎移植患者における、SDZ RADの初回投与後の、代謝産物を含む、SDZ RAD、及びサイクロスポリンの薬物動態学」（British Journal of Clinical Pharmacology 50:449-454）
Knig, A.、Schwecke, T.、Molnr, I.、Bhm, G.、Lowden, P.A.S.、Staunton, J.、及びLeadlay, P.F.（1997）「免疫抑制剤ラパマイシンの生合成のためのピペコレート-取込み酵素　ストレプトマイセス ハイグロスコピカスからのrapPヌクレオチド配列の分析、破壊、及び非相同的発現」（European Journal of Biochemistry 247：526-534）
Kunz, J.、Loeschmann, A.、Deuter-Reinhard, M.、及びHall, M.N.（2000）「FAP1、酵母内で、FKBP12と結合するラパマイシンと競合する、人の転写因子NF-X1の相同性」（Molecular Microbiology 37：1480-1493）
Kuo, C.J.、Chung, J.K.、Fiorentino, D.F.、Flanagan, W.M.、Blenis, J.、及びCrabtree, G.R.（1992）「ラパマイシンは、p70 S6キナーゼのインターロイキン-2 の活性化を、選択的に阻害する」（Nature 358：70-73）
Lee, M.H. Pascopella, L.、Jacobs, W.R.Jr.、及びHatfull, G.F（1991）「マイコバクテリオファージL5の部位特異的組込み：マイコバクテリアスメグマ菌、マイコバクテリア結核症、及びカルメットゲラン菌のための組込み熟練ベクター」（Proc. Natl. Acad. Sci. USA、88:3111-3115）

【０３２１】

Lee, M.H.、Pascopella, L.、Jacobs, W.R. Jr.、Hatfull, G.F.（1991）「マイコバクテリオファージL5の部位特異的組込み：マイコバクテリアスメグマ菌、マイコバクテリア結核症、及びカルメットゲラン菌のための組込み熟練ベクター」（Proc Natl Acad Sci USA；88:3111-5）
Liang, J.、Choi, J.、及びClardy, J.（1999）「2.2 で解析された、FKBP12-ラパマイシン-FRBの３つの複合体の精密な構造」（Acta Crystallographica Section D-Biological Crystallography 55：736-744）
Lomovskaya, N.、Fonstein, L.、Ruan, X.、Stassi, D.、Katz, L.、及びHutchinson, C.R.（1997）「ラパマイシンを製造するストレプトマイシン ハイグロスコピカス菌株ATCC 29253における、遺伝子破壊、及び置換」（Microbiology-Uk 143：875-883）
Lowden, P.A.S.、Bhm, G.、Staunton, J.、及びLeadlay, P.F.（1996）「ラパマイシンポリケチドシンターゼのための開始単位の性質」（Angewandte Chemie 35：2249-2251）
Lowden, P.A.S.、（1997）の博士論文、ケンブリッジ大学「ラパマイシンのせ位合成に関する研究」
Lowden, P.A.S.、Wilkinson, B.、Bhm, G.A.、Handa, S.、Floss, H.G.、Leadlay, P.F.、及びStaunton, J.（2001）「ラパマイシンポリケチドシンターゼのための開始単位の起源、及び本質」（Angewandte Chemie-International Edition 40：777-779）
Luengo, J.I.、Yamashita, D.S.、Dunnington, D.、Beck, A.K.、Rozamus, L.W.、Yen, H.K.、Bossard, M.J.、Levy, M.A.、Hand, A.、Newmantarr, T.、Badger, A.、Faucette, L.、Johnson, R.K.、Dalessio, K.、Porter, T.、Shu, A.Y.L.、Heys, R.、Choi, J.W.、Kongsaeree, P.、Clardy, J.、及びHolt, D.A.（1995）「ラパマイシン類似体の構造-活性の研究－ C-7メトキシ基が、エフェクタードメイン部分であり、かつFkbp12を固め巻く接合点に位置しているという証拠」（Chemistry & Biology 2：471-481）
Lyons, W.E.、George, E.B.、Dawson, T.M.、Steiner, J.P.、及びSnyder, S.H.（1994）「PC12細胞、及び知覚神経節の培養液中の免疫抑制剤FK506プロモーター神経突起成長」（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 91:3191-3195）

【０３２２】

MacNeil, D.J.、Gewain, K.M.、Ruby, C.L.、Dezeny, G.、Gibbons, P.H.、及びMacNeil, T.（1992）「新規組込みベクターを利用する、アベルメクチン生合成に必須のストレプトマイセス アベルミチリス遺伝子の分析」（Gene 111：61-68）

Marahiel, M.A.、Stachelhaus, T.、及びMootz, H.D.（1997）「非リボソーム型ペプチド合成を伴う、モジュラーペプチドシンテターゼ」（Chemical Reviews 97：2651-2673）

Matsuura, M.、Noguchi, T.、Yamaguchi, D.、Aida, T.、Asayama, M.、Takahashi, H.、及びShirai, M.（1996）「sre遺伝子（ORF469）は、R4ファージゲノムの組込みに関与する、部位特異的リコンビナーゼをコードする」（J Bact. 178（11）:3374-3376）

McAlpine, J.B.、Swanson, S.J.、Jackson, M.、Whittern, D.N.（1991）「ラパマイシンの訂正されたNMR割当て」（Journal of Antibiotics 44：688-690）

「免疫学的方法」のMeo, T.、L. Lefkovits、及びB. Pernis、らの著書（Academic Press、N.Y. pp. 227-239（1979））

Molnr, I.、Aparicio, J.F.、Haydock, S.F.、Khaw, L.E.、Schwecke, T.、Knig, A.、Staunton, J.、及びLeadlay, P.F.（1996）「ストレプトマイセス ハイグロスコピカスにおける、ラパマイシン生合成クラスターの構成：ポリケチドシンターゼに隣接する遺伝子の分析」（Gene 169：1-7）

Morice, M.C.、Serruys, P.W.、Sousa, J.E.、Fajadet, J.、Ban Hayashi, E.、Perin, M.、Colombo, A.、Schuler, G.、Barragan, P.、Guagliumi, G.、Molnar, F.、Falotico, R.（2002）RAVEL Study Group「冠血行再建のための標準的ステントを有するシロリムス-溶出ステントの任意抽出比較」（N. Eng.l J. Med. 346（23）:1773-80）

【０３２３】

Motamedi, H.、Shafiee, A.、Cai, S.J.、Streicher, S.L.、Arison, B.H.、及びMiller, R.R.（1996）「免疫抑制剤FK506、及びFK520の生合成を伴う、メチルトランスフェラーゼ、及びヒドロキシラーゼ遺伝子の特性」（Journal of Bacteriology 178：5243-5248）

Motamedi, H.、Cai, S.J.、Shafiee, A.、及びElliston, K.O.（1997）「マクロライド免疫抑制剤 FK506を含む、多機能性ポリケチドシンターゼの構造機構」（European Journal of Biochemistry 244：74-80）

Motamedi, H.、及びShafiee, A.（1998）「免疫抑制剤FK506のマクロラクトン環のための生合成遺伝子クラスター」（European Journal of Biochemistry 256：528-534）

Myckatyn, T.M.、Ellis, R.A.、Grand, A.G.、Sen, S.K.、Lowe, J.B.3rd、Hunter, D.A.、Mackinnon, S.E.（2002）「マウス末梢神経の同系移植、及び同種移植における、ラパマイシンの効果」（Plast. Reconstr. Surg. 109（7）:2405-17）

Nav, B.T.、Ouwens, D.M.、Withers, D.J.、Alessi, D.R.、及びSheperd, P.R.（1999）「ラパマイシンの哺乳動物標的は、タンパク質キナーゼBの直接表標的である：インシュリン拮抗作用の収束点、及びタンパク質翻訳におけるアミノ酸欠損の同定」（Biochemical Journal 344:427-431）

Navia, M.A.（1996）「免疫調節、及び臓器移植に重要なタンパク質-薬剤複合体」（Current Opinion in Structural Biology 6：838-847）

「酵母用培養液希釈物の抗真菌感受性に関するNCCLS参照方法」（Approved Standard M27-A、vol.17 No.9（1997））

Nishida, H.、Sakakibara, T.、Aoki, F.、Saito, T.、Ichikawa, K.、Inagaki, T.、Kojima, Y.、Yamauchi, Y.、Huang, L.H.、Guadliana, M.A.、Kaneko, T.、及びKojima, N.（1995）「微生物操作による、新規ラパマイシン構造の生成」（Journal of Antibiotics 48：657-666）

Nielsen, J.B.、Hsu, M.J.、Byrne, K.M.、及びKaplan, L.（1991）「免疫抑制剤イムノマイシンの生合成：ピペコレートの組込みの酵素学」（Biochemistry 30：5789-5796）

Paget, M.S.B.、Chamberlin, L.、Atrih, A.、Foster, S.J.、及びButtner, M.J.（1999）「ストレプトマイセス コエリコローA3（2）における、細胞質外の機能シグマ因子σ^E

は、正常な細胞壁構造に必須であることの証拠」（Journal of Bacteriology 181：204-211）
【０３２４】
Paiva, N.L.、Demain, A.L.、及びRoberts, M.F.（1991）「ストレプトマイセス ハイグロスコピカスによる、ラパマイシン内へのアセテート、ピペコレート、及びメチオニンの組込み」（Journal of Natural Products 54：167-177）
Paiva, N.L.、Demain, A.L.、及びRoberts, M.F.（1993）「ラパマイシンの窒素含有環の直接前駆体は、遊離のピペコリン酸である」（Enzyme and Microbial Technology 15：581-585）
Patterson, C.E.、Schaub, T.、Coleman, E.J.、及びDavies, E.C.（2000）「FKBP65の発生調整ER-局在細胞外マトリックス結合タンパク質」（Molecular Biology of the Cell 11:3925-3935）
Pfeifer, B.A.、Admiraal, S.J.、Gramajo, H.、Cane, D.E.、及びKhosla, C.（2001）「代謝的に操作されるE.コリ菌株内でのポリケチド複合体の生合成」（Science 291：1790-1792）
Powell, N.、Till, S.、Bungre, J.、Corrigan, C.（2001）「免疫調整薬サイクロスポリンA、ミコフェノール酸モフェチル、シロリムス（ラパマイシン）は、アレルゲン誘導増殖、及びアトピー性喘息患者からのPBMCsによるIL-5生成を抑制する」
J. Allergy Clin（Immunol. 108（6）:915-7）
Rabinovitch, A.、Suarez-Pinzon, W.L.、Shapiro, A.M.、Rajotte, R.V.、Power, R.（2002）「併用シロリムスとインターロイキン-2との併用療法は、NODマウスにおいて、自発的、かつ再発性の自己免疫性糖尿病を予防する」（Diabetes. 51（3）:638-45）
Raught, B.、Gingras, A.C.、及びSonenberg, N.（2001）「ラパマイシン標的（TOR）タンパク質」（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98：7037-7044）
【０３２５】
Rawlings, B.J.（2001）「バクテリア内のI型ポリケチド生合成（Part A）」（Natural Product Reports 18：190-227）
Reather, J. A.（2000）の博士論文、ケンブリッジ大学「マクロサイクルラクトンの生合成における、後期の工程」
Reitamo, S.、Spuls, P.、Sassolas, B.、Lahfa, M.、Claudy, A.、Griffiths, C.E.（Sirolimus European Psoriasis Study Group）（2001）「重症な乾癬の治療に、シクロスポリンの必要量以下の投与と同時に投与されたシロリムス（ラパマイシン）の効力：ランダム化比較試験」（Br. J. Dermatol. 145（3）:438-45）
Rosen, M.K.、及びSchreiber, S.L.（1992）「細胞機能のプローブとしての天然産物：イムノフィリンの研究」（Angewandte Chemie-International Edition in English 31：384-400）
Roymans, D.、及びSlegers, H.（2001）「腫瘍進行における、ホスファジチジルイノシトール3-キナーゼ」（European Journal of Biochemistry 268:487-498）
Ruan, X.A.、Stass, D.、Lax, S.A.、及びKatz, L.（1997）「ラパマイシン産生株である、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスATCC 29253から単離された、第二のI型PKS遺伝子クラスター」（Gene 203：1-9）
Salituro, G.M.、Zink, D.L.、Dahl, A.、Nielsen, J.、Wu, E.、Huang, L.、Kastner, C.、及びDumont, F.（1995）「Meridamycin：ストレプトマイセス ハイグロスコピカスからの新規非免疫抑制FKBP12リガンド」（Tetrahydron letters 36：997-1000）
Schwarzer, D.、及びMarahiel, M.A.（2001）「天然産物を構築する、多モジュラー生体触媒」（Naturwissenschaften 88：93-101）
Sambrook, J.、Fritsch, E.F.、及びManiatis, T.（1989）「分子クローニング：研究所マニュアル第二版」（Cold Spring Harbor Laboratory Press、N.Y.）
Schreiber, S.L.、及びCrabtree, G.R.（1992）「シスロスポリンA及びFK506の作用機

序」（Immunology Today 13：136-142）

【０３２６】

Schwecke, T.、Aparicio, J.F.、Molnr, I.、Knig, A.、Khaw, L.E.、Haydock, S.F.、Oliynyk, M.、Caffrey, P.、Corts, J.、Lester, J.B.、Bhm, G.A.、Staunton, J.、及びLeadlay, P.F.（1995）「ポリケチド免疫抑制剤ラパマイシンの生合成遺伝子クラスター」（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 92：7839-7843）

Sedrani, R.、Cottens, S.、Kallen, J.、及びSchuler, W.（1998）「ラパマイシンの化学修飾：SDZ RADの発見」（Transplantation Proceedings 30：2192-2194）

Sehgal, S.N.、Baker, H.、及びVzina, C.（1975）「ラパマイシン（AY-22,989）、新しい抗真菌性抗生物質II」（Fermentation、isolation and characterization. The Journal of Antibiotics 28：727-733）

Shepherd, P.R.、Withers, D.J.、及びSiddle, K.（1998）「ホスホイノシチド3-キナーゼ：インシュリンシグナル伝達における、主要なスイッチ機序」（Biochemical Journal 333：471-490）

Shima, J.、Hesketh, A.、Okamoto, S.、Kawamoto, S.、及びOchi, K.（1996）ストレプトマイセスリビダンス、及びストレプトマイセス コエリコローA3（2）において、ストレプトマイシン耐性を与えるrpsL（リボソーム型タンパク質S12をコードする）変異株によるアクチノロジン生成の誘導」（Journal of Bacteriology 178：7276-7284）

Sigal, N.H.、及びDumont, F.J.（1992）「シクロスポリンA、FK-506、及びラパマイシン：リンパ球シグナル伝達の薬理学的プローブ」（Annual Review of Immunology 10：519-560）

Sieuwerts, A.M.、Klijn, J.G.、Peters, H.A.、Foekens, J.A.（1995）「検査されたMTTテトラゾリウム塩アッセイ：成長特性、IC50-値、及び細胞生存の評価のための細胞培養液の代謝活性を測定する、このアッセイの信頼できる使い方」（Eur. J Clin. Chem. Clin. Biochem. 33（11）:813-23）

Smovkina, T.、Mazodier, P.、Boccard, F.、Thompson, C.J.、及びGuerineau, M.（1990）「放線菌を使用する、一連のpSAM2-ベース組込み型ベクターの構築」（Gene 94：53-59）

【０３２７】

SOULILLOU, J.P.、CARPENTER, C.B.、LUNDIN, A.P.、及びSTROM, T.B.（1975）「ラットの2-MEによる、増殖、及びインビボにおける細胞障害性細胞の生成」（J Immunol. 115（6）:1566-71）

Staunton, J.、及びWeissman, K.J.（2001）「ポリケチド生合成：千年考察」（Natural Product Reports 18：380-416）

Steiner, J.P.、Hamilton, G.S.、Ross, D.T.、Valentine, H.L.、Guo, H.、Connolly, M.A.、Liang, S.、Ramsey, C.、Li, J.-H.J.、Huang, W.、Howorth, P.、Soni, R.、Fuller, M.、Sauer, H.、Nowotnik, A.C.、及びSuzdak, P.D.（1997）「神経栄養性イムノフィリンリガンドは、神経変性動物モデルにおいて、構造、及び機能の回復を刺激する」（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 94:2019-2024）

Tang, S.J.、Reis, G.、Kang, H.、Gingras, A.-C.、Sonenberg, N.、及びSchuman, E.M.（2002）「Aラパマイシン-感受性シグナル伝達経路は、海馬内の長期間のシナプス可塑性に起因する」（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1:467-472）

Van Duyne, G.D.、Standaert, R.F.、Karplus, P.A.、Schreiber, S.L.、及びClardy, J.（1993）「FK506、及びを有する、人のFK506イムノフィリンFKBP-12複合体の原子構造」（Journal of Molecular Biology 229：105-124）

Van Mellaert, L.、Mei, L.、Lammertyn, E.、Schacht, S.、及びAnn, J.（1998）「ストレプトマイセス ベネズエラ内に、バクテリオファージVWBゲノムの部位特異的組込み、

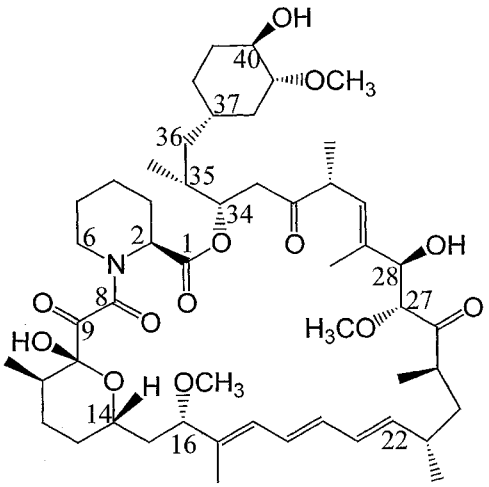
及びVWB-ベース組込み型ベクターの構築」（Microbiology 144:3351-3358）
Vzina, C.、Kudelski, A.、及びSehgal, S.N.（1975）「ラパマイシン（AY-22,989）、新しい抗真菌性抗生物質Iストレプトマイセートを製造する分類学、及び活性成分の単離」（The Journal of Antibiotics 28：721-726）
Vilella-Bach, M.、Nuzzi, P.、Fang, Y.M.、及びChen, J.（1999）「FKBP12-ラパマイシン-結合ドメインは、FKBP12-ラパマイシン付随タンパク質キナーゼ活性、及びG1進行に必須である」（Journal of Biological Chemistry 274：4266-4272）
Waller, J.R.、及びNicholson, M.L.（2001）「腎臓同種移植線維症の分子機序」（British Journal of Surgery 88:1429-1441）
Warner, L.M.、Adams, L.M.、Chang, J.Y.、Sehgal, S.N.（1992）「インビボにおける、混合リンパ球反応の改質、及びこのモデルにおけるラパマイシンの効果」（Clin. Immunol. Immunopathol. 64（3）:242-7）

【０３２８】

Weber, T.、及びMarahiel, M.A.（2001）「モジュラー非リボソーム型ペプチドシンターゼのドメイン構造の調査」（Structure 9：R3-R9）
Welch, J. T.、及びSeper, K.W.（1988）（J. Org. Chem.、53、2991-2999）
Wilkinson, B.、Foster, G.、Rudd, B.A.M.、Taylor, N.L.、Blackaby, A.P.、Sidebottom, P.J.、Cooper, D.J.、Dawson, M.J.、Buss, A.D.、Gaisser, S.、Bhm, I.U.、Rowe, C.J.、Corts, J.、Leadlay, P.F.、及びStaunton, J.（2000）「6-デオキソエリスロノライドBに関連した新規オクタケチドマクロライドは、エリスロマイシンポリケチドシンターゼの反復動作を明らかにした」（Chemistry & Biology 7：111-117）
Wong, G.K.、Griffith, S.、Kojima, I.、及びDemain, A.L.（1998）「ラパマイシン、及びその誘導体：プロリルラパマイシン、32-デスメチルラパマイシン、32-デスメチルラパマイシン、及び32-デスメトキシラパマイシンの抗真菌性活性」（Journal of Antibiotics 51：487-491）
Wu, K.、Chung, L.、Revill, W.P.、Katz, L.、及びReeves, C.D.（2000）「特異的ポリケチド増量単位の生合成遺伝子を含む、ストレプトマイセス ハイグロスコピカスvar. アスコマイセティカス（ATCC 14891）のFK520遺伝子クラスター」（Gene 251：81-90）
Yem, A.W.、Tomasselli, A.G.、Heinrikson, R.L.、Zurcher-Neely, H.、Ruff, V.A.、Johnson, R.A.、及びDeibel, M.R.（1992）「ステロイドレセプター複合体のHsp56成分は、固定化されたFK506に結合し、かつFKBP-12、及びFKBP-13の相同性を示す」（Journal of Biological Chemistry 267：2868-2871）
Yu, K.、Toral-Barza, L.、Discafani, C.、Zhang, W.G.、Skotnicki, J.、Frost, P.、Gibbons, J.J.（2001）「mTOR、乳癌の新規標的：乳癌の前臨床モデルにおける、CCI-779の効果、mTOR阻害剤」（Endocrine-Related Cancer 8:249-258）
Zhu, J.、Wu, J.、Frizell, E.、Liu, S.L.、Bashey, R.、Rubin, R.、Norton, P.、Zern, M.A.（1999）「ラパマイシンは、インビトロにおいて、肝臓の星状細胞増殖を抑制し、かつ肝臓線維症のインビボモデルにおいて、線維形成を制限する」（Gastroenterology. 117（5）:1198-204）

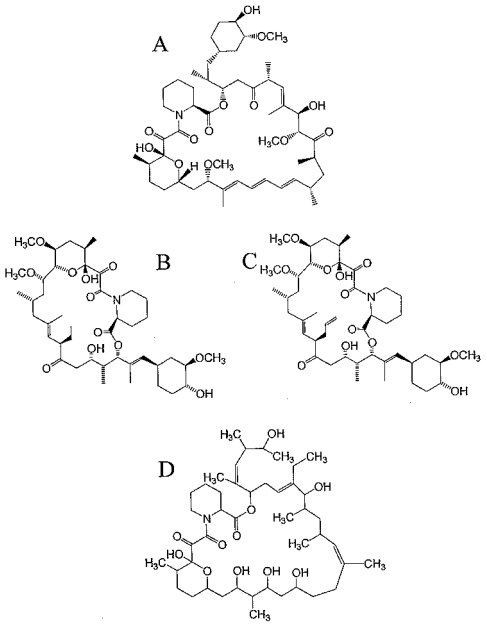
【図１】

図１



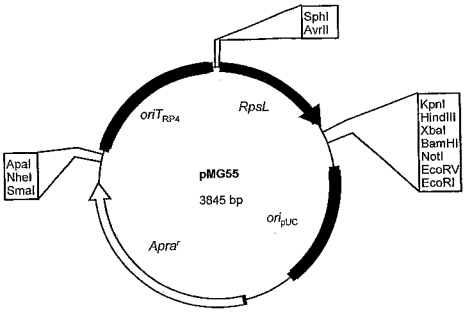
【図２】

図２



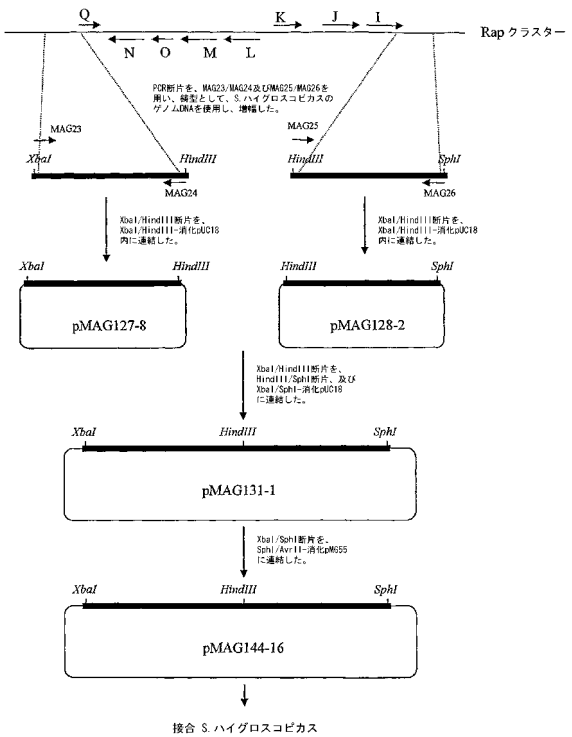
【図３】

図３



【図４】

図４



【図５】

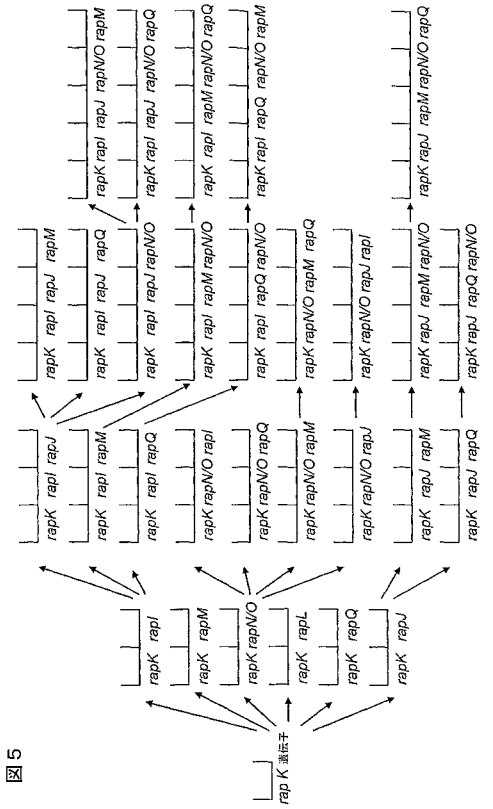
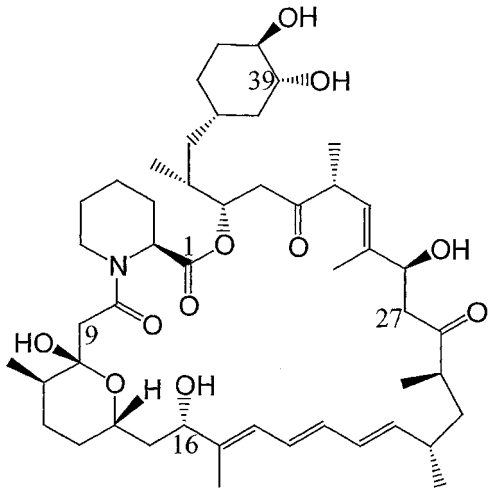


図５

【図６】

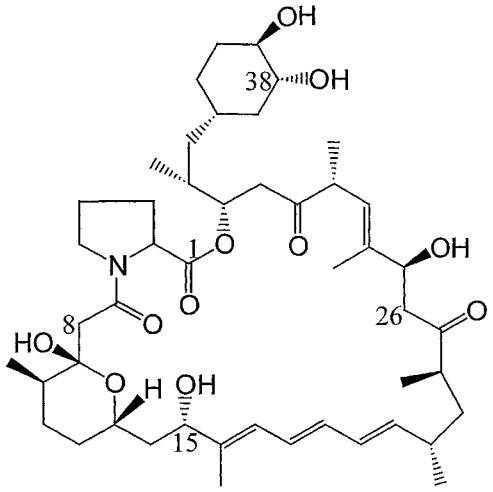
図６



9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-O-デスメチルラパマイシン

【図７】

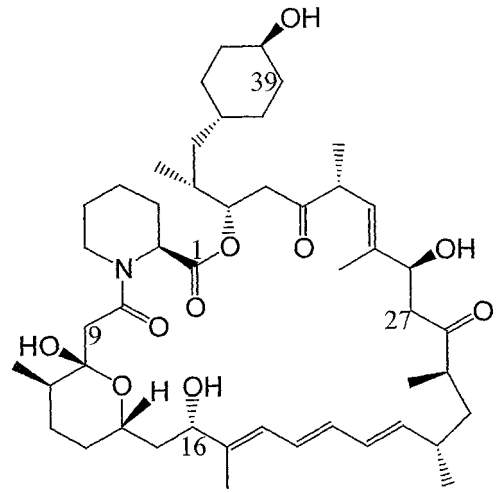
図７



8-デオキソ-15-O-デスメチル-26-デスメトキシ-38-O-デスメチルプロリルラパマイシン

【図８】

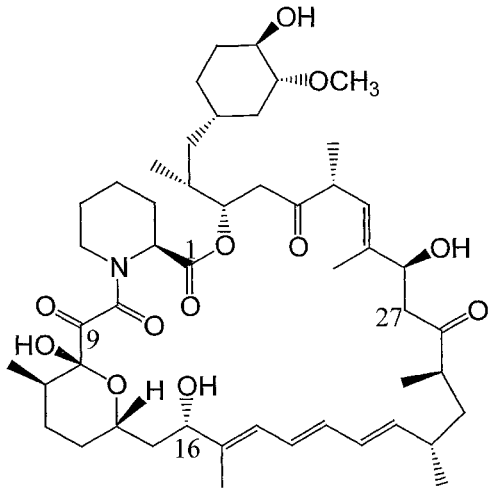
図８



9-デオキソ-16-O-デスメチル-27-デスメトキシ-39-デスメトキシラパマイシン

【図９】

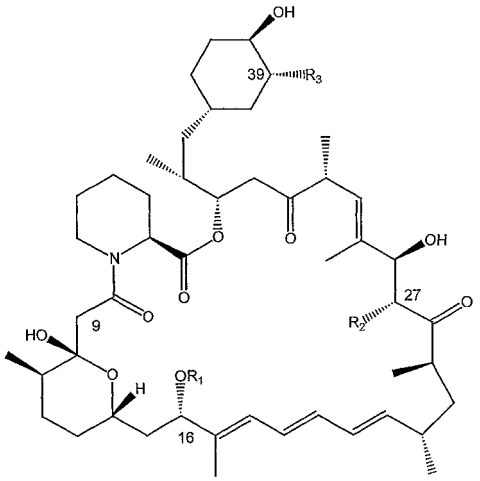
図９



16-O-デスメチル-27-デスメトキシラパマイシン

【図１０】

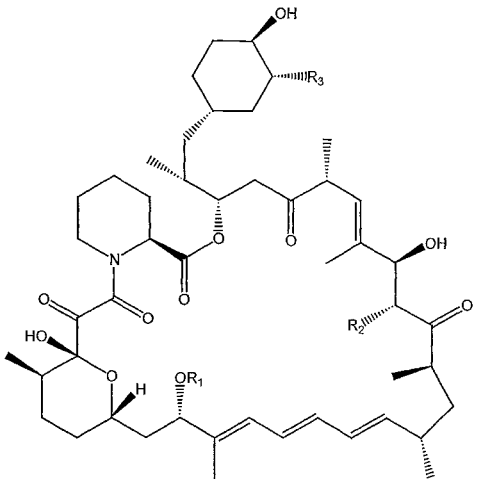
図１０



R_1=H	R_2=H	R_3=OH	化合物　1
R_1=H	R_2=OH	R_3=OH	化合物　2
R_1=CH_3	R_2=H	R_3=OH	化合物　4
R_1=H	R_2=OCH_3	R_3=OH	化合物　5
R_1=H	R_2=H	R_3=OCH_3	化合物　6
R_1=CH_3	R_2=OH	R_3=OH	化合物　8
R_1=H	R_2=OH	R_3=OCH_3	化合物　9
R_1=H	R_2=OCH_3	R_3=OCH_3	化合物１５
R_1=CH_3	R_2=H	R_3=OCH_3	化合物１６
R_1=CH_3	R_2=OH	R_3=OCH_3	化合物１７
R_1=CH_3	R_2=OCH_3	R_3=OH	化合物１８
R_1=CH_3	R_2=OCH_3	R_3=OCH_3	化合物１９

【図１１】

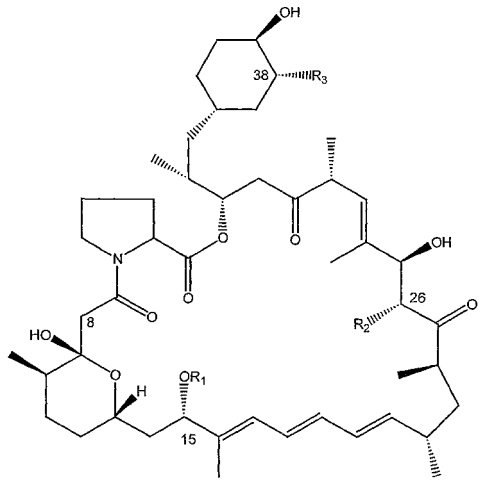
図１１



R_1=H	R_2=H	R_3=OH	化合物　3
R_1=H	R_2=OH	R_3=OH	化合物　7
R_1=H	R_2=OCH_3	R_3=OH	化合物１０
R_1=H	R_2=OH	R_3=OCH_3	化合物１１
R_1=H	R_2=H	R_3=OCH_3	化合物１２
R_1=CH_3	R_2=H	R_3=OH	化合物１３
R_1=CH_3	R_2=OH	R_3=OH	化合物１４
R_1=H	R_2=OCH_3	R_3=OCH_3	化合物２０
R_1=CH_3	R_2=OH	R_3=OCH_3	化合物２１
R_1=CH_3	R_2=H	R_3=OCH_3	化合物２２
R_1=CH_3	R_2=OCH_3	R_3=OH	化合物２３

【図１２】

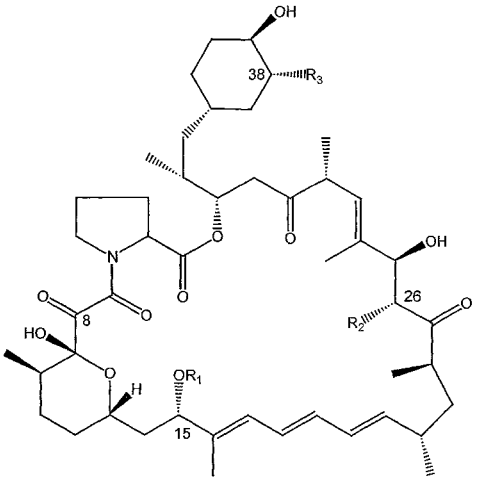
図１２



R_1=H	R_2=H	R_3=OH	化合物２４
R_1=H	R_2=OH	R_3=OH	化合物２５
R_1=CH_3	R_2=H	R_3=OH	化合物２７
R_1=H	R_2=OCH_3	R_3=OH	化合物２８
R_1=H	R_2=H	R_3=OCH_3	化合物２９
R_1=CH_3	R_2=OH	R_3=OH	化合物３１
R_1=H	R_2=OH	R_3=OCH_3	化合物３２
R_1=H	R_2=OCH_3	R_3=OCH_3	化合物３８
R_1=CH_3	R_2=H	R_3=OCH_3	化合物３９
R_1=CH_3	R_2=OH	R_3=OCH_3	化合物４０
R_1=CH_3	R_2=OCH_3	R_3=OH	化合物４１
R_1=CH_3	R_2=OCH_3	R_3=OCH_3	化合物４２

【図１３】

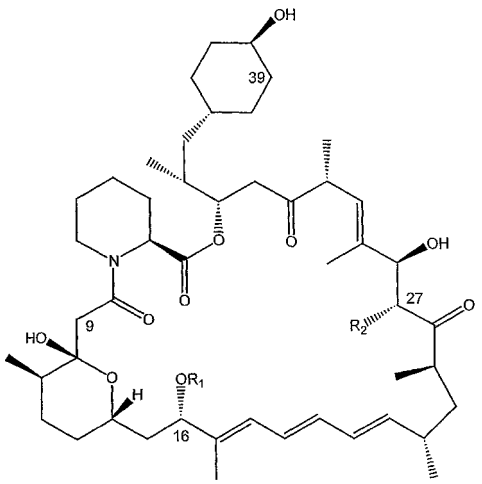
図１３



R_1=H	R_2=H	R_3=OH	化合物２６
R_1=H	R_2=OH	R_3=OH	化合物３０
R_1=H	R_2=OCH_3	R_3=OH	化合物３３
R_1=H	R_2=OH	R_3=OCH_3	化合物３４
R_1=H	R_2=H	R_3=OCH_3	化合物３５
R_1=CH_3	R_2=H	R_3=OH	化合物３６
R_1=CH_3	R_2=OH	R_3=OH	化合物３７
R_1=H	R_2=OCH_3	R_3=OCH_3	化合物４３
R_1=CH_3	R_2=OH	R_3=OCH_3	化合物４４
R_1=CH_3	R_2=H	R_3=OCH_3	化合物４５
R_1=CH_3	R_2=OCH_3	R_3=OH	化合物４６

【図１４】

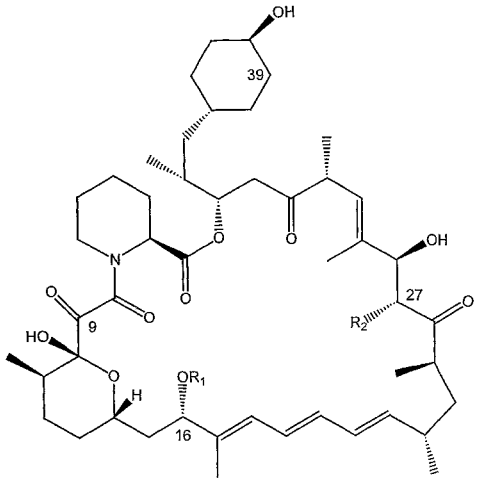
図１４



R_1=H	R_2=H	化合物４７
R_1=H	R_2=OH	化合物４８
R_1=CH_3	R_2=H	化合物５０
R_1=H	R_2=OCH_3	化合物５１
R_1=CH_3	R_2=OH	化合物５３
R_1=CH_3	R_2=OCH_3	化合物５７

【図１５】

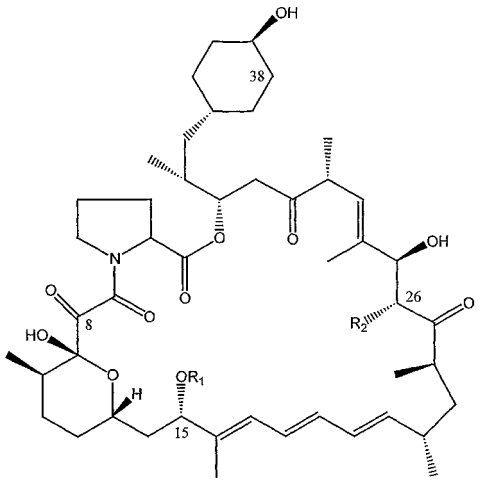
図１５



R_1=H	R_2=H	化合物４９
R_1=H	R_2=OH	化合物５２
R_1=H	R_2=OCH_3	化合物５４
R_1=CH_3	R_2=H	化合物５５
R_1=CH_3	R_2=OH	化合物５６
R_1=CH_3	R_2=OCH_3	化合物５８

【図１６】

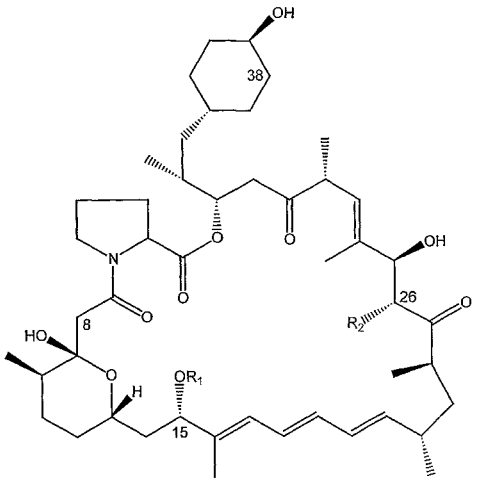
図１６



R_1=H	R_2=H	化合物６１
R_1=H	R_2=OH	化合物６４
R_1=H	R_2=OCH_3	化合物６６
R_1=CH_3	R_2=H	化合物６７
R_1=CH_3	R_2=OH	化合物６８
R_1=CH_3	R_2=OCH_3	化合物７０

【図１７】

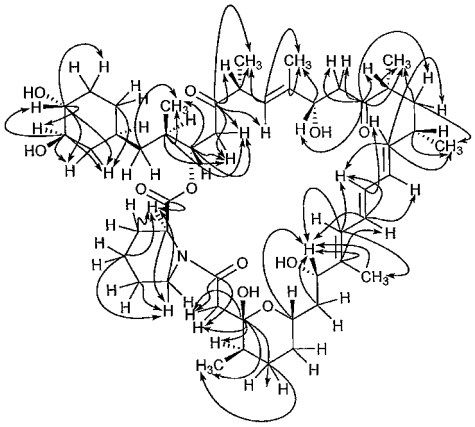
図１７



R_1=H	R_2=H	化合物５９
R_1=H	R_2=OH	化合物６０
R_1=CH_3	R_2=H	化合物６２
R_1=H	R_2=OCH_3	化合物６３
R_1=CH_3	R_2=OH	化合物６５
R_1=CH_3	R_2=OCH_3	化合物６９

【図１８】

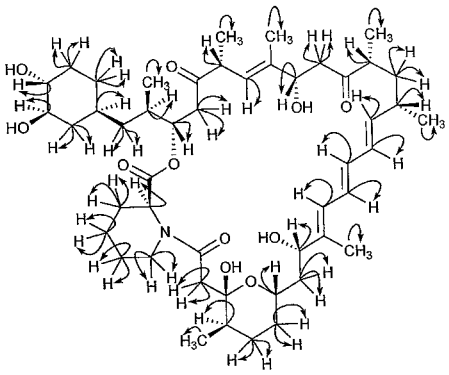
図１８



前駆ラパマイシンHMBC相関

【図１９】

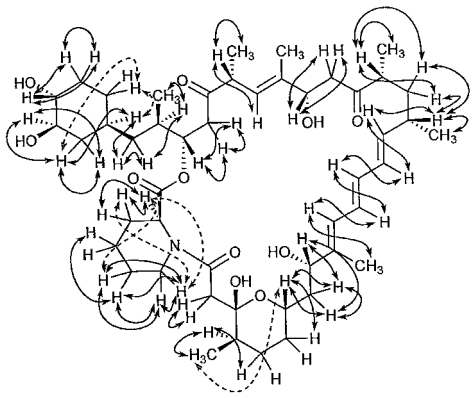
図１９



前駆ラパマイシンHMQC相関

【図２０】

図２０

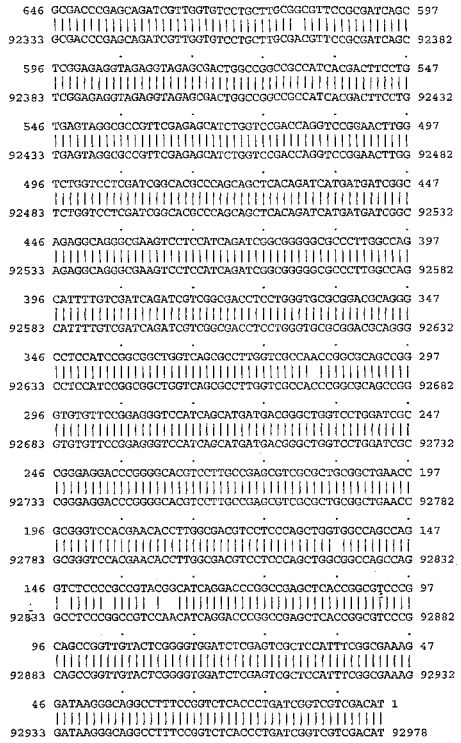


前駆ラパマイシンCOSY相関

選択された前駆ラパマイシンTOCSY相関

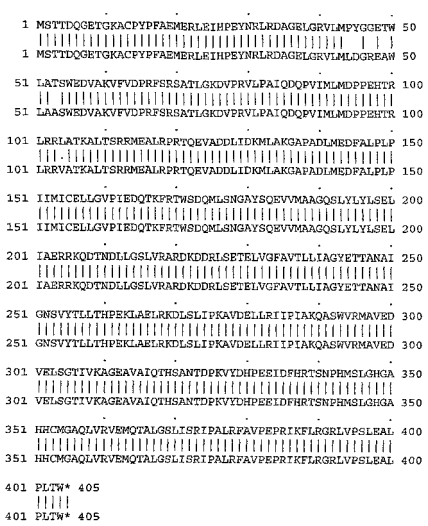
【図２１】

図２１



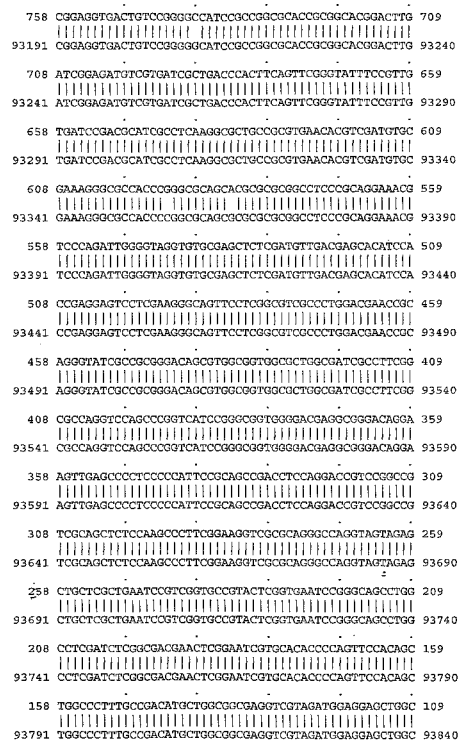
【図２２】

図２２

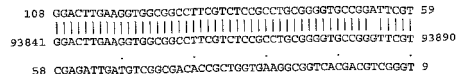


【図２３Ａ】

図２３

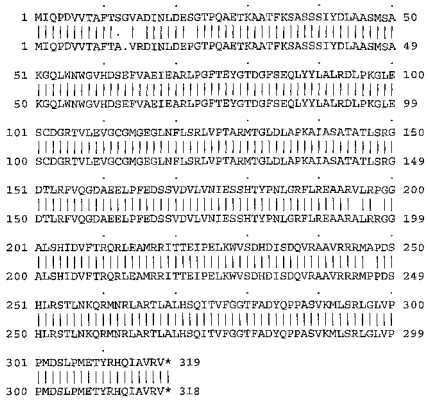


【図２３Ｂ】



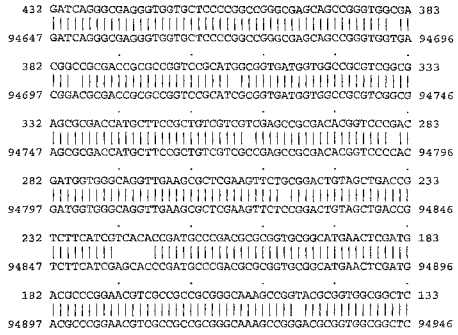
【図２４】

図２４



【図２５】

図２５



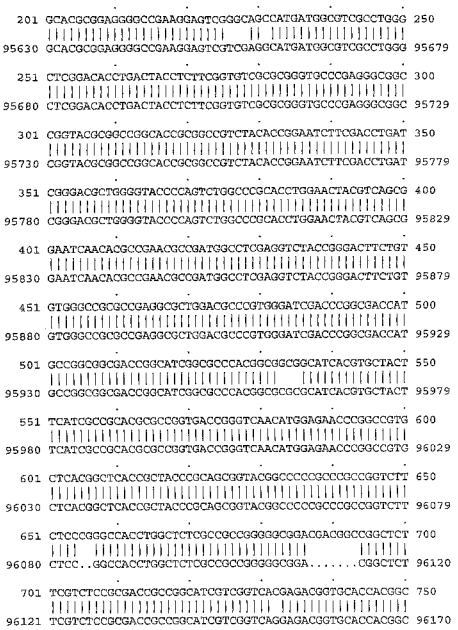
【図２６】

図２６



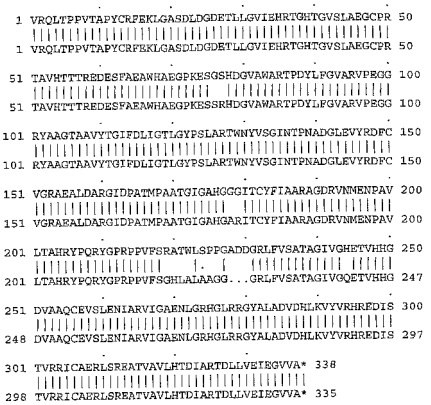
【図２７】

図２７



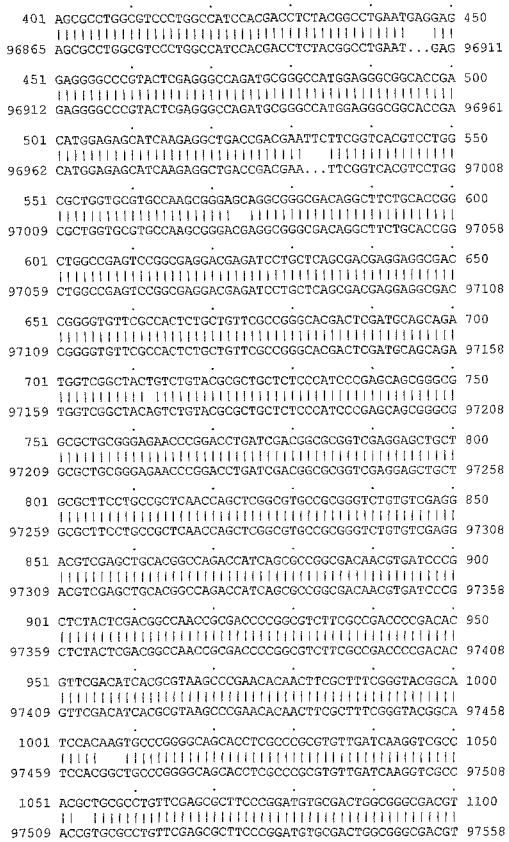
【図２８】

図２８

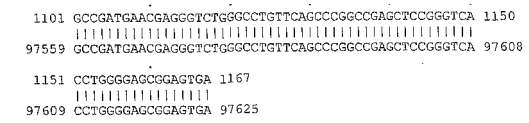


【図２９Ａ】

図２９

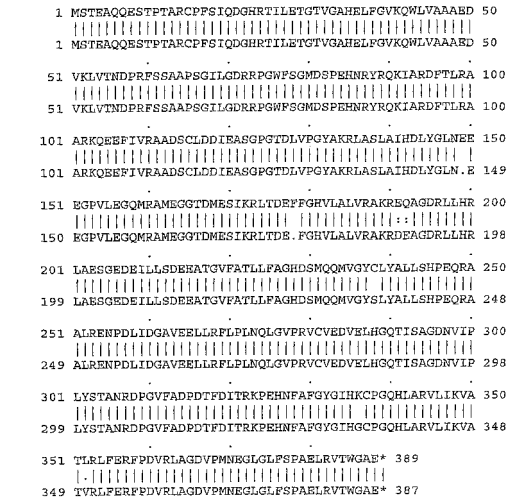


【図２９Ｂ】



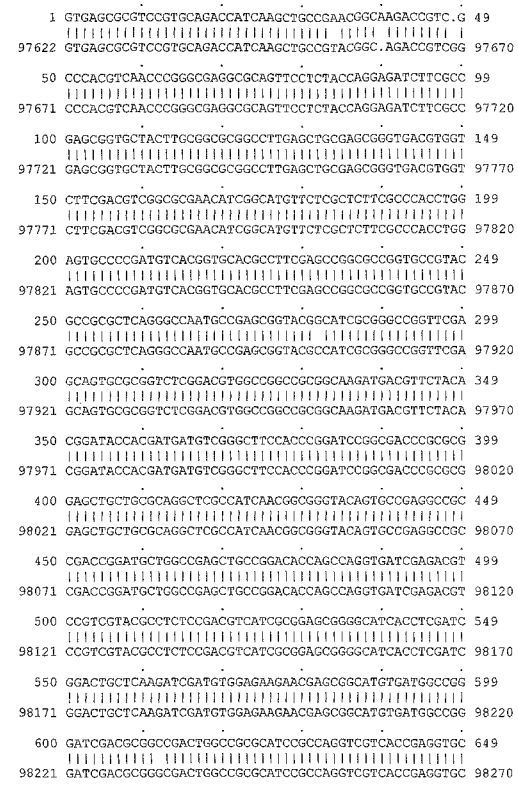
【図３０】

図３０



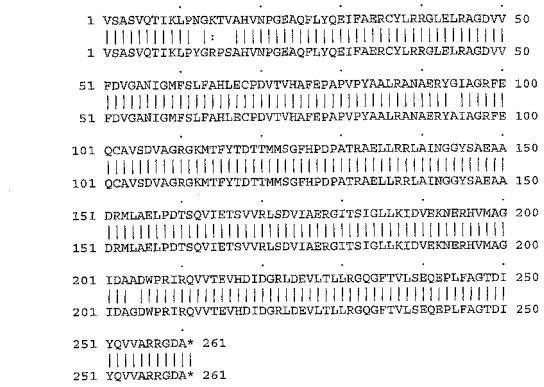
【図３１】

図３１



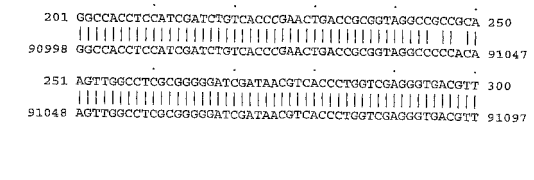
【図３２】

図３２



【図３３】

図３３



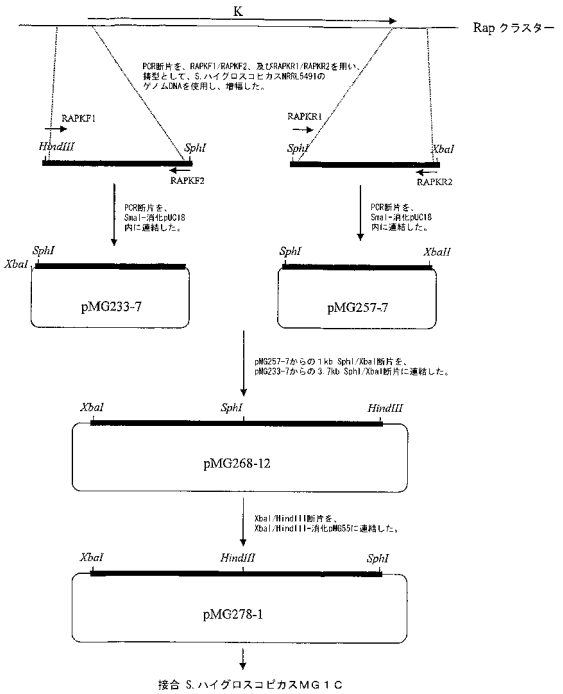
【図３４】

図３４

```
                .         .         .         .         .
  1 MLELGTRLKFRFTGPLLEAVNPRLQGHPYDVLMRLLEGGRIENVLELCGG 50
    ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  2 MLELGTRLKFRFTGPLLEAVNPRLQGHPYDVLMRLLEGGRIENVLELCGG 51
                .         .         .         .         .
 51 TGFASRMLAERHSKVQATSIDLSPELTAVGRRKLASRGIDNVTLVEGDVS 100
    |||||||||||||||||||||||||||||  ||||||||||||||||||||
 52 TGFASRMLAERHSKVQATSIDLSPELTAVGPHKLASRGIDNVTLVEGDVS 101
                .         .         .         .         .
101 TLPYPDDSFDTVMSAFGLHEVPTAGRLSAIRESVRVLKPGGRFVIVDLDR 150
    ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
102 TLPYPDDSFDTVMSAFGLHEVPTAGRLSAIRESVRVLKPGGRFVIVDLDR 151
                .         .         .         .         .
151 RTKYGWTMDLFMKVMEPKFAPEVFGTGLVDRLKENGFTIDHHESAGPNGW 200
    ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
152 RTKYGWTMDLFMKVMEPKFAPEVFGTGLVDRLKENGFTIDHHESAGPNGW 201
                .
201 TQSIVATLEA* 211
    ||||||||||
202 TQSIVATLEA* 212
```

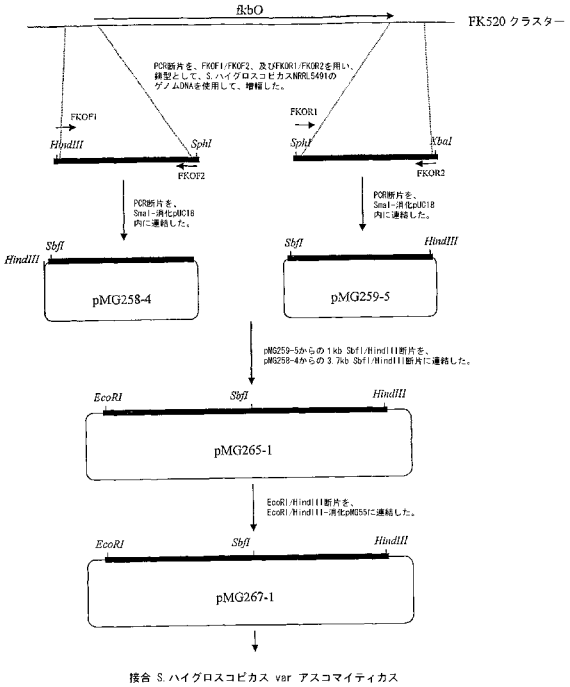
【図３５】

図３５



【図３６】

図３６



【配列表】
2014176384000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成26年4月9日(2014.4.9)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
宿主株を、一以上の遺伝子が除去又は不活性化されている、FKBP-リガンドをコードする生合成クラスターを含む組換え型菌株に転換する方法であって、下記工程を含む前記方法：
（ａ）dam-、dcm-、又はdam-及びdcm-であるE.コリ株中に、接合性欠失プラスミドを構築する工程；
（ｂ）接合に適した前記宿主株から胞子を生成する工程、ここで、前記菌株を、湿度10％～40％で成長させ、かつ該胞子を、5～30日で収集し；
（ｃ）１リットルにつき：
i）　コーン浸透粉0.5 g～5 g；
ii）　酵母エキス0.1 g～5 g；
iii）　炭酸カルシウム0.1 g～10 g；及び
iv）　硫酸鉄0.01 g～0.5 g；
を含む培地上で、工程（ａ）のE.コリ株と工程（ｂ）から得られた胞子とを接合させる工程であって、前記培地は、さらに、BACTO-寒天、及びデンプンを含み、かつ1～20重量％減少するように乾燥させており；かつ
（ｄ）ポリケチド産生に適した条件下で、前記組換え型菌株を、任意に培養する工程。

フロントページの続き

(72)発明者　サビネ　ガイセル
グレートブリテン及び北アイルランド連合王国　ＣＢ１０　１ＸＬ　エセックス　ノル　サッフロン　ワルデン　リトル　チェスターフォード　チェスターフォード　リサーチ　パーク　バイオチカ　テクノロジー　リミテッド内
(72)発明者　フルボジェ　ペトコビック
スロヴェニア共和国　８０００　ノボ　メスト　ポド　トルスコ　ゴロ　４８
(72)発明者　スティーブン　モッス
グレートブリテン及び北アイルランド連合王国　ＣＢ１０　１ＸＬ　エセックス　ノル　サッフロン　ワルデン　リトル　チェスターフォード　チェスターフォード　リサーチ　パーク　バイオチカ　テクノロジー　リミテッド内

Ｆターム(参考) 4B024 AA01　BA80　CA01　DA06　EA04　GA11　HA08