



令和2年4月20日

報道機関 各位

東北大学大学院薬学研究科
東北大学災害科学国際研究所
東京大学大学院総合文化研究科
京都大学大学院農学研究科
金沢大学医薬保健学総合研究科
公益財団法人がん研究会
国立医薬品食品衛生研究所

生合成経路を自在に設計して糸状菌の多様な天然化合物を創る ～合成生物学を基盤とする薬理活性天然化合物ライブラリーの創製～

【発表のポイント】

- ◆ ゲノムマイニングと麹菌異種発現を基盤とする合成生物学的手法を用いることで、糸状菌のゲノム上にコードされる様々な天然化合物の安定供給と類縁体の効率的創製を可能にする天然化合物ライブラリーの新たな構築法の開発
- ◆ 作製した天然化合物ライブラリーの薬理活性スクリーニングにより、様々な有用活性天然化合物を発見
- ◆ 遺伝子資源から活性天然化合物とその多様な構造類縁体からなる化合物ライブラリーを効率よく創製する新規手法提供

【概要】

糸状菌が生産するジテルペノイドピロン (DP) 類にはポリケタイドとテルペノイドのハイブリッド型天然化合物群があり、様々な活性化合物を含む重要な医薬資源です。わずかな構造の違いにより様々な薬理活性が発現するユニークな性質から、多様な構造展開が望まれる化合物群です。しかし、複雑な構造が化学合成による供給や構造展開の障害となり、薬理活性評価が十分になされていない状況でした。今回、研究グループは、合成生物学的手法を応用し、DP 類の生合成経路を麹菌内で自在に設計することで、遺伝子資源から医薬シーズ探索に有用な DP 類ライブラリーの作製に成功しました。また、有用薬理活性天然化合物を発見しました。

化合物の安定供給と類縁体の効率的な創製を可能にする今回の創製法は、今後の創薬研究の発展に貢献すると期待されます。

本研究の成果は、令和2年4月14日午前 10 時 (英国標準時間) に英国科学雑誌 *Nature Communications* に掲載されました。

【問合せ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院薬学研究科：浅井 禎吾教授

電話：022-795-6822 E-mail：teigo.asai.c8@tohoku.ac.jp

(東北大学に関すること)

薬学研究科事務：星野公太郎

電話：022-795-6801 E-mail：kotaro.hoshino.d2@tohoku.ac.jp

【詳細な説明】

生物が作り出す天然化合物は重要な医薬資源です。しかし、従来の生物資源に依存する天然化合物探索研究では、供給量や構造展開の問題点から、創薬研究への利用が容易ではありません。一方、近年発展著しい天然化合物生合成や合成生物学分野の研究手法 (注 1) は、上述の問題点を一挙に解決し、天然化合物の創薬研究への利用機会を増大させることが期待されています。

糸状菌が生産するジテルペノイドピロン (DP) 類 (注 2) は、ポリケタイド (注 3) と テルペノイド (注 4) からなる メロテルペノイド (注 5) であり、これまでも様々な薬理活性天然化合物が報告されています。わずかな構造の違いが、多様な活性発現に寄与していること、また、薬理活性発現に重要なピロン構造とデカリン構造の二つの privileged 構造 (注 6) を有していることから、多様な DP 類を含む化合物ライブラリーは、創薬シーズ探索に有望であると期待されます (図 1)。これまでにいくつかの DP 類の化学合成研究が行われてきたものの、複雑な構造から安定供給や構造展開が難しく、DP 類に関する創薬研究は十分に行えていない状況にありました。

浅井禎吾教授らの研究グループは、ゲノムマイニング (注 7) と 麹菌異種発現 (注 8) を基盤とする合成生物学的な手法を用いて、麹菌内で DP 類の生合成経路を自在に設計することで多様な構造類縁体からなる DP 類ライブラリーを構築しました。データベース上の遺伝子情報を利用してゲノムマイニングを行い、5 つの DP 類の候補生合成遺伝子クラスターを見出しました。候補クラスターのバイオインフォマティクス解析を行い、分岐的な 5 つの天然型経路を設計し、麹菌内で再構築することで、5 つの経路で生合成され得る全ての DP 類を網羅的に高収率にて 生物合成 (注 9) しました。さらに、各生合成ステップを担う酵素機能を解析し、合理的に拡張型人工生合成経路を設計し、天然には存在しない高度に修飾された非天然型 DP 類の創製に成功し、計 22 種 (新規 15 種) からなる DP 類ライブラリーの構築に成功しました (図 2)。全ての化合物は対応する麹菌形質転換株を培養するだけで容易に再供給可能であり、様々な活性評価に十分な量を確保することができました。このように、天然化合物の問題点である、安定供給と類縁体創製の 2 つの課題を同時に解決する新たな化合物ライブラリー構築法を開発しました。

作製した DP 類ライブラリーを用いて有用薬理活性天然化合物の探索を行いました。公益財団法人がん研究会がん化学療法センターの旦慎吾分子薬理部長のヒトがん細胞パネル (JFCR39) を用いた細胞毒性試験および京都大学大学院農学研究科の村井正俊准教授および三芳秀人教授らの研究グループの *in vitro* ミトコンドリア呼吸鎖複合体阻害活性試験により、DP 類がミトコンドリア呼吸鎖複合体 III を選択的に阻害することが初めて明らかにされました。国立医薬品食品衛生研究所の諫田泰成薬理部長らの研究グループにより、ヒト乳がん細胞 MCF-7 由来のがん幹細胞に対して選択的に毒性を示す化合物が見出されました。また、金沢大学医薬保健総合研究科の倉石貴透准教授の研究グループにより、ショウジョウバエの自然免疫経路の一つである IMD 経路を選択的かつ強力に阻害する化合物およびショウジョウバエ成虫に対

する強力な麻痺活性を示す化合物が見出されました。東北大学災害科学国際研究所の児玉栄一教授の研究グループにより、種々の抗ウイルス活性を評価した結果、極めて低い濃度で HIV の増殖を選択的に抑える活性化化合物が見出されました。さらに、京都大学大学院農学研究科の村上一馬准教授および入江一浩教授の研究グループは、もっとも複雑なピロン構造を有する化合物に、アルツハイマー病と関連のあるアミロイド β の凝集を核形成の段階で顕著に抑制することを見出しました。

本研究は、合成生物学的手法を応用することで、従来の天然化合物探索や化学合成では難しい、安定供給と効率的な類縁体創製を可能にする天然化合物ライブラリーの創製を実現しました。今後、本研究の結果をもとに、遺伝子資源から様々な活性天然化合物とその多様な構造類縁体からなる化合物ライブラリーが構築され、創薬研究に大きく貢献することが期待されます。

本研究は、公益財団法人内藤科学技術振興財団内藤記念次世代育成支援研究助成金、公益財団法人アステラス病態代謝研究会研究助成事業、文部科学省および日本学術振興会による科学研究費助成事業（新学術領域研究「生物合成系の再設計による複雑骨格機能分子の革新的創成科学（生合成リデザイン）」および先端モデル動物支援プラットフォーム(AdAMS)・分子プロファイリング支援活動班）、若手研究 A、挑戦的研究（萌芽）などの支援を受けて行われました。

【発表論文】

雑誌名：*Nature Communications*

論文タイトル：Synthetic biology based construction of biological activity-related library of fungal decalin-containing diterpenoid pyrones.

著者：Kento Tsukada, Shono Shinki, Akiho Kaneko, Kazuma Murakami, Kazuhiro Irie, Masatoshi Murai, Hideto Miyoshi, Shingo Dan, Kumi Kawaji, Hironori Hayashi, Eiichi N. Kodama, Aki Hori, Emil Salim, Takayuki Kuraishi, Naoya Hirata, Yasunari Kanda and Teigo Asai

DOI 番号：10.1038/s41467-020-15664-4

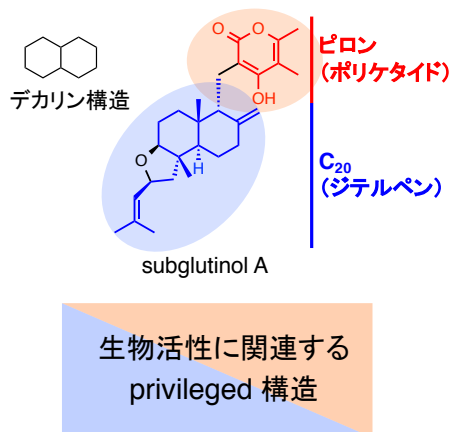
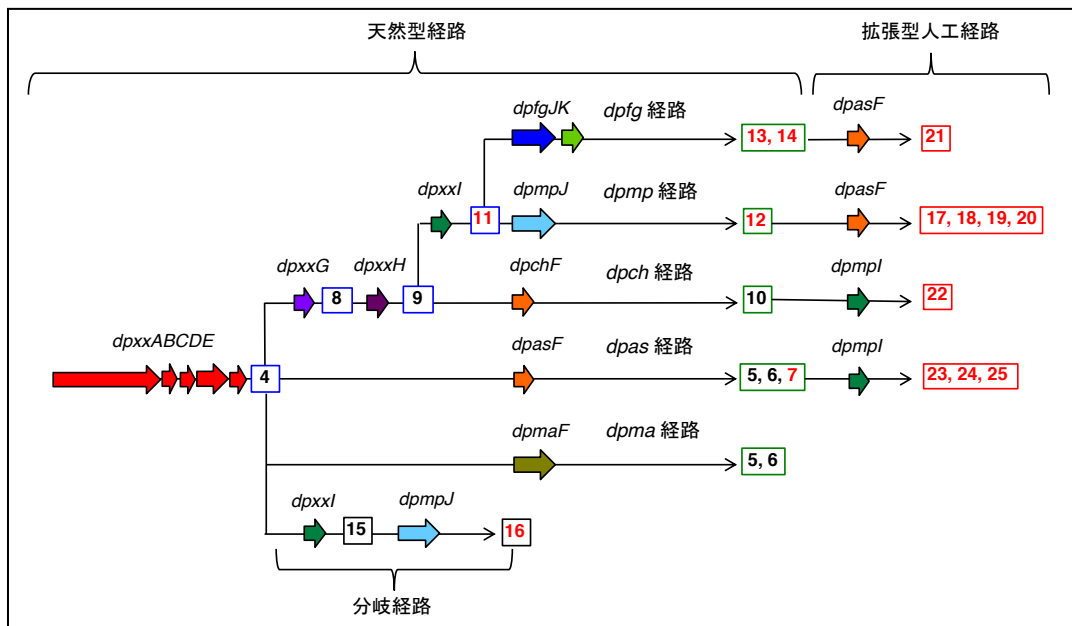


図 1. ジテルペノイドピロンの構造的特徴



麹菌で異種発現

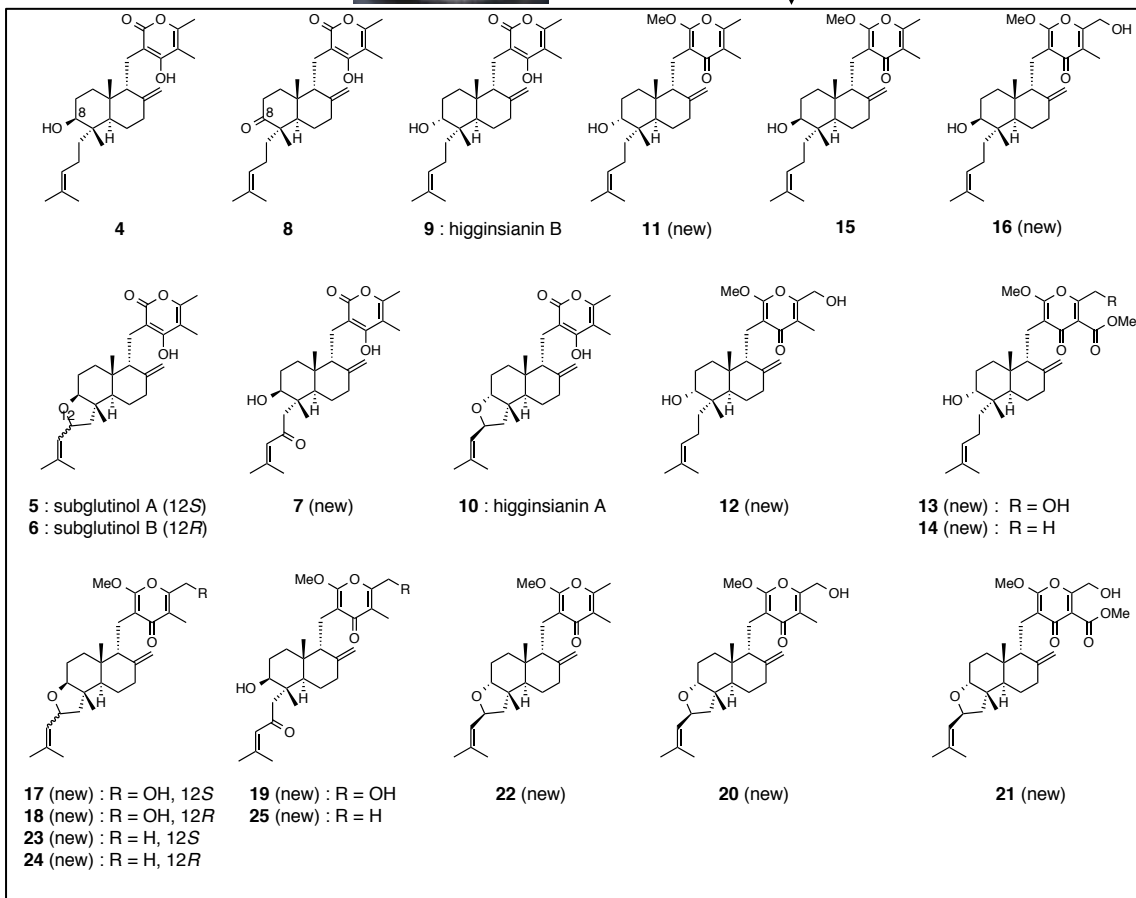


図 2. 本研究で構築した全合成経路と DP 類の化学構造

【用語解説】

注 1) 天然化合物生合成や合成生物学分野の研究手法 : 遺伝子解析技術の発展により、天然化合物が生体内でどのような酵素でどのような変換を経て合成されるかを明らかにする生合成研究が進展した。また、研究の出発点も酵素から遺伝子へとシフトした。それにともない、遺伝子情報をもとに天然化合物の生合成経路を異種宿主内で再構築する合成生物学的な研究手法が天然化合物生合成研究で汎用されるようになり、複雑な天然物や希少天然物を、遺伝子導入のみで高収量で生産させる生物合成技術が飛躍的に発展している。

注 2) ジテルペノイドピロン (DP) 類 : 糸状菌の生産する天然化合物の一群。テルペノイドとポリケタイドのハイブリッド型天然化合物であり、昆虫寄生糸状菌や植物病原性糸状菌からの単離報告例が多い。Sesquicillin A や subglutinol A など生物活性物質が多く存在する有用な医薬資源である。

注 3) ポリケタイド : 酢酸ユニットから生合成される天然化合物の代表的な化合物群。時テルペノイドピロンでは、ピロン部分がポリケタイド由来である。

注 4) テルペノイド : C_5 のイソプレンユニットからなる天然化合物の一群。4 つのイソプレン単位からなるゲラニルゲラニル二リン酸から生合成されるテルペノイドを時テルペノイドと言う。活性発現に重要な構造モチーフを形成することが多い。

注 5) メロテルペノイド : 部分的にテルペノイドの構造を有するハイブリッド型天然化合物。活性天然化合物が豊富に存在する、重要な化合物群である。

注 6) privileged 構造 : 活性化合物によく見られる化学構造で、活性発現に重要な構造と認識されている。プリビレッジド構造に様々な修飾官能基を施していき、医薬シーズを探索する方法もあり、プリビレッジド構造を有する天然化合物の多様性を広げることは、医薬品探索に有用な化合物ライブラリーの作製につながる。

注 7) ゲノムマイニング : 生合成研究の情報をもとに、目的の生合成遺伝子をデータベースなどの遺伝子情報から探索する方法。生合成研究の飛躍的な発展により、遺伝子情報からある程度生産される化合物の特徴が予想できるようになった。一方で、未開拓な生合成遺伝子が豊富に存在することも明らかとなり、新規天然化合物が数多くゲノム上に隠されていることもわかってきた。

注 8) 麴菌異種発現 : 麴菌は遺伝子操作が確立されたモデル糸状菌である。糸状菌の生合成研究に汎用される。宿主由来の二次代謝物の生産が少なく、導入遺伝子由来の代謝物の獲得が容易であり、また、生産量も多いことから、糸状菌天然化合物

の異種生産ホストとして汎用されている。ゲノムマイニングで見出した遺伝子クラスターを麹菌で発現させることで、生産物を獲得できることから、遺伝子情報に基づく天然化合物生産において非常に強力な手法である。

注 9) 生物合成：汎用ホストに生合成遺伝子を導入し、生物に目的天然化合物を合成させる方法。