東北大学
TOHOKU UNIVERSITY

Press Release

2024 年 11 月 12 日

報道機関　各位

国立大学法人東北大学

合成生物学と有機合成化学を融合させた分子創製
DNA タグ化ポリケチド-ペプチド融合型マクロ環化合物の創製

【発表のポイント】
- 合成の難しい天然有機化合物（天然物）を、他の天然物そのものの化学構造を変換することで有用な化合物の創製に成功しました。
- ゲノムマイニングと異種発現を基盤とする合成生物学的手法と有機合成化学を融合した新しい分子創製アプローチの提案です。
- ポリケチドーペプチド融合型マクロ環化合物からなる DNA エンコードライブラリーの構築法を確立しました。

【概要】

植物や微生物が作り出す天然有機化合物（天然物)は、医薬品、香料および染料など様々な用途に利用されてきましたがその合成には困難さがありました。近年、遺伝子資源の中から望みの天然物の生合成(注 1)に関わる遺伝子を探すゲノムマイニング(注 2)が可能となり、その生合成遺伝子を異種発現(注 3)させることで、所望の天然物を安定的に供給する合成生物学(注 4)を用いる手法が開発されました。

東北大学大学院薬学研究科の浅井禎吾教授の研究グループは、糸状菌のマクロライド天然物(注 5)を合成生物学的に供給し、それらを化学変換することでポリケチド部品(注 6)として調製し、別途合成したペプチドと二点での独立した連結反応により、ポリケチドーペプチド融合型マクロ環化合物(注 7)の創製に成功しました。さらに、DNA タグを付加したペプチドとマクロライド由来のポリケチド部品との環化反応を達成し、新規ポリケチドーペプチド融合型マクロ環 DNA エンコードライブラリー(注 8)の創製法の基盤を構築しました。今後、これらの化合物のライブラリーを創製することで、医薬品の候補となる化合物の発見に繋がることが期待されます。

本論文は、合成生物学と有機合成化学を融合した新しい分子創製のコンセプトを提案する成果であり、2024 年 10 月 16 日付で科学誌 Organic Letters にオンライン掲載されました。

※カテゴリは広報室に一任してください。

研究

【詳細な説明】

研究の背景

植物や微生物が作り出す天然有機化合物 (天然物) は、数多くの医薬品開発に貢献してきた重要な医薬資源です。また、色素、香料や染料をはじめさまざまな産業利用にも応用されています。これら天然物の機能は化学構造に起因しますが、天然物の多様性に富み、複雑で独創的で、かつ、機能を有する化学構造は困難です。そこで、天然物そのものの化学構造を変換することで、新たな機能分子の創製を試みる研究も盛んに行われていますが、こうした研究の対象は、入手容易な天然物に限定されていました。

近年、天然物を取り巻くさまざまな研究分野で技術革新が起こり、ゲノムマイニングと異種発現を基盤とする合成生物学的手法により、所望の化学構造を有する天然物を遺伝子資源から合理的かつ効率的に取得できるようになってきました。これにより、あらゆる天然物をさまざまな目的に応じて利用することができます。すなわち、分子創製の出発点に自由度が生じ、これまでにない分子設計が可能になります。東北大学大学院薬学研究科の浅井禎吾教授の研究グループは、合成生物学による天然物の供給と有機合成化学を融合させた新しい分子創製に取り組んでいます。

今回の取り組み

浅井禎吾教授の研究グループは、これまでに、糸状菌のマクロライド天然物の生合成システムを明らかにし、公開データベースの遺伝子情報の中に、数百のマクロライド天然物に対応する遺伝子を見出しています。マクロライド天然物はポリケチド鎖の両端がエステル結合で連結した大環状化合物で、炭素の数、ヒドロキシ基や二重結合の数や位置などにバリエーションがある多様性に富んだ化合物群です。そこで、合成生物学的に供給したマクロライド天然物を加工して分子創製の部品として利用し、ペプチドと融合したポリケチドーペプチド融合型マクロ環化合物をデザインし、それらの合成を実施しました (図 1)。

ゲノムマイニングにより *Penicillium expansum* のゲノム上にマクロライド生合成に関わる遺伝子を見出しました。それらを麹菌で異種発現することで、16 員環マクロライド天然物を取得し、異種発現株を繰り返し培養することで 2 g のマクロライド天然物を入手しました。得られたマクロライドに、有機化学反応を用いてペプチドとの連結部分を導入しました。それに対して合成したテトラペプチドとの二点連結反応により目的のポリケチドーペプチド融合型マクロ環化合物の合成に成功しました (図 2)。さらに、近年注目を集めている創薬手法である DNA エンコードライブラリーに応用するために、DNA タグ化されたテトラペプチドを合成し、先に調製したポリケチド部品との二点連結反応を最適化することで、目的の DNA タグ化ポリケチドーペプチド融合型マクロ環化合物の合成を達成しました。また、組成の異なる数種の DNA タグ化テトラペ

プチドを用いた環化反応にも成功し、多様な化合物の創製が実現可能であることも示しました (図 2)。本成果により、合成生物学と有機合成化学を融合した次世代分子創製のコンセプトを実証しました。

今後の展開

本研究では、ゲノムマイニングと異種発現を基盤とする合成生物学的手法により供給したマクロライド化合物とテトラペプチドとを融合した大環状化合物の創製法を提案しました。この方法では、「マクロライド化合物の多様性」 × 「ペプチドの多様性」で創製される化合物の多様性が創出されます。これまでの生合成研究及び遺伝子解析により、膨大な種類のマクロライド天然物が遺伝子資源の中に存在していることが明らかにされています。合成生物学的手法を用いれば、これらマクロライド天然物を手にすることができるため、マクロライド天然物から変換した多様なポリケチド部品のライブラリーを構築することが可能です。また、ペプチド部分については合成法も確立されており、テトラペプチドであれば数百万から数千万の多様性を創出することも容易です。すなわち、本研究により構築したポリケチドーペプチド融合型マクロ環化合物の創製法の確立により、今後膨大な化合物の創出へと応用することが可能であり、創薬研究を加速させることが期待されます。

今後、本研究において確立した合成スキームを利用することで、ポリケチドーペプチド融合型マクロ環化合物からなる大規模な DNA エンコードライブラリーを構築することができます。構築したライブラリーを活用することで、現在薬物療法が確立されていない様々な疾患に対する医薬品開発を可能にすることが期待されます。

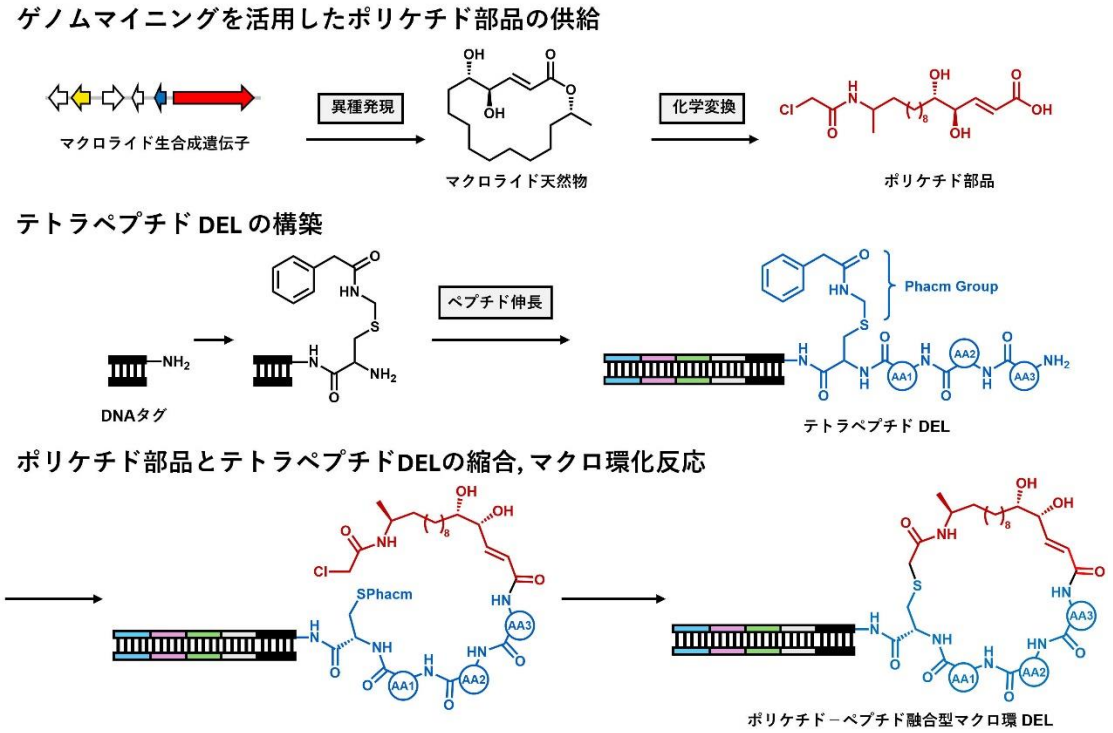

図1. ポリケチド－ペプチド融合型マクロ環化合物の合成戦略

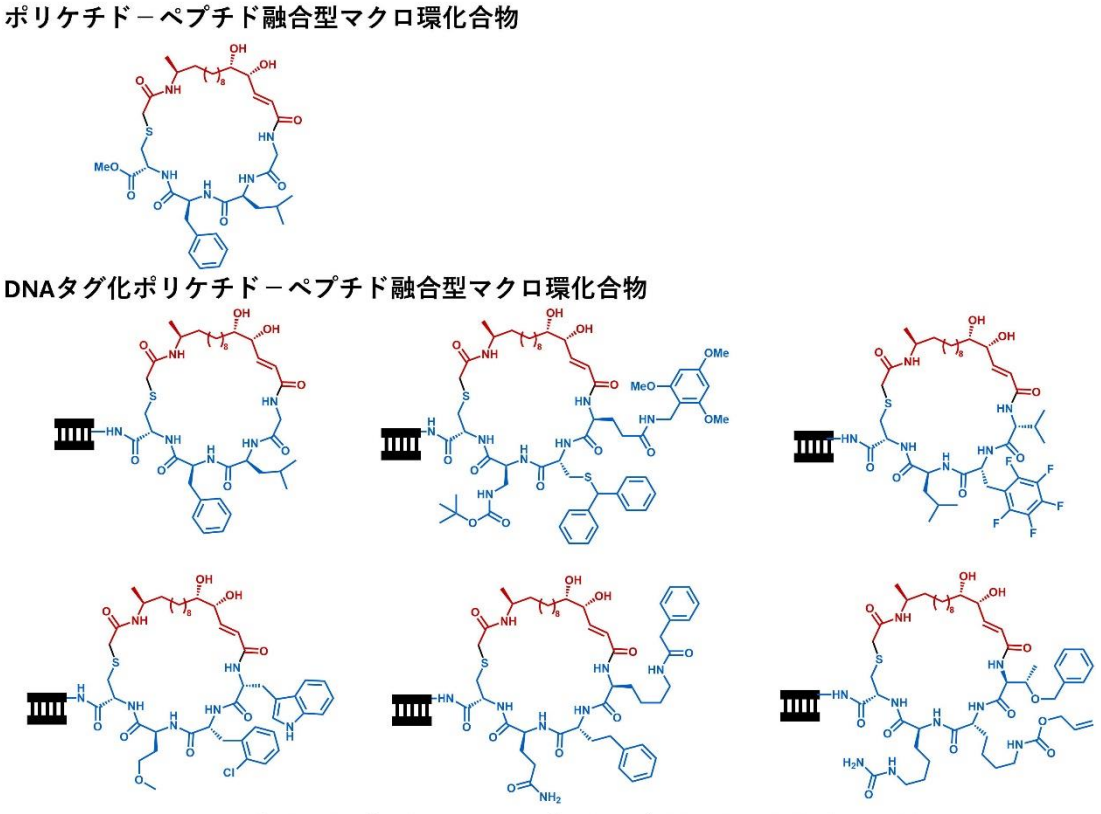

図2. 合成したポリケチド－ペプチド融合型マクロ環化合物の例

【謝辞】
本研究は、文部科学省研究費補助金 (JP22H02775, JP22K06519)、日本医療研究開発機構 (AMED) (JP22gm1610007, JP24am121038, JP24ama121040)、JST 次世代挑戦的研究プログラム (JPMJSP2114) の助成を受けたものです。また、本研究は、革新的先端研究開発支援事業（AMED-CREST）の一環として行われました。

【用語説明】

注1.　天然物の生合成：天然物は生体内で一次代謝物を原料として、連続的な酵素反応によりつくられる。その過程を生合成と呼ぶ。また、天然物の生合成は多段階の酵素反応からなり、その変換経路を生合成経路と呼ぶ。全ての天然物に固有の生合成経路があり、その情報は生物の DNA にコードされている。

注2.　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、遺伝子情報から生産される化合物の特徴がある程度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、新規天然物の生合成に関連した遺伝子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3.　異種発現：遺伝子機能を解析する手段の一つ。糸状菌の遺伝子機能を調べるホストとして *Aspergillus oryzae* (麹菌) が良く用いられている。導入した外来遺伝子がホスト内で発現し、それによって生じたタンパク質の機能を、表現型を通じて解析する手法。天然物生合成経路に関わる遺伝子を異種発現することで、生合成経路を再構築することができ、導入した遺伝子にコードされる生合成経路で作られる天然物を生産することができる。遺伝子情報を天然物へと変換できる強力なツールとしても利用されている。

注4.　合成生物学：目的の機能を有する生物を設計し構築する学問領域。天然物の領域では、生合成遺伝子を導入することで目的の天然物の生産能を有する微生物や植物を作り出す目的で実施される。遺伝子情報を天然物へと変換する強力な手法である合成生物学的手法は、天然物研究の歴史と天然物の複雑な構造による新規性の欠如、安定供給や構造展開の困難さなど、天然物創薬のボトルネックを解消し、天然物を再び創薬に利用可能にする学術領域として期待されている。

注5.　マクロライド天然物：ポリケチド天然物の一種。糸状菌では、高還元型ポリケチド合成酵素によって作られた炭素骨格がチオエステラーゼによって環化されることで生じる大環状化合物である。炭素数や官能基の違う多様な構造が存在する。高還元型ポリケチド合成酵素とチオエステラーゼを指標としてゲノムマイニングすることができる。公開データベース上に

は、数百ものマクロライド化合物の生合成を担うと予想される高還元型ポリケチド合成酵素とチオエステラーゼが存在する。すなわち、ゲノムマイニングと異種発現を利用すれば多様なマクロライド化合物を取得することが可能な状況にある。

注6.　ポリケチド部品：ポリケチド天然物はポリケチド合成酵素によってつくられる連続した炭素鎖からなる天然物である。注 5 のマクロライド天然物もポリケチド天然物に含まれる。炭素数や修飾様式はポリケチド合成酵素はポリケチド合成酵素ごとに違う。ポリケチド合成酵素は遺伝子資源の中に膨大な数が存在している。つまり、ゲノムマイニングと異種発現を利用すれば膨大な数のポリケチドが得られる。また、異種発現では、ポリケチドを様々な用途に利用するのに十分な量が供給できるため、ポリケチドを加工して、様々な分子創製に組み込むことができる。このようにポリケチドをあたかもものづくりの部品のように利用できる。

注7.　ポリケチドーペプチド融合型マクロ環化合物：ポリケチド天然物とペプチドが融合した天然物の一種。抗生物質や抗がん剤として期待される生物活性を有した天然物も報告されており、これら天然物に類似した構造を網羅的に探索することによって、医薬品の候補となる化合物の発見が期待される。

注8.　DNA エンコードライブラリー：近年注目されている創薬手法の一つ。各化合物に固有の塩基配列を有する DNA タグを付与した化合物からなるライブラリー。標的タンパク質と DNA エンコードライブラリーを混合し、洗浄を繰り返したのち残った化合物の DNA タグを PCR によって増幅し、次世代シーケンサーで解析することで、標的タンパク質と親和性の高い化合物を特定することができる手法である。そのため、化合物ライブラリーを混合物のまま効率よく評価することができる。独創的な化合物からなる DNA-エンコードライブラリーの構築が望まれている。

【論文情報】
タイトル：Semi-synthesis of a DNA-Tagged Polyketide−Peptide Hybrid Macrocycle Using a Biosynthetically Prepared Fungal Macrolide as a Synthetic Component
著者：Soya Koremura, Akihiro Sugawara, Yohei Morishita, Taro Ozaki, Teigo Asai
*責任著者：東北大学大学院薬学研究科　教授　浅井 禎吾
掲載誌：Organic Letters
DOI: 10.1021/acs.orglett.4c03588
URL: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.orglett.4c03588

【問い合わせ先】
（研究に関すること）
東北大学大学院薬学研究科
教授　浅井　禎吾
TEL：022-795-6822
Email：teigo.asai.c8@tohoku.ac.jp

（報道に関すること）
東北大学大学院薬学研究科
総務係
TEL：022-795-6801
Email：ph-som@grp.tohoku.ac.jp