

モジュール型酵素のエンジニアリングによる非天然型抗生物質の創出
～生合成リデザインによる新世代創薬シード生産～

1. 発表者：

淡川 孝義（東京大学大学院 薬学系研究科 講師）

新家 一男（産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門最先端バイオ技術探求グループ
研究グループ長）

阿部 郁朗（東京大学大学院 薬学系研究科 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆これまで非常に困難とされていたモジュール型酵素のエンジニアリングに成功し、ポリケタイドと非リボソームペプチドのハイブリッド非天然型抗生物質を創出。
- ◆その反応制御の厳密さゆえ、非常に困難であったモジュール型酵素の改変に成功し、高収量の非天然化合物生産系を構築。
- ◆抗生物質を合成する新規生体触媒のリデザインについて新規手法を提供することにより、創薬研究の発展に貢献。

3. 発表概要：

ポリケタイドや非リボソームペプチドなどの化合物群は医薬品シードとして有用ですが、その構造の複雑さにより、酵素法による新規類縁体の生産法の確立が待たれていました。しかし、その生合成酵素は触媒ドメインが一つのポリペプチドに連なって存在するモジュール型酵素であり、触媒は厳密に制御されていることから、酵素改変による新規物質生産は非常に困難でした。

東京大学大学院薬学系研究科の淡川 孝義 講師、阿部 郁朗 教授と、産業技術総合研究所創薬基盤研究部門の新家 一男 研究グループ長らの研究グループは、酵素多様化進化をコントロールし、それを微生物ホストにて機能させることによって、有機合成化学ではきわめて困難とされた、ラクトンサイズや側鎖構造の異なる新規デブシペプチドを自在に生産することに成功しました。

モジュール型酵素改変による酵素工学的手法と活性物質を微生物合成する合成生物学の手法の融合による物質生産法を開発することで、創薬研究へ貢献することが期待されます。

4. 発表内容：

ポリケタイド-非リボソームペプチド融合化合物 (PK-NRP) (注1) は抗ガン、抗菌活性など医薬品として有用な活性を持つ化合物群です。しかしながら、これらの多くは複雑な骨格を有しており、有機合成的にこれらの化合物を供給することは一般的に困難です。一方で、近年、天然物の複雑骨格形成に中心的役割を担う生合成酵素の発見が相次いでいます。これら生合成酵素を合成生物学の手法を応用して、物質生産へと利用することができれば、簡便な有用生理活性物質創製系の構築が期待されます。しかし、その生合成酵素は触媒ドメインが一つのポリペプチドに連なって存在するモジュール型酵素 (注2) であり、その触媒は厳密に制御されていることから、酵素改

変による新規物質生産は非常に困難であり、もし新規物質が生産されたとしても、収量が大きく減少する場合が多く、効率的な改変手法は確立されていないのが現状でした。

放線菌（注3）が生産するPK-NRP化合物である、アンチマイシン化合物群（注4）は抗菌活性などさまざまな生理活性を示し、抗真菌薬、抗ガン剤など創薬のための重要な研究テーマの一つとなっています。antimycin（注4）の生合成研究に関しては東京大学大学院薬学系研究科の阿部 郁朗 教授らのグループによりその生合成経路が同定され、非天然型基質や酵素改変の手法によって、さまざまな非天然型化合物が生み出されてきました。よりラクトン構成単位の数が多い、JBIR-06（注4）、neoantimycin（注4）といった化合物群の生合成遺伝子を解析したところ、ラクトン環サイズが増加するにつれて、モジュール数の増加、ポリケタイド合成モジュールの触媒ドメイン構成の変化が起き、新規骨格が形成されることが明らかとなりました。これらは、共通の基質を取り込むものの、モジュールの数、触媒ドメインの構成が異なり、それぞれ化合物を作り分ける「天然のコンビナトリアル型キメラ酵素」といえるものでした。

今回、研究グループは、産業技術総合研究所の新家 一男 研究グループ長と共同で、アンチマイシン化合物群の生合成遺伝子を持つ BAC ベクター（注5）を用いて、モジュール型酵素遺伝子の迅速な取得を可能にし、これらを改変することで、新規物質生産を行いました。アンチマイシン生合成酵素群はそれぞれ相同性の高いアミノ酸配列を持つため、触媒ドメインのコード領域を比較解析することが容易であり、これらがどのように多様化したかを解析し、その様式を組み合わせることによって、新規モジュールデザインを行いました。これらを微生物ホストにて機能させることによって、有機合成化学ではきわめて困難とされた、ラクトンサイズや側鎖構造の異なる新規PK-NRPを生産することに成功しました（図）。

本研究では、酵素の多様化に関する進化様式を応用することで、通常困難なモジュール酵素の改変を達成し、医薬品シードの可能性を秘めるアンチマイシン化合物群の新規生産系を構築しました。今後、本研究の結果を元に、医薬品シード類縁体を、酵素法によって簡便に生産する系が構築され、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、文部科学省 科学研究費補助金、新学術領域研究（研究領域提案型）「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）」の支援を受けて行われました。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Nature Communications*

論文タイトル：Reprogramming of the antimycin NRPS-PKS assembly lines inspired by gene evolution

著者：Takayoshi Awakawa, Takuma Fujioka, Lihan Zhang, Shotaro Hoshino, Zhijuan Hu, Junko Hashimoto, Ikuko Kozone, Haruo Ikeda, Kazuo Shin-ya, Wen Liu, Ikuro Abe

DOI 番号：10.1038/s41467-018-05877-z

6. 問い合わせ先：

【研究に関するお問い合わせ】
東京大学大学院 薬学系研究科
教授 阿部 郁朗（あべ いくろう）
Tel: 03-5841-4740
E-mail: abei@mol.f.u-tokyo.ac.jp

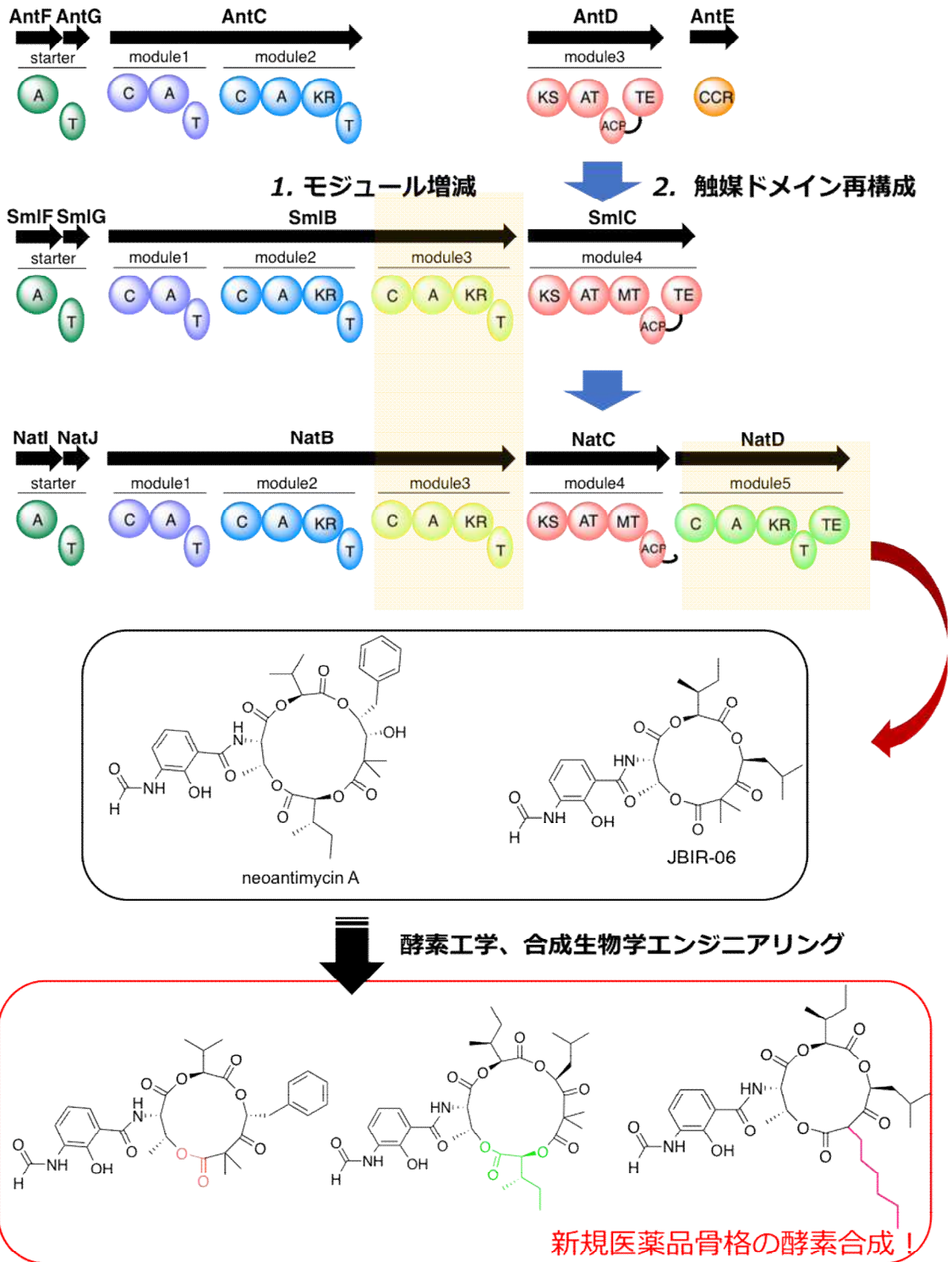
【報道に関するお問い合わせ】
東京大学大学院 薬学系研究科 庶務チーム
Tel: 03-5841-4719
E-mail: shomu@mol.f.u-tokyo.ac.jp

産業技術総合研究所 企画本部報道室
Tel: 029-862-6216
E-mail: press-ml@aist.go.jp

7. 用語解説：

- 注1) ポリケタイド-非リボソームペプチド融合化合物 (PK-NRP)：酢酸ユニットから合成されるポリケタイド(PK)、非リボソーム性の酵素によって合成されるペプチド(NRP)の融合した骨格を持つ天然物の一群。抗ガン、抗菌活性を持つ医薬品として有用な活性を持つものが多く含まれる。
- 注2) モジュール型酵素：酵素の触媒ドメインが一つのポリペプチドに連なって存在する巨大酵素。代表的なモジュール型酵素の例として、PK 合成酵素、NRP 合成酵素が知られる。その触媒は厳密に制御されていることから、酵素改変による新規物質生産は通常困難である。
- 注3) 放線菌：土壌に存在し、数々の医薬品シード化合物を合成する細菌の一種。
- 注4) アンチマイシン化合物群：ジラクトン antimycin、トリラクトン JBIR-06、テトララクトン neoantimycin など、共通の開始基質から合成されるものの、ラクトン環サイズの異なる構造を持つ PK-NRP 化合物群。Antimycin は抗真菌剤、抗ガン剤、JBIR-06、neoantimycin は抗ガン剤としてのポテンシャルを秘める生理活性を持つ。
- 注5) BAC ベクター：bacterial artificial chromosome ベクターのこと。大腸菌を宿主とする人工染色体ベクターであり、大腸菌プラスミドの一種 F プラスミドの複製系を利用する。二次代謝遺伝子クラスターとしては世界最大級の、15 万塩基対もの遺伝子クラスターのクローニングの実績を持つ。

8. 添付資料：



図：医薬品シードを合成するモジュール型酵素の改変による新規物質生産