

【研究最前線】**天然物化学の新潮流**天然物化学研究室 教授 **脇本 敏幸****はじめに**

古来より生物が作る化合物を薬に利用する営みが継続的に続けられてきました。近代科学の発展に伴い、1940年代以降には抗生物質発見の黄金時代を迎え、1980年代からは海洋天然物の黎明期が到来します。特に海洋天然物化学における日本人研究者の活躍は目覚ましく、小林淳一先生が主宰された天然物化学研究室から数々の新規生物活性天然物が報告されてきました。この間、新規天然物の発見という意味において黄金期を迎え、タキソール、アルテミシニン、アベルメクチン、メバスタチン、ハリコンドリン B など重要な天然医薬品リード化合物が見出されました。このように天然物は多様な骨格と特異な生物活性を示すことから、医薬品資源として重要な位置を占めるモダリティです。

さらに近年再び天然物を基点とする医薬品や農薬の開発が重要視されてきています。創薬分野においては薬剤耐性菌対策など喫緊の課題のため、新たな作用機序に基づく抗生物質の開発が世界中で進められています。抗生物質は特に多くの天然物が利用されてきた医薬品群であり、天然物創薬の更なる貢献が期待されています。さらに中分子に基づく創薬展開がより有望であることが支持されてきており、比較的分子量の大きい中分子構造の宝庫である天然物が創薬資源として再び注目されています。農薬分野においては、環境負荷の観点から人工化合物の使用低減が求められており、環境調和性の高い天然物を利用した農薬の開発が世界中で急務となっています。このような状況の中、天然物化学が社会の期待に応える上で、創薬候補化合物として天然物の多様性をさらに拡充していくことが重要です。

天然物生合成研究の進展

新たな天然物の多様性拡充の方策として近年では生合成遺伝子や生合成酵素の応用が盛んに模索されています。天然物の生合成経路の詳細は長年不明でしたが、2000年代初頭以降のポストゲノム時代の到来によって、天然物の生産者である微生物

などのゲノム情報に容易にアクセスできる時代を迎え、天然物の生合成経路が次々に明らかにされてきました。また、環境遺伝子の配列解析によって、地球上に生息する微生物のうち、我々が実験室下で培養できる微生物は1%程度とごくわずかであることが明らかになりました。残りの99%に属する難培養微生物が生産する天然物を創薬対象化合物として利用することができれば、探索対象の多様性が飛躍的に拡大し、新たな創薬資源の発見につながります。実際に当研究室では難培養性の海綿共生微生物に由来する天然物について生合成遺伝子の特定や生合成経路の解析を実施しています^{1),2)}。

生合成遺伝子には天然物の設計図が記載されています。設計図を解読することができれば、遺伝子の構成から天然物の構造を予測することが可能になり、生合成酵素や遺伝子を足掛かりに天然物を探ることができます³⁾。さらに生合成遺伝子には自身が生産する天然物によって生じる自己毒性を回避する仕組みが備えられている場合があり、耐性機構の解析からその天然物の標的分子や作用機序の緒を掴むこともできます⁴⁾。この点を逆手に取れば、特定の生物活性を狙って生合成遺伝子を探すことで、所望の生物活性天然物を探索することも可能になります。また、微生物のゲノム中にはすでに単離されている化合物の数を優に超える数の生合成遺伝子がコードされており、実験室条件下で発現していない生合成遺伝子は約8割にも及びます。これら休眠遺伝子は重要な未開拓天然物資源であるため、現在当研究室では休眠遺伝子を活性化する新たな手法を開発しております。

天然物にはテルペノイドやポリケチド、ペプチドなどいくつかのグループに分けられます。これらは生合成経路は異なりますが、いずれも構造が単純な一次代謝産物をもとに生合成されます。特にテルペノイドにおいては、鎖状のイソプレン骨格を原料として、テルペン環化酵素が一段階で一気に複雑な多環性骨格を合成します。不斉中心を多数有する炭化水素骨格を効率的に構築できるテルペン環化酵素は物質生産に有用です。実際にアルテミシニン

の前駆体は生合成酵素を導入した酵母で発酵生産されています。このように酵母や大腸菌などに所望の酵素を導入して物質生産を行う合成生物学が新たな分野として勃興してきました。また、これらの生合成酵素を *in vitro* で利用することで、生体触媒としても応用することができます。酵素反応は温和な条件下、水系溶媒中で反応が進行するため、環境調和型で持続可能な物質生産技術につながります。

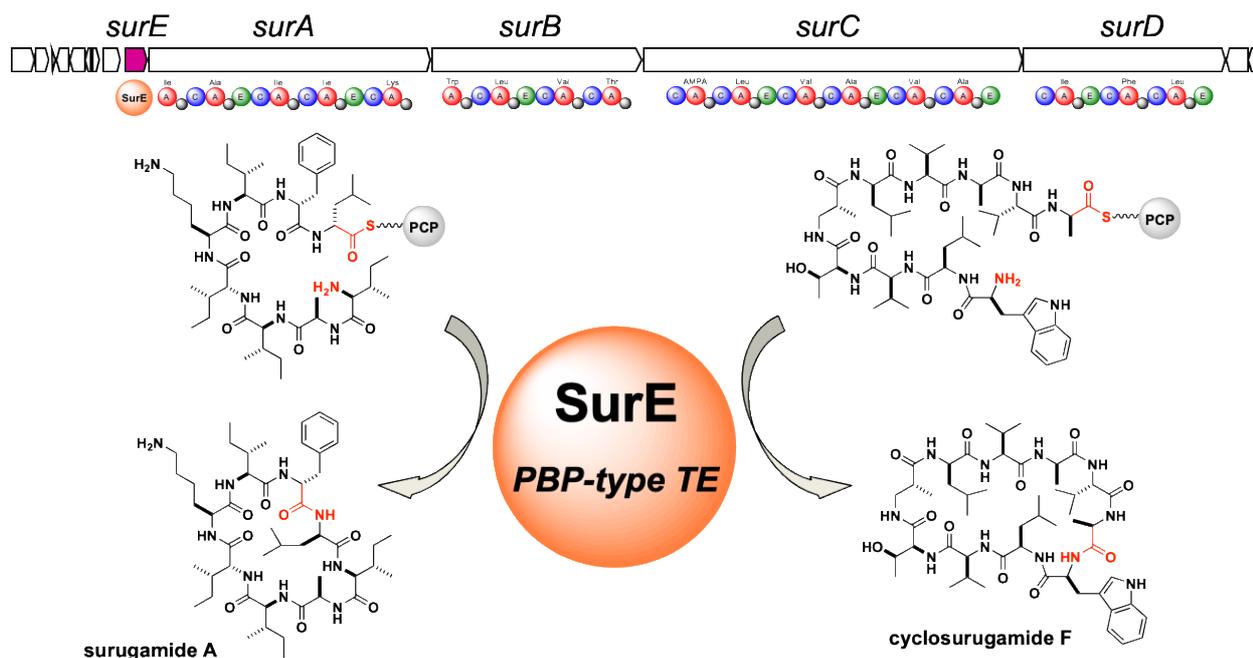
新規ペプチド環化酵素の発見

実際に私たちの研究室ではペプチドの環化酵素の応用展開を目指しています。ペプチドは分子量 100 程度のアミノ酸を連結することで、比較的容易に中分子サイズの骨格を合成できることから、中分子創薬の中心的な化合物群です。薬理活性の発見のために、様々な構造修飾が施され、中でも大環状骨格はコンフォメーションが制限され剛直な構造となるため、直鎖のものに比べ代謝安定性や生体膜透過性、作用標的特異性が向上します。このため、ペプチドの大環状化反応は生物活性ペプチドの合成において非常に重要なステップです。しかしペプチド環化反応は競合する分子間反応を避けるために低濃度で行わなければならないため、大量の溶媒を必要とします。また位置選択的な環構造の構

築には後々廃棄物となる保護基が必要になります。縮合剤を使用すれば、分離困難な立体異性体の生成も問題となります。

一方、天然物には多種多様な環状ペプチドが存在します。これらが生合成される過程においては「ペプチド環化酵素」が保護基を用いることなく位置選択的な環化を効率よく触媒します。このためペプチド環化酵素を触媒として利用できれば、上記の課題を解決したクリーンなペプチド環化反応が実現できると考えられます。このようなアイデアは別段新しいものではなく、2000 年以降これまで様々なタイプのペプチド環化酵素が様々な生物種から発見され研究されてきました。通常私たちの生体内ではリボソーム経路によってタンパク質やペプチドが作られますが、シクロスポリンやダブトマイシンなど、医薬品として重要な天然環状ペプチドの多くは、いわゆる非リボソーム経路によって生合成されます。リボソームペプチドに比較して異常アミノ酸やポリケチド骨格を含むことで多様かつ複雑な骨格を合成することができます。非リボソームペプチドはいずれも概ね 10 残基以下程度の環状骨格を有しており、その環状骨格は巨大な非リボソームペプチド合成酵素 (NRPS) の C 末端に直接融合したチオエステラーゼ (TE) ドメインや末端縮合 (C_T) ドメインによって構築されます。その触媒利用は今から 20 年以上前にハ

スルガミド生合成遺伝子と新規ペプチド環化酵素 SurE



ーバード大学の C. Walsh らの先駆的な研究によって報告されています⁵⁾。Walsh らの研究以降、非リボソームペプチド環化酵素の触媒利用を目指して TE や C_Tドメインの機能解析が行われてきましたが、残念ながらいずれも生体触媒としての実用性を示すには至っていません。その理由として、本酵素ファミリーが本来の基質に対して非常に高い選択性を示す点が挙げられます。また、本来は巨大タンパク質の一部として存在する環化ドメインを単独の組換え酵素として発現することも、酵素の安定性の観点から好ましくありません。

そこで私たちは上記の難点を克服しうる新しい非リボソームペプチド環化酵素の探索に着手しました。その起点となった天然物がスルガミドです。スルガミド類は 2013 年に東京大学農学部の高田らによって海洋放線菌から発見された環状ペプチドです⁶⁾。カテプシン B の阻害活性を示しますが、それほど強い活性ではありません。さらに構造は複数の D-アミノ酸を含むいわゆる典型的な非リボソーム型環状ペプチドなため、その化学構造と生物活性を見る限り、特段の新規性を見出すことは難しい天然物です。しかしその生合成遺伝子クラスターを精査すると、従来にはない特徴が認められます。スルガミド NRPS には環化を触媒する通常の TE ドメインが見当たらなかったのです。この知見から本化合物の生合成に新規なペプチド環化酵素が関与することを予想し、研究に着手しました。ちょうど私が北海道

大学に着任して間もない 2016 年のことです。当時当研究室に配属したばかりの佐野文映さんが修士課程までの間に多数のスルガミド類縁体を合成して本研究の土台を築いてくれました。さらに、現在博士課程の小林雅和君が 3 年生の冬に新たな環化酵素 SurE を発見しました⁷⁾。興味深いことに SurE は、生体内で配列や鎖長の全く異なる 2 つの非リボソーム型環状ペプチドの環化反応を触媒します⁸⁾。このことは SurE が元来、非常に寛容な基質選択性を備えたペプチド環化酵素であることを示しています。さらに本酵素は NRPS から独立して存在する単独酵素である点でこれまでの非リボソームペプチド環化酵素とは一線を画しています。従来の環化ドメインとは配列相同性を示さず、ペニシリン結合タンパク質 (PBP) に類似することから、私たちはこれを新しいタイプのペプチド環化酵素「PBP-type TE」として世界に先駆けて報告しました⁷⁾。実は、直後に同じ酵素の論文が 2 報発表され、本研究が中国とイギリスのグループと競合していたことが分かりました^{9),10)}。現在、詳細な機能解析と機能改変を経て、効率的に環状ペプチドを合成する生体触媒としての開発を進めています¹¹⁾。

おわりに

このように近年の天然物化学は従来の単離・構造決定のみならず、遺伝子や酵素を新たなツールとして用いることで、未踏の領域へと発展しています。



その一例として、化学構造と生物活性に留まらず、生合成遺伝子や酵素まで踏み込むことで見出されたスルガミド環化酵素 SurE の研究について詳述させていただきました。ゲノムデータベースに眠る天然物生合成酵素は生体触媒の宝庫です。膨大なゲノム情報から最新の情報処理技術を活用して目的の遺伝子や酵素、そして天然物を探索する時代が到来しています。ビックデータを活用した天然物化学研究は緒についたばかりですが、今後急速に発展することでしょう。若い世代とともに、新しい潮流を楽しみつつ、新たな領域を切り拓いていきたいと思えます。

2015 年春に天然物化学研究室に着任して以来、これまでの研究室スタッフや学生の皆さんの献身的な努力によって、最先端の天然物化学の研究と教育を遂行する研究室を立ち上げることができました。特に歴代のスタッフ、江上蓉子助教、倉永健史講師、松田研一講師、吉村彩助教、ウリア・アグスティヌス助教には深く御礼申し上げます。そして当研究室に集い、切磋琢磨する元気一杯の学生諸氏に深謝致します。最後になりましたが、同窓会の皆様のご多大なご支援に心より御礼申し上げますとともに、引き続きご指導を賜りますようお願い申し上げます。

参考文献

- 1) T. Wakimoto, et al., *Nat. Chem. Biol.* **10**, 648-655 (2014)
- 2) T. Wakimoto, et al., *Nat. Prod. Rep.*, **33**, 751-760 (2016)
- 3) K. Matsuda, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **144**, 12954-12960 (2022)
プレスリリース:
https://www.hokudai.ac.jp/news/pdf/220705_pr.pdf
- 4) T. Jomori, et al., *RSC Chem. Biol.* **2**, 1600-1607 (2021)
- 5) M. K. Rahul, et al., *Nature* **418**, 658-661 (2002)
- 6) K. Takada, et al., *J. Org. Chem.* **78**, 6746-6750 (2013)
- 7) T. Kuranaga, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **57**, 9447-9451 (2018)
プレスリリース:
https://www.hokudai.ac.jp/news/180618_pr.pdf
- 8) K. Matsuda, et al., *Org. Biomol. Chem.* **17**, 1058-1061 (2019)
- 9) Y. Zhou, et al., *Cell Chem. Biol.* **26**, 737-744 (2019)
- 10) D. Thankachan, et al., *ACS Chem. Biol.* **14**, 845-8459 (2019)
- 11) K. Matsuda, et al., *Nat. Catal.* **3**, 507-515 (2020)
プレスリリース:
https://www.hokudai.ac.jp/news/pdf/200507_pr.pdf

同窓会 HP:2022 年 11 月 15 日公開