

X-XXX (発表番号…削除・変更せずに、そのままにしておいてください)

放線菌由来生物活性二次代謝産物の生合成研究

阿部 郁朗

(東京大学 大学院薬学系研究科)

Biosynthetic studies on bioactive secondary metabolites in actinomycetes

Ikuro Abe

(Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo)

東大薬学部の学生時代に恩師・三川潮先生の講義で聴いた岡西昌則先生と David Hopwood 先生のプラスミドの話、雑誌で読んだ東大農学部の堀之内未治先生の A-ファクターの論文、に非常に感銘を受け、一時は別府輝彦先生の農学部醗酵研への転部を真剣に考えたこともあるものの、私が本格的に放線菌の研究を開始したのは、ごく最近、2011 年になってからのことである。それまでは主に植物や糸状菌などのテルペンやポリケタイドの生合成に従事した。2009 年に 20 年ぶりに東大に戻り、出身研究室の薬学部天然物化学教室を教授として主宰することになり、この時に始めた研究が、私にとってそれまで憧れであり、また、未踏の領域であった、海洋天然物と放線菌の二次代謝産物の生合成研究であった。早速、静岡県大で一緒した森田洋行博士（現、富山大和漢薬研教授）、一緒に日本平を走った脇本敏幸博士（現、北大薬学部教授）、そして、2011 年に農学部醗酵研で学位を取得したばかりの淡川孝義博士（現、理研チームリーダー主任研究員）に、スタッフとして研究室の立ち上げに参画、その後の研究室の運営を大いに支えてもらった。

さて、放線菌の研究を進めるにあたっても多く貴重な出会いがあった。まずは阪大薬学部・北川勲先生（柴田承二先生門下、三川先生の兄弟子）の研究室の出身でオレゴン州立大学 Taifo Mahmud 教授、のところへの留学から戻ったばかりの、当時、徳島文理大の伊藤卓也博士である。彼に 2011 年に紹介してもらったのが、アンチマイシンやテレオシジンに加えて、メディオマイシンといった巨大ポリケタイド抗生物質を生産する、放線菌 *Streptomyces blastmyceticus* NBRC 12747 株であり、その後、数々の充実した研究成果に結実することになった。Taifo 自身も 2016 年に私のところに 5 ヶ月間サバティカル滞在し、いまでも親交を続けている。最近も共著論文をだしたばかりである。次に、2011 年に津田正史教授の紹介で高知大学のマリンテクノロジー若手教員の評価委員を務めた関係で、Dana Ulanova 博士と知り合った。2016 年には Dana が中心となって JSPS 二国間交流事業によるワークショップがプラハで開催され、チェコ科学アカデミー微生物学研究所の Jiří Janata 博士らと研究討議を行った。プラハからはこの後 2018 年に JSPS 外国人特別研究員として Stanislav Kadlcik 博士が、また、Miroslava Alblova 博士、Lucie Steiningerova 博士が来日し、リンコマイシン抗生物質の生合成に関する共同研究に着手し交流を続けている。最後に、東大農学部の尾仲宏康先生（現、学習院大理学部教授）とは、2013 年から複合培養による放線菌抗生物質生産の覚醒に関する共同研究を開始した。これら共同研究も着々と多くの成果に結実し、現在もなお進行中である。

具体的な研究成果として、放線菌由来複雑骨格天然物のモジュール型生合成マシナリーの構造機能解析と再設計が挙げられる。まず、上述した *S. blastmyceticus* NBRC 12747 が生産するポリケタ

イドとペプチドのハイブリッド型抗真菌性抗生物質であるアンチマシリンについて、中国科学院上海有機化学研究所・Wen Liu 教授との共同研究（途中で競合が判明したため）により、その生合成マシナリーの全容を解明した（*OL* 2012）。さらに、多様な伸長基質の供給を可能とするクロトニル CoA 炭酸化酵素 AntE の寛容な基質特異性を利用し、非天然型基質を作用させることで、アルキル側鎖の構造多様性を拡大し、細胞毒性を抑え、抗菌活性を増強した誘導体を創出した（*ACIE* 2013）。また、AntE の X線結晶構造解析に基づき合理的に基質結合ポケットを拡大することで、嵩高い芳香環をもつ伸長基質のポリケタイド骨格への導入に成功し、新規非天然型化合物生産系を構築した（*ACIE* 2015）。次に、単一酵素の改変による小スケールの研究から、その反応制御の厳密さゆえ、これまで非常に困難とされていたモジュール型多機能酵素の機能改変に挑戦し、有機合成化学では困難とされた、ラクトン環サイズの制御や側鎖構造の異なる非天然型新規抗生物質の生産にも成功した（*Nat Comm* 2018）。一方、産総研・新家一男教授、北里大学・池田治生教授らとの共同研究により、*S. blastmyceticus* NBRC 12747 が生産する、アミノポリオール系抗生物質メディオマイシンの生合成に巨大なモジュール型ポリケタイド合成酵素が関与することを明らかにし、その生合成マシナリーを解明した。加えて、本酵素遺伝子が自然界でどのように変異を起こし進化したかを詳細に解析し、これらの遺伝子組換えメカニズムを応用して、生合成アセンブリラインのモジュールを自在に並べ変えることで、多様な非天然型ポリケタイド化合物を創出する方法論の基礎を築いた（*ACIE* 2017）。

S. blastmyceticus NBRC 12747 が同様に生産する、強力なタンパクリン酸化酵素活性化作用を示すペプチドとテルペンのハイブリッド型化合物テレオシジンについても、その生合成マシナリーの全容を解明し、遺伝子クラスター外に存在する C-メチル化酵素がテルペン側鎖の環化に関わることなどを明らかにした（*JACS* 2014）。また、基本骨格構築に関わるプレニル転移酵素の X線結晶構造解析により酵素反応の立体構造基盤を解明し、さらに合理的に酵素触媒機能を拡大することにより、プレニル鎖長や位置を変化させた非天然型テレオシジン誘導体の創出に成功した（*Nat Comm* 2016）。一方、インドラクタムの骨格を構築するシトクロム P450 酸化酵素は、有機合成では困難な C-N 結合形成反応を触媒する珍しい酵素である。この酵素についても X線結晶構造解析により、酵素反応機構を解明し、構造を基盤とした部位特異的変異導入と合成基質アナログを種々作用させることで、酵素触媒機能を大幅に拡張し、テレオシジンの 9 員環ラクタム構造を劇的に変化させた非天然型新規骨格誘導体の酵素合成を達成した（*Nat Chem Biol* 2019, *ACIE* 2020）。

最近の特筆すべき研究成果の一つに放線菌由来抗腫瘍活性アルカロイド抗生物質アルテミシジンの生合成がある（*Nat Comm* 2019, *Nature* 2021）。その特異なデヒドロアザインダン骨格の構築に関わる補酵素 β -NAD⁺と SAM との間の (3+2) 環化反応を触媒する画期的な新奇 PLP 酵素 SbzP、また、システインの連続酸化と脱炭酸を伴う分子内転位によりスルホンアミドを生成する多機能型新奇金属酵素 SbzM などを発見し、その生合成マシナリーの詳細を解明した。本研究成果は、医薬品リードとして有望なアルテミシジンの生合成経路の解明、さらに、これまで前例のない生体補酵素を原料とする酵素群の同定など、学術的意義が極めて高く、今後、希少有用天然物の大量安定供給や、創薬研究への貢献が大いに期待される。本研究は、2016 年に UCSD での研修出向を終え帰国した、淡川博士を中心に進められたものであり、非常に困難で長い年月を要した。人一倍負けず嫌いのランナーである博士ならではの成果であり、そのひらめきと根気、弛まない努力に敬意を表する。

その他、森貴裕博士を中心に、チェコ科学アカデミー Jiří Janata 博士との共同研究により、放線菌由来リンコサミド抗生物質の生合成において、生物活性の発現に必須なアミド結合の形成を触媒する新奇アミド合成酵素 CcbD (*Nat Catal* 2023) や、*S*-糖転移酵素 LmbT (*ACIE* 2023) など、他に例を見ないユニークな酵素の反応機構と立体構造基盤を解明した。現在さらにリンコマイシン生合成の鍵となる新奇 PLP 酵素についても論文を準備中である。また、牛丸理一郎博士を中心として、放線菌由来ペプチド天然物・ホルマオマイシンの生合成において、ニトロシクロプロパン環の形成に関わる新奇二核鉄酵素と単核鉄 α KG 依存性酸化酵素の触媒機能を同定し、酵素反応機構の詳細を明らかにした (*JACS* 2021, *JACS* submitted)。さらに、北大・脇本敏幸教授、松田研一博士との共同研究では、放線菌由来新規ペプチド・スルガミドの環化酵素 SurE の X 線結晶構造解析を行い、D-アミノ酸と L-アミノ酸との間のヘテロキラルな環化反応が自然界のほぼ全ての環状非リボソームペプチドにおいても共通の機構であることを明らかにした (*Nat Catal* 2020)。最後に、東大・尾仲宏康教授らとの共同研究により、脂肪酸とペプチド化合物がハイブリッド化した特徴的な天然物骨格を有する PK/RiPP ハイブリッド リポペプチド・ゴードビオニンの発見 (*Nat Chem* 2020) など、放線菌からの新規生物活性物質の生合成研究でも多くの成果をあげた。

上述した研究成果は、森田洋行博士 (現、富山大学和漢医薬学総合研究所・教授)、脇本敏幸博士 (現、北海道大学大学院薬学研究院・教授)、淡川孝義博士 (現、理研環境資源科学研究センター・チームリーダー主任研究員)、松田侑大博士 (現、香港城市大学化学科・助教授)、森貴裕博士、牛丸理一郎博士、をはじめとする、多くの共同研究者、並びに、東京大学大学院薬学系研究科天然物化学教室の研究員、学生諸氏の努力により得られた成果であり、ここに厚く御礼申し上げます。

[文献]

アンチマイシン : *Org. Lett.*, 14, 4142-4145 (2012); *Angew. Chem. Int. Ed.*, 52, 12308-12312 (2013); *Angew. Chem. Int. Ed.*, 54, 13462-13465 (2015); *Nat. Commun.*, 9, 3534 (2018); *Angew. Chem. Int. Ed.*, 56, 1740-1745 (2017)
テレオシジン : *J. Am. Chem. Soc.*, 136, 9910-9913 (2014); *Nat. Commun.*, 7, 10849 (2016); *Nat. Chem. Biol.*, 15, 1206-1213 (2019); *Angew. Chem. Int. Ed.*, 59, 3988-3993 (2020)
アルテミシジン : *Nat. Commun.*, 10, 184 (2019); *Nature*, 600, 754-758 (2021)
リンコマイシン : *Nat. Catal.*, 6, 531-542 (2023); *Angew. Chem. Int. Ed.*, 62, e202304989 (2023)
ホルマオマイシン : *J. Am. Chem. Soc.*, 143, 18413-18418 (2021); *J. Am. Chem. Soc.*, submitted (2023)
スルガミド : *Nat. Catal.*, 3, 507-515 (2020)
ゴードビオニン : *Nat. Chem.*, 12, 869-877 (2020)



阿部 郁朗

略歴： 1984年 東京大学薬学部薬学科卒業
1986年 東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了
1989年 東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了
1989年 仏国国立天然物化学研究所、ミュールーズ国立高等化学院、
仏政府給費留学生、CNR S 研究員
1991年 米国ニューヨーク州立大学ストーニーブルック校
化学科・上級博士研究員、生化学科・研究助教授
1996年 米国ユタ大学医薬化学科・研究助教授
1998年 静岡県立大学薬学部 講師
2005年 科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業
さきがけタイプ「代謝と機能制御」領域 研究者（兼任）
2008年 静岡県立大学薬学部 准教授
2009年 東京大学大学院薬学系研究科 教授（現在に至る）
2016年 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」領域代表（～2021年）

受賞歴： 学術奨励賞／日本生薬学会（2003年）
学術貢献賞／日本生薬学会（2007年）
学術振興賞／日本薬学会（2008年）
Fellow of The Royal Society of Chemistry（2013年）
Osamu Hayaishi Lecture Award／FAOBMB（2015年）
学会賞／日本生薬学会（2017年）
住木・梅澤記念賞／日本感染症医薬品協会（2017年）
学会賞／日本薬学会（2019年）
文部科学大臣表彰 科学技術賞（研究部門）（2019年）

活動歴： SIMB Natural Product 組織委員&招待講演（2018, 2020, 2023年）
第34回 日本放線菌学会大会（札幌）特別講演（2019年）