

微生物間化学コミュニケーションの理解・制御と有用生物活性リガンドの開発

掛谷秀昭¹, 倉永健史¹, 池田拓慧¹, 西村慎一², 井本正哉³

(¹京大院薬, ²東大院農, ³順天堂大医)

【学術的背景・研究目的】

微生物が産生する二次代謝産物は、歴史上、化学構造及び生物活性の両面における多様性などから様々な重要なケミカルツール分子や創薬シーズになっている¹⁾。しかし、これら二次代謝産物の本来の化学コミュニケーションに基づいた生物学的意義はほとんど解明されていない。そこで、微生物間化学コミュニケーションの解析モデルとして、各種放線菌と *Tsukamurella pulmonis* TP-B0596 の複合培養系に着目し、複合培養系特異的二次代謝産物の産生機構や生産菌における機能を明らかにすること、一方、耐熱性放線菌が生産する熱ショック代謝物 (HSMs) の解析及び生産意義に迫ることなどを目指す。さらに、極微量の化学コミュニケーション分子や各種アミノ酸及び生体内ペプチドなどの検出感度の向上は、新しい「分子社会学」創成の礎を担うことが期待され、新規方法論の確立を目指す。また、領域内連携を活用して、がん・細菌叢と宿主やがん細胞間の化学コミュニケーション阻害などを標的とした生物活性リガンドの開拓を行い、細胞内化学シグナル解析に有用なケミカルツール分子や創薬シーズの開拓を目指す。

【現在までの研究成果概要】

5aTHQ 類及び STAM 類を生産可能な放線菌 *Streptomyces nigrescence* HEK616 と *T. pulmonis* TP-B0596 の複合培養系において、同位体標識実験及び生産菌 *S. nigrescence* HEK116 のゲノム解析と異種発現などによって生合成遺伝子を同定し、酸化度・環化様式が異なる 5aTHQs 及び STAMs がいずれも新規の II 型 PKS によって生合成されることを明らかにした²⁾。また、5aTHQ 類が、自己凝集性に基づいた新しいタイプの細胞膜シグナル制御物質であることを明らかにした³⁾。一方、希少放線菌 *Amycolatopsis* sp. 24-6 及び放線菌 *Streptomyces* sp. KUSC_F05 に対して *T. pulmonis* TP-B0596 との複合培養を行った結果、新規化合物 amycolapeptins A & B⁴⁾、longicatenamides A~D⁵⁾を見出した。さらに、HSMs として、angucycline-type 化合物や新規化合物 murecholamide などを含む 14 種類の同定に成功した⁶⁾。

極微量のアミノ酸や化学コミュニケーション分子を検出可能な新規ラベル化剤の開発・応用(Highly-Sensitive (HS)-Advanced Marfey 法)に成功し⁷⁾、多方面への適用を検討中である。

領域内連携を活用して、放線菌 *Streptomyces* sp. KUSC-A08 が生産する低酸素誘導因子 (HIFs) 阻害剤 verucopeptin の細胞内化学シグナルの解析を行うとともに、 β -カテニン遺伝子活性型変異がん⁸⁾や去勢抵抗性前立腺がんなどに有効な生物活性リガンドを見出した。さらに、がんと宿主及びヒト腸内細菌叢の化学コミュニケーションの理解・制御を目指して、ショウガ科ウコン由来の curcumin のプロドラッグ型水溶性化合物 CMG の開発に成功し、CMG が治療抵抗性大腸がんや神経炎症の緩和にも有効であることを明らかにした⁹⁻¹²⁾。

【今後の研究計画】

引き続き、領域内連携を活用して、複合培養系などを利用した微生物間化学コミュニケーションの解析研究及び難治性がんやがん幹細胞などを標的とした有用生物活性リガンドの開拓研究を推進する。

<参考文献>

- 1) Kakeya, H. *Nat. Prod. Rep.* **2016**, *33*, 648. 2) Ozaki, T. *et al. Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 2370. 3) Sugiyama, R. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 13486. 4) Pan, C. *et al. J. Org. Chem.* **2021**, *86*, 1843. 5) Jiang, Y. *et al. J. Antibiot.* **2021**, *74*, 307. 6) Saito, S. *J. Antibiot. et al.* **2020**, *73*, 203. 7) Kuranaga, T. *et al. ACS Chem. Biol.* **2020**, *15*, 2499. 8) Ikeda, H. *et al. ACS Chem. Biol.* **2020**, *15*, 2195. 9) Ozawa, H. *et al. Biol. Pharm. Bull.* **2017**, *40*, 1515. 10) Ozawa-Umeta, H. *et al. Cancer Sci.* **2020**, *111*, 1785. 11) Khadka, S. *et al.* in revision. 12) Abe, T. *et al.* submitted.

カイメンの共生微生物が生産する化合物

松永茂樹¹, 高田健太郎²

(¹東大院農, ²北里大海洋生命)

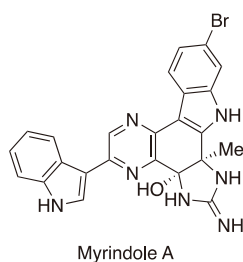
【学術的背景・研究目的】

海産のカイメンから、ユニークな化学構造をもち強力な生物活性を示す化合物が多数発見されてきた。モクヨクカイメンなど一部のカイメンは養殖できるが、有用物質を生産するカイメンは一般に養殖が困難である。野生のカイメンを採集できる量には限界があるため、カイメンに微量に含まれる生物活性物質を十分量供給することはできず、カイメン由来の生物活性物質の有効利用は進んでいない。

近年の遺伝子解析技術の進展に伴い、カイメンに含まれる生物活性物質の生合成遺伝子の取得例が増え、それらがカイメンの共生微生物中に存在することが明らかにされてきた^{1,2)}。しかし、化合物生産が明らかにされたカイメンの共生微生物はすべて難培養性で、遺伝学的知見を化合物の供給に結びつけることは実現していない。カイメン中に高密度で存在する共生微生物は、カイメンとの化学物質を介した相互作用を基点としてカイメン中で生息し、化合物の生産を担っているものと考えられている。本研究では、カイメンと共生微生物の相互作用の解析に基づく共生微生物の可培養化を目的に、主にカイメン *Theonella swinhoei* と *Mycale* sp. を用いて研究を進めている。

【現在までの研究成果概要】

カイメン *Mycale* sp. に含まれる生物活性物質が共生微生物起源であること、および、*T. swinhoei* 中の共生微生物 *Entotheonella* spp. の飼育カイメン中での培養の試みについては、過去の本シンポジウムで発表し、現在も研究を進めている。カイメンに含まれる化合物は、その化学構造の性質上、構造決定が困難なことがある。本講演では、従来の機器分析の手法では一義的に構造を決定できなかった、カイメン *Myrmekioderma* sp. 由来の抗菌物質 myrindole A の構造決定についても紹介する。



【今後の研究計画】

引き続き、カイメンの有用物質生産に与る共生微生物の可培養化を目的に、研究を推進する。

<参考文献>

1) Rust, M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2020**, *117*, 9508. 2) Wakimoto, T. et al. *Nat. Chem. Biol.* **2014**, *10*, 648. 3) Moosmann, P. et al. *Org. Lett.* **2021**, *23*, 3477.

天然 PKC リガンドによる化学コミュニケーションの統合的理解と 医薬品シーズの開発

入江一浩¹, 眞木準平¹, 奥田創元¹, 押村亜沙美¹, 塚野千尋¹, 柳田 亮²

(¹京大院農, ²香川大農)

【学術的背景・研究目的】

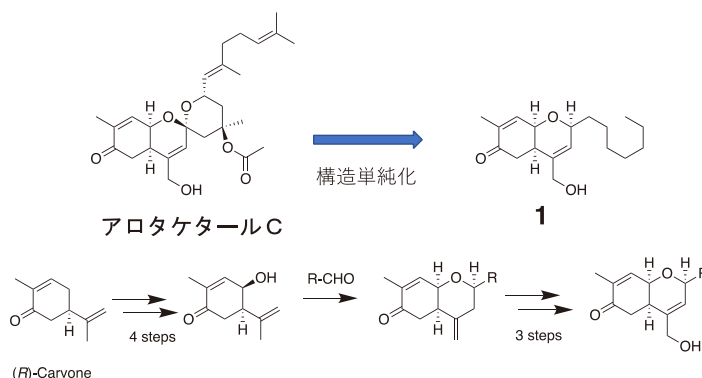
プロテインキナーゼ C (PKC) は細胞内シグナル伝達経路の上流に位置する重要なリン酸化酵素ファミリーであり、天然発がんプロモーターの主要な標的タンパク質として知られている。PKC はがん、アルツハイマー病、AIDS など様々な疾患に関与しており、PKC を活性化する発がんプロモーターに代表される天然 PKC リガンドは、これらの疾患に対する治療薬候補として注目されている。PKC リガンドは、カルシウム依存性の conventional PKC (α , β I, β II, γ) と非依存性の novel PKC (δ , ϵ , η , θ) の 8 種類のアイソザイムを活性化するが、これらの PKC アイソザイムの役割と PKC リガンドがもたらす炎症誘導といった副作用の理由について十分な統合的理解は得られておらず、アイソザイム選択的な活性化剤が必要とされている。我々はこれまでに、A03 班の榊原グループと連携して、機械学習 (AI) を利用した新規 PKC リガンドの *in silico* 探索を行い、PKC リガンドとして有望な天然物群としてアロタケタール類を見いだした。アロタケタール類の PKC リガンドとしての直接的な証明はまだない。本研究ではアロタケタール単純化アナログの開発とその立体異性体の系統的合成による PKC アイソザイム選択的リガンドの創出を目的とした。

【現在までの研究成果概要】

既知の天然 PKC リガンドとの構造類似性を手掛かりとして、アロタケタール C¹⁾ と PKC との結合に必須な官能基を残した単純化アナログを設計した。合成は、有澤らの論文²⁾を参考にして行った。単純化アナログ 1 は PKC δ の C1B ドメインに対して、約 200 nM の K_d 値で結合したが、PKC α の C1A ドメインに対しても同程度に結合し、選択性を示さなかった。一方、1 の不斉炭素原子の立体化学の異なる誘導体 2 は、PKC α -C1A に対して PKC δ -C1B よりも 1 オーダー以上強く結合した。これまで conventional PKC に対して顕著な選択性を示す PKC リガンドの例はない。PKC α はがん細胞の増殖抑制、アミロイド β の産生等に関与しているため、2 は PKC α を標的とした薬剤のリード化合物として有望である。

【今後の研究計画】

アロタケタール類の全合成には直線行程でおよそ 30 段階を要するのに対して、単純化アナログ 1 の骨格は (*R*)-carvone から 9 段階で構築できる。これまでの研究結果から、不斉炭素原子の立体化学の適切な組み合わせによって化合物の PKC アイソザイム選択性が調整できる可能性が示されている。そこで、1 の各種ジアステレオマー群を合成し、結合能とアイソザイム選択性の両面で優れた活性を有するアロタケタール単純化アナログの開発を目指していく。



<参考文献>

1) Wang, M. *et al.*, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 11324. 2) Yanagihara, M. *et al.*, *Org. Lett.* **2021**, *23*, 1720.

マイトトキシンの標的分子探索

此木敬一¹, 松本 健², 木下祥尚³, 角替俊輔¹, 後藤萌香¹, 吉尾柊太郎¹, 田端滉樹¹, 長 由扶子¹, 八代田陽子², Katherine Chan⁴, Amy Hin Yan Tong⁴, Kamaldeep Kaur Aulakh⁴, Andrea Habsid⁴, 山下まり¹, 松森信明³, Jason Moffat⁴, Charles Boone^{2,4}, 吉田 稔², 村田道雄⁵

(¹東北大院農, ²理研 CSRS, ³九大院理, ⁴トロント大, ⁵阪大院理)

【学術的背景・研究目的】

マイトトキシシ (Maitotoxin, MTX) のマウスに対する急性致死毒性は非ペプチド性天然毒として史上最強クラスに属し、フグ毒テトロドキシシの約 200 倍である。しかし、単離後、約 40 年を経た現在でも MTX の標的分子は不明である¹⁻³)。我々は、リン脂質リボソーム、ゴースト赤血球膜、各種培養細胞を用いた生化学研究に基づいて MTX の標的分子を探索し、その標的分子が細胞膜構成成分であることを推察した⁴⁻⁶)。本領域では細胞中の全遺伝子を網羅的に調べる戦略に着手した。

【現在までの研究成果概要】

まず、全遺伝子について欠損株の調達が可能な酵母を用いたが、分裂酵母、出芽酵母は野生株、薬剤感受性株ともに MTX に対して非感受性であった。そのため、CRISPR-Cas9 システムを用いて、一細胞あたり一つの遺伝子を欠損させた HAP1 細胞株ライブラリーを構築した後、本ライブラリーを MTX 添加群と非添加群に分けて継続培養した。続いてガイド RNA をコードする DNA 領域に基づいて両群の遺伝子欠損状態を比較した結果 (CRISPR スクリーニング)、MTX 耐性および感受性の遺伝子として脂質類の生合成遺伝子群が同定された。

CRISPR スクリーニングにおいて高スコアが付与された各遺伝子に対する siRNA を作製してノックダウンを試みたが、MTX に対する感受性に明らかな効果は観測されなかった。そこで、一遺伝子についてノックアウト株を作製し、四遺伝子についてノックアウト株を購入して調べた結果、二株について MTX の感受性を改変させることがわかった。

別途、MTX が培養細胞に対して Blebbing をもたらすこと、この Blebbing はマウスに対する急性致死毒性が発現するのと同程度の時間で生じることがわかった。改めてリン脂質リボソーム (GUV) に対する MTX の作用を調べてみた結果、特定の脂質組成を有する GUV に対して MTX が分裂を誘引することが明らかとなった。

【今後の研究計画】

引き続き、様々な脂質組成をもつ GUV を調製して MTX の作用を観察するほか、新たに購入する単一遺伝子欠損株の MTX に対する感受性を調べる予定である。

<参考文献>

- 1) Takahashi, M. *et al.*, *J. Biol. Chem.* **1982**, 257, 7287.
- 2) Murata, M. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2060.
- 3) Gusovsky, F. and Daly J. W., *Biochem. Pharmacol.* **1990**, 39, 1633.
- 4) Konoki, K. *et al.*, *Chem. Res. Toxicol.* **1999**, 12, 993.
- 5) Konoki, K. *et al.*, *Heterocycles* **2009**, 79, 1007.
- 6) Nicolaou, K. C. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 16444.

遺伝的冗長性をもつシグナル伝達系と 植物-微生物間の化学コミュニケーション

上田 実

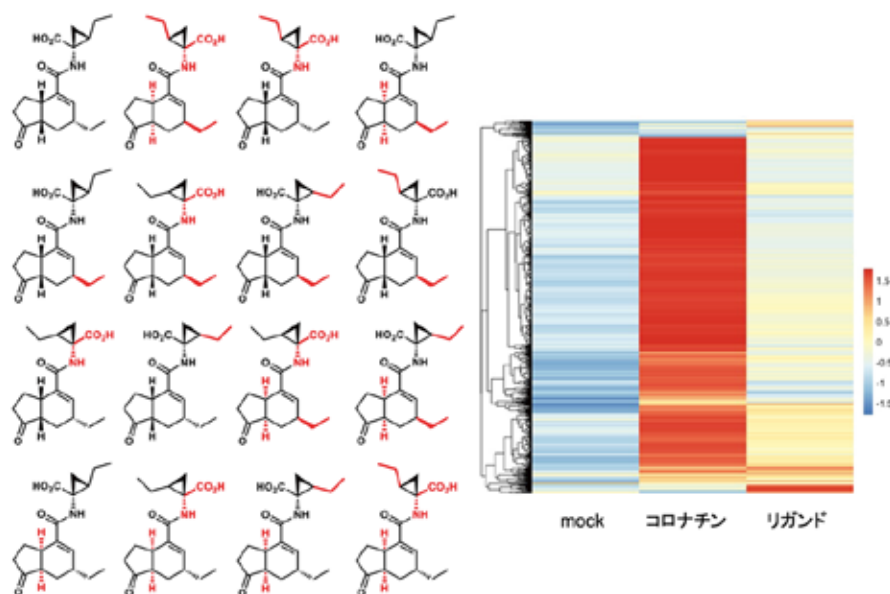
(東北大院理・生命科学)

【学術的背景・研究目的】

植物ホルモン ジャスモノイル-L-イソロイシン (JA-Ile) は、植物-微生物間および、植物-食害昆虫間のコミュニケーションを制御する防御応答ホルモンである^{1,2)}。しかし、高等植物の JA-Ile 受容体には強度の遺伝的冗長性が見られ、シグナル伝達研究における大きな障害となっている。我々は、高等植物の多くの JA-Ile 受容体サブタイプのうち、1つのみに結合するサブタイプ選択的リガンドを開発することで、シグナル伝達機構解明のための化学ツールを開発することを目的とした研究を行った。

【現在までの研究成果概要】

我々は、JA-Ile の構造的・生物学的ミミック天然物コロナチンをベースとして、立体異性体ライブラリを構築した^{3,4)}。In vitro 親和性試験の結果、シロイヌナズナ、トマト、イネの3種の植物に対してサブタイプ選択的リガンドを取得できた。特に、シロイヌナズナ JA-Ile 受容体については、13種のサブタイプのうち、1種のみを選択性を持つ特異的リガンドの取得に成功した。生物活性試験の結果、このリガンドは、植物-微生物間相互作用に特異的に働くことが明らかになった。また、RNAseq 解析の結果、このリガンドは JA-Ile シグナル伝達の一部を選択的に活性化していることが分かった。これまで、世界中の研究者の努力にもかかわらず、遺伝学的方法では決して解決できなかった高等植物の植物ホルモンシグナル伝達における遺伝的冗長性を解決できる化学ツールの開発に成功したと考えている。



【今後の研究計画】

引き続き、データ解析を進め、論文化のための研究を推進する。

<参考文献>

- 1) 上田ら, 最近のジャスモン酸シグナル研究, 2021, 印刷中.
- 2) Ueda, M. *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, **2021**, *21*, 1124.
- 3) R. Watanabe, R. *et al.*, *ChemistryOpen*, **2020**, *9*, 1008.
- 4) Kato, N. *et al.*, *Chirality* **2020**, *32*, 423.

人工知能を用いた化学コミュニケーション空間の多様性と共通性の解明

榊原康文¹, 佐藤健吾¹, 齋藤 裕², 落合俊貴¹, 渡邊成望¹, 大貫雄人¹

(¹慶應義塾大学・理工学部, ²産業技術総合研究所・人工知能研究センター)

【学術的背景・研究目的】

本研究は、人工知能分野における深層学習を適用して、同種間・微生物叢内・微生物宿主間などの多種多様な化学コミュニケーションを統一的に表現するモデルを開発する。その目的のため、タンパク質化合物結合予測を網羅的かつ高精度に行うバーチャルスクリーニングシステムである次世代 COPICAT を開発、および多様な分子構造をもつ化合物群で構成されるケミカルスペースから射影される潜在空間 (latent space) を深層学習を用いて構築する。獲得された潜在空間から化学コミュニケーションにおいて頻出する生物活性リガンドの特異的部分構造の抽出と機能解析を行う。とくに天然化合物の巨大分子構造から学習された潜在空間を、本領域の AI プラットフォームを構築する基盤として活用する。

【現在までの研究成果概要】

・タンパク質化合物相互作用予測にマルチオミクスデータを統合した深層学習手法を開発し、最新のどの既存手法よりも高い精度を達成することに成功した¹⁾。本手法をもって次世代 COPICAT の開発が達成されたことを示した。

・天然化合物を扱うための自己符号化器 (NP-VAE) を新たに開発し、巨大分子構造を射影した潜在空間を獲得することに成功した²⁾。NP-VAE は、深層学習手法の Tree-LSTM や VAE を駆使し、部分構造抽出と学習アルゴリズムを改良することにより開発を達成した。その精度は、従来の深層学習手法よりも高かった。本開発手法を用いて、領域の班員から送られた 1,900 種類の化合物データを用いて、世界で初めての天然物・巨大分子構造の潜在空間を構築した (図 1)。同時に、本領域の化合物群に特異的な分子構造として、1,000 以上の部分分子構造が同定された。

・RNA 配列から二次構造を高精度かつ頑健に予測する手法 (MXFold2) を開発した³⁾。熱力学モデルと深層学習を効果的に組み合わせることによって、世界最高精度を達成した。

【今後の研究計画】

今回開発に成功した NP-VAE は、巨大な分子構造を扱うことのできる深層学習手法であるため、今後の応用を進めていく。まず、生理活性などの機能の次元を潜在空間に加えることにより、化合物構造の機能的な解析や最適化に応用していく。また、今後も班員より多くの化合物構造を収集することで、本領域でしか成しえないケミカルスペースの潜在空間を構築して、最終的には本領域が目指す AI プラットフォームの基盤を構築していく。

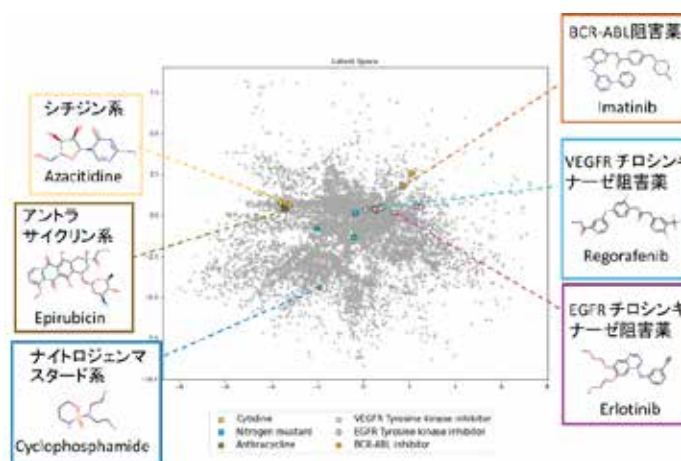


図 1 : 天然化合物の化学潜在空間と特徴的化合物の例

<参考文献>

1) Watanabe, N. *et al. J. Cheminform.* **2021**, *13*(1), 36. 2) 榊原, 落合. 日本農芸化学会 2021 年度大会シンポジウム. **2021**, 2DS-03. 3) Sato, K. *et al. Nat. Commun.* **2021**, *12*(1), 941.

分裂酵母ケミカルゲノミクスを用いた生理活性物質の作用機序解析

八代田陽子¹, 富田啓介², 木村寛美¹, 吉村麻美¹, 河村優美², 吉田 稔^{1,2},
酒井隆一³, 岡田憲典², Charles Boone^{1,4}

(¹ 理研 CSRS, ² 東大院農, ³ 北大院水産, ⁴ トロント大ドネリーセンター)

【学術的背景・研究目的】

生理活性物質の機能を理解するためにはその標的分子の解明が必須である。我々は、これまでに出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) のさまざまな遺伝子改変ライブラリーを用いて、化合物に対する感受性プロファイリングをハイスループットかつゲノムワイドに行い、生理活性物質の標的分子や標的経路を予測する「ケミカルゲノミクス法」を開発してきた¹⁻⁴⁾。また、分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) についても、遺伝子過剰発現株ライブラリーや非必須遺伝子破壊株ライブラリーを用いたケミカルゲノミクス解析系を開発した⁵⁻⁶⁾。本研究では、分裂酵母に対して強い生理活性を示す生理活性物質について、分裂酵母ケミカルゲノミクス法を用いた作用機序解明および標的分子同定を目指す。

【現在までの研究成果概要】

1) モミラクトン B

イネの生産するアレロパシー物質であるモミラクトン B は、植物、真菌、細菌に対する生育抑制効果や動物細胞に対する抗腫瘍活性が報告されており、幅広い生物種へ作用をもたらす。しかしながら、細胞内の分子レベルでの作用標的は未解明である。モミラクトン B の出芽酵母および分裂酵母に対する増殖阻害活性を調べたところ、ED₅₀ はそれぞれ 14 μM および 1 μM であった。そこで、分裂酵母ケミカルゲノミクス解析により、モミラクトン B 感受性に寄与する遺伝子群を探索し、それらについて表現型オントロジーを利用してエンリッチメント解析を行ったところ、隔壁形成異常や微小管の形成異常に関与する遺伝子が有意に濃縮していることがわかった。また、モミラクトン B 存在下にて、複数の隔壁をもつ細胞や微小管の折れ曲がり観察されたことから、モミラクトン B は隔壁形成や微小管構造に作用することが示唆された⁶⁾。

2) KB343 (領域内共同研究)

スナギンチャク *Epizoanthus illoricatus* より単離された環状グアニジンアルカロイド KB343 は、マウスに対する遅効性の致死作用、及びがん細胞に対する細胞毒性をもつことが報告されている⁷⁾。KB343 は出芽酵母および分裂酵母に対しても増殖阻害活性を示したが、ED₅₀ はそれぞれ 20 μM および 1 μM であった。そこで、分裂酵母の非必須遺伝子破壊株ライブラリーを用いて感受性プロファイリングを行ったところ、液胞への小胞輸送に関与する遺伝子破壊株群が有意に KB343 感受性を示すことがわかった。また、KB343 耐性を示す突然変異株を 3 種取得し、それらの変異点がエンドサイトーシス関連遺伝子に存在することを見出した。これらの結果から、KB343 が細胞内の小胞輸送を標的としていることが示唆され、現在、検証を行っている。

【今後の研究計画】

引き続き、KB343 の標的同定を行う。また、必須遺伝子への影響を検出するアッセイ系を確立するため、必須遺伝子のヘテロ破壊株ライブラリーの作製を試みる。

<参考文献>

- 1) Piotrowski, JS. et al. *Nat. Chem. Biol.* **2017**, *13*, 982. 2) Nelson, J. et al. *Bioinformatics* **2018**, *34*, 1251.
- 3) Simpkins, SW. et al. *PLoS Comput. Biol.* **2018**, *14*, e1006532. 4) Simpkins, SW. et al. *Nat. Protoc.* **2019**, *14*, 415. 5) Arita, Y. et al. *Mol. Biosyst.* **2011**, *7*, 1463. 6) Tomita, K. et al. *G3 (Bethesda)* in press. 7) Matsumura, K. et al. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 3039.

Finding the targets of novel compounds using high-throughput chemical genomics

Lien Pham¹, Sheena Li^{1,2}, Yoko Yashiroda¹, Mami Yoshimura¹, Hiromi Kimura¹, Yumi Kawamura¹, Minoru Yoshida³, and Charles Boone^{1,2}

(¹Molecular Ligand Target Research Team, RIKEN CSRS; ²The Donnelly Centre, University of Toronto; ³Chemical Genomics Research Group, RIKEN CSRS)

【学術的背景・研究目的】

To link previously uncharacterized bioactive compounds to their cellular targets, we are employing the budding yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, chemical genomics (CG) screening platform, which measures the fitness of mutant yeast strains in the presence of bioactive compounds.¹ Our CG platform measures the fitness of hundreds of different pooled yeast strains in parallel through a barcode sequencing approach and ultimately generates a CG profile that is predictive of mode of action of the compounds. For comprehensive CG screening, we employ several different sets of mutant yeast strains, including ~1,000 heterozygous (HET) diploid mutants, ~1,000 temperature-sensitive (TS) haploid mutants and ~1,000 gene overexpression (MoBY) strains, each covering the yeast essential gene set, as well as ~5,000 viable haploid (HAP) deletion mutants, covering the nonessential gene set (manuscript in preparation). We screened these HAP/HET/TS/MoBY strains against bioactive chemical compounds derived from a set of ~20,000 molecules in the RIKEN Natural Product Depository (NPDepo) chemical library.

【現在までの研究成果概要】

A number of compounds has clear CG profiles which could indicate their protein targets. CG profiles of all four strain collections often provide complementary evidence for target identification (ID). For example, we have so far identified and validated the compounds including inhibitors for glycosylation pathway and translation inhibitors for the phenylalanyl-tRNA synthetase. Also, using this system, we identified the molecular target of RP-3-161, a lead compound for host-directed therapy against *Mycobacterium tuberculosis* (manuscript under review). Moreover, we have analyzed chemical-genetic interactions of the compounds provided by Dr. Kakeya and Dr. Kawagishi (Group A01).

【今後の研究計画】

Our system will be used to identify lead compounds for druggable essential genes. Also, we will proceed to evaluate target ID of other profiled compounds.

We have been setting up a CRISPR-Cas9 human cell screening system that will enable us systematically profiling the effects of genetic perturbations on compound sensitivity with high efficiency and scalability. Using this new platform to advance our potential data from yeast CG screening to human cells would yield high-quality compounds, especially for a more preclinical context.

<参考文献>

1) Piotrowski, JS. et al. *Nat. Chem. Biol.* **2017**, *13*, 982-993.

GLUT 阻害剤 glutipyran の同定とプロテオーム解析

川谷 誠, 室井 誠, 長田裕之

(理研 CSRS)

【学術的背景・研究目的】

がん細胞はしばしば代謝機構に異常や破綻をきたしており、がんの主要な特性の一つになっている。近年、がんの代謝機構には多様性や可塑性、適応性、不均一性があり、がん細胞の増殖、生存および転移に寄与していることが明らかになりつつある。そのため、がん代謝を標的とした小分子化合物は、複雑ながん代謝機構の理解や新たながん治療法の確立につながることを期待される。本研究では、がん代謝を標的とした小分子化合物を表現型スクリーニングにより探索し、抗腫瘍活性を有する新規グルコーストランスポーター (GLUT) 阻害剤 glutipyran を同定したので報告する。

【現在までの研究成果概要】

ヒト膵臓がん PANC-1 細胞の増殖およびエネルギー代謝を指標に、細胞外フラックスアナライザーを用いたセルベーススクリーニングを行った。理研 NPDepo 化合物ライブラリー 16,064 化合物をスクリーニングした結果、NPD403 が PANC-1 細胞の増殖および解糖系活性 (細胞外酸性化速度 ECAR) を阻害することを見出した。化合物ライブラリーの NPD403 は複数の立体異性体を含む混合物であったことから、活性を示す立体異性体を同定・合成し、glutipyran と名付けた。Glutipyran の標的分子を明らかにする目的で、薬剤処理細胞のプロテオーム変化をデータベース化した ChemProteoBase¹⁻³⁾を用いて検討した結果、本化合物は解糖系阻害剤を含む ER ストレス誘導剤のクラスターに分類された。Glutipyran はグルコースの細胞内取り込みを阻害し、また、glutipyran 処理細胞のメタボローム解析では、解糖系代謝物の顕著な減少が観察された。Glutipyran は GLUT1 特異的阻害剤 BAY876 と異なり、ヒト大腸がん DLD-1 野生型細胞と DLD-1 GLUT1 ノックアウト細胞の双方の増殖を阻害した。また、リコンビナントタンパク質を用いたサーマルシフトアッセイにおいて、glutipyran は GLUT1 および GLUT3 の熱安定化を誘導した。さらに、膵臓がんゼノグラフトマウスモデルを用いた抗がん活性試験では、glutipyran 投与により有意な抗腫瘍効果が認められた。以上のことから、glutipyran はブロードな GLUT 阻害剤として作用し、*in vitro* および *in vivo* において抗がん活性を示すことが示唆された⁴⁾。

【今後の研究計画】

今後は glutipyran のリード最適化を行うとともに、増殖・生存が GLUT1 や GLUT3 に依存した脳腫瘍や腎臓がんなどに対する効果も調べていく予定である。

<参考文献>

- 1) Muroi, M. *et al. Chem. Biol.* **2010**, *17*, 460.
- 2) Kawatani, M. *et al. Che. Biol.* **2011**, *18*, 743.
- 3) Kawatani, M. *et al. Sci. Rep.* **2016**, *6*, 38385.
- 4) Kawatani, M. *et al.* submitted.

ネコのマタタビ反応は蚊への化学防除を可能にする

上野山怜子¹, 西川俊夫², 宮崎雅雄¹

(¹岩手大院総合科学農,²名古屋大院生命農)

【学術的背景・研究目的】

ネコがマタタビやキャットニップに強い嗜好性を示し、これらの植物に顔や体を擦り付けたり地面に転がったりする行動は、300年以上前の江戸時代から知られているとても有名な生物現象である。しかしなぜネコがマタタビに反応するのか、反応を誘起する分子メカニズムや反応のネコにとっての機能はよく分かっていなかった。60年以上前の目武雄博士らの研究によりマタタビラクトンと命名された複数のイリドイド化合物がネコに対する活性物質としてマタタビから同定された。しかし我々の研究により、マタタビ反応を誘起する強力な活性物質は、ネペタラクトールという別のイリドイド化合物であることを発見した。ネペタラクトールのマタタビ葉中含量は、マタタビラクトンの10倍以上高いこと、ネコのネペタラクトールに対する反応時間は、マタタビラクトンの反応時間より長いこと、過去の研究でネペタラクトールが見逃されていた原因は、抽出過程にアルカリ加熱処理と酸処理が含まれていて、ネペタラクトールがマタタビラクトンに変換されていたためと分かった。そこで本研究では、ネペタラクトールを活用した行動試験を考案し、マタタビ反応の効果について検証した。

【現在までの研究成果概要】

まず、ネコが単に陶醉しているだけの反応であるか検証するために、ネペタラクトールを壁や天井に提示してネコの反応を調べた。もしネコがマタタビを嗅いで転がっているだけなら、壁や天井のネペタラクトールを嗅いだ後も同様に地面に転がると考えられた。結果、ネコは壁や天井のネペタラクトールを含んだ濾紙に対しても顔や頭を何度も擦り付けるが、床に転がる反応は示さなかった。ネコの被毛にネペタラクトールが付着していることも分かり、マタタビ反応は、ネペタラクトールを顔や頭に擦り付ける行動と結論づけた。そこでネペタラクトールに何か別の生物活性があるのではないかと考え、いろいろ調べた結果、最終的にネペタラクトールに蚊の忌避活性があると分かった。更にネペタラクトールを付着したネコは、付着していないネコに比べて蚊に刺されにくくなることも立証できた。以上の結果、ネコのマタタビ反応は、蚊の忌避活性を有する植物成分ネペタラクトールを体に擦り付けるために重要な行動であり、これによりネコは意図せずともフィラリアをはじめとした致死的な寄生虫など病原体を媒介する蚊から身を守れることが明らかになった。

【今後の研究計画】

本研究で長年謎であったマタタビ反応の生物学的な意義について明らかになった。しかし、なぜネコ科動物だけがネペタラクトールを放出する植物を使って蚊を化学防御する術を獲得したか、その反応メカニズムの謎は更に深まった。そこで引き続き領域内連携を活用して、ネペタラクトールに対する標的分子の同定を目指して研究を行い、マタタビ反応の発動メカニズムの解明を目指す。

<参考文献>

1) Uenoyama, R. *et al.*, *Sci. Adv.* **2021**, eabd9135.

細胞内乳酸およびピルビン酸動態を可視化する蛍光タンパク質センサーの開発

原田一貴, 三田真理恵, 坪井貴司

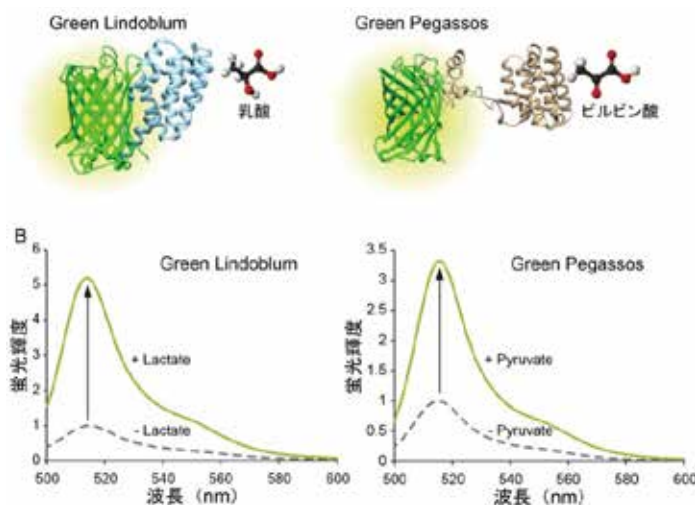
(東大院総合文化)

【学術的背景・研究目的】

腸内細菌は食餌由来の物質を分解し、短鎖脂肪酸などの代謝産物を生み出す。近年、肥満や認知症、自閉症といった疾患の発症に腸内細菌叢の構成の変化が関与することが報告されている。例えばマウスでは、ポリアミンを産生する腸内細菌の有無によって、加齢に伴う記憶低下の度合いに差が生じる¹⁾。しかし、腸内細菌代謝産物が個体レベルの疾患発症や行動の変化をもたらす分子メカニズムは未解明である。申請者は、腸内細菌代謝産物の組成の変化により、小腸内分泌細胞から分泌される消化管ホルモンの分泌が変化し、糖代謝や摂食行動に影響を及ぼしている可能性に着目した。そこで、消化管内分泌細胞の代謝活動に対する腸内細菌代謝産物の影響を経時的に評価するため、代表的なグルコース代謝関連分子である乳酸およびピルビン酸の細胞内動態を可視化する蛍光タンパク質センサーの開発を行った。

【現在までの研究成果概要】

緑色蛍光タンパク質を発色段付近で分割し、乳酸またはピルビン酸に対する結合ドメインを遺伝子工学的に融合した。両者をつなぐリンカー配列の最適化により、乳酸存在下で蛍光強度が 5.2 倍に上昇する乳酸センサー (Green Lindoblum) とピルビン酸存在下で蛍光強度が 3.3 倍に上昇するピルビン酸センサー (Green Pegassos) を開発した。様々な株化細胞において、細胞内乳酸およびピルビン酸動態の観察に成功した。また、赤色の蛍光色素や蛍光タンパク質センサーと組み合わせ、細胞内乳酸と Ca^{2+} 、ピルビン酸と cAMP の 2 色イメージングにそれぞれ成功した。さらに、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞において、呼吸鎖を阻害すると一過的に拍動頻度が増加しその後徐々に低下することを見出し、その際の乳酸およびピルビン酸動態の解析にも成功した²⁾。



【今後の研究計画】

開発した Green Lindoblum、Green Pegassos を消化管内分泌細胞に発現するアデノ随伴ウイルスベクターを作製する。作製したウイルスベクターをマウスに感染させ、腸内細菌代謝産物投与時の消化管内分泌細胞における乳酸およびピルビン酸動態を *in vivo* イメージングにより解析する。

<参考文献>

1) Kibe, R. *et al. Sci. Rep.* **2014**, *4*, 4548. 2) Harada, K. *et al. Sci. Rep.* **2020**, *10*, 19562.

母子間化学コミュニケーションを促進する羊水成分の同定と生理機能の解明

久保田理子, 岩田哲郎, 廣田順二

(東工大生命理工)

【学術的背景・研究目的】

動物は、環境中の化学情報の中から生命維持に必要な情報を正確に受容・識別し、生存に必要な行動をとる。こうした化学情報の受容を担うのが嗅覚系である。これまでの嗅覚研究は、主に合成香料ライブラリーを対象におこなわれてきたが、自然環境中で実際に動物が感じ、化学コミュニケーションに用いる天然の匂い物質はあまり同定されていない。天然の匂い物質を介した化学コミュニケーションの一つに母子間コミュニケーションがある。哺乳動物の新生仔は、嗅覚によって「母の匂い」を感知することで、初期哺乳行動をとる¹⁾。嗅盲マウスは、この生得的な嗅覚行動をとることができず、そのほとんどが脱水症によって新生仔致死となる²⁾。この「母の匂い」源のひとつが羊水である。羊水には、胎生動物の新生仔が嗜好性を示す匂い物質が存在し、初期哺乳行動を誘導することやヒト新生児を含め生まれたばかりの子(仔)に安寧効果をもたらすことが報告されている^{3,4)}。本研究では、羊水中の「母の匂い」の分子実体と生理機能を解明し、母子間化学コミュニケーションの分子基盤を確立することを目的とする。

【現在までの研究成果概要】

匂いを感知する嗅覚受容体は、魚類から哺乳類に共通する水棲型と陸棲動物特異的な陸棲型の2つに分類される。これまでに我々は、発現する嗅覚受容体によって異なる2種類の嗅神経細胞産生の分子機構を明らかにし、さらに2種類の嗅神経細胞のバランスが崩れた変異マウスにおいて、忌避・哺乳・仔育て行動などの「母子間化学コミュニケーション」を含む生得的嗅覚行動に異常をきたすことを見出してきた^{5,6)}。さらに「母の匂い」の源の一つである羊水中に着目し、羊水中に嗅覚受容体によって感知され特徴的な行動を誘導する匂い物質が存在することを明らかにし、羊水中に反応する嗅覚受容体を複数同定した。羊水中に含まれる生理機能を有する匂い物質の同定を目指し、領域内共同研究によって、羊水の匂い成分解析をおこない、マウス、犬、牛等の複数の哺乳動物の羊水を解析した結果、羊水の匂い成分中に哺乳動物に共通する複数の匂い成分を見出した。マウスの不安行動実験を指標にこれらの共通匂い物質の生理機能を解析した結果、これまでにこのうちの1つの匂い物質に抗不安効果があることを見出した。この匂い物質が活性化する脳(嗅球)の部位は極めて限られており、少数の嗅覚受容体がこの物質を受容していることが予想される。この羊水成分を受容する嗅覚受容体を同定するために、嗅覚受容体の mRNA レベルが長時間のリガンド暴露によって減少する現象を利用した受容体同定法、DREAM 法 (Deorphanization of receptors based on expression alterations in mRNA levels technique) を適用した。その結果、候補受容体分子を複数得た。

【今後の研究計画】

安寧効果をもたらす羊水成分の匂い刺激によって、DREAM 法によって得られた候補受容体を発現する嗅神経細胞が発火するかどうかを確認し、最終的に目的とする嗅覚受容体を同定する。さらにゲノム編集によるノックアウトマウス作成を速やかにおこない、生体内での機能および抗不安効果をもたらす嗅神経回路を明らかにする。

<参考文献>

1) Logan, DW *et al. Curr. Biol.* **2012**, *22*, 1998. 2) Zheng, C. *et al. Neuron*, **2000**, *26*, 81. 3) Varendi, H. *et al. Acta. Paediatr.* **1996**, *85*, 1223. 4) Varendi, H. *et al. Early Human Dev.* **1998**, *51*, 47. 5) Enomoto, T *et al. J. Neurosci.* **2011**, *31*(28), 10159. 6) Enomoto, T *et al. Commun Biol.* **2019**, *2* (1):296 doi: 10.1038/s42003-019-0536-x

休眠天然物を覚醒する放線菌二次代謝シグナルトークの解明と応用

木谷 茂

(阪大生物工学国際交流セ)

【学術的背景・研究目的】

放線菌は、多彩な生理活性物質を二次代謝産物として生産する微生物である。しかし、この二次代謝産物の「放線菌における真の生物学的意義」は不明である。一方、放線菌のゲノムがコードする物質生産能力は、通常培養条件下では、ほぼ休眠状態にある。この魅力的な潜在能力を覚醒できれば、有用な新規物質を高効率に発掘できると考えられる。研究代表者は、放線菌の二次代謝誘導シグナル分子の発見¹⁾を機に、有用物質を創出する研究を展開している。各種二次代謝シグナル系が放線菌の9割に分布したこと²⁾から、これらのシグナル系のスイッチを強制的にオンできれば、医農薬品開発に有望な休眠二次代謝を覚醒できると考えた。また、新たな化学シグナルトークを異種放線菌の間に見出したこと³⁾から、放線菌化学コミュニケーションの多様な形態が示唆されている。本研究では、休眠天然物を覚醒する二次代謝シグナルトークを解明し、その知見を新規有用物質の創出に応用することを目指す。

【現在までの研究成果概要】

1) 二次代謝シグナル産生菌との共培養による休眠二次代謝覚醒

二次代謝シグナル産生菌 (*Streptomyces albus* J1074 株) との非接触共培養が、放線菌 50 種の代謝物生産を変化させるかを検討した結果、18% (9 菌株) の放線菌が共培養に反応して、その代謝物プロファイルが変化することが分かった。その内、4 菌株では、化合物生産が共培養時のみ観察されたのに対し、残りの 5 菌株では、既存物質の生産性が共培養により向上していた。化合物生産が共培養時のみ検出された 4 菌株について精査したところ、1 つの化合物の生産は、*S. albus* の二次代謝シグナルに依存したが、他の化合物は二次代謝シグナルには反応せず、*S. albus* との共培養依存的な物質であることが分かった。したがって、*S. albus* は二次代謝を誘導する新たなシグナル物質を有する可能性が示唆された。興味深いことに、1 つの放線菌種は、*S. albus* の代謝物プロファイルも変化させたことから、代謝物を介した放線菌間の相互作用が示唆された。

2) 海綿共生放線菌 ST9 株の二次代謝誘導能解析

研究代表者が単離した海綿共生放線菌 *Blastococcus* sp. ST9 株は、*S. lividans* TK23 株の休眠する色素系抗生物質を生産覚醒する。放線菌の休眠二次代謝はミコール酸含有細菌により誘導されるが、*Blastococcus* sp. ST9 株の細胞壁はミコール酸を含まないことから、二次代謝を誘導する新たなシグナルの存在が推察された。そこで、*Blastococcus* sp. ST9 株を共培養解析に供したところ、エバーメクチン生産菌 *S. avermitilis* との共培養にて化合物生産の増強現象が観察された。この生産増強物質の精製方法をほぼ確立できたことから、その構造を NMR などにより解析し、*Blastococcus* sp. ST9 株と *S. avermitilis* の間における代謝物ネットワークの詳細を明らかにする予定である。

【今後の研究計画】

引き続き、領域内連携を活用して、誘導代謝物の化学構造とその誘導機構を解析する。また、微生物間化学コミュニケーションの解明とその新規物質生産への応用を開拓する研究を推進し、微生物二次代謝産物の真の生物学的意義の一端を明らかにしたいと考えている。

<参考文献>

- 1) Kitani, S. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **2011**, 108, 16410. 2) Thao, N. B. *et al. J. Antibiot. (Tokyo).* **2017**, 70, 1004. 3) Nguyen, T. B. *et al. Appl. Environ. Microbiol.* **2018**, 84, e02791

希少脂質生産を目指したフザリウム属糸状菌の分子育種

櫻谷英治, 葭田 快, 村川直美, 阪本鷹行

(徳島大・生物資源)

【学術的背景・研究目的】

未利用資源の活用を目指して、廃植物油を利用したバイオディーゼル生成の副産物として得られる廃グリセロールを活用するため菌のスクリーニングを行った結果、本研究課題のフザリウム属糸状菌 *Fusarium* sp. D2 株を得ることに成功した。培養菌体の脂質分析を行ったところ、脂肪酸二次代謝産物（10-ヒドロキシステアリン酸 (HYB)と 10-オキソステアリン酸 (KetoB)）を蓄積することを見いだした。一部のフザリウム属糸状菌はマメ科植物などに寄生する植物病原菌としても知られている。通常培養では生成されないこれら脂肪酸二次代謝産物は特定のストレス下で生成することから生理活性脂質リガンドとして機能することが期待される。これら脂肪酸二次代謝産物が植物-微生物間における生物活性脂質リガンドとしての役割解明を目指す。

【現在までの研究成果概要】

廃グリセロールを資化する糸状菌 *Fusarium* sp. D2 株はオレイン酸を含む油脂を水酸化脂肪酸へ変換することがわかった。特に、オレイン酸を培地に添加すると効率よく HYB に変換することが見出された。一方、グルコースなどを炭素源として培養するとオレイン酸を貯蔵脂質として蓄積するものの水酸化脂肪酸などの脂肪酸二次代謝産物を生産しないことも分かっている。

・これまでにアグロバクテリウム法による D2 株の形質転換を行ってきたが効率が低かったため、新たにパーティクルガン法による形質転換系を開発した。

・本研究で扱っている D2 株と近縁の糸状菌の HYB 生産性を評価したところ、いくつかのフザリウム属糸状菌において生産性に差はあるものの HYB 生産が確認された。

・リシノール酸はひまし油に豊富に含まれる水酸化脂肪酸である。トリアシルグリセロールとしてリシノール酸を含んでいるひまし油は微生物生育阻害活性が低いものの、遊離型のリシノール酸は一般的に微生物生育阻害活性が強い。遊離型リシノール酸を含む培地で D2 株を培養するとそれを菌体内に取り込み、生育度とリシノール酸蓄積量がともに高いことがわかった。

【今後の研究計画】

微生物において水酸化脂肪酸などの脂肪酸二次代謝産物を生成する例は少ないが、代表的な例としてイネ科植物に感染する麦角菌が二次代謝産物として水酸化脂肪酸であるリシノール酸を生成することが挙げられる。特定の条件下でのみリシノール酸を生成することが知られているものの、麦角菌におけるリシノール酸の機能は解明されていない。一部のフザリウム属糸状菌はトマトの立枯病を引き起こす植物病原菌と知られ、その感染機構が植物病理学分野で研究されてきた。今後、特定の条件下でのみ糸状菌内で生成される脂肪酸二次代謝産物が、微生物-植物のシグナル伝達物質として機能しているかどうかを領域内連携も活用して明らかにする。

ポリイン類を介した微生物間拮抗現象に潜む 双方向性化学コミュニケーションの解明

甲斐建次

(阪府大院生命環境)

【学術的背景・研究目的】

微生物二次代謝産物の多くは、生理学・生態学的な役割とは隔離したヘテロな系に対する生理活性を指標に単離・構造決定されてきた。しかし近年、微生物二次代謝産物の本来の機能、つまり生態学的な機能に大きな注目が集まっている。本研究課題では特に、ユニークな天然物である細菌ポリイン類を介した異種微生物間相互作用にフォーカスして研究を進める。

【現在までの研究成果概要】

第1期公募で単離・構造決定した collimonin 類¹⁾の生合成機構の研究を、遺伝子欠損株の作製とそれらの株が産生する collimonin 類のプロファイル変化と蓄積された生合成中間体を単離・構造決定すること、加えて各欠損株の共培養と中間体の変換実験を通して行った。現時点で、クラスター中のほぼ全ての遺伝子を欠損することに成功し、collimonin 類に特徴的な複雑な酸化様式解明に繋がる鍵中間体を3種同定することに成功した。その結果、当初予想していたよりも複雑な生合成機構によって、collimonin 類が作り上げられる可能性が高くなった。

Collimonin 類は真菌 *Aspergillus niger* に抗真菌性と色素産生誘導を示すことは分かっていたが、詳細に解析したところ、顕著な菌糸分岐誘導も引き起こすことが分かってきた。近年、*Aspergillus* 属真菌の菌糸分岐誘導におけるブレークスルーがあり、内生のホルモンがこれを制御することが分かってきた。Collimonin 類が内生のシグナル伝達系をハイジャックしている可能性を考え、その検証実験を進めることにした。前提として、*A. niger* の遺伝子ノックアウト・ノックイン技術が必要になることから、本真菌のゲノム編集系を確立することを目指し、現在実施中である。

近年の急速なゲノム情報から、予想していたよりも多くの細菌種でポリイン生合成遺伝子クラスターが保存されていることが分かってきた。特に、*Burkholderia* 属、*Pseudomonas* 属、*Streptomyces* 属で本クラスターを持つ菌株が多い。Collimonin 類の生合成クラスターと類似したものを持つ *Pseudomonas protegens* MAFF 212077 株から、連続した4つの炭素-炭素三重結合を有する新規ポリイン類を単離・構造決定した²⁾。新規化合物であったため protegenin 類と名付けた。これらの化合物は、*Pythium ultimum* などの病原性卵菌に対して顕著な生育阻害を示したものの、真菌類に対しては活性が弱かった。また興味深いことに、本菌株は末端アルキンが、アルケン、アルカンへと変化した類縁体も作っており、その制御機構にも興味を持たれた。

【今後の研究計画】

引き続き、領域内連携を活用して、細菌ポリイン類を介した異種微生物間相互作用の解明を進め、本領域の目標達成に貢献する。

<参考文献>

1) Kai, K. *et al. Organic Letters*, **2018**, *20*, 3536. 2) Murata, K. *et al. ACS Chemical Biology*, in press.

害虫が分泌するエリシターの植物認識機構

有村源一郎, 出崎能文

(東京理科大生命システム工)

【学術的背景・研究目的】

害虫に食害された植物では、害虫の摂食刺激と害虫から分泌される分子が植物細胞で感知されることで、防御遺伝子の活性化などの防御応答が誘発される。植物が多様な害虫種それぞれに特化した防御応答を誘導するためには、害虫の唾液等に含まれるエリシター等を認識する必要がある¹⁾。エリシターにはタンパク質や脂肪酸、オリゴ糖などがあるが、これらのエリシター成分は害虫種によって異なる。植物はこれらのエリシターを認識して、多様な害虫に適応した防御応答を活性化するものと考えられている¹⁾。我々は近年、野菜や果実の広食性の害虫であるナミハダニやハスモンヨトウ（蛾）の幼虫の唾液内のエリシターを同定した^{2,3)}。これらの分子が植物の防御応答を誘導するシステムの理解を試みている。

【現在までの研究成果概要】

1) ハスモンヨトウ幼虫の唾液（OS）に含まれるオリゴ糖エリシター（FrA/Frα）の応答に不可欠なシロイヌナズナ HAK1 は、下流シグナル伝達因子である PBL27 および CRK2 と相互作用することで防御遺伝子である *PDF1.2* の発現を活性化することが見出された。HAK1 および PBL27/CRK2 の相互作用タンパク質を同定し、さらには防御応答の調整に関わる OS 内の微生物を同定することで⁴⁾、シロイヌナズナの防御応答シグナル伝達ネットワークの包括的な理解に努めている。

2) ナミハダニが分泌するタンパク質エリシターである Tet ファミリー（Tet1/2/3/4）を同定した。それぞれの Tet タンパク質は構造的に異なる唾液腺タンパク質であり、インゲンマメの多様な防御応答を誘導する活性を有することが見出された⁵⁾。

【今後の研究計画】

引続き、ハスモンヨトウのエリシターである FrA/Frα 応答シグナル伝達機構の解明を試みる。さらに、ナミハダニの Tet ファミリーが制御する、多様な寄主植物の防御応答システムを理解する。



<参考文献>

1) Arimura, G. *Trends Plant Sci.* **2021**, 26, 288. 2) Uemura, T. *et al. Commun. Biol.* **2020**, 3, 224. 3) Iida, J. *et al. New Phytol.* **2019**, 224, 875. 4) Yamasaki, S. *et al. New Phytol.* **2021**, in press.

MraY 阻害天然物スファエリミシン誘導体の設計と合成

市川 聡, 谷部美友紀, 勝山 彬, 山本一貴
(北大院薬)

【学術的背景・研究目的】

抗生物質を用いる感染症治療には常に薬剤耐性菌の出現が伴い、現代の医療における新たな脅威となっている。既存の薬が全く効かない超薬剤耐性菌も出現しており、その蔓延は地球規模の極めて深刻な問題である。細菌細胞壁ペプチドグリカンの生合成酵素の一つである MraY は、薬剤耐性菌薬開発を行ううえでの新規標的として注目されている。スファエリミシン (図 1) はリボフラノースとピペリジンを含有する大員環を持つ特異な化学構造をしており、MraY を強力に阻害する。スファエリミシンが有するピペリジン環部の 3 つの絶対立体配置は決定されておらず、8 つのジアステレオマーが存在する。これらのジアステレオマーをすべて合成する事で、スファエリミシンの絶対立体化学を決定するばかりでなく、同時に構造活性相関を検討し、抗菌薬リードとなり得る化合物を開発する事を目的とした。

【現在までの研究成果概要】

共通の鍵中間体から統一的な方法ですべてのジアステレオマーを合成できるように、前駆体であるシクロペンテノールとアミノリボースの連結は不斉辻-Trost 反応を用いて行った。その結果、シクロペンテノールの 2 つのジアステレオマーと、不斉 Trost リガンドの両エナンチオマーを使い分ける事で、4 つのジアステレオマーを選択的に得る事が出来た。2 つのジアステレオマーについては、更に合成をすすめ、シクロペンテン部を酸化的に解列する事で得られるジアルデヒドを用いた連続還元的アミノ化反応により、ピペリジン含有大員環を構築した。最後に単純な脂溶性側鎖 (パルミトイル基) を導入し、脱保護する事で、スファエリミシン誘導体の合成を達成した。合成した誘導体は、nM レベルの MraY 阻害活性を示し、グラム陽性菌に対して抗菌活性を示す事が分かった。

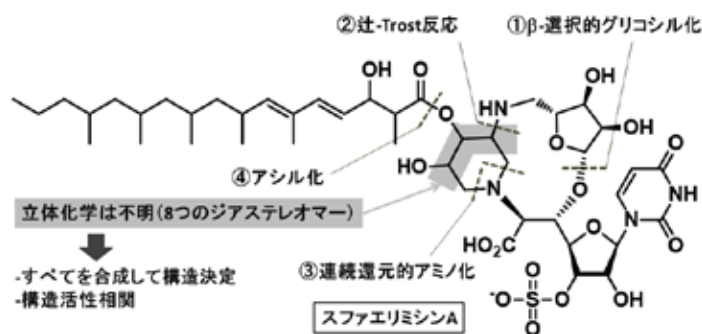


図. スファエリミシンの化学構造と合成計画

【今後の研究計画】

Aquifex aeolicus 由来 MraY との複合体の X 線結晶構造解析を行い、この特異な化学構造を有する天然物の認識様式を明らかにする。また、グラム陰性菌に対する抗菌スペクトルの拡大を行う。

<参考文献>

1) van Lanen, S. G. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 11607-11611.

海綿アルカロイドパプアミンで探る海綿のケミカルコミュニケーション戦略

宮脇ふく子¹, 宮古 圭¹, 辺 浩美¹, 藤田雅紀¹, 山羽悦郎², 遠藤祐助¹, 酒井隆一¹

(¹ 北大院水産科学研究院, ² 北大北方圏フィールド科学センター)

【学術的背景・研究目的】

パプアミン (PAP)¹ およびその立体異性体であるハリクロナジアミン (HAL)² は *Haliclona* 属に分類される海綿より見出されたアルカロイドで、特徴的な 5 環性の骨格に 2 つのアミノ基を持つ特徴的な構造であり、海綿由来の大環状アルカロイド (Marine-Derived Macrocyclic Alkaloids, MDMA) に属する³。これらの化合物は多彩な構造と生理活性を示し、その合成や生産者、そして活性機序は長い間多くの研究者の興味を引いているが未だに解明されたものはない。本研究では MDMA の一つである PAP および HAL をモデルに、フィールド観察を取り入れながらその生態的機能・生産者について新しい知見を得ることを目的とした。

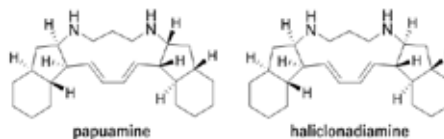


Fig 1

【現在までの研究成果概要】

① PAP/HAL は塩もしくはタンパク質会

合体として存在する：海綿を水で抽出すると PAP/HAL は一部水抽出物に検出される。また水抽出物を透析膜で高分子画分と低分子画分に分離すると両者に PAP/HAL が検出される。高分子画分をゲルろ過に供し、特定の画分に PAP/HAL が確認された。これらの結果から PAP/HAL はおおそ非特異的にタンパク質と会合し存在している可能性が高い。

② PAP/HAL の局在：海綿の細胞を分離したところ主に 2 種の共生藻類と思われる細胞 (白とオレンジ細胞) が観察された (Fig2 A) セルソーターで分画したところ白細胞がほぼ単離され (Fig2 B)、そこに PAP/HAL が強く検出された。分離細胞の 16S リボソーム遺伝子解析から主に 2 種のラン藻の存在が示唆された。以上の結果から PAP/HAL はラン藻に局在している可能性が示唆された。

③ PAP/HAL による化学コミュニケーション：海綿の出水口付近から海水を採取し (Fig 2C) 分析したところ PAP/HAL が含まれていた。またその海水はホヤの幼生に対し毒性を示した。

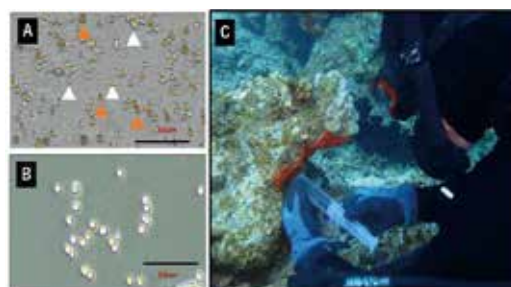


Fig 2 A. 海綿搾汁の光学顕微鏡写真、オレンジ細胞▲と白細胞△が主に観察された。B. フローサイトメーターで分画後の白細胞画分。C 海綿の出水口より海水を採集。

【今後の研究計画】

PAP/HAL を含む細胞の解析を進め、その真の生産者を探る。PAP/HAL が結合するタンパク質について解析し、特定する。また、PAP/HAL の作用機構と細胞内での動態を蛍光プローブやケミカルゲノミクス等の手法を用いて調べる。

<参考文献>

- 1) Baker, Bill J., Paul J. Scheuer, and James N. Shoolery. *JACS* 110.3 (1988): 965-966.
- 2) Fahy, Eoin, et al. *Tetrahedron letters* 29.28 (1988): 3427-3428.
- 3) Althagbi, Hanan I., et al. *Marine Drugs* 18.7 (2020): 368.

低分子リガンドの高機能化に関する研究

有本博一

(東北大院生命)

【学術的背景・研究目的】

低分子化合物を、複数の生体高分子を会合させる素子として利用することは、ケミカルバイオロジーの古典的概念のひとつである。この素子は「分子のり」とも称されるが、現状では偶然の発見に基づくものが多く、ニーズに合わせてタイムリーに入手し難い。代わりに、特定の生体高分子に結合する低分子を 2 つ組み合わせたキメラ分子とし、分子のり同様の働きを持たせることが一般的に行われる。本研究では、組み合わせる低分子の片方をオートファジー関連タンパク質結合リガンドとし、デグレーダーと呼ばれる標的分解剤としての利用を目指している。

デグレーダーの設計には、基盤となる細胞内分解システムの理解が欠かせない。しかし、選択的オートファジーの機構は複雑で、多彩なオートファジー受容体タンパク質群が働くことに疑いはないが、単一の機構で広範な基質分解を説明できる状態にはない。私たちが開発した AUTAC 技術¹⁾の作用機序の詳細も未説明の点がある。

最近、私たちは、オートファジー基盤の次世代デグレーダー設計指針を提唱すべく総説を発表した。ここでは、選択的オートファジー機構を 4 つの有カモデルに分類し、それぞれの機構から今後期待されるデグレーダーについて述べた²⁾。

例えば、オートファジー受容体 p62 が細胞内で相分離し、生じた液滴がオートファジーに必要な隔離膜成長の足場として働くという複数の報告がある³⁾。これらの知見は、選択的オートファジーに関する古典的モデルの見直しを迫るものと言える。実際、特許文献においては p62 に着目したデグレーダーの開発が報告されるようになってきた。

【現在までの研究成果概要】

デグレーダーの活性は組み合わせる低分子だけでなくリンカーにも影響を受けるため、AUTAC 化合物の構造最適化を進めている。ミトコンドリアを分解する AUTAC 化合物は、すでに論文発表したダウン症由来線維芽細胞に限らず、効果を示すことがわかってきた。また、AUTAC 分子を直接認識する生体高分子を同定し、その細胞内挙動を生細胞イメージング実験で解析している。

【今後の研究計画】

引き続き作用メカニズムの解析を進めて、AUTAC を堅牢な創薬プラットフォーム技術として確立し、天然物など低分子化合物の有効利用につなげたい。

<参考文献>

- 1) Takahashi, D. *et al. Mol. Cell* **2019**, 76, 797.
- 2) Takahashi, D., Arimoto, H. *Cell Chem. Biol.* **2021**, in press.
- 3) Kageyama, S. *et al., Nat. Commun.* **2021**, 12, 16.

搔痒誘起作用を有する非天然型モルヒナン誘導体の創製

飯尾啓太¹, 沓村憲樹^{1,2,3}, 南雲康行², 斉藤 毅^{2,3}, 徳田明久³, 橋本佳応³, 山本直司²,
木瀬亮次⁴, 井上飛鳥⁴, 溝口広一⁵, 長瀬 博^{1,2}

(¹筑波大数理物質, ²筑波大睡眠研究機構 (WPI-IIIIS), ³筑波大人間総合,
⁴東北大薬, ⁵東北医科薬科大薬)

【学術的背景・研究目的】

オピオイド受容体はモルヒネを代表とするオピオイド系薬物の鎮痛作用に関与しており、3つのタイプ (μ , δ , κ) で構成される。長瀬らは以前、強力な鎮痛作用を有する非ペプチド性の δ オピオイド受容体 (DOR) 選択的作動薬(-)-1 の開発に成功した (Fig. 1)¹。一方、興味深いことにその鏡像体である(+)-1 は、マウスに投与することで嘔む・舐める・引っかくといった痛みや痒みに関連する行動を誘起することも報告した²。

このような背景の下、(+)-1 が Mas 関連 G タンパク質共役受容体 X2 (MRGPRX2) に結合し、作動活性 ($EC_{50} = 290$ nM) を示すことが近年報告された³。ヒトの肥満細胞を中心に発現しているオーファン受容体 MRGPRX2 は、遺伝学研究等の結果、アトピー性皮膚炎等のアレルギー性搔痒症に関与する受容体と考えられている。我々は、この(+)-1 の分子骨格を基盤として、MRGPRX2 に選択的に作用する化学コミュニケーション分子の創製に着手し、それを利用して MRGPRX2 の関与する薬理作用の解明を目指すこととした。

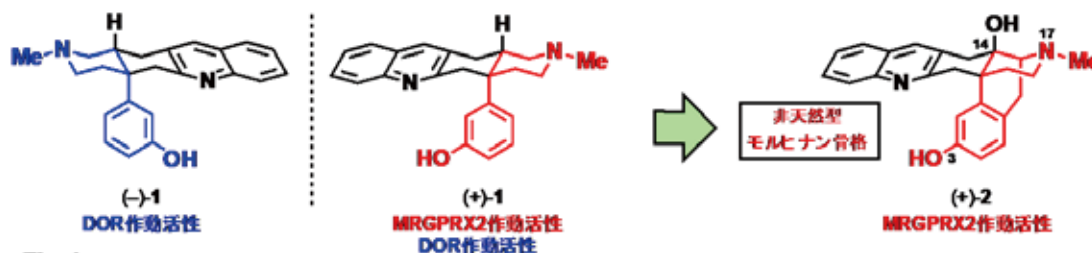


Fig. 1

【現在までの研究成果概要】

我々は上記の目的を達成するために、MRGPRX2 の機能解析の妨げとなる DOR 作動活性の分離が必要不可欠であると考えた。このような考えに基づき分子設計を行った結果、DOR への親和性を示さず、マウスへの髄腔内投与によって上述の特徴的な痛痒関連 3 行動を誘起する非天然型モルヒナン誘導体(+)-2 の創製に成功した。

この化合物(+)-2 の薬理作用を詳細に調べるために *in vitro* アッセイを実施したところ、(+)-2 は MRGPRX2 およびマウスのオルソログによってコードされる MRGPRB2 を活性化することが明らかになった。また、(+)-2 の髄腔内投与によって誘起されたマウスの痛みや痒みに関連する行動は、MRGPRX2 とマウスの MRGPRB2 に非選択的に拮抗作用を示す QWF の投与により抑制された。さらに投与経路を変更し、マウスへ(+)-2 を皮内投与した時の引っかかり行動回数も評価した。その結果、(+)-2 の用量依存的に引っかかり行動数は増加し、また、この行動は搔痒症治療薬として市販されているナルフラフィン塩酸塩の皮下投与により抑制されることも確認した。

【今後の研究計画】

(+)-2 に関して、17 位窒素上の置換基、14 位の置換基、そして 3 位の置換基の構造活性相関研究を行い MRGPRX2 作動活性の向上を図ると共に、拮抗活性を有する誘導体の探索を行う。

<参考文献>

- 1) Nagase, H. *et al. J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, *280*, 600. 2) Suzuki, T. *et al. Life Sci.* **2000**, *68*, 719.
- 3) Roth, B. L. *et al. Nat. Chem. Biol.* **2017**, *13*, 529.

海洋天然物と細胞骨格タンパク質との化学コミュニケーションの解析と応用

木越英夫, 菊地いまり, 小西翔太, 大好孝幸

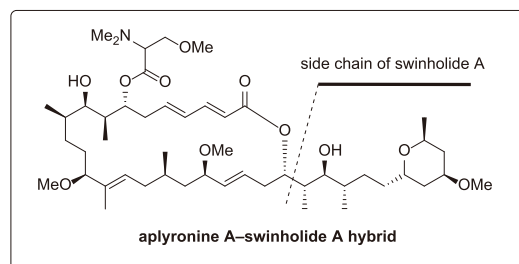
(筑波大数理物質系)

【学術的背景・研究目的】

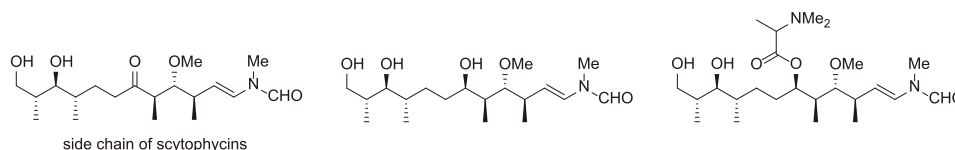
海洋生物からはこれまでに抗癌剤のリードとなる腫瘍細胞増殖阻害活性を含む数多くの生物活性物質が発見され、その宝庫として考えられている。海洋天然物アプリロニンAは化学シグナルとして働くことにより、二大細胞骨格タンパク質であるアクチンとチューブリンのタンパク質間相互作用を誘導し、生成したこれらの三元複合体が鍵となり、前例のない強力な抗腫瘍性を発現する¹⁾。本研究では、海洋天然物により誘導されるタンパク質間相互作用の詳細を解析し、生成する三元複合体の構造と機能(化学コミュニケーション)を理解することにより、同様の活性を持つ有用な生物活性リガンドの創製を目的とする。天然物自身はその誘導化に限界があるが、アナログではかなり自由に設計が行えるために、機能解明にも活用することができる。

【現在までの研究成果概要】

すでにアプリロニンAの全合成経路を確立してはいるが、選択性、効率の点で不十分な点が含まれていた。そこで、天然品と比較して短段階で合成が可能なアナログを創出した。すなわち、アプリロニンAのチューブリンとの結合に重要なマクロラクトン部と、アプリロニンAと同等のアクチン脱重合活性を持つスウィンホライドAの側鎖部を連結させたハイブリット・アナログを設計・合成し、この化合物がアプリロニンAと同等の腫瘍細胞増殖阻害活性を持つことを明らかにした。また、その作用メカニズムもアプリロニンAと同様であることを確認した²⁾。



天然物のハイブリッド化による構造活性相関が有望な分子設計の指針となることが明らかになったため、さらに別の天然物とのハイブリッド化を検討することにした。なお、アクチン脱重合活性と細胞毒性には相関関係があることを考慮し、天然物のアクチン脱重合活性部位を抽出し、構造-アクチン脱重合活性相関を検証することにした。その結果、サイトファイシン類に共通する側鎖部およびそれをモチーフにした2種類の人工分子が比較的強いアクチン脱重合活性を示すことを明らかにした。



【今後の研究計画】

領域内連携を活用し、より高活性なアクチン結合分子の設計・合成を行うとともに、アプリロニンAのマクロラクトン部を連結し、高活性アナログの創出を行う。また、これらによって得られた高活性アナログをケミカルプローブへと変換し、三元複合体の化学コミュニケーションを解析する。

<参考文献>

- 1) Kita, M. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18039.
- 2) Ohyoshi, T. *et al. Chem. Commun.* **2018**, *54*, 9537.

蛍光プローブを活用した活性イオウ分子産生酵素の阻害剤の 探索/創製と機能解析

花岡健二郎¹

(慶応大薬)

【学術的背景・研究目的】

硫化水素 (H_2S) は腐卵臭を有する毒性のガス分子であり、ラットやウシ、ヒトの脳内に H_2S が存在することが報告されて以来、 H_2S の生理シグナルへの関与が多数報告されており、一酸化窒素 (NO) や一酸化炭素 (CO) に次ぐ、第三のガス性シグナル伝達物質として注目されてきた。その生理機能としては、血管弛緩や抗炎症、細胞保護作用などが報告されている。さらに近年では、 H_2S に加えて 6 つの価電子からなる 0 価の S 原子が結合したポリサルファー ($R-S-S_n-S-R$) やパーサルファー ($R-S-SH$) といった活性イオウ分子にも注目が集まっている。これら活性イオウ分子は、他の S 原子と容易に結合・解離することができるため、例えば、システインやグルタチオンのチオール基 ($R-SH$) に結合しパーサルファー ($R-SSH$) を形成したり、ジスルフィド基 ($R-S-S-R$) に結合しポリサルファーを形成したりする。システインパーサルファーやグルタチオンパーサルファーといったこれら活性イオウ分子は、 H_2S と比較して、酸化ストレスに対する高い細胞保護作用が報告されている。哺乳類での H_2S を含む活性イオウ分子の産生酵素としては、CSE (cystathionine γ -lyase) や CBS (cystathionine β -synthase)、3MST (3-mercaptopyruvate sulfurtransferase)、cysteinyI-tRNA synthetases (CARSSs) が報告されている^{1,2)}。本研究では、生物学研究において有用となる CSE 及び CBS の選択的阻害剤を独自に開発した蛍光プローブを用いて探索することを目指す。

【現在までの研究成果概要】

これまでに開発に成功している H_2S 選択的蛍光プローブ (図 1)³⁾ を用いて、約 17 万化合物に対する阻害剤スクリーニングを行ったところ、CSE に対して高い選択性で阻害作用を示す化合物 ($IC_{50} = 11 \mu M$) を得ることに成功した。既存の阻害剤である PAG (D,L-propargylglycine) が methionine γ -lyase (MGL) や alanine transaminase (ALT) に対して阻害活性を示した一方で、見出した阻害剤はこれら酵素に対しても殆ど阻害活性を示さず、高い CSE 選択性を示した。さらに、X 線結晶構造解析から化合物は活性中心にある補酵素 pyridoxal 5'-phosphate (PLP) と Schiff 塩基を形成していることが分かった。また、生細胞においても CSE に対する阻害活性 ($IC_{50} = 170 \mu M$) を示し、細胞膜透過性を持ち生細胞においても有用であることが分かった。次に、CBS の阻害剤開発に取り組んだ。CBS は CSE と同様に補酵素 PLP 依存的に働くため、CSE の場合と同じように PLP と結合を形成する化合物が CBS に対しても選択的に阻害作用を示すと考え、ヒドラジノ基またはアミノオキシ基を持つ 1,043 化合物に対してスクリーニングを行っている。

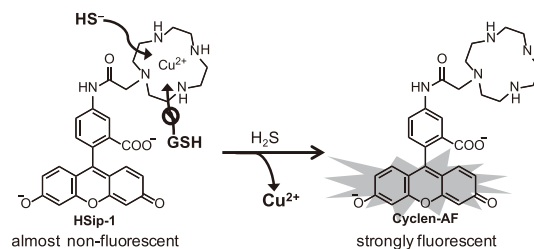


図 1 これまでに開発した H_2S 選択的蛍光プローブ, HSip-1

【今後の研究計画】

今後は引き続き、CBS 阻害剤の開発に取り組んでいく。さらに開発した阻害剤を用いて、活性硫黄分子に関わる生命現象を明らかにしていきたい。

<参考文献>

- 1) Echizen, H. *et al. J. Clin. Biochem. Nutr.* in press, doi:10.3164/jcbrn.20-18. 2) Hanaoka, K. *et al. Sci. Rep.* **2017**, *7*, 40227. 3) Sasakura, K. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 18003.

哺乳動物毒における化学コミュニケーションの解明

北 将樹, 矢野佑介, 福岡 凌

(名大院生命農)

【学術的背景・研究目的】

動物由来の天然毒にはユニークな構造や切れ味鋭い活性をもつものが多い。また加速進化により、有毒動物由来の生理活性ペプチドには多様性がみられる。このような新規神経毒の化学的解明は、薬理学、神経科学、精神医学など広範な生命科学の発展に寄与し、疼痛治療薬など新規薬剤の開発にも直結する¹⁾。本研究では、化学生態学・進化学的にも興味深い、希少な哺乳類由来の有毒物質の構造と機能の解明と、より高活性な神経毒アナログの創製を目指す。またこれらの神経毒について、異種動物の類似物質と比較し、生物進化における神経毒の生物学・生態学的意義を探ることを目指す。

【現在までの研究成果概要】

真無盲腸類は昆虫やミミズなどを主な餌とする食虫性の小型哺乳類である。中でもトガリネズミは飢餓に弱く、唾液の毒を用いて獲物を麻痺させて捕獲する習性があると言われている。これまでに、北米に棲息するブラリナトガリネズミの顎下腺よりマウスを致死させるプロテアーゼ毒ブラリナトキシンを発見し、その構造や薬理活性を解明した。また、キューバ共和国にてフィールド調査を実施し、絶滅危惧種のキューバソレノドン^{2,3)}を捕獲し、その進化系統を明らかにした^{2,3)}。

また、ブラリナトガリネズミの顎下腺から新規麻痺性神経毒ペプチド BPP1 および BPP2 を単離した。ヒト脳に含まれる類似ペプチドとの比較により、BPP 類の 3 つのジスルフィド結合の結合様式を推定した。また BPP2 のヒト神経芽腫細胞に対する Ca²⁺流入作用を見出した。この作用は N 型チャンネル阻害剤 α -コノトキシン類により抑制され、BPP 類が神経系 Ca²⁺チャンネルを標的とすることが分かった。

構造と機能の確認、および作用機序の解明を目指して BPP 類の化学合成を進めた。C 末端にカルボン酸ヒドラジドを持つ 1-22 残基と N 末端に Cys 残基を持つ 23-53 残基をネイティブケミカルライゲーション(NCL)で連結し、5 つの Cys 残基が全て Acm 基で保護されたポリペプチドを得た。次いで Acm 基の除去とジスルフィド結合の形成を同時に行い、天然品の BPP2 と分子量が一致する 2 つのペプチドを主成分として得た。しかし、合成品の HPLC における保持時間はともに天然品とは一致せず、MALDI-MS/MS 解析からジスルフィド結合の結合様式が異なることがわかった。現在、チオール⁴⁾の保護基として ^tBu 基と Tr 基を含めた直鎖ペプチドの合成と位置選択的なジスルフィド結合の形成を検討している。

【今後の研究計画】

希少な哺乳類由来の有毒物質の構造と機能の解明、ならびにより高活性な神経毒アナログの創製を目指す。トガリネズミの持つ麻痺性ペプチドの研究から、痛覚過敏や神経因性疼痛など、痛みに関わる新規な作用機序の解明研究を推進する。またヒト脳内に含まれる BPP アナログについても合成と機能解明を目指したい。さらに、領域内の連携を活用して、生物活性天然物の新たな標的分子の解明を推進する。

<参考文献>

- 1) Kita, M. *Clinical Neuroscience* **2017**, 35, 1453.
- 2) Sato, J. J. *et al. Sci. Rep.* **2016**, 6, 31173.
- 3) Sato, J. J. *et al. Mol. Phylogent. Evol.* **2019**, 141, 106605.

MAIT 細胞の活性化を担う MR1 リガンドの探索研究

松岡巧朗¹, 本園千尋^{2,3}, 服部 明¹, 掛谷秀昭¹, 山崎 晶^{2,3}, 大石真也¹
大野浩章¹, 井貫晋輔¹

(¹京大院薬, ²阪大微研, ³阪大 IFRcC)

【学術的背景・研究目的】

Mucosal-associated invariant T (MAIT) 細胞は、免疫の初期応答において重要な役割を担う自然免疫様 T 細胞の一種であり、細菌感染からの生体防御や、がん、自己免疫疾患など様々な病態に関わることが指摘されている¹⁾。MAIT 細胞は、T 細胞受容体 (TCR) を介して、抗原提示細胞上の MHC class I-related protein (MR1) タンパク質とリガンドの複合体を認識して活性化され、サイトカイン誘導を介した様々な免疫応答を示す。しかしながら、リガンドとなる化合物が長らく未解明であったため、機能解析や分子レベルでの理解が遅れていた。最近、微生物代謝物に由来する短寿命化合物である 5-(2-oxopropylideneamino)-6-D-ribitylaminouracil (5-OP-RU) が MR1 に結合し、MAIT 細胞を活性化することが報告された (Figure 1)²⁾。

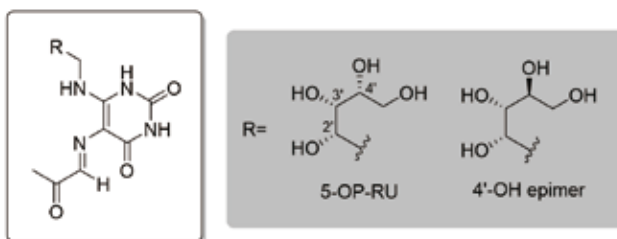


Figure 1. Structures of 5-OP-RU and its 4'-OH epimer.

本研究では、MAIT 細胞の機能解析に用いるケミカルツールの創製や医薬品シーズへの展開を見据えて、5-OP-RU の構造活性相関研究を行った。

【現在までの研究成果概要】

MAIT 細胞活性化に重要とされる 5-OP-RU のリビチル基の立体化学に着目して、5-OP-RU の全 8 種類の立体異性体を合成し、その化学安定性および活性を網羅的に評価した。化学安定性に関してはいずれの誘導體も同程度であった。一方で、MAIT 細胞に対する活性に関しては、4'-OH エピマーのみが 5-OP-RU と同等の活性を有していた (Figure 1)。活性評価の結果を基に分子シミュレーションソフトを用いた結合モードの解析を行うことで、リビチル基の 2', 3'位のヒドロキシ基の立体化学が活性発現に重要であることを見出した。

【今後の研究計画】

本研究で得られた情報に基づき、引き続き構造展開を実施する。リビチル基部位の構造展開については、直鎖構造だけでなく、環状構造への展開なども検討する。また、ヒドロキシ基を他の官能基へと変換する検討も併せて行う。これらの変換が活性に及ぼす影響に加えて、化合物の安定性や物性に及ぼす影響についても精査する。5-OP-RU の母核構造についても、変換を予定しており、様々なヘテロ環構造への置換を検討し、より高活性なリガンドの取得を目指す。

<参考文献>

- Godfrey, D. I. *et al. Nat. Immunol.* **2019**, *20*, 1110.
- Corbett, A. J.; Fairlie, D. P.; Kjer-Nielsen, L.; Rossjohn, J.; McCluskey, J. *et al. Nature* **2014**, *509*, 361.
- Matsuoka, T.; Motozono, C.; Hattori, A.; Kakeya, H.; Yamasaki, S.; Oishi, S.; Ohno, H.; Inuki, S. *ChemBioChem* **2021**, *22*, 672.

リピド A を介した細菌-宿主間ケミカルエコロジーの理解と ワクチンアジュバント開発への展開

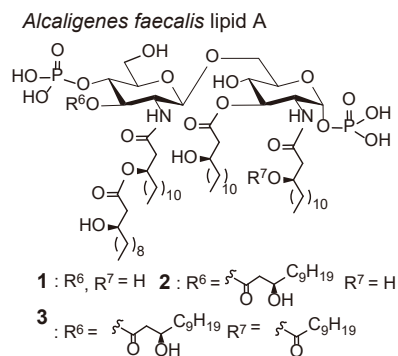
下山敦史^{1,2}, 山浦遼生¹, 宇戸智哉¹, Davie Kenneth¹, 松田彩那¹, 細見晃司³, Di Lorenzo Flaviana⁴, 藤本ゆかり⁵, Molinaro Antonio⁴, 國澤 純³, 清野 宏⁶, 深瀬浩一^{1,2}
(¹阪大院理, ²阪大院理 PRC, ³医薬健栄研, ⁴University of Naples Federico II, ⁵慶大理工, ⁶東大医科研)

【学術的背景・研究目的】

グラム陰性菌細胞外膜を構成するリポ多糖 (LPS) は代表的な活性化因子の一つであり、リピド A と呼ばれる糖脂質部分と多糖部分とが特異な酸性糖 Kdo を介して結合した構造をとっている。活性中心であるリピド A が TLR4-MD2 受容体に認識されることで、免疫活性化が惹き起こされる。近年我々は、細菌-宿主間ケミカルエコロジー研究の観点から、生体内環境で生息する細菌について、リピド A の免疫調節作用の解析とワクチンアジュバントへの応用について研究を進めてきた。代表的な大腸菌 LPS は、強力な免疫増強作用を有する一方で致死毒性を示し、ワクチンアジュバントへの展開は困難である。そこで、共生菌は共存関係構築のため、免疫調節因子を低毒化していると考え、中でも、腸管関連リンパ組織パイエル板に共生している *Alcaligenes faecalis* に着目した。リピド A の系統的合成と機能評価を実施し、有用アジュバントの探索ならびにリピド A を介した免疫調節システムの解析が実施する。

【現在までの研究成果概要】

A. faecalis LPS を乾燥菌体から抽出し、その活性を評価したところ、*A. faecalis* LPS は、大腸菌型に比べ、温和な免疫増強作用を有し、活性は TLR4-MD2 依存的事であること、炎症性、NO 誘導能、アポトーシス誘導能がいずれも低く、毒性は確認されないこと、一方で、抗体産生増強作用は同等に保持しているなど、低毒性な免疫増強因子を見いだすことができた^{1,2)}。続いて *A. faecalis* LPS の構造決定を実施し、*A. faecalis* リピド A 1-3 を化学合成したところ、3 のみが免疫増強活性を示し、これが活性中心であることが明らかになった³⁾。またマウスを用いた *in vivo* 試験により、3 は *A. faecalis* LPS と同様に無毒でありながら、Th17 を介した免疫応答活性化と抗原特異的な IgA、IgG 産生増強作用を示した^{4,5)}。このように、細菌-宿主間ケミカルエコロジー戦略により、腸管粘膜における免疫制御組織に共生する細菌に着目することで、粘膜免疫を安全に制御できる有望な経鼻ワクチンアジュバント候補を見いだした。



【今後の研究計画】

大腸菌リピド A の場合は Kdo の付加によりリピド A の活性が増強することをこれまでに報告している。*A. faecalis* リピド A の場合も Kdo 付加による活性の変化が示唆されていることから、Kdo-リピド A の合成・機能評価に着手する。また近年、抗原とアジュバントの複合化により、効率的な抗体産生が誘導されるというセルフアジュバント効果が報告されている。本研究においては、*A. faecalis* リピド A のアジュバント作用を最大限に引き出すため、*A. faecalis* リピド A と抗原を連結したアジュバント-抗原複合体を合成し、セルフアジュバントワクチンの開発を目指す。

<参考文献>

1) Shibata, N. et al., *Mucosal Immunology* **2018**, *11*, 693. 2) Hosomi, K. et al., *Front. Microbiol.* **2020**, *11*, 561005. 3) Shimoyama, A. et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2021**, *60(18)*, 10023-31. 4) Wang, Y. et al., *Vaccines* **2020**, *20*; 8(3): E395. 5) Yoshii, K. et al., *Microorganisms* **2020**, *8(8)*, 1102.

メダカ味覚受容体 T1r2a/T1r3リガンド結合ドメインに対する 疎水性アミノ酸結合の構造生物学的解析

新田純矢¹, 渥美菜奈子¹, 日下部裕子², 山下敦子¹

(¹岡大院医歯薬, ²農研機構)

【学術的背景・研究目的】

味覚受容体では、食品に含まれる多様な化学物質を、限られた種類の受容体で感知するという生理学的背景から、1種類の受容体が幅広い基質特異性を示すケースが見られる。例えば、ヒトの甘味受容体は、多様な化学構造を持つ糖や人工甘味料に応答し、マウスのうま味受容体は、幅広いL-アミノ酸に応答を示す。これらの甘味やうま味の受容体は、Taste receptor Type 1 (T1r)で構成されており、T1r2/T1r3 または T1r1/T1r3 ヘテロ二量体として機能することが知られている。T1rによる化学物質認識を理解する上で重要な受容体構造情報として、現在、我々が解析したメダカ由来 T1r2a/T1r3 のリガンド結合ドメイン (Ligand-binding domain, LBD) の構造のみが報告されている¹⁾。このメダカ T1r2a/T1r3 も、幅広いL-アミノ酸を結合する、基質特異性の広い受容体である²⁾。我々はこれまでに、T1r2a/T1r3 が応答を示す、親水性または小型アミノ酸結合状態のLBD構造を報告してきた¹⁾。一方、疎水性アミノ酸も T1r2a/T1r3LBD に結合を示すが、中型・大型の疎水性アミノ酸は、親水性または小型アミノ酸と比較すると、T1r2a/T1r3 に顕著な応答を誘起しない²⁾。そこで、これまでに得られている「応答誘起型」アミノ酸結合構造と比較することを目指し、疎水性分岐鎖アミノ酸としてL-ロイシン、長鎖アミノ酸としてL-メチオニン、芳香族アミノ酸としてL-フェニルアラニンが結合した T1r2a/T1r3LBD の構造解析を行って、T1r2a/T1r3LBD のコンフォメーションや疎水性アミノ酸認識の様相を明らかにすることを目的に研究を実施した。

【現在までの研究成果概要】

疎水性アミノ酸結合 T1r2a/T1r3LBD 結晶は、既報¹⁾と同様に作製し、それぞれ 2.5~2.7 Å 分解能での立体構造を決定した。得られた構造から、今回解析を行った疎水性アミノ酸は、いずれも T1r2a/T1r3LBD において「応答誘起型」アミノ酸とほぼ一致する位置に結合しており、共通構造である α -アミノ基、 α -カルボキシ基も、受容体の同じアミノ酸残基によって同様に認識されていた。また、T1r2a/T1r3LBD の全体構造も、「応答誘起型」アミノ酸結合構造との $C\alpha$ rmsd 値が 0.4 Å 程度と極めて小さく、結合構造のコンフォメーションにほとんど違いがないことが判明した。これらの結果から、T1r2a/T1r3LBD は、疎水性アミノ酸も、受容体応答を誘起する親水性アミノ酸や小型アミノ酸と同様に認識し、結合構造として同様のコンフォメーションを取ることが示唆された。

【今後の研究計画】

疎水性アミノ酸結合型構造解析としては、結晶化条件の最適化により分解能向上をはかり、また構造の精密化を進め、「応答誘起型」アミノ酸結合構造との微細な差異がないか、その差異が応答の差異の原因となりうるかを解析する。またLBD以外受容体領域への作用や、静止構造ではなくコンフォメーション動態の変化が応答の差異の原因となる可能性もある。そこで、全長受容体を用いた作用部位解析や、一分子解析など構造動態の情報が得られる解析を行って、「応答誘起型」と「非誘起型」リガンドの違いを探ることも検討する。

<参考文献>

- 1) Nuemket, N., Yasui, N. *et al. Nat. Commun.* **2017**, *8*, 15530.
- 2) Yoshida, T. *et al. PLOS ONE* **2019**, *14*, e0218909.

アレロケミカルを起点とした植物間コミュニケーション分子の開発

新藤 充, 岩田隆幸, 杉山裕美

(九大先導研)

【学術的背景・研究目的】

アレロパシー（植物他感作用）は植物がもつ自己防御システムであり、様々なアレロケミカルを生合成し、周囲の植物（広義には生物）に対して影響を与える。したがってアレロケミカルは植物のコミュニケーションツールとも考えられる。これまでに我々はユキヤナギ由来のアレロケミカルであるシス桂皮酸を対象に多くの誘導体を合成し、レタス幼根の生長抑制に関する構造活性相関を明らかにし、さらに蛍光プローブを合成し分子イメージング実験により、コルメラ細胞への局在を観察した¹⁾。コルメラ細胞は地下部の重力センサー細胞であることから、シス桂皮酸が重力屈性に作用している可能性が示唆され、重力屈性阻害試験によりその阻害作用が確認された。重力屈性は植物ホルモンがその制御に関与していることから、植物生理学分野では重要な研究対象となっている。重力屈性に関して分子遺伝学的な研究は近年大きく進展したが、特異的阻害剤の開発やその標的分子の解析は課題となっている。そこで本研究では植物の重力屈性を特異的に制御する生理活性化合物の探索及び作用機構の化学的解析を目的とした。

【現在までの研究成果概要】

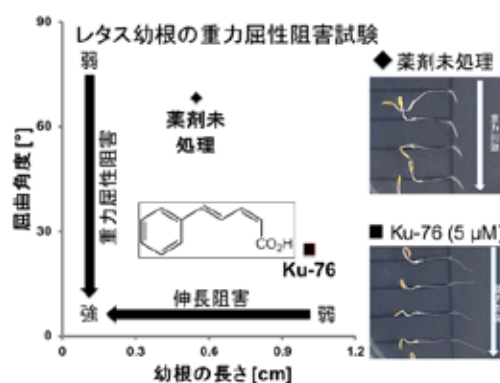
シス桂皮酸合成誘導体からレタス幼根に対する重力屈性を特異的に阻害する化合物、ジエンカルボン酸 ku-76 を見出した。本化合物の構造活性相関研究により芳香環、カルボン酸および 2Z アルケニル基が活性発現に必須であることが判明した²⁾。さらに構造展開を行い、最高 10 nM で重力屈性阻害効果を示すより強力な複数の類縁体を見出すことに成功した。またシロイヌナズナを試験植物としたアッセイ系を確立し、感度はレタスに比べて劣るものの、阻害活性が発現した。

【今後の研究計画】

活性化合物を標識し、標的因子の同定に有用な分子ツールの開発を目指す。森田美代教授（基生研）と共同で、植物ホルモンの分布への影響など植物生理学的解析を始める。本新学術領域内外で植物科学、化学生物学の専門家と連携することでアレロケミカルの理解をすすめたい。

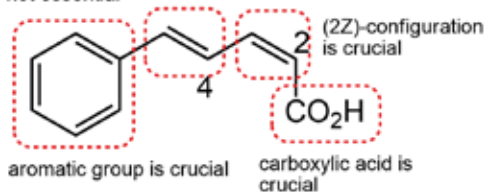
<参考文献>

1) Abe, M., Shindo, M. et al. *Phytochemistry* 84, 56-67, **2012**; Nishikawa, K., Shindo, M., et al., *Phytochemistry*, 96, 132-147, **2013**; Nishikawa, K., Fujii, Y., Shindo, M., et al. *Phytochemistry*. 96, 223-234, **2013**; Fukuda, H., Shindo, M. et al. *Tetrahedron* 72, 6492-6498, **2016** [Cover Figure]. 2) Shindo, M.; Morita, M.; Fujii, Y. et al. *Phytochemistry* 172, 112287, **2020**; Shindo, M.; Morita, M.; Fujii, Y. et al. *Phytochemistry* 179, 112508, **2020**.

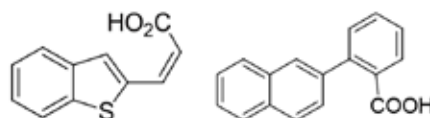


SAR study

(4E)-configuration may be important, but not essential



more potent inhibitors



化学シグナル伝達における分子内ネットワークの理解と アロステリック制御機構の解明

横井誠矢, 登坂綺水, 鈴木里佳, 大久保優美, 坂倉正義, 高橋栄夫

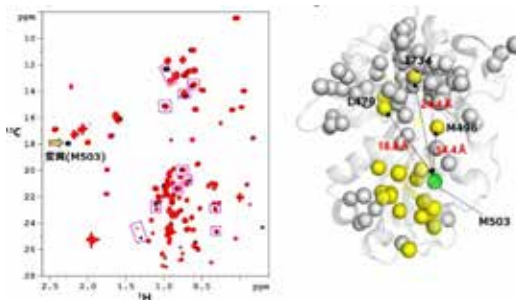
(横浜市立大学大学院生命医科学研究科)

【学術的背景・研究目的】

化学コミュニケーションの中心となる化学シグナル伝達の分子基盤を理解し、合理的な制御を実現する上で、リガンド結合部位から離れた領域の構造変化を誘起し機能を発現する、「アロステリック制御」メカニズムを立体構造の見地から理解することは重要である。本研究において題材とするグルタミン酸受容体 AMPAR¹⁾ では、リガンド結合ドメイン (LBD) の二量体界面に結合しアゴニスト活性を増強するアロステリック調節薬²⁾ が知られている。その複合体結晶構造は解かれているが、アロステリック調節薬の有無により LBD のアゴニスト認識様式に顕著な相違が見られないことから、静的構造に基づくアロステリック効果の解明は困難であった。我々は、NMR 法を中心とした解析法により AMPAR-LBD の薬理活性が、2 つの lobe 開閉の動的平衡状態がシフトすることで制御されていることを明らかにしてきたが³⁾、本研究では、コンフォメーション平衡などの構造遷移を高感度に検出できる NMR 法の優位性を活かし、動的な原子間コミュニケーションの存在を明らかにし、アロステリック構造変化がどのように伝播・誘起されるかの解明を目指す。アロステリックメカニズムが理解できれば、従来薬の作用点とは異なる、より多様な視点での化学伝達分子の創製、化学コミュニケーションの制御が期待できると考える。

【現在までの研究成果概要と今後の研究計画】

アロステリック制御に関わる分子内構造ネットワークを解明するため、保存的変異を活用した NMR 解析を進めている。具体的には、検出感度の高い側鎖メチル基を有するアミノ酸 (Ile, Leu, Met, Val) を NMR プローブとして選択し、各アミノ酸残基を構造的変化が小さいアミノ酸に置換した変異体 (例えば Ile→Leu 等) を複数作製する。側鎖の構造を僅かに変化させる変異が LBD に誘起する微小な摂動は、静的な分子構造を大きく変化させないが、当該残基を含む分子内ネットワークが構築されている構造領域の動的構造には影響を与える可能性が高く、化学シフト変化として NMR を用いて検出することが可能と考えられる⁴⁾。現在までに 10 数種の保存的変異体を作製、NMR 試料調製を行い、変異に伴う化学シフト摂動データを取得した。現時点でのデータから、変異により化学シフト摂動を受ける領域の大小は、変異部位ごとに差が見られ、想定しているような構造ネットワークの存在が NMR により検出できることが示された(右図)。現在、これまでに得られたデータをもとにした相関解析・コミュニティ抽出に基づく構造ネットワーク解析を実施中であり、今後、データの信頼性を高めるため、さらなる保存的変異体の作製を推進していく。



[¹³C-methyl]-Ile, Met, Leu, Val で標識した AMPAR-LBD の ¹H-¹³C シフト相関スペクトル (黒: WT, 赤: M503L 変異体)。M503L 変異は、20 Å 以上離れた部位に影響を及ぼしており、構造ネットワークの存在が示唆される。

<参考文献>

1) Armstrong, N. et al., *Neuron* **2000**, *28*, 165.; Pøhlsgaard, K. et al., *Neuropharmacology*, **2011**, *60*, 135.; Twomey, E. C. et al., *Biochemistry*, **2018**, *57*, 267. 2) Sun, Y. et al., *Nature*, **2002**, *417*, 245.; Jin, R. et al., *J. Neurosci.*, **2005**, *25*, 9027. 3) Oshima, H. et al., *Biophys. J.*, **2019**, *116*, 57.; Sakakura, M. et al., *Structure*, **2019**, *27*, 1698. 4) Aoto, P. C. et al., *Sci. Rep.*, **2016**, *6*, 28655.

化学シグナルの統合的分子プロファイリングによる四重鎖核酸の機能解明

清宮啓之¹, 新家一男², 長澤和夫³

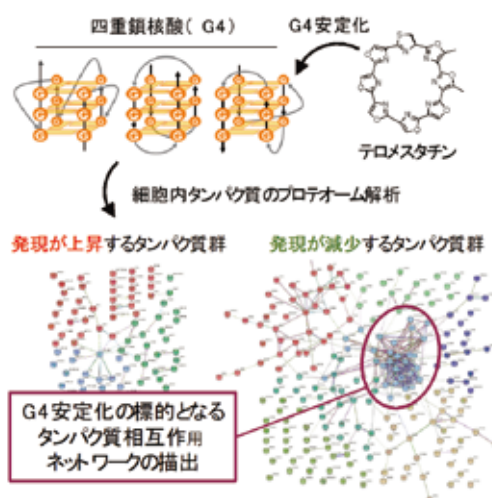
(¹がん研・化療セ, ²産総研, ³東京農工大・院工)

【学術的背景・研究目的】

テロメアや遺伝子制御領域などのグアニンに富む核酸配列は、グアニン四重鎖 (G4) という特殊な高次構造を形成する^{1,2)}。我々はG4ががんの制御因子^{3,4)}や治療標的^{5,6)}となることを示してきたが、その詳細な機序は不明である。G4を生体レベルで制御する技術としては、放線菌由来テロメスタチンなどのG4安定化化合物 (G4リガンド) が有用である。我々は機能ゲノミクス探索⁷⁾や細胞増殖・遺伝子発現解析⁸⁻¹⁰⁾などの分子プロファイリング研究を展開してきた。本研究では統合的分子プロファイリング技術を駆使し、G4リガンドが惹起する化学シグナルを分析することで、G4の生物学的意義に迫る。

【現在までの研究成果概要】

(1) テロメスタチンおよびこれと母核構造が異なるG4リガンドPhen-DC3に対するがん細胞の分子応答を捉えた多層データベースを拡充した。これらの統合的分子プロファイリングを行い、G4の安定化に伴って特異的に発現変動する遺伝子・タンパク質群を同定したところ、リガンド処理によって減少するタンパク質群の顕著な相互作用ネットワークが描出された (右図)。さらに、mRNA内のG4は翻訳を負に制御すること、G4リガンド処理によってこの翻訳効率がさらに低下することが確認された。これらのことから、遺伝子領域内のG4動態は翻訳を調節する可能性が示唆された。(2) テロメスタチン誘導体類の大環状骨格から分岐した側鎖部分にアジド基を導入し、これと蛍光標識アルキン化合物CO-1のクリック反応を利用することで、テロメスタチン誘導体類の細胞内分布を可視化するライブセルイメージング技術を確立した¹¹⁾。本法は生理活性物質の細胞内分布を観察するうえで有用である。(3) 我々は、テロメアが長い腫瘍ではテロメア非コードRNA由来のG4がインターフェロン標的遺伝子群 (interferon-stimulated genes: ISGs) の発現を抑制することを報告してきた³⁾。これを受け、ISGsの発現に寄与するG4結合タンパク質SF3B2を同定した¹²⁾。興味深いことにPhen-DC3はSF3B2とG4の結合を阻害し、ISGsの発現を亢進させた。G4はSF3B2に結合することでISGsの発現を抑制することが示唆された。



【今後の研究計画】

G4が直接の翻訳調節エレメントとして機能する遺伝子を同定したので、それらの発現変動の生理学的意義を明らかにする。また、種々のヒトがん細胞株のエクソーム・トランスクリプトームデータならびにテロメスタチンおよびPhen-DC3の増殖抑制効果の相関解析から選抜した合成致死候補因子について、その妥当性を検証する予定である。

<参考文献>

- 1) Okamoto, K. *et al. J. Biol. Chem.* **2019**, *294*, 17723. 2) Nakanishi, C. *et al. BBRC* **2020**, *531*, 45. 3) Hirashima, K. *et al. Nucleic Acid Res.* **2015**, *43*, 2022. 4) Okamoto, K. *et al. Cells* **2019**, *8*, E107. 5) Nakamura, T. *et al. Sci. Rep.* **2017**, *7*, 3605. 6) Seimiya, H. *Cancer Sci.* **2020**, *111*, 3089. 7) Mashima, T. *et al. Cancer Res.* **2014**, *74*, 4888. 8) Mashima, T. *et al. Br. J. Cancer* **2019**, *121*, 846. 9) Fujiwara, C. *et al. Sci. Rep.* **2018**, *8*, 14827. 10) Nishiya, N. *et al. Cancer Sci.* **2021**, *112*, 1963. 11) Yasuda, M. *et al. Chem. Commun.* **2020**, *56*, 12905. 12) Matsumoto, K. *et al., Genes Cells.* **2021**, *26*, 65.

分子動力学シミュレーションを用いたヘロナミド類の膜内構造と凝集性

齋藤大明¹, 叶 直樹²

(¹北陸大薬,²星薬科大学・医薬品化学研究所)

【学術的背景・研究目的】ヘロナミド (Heronamide)C および A は、オーストラリア近海で採取された放線菌が生産するマクロラクタム化合物で、細胞膜への結合による抗真菌作用がある^{1,2}。

掛谷・西村等は同族の放線菌から 8-deoxyheronamide C を単離し、細胞脂質を標的とした抗真菌活性を有することを報告した²。掛谷等の実験によると、ヘロナミド C は DMPC のような飽和型脂質膜にはタイトに結合する一方で、POPC や DOPC のような不飽和型脂質膜には弱く結合することが報告された。また一方でヘロナミド A はヘロナミド C に比べて脂質膜への結合特性が非常に弱いことも示されている。このようなヘロナミドの脂質膜への結合特異性の違いは、ヘロナミド C および A の脂質膜内における結合構造や相互作用特性の違いによるものと考えられるが、膜内分子構造の観測の難しさにより未だ明らかとされていない。一方で、叶等は同様に細胞膜の抗菌活性を有する様々なヘロナミド類の合成研究を精力的に進めている³。抗菌活性を有する新規化合物の合成・評価のためにはこれら化合物の膜内における構造特性の知見が必須であり、これら特性の解明は急務の課題である。

【方法】本研究では、これら実験により合成・評価されているヘロナミド類の脂質膜における分子動力学 (MD) シミュレーションを実施し、ヘロナミド類の膜内結合特性を具体的に明らかにする。ヘロナミド C、や A 単体の脂質膜における MD 計算に加えて、叶等が合成したヘロナミド類の脂質膜における MD 計算を実施する。各々の化合物の膜内における結合位置や分子配向の違いを詳細に解析し、ヘロナミドの膜内における構造や凝集特性の違いについて議論する。

【結果と今後の計画】ヘロナミド A, B, C およびヘロナミド C の構造異性体、コレステロールやエゴステロールの MD 計算は終了しており、現在は各々の系における膜内の構造や安定性に関する解析を進めている。それぞれヘロナミドの分子構造の違いに起因する、膜内構造や安定性の違いがこれら解析計算により明らかとなってきた。今後はヘロナミドの膜内濃度変化に対する膜構造や相互作用、膜内における凝集特性の違いについても解析し、これら結果と実験との比較検討を行う予定である。詳細は当日報告する。

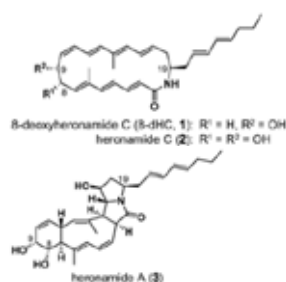


Figure 1. Chemical structures of heronamides

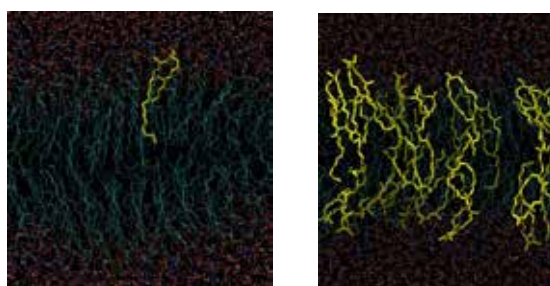


Figure 2. Snapshot structure of heronamide in DMPC bilayer (left: heronamide C monomer, right: 20% of heronamide C)

<参考文献>

- 1) Raju, R.; Piggott, A. M.; Conte, M. M.; Capon, R. J. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, 8, 4682.
- 2) Sugiyama, R.; Nishimura, S.; Matsumori, N.; Tsunematsu, Y.; Hattori, A.; Kakeya, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 5209.
- 3) Kanoh, N. et al. *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 8586.

Determination of membrane protein-specific lipids using gold nanoparticle-based method.

Supakorn Wangamnuayporn, 川井 隆之, 木下 祥尚, 松森 信明
(九大院理)

Biological properties and structural features of membrane proteins (MPs) are significantly influenced by MPs-lipid interaction. Recently, the surface plasmon resonance (SPR)-based method was developed to analyze the MPs-lipid interaction. The gold sensor chips were coated with C6-chain of self-assembled monolayer (SAM) to significantly support MPs immobilization and subsequently enhance the SPR signal after introducing lipid. ¹ Using seven-transmembrane bacteriorhodopsin (bR) as model MPs, the result from SPR-based method showed that glycolipid S-TGA-1 has the highest affinity to bR. ² However, since SPR-based analysis is limited to isolated lipid species, lipid purification and extraction are required. Therefore, the analysis using SAM-coated gold nanoparticles (AuNPs) was improved based on the idea of SAM-coated gold sensor chip to overcome the limitation since AuNPs has biocompatibility and high immobilization stability.

In this study, AuNPs was coated with the C6-SAM, following by bR immobilization through EDC/NHS chemistry. The MPs-bound lipid species was quantified by LC-MS. The result indicated that bR-immobilized AuNPs successfully detected S-TGA-1 as bR-specific lipid after introducing lipid mixture from purple membrane, consistent with the result from the SPR-based method.

This study provides a new method for MPs-lipid interaction analysis and further application to various MPs, such as KcsA potassium channel or voltage-gated proton channel Hv1, for improving understanding on MPs-lipid interactions. Moreover, this method can be applied for investigating the interaction of

<参考文献>

- 1) M. Inada, M. Kinoshita, A. Sumino, S. Oiki, N. Matsumori, *Anal. Chim. Acta* **2019**, *1059*, 103-112.
- 2) M. Inada, M. Kinoshita, N. Matsumori, *ACS Chem Biol.* **2020**, *15*(1), 197-204.

シアノバクテリア由来色素スキトネミン類の合成研究

宇田川裕多郎¹, 細川誠二郎¹(¹ 早大院先進理工)

【研究背景・目的】スキトネミン類¹⁾⁻³⁾は、イシクラゲなどのシアノバクテリアが生産する淡黄褐色の色素アルカロイドである。

スキトネミン(1)^{1),2)}は、抗炎症作用と、UV-A(380 nm~315 nm)を含む幅広いUV吸収能をもつことが知られている。このUV-Aは低エネルギーの波長ではあるが人体に対する透過性が高く、皮膚ガンやDNA損傷を引き起こすことが問題視されている。

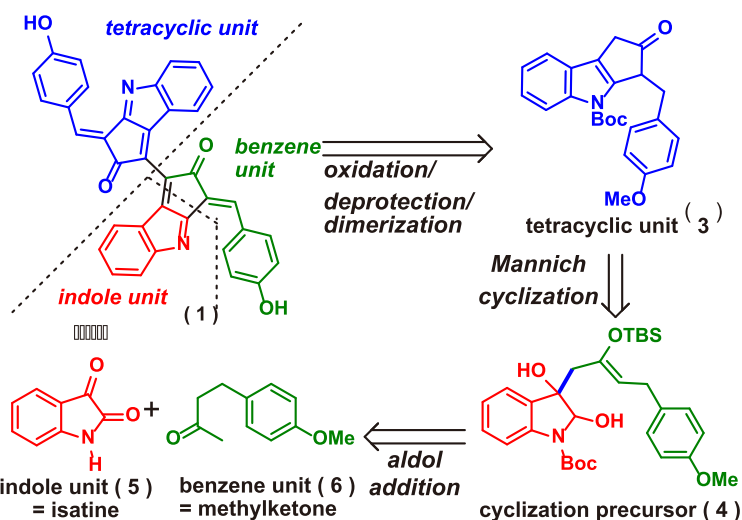
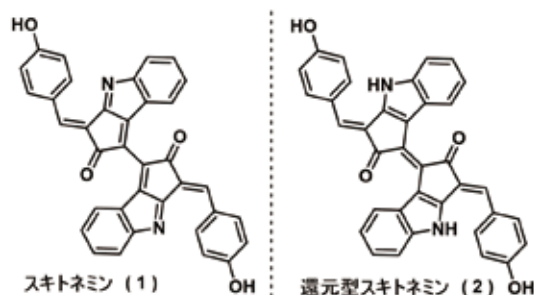
しかし、現在日焼け止め等の化粧品に添加されているUV-Aを吸収し遮断する物質には、刺激性の強いものが多い。これより、抗炎症作用とUV-A吸収能を併せ持つスキトネミンは、低刺激性UV吸収剤のリード化合物となりうる。また、還元型スキトネミン(2)³⁾は、ヒトT細胞白血病細胞株に対して、オートファジーを誘導し細胞増殖を阻害することもわかっている(IC₅₀ = 1.8 μM)。その作用機序は、還元型スキトネミンがミトコンドリア内の活性酸素濃度を増大させるためとされているが、詳細な機構は不明である。また、スキトネミン(1)は34億5千万年前のストロマトライト層からも単離されており、スキトネミン類は地球外惑星探査におけるバイオマーカーとしての利用が期待されている。このように、ケミカルバイオロジーやアストロバイオロジーなどの分野から注目されているスキトネミン類については、合成研究がいくつか行われており、スキトネミンの全合成例は1例報告されている⁴⁾。しかし、スキトネミンと酸化度を合わせた骨格において保護基を除去すると、収率が低下するという問題があった。そこで我々は、この問題点を解決し、高効率かつアクセス性の高い合成手法を確立するべく研究に着手した。

【方法・結果】スキトネミン類は、二量体型のインドレニルアルカロイドの一種で、湾曲した共役系を有する4環式ユニット2つから成る。スキトネミンは、4環式ユニット(3)の2量化によって合成することとした。この4環式ユニット(3)は、イサチン(5)とメチルケトン(6)をアルドール反応で接続した後、Mannich環化反応で4つ目の環を構築することで合成した。この4環式ユニットを2量化したのち、保護基を除去し、最後に酸化度を調節しスキトネミンの全合成を達成した。

【今後の研究計画】現行のルートブラッシュアップを行いながらスキトネミンを合成し、還元型スキトネミンへと誘導する。

<参考文献>

1) Gerwick, W.H. *et al. Experientia*. **1993**, *49*, 825. 2) Tiwari, G. L. *et al. J. Appl. Phycol.* **2015**, *27*, 1045. 3) Itoh, T. *et al. Food and Chemical Toxicology*. **2013**, *60*, 76. 4) Martensson, J. *et al. Org. Lett.* **2011**, *13*, 4458.





編集後記

ニュースレター (vol.8) をお届けします。第8回公開シンポジウムがCOVID-19蔓延のためオンライン開催となり、本号は、口頭講演、ポスター発表の要旨集を収載して発刊する運びとなりました。皆様にご高覧いただくとともに7月2日の公開シンポジウムにご参加いただければ幸いです。

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)」2017～2021年度
化学コミュニケーションのフロンティア Newsletter Vol.8



発行人 : 新学術領域研究「化学コミュニケーションのフロンティア」総括班事務局
発行日 : 2021年6月
領域ホームページ : http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/fr_chemcomm
領域事務局 : 〒606-8501 京都市左京区吉田下阿達町46-29
京都大学大学院薬学研究科 医薬創成情報科学専攻
システムケモセラピー(制御分子学)分野内
連絡先 E-mail : fr_chemcomm@pharm.kyoto-u.ac.jp