

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	ゲノム DNA の革新的発現法に基づく新規医薬品リードの網羅的獲得法の確立
研究機関・部局・職名	静岡県立大学・薬学部・准教授
氏名	渡辺 賢二

【研究目的】

新しい化学構造、生物活性を有する天然物を獲得することは、学術的にも産業的にも重要である。しかしながら、現在では容易に獲得できる天然物は既に取り尽くされたといっても過言ではない状況にあり、実際に多数の大手製薬企業が天然物をリード化合物とした創薬研究を縮小廃止している。その原因として、新規天然物の獲得には多大な時間と労力が費やされること、獲得効率が悪いこと、生産性が低いなどの理由が挙げられ、これらの問題点を解決した「次世代型の天然物獲得法」が望まれている。

ところで、次世代シーケンサーによる DNA 配列解読技術の革新により、現在では様々な微生物のゲノム配列を短時間、低コストにて解読可能になった。Cyclosporine A、lovastatin などといった数多くの医薬品を輩出してきた糸状菌についても数多くの種のゲノムが解読されてきた。その結果、たった一種の糸状菌のゲノム中に数十種類もの天然物生合成遺伝子が含まれていることが明らかにされた。ところが、実験室内における一般的な培養条件において、実際に代謝産物として単離、同定される天然物の数はそれよりも遥かに少数である。近年のトランスクリプトーム解析により、これら天然物生合成遺伝子の多くが不活性化状態、すなわち休眠状態であることが示された。つまり、我々は微生物のもつ天然物生産能力のうち、氷山の一角のみを利用していただけなのかも知れない。一方で、このような生合成遺伝子を人為的に制御し、発現させることができれば、これまでに発見されてこなかった天然物の獲得が期待できる。本研究では、糸状菌に対して遺伝子操作を施すことにより、本来は休眠状態であった天然物生合成経路を覚醒させることで、新規天然物の獲得を目指した。

【総合評価】

<input type="radio"/>	特に優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	一定の成果が得られている
<input type="radio"/>	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

本研究課題は、全ゲノム解読により微生物にはまだまだ多くの未知の二次代謝産物の発現系がコードされていることが分かってきたことを受け、新規医薬品リード化合

物を効率的に得る手法の確立を目的としている。具体的には、多数のカビのゲノムにコードされている膨大な数の二次代謝産物の推定生合成遺伝子を同定し、酵母で発現させて、新規生物活性物質を効率的かつ網羅的に獲得するものである。このための研究実施体制を構築しており、その発見と有効利用のため、天然物化学に遺伝子工学を組み合わせ適切な研究を立案し、計画どおりに高い成果を上げている。得られた知見と確立された手法により、今後多くの未知二次代謝産物が発見され、医薬リードの開発に繋がることが期待される。研究費の費用対効果がよく、人材登用も含め十分に活用されたと判断される。

今後の発展が期待されるが、現在の体制の中に生理活性を評価する機能を有していないことから、新規代謝産物の医薬品リードとしての有用性を見極めるために、生理活性評価を専門とする研究グループとの協力が重要と考えられる。また、未発現二次代謝産物のより高収量での生産技術開発や、有機合成の中間体や、非天然のヘテロ元素を含む出発原料も組み合わせ、より多彩な化合物創製への取り組みも期待される。

② 目的の達成状況

・ 所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

本研究課題の目的は、医薬リードを見出す手段の開発である。従来、医薬リードは天然物（生物が概ね自然に生産する二次代謝産物）或いはライブラリー化合物からの *in silico* を含む幅広いスクリーニングにより見出されてきたが、これら既知化合物のリードへの展開は限界に達しつつあり、新しい天然物の発見が渴望されている。一方、全ゲノム解析プロジェクトが進む中で、菌類には従来単離されたより多くの二次代謝産物に対応する生合成遺伝子クラスターが存在することが明らかになってきた。本研究課題では、これら休眠状態の生合成遺伝子クラスターを出芽酵母等に導入し発現させることにより、未知の非天然の天然物を発見し、リード開発に繋げることを目標にしている。

これまでに生合成産物が不明なポリケタイド合成酵素（PKS）遺伝子群を酵母宿主合成系で発現させ、4種の新規化合物の合成を確認した。さらに、休眠型生合成遺伝子群を活性化するための様々な試みにより、3種の新規代謝産物の生産に成功した。このように既に同手法により、非天然の天然物の発見に成功しており、さらに網羅的な化合物の探索を通じて、所期の目的を達成できたと判断できる。

③ 研究の成果

・ これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

本研究課題では、休眠型二次代謝産物合成遺伝子クラスターを、1) プロモーターの強発現型への変換、2) 転写因子の高発現またはノックアウト、3) *Aspergillus niger* を宿主とした異種発現法、の手段により発現させ、化合物を生産することに成功している。このように、新規な代謝産物を探索するという従来の天然物化学の発想とは異なり、休眠型遺伝子を活性化して新規物質を創製したという点に先進性を認める。この新規物質探索の手法は、幅広い微生物に応用することができるため、確立した方法の拡張によるさらなる新規物質の創製が期待されることから、本技術は、先進的であり優位性がある。

休眠型遺伝子にコードされている非天然の天然物を生産させることに成功しており、大きなブレイクスルーと考える。また、ゲノム情報に基づいて菌の物質生産ポテンシャルを見極めるという考え方を天然物探索に導入した点は斬新である。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が

(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が

(見込まれる ・ 見込まれない)

本手法を他の微生物に応用することにより、多くの未知二次代謝産物を発見することが可能になった。さらに微生物に限らず他の生物種の休眠代謝能の顕在化にも応用できるかもしれないため、本研究で確立された手法が一般化されれば、新規物質探索の重要な潮流になる可能性を秘めている。

新規有用化合物を効率的に発酵生産できることで、社会的、経済的貢献が期待される。本手法を用いる未知二次代謝産物の探索は、特に枯渇する医薬リードの問題を解決する手段として有用であり、新規薬剤の開発を通じて社会に貢献するものと考えられる。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

研究計画は適切であり、それを支える実施体制においても異なる分野の博士研究員を揃え、成果をあげてきた。助成金で購入した高額機器 (質量分析計、高速液体クロマトグラフィー等) も研究上必須であり、適切に使用されていると考える。指摘事項にも対応済みである。研究チームから3名もの若手研究者がキャリアアップしたことは、研究課題の位置づけが高く評価されていることに加えて、若手研究者育成に対するマネジメントが機能していることの表れであると考えられる。

重要な成果が *J. Am. Chem. Soc.* や *ChemBioChem* 誌などに掲載されている他、多くの招待講演、一般講演で発表を行っている。知的財産権も取得している。発表されて

いる論文の質、数ともに秀逸である。招待講演の多さからも、研究が広く高く評価されていることが理解される。

アウトリーチ活動については所属機関が主催する行事への参加や高校への出前授業に加えて、BioJapan やテレビのニュース番組を通して、広い層に情報を提供しており、評価できる。