

## 2022 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	<b>ポリケタイド合成酵素の合理的改変と半合成による新規薬剤の創製</b>
キーワード	① ポリケタイド、② 合理的改変、③ 半合成

### 研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	ツツミ ハヤマ 堤 隼馬
配付時の所属先・職位等 (令和4年4月1日現在)	北里大学大学院感染制御科学府 特任助教
現在の所属先・職位等 (令和5年7月1日現在)	北里大学大学院感染制御科学府 特任助教
プロフィール	2014年3月 東京大学農学部 卒業 2020年3月 東京大学大学院農学生命科学研究科 博士課程修了 2020年4月 東京大学農学生命科学研究科 特任研究員 2021年4月 北里大学大学院感染制御科学府 特任助教 現在に至る

### 1. 研究の概要

天然物は医薬品の最大の供給源である。Newmanらは過去30年間で認可された薬剤の半数以上が天然物に由来する化合物であると報告した。このことから、天然物の創薬における重要性がわかる。一方、年々と天然物が元になった医薬品の例は減少しており、認可数は天然物の黄金期と呼ばれた1980年代の半数以下程度になっている。これの主な原因として、新たな構造を持つ天然物の発見数の減少傾向にあるということも考えられる。また、それだけでなく、実際に良い活性を有していても化合物の性質が悪い(不安定、溶解性や膜透過性が悪いなど)こと、天然物の構造の複雑さから全合成や直接の誘導体化の困難であることも原因であると考えられる。特に、後者のような問題は、天然物生合成経路を合理的に改変し、誘導体化を容易にする官能基の導入とその官能基を起点とした半合成を行うことにより克服が可能であると考えた。そのため、本研究では天然物生合成の中でも、ポリケタイド合成酵素(PKS)の改変による、半合成のための起点となる官能基(ハロゲンなど)の導入を試みる。さらに、官能基を起点とした半合成とを組み合わせることで、天然物創薬における問題点の解決を試みる

### 2. 研究の動機、目的

研究概要にて記した通り、現在、天然物を基にした新規薬剤は減少傾向にある。これは天然物の構造複雑さから、構造改変が困難であることに起因すると考えられる。そのため、ポリケタイド合成酵素を改変し、半合成を容易にする天然物を作り出すことができれば天然物の創薬資源としての可能性を広げることが可能であると考えた。そのため、本研究ではポリケタイド系天然物の合成を担っているポリケタイド合成酵素の機能改変を行うことでこれらの問題点を解決できるのではないかと考えた。しかし、ポリケタイド合成酵素の改変は時に、機能の低下などにつながることから、合理的に改変する手法の提示が求められている。そのため、本研究では酵素の進化過程を理解し、応用することで改変を試みる。さらに、本研究の酵素改変では半合成の起点となりうるハロゲンを導入できるように改変を試みる。さらに、改変に成功した場合、ハロゲンを起点とした半合成により天然物の多様化を試みる。

### 3. 研究の結果

まず、様々なポリケタイド合成酵素をコードする遺伝子配列を抽出し、それらの組換えが生じる配列の存在を遺伝子組換え探索ソフトウェアを用いて解析を試みた。しかし、組換えが生じる配列を見出すことができなかった。これは、類似した化合物を生産するための遺伝子であっても、配列は類似していないことや、既存のソフトウェアが同定に適していないかが考えられた。そこで、AlphaFold2 を利用したタンパク質の予測構造やアミノ酸配列の相同性をもとに、組換えが生じると考えられるポイントを類推し、実際に、このポイントにて組換えが生じたときにできるタンパク質の機能解析を行ったのちに、遺伝子配列の組換えが生じうる確率を調べる戦略に変更した。そのため、モデルとしてポリケタイド合成酵素 A の dehydratase (DH)-ketoreductase (KR) の間に enoyl reductase (ER) の導入を試みた。組換えタンパク質として DH-KR の調製には成功したが、DH-ER-KR は封入体としてしか得られなかった。本研究に利用したポリケタイド合成酵素は本研究に利用困難であることが示唆された。現在その他の候補を利用することを試みている。

### 4. 研究者としてのこれからの展望

本研究課題はポリケタイド合成酵素というマルチモジュールタンパク質における酵素の進化の痕跡を見出し、合理的に本酵素の機能改変を試みているものである。今後は、ポリケタイド合成酵素だけでなく、様々な酵素、タンパク質の進化過程の理解を目指す。さらに、進化過程の知見を応用することにより、タンパク質の機能改変を試みる。この研究には wet と dry の両方の知識、技術が必要となるため、この研究の遂行により、wet と dry を利用する稀有な研究者となりうると考えている。

### 5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

本助成金により、研究の遂行に必要な実験消耗品、器具の購入ができ、気兼ねなく研究を進めることができました。この場を借りて熱く御礼申し上げます。本研究が今後、世界にインパクトを与える研究成果となるよう、今後も励んでいきます。