

研究終了報告書

「タンパク質多量化技術による生合成制御」

研究期間：2020年12月～2023年3月

研究者：吉村 柁彦

1. 研究のねらい

この地球上に存在する植物は30万種を超え、それら植物種全体が生み出す小分子は20万種類を超えるといわれている。植物が生産する二次代謝産物はまさに機能の宝庫であり、今日に至るまで、我々人類はこれら植物由来の小分子を医薬品や化学合成の原料として利活用してきた。しかし、化学合成および合成生物学的生産による供給が困難な植物二次代謝産物は多く、我々人類は膨大にある植物二次代謝産物の中のごく一部しか利用できていない。本研究では、複雑骨格を有する有用分子を効率よく生産するための新たな物質生産の基盤技術を開発する。

生物は細胞内にて 1)複数酵素の複合化もしくは 2)酵素による液-液相分離空間の形成を駆逐することで生合成を最適化している。本 ACT-X 研究では生物の巧みな生合成システムを人工的に再現することで効率的な物質生産を目指す。すなわち、タンパク質を精密に多量化させる技術を独自に開発し、これを生合成酵素で実装することにより細胞の生合成を模した連続酵素反応を実現する。

本研究で目指す有用分子の効率的生産技術は、食品や医薬品のみならず、合成繊維や合成化学品などの物質生産に革新をもたらす、我々の持続可能な生産社会を支える画期的な技術になりうる。

2. 研究成果

(1) 概要

本 ACT-X 研究では生物の巧みな生合成システムを人工的な分子システムにより再現することで生合成を自在制御することを目的に取り組んだ。生物は細胞内にて 1)複数酵素の複合化もしくは 2)酵素による液-液相分離空間の形成を駆逐することで生合成を最適化している。研究初期構想では 2)を人工的に再現することを目的に、タンパク質にタグペプチドを導入し合成小分子を利用してつなぎあわせることで生合成を加速するマイクロサイズ空間を創生することを目指し研究に取り組んだ。ACT-X 研究を進める中で、ただただ酵素を乱雑に密集させるだけでなく、酵素の配置を制御しながら多量化することができれば、より高度なタンパク質多量化を実現できるとともに生物の生合成システムをより模倣するような分子システムを作り上げることができると考えるようになった。

このような経緯を経て、申請者はタンパク質をナノメートルスケールの精度で精密に配置することができるナノ構造体を作り、このナノ構造体を高次元に集積化する構想に至った。本 ACT-X 研究では、上述した要件を満たすようなナノ構造体の開発に成功し、タンパク質の精密配置を実現した。さらに、ナノ構造体上へのタンパク質精密配置技術と並列して、このナノ構造体を高次元に集積化する技術の開発にも成功した。本多量化システムを用いてモデル



酵素反応を実施したところ、酵素反応の飛躍的な効率化を確認することができた。この結果を受けて今後は、有用小分子を生産する酵素を本多量化システムに適用し、新たな物質生産技術の確立を目指す。

(2) 詳細

1) 独自のタンパク質多量化システムの構築

研究初期構想で計画していたタンパク質多量化技術はタンパク質にタグペプチドを導入し、合成小分子を用いてタンパク質同士をつなぎ合わせるというものであった。これにより、複数の酵素で構成されるマイクロメートルサイズのナノ空間を作り出し、生物の生合成システムのひとつである液-液相分離を模倣することを構想していた。しかし、ACT-X 研究を進める中で、ただ酵素を乱雑に密集させるだけでなく、酵素の配置を制御しながら多量化することができれば、より高度なタンパク質多量化を実現できるとともに生物の生合成システムをより模倣するような分子システムを構築できると考えるようになった。

この発想に基づき、申請者は、1)タンパク質をナノメートルスケールの精度で精密に配置することができるナノ構造体の開発と2)ナノ構造体そのものを集積化する技術を開発し、独自のタンパク質多量化システムを構築した。

1) タンパク質の精密配置を実現するナノ構造体の開発

全長 33 nm サイズのナノ構造体を開発し、このナノ構造体上にナノメートルスケールの精度で精密にタンパク質を設置する技術を開発した。これにより、酵素反応の微細なチューニングが可能であると期待している。(特許・論文公開前につき、開発した技術の詳細は割愛)

2) ナノ構造体の集積化技術

開発したナノ構造体の集積化に取り組んだ。透過型電子顕微鏡を用いた測定によりマイクロメートルサイズを超える大きさの多量化体を確認し、細胞内液-液相分離を人工再現するような物質空間を作り上げることに成功した。

2) モデル酵素反応を用いた概念実証

開発した多量化システムを用いてモデル酵素反応を実施した。モデル酵素反応では反応の是非を定量的に評価することを目的に、発光酵素を用いた。モデル酵素の空間的配置を変更することで酵素反応が劇的に変化することを見出した。(特許・論文公開前につき、開発した技術の詳細は割愛)この結果を受けて今後は、有用小分子を生産する酵素を本多量化システムに適用し、新たな物質生産技術の確立を目指す。

その他 (ACT-X 内での共同研究)

9/28、29 に開催されたオンサイト領域会議を契機に、1 期生メンバーの神保晴彦助教との共同研究を開始した。単なる受注合成的な希薄な共同研究ではなく、神保晴彦助教のこれまでの成果から天然には存在しない全く新規の脂質酸様分子を 2 人でデザインし、化学合成に取

り組んでいる。

3. 今後の展開

本 ACT-X 研究期間では、独自のタンパク質多量化技術の開発を達成した。さらに独自の多量化によりモデル酵素反応の効率を飛躍的に向上させることにも成功した。

今後は有用小分子の生合成酵素を用いることで価値ある分子の効率生産に展開していく。

4. 自己評価

本 ACT-X 研究を進める中で、より高度なタンパク質多量化技術を目指した結果、初期構想とは異なる形式の多量化・集積様式に至り、独自のタンパク質多量化技術を構築することができた。そのため、多量化技術の開発に予定よりも多く時間を費やしてしまったが、研究終了期間までに独自のタンパク質多量化技術のもと、モデル酵素の反応効率化まで到達できたことから、研究の達成度は高いものと自負する。

本研究で開発する科学技術の波及効果は絶大であり、有機合成化学や合成生物学とも異なる第3の物質生産技術として、従来の技術では生産困難であった分子群の合成を可能にする。本技術の確立により、我々人類がいまだ活用できていない有用小分子の産業的利用を実現する糸口になると考えている。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

1. Changsheng Li, Lemeng Dong, Janani Durairaj, Jiahn-Chou Guan, Masahiko Yoshimura, Pierre Quinodoz, Robin Horber, Katharina Gaus, Jing Li, Yohannes Besufekad Setotaw, Jinfeng Qi, Hugo De Groot, Yanting Wang, Benjamin Thiombiano, Kristýna Floková, Aimee Walmsley, Tatsiana V. Charnikhova, Aleksandra Chojnacka, Samara M Correia de Lemos, Yezhang Ding, David Skibbe, Katrin Hermann, Claudio Screpanti, Alain De Mesmaeker, Eric A Schmelz, Abebe Menkir, Marnix H Medema, Aalt DJ Van Dijk, Jianqiang Wu, Karen E Koch, Harro J Bouwmeester. “Maize resistance to witchweed through changes in strigolactone biosynthesis.” *Science*. **2023**, *379*, 94–99.

植物ホルモンのひとつであるストリゴラクトンは、産生する植物自身の成長制御のみならず、植物間コミュニケーション(寄生)のシグナル分子としても利用される。本研究ではトウモロコシが生合成するストリゴラクトン「ゼアラクトン」に焦点を当て、その生合成経路を明らかにした。これにより、ストリゴラクトンの生合成をコントロールすることで寄生植物からの寄生を制御することに成功した。

研究期間累積件数: 1件



(2)特許出願

研究期間全出願件数: 1 件 (特許公開前のものも含む)

1	発 明 者	M. Yoshimura, A. De Mesmaeker, P. Quinodoz, J. Leipner, C. Screpanti, R. Fonne-Pfister, A. Bergna, B. O. Oyserman
	発 明 の 名 称	METHODS FOR INCREASING THE NUTRIENT USE EFFICIENCY OF PLANTS
	出 願 人	SYNGENTA CROP PROTECTION AG
	出 願 日	2022/08/25
	出 願 番 号	PCT/EP2022/053237
	概 要	トウモロコシ由来の有用植物分子であるゼアラクトンがトウモロコシ及びその他植物の土壌菌根菌との共生を促進し、成長を促すことに関する特許

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

特になし。