

日本—中国 国際共同研究「第2回生物遺伝資源分野」 ～植物—微生物共生系、微生物叢の機能と制御に着目した基盤技術の創出～ 平成30年度 年次報告書	
研究課題名（和文）	植物共生菌相互作用の包括的利用による二次代謝産物の網羅的解析
研究課題名（英文）	Exploitation of the cryptic secondary metabolites from plant microbiome through biological interaction
日本側研究代表者氏名	阿部 郁朗
所属・役職	東京大学 薬学系研究科・教授
研究期間	平成29年12月 1日～令和3年 3月31日

1. 日本側の研究実施体制

氏名	所属機関・部局・役職	役割
阿部 郁朗	東京大学大学院・薬学系研究科・教授	研究全般
森田 洋行	富山大学・和漢医薬総合研究所・教授	酵素の反応解析、構造解析
淡川 孝義	東京大学大学院・薬学系研究科・講師	遺伝子発現系の構築
森 貴裕	東京大学大学院・薬学系研究科・助教	遺伝子発現系の構築、酵素の構造解析
尾仲 宏康	東京大学大学院・農学生命科学研究科・教授	微生物の複合培養、単離構造決定
脇本 敏幸	北海道大学大学院・薬学研究院・教授	単離構造決定、メタゲノム解析

2. 日本側研究チームの研究目標及び計画概要

放線菌属細菌の物質生産能力を向上させる細菌と、植物寄生放線菌を複合培養することで、新規化合物の生産を試みる。糸状菌ゲノムに存在するステロイド系抗生物質、メロテルペノイド化合物の生合成遺伝子の発現系の構築を試みる。それぞれの生合成遺伝子を麹菌ホストにて異種発現し、蓄積する中間体を構造決定することで、生合成経路の全容解明と中間体の取得を行う。また、得られた化合物の活性評価を行い、天然物をしのぐ抗菌活性を持つもの

が存在するか試験する。興味深い生合成酵素については in vitro 反応、結晶構造解析を行い、その活性と基質特異性を評価する。

3. 日本側研究チームの実施概要

植物-微生物相互作用を利用した新規物質生産に向けた基盤構築のために、ゲノムにコードされる酵素と酵素産物である二次代謝産物の生合成経路解析は非常に重要となる。

今年度から、ワークパッケージ3「微生物-微生物の複合培養を用いた新規物質生産」に取り組み、ミコール酸含有細菌と *Streptomyces* 属放線菌の共培養により二次代謝を広く活性化する「複合培養法」を用いて、希少放線菌 *Catenuloplanes* 属より新規ヘテロ環含有ペプチド catenulobactin 類を単離した。また、ポリエンマクロラクタム生産菌 *Actinosynnema mirum* に複合培養法を適用することによって、既知化合物 mirilactam A が複合培養の過程で酸化され、生じたエポキシドが反応して分子内環化した新規 mirilactam 化合物を取得した。本研究によって、生物間相互作用を利用した微生物の物質生産能力の覚醒のみならず、相互作用によって発現した生合成経路を利用した新規天然物骨格の創出手法を構築した。

前年度に引き続き、ワークパッケージ4「生合成の手法を用いた代謝経路の理解とその改変」研究に取り組んだ。その中で、ステロイド系抗生物質フシジン酸の生合成経路の解明及び異種発現系における物質生産、植物糸状菌由来イノシトールリン脂質キナーゼ (PI3K) の阻害活性を持つフラノステロイド類の生合成経路の解明を行い、それぞれ生合成経路の改変により、生物活性を持つ生合成中間体の取得に成功した。特に、フラノステロイド類生合成研究は、寄生糸状菌の遺伝子操作系の確立、Baeyer-Villiger フラビン酸化酵素を含むステロイド側鎖修飾経路の発見など新規性が高い結果が多数得られた。その成果は Nature 姉妹紙に掲載され、多数の機関によってプレスリリースが行われた。また、糸状菌由来αケトグルタル酸由来酸化酵素の構造解析と酵素構造を基盤としたエンジニアリングによる物質生産研究の研究基盤を元に、同じ酵素ファミリーに属する複数の酸化酵素の結晶化を行い、その機能解析を行った。そこで得られた構造機能情報を元に酵素に変異を加え、糸状菌異種発現系を用いた物質生産へ繋げるべく、研究を進めている。

全体を通して、生物相互作用を用いた微生物の物質生産ポテンシャルの向上、合成生物学的手法を用いた新規生物活性物質生産系の基盤構築が達成され、植物-微生物共生系における生物相互作用の探索、その二次代謝産物の発掘へと繋がる研究が順調に進展している。