

【目的】新しい天然物の発見は、天然物化学研究の醍醐味の一つであり、また、様々な分野の発展を促す可能性を持つ重要な研究課題である。また、天然物は、これまでに、数多くの医薬品開発に貢献してきた最も魅力的な医薬資源の一つである。近年、遺伝子解読技術の進展やそれともなう天然物生合成研究成果の蓄積により、微生物のゲノム上には、膨大な未開拓の天然物生合成に関わる遺伝子資源が存在することが明らかにされた。すなわち、遺伝子資源は、ポストゲノム時代における天然物の重要な探索資源であり、これらをいかに活用するかが、新規天然物探索の鍵となる。ペプチド天然物は、構造多様性に優れ、また、生物活性を示す化合物が多く存在する重要な天然物のグループである。また、ペプチド天然物の生合成に関わる非リボソーム型ペプチド合成酵素 (NRPS) 遺伝子は、糸状菌のゲノム上に豊富に存在し、また、そのほとんどがどのような天然物を生合成するか明らかにされていない、未開拓の資源である。そこで本研究では、ゲノムマイニングと異種発現を基盤とする合成生物学的手法により、糸状菌ゲノム情報を材料として、新規ペプチド天然物を発見することを目的として研究を行った。

【方法】独自に収集した糸状菌ゲノム情報ライブラリーに対して、NRPS 遺伝子と高還元型ポリケタイド合成酵素 (HR-PKS) 遺伝子の両方を有する生合成遺伝子クラスターをゲノムマイニングし、見出された生合成遺伝子クラスターをバイオインフォマティクス解析により、生合成される天然物の新規性を評価した。新規天然物をコードすると予想された遺伝子クラスターについて、モデル糸状菌である *Aspergillus oryzae* の異種発現系を用いて再構築することで、標的生合成遺伝子クラスターにコードされる天然物の単離と生合成経路の解明を行った。

【結果】NRPS 遺伝子と HR-PKS 遺伝子を指標にゲノムマイニングを行ったところ、*Chaetomium mollipilium* のゲノム上に、NRPS 遺伝子 (*cmlpD*) と HR-PKS 遺伝子 (*cmlpA*) に加え、AMP 結合ドメイン含有酵素遺伝子 (*cmlpB*) とアシル基転移酵素 (*cmlpC*) からなる、*cmlp* クラスターを見出した。バイオインフォマティクス解析の結果、*emericellamide* 類生合成遺伝子クラスターと相同性があり、*emericellamide* 類と類似の環状デブシペプチド天然物が生合成されることが予想された。さらに、類似のクラスターを探索し、それらに含まれる NRPS の A ドメインの数を比較した結果、A ドメインを 2 つ有する *CmlpD* と関連づけられる天然物が存在しないことから、新規天然物の生産が期待された。次に、*cmlp* クラスターを *A. oryzae* で再構築した結果、期待通り、アミノ酸 2 分子とポリケタイド鎖からなる新規環状デブシペプチド *chaetodepsipeptide A* が得られた。また、構造解析の結果、*chaetodepsipeptide A* は、天然物ではこれまで報告例のない、6/6 シクロール構造を有する *chaetodepsipeptide B* と平衡で存在していることを明らかとした。また、*chaetodepsipeptide* 類の生合成経路を明らかにし、アシル基転移酵素による新しい HR-PKS からのポリケタイド鎖の加水分解機構を発見し、NRPS の生合成に関与するドメインを特定した。

ゲノムマイニングに基づく新規デブシペプチドの発見

