
生合成研究のこれまでとこれから

東京工業大学大学院理工学研究科

江口 正

1. はじめに

植物や微生物由来のいわゆる天然物は、古来より医薬品などとして人類の生活向上に貢献してきた。様々な生物が生産する天然有機化合物は、多種多様な化学構造と比類無き生物活性を有し、人類の生存に必要な不可欠な医薬品や農薬等を提供するだけでなく、化学、生命、材料等の基礎科学を画期的に飛躍させる決定的な力を持ち、当然産業界に大きく波及してきた。それ故、天然物化学者は新規天然生理活性物質の発見に大いなるロマンを抱き、様々な方法でその探索を続けてきた。天然物の最大の魅力は、人智の及ばない構造を有すること、さらには強力かつ多様な生物活性を示すことである。

古来よりの伝統薬、生薬の由来である主に植物成分は言うまでも無く、フレミングがカビの一種から抗菌性物質ペニシリンを生産することを発見して以来、現在までに、抗菌活性、抗癌活性や各種生理活性を指標として、世界各国の学術機関、製薬企業などが新たな天然物の発見を植物や微生物代謝産物から精力的に行い、数 10 万を数える新規な天然物が見出されてきた。顕著な生理活性を持つ天然物そのものや、その誘導体などは、医薬品として供給されてきており、事実、Newman らの総説によると、1980 年から 2010 年までの新薬の由来は、天然物が約 26 % を占めている。その中でも抗がん剤に限ると天然物は約 44 % をも占めている (Newman, D. J. *et al.*, *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 311)。

天然物を生産する生物の中でも特に微生物は、医薬品となる化合物 (抗生物質、抗がん剤、抗

ウイルス剤、血中コレステロール低下剤など) の多くを微生物二次代謝産物として生産し、また、産業上重要な化合物、酵素などの天然資源の宝庫と言われている。天然物のリソースとして現在でも微生物代謝産物が最も有望なリソースの一つであるが、従来の培養抽出物をそのまま用いる方法では、スクリーニングの効率化の問題等から、現行のスクリーニングシステムには適合しにくくなってきている。また、微生物由来の天然物に関しては、これまで長きに亘り産業応用および基礎研究の両面から多くの研究が行われた結果、既に多くの天然化合物が見出されており、新規な骨格を持った化合物のさらなる発見は困難になってきている。

実際、約 20 年前から国内外の製薬企業が自然界に新たな物質を求めることを止め始め、合成化合物に新たな創薬の源を探索するようになった。果たして本当に天然物の多様性の限界、つまり、我々はすでに天然物のほとんどを知り尽くしてしまったのだろうか？

試しに、天然物・単離を検索ワードとして、1975 年から昨年までの論文数を SciFinder で検索すると、図 1 のような結果が得られた。新規な天然物が取れなくなったとの声を良く聞くが、予想外に、1990 年代に一時的な落ち込みが見られるものの、2005 年以降では明らかに論文数が飛躍的に伸びている。これは、精製法・機器分析の飛躍的な進歩により、これまでに構造決定が困難であった極微量しか得られない化合物の単離・構造決定が可能になってきたことが、おそらく一因であり、また、天然物の由来が植物・微生物に限らず、例えば海洋生物や難培養性微

生物などからの新規化合物の単離が増えてきたことにもよると思われる。さらに、後に述べる生合成研究の進歩によるところが大きいと思われる。

しかしながら、これまでの天然物の医薬分業での果たしてきた大きな役割にもかかわらず、先にも述べたように、その重要性は必ずしもこれまで通りでは無い。その主な理由として、1) 先にも述べたように単離・構造決定される化合物の多くが、既知物質や既知物質に酷似の類縁体ばかりで、新規な骨格をもつ天然物が得られにくくなっている。2) 化合物のスクリーニング、単離・構造決定を経て、創薬の源となるにはスクリーニングにおけるヒット件数が低すぎ、結果的に高コストとなる。3) 単離可能な化合物の量が制限される化合物が多く、二次スクリーニング以降の生物活性試験へのサンプル供給が困難となることが多い。4) 天然物の合成的な手法でのサンプル供給が、比較的複雑な構造の化合物が多いため、時間及びコストがかかる。5) そのため、誘導体合成などによる構造活性相関研究も困難である、などの理由が挙げられるであろう。

これらの理由により、内外の多くの製薬企業での医薬品開発は、天然由来の化合物からの創薬を見限って、合成化合物ライブラリー等からの低分子化合物を中心にハイスループットスクリーニング等の手法を駆使し、体力勝負による“発見”の概念の下で進められるようになっていった。

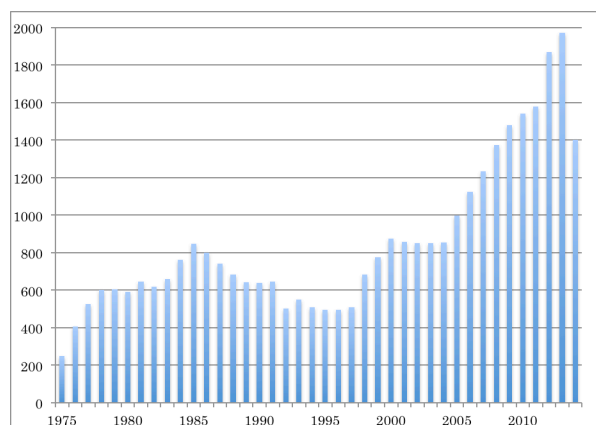


図1. 天然物単離の論文数の年代推移

2. 生合成研究のあゆみ

生合成研究は、天然物がもつ化合物の多様性、すなわち様々な化学構造を生み出す仕組みが自然の中で長い歴史をかけて如何に出来上がってきたのかを明らかにするという学術的な興味と、特に微生物二次代謝産物の場合、前駆体投与による収量の向上、誘導体の創製等の産業上の理由から行われてきた。

その始まりは、化合物の構造的な観点から、生合成経路の推定である。テルペノイドにおけるイソプレネン則 (Ružička, L., *J. Cell. Mol. Life Sci.*, **1953**, 9, 357) やケテンのポリマーとしてのポリケチド経路 (Collie, J. N., *J. Chem. Soc.*, **1907**, 91, 1806) の提唱であろう。その後、生合成中間体の単離や放射性あるいは安定同位体標識した前駆体投与による前駆体-天然物の関係解明などにより、生合成経路の推定が行われてきた。しかし、あくまで生合成経路の推定であり、実際に何が起きているのかは、ブラックボックスの中であり、まさしく隔靴搔痒の時代である。

そのような時代を経て、迎えたのは1970年代後半からのゲノム時代の生物学の幕開けである。分子生物学の勃興、そして組み換え DNA 技術の開発によって、天然物の生合成を遺伝子・酵素の働きとして理解できるようになってきた。この様な状況の下、1990年前後に古典的四大抗生物質といわれるペニシリン (Diez, B. et al., *J.*

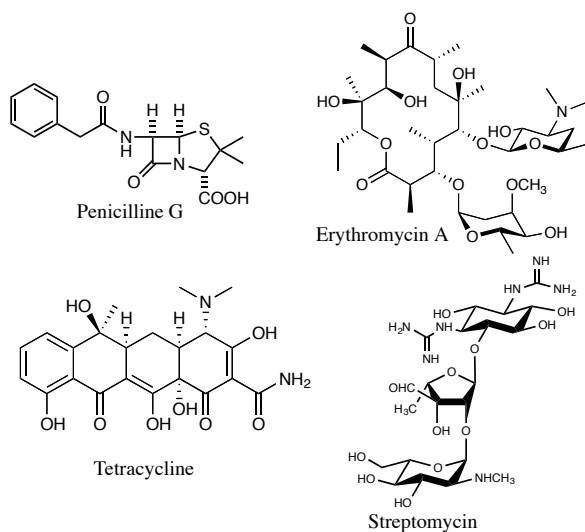


図2. 古典的抗生物質の構造

Biol. Chem., **1990**, *265*, 16358) 、エリスロマイシン (Cortes, J. *et al.*, *Nature*, **1990**, *348*, 176) 、テトラサイクリン (Binnie, C. *et al.*, *J. Bacteriol.* **1989**, *171*, 887) 、ストレプトマイシン (Distler, J. *et al.*, *Gene*, **1992**, *115*, 105) の生合成遺伝子クラスターが続々と明らかとされ、微生物二次代謝産物の生合成遺伝子がゲノム上に隣り合って配置されており、クラスターを形成していることが明らかとなった。これは、生合成遺伝子の1つをクローニングできれば、その隣へと遺伝子歩行を行えば、クラスター全体が読み取れることを意味しており、さらに後々の遺伝子工学による微生物二次代謝産物の人為的な変換にも有利なものとなった。これらの研究を通して、二次代謝産物の生合成遺伝子・酵素の機能解析が世界中で活発に推進されるようになり、生合成研究が飛躍的に進展することになった。

実際に天然物・生合成を検索ワードとして、1975年から昨年までの論文数を SciFinder で検索したのが、図3である。1990年代後半から、指数関数的に増えてきており、さらに、それらが遺伝子・酵素が基本となる研究であることが、図4 (天然物・遺伝子を検索ワードとして検索した年代別論文数) との相関から読み取れる。

3. 生合成研究の展望

これまでに医薬品の種となってきたのは、微生物二次代謝産物が多い。二次代謝産物とは生物自身が生産し、生育自体には直接関係しない各生物種固有の化合物である。実際に抗生物質ストレプトマイシンやエリスロマイシン、抗寄生虫薬エバーメクチン、抗ガン剤ダウノマイ

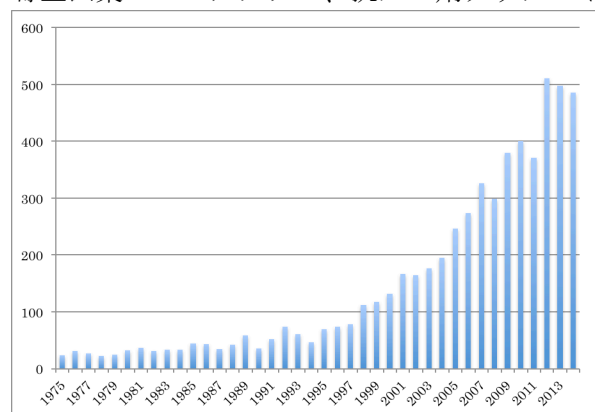


図3. 天然物の生合成に関する論文数の推移

シン、免疫抑制剤 FK506などの有用生理活性物質は微生物である放線菌によって生産されて実用化されてきたが、新規な骨格をもつ天然物が得られにくくなっていることから、微生物由来の生理活性物質からの医薬品開発は敬遠されるようになってきた。そのような最中に放線菌のゲノム解析が行われ、*Streptomyces coelicolor* A3 (2)のゲノム中には20個もの二次代謝産物生合成遺伝子群が見つかった (Bentley, S. D. *et al.*, *Nature*, **2002**, *417*, 141) 。エバーメクチン生産菌 *Streptomyces avermitilis* では32個 (Ikeda, H. *et al.*, *Nat. Biotechnol.*, **2003**, *21*, 526) 、ストレプトマイシン生産菌 *Streptomyces griseus* では34個の生合成遺伝子群が見つかり (Ohnishi, Y. *et al.*, *J. Bacteriol.*, **2008**, *190*, 4050) 、そのほとんどが眠った遺伝子であることが明らかにされた。

新規生理活性物質の発見が停滞している昨今、このような微生物ゲノムを生物資源として有効活用し、新規な二次代謝産物を様々な手段で発掘しようという試みが世界中で行われようになってきた。遺伝子工学を駆使して1) 生合成遺伝子群の異種発現、2) 抑制遺伝子の遺伝子破壊による生産性向上、3) アクティベーター遺伝子の強制発現、4) 既存の二次代謝産物骨格を生合成酵素による人為的な改変、5) 生合成酵素・遺伝子を適切に組み合わせることで、従来の骨格にとらわれない分子多様性を作り出すコンビナトリアル生合成等の新規代謝産物創製の可能性が世界中で盛んに試されている。これは、図3、4で示した生合成に関する論文数の飛躍的な増加からも読み取れる。

このような生合成研究の発展と相見互うよう

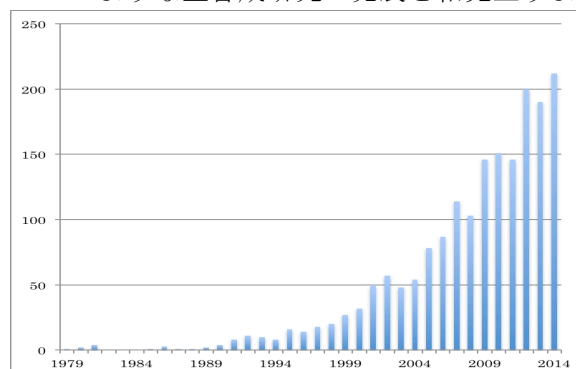


図4. 天然物の生合成遺伝子に関する論文数の推移

に医薬品開発の分野でも、合成化合物ライブラリー等にその源を頼るのではなく、もう一度天然物を見直す動きが出てきた (Cragg, G. M. *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, **2013**, 1830, 3670, Yadav, V. G., *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2014**, 53, 1859)。内外の多くの製薬企業や研究機関では、コンビナトリアルケミストリーによる化合物合成とそれらライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングが盛んに行われてきたが、必ずしも期待された成果は得られなかったからである。

これに対して生合成研究を基盤とした手法による微生物由来の天然物は、医薬品開発でのボトルネックを克服する可能性をもつ。もともと天然物は、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持っている。次世代シーケンサー等の進歩によりメタゲノムを含む微生物ゲノム情報が迅速に解読でき、ゲノム配列およびゲノミクススペースによる新規天然物生合成遺伝子クラスターの検出が容易となり、それをもとに先に述べた手法により、二次代謝産物ライブラリーの数も飛躍的に増加すると考えられ、微生物由来の天然物は基本的には発酵法によって生み出されることから、量の確保といった問題もクリアできると考えられるからである。

もちろん、克服すべき課題も多々ある。実際に物質生産に至るには、1) 代謝酵素の基質特異性の解明、2) 生産量の確保、3) 生物の転写／翻訳機構は生物種に依存するために天然物を生産する生物と近縁の宿主を用意する必要があり、発現ホストの選択あるいは新たな開発、4) 遺伝子発現を制御するプロモーター、レギュレーターを選択等々である。このような技術は、長い蓄積が有り成熟した有機合成に完全に置き換わるものではないが、有機化学、構造生物学、分子生物学、生化学など、広く生命科学分野の間での共同研究が今後ますます重要になるのであろう。この研究領域は、これからの発展がさらに期待できる分野であり、大きなポテンシャルを秘めていることは間違いない。生理活性物質の“ものづくり”という面では、今後の発展により重要な選択肢となるであろう。

4. おわりに

元々我が国は、発酵技術を基盤とした“もの

づくり”には強みを持っており、天然物化学分野にも長い歴史が有り、世界をリードしてきた。そのような背景のもとであるが故に、本研究分野が諸外国に後塵を拝することなく、益々発展し続けていってもらいたいと願う研究分野である。そのためには、この様な分野を専門としている者としては、いかにして若い世代に将来の発展が大いに期待できる本分野について興味をもってもらい、次世代の専門家・研究者として引き継いでいってもらえるかである。

著者の紹介

江口 正 (えぐち ただし)



東京工業大学教授
1980年横浜市立大学
文理学部卒業。1982
年東京工業大学修士
課程終了。同年大正
製薬総合研究所研究
員。1987年いわき明
星大学助手。1990年
東京工業大学助手、
1995年東京工業大学

助教授。2005年より現職。理学博士。

専門分野は、天然物有機化学、生物有機化学、生化学。本分野の大海の一滴を知ろうと牛歩の歩みながら、さまざまな視点から研究を進めている。趣味は、夜な夜なお酒を飲むこと。