

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～ 2019年度 年次報告書	
<b>研究課題名（和文）</b>	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
<b>研究課題名（英文）</b>	Exploitation of the cryptic secondary metabolites from plant microbiome through biological interaction
<b>日本側研究代表者氏名</b>	阿部 郁朗
<b>所属・役職</b>	東京大学 薬学系研究科・教授
<b>研究期間</b>	2017年12月 1日～ 2021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の複合培養によって、新規化合物生産を試みる。糸状菌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。また、特にその複雑骨格形成に関わる酸化酵素に注目し、結晶構造解析、機能改変による新規物質生産を行う。得られた化合物の活性評価を行い、天然物を凌ぐ抗菌活性を持つものが存在するか試験する。エリシター化合物を用いた休眠遺伝子覚醒による物質生産を行う。

### 3. 日本側研究チームの実施概要

今後、植物-微生物共生系、微生物叢の機能を制御する化合物を研究していく上で、生物相互作用を利用した新規物質生産、ゲノム情報から、そこにコードされる酵素、酵素産物である二次代謝産物を繋げる生合成研究、は非常に重要となる。

前年度から引き続き、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 *Micromonospora* 属よりポリエンマクロラクタム dracolatam 類を単離した。また、土壌細菌 *Nocardia beijingensis* より、新規抗酸化化合物を取得した。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や得られた生物活性化合物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、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、メロテルペノイド化合物 spiroaspertrione A, austlide の生合成研究に取り組み、糸状菌 *Aspergillus oryzae* 異種発現系の構築、in vitro assay などに取り組み、そのテルペン部の骨格変換に関わる新規生合成酵素を発掘することに成功した。特に、spiroaspertrione A の酸化に関わる  $\alpha$ -ketoglutarate 依存性酸化酵素 SptN, SptF の大規模な骨格変換反応は興味深く、その物質生産のための触媒ポテンシャルは非常に興味深く、現在結晶構造解析にて、その機能解明、非天然型化合物の生産へ繋げるべく、研究を進めている。

今年度より、パッケージ5 休眠遺伝子を活性化するエリシターの探索に取り組み、その中で、特に糸状菌、放線菌の相互作用、休眠遺伝子覚醒に関わる化合物に注目し、その表現系に影響を与える化合物として、既知化合物 beauvericin を見出し、これを放線菌培地に投与することで、物質生産の変化を検出すべく、現在検討を進めている。この化合物の金属キレート作用、抗生物質作用による細菌の休眠遺伝子活性化、新規化合物取得につながる事が期待される。

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。