

2S-Dp06 放線菌ゲノムに潜む生合成マシナリーの活用に向けて

○葛山 智久
(東大・生物工学セ)
utkuz@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

放線菌は多様な二次代謝産物を生産することが知られているが、放線菌のゲノムシーケンスが解読されるにつれて、放線菌が通常の培養で検出できる二次代謝産物の数よりもはるかに多くの二次代謝産物生合成遺伝子を持っていることが明らかになってきた。近年、入手可能な放線菌ゲノムの数はさらに増大しており、それらのゲノムシーケンスに見出される機能未知生合成遺伝子クラスターを解析することで、新たな天然有機化合物や有用な生合成マシナリーが発見できる。さらには、そのような生合成マシナリーを活用することで、有用な化合物の創製が期待できる。本発表では、*Streptomyces*属放線菌ゲノムから見出したプレニル基転移酵素の機能解析と、それらの寛容な基質特異性を活用したプレニル化合物の合成例について紹介する。

放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2) のゲノム配列から、プレニル基転移酵素遺伝子 SCO7467 を有する機能未知生合成遺伝子クラスターを見いだした。*S. coelicolor* A3(2) は 2002 年に全ゲノム解読が完了した株でありながら、これまでこの遺伝子クラスターがどのような化合物の生合成に関与するかは明らかにされていなかった。そこでまず、この遺伝子クラスターを別の放線菌 *Streptomyces lividans* TK23 で異種発現させたところ、新規化合物 5-ジメチルアリルインドールアセトニトリルを同定することができた。次に、SCO7467 の組換えタンパク質を用いた実験によって、SCO7467 が L-トリプトファンのプレニル化することで 5-ジメチルアリルトリプトファンを生成することを明らかにした。さらに、SCO7467 反応の基質として入手可能な様々なインドール化合物を用いたところ、SCO7467 は多くの基質に対してプレニル化活性を示し、また、基質によって様々な部位をプレニル化可能であった。興味深いことに、SCO7467 はインドールのみならず、一部のキノリンに対してもプレニル化活性を示し、プレニル化キノリンを合成することができた。

抗生物質ノボジオシン生合成に関与するプレニル基転移酵素 NovQ を用いて、フラボノイドやフェニルプロパノイド、ジヒドロキシナフタレンなどの芳香族化合物をプレニル基受容体としてプレニル化反応を試みたところ、NovQ はその多くをプレニル化可能であった。また、NovQ はフラボノイドの B 環の 3' 位の C-プレニル化や 4' 位の O-プレニル化を触媒した。さらには、p-クマル酸などのフェニルプロパノイド類もプレニル化可能であった。

放線菌由来の ABBA プレニル基転移酵素は、芳香族化合物に対して寛容な基質特異性を示すが、その活性にはフェノール性水酸基を必要とする。一方で、*Cycloclasticus* sp. 由来のフェナンスレンジオキシゲナーゼは様々な置換ナフタレン類に対して活性を示すため、この酵素による水酸基導入とそれに続く酸性条件での脱水反応によって、置換ナフタレン類にフェノール性水酸基を導入することが可能である。これらの水酸化ナフタレン類は放線菌由来 ABBA プレニル基転移酵素の基質となると期待し、フェナンスレンジオキシゲナーゼと放線菌由来 ABBA プレニル基転移酵素の反応を組み合わせることで、置換ナフタレン類のプレニル化誘導体合成を試みた。その結果、2-メチルナフタレン、1-メトキシナフタレン、1-エトキシナフタレンの 3 種の化合物を出発物質として、合計 10 種のプレニル化誘導体を合成することが可能であった。

2S-Ep01 培養の観点から、幹細胞応用の動向およびボトルネック

○宮本 義孝
(東工大・情報理工)
myoshi1230@gmail.com

幹細胞 (stem cell) は、多分化能と自己複製能を有しており、特に、分化能はいくつかの階層に分かれている。代表例として、受精卵がもつ分化全能性 (Totipotency) に近い分化万能性 (Pluripotency) を有する胚性幹細胞 (ES 細胞) や人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) があり、生体内の各組織に存在し、部分的ではあるが 2 種類以上の細胞に分化できる能力、すなわち分化多能性 (Multipotency) を有する組織幹細胞 (骨髄に由来する間葉系幹細胞など) が知られている。細胞ソースであるこれらの幹細胞は多数存在し、幹細胞そのものの、あるいは幹細胞から分化誘導させた細胞 (肝細胞や神経細胞など) を利用するなど目的は様々であり、移植・再生医療分野から創薬分野への広範囲の応用が期待されている。現在では、公的機関である細胞バンクや企業から製品購入を通じて、様々な細胞を比較的簡単に入手することができる。さらに、異なる分野間の横断的研究や境界領域の研究も拡がりが増し、さらなる細胞培養技術の標準化と理解が必要とされている。

我が国の科学技術基本計画の中でライフイノベーションを推進するなか、疾患の治療や再生医療分野において、iPS 細胞、ES 細胞、体性幹細胞等の体内及び体外での培養技術の開発が急務となっている。特に、培養の観点から、細胞増殖・分化技術、培養技術の標準化、安全性評価技術などが挙げられ、安全で有効性の高い治療の実現を目指している。また、2013 年 4 月 26 日の参議院本会議にて、再生医療推進法が、全会一致で可決・成立した。同法案に伴い、再生医療の実用化を目指した iPS 細胞を始めとする幹細胞研究開発の加速・推進が期待されている。

そこで、本シンポジウムでは、「実用化に資する動物細胞培養技術～幹細胞の応用とボトルネックの解決に向けて～」について、「産」「学」「官」でご活躍されている演者の方にご講演いただく。はじめに、国立医薬品食品衛生研究所の諫田泰成先生には、注目分野の一つである、癌の基となりうる癌幹細胞を利用した創薬の可能性について、DS ファーマバイオメディカル株式会社の上田忠佳先生には、細胞を用いた毒性評価とその事例について、株式会社リプロセルの横山周史先生には、新しい細胞ソースであるヒト iPS 細胞を利用した創薬応用とその可能性について、最後に、大阪大学の秋山佳丈先生には、次世代の細胞培養技術、非標識かつ非接触の三次元構築新技術についてご講演いただく。また、パネルディスカッションを通じて、細胞培養技術の現在、過去、そして未来への期待をこめて、生物工学が担うべき当該分野を改革する次世代研究の方向性を議論する。そして、本シンポジウムが幹細胞の産業化を促進および支援することができればと切に願う。

Toward application of unexploited biosynthetic machinery in actinomycetes genome

○Tomohisa Kuzuyama
(Biotech. Res. Ctr., Univ. Tokyo)

Recent trends and issues in stem cell applications: From a viewpoint of cell culture

○Yoshitaka Miyamoto
(Grad. Sch. Info. Sci. Eng., Tokyo Tech)

Key words *Streptomyces* sp., biosynthesis, prenyl transferase

Key words stem cell, cell culture, regenerative medicine