

日本医療研究開発機構 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業  
事後評価報告書



I 基本情報

補助事業課題名：（日本語）創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業  
（プログラム名）（英語）Platform Project for Supporting Drug Discovery and Life Science Research

実施期間：平成29年4月1日～令和4年3月31日

補助事業担当者 氏名：（日本語）岩月 正人  
（英語）Masato Iwatsuki

補助事業担当者 所属機関・部署・役職：  
（日本語）学校法人北里研究所 北里大学 大村智記念研究所 准教授  
（英語）The Kitasato Institute, Kitasato University, Ōmura Satoshi Memorial Institute  
Associate Professor

## II 補助事業の概要

### (1) 支援

期間全体を通じて支援課題（学内 8 件、学外 21 件、企業 1 件）について支援を行い 21 件でヒット化合物が得られた。更に 6 件が *in vivo* 試験中、5 件について最適化もしくはプローブ作製を実施した。

#### (1-1) 「支援①創薬研究ネットワーク構築」

創薬研究ネットワークの構築を目的に 9 件の広報活動（口頭もしくはポスター）を行った（学内 3 件、展示会 3 件、学会シンポジウム 1 件、AMED 関連シンポジウム 2 件）。

#### (1-2-1) 「支援②-1 ライブラリー化合物の供給」

支援課題（学内 8 件、学外 21 件、企業 1 件）について支援を行い 21 件でヒット化合物が得られた。更に 6 件が *in vivo* 試験まで進んでいる。

#### (1-2-2, 3) 「支援②-2 微生物培養液の供給」

2020 年度から新たに開始した支援。微生物培養液を提供することで「化合物ライブラリーに含まれないシード化合物を最終年度までに 2 種類以上を発酵・精製・構造決定する」ことを目的とする。これまでに支援 2 件を実施して各支援でヒットを見いだした。

#### (1-3) 「支援③シード化合物の大量供給」

*In vivo* 活性評価（治療実験もしくは安全性評価）のために支援 6 件のシード化合物を発酵もしくは有機合成により調製し 2-100 mg のスケールで大量供給した。

#### (1-4) 「支援④有機合成法による最適化」

上述の支援 5 件のシード化合物の最適化もしくはプローブとして誘導体 140 化合物を新たに合成した。

### (2) 高度化

#### (2-1) 「高度化① 大村天然化合物ライブラリーの基盤構築と拡充」

##### <基礎固め>

2017 年度は大村天然化合物についての各種情報（通称イエローブックに記載されている生産菌、構造式、物性、活性、全合成、生合成など）を閲覧できる HP ([https://www.kitasato-u.ac.jp/lisci/Splendid\\_Page/](https://www.kitasato-u.ac.jp/lisci/Splendid_Page/)) を公開した。更に BINDS 専用の HP (<http://seibutuyuuki.sakura.ne.jp/binds/index.html>) を開設し大村天然化合物についての上記の HP と連携させた。

また以下 2 つの登録・管理システム（FileMaker で作成）の基盤を構築し随時更新を進めている。

- ・大村天然化合物ライブラリー（天然物）、無（in house）、URL なし
- ・大村天然化合物ライブラリー（天然物誘導体）、無（in house）、URL なし

更に「支援②ライブラリー化合物の供給」のために全ての DMSO 溶液を随時新しく調製し直してきた。

##### <発酵による大村天然化合物ライブラリーの拡充>

新たに微生物（放線菌、糸状菌）培養液から積極的に既知および新規化合物の単離・構造決定を 5 年間継続することで新たに 332 化合物を大村天然化合物ライブラリーに追加した。その中には保有量が少なく提供が困難であった大村天然化合物 143 化合物および新規 29 化合物も含まれる。

#### <合成による大村天然化合物ライブラリーの拡充>

合成化合物については天然物を原料とした半合成および全合成により新規な天然化合物誘導体の調製を継続することで >400 化合物を調製した。またトリパノソーマ原虫に対する選択的な抗原虫活性を示す大村天然化合物「Actinoallolide A」、嫌気性菌に対する選択的な抗菌活性を示す大村天然化合物「Luminamicin」およびマラリア原虫に対する選択的な抗原虫活性を示す大村天然化合物「Diatretol」を標的として「全合成」による大量供給のための方法論の構築を達成した。

#### (2-2)「高度化② シード化合物の大量供給のための方法論の開発」

微量で有用な天然物をターゲットにその安定供給法の確立を進めた。

##### <「発酵法」による大量供給のための方法論（糸状菌）>

糸状菌はペニシリンを始め多くの有用化合物を輩出してきた実績がある。しかし青カビや麹カビの仲間はゲノム解析により 80 以上の二次代謝産物の生合成遺伝子を保有することが明らかにされているが実際に報告のある化合物数は 1 種から 5~10 程度に留まる。このため休眠している生合成遺伝子を発現可能で汎用性の高い添加剤の探索を行った。先行研究で報告されているエピジェネティック制御剤と比較して、より汎用性の高い新たな添加剤として「化合物 A」および「化合物 B」を見出した。実際にモデル菌株として糸状菌 *Cladosporium* sp. FKI-8232 株および接合菌 *Myconymphaea yatsukahoi* FKZ-0004 株について検討を行った結果、各菌株培養時に「化合物 A」添加することで生産される新規化合物の取得にも成功した。更に添加剤の選択肢を増やすため大村天然化合物を用いたスクリーニングを実施することで「化合物 C」を見出した。実際に有用性を確認するために「化合物 C」添加条件での糸状菌培養物から新規ポリケチド化合物を発見することにも成功した。

##### <「発酵法」による大量供給のための方法論（放線菌）>

放線菌のゲノムには菌株によっては 30 以上の二次代謝産物の生合成遺伝子クラスターが存在することが明らかとなっているが、殆どが休眠状態にある。これら未利用な生合成遺伝子クラスターの活性化を行うことで放線菌についても生産性の向上を行なった。

##### (a)「異種発現」および「親株の遺伝子発現もしくは欠損」

放線菌では (1) *Acrocarpospora* sp. K10-0603 株の異種発現による新規化合物探索、(2) *Streptomyces* sp. AM-1042 株および AM-3603 株の転写制御因子を利用した新規物質探索および生産性の向上、を行い新規化合物の発見に成功している。また (3) 放線菌の二次代謝産物の生産に関与する 30 種以上の因子 (Ser/Thr キナーゼ、ppGpp など) の発現により目的化合物の生産性を 10 倍向上させることに成功した。

##### (b) 目的化合物の生産性向上スクリーニング用培地セット

放線菌は培地組成によってダイナミックに化合物の生産性が変動する。そこで「目的化合物の生産性の向上を小スケールでスクリーニング出来るよう培地セット (培地 26 種)」を構築した。実際にモデル菌 10 株では元の培地より最大 30 倍以上の生産性向上が確認された。創薬シード化合物が発見済みの支援 4 件で適用に成功。

##### <「合成法」による大量供給のための方法論>

高度化①にも記載したようにトリパノソーマ原虫に対する選択的な抗原虫活性を示す大村天然化合物「Actinoallolide A」、嫌気性菌に対する選択的な抗菌活性を示す大村天然化合物「Luminamicin」およびマラリア原虫に対する選択的な抗原虫活性を示す大村天然化合物「Diatretol」を標的として「全合成」による大量供給のための方法論の構築を達成した。

## (1) Support

Nine publicity activities (oral or poster) were conducted to build a drug discovery research network (3 on-campus, 3 exhibitions, 1 academic symposium, and 2 AMED symposiums).

During the entire period, “support” was provided for 8 intramural, 21 extramural, and 1 corporate projects, and hit compounds were obtained in 21 projects. In addition, 6 cases were under *in vivo* testing, and in 5 cases, optimization or probe fabrication was conducted.

The supply of microorganism culture broths started in FY2020. Two support projects have been conducted and hits were found in each project.

Seed compounds for 6 projects were prepared by fermentation or organic synthesis for *in vivo* activity evaluation (therapeutic experiment or safety evaluation) and supplied in large quantities on the scale of 2-100 mg. We also optimized the above 5 seed compounds or newly synthesized 140 compounds as derivatives or probes.

## (2) Advancement

We opened the HP page ([https://www.kitasato-u.ac.jp/lisci/Splendid\\_Page/](https://www.kitasato-u.ac.jp/lisci/Splendid_Page/)) where various information on Ōmura Natural Compounds (producer, structure, properties, activity, total synthesis, biosynthesis, etc. listed in the commonly known “Yellow Book”) can be viewed. In addition, a dedicated BINDS website (<http://seibutuyuuki.sakura.ne.jp/binds/index.html>) was opened and linked to the above website for Ōmura Natural Compounds.

We have added 332 compounds to the “Ōmura Natural Compounds Library” over the past 5 years by actively isolating and determining the structures of known and new compounds from microbial (actinomycetes and filamentous fungi) culture broth. The “Ōmura Natural Compounds Library” includes 143 compounds and 29 new compounds that had been difficult to provide because of their low abundance.

We have prepared >400 synthetic compounds by semi-synthesis and total synthesis of derivatives using natural products. In total synthesis, we targeted the Ōmura natural compounds, actinoallolide A, luminamicin and diatretol.

We established a method for the stable supply of useful natural products in small quantities. In filamentous fungi, we found “compound A” and “compound B” as new additives with higher versatility. We have also obtained new compounds produced by adding “compound A” to the culture of filamentous fungus *Cladosporium* sp. strain FKI-8232 and zygomycete *Myconymphaea yatsukahoi* strain FKZ-0004 as model strains. In addition, we found “compound C” by screening using Ōmura natural compounds to increase the options of additives. To confirm the usefulness of “compound C,” we discovered a new polyketide compound from filamentous fungi culture under the condition of “compound C” addition.

In actinomycetes, we have discovered new compounds by (1) heterologous expression of *Acrocarpospora* sp. strain K10-0603 and (2) discovery of new substances and improvement of productivity by using transcriptional regulators of *Streptomyces* sp. strains AM-1042 and AM-3603.

The productivity of actinomycetes dynamically fluctuates depending on the culture medium composition. Therefore, we constructed a set of culture media (26 types of culture media) for screening the improvement of productivity of target compounds on a small scale. In fact, 10 strains of model bacteria showed up to 30-fold or more improvement in productivity compared to the original culture media. We successfully applied in 4 cases of support where drug discovery seed compounds have already

been discovered.

As described above, we achieved total synthesis of three Ōmura natural compounds, "actinoallolide A," which shows selective antiprotozoal activity against trypanosomes, "luminamicin," which shows selective antimicrobial activity against anaerobic bacteria, and "diatretol," which has selective antiprotozoal activity against *Plasmodium falciparum*.