

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15408

研究課題名(和文) 複雑な炭素骨格をもつ海洋産テルペノイドの生合成研究

研究課題名(英文) Biosynthetic study on marine terpenoids from soft corals

研究代表者

森田 真布 (Morita, Maho)

名古屋大学・理学研究科・助教

研究者番号：30865184

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではソフトコーラルがもつジテルペン化合物の生合成研究を行った。トランスクリプトームおよび全メタゲノム解析を用いて、微小管阻害剤として知られるサルコジクチンAの遺伝子探索を実施し、本化合物の生合成に関わると予想される推定遺伝子群を取得した。また、化学分析とイメージング質量分析、発現変動遺伝子についても解析を行い、膨大な候補遺伝子データから候補配列の絞り込みを行った。今後、本研究で得られた候補配列について、生化学実験による機能解析を進める予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ソフトコーラルからは、複雑な骨格と強い生物活性をもつテルペン化合物が数多く発見されており、抗腫瘍物質エレウテロピンや抗炎症活性物質シュードプテロシンなど新規医薬品リード化合物として期待されている物質もある。しかし、テルペン化合物の構造多様性がどのように創出され、ソフトコーラルの生態・進化にどのように関与しているのかは分かっていない。生物活性なソフトコーラル由来テルペンの生合成機構を明らかにすることは、海洋生態系の構成生物について化学生態学的知見を得ることに加え、合成生物学による有用物質の供給・創出に基礎研究の立場から寄与できると考えている。

研究成果の概要(英文)：Soft corals are known to contain biologically active and structurally diverse terpenoids. Although many terpenoids were isolated from soft corals, no genomic or biochemical studies have yet been published. Sarcodictyin A and its analogs are among the most potent cytotoxic compounds isolated from soft corals in disparate regions of the world. To understand the biosynthesis of sarcodictyins, this study investigated candidate genes that may be involved in the biosynthetic pathway of this marine terpenoid. Integrated analysis using transcriptomics, metagenomics, and imaging-mass spectrometry enabled us to identify candidate genes that include a terpene cyclase, cytochrome P450s, methyltransferases, and a histidine ammonialyase. To elucidate the biochemical functions of these genes are currently undergoing.

研究分野：天然物化学

キーワード：海洋天然物 ソフトコーラル テルペノイド 生合成

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

ウミトサカ目の八放サンゴ（ソフトコーラル）からは、多様な炭素骨格のテルペン化合物が数多く発見されている。イシサンゴ目に代表される造礁サンゴとは異なり、ソフトコーラルは炭酸カルシウムの強固な骨格を持たず、代わりに柔らかい共肉の中に微細な骨片を持つ。テルペン類の含有はウミトサカ目以外の刺胞動物では稀であり、化合物の構造多様性がどのように創出され、ソフトコーラルの生態・進化にどのように関与しているのか興味を持たれる。物理的な防御がないソフトコーラルにとって、多量に含まれるテルペン類は化学防御物質として働く可能性が示唆されるものの、実際の生産機構や機能については未解明である。一方、ソフトコーラルがもつテルペンの中には、抗炎症物質シュードプロロシンや微小管阻害剤エレウテロビンなど顕著な生物活性物質を持つものも多い。生合成機構の解明は有用物質の生産に寄与する生合成酵素の同定につながることを期待され、ソフトコーラル由来テルペンの生合成機構を理解することは、化学生態学的にも合成生物学的にも重要な課題である。

先行研究では、ソフトコーラルから分離・培養した共生性渦鞭毛藻が抗炎症物質シュードプロロシンを生産することが報告された。しかし、生合成に関与する遺伝子・酵素は同定されていないこと、テルペン化合物をもつソフトコーラルの中には共生藻を持たない種も多いことから、本研究では「ソフトコーラル由来テルペンは宿主動物であるサンゴが生産している」との仮説に基づいて研究を実施した。

2. 研究の目的

本研究では、微小管阻害剤サルコジクチン A を含有するソフトコーラルを用いて、ゲラニルゲラニルニリン酸からテルペン骨格が構築される反応を中心に生合成機構の解明を目指す。具体的には、1) サンゴ体内における化合物分布、2) トランスクリプトーム解析と候補遺伝子群の探索、3) 候補遺伝子の生化学的機能について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

高速液体クロマトグラフィーとイメージング質量分析法を用いて、ソフトコーラルにおけるテルペン化合物局在を調べる。実験には沖縄県に生息する *Sphaerasclera* 属のソフトコーラルを用いる。サンゴ組織をポリプ・外皮・茎内部に分離した後、各部位における湿重量あたりの化合物濃度を高速液体クロマトグラフィーにより比較する。サルコジクチン A の分布をより詳細に検証するため、クライオ条件下でソフトコーラルの茎断面を飛行時間型二次イオン質量分析法（TOF-SIMS）で分析する。

Sphaerasclera 属のソフトコーラルで発現している遺伝子群を mRNA-Seq 解析により調べる。相同性探索により、テルペン環化酵素やシトクロム P450 酸化還元酵素などサルコジクチン類の生合成に関わっていると予想される酵素の遺伝子群を探索する。特に、サルコジクチン含有量が異なる複数のサンゴ組織に注目してトランスクリプトーム解析を行い、生合成酵素を含む発現遺伝子の変動を調べる。

4. 研究成果

高速液体クロマトグラフィーによる化学分析から、*Sphaerasclera* 属のソフトコーラルでは、本化合物は個体においてポリプ部よりも共肉中により高い濃度で存在することが分かった。この傾向はイメージング質量分析による局在観察においても同様であり、ポリプに加えて共肉中の

胃水管系（刺胞動物において消化循環系を担う）からもサルコジクチン A は検出されず、本化合物を体内に蓄積していることが分かった。

化合物の局在解析に基づいて、トランスクリプトーム解析を行った。ソフトコーラルの同一個体からポリプ部と茎内部の共肉を分離し、それぞれについて mRNA-Seq 解析を実施した。取得した配列断片を de novo アセンブルし、ソフトコーラルのポリプ部分と共肉部分それぞれにおける全発現遺伝子について機能予測と遺伝子オントロジーのエンリッチメント解析を行ったところ、共肉部ではポリプ部に比べ、二次代謝に関わる遺伝子群の発現レベルが高いことが分かった。また、得られたトランスクリプトームについて相同性探索を行った結果、*Sphaerasclera* 属の転写物にはテルペン環化酵素やシトクロム P450 酵素の推定遺伝子を含む、各種生合成候補遺伝子が含まれていることが明らかになった。特に、相同性検索で見出されたテルペン環化酵素候補遺伝子は、サルコジクチン濃度が高い共肉部では、ポリプ部に比べ約 6 倍以上発現レベルが高いことも明らかになった。今後、これら候補遺伝子の生化学的機能を検証する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------