

## pH 調整による微生物二次代謝産物の作り分けに成功

～新規抗がん剤開発研究の発展に期待～

### ポイント

- ・独自の液体培養法を開発し、微生物によるフラノステロイド群の安定かつ作り分け生産に成功。
- ・本開発技術は高濃度で  $^{13}\text{C}$  ラベル化されたフラノステロイド群の獲得も可能。
- ・新規抗がん剤開発研究の発展、フラノステロイド群の合成経路解明に期待。

### 概要

北海道大学大学院農学研究院の橋本 誠教授、村井勇太准教授らの研究グループは、pH を調整した液体培地上で糸状菌 *Trichoderma virens* を生育させることで、フラノステロイド\*<sup>1</sup> 群の安定、かつ、それらの作り分けを可能とする技術を開発しました。

糸状菌の二次代謝産物\*<sup>2</sup> であるビリジン、ビリジオールは希少フラノステロイドであり、がんの発生や転移促進に関わるホスファチジルイノシトールリン脂質キナーゼ\*<sup>3</sup> を強く阻害 (50%阻害濃度～5nM) することが知られており、創薬のターゲットになっています。しかし、微生物のほとんどはその生育に二次代謝産物を必要としないため、単独培養で安定的に得ることが困難です。また、それら全合成が報告されていますが、高度な有機合成技術や、時間、費用が必要となります。

本研究では、pH を調整した液体培地上で *Trichoderma virens* を振とう培養させるのみで、ビリジン、ビリジオールの選択的な生産方法を確立しました。pH3 の培養条件ではビリジンを約 50 mg/L、pH2 の培養条件ではビリジオールを約 60 mg/L で得ることに成功しました。また、 $\beta$ -ビリジンはビリジンの立体異性体であり、その絶対配置\*<sup>4</sup> はこれまで明らかにされていませんでした。今回、安定的なビリジン供給技術を確立したことで、ビリジンから $\beta$ -ビリジンへの不可逆的な変換方法を確立し、再結晶化にも成功しました。その結果、 $\beta$ -ビリジンを X 線結晶解析\*<sup>5</sup>、及び振動円二色性スペクトル\*<sup>6</sup> 解析することにより、その絶対配置を明らかにしました。

さらに本技術は、培地成分を汎用されるポテトデキストロースブロス (PDB) からポテトインフュージョン、栄養源に安定同位体  $^{13}\text{C}$ \*<sup>7</sup> 置換されたグルコースを用いることで高濃度の  $^{13}\text{C}$  ラベル化されたビリジン、ビリジオールの獲得にも成功しました。

これらの研究成果は、今後の新規抗がん剤開発研究にとって有益な情報を提供するとともに、未だ完全な生合成経路が分かっていないフラノステロイド群の合成経路解明に役立つと期待されます。

なお、本研究成果は、2025 年 1 月 24 日 (金) 公開の Scientific Reports 誌にオンライン掲載されました。

## 【背景】

糸状菌の二次代謝産物であるビリジンやビリジオールは希少フラノステロイドであり、がんの発生や転移促進に関わるホスファチジルイノシトールリン脂質キナーゼを強く阻害(50%阻害濃度 ~5nM)することから、フラノステロイド群の構造活性相関<sup>\*8</sup>研究は創薬の重要な情報源として期待されています。ビリジンやビリジオールの獲得方法は微生物による生産が第一候補となりますが、微生物のそのほとんどは生育に二次代謝産物を必要としないため、単独培養で得ることは困難でした。また、全合成による獲得には高度な有機合成技術や、時間、費用が必要となるため、効率的なビリジン、ビリジオール生産方法の確立が求められていました。

## 【研究手法】

本実験では、汎用されるポテトデキストロースブロス (PDB) 液体培地を 1 M 硫酸にて、pH1~5 の段階ごとに設定し、当研究室で発見した 1 菌株と入手可能な 8 菌株を合わせた合計 9 菌株の *Trichoderma virens* を用いて、25°C、100 rpm で振とう培養を 7 日間実施しました。その結果、pH 3 で培養を実施した場合にはビリジンを、pH2 で培養を実施した場合にはビリジオールを主生成物として生産させることに成功しました (図 1)。

## 【研究成果】

ビリジンにおいては最大約 50 mg/L、ビリジオールにおいては最大約 60 mg/L で生産可能な *Trichoderma virens* 菌株を発見しました。また、ビリジンの立体異性体である  $\beta$ -ビリジン (絶対配置はこれまで明らかにされていない) への不可逆的な変換方法を確立し、その絶対配置を X 線結晶解析、及び振動円二色性スペクトルにより初めて同定することができました。さらに、培地成分を PDB からポテトインフュージョン、栄養源に安定同位体 <sup>13</sup>C で置換されたグルコースを用いることで、高濃度の <sup>13</sup>C ラベル化されたビリジン、ビリジオールの獲得にも成功しました。

## 【今後への期待】

ビリジン、ビリジオールの安定供給は、構造活性相関研究に応用が期待できます。本研究の成果は、新規抗がん剤開発や未だ完全な生合成経路が解明されていないフラノステロイド群の合成経路解明に貢献可能と期待されます。

## 【謝辞】

本研究は、JST 次世代研究者挑戦的研究プログラム JPMJSP2119 の支援 (章 文)、及び日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費補助金基盤研究 (C) JP24K08626 (領域代表者：村井勇太) による支援を受けて行われました。

## 論文情報

論文名 Scalable preparation of furanosteroidal viridin,  $\beta$ -viridin and viridiol from *Trichoderma Virens* (*Trichoderma Virens* によるフラノステロイド性ビリジン、 $\beta$ -ビリジンおよびビリジオールのスケラブル調製)

著者名 章 文<sup>1</sup>、須波 和<sup>1</sup>、劉 碩<sup>1</sup>、Desita Triana<sup>1</sup>、Zetryana Puteri Tachrim<sup>1,2</sup>、菊地陸斗<sup>3</sup>、谷口 透<sup>4</sup>、門出健次<sup>4</sup>、高原綱吉<sup>5</sup>、周 大揚<sup>5</sup>、鈴木健之<sup>5</sup>、橋床泰之<sup>6</sup>、橋本 誠<sup>6,\*</sup>、村井勇太<sup>6,\*</sup> (<sup>1</sup>北海道大学大学院農学院、<sup>2</sup>National Research and Innovation Agency、<sup>3</sup>北海道大学大学院生命科学院、<sup>4</sup>北海道大学大学院先端生命科学研究院、<sup>5</sup>大阪大学産業科学研究所、<sup>6</sup>北海道大学大学院農学研究院、\*責任著者)

雑誌名 Scientific Reports (自然科学の専門誌)

D O I 10.1038/s41598-025-87070-z

公表日 2025 年 1 月 24 日 (金) (オンライン公開)

## お問い合わせ先

北海道大学大学院農学研究院 教授 橋本 誠 (はしもとまこと)  
T E L & F A X 011-706-3849 メール hasimoto@agr.hokudai.ac.jp  
北海道大学大学院農学研究院 准教授 村井勇太 (むらいゆうた)  
T E L 011-706-4084 メール ymurai@agr.hokudai.ac.jp  
U R L <https://molecochem.wixsite.com/website-3>

## 配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)  
T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

## 【参考図】

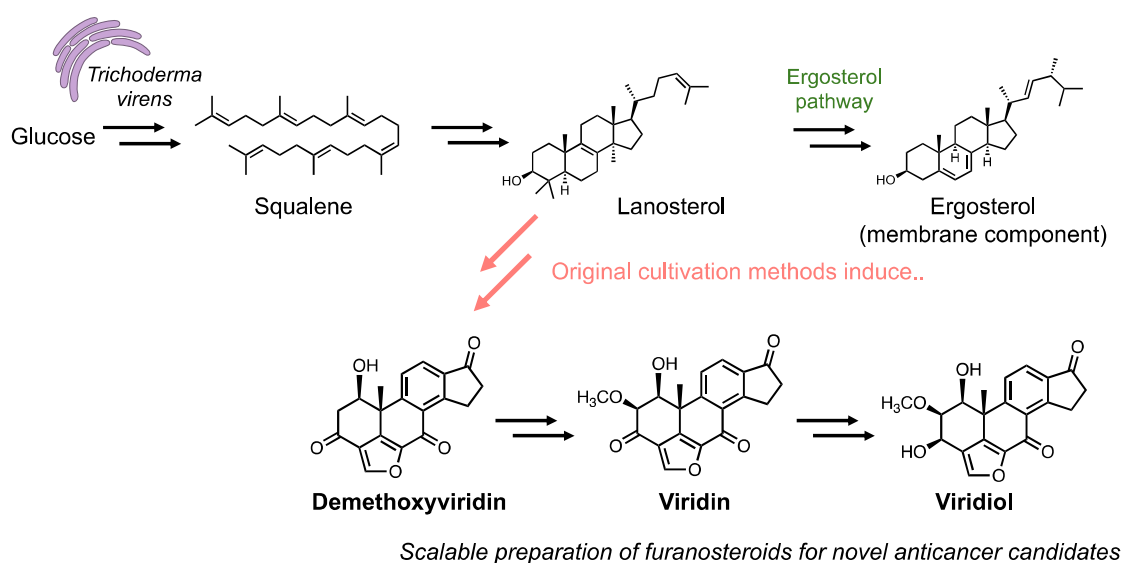


図 1. *Trichoderma virens* 菌株によるフラノステロイド群の生合成経路概略図

## 【用語解説】

- \*1 フラノステロイド … 一般的なステロイド骨格にフラン環を加えた化合物群のこと。生物活性の高いフラノステロイド群が多く存在するため、創薬の対象となっている。
- \*2 二次代謝産物 … 生物によって生合成されるが、成長、発生、生殖には直接的には関与していない有機化合物。
- \*3 ホスファチジルイノシトールリン脂質キナーゼ … 腫瘍の血管新生やがん関連炎症などの腫瘍促進プロセスに関与する酵素。
- \*4 絶対配置 … 化合物の原子の立体配置の一種。
- \*5 X線結晶解析 … 化合物の結晶へ入射したX線の回折する性質を用いて、化合物の分子構造を決定する解析手法。
- \*6 振動円二色性スペクトル … 赤外領域を利用した円二色性スペクトル。
- \*7 安定同位体 … 放射能をもたない、中性子数が異なる同一原子。
- \*8 構造活性相関 … 化合物の構造と生物活性との間に成り立つ評価を示したもの。多数の類似構造化合物とそれらの生物活性評価を積み重ねることで、より活性の高い構造最適化研究や、活性を維持した化学ツールの設計に役立つ。