

Title	ゲノムマイニングを活用した新規天然化合物の効率的な探索
Sub Title	Efficient discovery of novel natural products using genome mining
Author	植草, 義徳(Uekusa, Yoshinori)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2022
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>本研究では、ゲノムマイニングとノンターゲットLC-MS/MS分析に基づいたGNPS (分子ネットワーク) 解析, さらにAI支援によるNMRスペクトル解析を駆使することで、海洋性シアノバクテリアの一種であるMoorea producens PAL (以下, PAL) から新規化合物を効率的に単離し、それら平面構造を決定した。まず、PALの全ゲノムを用いてantiSMASH解析を行って得られた42種の生合成遺伝子クラスター (BGC) のうち、既に判明している既知化合物 (palmyramide Aおよびcuracin D) の生合成を担うと予想されているBGCを除いた残りについて、生合成するであろう二次代謝産物の化学構造を推測した。次に、PALが産生する新規化合物を発見するため、PAL抽出物をノンターゲットLC-MS/MS分析に供し、取得したデータをGNPS解析することで分子ネットワークを構築した。その結果、ディレプリケーション (既知化合物の排除) によって既知化合物を含むクラスターと未知化合物のみで構成されるクラスターを明確に区別することができた。このことから、本手法は新規天然化合物の探索研究を効率化する非常に強力な分析基盤であることが実証された。続いて、分子ネットワーク上で未知化合物のみで構成されるクラスターに属する化合物を単離し、MS/MSスペクトル解析とAI支援によるNMRスペクトル解析 (SMART) を利用しながら平面構造を決定した。Honuaiakeamide類と命名した4種の化合物は、同一の環状構造を有しており、それぞれアセチル基の数のみが異なる類縁体であった。また前述した42種のBGCから、これらhonuaiakeamide類の生合成を担うBGCを特定することに成功した。構築した分子ネットワークと予測されたBGCの数は、他にもPAL抽出物中に複数の新規化合物が存在していることを示唆しており、これら化合物の単離・構造決定を引き続き行っている。</p> <p>以上の研究成果は、既に2つの学術集会にて発表済である。</p> <p>In this study, we investigated novel compounds efficiently isolated from marine cyanobacteria Moorea producens PAL and their planar structures were determined, by using genome mining, GNPS analysis (molecular networking) based on non-targeted LC-MS/MS analyses, and an AI-assisted structure prediction technique.</p> <p>First, the chemical structures of 42 biosynthetic gene clusters (BGCs) obtained by antiSMASH analysis of the entire PAL genome were inferred for the secondary metabolites that these BGCs would biosynthesize, excepting the BGCs that are predicted to be responsible for the biosynthesis of known compounds (palmyramide A and curacin D). Next, to discover novel compounds produced by PAL, the extract was subjected to non-targeted LC-MS/MS analysis, and the acquired data were analyzed by GNPS to construct a molecular networking. As the results, we were able to clearly distinguish clusters containing known compounds from those consisting only of unknown compounds by dereplication (elimination of known compounds). This demonstrates to be a very powerful analytical platform that streamlines the discovery for novel natural products. The four compounds named "honuaiakeamides" have the same ring structure, and the analogues differed only in the number of acetyl groups. From the 42 BGCs mentioned above, we succeeded in identifying the BGCs responsible for the biosynthesis of these honuaiakeamides. The molecular networking established and the predicted number of BGCs suggest the presence of several other novel compounds in the PAL extract, and we are continuing to isolate these compounds and determine their structures. These results have already been presented at two scientific meetings.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2021000003-20210146

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	薬学部	職名	助教	補助額	300 (A) 千円
	氏名	植草 義徳	氏名 (英語)	Yoshinori Uekusa		
研究課題 (日本語)						
ゲノムマイニングを活用した新規天然化合物の効率的な探索						
研究課題 (英訳)						
Efficient discovery of novel natural products using genome mining						
1. 研究成果実績の概要						
<p>本研究では、ゲノムマイニングとノンターゲット LC-MS/MS 分析に基づいた GNPS (分子ネットワーク) 解析, さらに AI 支援による NMR スペクトル解析を駆使することで、海洋性シアノバクテリアの一種である <i>Moorea producens</i> PAL (以下, PAL) から新規化合物を効率的に単離し、それら平面構造を決定した。</p> <p>まず、PAL の全ゲノムを用いて antiSMASH 解析を行って得られた 42 種の生合成遺伝子クラスター (BGC) のうち、既に判明している既知化合物 (palmyramide A および curacin D) の生合成を担うと予想されている BGC を除いた残りについて、生合成するであろう二次代謝産物の化学構造を推測した。次に、PAL が産生する新規化合物を発見するため、PAL 抽出物をノンターゲット LC-MS/MS 分析に供し、取得したデータを GNPS 解析することで分子ネットワークを構築した。その結果、ディレプリケーション (既知化合物の排除) によって既知化合物を含むクラスターと未知化合物のみで構成されるクラスターを明確に区別することができた。このことから、本手法は新規天然化合物の探索研究を効率化する非常に強力な分析基盤であることが実証された。</p> <p>続いて、分子ネットワーク上で未知化合物のみで構成されるクラスターに属する化合物を単離し、MS/MS スペクトル解析と AI 支援による NMR スペクトル解析 (SMART) を利用しながら平面構造を決定した。Honuaiakeamide 類と命名した 4 種の化合物は、同一の環状構造を有しており、それぞれアセチル基の数のみが異なる類縁体であった。また前述した 42 種の BGC から、これら honuaiakeamide 類の生合成を担う BGC を特定することに成功した。構築した分子ネットワークと予測された BGC の数は、他にも PAL 抽出物中に複数の新規化合物が存在していることを示唆しており、これら化合物の単離・構造決定を引き続き行っている。</p> <p>以上の研究成果は、既に 2 つの学術集會にて発表済である。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>In this study, we investigated novel compounds efficiently isolated from marine cyanobacteria <i>Moorea producens</i> PAL and their planar structures were determined, by using genome mining, GNPS analysis (molecular networking) based on non-targeted LC-MS/MS analyses, and an AI-assisted structure prediction technique.</p> <p>First, the chemical structures of 42 biosynthetic gene clusters (BGCs) obtained by antiSMASH analysis of the entire PAL genome were inferred for the secondary metabolites that these BGCs would biosynthesize, excepting the BGCs that are predicted to be responsible for the biosynthesis of known compounds (palmyramide A and curacin D). Next, to discover novel compounds produced by PAL, the extract was subjected to non-targeted LC-MS/MS analysis, and the acquired data were analyzed by GNPS to construct a molecular networking. As the results, we were able to clearly distinguish clusters containing known compounds from those consisting only of unknown compounds by dereplication (elimination of known compounds). This demonstrates to be a very powerful analytical platform that streamlines the discovery for novel natural products. The four compounds named “honuaiakeamides” have the same ring structure, and the analogues differed only in the number of acetyl groups. From the 42 BGCs mentioned above, we succeeded in identifying the BGCs responsible for the biosynthesis of these honuaiakeamides. The molecular networking established and the predicted number of BGCs suggest the presence of several other novel compounds in the PAL extract, and we are continuing to isolate these compounds and determine their structures. These results have already been presented at two scientific meetings.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
小川 慧人, 植草 義徳, 木内 文之, William H. Gerwick, 菊地 晴久	分子ネットワークを用いたシアノバクテリア由来の新規化合物の単離	第 65 回日本薬学会関東支部大会	2021 年 9 月			
小川 慧人, 植草 義徳, 木内 文之, William H. Gerwick, 菊地 晴久	分子ネットワーク解析を活用した海洋性シアノバクテリア由来新規化合物の効率的探索	日本薬学会第 142 年会	2022 年 3 月			