

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 令和元年 12 月 11 日                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 発表者 武田 翔太 |
| 【Journal】<br>ACS. Chem. Biol., <b>2019</b> , 14, 1030-1040.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |           |
| 【Title】<br>Antibiotic Discovery with Synthetic Fermentation: Library Assembly, Phenotypic Screening, and Mechanism of Action of $\beta$ -Peptides Targeting Penicillin-Binding Proteins                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |           |
| 【Affiliation & Authors】<br>Laboratorium für Organische Chemie<br>J. A. Stepek, T. Cao, A. Koetemann, S. Satomi, B. Wollschied, and J. W. Bode.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |           |
| 【Abstract】<br>合成発酵は、水性緩衝液中で多数の有機分子群を容易に合成する方法である。先行研究で、合成発酵での手法を用いた標的ベースの探索研究は、新規 NS3/4A プロテアーゼ阻害剤の発見で実証されたが、表現型スクリーニングでの探索研究は確立されてない。本研究では、その確立を目的とした。まず、枯草菌の抗菌活性を対象とした表現型スクリーニングにあたり、ペプチド結合が合成できる $\alpha$ -Ketoacid-Hydroxylamine Ligation (KAHA ligation) で、4 種の $\alpha$ -ケト酸、31 種のイソキサゾリジンモノマー、16 種のターミネーターを用いて、96 穴プレートに 3860 種の $\beta$ -ペプチドオリゴマーを合成し評価したところ、モノマー部位に 3,5-dichlorophenyl-isoxazolidine を 1 つ導入した <b>2</b> に抗菌活性が確認されたが、ヒト HEK293 細胞に対する細胞毒性も観測された。そのため、 <b>2</b> をリード化合物とした SAR 研究を実施した。その結果、モノマー部位に 1-(4-chlorophenyl)cyclopropyl-isoxazolidine を 2 つ導入した <b>4</b> に、細胞毒性を示すことなく強力な抗菌活性が確認された。<br>一方、 <b>4</b> の作用機序解析にあたり、 <b>4</b> にジアジリンを含むプローブを KAHA ligation で合成し、光親和性標識法で分子標的の同定を実施した。その結果、細菌細胞壁の形成に参与する Penicillin-binding protein4 (pbp4) が分子標的であることが示唆されたため、 <b>4</b> と pbp4 の結合親和力を測定するためにマイクロスケール熱泳動法を実施した。その結果、 <b>4</b> と pbp4 は高い結合親和力をもつため、 <b>4</b> の標的分子は pbp4 であることが確定した。以上の結果より、合成発酵を用いた表現型スクリーニングは、創薬探索の新たなアプローチとなり、さらに有機合成化学の未経験の研究者でも、合成およびスクリーニングが可能になる。 |           |