

JSPS「日本におけるケミカルバイオロジー研究新展開」に関する
研究開発専門委員会 第4回委員会 (2013.02.12)

農薬化合物ライブラリーの構築と活用

クミアイ化学工業株式会社
株式会社ケイ・アイ研究所

- 新農薬の研究開発について
 - 農薬の歴史と現状
 - 農薬の変遷
 - 農薬スクリーニングの特徴
- 農薬化合物ライブラリーの構築と利用
 - 新農薬探索の新たな取組み(ナショプロの事例)
 - 農薬化合物ライブラリーについて
 - ライブラリーを利用した評価システム
 - 医薬への応用事例

農薬の歴史

約3千年前のローマ時代	ヨーロッパで、麦の種をワインに浸したり、植物の灰や硫黄を畑にまくことなどが行われていた記録がある
西暦紀元前	野ねずみ駆除のため、ユリ科の多年草植物の海葱（かいそう）という植物を使用 害虫駆除のために硫黄（いおう）を燃やした
17世紀以降	たばこ粉、除虫菊など天然の植物が、害虫駆除に使用
江戸時代	稲の害虫“ウンカ”を防除するために水田に鯨油などを注ぎ入れ、虫の気門をふさいで窒息させる
1885年	フランスで硫酸銅と石灰を水に溶かしたボルドー液が開発
19世紀	硫酸銅や石灰硫黄合剤などの無機化学薬品が使用
明治時代	天然物由来の除虫菊やニコチン、無機化学薬品のボルドー液、石灰硫黄合剤等が海外から紹介され使用
大正時代	鉱物系のひ酸鉛などが使用
20世紀中頃	有機合成化合物のDDT、BHC、パラチオンなどが出現
第二次世界大戦以降	現在のような化学的合成品が、農薬として本格的に農業に使用
昭和23年	「農薬取締法」が制定され、農薬の製造販売に農林大臣の登録必要

農薬の分類

1 殺虫剤	農作物を加害する害虫を防除する薬剤
2 殺菌剤	農作物を加害する病気を防除する薬剤
3 殺虫・殺菌剤	農作物の害虫、病気を同時に防除する薬剤
4 除草剤	雑草を防除する薬剤
5 殺そ剤	農作物を加害するノネズミなどを防除する薬剤
6 植物成長調整剤	農作物の生育を促進したり、抑制する薬剤
7 誘引剤	主として害虫をにおいなどで誘き寄せる薬剤
8 展着剤	他の農薬と混合して用いその農薬の付着性を高める薬剤
9 天敵	農作物を加害する害虫の天敵
10 微生物剤	微生物を用いて農作物を加害する害虫・病気等を防除する剤

世界の農薬市場 地域別(2009)

- トータル: \$37,860 million
 - NAFTA: 21.0%
 - Latin America: 20.3%
 - Europe: 30.3%
 - Asia: 24.4%
 - Africa/Middle East: 4.0%
- 国内市場は3,300億円前後(世界の約1割)

世界の農薬市場 分野別(2009)

- 除草剤 46.3%
- 殺虫剤 24.8%
- 殺菌剤 25.7%
- PGR他 3.2%

Fruit & Vegetables: 26.5%, Cereal: 18.4%, Maize: 12.2%,
Soybean: 10.3%, Rice: 9.2%, Cotton: 5.1%, Rape: 3.4%,
Sugarcane: 2.5%, Sugarbeet: 1.5%, Sunflower: 1.0%,
Other crops: 9.9%

農薬の変遷

効力重視型



沈黙の春
(1962)

人畜安全型



奪われし未来
(1996)

生態系調和型

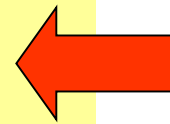
無機農薬
殺滅型合成農薬
天然源有機農薬

低毒性
易分解性
選択性

超低薬量・高性能型
生物制御型農薬
生物農薬利用拡大
遺伝子農薬の利用

望まれる農薬・施用技術の開発

- ◆ 超低薬量
- ◆ 高安全性
- ◆ 高選択性
- ◆ 低環境負荷
- ◆ 省力性
- ◆ 安価
- ◆ 抵抗性のつきにくさ
- ◆ 適度な残効性



独自技術
革新技術

農薬候補化合物のスクリーニング

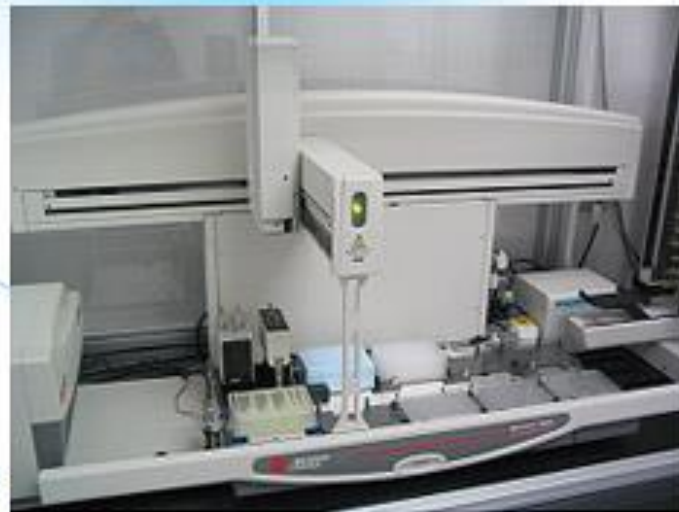
- ・ 通常スクリーニング (ポット試験)
 - 実用性評価の最小規模試験
 - 必要最低量は 10 mg~
- ・ ミニスケール試験 (抗菌試験、カップ試験ほか)
 - 対象生物に対する直接的な活性
 - 必要量は 数 mg~
- ・ In vitro assay (酵素、受容体、PPIほか)
 - 既存、または推定された致死ターゲットへの活性
 - 必要量は 数 μ g~

ポット試験



圃場試験

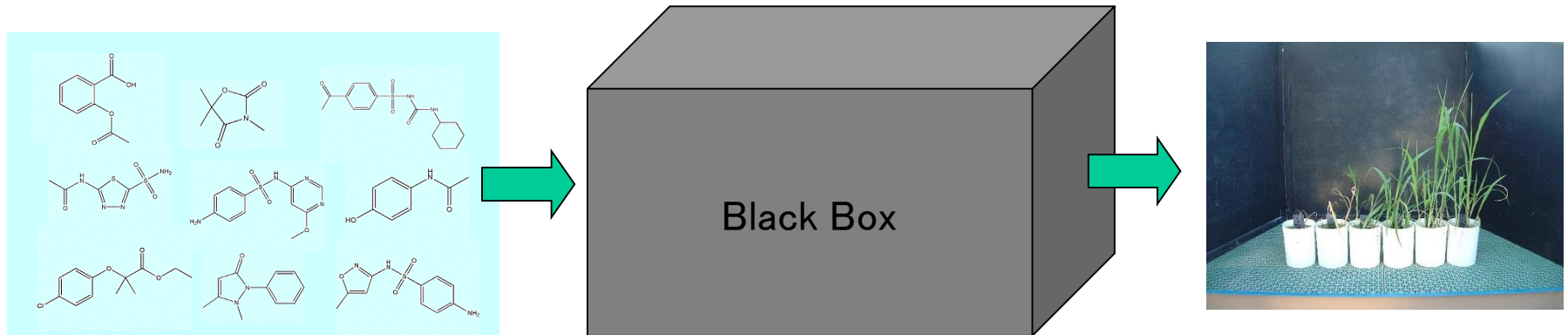
in vitro アッセイ



農薬開発におけるBlack Box

・医薬以上に多くの変動要因が含まれる。

⇒ 如何にBlack Boxを明らかにし、効率的に薬剤を開発するか



Chemicals

多変量要因の解明

Activity

- ・環境(土壌、気象、微生物 etc.)
- ・作物
- ・病虫害/雑草
- ・標的酵素・受容体 etc.

- **新農薬の研究開発について**
 - 農薬の歴史と現状
 - 農薬の変遷(クミカ開発剤を例として)
 - 農薬スクリーニングの特徴
- **農薬化合物ライブラリーの構築と利用**
 - **新農薬探索の新たな取組み(ナショプロの事例)**
 - 農薬化合物ライブラリーについて
 - ライブラリーを利用した評価システム
 - **医薬への応用事例**

糸状菌比較ゲノム情報に基づく新規抗菌剤の開発

シーズ

麴菌、いもち病菌の
比較ゲノム情報

化合物
ライブラリー

シーズ

情報科学
HTSアッセイ系
マイクロアレイ技術
遺伝子破壊技術

独自バイオアッセイ系によるHTSスクリーニング

分子間相互作用によるHTSスクリーニング

- ・ **シグナル伝達系作動薬剤**リード化合物の選抜
- ・ 抗カビ剤リード化合物の作用点の特定
- ・ CADD-構造活性相関による薬剤の最適化改変
- ・ ゲノム創農薬 **パイプライン**の完成

アッセイ系のキット化
ならびに受託ビジネス

病害菌での実用性評価
製剤研究、工業化

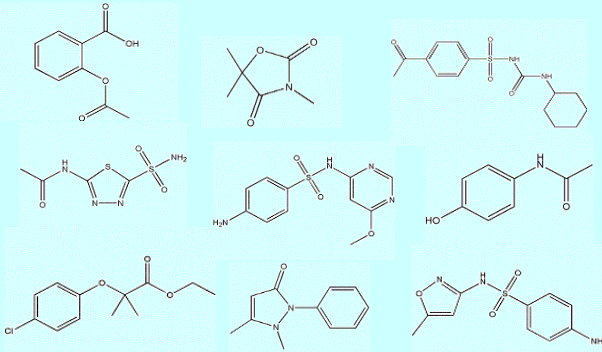
国際競争力のある画期的大型薬剤の創出

農薬化合物ライブラリーの構築

生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業の事例



自社化合物ライブラリー

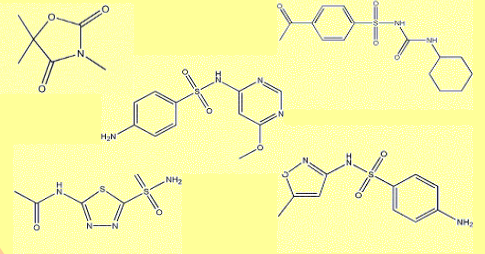


アカデミア等からの
化合物導入

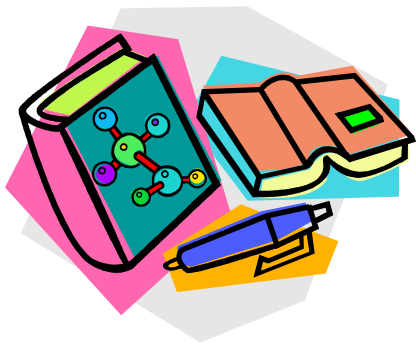
導入・交換／絞込み

大学化合物プロジェクト
(科学技術教育協会)
他社との化合物交換
(異分野企業)

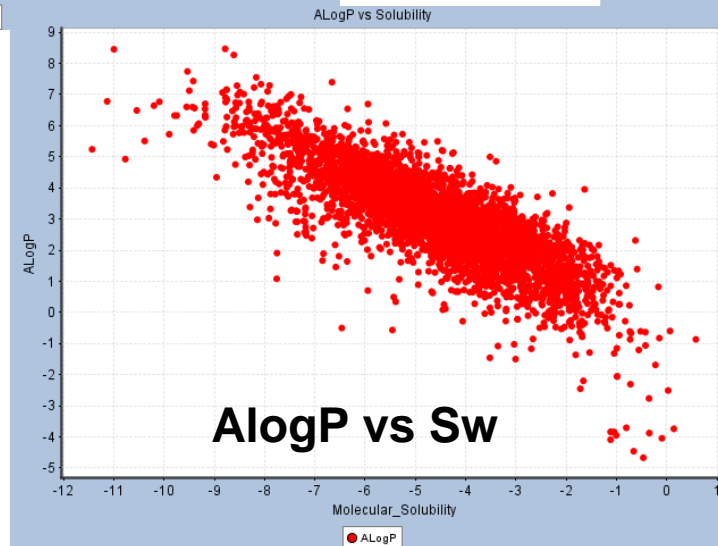
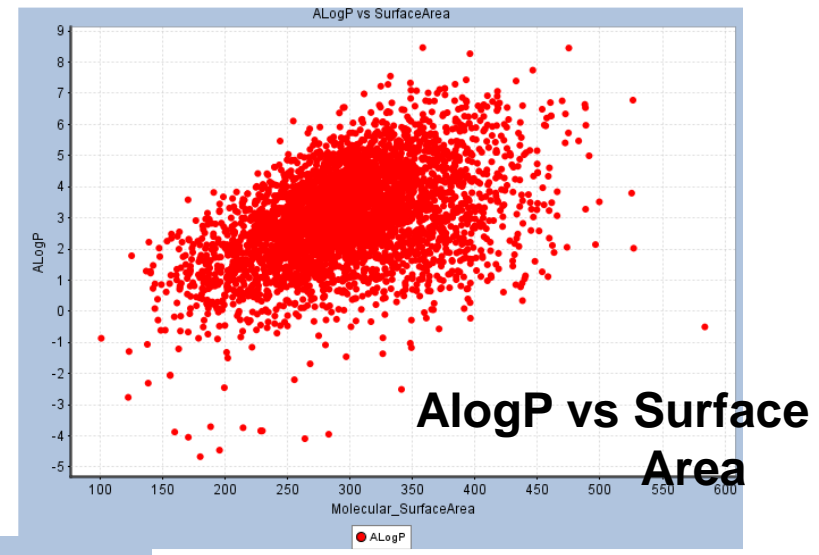
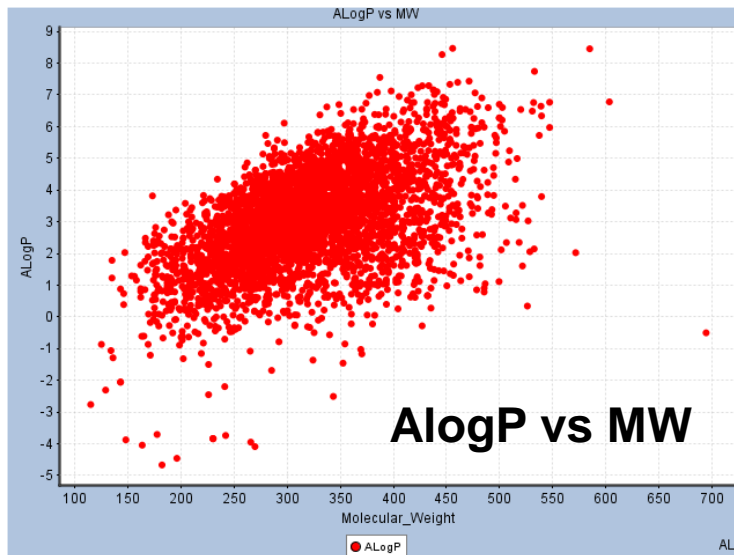
目的指向型 化合物ライブラリー



- 約 50,000化合物のライブラリー化を実施
 - 解析ツールを用いた化合物群の解析



農薬化合物ライブラリーの特徴



物性値を計算し、各パラメータを比較して、化合物ライブラリーの特徴とバラつきを評価

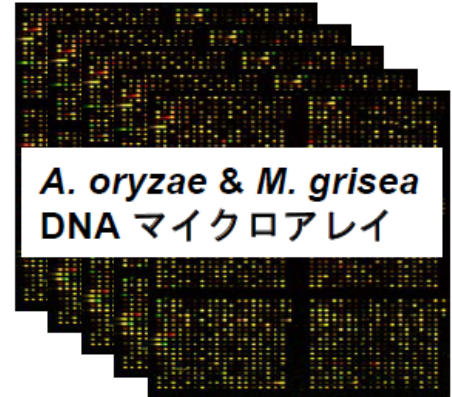
- ⇒ logPは2~4を中心とし適度に分散している
- ⇒ MW, 表面積, 溶解度も適度な分散性を示す

糸状菌マイクロアレイを活用した 創薬支援システム

作用点既知の抗真菌剤
 MAPKシグナル伝達錯乱
 細胞壁合成阻害
 エネルギー代謝阻害
 細胞骨格ストレスなど、
 約50種の基準薬剤

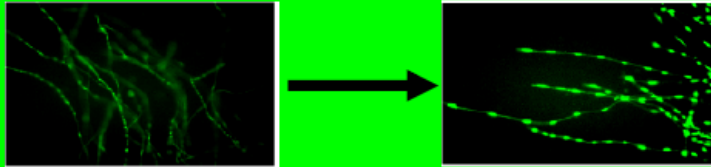
Aspergillus oryzae
Magnaporthe grisea

前培養
 (30°C, 24 hr)
 ↓
 薬剤添加
 ↓ 2 hr
 RNA 抽出



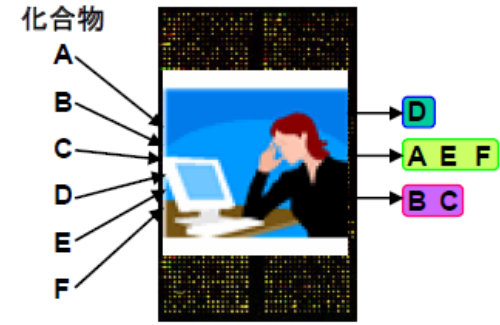
薬剤応答に関する転写応答プロファイルの集積・統計解析

HTSレポーターアッセイ系
 ストレス応答などのシグナル伝達系に特異的な遺伝子の探索
 → HTSレポーターアッセイ系の構築
 → 遺伝学的な薬剤標的探索への応用



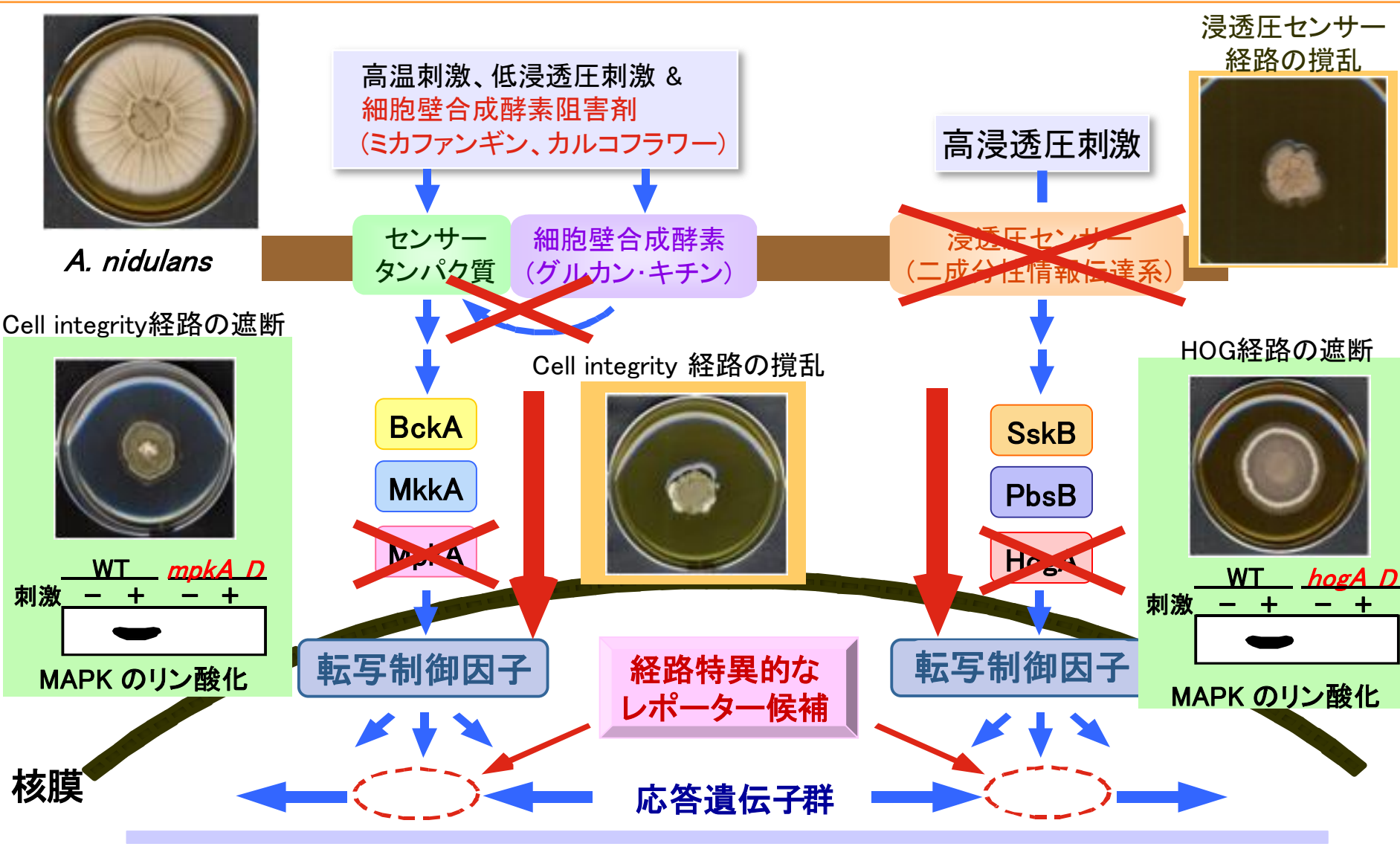
ストレス応答の可視化

化合物分別・作用推定システム
 → リード化合物の分別・作用点推定



薬剤標的探索、リード化合物スクリーニングの効率化

シグナル伝達系とレポーター

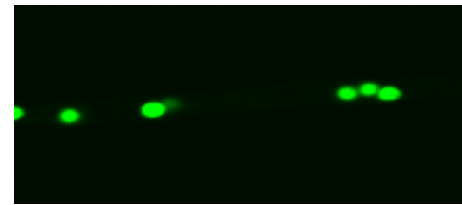
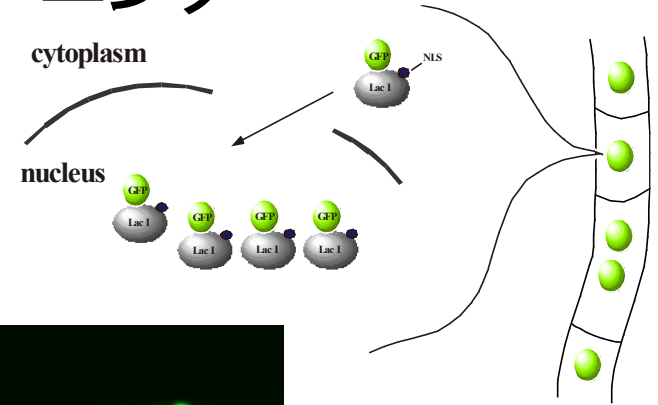


レポーターアッセイ系を用いたスクリーニング

- ・ 浸透圧応答HOG経路依存的なレポーターアッセイ系の構築
- ・ プロモーターの改良、レポーターGFPの核局在化によるアッセイ系のHTS化

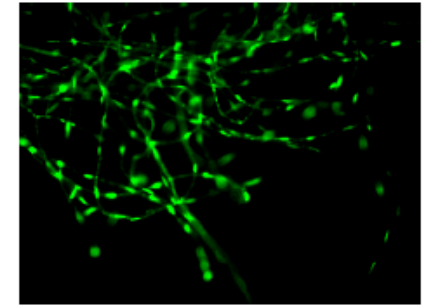
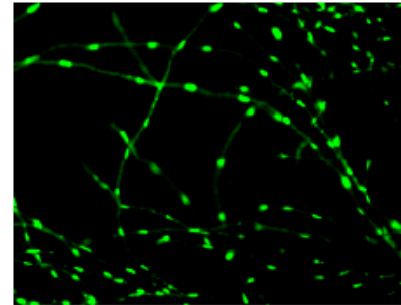
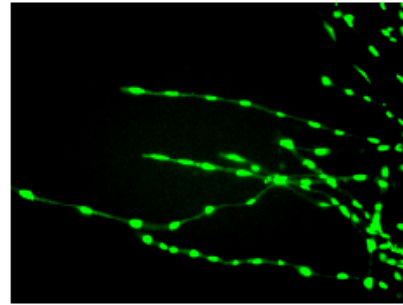
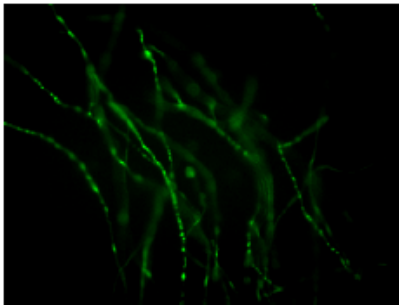


化合物ライブラリーからのスクリーニング



レポーターGFPの核局在化による蛍光定量性の向上

BBB 71: 1724-1730 (2007)

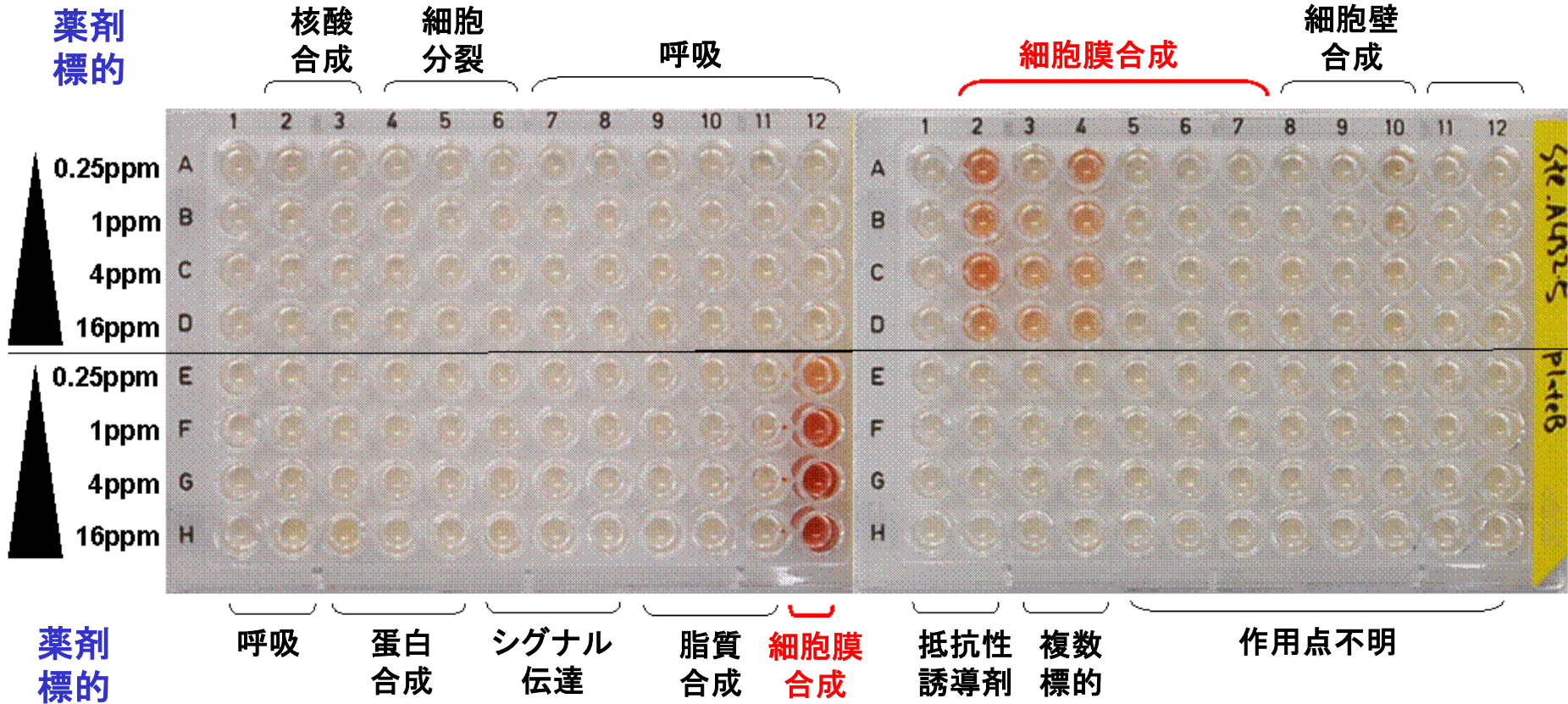


DMSO (Nega. Con.) Fludioxonil (Posi. Con.)

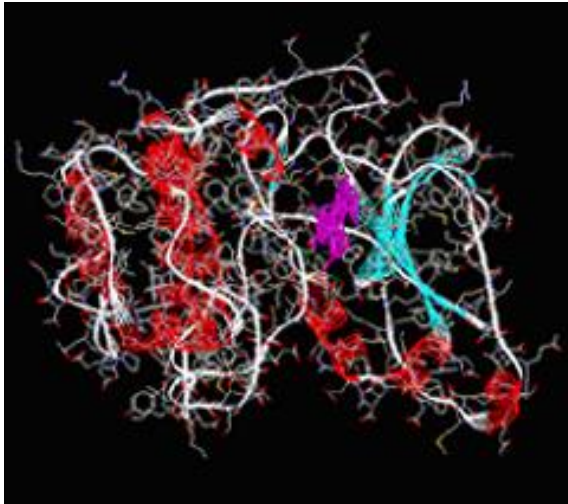
候補化合物 1

候補化合物 2

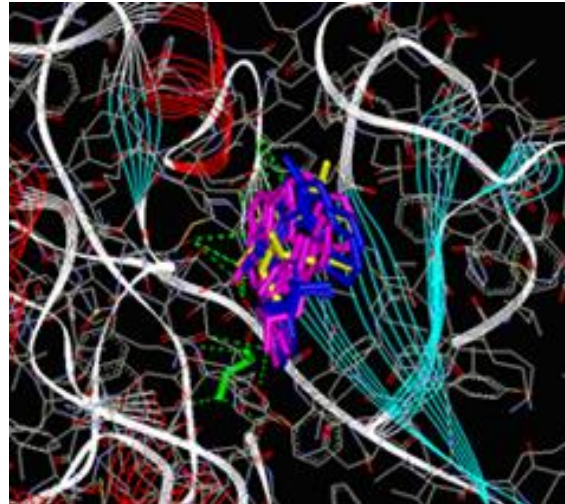
細胞膜合成阻害剤のスクリーニング例



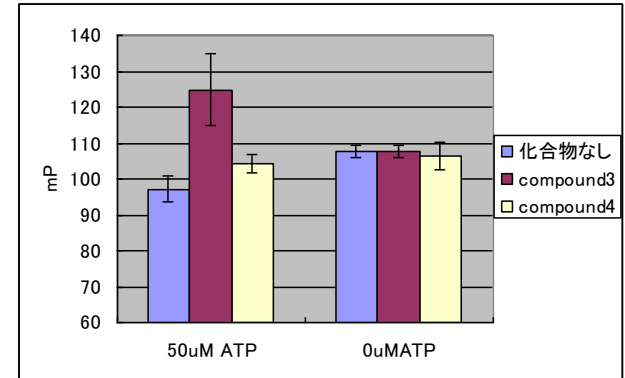
In silico screeningを利用した 市販ライブラリーからの予備選抜と in vitro 評価



標的タンパク質 C の立体構造モデル



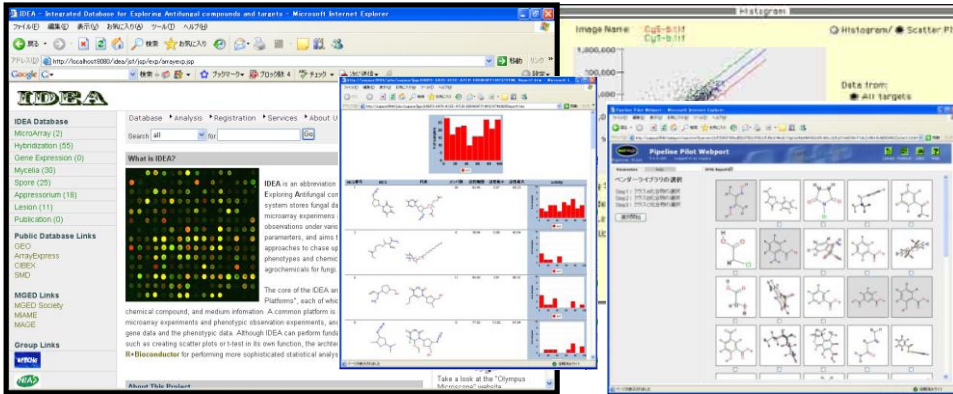
標的タンパク質 C の活性中心部位と
阻害剤とのドッキング様式



選抜化合物による標的タンパク質の阻害

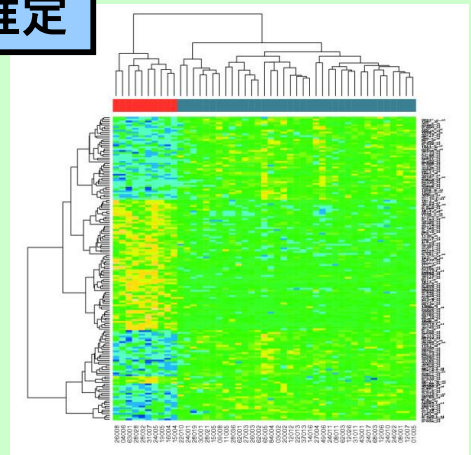
- Homology modelingにより得た標的タンパクモデルを用いた in silico screening により ACD DB から 66 化合物を選抜
- 一分子蛍光分析による ATP 結合阻害を評価により、動物タンパク C は阻害せずに植物病原菌タンパク C のみを阻害する化合物 Z を得た。

化合物応答データベース(転写・表現型情報)
細胞システムモニター(HTS)



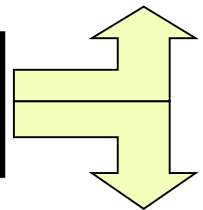
・化合物分別
・化合物標的推定

薬剤クラスタリング



遺伝子クラスタリング

糸状菌比較
ゲノム情報



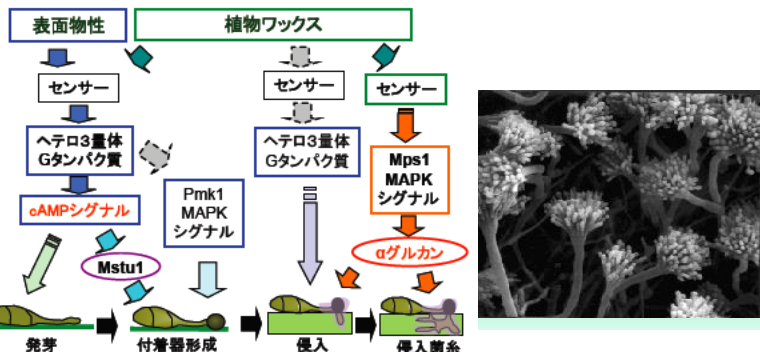
糸状菌の
生物学的解析

創農薬標的
の選択

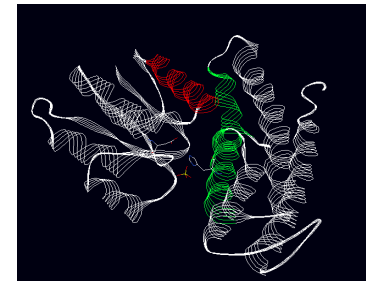
創農薬標的
のモデリング

リードの
絞り込み

in vivo探索
in vitro探索

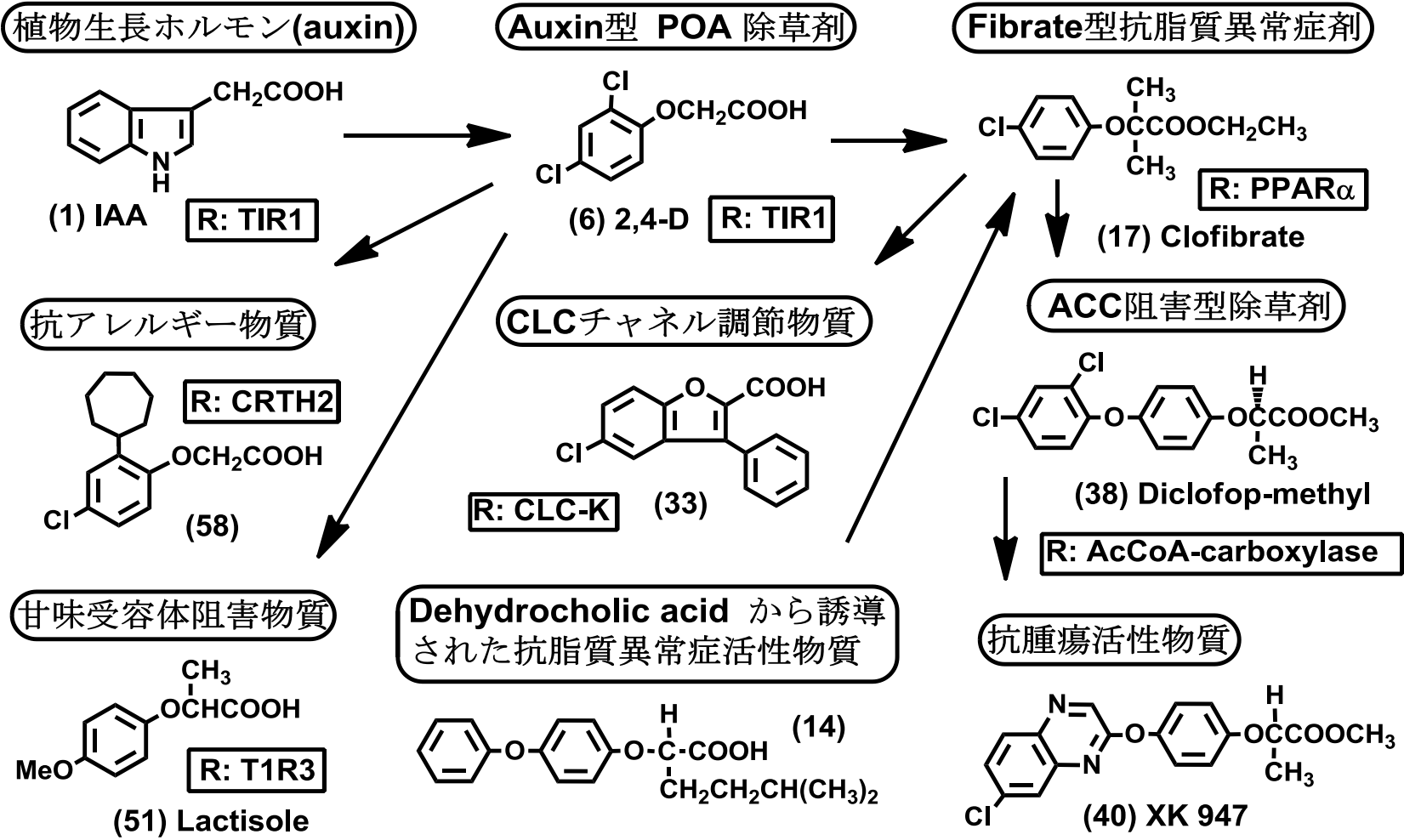


- 〈遺伝子〉
- ・致死
 - ・生育障害
 - ・感染阻害



IAA と2,4-Dから展開した種々の生理活性化合物

ファインケミカル, 2010, 39(10), 5-31 より引用



[R: 標的タンパク質の名称]