

公益財団法人矢崎科学技術振興記念財団
理事長 殿

研究助成期間終了にあたり、下記の通り成果を報告します。

2026 年 8 月 20 日

氏名 牛丸 理一郎
所属 九州大学高等研究院
職位 准教授

1. 申請研究の題目

異常アミノ酸を含む生物活性天然物の生合成機構解明と新規ペプチド創出への応用

2. 研究の目的

生物活性を有する天然ペプチドには、通常のタンパク質を構成する 20 種類のアミノ酸には見られない、多様な「異常アミノ酸」が含まれている。これらの特殊なアミノ酸構造は、天然物の構造多様性や高い生物活性を生み出す重要な要素である。一方で、異常アミノ酸が天然でどのように生合成され、さらにどのような酵素によってペプチドへと組み込まれるのかについては、不明な点が多い。

本研究では、異常アミノ酸を含む天然物の生合成経路を明らかにし、そこから新しいアミノ酸修飾反応を担う酵素、および異常アミノ酸を連結する新規酵素を発見することを目的とした。さらに、これらの酵素の基質特異性や反応機構を明らかにし、将来的には天然には存在しない異常アミノ酸やペプチドを酵素的に創出するための生体触媒へ展開することを目指した。

本研究では特に、アミノ酸由来部分とアデノシン由来部分が直接炭素－炭素結合した特異な構造を有する天然物シネフンギンに着目した。シネフンギン生合成を解明することで、従来知られていないアミノ酸側鎖修飾反応を見だし、さらにその修飾アミノ酸を基盤とする新規ペプチド生合成系の開拓につながると考えた。

3. 研究の内容

まず、複数のシネフンギン生産放線菌のゲノム比較解析を行い、シネフンギン生合成に関与する遺伝子クラスター *snfA-H* を同定した。さらに、この遺伝子クラスターを異種放線菌 *Streptomyces lividans* TK24 で発現させることでシネフンギンの生産を確認し、同遺伝子群がシネフンギン生合成を担うことを実証した。

次に、生合成遺伝子群に含まれる B12 依存性ラジカル SAM 酵素 *SnfB* の機能解析を行った。その結果、*SnfB* が L-アルギニンの不活性な C5 炭素にアデノシル基を直接導入し、新たな炭素－炭素結合を形成することを明らかにした。本反応により、通常のアミノ酸には存在しない巨大なヌクレオシド置換基をもつ新規修飾アミノ酸中間体が生成する。

精製 *SnfB* を用いた *in vitro* 反応解析により、本反応には SAM、アデノシルコバラミン (AdoCbl)、[4Fe-4S] クラスターおよび還元条件が必要であることを示した。また、重水素標識 SAM を用いた解析から、導入されるアデノシル基が SAM ではなく AdoCbl に由来することを明らかにした。すなわち、*SnfB* はこれまで知られていなかった形式で、アミノ酸の炭素骨格そのものを直接修飾する酵素であることが判明した。さらに、*SnfB* 生成物がシネフンギンへと変換される過程を解析し、リン酸転移酵素 *SnfH* およびアルギナーゼ様酵素 *SnfC* が協調して反応することを明らかにした。*SnfH* による一過的な 2' -O-リン酸化を経て、*SnfC* によるグアニジノ基の加水分解が進行し、最終的にシネフンギン骨格が形成されることを示した。

一方、同定した *snf* 遺伝子クラスターには、PEARL (peptide aminoacyl-tRNA-dependent ligase) 型酵素に相同性を示す SnfA および SnfF も含まれていた。これらの酵素群は、シネフンギン VA のようなペプチド型シネフンギン誘導体の生合成に関与する可能性がある。したがって、本研究で同定した生合成系は、新規アミノ酸修飾反応のみならず、特殊な修飾アミノ酸を認識し連結する新規ペプチド結合形成酵素の発見にもつながる重要な基盤となった(図1)。

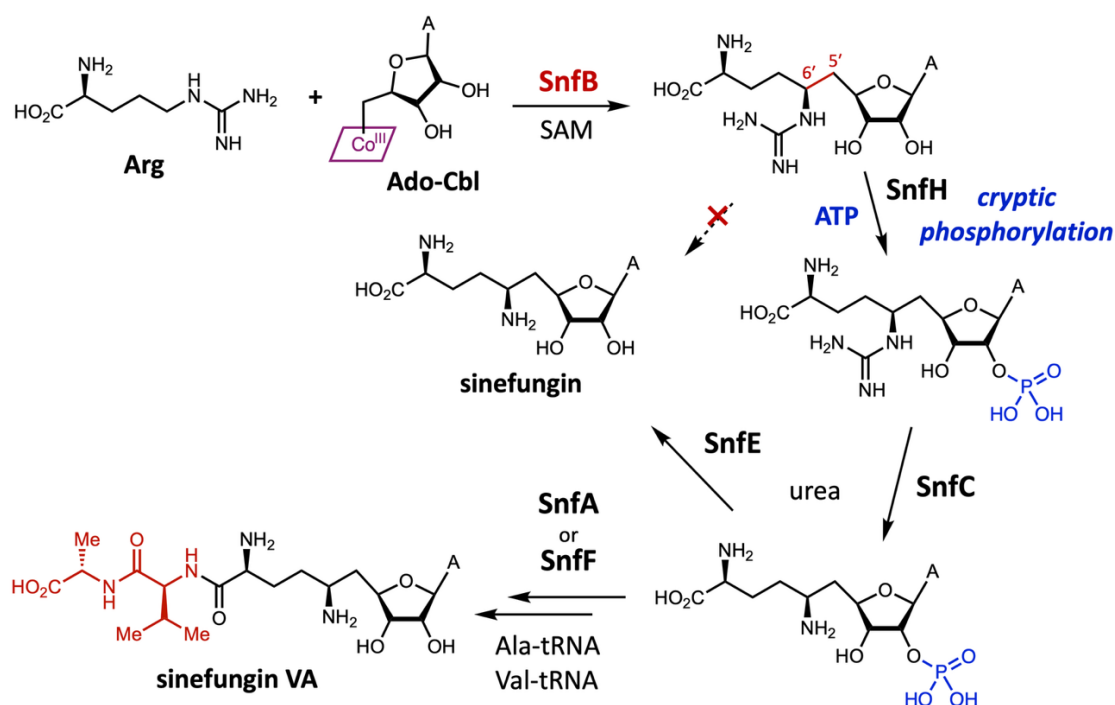


図1. シネフンギンの生合成経路

4. 研究の成果と結論、今後の課題

本研究では、シネフンギン生合成を解析することで、B12 依存性ラジカル SAM 酵素 SnfB がアルギニンの不活性炭素上にアデノシル基を直接導入する、これまでに例のないアミノ酸修飾反応を触媒することを発見した。これにより、天然物生合成において、ラジカル酵素がアミノ酸骨格に対して大型の炭素置換基を直接導入し、異常アミノ酸を形成する新しい反応原理を明らかにした。また、SnfH および SnfC による後続反応を含め、修飾アミノ酸からシネフンギンへ至る主要な生合成経路を明らかにした。特に、一過的なリン酸化を利用して反応を進行させる機構は、異常アミノ酸を効率よく構造変換する新しい生合成戦略と考えられる。

さらに重要な点として、*snf* 生合成遺伝子クラスター中には SnfA、SnfF というアミノアシル tRNA 依存型ペプチドリガーゼ候補が存在する。今後これらの酵素の機能を明らかにすることで、シネフンギン型修飾アミノ酸を認識して他のアミノ酸と連結する新規アミノ酸連結酵素を発見できる可能性が高い。

今後は、第一に SnfB の基質特異性を解析し、アルギニン以外のアミノ酸やその誘導体に対してもアデノシル化が可能かを検討する。第二に、SnfA および SnfF の機能解析を進め、どのような修飾アミノ酸を基質として認識し、どのようなペプチド結合を形成するかを明らかにする。最終的には、「アミノ酸を修飾する酵素」と「修飾アミノ酸を連結する酵素」を組み合わせることで、天然には存在しない異常アミノ酸含有ペプチドを酵素的に合成する系の構築を目指す。

5. 成果の価値

5-1. 学術的価値

本研究では、異常アミノ酸形成に関わる新しい酵素化学を明らかにした。SnfB は、アミノ酸側鎖の不活性炭素に直接アデノシル基を導入するという極めて特異な反応を触媒する。この反応は、

単なる官能基変換ではなく、アミノ酸の炭素骨格そのものを拡張する反応であり、天然における異常アミノ酸生成機構の新しいカテゴリーを示すものである。

また、B12 依存性ラジカル SAM 酵素が AdoCbl をアデノシル基供与体として利用することを示した点も重要であり、同酵素群の触媒反応の多様性を大きく拡張した。

さらに、同一生合成遺伝子クラスター内に PEARL 型リガーゼ SnfA、SnfF が存在することから、天然では「特殊なアミノ酸を作る酵素」と「それをペプチドへ組み込む酵素」が機能的に連携している可能性が示された。これは、異常アミノ酸含有ペプチドの生合成原理を理解する上で重要な知見であり、新規ペプチド生合成酵素の探索にもつながる。

5-2. 社会的価値

異常アミノ酸を含むペプチドは、通常のペプチドとは異なる立体構造、安定性、分子認識能を示すことがあり、医薬品や生理活性物質の開発において重要な化学空間を形成している。一方、その化学合成には多段階の保護・脱保護操作が必要となる場合が多く、多様な誘導体を迅速に合成することは容易ではない。

本研究で発見した SnfB のようなアミノ酸修飾酵素と、今後機能解明を進める SnfA、SnfF のようなアミノ酸連結酵素を組み合わせることで、温和な条件下で異常アミノ酸を作り、そのままペプチドへ組み込む新しい酵素合成法へ発展する可能性がある。

将来的には、酵素の基質特異性を改変することで、多様な非天然型アミノ酸を有するペプチドライブラリーを構築し、新規抗菌薬、抗ウイルス薬、酵素阻害剤などの創薬シード探索に利用できることが期待される。

6. 研究成果

○ Koki Ueno, Richiro Ushimaru*, Yi Yang, Kazuki Shimada, Ikuro Abe* “Sinefungin Biosynthesis Employs a B12-Dependent Radical S-Adenosyl-L-methionine Enzyme Catalyzing C-Adenylation of Arginine”

Journal of the American Chemical Society, **2026**, *148*, 20343–20347.

DOI: 10.1021/jacs.6c05246

以上