

2026年1月9日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学

マクロライド生合成の立体配置を司る鍵酵素の解析 化学合成基質を用いた精密反応解析

【発表のポイント】

- マクロライドは抗生物質^(注1)として利用される化合物の一群です。
- ピクロマイシン^(注2)はマクロライドの一種であり、その生合成^(注3)に寄与する酵素反応は、新しいマクロライドを設計するためのモデルとして世界中で研究されてきました。
- 独自に化学合成した基質を用いることで、これまで不明であったメチル基及びヒドロキシ基の向きを制御する鍵酵素が、どのような向きでそれら官能基を合成するのかを実験的に明らかにしました。
- 今回の発見により、生物工学的手法による新規なマクロライドを設計・生産するための重要な基礎の一端を確立しました。

【概要】

マクロライド系抗生物質はポリケタイドの一種であり、その生物活性は付与される官能基の空間的な向き（立体配置）に強く依存します。本研究では、マクロライドのバイオものづくりにおけるモデル化合物であるピクロマイシンの生合成において、官能基の向きを制御する鍵酵素「ケト還元酵素（KR ドメイン）」の機能を解明しました。独自に合成した基質を用いた実験により、これまで不明であった KR ドメインの産物について、その立体配置を特定することに成功しました。

この成果は、KR ドメインのアミノ酸配列から、産物の立体配置の予測精度を高め、酵素の合理的な設計を可能にする一助となるものです。将来的に、天然には存在しない革新的な医薬品分子を創出する、次世代の物質生産への応用が期待されます。

本研究成果は、2025 年 12 月 17 日付で英国王立化学会誌 Chemical Science に掲載されました。

【詳細な説明】

研究の背景

マクロライドを合成する巨大酵素と反応産物立体の重要性

ポリケタイドは、現代医療に不可欠な天然化合物の主要な供給源です。これらの化合物は、巨大な多機能酵素であるポリケタイド合成酵素 (Polyketide synthase, 略称 PKS) によって組み立てられます。PKS は、炭素単位を伸長する β -ケト合成酵素 (ketosynthase、略称 KS)、炭素単位を選択するアシル基転移酵素 (acyltransferase、略称 AT)、および炭素単位や伸長する炭素鎖の反応中間体を保持するアシルキャリアータンパク質 (ACP) といった複数のドメインから構成されるモジュール^(注 4) が、工場の組み立てラインのように機能することでポリケトメチレン鎖と呼ばれる多数のケト基を有する炭素鎖が構築されます (図 1)。さらにこの炭素鎖が環状となることでマクロライドの一群が合成されます。

このプロセスにおいて、化合物の立体化学 (分子の向き) を決定するのが、 β -ケト還元酵素 (ketoreductase、略称 KR) です。KR ドメインは、マクロライド骨格上のヒドロキシ基とメチル基の立体配置を決定する極めて重要な役割を担っており、 α 位ヒドロキシ基の向きによって A 型か B 型、 β 位メチル基の向きによって 1 型か 2 型といったタイプに分類され、これら型の組み合わせによって A1、A2、B1、B2 型のいずれかに分類されます (図 2)。1950 年に発見された最初のマクロライド系抗生物質であるピクロマイシンは、この生合成研究における理想的なモデルとして利用されていますが、その KR ドメインの一部が、どのような立体産物を合成しているのかについては長年未解明な点が残されていました。

アミノ酸配列と産物立体配置の法則性

各型の KR ドメインがどのような立体配置の産物を与えるかは、KR ドメインを構成するアミノ酸配列に、どのような種類のアミノ酸残基が存在するのかという点と関係します。例えば、B1 型 KR ドメインにはそのアミノ酸配列上 XXD (任意のアミノ酸 2 種類とアスパラギン酸のセット) モチーフが保存されており、B2 型 KR ドメインには、XXD モチーフに加えて、P モチーフが保存されています (図 2)。

ピクロマイシン合成酵素のモジュール 2 (図 1) に存在する KR ドメインは、XXD モチーフのみを有していることから、B1 型であると予測されていました。しかしながら、実際に KR ドメインが B1 型に相当する産物を真に合成するか否かについては不明でした。

今回の取り組み

キメラ型酵素^(注 5) の構築と化学合成基質の導入

東北大学土井隆行教授のグループと理化学研究所高橋俊二博士のグループは、この謎を解明するため、生物工学による酵素のエンジニアリングと有機合成化学を組み合わせ、その産物の立体化学を解明することを目指しました。

まず、マクロライドの生合成酵素として、その性質が最もよく研究されている「PikAIII モジュール 5 (PikAIII-M5)」に着目しました。このモジュールの KR ドメインを、解析対象である PikAI-M2 由来の KR ドメインへと、機械の部品を交換するように置き換えることでキメラ型酵素を設計しました。これにより、モジュール 2 の KR ドメインの働きを、単独かつ精密に評価できる人工的な酵素を構築しました (図 3)。

NAC チオエステルを足場とする基質の精密合成

次に、酵素に与える「特注の鍵」となる基質を化学合成しました。Evans アルドール反応や NHK (Nozaki-Hiyama-Kishi) カップリング、さらには合成途中で望まない環状化 (ラクトン形成) が起こることを防ぐため、保護基を使い分け、酸化と保護基除去の順序を最適化することで、複数の化学合成基質の合成に成功しました。さらに、合成した基質と大腸菌で発現・精製したキメラ酵素を用い、試験管内での反応を行いました。

立体配置の特定

はじめに、複数の化学合成基質を用いてモジュール 5 の基質の「好み」を調査しました。その結果、 β 位がケト基である化学合成基質すべてと反応することが分かりました。一方、キメラ型酵素は 1 種類の化学合成基質とのみ反応することが分かりました (図 3、赤枠部分)。この生成物を単離して、NMR (核磁気共鳴) スペクトル解析を行ったところ、その構造は (2R,3R,4S)-3-ヒドロキシ-2,4-ジメチルヘプタン酸 であることが判明しました。この結果は、PikAI-M2 の KR ドメインが、「B1 型」であることを実験的に決定づける決定的な証拠となりました。

本研究では、キメラ酵素において DH ドメインによる脱水反応が完全には進行せず、中間体である水酸化体で反応が止まる現象が観察されました。これは、移植された DH2 ドメインが、本来のペアではない KR ドメインから渡された中間体に対して十分な互換性を持っていなかったためと考えられます。この知見は、単にドメインを切り貼りするだけでは不十分であり、ドメイン間の微妙な相互作用が安定性や反応速度に大きく寄与しているという、次世代の酵素設計に向けた重要な教訓となりました。

今後の展開

本研究は、1950 年の発見以来、ピクロマイシン生合成において未解明であったモジュール 2 の KR ドメインが合成する反応産物の立体を、精密な化学合

成と生物工学の融合によって完全に解明しました。特に、「XXD モチーフ」を持つKR ドメインがB1型として機能することを実証した点は、既存の配列解析のみに頼った機能予測の限界を打破し、ゲノムデータからの天然物構造予測の精度を飛躍的に向上させるものです。

今後は、この研究で確立された「キメラ酵素と合成基質の評価系」を応用することで、自然界には存在しない新しい構造を持つマクロライド抗生物質の創出（コンビナトリアル生合成）が加速することが期待されます。本研究は、いわば生命の設計図の読み方を一つ正しく書き換えたものであり、次世代の「バイオものづくり^(注8)」における強力な基盤になると期待されます。

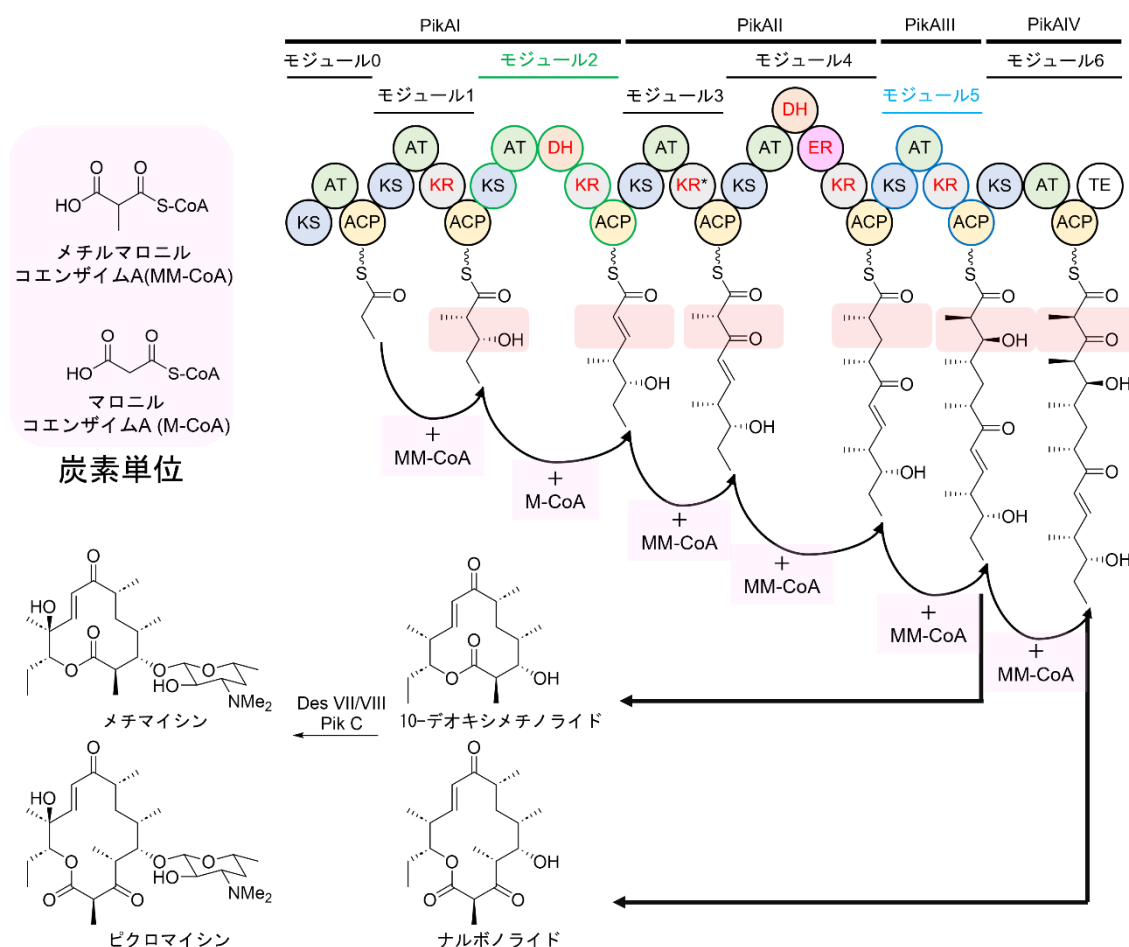


図 1. ピクロマイシン生合成経路概略図。 図中において丸い図形がドメインを示し、それらドメインがひとまとまりとなってひとつのモジュールが構成される。各ドメインは炭素単位を伸長する β -ケト合成酵素 (ketosynthase、略称 KS)、炭素単位を選択するアシル基転移酵素 (acyltransferase、略称 AT)、および炭素単位や伸長する炭素鎖の反応中間体を保持するアシルキャリアータンパク質 (ACP) により構成される。図中において赤字で示したケト還元酵素 (ketoreductase、略称 KR) が、赤枠で示した部位の立体配置を決定する。また、

KR による反応後にさらに脱水酵素（dehydratase, 略称 DH）やエノイル還元酵素（enoylreductase、略称 ER）が作用することで、形成される結合の種類が変化することもある。

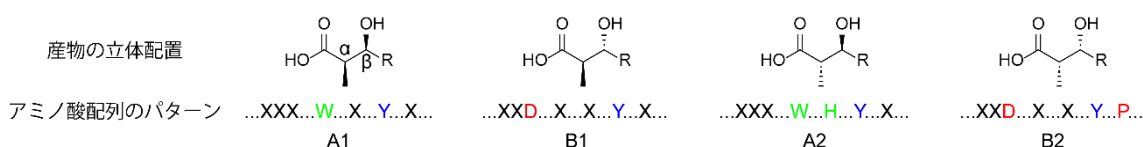


図 2. KR ドメインのアミノ酸配列パターンによる分類とその産物の立体配置の関係性。 図中において、 α 位メチル基と β 位ヒドロキシ基の立体配置の組み合わせから考えられる 4 種類の化学構造（産物の立体配置）を示した。また、それら産物の立体配置と定義されているアミノ酸配列の並び（アミノ酸配列のパターン）、及び対応する型の名称を示した。

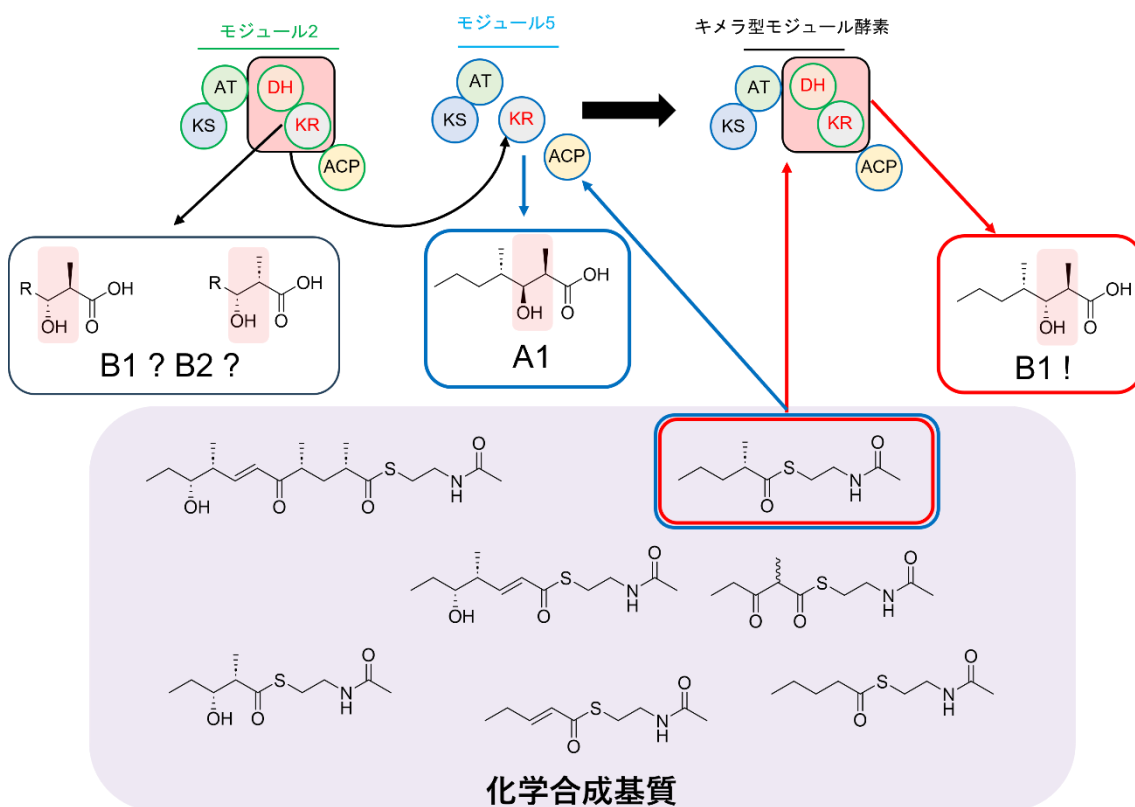


図 3. 未解明であったモジュール 2 由来 KR ドメインの反応産物解析。 複数の化学合成基質とキメラ型モジュール酵素を反応させた結果、モジュール 2 由来 KR ドメインが B1 型の反応産物を生成することを明らかにした（図中赤枠の反応経路）。

【謝辞】

本研究は JSPS 科研費 (24H01055, 25K08901, 25H01597) および国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) (JP20ae0101045) の支援を受けて行われました。本論文は「東北大学 2025 年度オープンアクセス推進のための APC 支援事業」の支援を受け Open Access となっています。

【用語説明】

注1. 抗生物質/マクロライド

抗生物質とは、病原微生物に対して殺菌、あるいは発育抑制作用（静菌作用）を持つ化合物のうち微生物が産生する化合物の総称。マクロライドは抗生物質の一種であり、14 あるいは 16 員環の巨大な環構造に糖が結合した構造をした抗生物質の総称。細菌などのリボソーム 50S サブユニットと呼ばれるタンパク質の合成装置と結合してタンパク質合成を抑制することにより、静菌作用を示す。

注2. ピクロマイシン

1950 年にドイツの科学者(Hans Brockmann、Willfried Henkel)らによって、細菌の一種である放線菌より発見された最初のマクロライド系抗生物質。

注3 生合成

生体もしくは細胞が化学反応により物質を作り出す現象。

注4 ドメイン/モジュール

ドメインとは基本的に 1 種の化学反応を触媒する単位として定義され、異なる種類のドメインが組み合わさることでモジュールが構成される。このモジュールが複数組み合わさることで最終的に I 型ポリケタイド合成酵素が形成される。

注5 キメラ型酵素

任意のモジュールを対象として、本来自然界において保持しないドメインを導入して構築された人工的な酵素。

注6 バイオものづくり

生物由来の素材を用いてものづくりを行うこと、さらには微生物などの生物の能力を活用して有用化合物などを作り出すこと。生物が持つ能力を人工的に改変・強化して設計者が望む化合物を創造することから「ものづくり」と称される。

【論文情報】

タイトル : Characterization of the ketoreductase domain of pikromycin module 2

著者 : Eiji Okamura, Kosuke Ohsawa, Hidetoshi Ban, Yoshiyuki Sugiyama, Junko Hashimoto, Kei Kudo, Masahito Yoshida, Kazuo Shin-ya, Haruo Ikeda,

Shunji Takahashi,* and Takayuki Doi*

*責任著者：東北大学大学院薬学研究科教授 土井隆行、理化学研究所環境資源科学研究センターユニットリーダー 高橋俊二

掲載誌：Chemical Science

DOI：10.1039/D5SC07470C

URL: <https://doi.org/10.1039/D5SC07470C>

【問い合わせ先】

（研究に関すること）

東北大学大学院薬学研究科

教授 土井隆行

TEL:022-795-6865

Email: doi_taka@tohoku.ac.jp

（報道に関すること）

東北大学薬学研究科・薬学部総務係

TEL: 022-795-6801

Email:ph-som@grp.tohoku.ac.jp