



Title	アルギニン選択的ビスプレニル化酵素の機能解析とペプチド修飾反応への適用
Author(s)	藤田, 慧
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第16788号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16788
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99633
Type	doctoral thesis
File Information	Kei_Fujita_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（薬科学） 氏 名 藤 田 慧

審査担当者	主 査	教 授	脇 本 敏 幸
	副 査	教 授	市 川 聡
	副 査	准教授	松 田 研 一
	副 査	講 師	勝 山 彬

学 位 論 文 題 名

アルギニン選択的ビスプレニル化酵素の機能解析とペプチド修飾反応への適用

博士学位論文審査等の結果について（報告）

ペプチドは大環状化やアルキル化などの修飾によって生体膜透過性や代謝安定性、標的特異性が向上することが知られている。しかし、多くの官能基が共存するペプチド基質に対して、これらの修飾反応を位置選択的かつ化学選択的に実施することは容易ではなく、保護・脱保護などの多段階工程が必要となる。そこで著者は、大環状化や側鎖官能基のアルキル化を簡便かつ効率的に行う手法を開発するために、ペプチド系天然物の生合成酵素に着目した。

自然界におけるペプチドの生合成経路は、大きく二つに分類される。一つは、タンパク質の転写・翻訳系と同様にリボソームに依存する経路（ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides; RiPPs）であり、もう一つは非リボソーム型ペプチド合成酵素（nonribosomal peptide synthetase; NRPS）による経路である。本研究で著者は藍藻類が産生する RiPPs の一群、シアノバクチンの生合成経路に着目した。シアノバクチンの生合成過程では、プレニル基転移酵素（PT）により環状ペプチドの側鎖官能基上へプレニル基が導入される例が数多く知られている。これら PT は修飾部位に対して厳密な位置選択性を示す一方、それ以外の部分構造に対しては比較的高い基質許容性を示すことから、ペプチドの官能基選択的アルキル化酵素として応用が期待されている。

まず第2章において、Arg 側鎖グアニジン部位に2つのプレニル基を有する初のシアノバクチン argicyclamide 類に着目し、その生合成経路から Arg 側鎖選択的なビスプレニル化酵素 AgcF を同定した。さらに本酵素が argicyclamide のプレニル化に特化した PT であり、基質選択性が非常に厳格であることを明らかにした。第3章では、より基質選択性が寛容な Arg 選択的ビスプレニル化酵素を取得するために、ゲノムマイニングにより新たなホモログ酵素 DciF を見出し、本酵素の機能解析を行った。DciF は AgcF と比較して寛容な基質選択性を有することを明らかにし、X 線結晶構造解析とドッキングシミュレーションを通じて DciF の触媒機構とプレニル化回数制御の構造基盤を解明した。

さらに第4章において、著者は非リボソーム型ペプチド環化酵素 PBP-type TE を用いた環状ペプチドの化学酵素ハイブリッド合成法と基質選択性が寛容な Arg 選択的ビスプレニル化酵素 DciF を組み合わせることでプレニル化環状ペプチドの簡便かつ効率的合成手法の開発を目指した。結核菌に対して抗菌活性を示す環状ヘキサペプチド wollamide B1 をモデル基質として配列中に L-Arg と D-Arg を両方含む鎖状基質を用いて PBP-type TE の一種、WolJ による環化、および DciF によるプレニル化を逐次的に行った。その結果、WolJ は定量的に鎖状ペプチドを環化し、

DciF は L-Arg 選択的にビスプレニル化を触媒し、96%の高い変換効率でビスプレニル化環状ペプチドを得た。さらに反応条件を最適化することで、環化およびプレニル化をワンポットで行った場合にも同等の変換率が得られ、本手法が簡便かつ高効率な環状ペプチド構造多様化法であることを示した。

これを要するに、著者は、シアノバクテリ由来のペプチド系天然物生合成酵素から、世界初となる Arg 選択的ビスプレニル化酵素を発見し、その触媒機能の詳細を明らかにした。さらに、基質選択性が寛容な Arg 選択的ビスプレニル化酵素 DciF とペプチド環化酵素 PBP-type TE 組み合わせることで効率的かつ簡便なプレニル化環状ペプチド合成法を開発した。これらの成果は、ペプチド創薬に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（薬科学）の学位を授与される資格あるものと認める。