

# 研究成果報告書

1. 研究課題名：グラム陰性細菌に作用する抗菌ペプチドの創出

2. 研究代表者氏名：藤浪大輔

3. 研究発表（論文、著書、学会発表等があれば記載してください）

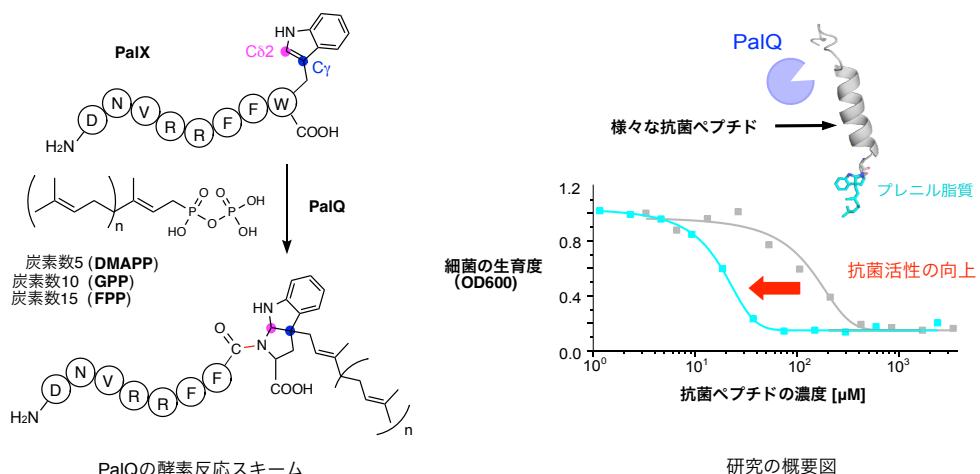
(論文) Expanding the Chemical Space of Antimicrobial Peptides via Enzymatic Prenylation, Hikari Ozawa, Azusa Miyata, Seiichiro Hayashi, Noriyuki Miyoshi, Koichi Kato, Sohei Ito, and Daisuke Fujinami, Journal of the American Chemical Society 2025 147 (29), 25642-25651  
DOI: 10.1021/jacs.5c06850

(学会発表) 酵素を用いた脂質修飾は抗菌ペプチドの活性を向上させる, 小澤日華里、宮田梓、伊藤 創平、藤浪 大輔、第 25 回日本蛋白質科学年会 (2025): 酵素を用いた脂質修飾は抗菌ペプチドの活性を向上させる, 小澤日華里、宮田梓、伊藤 創平、藤浪 大輔、第 47 回日本分子生物学会 (2024)

4. 研究実績（必要であれば図を用いても構いません）

(概要)

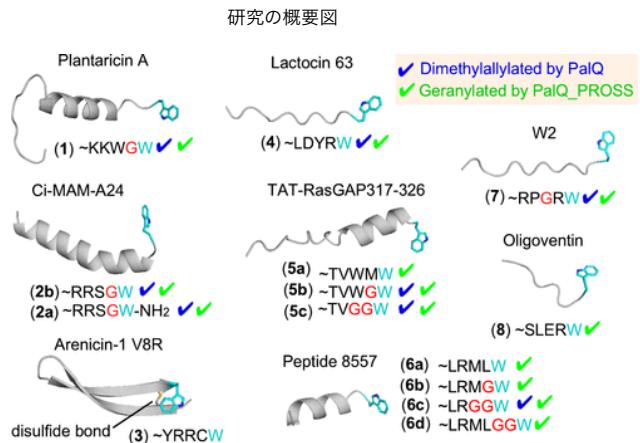
感染症の拡大が世界的な課題となるなか、新規抗生物質の開発に加えて、既存抗菌ペプチドの化学修飾による高活性化は有力な選択肢である。申請者らはパニバチラス属から新規プレニル脂質修飾酵素 PalQ を同定し (Adv. Sci., 2024)、PalX と呼ばれるペプチドの C 末端トリプトファン側鎖インドール基を選択的に脂質修飾できることを示した。本研究では PalQ を各種抗菌ペプチドに適用し、グラム陽性菌に加えて大腸菌（グラム陰性）に対しても最大 18 倍の活性向上を得た (J. Am. Chem. Soc., 2025)。分子動力学計算により、活性向上はペプチドの細胞膜への親和性上昇に起因することが示唆された。PalQ は抗菌ペプチドの膜親和性と抗菌力を同時に高める汎用的な酵素的脂質化プラットフォームとして有望である。



PalQの酵素反応スキーム

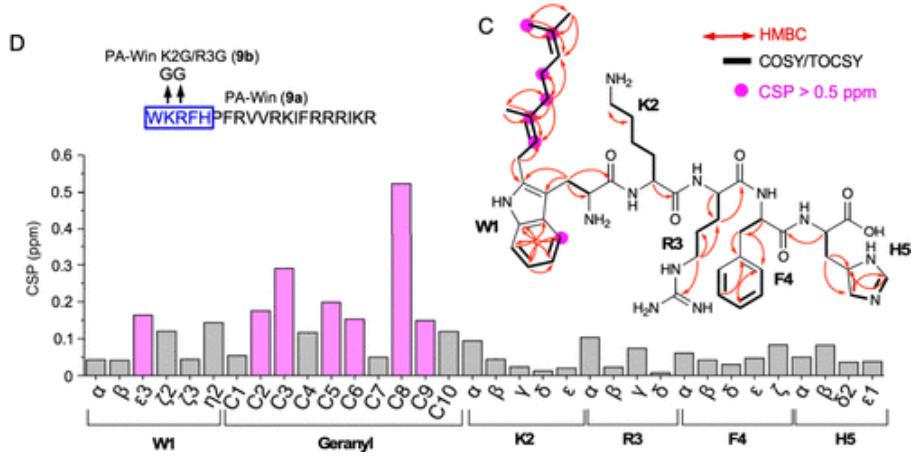
(詳細 1:PalQ による様々な抗菌ペプチドの脂質化)

抗菌ペプチドデータベース (APD) から、N 末端または C 末端にトリプトファンを有するペプチドを選定した。各ペプチドについて、PalQ と炭素数 C5-C15 のプレニル供与体 (DMAPP, GPP, FPP) を用い試験管内で反応させ、生成物を MALDI-TOF-MS で解析して脂質化の有無を評価した。その結果、多数のペプチドで脂質化体の生成が確認され、末端トリプトファンを基質認識要素とする PalQ の高い基質許容性が示された。右図において、脂質化が確認されたペプチドはチェックマークでラベルしてある。



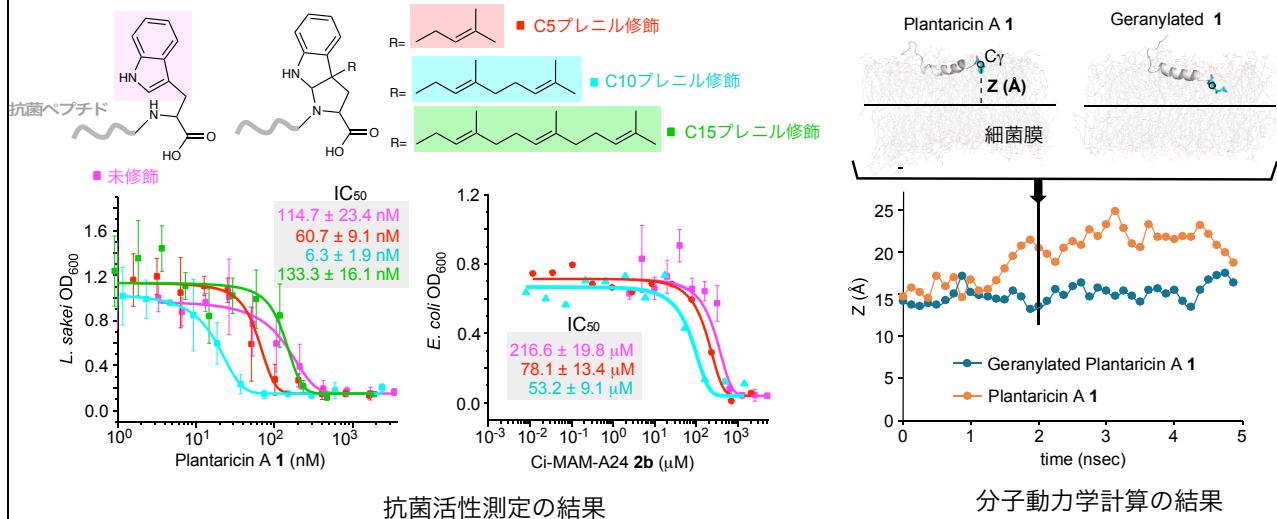
(詳細 2: 脂質化抗菌ペプチドの化学構造解析)

N 末端トリプトファンへの脂質化が新規反応であったため、NMR を用い化学構造を決定した。解析の結果、トリプトファン側鎖インドール環の C<sub>δ</sub>2 位にプレニル基が付加していることを同定した。さらに膜模倣体である DPC (dodecylphosphocholine) を段階的に滴定すると、プレニル脂質鎖近傍のシグナルに顕著な化学シフト摂動 (下図縦軸:CSP) が集中して観測された。これらの結果は、導入したプレニル脂質鎖が膜様環境と優先的に相互作用することを示唆する。



(詳細 3: 抗菌ペプチドの脂質化は抗菌活性を向上させる)

グラム陽性菌に作用する Plantaricin A、グラム陰性菌に対して抗菌活性を示す Ci-MAM-A24 について、プレニル脂質化が抗菌活性に及ぼす影響を調査した。その結果、炭素数 C10 のプレニル化において最大 18 倍抗菌活性が上昇する結果となった。また、分子動力学計算により、脂質修飾を施した抗菌ペプチドの細菌膜での動態を計算した。その結果、プレニル脂質部分が膜へ深く挿入されることが明らかになった。膜への挿入度は膜中心とペプチド C 末端の距離 Z にて定量した。



抗菌活性測定の結果

分子動力学計算の結果

(まとめ)

以上の結果を J. Am. Chem. Soc.誌にて報告した。また、研究結果は静岡新聞、科学新聞、Science Japan (英語版)、客観日本 (中国語版) にて紹介された。今後は、臨床上重要な病原菌に対して、脂質化ペプチドの抗菌活性を体系的に評価する。あわせて、polymyxin を含む臨床応用中の抗菌ペプチドを対象に PalQ による脂質化効果を検証し、適用可能性と有効な脂質鎖設計指針を明確化する。