

抗がん剤 5-アザシチジンの特徴的骨格の形成機構を解明

～酵素による「骨格編集」で1,3,5-トリアジン環をつくる～

ポイント

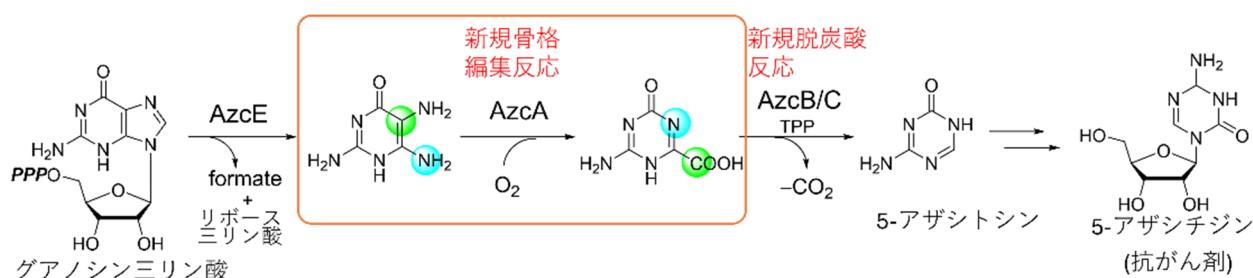
- ・約 60 年未解明の抗がん剤「5-アザシチジン」の生合成遺伝子群を発見し、骨格形成機構を解明。
- ・ピリミジン環から 1,3,5-トリアジン環への「骨格編集反応」を触媒する新規酵素 AzcA を発見。
- ・新しい生体触媒や有用物質創製への応用可能性に期待。

概要

北海道大学大学院工学研究院の大村 徹教授（研究当時、現・北海道大学名誉教授）、小笠原泰志准教授（研究当時、現・同研究院教授）、猪熊泰英教授、富山大学和漢医薬学総合研究所の森田洋行教授、台湾中央研究院ゲノミクス研究センターのツンリン・リー教授、福井県立大学生物資源学部の濱野吉十教授、東京大学大学院薬学系研究科の内山真伸教授らの研究グループは、血液がんの治療に用いられている抗がん剤「5-アザシチジン」*1について、約 60 年間不明であった生合成機構を明らかにしました。

5-アザシチジンは、骨髄異形成症候群などの血液がんの治療に用いられている核酸系抗がん剤です。化学合成化合物として開発された後、1966 年に放線菌が生産する天然物としても発見されました。本研究では、5-アザシチジンを生産する放線菌のゲノム解析から生合成遺伝子クラスター*2を見だし、組換え酵素を用いた生化学解析、X 線結晶構造解析*3、クライオ電子顕微鏡解析*4、同位体標識実験*5、量子化学計算などを組み合わせて、生合成に関わる酵素の働きを詳細に解析しました。その結果、AzcE、AzcA、AzcB/C の 3 種類の酵素が、これまで知られていなかった新規反応を触媒し、5-アザシチジンの塩基部分である 5-アザシトシン*6の骨格をつくることを明らかにしました。なかでも AzcA は、ピリミジン環の炭素-窒素骨格を再構築する「骨格編集反応」*7により、5-アザシトシンに特徴的な 1,3,5-トリアジン環*8を形成する新規酵素です。また、AzcB/C は珍しい脱炭酸反応を触媒することも分かりました。本成果は、長年医薬品として利用されてきた天然物の生合成に隠されていた新しい酵素化学を明らかにするものであり、今後、酵素を利用した新たな分子骨格変換や有用物質の創製につながることを期待されます。

なお、本研究成果は、2026 年 9 月 7 日（月）公開の Nature Catalysis 誌にオンライン掲載されました。



【背景】

5-アザシチジンは、DNA や RNA の構成単位の一つであるシチジンに類似した核酸系化合物で、骨髓異形成症候群などの血液がんの治療薬「アザシチジン」として現在も利用される重要な医薬品です。その塩基部分である 5-アザシトシンは、シトシンの 5 位の炭素原子が窒素原子に置き換わった、特徴的な 1,3,5-トリアジン環を持っています（図 1 左上）。5-アザシチジンは、1964 年に化学合成された核酸アナログとして報告されましたが、その後 1966 年に放線菌 *Streptomyces mobaraensis* が生産する天然物としても発見されました。しかし、化学合成によって供給される医薬品として広く認識されてきたことから、その生合成は研究されておらず、特徴的な 1,3,5-トリアジン骨格が天然でどのように形成されるのかは、約 60 年間にわたって不明でした。

そこで本研究では、5-アザシチジンを生産する微生物のゲノムから生合成に関わる遺伝子を探索し、対応する酵素の働きを生化学的に解析することで、5-アザシチジンの生合成機構の解明を行いました。

【研究手法】

5-アザシチジンを生産する放線菌と非生産菌のゲノム情報を比較することで、生産菌のみに存在する 9 個の遺伝子（*azcA*～*azcI*）が連続して存在する領域を見いだしました。さらに、この遺伝子群を別の放線菌に導入すると 5-アザシチジンが生産されたことから、この領域が 5-アザシチジンの生合成遺伝子クラスターであることを確認しました（図 1 右上）。

次に、生合成遺伝子がコードする酵素を組換えタンパク質として調製し、試験管内で酵素反応を再構成して、生成物を液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）などにより解析しました。また、AzcE についてクライオ電子顕微鏡解析、AzcA 及び AzcB/C について X 線結晶構造解析を行い、基質や生成物を結合した酵素の立体構造を原子レベルで明らかにしました。これらの構造解析に加え、同位体標識実験や量子化学計算を組み合わせることで、それぞれの酵素が特徴的な化学反応を触媒する仕組みを解析しました。

【研究成果】

生化学的解析の結果、5-アザシトシンの特徴的な 1,3,5-トリアジン骨格は、グアノシン三リン酸（GTP）を出発原料に、AzcE、AzcA、AzcB/C という、これまで知られていなかった特徴的な反応を触媒する 3 種類の酵素が順番に働くことで形成されることが明らかになりました（図 1 下）。AzcE は、既知の GTP シクロヒドロラーゼと相同性を有しますが、GTP から 2,5,6-トリアミノピリミジン-4(1*H*)-オンの生成を触媒する新規酵素であることが明らかになりました。続いて AzcA は、AzcE によって生成したピリミジン中間体の炭素－窒素骨格を大きく組み替え、1,3,5-トリアジン環を持つ中間体へ変換することが分かりました。この反応では、酸素分子による酸化をきっかけとしてピリミジン環の炭素－炭素結合を切断し、炭素－窒素骨格を再構築することで 1,3,5-トリアジン環を形成します。このように、分子骨格を構成する結合を切断・形成して骨格そのものを組み替える反応は「骨格編集反応」と呼ばれます。新規性の高い反応であったため、同位体標識実験、X 線結晶構造解析、アミノ酸置換実験及び量子化学計算を組み合わせ、AzcA の役割を調べたところ、活性中心の金属イオンと周囲の水素結合ネットワークによって、骨格編集の鍵となる炭素－炭素結合切断反応のエネルギー障壁が低下することが示されました。

最後に AzcB/C は、AzcA によって生成した 1,3,5-トリアジン環を持つ中間体から二酸化炭素を取り除き、5-アザシトシンを生成します。AzcB/C はビタミン B1 に由来する補酵素であるチアミンピロリン酸（TPP）を利用する脱炭酸酵素です。一般的な TPP 依存性酵素では α -ケト酸のケト基が反

応点となりますが、AzcB/C では α -イミノカルボン酸のイミンを反応点として利用することが、酵素反応解析と X 線結晶構造解析から明らかになりました。このような反応は、TPP 依存性酵素としてこれまでに例のないものです。

これらの結果から、5-アザシチジンに特徴的な 5-アザシトシン骨格が、既知の生合成反応とは大きく異なる一連の酵素反応によってつくられることが明らかになりました。

【今後への期待】

本研究により、約 60 年間不明であった 5-アザシチジンの天然での生合成に関わる遺伝子クラスターが同定され、その特徴的な 5-アザシトシン骨格を形成する酵素反応の仕組みが明らかになりました。また、AzcE による新しい GTP シクロヒドロラーゼ反応、AzcA による骨格編集反応、AzcB/C による特異な TPP 依存性脱炭酸反応という、三つの新しい酵素化学が見いだされました。特に AzcA が触媒する骨格編集反応は、分子の基本骨格を直接組み替えることができる点で、新しい生体触媒として興味深い反応です。今後、反応に必要な分子構造や電子的性質をさらに明らかにするとともに、酵素の機能を改変することで、利用できる基質の範囲を広げられる可能性があります。

こうした研究が進むことで、天然には存在しない化合物に対しても酵素による骨格編集を行い、従来の化学合成とは異なる方法で多様な含窒素複素環を構築できる可能性があります。本成果は、新しい生体触媒の開発や、医薬品をはじめとする有用物質の創製につながることが期待されます。論文でも、AzcA の反応原理の理解と酵素工学による基質範囲の拡張が、精密な骨格編集法へ発展する可能性が示されています。

【謝辞】

本研究の一部は、文部科学省科研費（JP16H06452、JP22H05130）、JSPS 科研費（JP22H04976、JP18H03937、JP23H02145、JP25K02418）、台湾国家科学及技術委員会研究費（111-2113-M-001-031-MY3）、公益財団法人アステラス病態代謝研究会研究助成（2024A2168）の支援を受けて実施されました。

論文情報

論文名	Enzymatic skeletal editing reaction forming the 1,3,5-triazine core during biosynthesis of the anticancer nucleoside analogue 5-azacytidine（抗がん性ヌクレオシドアナログ 5-アザシチジンの生合成において 1,3,5-トリアジン骨格を形成する酵素的骨格編集反応）
著者名	梅澤朱理 ¹ （研究当時）、角田 毅 ² （研究当時）、中嶋 優 ³ 、Yung-Lin Wang ⁴ 、米田智樹 ⁵ 、丸山千登勢 ⁶ 、Ning-Shian Hsu ⁴ 、松山太郎 ⁷ 、宮本和範 ⁷ 、佐藤 玄 ⁸ 、下瀬明日葉 ⁷ 、高澤怜央 ⁷ 、濱野吉十 ⁶ 、Tsung-Lin Li ⁴ 、猪熊泰英 ² 、内山真伸 ⁷ 、小笠原泰志 ² 、森田洋行 ³ 、大利 徹 ² （研究当時）（ ¹ 北海道大学大学院総合化学院、 ² 北海道大学大学院工学研究院、 ³ 富山大学和漢医薬学総合研究所、 ⁴ 台湾中央研究院ゲノミクス研究センター、 ⁵ 国際医療福祉大学成田薬学部、 ⁶ 福井県立大学生物資源学部、 ⁷ 東京大学大学院薬学系研究科、 ⁸ 東京大学大学院農学生命科学研究科）
雑誌名	Nature Catalysis（化学の専門誌）
D O I	10.1038/s41929-026-01611-x
公表日	2026 年 9 月 7 日（月）（オンライン公開）

お問い合わせ先

北海道大学大学院工学研究院 教授 小笠原泰志（おがさわらやすし）

T E L 011-706-7816 F A X 011-706-7118 メール yogasawa@eng.hokudai.ac.jp

U R L https://www.eng.hokudai.ac.jp/labo/tre/ABCLab_jp/index.html

北海道大学 名誉教授 大井 徹（だいにとおる）

メール dairi@eng.hokudai.ac.jp

配信元

北海道大学社会共創部広報課（〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

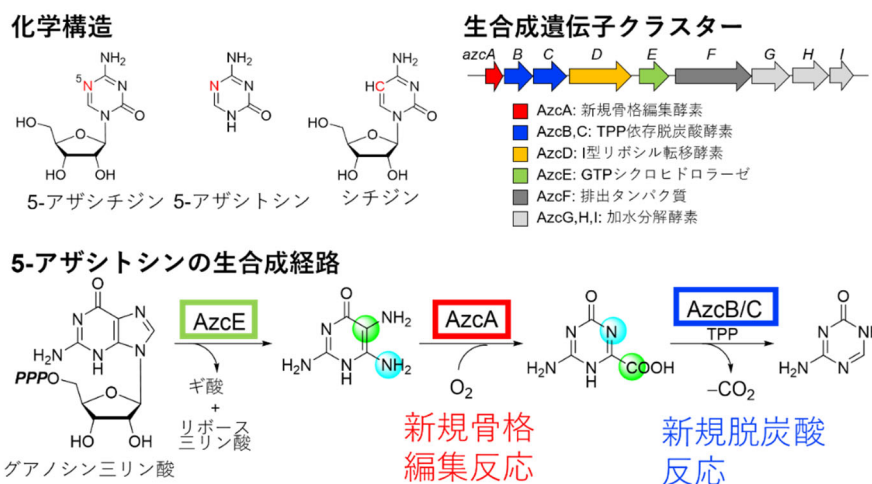


図 1. 5-アザシチジン、5-アザシトシン、シチジンの構造（左上）、*Streptomyces mobaraensis* から同定した 5-アザシチジン生合成遺伝子クラスター（右上）、5-アザシトシンの生合成経路（下）

【用語解説】

- *1 5-アザシチジン … シチジンに類似した核酸系化合物で、5-アザシトシンを塩基部分として持つ。骨髄異形成症候群などの治療に用いられる抗がん剤である。
- *2 生合成遺伝子クラスター … 天然物の生合成に関わる複数の遺伝子が、微生物のゲノム上でまとまって存在する領域。
- *3 X線結晶構造解析 … タンパク質などの結晶に X線を照射して得られる回折データから、分子の三次元構造を原子レベルで決定する手法。
- *4 クライオ電子顕微鏡解析 … 試料を急速に凍結して電子顕微鏡で観察し、多数の画像からタンパク質などの三次元構造を高い分解能で決定する手法。
- *5 同位体標識実験 … 通常とは質量の異なる安定な同位体で原子を標識し、化学反応の前後でその原子の行方を追跡する実験。
- *6 5-アザシトシン … 5-アザシチジンの塩基部分を構成する化合物。1,3,5-トリアジン骨格を有する。
- *7 骨格編集反応 … 分子骨格を構成する原子間の結合を切断・形成することにより、分子の基本骨格そのものを組み替える化学反応。
- *8 1,3,5-トリアジン環 … 炭素原子 3 個と窒素原子 3 個が交互に並んだ六員環構造。窒素を含む複素環骨格の一種である。