（様式４）

二国間交流事業 共同研究報告書

令和５年４月１日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

［日本側代表者所属機関・部局］
静岡県立大学・薬学部
［職・氏名］ 教授・渡辺(わたなべ) 賢二(けんじ)

［課題番号］
JPJSBP 120219937

1. 事 業 名 相手国:米国 (振興会対応機関:OP)との共同研究

2. 研究課題名

（和文） 計算化学を用いた酵素反応メカニズムの解明と活用

（英文） Integrating Computational and Experimental Approaches for New Paradigms in Molecule Synthesis

3. 共同研究実施期間 令和３年 ４月 １日 ～ 令和５年 ３月 31 日（共同研究: ２ 年 ヶ月）

【延長前】 年 月 日 ～ 年 月 日 (年 ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

University of California Los Angeles・Professor・Yi Tang

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		3,800,000 円
内訳	1年度目執行経費	1,900,000 円
	2年度目執行経費	1,900,000 円
	3年度目執行経費	－ 円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	13 名
相手国側参加者等	16 名

＊ 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
１年度目	0	0	0 (0)
２年度目	2	0	1 (0)
３年度目			( )

＊ 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

学術的スタンディングポイント

これまでの研究で明らかとなっている Diels-Alderase は、solanapyrone 生合成では酸化酵素が、また研究代表者が見出した macrophomate 生合成では脱炭酸酵素といったように、Diels-Alder 反応ではジエンおよびジエノフィルの 2 つの基質が必須となるのであるが、上記 2 つの酵素はそれぞれ酸化あるいは脱炭酸によりジエノフィルを形成する酵素であって、Diels-Alder 反応という反応の遷移状態形成を触媒する酵素としての統一性は見受けられなかった。研究代表者が見出した macrophomate 合成酵素は、現在多くの論文や総説等で"Diels-Alderase"として紹介されている。一方で当初、macrophomate 合成酵素は solanapyrone のようにシクロヘキセン環部分に不斉炭素原子を持たないため、環化付加反応を触媒する酵素 Diels-Alderase の関与があると結論づけられない面があった。この後、macrophomate 合成酵素を題材として Diels-Alderase の実在性を証明すべく多くの研究が行われた。取り分け、計算化学よる酵素反応の分子力場的な緻密な解析がなされ、これまでの標識化合物の取り込み実験による天然物有機化学と違った視点に立ったデータの蓄積がなされ、"Diels-Alderase"とは何かを問う普遍的な真理解明に迫るための蝟集および問題提起をなした。

今回の研究による上記問題の解決 (CghA による Diels-Alder 反応)

ペリ環状反応に関しては、以前に触媒活性を持つ抗体触媒に関する研究が盛んに行われた。これは基質の反応遷移状態を模倣した化学構造を抗体に認識させ、その化学構造を保持できるような抗体を作製するもので、望む酵素様抗体をスクリーニングすることによって見出すことができる優れた手法である。ハプテンの巧妙な設計にもかかわらず Diels-Alder 反応の抗体触媒は活性が極めて低い。これは Diels-Alder 反応の遷移状態と生成物の構造があまりにも類似していると考えられているためであり、酵素 Diels-Alderase が単に遷移状態の活性化エントロピーを下げる空間を提供しているのではないことを示唆している。Diels-Alderase は、一体どのようにして生成物阻害を回避しているのかといった多くの興味が持たれていた。研究代表者はかつて自身が発見した macrophomate 合成酵素とは異なりジエンとジエノフィルを生成するための付加反応を一切伴わない Diels-Alder 反応のみを触媒する酵素 CghA を発見した。予測どおりホモロジー検索などでは反応の予測が一切立たない本酵素の結晶化を成し遂げ、さらに天然の生成物を用た共結晶化に成功し、X 線結晶構造解析を完了した。その結果、ジエンとジエノフィルを有する鎖状の基質分子は酵素活性部位内で(*E*)-*exo*-enol 体のコンフォメーションを保持され軌道の重なりと共に環化することが明らかとなった。しかしながら、天然物である生成物は(*Z*)-*exo*-enol 体であることが既に知られていた。CghA は、生成物(*Z*)-*exo*-enol 体よりもエネルギー準位が高い(*E*)-*exo*-enol 体を中間体とすることで生成物阻害を見事に回避し、極めて高い活性で環化生成物を放出することが示された。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

海外の共同研究者と JSPS がリーダーシップを発揮できる国際共同研究を遂行できる点において、これまでにない異次元の共同研究にすることができた。これは、研究費の活用方法と我々研究者側の能力がこれまで制限されていたため実現できなかったのだが、本プログラムによって、JSPS は海外に研究拠点を得ることができ、情報収集を含め大きなメリットがあることは間違いない。また、博士研究員の人件費および若手研究者派遣費用を支出できるところも、相手国に足元を見られることなく、対等な立場で共同研究を遂行できる点

も大きなメリットである。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

国際的学術交流の成果は海外トップレベル研究者との**共同研究相乗効果でもたらされるインパクトファクターの極めて高い学術雑誌**による発表となる。以下、Tang 教授との共著論文およびインパクトファクターを記した。
本プログラムの参加者には下線を付した。

Niwa, K., Ohashi, M., Xie, K., Jamieson, C., Sato, M., Watanabe, K., Liu, F., Houk, K., Tang, Y. Enzymes-catalyzed isomerization and electrocyclization of highly conjugated polyenes in polycyclic natural product biosynthesis. *J. Am. Chem. Soc.* in press.
＊インパクトファクター：16.383

Liu, M., Ohashi, M., Hung, Y.-S., Scherlach, K., Watanabe, K., Hertweck, C., Tang, Y. AoiQ catalyzes geminal dichlorination of 1,3-diketone natural products. *J. Am. Chem. Soc.* 2021, 143, 7267-7271.
https://doi.org/10.1021/jacs.1c02868
＊インパクトファクター：16.383

Sato,M., Kishimoto, S., Yokoyama, M., Jamieson, C. S., Narita, K., Maeda, N., Hara, K., Hashimoto, H., Tsunematsu, Y., Houk, K., Tang, Y., Watanabe, K. Catalytic mechanism and endo-to-exo selectivity reversion of an octalin-forming natural Diels-Alderase. *Nature Catalysis* 2021, 4, 223-232.
https://www.nature.com/articles/s41929-021-00577-2
＊インパクトファクター：40.706

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

現代においては、学術的進歩は以前より極めて早く、その進歩を創り出し、その中心にいなくてはならない。これは、情報化およびグローバル化によって国際的に中心にいなくては得られる情報が制限を受けることに他ならない。我々の研究分野である天然物化学においては、これまでと同様に日本国内だけで研究の進展を試みたところで、多くの研究費と多くの研究者を擁する中国を相手に熾烈な国際競争に勝ち抜くことはできない。現在、天然物の化学構造決定において、かつて日本が米国を追い越した時と同じような状況となり、日本はかつての米国と同じ立場に立たされている。すなわち、中国を相手にした場合、圧倒的に進歩したアイディアとテクノロジーだけが日本を勝者へと導く。これを達成するためには、日本国だけでは到底なし得ない。私、渡辺賢二が知る限り、本プログラムの有効性はこれまでの JSPS の研究支援には無い、画期的な国際共同研究を生み出したと言える。現に、我々の研究成果がそれを物語っているだろう。従って、本プログラムにおける今回の我々の研究成果は、今後の自然科学研究の国際競争力を支え得るものと確信する。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

UCLA に本学所属の若手研究者（教員）が自由に研究できる場を得ることができた。また、共同研究による成

果によって、本学所属の教員が海外での研究経験を積む機会を得ることができた。国際共同研究によって招へいされた研究者と接することや、成果発表会および交流活動によって、最先端の科学を知る機会を大いに得ることができ、教員のみならず大学院学生および学部学生も刺激を受け、日々の研究に打ち込む姿勢が引き上げられ、教育上も極めて大きな意義があった。また、本学としては大学研究におけるグローバル化の大きな足がかりとなったことは明確である。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どの様な発展の可能性が認められるか)

国際共同研究の相手である UCLA に JSPS の支援によって多くの研究材料が整い、また若手研究者がそこで自由に共同研究を推進できる環境が整った。上記の通り、多くのすばらしい研究成果が出つつある。本研究課題は実質的には、僅か 2 年の研究期間しか与えられていない一方で、2 年間ではあったが時間をかけ JSPS の支援のもと相手国との信頼関係を構築することが出来た。今後、本分野を自然化学研究の中心とし我々がその中で世界一となる絶好のチャンスが訪れたと言っても過言ではない。それを達成すべく、是非とも本プロジェクトを継続し、我々に本課題の最終目標達成のため課題を更新させて頂きたい。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記載してください)
例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞など

JSPS の本プログラムは日本側 1 研究グループに 200 万円／年の研究支援を行っています。上記のような、真の国際共同研究にはさらに多くの研究費が必要となりますが、本プログラム無くして本学あるいは私の自己資金で到底遂行することはできません。今後、JSPS の研究拠点事業などに申請し、大学間協定の締結を進め一層強力な国際共同研究体制を構築する所存である。

本プログラムは、日本側 1 研究グループに対して上記の予算規模で行われます。これが、例えば以前の JSPS のプログラムのように、大学院専攻科や学部に対する支援では、単にバラマキとなり最先端研究と言った場合、何の成果も挙げられないでしょう。これは、プロジェクトに対する責任の所在が明確ではないからであると考えられます。また、大学独自で取り組む場合には専攻科あるいは学部単位で取り組むことにしなければ多数の賛同を得られず、プログラム構築を達成できないでしょう。従って、現在募集が停止されている「日本学術振興会　頭脳循環を加速する戦略的国際研究ネットワーク推進プログラム」の復活を強く望むところである。このプログラムは優れており、さらに言えば研究期間をこれまでの 2.5 年間から 5 年間に延長した場合、最良の国際共同研究支援プログラムとなるでしょう。

本プログラムの参加者で研究代表者および若手研究者の受賞

渡辺賢二　教授が 2021 年　英国王立化学会 HORIZON PRIZE　受賞
佐藤道大　講師が 2021 年　日本農芸化学奨励賞　受賞
岸本真治　助教が 2022 年　日本生薬学会　学術奨励賞　受賞
岸本真治　助教が 2022 年　第 64 回天然有機化合物討論会奨励賞（口頭発表）　受賞
浅井しほり（修士 2 年生）が 2021 年　第 23 回天然薬物の開発と応用シンポジウム優秀発表賞　受賞
南 歩実（修士 2 年生）が 2022 年　第 9 回食品薬学シンポジウム優秀発表賞　受賞
南 歩実（修士 1 年生）が 2021 年　第 23 回天然薬物の開発と応用シンポジウム優秀発表賞　受賞
岡本拓実（研究支援員）が 2021 年　日本生薬学会第 67 回年会優秀発表賞　受賞