

様式6（第15条第1項関係）（採択年度＝平成26年度以降）

28年 4月 6日

独立行政法人 日本学術振興会理事長 殿	研究機関の設置者の 所在地	〒422-8526 静岡県静岡市駿河区谷田52-1	
	研究機関の設置者の 名称	静岡県公立大学法人	
	代表者の職名・氏名	理事長 本庶 佑 (記名押印)	
	代表研究機関名 及び機関コード	静岡県立大学	23803

平成27年度戦略的国際研究交流推進事業費補助金
実績報告書

戦略的国際研究交流推進事業費補助金取扱要領第15条第1項の規定により、実績報告書を提出します。

整理番号	G2604	補助事業の 完了日	平成28年3月31日	関連研究分野 (分科細目コード)	生物分子化学 (2501)
------	-------	--------------	------------	---------------------	------------------

補助事業名（採択年度） 日米独によるケミカルバイオロジー研究における世界トップレベルネットワークの構築(平成26年度)	補助金支出額（別紙のとおり） 40,440,000 円
--	--------------------------------

代表研究機関以外の協力機関 該当無し

海外の連携機関 (1)University of California Los Angeles (2)Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology

1. 事業実施主体

フリガナ 担当研究者氏名	所属機関	所属部局	職名	専門分野
主担当研究者 渡辺賢二 (ワタナベ ケンジ)	静岡県立大学	薬学部	准教授	天然物化学
担当研究者 野口博司 (ノグチ ヒロシ)	静岡県立大学	薬学部	教授	生合成工学
計2名				

フリガナ 連絡担当者	所属部局・職名	連絡先（電話番号、e-mailアドレス）
中嶋 圓 (ナカジマ マドカ)	静岡県立大学事務局 地域・産学連携推進室長 (特任准教授)	電話：054-264-5124 E-mail：renkei@u-shizuoka-ken.ac.jp

2. 本年度の実績概要

派遣・招へい等の実施実績

- (I) 主担当研究者(研究指導): 渡辺賢二(准教授)
指導先: 米国ハワイ州ホノルル市
Pacifichem 2015 国際会議で成果発表するのと同合わせ、Yi Tang 教授、Hsiao-Ching Lin、Wei Xu、恒松雄太、佐藤道大、平山裕一郎、大橋雅生も参加して、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主催研究会合を開催
出張期間: 2015年12月16日~2015年12月21日
- (II) 若手研究者: 佐藤道大(非常勤講師)
派遣先: Yi Tang 教授研究室、米国 University of California Los Angeles, Department of Chemical and Biomolecular Engineering
滞在研究期間: 2015年4月1日~2016年3月31日
- (III) 若手研究者: 恒松雄太(助教)
派遣先: Christian Hertweck 教授研究室、ドイツ Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology
滞在研究期間: 2015年4月1日~2015年9月30日
- (IV) 若手研究者: 平山裕一郎(非常勤講師)
派遣先: Christian Hertweck 教授研究室、ドイツ Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology
滞在研究期間: 2015年10月1日~2016年3月31日
- (V) 海外連携機関研究者: Yi Tang (Professor)
訪問先: 静岡(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主催研究会合場所)
出張期間: 2015年6月12日~2015年6月15日
- (VI) 海外連携機関研究者: Hsiao-Ching Lin (Assistant Professor)
訪問先: 静岡(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主催研究会合場所)
出張期間: 2015年6月12日~2016年6月16日
- (VII) 海外連携機関研究者: Yi Tang (Professor)
訪問先: 横浜(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主催研究会合場所)
出張期間: 2016年3月26日~2016年3月31日

派遣・招へい等の実施に対する成果の概要

上記(I)の実施に対する成果の概要

本研究課題における酵素反応遷移状態に関して議論した。得られた実験結果をまとめ作成した論文を、Angewandte Chemie International Editionへ1報、また Organic Lettersへ1報それぞれ投稿することを決めた。その後、下記「①学術雑誌等に発表した論文又は著書」における発表論文1および2として掲載の決定通知を受けた。投稿日は発表論文1が2016年1月27日、発表論文2が2016年2月5日である。また、下記「②学会等における発表」における発表番号13を除く7~15の学会発表する実験事実の確認、プレゼンテーションのチェックおよび今後の実験計画を議論し合意した。また、派遣されている佐藤道大非常勤講師および平山裕一郎非常勤講師に対する研究指導を行った。

上記(II~IV)の実施に対する成果は下記「5. 若手研究者の派遣実績」の項に記載

上記(V)および(VI)の実施に対する成果の概要

Yi Tang 教授および本プログラムに参加している Hsiao-Ching Lin 助教が静岡に来て具体的な実験および研究進捗状況について議論した。そこで、生合成酵素の酸化反応、特にシトク

ロム P450 の機能が関与した生体反応に着目した。ポリケチド系、ペプチド系およびテルペノイド系天然物の生合成に関してこれまでに様々な研究がなされ多くの知見が得られてきた。複雑な化学構造を持つ天然物においても、分子量の小さな普遍的に生合成されるユニットを基質として一旦鎖状構造の分子が生合成され、環化あるいは転移などの修飾を受け複雑な骨格構造へと変換される。本研究課題では、これら複雑な変換反応にしばしば関与している酸化還元反応の包括的な機能解析と天然物の分子多様性を明らかにすることも目的としているため、これらについて具体的な研究戦略を議論した。それによって、Pseurotin および pyranonigrin と言った複雑な化学構造を有する天然物の骨格生合成の解明に取り組むことに合意した。

上記(VII)の実施に対する成果の概要

本プログラムに参加するYi Tang 教授、渡辺賢二 准教授、恒松雄太 助教、大橋雅生 特任助教が横浜に集まり研究会合を行った。これは、日本薬学会年会で本プログラムの研究成果を発表するため、横浜に集まり、そこで全体会合を行うこととしたためである。そこで、UCLA Yi Tang教授から酵素機能の解析に関する成果発表を行って頂き討論した。また、本プログラムにおける海外共同研究者で同じくUCLAのKendall Houk教授研究室で得られた研究成果についてもTang教授から説明を受け議論した。これによって目的とする酵素CghAがDiels-Alder反応を触媒するという結論に至った。さらに、今後の本研究課題における全体的な研究方針を議論し、新たにこれまでに無い化学構造の構築におけるDiels-Alder反応の関与を予測した。この2量体化反応における本反応の関与を論文として平成28年8月までに発表する。

3. 到達目標に対する本年度の達成度及び進捗状況

本プログラムで機能解明を試みるとした全ての生合成酵素に関する研究は、超微量化合物の構造および反応状態を解析するための高性能核磁気共鳴装置が 2015 年 5 月下旬に配備された後、当初の進捗を上回る研究成果を挙げるに至っている。その結果、本年度における**当初の達成目標を達成し、極めて順調に進捗している**。その証拠として、本研究課題に関する実験結果をまとめ作成し投稿された論文は、Journal of the American Chemical Society、Angewandte Chemie International Edition および Nature Chemical Biology に掲載された。2015 年度成果に関して言えば、1 報の Angewandte Chemie International Edition (論文番号 1、**インパクトファクター=12.060**)、3 報の Journal of the American Chemical Society (論文番号 3、4、5、**インパクトファクター=12.113**) および 1 報の Nature Chemical Biology (論文番号 10、**インパクトファクター=14.273**) への掲載が決定されている。我々が日本学術振興会 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支援を受けて取り組んできた**国際研究交流は、ここで明確に「世界トップレベルネットワーク」となった**。これらの論文とその他の発表論文を合わせると、合計 12 報の論文成果を挙げた。また、本年度は注目度の高い国際学会を中心に 18 件の学会発表を行ってきた。その中には、主担当研究者(渡辺賢二)の国際学会での招待講演 4 件も含まれている。

従って、当初達成目標とした**世界 top 10%のクオリティー**を持つ国際的に重要とされる論文を**共同研究期間中に合計で 20 報発表することは達成されるであろう**。これを客観的な指標に基づく到達目標とした本研究課題は、研究の進捗状況において当初研究計画以上の飛躍的な成果をあげていると確信する。さらに、若い 3 名の研究者が中心となって取り組んでいる研究交流は、**平成 28 年度の研究によって本課題名でもある「日米独によるケミカルバイオロジー研究における世界トップレベルネットワークの構築」に必ずや到達するであろう**。

4. 日本側研究グループ（実施主体）の研究成果発表状況（本年度分）

①学術雑誌等（紀要・論文集等も含む）に発表した論文又は著書

論文名・著書名 等	
<p>（論文名・著書名、著者名、掲載誌名、査読の有無、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）について記入してください。）（以上の各項目が記載されていれば、項目の順序を入れ替えても可。）</p> <p>・査読がある場合、印刷済及び採録決定済のものに限って記載して下さい。査読中・投稿中のものは除きます。</p> <p>・さらに数がある場合は、欄を追加して下さい。</p> <p>・著者名について、主著者に「※」印を付してください。また、主担当研究者には<u>二重下線</u>、担当研究者については<u>下線</u>、若手研究者については<u>波線</u>を付してください。</p> <p>・海外の連携機関の研究者との国際共著論文等には、番号の前に「◎」印を、また、それ以外の国際共著論文等については番号の前に「○」印を付してください。</p>	
◎ 1	Yamamoto, T., Tsunematsu, Y., Hara, K., Suzuki, T., Kishimoto, S., Kawagishi, H., <u>Noguchi, H.</u> , Hashimoto, H., Tang, Y., Hotta, K., ※ <u>Watanabe, K.</u> Oxidative trans-to-cis isomerization of olefin in polyketide biosynthesis. Angew. Chem. Int. Ed. , in press. インパクトファクター=12.060 （査読有）
◎ 2	Sato, M., Winter, J. M., <u>Noguchi, H.</u> , Tang, Y., ※ <u>Watanabe, K.</u> Combinatorial generation of chemical diversity by redox enzymes in chaetoviridin biosynthesis. Org. Lett. , in press. インパクトファクター=6.364 （査読有）
◎ 3	Winter, J. M., Cascio, D., Dietrich, D., Sato, M., <u>Watanabe, K.</u> , Sawaya, M., Vederas, J. C., ※ <u>Tang, Y.</u> Biochemical and structural basis for controlling chemical modularity in fungal polyketide biosynthesis. J. Am. Chem. Soc. , 137, 9885-9893, 2015. インパクトファクター=12.113 （査読有）
◎ 4	Zou, Y., Zhan, Z., Li, D., Tang, M., <u>Watanabe, K.</u> , ※ <u>Tang, Y.</u> Tandem prenyltransferases catalyze isoprenoid elongation and complexity generation in biosynthesis of quinolone alkaloids. J. Am. Chem. Soc. , 137, 4980-4983, 2015. インパクトファクター=12.113 （査読有）
○ 5	Wong, F. T., Hotta, K., Chen, X., Fang, M., <u>Watanabe, K.</u> , ※ <u>Kim, C. Y.</u> Epoxide hydrolase-lasalocid A structure provides mechanistic insight into polyether natural product biosynthesis. J. Am. Chem. Soc. , 137, 86-89, 2015. インパクトファクター=12.113 （査読有）
6	Yamamoto, T., <u>Tsunematsu, Y.</u> , <u>Noguchi, H.</u> , Hotta, K., ※ <u>Watanabe, K.</u> Elucidation of pyranonigrin biosynthetic pathway reveals a mode of tetramic acid, fused γ -pyrone and exo-methylene formation. Org. Lett. , 17, 4992-4995, 2015. インパクトファクター=6.364 （査読有）
◎ 7	Sato, M., Yagishita, F., Mino, T., Uchiyama, N., Patel, A., Chooi, Y.-H., Goda, Y., Xu, W., <u>Noguchi, H.</u> , Yamamoto, T., Hotta, K., Houk, K. N., Tang, Y., ※ <u>Watanabe, K.</u> Involvement of lipocalin-like CghA in decalin-forming stereoselective intramolecular [4+2] cycloaddition. ChemBioChem , 16, 2294-2298, 2015. インパクトファクター=3.162 （査読有）
8	Sato, M., Yamada, H., Hotta, K., ※ <u>Watanabe, K.</u> Elucidation of shanorellin biosynthetic pathway and functional analysis of associated enzymes. MedChemComm , 6, 425-430, 2015. インパクトファクター=2.612 （査読有）
◎ 9	※ <u>Medema, M. H.</u> , <u>Tsunematsu, Y.</u> , <u>Hertweck, C.</u> , et al. Minimum information about a biosynthetic gene cluster. Nature Chemical Biology , 11, 625-631, 2015. インパクトファクター=14.273 （査読有）
10	Yang, X., Matsui, T., Mori, T., Taura, F., <u>Noguchi, H.</u> , Abe, I., ※ <u>Morita, H.</u> Preliminary crystallographic studies of a plant polyketide cyclase from <i>Cannabis sativa</i> . Acta Crystallographica , F71 , 1470-1474, 2015.（査読有）
○ 11	Kongkaew, S., Yotmanee, P., Rungrotmongkol, T., Kaiyawet, N., Meeprasert, A., Kaburaki, T., <u>Noguchi, H.</u> , Takeuchi, F., Kungwan, N., ※ <u>Hannongbua, S.</u> Molecular Dynamics Simulation Reveals the Selective Binding of Human Leukocyte Antigen Alleles Associated with Behcet's Disease. PLoS One , 10, e013117, 2015. インパクトファクター=3.702 （査読有）
12	※ <u>渡辺賢二</u> , 抗生物質の化学構造多様性を生み出す酵素の発見とそれら酵素による生物的全合成, <i>The Japanese Journal of Antibiotics</i> , 68, 55-67, 2015.（査読無）

②学会等における発表

発表題名 等	
(発表題名、発表者名、発表した学会等の名称、開催場所、口頭発表・ポスター発表の別、審査の有無、発表年月(西暦)について記入してください。)(以上の各項目が記載されていれば、項目の順序を入れ替えても可。) ・発表者名は参加研究者を含む全員の氏名を、論文等と同一の順番で記載すること。共同発表者がいる場合は、全ての発表者名を記載し、主たる発表者名は「※」印を付して下さい。発表者名について主担当研究者には <u>二重下線</u> 、担当研究者については <u>下線</u> 、若手研究者については <u>波線</u> を付して下さい。 ・口頭・ポスターの別、発表者決定のための審査の有無を区分して記載して下さい。 ・さらに数がある場合は、欄を追加して下さい。 ・海外の連携機関の研究者との国際共同発表には、番号の前に「◎」印を、また、それ以外の国際共同発表については番号の前に○印を付して下さい。	
◎ 1	※ <u>Kenji Watanabe</u> , (招待講演) "Development of catalysts from natural product biosynthesis as reagents for enzymatic syntheses of potential drugs as well as natural products" Biosystems Design Symposium 2.0, Exploration Theatre Matrix Level 4, Biopolis, シンガポール, 2016年3月21日 口頭発表 審査無
◎ 2	※ <u>Kenji Watanabe</u> , (招待講演) "Aspoquinolone biosynthesis: Non-heme dioxygenase catalyzes atypical oxidations of 6,7-bicyclic to form 6,6-quinolone core of viridicatin-type fungal alkaloid" Pacificchem 2015, Sheraton Waikiki, ホノルル, ハワイ, 米国, 2015年12月18日 口頭発表 審査無
◎ 3	※ <u>Kenji Watanabe</u> , (招待講演) "Elucidation of pyranonigrin biosynthetic pathway reveals mechanism of fused γ -pyrone, exo-methylene and spiral cyclobutane formation" Pacificchem 2015, Hilton Hawaiian Village, ホノルル, ハワイ, 米国, 2015年12月18日 口頭発表 審査無
◎ 4	※ <u>Kenji Watanabe</u> , (招待講演) "Development of catalysts from natural product biosynthesis as reagents for enzymatic syntheses of potential drugs as well as natural products" BIOTRANS 2015, ウイーン, オーストリア, 2015年7月28日 口頭発表 審査無
◎ 5	※ <u>Yuta Tsunematsu</u> , <u>Tsuyoshi Yamamoto</u> , <u>Hiroshi Noguchi</u> , <u>Kenji Watanabe</u> , "Harnessing the biosynthetic pathway in filamentous fungus" Biosystems Design Symposium 2.0, Exploration Theatre Matrix Level 4, Biopolis, シンガポール, 2016年3月21および22日 口頭発表 審査有
◎ 6	※ <u>Masao Oohashi</u> , <u>Tsuyoshi Yamamoto</u> , <u>Yuta Tsunematsu</u> , <u>Hiroshi Noguchi</u> , <u>Kenji Watanabe</u> , "Functional analysis of CgbE as a catalyst for a [4+2] cycloaddition reaction" Biosystems Design Symposium 2.0, Exploration Theatre Matrix Level 4, Biopolis, シンガポール, 2016年3月21および22日 口頭発表 審査有
◎ 7	※ <u>恒松雄太</u> , <u>野口博司</u> , <u>TANG Yi</u> , <u>渡辺賢二</u> : Pseurotin 類生合成におけるスピロ環形成機構の解明 日本薬学会第136年会(横浜市) 2016年3月28日 口頭発表 審査有
◎ 8	※ <u>大橋雅生</u> , <u>山本剛</u> , <u>恒松雄太</u> , <u>野口博司</u> , <u>渡辺賢二</u> : Chaetoglobosin A 炭素骨格構築における環化付加反応を触媒する酵素の精密機能解析 日本薬学会第136年会(横浜市) 2016年3月28日 口頭発表 審査有
◎ 9	※ <u>佐々侑寿香</u> , <u>山本剛</u> , <u>佐藤道大</u> , <u>野口博司</u> , <u>TANG Yi</u> , <u>渡辺賢二</u> : Sch210972 炭素骨格構築における[4+2]環化反応のメカニズム解明 日本薬学会第136年会(横浜市) 2016年3月28日 口頭発表 審査有
◎ 10	※ <u>Yuta Tsunematsu</u> , <u>Tsuyoshi Yamamoto</u> , <u>Hiroshi Noguchi</u> , <u>Kinya Hotta</u> and <u>Kenji Watanabe</u> , "Elucidation of Pseurotin biosynthetic pathway revealing the unexpected role of glutathione S-transferase in natural product biosynthesis" Pacificchem 2015, Hawaii Convention Center, ホノルル, ハワイ, 米国, 2015年12月18日 口頭発表 審査有
◎ 11	※ <u>Michio Sato</u> , <u>Fumitoshi Yagishita</u> , <u>Takashi Mino</u> , <u>Nahoko Uchiyama</u> , <u>Ashay Patel</u> , <u>Yit-Heng Chooi</u> , <u>Yukihiko Goda</u> , <u>Wei Xu</u> , <u>Hiroshi Noguchi</u> , <u>Kinya Hotta</u> , <u>Kendall N. Houk</u> , <u>Yi Tang</u> , and <u>Kenji Watanabe</u> , "Enzyme-Catalyzed Stereoselective Intramolecular Diels-Alder Reaction in Biosynthesis of Decalin-Containing Natural Products" Pacificchem 2015, Hawaii Convention Center, ホノルル, ハワイ, 米国, 2015年12月18日 口頭発表 審査有

◎ 12	※ <u>Yuichiro Hirayama</u> , <u>Noriyasu Ishikawa</u> , <u>Hiroshi Noguchi</u> , <u>Kinya Hotta</u> and <u>Kenji Watanabe</u> , "Aspoquinolone Biosynthesis: Non-heme Dioxygenase Catalyzes Atypical Oxidations of 6,7-Bicyclic to form 6,6-Quinolone Core of Viridicatin-Type Fungal Alkaloid" Pacificchem 2015, Hawaii Convention Center, ホノルル, ハワイ, 米国, 2015年12月18日 口頭発表 審査有
13	※ <u>Tsuyoshi Yamamoto</u> , <u>Yuta Tsunematsu</u> , <u>Hiroshi Noguchi</u> , <u>Kinya Hotta</u> and <u>Kenji Watanabe</u> , "Elucidation of Pyranonigrin biosynthetic pathway reveals mechanism of fused γ -pyrone, exo-methylene and spiral cyclobutane formation" Pacificchem 2015, Hawaii Convention Center, ホノルル, ハワイ, 米国, 2015年12月18日 口頭発表 審査有
◎ 14	<u>Shinji Kishimoto</u> , <u>Maho Shimizu</u> , <u>Noriyasu Ishikawa</u> , <u>Hiroshi Noguchi</u> and ※ <u>Kenji Watanabe</u> , "Stimulating a Transcription in <i>Penicillium</i> sp. FKI-2140 activates a silent biosynthetic pathway to Produce novel natural product" Pacificchem 2015, Hawaii Convention Center, ホノルル, ハワイ, 米国, 2015年12月18日 口頭発表 審査有
◎ 15	※ <u>Masao Oohashi</u> , <u>Yuzuka Sasa</u> , <u>Noriyasu Ishikawa</u> , <u>Hiroshi Noguchi</u> and <u>Kenji Watanabe</u> , "Biosynthesis of a Cancer-Inducing Compound in <i>Escherichia coli</i> " Pacificchem 2015, Hawaii Convention Center, ホノルル, ハワイ, 米国, 2015年12月18日 口頭発表 審査有
◎ 16	※ <u>平山裕一郎</u> , <u>石川格靖</u> , <u>野口博司</u> , <u>Tang Yi</u> , <u>渡辺賢二</u> : モノテルペン付加型キノロンアルカロイド 生合成機構の解明: Aspoquinolone 類における quinolone 骨格生合成酵素 dioxygenase の精密機能解析 第57回天然有機化合物討論会(横浜市)、2015年9月10日 口頭発表 審査有
◎ 17	※ <u>平山裕一郎</u> , <u>渡辺賢二</u> : 糸状菌が生産するモノテルペンキノロンアルカロイドの生合成研究 第50回天然物談話会(宮城県岩沼市)、2015年7月1-3日 ポスター発表 審査有
18	※ <u>大橋雅生</u> , <u>渡辺賢二</u> : 大腸がん原因物質 colibactin の化学構造解明 第50回天然物談話会(宮城県岩沼市)、2015年7月1-3日 ポスター発表 審査有

5. 若手研究者の派遣実績（計画）

【海外派遣実績（計画）】

年度	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	合計
派遣人数	2 人	3 人 (2 人)	4 人 (2 人)	5 人

※当該年度は実績、次年度以降は計画している人数を記載

【本年度の海外派遣実績】

派遣者①の氏名・職名： 佐藤道大・非常勤講師（H26.10.1～）

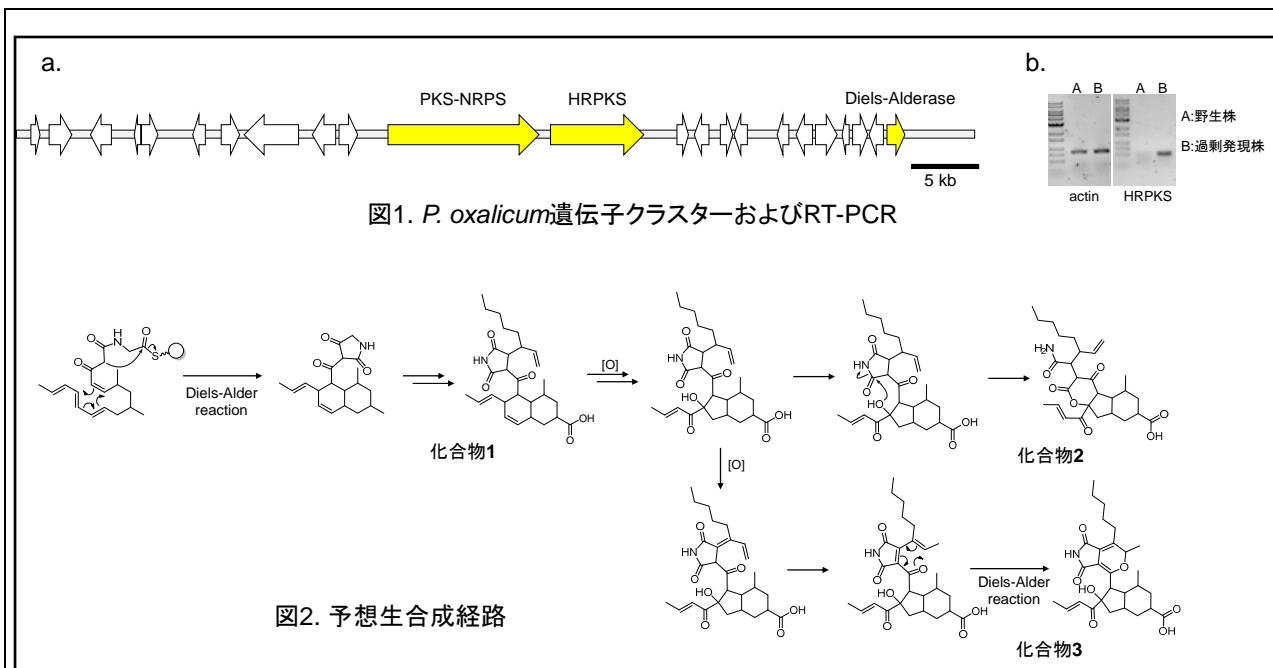
（当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動）

Diels-Alder 反応を触媒する酵素、Diels-Alderase は天然物の基本骨格を形作る非常に重要な酵素であるが、その報告例はいまだ少なく、本酵素に関する知見は不十分である。当研究室では、糸状菌が作る化合物とその生成における Diels-Alderase の役割について精力的に研究を行ってきた。

（具体的な成果）

現在 UCLA の Tang 教授との共同研究においては、我々が 2015 年に報告した Diels-Alderase、CghA の知見を深めるとともに、ゲノムマイニングを用いて Diels-Alderase によって生成される未知化合物の探索を行っている。

我々は、糸状菌 *Penicillium oxalicum* のある遺伝子クラスターに着目した。この遺伝子クラスターは前述の Diels-Alderase に加え、巨大な PKS-NRPS ハイブリッド酵素および HRPKS (High Reducing PKS) 酵素をコードしていた(図 1a)。このような遺伝子クラスターはこれまでに報告が無く、またこのクラスターに対応する化合物は糸状菌ケミカルデータベースにもほとんど例がなかった。そのため、この遺伝子クラスターからは新規化合物が生成されることが予測された。しかしながら、RT-PCR により本遺伝子クラスターは休眠状態であることが分かったため、強発現プロモーターを用いて遺伝子クラスターの活性化を試みた。その結果遺伝子発現量は上昇し(図 1b)、野生株では見られない化合物類 **1~3** の生産が確認された。それぞれ精製、構造決定することで、化合物 **1~3** が当初の予想通り、新規化合物であることが明らかとなった(図 2)。このうち化合物 **2** は 6・5・6 員環を有する新規骨格を持つ化合物であった。驚くべきことに、化合物 **3** はその生成過程において 2 回の Diels-Alder 反応を経ていることが示唆された(図 2)。この化合物の生成経路を詳細に研究することは、Diels-Alderase の制御機構解明に大きく貢献することが期待される。また新規骨格を有する化合物 **2** を含めたこれら化合物の生物活性についても現在解析を進めているところであり、本新規骨格とその活性相関について解明が待たれるところである。



派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間			合計
	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	
United States, University of California Los Angeles, Department of Chemical and Biomolecular Engineering, Yi Tang	176 日	360 日	120 日	656 日
米国・ハワイ・環太平洋国際化学会議参加		6 日		6 日

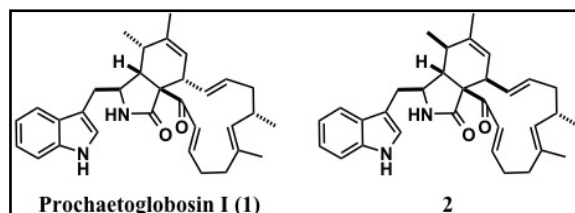
派遣者②の氏名・職名： 恒松雄太・助教 (H26.8.1～)

(当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)

取り組んでいる研究課題は化合物の基本骨格において 2 種類ある。両者とも糸状菌 *Chaetomium globosum* から単離され、Diels-Alder 反応の関与により生合成されると推定される。二つに分けて以下に記載した。

(I) Chaetoglobosin A は L-トリプトファンとポリケタイドから構築されるユニークな 5 環性の化合物である。その生合成中間体である prochaetoglobosin I (**1**) は分子内にシクロヘキセン環を有することから、その骨格は Diels-Alder 反応により形成されると推測されている。我々は遺伝子破壊実験により **1** の生合成には PKS-NRPS である CgbC および enoylreductase である CgbD、機能不明のタンパク質と分類される CgbE が関与することを確認している。このことから、CgbE がシクロヘキセン骨格の構築を触媒する Diels-Alderase である可能性が示唆されたものの、その詳細は依然不明のままであった。そこで、本研究では機能不明のタンパク質である CgbE が Diels-Alderase であることを立証することを試みた。

(II) Sch210972 (**3**) はデカリン骨格が Diels-Alder 反応により生合成されると考えられる化合物の 1 つである。我々は骨格形成に着目し、遺伝子破壊実験により *cgh* 生合成遺伝子の



特定および機能不明タンパク質と分類される CghA が Diels-Alder 反応の立体選択性に直接関与していることを報告するに至った（①学術雑誌等に発表した論文又は著書に記載された発表論文 7）。

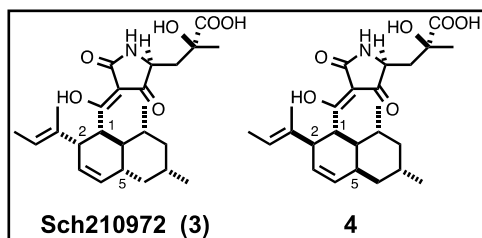
（具体的な成果）

(I) に関して

C. globosum Δ CgIigD/ Δ CgpyrG から相同組換えにより、CgbE 破壊株を作製し抽出物を解析した。その結果、endo 体 **1** および exo 体 **2** の生成が確認されたことから、CgbE がシクロヘキセン環の立体制御に関与することが示唆された。現在、**1** の生合成に必要と考えられる上記 3 種の遺伝子（CgbC、D および E）を *Aspergillus nidulans* に導入し、異種発現を試みると共に *in vitro* 実験による CgbE の変換反応の観測を目指して研究を進めている。

(II) に関して

化合物 **3** の生合成に必要とされる *cghA* を含む 4 種の遺伝子を *Aspergillus nidulans* に導入し、異種発現を試みた。その結果、4 つの遺伝子全てを導入した株では化合物 **3** の発現を確認したが、*cghA* を除く 3 種の遺伝子導入株では化合物 **3** およびジアステレオマー **4** の生産を確認した。このことから、Diels-Alder 反応の立体選択性は *C. globosum* の CghA により生じるものと推定された。現在、*in vitro* 実験による変換反応の観測を目指し Diels-Alder 反応の直接の基質の特定を進めている。



派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間			合計
	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	
Germany, Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology, Christian Hertweck	176 日	153 日	0 日	329 日

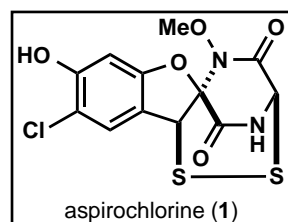
派遣者⑥の氏名・職名： 平山裕一郎・非常勤講師（H27.10.1～）

（当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動）

麹菌 *Aspergillus oryzae* は清酒、味噌、醤油等の製造に用いられていることから、我が国の産業界にとって重要な糸状菌の一種である。本糸状菌は強力なマイコトキシンである aflatoxin を生産する *Aspergillus flavus* と近縁種であるが、そのゲノム中に含まれる aflatoxin 生合成遺伝子には欠失が認められ、遺伝子レベルでその安全性が証明されている。加えて、本国における長年の食経験からもその安全性が信じられていた。ところが近年、我々のグループはゲノム解読株 *A. oryzae* RIB40 株を様々な条件にて培養し、本株より別のマイコトキシンである aspirochlorine (**1**) が生産されていることを見出した。すなわち、ここに今一度、本糸状菌の安全性を科学的に評価する必要性が生じている。本研究では、**1** の化合物生産機構を明らかにすることを志向し、まずはその生合成機構の化学的解明を目指した。

（具体的な成果）

遺伝子破壊実験、同位体標識実験、大腸菌にて調製した精製酵素による *in vitro* 実験等から、**1** の生合成遺伝子クラスターを同定した。本化合物は NRPS(nonribosomal peptide synthetase)によるフェニル



アラニンの二量化を皮切りに、炭素-炭素結合開裂、炭素-硫黄結合生成、炭素-硫黄結合の転位、FAD 依存型ハロゲン化酵素 AcIH による芳香環塩素化を含む種々の興味深い変換反応を経て生合成されることが明らかとなった。				
派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間			合計
	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	
Germany, Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology, Christian Hertweck	0 日	173 日	183 日	356 日

※本年度の派遣者毎に作成すること。

6. 研究者の招へい実績（計画）

【招へい実績（計画）】

年度	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	合計
招へい人数	1 人	2 人 (1 人)	6 人 (2 人)	6 人

※当該年度は実績、次年度以降は計画している人数を記載

【本年度の招へい実績】

招へい者①の氏名・職名： Yi Tang・Professor

<p>(当該研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)</p> <p>本プログラムに参加する Yi Tang 教授、渡辺賢二 准教授、恒松雄太 助教、大橋雅生 特任助教が静岡（2015 年 6 月）および横浜（2016 年 3 月）に集まり研究会合を行った。横浜での会合に関しては、日本薬学会年会で本プログラムの研究成果を発表することと合わせ、横浜で全体会合を行ったためである。</p> <p>(具体的な成果)</p> <p>そこで、UCLA Yi Tang 教授から酵素機能の解析に関する成果発表を行って頂き討論した。また、本プログラムにおける海外共同研究者で同じく UCLA の Kendall Houk 教授研究室で得られた研究成果についても Tang 教授から説明を受け議論した。これによって目的とする酵素 CghA が Diels-Alder 反応を触媒するという結論に至った。さらに、今後の本研究課題における全体的な研究方針を議論し、新たにこれまでに無い化学構造の構築における Diels-Alder 反応の関与を予測した。この 2 量体化反応における本反応の関与を論文として平成 28 年 8 月までに発表する。</p>				
招へい元（機関名、部局名、国名）及び 日本側受入研究者（機関名）	招へい期間			合計
	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	
招へい元（University of California Los Angeles, Department of Chemical and Biomolecular Engineering, United States） 渡辺賢二（静岡県立大学）	4 日	10 日	10 日	24 日

招へい者⑥の氏名・職名： Hsiao-Ching Lin・Postdoc

(当該研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)

Hsiao-Ching Lin 博士が静岡に来て具体的な実験および研究進捗状況について議論した。

(具体的な成果)

Hsiao-Ching Lin 博士は、生合成酵素の酸化反応、特にシトクロム P450 の機能が関与した生体反応に着目した。ポリケタイド系、ペプチド系およびテルペノイド系天然物の生合成に関してこれまでに様々な研究がなされ多くの知見が得られてきた。複雑な化学構造を持つ天然物においても、分子量の小さな普遍的に生合成されるユニットを基質として一旦鎖状構造の分子が生合成され、環化あるいは転移などの修飾を受け複雑な骨格構造へと変換される。本研究課題では、これら複雑な変換反応にしばしば関与している酸化還元反応の包括的な機能解析と天然物の分子多様性を明らかにすることも目的としているため、これらについて具体的な研究戦略を議論した。それによって、Pseurotin および pyranonigrin といった複雑な化学構造を有する天然物の骨格生合成の解明に取り組むことに合意した。

平成 27 年度に関して 5 日間の滞在となり、当初予定より 5 日間短い招へい期間であった。これは、Hsiao-Ching Li 博士と上記記載のハワイ州ホノルル市で行われた Pacificchem2015 期間中 (2015 年 12 月 16 日～21 日)、本研究プロジェクトに関する会合を開催したためである。その会合で研究進捗状況の確認および具体的な実験指導に関して十分に行うことができた。従って、招へい期間の短縮による影響は全くない。

招へい元 (機関名、部局名、国名) 及び 日本側受入研究者 (機関名)	招へい期間			合計
	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	
招へい元 (University of California Los Angeles, Department of Chemical and Biomolecular Engineering, United States) 渡辺賢二 (静岡県立大学)	0 日	5 日	0 日	5 日

※本年度の招へい者毎に作成すること。

7. 翌年度の補助事業の遂行に関する計画

該当なし

※ 補助事業が完了せずに国の会計年度が終了した場合における実績報告書には、翌年度の補助事業の遂行に関する計画を附記すること。