

令和 3 年 8 月 4 日現在

機関番号：23803

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2016～2020

課題番号：16H06449

研究課題名(和文) 実用的物質生産系構築にむけたゲノム情報に基づく新規生合成システムのリデザイン

研究課題名(英文) Engineered biosynthesis of new natural products for innovative drug discovery

研究代表者

渡辺 賢二(Watanabe, Kenji)

静岡県立大学・薬学部・教授

研究者番号：50360938

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 55,400,000円

研究成果の概要(和文)：天然物Sch210972 (1) の立体選択的な閉環反応に関わるDAase, CghAを見出した。CghAは1のオクタリン環形成においてendo選択的な分子内Diels-Alder (IMDA) 反応を触媒する。我々はCghAによるIMDA反応の詳細なメカニズムについて、CghAの分子構造・速度論解析および計算化学によるエネルギー計算により基質認識・立体選択的環化・生成物阻害回避機構に関する合理的な知見を得ることができた。また、CghAの構造に基づいた部位特異的変異導入によりexo選択的IMDA反応を触媒するDAaseの創出に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

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学術上核心をなす疑問があった。我々は酵素CghAを発見し解析した結果、ジエンとジエノフィルを有する鎖状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を突き止めた。

研究成果の概要(英文)：By structural characterizations, in vitro assays of CghA and its mutants and computational analyses, we determined how a Diels-Alderase (DAase) could evade product inhibition and how CghA exerts diastereoselectivity over the [4+2] cycloaddition reaction. CghA assumes a unique fold comprised of two flattened lipocalin-like beta-barrel domains. Structural analyses combined with in vitro assays of CghA mutants permitted rational engineering of CghA to favor the disfavored exo adduct formation, indicating that subtle tuning of the shape complementarity of the binding pocket to the reaction transition state is key to establishing desired diastereoselectivity in octalin-forming DAases. The CghA and 1 complex structure and computational analyses of the CghA catalyzed reaction show that CghA is optimized to bind higher-energy transition states than those involved in the nonenzymatic reaction pathways that give alternate isomers.

研究分野：天然物化学

キーワード：天然物 生合成 酵素反応機構 活性物質 遺伝子 タンパク質構造解析

1. 研究開始当初の背景

現状では新規天然物の獲得が益々難しくなっている。その理由としては、(1) 長い歴史の中で数多くの天然物が探索され、既に発見されてしまったこと (2) 採集できる生物、培養できる微生物は限られた一部の種であることから、これらが化合物多様性の限界となっていることなどが挙げられる。最近の研究開発によって難培養微生物の培養技術も着々と向上しつつある。しかしながら、新規天然物を獲得するためのこういったアプローチは決して真新しいものではなく、どちらかと言えば伝統的な天然物化学の研究手法であると言える。

近年のゲノム解析の目覚ましい進展によって、多くの生物の遺伝子情報を容易に手に入れられるようになった。例えば糸状菌に関しては、遺伝子情報およびこれまでの分子生物学的研究結果から、実験室における一般的な糸状菌の培養法では二次代謝産物生合成遺伝子の転写活性は低いことが明らかとなった。実際に糸状菌 *Aspergillus flavus* では、55 種類の二次代謝産物生合成遺伝子クラスターが染色体上にコードされていることが示されているが、生成物である天然物が単離され生合成経路が明らかとなっているのは数種類のみである。また、特定の培養条件に限られるが本菌種のトランスクリプトーム解析の結果からも、二次代謝産物の生合成を司る遺伝子群の転写活性が低いことも示唆されている。つまり、糸状菌のゲノム上に生合成遺伝子はコードされているが天然物として生産を確認できない化合物が多数存在すると考えられる。そこで我々は、糸状菌が持つ潜在的な二次代謝産物生合成能力を活用することで新規天然物の創製および得られる化合物の生合成機構の精密解析が可能となれば天然物化学に新しい方法論を付け加えられると考えた。しかしながら、遺伝子クラスターの転写活性が極めて低い場合、その生合成遺伝子の mRNA を単離し cDNA を合成することは困難である。そこで、転写されていないと推定される目的生合成遺伝子の転写因子を糸状菌菌体内で発現できれば、転写活性を増大させることができるのではないかと考えた。あるいは、こういった生合成遺伝子がエピジェネティクス制御により転写活性が低い場合には、クロマチン構造の改変によって転写活性を増大させることができる (Nakazawa, T., et al., JACS, 2013)。これらの手法を組み合わせることで、新規化合物の単離へと繋がる。さらに、目的生合成遺伝子の cDNA を獲得することができれば、遺伝子異種発現システムの確立された出芽酵母を用い発現酵素を得た後、精製酵素による *in vitro* 合成系で新規化合物の生合成に関する精密機能解析 (Tsunematsu, Y., et al., Nature Chemical Biology, 2013) も達成されるであろう。

現代においても新たな新規天然物を取得することの学術的、産業的な重要性は不変である。このような状況の下、天然物の生合成遺伝子を用い化合物の獲得を目指す新しい融合研究分野であるシンセティックバイオロジー(合成生物学)による取り組みが行われている。また米国では、1000 株の糸状菌ゲノム解読プロジェクト (<http://1000.fungalgenomes.org/home/>) が進行しており、これまでよりも熾烈な世界的競争が起こることは疑う余地のないところである。我々はこの新しい研究分野が生み出す方法論を天然物獲得の新機軸とすべく、休眠型生合成遺伝子クラスターの活性化および天然物生合成遺伝子の異種発現系による生物合成を試みる。さらに、活性型クラスターを構成する酵素遺伝子を欠損あるいは機能改変することで**ゲノム情報に基づく新規分子の生合成リデザイン**を達成する。

2. 研究の目的

ペリ環状反応は有機合成化学において広く利用されてきたにもかかわらず、生化学(酵素化学)の分野においては、その反応が一次代謝経路中に長らく見出されずにいたことから非常に希少な存在であった¹。酵素触媒による有機化学変換反応は、主にイオン反応とラジカル反応に大別されるが、Diels-Alder 反応(以下 DA 反応とする)はそのどちらにも属さず、電子環状遷移状態を経るペリ環状反応機構によって二つの炭素-炭素共有結合形成反応を一挙に進行させる

(Fig. 1)。有機合成の中で環化分子の構築や炭素骨格の構造に大きな変化を与えるため、生体内 DA 反応を触媒する酵素"Diels-Alderase (DAase)"に極めて高い興味を持たれ、実在性を証明する研究が盛んに行われてきた²。

我々はこれまで糸状菌由来二次代謝産物の生合成における, DAase について研究を行ってきた。その中で抗 HIV 活性を有する化合物, Sch210972 (**1**) の立体選択的な閉環反応に関わる DAase, CghA を見出した (Fig.1)³。CghA は, **1** のオクタリン環形成において *endo* 選択的な分子内 Diels-Alder (IMDA) 反応を触媒する。しかしながら現在までに CghA を含む IMDA 反応を触媒する酵素の構造的知見に関する報告は少ない。我々は, DAase における基質認識・立体選択的環化・生成物阻害回避機構について, その分子基盤を解明することを目的に研究を行った。今回, CghA による IMDA 反応の詳細なメカニズムについて, CghA の分子構造・速度論解析および計算化学によるエネルギー計算から, 合理的な知見を得ることができた。また, CghA の構造に基づいた部位特異的変異導入により, *exo* 選択的 IMDA 反応を触媒する DAase の創出に成功したので, 合わせて報告する。

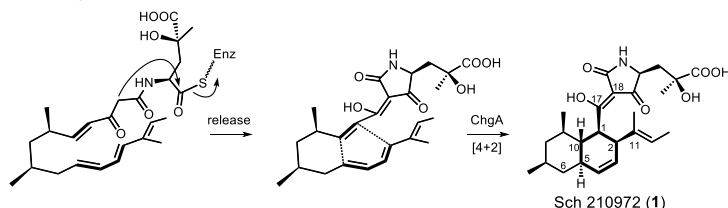


Fig.1 Sch210972 (**1**) におけるテトラミン酸およびオクタリン環の構築

3. 研究の方法

【CghA の結晶構造解析】

糸状菌由来の CghA の塩基配列を大腸菌のコドン頻度に最適化した後, 大腸菌を用いて組換え CghA タンパク質を得た。CghA 単体および CghA-**1** 複合体の結晶化を行い, それぞれ X 線結晶解析に供したところ, 両結晶ともに良好な分解能を持った回折像が得られた。得られた結晶構造から CghA は, N 末端および C 末端側にそれぞれβ-バレルドメインを有するリポカリン型の酵素であり, 両バレルドメインにより **1** を挟み込んだ構造であることが明らかとなった (Fig. 2A)。また CghA の活性部位においては比較的広い空間が形成されており, **1** と相互作用するアミノ酸残基の存在が確認された。

CghA の 3 つのアミノ酸残基, Asn82, His94 および Lys352 は, **1** の 23 位の水酸基および 24 位のカルボン酸と水素結合を形成していることが明らかとなった。加えて 2 つのトリプトファン残基 Trp183, Trp235 は, オクタリン環を挟み込む形で配位しており, これらが鎖状基質の酵素への固定化に寄与していると予想された (Fig. 2b)。また, Ser65 および Asn364 がテトラミン酸のカルボニル基とそれぞれ水素結合を形成しており, この水素結合が, 鎖状基質における 1-10 位のジエノフィルの LUMO エネルギーを低下させ, それにより DA 反応が加速していることが示唆された。

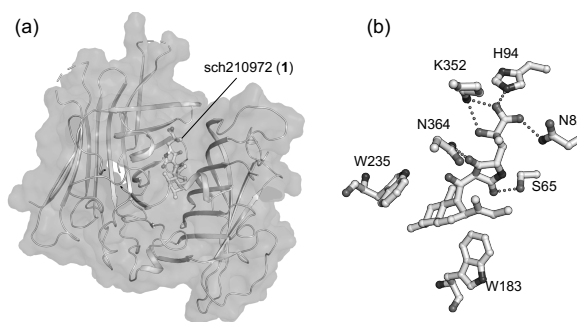


Fig.2 CghA-1 複合体の結晶構造. (a) 構造の全体図 (b) CghA の活性中心

【鎖状基質の合成】

次に複合体結晶構造から得られた CghA と **1** の相互作用を確認するために、酵素反応に用いる鎖状基質の合成を試みた。基質の合成にあたり、エピメリ化を起こしやすいメチル基を除去し、テトラミン酸を構成するアミノ酸を L-グルタミン酸に置き換えた鎖状基質アナログを設計した (Fig. 3)。3つのフラグメントをそれぞれ合成し、まずテトラミン酸を有する右フラグメントと中央フラグメントのヨウ化ビニルを結合した後、得られたフラグメントを左フラグメントとの鈴木-宮浦カップリング反応に供し、所望の基質を得ることに成功した (Fig. 3)。

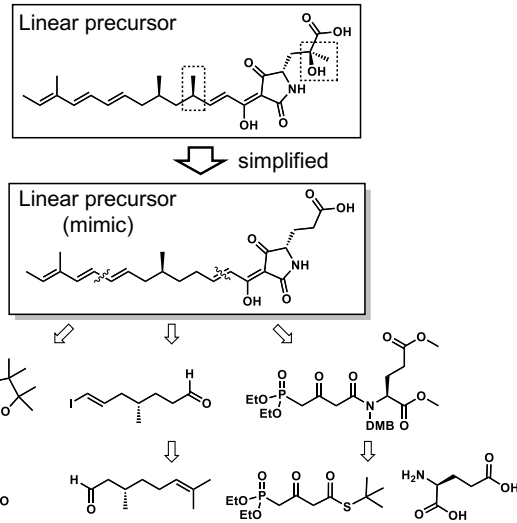


Fig.3 基質および基質アナログの構造

【CghA および CghA 変異体の速度論解析】

先に述べた複合体結晶より得られた結果をもとに、基質と相互作用する CghA のアミノ酸に変異を導入した酵素を作製した。合成した基質アナログを用いて、変異導入酵素の速度論解析を行った (Fig 4b)。その結果、2つのトリプトファン残基 Trp183, Trp235 によるオクタリン環の相互作用の消失により、大幅な酵素活性低下を確認した。加えて、テトラミン酸のカルボニル基との水素結合形成に関与するアミノ酸 Ser65 の変異においても、活性の消失を確認した。**1** の γ -ヒドロキシメチルグルタミン酸側鎖結合部位 His94 および Lys352 に変異を導入した酵素においては、約 20~50%程度の活性の低下にとどまった。しかし、同じく γ -ヒドロキシメチルグルタミン酸側鎖と水素結合を形成している Asn82 への変異では、活性の大部分の消失が確認された。複合体結晶構造を詳細に解析したところ、Asn82 は2つの水分子を介して Ser65 と相互作用していることがわかった。以上の結果から CghA は、 γ -ヒドロキシメチルグルタミン酸側鎖およびオクタリン環周辺のアミノ酸残基により基質のコンフォメーションを制御していること、テトラミン酸のカルボニル基との水素結合の形成は必須であり、ジエノフィルの電子求引性増大により、DA 反応を加速していることが明らかとなった。

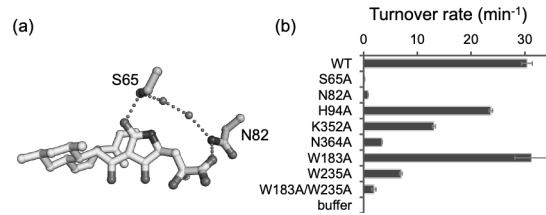


Fig.4 (a) Ser65-Asn82 の水分子を介した相互作用

4. 研究成果

【CghA のエンジニアリング】

DA 反応によるオクタリン環の形成における立体選択性に関しては、アルキル鎖を受け入れる活性部位の空間的な制御によるものと考えられた。すなわち鎖状基質のジエン周辺のアミノ酸 Ala242, Met257 (Fig.5a) による空間的制御が、endo 付加環化選択性の要因と推測された。我々はこれらアミノ酸に exo 付加環化に有利となるような変異を導入することで、天然物とは異なるジアステレオ選択性を生み出す酵素を作製することに成功した (Fig.5b)⁴。

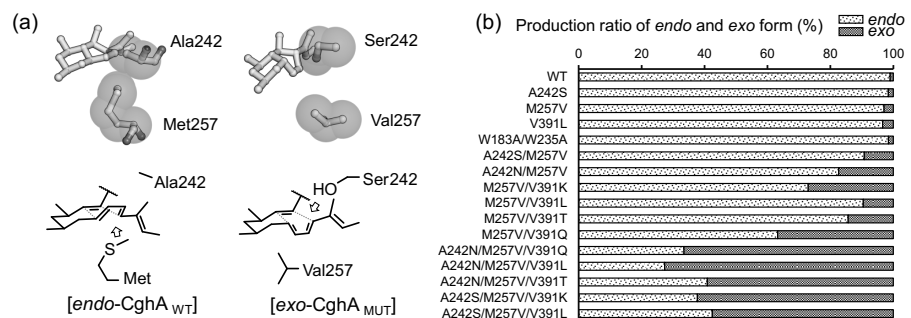


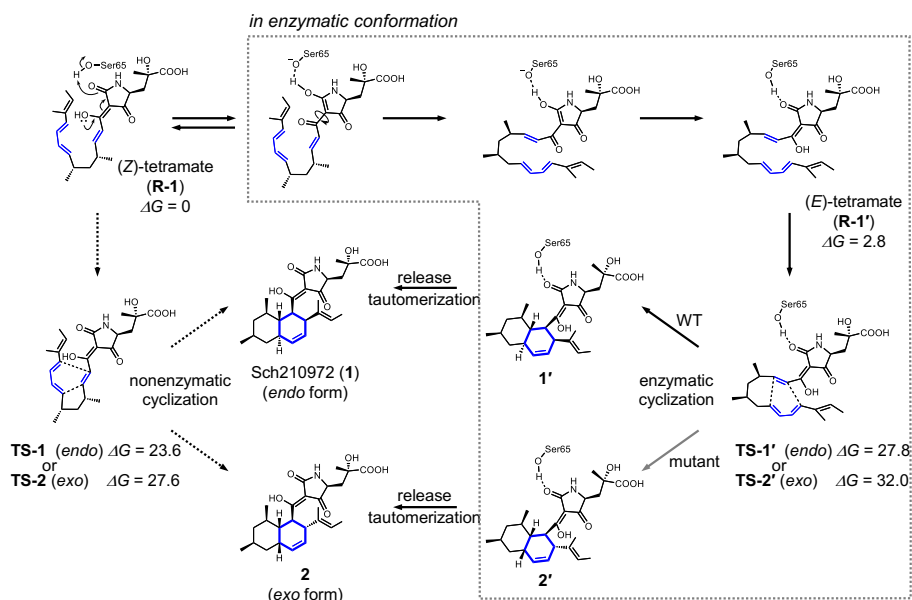
Fig.5 (a) Ala242 および Met257 のオクタリン環との相互作用 (b) 各変異酵素における endo および exo 付加体の生成比

【DA 反応における遷移状態の工

エネルギー計算】

DA 反応は合成化学上価値の高い反応であるため、人為的な酵素すなわち DA 反応を触媒する抗体触媒の開発が古くからおこなわれてきた。しかしながら、このような抗体 DAase の代謝回転数は極めて低いことが知られている。DA 反応を触媒する抗体触媒は、遷移状態アナログを抗原として作製されるが、DA 反応の遷移状態は生成物に類似していることが、生成物による酵素活性の阻害を引き起こされる要因となっている。一方で天然有機化合物の生合成に関わる DAase においては、抗体触媒に見られるような生成物阻害は観測されない。それらがどのように生成物阻害を回避しているのかは、DAase 研究における大きな謎の一つである。そこで複合体結晶構造解析結果と計算化学により算出した DA 反応の遷移状態の自由エネルギー値をもとにその謎の解明にあたった。

CghA-1 の複合体結晶構造において、**1** の構造は 17, 18 位が *E* 体の **1'** であることが分かった。一般的に



Pyrrolidine- Fig.6 CghA によるオクタリン環形成における IMDA 反応の予想経路 2,4-dione 骨格を有する化合物において、その自由エネルギーは *E* 体よりも *Z* 体の方が低い⁵。これが CghA の生成物阻害回避機構に関わっていると考え、予想される生合成中間体の鎖状基質における自由エネルギーを算出した (Fig. 6)。その結果、予想通り *E* 体 (**R-1'**) の生合成中間体の自由エネルギーは *Z* 体 (**R-1**) よりも大きく、鎖状基質の DA 反応遷移状態における自由エネルギーは、 $TS-2' > TS-1' > TS-2 > TS-1$ の順となった。17, 18 位が *Z* 体の基質の自由エネルギーが、*E* 体よりも小さいにもかかわらず、CghA はエネルギーの高い *E* 体を基質としていることから、生合成的に不利な *E* 体を基質とし、遷移状態の構造を **1** (*Z* 体) と異にすることで、生成物阻害を戦略的に回避していることが明らかとなった (Fig. 6)⁴。

【総括】

以上、我々は DAase における基質認識・立体選択的環化・生成物阻害回避機構について、その分子基盤を解明することを目的に研究を行ってきた。酵素の結晶構造解析から、CghA はこれまでに報告されている DAase とは異なる、リポカリン型の構造を持つことが確認された。このような構造を有する DAase は報告がなく、天然における DAase の収斂進化を示唆するものであった。また CghA-1 の複合体結晶構造解析および変異体の速度論解析からは、酵素の基質許容に関する知見が得られ、ジエノフィルの電子求引に関わるアミノ酸残基を明らかにすることができた。さらに立体選択性に関しては、基質のコンフォメーションを *endo* ではなく *exo* 付加に優位となるよう改変することで、立体選択性の異なる酵素の創製に成功した。また、DAase の生成物阻害回避機構については、計算解析による遷移状態の自由エネルギーを算出することで、合理的な説明が可能となった。

【参考文献】

1. Lin CI et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2017.
2. Oikawa H et al. *J. Antibiot.* 2016.
3. Sato M et al. *ChemBioChem* 2015.
4. Sato M et al. *Nature Catalysis* 2021.
5. Royles BLJ. *Chem. Rev.* 1995.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計27件（うち査読付論文 27件／うち国際共著 13件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Asai Shihori, Tsunematsu Yuta, Masuya Takahiro, Otaka Junnosuke, Osada Hiroyuki, Watanabe Kenji	4. 巻 73
2. 論文標題 Uncovering hidden sesquiterpene biosynthetic pathway through expression boost area-mediated productivity enhancement in basidiomycete	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Antibiotics	6. 最初と最後の頁 721 ~ 728
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41429-020-0355-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Zhang Zhuan, Qiao Tianzhang, Watanabe Kenji, Tang Yi	4. 巻 59
2. 論文標題 Concise Biosynthesis of Phenylfuropyridones in Fungi	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 19889 ~ 19893
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202008321	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Matsushita Takuma, Kishimoto Shinji, Hara Kodai, Hashimoto Hiroshi, Watanabe Kenji	4. 巻 59
2. 論文標題 Structural and Functional Analyses of a Spiro-Carbon-Forming, Highly Promiscuous Epoxidase from Fungal Natural Product Biosynthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 4787 ~ 4792
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.0c00896	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tsunematsu Yuta, Maeda Naoya, Sato Michio, Hara Kodai, Hashimoto Hiroshi, Watanabe Kenji, Hertweck Christian	4. 巻 143
2. 論文標題 Specialized Flavoprotein Promotes Sulfur Migration and Spiroaminal Formation in Aspirochlorine Biosynthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 206 ~ 213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.0c08879	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Zhang Zhuan, Tamura Yui, Tang Mancheng, Qiao Tianzhang, Sato Michio, Otsu Yoshihiro, Sasamura Satoshi, Taniguchi Masatoshi, Watanabe Kenji, Tang Yi	4. 巻 143
2. 論文標題 Biosynthesis of the Immunosuppressant FR901483	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 132 ~ 136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.0c12352	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sato Michio, Kishimoto Shinji, Yokoyama Mamoru, Jamieson Cooper S., Narita Kazuto, Maeda Naoya, Hara Kodai, Hashimoto Hiroshi, Tsunematsu Yuta, Houk Kendall N., Tang Yi, Watanabe Kenji	4. 巻 4
2. 論文標題 Catalytic mechanism and endo-to-exo selectivity reversion of an octalin-forming natural Diels-Alderase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Catalysis	6. 最初と最後の頁 223 ~ 232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41929-021-00577-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Zhou Tao, Hirayama Yuichiro, Tsunematsu Yuta, Suzuki Nanami, Tanaka Seiji, Uchiyama Nahoko, Goda Yukihiko, Yoshikawa Yuko, Iwashita Yuji, Sato Michio, Miyoshi Noriyuki, Mutoh Michihiro, Ishikawa Hideki, Sugimura Haruhiko, Wakabayashi Keiji, Watanabe Kenji	4. 巻 143
2. 論文標題 Isolation of New Colibactin Metabolites from Wild-Type Escherichia coli and In Situ Trapping of a Mature Colibactin Derivative	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 5526 ~ 5533
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.1c01495	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Mengting, Ohashi Masao, Hung Yiu-Sun, Scherlach Kirstin, Watanabe Kenji, Hertweck Christian, Tang Yi	4. 巻 143
2. 論文標題 AoiQ Catalyzes Geminal Dichlorination of 1,3-Diketone Natural Products	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 7267 ~ 7271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.1c02868	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sato, M., Kishimoto, S., Noguchi, H., Watanabe, K.	4. 巻 4
2. 論文標題 Bisindole	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Comprehensive Natural Products III: Chemistry and Biology, Wiley	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsunematsu, Y., Hirayama, Y., Masuya, T., Watanabe, K.	4. 巻 4
2. 論文標題 Oxidative modification enzymes in polyketide biosynthetic pathways	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Comprehensive Natural Products III: Chemistry and Biology, Wiley	6. 最初と最後の頁 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sarmales-Murga Christopher, Akaoka Fumito, Sato Michio, Takanishi Jun, Mino Takashi, Miyoshi Noriyuki, Watanabe Kenji	4. 巻 73
2. 論文標題 A new class of dimeric product isolated from the fungus Chaetomium globosum: evaluation of chemical structure and biological activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Antibiotics	6. 最初と最後の頁 320 ~ 323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41429-020-0281-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsunematsu Yuta, Takanishi Jun, Asai Shihori, Masuya Takahiro, Nakazawa Takehito, Watanabe Kenji	4. 巻 21
2. 論文標題 Genomic Mushroom Hunting Decrypts Coprinoferrin, A Siderophore Secondary Metabolite Vital to Fungal Cell Development	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 7582 ~ 7586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b02861	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kishimoto Shinji, Tsunematsu Yuta, Matsushita Takuma, Hara Kodai, Hashimoto Hiroshi, Tang Yi, Watanabe Kenji	4. 巻 58
2. 論文標題 Functional and Structural Analyses of trans C-Methyltransferase in Fungal Polyketide Biosynthesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 3933 ~ 3937
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.9b00702	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masuya Takahiro, Tsunematsu Yuta, Hirayama Yuichiro, Sato Michio, Noguchi Hiroshi, Nakazawa Takehito, Watanabe Kenji	4. 巻 17
2. 論文標題 Biosynthesis of lagopodins in mushroom involves a complex network of oxidation reactions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 234 ~ 239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8ob02814a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kishimoto Shinji, Hara Kodai, Hashimoto Hiroshi, Hirayama Yuichiro, Champagne Pier Alexandre, Houk Kendall N., Tang Yi, Watanabe Kenji	4. 巻 9
2. 論文標題 Enzymatic one-step ring contraction for quinolone biosynthesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-05221-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Li Li, Tang Man-Cheng, Tang Shoubin, Gao Shushan, Soliman Sameh, Hang Leibniz, Xu Wei, Ye Tao, Watanabe Kenji, Tang Yi	4. 巻 140
2. 論文標題 Genome Mining and Assembly-Line Biosynthesis of the UCS1025A Pyrrolizidinone Family of Fungal Alkaloids	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 2067 ~ 2071
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.8b00056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsunematsu Yuta, Maeda Naoya, Yokoyama Mamoru, Chankhamjon Pranatchareeya, Watanabe Kenji, Scherlach Kirstin, Hertweck Christian	4. 巻 57
2. 論文標題 Enzymatic Amide Tailoring Promotes Retro-Aldol Amino Acid Conversion To Form the Antifungal Agent Aspirochlorine	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 14051 ~ 14054
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201806740	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kishimoto, S., Hirayama, Y., Watanabe, K.	4. 巻 368
2. 論文標題 Polyketide synthase-nonribosomal peptide synthetase hybrid enzymes of fungi	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Mycota XV: Physiology and Genetics	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yokoyama Mamoru, Hirayama Yuichiro, Yamamoto Tsuyoshi, Kishimoto Shinji, Tsunematsu Yuta, Watanabe Kenji	4. 巻 19
2. 論文標題 Integration of Chemical, Genetic, and Bioinformatic Approaches Delineates Fungal Polyketide Peptide Hybrid Biosynthesis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 2002 ~ 2005
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.7b00559	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 1.Ohashi, M., Liu, F., Hai, Y., Chen, M., Tang, M.-C., Yang, Z., Sato, M., Watanabe, K., Houk, K. N., Tang, Y.	4. 巻 549
2. 論文標題 SAM-dependent enzyme-catalysed pericyclic reactions in natural product biosynthesis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 502-506
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nature23882	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tang Man-Cheng, Zou Yi, Watanabe Kenji, Walsh Christopher T., Tang Yi	4. 巻 117
2. 論文標題 Oxidative Cyclization in Natural Product Biosynthesis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Chemical Reviews	6. 最初と最後の頁 5226 ~ 5333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.chemrev.6b00478	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kishimoto Shinji, Tsunematsu Yuta, Sato Michio, Watanabe Kenji	4. 巻 17
2. 論文標題 Elucidation of Biosynthetic Pathways of Natural Products	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Chemical Record	6. 最初と最後の頁 1095 ~ 1108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/tcr.201700015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Li, L., Yu, P., Tang, M. C., Zou, Y., Gao, S.-S., Hung, Y.-S., Zhao, M., Watanabe, K., Houk, K., Tang, Y.	4. 巻 138
2. 論文標題 Biochemical characterization of an eukaryotic decalin-forming Diels-Alderase.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J. Am. Chem. Soc.	6. 最初と最後の頁 15837-15840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.6b10452	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Chankhamjon, P., Tsunematsu, Y., Ishida-Ito, M., Sasa, Y., Meyer, F., Boettger-Schmidt, D., Urbansky, B., Menzel, K. D., Scherlach, K., Watanabe, K., Hertweck, C.	4. 巻 55
2. 論文標題 Regioselective dichlorination of a non-activated aliphatic carbon and phenol bismethylation by a multifunctional fungal flavoenzyme.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed.	6. 最初と最後の頁 11955-11959
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201604516	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamamoto, T., Tsunematsu, Y., Hara, K., Suzuki, T., Kishimoto, S., Kawagishi, H., Noguchi, H., Hashimoto, H., Tang, Y., Hotta, K., Watanabe, K.	4. 巻 55
2. 論文標題 Oxidative trans-to-cis isomerization of olefin in polyketide biosynthesis.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed.	6. 最初と最後の頁 6207-6210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201600940	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yokoyama, M., Hirayama, Y., Yamamoto, T., Kishimoto, S., Tsunematsu, Y., Watanabe, K.	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Integration of chemical, genetic and bioinformatic approaches delineates fungal polyketide-peptide hybrid biosynthesis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Org. Lett.	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.7b00559	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kishimoto, S., Tsunematsu, Y., Sato, M., Watanabe, K.	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Elucidation of biosynthetic pathways of natural products.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Chemical Record	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/tcr.201700015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 13件 / うち国際学会 13件)

1. 発表者名 Kenji Watanabe
2. 発表標題 Simple Screening for High-Colibactin Producers from Clinical Samples Using Activity- Based Fluorescent Probe
3. 学会等名 U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Watanabe
2. 発表標題 ENZYMATIC ONE-STEP RING CONTRACTION FOR QUINOLONE BIOSYNTHESIS
3. 学会等名 2nd China-Japan Joint Symposium on Natural Product Biosynthesis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Watanabe
2. 発表標題 Simple Screening for High-Colibactin Producers from Clinical Samples Using Activity- Based Fluorescent Probe
3. 学会等名 30th International Symposium on the Chemistry of Natural Products (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Watanabe
2. 発表標題 Simple Screening for High-Colibactin Producers from Clinical Samples Using Activity- Based Fluorescent Probe
3. 学会等名 6th Biennial International Conference on New Developments in Drug Discovery from Natural Products and Traditional Medicines (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Watanabe
2. 発表標題 Crystallographic characterization of a four plus two cyclase binding site and mutational alteration of stereoselectivity
3. 学会等名 The 2nd International Symposium on Organic Reaction Mechanism (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺賢二
2. 発表標題 Disfavored exo-adduct formation by a modified octalin-forming Diels-Alderase
3. 学会等名 China/Japan Symposium on Natural Product Biosynthesis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺賢二
2. 発表標題 Disfavored exo-adduct generation by a modified octalin-forming Diels-Alderase
3. 学会等名 Society for Industrial Microbiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺賢二
2. 発表標題 Pseurotin biosynthesis in fungus
3. 学会等名 9th US-Japan Seminar: The international Conference of Natural Product Biosynthesis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺賢二
2. 発表標題 Novel Genotoxins "Colibactin" Produced by E.coli and colon carcinogenesis (In Vitro, In Vivo Experiments)
3. 学会等名 The 12th international conference and 5th Asian congress on environmental mutagens with the 33rd annual meeting of KSOT/KEMS (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺賢二
2. 発表標題 Genetic indoctrination of Escherichia coli for finding genotoxins colibactin facilitating inflammation-induced colorectal cancer
3. 学会等名 US-Japan Cooperative Medical Sciences Program Cancer Panel Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kenji Watanabe
2. 発表標題 Genetic indoctrination of Escherichia coli for finding genotoxins "colibactin" facilitating inflammation-induced colorectal cancer
3. 学会等名 US-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 19th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺賢二
2. 発表標題 実物的物質生産系構築にむけたゲノム情報に基づく新規生合成システムのリデザイン
3. 学会等名 生物合成系の再設計による複雑骨格機能分子の革新的創成化学 (新学術領域) 第一回公開シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kenji Watanabe
2. 発表標題 Oxidative trans-to-cis isomerization of olefin in polyketide biosynthesis
3. 学会等名 The 13th International Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 阪井 康能、竹川 薫、橋本 渉、片山高嶺	4. 発行年 2020年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 200
3. 書名 遺伝子・細胞から見た 応用微生物学	

1. 著者名 上村大輔, 渡辺賢二	4. 発行年 2018年
2. 出版社 東京化学同人	5. 総ページ数 192
3. 書名 天然物の化学 (科学のとびら64)	

1. 著者名 大橋雅生, 渡辺賢二	4. 発行年 2018年
2. 出版社 現代化学	5. 総ページ数 6
3. 書名 天然物生合成におけるS-アデノシルメチオニン依存性酵素により触媒されるペリ環状反応	

1. 著者名 大橋雅生, 渡辺賢二	4. 発行年 2017年
2. 出版社 東京化学同人	5. 総ページ数 6
3. 書名 現代化学	

1. 著者名 渡辺賢二	4. 発行年 2017年
2. 出版社 北隆館 / ニュー・サイエンス社	5. 総ページ数 4
3. 書名 BIO Clinica	

1. 著者名 Kishimoto, S., Hirayama, Y., Watanabe, K.	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 7
3. 書名 Polyketide synthase and nonribosomal peptide synthetase hybrid enzymes of fungi. The Mycota XV: Physiology and Genetics	

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 コリバクチン産生菌検出用プライマーセット及び検出用キット	発明者 渡辺賢二	権利者 静岡県立大学 法人
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019 - 027695	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 コリバクチンおよびコリバクチン産生菌の検出方法および検出プローブ	発明者 渡辺賢二、恒松雄 太、佐藤道大	権利者 静岡県立大学 法人
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2018/031489	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 抗ウイルス活性を有する組成物	発明者 渡辺賢二、恒松雄太	権利者 静岡県立大学 法人、(株)ア デノプリベント
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021 - 009901	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

渡辺賢二 研究室 http://sweb.u-shizuoka-ken.ac.jp/~kenji55-lab/ 研究内容 http://sweb.u-shizuoka-ken.ac.jp/~kenji55-lab/ WATANABE RESEARCH GROUP http://sweb.u-shizuoka-ken.ac.jp/~kenji55-lab/
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	植木 尚子 (Ueki Shoko) (50622023)	岡山大学・資源植物科学研究所・准教授 (15301)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	恒松 雄太 (Tsunematsu Yuta) (30629697)	静岡県立大学・薬学部・講師 (23803)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関