

はじめに

酵素は温和な条件下で高い位置選択性・立体選択性を発揮し、従来の有機合成では到達しにくい分子変換を可能にする。このため、生体触媒を利用した有用物質生産は、環境調和型プロセスとして広く期待されている。一方で、非天然由来分子、とりわけ強い疎水性かつ不揮発な分子ナノカーボンを基質とする場合、基質供給、相分配、補酵素供給、生成物排出を精製酵素系や水系反応のみで制御することは容易ではない。すなわち、単に触媒となる酵素分子を見出すだけでは不十分であり、基質がどのように取り込まれ、どの反応場に局在し、どのような分子認識を経て変換されるのかという、生体側の環境全体を含めた理解が不可欠となる。本研究では、香気成分の生物変換と代謝解析、気相微生物反応の開発を経て、昆虫個体の体内を「酵素触媒場」として用いるナノカーボン分子変換研究へと展開した。さらに、昆虫が本来有する異物認識・代謝システムを、非天然由来分子の選択的分子変換へと転用しようかという点を中心課題に据え、その成立条件と分子基盤の解明を進めた。

香気成分を対象にした生体触媒研究の展開

まず、モノテルペン類を中心とする香気成分を対象に、生体触媒による香気物質の生体内動態機構の解明に取り組んだ。香気成分は揮発性が高く、天然存在量も微量である一方、生体内ではシトクロムP450を含む異物代謝酵素群により多様な変換を受ける。そこで、天然精油成分の機能性評価に加え、ヒト肝ミクロソームや各種生体触媒を用いた代謝解析を進め、基質の物性と代謝酵素の選択性を結びつけて理解する視点を得た。さらに、細菌や昆虫を用いた生物変換により香気成分由来代謝物ライブラリーを構築し、生体触媒が単一酵素だけではなく、基質取り込みから連続反応までを内包した反応系として機能しうることを示した(図1左)¹⁻³⁾。これらの研究を通じて、基質の化学構造だけでなく、揮発性、疎水性、膜透過性といった物性が代謝経路の選択に深く関与することを実感し、以後の研究で一貫して重視する「分子構造と反応場の相互作用」という視点の基盤が形成された。

また、香気物質の“揮発する”特性を活かすべく、*Acinetobacter* sp. Tol 5を用いた気相微生物反応系を開発し、揮発性モノテルペンであるゲラニオールから高付加価値化合物(E)-ゲラン酸への変換を達成した。ここでは、反応そのものだけでなく、基質導入、物質移動、毒性回避、生成物回収を含めた「場」の設計が、生体触媒反応の成否を規定することを見出した。すなわち、生体触媒反応では、酵素活性そのものに加えて、基質が存在する相、細胞との接触様式、生成物蓄積の影響など、反応を取り巻く環境全体が変換効率と選択性を左右することが明らかとなった(図1右)。これら経験が、その後、より複雑な生物個体そのものを反応場として捉える発想へとつながった⁴⁻⁶⁾。

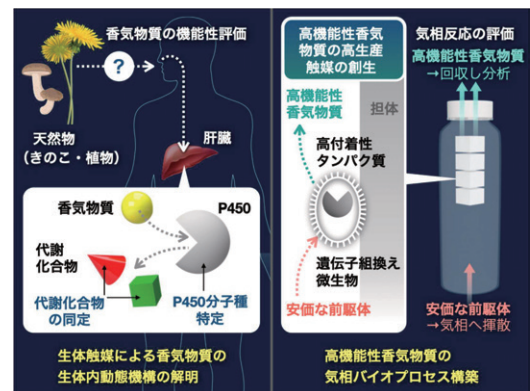


図1. 香気成分を対象にした研究

昆虫酵素触媒場におけるナノカーボン分子変換

基質の対象を天然由来分子から非天然由来分子へと拡張させ、分子ナノカーボンの生物変換を展開した。分子ナノカーボンは精密な構造に由来する優れた材料特性を有する一方、位置選択的官能基化、特に酸素原子導入は過酷条件や副反応を伴いやすく、化学的に難しい。そこで着目したのが、植物二次代謝産物や人工化学物質に絶えず曝されて進化してきた昆虫の異物代謝系である。昆虫はシトクロムP450を中心とする酸化酵素群を発達させ、電子密度や立体構造の差を手掛かりに特定部位の酸化を行う。さらに個体レベルでは、摂食、消化管内分配、体内輸送、補酵素供給、代謝、排出が一連の過程として統合されており、疎水性基質を扱ううえで理にかなった触媒環境を提供すると考えられた。すなわち昆虫個体は、単なる酵素の集合体ではなく、疎水性人工分子を受け入れ、局在化させ、選択的に変換する“多相的かつ動的な反応場”として理解できる。

モデル生物には、多食性で外来化合物代謝能の高いハスモンヨトウ幼虫を用いた。基質には、代表的な分子ナノカーボンである[6]MCPHを選択し、[6]MCPHを混合した人工飼料を摂食させた個体の排せつ物を抽出・解析したところ、一酸素原子付加体が選択的に生成しており、精製と構造解析から特定結合への酸素原子挿入反応であることが明らかとなった。さらに、この高選択的変換はリング

状分子ナノカーボン[6]CPPにも拡張可能であった。すなわち昆虫個体は、疎水性基質の取り込み、局所分配、酸化、排出までを自己完結的に担う「生体内ナノリアクター」として機能しうることが示された。この結果は、従来の分解・解毒という文脈で理解されがちであった昆虫異物代謝を、非天然由来の高機能分子を生み出す“選択的分子変換システム”として再解釈しうることを示す点で意義深い。

本反応が腸内細菌叢由来か宿主昆虫由来かを切り分けるため、腸内細菌を用いた試験および基質摂食後の遺伝子発現解析と機能抑制実験を行った。その結果、反応は宿主昆虫固有の代謝系に強く依存し、特定のシトクロムP450群が関与することが示された。これらの結果は、ナノカーボンの曲率、電子状態、疎水性といった分子側の要因と、昆虫体内における認識、分配、酸化選択性といった生体側の要因が結びつくことで、従来法では実現しにくい位置選択的分子変換が成立することを示している⁷⁾。加えて、本系では基質そのものの電子的・立体的特徴だけでなく、消化管内環境や酵素発現応答といった多層的要因が最終生成物の選択性を決定している可能性が高く、生体触媒を“場”として捉える意義を強く裏付ける結果となった(図2)。



図2. ナノカーボンを対象にした研究

今後の展望

昆虫酵素触媒場におけるナノカーボン分子変換を、単なる現象論としてではなく、基質分子の構造と生体側の認識機構がどのように結びついて反応選択性を生み出すのかという「分子論」の観点から深化させたい。具体的には、ナノカーボンの曲率、電子状態、疎水性、置換基効果といった分子特性が、昆虫体内での取り込み、局在、酵素近傍への分配、さらにはシトクロムP450による基質認識と酸化位置選択性にどのように影響するのかを明らかにする。そのうえで、発現解析、機能抑制、計算化学、構造化学的解析を統合し、反応を規定する分子基盤を抽出することで、酸素原子挿入にとどまらない多様なヘテロ原子導入へと展開したい。最終的には、昆虫の異物代謝系を「設計可能な触媒場」として捉え直し、従来の化学合成では到達困難な新規ナノカーボン誘導体を創出する新しい分子変換原理の確立を目指す。

謝辞

本研究の遂行にあたり、ご指導とご支援を賜った宮澤三雄先生、堀克敏先生、伊丹健一郎主任研究者をはじめ、共同研究者、関係者の皆様に深く感謝申し上げます。

参考文献

1. Usami A. *et al.*, *Phytochem. Anal.*, **2014**, *25*, 561.
2. Usami A. *et al.*, *Chem. Biodivers.*, **2015**, *12*, 1734.
3. Nakahashi H. *et al.*, *Biopharm Drug Dispos.*, **2015**, *36*, 565.
4. Usami A. *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2018**, *82*, 2012.
5. Usami A. *et al.*, *Green Chem.*, **2020**, *22*, 1258.
6. Usami A. *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2024**, *89*, 496.
7. Usami A. *et al.*, *Science*, **2025**, *388*, 1055.

略歴

- 2020年 3月 名古屋大学大学院 工学研究科 生命分子工学専攻 博士後期課程修了・博士(工学)
- 2020年 4月 名古屋大学大学院 理学研究科 博士研究員
- 2021年 4月 名古屋大学 物質科学国際研究センター 博士研究員
- 2022年 2月 名古屋大学大学院 理学研究科 博士研究員
- 2023年 4月 名古屋大学 トランスフォーメティブ生命分子研究所(WPI-ITbM)/高等研究院 特任助教
- 2024年 4月 文部科学省 世界的課題を解決する知の「開拓者」育成事業 T-GeX フェロー

Introduction

Enzymes exhibit high regio- and stereoselectivity under mild conditions, enabling molecular transformations that are difficult to achieve by conventional organic synthesis. Accordingly, biocatalytic production has attracted attention as a green process. However, when non-natural, highly hydrophobic, and non-volatile molecular nanocarbons are used as substrates, controlling substrate supply, phase distribution, cofactor availability, and product recovery using only purified enzymes or aqueous systems is challenging. Thus, it is essential to understand not only the catalytic enzyme itself but also how the substrate is taken up, localized, and transformed within a biological reaction environment. In this study, I extended my research from flavor-compound biotransformation and gas-phase microbial reactions to nanocarbon transformation using the insect body as an enzymatic reaction site, and investigated the conditions and molecular basis underlying these transformations.

Development of Biocatalysis on Flavor Compounds

We investigated the *in vivo* dynamics of flavor compounds, particularly monoterpenoids, using biocatalytic approaches. Although these compounds are highly volatile and often occur only in trace amounts in nature, they undergo diverse metabolic transformations mediated by xenobiotic-metabolizing enzymes, including cytochrome P450s. In addition to evaluating the functions of essential oil components, we performed metabolic analyses using human liver microsomes and various biocatalysts, thereby establishing a perspective that links substrate physicochemical properties with metabolic selectivity. Moreover, biotransformation using bacteria and insects enabled the construction of metabolite libraries derived from flavor compounds and showed that biocatalysts function not only as isolated enzymes but also as integrated reaction systems encompassing substrate uptake and sequential conversion (Fig. 1, left)¹⁻³. These studies revealed that not only chemical structure but also volatility, hydrophobicity, and membrane permeability strongly influence metabolic pathway selection, forming the conceptual basis for my later work on the interplay between molecular structure and reaction environment.

We also developed a gas-phase microbial reaction system using *Acinetobacter* sp. Tol 5 and achieved the conversion of geraniol into the high value-added compound (*E*)-geranic acid. In this system, the outcome of the reaction was governed not only by catalytic activity but also by the design of the reaction field, including substrate introduction, mass transfer, toxicity avoidance, and product recovery. These studies led us to regard whole organisms as reaction fields rather than mere collections of enzymes (Fig. 1, right)⁴⁻⁶.

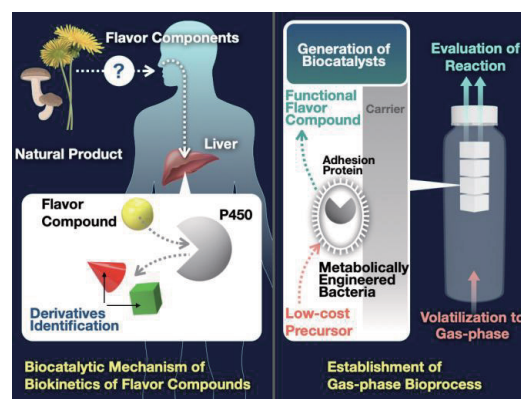


Fig. 1. Research on Flavor Compounds

Molecular transformation of nanocarbons in insect enzyme catalytic sites

We then extended the scope of target substrates from naturally occurring molecules to non-natural compounds and developed the biotransformation of molecular nanocarbons. Molecular nanocarbons possess excellent materials properties derived from their precisely defined structures, yet their site-selective functionalization, particularly oxygen-atom doped, remains challenging in synthetic chemistry because it often requires harsh conditions and is prone to side reactions. To address this problem, we focused on the xenobiotic metabolism of insects, which has evolved under constant exposure to plant secondary metabolites and synthetic chemicals. Insects have developed oxidative enzyme systems centered on cytochrome P450s, enabling oxidation at specific sites based on differences in electron density and molecular structure. Furthermore, at the whole-organism level, feeding, partitioning in the digestive tract, transport within the body, cofactor supply, metabolism, and excretion are integrated into a continuous process, suggesting that insects provide a catalytic environment well suited for handling hydrophobic substrates. From this perspective, insects can be understood not simply as a collection of enzymes, but as a multiphasic and dynamic reaction field that accepts

hydrophobic artificial molecules, localizes them, and selectively transforms them.

As a model insect, we selected larvae of *Spodoptera litura*, a highly polyphagous species with strong xenobiotic metabolizing capacity. [6]MCPP, a representative molecular nanocarbon, was used as the model substrate. When larvae were fed an artificial diet containing [6]MCPP, analysis of the frass revealed the selective formation of a mono-oxygenated product. Purification and structural characterization demonstrated that this product was generated by oxygen-atom insertion into a specific bond. Furthermore, this highly selective transformation was also extendable to the ring-shaped molecular nanocarbon [6]CPP. Additionally, the reaction is strongly dependent on the intrinsic metabolic system of the host insect and that specific cytochrome P450s are involved. These findings indicate that the insect body can function as an “in vivo nanoreactor” that autonomously mediates the uptake, local partitioning, oxidation, and excretion of hydrophobic substrates. This result is important in that it suggests that insect xenobiotic metabolism, which has traditionally been understood in the context of degradation and detoxification, can be reinterpreted as a selective molecular transformation system capable of generating high value-added derivatives of non-natural compounds (Fig. 2)⁷.



Fig. 2. Research on Nanocarbons

Future Perspectives

I aim to further deepen the understanding of nanocarbon transformation in the enzymatic sites in insect not merely as a phenomenological observation, but from a molecular perspective. Ultimately, I seek to reframe the insect xenobiotic metabolic system as a “designable catalytic site” and to establish a new principle of molecular transformation for creating unprecedented nanocarbon derivatives that are difficult to access by conventional synthetic chemistry.

Acknowledgements

I sincerely thank Professors Mitsuo Miyazawa, Katsutoshi Hori, and Kenichiro Itami, as well as all collaborators and colleagues, for their generous guidance and support.

References

1. Usami A. *et al.*, *Phytochem. Anal.*, **2014**, *25*, 561.
2. Usami A. *et al.*, *Chem. Biodivers.*, **2015**, *12*, 1734.
3. Nakahashi H. *et al.*, *Biopharm. Drug Dispos.*, **2015**, *36*, 565.
4. Usami A. *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2018**, *82*, 2012.
5. Usami A. *et al.*, *Green Chem.*, **2020**, *22*, 1258.
6. Usami A. *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2024**, *89*, 496.
7. Usami A. *et al.*, *Science*, **2025**, *388*, 1055.

Brief Biography

March	2020	Completed the doctoral program in Biomolecular Engineering, Graduate School of Engineering, Nagoya University; Ph.D. (Engineering)
April	2020	Postdoctoral Researcher, Graduate School of Science, Nagoya University
April	2021	Postdoctoral Researcher, Research Center for Materials Science, Nagoya University
February	2022	Postdoctoral Researcher, Graduate School of Science, Nagoya University
April	2023	Designated Assistant Professor, Institute of Transformative Bio-Molecules (WPI-ITbM) / Institute for Advanced Research, Nagoya University
April	2024	T-GEEx Fellow, MEXT “Tokai Pathways to Global Excellence”