

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05830

研究課題名(和文) コレラ菌から地球規模での水の衛生微生物学的安全性を保证する

研究課題名(英文) Validation of microbial safety in drinking water in the world by comparative genomics of *Vibrio cholerae*

研究代表者

丸山 史人 (MARUYAMA, Fumito)

広島大学・学術・社会連携室・教授

研究者番号：30423122

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：特にベトナム、日本自然環境からコレラ菌を収集し、比較ゲノム解析を疫学的なアプローチで進めてきた。ベトナムでは、O1, 139株を単離したが、この単離頻度は5%未満で、ほとんどO1, 139株を得ることは困難であった。また、単離できた株は、コレラ毒素を保有していなかった。ゲノム系統樹から、そのゲノム配列は、臨床分離株とは大きく異なることが明らかとなった。また、日本分離株では、季節ごとに優先クローンが異なることがわかった。そして、日本で1970年代に取得した鮎由来のコレラについても比較ゲノム解析を進め、たった2クローンが日本魚病原クローンとなっている可能性を見出すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、地理的に隔てられるが、食品の輸入等によるつながりをもつ3地域(チリ、ベトナム、日本)における水環境を研究対象として、コレラ菌のゲノム疫学的な解析を実施した。本菌は自然環境が生息地であることから、環境からコレラ菌を単離した。単離したコレラ菌は、臨床分離株とはそのゲノム特性が大きく異なっており、新しい病原性を生み出す遺伝子プールとなることから、環境分離株研究をさらに推進していく必要がある。

研究成果の概要(英文)：We have collected *Vibrio cholerae* bacteria from the natural environment in Vietnam and Japan and have used an epidemiological approach for comparative genomic analysis. In Vietnam, we isolated O1 and 139 strains, but the frequency of the isolation was less than 5% and it was almost impossible to obtain O1 and 139 strains. The strains isolated did not possess cholera toxin gene. The genomic phylogenetic tree revealed that its genomic sequence is very different from that of the clinical isolates. We also found that the dominant clones in environmental (river) isolates in Japan differed from season to season. In addition, we also performed comparative genomic analysis of cholera from "ayu" (Japanese) in Japan in the 1970s, and found that only two clones were likely to be causative ones of Japanese fish, ayu, disease.

研究分野：環境遺伝生態学

キーワード：コレラ 比較ゲノム解析 薬剤耐性 ゲノム疫学 CRISPR

## 1. 研究開始当初の背景

われわれヒトをはじめとする生命にとって、水は最も根源的な構成因子のひとつである。良好な水資源の確保無くして「人類の健康的な生存と繁栄」は考えられない。現代社会において、生活用水の水源に用いられるのは地表水(河川、湖沼)、地下水(井戸)がほとんどであり、極稀に海洋水がこれに用いられる。大気中を含めて水は常に循環しており、サイクルのいずれかで生じた汚染は他の水資源にも影響を及ぼす。したがって安全な水源を確保するためには水源周辺地域を含めた、広範囲に及ぶ水資源の健全性を確保する必要がある。途上国においては都市部へ人口が過度に集中化することにより、生活排水が増大し、環境中への放出に伴う水資源の汚染が深刻化している。飲料に適した安全な水は地球規模で枯渇寸前と言われており、安定した水資源の確保は今後世界が直面する課題である。生活排水による水資源の汚染により懸念されることの1つが、「微生物汚染による感染症の発生」である。水系感染症と呼ばれる水環境に生息する微生物に起因する感染症の多くは消化器感染症であり、病原性大腸菌感染や世界的な流行が今もなお続いているコレラ等が例に挙げられる。水を介した感染症の流行、こと細菌感染症に関しては先進諸国では減少しつつあるものの、浄化設備に依存するシステムは完全なものではない。さらにその老朽化により、新たな汚染発生が心配される地域も存在する。また、近年では、農畜産、水産養殖ならびにヒトにおける抗生物質の濫用とそれに伴う薬剤耐性菌の増加がやはり途上国を中心に生じている。環境中における薬剤耐性菌の増加はヒトの病原細菌感染の遺伝子供給源となることが懸念されているが、実際の環境中における生態系への影響等は未知数である。そのため、薬剤耐性菌に対する重点的なサーベイランスと環境中における細菌同士の相互作用や病原因子の動態解析などの基盤的研究の推進が求められる。また、我が国は有数の食品輸入国でもあり、微生物に汚染された食品の流入による感染症発生は常に懸念されるが、その発生は検疫システムによって水際で抑制されている。しかし、検疫における培養法や拡散検出法(PCR、LAMP等)による病原体の検出では、VNCと呼ばれる培養できない細菌群の存在や、未知遺伝子の検出が困難であるため、そこに生息する微生物の全体像を把握することは不可能である。実施者らが業績を上げてきた微生物ゲノム解析法の発展は大多数の培養不能細菌群を定量的に評価し、詳細なゲノム解析から未知遺伝子を含むゲノム変動を明らかにすることが可能な段階にまで進んでいる。そのため、環境評価をゲノム学的に行うことは、我々の生息する環境の衛生学的頑健性を高めるために直接的かつ現実的な方策であると考えられる。また、ゲノム情報は世界中のあらゆる場所においてリアルタイムでの共有が可能であり、かつ標準化された比較対象として簡便に用いることができる。以上を鑑み、本研究において「地球規模での水資源の衛生微生物学的安全性を保証する」ことに資する環境微生物ゲノム解析研究の着想に至った。

## 2. 研究の目的

以下を解明すべく本研究課題に取り組んできた。地理的に隔てられるが食品の輸入等によるつながりをもつ3地域、チリ、ベトナム、日本における水環境中に生存する微生物叢の全体像、ヒトの健康安全性への直接的な脅威となる可能性が示唆されている薬剤耐性遺伝子の拡散状況、病原微生物 *Vibrio* 属細菌のゲノム多様性とその環境中における生態を明らかにする。研究期間を通じて、上記3地域を対象としたI) 環境水中の微生物叢構成細菌の量的解析、II) 自然環境に存在する薬剤耐性遺伝子の分布と量的解析、III) *Vibrio* 属細菌の全ゲノム解析、IV) 水平遺伝子伝達とそれに対する細菌の備える免疫機構(CRISPR/Cas)との相関の結果と考えられるゲノム変動、ならびに菌数制御機構等の解析を行う。4年間という研究期間に検体収集と解析を行うことにより、その変動を経時的にモニタリングする。同時に水の微生物学的安全性を長期的に維持することを念頭に研究者ネットワークの構築、ゲノム情報データベースの構築を明確なアウトプットとする。また、*Vibrio* 属細菌のなかでもコレラ菌(*V.cholerae*)は、これまで度々世界的な流行を起こしている臨床的にも非常に重要な病原細菌である。そこで、本研究ではさらに、環境中における生態から流行株に至るプロセスをゲノムレベルで明らかにする。また、現在コレラに対しては2種類の経口ワクチンが利用されており、ある程度の予防効果を示している。しかしながら、いずれも大流行を引き起こすO1型に特異的なワクチンとなっており、その他の血清型には無効である。そのため、得られた多数のコレラ菌株のゲノム情報を基に、網羅的な遺伝子解析を行い、様々なコレラ菌血清型に共通する新たなワクチン開発に有用な遺伝子を同定・検証する。

本研究は研究フィールドを、我が国の主要な水産物輸入相手国であるチリ、ベトナム、そして、日本に設定している。これらの地域は、「輸入される水産物の安全を生産段階で評価する」目的に適した地域である。申請者らが構築してきた、メタゲノム解析を駆使したゲノム解析技術と量的評価手法を用いて、本研究では、環境微生物の大部分を占める難培養菌に対して各地域の微生物群集の全体像と、ヒトの健康に影響を及ぼすと考えられる薬剤耐性遺伝子群の動態を明らかにする。加えて、病原細菌の *Vibrio* 属細菌にも同様の方法を用いることで環境中における病原微生物のゲノム生態等を明らかにすることに特色をもつ。機構に関する知見は非常に限定されているが、未解析の培養不能な細菌群が両者に深く関与することで微生物生態系が維持されていると予想される。さらに、本研究の主要な解析対象とするコレラ菌は、水系感染を介する下痢症感染症として重要な病原細菌であり、本研究開始の前年度発足したAMEDの中核の一つである「新興・再興感染症制御プロジェクト」においても重要な位置づけとなっている。早急な国内外のサーベイランスの整備に加え、ワクチン開発を含む更なる基盤的研究が求められている。こ

のことから、本研究がもたらす成果は、微生物生態系維持機構を解明する 端緒になることに加え、構築するゲノムデータベースは今後他の地域における同様の微生物学的評価のプラットフォームとして活用することで、学術的・予防医学的な意義をさらに深化するものと考えた。

### 3. 研究の方法

上記の目的を達成するため、以下の4項目について特に解析を加えた。

I) 環境水 DNA 検体の 16SrDNA メタゲノム解析による構成細菌群の量的構成の解明、II) 環境水 DNA 検体を用いた定量 PCR による薬剤耐性遺伝子の分布の解明、III) 環境水より *V. cholerae* ならびに近縁の *Vibrio* 属細菌を培養法により分離し、全ゲノム情報を取得、IV) 比較ゲノム解析による、(IV-a) 薬剤耐性遺伝子拡散に関わる遺伝子伝達因子の多様性解明、(IV-b) 細菌の獲得免疫を規定する CRISPR 領域の配列解析による各菌株の持つ免疫機構と水平遺伝子伝達の相関の定性的解明、(IV-c) 網羅的遺伝子探索によるコレラワクチン開発に応用可能な新規有用遺伝子の同定と検証。以下に、さらに当初の予定を解説する。

1) 各調査研究実施国における環境水の採取について。環境水の採取は各国にて10検体ずつ、チリ(テムコ周辺、アンタファガスタ周辺各5ヶ所)、日本(愛媛漁港、東京湾、神戸港を予定)、ベトナム(北部ナムディン省チュクニン郡近郊10ヶ所)にて行う。同時に水温、塩濃度、溶存酸素濃度等の基礎データの収集を行う。

2) 各検体からの細菌 DNA 抽出およびメタゲノム解析

各水検体を0.22 $\mu$ mメンブレンを用いて濾過し、細菌群をメンブレンに付着させ、Power Water DNA Isolation kitを用いてDNAを抽出する。抽出したDNAを用いて、16S rRNA 遺伝子の可変領域を含む460 bpをPCRにて増幅する。増幅産物を次世代シーケンサーMiSeqにて解析し、環境水に存在する細菌群の構成を可能な限り種レベルで半定量的に解明する。以上の解析はすべて Illumina 社公開の16S rRNA 菌叢解析プロトコールに準拠する。

3) *V. cholerae* ならびに *Vibrio* 属細菌の分離およびゲノム配列取得・系統解析各水検体を用いて、*V. cholerae* および *Vibrio* 属細菌の分離を行う。TCBS 培地を用いた選択培養、分離コロニーのNaCl感受性による再スクリーニング、PCR法を用いた分離菌株の菌種同定を行う。同時に各株のゲノムDNAを抽出後、MiSeqを用いてゲノム配列情報を取得する。さらに、全ゲノムSNP(一塩基多型)を用いた高精度系統解析を行い、環境中の *Vibrio* 属細菌の系統関係を明らかにする。

4) 調製したDNA検体を用いて、定量PCRによる薬剤耐性遺伝子の量的解析と分布の解析を行う。定量PCRは水産養殖で検出頻度の高い種々の薬剤耐性遺伝子(*tet(M)*, *sul2*, *floR*など)および臨床分野で注目されるカルバペネム耐性遺伝子について行う。特にカルバペネム耐性遺伝子が検出された場合には、耐性菌株分離を行い、より詳細な分布を明らかにする。さらに同種間、異種間の遺伝子伝達に関与するファージ、プラスミド等の伝達因子の同定を行う。

5) 取得したゲノム配列を用いてCRISPR領域の遺伝子配列解析より、それぞれの菌株のもつ免疫機構と水平遺伝子伝達の相関の定性的解析を行う。また、収集したコレラ菌株のゲノム配列情報を基にアライメントを実施し、全株のゲノムに共通な領域を抽出する。抽出された領域において、特に膜タンパク質や表層抗原に関連する遺伝子に着目し、ワクチン開発に応用可能な候補遺伝子を網羅的に探索する。同定した候補遺伝子の過剰発現株を作製し、分担研究者である村瀬の先行研究で確立した「外膜小胞の過剰生産法」を用いて、様々なコレラ血清型株に対応する免疫原性成分を有した外膜小胞を精製する。実際に01型以外のコレラ菌に対しても有効なワクチン開発に応用できるかについては、培養細胞における精製外膜小胞の取り込み効率や動物実験等を考慮した段階的な研究を行っていく必要があるため、今後の課題として検討する。

### 4. 研究成果

これまでに、赤潮原因藻類に関わる微生物の総体(ホロビオーム)を構成する微生物の中でも、特に海洋細菌と赤潮原因藻の単離方法の確立・標準化を終了した。チリ国において本手法を用いることで海洋細菌の単離を行い、海洋細菌は269株を単離した。さらに、日本では藻類に接着していた細菌株15株と海洋環境から単離したビブリオコレラ菌38株、ブラジルからも15株、チリでも15株の海洋環境から単離したビブリオ細菌からのゲノム配列を取得した。また、日本においては、愛媛において、自然環境におけるビブリオコレラの分布、多様性調査を行った。また、以下に、その特定遺伝子の検出を現場で検出可能な簡易キットシステム一式(スーツケースラボ)の開発を行った。

愛媛における自然環境におけるビブリオコレラの分布、多様性調査について。サンプリング：松山市近郊の汽水域および沿岸10か所にて3月、5-9月および11月にサンプリングを行った。採取した水サンプルを現場で10倍濃度のアルカリペプトン水に加え最終濃度を1%とし、室温で実験室に持ち帰った後37 $^{\circ}$ C、17-18時間培養し *Vibrio* 属細菌を選択増菌した。*V. cholerae* の分離：選択増菌した培養液の一部から total DNA 抽出を行い、これをテンプレートとして *toxR* 遺伝子をターゲットとした *V. cholerae* 特異的 PCR により *V. cholerae* の検出を行った。陽性を呈したサンプルの一部を *Vibrio* 属細菌の選択培地である TCBS 寒天培地上へ塗り広げ、ショ糖分解能を示したコロニーをターゲットに *toxR* 遺伝子の保有を再度確認 16S rRNA 遺伝子配列決定により *V. cholerae* と確定した。分離した *V. cholerae* について、PCR 法により血清型 01, 0139 型チェックおよび毒素遺伝子 *ctxA* の有無を確認した。またそれぞれの株から全 DNA を抽出し、イルミナ社の HiSeq を用いた全ゲノム配列決定に供した。3月、5月から9月および11月に

松山市沿岸および河川 10 地点で採水を行い *V. cholerae* の検出を試みた結果、水温が 20℃以上であった 6 月から 9 月は 10 地点中 8 地点以上から *V. cholerae* が分離された。一方、3 月および 11 月は 10 地点の最高水温がそれぞれ 18.5℃および 19.3℃であり、いずれの月も 1 地点のみが陽性であった。我が国のコレラ患者報告数について、国立感染症研究所の感染症発生動向調査年報をもとにデータが存在する 1999 年以降について集計した結果、愛媛県におけるコレラ患者は 2005 年に報告された 1 件を最後に現在まで 0 件であった。*V. cholerae* は松山市沿岸および河川水中の微生物群集を構成する種として常在していると考えられた。また調査対象とした 10 地点は合計 7 回のサンプリングにおける分離頻度によって、7 割以上の高頻度分離地点、約 5 割の中頻度地点および一度のみ検出された低頻度分離地点に分類され、それぞれ 1 地点、8 地点および 1 地点が該当した。採取した環境水の電気伝導度と分離頻度の関連はみられなかったが、*V. cholerae* の分離頻度は地点によって異なっていた。分離した 38 株はいずれも血清型 O1, O139 には該当せずまた毒素遺伝子 *ctxA* も保有していなかったことから、食中毒原因菌となる non-O1/non-O139 タイプ（ナグビブリオ）であることが明らかになった。さらにパルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE 法）により、分離株のゲノタイピングを行いその多様性を解析した結果、分離時期および採水地点の異なるサンプルから年単位で季節ごとに繰り返し分離される 3 つのゲノタイプが存在することが明らかになった。このうちゲノタイプ 1 は低水温期を含む長期間にわたり広範囲から分離された。今回分離した 38 株について現在全ゲノム配列を解析中であるが、ゲノムレベルでの解析でも同様の傾向がでることが明らかとなった。松山市沿岸および重信側流域の 10 地点から得られた *V. cholerae* 株は毒素遺伝子 *ctxA* を保有しない non-O1/non-O139 タイプであった。本タイプは食中毒原因菌であるため、今後本菌の環境中における年間の現存量の変化を把握する必要がある。当研究における予備的検討からフィルター上に採捕した細菌の全 DNA を用いた qPCR では *V. cholerae* は検出限界以下となることが予想され、今後、検出感度を高めることが可能な培養法と PCR 法を組み合わせた MPM-PCR 法による定量を検討する必要がある。松山市沿岸および重信川流域の比較的限られた範囲内でも、*V. cholerae* の分離頻度はサンプリング地点によって大きく異なることが明らかになった。このようなホットスポット出現のメカニズムの解明は今後の課題であり、ヒト由来の *V. cholerae* の影響が無視できる非流行地は適していると考えられる。分離株の解析により、同一のゲノタイプを持つ株が年間を通じて松山市沿岸および重信河川に分布することが強く示唆された。現在、得られた全ての株について全ゲノム情報の詳細を確認中であり、今後得られた配列の比較解析結果から、環境中に長期間広い範囲に分布する *V. cholerae* 株の特徴を明らかにする予定である。

特定遺伝子の検出を現場で検出可能な簡易キットシステム一式（スーツケースラボ）の開発状況について。携帯型実験装置「スーツケースラボ」のプロトタイプを民間企業と共同で開発し、国内での使用、プロジェクトチーム内でのトレーニングを実施し、チリに持ち込んだ。このプロトタイプで可能実施項目は以下の通りである：冷却しながらの試薬、試料運搬（0℃と 4℃）、採水、φ10 μm、φ0.2 μm フィルターを用いた海水の吸引・ろ過、細胞破碎、簡易 DNA 抽出、LAMP 法（特定遺伝子を検出可能）、遠心分離（420-950 x g for 1.5 ml, 450-1,000 x g for 2 ml）、顕微鏡観察（x 800）、である。また、これらの項目を実施可能とするために以下の 43 個の機材をスーツケースに入れ込んでいる：ファンネル、ファンネル固定器、20 μl ピペット、200 μl ピペット、顕微鏡本体、セルカウンター、マッシャー、UV ランプ、スポイト、ホモジナイザー、ペッスル、ピンセット、PC、ペリスタリックポンプ、保冷ボックス、海水サンプリング用容器、Thermostatic color sensor、0.2 μm フィルター、Microcentrifuge、Nylon mesh sieve（10 μm）、手つきビーカー、カウンター、等である。現在は、LAMP 法（特定の藻類を検出）をすることまでが可能であり、収集する微生物のゲノム解析や、ホロビオーム解析はできない。そこで、これを可能とするために携帯可能な DNA シーケンサーと無菌操作可能な折りたたみブースを取り込むことでゲノム解析が可能な改良版スーツケースラボの作製を進めている（その他、モバイルバッテリーや強力な細胞破碎を可能とするビーズビーターも取り込む）。その他の今後の予定としては、引き続き赤潮原因藻類ホロビオーム構成微生物の単離・同定を継続するとともに、取得したゲノム配列の比較解析を続け、赤潮藻類に影響を与える因子（相互作用因子）の同定を進めるとともに、その特定遺伝子の検出を現場で検出可能な上述したスーツケースラボに組み込み、使用する予定である。そして、海洋赤潮とコレラを始めとした病原細菌、抗生物質耐性菌の動態解析に応用したい。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 12件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Okubo Torahiko, Yossapol Montira, Ikushima Shiori, Kakooza Steven, Wampande Eddie M., Asai Tetsuo, Tsuchida Sayaka, Ohya Kenji, Maruyama Fumito, Kabasa John D., Ushida Kazunari	4. 巻 -
2. 論文標題 Isolation and Characterization of Antimicrobial-Resistant Escherichia coli from Retail Meats from Roadside Butcheries in Uganda	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Foodborne Pathogens and Disease	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/fpd.2020.2796	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 Soliman Ahmed M., Maruyama Fumito, Zarad Hoda O., Ota Atsushi, Nariya Hirofumi, Shimamoto Toshi, Shimamoto Tadashi	4. 巻 8
2. 論文標題 Emergence of a Multidrug-Resistant Enterobacter hormaechei Clinical Isolate from Egypt Co-Harboring mcr-9 and blaVIM-4	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 595 ~ 595
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms8040595	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 Walter Juline M., Coutinho Felipe H., Leomil Luciana, Hargreaves Paulo I., Campeao Mariana E., Vieira Vernica V., Silva Beatriz S., Fistarol Giovana O., Salomon Paulo S., Sawabe Tomoo, Mino Sayaka, Hosokawa Masashi, Miyashita Hideaki, Maruyama Fumito	4. 巻 -
2. 論文標題 Ecogenomics of the Marine Benthic Filamentous Cyanobacterium Adonisia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbial Ecology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00248-019-01480-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 該当する
1. 著者名 Takahashi Ichiro, Hosomi Koji, Nagatake Takahiro, Tobou Hirokazu, Yamamoto Daiki, Hayashi Ikue, Kurashima Yosuke, Sato Shintaro, Shibata Naoko, Goto Yoshiyuki, Maruyama Fumito, Nakagawa Ichiro, Kuwae Asaomi, Abe Akio, Kunisawa Jun, Kiyono Hiroshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Persistent colonization of non-lymphoid tissue-resident macrophages by Stenotrophomonas maltophilia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxz071	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 Okura Masatoshi, Maruyama Fumito, Ota Atsushi, Tanaka Takeshi, Matoba Yohei, Osawa Aya, Sadaat Sayed Mushtaq, Osaki Makoto, Toyoda Atsushi, Ogura Yoshitoshi, Hayashi Tetsuya, Takamatsu Daisuke	4. 巻 50
2. 論文標題 Genotypic diversity of <i>Streptococcus suis</i> and the <i>S. suis</i> -like bacterium <i>Streptococcus ruminantium</i> in ruminants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Veterinary Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13567-019-0708-1	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 Yano Hirokazu, Suzuki Haruo, Maruyama Fumito, Iwamoto Tomotada	4. 巻 20
2. 論文標題 The recombination-cold region as an epidemiological marker of recombinogenic opportunistic pathogen <i>Mycobacterium avium</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Genomics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12864-019-6078-2	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 Jorquera Milko A., Graether Steffen P., Maruyama Fumito	4. 巻 7
2. 論文標題 Editorial: Bioprospecting and Biotechnology of Extremophiles	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fbioe.2019.00204	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 Arikawa Kentaro, Ichijo Tomoaki, Nakajima Satomi, Nishiuchi Yukiko, Yano Hirokazu, Tamaru Aki, Yoshida Shiomi, Maruyama Fumito, Ota Atsushi, Nasu Masao, Starkova Daria A., Mokrousov Igor, Narvskaya Olga V., Iwamoto Tomotada	4. 巻 74
2. 論文標題 Genetic relatedness of <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>hominissuis</i> isolates from bathrooms of healthy volunteers, rivers, and soils in Japan with human clinical isolates from different geographical areas	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Infection, Genetics and Evolution	6. 最初と最後の頁 103923 ~ 103923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.meegid.2019.103923	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 Komatsu Tetsuya, Ohya Kenji, Sawai Kotaro, Odoi Justice Opore, Otsu Keiko, Ota Atsushi, Ito Toshihiro, Kawai Mikihiro, Maruyama Fumito	4. 巻 12
2. 論文標題 Draft genome sequences of Mycolicibacterium peregrinum isolated from a pig with lymphadenitis and from soil on the same Japanese pig farm	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Research Notes	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13104-019-4380-3	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 Minato Yusuke, Gohl Daryl M., Thiede Joshua M., Chac?n Jeremy M., Harcombe William R., Maruyama Fumito, Baughn Anthony D.	4. 巻 4
2. 論文標題 Genomewide Assessment of Mycobacterium tuberculosis Conditionally Essential Metabolic Pathways	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 mSystems	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mSystems.00070-19	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 Nuez-Montero Kattia, Lamilla Claudio, Abanto Michel, Maruyama Fumito, Jorquera Milko A., Santos Andres, Martinez-Urtaza Jaime, Barrientos Leticia	4. 巻 9
2. 論文標題 Antarctic Streptomyces fildesensis So13.3 strain as a promising source for antimicrobials discovery	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-43960-7	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 Tanaka Daisuke, Sato Kei, Goto Motoshi, Fujiyoshi So, Maruyama Fumito, Takato Shunsuke, Shimada Takamune, Sakatoku Akihiro, Aoki Kazuma, Nakamura Shogo	4. 巻 7
2. 論文標題 Airborne Microbial Communities at High-Altitude and Suburban Sites in Toyama, Japan Suggest a New Perspective for Bioprospecting	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fbioe.2019.00012	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 Furuta Yoshikazu, Harima Hayato, Ito Emiko, Maruyama Fumito, Ohnishi Naomi, Osaki Ken, Ogawa Hirohito, Squarre David, Hang'ombe Bernard Mudenda, Higashi Hideaki	4. 巻 3
2. 論文標題 Loss of Bacitracin Resistance Due to a Large Genomic Deletion among Bacillus anthracis Strains	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 mSystems	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mSystems.00182-18	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 Okubo Torahiko, Yossapol Montira, Maruyama Fumito, Wampande Eddie M., Kakooza Steven, Ohya Kenji, Tsuchida Sayaka, Asai Tetsuo, Kabasa John D., Ushida Kazunari	4. 巻 66
2. 論文標題 Phenotypic and genotypic analyses of antimicrobial resistant bacteria in livestock in Uganda	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Transboundary and Emerging Diseases	6. 最初と最後の頁 317 ~ 326
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tbed.13024	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 Nonaka Lisa, Yamamoto Tatsuya, Maruyama Fumito, Hirose Yuu, Onishi Yuki, Kobayashi Takeshi, Suzuki Satoru, Nomura Nobuhiko, Masuda Michiaki, Yano Hirokazu	4. 巻 13
2. 論文標題 Interplay of a non-conjugative integrative element and a conjugative plasmid in the spread of antibiotic resistance via suicidal plasmid transfer from an aquaculture Vibrio isolate	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0198613
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0198613	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 Cid Fernanda P., Maruyama Fumito, Murase Kazunori, Graether Steffen P., Larama Giovanni, Bravo Leon A., Jorquera Milko A.	4. 巻 22
2. 論文標題 Draft genome sequences of bacteria isolated from the Deschampsia antarctica phyllosphere	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Extremophiles	6. 最初と最後の頁 537 ~ 552
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00792-018-1015-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 該当する

1. 著者名 Okada Kazuhisa, Wongboot Warawan, Chantaroj Siriporn, Natakuathung Wirongrong, Roobthaisong Amonrattana, Kamjumphol Watcharaporn, Maruyama Fumito, Takemura Taichiro, Nakagawa Ichiro, Ohnishi Makoto, Hamada Shigeyuki	4. 巻 8
2. 論文標題 Vibrio cholerae embraces two major evolutionary traits as revealed by targeted gene sequencing	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-19995-7	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 Rilling J.I., Acuna J.J., Nannipieri P., Cassan F., Maruyama F., Jorquera M.A.	4. 巻 130
2. 論文標題 Current opinion and perspectives on the methods for tracking and monitoring plant growth-promoting bacteria	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Soil Biology and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 205 ~ 219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.soilbio.2018.12.012	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 °T. Ito, M. Okura, *F. Maruyama	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 8
3. 書名 Acquired and innate immunity in prokaryotes define their evolutionary story	

〔産業財産権〕

[ その他 ]

Loop  
<https://loop.frontiersin.org/people/20823/overview>  
 ResearchGateにおける丸山ホームページ  
[https://www.researchgate.net/profile/Fumito\\_Maruyama](https://www.researchgate.net/profile/Fumito_Maruyama)  
 PubMedでの丸山の業績  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=maruyama+fumito+or+maruyama+f+and+nonaka+l+or+maruyama+f+and+nakagawa+i>  
 Google Scholarにおける丸山の業績  
<https://scholar.google.co.jp/citations?user=HeDrKa4AAAAJ&hl=ja>  
 FaceBookにおける丸山のホームページ  
<https://www.facebook.com/Microbial-Genomics-and-Ecology-135689926563239/?ref=bookmarks>

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	竹村 大地郎  (TAKEMURA TAICHIRO)  (60572899)	長崎大学・熱帯医学研究所・助教    (17301)	
研究分担者	中川 一路  (NAKAGAWA ICHIRO)  (70294113)	京都大学・医学研究科・教授    (14301)	
研究分担者	野中 里佐  (NONAKA LISA)  (70363265)	獨協医科大学・医学部・講師    (32203)	
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)	
研究分担者	村瀬 一典  (MURASE KAZUNORI)  (40710869)	京都大学・医学研究科・研究員    (14301)	