

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H04763

研究課題名(和文)立体構造と発現スクリーニングに立脚した非天然型酵素反応の創出

研究課題名(英文)Creation of non-natural enzyme reactions based on three-dimensional structure and expression screening

研究代表者

淡川 孝義 (Awakawa, Takayoshi)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・准教授

研究者番号：80609834

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：放線菌が生産する teleocidin Bは特徴的な環状テルペノイド構造と9員環ラクタム構造を有する、強力なprotein kinase C活性化化合物である。本研究では、N-methyl-L-valyl-tryptophanol (NMVT)のN13位、C4位間にC-N結合を形成することによって9員環ラクタム indolactam Vを合成するP450TleBに注目し、基質アナログを用いた酵素反応やX線結晶構造解析からTleBとそのホモログ酵素HinDの触媒機構の解明し、反応メカニズムを元に新規 indolactam 類縁体を創出した。その他に、HinDホモログHinCの反応解析を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、環境に優しく、立体構造の形成に秀でた生合成酵素を改変し、非天然型の基質を作用させることで、多数の新規化合物を取得した。テルペンインドール化合物テレオシジン生合成酵素のうち特異なP450酸化酵素TleBを例として、X線結晶構造解析を行い、その立体構造を明らかにし、その触媒メカニズムを明らかにした。本結果は、酵素を用いた物質生産系構築のための基盤を構築し、多様な代謝経路で重要な役割を果たすP450酸化酵素の新たな触媒能力を解明することで、幅広い学術領域に大きなインパクトを与えた。これを基盤に、新たな物質生産の方法論が提唱され、医薬品製造技術への貢献を通して、公共の福祉に大きく貢献する。

研究成果の概要(英文)：Teleocidin B is a cyclic peptidic terpenoids characterized with 9-membered ring indolactam structure and a potent protein kinase C activator. In this study, we report the mechanistic characterization of indolactam-forming P450 enzymes TleB and its homolog HinD. Interestingly, the TleB and HinD accepted the various dipeptide substrates, and generated not only indolactam analogs but also unusual 6/5/6 ring structures in vitro. Comparisons of the complex crystal structures with different substrates revealed the important residues and possible binding modes in the active site. Combination of the findings from the enzyme assays and X-ray crystal structures of TleB and HinD, we proposed a mechanism of the enzyme catalyzed intramolecular C(sp<sup>2</sup>)-H bonds amination. We also identified the reaction of HinD homologs from Streptoalloteichus hindustanus.

研究分野：天然物化学、酵素工学、合成生物学

キーワード：生合成 酵素構造解析 物質生産

### 1. 研究開始当初の背景

天然物は、以前より医薬品リード化合物として多く用いられているが、天然から単離される有用化合物は減少の一途にあり、医薬品リード化合物取得のためには新たな手法が必要である。ポストゲノムの時代、多くの生物のゲノム情報が容易に入手可能で、ゲノムマイニング、遺伝子探索が新規化合物や酵素の探索に直結する時代になった。遺伝子の設計図をもとに生合成システムを改変したり、生合成酵素の立体構造情報に基づく触媒機能の操作、また、これら遺伝子を用いて微生物を生産工場とした物質生産系の構築等が報告されている。次のブレークスルーは、この生合成マシナリーを如何に活用するか、という点であり、生合成システムにさらに改良を加えることで、天然物を凌ぐ新規有用物質の創出や、希少有用天然物の大量、安定供給などが可能になる。今後の医薬資源の開発について考えた場合、多様性に富む化合物群をいかに効率良く生産し、創薬リードとして提供できるか、が鍵になる。本計画では、環境に優しく、立体構造の形成に秀でた生合成酵素の基質特異性、反応性を改変する手法に注目する。酵素の反応解析を行う中で、現在最も有力な手法は X 線結晶構造解析である。酵素-基質の複合体構造を X 線結晶構造解析することで、基質の近傍に位置し、基質認識に重要なアミノ酸が明らかとなる。これにアミノ酸変異を加えることで、酵素の基質認識が変わることが期待されるが、特定のアミノ酸を他すべてのアミノ酸に変異させる飽和変異や、複数のアミノ酸を同時に変異させるランダム変異など、基質特異性、反応性が変わった酵素を見出す為には、いくつかの変異の組み合わせを試す必要がある。また、よりターンオーバーの大きい酵素を取得しようとする場合、広い領域を無作為に変異させた酵素を作る必要性がある。

### 2. 研究の目的

本研究では、放線菌より単離されるテルペンインドールであるテレオシジン生合成酵素に注目する。テレオシジンは細胞内のシグナル伝達に関わる主要なセリン-スレオニンキナーゼである PKC (protein kinase C) の強い活性化作用を持つ。近年、ガン細胞における PKC 変異のほとんどが機能欠損型であることが示され、PKC 活性化が有効な制ガン戦略として考えられている。よって、天然物の骨格を基盤として、PKC 活性化にみられる発ガン促進性、炎症性を取り除いたアナログを合成することで、有用化合物の創出が期待される。申請者によって、近年、非リボソームペプチド合成酵素 (NRPS) TleA、P450 酸化酵素 TleB、プレニル基転移酵素 TleC、テルペン部のメチル化、環化に関わる酵素 TleD がテレオシジン B 生合成酵素として同定された (Awakawa *JACS* 2014, 136, 9910)。これらの反応は *in vitro* 反応によってその詳細が同定されているが、それぞれの基質特異性は寛容ではなく、これらを用いて多様な物質の生産を行うためには、その基質特異性の拡張、反応性の改良が必要である。

### 3. 研究の方法

本研究では、環境に優しく、立体構造の形成に秀でた生合成酵素を改変し、非天然型の基質を作用させることで、数多くの新規生成物を得ることを目的とした。そのため、テルペンインドール化合物テレオシジン生合成酵素を例として、その立体構造を明らかにし、その情報を元にアミノ酸変異を導入し、基質特異性、反応性の改変した変異酵素を創出する。アミノ酸変異は、基質結合部位周辺のアミノ酸に対して網羅的に行い、多くの変異酵素ライブラリーを創出する。得られた変異酵素遺伝子ライブラリーを用いて基質、反応性スクリーニングを行うことによって、非天然型基質の合成、受け入れを評価する。得られた変異酵素の結晶構造解析を行い、その基質受け入れ能力の変化を評価する。

### 4. 研究成果

放線菌が生産する teleocidin B (1a, 1b) は特徴的な環状テルペノイド構造と 9 員環ラクタム構造を有する、強力な protein kinase C (PKC) 活性化化合物である。過去の teleocidin 誘導体の構造活性相関研究により、9 員環ラクタム indolactam V (2) の構造が活性発現に必須であることが判明している。これまで当教室の過去の研究において、teleocidin 類の生合成遺伝子クラスターを同定し、シトクロム P450 酸化酵素 TleB が indolactam V の生合成に関わることを報告した (図 1)。TleB は、非リボソーム依存性ペプチド合成酵素 TleA により合成された N-methyl-L-valyl-L-

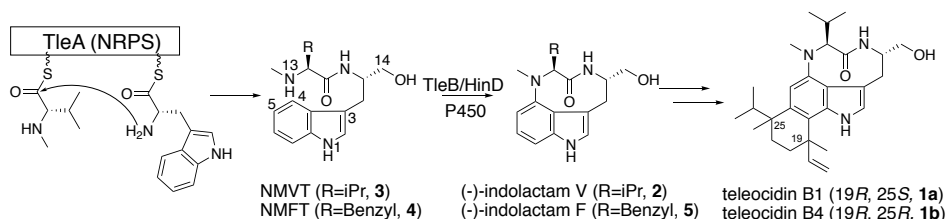


図 1 teleocidin の生合成スキーム

tryptophanol (NMVT, **3**) の N13 位、C4 位間に C-N 結合を形成することによって **2** を生成する。この C-N 結合はジペプチド化合物の二級アミン N13 位と比較的反応性の低い indole 環 C4 位との間に形成されている。生合成における TleB の 9 員環ラクタム形成反応の推定メカニズムはいくつか提唱されていたものの、その詳細については未だ明らかとされておらず、酵素における C-N 結合の位置選択性や反応機構に興味を持たれた。そこで、本研究では、基質アナログを用いた酵素反応や X 線結晶構造解析から TleB とそのホモログ酵素 HinD の触媒機構の解明、さらには反応メカニズムを元に新規 indolactam 類縁体の創出反応をデザインすることによる新規生理活性物質の創出を目的として研究に着手した。

精製した TleB とホモログ酵素 HinD に対し、合成した **3** および *N*-methyl-L-phenylalanyl-L-tryptophanol (NMFT, **4**) を基質として用いて酵素反応を行った結果、TleB は **3** を、HinD は **3**, **4** を基質として受け入れ indolactam 類 **2**, **5** をそれぞれ生成した(図 1)。次に、N13 位、N1 位の違いによる酵素の基質特異性や反応性を検討すべく、**3**, **4** のアナログ化合物として 13 位の-NHCH<sub>3</sub> 基を-NH<sub>2</sub> (**6**)、-OCH<sub>3</sub> (**7**, **9**)、-OH (**8**, **10**)へ置換した化合物や、indole 環を水素原子のない benzo[*b*]thiophene (**11**, **12**)や *N*1-methyl indole (**13**, **14**)へ置換した化合物を合成し酵素反応を行った(図 2)。興味深いことに、TleB は **6-8** を受け入れ、9 員環構造ではなく 14-OH から C2 位への 6 員環形成反応が進行した三環性化合物 **15-17** を、また **7** からは **16** のみならず、N13 位からの脱メチル化反応が進行した **8** を生成した。一方 HinD は TleB より広範な基質特異性を示し、**6-14** 全ての基質を受け入れ、**6-10** からは TleB 同様、三環性化合物 **15-19** と脱メチル化化合物 **8**, **10** を生成した。また、benzo[*b*]thiophene 置換体 **11**, **12** からも 13 位の脱メチル化が進行した **20**, **21** を、*N*1-methyl indole 置換体 **13**, **14** からは *N*1-methyl 基が酸化された **22**, **23** が生成した。本結果より、N13 位、N1 位が酵素の反応点であり、酵素反応中 N1 位と N13 位の水素原子が引き抜かれ C-N 結合形成反応が進行することが示唆された。

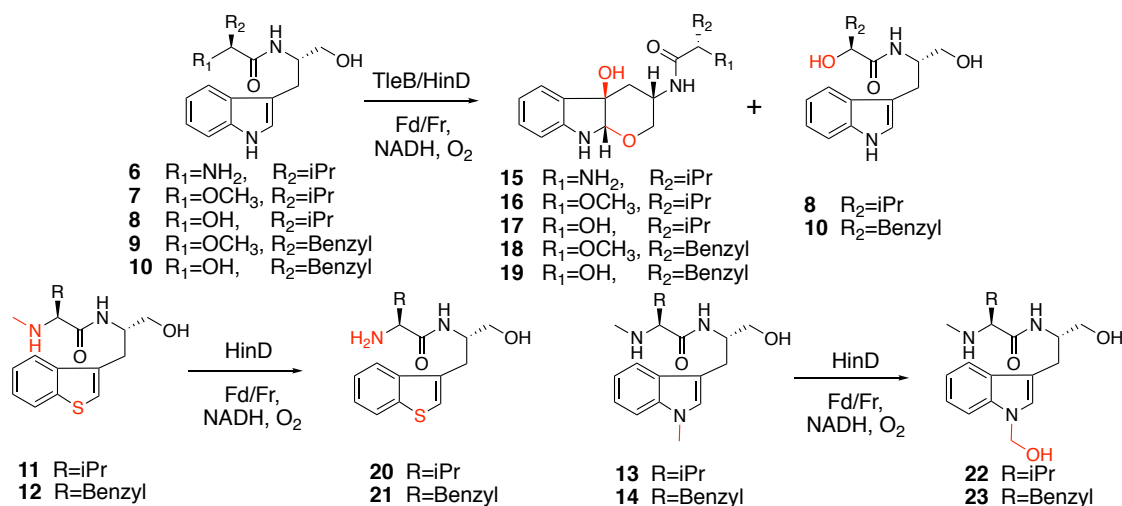


図 2 基質アナログを用いた TleB と HinD 酵素反応

次に、TleB、HinD の詳細な酵素触媒機構を明らかとするため、酵素の X 線結晶構造解析に着手した。その結果、TleB、HinD のアポ体構造と基質 **3**, **4**、基質アナログ **8**, **11** との複合体構造の取得に成功した。基質の活性部位における結合様式を精査したところ、**3**, **4** と **8** いずれの場合においても indole 環の N1 位がヘム鉄に近づくことが判明し、C-N 結合形成および、6 員環形成反応はまず N1 位からの水素原子の引き抜きによって開始することが示唆された(図 3)。また、**11** との複合体構造においては、N13 位がヘム近傍に位置しており、N1 位の水素原子の引き抜き後、基質酵素複合体のコンフォメーション変化が生じ、N13 位がヘムに近づくことで N13 位の水素原子が引き抜かれ、ラジカルが生じると考えられた。実際に、ラジカルを補足するために-NHCH<sub>3</sub> を cyclopropane 基に置換した基質を合成し酵素反応を行ったところ、cyclopropane 環が開環した化合物を生成することが判明し、酵素によって N13 位の水素原子が引き抜かれ、ラジカルが発生することが示された。

以上の基質アナログを用いた *in vitro* 酵素反応と結晶構造解析の結果から、TleB、HinD の酵素反応機構は、N1 位と N13 位の二つの位置から水素原子を引き抜き、ジラジカルが形成し、ラジカルカップリング反応により C-N 結合を形成すると考察される。まず、基質が結合したのちに、酵素内で活性化された鉄-オキソ中間体が基質の N1 位の水素原子を引き抜き、ラジカルを生成することで反応が開始される。次に、基質と活性部位残基のコンフォメーション変化が起こり、鉄-ヒドロオキソ中間体が N13 位の水素原子を引き抜きジラジカルが形成し、C4 位との間でラジカルカップリングが進行することで C-N 結合が形成すると考えられる(図 4)。13 位の原子と水素原子の解離エネルギーが高い場合には C3 位が水酸化し、3β-hydroxy-indolenine 中間体が生成した後に 14-OH から C2 位への閉環反応が進行することで三環性化合物が生成すると考えられる。

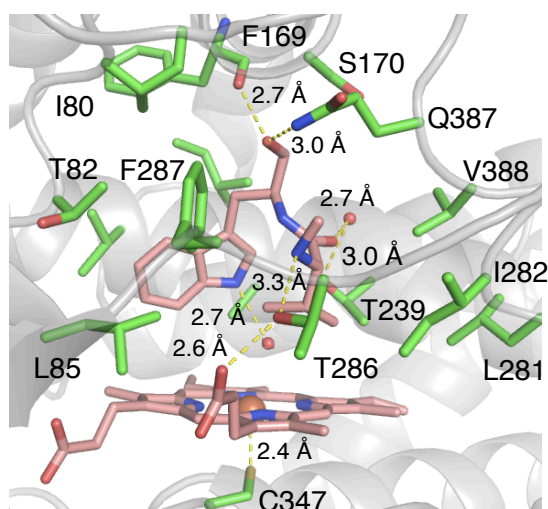


図 3 : TleB と 3 の複合体構造

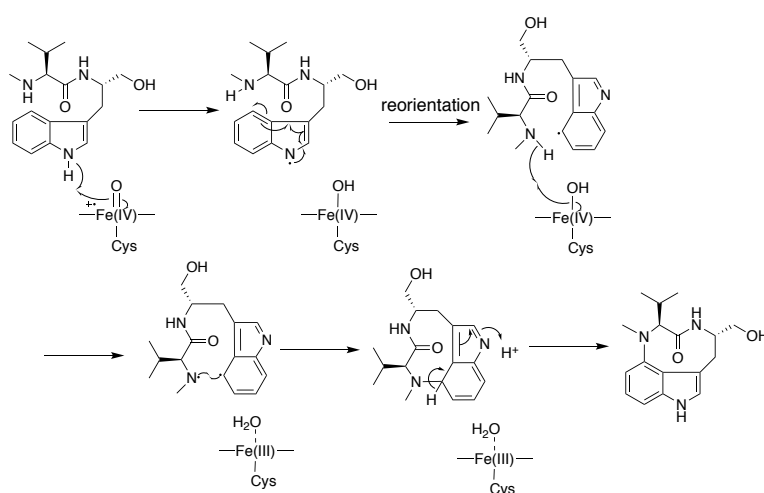


図 4 : TleB、HinD の 9 員環ラクタム生成機構

その他に、放線菌由来の HinD ホモログ HinC の反応解析を行い、HinD とは異なる水酸化反応を触媒することを示している。また、HinC は基質に対して、HinD とは異なる微量生成物を与えることを明らかにした。さらに HinC の結晶構造解析に取り組み、そのアポ体結晶構造を明らかにした。本結果より、相同性の高いバクテリア由来 P450 の構造機能相関につながる新規酵素学的知見が得られた。その一方で、Hin クラスターを放線菌宿主にて、発現を試み、2-methylTrp, 6-Chloro-Trp, 2-methyl-6-Chloro-Trp といった各種基質とともに培養したが、生成物は得られず、本クラスターの生成物、機能は未知のままであった。今後、クラスター中各種酵素の *in vitro* 解析によって、その機能が同定されることが期待される。

本研究では、環境に優しく、立体構造の形成に秀でた生合成酵素を改変し、非天然型の基質を作用させることで、多数の新規化合物を取得した。テルペンインドール化合物テレオシジン生合成酵素のうち特異な P450 酸化酵素 TleB を例として、X 線結晶構造解析を行い、その立体構造を明らかにし、その触媒メカニズムを明らかにした。本結果は、酵素を用いた物質生産系構築のための基盤を構築し、多様な代謝経路で重要な役割を果たす P450 酸化酵素の新たな触媒能力を解明することで、幅広い学術領域に大きなインパクトを与えた。これを基盤に、新たな物質生産の方法論が提唱され、医薬品製造技術への貢献を通して、公共の福祉に大きく貢献することが期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計30件（うち査読付論文 29件 / うち国際共著 15件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 He Fei, Mori Takahiro, Morita Iori, Nakamura Hitomi, Alblova Miroslava, Hoshino Shotaro, Awakawa Takayoshi, Abe Ikuro	4. 巻 15
2. 論文標題 Molecular basis for the P450-catalyzed C-N bond formation in indolactam biosynthesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 1206 ~ 1213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41589-019-0380-9	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 該当する
1. 著者名 Hoshino Shotaro, Mitsuhashi Takaaki, Kikuchi Takashi, Wong Chin Piow, Morita Hiroyuki, Awakawa Takayoshi, Fujita Makoto, Abe Ikuro	4. 巻 21
2. 論文標題 Structural Elucidation of Tenebrathin: Cytotoxic C-5-Substituted -Pyrone with a Nitroaryl Side Chain from <i>Streptoalloteichus tenebrarius</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 6519 ~ 6522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b02443	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 Araki Yasuko, Awakawa Takayoshi, Matsuzaki Motomichi, Cho Rihe, Matsuda Yudai, Hoshino Shotaro, Shinohara Yasutomo, Yamamoto Masaichi, Kido Yasutoshi, Inaoka Daniel Ken, Nagamune Kisaburo, Ito Kotaro, Abe Ikuro, Kita Kiyoshi	4. 巻 116
2. 論文標題 Complete biosynthetic pathways of ascofuranone and ascochlorin in <i>Acremonium egyptiacum</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 8269 ~ 8274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1819254116	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 Hoshino Shotaro, Awakawa Takayoshi, Zhang Huiping, Hayashi Fumiaki, Abe Ikuro	4. 巻 67
2. 論文標題 Beijinchromes A-D, Novel Aromatic Compounds Isolated from <i>Nocardia beijingensis</i> NBRC 16342	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 775 ~ 777
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c19-00364	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 Awakawa Takayoshi, Abe Ikuro	4. 巻 15
2. 論文標題 Molecular basis for the plasticity of aromatic prenyltransferases in hapalindole biosynthesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Beilstein Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 1545 ~ 1551
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3762/bjoc.15.157	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 Awakawa Takayoshi	4. 巻 33
2. 論文標題 Exploitation and application of unique actinomycetological alkaloid biosynthetic enzymes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Actinomycetologica	6. 最初と最後の頁 S3-S8
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 無
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 Araki Yasuko, Awakawa Takayoshi, Matsuzaki Motomichi, Cho Rihe, Matsuda Yudai, Hoshino Shotaro, Shinohara Yasutomo, Yamamoto Masaichi, Kido Yasutoshi, Inaoka Daniel Ken, Nagamune Kisaburo, Ito Kotaro, Abe Ikuro, Kita Kiyoshi	4. 巻 116
2. 論文標題 Complete biosynthetic pathways of ascofuranone and ascochlorin in <i>Acremonium egyptiacum</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 8269-8274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1819254116	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 Quan Zhiyang, Awakawa Takayoshi, Wang Dongmei, Hu Yue, Abe Ikuro	4. 巻 21
2. 論文標題 Multidomain P450 Epoxidase and a Terpene Cyclase from the Ascochlorin Biosynthetic Pathway in <i>Fusarium</i> sp.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 2330 ~ 2334
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b00616	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 Hu Zhijuan, Awakawa Takayoshi, Ma Zhongjun, Abe Ikuro	4. 巻 10
2. 論文標題 Aminoacyl sulfonamide assembly in SB-203208 biosynthesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-08093-x	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 Sato Kei, Katsuyama Yohei, Yokota Kousuke, Awakawa Takayoshi, Tezuka Takeaki, Ohnishi Yasuo	4. 巻 20
2. 論文標題 Involvement of Alkylation Machinery and Two Sets of Ketosynthase Chain Length Factors in the Biosynthesis of Fogacin Polyketides in <i>Actinoplanes missouriensis</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 1039 ~ 1050
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.201800640	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 McKinnie Shaun M. K., Miles Zachary D., Jordan Peter A., Awakawa Takayoshi, Pepper Henry P., Murray Lauren A. M., George Jonathan H., Moore Bradley S.	4. 巻 140
2. 論文標題 Total Enzyme Syntheses of Napyradiomycins A1 and B1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 17840 ~ 17845
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.8b10134	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 Bai Tongxuan, Quan Zhiyang, Zhai Rui, Awakawa Takayoshi, Matsuda Yudai, Abe Ikuro	4. 巻 20
2. 論文標題 Elucidation and Heterologous Reconstitution of Chrodrimanin B Biosynthesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 7504 ~ 7508
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.8b03268	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 Mitsuhashi Takaaki, Kikuchi Takashi, Hoshino Shotaro, Ozeki Masahiro, Awakawa Takayoshi, Shi She-Po, Fujita Makoto, Abe Ikuro	4. 巻 20
2. 論文標題 Crystalline Sponge Method Enabled the Investigation of a Prenyltransferase-terpene Synthase Chimeric Enzyme, Whose Product Exhibits Broadened NMR Signals	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 5606 ~ 5609
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.8b02284	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 Awakawa Takayoshi, Fujioka Takuma, Zhang Lihan, Hoshino Shotaro, Hu Zhijuan, Hashimoto Junko, Kozone Ikuko, Ikeda Haruo, Shin-Ya Kazuo, Liu Wen, Abe Ikuro	4. 巻 9
2. 論文標題 Reprogramming of the antimycin NRPS-PKS assembly lines inspired by gene evolution	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-05877-z	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 Hoshino Shotaro, Ozeki Masahiro, Awakawa Takayoshi, Morita Hiroyuki, Onaka Hiroyasu, Abe Ikuro	4. 巻 81
2. 論文標題 Catenulobactins A and B, Heterocyclic Peptides from Culturing Catenuloplanes sp. with a Mycolic Acid-Containing Bacterium	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 2106 ~ 2110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.8b00261	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 Hoshino Shotaro, Ozeki Masahiro, Wong Chin Piow, Zhang Huiping, Hayashi Fumiaki, Awakawa Takayoshi, Morita Hiroyuki, Onaka Hiroyasu, Abe Ikuro	4. 巻 66
2. 論文標題 Mirilactams C-E, Novel Polycyclic Macrolactams Isolated from Combined-Culture of Actinosynnema mirum NBRC 14064 and Mycolic Acid-Containing Bacterium	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 660 ~ 667
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c18-00143	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 Awakawa Takayoshi, Abe Ikuro	4. 巻 16
2. 論文標題 Biosynthesis of the teleocidin-type terpenoid indole alkaloids	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 4746 ~ 4752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8ob00803e	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 Wang Gao-Qian, Chen Guo-Dong, Qin Sheng-Ying, Hu Dan, Awakawa Takayoshi, Li Shao-Yang, Lv Jian-Ming, Wang Chuan-Xi, Yao Xin-Sheng, Abe Ikuro, Gao Hao	4. 巻 9
2. 論文標題 Biosynthetic pathway for furanosteroid demethoxyviridin and identification of an unusual pregnane side-chain cleavage	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1838
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-04298-2	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 該当する

1. 著者名 Awakawa Takayoshi, Mori Takahiro, Nakashima Yu, Zhai Rui, Wong Chin Piow, Hillwig Matthew L., Liu Xinyu, Abe Ikuro	4. 巻 57
2. 論文標題 Molecular Insight into the Mg <sup>2+</sup> -Dependent Allosteric Control of Indole Prenylation by Aromatic Prenyltransferase AmbP1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 6810 ~ 6813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201800855	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 Hoshino Shotaro, Wong Chin Piow, Ozeki Masahiro, Zhang Huiping, Hayashi Fumiaki, Awakawa Takayoshi, Asamizu Shumpei, Onaka Hiroyasu, Abe Ikuro	4. 巻 71
2. 論文標題 Umezawamides, new bioactive polycyclic tetramate macrolactams isolated from a combined-culture of Umezawaea sp. and mycolic acid-containing bacterium	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Antibiotics	6. 最初と最後の頁 653 ~ 657
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41429-018-0040-4	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 Abe Ikuro, Awakawa Takayoshi, Mori Takahiro, Nakashima Yu, Zhai Rui, Wong Chin Piow, Hillwig Matthew, Liu Xinyu	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Molecular insights into the Mg <sup>2+</sup> -dependent allosteric control of indole prenylation by aromatic prenyltransferase AmbP1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	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/anie.201800855	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 Nakashima Yu, Mori Takahiro, Nakamura Hitomi, Awakawa Takayoshi, Hoshino Shotaro, Senda Miki, Senda Toshiya, Abe Ikuro	4. 巻 9
2. 論文標題 Structure function and engineering of multifunctional non-heme iron dependent oxygenases in fungal meroterpenoid biosynthesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-017-02371-w	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 Wong Chin Piow, Awakawa Takayoshi, Nakashima Yu, Mori Takahiro, Zhu Qin, Liu Xinyu, Abe Ikuro	4. 巻 57
2. 論文標題 Two Distinct Substrate Binding Modes for the Normal and Reverse Prenylation of Hapalindoles by the Prenyltransferase AmbP3	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 560~563
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201710682	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 Reito Bunno, Takayoshi Awakawa, Takahiro Mori, Ikuro Abe	4. 巻 -
2. 論文標題 Aziridine formation by a Fe(II)/ -ketoglutarate dependent oxygenase and 2-aminoisobutyrate biosynthesis in fungi	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	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) 10.1002/anie.202104644	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 Awakawa Takayoshi, Barra Lena, Abe Ikuro	4. 巻 -
2. 論文標題 Biosynthesis of sulfonamide and sulfamate antibiotics in actinomycete	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Industrial Microbiology 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) 10.1093/jimb/kuab001	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 Lv Jian Ming, Gao Yao Hui, Zhao Huan, Awakawa Takayoshi, Liu Ling, Chen Guo Dong, Yao Xin Sheng, Hu Dan, Abe Ikuro, Gao Hao	4. 巻 59
2. 論文標題 Biosynthesis of Biscognienyne?B Involving a Cytochrome P450 Dependent Alkynylation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 13531 ~ 13536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202004364	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 Jiang Jinyan, Li Xinyang, Mori Takahiro, Awakawa Takayoshi, Abe Ikuro	4. 巻 69
2. 論文標題 Novel Cyclohexyl Meroterpenes Produced by Combinatorial Biosynthesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 444 ~ 446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c21-00123	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 Awakawa Takayoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Enzymatic reactions in teleocidin B biosynthesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	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/s11418-021-01504-2	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 -

1. 著者名 Kudo Yuta, Awakawa Takayoshi, Du Yi-Ling, Jordan Peter A., Creamer Kaitlin E., Jensen Paul R., Linington Roger G., Ryan Katherine S., Moore Bradley S.	4. 巻 15
2. 論文標題 Expansion of Gamma-Butyrolactone Signaling Molecule Biosynthesis to Phosphotriester Natural Products	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 3253 ~ 3261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.0c00824	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 Awakawa Takayoshi	4. 巻 69
2. 論文標題 Engineered Biosynthesis of Pharmaceutically Important Compounds	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 415 ~ 420
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c21-00032	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31件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Takayoshi Awakawa, Zhijuan Hu, Haibing He, Takahiro Mori, Ikuro Abe
2. 発表標題 Function and structure analysis of a multifunctional cupin dioxygenase in sulfonamide biosynthesis
3. 学会等名 Gordon Conference Enzyme (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 淡川 孝義
2. 発表標題 放線菌アルカロイド生合成酵素の発掘および物質生産
3. 学会等名 第34回放線菌学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 淡川 孝義
2. 発表標題 微生物医薬品骨格生合成酵素の発掘とその利用
3. 学会等名 日本薬学会関東支部会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 淡川 孝義、胡 志娟、何 海兵、森 貴裕、阿部 郁朗
2. 発表標題 スルホンアミド抗生物質の生合成研究
3. 学会等名 食品薬学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 淡川 孝義
2. 発表標題 アスコフラノン生合成の天然物化学 糸状菌メロテルペノイドの生合成反応の多様性
3. 学会等名 KISTECセミナー(神奈川)（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayoshi Awakawa, Zhijuan Hu, Haibing He, Takahiro Mori, Ikuro Abe
2. 発表標題 Biosynthetic study of sulfonamide natural product antibiotics
3. 学会等名 3rd International Conference on Natural Product Discovery and Development in the Genomic Era (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 淡川 孝義
2. 発表標題 微生物からの医薬品骨格生合成酵素の発掘と利用
3. 学会等名 日本薬学会第140年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 文野 伶音、森 貴裕、淡川 孝義、阿部 郁朗
2. 発表標題 非リボソーマルペプチド-ポリケチド合成酵素モジュール相互作用の精密解析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 劉 薇、白 桐暄、淡川 孝義、阿部 郁朗
2. 発表標題 Penicillium arizonense由来メロテルペノイドAustalideの生合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 淡川孝義、胡志娟、阿部郁朗
2. 発表標題 放線菌由来スルホンアミド含有アルカロイドの生合成研究
3. 学会等名 第33回日本放線菌学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 淡川孝義、藤岡拓真、張驪驛、星野翔太郎、胡志娟、橋本絢子、小曾根郁子、池田治生、新家一男、劉文、阿部郁朗
2. 発表標題 NRPS-PKSモジュール酵素リプログラミング による新規デプシペプチド生産
3. 学会等名 第60回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 淡川孝義、藤岡拓真、張驪驛、星野翔太郎、胡志娟、橋本絢子、小曾根郁子、池田治生、新家一男、劉文、阿部郁朗
2. 発表標題 NRPS-PKSモジュール酵素リプログラミング による新規デプシペプチド生産
3. 学会等名 第22回 天然薬物の開発と応用シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 淡川孝義
2. 発表標題 微生物アルカロイド生合成経路の開拓と物質生産への応用
3. 学会等名 高磁場・高感度NMR利活用促進のための天然物分野シンポジウム2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayoshi Awakawa
2. 発表標題 Reprogramming of the antimycin NRPS-PKS assembly lines inspired by gene evolution
3. 学会等名 2nd China-Japanese Joint Symposium on the Biosynthesis of Natural Products (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 淡川孝義, 胡志娟, 阿部郁朗
2. 発表標題 S-N結合形成に関わる新規多段階型酸化酵素の同定
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 淡川孝義
2. 発表標題 微生物からの新規医薬品骨格生合成酵素の発掘と利用
3. 学会等名 日本薬学会第139年会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 淡川 孝義, 中嶋 優, Chin Piow WONG, 森 貴裕, Xinyu LIU, 阿部 郁朗
2. 発表標題 Hapalindole/ambiguine生合成に関わるプレニル基転移酵素AmbP1のX線構造解析
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 白 桐暄, 全 智揚, 淡川 孝義, 阿部 郁朗
2. 発表標題 メロテルペノイドVerruculide A/Chrodriamanin Aの生合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 星野 翔太郎, 淡川 孝義, 浅水 俊平, 尾仲 宏康, 阿部 郁朗
2. 発表標題 複合培養法を利用した希少放線菌からの生物活性物質探索
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 胡 志娟, 淡川 孝義, 阿部 郁朗
2. 発表標題 スルホンアミド類天然物SB - 203207とSB - 203208の生合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Chin Piow WONG, 淡川 孝義, 中嶋 優, 森 貴裕, Xinyu LIU, 森田 洋行, 阿部郁朗
2. 発表標題 Two distinct substrate binding modes for the normal and reverse prenylations of hapaindoles by the prenyltransferase AmbP3
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayoshi Awakawa
2. 発表標題 Biosynthesis of SB-203207 and SB-203208
3. 学会等名 Gordon conference, GRC Enzyme&co-factor (国際学会)
4. 発表年 2017年~2018年

1. 発表者名 淡川孝義, 胡志娟, 阿部郁朗
2. 発表標題 放線菌由来アルカロイドSB-203208の生合成研究
3. 学会等名 第32回日本放線菌学会大会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 淡川孝義, 胡志娟, 阿部郁朗
2. 発表標題 放線菌由来アルカロイドSB-203208の生合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2018大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayoshi Awakawa
2. 発表標題 Biosynthesis of teleocidin B, a protein kinase C activator with unique indole terpenoid structure
3. 学会等名 LRIPF Meeting (桂林, 中国) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 淡川孝義, バラレナ, 胡志娟, 何海兵, Zhai Rui, 森貴裕, 阿部郁朗
2. 発表標題 天然由来スルホンアミド抗生物質の生合成研究
3. 学会等名 第62回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 淡川孝義
2. 発表標題 微生物二次代謝酵素の精密機能解析と物質生産に関する酵素工学研究
3. 学会等名 2020年度酵素工学研究会（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 劉徽、白桐暄、淡川孝義、阿部郁朗
2. 発表標題 Investigation of the $\alpha$ -ketoglutarate-dependent oxygenase reaction in the orthoester-containing fungal meroterpenoid biosynthesis
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 文野伶音、森貴裕、淡川孝義、阿部郁朗
2. 発表標題 PKS-NRPSシステムにおけるポリケタイド合成酵素の精密機能解析
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 白井孝平、バラレナ、淡川孝義、森貴裕、阿部郁朗
2. 発表標題 放線菌由来抗腫瘍活性化化合物アルテミシジンの生合成機構の解明
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 淡川孝義
2. 発表標題 微生物由来医薬品骨格生成酵素の発掘とその利用
3. 学会等名 日本薬学会第141年会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 荒木康子、淡川孝義、松崎素道、阿部郁朗	4. 発行年 2019年
2. 出版社 バイオインダストリー協会	5. 総ページ数 3
3. 書名 バイオサイエンスとインダストリー	

1. 著者名 Awakawa Takayoshi、Liu Xinyu	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 14
3. 書名 Comprehensive Natural Products III: Chemistry and Biology	

1. 著者名 淡川孝義	4. 発行年 2018年
2. 出版社 有機合成化学協会誌	5. 総ページ数 4
3. 書名 テルペンインドールアルカロイドテレオシジンの生合成反応	

1. 著者名 淡川孝義、阿部郁朗	4. 発行年 2017年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 15
3. 書名 アルカロイドの化学、微生物由来テルペンインドールアルカロイド-テレオシジン生合成	

1. 著者名 淡川孝義	4. 発行年 2021年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 24
3. 書名 パートナー天然物化学改訂第4版、アルカロイドおよびそのほかの含窒素化合物	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京大学大学院薬学系研究科天然物化学教室ホームページ  <a href="http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~tennen/head.htm">http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~tennen/head.htm</a>          新学術領域研究生合成リデザインホームページ  <a href="http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~tennen/bs_index.html">http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~tennen/bs_index.html</a></p>
--

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

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
---------	---------

米国	ピッツバーグ大学			
中国	Jinan大学			
米国	ピッツバーグ大学			
中国	Jinan大学			
中国	上海有機化学研究所			
アメリカ合衆国	ピッツバーグ大学			