

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02635

研究課題名（和文）希少微生物株のゲノムマイニングによる天然医薬品資源の探索

研究課題名（英文）Genome mining of rare microbial strains for natural drug resources

研究代表者

脇本 敏幸（Wakimoto, Toshiyuki）

北海道大学・薬学研究院・教授

研究者番号：70363900

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）：本研究では原位置培養法などによって得られた希少菌株のゲノム配列を解析し、生合成遺伝子クラスターの情報をもとに選別した菌株について、生物活性とLC-MSプロファイルの双方を指標に新規天然物の探索を進めた。その結果、北海道大学キャンパス土壌より分離したVariovorax属の菌株より複数のペプチド関連化合物を見出した。さらに、Acidobacteria門の菌株のゲノム情報からカリクリン生合成遺伝子を見出し、海綿以外の生物から初めてカリクリン類を単離した。さらに新たな休眠遺伝子の活性化方法として、バクテリアが産生する細胞外膜小胞（MVs）を用いた休眠遺伝子活性化方法を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では従来の天然物探索事例の少ない微生物株についてゲノム情報を取得し、ゲノム情報を起点とした新規天然物の探索を実施した。その結果、物質生産に秀でたグラム陰性菌から新規のシデロフォアを見出した。さらに北海道大学キャンパスより取得した菌株より銅をキレートすることによって抗菌活性を示す天然物を取得した。さらに難培養でありながら、物質生産に長けたAcidobacteria菌株よりカリクリン類を単離し、新たな休眠遺伝子活性化手法として細胞外膜小胞を利用した手法を確立した。今後はこれらの手法をさらに発展させ、より効果的で汎用性の高い手法を確立する。

研究成果の概要（英文）：In this study, the genome sequences of rare bacterial strains obtained by in situ culture and other methods were analysed, and the strains selected based on information on biosynthetic gene clusters were searched for new natural products using both biological activity and LC-MS profiles. As a result, several peptide-related compounds were found in strains of the genus Variovorax isolated from Hokkaido University campus soil. Furthermore, a calyculin biosynthesis gene was found in the genome of a strain of the phylum Acidobacteria, and calyculins were isolated for the first time from organisms other than marine sponges. Furthermore, a new silent gene activation method was developed using extracellular membrane vesicles (MVs) produced by bacteria.

研究分野：天然物化学

キーワード：生合成遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

低分子や高分子医薬品と比較して、その中間に位置する新たな創薬モダリティとして中分子が注目されている。天然物を含む中分子領域の化合物多様性を拡充することが中分子創薬において重要である。近年中分子多様性拡充に向けた様々な試みが展開されており、特に生合成経路の改変や天然物骨格の化学修飾による多様性拡充ライブラリーの構築が進められている。さらに今後、新規天然物骨格が継続的に供給されることで天然物をモダリティとする創薬研究は飛躍的に発展することが期待される。しかし、休眠遺伝子や未培養微生物など、近年の研究で膨大な天然物資源が未開拓であることが明らかになっている一方で、新規天然物の発見は依然として難しい状況が続いている。未開拓天然物資源を如何に開拓して新規天然医薬品資源を見出すかが、現代の天然物化学に求められる重要な課題である。

## 2. 研究の目的

本研究では微生物を対象として従来探索対象として扱われてこなかった株に着目し、包括的な新規天然物探索を試みることを目的とした。従来の天然物探索事例の少ない微生物株についてゲノム情報を取得し、ゲノム情報を起点とした新規天然物の探索を実施する。特に放線菌以外の菌株、中でも物質生産に秀でたグラム陰性菌を見出し、重点的に探索を進める。原位置培養方法等によって希少微生物株を収集するとともに、海綿動物や植物に共生する微生物株を重点的に探索標的とする。環境中より収集した菌株は16S rRNA配列によって系統解析し、過去の天然物探索事例が少なく、かつ有望な微生物株を選別する。まずゲノム解析を実施し、ゲノムにコードされる生合成遺伝子クラスターを見出し、新規天然物探索の指標とする。

生合成遺伝子クラスターを起点とすることで様々な利点が付随する。第1に生合成遺伝子自体が休眠遺伝子である場合は、休眠遺伝子の活性化を試みる。第2にひとたび新規天然物が得られれば、生合成遺伝子クラスターが同時に紐づいてくるために、生合成経路の解析へ容易に展開できる。新規の二次代謝酵素が見出されれば生体触媒としての応用展開が期待できる。第3に生合成遺伝子クラスターには化合物の生合成経路のみならず、自己耐性機構が含まれている場合があるため、自己耐性機構から該当化合物の作用機序を明らかにすることができる。また、あらかじめ探索の段階で自己耐性遺伝子が含まれる生合成遺伝子クラスターに着目することで、生物活性天然物を効率的にゲノムマイニングすることができる。このように本研究ではゲノム情報を最大限活用し、包括的な探索研究を実施し、新規抗生物質や細胞毒性物質の発見を目指した。

## 3. 研究の方法

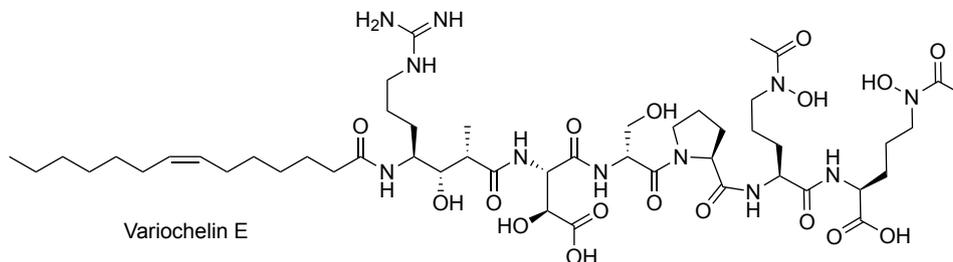
本研究では原位置培養方法 (iChip) での環境微生物株の取得を独自に進めるとともに、共生微生物の取得も進め、ドラフトゲノムシーケンス解析を実施した。ドラフトゲノムシーケンスを実施した結果、複数の株において10個以上の生合成遺伝子クラスターが認められた。有望な株についてゲノムマイニングを実施した。ゲノム情報に合致する代謝物プロファイルが認められない場合は休眠遺伝子である可能性を考慮し、本研究で新たに開発した細胞外膜小胞を活用した休眠遺伝子の活性化を試みた。生物活性試験としては主に抗菌活性とともに各種細胞株を利用した細胞毒性試験を実施した。また線虫共生菌 *Xenorhabdus* からはトリパノソーマやマラリアなどの病原性原虫に対する増殖阻害活性が期待できる。そこで得られた新規天然物についてこれら原虫に対する作用を検討した。また我々は先行研究において海綿動物由来生物活性物質の生産を担う共微生物 *Entotheonella* を同定してきた<sup>2</sup>。しかしながら、*Entotheonella* は難培養微生物であるため、現在まで培養条件を見出せていない。そこで、本研究では可培養微生物のゲノム情報をもとに、海綿動物由来生物活性物質の生合成遺伝子クラスターを探索した。NRPS-PKS hybrid や trans-AT PKS など興味深い遺伝子クラスターを含む菌株から優先的に天然物探索を実施した。

## 4. 研究成果

近年、膨大な未開拓生物資源として未培養微生物群の存在が明らかにされている。我々は原位置培養方法による環境微生物の単離を試み、これまでに1,000株以上を取得した。さらに、得られた環境微生物株は16S rRNA配列によって系統解析し、特に放線菌以外でかつ過去の研究例が少ない微生物株を重点的に選別した。選別して得られた菌株についてOxford Nanopore sequencerを用いたドラフトゲノムシーケンス解析を実施した。ドラフトゲノム情報をもとにantiSMASHなどの解析ソフトを用いてNRPSやPKSなどの生合成遺伝子クラスターの検索を行った。遺伝子クラスターを豊富に含む菌株を選別し、培養して抽出物を作成、その代謝物プロファイルをLC-MSで分析するとともに、抗菌活性試験、細胞毒性試験を実施し、生物活性とLC-MSプロファイルの双方を指標に新規天然物の探索を進めた。その結果、複数の新規生物活性天然物を取得した。

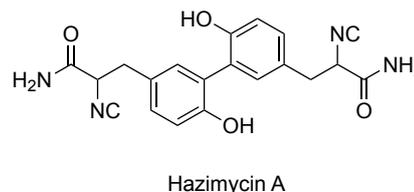
### (1) *Variovorax* 属由来の新規天然物

北海道大学キャンパス土壌より2種の *Variovorax* 属の菌株を分離した。*Variovorax* 属はグラム陰性の土壌細菌であり、小麦の発芽促進作用などが報告されている<sup>3</sup>。本菌株を培養し、抗菌活性を指標に天然物探索を行った結果、複数のペプチド関連化合物を見出した。各種 NMR スペクトルおよび MSMS の解析の結果、これらの新規化合物の構造はヒドロキサム酸構造を有する環状デプシペプチドであった<sup>4</sup>。これら新規ペプチドはいずれも抗菌活性を示すシデロフォアであることが明らかになった。ドラフトゲノム解析から NRPS をコードする生合成遺伝子クラスターを見出した。候補遺伝子の破壊実験により、これらペプチド類の生産が消失することを確認した<sup>4</sup>。



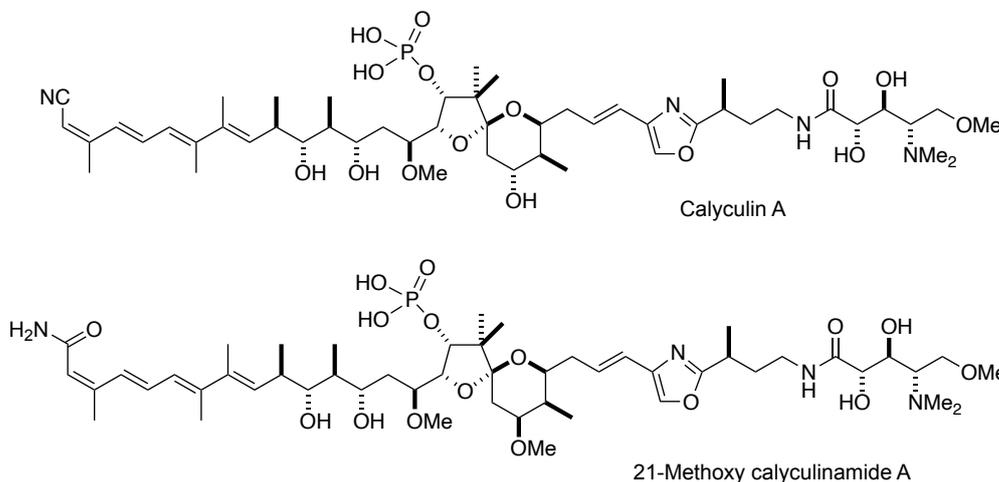
### (2) *Kitasatospora* 属放線菌由来の抗菌活性物質

北海道大学薬学部附属薬草園土壌から採集した *Kitasatospora* 属希少放線菌より抗菌活性物質として hazimycin 類を単離した。Hazimycin はイソニトリルを有するチロシン誘導体の2量体化によって生合成される。そこでゲノム解析を実施し、得られたドラフトゲノムデータから hazimycin 生合成遺伝子を探した。その結果、P450 やトランスポーター、イソニトリル合成酵素等、8つの ORF をコードする生合成遺伝子クラスターを見出した。また、クラスター外に存在するアスパラギン合成酵素がアミド化を触媒することを明らかにした<sup>5</sup>。データベース検索の結果、hazimycin 生合成遺伝子クラスターは、アスパラギン合成酵素がクラスター内外に存在する2種に大別されることがわかった。さらに ORF8 はクエン酸鉄輸送タンパク質に相同性を示した。そこで hazimycin の金属結合能を詳細に検討した。その結果、hazimycin は銅を配位する chalkophore として抗菌活性を発現することを明らかにした<sup>5</sup>。



### (3) *Acidobacteria* のゲノムマイニング

*Acidobacteria* 門の菌株のゲノム情報から calyculin 生合成遺伝子を見出した。Calyculin A は PKS と NRPS の複合経路で生合成される海綿共生細菌 *Entotheonella* 由来の細胞毒性物質である。我々は2014年に海綿メタゲノムより calyculin 生合成遺伝子を同定したが、*Entotheonella* は未培養であるため、これまで calyculin A は海綿のみから単離できる天然物であった。一方で、2008年に福永らは千葉県勝浦のヒザラガイから単離した *Acidobacteria*、*Acanthopleuribacter pedis* を新属、新種の海洋細菌として報告した<sup>6</sup>。その後、ゲノムシーケンシング解析が行われ、その情報が公開された。ゲノム情報の詳細な解析の結果、驚くべきことに *A. pedis* が calyculin 生合成遺伝子と類似の遺伝子クラスターをコードしていることが明らかになった。*A. pedis* は増殖が遅く培養は困難であったが、培養条件を種々検討し、*A. pedis* の代謝物解析を行った結果、21-methoxy calyculinamide A を検出した<sup>7</sup>。本研究結果は、海綿以外の生物からカリクリン類が単離された初の事例である。

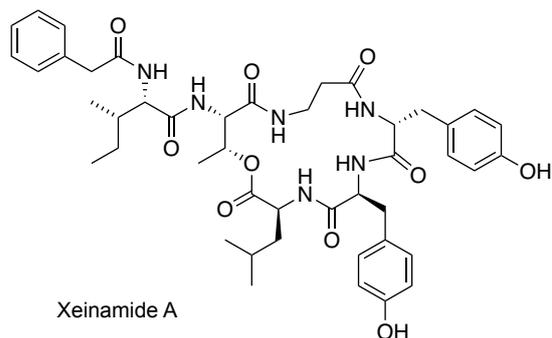


#### (4) 新規休眠遺伝子活性化法の開発

通常の研究室培養条件では 80%以上の生合成遺伝子が発現しないことが知られている。そこで、新たな休眠遺伝子の活性化方法として、バクテリアが産生する細胞外膜小胞 (MV<sub>s</sub>) を用いた休眠遺伝子活性化方法を検討した。

実験室下、休眠状態にある遺伝子であっても、環境中では様々な外部刺激を受けて活性化していると考えられる。一方で、環境中の外部刺激の一つに細菌が放出する細胞外膜小胞 (MV<sub>s</sub>) が知られている。MV<sub>s</sub> はほぼ全ての細菌が分泌する膜小胞で、タンパク質、DNA 断片や小分子化合物を内包して、細菌間のコミュニケーション媒体として機能することが報告されている。そこで我々は細菌培養液に MV<sub>s</sub> を添加することで、休眠遺伝子を活性化し、新たな天然物の生産誘導を試みた。

*Burkholderia multivorans* から採取した MV<sub>s</sub> を添加および非添加条件下で培養した約 100 株の細菌培養液から MV<sub>s</sub> 添加時にのみ生産される天然物を網羅的に探索した。まず、細菌培養液抽出物を液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) によって測定し質量分析データを得た。得られたデータを MZmine2 と Python スクリプトによって網羅的に自動解析した結果、様々な種類の細菌が MV<sub>s</sub> 添加によって多様な代謝物を生産誘導していることが明らかになった。そのうち *Cryseobacterium* 属細菌 K35 株と放線菌 *Streptomyces eurocidicus* から 1 つずつ化合物を取得し、



Xeinamide A

両化合物の化学構造を決定した。同様に、グラム陰性菌 *Xenorhabdus innexi* から新規天然物 xeinamide A、B、xeidopeptide A—C と、過去に単離報告のある天然物 xenoamicin A、C、G を取得した。そのうち 5 つの化合物はアフリカ睡眠病の原因である *Trypanosoma b. rhodesiense* に対する強力な抗原虫活性を示した。以上の結果から我々は MV<sub>s</sub> を活用した休眠遺伝子活性化法を初めて確立し、MeVIUS (Membrane Vesicles Induced Unlocking System) と命名した<sup>8</sup>。

リアルタイム PCR 解析から xeinamide 類、xeidopeptide 類と xenoamicin 類の生合成遺伝子は MV<sub>s</sub> 添加によって転写量が増加していた。網羅的な遺伝子発現解析 (RNA-seq) の結果、クオラムセンシングに関わる遺伝子群の発現が MV<sub>s</sub> 添加時に低下していた。これまでに *X. innexi* の近縁種ではクオラムセンシングを抑制すると天然物の生産量が増加することが報告されている。このことから MV<sub>s</sub> が *X. innexi* のクオラムセンシングを抑制することで天然物を生産誘導することが示唆された。

さらに xeinamide 類、xeidopeptide 類と xenoamicin 類の *B. multivorans* に対する活性を評価した結果、いずれの化合物も *B. multivorans* の生育を阻害しなかった。一方で、今回単離した xenoamicin 類が *X. innexi* の MV<sub>s</sub> に内包されていることを確認した。さらに興味深いことに、xenoamicin 類を含む *X. innexi* の MV<sub>s</sub> は *B. multivorans* の生育を抑制した。このことから xenoamicin 類は MV<sub>s</sub> によって運搬されることで、*B. multivorans* に対する静菌作用を示すことが明らかになった。

以上の結果を統合し、我々は *B. multivorans* と *X. innexi* が MV<sub>s</sub> と天然物を介して競争的に相互作用することを明らかにした。この相互作用メカニズムの解明により MeVIUS が細菌間コミュニケーションを模倣することで天然物生産を促していることを実証した<sup>8</sup>。

#### <引用文献>

1. L. L. Ling, T. Schneider, A. J. Peoples, A. L. Spoering, I. Engels, B. P. Conlon, A. Mueller, T. F. Schäberle, D. E. Hughes, S. Epstein, M. Jones, L. Lazarides, V. A. Steadman, D. R. Cohen, C. R. Felix, K. A. Fetterman, W. P. Millett, A. G. Nitti, A. M. Zullo, C. Chen, K. Lewis, *Nature*, **517**, 455-459 (2015)
2. T. Wakimoto, Y. Egami, Y. Nakashima, Y. Wakimoto, T. Mori, T. Asakawa, T. Ito, H. Kenmoku, Y. Asakawa, J. Piel, I. Abe, *Nat. Chem. Biol.* **10**, 648-655 (2014)
3. J. J. Acuña, J. I. Rilling, N. G. Inostroza, Q. Zhang, L. Y. Wick, A. Sessitsch, M. A. Jorquera, *Sci. Rep.* **14**, 2070 (2024)
4. J. R. Haedar, A. Yoshimura, T. Wakimoto, New variochelins from soil-isolated Variovorax sp. H002. *Beilstein J. Org. Chem.* **20**, 692-700 (2024)
5. K. Matsuda, H. Maruyama, K. Imachi, H. Ikeda, T. Wakimoto, *J. Antibiot.* **77**, 228-237 (2024)
6. Y. Fukunaga, M. Kurahashi, K. Yanagi, A. Yokota, S. Harayama, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **58**, 2597-2601 (2008)
7. S. Leopold-Messer, C. Chepkirui, M. F. J. Mabesoone, J. Meyer, L. Paoli, S. Sunagawa, A. R. Uria, T. Wakimoto, J. Piel, *Chem* **9**, 3696-3713 (2023)
8. A. Yoshimura, R. Saeki, R. Nakada, S. Tomimoto, T. Jomori, K. Suganuma, T. Wakimoto, *Angew. Chem. Int. Ed.* **62**, e202307304 (2023)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計24件（うち査読付論文 24件 / うち国際共著 8件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kobayashi Masakazu, Onozawa Naho, Matsuda Kenichi, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 7
2. 論文標題 Chemoenzymatic tandem cyclization for the facile synthesis of bicyclic peptides	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Communications Chemistry	6. 最初と最後の頁 67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42004-024-01147-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 Haedar Jabal Rahmat, Yoshimura Aya, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 20
2. 論文標題 New variochelins from soil-isolated Variovorax sp. H002	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Beilstein Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 692 ~ 700
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3762/bjoc.20.63	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 Matsuda Kenichi, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 25
2. 論文標題 Bacterial Hydrazine Biosynthetic Pathways Featuring Cupin/Methionyl tRNA Synthetase like Enzymes	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 e202300874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.202300874	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 Matsuda Kenichi, Nakahara Yuto, Choirunnisa Atina Rizkiya, Arima Kuga, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 25
2. 論文標題 Phylogeny guided Characterization of Bacterial Hydrazine Biosynthesis Mediated by Cupin/methionyl tRNA Synthetase like Enzymes	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 e202300838
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.202300838	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 Matsuda Kenichi, Maruyama Hiroto, Imachi Kumiko, Ikeda Haruo, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 77
2. 論文標題 Actinobacterial chalkophores: the biosynthesis of hazimycins	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Journal of Antibiotics	6. 最初と最後の頁 228 ~ 237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41429-024-00706-6	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 Yoshimura Aya, Honda Takumi, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 72
2. 論文標題 Five New Analogs of Streptogramin Antibiotic Viridogrisein Isolated from Streptomyces niveoruber	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 80 ~ 85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c23-00776	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 Leopold-Messer Stefan, Chepkirui Clara, Mabesoone Mathijs F.J., Meyer Joshua, Paoli Lucas, Sunagawa Shinichi, Uria Agustinus R., Wakimoto Toshiyuki, Piel Jeorn	4. 巻 9
2. 論文標題 Animal-associated marine Acidobacteria with a rich natural-product repertoire	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chem	6. 最初と最後の頁 3696 ~ 3713
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chempr.2023.11.003	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 Yoshimura Aya, Saeki Rio, Nakada Ryusuke, Tomimoto Shota, Jomori Takahiro, Suganuma Keisuke, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 62
2. 論文標題 Membrane Vesicle Mediated Interbacterial Communication Activates Silent Secondary Metabolite Production	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 e202307304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202307304	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 Arima Kuga, Akiyama Satoko, Shinya Kazuo, Matsuda Kenichi, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 62
2. 論文標題 Carrier Protein Mediated Formation of the Dihydropyridazinone Ring in Actinopyridazinone Biosynthesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 e202305155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202305155	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 吉村彩、脇本敏幸	4. 巻 82
2. 論文標題 細胞外膜小胞を介した異種細菌間相互作用による二次代謝産物の生産誘導	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 バイオサイエンスとインダストリー	6. 最初と最後の頁 167-169
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 松田研一、脇本敏幸	4. 巻 129
2. 論文標題 ペニシリン結合タンパク質型チオエステラーゼを用いた環状ペプチドの効率的な化学-酵素合成	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Peptide Newsletter Japan	6. 最初と最後の頁 4-7
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 Kobayashi Masakazu, Fujita Kei, Matsuda Kenichi, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 145
2. 論文標題 Streamlined Chemoenzymatic Synthesis of Cyclic Peptides by Non-ribosomal Peptide Cyclases	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 3270 ~ 3275
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.2c11082	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 Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 71
2. 論文標題 Biosynthesis of Bioactive Natural Products Derived from Theonellidae Family Marine Sponges	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c22-00715	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 Matsuda Kenichi, Arima Kuga, Akiyama Satoko, Yamada Yuito, Abe Yo, Suenaga Hikaru, Hashimoto Junko, Shin-ya Kazuo, Nishiyama Makoto, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 144
2. 論文標題 A Natural Dihydropyridazinone Scaffold Generated from a Unique Substrate for a Hydrazine-Forming Enzyme	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 12954 ~ 12960
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.2c05269	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 Haedar Jabal Rahmat, Uria Agustinus Robert, Lallo Subehan, Dibwe Dya Fita, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 20
2. 論文標題 New Theonellapeptolides from Indonesian Marine Sponge Theonella swinhoei as Anti-Austerity Agents	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Marine Drugs	6. 最初と最後の頁 661 ~ 661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/md20110661	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 Choirunnisa Atina Rizkiya, Arima Kuga, Abe Yo, Kagaya Noritaka, Kudo Kei, Suenaga Hikaru, Hashimoto Junko, Fujie Manabu, Satoh Noriyuki, Shin-ya Kazuo, Matsuda Kenichi, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 18
2. 論文標題 New azodyrecins identified by a genome mining-directed reactivity-based screening	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Beilstein Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 1017 ~ 1025
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3762/bjoc.18.102	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 Takeuchi Aoi, Hirata Asahi, Teshima Aiko, Ueki Miu, Satoh Takumi, Matsuda Kenichi, Wakimoto Toshiyuki, Arakawa Kenji, Ishikawa Morio, Suzuki Toshihiro	4. 巻 87
2. 論文標題 Characterization of the surugamide biosynthetic gene cluster of TUA-NKU25, a Streptomyces diastaticus strain isolated from Kusaya, and its effects on salt-dependent growth	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 320 ~ 329
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbac201	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 城森啓宏、脇本敏幸	4. 巻 60
2. 論文標題 海綿共生微生物による細胞毒性物質の活性化機構	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 621 ~ 623
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 Jomori Takahiro, Matsuda Kenichi, Egami Yoko, Abe Ikuro, Takai Akira, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 2
2. 論文標題 Insights into phosphatase-activated chemical defense in a marine sponge holobiont	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RSC Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 1600 ~ 1607
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1CB00163A	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 Phan Chin-Soon, Matsuda Kenichi, Balloo Nandani, Fujita Kei, Wakimoto Toshiyuki, Okino Tatsufumi	4. 巻 143
2. 論文標題 Argicyclamides A-C Unveil Enzymatic Basis for Guanidine Bis-prenylation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 10083 ~ 10087
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.1c05732	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 Matsuda Kenichi, Fujita Kei, Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 48
2. 論文標題 PenA, a penicillin-binding protein-type thioesterase specialized for small peptide cyclization	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/kuab023	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 Rumengan Inneke F. M., Roring Vera I. Y., Haedar Jabal R., Siby Mayse S., Luntungan Aldian H., Kolondam Beivy J., Uria Agustinus R., Wakimoto Toshiyuki	4. 巻 84
2. 論文標題 Ascidian-associated photosymbionts from Manado, Indonesia: secondary metabolites, bioactivity simulation, and biosynthetic insight	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Symbiosis	6. 最初と最後の頁 71 ~ 82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13199-021-00766-4	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 該当する

1. 著者名 Hoshino Masakazu, Hiruta Shimpei F., Croce Maria Emilia, Kamiya Mitsunobu, Jomori Takahiro, Wakimoto Toshiyuki, Kogame Kazuhiro	4. 巻 30
2. 論文標題 Geographical parthenogenesis in the brown alga <i>Scytosiphon lomentaria</i> (Scytosiphonaceae): Sexuals in warm waters and parthenogens in cold waters	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Ecology	6. 最初と最後の頁 5814 ~ 5830
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mec.16152	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 松田研一、脇本敏幸	4. 巻 50
2. 論文標題 新規ペプチド環化酵素PBP-type TEの発見と機能解析	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 月刊ファインケミカル	6. 最初と最後の頁 5-10
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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Toshiyuki Wakimoto
2. 発表標題 Marine Natural Product Biosynthesis
3. 学会等名 International Virtual Course Marine Natural Product (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toshiyuki Wakimoto
2. 発表標題 Biosynthetic Enzymes Modify Ribosomal and Non-ribosomal Peptides
3. 学会等名 International Summer Course on Marine Natural Products (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toshiyuki Wakimoto
2. 発表標題 Insights into Phosphatase-activated Chemical Defense in a Marine Sponge Holobiont
3. 学会等名 Chemical Biology Luncheon Seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toshiyuki Wakimoto
2. 発表標題 A New Cyclase Family Catalyzing Head-to-tail Macrolactamization of Non-ribosomal Peptides
3. 学会等名 Marine Ecosystem, Cradle of Biological Diversity, Natural Chemicals and Lead Pharmaceuticals (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toshiyuki Wakimoto
2. 発表標題 Insights into Phosphatase-activated Chemical Defense in a Marine Sponge Holobiont
3. 学会等名 Pacifichem2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計5件

産業財産権の名称 環状ペプチドの効率的な化学 - 酵素合成方法	発明者 脇本敏幸、松田研一、小林雅和	権利者 北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-170218	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 新規プレニル化酵素	発明者 脇本敏幸、沖野龍文、松田研一、パンチンスン	権利者 北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2022/004501	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 酵素を用いたペプチドライゲーション	発明者 脇本敏幸、松田研一、小林雅和	権利者 北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-157054	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 化合物、その製造方法、抗菌剤及び銅キレート剤医薬	発明者 高田雅親、砂原博文、脇本敏幸、松田研一	権利者 北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-109058	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 銅キレート剤、抗がん剤及びウィルソン病の予防又は治療剤	発明者 高田雅親、砂原博文、脇本敏幸、松田研一	権利者 北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-050797	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

北海道大学大学院薬学研究院天然物化学研究室  
<https://www.pharm.hokudai.ac.jp/tennen/>  
北海道大学大学院薬学研究院  
<https://www.pharm.hokudai.ac.jp/>

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		
スイス	ETH Zurich		