

令和 5 年 3 月 29 日現在

機関番号：23401

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：16H06445

研究課題名(和文)膜透過性・水溶性の一挙改善を志向した新規機能性低分子の生合成リデザイン

研究課題名(英文)Biosynthetic redesign of small molecules aimed for the concurrent improvements of cell permeability and water solubility

研究代表者

濱野 吉十(Hamano, Yoshimitsu)

福井県立大学・生物資源学部・教授

研究者番号：50372834

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)：本研究は、微生物由来ポリカチオン性ペプチドによる化学修飾(ポリカチオン化修飾)にて低分子化合物の生体膜透過性と水溶性を一挙に改善させる基盤技術の構築を目的とした。対象化合物は、「生合成リデザインで創出する新規化合物」と「既存化合物」とし、新規化合物を創出するために、各種ペプチド化合物の生合成機構を解明した。さらに、新規な微生物由来ポリカチオン性ペプチドを同定し、その生合成機構を解明した。また、-poly- -L-lysineと -oligo- -L-lysineに反応基を導入する微生物変換法と酵素法を開発し、クリックケミストリーを基盤とした既存化合物のポリカチオン化修飾法を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬物である機能性低分子・中分子化合物の細胞膜透過性を改善できれば、生理活性の増強が期待できる。細胞膜透過性を改善するための一般的な戦略は、化合物の疎水化である。しかし、その反面生じる水溶性の低下は、予期しない副作用の出現や製剤調製の複雑化など新たな問題を生む。したがって、生体膜透過性と水溶性を一挙に改善させる薬剤の化学修飾技術を開発できれば、現在の創薬スピードを加速させることができる。そこで本研究では、細胞膜透過性と水溶性を一挙に改善する化学修飾分子として、微生物由来ポリカチオン性ペプチドに着目し、実践的なポリカチオン化修飾法を確立した。

研究成果の概要(英文)：Our research aims include chemical modification (polycationic modification) of small molecule compounds with bacterial polycationic peptides to improve the water solubility and the cell membrane permeability simultaneously. New small compounds generated by biosynthetic re-design and known small compounds were our target molecules for the polycationic modification approach, and biosynthetic studies were performed to generate new peptide compounds in this study. In addition, we identified novel bacterial polycationic peptides and demonstrated their biosynthetic mechanisms. The polycationic modification of known compounds were achieved with clickable -poly- -L-lysine and -oligo- -L-lysine, which were produced by microbial transformation and enzymatic reaction, respectively.

研究分野：応用微生物学

キーワード：ポリリジン 細胞膜透過性 CPP

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

薬物である機能性低分子・中分子化合物の細胞膜透過性を改善できれば、生理活性の増強が期待できる。細胞膜透過性を改善するための一般的な戦略は、化合物の疎水化である。しかし、その反面生じる水溶性の低下は、予期しない副作用の出現や製剤調製の複雑化など新たな問題を生む。実際に、上市されている医薬品の約 40%、候補化合物に至っては約 70% が難水溶性である現状において、薬物の水溶性と細胞膜透過性を両立させることは創薬技術開発の重要なファクターとなっている。したがって、生体膜透過性と水溶性を一挙に改善させる薬剤の化学修飾技術を開発できれば、現在の創薬スピードを加速させることができる。

天然有機化合物における生合成研究の発展は目覚ましく、複雑骨格分子が生合成されるメカニズムの理解はかなり深まってきた。しかし、狙った骨格分子を生合成酵素で論理的に組み立てられるほど技術は成熟していない。例えば、細胞膜透過性と水溶性の両者が優れた化合物を分子設計できたとしても、それを一から生合成酵素だけで全合成することは極めて困難である。一方で、機能性低分子・中分子化合物の構造上の狙った部位に官能基を導入する、あるいは、メチル基やアシル基などで保護されている官能基を丸裸にする生合成リデザインは、現在の技術でも十分可能である。創出した官能基(例えばアミノ基)を基点にした細胞膜透過性と水溶性を一挙に改善する化学修飾が可能になれば、化合物の付加価値をさらに高めることができる。

2. 研究の目的

本研究では、機能性化合物の細胞膜透過性と水溶性を一挙に改善する化学修飾分子として、ポリカチオン性ペプチドに着目した。塩基性アミノ酸を主成分とするポリカチオン性ペプチドは、分子量が 1,000 を超える超極性化合物にも関わらず、優れた細胞膜透過性を示すことから細胞膜透過性ペプチド(CPP)と呼ばれる。細菌の細胞膜表面には酸性リン脂質が露出しており、動物細胞表面には硫酸基やカルボキシル基を多く含む糖鎖が豊富にあるため、その表面は負に帯電している。正電荷の塩基性ポリペプチドや合成ポリカチオン抗菌剤は、この負電荷表面に引き寄せられ、細胞膜を容易に透過し細胞内に移行することが知られている。さらに、高分子化合物であるタンパク質においても CPP でポリカチオン化修飾することで動物細胞内に直接移行することが観察されている¹。

現在、ポリカチオン化修飾法には塩基性オリゴペプチド(8 残基アルギニンペプチド: R8) が汎用的に利用されているが^{2,3}、ポリカチオン修飾するための CPP には反応基(アジド基など)を有機化学的に導入する必要があり、また、CPP の合成も固相有機合成法に頼るしかない。その高額な製造コストは、この種の研究における大きな障壁であった。そこで我々は、放線菌由来の天然ポリカチオン性ペプチドである ϵ -poly- α -L-lysine (ϵ -P α L)⁴、および、 ϵ -oligo- β -L-lysine (ϵ -O β L)⁵ が既存の CPP に代わる究極的低コスト CPP として利用できるか検証した(図 1)。

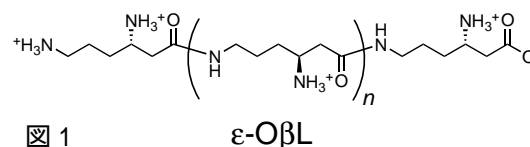
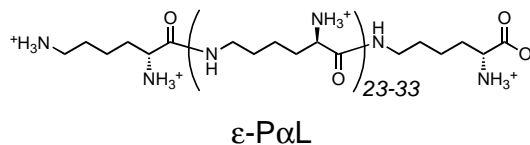


図 1

また、 ϵ -P α L と ϵ -O β L 以外の微生物由来ポリカチオン化合物は数種しか同定されていない。そこで、微生物ゲノム情報をもとに新規ポリカチオン化合物を生産する微生物の探索を試みた。見出した新規ポリカチオン化合物については、その生合成機構を解析し、既存の CPP に代わる究極的低コスト CPP として利用できるか検証した。

本研究では、微生物由来ポリカチオン性ペプチドで化学修飾する対象化合物として「生合成リデザインで創出する新規化合物」と「既存化合物」を設定している。そこで、各種ペプチド化合物(Q6402 および BD-12)の生合成機構を解明し、新規化合物の創出について検討した。

3. 研究の方法

ϵ -P α L 簡便精製法の確立

微生物培養液から ϵ -P α L を簡便かつ高純度に精製する手法は、本研究において必須の技術であった。そこで、 ϵ -P α L とイオン対を形成するアニオン性化合物を探索し、イオンコンプレックス形成を基盤とした高純度精製法を検討した。

ϵ -P α L と ϵ -O β L の細胞膜透過性評価

我々は、 ϵ -P α L および ϵ -O β L の合成酵素を同定しており、また、その触媒機能も明らかにしている^{4,5}。そこで、これら酵素の基質特異性を応用し、 ϵ -P α L および ϵ -O β L の化学構造にアジド基を導入する微生物変換法および酵素反応の至適条件を検討した。さらに、アジド基を介したクリックケミストリーにて ϵ -P α L および ϵ -O β L に蛍光色素を導入し、細胞膜透過性を示すか検証した。

放線菌由来の新規ポリカチオン性ペプチドの探索とその生合成機構

ϵ -P α L と ϵ -O β L 以外の微生物由来ポリカチオン化合物は数種しか同定されていない。そこで、微生物ゲノム情報をもとに新規ポリカチオン化合物を生産する微生物の探索を行った。放線菌のゲノム情報から ϵ -P α L 合成酵素遺伝子のホモログを探索し、遺伝子破壊および異種発現によってホモログ遺伝子および関連遺伝子の機能解析を行った。

放線菌由来のペプチド化合物 (Q6402) の生合成研究および新規ペプチド化合物の創製

放線菌によって生産される Q6402 (図 2) は、2-methyl-1-aminocyclopropanecarboxylic acid (methyl-ACC) を含む 6 残基のアミノ酸からなる環状オリゴペプチド構造を有し、抗炎症作用を持つ生理活性ペプチドである。ACC は植物ホルモンの 1 つである ethylene の生合成前駆体であり、S-adenosylmethionine (SAM) から PLP 依存型 ACC synthase の触媒によって生合成される。また大腸菌が生産する colibactin 生合成においても、ACC が SAM を基質として非リボソーム型ペプチド合成酵素の関与によって生合成されることが報告されている⁶。さらに最近、抗生物質 guangnanmycin の化学構造に存在する ACC が、PLP 依存型 aminotransferase である GnmY によって生合成されることが判明し、植物由来 ACC synthase と同様の触媒機構を有する新規バクテリア由来 ACC synthase であることが報告された⁷。しかしながら、これまでに methyl-ACC 生合成を明らかにした例はなく、本研究では Q6402 生合成遺伝子群から methyl-ACC 生合成に関わる遺伝子群の探索を行った。

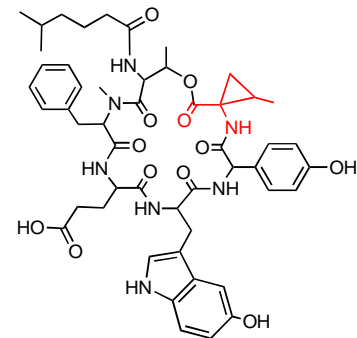


図 2. Q6402 の化学構造

放線菌由来のペプチド化合物 (BD-12) の生合成研究および新規ペプチド化合物の創製

放線菌によって生産される streptothricin (ST) は、幅広い抗菌スペクトルを有する強力な抗生物質であり、その化学構造に 1 残基の β -lysine (β -Lys) あるいは ϵ -O β L を有している (図 3A)。我々はこれまでに、ST の β -Lys 側鎖および ϵ -O β L 側鎖が 3 つの非リボソームペプチド合成酵素 (NRPS) によって生合成されることを報告している⁵。したがって、ST 類縁体である BD-12 の glycine 誘導体側鎖においても同様に NRPS による生合成が推測された。そこで、本研究では、BD-12 の生合成遺伝子群を同定し、glycine 誘導体側鎖の生合成機構の解明を行った。

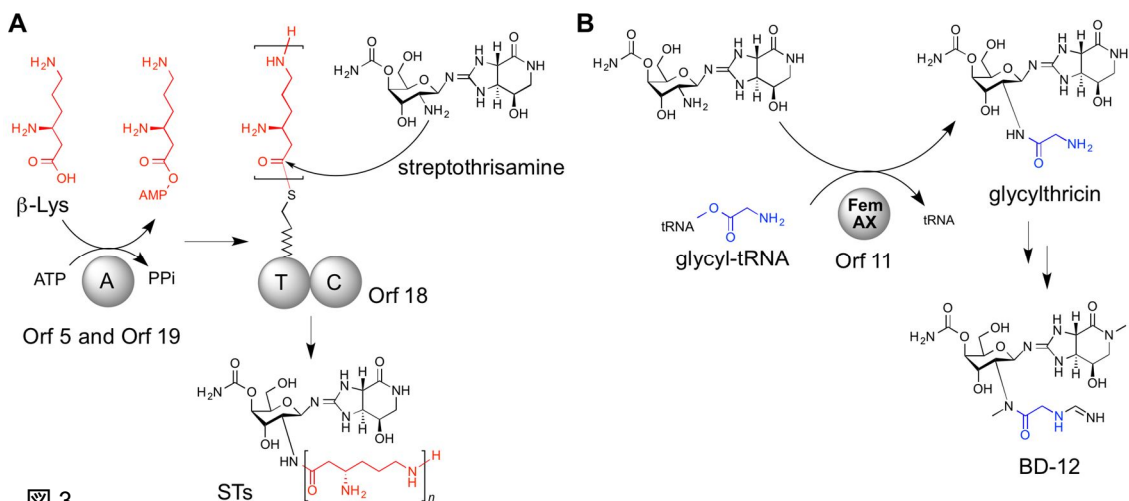


図 3

4. 研究成果

ε-PαL 簡便精製法の確立

各種アニオン性化合物を検討した結果、bis(2-ethylhexyl) sulfosuccinate とε-PαL のイオンコンプレックスは、培養上清中で沈殿を形成することを見出した。さらに得られたイオンコンプレックスはアルコールに可溶であり、tetrabutylammonium bromide を添加することで、ε-PαL を臭化水素塩の沈殿として高純度に精製できることを明らかにした⁸。

ε-PαL とε-OβL の細胞膜透過性評価

我々が解明したε-PαL とε-OβL の生合成機構をもとに、これらポリカチオンペプチドのC末端にアジド基などクリックケミストリーに利用できる官能基を導入する微生物変換法と酵素法を確立した⁹。さらに、これらポリカチオンペプチドと蛍光色素のコンジュゲートをクリックケミストリーにて合成し、動物細胞における細胞膜透過性を調べたところ、両ポリカチオンペプチドは、エネルギー依存的なエンドサイトーシスの機構ではなく、直接的膜透過の機構によって細胞内に移行し、細胞質に拡散するとともに核内にも意向することを明らかにした⁹。さらに、ε-PαL とタンパク質/酵素のコンジュゲートも直接的膜透過の機構によって細胞内に移行し、抗体においては、エンドサイトーシスの機構で細胞内に移行することを証明した⁹。以上の結果から、優れた細胞膜透過性を示すポリカチオンペプチドとしてε-PαL とε-OβL をPIECE と命名し、新しいタイプのCPPとして提唱した。

放線菌由来の新規ポリカチオン性ペプチドの探索とその生合成機構

放線菌によって生産されるポリカチオン性ペプチドは、ε-PαL とε-OβL の他に、γ-poly-L-diaminobutyric acid (Poly-L-Dab)、γ-poly-D-diaminobutyric acid (Poly-D-Dab)、β-poly-L-diaminopropionic acid (Poly-L-Dap) が知られている。Poly-L-Dap は、ε-PαL 合成酵素⁴ のホモログによって生合成されることが報告されているが、Poly-L-Dab と Poly-D-Dab については未解明であり、特に、生合成におけるL体とD体を決定するメカニズムは特に興味深い。そこで本研究では、生産菌のゲノム情報からε-PαL 合成酵素遺伝子のホモログを探索し、遺伝子破壊および異種発現によって Poly-L-Dab と Poly-D-Dab の生合成遺伝子を同定した。さらに、Poly-D-Dab 生合成遺伝子の近傍に新規ラセマーゼ遺伝子を見出したことから、本遺伝子が D-diaminobutyric acid モノマーユニットの生産に関与していることが示唆され、実際に、Poly-D-Dab 生合成酵素のA-domain は、diaminobutyric acid のD体特異的に活性を示した^{10,11}。

放線菌由来のペプチド化合物 (Q6402) の生合成研究および新規ペプチド化合物の創製

Q6402 の methyl-ACC 構造が、SAM から生合成されるかを検証するために、Q6402 生合成遺伝子群を異種の放線菌に導入し、Q6402 生産菌を構築した。さらに、その培養液に [1-¹³C]-L-methionine 及び[methyl-¹³C]-L-methionine を添加し、Q6402 生産培養を行った。その結果、methyl-ACC 構造の炭素原子が¹³C で標識されたことから、methyl-ACC 構造はSAM由来の炭素骨格を有することが示唆された。さらに、B12 結合型 radical SAM 酵素に相同性を示す Orf29、および、PLP 依存型 aminotransferase に相同性を示す Orf30 の組換え酵素を用いた機能解析を行った。その結果、Orf29 が SAM のメチル化反応を触媒し methyl-SAM を生成すること、そして、Orf30 は methyl-SAM を基質に PLP 依存的に methyl-ACC を与えることを見出した。すなわち、methyl-ACC は、3分子のSAMから生合成されることを明らかにした(図4)¹²。

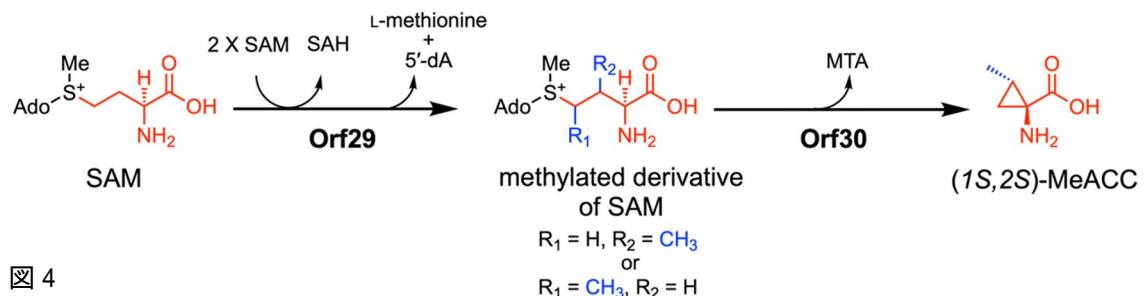


図 4

放線菌由来のペプチド化合物 (BD-12) の生合成研究および新規ペプチド化合物の創製

ドラフトゲノム解析によって、ST 生合成遺伝子群と相同性を示す 34-kb の遺伝子群 (accession no. LC122485) を同定した。しかし興味深いことに、この遺伝子群に ST 生合成遺伝子である Orf5

および Orf18 に相同性を示す遺伝子が存在しなかったことから、glycine 誘導体側鎖の生合成は NRPS とは異なる経路によって生合成されることが示唆された。そこで、各遺伝子産物の相同性について精査したところ、Orf11 が tRNA 依存性のペプチド合成酵素に相同性を示すことが判明した。そこで、組換え酵素を用いて種々検証したところ、Orf11 が glycyL-tRNA^{Gly} 依存的にアミノ糖生合成中間体 (streptothrisamine) と glycine のペプチド結合形成を触媒することを明らかにした (図 3B) ¹³。

<引用文献>

- 1 Schwarze, S. R., Ho, A., Vocero-Akbani, A. & Dowdy, S. F. In vivo protein transduction: delivery of a biologically active protein into the mouse. *Science* **285**, 1569-1572 (1999).
- 2 Futaki, S. Oligoarginine vectors for intracellular delivery: design and cellular-uptake mechanisms. *Biopolymers* **84**, 241-249 (2006). <https://doi.org:10.1002/bip.20421>
- 3 Kosuge, M., Takeuchi, T., Nakase, I., Jones, A. T. & Futaki, S. Cellular internalization and distribution of arginine-rich peptides as a function of extracellular peptide concentration, serum, and plasma membrane associated proteoglycans. *Bioconjug. Chem.* **19**, 656-664 (2008). <https://doi.org:10.1021/bc700289w>
- 4 Yamanaka, K., Maruyama, C., Takagi, H. & Hamano, Y. Epsilon-poly-L-lysine dispersity is controlled by a highly unusual nonribosomal peptide synthetase. *Nat. Chem. Biol.* **4**, 766-772 (2008). <https://doi.org:10.1038/nchembio.125>
- 5 Maruyama, C. *et al.* A stand-alone adenylation domain forms amide bonds in streptothricin biosynthesis. *Nat. Chem. Biol.* **8**, 791-797 (2012). <https://doi.org:10.1038/nchembio.1040>
- 6 Zha, L. *et al.* Colibactin assembly line enzymes use S-adenosylmethionine to build a cyclopropane ring. *Nat. Chem. Biol.* **13**, 1063-1065 (2017). <https://doi.org:10.1038/nchembio.2448>
- 7 Xu, Z., Pan, G., Zhou, H. & Shen, B. Discovery and Characterization of 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic Acid Synthase of Bacterial Origin. *J. Am. Chem. Soc.* (2018). <https://doi.org:10.1021/jacs.8b11463>
- 8 Ushimaru, K., Hamano, Y. & Katano, H. Antimicrobial Activity of epsilon-Poly-L-lysine after Forming a Water-Insoluble Complex with an Anionic Surfactant. *Biomacromolecules* **18**, 1387-1392 (2017). <https://doi.org:10.1021/acs.biomac.7b00109>
- 9 Takeuchi, Y. *et al.* First direct evidence for direct cell-membrane penetrations of polycationic homopoly(amino acid)s produced by bacteria. *Commun Biol* **5**, 1132 (2022). <https://doi.org:10.1038/s42003-022-04110-4>
- 10 Yamanaka, K., Fukumoto, H., Takehara, M., Hamano, Y. & Oikawa, T. The Stereocontrolled Biosynthesis of Mirror-Symmetric 2,4-Diaminobutyric Acid Homopolymers Is Critically Governed by Adenylation Activations. *ACS Chem. Biol.* **15**, 1964-1973 (2020). <https://doi.org:10.1021/acscchembio.0c00321>
- 11 Yamanaka, K., Ozaki, R., Hamano, Y. & Oikawa, T. Molecular and Mechanistic Characterization of PddB, the First PLP-Independent 2,4-Diaminobutyric Acid Racemase Discovered in an Actinobacterial D-Amino Acid Homopolymer Biosynthesis. *Front. Microbiol.* **12** (2021). <https://doi.org:10.3389/fmicb.2021.686023>
- 12 Maruyama, C. *et al.* C-Methylation of S-adenosyl-L-Methionine Occurs Prior to Cyclopropanation in the Biosynthesis of 1-Amino-2-Methylcyclopropanecarboxylic Acid (Norcoronamic Acid) in a Bacterium. *Biomolecules* **10**, E775 (2020). <https://doi.org:10.3390/biom10050775>
- 13 Maruyama, C. *et al.* tRNA-dependent aminoacylation of an amino sugar intermediate in the biosynthesis of a streptothricin-related antibiotic. *Appl. Environ. Microbiol.* **82**, 3640-3648 (2016). <https://doi.org:10.1128/AEM.00725-16>

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Takeuchi, Y., Ushimaru, K. Kaneda, K., Maruyama, C., Ito, T., Yamanaka, K., Ogasawara, Y., Katano, H., Kato, Y., Dairi, T., Hamano, Y.	4. 巻 5
2. 論文標題 First direct evidence for direct cell-membrane penetrations of polycationic homopoly(amino acid)s produced by bacteria	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Commun. Biol.	6. 最初と最後の頁 1132
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-022-04110-4	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 Yamanaka, K., Ozaki, R., Hamano, Y. Oikawa, T.	4. 巻 12
2. 論文標題 Molecular and mechanistic characterization of PdB, the first PLP-independent 2,4- diaminobutyric acid racemase discovered in an actinobacterial D-amino acid homopolymer biosynthesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front. Microbiol.	6. 最初と最後の頁 686023
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2021.686023	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 Maruyama, C., Hamano, Y.	4. 巻 59
2. 論文標題 tRNA-dependent amide bond-forming enzymes in peptide natural product biosynthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Curr. Opin. Chem. Biol.	6. 最初と最後の頁 164-171
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cbpa.2020.08.002	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 Maruyama, C., Chinone, Y., Sato, S., Kudo, F., Ohsawa, K., Kubota, J., Hashimoto, J., Kozone, I., Doi, T., Shin-Ya, K., Eguchi, T., Hamano, Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 C-Methylation of S-adenosyl-L-methionine Occurs Prior to Cyclopropanation in the Biosynthesis of 1-Amino-2-Methylcyclopropanecarboxylic Acid (Norcoronamic Acid) in a Bacterium	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 E775
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biom10050775	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 Yamanaka, K., Hamano, Y., Oikawa, T.	4. 巻 129
2. 論文標題 Enhancement of metabolic flux toward epsilon-poly-l-lysine biosynthesis by targeted inactivation of concomitant polyene macrolide biosynthesis in <i>Streptomyces albulus</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Biosci. Bioeng.	6. 最初と最後の頁 558-564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2019.12.002	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 Yamanaka, K., Fukumoto, H., Takehara, M., Hamano, Y., Oikawa, T.	4. 巻 7
2. 論文標題 The stereocontrolled biosynthesis of mirror-symmetric 2,4-diaminobutyric acid homopolymers is critically governed by adenylation activations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Chem. Biol.	6. 最初と最後の頁 1967-1973
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.0c00321	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 Hayashi, S., Ogasawara, Y., Satoh, Y., Maruyama, C., Hamano, Y., Dairi, T.	4. 巻 15
2. 論文標題 Off-Loading Mechanism of Products in Polyunsaturated Fatty Acid Synthases.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Chem. Biol.	6. 最初と最後の頁 651-656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.0c00075	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 Ushimaru, K., Hamano, Y., Morita, T., Fukuoka, T.	4. 巻 4
2. 論文標題 Material from epsilon-Poly-l-lysine and Lignosulfonate: Mechanical and Self-Healing Properties of a Bio-Based Polyelectrolyte Complex.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 9756-9762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.9b00968	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 Ogasawara, Y., Nakagawa, Y., Maruyama, C., Hamano, Y., Dairi, T.	4. 巻 29
2. 論文標題 In vitro characterization of MitE and MitB: Formation of N-acetylglucosaminyl-3-amino-5-hydroxybenzoyl-MmcB as a key intermediate in the biosynthesis of antitumor antibiotic mitomycins.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem. Lett.	6. 最初と最後の頁 2076-2078
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2019.07.009	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 Hayashi, S., Naka, M., Ikeuchi, K., Ohtsuka, M., Kobayashi, K., Satoh, Y., Ogasawara, Y., Maruyama, C., Hamano, Y., Ujihara, T., Dairi, T.	4. 巻 58
2. 論文標題 Control Mechanism for Carbon-Chain Length in Polyunsaturated Fatty-Acid Synthases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed. Engl.	6. 最初と最後の頁 6605-6610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201900771	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 Hayashi, S., Satoh, Y., Ogasawara, Y., Maruyama, C., Hamano, Y., Ujihara, T., Dairi, T.	4. 巻 58
2. 論文標題 Control Mechanism for cis Double-Bond Formation by Polyunsaturated Fatty-Acid Synthases.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed. Engl.	6. 最初と最後の頁 2326-2330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201812623	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 Yamanaka, K., Hamano, Y.	4. 巻 8
2. 論文標題 Draft genome sequence of the most traditional epsilon-poly-L-lysine producer, Streptomyces albulus NBRC14147.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbiol. Resour. Announc.	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/MRA.01515-18	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 -

1. 著者名 Katano, H., Maruyama, M., Kuroda, Y., Uematsu, K., Maruyama, C., Hamano, Y.	4. 巻 820
2. 論文標題 Partition of amines and lysine oligomers between organic solvent and water under a controlled interfacial potential difference	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Electroanal. Chem.	6. 最初と最後の頁 97-102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jelechem.2018.05.001	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 Uematsu, K., Ueno, T., Kawasaki, H., Maruyama, C., Hamano, Y., Katano, H.	4. 巻 34
2. 論文標題 Promotion effect of streptothricin on a glucose oxidase enzymatic reaction and its application to a colorimetric assay	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 143-148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.34.143	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 Niiikura, N., Maruyama, C., Ogasawara, Y., Shin-ya, K., Dairi, T., Hamano, Y.	4. 巻 125
2. 論文標題 Functional analysis of methyltransferases participating in streptothricin-related antibiotic biosynthesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Biosci. Bioeng.	6. 最初と最後の頁 148-154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2017.09.004	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 Katano, H., Kuroda, Y., Taira, S., Maruyama, C., Hamano, Y.	4. 巻 33
2. 論文標題 Colorimetric microtiter plate assay of polycationic aminoglycoside antibiotics in culture broth using amaranth	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 499-504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.33.499	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 Tatsuta, T., Kasai, K., Maruyama, C., Hamano, Y., Matsuo, K., Katano, H., Taira, S.	4. 巻 7
2. 論文標題 Imaging mass spectrometry analysis of ubiquinol localization in the mouse brain following shortterm administration	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 12990
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-13257-8	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 Ushimaru, K., Maruyama, C., Hamano, Y., Katano, H.	4. 巻 18
2. 論文標題 Antimicrobial activity of -poly-L-lysine after forming a water-insoluble complex with an anionic surfactant	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biomacromolecules	6. 最初と最後の頁 1387-1392
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biomac.7b00109	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 Maruyama, C., Niikura, H., Izumikawa, M., Hashimoto, J., Shin-Ya, K., Komatsu, M., Ikeda, H., Kuroda, M., Sekizuka, T., Ishikawa, J., Hamano, Y.	4. 巻 82
2. 論文標題 RNA-dependent aminoacylation of an amino sugar intermediate in the biosynthesis of a streptothricin-related antibiotic.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Appl. Environ. Microbiol.	6. 最初と最後の頁 3640-3648
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/AEM.00725-16	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27件(うち招待講演 9件/うち国際学会 12件)

1. 発表者名 Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Biosynthesis and cell-penetrating activity of bacterial homopoly(amino acid)s
3. 学会等名 Chemistry department, The University of British Columbia (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Polycationic peptides-discovery, biosynthesis, and application
3. 学会等名 The 4th A3 Foresight Symposium on Chemical & Synthetic Biology of Natural Products 2019 meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Substrate specificity of tRNA-dependent amide-bond forming enzyme
3. 学会等名 The 14th Asian Congress on Biotechnology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱野 吉十
2. 発表標題 微生物由来の天然ポリカチオンを利用した生体高分子の細胞内送達法
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会(シンポジウム)(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Substrate specificity of tRNA-dependent amide-bond forming enzyme
3. 学会等名 Enzyme Engineering XXV, (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukiko Chinone, Yoshimitsu Hamano, Junko Hashimoto, Ikuko Kozone, Kazuo Shin-ya, Chitose Maruyama
2. 発表標題 Identification and characterization of bacterial 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase
3. 学会等名 The 4th A3 Foresight Symposium on Chemical & Synthetic Biology of Natural Products 2019 meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamato Takeushi, Chitose Maruyama, Yasuo Kato, Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Intracellular Delivery of Macromolecules Modified with ϵ -poly-L-lysine
3. 学会等名 The 4th A3 Foresight Symposium on Chemical & Synthetic Biology of Natural Products 2019 meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fumika Matsumura, Chitose Maruyama, Yamato Takeuchi, Yasuo Kato, Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Chemical modification of the bioactive small molecules with ϵ -poly-L-lysine for improving cell membrane permeability and water solubility
3. 学会等名 The 4th A3 Foresight Symposium on Chemical & Synthetic Biology of Natural Products 2019 meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kohei Kaneda, Chitose Maruyama, Yamato Takeuchi, Yasuo Kato, Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Chemical modification of the bioactive small molecules with oligo(ϵ -Lys) for improving cell membrane permeability and water solubility
3. 学会等名 The 4th A3 Foresight Symposium on Chemical & Synthetic Biology of Natural Products 2019 meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamato Takeushi, Chitose Maruyama and Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Intracellular Delivery of Macromolecules Modified with -poly-L-lysine
3. 学会等名 The 14th Asian Congress on Biotechnology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukiko Chinone, Chitose Maruyama, Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Identification and characterization of bacterial 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase
3. 学会等名 The 14th Asian Congress on Biotechnology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 茅根干湖, 山中一也, 五十嵐雅之, 濱野吉十, 丸山千登勢
2. 発表標題 抗生物質resormycinの生合成遺伝子群の同定および機能解析
3. 学会等名 2019年度日本放線菌学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 兼田康平, 武内大和, 加藤康夫, 丸山千登勢, 濱野吉十
2. 発表標題 細胞膜透過に寄与する抗生物質streptothricinのoligo(-Lys)構造
3. 学会等名 2019年度日本放線菌学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 武内大和, 牛丸和乗, 加藤康夫, 丸山千登勢, 濱野吉十
2. 発表標題 機能性高分子の -poly-L-lysine修飾による細胞内送達法の確立
3. 学会等名 2019年度日本放線菌学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 兼田康平, 武内大和, 加藤康夫, 丸山千登勢, 濱野吉十
2. 発表標題 生体膜透過性・水溶性の一挙改善を志向した機能性低分子化合物のoligo(beta-Lys)修飾
3. 学会等名 日本生物工学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 武内大和, 牛丸和乗, 加藤康夫, 丸山千登勢, 濱野吉十
2. 発表標題 機能性高分子のepsilon-poly-L-lysine修飾による細胞内送達法の確立
3. 学会等名 日本生物工学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 茅根千湖, 橋本絢子, 小曾根郁子, 新家一男, 濱野吉十, 丸山千登勢
2. 発表標題 放線菌由来1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid合成酵素の同定および酵素学的諸性質
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 武内大和, 牛丸和乗, 加藤康夫, 丸山千登勢, 濱野吉十
2. 発表標題 機能性高分子の -poly-L-lysine修飾による細胞内送達法の確立
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 武内大和, 牛丸和乗, 加藤康夫, 丸山千登勢, 濱野吉十
2. 発表標題 機能性分子の -poly-L-lysine修飾による生体膜透過性・水溶性の一挙改善
3. 学会等名 酵素工学研究会第80回講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武内大和, 牛丸和乗, 加藤康夫, 丸山千登勢, 濱野吉十
2. 発表標題 機能性分子の -poly-L-lysine修飾による生体膜透過性・水溶性の一挙改善
3. 学会等名 2018年度日本農芸化学会中部支部183回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武内大和, 牛丸和乗, 加藤康夫, 丸山千登勢, 濱野吉十
2. 発表標題 機能性分子の -poly-L-lysine修飾による生体膜透過性・水溶性の一挙改善
3. 学会等名 2018年度日本放線菌学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武内大和, 牛丸和乗, 加藤康夫, 丸山千登勢, 濱野吉十
2. 発表標題 機能性低分子化合物のポリリジン化による生体膜透過性・水溶性の一挙改善
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 濱野吉十
2. 発表標題 膜透過性・水溶性の一挙改善を志向した新規機能性低分子の生合成リデザイン
3. 学会等名 新学術領域研究(研究領域提案型)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科学, 第3回公開シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Amide-bond forming enzymes in the biosynthesis of streptothricin group antibiotics
3. 学会等名 1st US-China Seminar on the Biosynthesis of Natural Products(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Amide-bond forming enzymes in the biosynthesis of streptothricin group antibiotics
3. 学会等名 Society of Industrial Microbiology and Biotechnology (SIMB) 2017 meeting(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshimitsu Hamano
2. 発表標題 Amide-bond Forming Enzymes in the Biosynthesis of Streptothricin Group Antibiotics
3. 学会等名 9th US-Japan Seminar on the Biosynthesis of Natural Products (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 濱野吉十
2. 発表標題 streptothricin類縁抗生物質の生合成研究に見出したtRNA依存性ペプチド合成酵素
3. 学会等名 新学術領域研究(研究領域提案型)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科学, 第1回公開シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 クリック官能基をもつ -ポリ-L-リジン誘導体、その製法、及びその用途	発明者 濱野吉十、牛丸和乗	権利者 福井県立大学
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2018/031153	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

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	丸山 千登勢 (Maruyama Chitose) (20452120)	福井県立大学・生物資源学部・准教授 (23401)	
研究分担者	山中 一也 (Yamanaka Kazuya) (30756870)	関西大学・化学生命工学部・准教授 (34416)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	片野 肇 (Katano Hajime)		
研究協力者	牛丸 和乗 (Ushimaru Kazunori)		

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