

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K14833

研究課題名(和文)新規化合物の同定とメタゲノム解析を軸とする陸上テトロドトキシンの生合成経路の解析

研究課題名(英文) Investigation of the biosynthesis of terrestrial tetrodotoxin via new compound screening and metagenomic analysis

研究代表者

工藤 雄大 (Kudo, Yuta)

東北大学・学際科学フロンティア研究所・助教

研究者番号：60824662

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：質量分析器(MS)を用いた解析から、イモリから新たなテトロドトキシン(TTX)類縁体と推測される成分を発見した。各種イモリの解析からこれまで同定してきたTTXの推定生合成関連物(Tgr-288など)が有毒イモリに広範に分布することを確かめる結果を得た。メタゲノム解析から有毒イモリの環境微生物の塩基配列情報を取得した。

MSによる探索方法を放線菌に適用し、抗マラリア活性を示すリン酸トリエステル化合物サリニポスチンの新規類縁体を複数得た。強力なリパーゼ酵素阻害活性を示すことを明らかにした。また、放線菌シグナル分子の主要タイプである γ -ブチロラクトン化合物を新たな天然化合物として同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

有毒イモリの詳細な成分分析によって、代表的な自然毒かつ食中毒原因物質であるテトロドトキシンの生合成に関する知見を深めることができた。有毒イモリ生息地における環境微生物の塩基配列(メタゲノム)情報を様々な手法で取得できた。

重要な創薬基盤である放線菌を対象した、質量分析器による化合物探索法を構築した。希少天然物リン酸トリエステル化合物を複数得て、その活性について知見を得た。放線菌シグナル分子として知られる γ -ブチロラクトン化合物を新たに天然物として同定できた。今後の放線菌の二次代謝研究、特にリン酸トリエステル化合物とシグナル分子の研究について有効な手法を提案できた。

研究成果の概要(英文)：Mass-spectrometry (MS) analysis has revealed new putative tetrodotoxin (TTX) analogs in newts. Compound analysis of various newt species confirms the wide distribution of putative intermediates/shunts of TTX biosynthesis in toxic newts, and it supports the proposed biosynthetic pathway. The environmental DNA data of toxic newt habitats were obtained using metagenomic analyses.

MS-based screening method for phosphotriester compounds was established. With this method, new analogs of the antimalarial compound salinipostin were discovered from actinomycete. They exhibited potent lipase inhibitory activity. We also identified a new natural γ -butyrolactone compound, a major type of actinomycete signaling molecule.

研究分野：天然物化学

キーワード：テトロドトキシン イモリ 構造解析 生合成 メタゲノム 質量分析 放線菌

1. 研究開始当初の背景

生物が作り出す天然有機化合物は多種多様な化学構造と生物活性を有し、人類の健康増進に寄与するものから、いわゆる毒として機能するものなど幅広い。また、重要な化合物であっても自然界でどのように生産されるか(生合成)が不明である化合物は多い。代表的な自然毒であるテトロドトキシンおよび、有用化合物を数多く含む放線菌二次代謝産物を対象として、研究を実施した。

(1) テトロドトキシン

テトロドトキシン(tetrodotoxin, TTX, 1)は複雑な化学構造をもつ強力な神経毒である。フグや巻貝をはじめとする多様な海洋生物、および陸棲の両生類であるイモリとカエルに含まれる。これら興味深い特徴から長らく研究される自然毒だが、未だに起源が不明瞭であり、TTXの生合成は長年の謎となっている。本研究では陸棲イモリのTTXについて解析を行った。

イモリの毒の起源は内因性と外因性の議論が続いている。研究代表者らは、研究室で飼育したイモリがTTXを生産しないこと、経口投与したTTXがイモリに蓄積されることから、外因性と推測した^{1,2}。TTXの生産能を示すバクテリアがサメハダイモリから単離されたが³、その生産能は低く、陸からのTTX生産細菌の報告はごく限られている。Feeding実験の成功例も無い。TTXを含有する生物が陸上と海洋に広く分布することから、その起源は様々な環境中に存在すると考えられる。研究代表者は環境中の99%を占めると言われる難培養性微生物がTTXの真の起源である可能性を考えた。そこで、環境微生物のメタゲノムからTTXの生合成に関わる遺伝子を探索することを計画した。一方で、生合成遺伝子の探索には指標が必要となる。研究代表者らは有毒イモリからTTXの類縁体および推定生合成関連化合物を質量分析器(MS)で探索し、それらの化学構造からTTXの生合成経路を推定してきた⁴⁻⁸。推定生合成経路から関連酵素を絞り込むことで、生合成遺伝子を探索できると考えた。

(2) 放線菌二次代謝産物

放線菌は抗生物質をはじめとする有用二次代謝産物を供給してきた重要な薬剤供給源である。放線菌は自身の二次代謝を低分子シグナル分子で制御し、*Streptomyces griseus*におけるA-factorなどγ-ブチロラクトン化合物がシグナル分子の主要タイプとして知られる。

海洋放線菌 *Salinispora* 属が生産するリン酸トリエステル化合物であるサリニポスチン(salinipostin)は強力かつ選択的な抗マラリア原虫活性を示す⁹。リン酸トリエステル化合物は天然で極めて稀で、salinipostinのほか cyclipostin, cyclophostin のみが知られるが、それぞれホルモン感受性リパーゼ、アセチルコリンエステラーゼの強力な阻害能を示す。研究代表者らは、salinipostinの生合成経路の初期段階が、放線菌シグナル分子のγ-ブチロラクトンと類似することを明らかにし、また、本経路から派生して生成する成分として、*Salinispora* 属から初となるシグナル分子様のγ-ブチロラクトン化合物を得た¹⁰。続いて、パイオインフォマティクス解析からsalinipostinに類似する生合成遺伝子クラスターを多種の放線菌から見出し、未発見のリン酸トリエステル化合物が数多く存在する可能性を示した¹¹。この際、γ-ブチロラクトン化合物の広範な分布も示された。これらの先行研究より、TTX研究におけるMSによる新規化合物探索法を放線菌二次代謝産物に応用することで、新たなリン酸トリエステル化合物、およびγ-ブチロラクトン化合物が取得できると考えた。

2. 研究の目的

(1) テトロドトキシンの生合成経路の解明を目指したメタゲノム解析およびTTX関連化合物の解析

代表的な自然毒でありながらTTXの生合成は明らかになっていない。環状グアニジンとジオキサアダマンタン骨格を含む他に類を見ない化学構造を持つTTXの構築機構には、有機化学的、生化学的に新たな知見が期待される。また、生合成経路の解明を通じて、生合成酵素の利用あるいは生合成反応の模倣から、TTXの合成手法の発展が見込める。TTXは致死性の食中毒原因物質であり、その生合成の解明は食品衛生の観点からも重要な課題である。

本研究では、TTXの生合成経路の解明を目指し、いまだ全く未知の生合成遺伝子の探索を行った。真のTTX生産者が含まれると予想される有毒イモリ生息地の環境微生物から、メタゲノム情報を収集することを目的とし、TTX生合成遺伝子の同定を試みた。また、陸上TTXの生合成経路の知見を得るために、生息地や種の異なる多種類のイモリの成分分析をLCMSで行い、新規TTX関連化合物の探索およびこれまで同定してきたTTX関連化合物の分布を調査した。

(2) 放線菌二次代謝産物の探索手法の構築と新規化合物の取得、生理活性評価

新規TTX関連化合物の同定に有用であったMSによる化合物探索方法を放線菌二次代謝産物に応用することで、新たな化合物が取得できると考えた。抗マラリア原虫活性やセリンヒドロラーゼ酵素の強力な阻害能などの特徴的な生理活性と、稀な化学構造を有するリン酸トリエステル化合物について、MSによる化合物探索手法の構築を目指した。同時に、生合成上の関連があり、主要な放線菌シグナル分子であるγ-ブチロラクトンの探索法の構築を行った。これらの探索手法を用いて、実際に放線菌から新たな天然化合物の取得を目指した。また、得られた新規リン酸トリエステル化合物の生理活性を評価し、リン酸トリエステル化合物の生理活性に関する

知見の収集を試みた。

3. 研究の方法

(1) テトロドトキシンの生合成経路に関する研究

各種有毒イモリにおける TTX 関連化合物の分布調査と新規 TTX 関連化合物の探索

TTX を含有するイモリ、およびこれまで TTX の検出報告が無いイモリの両方について、成分分析を行った。各種イモリを希酢酸抽出、およびメタノール抽出し、それぞれ活性炭カラム、逆相カラムで前処理した。Aqua-type の逆相カラムおよび HILIC カラムを用いて、高分解能 LC-MS に供し、幅広い成分の網羅的な分析を実施した。

精密質量を指標として新規化合物の探索を行った。新規 TTX 類縁体およびグアニジノ化合物の候補を各種クロマトグラフィーで精製し、NMR で構造を解析した。

これまで主にイモリから同定してきた TTX 類縁体および環状グアニジノ化合物を標品として、各イモリにおける分布を調査した。各化合物標品と一致するピークを LCMS で探索し、各種有毒イモリにおける TTX、TTX 類縁体、環状グアニジノ化合物の有無を調査した。

有毒イモリ生息地における環境微生物のメタゲノム解析

有毒イモリの群生地を探索し、TTX を含有するイモリの生息地から、土壌と水を採取した。各環境サンプルより、既報を参考とした方法¹²、および土壌 DNA の抽出キットを用いて、環境微生物のメタゲノムを得た。由来と調製方法の異なる環境メタゲノムサンプルをショットガンメタゲノム解析に供した。得られた塩基配列情報を各パイオインフォマティクス解析に供した。先行研究で得た環境メタゲノム Fosmid Library も解析に供した。近年発展した技術に、菌の単離培養を経ず、環境微生物の細菌懸濁液をマイクロ流路でシングルセルドロップレットとして分離した後、溶菌、全ゲノム増幅し、直接個々のゲノム情報を得るシングルセルゲノミクス解析が有る。有毒イモリ生息地の環境微生物のシングルセルゲノミクス解析で得られた塩基配列も併せて解析した。化合物探索で推定した経路に基づき、生合成に関わる酵素を推測した。関連が示唆された酵素のアミノ酸配列をデータベースから収集し、これらをクエリーとして TTX の推定生合成遺伝子を探索した。

(2) 放線菌からの新規二次代謝産物 (リン酸トリエステル化合物および β -ブチロラクトン化合物) の探索

パイオインフォマティクス解析から、リン酸トリエステル化合物およびシグナル分子 β -ブチロラクトンの推定生合成遺伝子(クラスター)を保有する放線菌を NCBI データベースからリストアップし、入手可能な菌を微生物提供機関より得た。また、研究代表者が環境より単離した放線菌のゲノムを解析し、上記生合成遺伝子の保有菌を解析対象とした。目的化合物の生産向上を狙い、吸着剤とともに各種放線菌を液体培養した。培養後、吸着剤と菌体のアセトン抽出物を得て、逆相カラムで前処理した後、高分解能 LCMS にて分析した。

リン酸トリエステル化合物については、LCMS/MS における特徴的なフラグメントイオンを指標とする効率的な探索方法を確立した。 β -ブチロラクトン化合物は、既知成分の構造を参考に、 $C_xH_yO_4$ の分子式を指標として新規成分を探索した。それぞれ、検出された候補成分を各種クロマトグラフィーにて単離し、各種一次元、二次元 NMR スペクトルから構造を解析した。また、比旋光度および CD スペクトルの解析から、絶対立体化学を推定した。

4. 研究成果

(1) テトロドトキシンの生合成経路に関する研究

各種有毒イモリにおける TTX 関連化合物の分布調査と新規 TTX 関連化合物の探索

研究代表者はグアニジノ基を有するモノテルペン geranyl guanidine を出発物とする経路を提唱してきた^{5,7,8}。これまで、4,9-anhydro-10-hemiletal-5-deoxyTTX (2), Cep-210 (3), Cep-212, Cep-242, Cep-240, Cpy-240 が有毒イモリに分布することを報告した^{4,5}。今回、調査対象とする有毒イモリと解析対象の化合物を増やして、各種有毒イモリの TTX 関連化合物の分布を調査した。その結果、近年アメリカ産サメハダイモリ (*Taricha granulosa*) から報告した Tgr-238 (4), Tgr-240 (5), Tgr-288 (6)^{7,8} が広範な有毒イモリに分布している結果が得られた (図 1)。具体的には、日本産のオキナワシリケンイモリ (*Cynops ensicauda popei*)、アカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*)、アメリカ産別属のブチイモリ (*Notophthalmus viridescens*) から検出された。同じくサメハダイモリから得られた Tgr-210 (7) についてはサメハダイモリ以外からは検出されなかった。また、これまで TTX の報告が無い種のイモリから TTX を検出し、新たな TTX 含有イモリを明らかにすることができた。本種の毒量は低く (<1 $\mu\text{g/g}$ 、個体によっては検出限界以下)、他の TTX 類縁体、環状グアニジノ化合物は検出されなかった。弱毒イモリには環状グアニジノ化合物が検出されないことは、先行研究と一致し⁵、間接的に、これらの成分が生合成関連物であることを支持された。

新規化合物の探索においては、新たな環状グアニジノ化合物の候補が検出されたが、単離された量が少なく、十分な NMR 解析が実行できず、構造決定には至らなかった。一方で、新規 TTX 類縁体が 2 種得られ、各種 NMR スペクトルの解析からそれぞれ TTX の 6 位 epimer、8 位 epimer の類縁体であることが推測された。これらの TTX の立体異性体は有毒イモリに特徴的な成分であり、Cep-212 や Cep-210 といった二環性グアニジノ化合物から三環を生じる際に構築されると考えられる⁶。推定生合成経路を支持する類縁体と考えられ、詳細な解析後に公表予定である。また、*Notophthalmus* 属および *Taricha* 属 TTX 含有イモリに関する内容の Book chapter を共同で

執筆し、公表した¹³。TTX に関する研究成果を国際学会、国内学会で発表した。

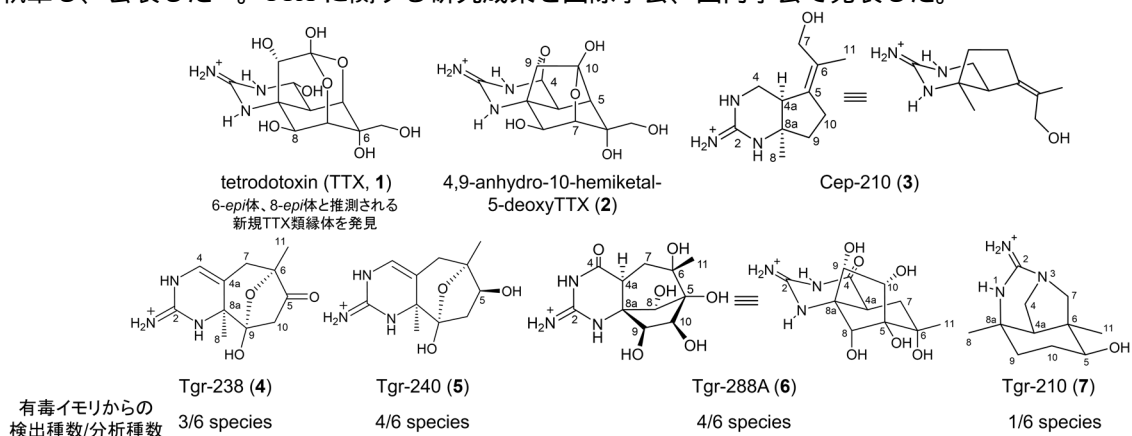


図 1. テトロドトキシン (1) と推定生合成関連化合物 (2-7) の化学構造、および有毒イモリにおける分布

有毒イモリ生息地における環境微生物のメタゲノム解析

ショットガンメタゲノムの解析により、有毒イモリ生息地における土壌および水泥の環境微生物の塩基配列情報を新たに得た。先行研究で作成した Fosmid Library の塩基配列、および新たに得たシングルセルゲノム解析による塩基配列も併せて解析した。パイオインフォマティクス解析から難培養性微生物の塩基配列が多数得られていることが確認できた。今回、陸上 TTX の推定生合成経路から、アミジノトランスフェラーゼ、テルペン関連酵素、Beayer-Villiger 酸化酵素、プレニル化酵素の関連を予想した。これら既知酵素のアミノ酸配列をクエリーとした BLAST 解析を実施した。上記酵素に該当する遺伝子配列を複数検出することができたが、TTX 生合成との直接的な関係は明らかにできていない。今後、候補となる酵素を発現させ、推定基質との反応解析を通じて、TTX 生合成遺伝子であるか検証を進めていく。

(2) 放線菌からの新規二次代謝産物 (リン酸トリエステル化合物および β -ブチロラクトン化合物) の探索

海洋放線菌 *Salinispora* 属の培養抽出物を LCMS/MS 分析に供し、リン酸トリエステル化合物のプリカーサーイオンおよび特徴的なフラグメントイオンが良好に検出されるように条件を最適化した (図 2)。本法で既知のリン酸トリエステル化合物 salinipostin B (8), C (9) を検出し、単離構造解析することで確かめた。また、新規 salinipostin と思われる 3 成分 (10-12) を検出し、単離、構造解析した。各種 NMR から平面構造を決定し、¹³C NMR スペクトルで得た CP カップリングの値を既報のリン酸トリエステル化合物と比較することで、相対立体化学を推定した。比旋光度の解析から絶対立体化学を推定し、新規 salinipostin 類縁体 L, M, N (10-12) として報告した (図 2)。Salinipostin はマラリア原虫のモノアシルグリセロールリパーゼ (MAGL) を阻害することが近年報告されていた¹⁴。本研究では、代替として、ホモロジーの高いヒト MAGL に対する *in vitro* 阻害活性試験を実施し、単離した salinipostin 類が、nM オーダーの強力な MAGL 阻害活性を示すことを明らかにした。これら salinipostin に関する成果を論文として公表した¹⁵。

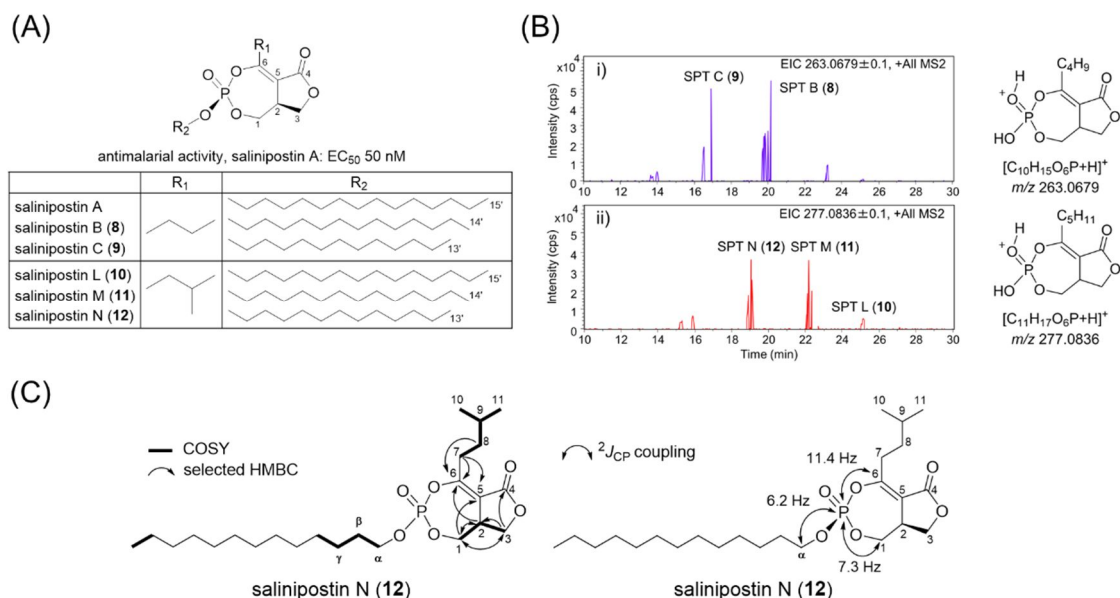


図 2. (A) サリニポスチン A, B, C および新規類縁体 L, M, N (10-12) の化学構造、(B) LC-MS/MS による特徴的なフラグメントイオンの構造とその抽出イオンクロマトグラム、(C) サリニポスチン N (12) の化学構造解析

放線菌シグナル分子は二次代謝を制御する重要な制御因子だが、その多くは不明である。MS を用いたシグナル分子の探索法を構築した。環境より単離した *Streptomyces* 属放線菌から -ブチロラクトン化合物 (13) を検出し、単離構造解析した。NMR により平面構造を決定し、CD スペクトルの解析から 3-*R* 体であると決定した (図 3)。本化合物は他のシグナル分子の前駆体として報告があるが¹⁶、今回新規天然化合物として -ブチロラクトン化合物 (13) を得ることができた (公表準備中)。

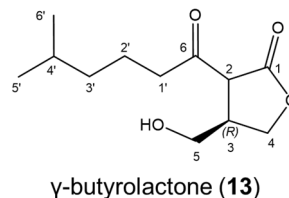


図 3. *Streptomyces* 属放線菌由来 -ブチロラクトン化合物 (13) の化学構造

<引用文献>

- (1) Kudo, Y.; Chiba, C.; Konoki, K.; Cho, Y.; Yotsu-Yamashita, M. Confirmation of the Absence of Tetrodotoxin and Its Analogues in the Juveniles of the Japanese Fire-Bellied Newt, *Cynops pyrrhogaster*, Captive-Reared from Eggs in the Laboratory Using HILIC-LC-MS. *Toxicon* **2015**, *101*, 101–105.
- (2) Kudo, Y.; Chiba, C.; Konoki, K.; Cho, Y.; Yotsu-Yamashita, M. Dietary Administration of Tetrodotoxin and Its Putative Biosynthetic Intermediates to the Captive-Reared Non-Toxic Japanese Fire-Bellied Newt, *Cynops pyrrhogaster*. *Toxicon* **2017**, *137*, 78–82.
- (3) Vaelli, P. M.; Theis, K. R.; Williams, J. E.; Connell, L. A. O.; Foster, J. A.; Eisthen, H. L. The Skin Microbiome Facilitates Adaptive Tetrodotoxin Production in Poisonous Newts. *eLife* **2020**, *9*, e53898.
- (4) Kudo, Y.; Yamashita, Y.; Mebs, D.; Cho, Y.; Konoki, K.; Yasumoto, T.; Yotsu-Yamashita, M. C5-C10 Directly Bonded Tetrodotoxin Analogues: Possible Biosynthetic Precursors of Tetrodotoxin from Newts. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53* (52), 14546–14549.
- (5) Kudo, Y.; Yasumoto, T.; Mebs, D.; Cho, Y.; Konoki, K.; Yotsu-Yamashita, M. Cyclic Guanidine Compounds from Toxic Newts Support the Hypothesis That Tetrodotoxin Is Derived from a Monoterpene. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55* (30), 8728–8731.
- (6) Kudo, Y.; Yotsu-Yamashita, M. Isolation and Biological Activity of 8-Epitetrodotoxin and the Structure of a Possible Biosynthetic Shunt Product of Tetrodotoxin, Cep-226A, from the Newt *Cynops ensicauda popei*. *J. Nat. Prod.* **2019**, *82* (6), 1656–1663.
- (7) Kudo, Y.; Hanifin, C. T.; Kotaki, Y.; Yotsu-Yamashita, M. Structures of *N*-Hydroxy-Type Tetrodotoxin Analogues and Bicyclic Guanidinium Compounds Found in Toxic Newts. *J. Nat. Prod.* **2020**, *83* (9), 2706–2717.
- (8) Kudo, Y.; Hanifin, C. T.; Yotsu-Yamashita, M. Identification of Tricyclic Guanidino Compounds from the Tetrodotoxin-Bearing Newt *Taricha granulosa*. *Org. Lett.* **2021**, *23* (9), 3513–3517.
- (9) Schulze, C. J.; Navarro, G.; Ebert, D.; Derisi, J.; Linington, R. G. Salinipostins A-K, Long-Chain Bicyclic Phosphotriesters as a Potent and Selective Antimalarial Chemotype. *J. Org. Chem.* **2015**, *80* (3), 1312–1320.
- (10) Kudo, Y.; Awakawa, T.; Du, Y. L.; Jordan, P. A.; Creamer, K. E.; Jensen, P. R.; Linington, R. G.; Ryan, K. S.; Moore, B. S. Expansion of Gamma-Butyrolactone Signaling Molecule Biosynthesis to Phosphotriester Natural Products. *ACS Chem. Biol.* **2020**, *15* (12), 3253–3261.
- (11) Creamer, K. E.; Kudo, Y.; Moore, B. S.; Jensen, P. R. Phylogenetic Analysis of the Salinipostin γ-Butyrolactone Gene Cluster Uncovers New Potential for Bacterial Signalling-Molecule Diversity. *Microb. genom.* **2021**, *7* (5), 1–14.
- (12) Brady, S. F. Construction of Soil Environmental DNA Cosmid Libraries and Screening for Clones That Produce Biologically Active Small Molecules. *Nat. Protoc.* **2007**, *2* (5), 1297–1305.
- (13) Hanifin, C. T.; Kudo, Y.; Yotsu-Yamashita, M. Chemical Ecology of the North American Newt Genera *Taricha* and *Notophthalmus*. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **2022**, *118*, 101–130.
- (14) Yoo, E.; Schulze, C. J.; Stokes, B. H.; Onguka, O.; Yeo, T.; Mok, S.; Gnädig, N. F.; Zhou, Y.; Kurita, K.; Foe, I. T.; Terrell, S. M.; Boucher, M. J.; Cieplak, P.; Kumpornsin, K.; Lee, M. C. S.; Linington, R. G.; Long, J. Z.; Uhlemann, A. C.; Weerapana, E.; Fidock, D. A.; Bogyo, M. The Antimalarial Natural Product Salinipostin A Identifies Essential α/β Serine Hydrolases Involved in Lipid Metabolism in *P. falciparum* Parasites. *Cell Chem. Biol.* **2020**, *27* (2), 143–157.e5.
- (15) Kudo, Y.; Konoki, K.; Yotsu-Yamashita, M. Mass Spectrometry-Guided Discovery of New Analogs of Bicyclic Phosphotriester Salinipostin and Evaluation of Their Monoacylglycerol Lipase Inhibitory Activity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2022**, *86* (10), 1333–1342.
- (16) Shikura, N.; Nihira, T.; Yamada, Y. Identification and Characterization of 6-DehydroVB-A Reductase from *Streptomyces antibioticus*. *FEMS Microbiol. Lett.* **1999**, *171* (2), 183–189.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yuta Kudo, Keiichi Konoki, Mari Yotsu-Yamashita	4. 巻 86
2. 論文標題 Mass spectrometry-guided discovery of new analogs of bicyclic phosphotriester salinipostin and evaluation of their monoacylglycerol lipase inhibitory activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1333 ~ 1342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbac131	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 Yuji Yaegashi, Yuta Kudo, Nozomi Ueyama, Ken-ichi Onodera, Yuko Cho, Keiichi Konoki, Mari Yotsu-Yamashita	4. 巻 85
2. 論文標題 Isolation and Biological Activity of 9-epi Tetrodotoxin and Isolation of Tb-242B, Possible Biosynthetic Shunt Products of Tetrodotoxin from Pufferfish	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 2199 ~ 2206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.2c00588	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 Keita Yamaki, Kyoka Sato, Yuta Kudo, Yuko Cho, Keiichi Konoki, Tomohiro Takatani, Osamu Arakawa, Kentaro Kawatsu, Mari Yotsu-Yamashita	4. 巻 226
2. 論文標題 The quite low cross-reactivity of Kawatsu's anti-tetrodotoxin monoclonal antibody to 5,6,11-trideoxytetrodotoxin, 11-nortetrodotoxin-6(S)-ol, and 11-oxotetrodotoxin, the major tetrodotoxin analogues in pufferfish	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Toxicon	6. 最初と最後の頁 107081 ~ 107081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.toxicon.2023.107081	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 Hakamada Mayu, Tokairin Chihiro, Ishizuka Hayate, Adachi Kanna, Osawa Toma, Aonuma Shiori, Hirozumi Ryosuke, Tsuchiya Shigeki, Cho Yuko, Kudo Yuta, Konoki Keiichi, Oshima Yasukatsu, Nagasawa Kazuo, Yotsu Yamashita Mari	4. 巻 30
2. 論文標題 Synthesis and Identification of decarbamoyloxySaxitoxins in Toxic Microalgae and their Reactions with the Oxygenase, SxtT, Reveal Saxitoxin Biosynthesis	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Chemistry - A European Journal	6. 最初と最後の頁 e202304238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.202304238	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 Osamu Chiba, Noriko Shimada, Shutaro Yoshio, Yuta Kudo, Yuko Cho, Mari Yotsu-Yamashita, Keiichi Konoki	4. 巻 35
2. 論文標題 State-Dependent Inhibition of Voltage-Gated Sodium Channels in Neuroblastoma Neuro-2A Cells by Arachidonic Acid from <i>Halichondria okadai</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Research in Toxicology	6. 最初と最後の頁 1950 ~ 1961
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.chemrestox.2c00062	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45件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 13件)

1. 発表者名 Yuta Kudo, Keiichi Konoki, Mari Yotsu-Yamashita
2. 発表標題 Discovery of new analogues of antimalarial phosphotriester salinipostin using LCMSMS and their inhibitory activity toward monoacyl-glycerol lipase
3. 学会等名 ACS spring 2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Yuta Kudo, Charles T. Hanifin, Keiichi Konoki, Mari Yotsu-Yamashita
2. 発表標題 MS-guided discovery of novel tricyclic guanidino compounds from tetrodotoxin-bearing newts and new analogues of antimalarial phosphotriester salinipostin from actinobacteria
3. 学会等名 31st International Symposium on the Chemistry of Natural Products and 11th International Congress on Biodiversity (ISCNP31 & ICOB11) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuta Kudo, Charles T. Hanifin, Keiichi Konoki, Mari Yotsu-Yamashita
2. 発表標題 Structures of new tricyclic guanidino compounds from toxic newt and phosphotriesters from bacteria
3. 学会等名 International Symposium for the 80th Anniversary of the Tohoku Branch of the Chemical Society of Japan (2023 Joint Meeting of the Tohoku Area Chemistry Societies) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 工藤 雄大
2. 発表標題 新規化合物の探索を軸とする二次代謝産物の生合成研究
3. 学会等名 2022年度 日本農芸化学会東北支部シンポジウム 東北支部奨励賞 奨励賞受賞講演（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 工藤 雄大, 此木 敬一, 山下 まり
2. 発表標題 シグナル分子A-factorに類似する γ -ブチロラクトン化合物の化学-酵素合成と放線菌からの迅速同定
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 工藤 雄大, 此木 敬一, 山下 まり
2. 発表標題 MSを用いた新規リン酸トリエステル化合物と γ -ブチロラクトン化合物の探索、および構造解析と活性評価
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 工藤 雄大, 此木 敬一, 山下 まり
2. 発表標題 LC-MSを用いた放線菌由来新規シグナル分子とリン酸トリエステル化合物の探索
3. 学会等名 日本生薬学会第68回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 工藤 雄大,此木 敬一, 山下 まり
2. 発表標題 放線菌シグナル分子の探索
3. 学会等名 令和4年度 日本農芸化学会 北海道・東北支部 合同支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 工藤雄大,Charles T. Hanifin,長 由扶子,此木敬一, 山下まり
2. 発表標題 有毒イモリに含まれるテトロドトキシン関連化合物の探索に基づく生合成経路の推定
3. 学会等名 第68回トキシシンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mari Yotsu-Yamashita,Yuta Kudo,Shigeki Tsuchiya,Satoshi Numano,Yuko Cho,Keiichi Konoki,Yasukatsu Oshima,Kazuo Nagasawa
2. 発表標題 Chemical studies on biosynthetic and metabolic pathways of marine toxins
3. 学会等名 20th International Conference on Harmful Algae (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Mari Yotsu-Yamashita,Yuta Kudo,Shigeki Tsuchiya,Satoshi Numano,Yuko Cho,Keiichi Konoki,Kazuo Nagasawa
2. 発表標題 Prediction of biosynthetic pathways of major marine toxins based on their structural diversity
3. 学会等名 Tohoku University OIST 3rd Joint Workshop on Biodiversity (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山下まり, 沼野 聡, 長岡佑真, 工藤雄大, 長 由扶子, 此木敬一
2. 発表標題 ホタテガイの麻痺性貝毒代謝機構とフグのサキシトキシン、テトロドトキシン結合蛋白質
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会 シンポジウム:アグロケミカルバイオロジー: レジリエンスの化学と生物 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 山下まり, 青沼菜里, 工藤雄大, 袴田真有, 廣住燎亮, 長 由扶子, 此木敬一, 石塚颯, 長澤和夫
2. 発表標題 藍藻 <i>Dolichospermum circinale</i> 由来のサキシトキシン生合成酵素SxtTの大腸菌での発現と反応
3. 学会等名 令和6年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 青沼 菜里, 工藤 雄大, 長 由扶子, 此木 敬一, 山下 まり
2. 発表標題 オキナワフグ(<i>Chelonodon patoca</i>)由来の新規テトロドトキシン類縁体の単離、構造決定(2)
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 松井 蘭丸, 八巻 慶汰, 工藤 雄大, 長 由扶子, 此木 敬一, 山下 まり
2. 発表標題 日本産二枚貝のテトロドトキシンの定量と類縁体の同定
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 廣住 燎亮,長 由扶子,工藤 雄大,此木 敬一,長澤 和夫,山下 まり
2. 発表標題 麻痺性貝毒サキシトキシンの推定生合成中間体の合成研究(2)
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 芦田 康洋,Clyde Puiilingi,前野 優香理,工藤 雄大,長 由扶子,此木 敬一,小瀧 裕一,山下 まり
2. 発表標題 パプアニューギニア産珪藻 <i>Nitzschia navis-varingica</i> のカイノイド生産酵素の同定
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 山田 基生,望月 政希,前野 優香理,小瀧 裕一,寺田 竜太,工藤 雄大,長 由扶子,此木 敬一,山下 まり
2. 発表標題 異種発現カイノイド合成酵素を用いた新規カイニン酸類縁体の調製
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 青木 玲翔,岩崎 浩太郎,佐々木 理,川島 悠岐,工藤 雄大,長 由扶子,此木 敬一,佐々木 誠,山下 まり
2. 発表標題 致死性海藻中毒原因物質ポリカバノシド類の新規類縁体の推定構造
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 此木敬一, 中山 健, 大岩弘隆, 駒崎有紀, 工藤雄大, 長 由扶子, 山下まり
2. 発表標題 海洋生物毒マイトキシンの作用機序解明に向けたケミカルプローブ合成
3. 学会等名 日本農芸化学会東北支部第158回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田端澗樹, 工藤雄大, 長 由扶子, 山下まり, 此木敬一
2. 発表標題 オカダ酸結合タンパク質OABP2.1を用いる簡易下痢性貝毒定量法の開発
3. 学会等名 日本農芸化学会東北支部第158回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 廣住燎亮, 長 由扶子, 工藤雄大, 此木敬一, 長澤和夫, 山下まり
2. 発表標題 麻痺性貝毒サキシトキシンの推定生合成中間体の合成および生合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会東北支部第158回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 沼野 聡, 渡邊龍一, 内田 肇, 小澤真由, 松嶋良次, 工藤雄大, 山下まり, 鈴木敏之
2. 発表標題 二枚貝が含有する麻痺性貝毒の代謝物に関する研究.
3. 学会等名 第119 回日本食品衛生学会 学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山下まり, 袴田真有, 石塚颯, 安達菜菜, 大澤瞳生, 長由扶子, 工藤雄大, 此木敬一, 大島泰克, 長澤和夫
2. 発表標題 デオキシ-デカルバモイロキシサキトキシンの有毒藍藻からの同定
3. 学会等名 令和5年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 沼野 聡, 渡邊龍一, 内田 肇, 小澤真由, 松嶋良次, 工藤雄大, 山下まり, 鈴木敏之
2. 発表標題 ホタテガイ (<i>Patinopecten yessoensis</i>) における麻痺性貝毒代謝物の蓄積.
3. 学会等名 令和5年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryosuke Hirozumi, Yuko Cho, Yuta Kudo, Keiichi Konoki, Kazuo Nagasawa, Mari Yotsu-Yamashita
2. 発表標題 Synthetic study of a putative biosynthetic intermediate of the paralytic shellfish toxin saxitoxin
3. 学会等名 International Symposium in Okinawa, 2023, on Ciguatera and Related Marine Biotoxins (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Mari Yotsu-Yamashita, Mayu Hakamada, Chihiro Tokairin, Hayate Ishizuka, Kanna Adachi, Toma Osawa, Ryosuke Hirozumi, Yuko Cho, Yuta Kudo, Keiichi Konoki, Yasukatsu Oshima, Kazuo Nagasawa
2. 発表標題 Synthesis and identification of decarbamoyloxysaxitoxins in the toxic microalgae for elucidation of saxitoxin biosynthesis
3. 学会等名 International Symposium in Okinawa, 2023, on Ciguatera and Related Marine Biotoxins (国際学会)
4. 発表年 2023年

1 . 発表者名 Ryosuke Hirozumi ,Yuko Cho ,Yuta Kudo ,Keiichi Konoki ,Kazuo Nagasawa ,Mari Yotsu-Yamashita
2 . 発表標題 Synthetic study of a putative biosynthetic intermediate of the paralytic shellfish toxin saxitoxin
3 . 学会等名 International Symposium for the 80th Anniversary of the Tohoku Branch of the Chemical Society of Japan (2023 Joint Meeting of the Tohoku Area Chemistry Societies) (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 Takumi Kobayashi ,Shutaro Yoshio ,Osamu Chiba ,Ayato Nureki ,Yuka Takayanagi ,Hayate Ishizuka ,Yuta Kudo ,Yuko Cho ,Mari Yotsu-Yamashita ,Kazuo Nagasawa ,Keiichi Konoki
2 . 発表標題 Evaluation of inhibitory activities of synthetic saxitoxin derivatives to voltage-gated sodium channels
3 . 学会等名 Tohoku University GP-Chem Chemistry Summer School 2023 (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 Mayu Hakamada ,Chihiro Tokairin ,Hayate Ishizuka ,Kanna Adachi ,Toma Osawa ,Ryosuke Hirozumi ,Yuko Cho ,Yuta Kudo ,Keiichi Konoki ,Yasukatsu Oshima ,Kazuo Nagasawa ,Mari Yotsu-Yamashita
2 . 発表標題 Synthesis and identification of decarbamoyloxysaxitoxins in the toxic microalgae for elucidation of saxitoxin biosynthesis
3 . 学会等名 Tohoku University GP-Chem Chemistry Summer School 2023 (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 Ryosuke Hirozumi ,Yuko Cho ,Yuta Kudo ,Keiichi Konoki ,Kazuo Nagasawa ,Mari Yotsu-Yamashita
2 . 発表標題 Synthetic study of a putative biosynthetic intermediate of the paralytic shellfish toxin, saxitoxin
3 . 学会等名 Tohoku University GP-Chem Chemistry Summer School 2023 (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1. 発表者名 袴田真有, 東海林千容, 石塚颯, 安達菜菜, 大澤瞳生, 廣住燎亮, 長 由扶子, 工藤雄大, 此木敬一, 大島泰克, 長澤和夫, 山下まり
2. 発表標題 12, 13-デオキシデカルバモイルサキシトキシン類の合成と 有毒生物中からの同定および生合成経路の推定
3. 学会等名 第34回万有仙台シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山下まり, 土肥裕花, 岩崎浩太郎, 佐々木理, 川島悠岐, 島田紀子, 工藤雄大, 長 由扶子, 此木敬一, 佐々木誠
2. 発表標題 致死性海藻中毒原因物質ポリカバノシド類の作用機序
3. 学会等名 令和5年度 日本水産学会 春季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小林 巧, 吉尾 柊太郎, 千葉 修, 濡木 絢斗, 高柳 優夏, 石塚 颯, 工藤 雄大, 長 由扶子, 山下 まり, 長澤 和夫, 此木 敬一
2. 発表標題 電位依存性ナトリウムチャンネルに対するサキシトキシン合成誘導体の感受性評価
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度広島大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉尾 柊太郎, 千葉 修, 島田 紀子, 工藤 雄大, 長 由扶子, 山下 まり, 此木 敬一
2. 発表標題 多価不飽和脂肪酸による電位依存性ナトリウムチャンネルの阻害機構
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度広島大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 廣住 燎亮,長 由扶子,工藤 雄大,此木 敬一,長澤 和夫,山下 まり
2. 発表標題 麻痺性貝毒サキシトキシンの推定生成中間体の合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度広島大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 青沼 菜里,工藤 雄大,長 由扶子,此木 敬一,山下 まり
2. 発表標題 オキナワフグ <i>Chelonodon patoca</i> 由来の新規テトロドトキシン類縁体の単離、構造決定
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度広島大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 芦田 康洋,Puilingi Clyde,山田 基生,前野 優香理,工藤 雄大,長 由扶子,此木 敬一,小瀧 裕一,山下 まり
2. 発表標題 パプアニューギニア産珪藻 <i>Nitzschia navis-varingica</i> のドウモイ酸生成中間体の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度広島大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 袴田 真有,石塚 颯,安達 菜菜,大澤 瞳生,東海林 千容,長 由扶子,工藤 雄大,此木 敬一,大島 泰克,長澤 和夫,山下 まり
2. 発表標題 サキシトキシンの推定生成中間体の合成と有毒藍藻および渦鞭毛藻における同定
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度広島大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Motomi Yamada, Yukari Maeno, Yuichi Kotaki, Ryuta Terada, Masafumi Hidaka, Yuta Kudo, Yuko Cho, Keiichi Konoki, Mari Yotsu-Yamashita
2. 発表標題 Preparation of domoic acid and kainic acid analogues using the cyclases, and evaluation of their toxicities
3. 学会等名 Tohoku University OIST 3rd Joint Workshop on Biodiversity (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shutaro Yoshio, Osamu Chiba, Noriko Shimada, Yuta Kudo, Yuko Cho, Mari Yotsu, Yamashita, Keiichi Konoki
2. 発表標題 Screening for Nav inhibitors from the marine sponge Halichondria okadai and characterization of fatty acid modulation of Nav
3. 学会等名 Tohoku University OIST 3rd Joint Workshop on Biodiversity (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林 巧, 鳥海優人, 工藤雄大, 長 由扶子, 山下まり, 此木敬一
2. 発表標題 電位依存性ナトリウムチャンネルを阻害する核酸アプタマーの探索
3. 学会等名 令和4年度 日本農芸化学会 北海道・東北支部 合同支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 廣住燎亮, 長 由扶子, 工藤雄大, 此木敬一, 長澤和夫, 山下まり
2. 発表標題 麻痺性貝毒サキシトキシンの二環性推定生合成中間体の合成研究
3. 学会等名 令和4年度 日本農芸化学会 北海道・東北支部 合同支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山田基生, 前野優香理, 小瀧裕一, 寺田竜太, 日高將文, 工藤雄大, 長由扶子, 此木敬一, 山下まり
2. 発表標題 環化酵素を利用したドウモイ酸とカイニン酸類縁体の調製と毒性評価
3. 学会等名 第64回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 赤松みちる, 廣住燎亮, 長 由扶子, 工藤雄大, 此木敬一, 大島泰克, 山下まり
2. 発表標題 2種の12 -デオキシサキトキシン類縁体の 有毒藍藻および渦鞭毛藻からの同定
3. 学会等名 第33回万有仙台シンポジウム
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Charles T. Hanifin, Yuta Kudo, Mari Yotsu-Yamashita	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 30
3. 書名 Progress in the Chemistry of Organic Natural Products 118: Chemical Ecology of the North American Newt Genera Taricha and Notophthalmus	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>工藤雄大助教らの論文が日本農芸化学会2022年「BBB論文賞」を受賞 https://www.fris.tohoku.ac.jp/feature/topics/detail---id-1261.html 工藤雄大助教「日本農芸化学会 東北支部 奨励賞」と「第68回毒素シンポジウム奨励賞」を受賞 https://www.fris.tohoku.ac.jp/feature/topics/detail---id-1203.html 東北大学大学院農学研究科 天然物生命化学分野HP https://www.agri.tohoku.ac.jp/bukka/index-j.html</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
研究協力者	山下 まり (Yotsu-Yamashita Mari) (50192430)	東北大学・大学院農学研究科・教授 (11301)	

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	ユタ州立大学	カリフォルニア大学サンディエゴ校		
ドイツ	フランクフルト大学			