

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：32607

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：16H06447

研究課題名（和文）モデル宿主を用いた有用物質生成過程の包括的な解析

研究課題名（英文）Comprehensive metabolic analysis of a model host for secondary metabolite production

研究代表者

池田 治生（Ikeda, Haruo）

北里大学・感染制御科学府・特任教授

研究者番号：90159632

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 57,700,000円

研究成果の概要（和文）：放線菌における2次代謝産物の生成過程や前駆体の供給に関わる代謝などの解析のため多種の欠失株を評価が必要である。そのため新たな遺伝子欠失を取得方法を開発した。I型ポリケチド合成酵素や非リボソーム型ペプチド合成酵素の翻訳後修飾に関して主に放線菌における包括的な解析を行い、比較的広範囲にこれらの合成酵素を修飾できるものを見出すことができた。一方、物質生産における前駆体供給の主代謝経路に関してはクロラムフェニコールの生産が解糖系よりもペントースリン酸経路の代謝を向上させることによって生成量を改善させることができた。一方、生成遺伝子群に配置する制御遺伝子が他の遺伝子群を制御するという新しい知見も得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放線菌における遺伝子改変に関する最適な方法は現在まで確立はされていなかった。本研究では多数の欠失変異株の取得などの迅速かつ簡便な、そしてStreptomyces属の多くの菌種にも適用できる方法を開発できたことは大いに意義のあることである。また、これまでI型ポリケチド合成酵素や非リボソーム型ペプチド合成酵素の翻訳後修飾に関しての特異性などの解析はこれらの酵素の扱いができなかったため全く不明であった。この問題点は我々の異種発現系を利用することで物質生産という形質で評価することのできる画期的な方法を開発することができた。そして多くの上記合成酵素を修飾可能な酵素を見出すことができたことは有用である。

研究成果の概要（英文）：Several deletion mutants are required for evaluation of oricess in the biosynthesis of secondary metabolites and analysis of metabolism involved in supply of precursors in streptomycetes. We have developed an excelent methods for construction of deletion mutants in Streptomyces. A comprehensive analysis of post-translational modification of modular polyketide synthases and non-ribosomal peptide synthetases could be perormed using our genome-minimized versatile host strain. On the other hand, we studied the metabolic analysis of the primary metabolism during secondary metabolite production. The production of chloramphenicol could be improved by increased flux of pentose-phosphate pathway. It also gave a new finding that the regulatory gene in the biosynthetic gene cluster can control the expression of the different biosynthetic genes.

研究分野：微生物分子遺伝学

キーワード：応用微生物 ゲノム 抗生物質 発現制御 バイオテクノロジー

1. 研究開始当初の背景

微生物 2 次代謝産物は抗生物質を含む生物活性物質など天然医薬品として有用な天然有機化合物である。特に土壌に生息する放線菌は多様な 2 次代謝産物を生成するだけでなく、それらを工業的なレベルで生産させることのできる代謝能を有している。これまで 2 次代謝産物の生成過程における生合成および制御に関しては個々の生産菌での解析に留まっていた。また、ゲノム解析からおよそ 70%以上の 2 次代謝産物の生合成遺伝子(群)は休眠状態であることが明らかとなった。個々の 2 次代謝産物の生成過程の代謝の比較解析や休眠状態の生合成遺伝子群の解析のため、我々は工業生産に利用された放線菌から異種遺伝子(群)の発現のためのモデル宿主を構築してきた。さらにこのモデル宿主では多くの異種生合成遺伝子群が効率よく発現することや休眠状態の生合成遺伝子(群)を覚醒させ、物質生産を達成できることを明らかにしてきた。このようなモデル宿主は前駆体が全く異なる 2 次代謝産物の生成過程の比較解析に最も有効であり、物質生産を工業的なレベルで達成できる機構を探ることも期待できる。前駆体の全く異なる複数の 2 次代謝産物生合成遺伝子群を設定し、生合成遺伝子群の発現解析と同時にそれぞれの前駆体を生成する 1 次代謝の解析を行う。また、代謝フラックスを意図的に変化させることによる物質生産への効果を検討するべくモデル宿主の代謝改変さらには本来モデル宿主には持ち合わせていない代謝系の導入を検討する。一方、モデル宿主における異種遺伝子群発現を効果的に展開するための基礎的な解析も検討する。例えば、複数の生合成遺伝子群の統合による新たな生合成経路のデザインや真核細胞生物由来の生合成遺伝子情報からそれらの遺伝子のコドン使用頻度による改変や人工オペロンの形成といった合成生物学的な展開をモデル宿主で行う。これら一連の研究は、種を越えた 2 次代謝産物のより高度な活用への進展が期待できる。

2. 研究の目的

微生物 2 次代謝産物は抗生物質を含む生物活性物質など天然医薬品として有用な化合物である。特に放線菌は多様な 2 次代謝産物を生成するだけでなく、それを工業的なレベルで生産させることのできる代謝能を有している。これまで 2 次代謝産物の生成過程における生合成および制御に関しては個々の生産菌での解析に留まっていた。また、ゲノム解析からおよそ 70%以上の 2 次代謝産物生合成遺伝子(群)は休眠状態であることが明らかとなっている。個々の 2 次代謝産物の生成過程の代謝の比較解析や休眠状態の遺伝子群の解析のため、我々はこれまで工業生産に利用された放線菌から異種遺伝子群の発現のためのモデル宿主を構築してきた。さらにこのモデル宿主では多くの異種生合成遺伝子群が効率良く発現することや休眠状態の遺伝子群を覚醒させ、物質生産を達成できることを明らかにしてきた。このようなモデル宿主は前駆体が全く異なる 2 次代謝産物の生成過程の比較解析に最も有効であり、物質生産を工業的なレベルで達成できる機構を探ることも期待できる。前駆体の全く異なる複数の 2 次代謝産物生合成遺伝子群を設定し、生合成遺伝子群の発現解析と同時にそれぞれの前駆体を生成する重要な 1 次代謝の解析を行う。一方、異種発現に適した発現系を利用してこれまで解析が実現できなかった I 型ポリケチド合成酵素や非リボソーム型ペプチド合成酵素の翻訳後修飾の詳細を明らかにするとともに非天然型代謝産物生成に関する基礎的な方法論を検討する。

3. 研究の方法

Streptomyces 属における遺伝子破壊を含む、分子遺伝学的基本技術は未だ確立されてはいない。また、原核細胞生物であるゆえに、いくつかの遺伝子はオペロンを形成している。したがって、オペロンの最後の遺伝子の欠失は耐性遺伝子で交換した挿入欠失変異で行うことは問題がないが、オペロンの最初あるいは中間の遺伝子の欠失変異は codon frame をずらさないような in-frame の欠失変異を行わなければならない。我々は *Streptomyces avermitilis* の汎用宿主を作製する過程で、大腸菌の Cre/*loxP* 用いた部位特異的組み換え機構を用いて最終的に耐性遺伝子を除去した大規模欠失株の作製を開発してきた。そこでこの技術を応用して耐性遺伝子の両端に変異型 *loxP* を挟み込んだ断片を用いて欠失したい領域の上流と下流、それぞれ 1.5 kbp の断片を *loxP* に挟まれた耐性遺伝子と連結し、さらに *Streptomyces* 属での複製が温度感受性のような条件下での複製が可能な vector と連結後、*S. avermitilis* 大規模欠失株 (SUKA 株) に導入した。得られた形質転換株で相同的組換えを生じさせ、目的遺伝子と耐性遺伝子と交換した挿入欠失体を効率に得た。さらにこの挿入欠失株に大腸菌の *cre* 遺伝子を *Streptomyces* の *xyIA* のプロモーターで制御できる断片を含んだ plasmid を導入後、xylose を添加して *cre* の発現を誘導させ、*loxP* で挟まれた耐性遺伝子を部位特異的な組換えによって除去した。なお *loxP* に挟まれた周辺を PCR primer の配列に使用するが、欠失したい遺伝子領域の上流及び下流の配列と *loxP* 配列との連結部分は codon frame がずれないように設計することによって in-frame 欠失が達成できる。これら一連の欠失方法は *S. avermitilis* のみならず、*S. lividans*, *S. ambofaciens*, *S. albus* および *S. parvulus* などの他の菌種でも同様に行うことが可能であった。上記の方法によって解糖系、ペントースリン酸経路、TCA 回路の遺伝子の欠失を行なった。また、翻訳後修飾の解析に使用した、*pptA*(ホスホパンテテイン転移酵素遺伝子)の欠失株の作製では相同組換えによる挿入欠失と Cre による耐性遺伝子除去の過程を複数回繰り返すことによ

って1重, 2重, 3重, および4重の in-frame 欠失株を作製した。一方、生合成遺伝子群の再構成を含む複雑な改変については単に PCR 産物を利用する方法では達成できない。そこで大腸菌内で生合成遺伝子群を含んだ cosmid あるいは BAC クローンを RED を利用した改変技術を用いて行なった。

2 次代謝産物生合成遺伝子群の中には構造や生物活性が多様な非リボソーム型ペプチド合成酵素によって生成されるペプチド化合物の生合成遺伝子群のように 40 kbp 以上のものやラクトン型ポリケチド化合物のように 60 kbp 以上の極めて大きな断片からなるものが多い。これらの生合成遺伝子群を用いて解析を行うには、これらの巨大な遺伝子群を効率よくかつ欠失の無いような導入方法が必須である。野生株の *S. avermitilis* には線状 plasmid SAP1 を保有しており、継代培養など種々の条件でも脱落が殆どないこと、また極めて効率よく接合伝達する能力を有していることが明らかとなっている。したがって、SAP1 のこれらの機能を十分に活用した vector は異種生合成遺伝子群の移動及び発現に有用であると判断し、vector として利用を行な得るような改変を行った。SAP1 は *S. lividans*, *S. ambofaciens*, *S. coelicolor* A3(2) および *S. parvulus* に接合伝達させることが可能であり、特に *S. lividans* は異種生合成遺伝子群の発現には問題があるが、大腸菌で調製した巨大 DNA を効率よく導入することができること、また導入株は *S. avermitilis* SUKA 株との接合によって欠失なく SUKA 株に伝達させることが可能である。また、*S. avermitilis* SUKA 株はそれぞれ異なる耐性遺伝子を導入した 2 種の系統を作製してある。したがって、これらの間でも非常に効率よく異種 2 次代謝産物生合成遺伝子群を含む SAP1 vector を接合伝達させることが可能である。この方法を用いて受容菌(SAP1 vector に異種 2 次代謝産物生合成遺伝子群を含む)から主代謝経路欠失株や *pptA* 多重欠失株へ効率よく異種 2 次代謝産物生合成遺伝子群を含む SAP1 vector を移動させることが可能である。

各種の 2 次代謝産物生合成遺伝子群を導入した異種発現株での生産物の確認は、それぞれの化合物が蓄積する画分を分別し、直接あるいは有機溶媒抽出を行なった後、HPLC-MS で解析した。チオストレプトンおよびネマデクチンは菌体を分離した後、有機溶媒で抽出した画分を分析した。アクチノマイシン、セファマイシン C、クロラムフェニコール、インジゴイジン、ラクタシスチン、ピクロマイシン、タイロシン、ロイコマイシン及びスピラマシンは培養上清を濾過あるいは溶媒抽出したものを分析した。なおストレプトマイシンは培養液を用いたペーパーディスク法によって検出および定量した。

代謝フラックス解析には[1-¹³C]-グルコースを含んだ生産培地で培養し、経時的に菌体を集め洗浄後、菌体を塩酸で加水分解した。加水分解物を陽イオン交換樹脂に吸着させ、アミノ酸画分をアンモニア水で溶出した。溶出したアミノ酸画分を凍結乾燥させた後、1%の tert-butyl dimethylchlorosilane を含む N(tert-butyl dimethylsilyl)-N-methyl-trifluoroacetamide と 105 °C で反応させ silyl 誘導体に導いた。得られた誘導体は DB-5MS+DG カラムを用いて GC-MS で解析した。アミノ酸のうちアラニン进行分析し、その fragmentation peak からアラニンのどの炭素に ¹³C が取り込まれているか、またそれらの積分値から取り込み率を計算した。これらの結果からグルコースが解糖系およびペントースリン酸経路で代謝されているかを算出した。

4. 研究成果

これまで我々は *Streptomyces* 属での効率良い異種遺伝子(群)の発現系の構築を目指して、抗寄生虫抗生物質エパーメクチンの工業生産株である *S. avermitilis* を用い、そのゲノムの再構成を施した汎用宿主(*S. avermitilis* SUKA 株)の構築を行ってきた。今回の研究計画に関しては、多数の欠失変異体を取得して、2 次代謝産物の生成など、さらには前駆体の生成に関わる代謝など解析するため、迅速かつ簡便に *Streptomyces* 属で欠失株を取得する方法を開発した。*Streptomyces* 属は原核細胞生物の中でもゲノムサイズが大きく、パラログ遺伝子が多いことが特徴である。本研究計画では、ポリケチドやペプチド合成酵素に特有な翻訳後修飾の詳細な解析、前駆体生成に最も重要な主代謝系の欠失株、さらには 100 kbp にもおよぶ I 型ポリケチド合成酵素を含むマクロライド化合物の生合成遺伝子群の編集を行うため、*Streptomyces* ゲノムのこれまでにない遺伝子編集方法を構築することを行なった。一般に 1 遺伝子欠失は目的遺伝子の upstream と downstream の領域の断片に耐性遺伝子を挟み込み、複製がある条件下で行われる(温度感受性複製)vector に連結し、遺伝子欠失させたい菌株に導入後、相同的組換えによって目的遺伝子が耐性遺伝子に置き換わった挿入欠失変異株を得る。さらに in-frame 欠失体を得るには再度の相同的組換えによって耐性遺伝子を除去する。これまで欠失させる遺伝子の upstream 及び downstream、さらに耐性遺伝子と vector を PCR で増幅し、さらにそれぞれの断片を制限酵素で切断し、4 断片連結する方法を行ってきた。この方法をさらに簡便かつ制限酵素サイトの制約無しに効率よく行う方法を開発した。目的遺伝子の upstream 及び downstream の領域約 1.5 kbp を増幅する primer の 5' 側には連結する隣接断片の 20 bp が重複するような配列を連結しておき、それぞれ得られた増幅断片を T5 exonuclease/Taq DNA ligase/Phusion polymerase を用いた Gibsons' s assemble の方法によって短時間に効率よく 4 断片を連結することができた。なお、upstream と downstream を挟み込む耐性遺伝子は両端に変異型 *loxP* 配列を含むものを使用し、primer 配列の *loxP* 配列の upstream は後の部位特異的組換え酵素 Cre によって切り出された後、codon frame がずれないように配列を使用することによって in-frame 欠失体を得ることが可能となった。なお、*Streptomyces* での Cre/*loxP* の発現系は既に *S. avermitilis* の大規模欠失株の作製の研究で確立されており、この研究で作製

された *cre* 発現 vector を利用した。以上の方法の開発によって *Streptomyces* での遺伝子欠失は安定かつ比較的短時間に作製することが可能となった。一連の欠失株取得の過程では相同的組換えのために導入した上流、耐性遺伝子、下流領域を含む温度感受性複製 plasmid を高温培養によって除去する操作を行うが、除去率は完全ではないため、それぞれのクローンの plasmid の耐性マーカーに感受性のクローンを選択する必要がある。1 遺伝子欠失ではそれほど問題とならないが、多重欠失変異を取得する場合には操作が煩雑となる。一方、トランスポゾン転移の研究の過程で *Streptomyces* で利用可能な自殺遺伝子の開発を検討する過程でフェニルアラニン tRNA 合成酵素のサブユニットの変異遺伝子がこの目的に利用できることを見出している。*S. viridochromogenes* の PheS の T278A/A339G の 2 重変異は *p*-chlorophenylalanine (あるいは *p*-methylphenylalanine) に感受性となるため、相同組換えを行った後、上流及び下流断片に挟まれた耐性マーカーの抗生物質と *p*-chlorophenylalanine で選択することによって、挿入・欠失変異を生じ、かつ遺伝子欠失断片を含む組換え plasmid が脱落したクローンのみが得られることが可能となった。このような自殺遺伝子を利用することによって翻訳後修飾に關与する遺伝子 *pptA* の 1 から 4 重欠失株を短期間で得ることが可能となった。なお、この方法は一般的な欠失株を取得する場合においても非常に短期間で得ることができる。

抗寄生虫薬エバームクチンや抗菌マクロライドなどの I 型ポリケチド合成酵素(PKS)によって生合成されるラクトン型ポリケチド化合物や、かつて抗腫瘍薬として利用されたアクチノマイシン D などの非リボソーム型ペプチド合成酵素(NRPS)によって生合成されるペプチド化合物のこれらの多機能合成酵素は活性中心の carrier protein 部分の翻訳後修飾(apo 体から holo 体への変換)によってはじめて触媒活性を示すことができる。この翻訳後修飾(holo 化)はホスホパンテテイン転移酵素(PptA)によって達成される。いくつかの 2 次代謝生合成遺伝子群にも見出されることもあるが、一般的には生合成遺伝子群から離れたゲノム上に配置している。また、この遺伝子のパラログも多く存在し、I 型 PKS および NRPS を含む生合成遺伝子群の異種発現においてはこの翻訳後修飾酵素の性質及びその遺伝子発現は極めて重要である。そこで本研究では我々がこれまで構築してきた *S. avermitilis* ゲノム縮小株での異種発現系で PptA の包括的な解析を行った。上記のラクトン型ポリケチド化合物やペプチド化合物の生合成遺伝子群は 60 kbp 以上の大きさのものが多く、検討したほとんどの生合成遺伝子群は BAC vector でクローン化したものを利用した。また、各種の多重変異株での評価を行わなければならないため、*S. avermitilis* の野生株が保有する伝達性線状 plasmid を vector として利用する簡便な方法を開発し、その遺伝子群接合伝達系を用いて評価した。*S. avermitilis* には 4 つの PptA を保有しており、それらのうちの 2 つの遺伝子産物(SAV_1748 および SAV_2905)が多くの I 型 PKS および NRPS の翻訳後修飾を行っていることを明らかにした。また SAV_1748 は検討したすべての I 型 PKS(エバームクチン、ネマデクチン、ピクロマイシン、ラクタシスチン)や NRPS(アクチノマイシン、セファマイシン C、クロラムフェニコール、インジゴイジン)を holo 化することができた。したがって、*S. avermitilis* SUKA 株の異種発現系で多くのポリケチドやペプチド化合物の生産が良好な要因の一つと考えられる。なお、*Streptomyces* で扱い易い菌株である *S. lividans* や *S. albus* では PptA の活性は *S. avermitilis* の PptA と比べて低く、これらの菌株でのポリケチド化合物やペプチド化合物の生産量の低さはこの翻訳後修飾によることが一つの要因と考えられる。

これまで異種遺伝子発現用に開発してきた *S. avermitilis* の汎用宿主(SUKA 株)は多くの異種 2 次代謝産物生合成遺伝子群の発現ならびにそれらの生産が効率的に行われることを確認してきた。効率良い物質生産は生合成遺伝子群の発現のみならず、前駆体として利用される 1 次代謝産物の供給との同調が極めて重要であることから、本汎用宿主の代謝フラックス解析の検討を行なった。また、前駆体の主代謝経路として解糖系、ペントースリン酸系、および TCA 回路までの代謝系の必須遺伝子ではない遺伝子破壊株の網羅的な取得を試みた。*Streptomyces* 属は原核細胞生物であることから遺伝子の構成がオペロンを形成しているものが多い。実際に解糖系、ペントースリン酸系および TCA 回路のいくつかの酵素遺伝子はオペロンを形成しており、それぞれの遺伝子破壊は単純な耐性遺伝子を用いた挿入欠失では評価することができないため、in-frame の欠失体を取得した。また、これらの経路の酵素遺伝子の多くはパラログ遺伝子が存在することから、single 欠失体では評価できないことが予想されるため、生育に影響を及ぼさない限り、パラログ遺伝子も同時に欠失させた。主経路欠失株のうち、ペントースリン酸経路のいくつかの欠失株で 2 次代謝産物の生成の変化が確認されたが最も変化が認められたのはグルコース 6 リン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子(*zwf*)の欠損(*zwf1* 及び *zwf2* の 2 重欠失株)がストレプトマイシンの生成を若干上昇させた。また、トランスケトラーゼ遺伝子(*tkt1/ tkt2*)の欠損はペントースリン酸経路から生成されるエリトロース-4-リン酸からシキミ酸経路を経て生合成される 2 次代謝産物、クロラムフェニコールとアクチノマイシン D の生成を有意に低下させた。一方、解糖系の経路のうちの 6-ホスホフルクトースキナーゼ遺伝子(*pfkA*)は 3 つ存在するが、全てを欠失させることは致命的だったために 3 種の 2 重欠失株で評価した。これらの遺伝子のうちで *pfkA1* と *pfkA3* の 2 重欠失株ではクロラムフェニコールの生成が有意に上昇していた。*pfkA1* *pfkA3* 二重破壊株の生育は元株と比べ低下していることが観察された。*pfkA1* と *pfkA3* 欠失株を詳細に解析した結果、増殖速度が低下しており、さらに定常期における菌体量も減少していた。そこで特異的生産量(菌体量あたりの生産量)を比較したところ、元株に比べおよそ 2 倍量のクロラムフェニコールの生成上昇であることが明らかとなった。このことは *pfk1* *pfk3* 欠失によって解糖系の流れを絞ったことによって一時増殖は沈滞したものの、定常期以降の生産開始時

期においてはペントースリン酸経路が旺盛に流れることによって物質生産が増強されたものと推察された。一方、ペントースリン酸経路のトランスアルドラーゼ遺伝子 (*tal1 tal2*) の欠失は有意にクロラムフェニコールの生成を低下させた。このことは *tkt1 tkt2* 欠失と同様にグルコースからペントースリン酸経路への流れを絞ったことによって前駆体であるエリトロース-4-リン酸が減少したことによるものと考察された。このことを確認するため、*pfkA1 pfkA3* 欠失株及び *tal1 tal2* 欠失株の代謝フラックスを解析した。解糖系酵素遺伝子 *pfkA1 pfkA3* 欠失株では増殖初期からグルコースは解糖系ではなくペントースリン酸経路によって代謝されており、クロラムフェニコールの生産開始以降では、80%以上がペントースリン酸経路によって代謝されていた。一方、ペントースリン酸経路酵素遺伝子 *tal1 tal2* 欠失株ではその反対にグルコースは解糖系によって代謝されていた。*pfkA1 pfkA3* 欠失株で生育が低下した要因としてグルコースのほとんどが解糖系によって代謝できないため、生育に必須な前駆体の供給が滞ってしまったものと考えられる。しかし、クロラムフェニコール生産開始以降はペントースリン酸経路から前駆物質であるエリトロース-4-リン酸が十分に供給されクロラムフェニコールの生成に効率よく利用されたものと推察される。一方、アクチノマイシン D も構成成分にシキミ酸経路から生成されるトリプトファンを利用するが、*pfkA1 pfkA2* 欠失株ではクロラムフェニコールのような生産上昇は観察されず、むしろ低下が観察された。クロラムフェニコールはシキミ酸経路から供給されるフェニルアラニンのみを利用して生合成されるが、アクチノマイシン D はトリプトファン以外に他の経路で生成されるバリン、プロリン、スレオニンおよびグリシンを利用するため、これらのアミノ酸の供給には解糖系による代謝が重要であるためと思われる。なお *Streptomyces* 属には大腸菌など他の細菌で見出されている、Entner-Doudoroff 経路の phosphogluconate dehydrogenase 遺伝子 (*edd*) が欠損しているため、この経路によるグルコースの代謝は存在しない。放線菌の中でエリスロマイシン生産菌 *Saccharopolyspora erythraea* は上記の遺伝子を保有しており、Entner-Doudoroff 経路が存在する。そこで *edd* とオペロンを形成している下流 2-dehydro-3-deoxy-6-phosphogluconate aldolase 遺伝子 (*kdgA*) を *S. avermitilis* で発現できるプロモーターで発現させる株を作成した。*S. avermitilis* SUKA 株で Entner-Doudoroff 経路を付加させることができ、かつ [1-¹³C]-グルコースの取り込みから 5~10%程度グルコースがこの経路で代謝されることを確認したが、2次代謝産物の生成に関しては、変化が無いかあるいは減少傾向であった。

2次代謝産物生合成遺伝子群の多くは生合成遺伝子群の中あるいは隣接して存在する制御遺伝子によって発現が調節されている。I型PKSとNRPSの翻訳後修飾酵素 PptA の包括的な解析を行う研究で巨大な I型PKS 遺伝子を含む生合成遺伝子群の異種発現を効率よく達成させることができた。この技術を用いて、I型PKSによって生成される抗菌マクロライド(タイロシン、ロイコマイシン、スピラマイシン)のそれぞれの生合成遺伝子群の制御遺伝子の発現がそれぞれの生合成遺伝子群の発現に影響があるかを検討した。それぞれのマクロライド生合成遺伝子群を発現させる条件下でさらにそれぞれの生合成遺伝子群に配置している制御遺伝子を *S. avermitilis* でよく発現するプロモーターの支配下で発現させるとそれぞれのマクロライドの生産は 3~10 倍程度上昇することが確認された。したがってこれらの生合成で遺伝子群に配置している制御遺伝子の発現が生産の律速になっていることが確認された。一般に生合成遺伝子群に配置している制御遺伝子は他の 2次代謝産物の生合成遺伝子群の遺伝子発現を制御することは知られていない。実際にこれまで構造が非常に類似な化合物の生合成遺伝子群であっても異なる生合成遺伝子群の制御遺伝子が異なる生合成遺伝子群の個々の遺伝子発現を調節する報告例は無かった。他の研究において 2種の生合成遺伝子群を組み合わせたハイブリッド化合物の創製の過程で興味ある現象を確認した。*S. avermitilis* でのタイロシン生合成遺伝子群の発現はスピラマイシン生合成遺伝子群に配置している *srnS* を導入することによって増強された。そこでそれぞれの生産菌及び上記マクロライド生合成遺伝子群を含む *S. avermitilis* SUKA 株でそれぞれの制御遺伝子の発現による効果を検討した結果、生産菌と異種発現株で同様な結果を得た。*S. fradiae* でのタイロシン生産はスピラマイシン生合成遺伝子群内の *srnS* で増強され、*S. ambofaciens* でのスピラマイシン生産はロイコマイシン生合成遺伝子群内の *lcmR1* で若干の増強が、*S. kitasatoensis* でのロイコマイシン生産はスピラマイシン生合成遺伝子群内の *srnS* あるいはタイロシン生合成遺伝子群内の *tyIR* では増強されなかった。なおこれらの結果は *S. avermitilis* SUKA 株でそれぞれのマクロライド生合成遺伝子群を異種発現させた系でも同様な結果を得た。さらにスピラマイシン生合成遺伝子群の *S. avermitilis* SUKA 株での異種発現における *tyIR* の効果を詳細に調べたところ、スピラマイシンの生産はほとんど変化させなかったが、新たにスピラマイシンよりも質量数が 3 つ多い成分を見出した。これらの成分を単離精製したところ、スピラマイシンの構造の forosamine が mycarose に置き換わった成分であることが判った。以上のような、異なる生合成遺伝子群に配置している制御遺伝子が他の生合成遺伝子群の発現を正に調節することは初めての知見である。また、*S. avermitilis* SUKA 株でのスピラマイシン生合成遺伝子群の発現に *tyIR* 発現によって生成された成分の構造から恐らく *tyIR* はスピラマイシン生合成遺伝子群の中の配糖化及び生合成に関わる遺伝子の発現を増強させているものと思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計46件（うち査読付論文 46件／うち国際共著 5件／うちオープンアクセス 44件）

1. 著者名 Doi, S., Komatsu, M., Ikeda, H.	4. 巻 130
2. 論文標題 Modifications to central carbon metabolism in an engineered <i>Streptomyces</i> host to enhance secondary metabolite production.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Biosci. Bioeng.	6. 最初と最後の頁 563-570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2020.08.006	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 Hashimoto, T., Kozone, I., Hashimoto, J., Suenaga, H., Fujie, M., Satoh, N., Ikeda, H., Shin-Ya, K.	4. 巻 73
2. 論文標題 Identification, cloning and heterologous expression of biosynthetic gene cluster for desertomycin.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Antibiot.	6. 最初と最後の頁 650-654
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41429-020-0319-0	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 Kudo, K., Hashimoto, T., Hashimoto, J., Kozone, I., Kagaya, N., Ueoka, R., Nishimura, T., Komatsu, M., Suenaga, H., Ikeda, H., Shin-Ya, K.	4. 巻 11
2. 論文標題 In vitro Cas9-assisted editing of modular polyketide synthase genes to produce desired natural product derivatives.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nat. Commun.	6. 最初と最後の頁 4022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-17769-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Guzman-Trampe, S.M., Ikeda, H., Vinuesa, P., Macias-Rubalcava, M.L., Rodriguez, B.E., Centeno-Leija, S., Tapia-Cabrera, S.M., Herrera, S.I.M., Ruiz, B., Rodriguez-Sanoja, R., Sanchez, S.	4. 巻 104
2. 論文標題 Production of distinct labdane-type diterpenoids using a novel cryptic labdane-like cluster from <i>Streptomyces thermocarboxydus</i> K155	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Appl. Microbiol. Biotechnol	6. 最初と最後の頁 741-750
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00253-019-10240-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hashimoto, T., Kozone, I., Hashimoto, J., Ueoka, R., Kagaya, N., Fujie, M., Sato, N., Ikeda, H., Shin-ya, K.	4. 巻 73
2. 論文標題 Novel macrolactam compound produced by the heterologous expression of a large cryptic biosynthetic gene cluster of <i>Streptomyces rochei</i> IF012908	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Antibiot.	6. 最初と最後の頁 171-174
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41429-019-0265-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 -

1. 著者名 Demachi, A., Uchida, R., Arima, S., Nagamitsu, T., Hashimoto, J., Komatsu, M., Kozone, I., Shin-ya, K., Tomoda, H., Ikeda, H.	4. 巻 58
2. 論文標題 An unusual extender unit is incorporated into the modular polyketide synthase of scopranones biosynthesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 5066-5073
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.9b00908	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 Ma, B., Wang, Q., Ikeda, H., Zhang, C., Xu, L.	4. 巻 85
2. 論文標題 Hydroxylation of steroids by a microbial substrate-promiscuous P450 cytochrome (CYP105D7): key arginine residues for rational design	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 App. Environ. Microbiol.	6. 最初と最後の頁 e01530-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/AEM.01530-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Takase, S., Kurokawa, R., Kondoh, Y., Honda, K., Suzuki, T., Kawahara, T., Ikeda, H., Dohmae, N., Osada, H., Shin-ya, K., Kushiro, T., Yoshida, M.	4. 巻 14
2. 論文標題 Mechanism of action of prethioviridamide, an anticancer ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide with a polythioamide structure	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Chem. Biol.	6. 最初と最後の頁 1819-1828
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.9b00410	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 Kudo, K., Koiwai, H., Kagaya, N., Nishiyama, M., Kuzuyama, T., Shin-ya, K., Ikeda, H.	4. 巻 14
2. 論文標題 Comprehensive derivatization of thioviridamides by heterologous expression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Chem. Biol.	6. 最初と最後の頁 1135-1140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.9b00330	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 Ueda, S., Ikeda, H., Namba, T., Ikejiri, Y., Nishimoto, Y., Arai, M., Nihira, T., Kitani, S.	4. 巻 46
2. 論文標題 Identification of biosynthetic genes for the beta-carboline alkaloid kitasetaline and production of the fluorinated derivatives by heterologous expression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Ind. Microb. Biotechnol.	6. 最初と最後の頁 739-750
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10295-019-02151-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 -

1. 著者名 Matsuda, K., Kobayashi, M., Kuranaga, T., Takada, K., Ikeda, H., Matsunaga, S., Wakimoto, T.	4. 巻 17
2. 論文標題 SurE is a Trans -acting thioesterase cyclizing two distinct non-ribosomal peptides	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Org. Biomol. Chem.	6. 最初と最後の頁 1058
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8ob02867b	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 Sota, M., Sakoda, A., Ikeda, H.	4. 巻 46
2. 論文標題 Efficient transposition of Tn4556 by alterations in inverted repeats using a delivery vector carrying a counter-selectable marker for Streptomyces	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Ind. Microbiol. Biotechnol.	6. 最初と最後の頁 477-482
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10295-018-2101-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 -

1. 著者名 Ueda, S., Ikeda, H., Namba, T., Ikejiri, Y., Nishimoto, Y., Arai, M., Nihira, T., Kitani, S.,	4. 巻 -
2. 論文標題 Identification of biosynthetic genes for the -carboline alkaloid kitasetaline and production of the fluorinated derivatives by heterologous expression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Ind. Microbiol. Biotechnol.	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/s10295-019-02151-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 -

1. 著者名 Matsuda, K., Kobayashi, M., Kuranaga, T., Takagda, K., Ikeda, H., Matsunaga, S., Wakimoto, T.,	4. 巻 17
2. 論文標題 SurE is a trans-acting thioesterase cyclizing two distinct non-ribosomal peptides	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Org. Biomol. Chem.	6. 最初と最後の頁 1058-1061
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8ob02867b	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 Hashimoto, T., Hashimoto, J., Kozone, I., Amagai, K., Kawahara, T., Takahashi, S., Ikeda, H., Shi-ya, K.,	4. 巻 20
2. 論文標題 Biosynthesis of quinolidomycin, the largest known macrolide of Terrestrial Origin: Identification and Heterologous Expression of a Biosynthetic Gene cluster over 200 kb.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Org. Lett.	6. 最初と最後の頁 7996-7999
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.8b03570	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 Noguchi, Y., Kashiwagi, N., Uzura, A., Ogino, C., Kondo, A., Ikeda, H., Sota, M.	4. 巻 17
2. 論文標題 development of a strictly regulated xylose-induced expression system in Streptomyces	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microb. Cell Fact.	6. 最初と最後の頁 151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12934-018-0991-y	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, T., Fujioka, T., Zhang, L., Hoshino, S., Hu, Z., Hashimoto, J., Kozone, I., Ikeda, H., Shin-ya, K., Liu, W., Abe, I.	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 Nat. Commun.	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 -

1. 著者名 Sota, M., Sakoda, A., Ikeda, H.	4. 巻 46
2. 論文標題 Efficient transposition of Tn4556 by alterations in inverted repeats using a delivery vector carrying a counter-selectable marker for <i>Streptomyces</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Ind. Microbio. Biotechnol.	6. 最初と最後の頁 477-482
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10295-018-2101-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 -

1. 著者名 Ueda, S., Kitani, S., Namba, T., Arai, M., Ikeda, H., Nihira, T.	4. 巻 71
2. 論文標題 Engineered production of kitasetalic acid, a new tetrahydro- β -carboline with the ability to suppress glucose-regulated protein synthesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Antibiot.	6. 最初と最後の頁 854-861
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41429-018-0074-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kim, J., Komatsu, M., Shin-ya, K., Omura, S., Ikeda, H.	4. 巻 115
2. 論文標題 Distribution and functional analysis of the phosphopantetheinyl transferase superfamily in Actinomycetales microorganisms	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA	6. 最初と最後の頁 6828-6833
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1800715115	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 Kawahara, T., Izumikawa, M., Kozone, I., Hashimoto, J., Kagaya, N., Koiwai, H., Komatsu, M., Fujie, M., Sato, N., Ikeda, H., Shin-ya, K.	4. 巻 81
2. 論文標題 Neothioviridamide, a Polythioamide Compound produced by heterologous expression of a Streptomyces sp. cryptic RiPP biosynthetic gene cluster.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Nat. Prod.	6. 最初と最後の頁 264-269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.7b00607	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 Pait, IGU., Kitani, S., Roslan, FW., Ulanova, D., Arai, M., Ikeda, H., Nihira, T.	4. 巻 45
2. 論文標題 Discovery of a new diol-containing polyketide by heterologous expression of a silent biosynthetic gene cluster from Streptomyces lavendulae FRI-5.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Ind. Microbio. Biotechnol.	6. 最初と最後の頁 77-87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10295-017-1997-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 -

1. 著者名 Suroto, DA., Kitani, S., Miyamoto, K., Saikihama, Y., Arai, M., Ikeda, H., Nihira, T.	4. 巻 124
2. 論文標題 Activation of cryptic phthoxazolin A production in Streptomyces avermitilis by the disruption of autoregulator-receptor homologue Avar3.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Biosci. Bioeng.	6. 最初と最後の頁 611-617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2017.06.014	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 Amagai, K., Ikeda, H., Hashimoto, J., Kozone, I., Izumikawa, M., Kudo, F., Eguchi, T., Nakamura, T., Osada, H., Takahashi, S., Shin-ya	4. 巻 7
2. 論文標題 Identification of a gene cluster for telomestatin biosynthesis and heterologous expression using a specific promoter in a clean host.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 3382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-03308-5	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 Pait, IGU., Kitani, S., Kumiawan, YN., Asa, M., Iwau, T., Ikeda, H. Nihira, T.	4. 巻 124
2. 論文標題 Identification and characterization of lbpA, an indigoidine biosynthetic gene in the - butyrolactone signaling system of <i>Streptomyces lavendulae</i> FRI-5.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Biosci. Bioeng.	6. 最初と最後の頁 369-375
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2017.04.020	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 Nara, A., Hashimoto, T., Komatsu, M., Nishiyama, M., Kuzuyama, T., Ikeda, H.	4. 巻 70
2. 論文標題 Characterization of bafilomycin biosynthesis in <i>Kitasatospora setae</i> KM-6054 and comparative analysis of gene clusters in Actinomycetales microorganisms.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Antibiot.	6. 最初と最後の頁 616-624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ja.2017.33	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 Yao, Q., Ma, L., Liu, L., Ikeda, H., Fushinobu, S., Li, S., Xu, LH.	4. 巻 27
2. 論文標題 Hydroxylation of Compactin (ML-236B) by CYP105D7 (SAV_7469).	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Microbiol. Biotechnol.	6. 最初と最後の頁 956-964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4014/jmb.1610.10079	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 Kasuga, K., Sasaki, A., Matsuo, T., Yamamoto, C., Minato, Y., Kuwahara, N., Fujii, C., Kobayashi, M., Agematu, H., Tamura, T., Komatsu, M., Ishikawa, J., Ikeda, H., Kojima, I.	4. 巻 101
2. 論文標題 Heterologous production of kasugamycin, an aminoglycoside antibiotic from <i>Streptomyces kasugaensis</i> , in <i>Streptomyces lividans</i> and <i>Rhodococcus erythropolis</i> L-88 by constitutive expression of the biosynthetic gene cluster.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Appl. Microbiol. Biotechnol.	6. 最初と最後の頁 4259-4268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00253-017-8189-5	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 Ozaki, T., Yamashita, K., Goto, Y., Shimomura, M., Hayashi, S., Asamizu, S., Sugai, Y., Ikeda, H., Suga, H., Onaka, H.	4. 巻 8
2. 論文標題 Dissection of goadsporin biosynthesis by in vitro reconstitution leading to designer analogues expressed in vivo.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nat. Commun.	6. 最初と最後の頁 14207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ncomms14207	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 Zhang, L., Hashimoto, T., Qin, B., Hashimoto, J., Kozono, I., Kawahara, T., Okada, M., Awakawa, T., Ito, T., Asakawa, Y., Ueki, M., Takahashi, S., Osada, H., Wakimoto, T., Ikeda, H., Shin-ya, K., Abe, I.	4. 巻 56
2. 論文標題 Frontispiece: Characterization of giant modular PKSs provides insight into genetic mechanism for structural diversification of aminopolyol polyketides.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Ange. Chem. Internal. Edit.	6. 最初と最後の頁 1740-1745
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201611371	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 Kasuga, K., Sasaki, A., Matsuo, T., Yamamoto, C., Minato, Y., Kuwahara, N., Fujii, C., Kobayashi, M., Agematsu, H., Tamura, T., Komatsu, M., Ishikawa, J., Ikeda, H., Kojima, I.	4. 巻 -
2. 論文標題 Heterologous production of kasugamycin, an aminoglycoside antibiotic from <i>Streptomyces kasugaensis</i> , in <i>Streptomyces lividans</i> and <i>Rhodococcus erythropolis</i> L-88 by constitutive expression of the biosynthetic gene cluster	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Appl. Microbiol. Biotechnol	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/s00253-017-8189-5 (2017)	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 Takami, H., Toyoda, A., Uchiyama, I., Itoh, T., Takaki, Y., Arai, W., Nishi, S., Kawai, M., Shin-ya, K., Ikeda, H.	4. 巻 24
2. 論文標題 Complete genome sequence and expression profile of the commercial lytic enzyme producer <i>Lysobacter enzymogenes</i> M497-1	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 DNA Res.	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/dnares/dsw055	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 Yao, Q., Ma, L., Liu, L., Ikeda, H., Fushinobu, S., Xu, LH.	4. 巻 -
2. 論文標題 Hydroxylation of compactin (ML-236B) by CYP105D7(SAV_7469) from <i>Streptomyces avermitilis</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Microbiol. Biotechnol.	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) 10.4014/jmb.1610.10079.	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 Ozaki, T., Yamashita, K., Goto, Y., Shimomura, M., Hayashi, S., Asamizu, S., Sugai, Y., Ikeda, H., Suga, H., Onaka, H.	4. 巻 8
2. 論文標題 Dissection of goadsporin biosynthesis by in vitro reconstitution leading to designer analogues expressed in vivo	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nat. Commun.	6. 最初と最後の頁 14207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ncomms14207	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 Zhang, L., Hashimoto, T., Qin, B., Hashimoto, J., Kozone, I., Kawahara, T., Okada, M., Awakawa, T., Ito, T., Asakawa, Y., Ueki, M., Takahashi, S., Osada, H., Wakimoto, T., Ikeda, H., Shin-ya, K., Abe, I.	4. 巻 56
2. 論文標題 Characterization of giant modular PKSs provides insight into genetic mechanism for structural diversification of aminopolyol polyketides	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed.	6. 最初と最後の頁 1740-1745
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201611371	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 Chen, K., Wu, S., Zhu, L., Zhang, C., Xizng, W., Deng, Z., Ikeda, H., Cane, DE., Zhu, D.	4. 巻 55
2. 論文標題 Substitution of a Single Amino Acid Reverses the Regiospecificity of the Baeyer-Villiger Monooxygenase PntE in the Biosynthesis of the Antibiotic Pentalenolactone	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.6b01040	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 Takano, H., Matsui, Y., Nomura, J., Fujimoto, M., Katsumata, N., Koyama, T., Mizuno, I., Amano, S., Shiratori-Takano, H., Komatsu, M., Ikeda, H., Ueda, K.	4. 巻 81
2. 論文標題 High production of a class III lantipeptide AmfS in <i>Streptomyces griseus</i>	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biosci. Biotechnol. Biochem.	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2016.1238297	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 Sultan, SP., Kitani, S., Miyamoto, KT., Iguchi, H., Atago, T., Ikeda, H., Nihira, T.	4. 巻 100
2. 論文標題 Characterization of AvaR1, a butenolide-autoregulator receptor for biosynthesis of a <i>Streptomyces</i> hormone in <i>Streptomyces avermitilis</i>	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Appl. Microbiol. Biotechnol.	6. 最初と最後の頁 9581-9591
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00253-016-7781-4	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 Liu, L., Yao, Q., Ma, Z., Ikeda, H., Fushinobu, S., Xu, LH.	4. 巻 132
2. 論文標題 Hydroxylation of flavanones by cytochrome P450 105D7 from <i>Streptomyces avermitilis</i>	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J. Mol. Catalysis. B. Enzymatic.	6. 最初と最後の頁 91-97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molcatb.2016.07.001	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., Niikura, H., Izumikawa, M., Hashimoto, J., Shin-ya, K., Komatsu, M., Ikeda, H., Kuroda, M., Sekizuka, T., Ishikawa, J., Hamano, M.	4. 巻 82
2. 論文標題 tRNA-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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sasaki, Y., Oguchi, H., Kobayashi, T., Kusama, S., Sugiura, R., Moriya, K., Hirata, T., Yukioka, Y., Takaya, N., Yajima, S., Ito, S., Okada, K., Ohsawa, K., Ikeda, H., Takano, H., Ueda, K., Shoun, H.	4. 巻 6
2. 論文標題 Nitrogen oxide cycle regulates nitric oxide levels and bacterial cell signaling	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Sci. Reports	6. 最初と最後の頁 2208
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep22038	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 Yamada, Y., Komatsu, M., Ikeda, H., "Chemical diversity of labdane-type bicyclic diterpene biosynthesis in Actinomycetales microorganisms	4. 巻 69
2. 論文標題 Chemical diversity of labdane-type bicyclic diterpene biosynthesis in Actinomycetales microorganisms	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J. Antibiot.	6. 最初と最後の頁 515-523
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ja.2015.147	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 Ikeda, H.	4. 巻 81
2. 論文標題 Natural products discovery from microorganisms in the post-genome era	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biosci. Biotechnol. Biochem.	6. 最初と最後の頁 13-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2016.1248366	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 池田 治生	4. 巻 13
2. 論文標題 天然物医薬品を生産するStreptomyces属のゲノム構造	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 ゲノム微生物学会ニュースレター	6. 最初と最後の頁 3-8
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 池田 治生	4. 巻 21
2. 論文標題 格別なる贈り物・エバ-メクチンの発見から生合成研究まで	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 学術の動向	6. 最初と最後の頁 13-19
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 池田 治生	4. 巻 54
2. 論文標題 ポストゲノム時代に向けた微生物由来天然物医薬品の探索研究	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 17-26
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 池田 治生
2. 発表標題 非天然型RiPPs化合物の新たな創製法および生成量の改善
3. 学会等名 科学研究費補助金 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 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池田 治生
2. 発表標題 放線菌のI型ポリケチドおよび非リボソームペプチド合成酵素の翻訳後修飾に関する包括的解析
3. 学会等名 第19回蛋白質科学会・第71回日本細胞生物学会合同年次会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sota, M., Sakoda, A., Ikeda, H.
2. 発表標題 A counter-selectable marker and its application to transposon mutagenesis for Streptomyces strains
3. 学会等名 Plasmid Biology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木谷茂、上田祥平、池尻幸範、難波卓司、池田治生、仁平卓也
2. 発表標題 放線菌由来 -カルボリン化合物キタセタリン生合成経路の解明
3. 学会等名 日本農芸化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Haruo Ikeda
2. 発表標題 Genome Structure of Avermectin Producer Streptomyces avermitilis and Applications in Synthetic Biology of Secondary Metabolism
3. 学会等名 Internatioanl Symposium on the Biology of Actinomycetes 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 池田 治生
2. 発表標題 有用天然物生産のための異種生合成遺伝子発現系の構築 - 休眠遺伝子の覚醒による物質生産 -
3. 学会等名 第51回天然物化学談話会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ikeda, H.
2. 発表標題 Chemical diversity of labdane-type bicyclic diterpene biosynthesis in Streptomyces
3. 学会等名 Society for Industrial Microbiologu and Biotechnology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>Genome project of Streptomyces avermitilis http://avermitilis.ls.kitasato-u.ac.jp</p> <p>生合成系の再設計による複雑骨格機能分子の革新的創製科学 http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~tennen/bs_index.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
研究分担者	小松 護 (Komatsu Mamoru) (40414057)	北里大学・感染制御科学府・講師 (32607)	

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