

領域略称名：生合成マシナリー  
領域番号：2207

平成24年度科学研究費補助金「新学術領域研究  
(研究領域提案型)」に係る研究経過等の報告書

「生合成マシナリー：生物活性物質構造多様性創出システム  
の解明と制御」

(領域設定期間)  
平成22年～平成26年

平成24年6月

領域代表者 北海道大学・大学院理学研究院・教授・及川 英秋

## 目次

1. 研究領域の目的及び概要	2
2. 研究の進展状況	3
3. 研究を推進する上での問題点と今後の対応策	4
4. 主な研究成果	6
5. 研究成果の公表の状況	
(1) 主な論文等一覧について	13
(2) ホームページについて	24
(3) 公開発表について	24
(4) 「国民との科学・技術対話」について	24
(5) その他	25
6. 研究組織と各研究項目の連携状況	28
7. 研究費の使用状況(設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む)	31
8. 今後の研究領域の推進方策	32
9. 総括班評価者による評価の状況	33

## 1. 研究領域の目的及び概要

**研究領域名：**生合成マシナリー:生物活性物質構造多様性創出システムの解明と制御

**研究期間：**平成 22 年度～平成 26 年度

**領域代表者所属・職・氏名：**北海道大学・大学院理学研究院・教授・及川 英秋

**補助金交付額（単位：千円）：**22 年度 49,900、23 年度 173,900、24 年度 172,100（内約額）、25 年度 91,300（内約額、総括班／計画班のみ）、26 年度 87,000（内約額、総括班／計画班のみ）

天然から見つかる化学物質の驚異的な生物活性や多様な化学構造は、大変興味深くその生体内での合成反応（生合成）とともに多くの科学者を魅了してきた。しかしどのようにして天然物質が合成されるのか、何故作られるのかという問題は長らくブラックボックスとして残されてきた。最近、ヒトのテーラーメイドな治療を目指した分野などでゲノム解析の需要が高まり、DNA シーケンス技術の飛躍的な進歩で、先の問題に答えることができるエキサイティングな時代が到来した。最初にゲノム上のどこかに天然物質生合成遺伝子があるはずであり、それを同定する方法論を開発する必要がある。次にそれを適切に発現させれば、*in vivo* および *in vitro* で個々の反応が再現できるはずである。また適切な宿主に多数の遺伝子を導入し正常に機能させることで物質生産も可能になる。この過程を通して生物が持つ進化というプロセスで酵素触媒に何が起こっているかを突き止めれば、比較的単純なシステムでなぜ多様な分子群が合成されるかが判るはずである。この興味深いシステム（生合成マシナリー）を人工的に再構築させる基本的な方法論を開発し利用することが、この領域の目的である。

生合成マシナリーの再構築を実現させるため、必要となる基本技術の開発には、以下の 3 分野の連携が重要となる。すなわち、1) 標的化合物の構造およびバイオインフォマティクスや統合オミクスデータを駆使して、微生物のみならずより複雑な植物ゲノム上の設計図（生合成遺伝子）を解読し、論理的に反応経路や出発物質を推定する方法論の確立；2) 天然物質生産生物から取り出した遺伝子群を導入し、機能を持った形で酵素が発現できる適切な宿主-ベクター系の開発；3) 多段階の変換反応を遺伝子工学的および生化学・有機化学的な手法を用いて解き明かしながら、代表的骨格合成酵素と典型的修飾酵素からなる生合成マシナリーを再構築して有用物質の生産を行うの 3 分野である。この方法論が確立できれば、再構築系において機能が相同な生合成酵素遺伝子を入換えるなどして、分子進化的に興味深い天然物質の多様性創出機構を探ることも可能になる。上記 3 項目と対応させて以下の 3 班で研究を推進することを計画した。

**A03 ゲノム、メタボローム解析情報に基づく二次代謝産物設計図の解読**

**A02 生合成マシナリー構築のための多種遺伝子発現系および最適化宿主の構築**

**A01 生合成マシナリーの構築および多様性創出機構の解析**

現在ノーベル賞級の有機合成反応が多数開発され、人類が作れない分子などないと言われる時代となっても、天然から見つかる分子を短期間で大量に作る技術は未だ確立されていない。これまで有機合成では、酵素は使い物にならないと言われてきたが、この認識を払拭し、少なくとも物質生産にお

いて有機合成を補完できる触媒である認識を持ってもらうような成果をあげることを目指す。

## 2. 研究の進展状況

### A01 生合成マシナリーの構築および多様性創出機構の解析

この研究項目では、適切な微生物宿主への遺伝子導入による天然物質の酵素合成、他の類縁化合物の合成に適用可能な酵素反応機構の解析、骨格構築酵素および修飾酵素の多様性創出に関する研究を設定している。適切な宿主への遺伝子導入で、構造が複雑で有用な生物活性を持つ天然物質の酵素合成を達成した: [DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  特異的阻害剤 aphidicolin (ジテルペン, *BBB* 2011)、動脈硬化予防治療剤 pyripyropene の前駆体 (メロテルペノイド, *Nat. Chem.* 2010)、薬用植物カンゾウの重要成分 glycyrrhetic acid (トリテルペン, *Plant Cell* 2011)、イソキノリンアルカロイドの重要中間体 reticuline (アルカロイド, *Nat. Commun.* 2011) など多様な物質群]。重要な点は、酵素と基質/生成物の関係を明確にしてどの反応を触媒する明らかにしながら、順次遺伝子導入している点で、様々な応用展開が可能である。酵素合成の前段階として酵素反応機構の解明は重要な問題である。普遍的なポリエーテルの骨格構築機構の立体構造に基づく解析は、酵素ならではの変換反応の好例である (*Nature* 2012; *JACS* 2012)。ポリケタイド合成酵素 (I 型、II 型) (*JACS* 2011) や酸化修飾酵素 (*JACS* 2011) でも興味深い反応機構が提唱された。また酵素機能の人工的改変の例として、III 型ポリケタイド合成酵素の論理的改変で多様な物質を合成に成功した (*PNAS* 2010 x2; *PNAS* 2011)。さらにランダム変異-スクリーニングによる有用変異酵素の取得や海洋生物からのメタゲノムライブラリーの作成と発現成功株の取得は、新たな物質生産に有効な手段となりうる。このほか C35 のテルペン合成を行う新規酵素反応の発見 (*JACS* 2011 x2) や古細菌の脂質合成の生合成マシナリー構築にも成功している。

### A02 生合成マシナリー構築のための多種遺伝子発現系および最適化宿主の構築

本項目では、主に生合成マシナリー構築に必要な宿主-ベクター系や新規宿主の開発を行っている。A01 で生合成マシナリー構築を行った手法とは異なり、多数かつ巨大な酵素遺伝子が関与する細菌由来の天然物質を適当な宿主にそのまま導入する方法として、工業規模抗生物質生産菌 *Streptomyces avermitilis* に対して線状プラスミド SAP1 をベクターと用いる遺伝子導入法を開発した。この場合、細菌は遺伝子の数もサイズも大きいため新たな手法の開発が必要となったが、以前からの方法と合わせ、既に 20 種程度の天然物質の合成に成功した。これは単に遺伝子を移動させるだけではなく、物質生産を行う制御系も機能させた点で重要である。さらに大きな遺伝子が導入可能なこの系を発展させた方法論も開発された。麹菌など糸状菌ホストでは、多数の遺伝子導入する際、使用可能な選択マーカーが少なく導入株選抜の際で障害となる。そこでマーカー除去/再導入を繰り返す手法が開発された。また二次代謝特異的なプロモーターや物質変換能に優れた宿主-ベクター系の開発も進められた。

### A03 ゲノム、メタボローム解析情報に基づく二次代謝産物設計図の解読

この研究項目では、機械的に取得可能なゲノムやメタボローム情報を基に生合成マシナリーの構築なデータを抽出する手法を提供し、自らあるは他の班員が利用して成果を上げるよう支援を行っている。増大するゲノム情報を迅速に処理してマシナリー構築に必要な情報を抽出する Web ツールや配列情報から近縁酵素の機能が検索し、生成する骨格が予測可能なデータベースの構築が行われた (Web 上で公開)。植物の生合成遺伝子はゲノム上に散在するため、鍵となる酵素遺伝子をまず同定し、次に時期を同じくして発現する酵素を絞り込むため、mRNA (トランスクリプトーム) や変動する代謝物のパターン (メタボローム解析) を詳細に取り込んだ統合オミクスデータを自在に扱い、必要情報を見出す方法論を確立する必要がある。その一環としてキノリチジンアルカロイド生合成の初発反応の酵素遺伝子の特定 (*Plant Cell* 2012) やフラボノイド水酸化酵素、コケ由来のカンナビノイド生合成酵素の同定あるいは絞り込みに成功した。また植物の特定部位 cDNA から作成した生合成マシナリーライブラリーに関して、発現スクリーニングにより目的遺伝子を同定する方法を用いて、重要な変換酵素が同定された。

### 3. 研究を推進する上での問題点と今後の対応策

#### [計画班員および公募班員で生じた欠員とその対策]

**問題点**：2013 年度開始時点で、最先端・次世代研究開発支援に計画班員の葛山智久氏 (東大生産生物センター) および公募班員として内定していた渡辺賢二氏 (静岡県大薬) の両名が採択され、また同年度から発足した新学術領域ケミカルバイオロジーでも同様な事象が起こり、本領域の 2 名の公募班員品田哲郎氏 (大阪市立大院理) および叶直樹氏 (東北大院薬) をケミカルバイオロジー領域の計画班員として送り出す必要が生じた。

**対策**：欠員が生じた計画班員には、同等の能力を持つと判断された大川徹氏 (北大院工) を新たに加え、活動に支障が出ないよう手当をした。また併願がわかっていた公募班員 2 名分の欠員については、補欠となっていた 2 名の若手研究者、邊見久氏 (名大院生命農学) および佐藤努氏 (新潟大自然科学) に加わって頂き、早速 3 名ともに優れた成果を出してもらい、領域に貢献して頂いた。このような欠員は領域の目指す研究に多少の影響を与えるが、この分野の注目度が高いことを意味すると捉え、新たに加わった高い能力のある研究者と一緒に乗り越えることができた。

**関連した事項**：領域構成メンバーおよび連携研究者のうち、8 名の昇任あるいは他大学への異動人事があったが、これに伴った研究面での停滞は見受けられず、逆にこれらの研究者の実績が評価され、モチベーションがさらに上がったと評価したい。

#### [共同研究推進のための工夫]

**問題点**：生合成研究を行っている研究者は、通常化学会、薬学会、農芸化学会などで発表するため、あまり交流する機会がなく、開始当初はあまり交流がスムーズではなかった。

**対策**：共同研究を推進すべく、年に 2 回の公開シンポジウムでは、計画班員も含めて公募班員とともにポスター発表を行っている。参加者は多すぎず少なすぎずであり、これにより直接対話形式で話

すことが可能になり、その後の懇親会と合わせ、打ち解けた話をするとともに、研究上の日頃の問題点を話しあうと同時に一部は共同研究に発展している。昨年 9 月には、領域の問題であるゲノムやメタボローム情報をいかに扱うかを話し合うため、ブレインストームミーティングを開催したが、問題点を共有することに繋がったようである。さらに今年 6 月に開催した国際シンポジウムでは、内外の研究者 100 人余りが参加し合宿形式で一週間滞在したが、参加者の交流が深まり、また多くの共同研究が生まれたと聞いている。この新たな共同研究は残念ながら、報告書提出の直前であったため、この報告書には盛り込んでいない。

#### **[新領域普及のための方策]**

**問題点**：従来、天然物質の生合成は、天然物化学研究で、単離構造決定や天然物全合成と一グループに括られていて、ある意味存在感の薄い領域であった。

**対策**：領域代表は、依頼のあった講演はなるべく引き受けて宣伝活動を行っている。計画班員を中心に、講演を依頼された場合は、なるべく領域の説明を講演に組込んでもらうよう依頼している。領域が立ち上がって 3 年目を迎え、活動が活発になってきたことに加え、若手を中心に研究者数が確実に増えてきた。これを反映して、今年度の農芸化学会大会では、例年一日で終わるセッションが丸二日間にわたって生合成の発表が続いたことは印象深い。

#### 4. 主な研究成果

##### 研究項目 A01 生合成マシナリーの構築および多様性創出機構の解析

**及川** (北大院理) は、糸状菌の生合成遺伝子導入と物質生産を行う一般的方法論の開発を行った。産業利用されゲノム解析が終了した麹菌 (*Aspergillus oryzae*) の栄養要求性変異株 NSAR1 株および 4 種のベクターを利用した方法論の適用を A02 五味と共同で検討した。骨格合成酵素や修飾酵素遺伝子の発現による中間体の生成を指標に、遺伝子機能を順次確認しながら、4 個の遺伝子導入を行って生合成マシナリーを構築し、最終的に DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  特異的阻害剤 aphidicolin の生産を達成した (120 mg/L 相当)。これにより *A. oryzae* は基質供給能が十分であり、毒性が懸念された物質の生産も可能なことを示した (BBB, 2011、2011 年度論文賞、図 A01-1)。

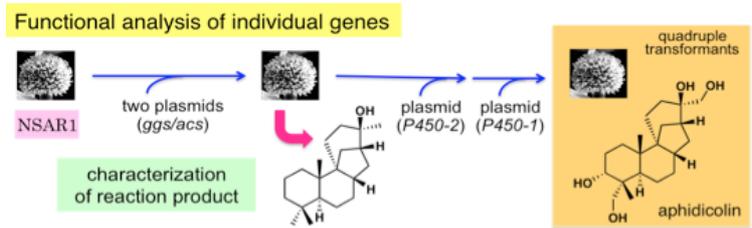


図 A01-1 麹菌を用いた生合成マシナリー再構築系の開発

及川は、有機化学では長年の懸案であった多数のエーテル環を有する天然物質が、いかに生合成されるかを世界に先駆けて解明した。エポキシ化酵素が異なる置換様式のオレフィンを立体選択的にかつ連続的に酸化し、次いで環化酵素が生じたポリエポキシド中間体を化学的には困難なモードで順次閉環させるメカニズムを基質-酵素複合体の立体構造解析から明らかにした (JACS, 2012; Nature, 2012、新聞報道、図 A01-2)。

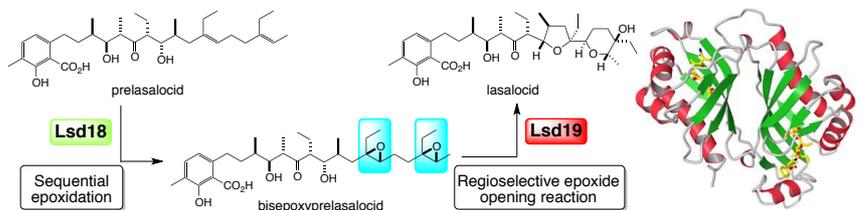


図 A01-2 ポリエーテル系天然物質の普遍的骨格構築機構の解明

**阿部** (東大院薬) らは、立体構造に基づいた III 型ポリケチド合成酵素の機能改変に取り組み、骨格に窒素原子を組み込んだアナログの合成に成功し、多機能性の物質生産を行った (PNAS - 3 報、図 A01-3)。また上述の麹菌発現系を利用し、アシル CoA-cholesterol アシル化酵素阻害剤 pyripyropene およびファルネシル基転移酵素阻害剤 teretonin の生合成マシナリーの構築を行い、後期生合成中間体の酵素合成に成功した。

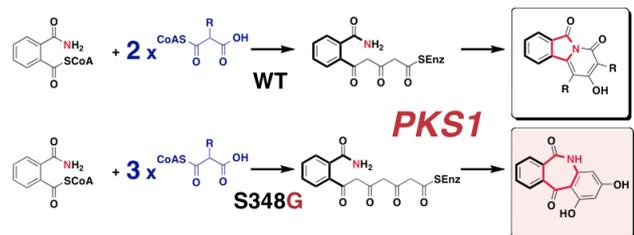


図 A01-3 立体構造に基づいた生合成酵素の論理的改変

**江口** (東工大院理工) は、ガン転移阻害活性などを有するマクロラクタム抗生物質 vicenistatin の生合成マシナリーによるマクロラクタム構築機構の詳細を解析し、末端アミノ基を保護した後マクロラクタム化する前に除去するという普遍的な反応機構を提唱した (JACS, 2011)。さらに incedonine や cremimycin など関連抗生物質生合成に適用してこの仮説を証明すべく、遺伝子クラスターの同定を行った。

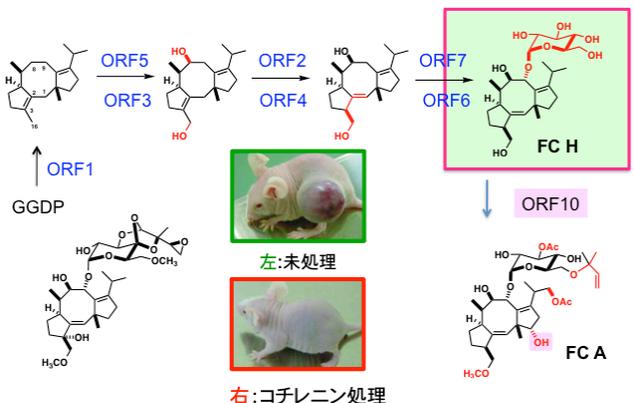


図 A01-4 天然生合成マシナリーを利用した抗ガン剤合成中間体の大量合成

**大利** (北大院工) は、有望な抗腫瘍性物質 cotylenin 誘導体 (代表的天然物であるテルペンの一種) の生産法を開発するために近縁物質 fusicoccin の高生産株 *Phomopsis amigdalii* の遺伝子操作法を確立し、遺伝子破壊により有用な合成中間体を大量に入手することに成功した (800

mg/L)。この過程で酸化-転位-還元を精妙に組み合わせた官能基変換 (JACS, 2011) や初の糖への C5 単位修飾酵素を見いだした。代表的天然物であるテルペンの高生産株の遺伝子工学的手法を用いた改変は、ゲノムに眠る有用テルペン生合成遺伝子群の発掘に大きく途を拓いた (図 A01-4)。葛山 (東大生物生産センター) は、テルペン生合成の普遍的前駆体メバロン酸の供給で問題となる acetoacetyl CoA の新規供給酵素の機能解析を行った (PNAS, 2010)。また天然物の構造多様性を作り出す基質許容性の高い酵素の機能解析の一環として、芳香環にアルキル基 (C5 単位、プレニル基) 導入する酵素を調べ、新たな構造多様性創出機構の解析を行った (JBC, 2010)。

橋本 (弘前大農) は、多くの細菌が生産するペプチド系抗生物質には、個々の化学的データにはないものの最終構造に問題があるものが多数あることに気づき、その原因究明に取り組んだ。まず最も報告例のある fengycin について全合成により構造既知の化合物を合成した後、*Bacillus subtilis* H336B より単離した物質とスペクトルデータ、分解反応/誘導体化の生成物を比較して、同一物であることを確認した。次いで様々な塩とした後 NMR スペクトルを測定して、そのカリウム塩が plipastatin のそれと一致することから、文献上の混乱に終止符をうった。現在領域内で共同研究を進めている。豊増 (山形大農) は、ゲノム解析により次々に明らかになる植物由来のジテルペン環化酵素遺伝子の生成物構造多様性を調べるべく、イネに続いて同じイネ科植物コムギの複数のホモログ遺伝子について検討を行った。その結果 TaKSL5 では通常とは異なり、一部ドメインが欠失すること、ent-kaurene 合成活性を保持しながらも、セスキテルペン環化酵素活性を有することを見出した。

佐藤文彦 (京大生命科学) は、栽培による供給量に問題がある植物の有用物質生合成マシナリーを微生物細胞内に再構築するとともに、部分的な改変を加えることによりイソキノリンアルカロイド生合成の重要な中間体であるレチクリンをドーパミンから生産する方法を確立した (図 A01-5)。さらにコスト面において課題となるドーパミンを原料となるチロシンに替えるため、微生物酵素を組み合わせてチロシンからの改変型イソキノリンアルカロイド生合成マシナリーを再構築した大腸菌を調製し、特別な基質の添加を必要としないレチクリン生産システムが確立された (Nature Commun., 2011、新聞報道、図 A01-6)。

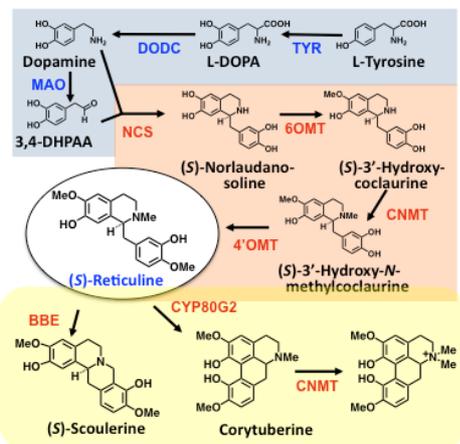


図 A01-5 複合発現系を用いた有用物質生産マシナリーの構築例

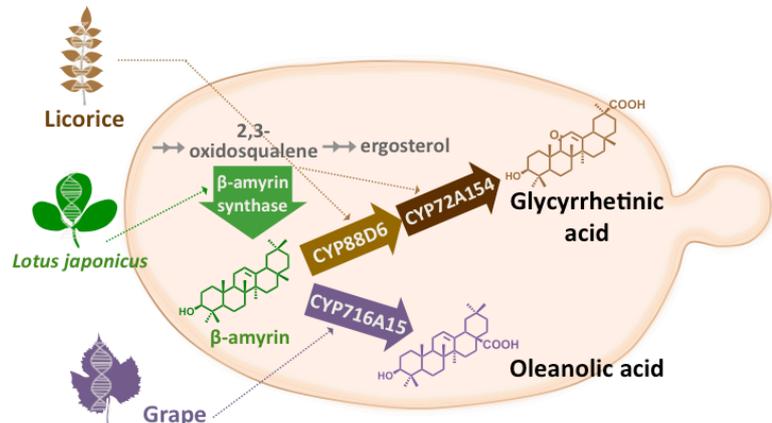


図 A01-6 有用医薬品成分の酵母発現系を用いた生合成マシナリーの構築

關光 (阪大院工) は、輸入量減少で問題になっている薬用植物カンゾウの重要成分を酵母で生産することを目指して研究を行った。根で特異的に発現している遺伝子について A03 齊藤と共同でオミクス解析を駆使して絞り込み、2種の鍵酵素遺伝子を機能解析したところ、数種の植物種から各種オキシドスクアレン環化酵素と複数の P450 遺伝子を単離し、A02 水谷および A03 明石らと共同で、酵母細胞に同時導入して生合成マシナリーを再構築し、カンゾウが生産する薬効成分 glycyrrhizin のアグリコンである glycyrrhetic acid や (Plant Cell, 2011、新聞報道)、ブドウやオリーブに多く含まれる oleanolic acid などの植物トリテルペノイドをインビボ生産に成功した (Plant Physiol. Cell, 2011、新聞報道)。

海洋無脊椎動物に共生する難培養微生物の持つ有用天然物合成遺伝子の有効利用は日本が優位性を保つ分野である。**久保田** (北大院薬) は沖縄で採取した *Hyrtios* 属や *Amphimedon* 属の海綿ならびに *Eudistoma* 属のホヤに新規生物活性天然物の構造を明らかにし、生産微生物の同定および遺伝子クラスターの取得を開始した(図 A01-7)。**酒井**(北大院水産) は、同じく海洋生物由来天然物、イオンチャンネル型グルタミン酸受容体選択的アゴニスト *dysiherbaine* の生合成研究を行うべく、難培養微生物からの遺伝子を探索した。海綿 *Lendenfeldia chondrodes* の生産種と非生産種の比較で発見された *dysiherbaine* と結合活性を持つタンパク質 DHP の分離・精製を行い、酵素消化物のエドマン分解から内部配列を得た。現在この配列を用いた当該タンパクの抗体を用いた生産微生物の同定および当該遺伝子の PCR クローニングを行っている。**藤田** (北大院水産) は、生産生物に依存しない新たな有用物質の生産法を開発するため、日本各地の海洋生物および海洋環境サンプルから作成した海洋メタゲノムライブラリ (大腸菌に異種遺伝子群を導入したもの) に対して、抗菌活性物質、金属結合物質、色素の生産の有無でスクリーニングを行ったところ、100 以上の活性クローンを見出した。その一例として、金属結合物質生産クローン 2 種からそれぞれ *vibrioferrin* および *bisucaberin* を同定し、また新規生合成遺伝子を取得した。構築した生合成マシナリーを用いて、生合成最終段階に関与すると考えられる環化酵素 *MbsD* を、*Erwinia amylovora* 由来の生合成遺伝子 *DesD* と入れ替えたところ *desferrioxamine E* を生産した。これにより近縁酵素遺伝子の *swapping* により、多様な物質が生産可能なことを実験的に証明した(図 A01-8)。

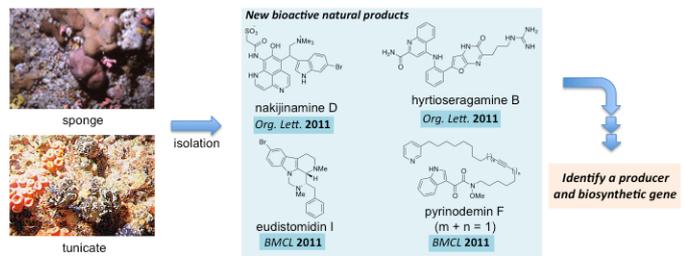


図 A01-7 海洋生物からの有用物質の単離と遺伝子の探索

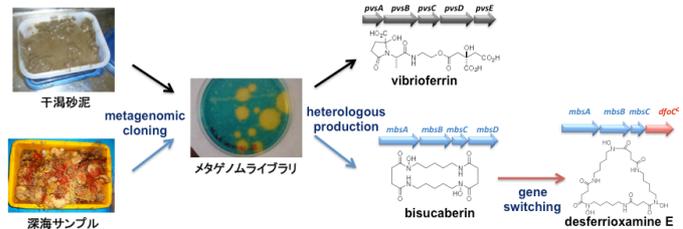


図 A01-8 海洋メタゲノムライブラリーを用いた生合成酵素群のスクリーニング

**塚本** (熊本大院薬) は、特異な構造を有する糸状菌由来インドールアルカロイド生合成において、共通中間体からエナンチオ選択的な反応により一対の鏡像体が生成する機構を調べた。まず生合成経路の知見を得るべく、2 種の *Aspergillus* 属真菌から中間に生じる [4+2] 環化体を 3 組の鏡像異性体として単離した。この前駆体の取り込み実験から、生合成でエナンチオ選択的な *pinacol-type* 転移が起きていることが支持された。この興味深い変換反応を実験的検証するため、遺伝子の同定、マシナリーの構築を進めている。

生合成酵素遺伝子への変異導入による機能改変株の効率の良い選抜法は、生合成マシナリー構築法の開発以降の大きな課題である。**梅野** (千葉大院工) は、色素生産スクリーニング法を開発し、同法を用いたゲラニオール合成酵素の活性改良に成功した。さらに本手法による幾つかのテルペン合成酵素の多世代進化工学を行った (図 A01-9)。

ノルリグナン生合成酵素は、配列の近縁な 2 種の酵素が単独でも反応を触媒するが、ヘテロ複合体が生成物を制御する興味深い例である。ほかの生合成酵素でもいくつか例が知られ、今後マシナリーによる物質生産では、重要になると予想される。**鈴木史朗** (京大生存研) は、ヒノキレジノール合成酵素の速度論データや生成物の光学純度や生成比などを用いた解析の他、詳細な結晶構造の解析を進めた。

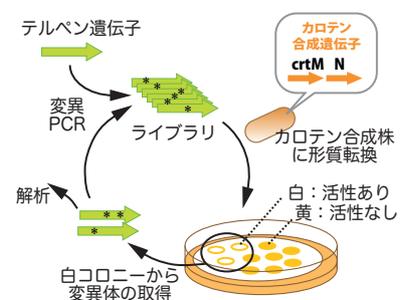


図 A01-9 機能改変酵素の色素生産スクリーニング法の概略

*Streptomyces* 属放線菌は多数の遺伝子クラスターを持つが、その多くが眠っていることが知られ、

それを発現する調節機構の一つに、低分子シグナルの存在が知られている。荒川（広大院先端）は、2つのポリケチド抗生物質ランカサイジン(LC)・ランカマイシン(LM)を生産する放線菌 *Streptomyces rochei* 7434AN4 株に注目し、LC、LM 生産を誘導する微生物ホルモン SRB の単離・構造決定を行い、従来のシグナル分子と骨格が異なる  $\gamma$ -butenolide 骨格を有することを明らかにした。その生合成遺伝子も同定し、物質生産のスイッチの ON/OFF 機構の一端を明らかにし、人為制御による潜在的二次代謝遺伝子の発掘に大きな途を拓いた

鮎（静岡県大食品）は、様々な生物種から III 型ポリケチド合成酵素の探索研究を行っており、今回粘菌 *Myxococcus xanthus*、放線菌 *Streptomyces griseus* から新規反応を触媒する III 型ポリケチド合成酵素を単離し、その触媒機能を試験管内で再現するなど、取得酵素の触媒機構まで解析できた。A2 の池田と共同で、「クリーンホスト」放線菌 *Streptomyces avermitilis* を用いた生合成マシナリー再構築による新規ポリケチドの生産を検討した。

市瀬（武蔵野大薬）は、放線菌由来 II 型ポリケチド合成酵素の生合成マシナリー構築による多様な芳香族ポリケチドの合成を目指しているが、今回ベンゾイソクロマンキノ系抗生物質 (BIQ) の各生合成遺伝子クラスターに共通する二成分系 FMO の詳細な機能解析を行った。actinorhodin の actVA-ORF5 破壊体に相同遺伝子 med-7, gra-21, alnT を導入して機能相補性を検討するとともに、新たに BIQ 骨格をエポキシ化する機能を見出した。

久城（明大農）は、糸状菌由来抗生物質 helvolic acid の生合成マシナリーの構築を目指し、酵母での 3 遺伝子共発現系を利用し、生合成各段階の中間体を確認しながら重要中間体の合成に成功した。

佐藤 努（新潟大自然科学）は、これまで報告例のない炭素数 35 個のテルペンの環化酵素をゲノムデータの合理的探索から絞り込み、候補遺伝子を大腸菌で発現させることにより、目的遺伝子を同定し、単に相同性に基づくバイオインフォマティクスによる従来の探索では見いだせない新たな類縁遺伝子群を同定する方法論を提唱した (JACS - 2 報、図 A01-10)。

邊見（名大生命農学）は、これまで例のない古細菌由来の脂質生産を、予め生産される生合成中間体の定量、構造解析を終えた後、4 種の生合成酵素遺伝子を組込んだ大腸菌で生合成マシナリーを再構築して達成した (PNAS, 2011)。併せて古細菌におけるイソプレノイド生合成全体のフローに関わるメバロン酸経路の酵素についても解析した。

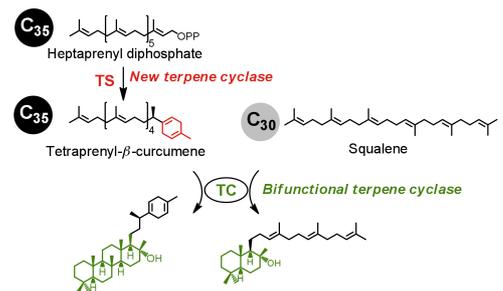


図 A01-10 新規プレニル基転移酵素の触媒反応

## A02 生合成マシナリー構築のための多種遺伝子発現系および最適化宿主の構築

池田（北里大生命研）は、多数かつ巨大な酵素遺伝子が関与する細菌由来の天然物質を工業規模抗生物質生産菌 *Streptomyces avermitilis* への生合成マシナリー遺伝子導入法の確立を目指している。既に *S. avermitilis* が本来持つ生合成遺伝子群を除去した最適化宿主に対して、50 kb 弱のサイズのマシナリー遺伝子導入に成功していた (PNAS - 2 報)。今回は導入効率の低下、大腸菌での安定性などに問題がある 100 kb 程度の遺伝子群の導入に、本菌が持つ線状プラスミド SAP1 をベクターと用いる手法を開発した。これにより、20 種の天然物の生産に成功した。次いで、物質生産効率を向上させるため、RNA 合成酵素の  $\beta$  サブユニット (RpoB) のアミノ酸置換変異によって転写活性を向上させる *rpoB* 変異遺伝子を取得した。これらを遺伝子交換法によって目的の菌株に容易に導入する系を構築したところ、オリゴマシンの生成を増強することが判った。この他テルペン生合成マシナリー導入による pentalenolactone の *S. avermitilis* での生産に成功するとともに類似遺

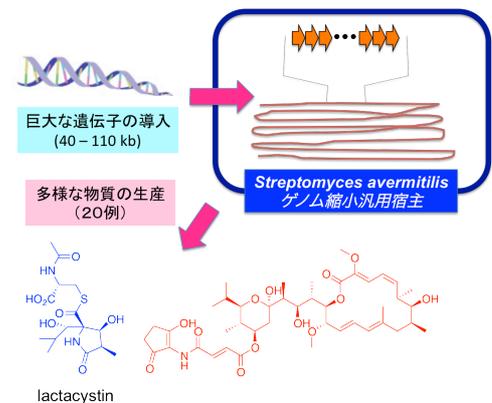


図 A02-1 巨大遺伝子群の異種導入法と物質生産

伝子の swapping による多様性創出機構を検討した (JACS, 2010、図 A02-1)。

**片岡** (信州大工) は、A02 池田と共同で、*S. avermitilis* 由来の伝達性線状プラスミド SAP1 の接合伝達に関する基本的性状を明らかにした。さらに将来的な合成生物学手法による天然物質生産マシナリー菌を設計するための基本技術となるであろう大型 DNA の操作方法について検討し、SAP1 の接合伝達能力を用いた大腸菌-放線菌-放線菌伝達システムを構築した。

**五味** (東北大院農) は、麴菌へ多数の遺伝子導入する際、使用可能な選択マーカー少なく導入株選抜の際で障害となっていた。そこで実績のある Cre/loxP システムを用いて選択マーカーを何度も使い回すシステムの開発を行った。予め Cre 遺伝子をゲノム上に導入株を調製した後、キャリア DNA と Cre を同時に作用させ効率よくマーカー遺伝子が除去できる系を確立した。麴菌での有用物質生産を行う上で、発現生合成酵素が細胞内のどこに局在し機能を発現しているかを知るため、A01 及川が生産に成功した組換え菌を用いて調べた。その結果一つの小器官に存在するのではなく、複数箇所分散することが判り、今後局在を意識した制御の重要性を確認した。

**濱野** (福井県大生物資源) は、ポリリジン生産菌で発見された 2 次代謝特異的に機能するプロモーター Ppls は、Ppls の制御系に関するプロモータープローブアッセイ、プロモーター結合タンパク質の同定などから、代表的放線菌 *S. lividans* においても 2 次代謝特異的に機能することが判った。そこで抗生物質ストレプトスリシンの生合成遺伝子について機能発現した結果良好な生産が確認された (Nat. Chem. Biol., Accepted)。

**水谷** (神戸大連合農学) は、微生物由来の天然物質を植物で生産する方法を検討した。まずは導入 P450 発現系を迅速に評価するための植物発現系として、タバコ (*Nicotiana benthamiana*) を利用したアグロインフィルトレーション法を構築し、非常に効率よく遺伝子導入可能なことを確認した。また、動物ミトコンドリア局在型 P450 と同様に N 末シグナルを付加することが可能な発現ベクターの構築に成功した。これにより原核生物型 P450 をタバコへ遺伝子導入し、代謝産物の変換を検討することが可能になった。

**尾仲** (富山県大工) は、タンパクキナーゼ特異的阻害剤スタウロsporin の生合成遺伝子群の破壊株を順次作製し、蓄積した生合成中間体を同定することによって、生合成経路を明らかにした。興味深い過程を in vitro で機能解析するとともに、鍵酵素の立体構造解析も行った。また、類似した生合成経路を持つピオラセインの生合成の鍵酵素・VioE の立体構造も明らかにした (図 A02-2)。

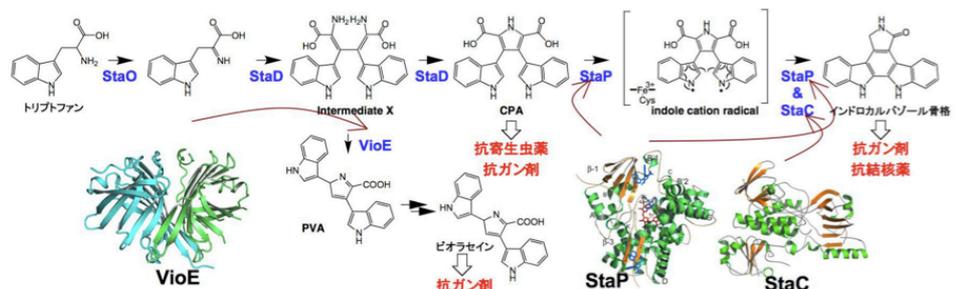


図 A02-2 インドロカルバゾール生合成経路の概要

**北川** (産総研) は、化合物変換能や有機溶媒耐性など優れた性質を持つロドコッカス属菌の新規宿主を生合成マシナリー構築のために開発した (図 A02-3)。外来プラスミドの保持安定性に問題があったため、検定用プラスミドベクターを作成し、80 株の野生株を対象に 10 継代の液体培養など徹底的なスクリーニングを行い、最終的に 2 株を選抜する事に成功した。またロドコッカス属菌で利用できる新規の発現ベクターの開発も進め、新規・未分類のタイプの複製領域を持つ野生型の小型環状プラスミドを発見する事に成功した。これにより最適化ロドコッカス宿主-発現ベクター系が提供可能となった。

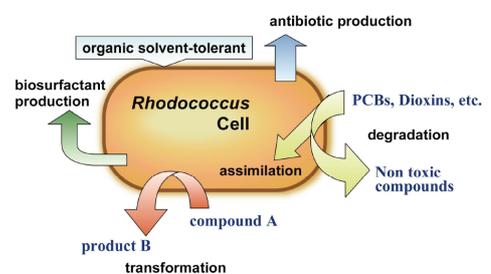


図 A02-3 優れた性質をもつロドコッカス属を宿主とした生合成マシナリーの構築

### A03 ゲノム、メタボローム解析情報に基づく二次代謝産物設計図の解説

**斉藤** (千葉大院薬) は、植物の持つ天然物合成のゲノム基盤を、メタボロミクスを基盤とした統合オミクスデータについて生合成に必須な遺伝子について生物情報学を駆使したゲノムマイニング手法の開発を目的とする。具体的には抗がん剤カンプトテシン生産細胞と非生産細胞のデープトランスクリプトーム解析を次世代シーケンサーによっておこない、代謝産物蓄積と関連付けて候補遺伝子を絞り込んだ (図 A03-1)。

また、血糖低下作用を有するキノリチジン型アルカロイドの育種された非含有変種を用いて、非生産種との比較トランスクリプトームとメタボロームの統合から絞られた生合成候補遺伝子について、組換えタンパク質と異種植物での発現による成分変化を指標にした機能同定をおこなった。その結果、キノリチジン型アルカロイド生合成の初発鍵段階を触媒するリジン脱炭酸酵素遺伝子を植物から初めて単離し、その *in vivo* での機能同定、タンパク質モデリングと変異導入による機能残基の決定に成功した (*Plant Cell*, 2012、新聞報道、図 A03-2)。

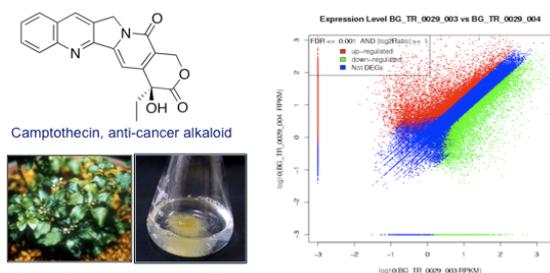


図 A03-1 抗癌アルカロイド、カンプトテシンの生合成遺伝子マイニング

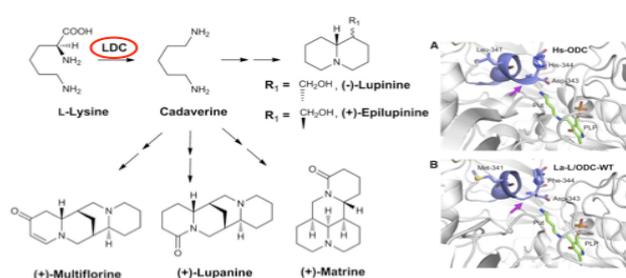


図 A03-2 キノリチジンアルカロイド生合成遺伝子のマイニング

**金谷** (奈良先端大院情報) が開発したデータベース KNApSACk には既に 5 万種の代謝物 (天然物質) が登録されているが、この登録数をさらに向上させるとともに、この代謝経路 (生合成経路) を個々の反応を触媒する酵素とリンクさせ、塩基およびアミノ酸配列情報と酵素、化合物をリンクしたデータベース *Motorcycle* の作成を行った。現在テルペン生合成遺伝子を中心に、2300 件のデータが入力済みで一般に公開している (図 A03-3)。

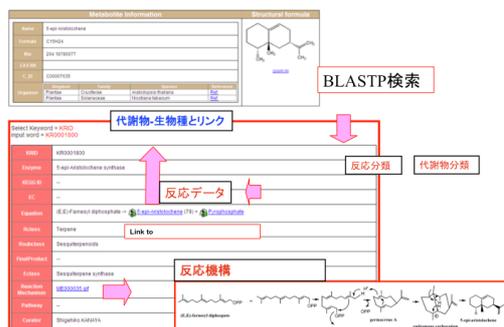


図 A03-3 KNApSACk の生合成経路検索および表示画面

**石川** (国立感染研) は、外注して得られる微生物ゲノム解析データから生合成マシナリーに関する有用データを抽出する Web ツール *2ndFind* を作成し、公開した。これまで多くの天然物質生合成遺伝子クラスターを解析した経験を生かし、機能解析が行われた生合成遺伝子の配列および機能が特徴的な部分 (Pfam による推測ドメイン) を抽出し、その有無により配列情報のみから、生合成マシナリー遺伝子を検出するものである。このほか次世代シーケンサーを用いたゲノム解析、ゲノムのアセンブル、標的酵素の機能のみからの予想遺伝子の絞り込みなど領域メンバーと多くの共同研究を行っている。

**有田** (東大院理学系) 糸状菌由来のポリケチド合成酵素 (PKS) は、ゲノム解析などにより急速にデータが蓄積され、系統的な分類が十分ではない。これまでに約 400 種の酵素のデータを収集した。これを巨大酵素 PKS のドメイン推定、相同性と化学構造の対応付け、生物種や関連文献を網羅した Wiki 形式でのデータベース化も順調に進展し、24 年度公開予定の生合成産物予測システム構築を行った。

**工藤** (東工大院理工) は、既にアミノグリコシド系抗生物質生合成遺伝子情報を集積し、主たる変換酵素の機能解析を終えている。今回マシナリーの機能比較から予想されたカナマイシン型抗生物質骨格合成における特徴的な遺伝子の機能解析を行い、カナマイシンにおける特異的脱アミノ化を触媒

する鍵酵素であることを明らかにした (*Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012)。

**田浦** (九大院薬) は、苔類オオケビラゴケ (*Radula perrottetii*) が大麻のカンナビノイドに類似物質 *perrottetinene* を生産することに注目し、これら物質の生合成酵素 (ポリケタイド合成酵素、プレニル転移酵素及び酸化閉環酵素の三種を予想) の探索および機能解析を行った。まずカンナビノイド生産種のコケを用いて cDNA ライブラリーを調製し、次世代シーケンサーで解析した。得られた配列のアセンブルを行い、数万単位のコンティグを含む EST データを構築した。次いで、予想生合成酵素群と相同性を示すコンティグを抽出し、PCR を行うなどして完全長の遺伝子配列を決定した。これによりオオケビラゴケから候補遺伝子をそれぞれ 6、8 および 4 種クローン化することに成功し、大腸菌あるいは酵母を宿主としてそれぞれの組み換え酵素発現系を構築して機能解析を進めた。

**藤井** (岩手医大薬) は、自ら行った糸状菌ポリケタイド型代謝産物の発現機能解析から得た知見を基に、推定アミノ酸配列からユニークな構造を持つ物質の選択的発現生産を検討した。代表的な海生糸状菌 (*Phomopsis sp.* TUF 95F47 および *Emericella varicolor* GF10) のポリケタイド型代謝産物の生産を行うべく、ドラフトゲノムデータをもとに保存性の高い PKS 縮合酵素領域を同定し、実際に全長を PCR で増幅し、Gateway 法により糸状菌の発現プラスミド pTAexR に組み込み、構築した発現プラスミドを麹菌 *A. oryzae* M-2-3 に形質転換・導入した。誘導培養により特異的な化合物の生産を確認し、その単離と構造解析を進めた。

**明石** (日大生物資源) は、植物の特定部位で作成した cDNA をもとに網羅的に発現させた生合成マシナリーライブラリーに関して、従来二次代謝系研究でほとんど用いられなかった新手法「発現スクリーニング」により目的遺伝子を同定する方法論を開発した。これを適用し、アヤメ属植物から非常に高い活性を持つイソフラボンをつくる酵素遺伝子を同定した。植物エストロゲンとして注目され、またマメ科の活性物質として重要なイソフラボンの組換え酵母や植物での生産を試み、従来より約 100 倍高い物質生産に成功した。さらにダイズの抗菌物質の生合成の解析を行い、関与するプレニル転移酵素遺伝子の全容を明らかにした (図 A03-4)。

**鈴木** (かずさ DNA 研) は、植物二次代謝生合成の研究推進のため、次世代シーケンサーによる EST 情報の有効活用を提案している。今回、ミヤコグサ由来の新規フラボノイド水酸化酵素 (8 位の水酸化酵素) の存在をメタボローム解析で明らかにし、ミヤコグサの EST 情報を活用することで、遺伝子の単離および機能解析に成功した (図 A03-5)。

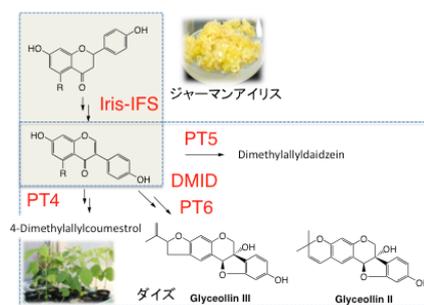


図 A03-4 発現スクリーニング法を用いた標的酵素遺伝子の取得

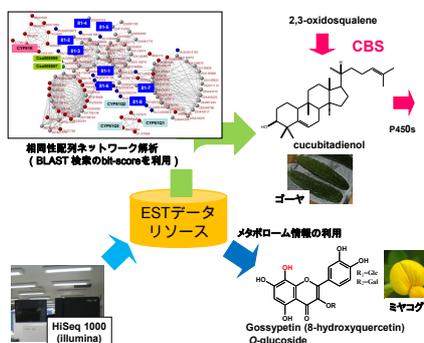


図 A03-5 オミクス解析を駆使した特定植物から標的酵素遺伝子の取得

## 5. 研究成果の公表の状況

現在までの論文の総数は 153 報（うち IF 5 以上のものは 44 報）であった。

### 研究成果集計結果

	原著論文	総説等	著書	特許出願	国際発表	国内発表	共著論文	表紙掲載	受賞	新聞報道
22 年度	26 件	4 件	8 件	0 件	27 件	7 件	2 件	1 件	6 件	0 件
23 年度	95 件	30 件	10 件	3 件	59 件	17 件	11 件	3 件	7 件	15 件
24 年度	32 件	20 件	4 件	0 件	9 件	18 件	5 件	0 件	6 件	7 件
合計	153 件	54 件	22 件	3 件	95 件	42 件	18 件	4 件	19 件	22 件

### (1) 主な論文等一覧について

#### 【 原著論文 】

##### <A01 班>

1. K. Kasahara, T. Miyamoto, T. Fujimoto, H. Oguri, T. Tokiwano, H. Oikawa\*, Y. Ebizuka and I. Fujii, Solanapyrone synthase, a possible Diels-Alderase, and iterative type I polyketide synthase encoded in a biosynthetic gene cluster from *Alternaria solani*. *ChemBioChem*, 11, 1245-1252 (2010).
2. K. Koketsu, K. Watanabe, H. Suda, H. Oguri and H. Oikawa\*, Reconstruction of the Saframycin Core Scaffold Defines Dual Pictet-Spengler Mechanisms. *Nat. Chem. Biol.*, Vol 6, No 6, 408-410 (2010).
3. Y. Ishigaki, V. Mahendar, H. Oguri and H. Oikawa\*, An anti-tetraamination of a 1,3-diene unit via cascade annulations of the azulenone scaffold with dicarbonyl azo-compounds, *Chem. Commun.* Vol. 46, 3304-3305 (2010).
4. Y. Matsuura, Y. Shichijo, A. Minami, A. Migita, H. Oguri, M. Watanabe, T. Tokiwano, K. Watanabe and H. Oikawa\*, Intriguing Substrate Tolerance of Epoxide Hydrolase Lsd19 Involved in Biosynthesis of the Ionophore Antibiotic Lasalocid A. *Org. Lett.*, Vol. 12, No. 10, 2226-2229 (2010).
5. A. Minami, A. Migita, D. Inada, K. Hotta, K. Watanabe, H. Oguri and H. Oikawa\*, Enzymatic Epoxide-opening Cascades Catalyzed by a Pair of Epoxide Hydrolases in the Ionophore Polyether Biosynthesis. *Org. Lett.*, Vol. 13, No. 7, 1638-1641 (2011).
6. H. Oguri\*, T. Hiruma, Y. Yamagishi, H. Oikawa, A. Ishiyama, K. Otoguro, H. Yamada and S. Omura, Generation of Anti-trypanosomal Agents through Concise Synthesis and Structural Diversification of Sesquiterpene Analogues, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 133, No. 18, 7096-7105 (2011).
7. Y. Hirose, K. Watanabe, A. Minami, T. Nakamura, H. Oguri and H. Oikawa\*, Involvement of Common Intermediate L-3-Hydroxy-knyurenine in the Chromophore Biosynthesis of Quinomycin Family Antibiotics, *J. Antibiot.*, Vol. 64, No. 1, 117-122 (2011).
8. O. Ariyawutthiphan, T. Ose\*, M. Tsuda, Y. -G. Gao, M. Yao, A. Minami, H. Oikawa and I. Tanaka, Crystallization and Preliminary X-ray Crystallographic Study of a Methyltransferase involved in 2-Methylisoborneol (2-MIB) Biosynthesis in *Streptomyces lasaliensis*. *Acta Crystallogr. Sect F Struct. Biol. Cryst. Commun.*, Vol. 67, 417-420 (2011).
9. K. Sato, A. Minami, T. Ose, H. Oguri and H. Oikawa\*, Remarkable synergistic effect between MonBI and MonBII on epoxide opening reaction in ionophore polyether monensin biosynthesis. *Tetrahedron Lett.*, Vol. 52, No, 41, 5277-5280 (2011).
10. R. Fujii, A. Minami, T. Tsukagoshi, N. Sato, T. Sahara, S. Ohgiya, K. Gomi and H. Oikawa\*, Total Biosynthesis of Diterpene Aphidicolin, a specific inhibitor of DNA polymerase  $\alpha$ : Heterologous Expression of Four Biosynthetic Genes in *Aspergillus oryzae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 75, No. 9, 1813-1817 (2011).
11. K. Hotta, X. Chen, R. S. Paton, A. Minami, H. Li, K. Swamina-than, I. Mathews, K. Watanabe, H. Oikawa, K. N. Houk and C.-Y. Kim\*, Enzymatic Catalysis of Anti-Baldwin Ring-Closure in Polyether Biosynthesis. *Nature*, 483, 355-359 (2012).
12. A. Minami, M. Shimaya, G. Suzuki, A. Migita, A. Migita, S. S. Shinde, K. Sato, K. Watanabe, T. Tamura, H. Oguri and H. Oikawa\*, Sequential enzymatic epoxidation involved in polyether lasalocid biosynthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, 134, 7246-7249 (2012).
13. F. Kudo, A. Moteji, K. Mizoue and T. Eguchi\*, Cloning and Characterization of the Biosynthetic Gene Cluster of 16-Membered Macrolide Antibiotic FD-891: Involvement of a Dual Functional Cytochrome P450 Monooxygenase Catalyzing Epoxidation and Hydroxylation, *ChemBioChem*, Vol. 11, 1574-1582 (2010).
14. Q. Xu, T. Eguchi, I. I. Mathews, C. L. Rife, H.-J. Chiu, C. L. Farr, J. Feuerhelm, L. Jaroszewski, H. E. Klock, M. W. Knuth, M. D. Miller, D. Weekes, M.-A. Elsliger, A. M. Deacon, A. Godzik, S. A. Lesley and I. A. Wilson\*, Insights into Substrate Specificity of Geranylgeranyl Reductases Revealed by the Structure of Digeranylgeranyl-glycerophospholipid Reductase from *Thermoplasma acidophilum*, an Essential Enzyme in the Biosynthesis of Archaeal Membrane Lipids, *J. Mol. Biol.*, Vol. 404, 403-417 (2010).
15. Y. Shinohara, F. Kudo and T. Eguchi\*, A Natural Protecting Group Strategy To Carry an Amino Acid Starter Unit in the

Biosynthesis of Macrolactam Polyketide Antibiotics, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 133, No. 45, 18134–18137 (2011).

16. T. Hoshino, E. Nango, S. Baba, T. Eguchi and T. Kumasaka\*, Crystallization and Preliminary X-ray Analysis of Isopentenyl Diphosphate Isomerase from *Methanocaldococcus jannaschii*, *Acta Cryst.* Vol. F67, 101-103 (2011).
17. F. Kudo, T. Yonezawa, A. Komatsubara, K. Mizoue and T. Eguchi\*, Cloning of the Biosynthetic Gene Cluster for Naphthoxanthene Antibiotic FD-594 from *Streptomyces* sp. TA-0256, *J. Antibiot.*, Vol. 64, 123-132 (2011).
18. K. Amagai, F. Kudo and T. Eguchi\*, Biosynthetic Pathway of Macrolactam Polyketide Antibiotic Cremimycin. *Tetrahedron*, Vol. 67, No. 44, 8559-8563 (2011).
19. H. Sucipto, F. Kudo and T. Eguchi\*, The Last Step of Kanamycin Biosynthesis: A Unique Deamination Reaction Catalyzed by an a-Ketoglutarate-dependent Nonheme Iron Dioxygenase KanJ and an NADPH Dependent Reductase KanK. *Angew. Chem. Int. Ed.* Vol. 51, No. 14, 3428-3431 (2012).
20. F. Kudo, Y. Asou, M. Watanabe, T. Kitayama and T. Eguchi\*, Potent Oligomerization and Macrocyclization Activity of the Thioesterase Domain of Vicenistatin Polyketide Synthase. *Synlett*, in press.
21. H. Morita, Y. Shimokawa, M. Tanio, R. Kato, H. Noguchi, S. Sugio, T. Kohno, I. Abe\*, A Structure-Based Mechanism for Benzalacetone Synthase from *Rheum palmatum*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 669-673 (2010).
22. H. Morita, K. Wanibuchi, H. Nii, R. Kato, S. Sugio, I. Abe\*, Structural Basis for The One-pot Formation of The Diarylheptanoid Scaffold by Curcuminoid Synthase from *Oryza sativa*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 19778-19783 (2010).
23. T. Itoh, K. Tokunaga, Y. Matsuda, I. Fujii, I. Abe\*, Y. Ebizuka, T. Kushiro, Reconstitution of A Fungal Meroterpenoid Biosynthesis Reveals The Involvement of A Novel Family of Terpene Cyclases, *Nature Chemistry* 2, 858-864 (2010).
24. D. Cook, A. M. Rimando, T. E. Clemente, F. E. Dayan, N. P. D. Nanayakkara, J. Schröder, Z. Pan, B. P. Noonan, M. Fishbein, I. Abe, S. O. Duke, S. R. Baerson\*, Alkylresorcinol Synthases from *Sorghum bicolor* Involved in The Biosynthesis of The Allelopathic Benzoquinone Sorgoleone, *Plant Cell* 22, 867-887 (2010).
25. M. Kimura, T. Kushiro, M. Shibuya, Y. Ebizuka, I. Abe\*, Protostadienol Synthase from *Aspergillus fumigatus*: Functional Conversion into Lanosterol Synthase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 391, 899-902 (2010).
26. H. Morita, K. Wanibuchi, R. Kato, S. Sugio, I. Abe\*, Expression, Purification, and Crystallographic of A Plant Type III Polyketide Synthase that Produces Curcuminoid, *Acta Crystallogr., Sect. F: Struct. Biol. Cryst. Commun.* 66, 948-950 (2010).
27. Y. Shimokawa, H. Morita, I. Abe\*, Structure-Based Engineering of Benzalacetone Synthase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20, 5099-5103 (2010).
28. H. Morita, M. Yamashita, S.-P. Shi, T. Wakimoto, S. Kondo, R. Kato, S. Sugio, T. Kohno, I. Abe\*, Synthesis of unnatural alkaloid scaffolds by exploiting plant polyketide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 108, 13504-13509 (2011).
29. T. Wakimoto, T. Mori, H. Morita, I. Abe\*, Cytotoxic tetramic acid derivative produced by a plant type III polyketide synthase. *J. Am. Chem. Soc.*, 133, 4746-4749 (2011).
30. T. Wakimoto, H. Kondo, H. Nii, K. Kimura, Y. Egami, Y. Oka, M. Yoshida, E. Kida, Y.-p. Ye, S. Akahoshi, T. Asakawa, K. Matsumura, H. Ishida, H. Nukaya, K. Tsuji, T. Kan, I. Abe\*, Furan fatty acid as an anti-inflammatory component from green-lipped mussel *Perna canaliculus*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 108, 17533-17537 (2011).
31. H. Morita, K. Wanibuchi, R. Kato, S. Sugio, I. Abe\*, Crystallization and Preliminary X-ray Analysis of 4-Coumarate:CoA Ligase from *Arabidopsis thaliana*, *Acta Crystallogr., Sect. F: Struct. Biol. Cryst. Commun.* 67, in press (2011).
32. K. Wanibuchi, H. Morita, H. Noguchi, I. Abe\*, Enzymatic Formation of An Aromatic Dodecaketide by Engineered Plant Polyketide Synthase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21, 2083-2086 (2011).
33. H. Baharum, H. Morita, A. Tomitsuka, F.-C. Lee, K.-Y. Ng, R. A. Rahim, I. Abe, C.-L. Ho\*, Molecular Cloning, Modeling and Site-directed Mutagenesis of Type III Polyketide Synthase from *Sargassum binderi*, *Marine Biotech.* 13, 845-856 (2011).
34. H. Morita, T. Mori, K. Wanibuchi, R. Kato, S. Sugio, I. Abe\*, Crystallization and preliminary X-ray analysis of 4-coumarate:CoA ligase from *Arabidopsis thaliana*, *Acta Crystallogr., Sect. F: Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 67, 409-411 (2011).
35. K. Wanibuchi, H. Morita, H. Noguchi, I. Abe\*, Enzymatic formation of an aromatic dodecaketide by engineered plant polyketide synthase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 21, 2083-2086 (2011).
36. J. Chen, H. Morita, R. Kato, H. Noguchi, S. Sugio, I. Abe\*, Expression, purification, and crystallization of an indole prenyltransferase from *Aspergillus fumigatus*. *Acta Crystallogr., Sect. F: Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 68, 355-358 (2012).
37. N. Nualkaew, H. Morita, Y. Shimokawa, K. Kinjo, T. Kushiro, W. De-Eknamkul, Y. Ebizuka, I. Abe\*, Benzophenone synthase from *Garcinia mangostana* L. Pericarp. *Phytochemistry*, 73, 60-69 (2012).
38. M. Kimura, T. Wakimoto, Y. Egami, K. C. Tan, Y. Ise, I. Abe\*, Calyxamides A and B, cytotoxic cyclic peptides from the marine sponge *Discodermia calyx*. *J. Nat. Prod.*, 75, 290-294 (2012).
39. J. Chen, H. Morita, T. Wakimoto, T. Mori, H. Noguchi, I. Abe\*, Prenylation of a non-aromatic carbon of indolylbutenone by a fungal indole prenyltransferase, *Org. Lett.*, 14, 3080-3083 (2012).

40. T. Wakimoto, I. Abe\*, Labile natural products, *MedChemComm*, 3, in press (2012).
41. R. He, T. Wakimoto, Y. Takeshige, Y. Egami, H. Kenmoku, T. Ito, B. Wang, Y. Asakawa, I. Abe\*, Porphyrins from a metagenomic library of the marine sponge *Discodermia calyx*, *Mol. BioSyst.*, 6, in press (2012).
42. J. Chen, H. Morita, R. Kato, H. Noguchi, S. Sugio, I. Abe\*, Expression, purification, and crystallization of an indole prenyltransferase from *Aspergillus fumigatus*, *Acta Crystallogr., Sect. F: Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 68, 355-358 (2012).
43. Y. Shimokawa, H. Morita, I. Abe\*, Benzalacetone synthase, *Frontiers in Plant Science*, 3, Article 57 (2012).
44. T. Awakawa, T. Kaji, T. Wakimoto, I. Abe\*, A heptaketide naphthaldehyde produced by a polyketide synthase from *Nectria haematococca*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 4338-4340 (2012).
45. E. Okamura, T. Tomita, R. Sawa, M. Nishiyama and T. Kuzuyama\*, Unprecedented acetoacetyl-coenzyme A synthesizing enzyme of the thiolase superfamily involved in the mevalonate pathway., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 11265-11270 (2010).
46. T. Kumano, T. Tomita, M. Nishiyama and T. Kuzuyama\*, Functional characterization of the promiscuous prenyltransferase responsible for furuquinocin biosynthesis: identification of a physiological polyketide substrate and its prenylated reaction products. *J Biol Chem* 285, 39663-71 (2010).
47. Y. Ono, A. Minami, M. Noike, Y. Higuchi, T. Toyomasu, T. Sassa, N. Kato and T. Dairi\*, Dioxygenases, key enzymes to determine the aglycon structures of fusicoccin and brassicene, diterpene compounds produced by fungi. *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 133, 2548-2555 (2011).
48. S. Takahashi, A. Toyoda, Y. Sekiyama, H. Takagi, T. Nogawa, M. Uramoto, R. Suzuki, H. Koshino, T. Kumano, S. Panthee, T. Dairi, J. Ishikawa, H. Ikeda, Y. Sakaki and H. Osada\*, Reveromycin A biosynthesis uses RevG and RevJ for stereospecific spiroacetal formation. *Nat. Chem. Biol.*, Vol. 7, 461-468 (2011).
49. R. Tanaka, T. Kunisada, N. Kushida, K. Yamada, S. Ikeda, M. Noike, Y. Ono, N. Itoh, H. Takami, H. Seto and T. Dairi\*, Branched fatty acids inhibit the biosynthesis of menaquinone in *Helicobacter pylori*. *J. Antibiot.*, Vol. 64, 151-153 (2011).
50. C. Arakawa, K. Furihata, T. Hiratsuka, N. Itoh, H. Seto and T. Dairi\*, Diversity of the early step of the futasoline pathway. *Antimicrob Agents Chemother.*, Vol. 55, 913-916 (2011).
51. X. Han, Y. Satoh, T. Satoh, T. Kakuchi, K. Matsumoto, S. Taguchi, T. Dairi, M. Munekata and K. Tajima\*, Enzymatic polymerization of 2-hydroxyalkanoates: copolymerization of 2-hydroxybutyrate by wild-type class I PHA synthase. *Appl. Microbiol. Biotech.*, Vol. 92, 509-517 (2011).
52. Y. Satoh, K. Tajima, S. Nakamoto, H. Xuerong, T. Matsushima, T. Ohshima, S. Kawano, T. Erata, T. Dairi and M. Munekata\*, Isolation of a Thermotolerant Bacterium Producing Medium-chain-length Polyhydroxyalkanoate. *J. Appl. Microbiol.*, Vol. 111, 811-817 (2011).
53. A. Yajima, S. Kouno, M. Mogi, R. Katsuta, T. Dairi, H. Seto and T. Nukada\*, Synthesis of (±)-cyclic de-hypoxanthine futasoline, the biosynthetic intermediate in an alternative biosynthetic pathway for menaquinones, *Tetrahedron Lett.*, Vol. 52, 4934-4937 (2011).
54. M. Noike, C. Liu, Y. Ono, Y. Hamano, T. Toyomasu, T. Sassa, N. Kato and T. Dairi\*, An Enzyme Catalyzing O-Prenylation of the Glucose Moiety of Fusicoccin A, a Diterpene Glucoside Produced by Fungus, *ChemBioChem.*, 13, 566-573 (2012).
55. Y. Takahashi, T. Kubota, A. Shibasaki, T. Gono, J. Fromont, J. Kobayashi\*, Nakijinamines C–E, new heteroaromatic alkaloids from the sponge *Suberites* species., *Org. Lett.* Vol. 13, No. 12, 3016–3019 (2011).
56. Y. Takahashi, Y. Iinuma, T. Kubota, M. Tsuda, M. Sekiguchi, Y. Mikami, J. Fromont, J. Kobayashi\*, Hyrtioseragamines A and B, new alkaloids from the sponge *Hyrtios* species., *Org. Lett.* Vol. 13, No. 4, 628–631 (2011).
57. T. Suzuki, T. Kubota and J. Kobayashi\*, Eudistomidins H-K, new b-carborine alkaloids from the Okinawan marine tunicate *Eudistoma glaucus*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* Vol. 21, No. 14, 4220–4223 (2011).
58. K. Ishiuchi, T. Kubota, H. Ishiyama, S. Hayashi, T. Shibata, K. Mori, Y. Obara, N. Nakahata, J. Kobayashi\*, Lyconadins D and E, and complanadine D, new *Lycopodium* alkaloids from *Lycopodium complanatum*, *Bioorg. Med. Chem.* Vol. 21, No. 2, 749–753 (2011).
59. K. Ishiuchi, T. Kubota, H. Ishiyama, S. Hayashi, T. Shibata, J. Kobayashi\*, Lyconadins C and F, new *Lycopodium* alkaloids from *Lycopodium complanatum*, *Tetrahedron Lett.* Vol. 52, No. 2, 289-292 (2011).
60. K. Kura, T. Kubota, J. Fromont, J. Kobayashi\*, Pyrinodemins E and F, new 3-alkylpyridine alkaloids from sponge *Amphimedon* sp, *Bioorg. Med. Chem.* Vol. 21, No. 1, 267-270 (2011).
61. S. Matsunaga, M. Jimbo, M. B. Gill, LL. Lash-Van Wyhe, M. Murata, K. Nonomura, GT. Swanson, R. Sakai\*, Isolation, Amino Acid Sequence and Biological Activities of Novel Long-Chain Polyamine-Associated Peptide Toxins from the Sponge *Axinysa aculeata*, *Chembiochem*, Vol.12, No.14, 2101-2227 (2011).
62. D. Freymann, Y. Nakamura, P. Focia, R. Sakai and G. Swanson\*, 2012. Structure of a tetrameric galectin from *Cinachyrella* sp. (Ball sponge). *Acta Crystallographica Section D*. in press.
63. K. Yamamoto, K. Yoon, K. Ueda, M. Hashimoto, J. R. Sparrow\*, A novel bisretinoid of retina is an Adduct on Glycerophosphoethanolamine, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 51, 9084-9090 (2011).

64. W. C. Tayone, S. Kanamaru, M. Honma, K. Tanaka, T. Nehira, M. Hashimoto\*, Absolute Stereochemistry of Novel Isochromanone Derivatives from *Leptosphaeria* sp. KTC 72, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **75**, 2390-2393 (2011).
65. S. Noguchi, S. Takemoto, S. Kidokoro, K. Yamamoto, M. Hashimoto\*, Syntheses of celotriose and celotetraose analogues as transition state mimics for mechanistic studies of cellulases, *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 3812–3830 (2011).
66. N. Akiyama, S. Noguchi, M. Hashimoto\*, Stereochemical differentiation in the Simmons-Smith reaction for cyclopropanated glucopyranose derivatives as molecular probes for glycosidases, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **75**, 1380-1382 (2011).
67. A. Zaharenko, G. Picolo, W. Ferreira, T. Murakami, K. Kazuma, M. Hashimoto, Y. Cury, J. de Freitas, K. Konno\*, A new analgesic acylamino acid from the venom of the sea anemone *Bunodosoma cangicum*, *J. Nat. Products*, **74**, 378–382 (2011).
68. T. C. Wilanfranco, M. Honma, S. Kanamaru, S. Noguchi, K. Tanaka, T. Nehira, M. Hashimoto\*, Stereochemical investigations of isochromenone and isobenzofuranone isolated from *Leptosphaeria* sp. KTC 727, *J. Nat. Prod.*, **74**, 425–429 (2011).
69. S. Kanamaru, M. Honma, T. Murakami, T. Tsushima, S. Kudo, K. Tanaka, K. Nihei, T. Nehira, M. Hashimoto\*, Absolute Stereochemistry of Altersolanol A and Alterporriol, *Chirality*, **24**, 137–146 (2012).
70. Y. Tashiro, H. Fukutlmi, K. Terakubo, K. Saito, D. Umeno\*, A nucleoside kinase as a dual selector for genetic switches and circuits., *Nuc. Acids Res.*, Vol.39, e12 (2011).
71. Y. Tashiro, A. Katabami, K. Saito and D. Umeno\*, A System for the Rapid Determination of the Mutation Spectrum in *Escherichia coli.*, *Anal. Chem.* Vol. 28, 95-101 (2012).
72. A. Nakagawa, H. Minami, J.S. Kim, T. Koyanagi, T. Katayama, F. Sato and H. Kumagai\*, A Bacterial Platform for Fermentative Production of Plant Alkaloids., *Nature Communications*, Vol. 2, Article number 326 (2011).
73. Y. Yamada, T. Koyama and F. Sato\*, Basic Helix-Loop-Helix Transcription Factors and Regulation of Alkaloid Biosynthesis, *Plant Signaling Behavior*, Vol 6, No 11, 1627-1630 (2011).
74. Y. Yamada, Y. Kokabu, K. Chaki, T. Yoshimoto, M. Ohgaki, S. Yoshida, N. Kato, T. Koyama and F. Sato\*, Isoquinoline Alkaloid Biosynthesis is Regulated by a Unique bHLH-type Transcription Factor in *Coptis japonica*, *Plant Cell Physiol.*, Vol. 52, No. 7, 1131–1141 (2011).
75. A. Nakagawa, H. Minami, J.S. Kim, T. Koyanagi, T. Katayama, F. Sato and H. Kumagai\*, Bench-top fermentative production of plant benzyloisoquinoline alkaloids using a bacterial platform. *Bioengineered Bugs*, **3**, 49-53, (2012).
76. T. Takemura, N. Ikezawa, K. Iwasa, F. Sato\*, Molecular cloning and characterization of a cytochrome P450 in sanguinarine biosynthesis from *Eschscholzia californica* cells, *Phytochemistry* (in press) doi:10.1016/j.phytochem.2012.02.013
77. S. Suzuki, K. Suda, N. Sakurai, Y. Ogata, T. Hattori, H. Suzuki, D. Shibata, T. Umezawa\*, Analysis of expressed sequence tags in developing secondary xylem and shoots of *Acacia mangium*. *J. Wood Sci.*, **57**, 40-46 (2011).
78. H. Seki\*, S. Sawai\*, K. Ohyama\*, M. Mizutani, T. Ohnishi, H. Sudo, E.O. Fukushima, T. Akashi, T. Aoki, K. Saito and T. Muranaka (\*equal contribution), Triterpene functional genomics in licorice for identification of CYP72A154 involved in the biosynthesis of glycyrrhizin., *Plant Cell*, Vol. 23, 4112-4123 (2011).
79. E.O. Fukushima\*, H. Seki\*, K. Ohyama, E. Ono, N. Umemoto, M. Mizutani, K. Saito and T. Muranaka (\*equal contribution), CYP716A subfamily members are multifunctional oxidases in triterpenoid biosynthesis., *Plant Cell Physiol.*, Vol. 52, 2050-2061 (2011).
80. M. Kunii, Y. Kitahama, E.O. Fukushima, H. Seki, T. Muranaka, Y. Yoshida, Y\*. Aoyama, *Biol. Pharm. Bull.* **35**, (5), 801-804 (2012).
81. M. J. Belousoff, T. Shapira, A. Bashan, E. Zimmerman, H. Rozenberg, K. Arakawa, H. Kinashi and A. Yonath\*, Crystal structure of the synergistic antibiotic pair, lankamycin and lankacidin, in complex with the large ribosomal subunit, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 108, No. 7, 2717-2722 (2011).
82. K. Arakawa\*, Z. Cao, N. Suzuki and H. Kinashi, Isolation, structural elucidation, and biosynthesis of 15-norlankamycin derivatives produced by a type-II thioesterase disruptant of *Streptomyces rochei*, *Tetrahedron*, Vol. 67, No. 29, 5199-5205 (2011).
83. Y. Yang, T. Kurokawa, Y. Takahama, Y. Nindita, S. Mochizuki, K. Arakawa\*, S. Endo and H. Kinashi, pSLA2-M of *Streptomyces rochei* is a composite linear plasmid characterized by self-defense genes and homology with pSLA2-L, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 75, No. 6, 1147-1153 (2011).
84. K. Arakawa\*, N. Tsuda, A. Taniguchi and H. Kinashi, The butenolide signaling molecules, SRB1 and SRB2, that induce lankacidin and lankamycin production in *Streptomyces rochei*, *ChemBioChem*, in press (2012).
85. M. J. Fujita\*, N. Kimura, A. Sakai, Y. Ichikawa, T. Hanyu, M. Otsuka, Cloning and heterologous expression of the vibrioferrin biosynthetic gene cluster from a marine metagenomic library, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 75, No. 12, 2283-2287 (2011).
86. M. J. Fujita\*, N. Kimura, H. Yokose, M. Otsuka, Heterologous production of bisucaberin using a biosynthetic gene cluster cloned from a deep sea metagenome, *Mol. BioSyst.*, Vol 8, 482-485 (2012).
87. J. M. Finefield, H. Kato, T. J. Greshock, D. H. Sherman, S. Tsukamoto and R. M. Williams\*, Biosynthetic Studies of the Notoamides: Isotopic Synthesis of Stephacidin A and Incorporation into Notoamide B., *Org. Lett.*, Vol. 13, No. 15, 3802-3805

(2011).

88. H. Kato, Y. Nakamura, J. M. Finefield, H. Umaoka, T. Nakahara, R. M. Williams and S. Tsukamoto\*, Study on the Biosynthesis of the Notoamides: Pinacol-type Rearrangement of Isoprenyl Unit in Deoxybrevianamide E and 6-Hydroxydeoxybrevianamide E., *Tetrahedron Lett.*, Vol. 52, No. 51, 6923-6926 (2011).
89. J. M. Finefield, S. Tsukamoto, D. H. Sherman and R. M. Williams\*, Studies on the Biosynthesis of the Notoamides: Synthesis of an Isotopomers of 6-Hydroxydeoxybrevianamide E and Biosynthetic Incorporation into Notoamide J., *J. Org. Chem.*, Vol. 76, No. 15, 5954-5958 (2011).
90. J. M. Finefield, T. J. Greshock, D. H. Sherman, S. Tsukamoto and R. M. Williams\*, Notoamide E: Biosynthetic Incorporation into Notoamides C and D in Cultures of *Aspergillus versicolor* NRRL 35600, *Tetrahedron Lett.*, Vol. 52, No. 16, 1987-1989 (2011).
91. S. Li, K. Anand, H. Tran, F. Yu, J. M. Finefield, J. D. Sunderhaus, T. J. McAfoos, S. Tsukamoto, R. M. Williams and D. H. Sherman\*, Comparative Analysis of the Biosynthetic Systems for Fungal Bicyclo[2.2.2]diazoctane Indole Alkaloids: the (+)/(-)-Notoamide, Paraherquamide and Malbrancheamide Pathways, *MedChemComm.*, in press (2012).
92. T. Hayashi, Y. Kitamura, N. Funa, Y. Ohnishi and S. Horinouchi\*, Fatty acyl-AMP ligase involvement in the production of alkylresorcylic acid by a *Mycococcus xanthus* type III polyketide synthase, *Chembiochem*, Vol. 12, No. 14, 2166-2176 (2011).
93. T. Taguchi, S. Okamoto, K. Hasegawa, K. Ichinose\*, Epoxyquinone formation catalyzed by a flavin-dependent monooxygenase involved in biosynthesis of the antibiotic actinorhodin, *ChemBioChem.*, Vol 12, 2767-2773 (2011).
94. T. Taguchi, T. Ebihara, A. Furukawa, Y. Hidaka, R. Ariga, S. Okamoto, K. Ichinose\*, Identification of the actinorhodin monomer and its related compound from a deletion mutant of the actVA-ORF4 gene of *Streptomyces coelicolor* A3(2) *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, in press.
95. K.M. Madsen, G.D. Udatha, S. Semba, J.M. Otero, P. Koetter, J. Nielsen, Y. Ebizuka, T. Kushiro\*, G. Panagiotou, Linking genotype and phenotype of *Saccharomyces cerevisiae* strains reveals metabolic engineering targets and leads to triterpene hyper-producers, *PLoS One* Vol. 6, No. 3, e14763 (2011).
96. M. Okamoto, T. Kushiro, Y. Jikumaru, S.R. Abrams, Y. Kamiya, M. Seki, E. Nambara\*, ABA 9'-hydroxylation is catalyzed by CYP707A in Arabidopsis, *Phytochemistry* Vol. 72, No. 8, 717-722 (2011).
97. T. Itoh, K. Tokunaga, E. K. Radhakrishnan, I. Fujii, I. Abe, Y. Ebizuka, T. Kushiro\*, Identification of a key prenyltransferase involved in biosynthesis of the most abundant fungal meroterpenoids derived from 3,5-dimethylorsellinic acid, *ChemBioChem* in press, Article first published online: 30 APR (2012).
98. T. Sato\*, S. Yoshida, H. Hoshino, M. Tanno, M. Nakajima, T. Hoshino, Sesquiterpenes (C<sub>35</sub> terpenes) biosynthesized via the cyclization of a linear C<sub>35</sub> isoprenoid by a tetraprenyl-*b*-curcumene synthase and a tetraprenyl-*b*-curcumene cyclase: identification of a new terpene cyclase., *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 133, 9734-9737 (2011).
99. T. Sato\*, H. Hoshino, S. Yoshida, M. Nakajima, T. Hoshino, Bifunctional triterpene/sesquiterpene cyclase: tetraprenyl-*b*-curcumene cyclase is also squalene cyclase in *Bacillus megaterium.*, *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 133, 17540-17543 (2011).
100. R. Ito, K. Mori, I. Hashimoto, C. Nakano, T. Sato, T. Hoshino\*, Triterpene cyclases from *Oryza sativa* L.: cycloartenol, parkeol and achilleol B synthases., *Org. Lett.* Vol. 13, 2678-2681 (2011).
101. T. Sato\*, E. Ono, M. Nakajima, C. Nakano and T. Hoshino, Insight into the pathway for biosynthesis of sesquiterpenes in nonpathogenic Mycobacterium species: Identification of heptaprenylcycli-14E,18E-diene., *Tetrahedron Lett.*, Vol. 53, 2522-2524 (2012).
102. T. Nagai, H. Unno, M.W. Janczak, T. Yoshimura, C.D. Poulter and H. Hemmi\*, Covalent modification of reduced flavin mononucleotide in type-2 isopentenyl diphosphate isomerase by active-site-directed inhibitors, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, Vol. 108, No. 51, 20461-20466 (2011).
103. D. Sasaki, M. Fujihashi, Y. Iwata, M. Murakami, T. Yoshimura, H. Hemmi and K. Miki\*, Structure and mutation analysis of archaeal geranylgeranyl reductase, *J. Mol. Biol.*, Vol. 409, No. 4, 543-557 (2011).
104. T. Ogawa, T. Yoshimura and H. Hemmi\*, Connected cavity structure enables prenyl elongation across the dimer interface in mutated geranylgeranyl diphosphate synthase from *Methanosarcina mazei*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 409, No. 2, 333-337 (2011).
105. T. Yokoi, K. Isobe, T. Yoshimura and H. Hemmi\*, Archaeal phospholipid biosynthetic pathway reconstructed in *Escherichia coli*, *Archaea*. Vol. 2012, ID 438931 (2012).
106. H. Nakatani, S. Goda, H. Unno, T. Nagai, T. Yoshimura and H. Hemmi\*, Substrate-induced change in the quaternary structure of type 2 isopentenyl diphosphate isomerase from *Sulfolobus shibatae*, *J. Bacteriol.* Vol. 194, No. 12, 3216-3224 (2012).
107. A. Umetsu, Y. Sawada, W. Mitsuhashi, M. Mazier, and T. Toyomasu\*, Characterization of a loss-of-function mutant of gibberellin biosynthetic gene *LsGA3ox1* in lettuce. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75: 2398-2400 (2011).
108. M. L. Hillwig, M. Xu, T. Toyomasu, M. S. Tiernan, G. Wei, G.nCui, L. Huang, and R. J. Peters\*, Domain loss has independently occurred multiple times in plant terpene synthase evolution. *Plant J.*, 68: 1051-1060 (2011).

<A02 班>

109. N. Ichikawa, A. Oguchi, H. Ikeda, J. Ishikawa, S. Kitani, Y. Watanabe, S. Nakamura, Y. Katano, E. Kishi, M. Sasagawa, A. Ankai, S. Fukui, Y. Hashimoto, S. Kamata, M. Otaguro, T. Nihira, S. Horinouchi, Y. Ohnishi, M. Hayakawa, T. Kuzuyama, A. Arisawa, F. Nomoto, H. Miura, Y. Takahashi, N. Fijita\*, Genome sequence of *Kitasatospora setae* NBRC 14216<sup>T</sup>: An evolutionary snapshot of the family *Streptomycetaceae*. *DNA Res.* 17, 393-406 (2010).
110. X. Lin, S. Fushinobu, S. Takamatsu, T. Wakagi, H. Ikeda, H. Shoun\*, Regio- and stereospecificity of filipin hydroxylation sites revealed by crystal structure of cytochrome P450 105P1 and 105D6 from *Streptomyces avermitilis*., *J. Biol. Chem.* 285, 16844-16853 (2010).
111. W. K. W. Chou, I. Fanizza, T. Uchiyama, M. Komatsu, H. Ikeda, D. E. Cane\*, Genome mining in *Streptomyces avermitilis*: Cloning and characterization of SAV\_76, the synthase for a new sesquiterpene. avermitilol., *J. Am. Chem. Soc.* 132: 8850-8851 (2010).
112. M. Komatsu, Uchiyama, Takuma, D. E. Cane, S. Omura\*, H. Ikeda\*, Genome-minimized *Streptomyces* host for the heterologous expression of secondary metabolism., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107, 2646-2651 (2010)
113. S. Kitani, K. T. Miyamoto, S. Takamatsu, E. Herawati, H. Iguchi, K. Nishitomi, M. Uchida, T. Nagamitsu, S. Omura\*, H. Ikeda\*, T. Nihira\*, Avenolide, a *Streptomyces* hormone controlling antibiotic production in *Streptomyces avermitilis*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 16410-16415 (2011).
114. D. Zhu, M. -J. Seo, H. Ikeda, D. E. Cane\*, Genome mining in *Streptomyces*. Discovery of an unprecedented P450-catalyzed oxidative rearrangement that is the final step in the biosynthesis of pentalenolactone, *J. Am. Chem. Soc.* 133, 2128-2131 (2011).
115. S. Takamatsu, X. Lin, A. Nara, M. Komatsu, D. E. Cane, H. Ikeda\*, Characterization of a silent sesquiterpenoid biosynthetic pathway in *Streptomyces avermitilis* controlling *epi*-isozizaene and albaflavenone biosynthesis and isolation of a new oxidized *epi*-isozizaene metabolite, *Microb. Biotechnol.* 4, 184-191 (2011).
116. S. Giglio, W. K. W. Chou, H. Ikeda, D. E. Cane\*, T. Monis, Biosynthesis of 2-methylisoborneol in *Cyanobacteria*., *Environ. Sci. Technol.* 45, 992-998 (2011).
117. A. Aroonsri, S. Kitani, H. Ikeda\*, Nihira, T\*. Kitasetaline, a novel  $\beta$ -carboline alkaloid from *Kitasatospora setae* NBRC 14216<sup>T</sup>. *J. Biosci. Bioeng.* doi:10.1016/j.jbiosc.2012.02.027 (2012).
118. J. Marui, S. Ohashi-Kunihiro, T. Ando, M. Nishimura, H. Koike, M. Machida\*, Penicillin biosynthesis in *Aspergillus oryzae* and its overproduction by genetic engineering, *J. Biosci. Bioeng.*, Vol. 110, 8-11 (2010).
119. Y. Terabayashi, M. Sano, N. Yamane, J. Marui, K. Tamano, J. Sagara, M. Dohmoto, K. Oda, E. Ohshima, K. Tachibana, Y. Higa, S. Ohashi, H. Koike, M. Machida\*, Identification and characterization of genes responsible for biosynthesis of kojic acid, an industrially important compound from *Aspergillus oryzae*, *Fungal Genet. Biol.*, Vol. 47, 953-961 (2010).
120. J. Marui, N. Yamane, S. Ohashi-Kunihiro, T. Ando, Y. Terabayashi, M. Sano, S. Ohashi, E. Ohshima, K. Tachibana, Y. Higa, M. Nishimura, H. Koike and M. Machida\*, Kojic acid biosynthesis in *Aspergillus oryzae* is regulated by a Zn(II)(2)Cys(6) transcriptional activator and induced by kojic acid at the transcriptional level, *J. Biosci. Bioeng.*, Vol. 112, No. 1, 40-43 (2011).
121. O. Mizutani, K. Masaki, K. Gomi and H. Iefuji\*, Modified Cre-loxP recombination in *Aspergillus oryzae* by direct introduction of Cre recombinase for marker gene rescue, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol 78, No 12, 4126-4133 (2012).
122. M. Kataoka\*, S. Yamamori, E. Suzuki, S. Watanabe, T. Sato, H. Miyaoka, S. Azuma, S. Ikegami, R. Kuwahara, R. Suzuki-Migishima, Y. Nakahara, I. Nihonmatsu, K. Inokuchi, Y. Katoh-Fukui, M. Yokoyama, M. Takahashi, A single amino acid mutation in SNAP-25 induces anxiety-related behavior in mouse, *PLoS One.* e25158 (2011).
123. J. H. Kim, M. Kataoka, A. Kumagai, H. Nishijima, Y. Amano, Y. A. Kim\*, M. Endo. Exocellulase Activity of Cellobiohydrolase Immobilized on DNA-Wrapped Single-Walled Carbon Nanotubes. *ChemSusChem.* 4, 1595-1597 (2011).
124. J. H. Kim, M. Kataoka, K. Fujisawa, T. Tojo, H. Muramatsu, S. Vega-Díaz, E. Tristan-Lopez, T. Hayashi, Y. A. Kim, M. Endo, M. Terrones, M. S\*. Dresselhaus, Unusually High Dispersion of Nitrogen-Doped Carbon Nanotubes in DNA Solution, *J. Phys. Chem. B.* 115, 14295-14300 (2011).
125. S. Asamizu, Y. Shiro, Y. Igarashi, S. Nagano, H. Onaka\*, Characterization and functional modification of StaC and RebC, which are involved in pyrrole oxidation of indolocarbazole biosynthesis, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 75, No. 11, 2184-2193 (2011).
126. T. Hatanaka, H. Onaka\*, Extracellular production of recombinant enzymes by *Streptomyces lividans*. *Current Trends in Microbiology*, Vol. 7, 53-59 (2011).
127. K. Sakai, N. Koyama, T. Fukuda, Y. Mori, H. Onaka, and H. Tomoda\*, Search method for inhibitors of Staphyloxanthin production by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biol. Pharm. Bull.*, Vol. 35, No. 1, 48-53 (2012).
128. H. Katano, C. Maruyama and Y. Hamano\*, Detection of biopolymer  $\epsilon$ -poly-L-lysine with molybdosilicate anion for screening of the synthetic enzymes, *Int. J. Polym. Anal. Charact.*, Vol. 16, No. 8, 542-550 (2011).
129. K. Yamanaka, N. Kito, A. Kita, Y. Imokawa, C. Maruyama, T. Utagawa and Y. Hamano\*, Development of a recombinant  $\epsilon$ -poly-L-lysine synthetase expression system to perform mutation analysis, *J. Biosci. Bioeng.*, Vol. 111, No. 6, 646-649 (2011).
130. H. Katano, R. Tanaka, C. Maruyama and Y. Hamano\*, Assay of enzymes forming AMP+PPi by the pyrophosphate determination

based on the formation of 18-molybdopyrophosphate, *Anal. Biochem.*, (in press)

131. C. Maruyama, J. Toyoda, Y. Kato, M. Izumikawa, M. Takagi, K. Shin-ya, H. Katano, T. Utagawa, and Y. Hamano\*, A stand-alone adenylation domain forms amide bonds in streptothricin biosynthesis. *Nat. Chem. Biol.* Accepted

<A03 班>

132. F. Matsuda, M. Y. Hirai, E. Sasaki, K. Akiyama, K. Yonekura-Sakakibara, N. J. Provart, T. Sakurai, Y. Shimada and K. Saito\*, AtMetExpress development: A phytochemical atlas of *Arabidopsis thaliana* development., *Plant Physiol.*, 152, 566-578 (2010)
133. M. Yamazaki, T. Asano, Y. Yamazaki, S. Sirikantaramas, H. Sudo and K. Saito\*, Biosynthetic system of camptothecin: an anticancer plant product, *Pure Appl. Chem.*, 82, 213-218 (2010).
134. A. Fukushima, M. Kusano, H. Redestig, M. Arita and K. Saito\*, Metabolomic correlation-network modules in Arabidopsis based on a graph-clustering approach, *BMC Systems Biology*, 2011 5:1 (2011).
135. M. Kusano, T. Tohge, A. Fukushima, M. Kobayashi, N. Hayashi, H. Otsuki, Y. Kondou, H. Goto, M. Kawashima, F. Matsuda, R. Niida, M. Matsui, K. Saito and Alisdair R. Fernie\*, Metabolomics reveals comprehensive reprogramming involving two independent metabolic responses of Arabidopsis to ultraviolet-B light, *Plant J.*, 67, 354-369 (2011).
136. F. Matsuda, R. Nakabayashi, Y. Sawada, M. Suzuki, Masami Y. Hirai, S. Kanaya and K. Saito\*, Mass spectra-based framework for automated structural elucidation of metabolome data to explore phytochemical diversity, *Front. Plant Sci.*, 2, 1-10 (2011).
137. S. Bunsupa, T. Okada, K. Saito and M. Yamazaki\*, An acyltransferase-like gene obtained by differential gene expression profiles of quinolizidine alkaloid-producing and nonproducing cultivars of *Lupinus angustifolius*, *Plant Biotech.*, in press (2011).
138. K. Yonekura-Sakakibara, A. Fukushima, R. Nakabayashi, K. Hanada, F. Matsuda, S. Sugawara, E. Inoue, T. Kuromori, T. Ito, K. Shinozaki, B. Wangwattana, M. Yamazaki and K. Saito\*, Two glycosyltransferases involved in anthocyanin modification delineated by transcriptome independent component analysis in *Arabidopsis thaliana*, *Plant J.*, 69, 154-167 (2012).
139. S. Bunsupa, K. Katayama, E. Ikeura, A. Oikawa, K. Toyooka, K. Saito and M. Yamazaki\*, Lysine decarboxylase catalyzes the first step of quinolizidine alkaloid biosynthesis and coevolved with alkaloid production in Leguminosae, *Plant Cell*, 24, 1202-1216 (2012).
140. H. Horai, M. Arita, S. Kanaya, Y. Nihei, T. Ikeda, K. Suwa, Y. Ojima, K. Tanaka, S. Tanaka, K. Aoshima, Y. Oda, Y. Kakazu, M. Kusano, T. Tohge, F. Matsuda, Y. Sawada, M.Y. Hirai, H. Nakanishi, K. Ikeda, N. Akimoto, T. Maoka, H. Takahashi, T. Ara, N. Sakurai, H. Suzuki, D. Shibata, S. Neumann, T. Iida, K. Tanaka, K. Funatsu, F. Matsuura, T. Soga, R. Taguchi, K. Saito and T. Nishioka\*, MassBank: a public repository for sharing mass spectral data for life sciences., *Journal of Mass Spectrometry*, 45, 703-714, (2010).
141. T. Okada, F. Afendi, M. Altaf-UI-Amin, T. Takahashi, K. Nakamura, S. Kanaya\*, Metabolomics of Medicinal Plants: The Importance of Multivariate Analysis of Analytical Chemistry Data, *Current Computer-Aided Drug Design*, 6, 179-196 (2010).
142. K. Strassburg, D. Walther, H. Takahashi, S. Kanaya and J. Kopka\*, Dynamic transcriptional and metabolic responses in yeast adapting to temperature stress, *OMICS JIB*, 14, 249-259 (2010).
143. H. Takahashi, R. Morioka, R. Ito, T. Oshima, M. Altaf-UI-Amin, N. Ogasawara, S. Kanaya\*, Dynamics of time-lagged gene-to-metabolite networks of Escherichia coli elucidated by integrative omics approach, *OMICS JIB*, 15, 15-23 (2011).
144. K. Nakamura, T. Oshima, T. Morimoto, S. Ikeda, H. Yoshikawa, Y. Shiwa, S. Ishikawa, M. C. Linak, A. Hirai, H. Takahashi, M. D. ALTAF-UL-AMIN, N. Ogasawara and S. Kanaya\*, Sequence-specific error profile of Illumina sequencers, *Nucleic Acids Res.*, 1-13 (2011).
145. H. Takahashi, T. Morimoto, N. Ogasawara and S. Kanaya\*, AMDORAP: Non-targeted metabolic profiling based on high-resolution LC-MS, *BMC Bioinformatics*, vol.12, pp259, Jun. (2011).
146. F. M. Afendi, T. Okada, M. Yamazaki, A. Hirai-Morita, Y. Nakamura, K. Nakamura, S. Ikeda, H. Takahashi, M. D. Altaf-UI-Amin, L. K. Darusman, K. Saito and S. Kanaya\*, KNApSAcK Family Databases: Integrated Metabolite-Plant Species Databases for Multifaceted Plant Research, *Plant and Cell Physiology*, vol.53, 1-12 (2012).
147. Y. Hoshino, K. Chiba, K. Ishino, T. Fukai, Y. Igarashi, K. Yazawa and J. Ishikawa\*, Identification of Nocobactin NA Biosynthetic Gene Clusters in *Nocardia farcinica*, *J. Bacteriol.* Vol. 193, No. 2, 441-448 (2011).
148. E. Taura, T. Hashimoto and Y. Asakawa\*, Molecular characterization of daurichromenic acid synthase from *Rhododendron dauricum*, *Planta medica*, Vol. 77, No. 12, 1359-1359 (2011).
149. M. Hirunuma, Y. Shoyama, K. Sasaki, S. Sakamoto, E. Taura, Y. Shoyama, H. Tanaka and S. Morimoto\*, Flavone-catalyzed apoptosis in *Scutellaria baicalensis*, *Phytochemistry*, Vol. 72, No. 8, 752-760 (2011).
150. J. Jumpathong, J. Peberdy, I. Fujii, S. Lumyong\*, Chemical investigation of novel ascomycetes using PCR based screening approaches, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 27, 1947-1953 (2011).
151. J. Jumpathong, Y. Seshime, I. Fujii, J. Peberdy, S. Lumyong\*, Genome screening for reducing type I polyketide synthase genes in tropical fungi associated with medicinal plants, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 27, 1989-1995 (2011).
152. N. Kato, M. Tokuoka, Y. Shinohara, M. Kawatani, M. Uramoto, Y. Seshime, I. Fujii, K. Kitamoto, T. Takahashi, Y. Koyama, H. Osada\*, Genetic safeguard against mycotoxin cyclopiazonic acid production in *Aspergillus oryzae*, *ChemBioChem*, Vol. 12,

1376-1382 (2011).

153. S. Sawai, H. Uchiyama, S. Mizuno, T. Aoki, T. Akashi, S. Ayabe and T. Takahashi\*, Molecular characterization of an oxidosqualene cyclase that yields shionone, a unique tetracyclic triterpene ketone of *Aster tataricus*, *FEBS Lett.*, Vol. 585 No 7, 1031-1036 (2011).

【 総説・解説、著書 】

総説・解説 ; 5 4 件

著書 ; 2 2 件

【 国内外の会議等での招待講演 】

1. Directed Biosynthesis II, Sep. 15-17, 2010, Durham, Highly unusual iterative use of NRPS involved in the biosynthesis of saframycin, H. Oikawa
2. Pacificchem 2010 Symposium on Biosynthesis of Natural Products, Dec. 15-20, 2010, Honolulu, Hawaii, USA, Detailed Mechanism on the Enzymatic Polyether Formation, H. Oikawa
3. Pacificchem 2010 Symposium on Recent Advances in Natural Products as Anticancer Agents, Dec. 15-20, 2010, Honolulu, Hawaii, USA, Recent progress on the biosynthesis of peptide antitumor antibiotics, H. Oikawa
4. IUMS 2011 Sapporo, XIII, International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, Bioactive Microbial Products (Biosynthesis and Activity), Sep. 6-11, 2011, Sapporo, Recent Progress on Enzymatic Construction of Natural Polyethers, H. Oikawa
5. 6th Korea-Japan Young Scientists Meeting on Bioorganic and Natural Products Chemistry, June. 23-24, 2011, Seoul, Korea, Elucidation of the Catalytic Mechanism on Non-ribosomal Peptide Synthetase Involving Biosynthesis of Saframycin-Type Antitumor Agents, H. Oikawa
6. 7th US-Japan Seminar on Marine Natural Products, Cross-Disciplinary Expansions in Marine Bioorganic Chemistry, Dec. 11-16, 2011, Naha, Japan, Biosynthesis of Peptide and Polyether Antibiotics, H. Oikawa
7. The 5th GCOE International Symposium, "Green & Sustainable Chemistry for Next Generation", Feb. 21-22, 2012, Sapporo, Japan, Organic Synthesis Learned from Nature, H. Oikawa
8. Pacificchem 2010 Symposium on Biosynthesis of Natural Products, Dec. 15-20, 2010, Honolulu, Hawaii, USA, Molecular Analysis of Glycosyltransferase VinC, T. Eguchi
9. Japan-Finland Biotechnology Symposium 2010, 2010/6/8-11, Turku, Finland, Engineered Biosynthesis of Plant Polyketide, I. Abe
10. 50th Anniversary symposium of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 2010/8/25-27, Gyeongju, Korea, Engineering of Plant Polyketide Synthases, I. Abe
11. Directing Biosynthesis 2010: Discovery, Evolution, Function, 2010/9/15-17, Durham, United Kingdom, Engineering of Plant Polyketide Synthases, I. Abe
12. 25th Symposium on Natural Products, 2010/11/5-7, Kaohsiung, Taiwan, Engineering Natural Products Biosynthesis, I. Abe
13. 9th NRCT-JSPS Joint Seminar, 2010/12/8-9, Bangkok, Thailand, Engineering Natural Products Biosynthesis, I. Abe
14. International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010), Symposium on Natural Product Biosynthesis, 2010/12/15-17, Honolulu, Hawaii, USA, Engineering of Plant Polyketide Synthases, I. Abe
15. Enzyme Engineering XXI, 2011/9/18-22, Veil, Colorado, USA, Engineering Plant Polyketide Synthases, I. Abe
16. Phytochemical Society of North America 50th Anniversary Symposium, 2011/12/10-15, Kohala Coast, Hawaii, USA, Engineering Plant Polyketide Synthases, I. Abe
17. 60<sup>th</sup> SIM Annual Meeting, August 3, 2010, San Francisco, Functional characterization of *Streptomyces* ABBA prenyltransferases in the biosyntheses of naphthoquinone derivatives and novobiocin, T. Kuzuyama
18. The Third International Conference on Cofactors 03 (ICC-03), July 10 to 15, 2011, The University of Turku, Finland, An alternative menaquinone biosynthetic pathway: an attractive target for drug discovery to *Helicobacter pylori*, T. Dairi
19. The IUMS 2011, Sep 6 to 10, 2011, Sapporo, Microorganisms evolved vitamin biosynthetic enzymes in response to various environments, an example in menaquinone biosynthesis, T. Dairi
20. The 7<sup>th</sup> International Forum On Post-Genome Technologies & China-Japan-Korea Summit on Natural Products, Oct 28 – 29, 2011, Chongqing, A new menaquinone biosynthetic pathway, diversity of the early step of the pathway, T. Dairi
21. VIIth US-Japan Seminar for Marine Natural Products. December 12-16, 2011, Okinawa, Japan, Novel Peptide Toxins from a Marine Sponge, R. Sakai
22. Marine Natural Products Gordon Research Conference February 26-March 2 2012, Biologically Active Ribosomal Peptides from

Sponges, R. Sakai

23. SB5.0, June. 15-17, 2011, Stanford USA, Evolutionary design platforms for genetic switches and circuits, D. Umeno
24. SB5.0, June. 15-17, 2011, Stanford USA, Efficient and selective production of non-natural carotenoids by combinatorial expression of laboratory-evolved enzymes, D. Umeno
25. Enzyme Engineering XXI, Sept. 15-20, 2011, Vail Colorado, USA, Directed Evolution of Carotenoid and Isoprenoid Synthases for Cellular Production of Novel Compounds, D. Umeno
26. 50th Anniversary Meeting Phytochemical Society of North America, Dec. 10-15, 2011, Fairmont Orchid, Hawaii, USA, The great footprints of the late Prof. Meinhart Zenk in isoquinoline alkaloid biosynthesis studies, H. Sato
27. International Symposium on "Future Prospects of Plant Biotechnology", Nov. 15, 2011, University of Tokyo, Tokyo, Japan, Never-ending attempts to produce plant natural products in vitro; case study for isoquinoline alkaloids, H. Sato
28. The 4th Conference on Biosynthesis of Plant Cell Wall, Oct. 2-6, 2011, Awaji, Hyogo, Japan, Heterologous expression of 4-coumaroyl transferase from *Asparagus officinalis* in *Pichia pastoris*, S. Suzuki
29. Directed Biosynthesis II, Sep. 15-17, 2010, Durham, Highly unusual iterative use of NRPS involved in the biosynthesis of saframycin, H. Seki
30. Pacificchem 2010 Symposium on Biosynthesis of Natural Products, Dec. 15-20, 2010, Honolulu, Hawaii, USA, Detailed Mechanism on the Enzymatic Polyether Formation, H. Seki
31. Pacificchem 2010 Symposium on Recent Advances in Natural Products as Anticancer Agents, Dec. 15-20, 2010, Honolulu, Hawaii, USA, Recent progress on the biosynthesis of peptide antitumor antibiotics, H. Seki
32. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sep 8-9, 2011, Sapporo, JAPAN, Isolation and structural elucidation of the novel g-butenolide signaling molecules SRBs that switch on antibiotic production in *Streptomyces rochei* 7434AN4", K. Arakawa
33. 16th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, Dec 11-15, 2011, Puerto Vallarta, MEXICO, Isolation, structural elucidation, and biological activity of the novel gamma-butenolide signaling molecules SRBs that elicit antibiotic production in *Streptomyces rochei* 7434AN4, K. Arakawa
34. 2011 US-Japan Symposium on Marine Natural Products Chemistry, Dec. 12-16, 2011, Okinawa, Japan, Heterologous Production of Siderophores by the Genes Cloned from a Marine Metagenome, M. Fujita
35. 2012 Gordon Research Conferences, Marine Natural Products, Feb. 26 - Mar. 2, Heterologous Production of Siderophores by Metagenomic Approach, M. Fujita
36. IUMS (International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology), Sept. 9, 2011, Hokkaido, Japan, Microbial production of plant polyketides by utilizing diverse reactions of type III polyketide synthases, N. Funa
37. IUMS (International Union of Microbial Societies) 2011 Congress Sep. 8, 2011, Sapporo, Functional Analysis of the actVA genes involved in actinorhodin biosynthesis of *Streptomyces coelicolor*, K. Ichinose
38. 17th International Symposium on Flavins and Flavoproteins, Jul. 24-29, 2011, Berkeley, Non-redox catalysis by reduced flavin mononucleotide in type 2 isopentenyl diphosphate isomerase, H. Henmi
39. 11<sup>th</sup> International Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms, 28<sup>th</sup> Jun. - 1<sup>st</sup> Jul, 2010 Melbourne, Australia, Genome Minimization of an Industrial Microorganism *Streptomyces avermitilis*, H. Ikeda
40. 11<sup>th</sup> International Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms, 28<sup>th</sup> Jun. - 1<sup>st</sup> Jul, 2010 Melbourne, Australia, Characterization of *relA* mutant of industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*, H. Ikeda
41. 2010 KSBB Fall Meeting & International Symposium. 7<sup>th</sup> - 9<sup>th</sup> Oct. 2010, Discovery of new sesquiterpenoid compounds, "Avermitilol" and "Avermitilone" by genome mining of *Streptomyces avermitilis*, H. Ikeda
42. RIKEN Chemical Biology International Symposium. 26<sup>th</sup>-27<sup>th</sup> Oct. 2010, Exploring the bacterial Terpenome, H. Ikeda
43. BIT'S 4th Annual World Congress of Industrial Biotechnology, April 25-30, 2011, Dalian, China, The genome-minimized *Streptomyces* hosts for the secondary metabolism, H. Ikeda
44. International Union of Microbiological Societies 2011, September 6-10, 2011, Sapporo, Japan, Discovery of new branch of pentalenolactone family tree and two different region-specific Baeyer-Villiger monooxygenases, H. Ikeda
45. International Union of Microbiological Societies 2011, September 6-10, 2011, Sapporo, Japan, Synthetic Biology of the Secondary Metabolism in the Industrial Microorganism, H. Ikeda
46. The 6th Korea-Japan Chemical Biology Symposium, January 26-28, 2012, Sapporo, Japan, Discovery of new branch of pentalenolactone family tree and two different region-specific Baeyer-Villiger monooxygenases, H. Ikeda
47. The 6th Korea-Japan Chemical Biology Symposium, January 26-28, 2012, Sapporo, Japan, Avernolide, a new signaling molecule for antibiotic production in *Streptomyces*, H. Ikeda

48. 26th Fungal Genetics Conference, March 15-20, 2011, Asilomar, CA, USA, Marker recycling in *Aspergillus oryzae* by application of the Cre/loxP system with direct introduction of Cre recombinase, K. Gomi
49. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), Sep. 6-10, 2011, Sapporo, Japan, Bioproduction of commercially valuable metabolites in *Aspergillus oryzae* based on genomic analysis, K. Gomi
50. 9th International *Aspergillus* meeting (Asperfest9), Mar. 29-30, 2012, Marburg, Germany, Multiple gene expression system by means of Cre/loxP-mediated marker recycling with mutated loxP sites in *Aspergillus oryzae*, K. Gomi
51. JST-BBRC joint UK-Japan Workshop on Microbial Systems Biology, Oct 23-25, 2011, Tsuruoka, Yamagata, Japan, Conjugative transfer of *Streptomyces*: the mechanism and application for genome design, M. Kataoka
52. 16th Japanese-German Workshop on Enzyme Technology, Sep. 14, 2011, Toyama, Tryptophan determination by using tryptophan oxidases involved in bis-indole antibiotics biosynthesis, H. Onaka
53. The Asian Congress on Biotechnology Nov. 5, 2011, Shanghai, China, Extracellular production of recombinant enzymes by *Streptomyces lividans*, H. Onaka
54. 16th Japanese-German Workshop on Enzyme Technology, Sep. 14, 2011, Toyama, Characterization of indolocarbazole biosynthetic enzymes in *Streptomyces* sp. TP-A0274, H. Onaka
55. IUMS 2011 congress, Sep. 7. 2011, Sapporo, Mycolic-acid-containing bacteria induce natural-product biosynthesis in *Streptomyces*-Combined culture, a new co-culture method for natural product screening, H. Onaka
56. ISBA 2011, Dec. 15, 2011, Mexico, Combined Culture: New Co-culture Method for Antibiotic Screening, H. Onaka
57. ESF-EMBO Symposium, Synthetic Biology of Antibiotic Production, Oct. 5, 2011, Sant Feliu de Guixols, Spain, Biosynthesis and genetic engineering of goadsporin, a ribosomal synthesized oxazole and thiazole containing peptide (TOPs) produced by *Streptomyces* sp. TP-A0584, H. Onaka
58. International Symposium on the Biology of Actinomycetes (ISBA16), Dec. 11-15, 2011, Puerto Vallarta, Mexic, Unusual Nonribosomal Peptide Synthetase Involved in the Biosynthesis of a Classic Antibiotic, Y. Hamano
59. Pacificchem 2010 Symposium on Recent Advances in Natural Products as Anticancer Agents, Dec. 15-20, 2010, Honolulu, Hawaii, USA, Recent progress on the biosynthesis of peptide antitumor antibiotics, Y. Hamano
60. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), Sep. 6-10, 2011, Sapporo A novel antibiotic protein and the genes identified from *Rhodococcus erythropolis* JCM 2895, W. Kitagawa
61. 16th International Symposium on the Biology of Actinomycetes (ISBA16), Dec. 11-15, 2011, Puerto Vallarta, Mexico, New phenazine antibiotic "Rhodophenazine A" isolated from *Rhodococcus erythropolis* DSM 11397, W. Kitagawa
62. 25<sup>th</sup> *Symposium on Natural Products*, November 6 – 7, 2010, Pingtung, Taiwan, Funtional genomics for biosynthesis of plant specialized products. K. Saito
63. 2010 *International Symposium on Agricultural Biotechnology*, October 28 – 29, 2010, Taipei, Taiwan, Plant Metabolomics – From Arabidopsis to Agricultural Biotechnology, K. Saito
64. 25<sup>th</sup> *Symposium on Natural Products*, November 6 – 7, 2010, Pingtung, Taiwan, Funtional genomics for biosynthesis of plant specialized products. K. Saito
65. 8<sup>th</sup> *International Workshop on Plant Sulphur Metabolism*, November 22 – 27, 2010, Creswick, Australia, Molecular/cellular regulation of sulfate uptake and assimilation – what we know and what we should know, K. Saito
66. *Asia Regional Conference on Systems Biology*, November 29 – December 1, 2010, Kuala Lumpur, Malaysia, Plant metabolomics – A basis for systems biology, K. Saito
67. *The 9<sup>th</sup> NRCT-JSPS Joint Seminar on Natural Medicine Research for the Next Decade: New Challenges and Future Collaboration*, December 8 – 9, 2010, Bangkok, Thaliand, Molecular cloning of the first committed enzyme in quinolizidine alkaloid biosynthesis, K. Saito
68. 2010 *International Chemical Congress of Pacific Basin Societies*, December 15 – 20, 2010, Honolulu, USA, Metabolomics plays an important role for fundamental and applied plant sciences, K. Saito
69. 2010 *International Chemical Congress of Pacific Basin Societies*, December 15 – 20, 2010, Honolulu, USA, Lysine/ornithine decarboxylase – An enzyme catalyzing the first step of quinolizidine alkaloids biosynthesis in legume plants, K. Saito, S. Bunsupa, K. Katayama, A. Oikawa, M. Yamazaki
70. Metabolomics 2011 7th International Conference of the Metabolomics Society, June 27 – 30, 2011, Cairns, Australia, Development of plant metabolomics from Arabidopsis to crops, K. Saito
71. The 2nd International Conference on Plant Metabolism, June 30 – July 3, 2011, Qingdao, China, Functional genomics for biosynthesis of plant specialized products, K. Saito
72. The second International Symposium on Genomics and Crop Genetic Improvement. July 4 – 6, 2011, Wuhan, China, Development of plant metabolomics – from Arabidopsis to crops, K. Saito

73. Gordon Research Conferences, Plant Metabolic Engineering, July 24-29, 2011, Waterville Valley, NH, USA, Metabolomics-based Phytochemical Genomics - Beyond Arabidopsis to Crop Biotechnology, K. Saito
74. 12th International Congress on Amino Acids, Peptides and Proteins, August 1 – 5, 2011, Beijing, China, Lysine/ornithine decarboxylase – An enzyme catalyzing the first step of quinolizidine alkaloid biosynthesis in legume plants, K. Saito
75. Advances in Metabolic Profiling & Mass Spec Europe, November 8-9, 2011, Dublin, Ireland, Plant metabolomics for functional genomics and biotechnology. K. Saito
76. Japan-Korea Joint Seminar on Plant Biotechnology for the Next Generation, December 2-4, 2011, Narita, Japan, Metabolomics for plant biology and biotechnology, K. Saito
77. Phytochemical Society of North America 50th Anniversary Meeting, December 10-15, 2011, Hawaii, USA, Biosynthetic study of quinolizidine alkaloid – History and recent advancement, K. Saito, S. Bubsupa, M. Yamazaki
78. Phytochemical Society of North America 50th Anniversary Meeting, December 10-15, 2011, Hawaii, USA, Plant metabolomics for phytochemical genomics, K. Saito
79. Phytochemical Society of North America 50th Anniversary Meeting, December 10-15, 2011, Hawaii, USA, Elucidation of biosynthetic pathway of camptothecin by metabolomics, M. Yamazaki, T. Asano, K. Aoki, K. Saito
80. Department of Botany, University of Melbourne, February 2, 2012, Australia, Plant metabolomics - A basis for functional genomics and biotechnology, K. Saito
81. 17th Annual meeting of the Australasian Proteomics Society, February 2-5, 2012, Lorne, Australia, Development of plant metabolomics – from Arabidopsis to crops, K. Saito
82. 26th Philippine Chemistry Congress, Apr. 13-15. 2011, Cebu, Philippine, Species metabolite Relation KNAPSAcK and its Multifaceted Retrieval System, KNAPSAcK Family, S. Kanaya
83. Globalization of Jamu Brand Indonesia, May. 26-29. 2011, Bogor, Indonesia, Species-metabolite relation database KNAPSAcK and its multifaceted retrieval system KNAPSAcK Family, S. Kanaya
84. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sep. 6-10, 2011, Sapporo, Japan, A role of ItsA in virulence of *Nocardia farcinica*, K. Ishino, K. Shibuya, Y. Hoshino, and J. Ishikawa
85. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sep. 6-10, 2011, Sapporo, Japan, Biosynthetic pathway of new polyketides produced by *Streptomyces* sp. RK95-74, M. Ueki, N. Koshiro, S. Takahashi, E. Oowada, J. Ishikawa, A. Toyoda and H. Osada
86. The 16th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, Dec. 11-15, 2011, Puerto Vallarta, Mexico, Nocobactin NA biosynthesis gene clusters in *Nocardia farcinica*, Y. Hoshino, K. Chiba, K. Ishino, and J. Ishikawa
87. C-NAIR Seminar Nasional, Dec 5, 2011, Gadjah Mada University (Indonesia), Jogjakarta, Indonesia, Wiki-based Databases: Integration of knowledge through the web, M. Arita
88. IUMS2011 (International Union of Microbiological Societies Congress), Sep 6-10, 2011, Sapporo, Japan, Structural Classification for PKS in Aspergilli, M. Arita
89. EBI Seminar, April 19, 2011, Hinxton, UK, Knowledge Management using a Wiki-based System and its Application to Mass Spectra, M. Arita
90. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Bioactive Microbial Products (Biosynthesis and Activity), Sep. 7, 2011, Sapporo, Biosynthesis of Macrolactam Antibiotic Vicenistatin, F. Kudo
91. 59<sup>th</sup> International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research, Sep. 4-9, 2011, Antalya, Turkey, Molecular characterization of daurichromenic acid synthase from *Rhododendron dauricum*, F. Taura
92. 17th International Symposium on Flavins and Flavoproteins, July 24-29, 2011, UC Berkeley, Berkeley, USA, Solanapyrone synthase, a possible Diels-Alderase, I. Fujii

(その他 4 5 件)

【 特許出願 】

1. IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF FUSICOCCIN BIOSYNTHETIC GENE CLUSTERS. USA, NO. 61/593,436.
2. 生体試料中の L-トリプトファン定量方法およびそれに用いるキット 特願 2011- 48101.
3. 二次代謝産物のスクリーニング方法, その製造方法, 及びその培養物 特願 2011- 158843

## (2) ホームページについて

HPには、研究概要、研究組織（総括班、計画研究、公募研究）、研究内容（計画研究、公募研究）といった領域に関する情報を提供している。領域の行事（班会議、公開シンポジウムや国際シンポジウム、企画講演会などの案内）を随時アップデートするとともに領域活動を通じて発表された研究成果を公開している。また領域の個々の行事の内容や研究者の紹介を掲載したニュースレターや受賞・新聞掲載などの情報も紹介している。HPのURLは <http://kanaya.naist.jp/machinery/index.html> または <http://machinery.sci.hokudai.ac.jp/machinery/>である。

領域内構成員間の情報交換の場として、バイオ・マシナリーフォーラムを設けている。有用なサイト、領域で開発したあるいは開発中のWebツールやデータベースへのリンクも設けている。

## (3) 公開発表について

### 【2010年】

7月10日 第1回若手シンポジウム（生合成勉強会2010）、理研、70人

### 【2011年】

1月8日 第1回公開シンポジウム、東京工業大学、150人

3月22日 第52回日本植物生理学会年会シンポジウム *Phytochemical Genomics: Genome-wide understanding of metabolic diversity in plants*、東北大学、震災のため中止

3月30日 新学術領域研究「生合成マシナリー」若手国際ミニシンポジウム、東京工業大学、震災のため中止

6月4日 第2回公開シンポジウム、東京大学薬学部、100人

7月2日 第2回若手シンポジウム（生合成勉強会2011）、理研 鈴木梅太郎ホール、60人

9月5日 第1回ブレインストームミーティング、北海道大学、70人

9月6日 新学術領域研究「生合成マシナリー」国際特別講演会、北海道大学、80人

12月3日 第3回公開シンポジウム、東京大学中島記念ホール、120人

12月26日 第3回若手シンポジウム（生合成勉強会2011）、東京工業大学、60人

### 【2012年】

3月22日 第53回日本植物生理学会年会シンポジウム *Phytochemical Genomics: Genome-wide understanding of metabolic diversity in plants*、京都産業大学、100人

3月26日 日本農芸化学会2012年度年会シンポジウム「生合成マシナリーを用いた生物活性天然物の生産」、京都女子大学、100人

4月28日 第1回生合成マシナリー札幌セミナー、北海道大学、40人

5月24日 第2回生合成マシナリー札幌セミナー、北海道大学、60人

6月17日～22日 新学術領域研究「生合成マシナリー」国際シンポジウム、淡路夢舞台国際会議場、100人

8月28日 第4回若手シンポジウム（生合成勉強会2012）&第2回ブレインストームミーティング、静岡県立大学（予定）

12月7-8日 第4回公開シンポジウム、東京大学弥生講堂（予定）

## (4) 「国民との科学・技術対話」について

本領域では既に、各3回の公開シンポジウムと若手シンポジウムなどを開催して研究概要や成果などを領域外の方々へと情報発信するとともに、若手研究者・学生への啓蒙活動、ブレインストームミ

ーティングによる領域外研究者との交流を図ってきた。また、2012年11月に開催されるサイエンスアゴラ 2012 への出展に加え、各班員が一般講演会、中学生・高校生への講義など行い、本領域の活動を積極的に公表している。

情報発信の対象者	企画内容	回数	参加人数
中学生・高校生	出張講義・体験入学など	7回	～100名
一般	講演会など	3回	～30名
大学研究者	シンポジウム	11回	～200名

2011年6月に開催した第2回公開シンポジウムでは、以下のようなアンケート調査を行った。

#### 質問項目

シンポジウムの感想・・・とても参考になった(82%)、少し参考になった(17%)、その他(1%)

発表内容について・・・興味がでた(82%)、少し興味をもった(13%)、その他(5%)

その他の意見・・・「大変勉強になった」、「今後の発展を期待する」など

アンケートから、公開シンポジウムが「生合成マシナリー」に関する情報公開の場として機能しており、聴取の興味を喚起したことが明らかとなった。今後は、より一層の情報発信を行うことで質の高い「国民との科学・技術対話」を追求する。

#### 【サイエンスアゴラ2012でのアウトリーチ活動について】

サイエンスアゴラは1日あたりの来場者数が3000人(2010年度実績)にも及ぶ日本最大級のサイエンスコミュニケーションイベントである。本領域では以下のような活動計画に基づき、中学生・高校生、一般大人の皆様に対する情報発信を行う。

題目：「進化する天然物質！～医薬品から最強の毒素まで～」

出展内容：人類は長い歴史の中で、植物や微生物などが生活のためになる物質を含んでいることを発見し、狩猟に使う毒や医薬品などに積極的に利用してきました。生物にはこうした物質を作るための酵素という触媒の設計図(遺伝子)があり、これを進化させ、多様な物質を作る能力を持つようになったと考えられます。現在のハイテクを駆使して、生物はどのようにして物質をつくり、進化させてきたのかを解明し、これらの触媒を自在に操り、欲しい物質を作る技術を開発中です。ポスターや分子模型などを使って、具体的な方法をわかりやすく説明します。

#### (5)その他

##### (a)受賞、表彰

1. 葛山智久、平成22年日本学術振興会賞、「微生物の多様なテルペノイド生合成機構の解明」
2. 葛山智久、平成22年日本学士院学術奨励賞、「微生物の多様なテルペノイド生合成機構の解明」
3. 斉藤和季、2011年度日本植物分子生物学会学術賞、「植物メタボロミクスを中心とした統合オミクスとその展開研究」
4. 佐藤文彦、平成23年日本農芸化学会賞、「特性を持つ高等植物培養細胞を用いた機能の解析と再構築」
5. 佐藤文彦、第102回(平成24年)日本学士院賞、「代謝工学的研究に基づく植物二次代謝産物イソキノリンアルカロイドの微生物による生産」
6. 佐藤努、平成24年度日本農芸化学会奨励賞、「セスクアテルペン(C35テルペン)の探索と生合成に関する研究」

(その他；13件)

(b) 新聞報道 (合計 22 件のうちの 17 件分のみ記載)

(1) [A-1] 関 光 (科学新聞 (12/9)、The Plant Cell, 2011 関連記事)



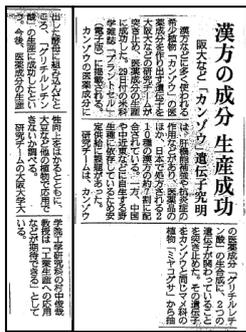
(2) [A-1] 関 光 (読売新聞 (11/26)、The Plant Cell, 2011 関連記事)



(3) [A-1] 関 光 (朝日新聞 (11/26)、The Plant Cell, 2011 関連記事)



(4) [A-1] 関 光 (産経新聞 (11/26)、The Plant Cell, 2011 関連記事)



(5) [A-1] 関 光 (日刊工業新聞 (12/2)、The Plant Cell, 2011 関連記事)



(6) [A-1] 関 光 (化学工業日報 (12/19)、Plant Cell Physiol., 2011 関連記事)



(7) [A-1] 関 光 (産経日報 (12/19)、Plant Cell Physiol., 2011 関連記事)



(8) [A-1] 関 光 (日経新聞 (12/22)、Plant Cell Physiol., 2011 関連記事)



(9) [A-1] 関 光 (朝日新聞 (12/19)、Plant Cell Physiol., 2011 関連記事)



(10) [A-1] 関 光 (朝日新聞 (12/19)、Plant Cell Physiol., 2011 関連記事)



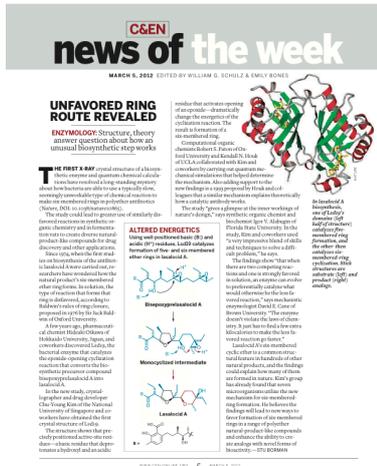
(11) [A-1] 及 川英秋 (北海道新聞 (3/5)、Nature, 2012 関連記事)



(12) [A-1] 及川英秋 (朝日新聞 (3/15)、Nature, 2012 関連記事)



(14) [A-1] 及川英秋 (C & EN, Nature, 2012 関連記事)



(15) [A-3] 齊藤和季 (日刊工業新聞 (5/25)、Plant Cell, 2012 関連記事)



(13) [A-1] 及川英秋 (Nature, Nature, 2012 関連記事)

### Favouring the unfavoured

The naturally occurring antibiotic lasaloid A contains a chemical structure that is not expected to form readily. The enzyme that catalyses the formation of this structure has been identified, and its activity is a revelation. See 12738-1335

DAVID E. CAINE

Lasaloid A and other polyether antibiotics are widely used to control parasitic infections in farm animals, and to enhance feed efficiency in cattle and other ruminants. They act by binding and carrying alkali-metal cations and protons across bacterial membranes, thereby interfering with essential ion

are expressed in cells, has established the functions of the deleted genes to be enabled. As a result of such deletions, several compounds that accumulate have been identified as key intermediates in the pathway, including the unsaturated polyketides that are initially generated from the acetate, propionate and butyrate building blocks.

Similar studies have also begun to clarify the final stages of polyether biosynthesis. For example, oxidative enzymes that generate the key epoxide intermediates (known as polyepoxides) from unsaturated polyketides have been discovered, and the epoxide hydrolase enzymes that catalyse the reaction cascade in which the polyepoxides are converted into polyethers. A group led by Hidaki (Okama (one of the authors of the new paper) recently expressed and purified an intriguing epoxide hydrolase, Lsd19. The team established that this enzyme is responsible for converting a precursor molecule harbouring two epoxide rings into a mixture of two closely related polyethers

(16) [A-1] 佐藤 文彦 (京都新聞 (5/28)、Nature Commun., 2012 関連記事)

**微生物 + フクトン糖 < アルカロイド**

植物の苦味成分アルカロイドを、微生物がフクトン糖を媒介して生産する。京都大学グループが、この生産経路を明らかにし、アルカロイドの生産を可能にした。

**京大教授らグループ成功**

京都大学グループが、微生物が植物の苦味成分アルカロイドを生産する仕組みを明らかにし、アルカロイドの生産を可能にした。

**安価で生産可能に**

従来の生産方法よりも、安価で大量生産が可能になった。

(佐藤文彦)

(17) [A-3] 齊藤和季 (科学新聞 (3/30)、Plant Cell, 2012 関連記事)

**新発活性のアルカロイド創製**

苦い豆の原因遺伝子解明

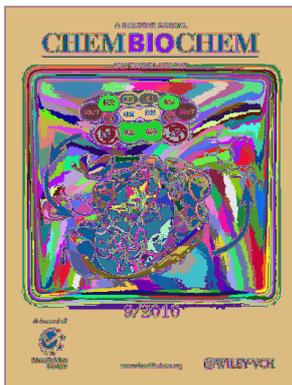
苦味豆の原因遺伝子を解明し、新しいアルカロイドの創製が可能になった。

齊藤和季と共同研究

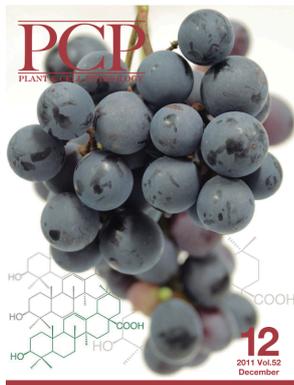
苦味豆の原因遺伝子を解明し、新しいアルカロイドの創製が可能になった。

(c) 雑誌表紙掲載

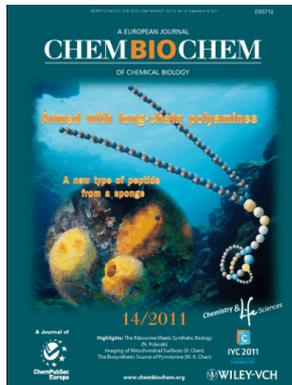
ChemBioChem, 11: 9 (2010)



Plant Cell Physiology, 52: 12 (2011)



ChemBioChem, 12: 14 (2011)



The Plant Cell, 23: 11 (2011)



## 6. 研究組織と各研究項目の連携状況

### [総括班]

研究代表者：及川 英秋（北大院理・教授）領域代表、A01 班長、研究統括

研究分担者：

池田 治生（北里大学生命科学研究所・教授）A02 班長、研究企画、運営補佐

斉藤 和季（千葉大院薬・教授）A03 班長、研究企画、運営補佐

大利 徹（北大院工・教授）領域事務局、阿部 郁朗（東大院薬・教授）領域広報

江口 正（東工大院理工・教授）、五味 勝也（東北大院農・教授）、金谷 重彦（奈良先端大院情報・教授）、石川 淳（国立感染研生物活性物質部第四室・室長）運営補佐

### [評価助言委員]

磯貝 彰（奈良先端科学技術大学院大学・学長）

上村 大輔（慶應義塾大学 理工学部・教授）

海老塚 豊（国立医薬品食品衛生研究所 生薬部・客員研究員）

大村 智（北里研究所・名誉理事長）

長田 裕之（理化学研究所・主任研究員）

楠本 正一（サントリー生物有機科学研究所・所長）

瀬戸 治男（東京大学・名誉教授（2012年4月逝去））

### [A01 班]「生合成マシナリーの構築および多様性創出機構の解析」（計画班員）

及川 英秋（北大院理・教授）「抗ガン剤生合成マシナリーの再構築および多様性創出機構の解明」

江口 正（東工大院理工・教授）

「糖転移反応を基盤とする抗生物質生合成マシナリー多様性創出機構の解明」

大利 徹（北大院工・教授）「微生物が生産する環状テルペノイド生合成マシナリーの解明と再構築」

阿部 郁朗（東大院薬・教授）「メロテルペノイド生合成アセンブリーラインの解明と制御」

葛山 智久（2010年度のみ、東大生物生産センター・准教授）

「テルペン、ヌクレオシド系抗生物質生合成マシナリーの解明とエンジニアリング」

#### （公募班員）

久保田 高明（北大院薬・准教授）「渦鞭毛藻由来マクロリドの特異な生合成経路の解明」

酒井 隆一（北大院水産・教授）「海綿-共生微生物複合体由来の小分子生合成マシナリーの探索」

橋本 勝（弘前大農学生命・教授）「Fengycin 構造混乱の終結：生合成経路の矛盾解消」

豊増 知伸（山形大学農学部・教授）

「糸状菌のキメラ型ジテルペン合成酵素の機能的ドメイン交換酵素の創製」

梅野 太輔（千葉大院工・准教授）「基質消費スクリーニングを用いたテルペン酵素の機能進化」

佐藤 文彦（京大生命科学・教授）「イソキノリンアルカロイド生合成マシナリーの構築」

鈴木 史朗（京大生存研・助教）「サブユニット組成によるノルリグナン生合成反応の制御機構」

關 光（阪大院工・准教授）「多様な植物トリテルペノイド生合成マシナリーの再構築」

荒川 賢治（広大先端物質・准教授）

「放線菌プラスミド上の特異二次代謝生合成系の解析および人為制御による有用分子生産」

藤田 雅紀（北大院水産・准教授）

「メタゲノム法による難培養海洋環境微生物からの新規生合成マシナリーの探索と物質生産」

塚本 佐知子（熊本大院薬・教授）

「プレニル化インドールアルカロイドの生合成経路と生合成マシナリーの解明」

鮎 信学（静岡県大食品栄養・准教授）

「未利用遺伝子資源の発掘研究と合成生物学的手法による次世代微生物触媒の開発」

市瀬 浩志（武蔵野大薬・教授）

「芳香族ポリケタイド生合成マシナリー再構築に向けた比較ゲノム機能解析」

久城 哲夫 (明大農・准教授)「ステロイド類生合成修飾酵素を活用した有用物質生産系の構築」  
 佐藤 努 (新潟大自然科学・准教授)  
 「メタゲノム由来モジュールライブラリーを用いた非天然型ペプチドの創出」  
 邊見 久 (名大生命農学・准教授)  
 「生合成マシナリーへのアーキア酵素組込みによる非天然イソプレノイド化合物の創出」

**[A02 班]「生合成マシナリー構築のための多種遺伝子発現系および最適化宿主の構築」(計画班員)**

池田 治生 (北里大生命研・教授)「二次代謝産物生合成マシナリー構築用モデル宿主の開発」  
 五味 勝也 (東北大院農・教授)「二次代謝産物生産に適した糸状菌遺伝子発現システムの開発」  
**(公募班員)**  
 片岡 正和 (信大工・准教授)「放線菌での二次代謝系操作に適した新規ゲノム操作システムの構築」  
 水谷 正治 (神戸大連合農学・准教授)「原核生物 P450 を機能発現する植物形質転換系の構築」  
 尾仲 宏康 (富山県大工・准教授)  
 「翻訳系を介した複素環含有ペプチド生合成機構を応用した抗生物質生産システムの構築」  
 潰野 吉十 (福井県大生物資源・准教授)  
 「ATP 生産能が高いポリリジン生産放線菌を宿主とした有用物質生産」  
 北川 航 (産総研・研究員)  
 「生合成マシナリー構築に向けたロドコッカス属細菌の宿主最適化と遺伝子ツールの拡充」

**[A03 班]「ゲノム、メタボローム解析情報に基づく二次代謝産物設計図の解読」(計画班員)**

斉藤 和季 (千葉大院薬・教授)「メタボロミクスによる植物成分生合成のゲノムマイニング」  
 金谷 重彦 (奈良先端大院情報・教授)  
 「悉皆的二次代謝経路推定に向けたデータベースおよび要素技術の研究開発」  
 石川 淳 (国立感染研・室長)「放線菌ゲノム解析と二次代謝産物生合成遺伝子情報の効果的利用」  
**(公募班員)**  
 有田 正規 (東大理学系・准教授)「ポリケチド合成経路の情報解析」  
 工藤 史貴 (東工大院理工・准教授)「非天然型生合成マシナリーのデザインと機能化」  
 田浦 太志 (九大院薬・助教)  
 「基礎生化学と網羅的遺伝子解析を基盤とするビベンジルカンナビノイド設計図の完全解明」  
 藤井 勲 (岩手医大薬・教授)「海生糸状菌ポリケチド生合成マシナリー」  
 明石 智義 (日大生物資源・講師)  
 「cDNA 発現ライブラリーを利用した植物成分生合成酵素遺伝子マイニング」  
 鈴木 秀幸 (かずさDNA研究所・主任研究員)  
 「ウリ科植物の苦味配糖体サポニン生合成系酵素遺伝子群の機能解析」

**【 連携研究 】**

連携研究	論文発表	学会発表	現在進行中	広報活動	合計
件数	17件	12件	26件	1件	56件

(a) 論文発表

**【 計画班-計画班：4報 】**

- ・ A01 計画及川 (機能解析/物質生産) - A02 計画五味 (発現系提供・指導)  
*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 75, No. 9, 1813-1817 (2011).
- ・ A01 計画大和 (機能解析) - A01 計画及川/南 (構造解析)  
*J. Am. Chem. Soc.*, 133, 2548-55 (2011).

- A03 計画斉藤（統合オミクス解析／機能解析）—A03 計画金谷（バイオインフォマティクス）  
*Front. Plant Sci.*, **2**:40(2011).
- A03 計画斉藤（統合オミクス解析／機能解析）—A03 計画金谷（バイオインフォマティクス）  
*Plant Cell Physiol.*, **53**: e1. doi: 10.1093/pcp/pcr165 (2012)

【 計画班-公募班：11報 】

- A01 計画及川（酵素反応機構解析）—班友（旧 A01 公募）渡辺（タンパク発現）（6件）  
*Nat. Chem. Biol.*, Vol 6, No 6, 408-410 (2010); *Org. Lett.*, Vol. 12, No. 10, 2226–2229 (2010); *Org. Lett.*, Vol. 13, No. 7, 1638-1641 (2011); *J. Antibiot.*, Vol. 64, No. 1, 117-122 (2011); *Nature*, 483, 355-359 (2012); *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 134, 7246–7249 (2012).
- A01 計画阿部（機能解析）—A01 公募久城（機能解析）—A03 公募藤井（発現系構築）  
*ChemBioChem*, Vol. 13, 1132-1135 (2012).
- A01 計画大和（機能解析）—A01 公募豊増（発現系提供）—A02 公募濱野（生成物分析）  
*ChemBioChem*, Vol.13, 566-573 (2012)
- A01 計画大和（機能解析）—A02 計画池田（発現系提供）— A03 計画石川（ゲノム解析）  
*Nat. Chem. Biol.*, 7, 461-468 (2011).
- A01 計画大和—A03 公募藤井—班友（旧 A01 計画）葛山  
*Nat. Prod. Rep.*, 28 (6), 1054-1086 (2011).
- A03 計画斉藤（統合オミクス解析／機能解析）—A03 公募有田（バイオインフォマティクス）  
*BMC Systems Biology*, 2011, **5**:1 (2011).

【 公募班-公募班：2報 】

- A01 公募關（EST 解析）—A02 公募水谷（発現系提供）—A03 公募明石（発現系提供）—A03 計画斉藤（遺伝子発現解析）  
*Plant Cell* 23, 4112-4123 (2011).
- A01 公募關（機能解析）—A02 公募水谷（発現系提供／機能解析）— A03 計画斉藤（代謝物分析）  
*Plant Cell Physiol.* 52: 2050-2061 (2011).

(b) 学会発表

【 計画班-公募班：11件 】

- A01 計画及川（機能解析）—A03 公募藤井（発現系提供）：日本農芸化学会 2012 年度大会
- A01 計画大和（機能解析）—A01 公募豊増（発現系提供）：日本農芸化学会 2012 年度大会
- A01 計画大和（機能解析）—A01 公募豊増（発現系提供）—A02 公募濱野（生成物分析）：第 53 回天然有機化合物討論会、第 21 回ドリコールおよびイソプレノイド研究会例会ほか 2 件
- A02 計画池田（発現系提供）—A02 公募尾仲（物質生産）：日本農芸化学会 2012 年度大会
- A02 計画池田（発現系提供）—A02 公募片岡（新規発現系構築）：日本農芸化学会 2012 年度大会、日本ゲノム微生物学会年会ほか 4 件
- A03 計画斉藤（代謝物分析）—A01 公募關（機能解析）：第 29 回日本植物細胞分子生物学会大会

【 公募班-公募班：1件 】

- A01 公募關（発現系提供／機能解析）—A02 公募水谷（発現系提供／機能解析）—A03 計画斉藤（代謝物分析）：53 回日本植物生理学会大会

(c) 現在進行中

【 計画班-計画班：2件 】

- A01 計画及川（機能解析／物質生産）—A01 計画大和（発現系提供）

- ・ A01 計画及川（標的遺伝子探索／機能解析）－A03 計画石川（ゲノム解析／標的遺伝子探索）

#### 【 計画班-公募班：17件 】

- ・ A01 計画及川（機能解析／物質生産）－A01 公募邊見（情報提供／助言）
- ・ A01 計画大和（機能解析）－A01 公募豊増（発現系提供）
- ・ A01 計画大和（機能解析）－A02 公募濱野（生成物分析）
- ・ A01 計画大和（機能解析／物質生産）－A02 公募尾仲（発現系提供）
- ・ A01 計画阿部（変異導入による機能解析）－A01 公募梅野（スクリーニング系提供）
- ・ A01 計画阿部（機能解析）－A01 公募久城（機能解析／物質生産）－A03 公募藤井（発現系提供）
- ・ A02 計画池田（発現系提供／物質生産）－A02 公募片岡（新規発現系構築）2件
- ・ A02 計画池田（発現系提供）－A02 公募尾仲（物質生産）
- ・ A02 計画池田（発現系提供）－A02 公募濱野（物質生産）
- ・ A02 計画池田（発現系提供）－A01 公募鮎（物質生産）
- ・ A03 計画石川（ゲノム解析／標的遺伝子探索）－A03 公募藤井（標的遺伝子探索／機能解析）
- ・ A03 計画石川（ゲノム解析／アセンブル）－A02 公募北川（新規発現系開発）
- ・ A03 計画斉藤（統合オミクス解析／機能解析）－A03 公募鈴木秀幸（トランスクリプトーム解析）
- ・ A03 計画斉藤（メタボローム解析）－A01 公募關（機能解析）－A02 公募水谷（発現系提供）
- ・ A03 計画斉藤（メタボローム解析）－A03 計画金谷（ライブラリー構築）－A03 公募有田（バイオインフォマティクス）
- ・ A03 計画金谷（ライブラリー構築）－A03 公募有田（バイオインフォマティクス）

#### 【 公募班-公募班：7件 】

- ・ A01 公募豊増（変異導入による機能解析）－A01 公募梅野（スクリーニング系提供）
- ・ A01 公募水谷（機能解析／物質生産）－班友（旧 A01 計画）葛山（発現系提供）
- ・ A02 公募北川（新規発現系開発）－班友（旧 A01 計画）葛山（機能解析／物質生産）
- ・ A01 公募藤田（スクリーニング系提供／助言・指導）－A01 公募酒井（機能解析／物質生産）
- ・ A03 公募鈴木秀幸（トランスクリプトーム解析）－A01 公募鈴木史朗（標的遺伝子探索／機能解析）
- ・ A03 公募鈴木秀幸（トランスクリプトーム解析）－A01 公募久城（標的遺伝子探索／機能解析）
- ・ A03 公募鈴木秀幸（トランスクリプトーム解析）－A03 公募明石（標的遺伝子探索／機能解析）

#### 【 その他の領域における広報活動 】

- ・ A03 公募明石－A01 公募鮎（1件）：「機能発現スクリーニング」の実験手法のビデオ撮影及び班員への公開を行った（2012年3月）。

### 7. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）

本学術領域研究では、総括班は円滑な運営を行うための経費を支出した。具体的には総括班の経費は、領域内の連絡・交流を行うためのホームページやフォーラム開設などウェブの運営に関する機器の設置および維持費、データベース公開用のサーバーの購入費用、毎年1~2回の領域公開シンポジウムの開催費用、国際シンポジウムの開催の会場費など運営費、シンポジウムにおける国内外の招待講演者に対する旅費および謝金として支出した。若手支援として、企画シンポジウムへの補助や博士課程学生の海外発表に関する財政支援を行った。さらに、総括班に設定した謝金は、領域全体の事務作業を担当する事務員の雇用費として使用した。

本領域で500万円を越える大型備品の購入はなく、計画研究、公募研究ともに、ポストクの採用、

消耗品費、旅費などに適正に使用している。領域全体に共通する支出として、微生物ではゲノム解析、植物ではトランスクリプトーム解析に次世代シーケンサーによる解析費用（外注）が比較的多い。領域のフォーラムなどで納入データの質、コストなどの情報を共有しながら、場合によってはまとめて発注するなど節約に注意している。

## 8. 今後の研究領域の推進方策

領域が開始して2年余り、公募班員が加わって1年半と短期間ではあるが、実際に各個人があげた成果をみると着実に進歩していることがわかる。大腸菌、酵母、麴菌を中心に、汎用宿主に複数の生合成遺伝子を導入して、物質を生産する生合成マシナリーの構築例は、既に論文になったもので、12例あり、未発表のものはこの倍以上の数となる見込みであり、予想以上の大きな進展を見せている。このプロジェクトのもう一つの目的である多様性創出機構の解明も、骨格構築酵素の論理的あるいはランダムな改変により多様な物質を合成することに成功しており、また修飾酵素の基質受容能の高さは、頻度高く見つかってきている。これらの成果から我々の進む方向に問題はないと確信している。共同研究は、確実に実績があるものだけでも56件あり、一つの研究室ができる研究には制限があり、今回の領域のように多くの専門家が集まった構成では、おのずと共同研究は増えるものと期待している。総括班では、領域のさらなる活性化を目指して、これまで行ってきた活動のほか、以下のような企画を考えている。

領域が発足してからも、DNAのシーケンスコストが低下しており、公募班員でも十分ゲノム、cDNA (EST) 解析を外注可能な環境が整いつつある。従ってこうした情報をうまく使って研究するかは喫緊の課題である。しかし現時点でシーケンスデータを使いこなすのに必要なツールが整っておらず、本領域での専門家との共同研究は、研究者がスムーズにデータを扱う場として重要である。領域研究者からの要望を正確につかみ、領域内さらには領域外の研究者を巻き込んで、生合成マシナリーの構築に必要となるWebツールやデータベースの充実させていく予定である。

2012年6月に開催した国際シンポジウムは、国内外からの参加者に大変好評であった。それはこの領域が大きく進展しつつあり、これまでできなかったこと、全く不明であったことに関して次々と多くの回答となる発表があったことが一因と思われる。研究に新たな展開したい場合、多くは宿主を換える際の遺伝子操作など新技術の導入に時間がかかってしまうのが常である。そこで領域研究者が持っている公開可能な、技術移転可能な手法を取り上げ、開発者から講習を受ける機会を設けたい。既に一例を作成したが、都合で参加できない研究者にも情報提供するため、ビデオ撮影し、希望者に配布することも企画したい。可能であれば領域外の優れた研究者にも参加してもらい、技術講習をお願いするよう総括班で努力したい。

若手支援の重要性は論をまたない。これまで若手研究者だけで企画実施する若手シンポジウムは、領域が始まってから年二回になり、これを活性化する企画（著名な外国人研究を交えて開催）を支援するだけでなく、さらなる機会を設定する。例えば海外の若手で興味深い研究を行っている研究者を

何人か集め、日本人研究者とミックスで若手だけのミニ国際シンポジウムを企画開催することは既に話題にのぼっている。このほか DC 学生などの海外発表に関する財政支援も新たに進めるのである。

アウトリーチは重要で、原発問題に限らず、行っている研究の意義を誤った報道などに左右されないように、常に研究者側から発信していくことが必要と考えている。今年度初めて、一般市民向けの大きなイベント、サイエンスアゴラに参加するが、これに限らず、機会を見つけて説明し、領域の理解してもらおう努力を継続していきたい。

## 9. 総括班評価者による評価の状況

海老塚 豊（国立医薬品食品衛生研究所生薬部・客員研究員、東京大学名誉教授）

本領域は、多段階からなる酵素変換反応（生合成マシナリー）を解析・再構築することにより、有用天然有機化合物および関連物質の生産法を開発することを目的にしている。

この目的のため、化学、薬学、農学分野の天然物有機化学者に、ゲノム科学やバイオインフォマティクスなどの研究者を加えたコンソーシアムを組織し、生物活性物質の構造多様性創出のための研究拠点が形成されつつあることは高く評価できる。ゲノム・メタボローム情報の効率的取得・解析から、多重遺伝子発現系の開発、生合成酵素の反応解析・機能変換にわたるまでを包括的に理解し、多様な研究者による新たな視点や手法を取り込んだ共同研究等の推進が期待できる領域となっている。すでに、各研究項目において、計画研究のみならず公募研究からも **high impact journal** に優れた研究成果が公表されており、効果的な共同研究で成果をあげているが、まだ共同研究の数は期待するまでには至っていない。代表研究者のリーダーシップのもと、領域の目的・目標を明確に意識した共同研究等の推進により、更なる総合的な成果が創出されることを期待する。

医薬品をはじめとする有用物質の供給源となる新規天然有機化合物の探索・生産は、科学技術立国を目指す我が国において根幹となるべき学術分野であり、また健康長寿社会実現のため社会的要請の強い分野でもある。今後は、本研究領域の進展が他の研究領域の発展に波及効果をもたらすよう、また本学術領域の定着・発展のための若手研究者の育成についても、積極的かつ具体的な取り組みを期待したい。

大村 智（北里大学北里研究所・名誉理事長）

天然物有機化合物の生合成に関わる研究は我が国に於いて伝統的に優れた業績を持つ学問分野の一つである。今回、このような背景を持つ生物活性物質の多様性の創出を目指す「生合成マシナリー」が新学術領域研究に採択されたことは、誠に意義あることであり、既に多くの研究が活発に推進されていることは喜ばしいことである。

植物および微生物の代謝産物は人知を超える多様な構造を有するものが極めて多い。このことはとりもなおさず、多様な反応を触媒する酵素系の存在を示すものである。これらの酵素機能を解明し、新規な生理活性物質の創製へと研究が進められることが期待される。特に実用面での開拓に向けた研

究が進展することを期待する。

当領域研究に取り上げられた研究項目は、今後の新展開を目指す生合成研究に相応しいものである。発表会等で成果を拝聴して来たが、これらの項目ごとの研究者の連携が良く、総合的に成果を挙げようとする意欲を感じる。

#### **長田裕之（理化学研究所・主任研究員、ケミカルバイオロジー研究領域統括責任者）**

微生物、植物は、生理活性天然物の生産者として重要である。本研究班では、微生物、植物の生合成遺伝子クラスターをクローニングして、その生合成機構を解明し、その結果として、有用生理活性物質の生産向上と活性増強を目的としている。上記目的を可能にする適切な班構成であり、情報科学まで含んでいる点は、研究成果の共有、発信の面から評価できる。

本研究班が成立したことで、我が国の生合成研究がレベルアップすることは確実に期待できるが、「自分が興味を持っている化合物」の生産だけに留まることなく、「社会が欲しがっている化合物」の生産も可能にして欲しい。