

令和 2 年 4 月 24 日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08350

研究課題名(和文)大腸菌のテトラサイクリン耐性克服のための芳香族ポリケチド生合成解明と応用研究

研究課題名(英文) Biosynthetic studies of aromatic polyketides to overcome tetracyclin-resistance of *Escherichia coli*.

研究代表者

田口 貴章 (Taguchi, Takaaki)

国立医薬品食品衛生研究所・食品部・室長

研究者番号：80409383

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：テトラサイクリン類同様、芳香族ポリケチド抗生物質に分類されるアクチノロジンの新規類縁体を生合成工学で効率的に種々創出するため、その生合成を試験管で再構成することを目的とし、二成分系フラビン依存型酸素添加酵素系とエノイル還元酵素の発現系構築及び反応系の構築・最適化に成功した。これにより、酸素添加酵素の反応機構及び基質特異性が明らかとなった。エノイル還元酵素と組み合わせた複合酵素系の再構成も試み、課題が明確となった。本研究により、アクチノロジン生合成の完全再構成の実現可能性が飛躍的に高まった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸菌のテトラサイクリン耐性率低下は世界的に喫緊な課題の一つであり、大腸菌の薬剤排出ポンプの阻害剤を新規に創出できれば、この課題解決に寄与できる。本研究により、テトラサイクリンと類似している抗生物質アクチノロジンの、生合成に関わる酵素の一部について発現系、反応系を構築でき、反応機構を明らかとしたことの学術的な意義は大きい。加えて、生合成全体の試験管での再構成と新規阻害剤の創出の可能性も高まり、耐性率低下という社会的な課題解決の一助となる。

研究成果の概要(英文)：Actinorhodin (ACT) and tetracyclines belong to a class of aromatic polyketide antibiotics. To produce new derivatives of ACT efficiently by biosynthetic engineering, *in vitro* reconstitution of their biosynthesis is very important. The two-component flavin-dependent monooxygenase system and enoyl reductase involved in ACT biosynthesis were heterologously expressed. *In vitro* assay conditions were successfully optimized, allowing for a clear understanding of enzymatic mechanisms and substrate specificities. Furthermore, the combination of the monooxygenase system and the enoyl reductase revealed new problems to be solved. *In vitro* reconstitution of ACT biosynthesis will soon be achieved based on the results of this study, and substances that decrease tetracycline-resistance rates will thus be identified.

研究分野：天然物化学

キーワード：アクチノロジン 生合成 酸素添加 水酸化 エノイル還元 テトラサイクリン耐性率

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

1980年代以降、人に対する抗微生物薬の不適切な使用等を背景として病院内を中心に新たな薬剤耐性菌が増加し、また日本国外では多剤耐性・超多剤耐性結核(抗酸菌)、耐性マラリア等が世界的に拡大している一方で、新たな抗微生物薬の開発は減少している。このような背景から、2015年5月の世界保健機関(WHO)総会で薬剤耐性に関する国際行動計画が採択された。加えて2016年のG7神戸保健大臣会合においても、薬剤耐性(AMR)は「決定的に重要な国際課題として、(中略)国際協力を一層喫緊のものとして進める。」(厚生労働省HPより一部抜粋)と記載された神戸コミュニケが採択された。我が国の対応として「薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン(概要)」が厚生労働省HPにて公表され、成果指標の一つとして、大腸菌のテトラサイクリン耐性率を2014年の45%から2020年には33%以下にする旨が記載された。

生合成的観点からすれば、テトラサイクリン類(TCs)はtype II polyketide synthase (PKS)を中核とする種々の酵素によって生合成される芳香族ポリケタイドである。TCsのような直鎖状四環性化合物のほか、アントラキノン系、アンギュサイクリン系、三環性のベンゾイソクロマンキン系(BIQ)等様々な化合物があり、それらの生合成遺伝子のクローニング、塩基配列解析、各遺伝子のコードする酵素の機能解析が進められてきた。多くの芳香族ポリケタイドの生合成が解明されてきたが、機能未知遺伝子や反応機構の詳細不明な酵素は多く残されており、さらに、type II PKSを始めとする各種生合成酵素がどのように相互作用して高効率な生合成を達成しているのか、未だに解明されていない。

筆者は、上述BIQに属する化合物の一つ、放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2)が生産するアクチノロジン(actinorhodin、以下ACT、図1)の生合成研究に従事してきた。特徴的な青色を示しpH指示薬としての性質を有するACTは、モデル化合物として利用され放線菌遺伝学の発展に大きく寄与した。しかしACT生合成研究はPKSを含む生合成初期段階に関するものが多く、全貌は未だ明らかとなっていない。抗生物質の生合成経路の完全解明は、遺伝子改変による酵素機能改変、さらに抗生物質の構造変換を可能とし、より有用なシード化合物の取得に繋る。特に、生合成後期修飾過程の理解こそが構造多様性の創出に直結すると考え、筆者らはACTをモデル化合物とし生合成の後期修飾過程を完全解明するべく研究を進め、2018年までに、ACTの6,8位への酸素添加はActVA-ORF5/ActVB酵素系によって連続して行われること、10位二量化はACT生合成の最終反応であり、その制御には生合成酵素ActVA-ORF4が必須であること、ACT生合成遺伝子破壊体にMED生合成遺伝子を組込むことで新規化合物が得られること等を明らかにした<sup>1-5)</sup>。

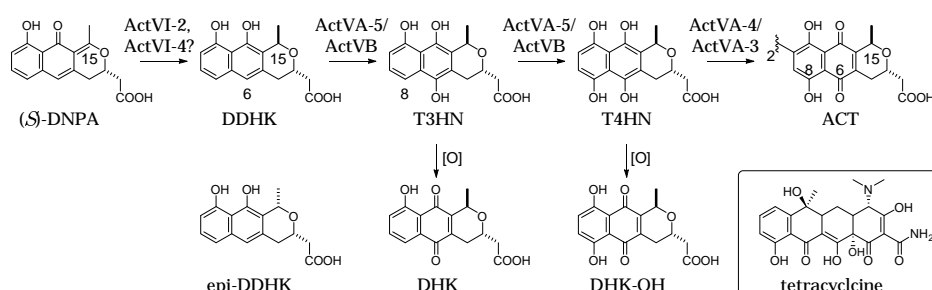


図1. ACT生合成後期修飾過程とTC.

### 2. 研究の目的

大腸菌のTC耐性率を低下させる手段の一つとして、TC排出ポンプTetRの発現制御タンパク TetRを制御し、排出ポンプを不活化させる方法が考えられる。ACT生産菌 *S. coelicolor* A3(2)にはTetRの相同タンパクActRが存在し、ActRはACT特異的排出ポンプActAのリプレッサーとして機能している。我々はActRとACT生合成の単離可能中間体(S)-DNPAの共結晶構造解析について報告していることから<sup>6)</sup>、生合成改変によって創出するACT類縁体からActRの阻害剤を探索し、その成果をTetR制御に応用しTC耐性率を低下することを考えた。

筆者らは、遺伝子改変による酵素機能及び生合成経路の改変、並びに構造改変を迅速・簡便にするため、異種発現・精製した生合成酵素を活用しACT生合成を *in vitro* で再構成することを大きな目的として研究しており、2017年には中間体(S)-DNPAまでの23反応の再構成に成功した<sup>7)</sup>。本研究では、ACT生合成の完全解明と *in vitro* 再構成を目的とし、下の目標を設定した。

- 1) 二成分系フラビン依存型モノオキシゲナーゼ(Flavin-dependent Monooxygenase, FMO)として機能するActVA-5/ActVBの機能解析

本研究開始以前、ActVA-5/ActVBが6-deoxy-dihydrokalafungin(DDHK)を基質とし、その6,8位の二か所を水酸化することを *in vivo* の解析から示したが、アナログ基質を用いた *in vitro* assayでは6位の酸素添加しか確認できていなかった。連続水酸化が進行するよう、*in vitro* assay系を最適化し、反応機構の詳細を解明する。また、最適化されたassay系にTCsを供し、TCsの新規類縁体を得られるか検証する。

- 2) エノイル還元酵素として機能するActVI-2およびその相同酵素ActVI-4の発現系および *in vitro* assay系の構築と機能解析

ActVI-2 の機能は *in vivo* 解析で明らかにしたが、その後 *in vitro* 解析は進めていなかった。また、ActVI-4 は ActVI-2 に相同性を示しながら、*in vivo* では機能を解明できなかった。そこで、両酵素の発現系と assay 系を構築し、機能解析を進める。

### 3) ActVI-2/ActVA-5/ActVB の三種酵素複合 assay 系の構築

ActVI-2 の基質である(S)-DNPA までの生合成は、既に *in vitro* で再現できている<sup>7)</sup>。(S)-DNPA 以降の三反応が連続して進行するよう、三種酵素の複合 assay 系を構築する(図 1)。

## 3 . 研究の方法

### 1) 二成分系 FMO として機能する ActVA-5/ActVB の解析

既報<sup>4)</sup>に従い、ActVA-5, ActVB それぞれを発現、精製した。基質 DDHK は、*S. coelicolor* 形質転換体から単離した(S)-DNPA をテトラヒドロほう酸ナトリウムにより還元し、生成物である DDHK 及び *epi*-DDHK の混合物から HPLC 分取により精製して取得した。

ActVA-5/ActVB に DDHK を基質として供すると、6, 8 位が水酸化された生成物 hydroxy-tetrahydro-kalafungin (THK-OH)とその自動酸化体 8-hydroxydihydrokalafungin (DHK-OH) が生成物として得られるよう、反応 pH、酵素濃度、補酵素濃度、反応時間等について検討し最適化した後、基質・中間生成物・最終生成物の量を経時的に定量測定した。また、TCs としてテトラサイクリン (TC)、オキシテトラサイクリン (OTC)、およびクオルテトラサイクリン (CTC) を assay 系に供し、新規類縁体が得られるか検証した。

### 2) ActVI-2 及び ActVI-4 の発現系と assay 系の構築、機能解析

ActVI-2 と ActVI-4 それぞれを PCR で増幅し大腸菌発現用プラスミド pET-21b に組み込み His-ActVI-2 及び His-ActVI-4 発現用ベクターを構築し、大腸菌 BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL 株による酵素発現を行った。精製酵素と(S)-DNPA、各種補酵素を用いて assay 系を構築した後、ACT 生合成中間体やシャント化合物を基質として assay 系に供した。

### 3) ActVI-2/ActVA-5/ActVB の三種酵素複合 assay 系の構築

ActVI-2 の assay 系をベースとし、ActVA-5、ActVB、各種補酵素を ActVA-5/ActVB の最適条件での濃度で加えた assay 系を構築し、ActVI-2 の基質(S)-DNPA を供した。

## 4 . 研究成果

### 1) 二成分系 FMO として機能する ActVA-5/ActVB の解析

ActVA-5/ActVB 反応条件を最適化し、反応液と反応温度及び時間は以下の通りとした：反応液 (250  $\mu$ l), 25 mM PIPES-NaOH (pH6.5), 1 mM NADH, 5  $\mu$ M FMN, 120 U/ml catalase, 1  $\mu$ M His-ActVB, 1  $\mu$ M His-ActVA-ORF5, 25  $\mu$ M DDHK, 1%(v/v) methanol, 25  $^{\circ}$ C, 10 分間。基質 DDHK の分解を最小限にするため反応溶液の pH を 6.5 とし、DDHK の溶解補助剤として少量のメタノールを使用した。また、HPLC 分析の前に、反応液を 60  $^{\circ}$ C で 1 分間加温することで酵素を失活させることとした。この反応条件では、酵素非存在下で DDHK の約 23%が消失したが、酵素存在下では生成物 THK-OH と DHK-OH を検出できた(図 2\_A)。特に、DDHK の 93%が THK-OH へと変換され、反応はほぼ定量的に進行した。ActVA-5 または ActVB のいずれかが存在しないと、基質 DDHK と少量の dihydro-kalafungin (DHK) が検出された(図 2\_B, C)。DHK は DDHK の 6 位が水酸化されて得られる T3HN が、自動酸化されたものである。さらに i) 酵素非存在下では大量の DDHK が検出される、ii) 基質 DDHK で自動酸化されるのは最大 10%、iii) 補酵素 NADH と FMN は必須、iv) catalase 非存在下では活性が低下する、ということが明らかとなりを示し、DDHK は間違いなく ActVA-5/ActVB による 6, 8 位水酸化反応の基質であると明示した。

DHK を基質として assay 系に供しても、THK-OH に変換された(図 2\_D)。これは、DHK が ActVA-5/ActVB によって T3HN に還元されたことを意味する。既報の assay 条件では DHK の 8 位水酸化活性を検出できなかった。本成果との比較から、基質の溶解補助剤として ethyleneglycol monomethyl ether (EGME)を反応溶液の 30%の容量で加えていたことによって 8 位水酸化が阻害されていたことが判明した。

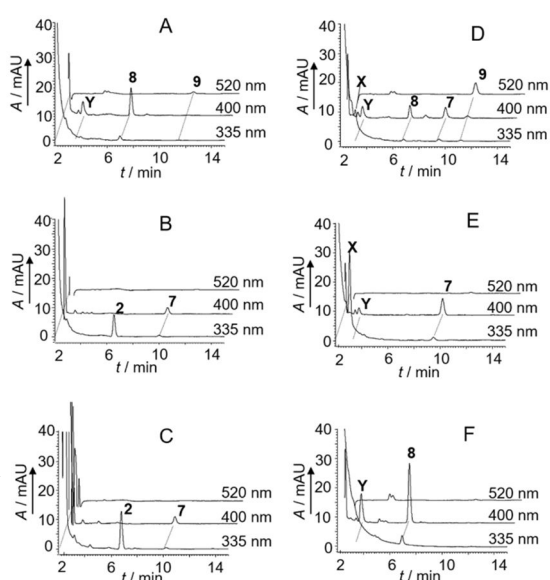


図 2. 反応条件検討のクロマトグラム .

2: DDHK, 7: DHK, 8: THK-OH,

9: DHK-OH, X: T3HN.

- (A) DDHK with ActVA-5/ActVB; (B) DDHK with ActVB; (C) DDHK with ActVA-5; (D) DHK with ActVA-5/ActVB; (E) DHK with ActVB; (F) DHK-OH with ActVB.

DHK が THK-OH に変換された反応液を精査したところ、反応生成物の THK-OH, DHK-OH に加え、T3HN の存在も確認できた (図 2\_D)。ACT 生合成研究において T3HN を検出できたのは、本成果が初である。加えて、DHK から T3HN への還元には ActVB、NADH、FMN が必須であることが判明した (図 2\_E)。また、ActVB は NADH および FMN 存在下、DHK-OH を THK-OH に変換した (図 2\_F)。THK-OH は T4HN の互変異性体であることから、ActVB は、キノン体 (DHK 及び DHK-OH) をヒドロキノン体 (T3HN 及び T4HN) に変換する活性も有することが明らかとなった。この ActVB のキノン還元活性は既に報告されていたが、嫌氣的条件下で確認された活性であった。放線菌は好気性菌であるため、ACT 生合成も好氣的条件下で進行すると考えられ、好氣的条件下で ActVB のキノン還元活性を確認できたのは本成果が初めてである。

連続水酸化反応の機構として、以下の二パターンが想定される：1) ActVA-5 は DDHK のみを基質として認識し、結合サイト内で 6, 8 位を連続して水酸化し、生成物 T4HN を排出する単一基質認識方式、2) DDHK の 6 位水酸化と、中間生成物 T3HN の 8 位水酸化は異なる ActVA-5 分子で制御されるステップワイズ方式。どちらの機構であるか検証するため、反応液中の ActVA-5 濃度を低くした条件下で反応時間 20 分まで、経時的に DDHK, DHK 及び THK-OH の濃度をモニターした結果、基質 DDHK の濃度が直線的に減少するのに合わせて DHK が蓄積すること、THK-OH は反応開始 10 分から生成されることが明確となり、6, 8 位の連続水酸化反応はステップワイズ方式で進行していることを明らかにした。

以上、ActVA-5/ActVB の *in vitro* assay 系を最適化し、DDHK から連続水酸化反応により T3HN というヒドロキシナフタレン型中間体を経て THK-OH へと変換されることを明らかにした。また、ActVB は還元型フラビンを供給するだけでなく、DHK, DHK-OH というキノン体をヒドロキノン体へ還元する活性も併せ持つことも明らかにした。

続いて、ActVA-5/ActVB の最適化された条件に、テトラサイクリン (TC)、オキシテトラサイクリン、およびクロルテトラサイクリンを供した。25 °C, 10 分間の反応後、反応液を 60 °C で 1 分間加熱し酵素を失活させ、HPLC で生成物を分析した。いずれの基質においても新たなピークは検出されず、TCs は ActVA-5/ActVB の基質とならないことが判明した。

DDHK が三環性化合物なのに対して TCs は四環性化合物である。ActVA-5 の基質結合サイトに入らない可能性が高い。今後、X 線結晶解析やホモロジーモデリング等により ActVA-5 の基質結合サイトを検証し、周辺のアミノ酸残基を置換し基質結合サイトの容積を大きくすれば、基質特性が変化し TCs も基質として認識されることが期待される。

## 2) ActVI-2 及び ActVI-4 の発現系と assay 系の構築、機能解析

ActVI-2 及び ActVI-4 を精製した結果、単一のバンドとして得ることに成功した。

反応液と反応温度及び時間は以下の通りとした：反応液 (100  $\mu$ l), 20 mM MES (pH6.5), 1 mM NADPH, 0.6  $\mu$ M His-ActVI-2 or His-ActVI-4, 40  $\mu$ M (S)-DNPA or the other substrates, 1%(v/v) methanol, 30 °C, 20~30 分間。酵素反応は 0.05 M 塩酸含有メタノールを添加して停止した。ActVI-2 は、NADPH 存在下 10 分間で完全に、(S)-DNPA の 14,15 位を立体特異的に還元し DDHK を生成した。補酵素を NADH に変えると全く反応が進行せず、ActVI-2 の NADPH 要求性が明らかとなった。(S)-DNPA のエナンチオマー (R)-DNPA も NADPH 存在下 20 分間ではほぼ完全に epi-DDHK に変換されたが、シャント化合物の一つ DMAC は変換されなかった。

一方、ActVI-4 は NADPH 存在下でも (S)-DNPA, (R)-DNPA, DMAC のいずれも還元しなかった。DHK-OH のラクトン化誘導体のみ活性を示したが、その変換後の構造については、今後の検討が期待される。

## 3) ActVI-2/ActVA-5/ActVB の三種酵素複合 assay 系の構築

ActVI-2 の assay 系を基に、ActVA-5/ActVB の反応に必要な酵素、補酵素を加え、以下の条件とした：反応液 (250  $\mu$ l), 25 mM MES (pH6.5), 1 mM NADPH, 1 mM NADH, 5  $\mu$ M FMN, 120 U/ml catalase, 0.6  $\mu$ M His-ActVI-2, 1  $\mu$ M His-ActVB, 1  $\mu$ M His-ActVA-ORF5, 40  $\mu$ M (S)-DNPA, 1%(v/v) methanol。基質を供し 25 °C, 30 分間反応させた。加温による酵素失活はせず、

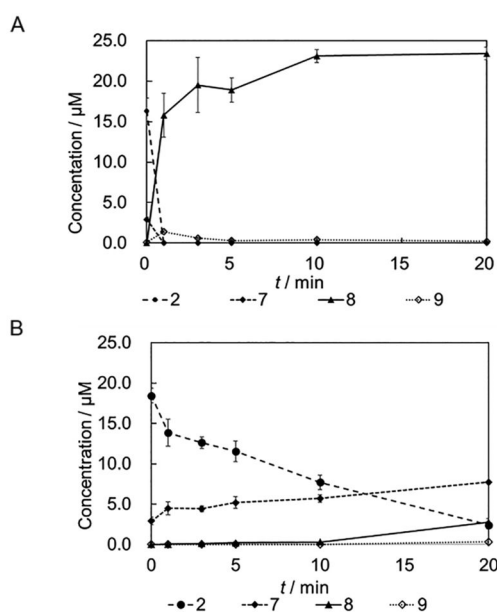


図 3. ActVA-5/ActVB 反応の経時変化。

2: DDHK, 7: DHK, 8: THK-OH, 9: DHK-OH.

(A) the standard assay; (B) the assay with a reduced concentration (one-fifth) of ActVA-5 (means  $\pm$ S. E., n = 3)

反応開始後 30 分に反応液の一部 (10  $\mu$ L) を HPLC に供し、生成物を確認した。

(S)-DNPA は完全に消失し、ActVI-2 の生成物 DDHK と、ActVA-5/ActVB の中間生成物 DHK が蓄積した。しかし、THK-OH 及び DHK-OH は生成せず、2 段階目の 8 位水酸化は進行しなかった。ActVA-5/ActVB の assay では、基質濃度が 25  $\mu$ M 以上だと DHK により 8 位水酸化が阻害される可能性が高い。本検討においては、ActVI-2 の条件に合わせて (S)-DNPA 濃度を 40  $\mu$ M としたため、DHK の濃度が高すぎ阻害されたと考えられる。

また、(S)-DNPA の 3 位エナンチオマーである (R)-DNPA を基質としたところ、30 分後に完全に消失し、3epi-DDHK 及び 3epi-DHK が検出された。ActVA-5/ActVB は、反応効率は少し低下するものの、15epi-DDHK を 15epi-THK-OH に変換する。ACT 生合成中間体の 3 位、15 位の立体化学は ActVI-2, ActVA-5 の活性に大きな影響を及ぼさないことが明らかとなったことに加え、これらを利用して ACT 及び各種中間体の立体異性体を得られることが判明した。

#### 4) 結論

大腸菌のテトラサイクリン耐性率を低下させるため、TetR タンパクと相互作用する化合物の探索を考え、ACT 生合成を *in vitro* で再構成したうえで生合成工学的に新規化合物を種々創出し探索源として利用することを目的とした。

ActVA-5/ActVB の *in vitro* assay 系の最適化に成功し、反応の経時的分析から、6, 8 位の水酸化反応は別の ActVA-5 タンパク分子によって制御されるステップワイズ方式で進行することを明らかにした。フラビン還元酵素 ActVB が、還元型フラビンを ActVA-5 に供給するだけでなく、反応生成物が自動酸化された際に還元し、生合成ルートに戻す働きをする二機能性タンパクであることを明らかにした。また、その一方、残念ながらテトラサイクリン類は基質とならないことも明らかとなった。

ActVI-2, ActVI-4 の発現系と *in vitro* assay 系の構築にも成功した。ActVI-2 は (S)-DNPA のみならず (R)-DNPA もエノイル還元することを明らかにした。一方、ActVI-4 の基質同定には至らず、更なる検討が必要である。

ActVI-2/ActVA-5/ActVB の三種酵素複合 assay 系では、エノイル還元と 6 位水酸化反応の二反応のみ、連続進行することを確認できた。8 位水酸化が進行しなかったのは、中間生成物による基質阻害のためと考察した。基質濃度や酵素濃度の最適化により、三反応の連続進行も実現可能と思われる。ActVI-2 の基質 (S)-DNPA までの *in vitro* 再構成は既の実現しており<sup>7)</sup>、本研究の成果と組み合わせることで、ACT 生合成の *in vitro* 再構成は、最終反応である二量化反応を残すのみで大半を達成したこととなる。今後、ACT 生合成の個々の反応がより詳細に解明されると共に、様々な新規化合物が創出され、テトラサイクリン耐性率の低下を始め、医療・衛生分野で有効利用されるものと期待する。

#### < 引用文献 >

1. Elucidation of the biosynthetic pathway of actinorhodin, a model compound of actinomycete secondary metabolites. Taguchi, T. *Actinomycetologica* (2015) 29, 20-25.
2. Structure and biosynthetic implication of 5*R*-(*N*-acetyl-L-cysteinyl)-14*S*-hydroxy-dihydrokalafungin from a mutant of the actVA-ORF4 gene for actinorhodin biosynthesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2). Taguchi, T., Maruyama, T., Sawa, R., Igarashi, M., Okamoto, S., Ichinose, K. *J. Antibiot.* (Tokyo) (2015) 68, 481-483.
3. Biosynthesis of pyranonaphthoquinone polyketides reveals diverse strategies for enzymatic carbon-carbon bond formation. Metsä-Ketelä, M., Oja, T., Taguchi, T., Okamoto, S., Ichinose, K. *Curr. Opin. Chem. Biol.* (2013) 17, 562-70.
4. Biosynthetic conclusions from the functional dissection of oxygenases for biosynthesis of actinorhodin and related *Streptomyces* antibiotics. Taguchi, T., Yabe, M., Odaki, H., Shinozaki, M., Metsä-Ketelä, M., Arai, T., Okamoto, S., Ichinose, K. *Chem. Biol.* (2013) 20, 510-520.
5. Identification of the actinorhodin monomer and its related compound from a deletion mutant of the actVA-ORF4 gene of *Streptomyces coelicolor* A3(2). Taguchi, T., Ebihara, T., Furukawa, A., Hidaka, Y., Ariga, R., Okamoto, S., Ichinose, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2012) 22, 5041-5045.
6. Crystal Structures of the *Streptomyces coelicolor* TetR-Like Protein ActR Alone and in Complex with Actinorhodin or the Actinorhodin Biosynthetic Precursor (S)-DNPA. Willems, A.R., Tahlan, K., Taguchi, T., Zhang, K., Lee, Z.Z., Ichinose, K., Junop, M.S., Nodwell, J.R. *J. Mol. Biol.* (2008) 376, 1377-1387.
7. Bifunctionality of ActIV as Cyclase-Thioesterase Revealed by *In vitro* Reconstitution of Actinorhodin Biosynthesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2). Taguchi, T., Awakawa, T., Nishihara, Y., Kawamura, M., Ohnishi, Y., Ichinose, K. *ChemBioChem* (2017) 18, 316-323.

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Makoto Hashimoto*, Takaaki Taguchi*, Kazuki Ishikawa, Ryuichiro Mori, Akari Hotta, Susumu Watari, Kazuaki Katakawa, Takuya Kumamoto, Susumu Okamoto, Koji Ichinose. (*: equal contribution.)	4. 巻 21
2. 論文標題 Unveiling Two Consecutive Hydroxylations: Mechanisms of Aromatic Hydroxylations Catalyzed by Flavin-Dependent Monooxygenases for the Biosynthesis of Actinorhodin and Related Antibiotics	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 623-627
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cbic.201900490	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田口貴章、橋元誠、石川和樹、岡本晋、市瀬浩志
2. 発表標題 アクチノロジン生合成における後期修飾過程のin vitro再構成検討
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 市瀬 浩志、田口貴章、淡川孝義、橋元誠、石川和樹、片川和明、熊本卓哉、大西康夫、岡本晋
2. 発表標題 アクチノロジン生合成に関与する二機能性酵素の同定と特性解析
3. 学会等名 第61回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 石川和樹、小松薫平、太田千裕、橋元誠、田口貴章、市瀬浩志
2. 発表標題 Actinorhodin生合成に関与する立体特異的エノイル還元酵素の機能解析
3. 学会等名 日本薬学会 第139回年会（2019年3月22日 千葉）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 森隆一郎, 田口貴章, 金井祐城, 丸和稔, 熊本卓哉, 岡本晋, 市瀬浩志
2. 発表標題 アクチノロジン生合成における連続水酸化反応機構の解析 (第3報)
3. 学会等名 2017年度 (第32回) 日本放線菌学会大会 (長野)
4. 発表年 2017年 ~ 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

武蔵野大学 薬学研究所 生薬化学研究室 <a href="https://www.musashino-u.ac.jp/research/laboratory/pharmacy/lab/shoyaku.html">https://www.musashino-u.ac.jp/research/laboratory/pharmacy/lab/shoyaku.html</a>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	市瀬 浩志  (Ichinose Koji)  (40282610)	武蔵野大学・薬学部・教授    (32680)	平成30年度 (第二年度) のみの参画 .