

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 25 日現在

機関番号：32607

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22108006

研究課題名（和文）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

研究課題名（英文）Versatile host for the heterologous expression of secondary metabolism.

## 研究代表者

池田 治生（Ikeda, Haruo）

北里大学・感染制御科学府・教授

研究者番号：90159632

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 48,500,000円

研究成果の概要（和文）：二次代謝産物生合成の詳細な解析および改変のため汎用性のある異種生合成遺伝子群発現のためのモデル宿主の構築を行った。物質生産を効率良く達成するため2003年に我々によってゲノム解析が完了した、医薬品生産菌*Streptomyces avermitilis*を元に染色体の再構築を行った。同菌株の内在性の二次代謝産物の生合成にかかわる遺伝子を欠失、さらに反応性の高い修飾酵素の遺伝子を欠失させた大規模欠失株を作製した。得られた宿主に20種の異種生合成遺伝子群を導入したところ、得られた形質転換体から物質生産を観察することができた。

研究成果の概要（英文）：An industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*, which is a producer of anthelmintic macrocyclic lactones, avermectins, has been constructed as a versatile model host for heterologous expression of genes encoding secondary metabolite biosynthesis. Twenty of the entire biosynthetic gene clusters for secondary metabolites were successively cloned and introduced into a versatile model host *S. avermitilis* SUKA17 or 22. Almost all *S. avermitilis* transformants carrying the entire gene cluster produced metabolites as a result of the expression of biosynthetic gene clusters introduced. A few transformants were unable to produce metabolites but their production was restored by the expression of biosynthetic genes using an alternative promoter or the expression of a regulatory gene in the gene cluster that controls the expression of biosynthetic genes in the cluster using an alternative promoter.

研究分野：微生物分子遺伝学

キーワード：二次代謝産物 生合成マシナリー 異種発現 放線菌

## 1. 研究開始当初の背景

放線菌は多種多様な構造ならびに生物活性を有する有機化合物（2次代謝産物）を創り出す。放線菌等の原核細胞生物の2次代謝産物生合成に関与する遺伝子は、ほぼ例外なくそれらすべての遺伝子が染色体上の特定の位置にクラスターを形成しており、オペロン構造を形成しない植物などの遺伝子とは全く異なる。このことは一連の生合成遺伝子すべてを一つのDNA断片として回収することが可能であり、これらの遺伝子の再構成や機能改変を行う上で、極めて効率良い素材である。一方、有用2次代謝産物を生産する放線菌の生合成機構を解析する過程で、ゲノム配列の決定や染色体断片のクローン化が行われても、直接的かつ詳細な検討には分子遺伝学的な解析は必須である。しかしながら、多くの放線菌では、遺伝的な不安定性のみならず、遺伝子破壊や特定遺伝子の高発現など遺伝子の導入が不可能、あるいは極めて困難な場合が多く、解析を断念せざるを得ない場合が多い状況である。

## 2. 研究の目的

2次代謝産物の生合成遺伝子群はその生合成に必要な反応工程に応じ、ポリケタイドのような極めて複雑かつ、骨格の修飾の多い化合物の生合成遺伝子群では100 kbを越えるものも少なくない。このような巨大DNA断片を利用した物質生産を達成するには宿主生物に導入することだけでなく、それが安定に宿主生物に保持されること、また導入した個々の遺伝子が効率良く発現することは言うまでもない。放線菌は2次代謝産物の生産に長けた微生物であり、ゲノム解析から2次代謝産物の生合成遺伝子群の総数のみならずこれら2次代謝産物の生成に必要な1次代謝産物である前駆体の供給や合成過程に必要なエネルギー代謝が十分に整っていることと、1次代謝と2次代謝とのタイミングが極めて効率良いものと推察された。このような理由から、工業生産に使用されなかつたゲノム解析が完了した *Streptomyces avermitilis* を、物質生産のために最適化した宿主として構築することは、生合成工学的な物質生産の展開ならびに将来に向けての新たな物質生産体系を築くためにも有効な方法である。このような考えで宿主を構築する試みは国内外ともに報告が無く、きわめて独創性のある次世代技術開発につながる研究である。

## 3. 研究の方法

多くの天然物生合成経路の解析から、これらの生合成には1から30種の酵素が働いていることが明らかとなってきた。また、これらの解析結果から10程度程度の生合成酵素を自在に扱うことによってかなり複雑な分子の合成もできるようになってきた。そこでこれらの生合成酵素および遺

伝子の機能解析に必要な道具である信頼性が高く、かつ効率良い異種発現用宿主、高発現用プロモーター、多数の遺伝子からなる断片を効率良く導入可能な仕組みなど物質生産用（分子生物学用）ツールを開発する。具体的には、(1) 物質生産のために必須な最少ゲノムの構築 (2) 安定かつ良好な発現が達成できる異種遺伝子導入システムの構築 (3) 異種生合成遺伝子の高発現を達成するプロモーターの探索 (4) 前駆体供給系改変による物質生産の効率化などの検討を行う。

## 4. 研究成果

今世紀初めからのゲノム解析技術の進歩によって、現在までに3,400種以上の真正細菌および170種を越える始原菌のゲノム解析が完了している (<https://gold.jgi-psf.org/index>)。2次代謝産物の生成が比較的多く観察される上記の細菌のゲノムは、生成物に対応する数以上の生合成遺伝子群が見出されることが特徴である。特に *Streptomyces* 属ではゲノム上に30種以上の生合成遺伝子群が見出されるが、これらの内の数種の生合成遺伝子群のみが発現し、他の生合成遺伝子群は実験室レベルの環境では発現が観察されない休眠状態である<sup>1</sup>。2次代謝産物生合成遺伝子群の遺伝学的な解析は、生合成経路の理解や遺伝子発現調節など多くの知見を得ることができるとともに、それらの成果を実用生産の改良や特定成分の選択的な蓄積など、産業利用に展開することが期待される。しかしながら、放線菌では遺伝的な不安定性や分子遺伝学的な手法の適用が困難なこともあり、解析に至っていない場合も少なくない。我々は、多くの有用物質生合成遺伝子群の詳細な機能解析等を実現するため、信頼性の高いモデル宿主（最適化宿主）の構築、安定かつ高発現の達成できるベクターおよび多数の遺伝子の導入可能な物質生産用のツールを提供することを目的として検討を行った。

2次代謝産物の生合成遺伝子群を詳細に解析するにあたり、当該生合成遺伝子群を保有する菌株での分子遺伝学的な手法が適用できないことが少なくない。このことによって生合成遺伝子群の解析を著しく困難にしている。この場合、分子遺伝学的な解析が可能な宿主での2次代謝産物生合成遺伝子群の異種発現系は多くの情報を得ることが期待できる。これらの要求に応えるべく、*avermectin* の工業生産株 *Streptomyces avermitilis* をモデルに、2次代謝産物生合成に特化した異種発現系を構築した。作製した最適化宿主を用いて、20種を越える異種生合成遺伝子群を導入し、生合成遺伝子群の発現並びにその遺伝子群から生成する遺伝子産物によって生合成される代謝産物を確認してきた。これら生合成遺伝子群の多くは、単に生合成遺伝

子群を含む DNA 断片を導入することによって目的の代謝産物の生成を確認することが可能ではあったが、いくつかの生合成遺伝子群に関しては制御遺伝子の強制発現あるいは生合成遺伝子群を直接強制発現させることによって代謝産物の生成を確認することができた。Cephamycin C および clavulanic acid の工業的な生産菌 *S. clavuligerus* ATCC 27064 は、通常これらの化合物の生産が主であり、他の化合物の生産は cephamycin C あるいは clavulanic acid 非生産変異株で、holomycin あるいは tunicamycin の蓄積が報告されているのみであった。本菌の genome-mining によって新たに glycopeptide 化合物の生合成遺伝子群が見出されているが、当該化合物の生産はいずれの培養条件によっても確認されていない。しかしながら、生合成遺伝子群を導入した *S. avermitilis* 最適化宿主からは多量の pholipomycin の生産が確認された。Pholipomycin 生合成遺伝子群は *S. clavuligerus* ATCC 27064 株では休眠状態であったが、*S. avermitilis* では当該生合成遺伝子群の発現を活性化する因子を保有しているため、遺伝子群内の個々の遺伝子の発現さらにはそれらの遺伝子産物による生合成によって pholipomycin が生成したものである。このように休眠状態の生合成遺伝子群であっても、その発現が達成可能な宿主を導入することによって物質生産を達成可能にすることのできる唯一の例を実証することができた。

いくつかの異種生産が確認された生合成遺伝子群は cosmid でクローン化可能な ~45 kb 程度の大きさである。一方、多様な構造および生物活性を有するラクトン型ポリケチド(PKS)化合物の生合成遺伝子群は type-I 型 PKS の遺伝子を含むためその全長は 50 kb 以上となる。さらに 100 kb を越す大きさの遺伝子群も多く存在するため、それらの生合成遺伝子群全体をクローン化するには BAC ベクターを使用しなければならない。100-kb 程度の BAC クローンの導入は大腸菌でも効率は低く、さらに *Streptomyces* 属に導入する場合も極めて低率であった。我々はこの欠点を克服するために *S. avermitilis* が保有する線状プラスミド SAP1 の伝達能に着目し、大腸菌 DNA に対する制限が比較的低い *S. lividans* を中間宿主とする巨大 DNA 断片の導入法の開発を検討した。*Streptomyces* 属では染色体のみならずプラスミドに関しても線状構造を有するものが多数見出されている。SAP1 (94,287 bp) を巨大 DNA 断片導入ベクターとして取り扱うにあたり、複製・分配および伝達に関する解析を行うとともに 5 種のファージ attP に対応する attB 配列を含む誘導体を構築した。作製した線状プラスミドベクターに数種の type-I 型 PKS 遺伝子群を含む BAC クローンを導入し、*S.*

*avermitilis* 最適化株へ伝達させた。得られた接合体は著量のポリケチド化合物を蓄積し線状プラスミドベクターの有用性を実証した。

放線菌は多種多様な構造ならびに生物活性を有する 2 次代謝産物を生産する菌種として認識されているが、植物などから得られる精油成分はテルペン化合物としてこの生物種の主産物として理解されている。一方、放線菌は数種の揮発性の異臭物質がテルペン化合物として知られているが、植物の代謝産物のような多様性が無く、放線菌を含め原核細胞生物種ではテルペン化合物は極めて少ないものと理解されており、テルペン合成酵素やそれらの遺伝子の研究はもっぱら植物を中心に行われていた。植物由来のテルペン合成酵素のアミノ酸配列は互いに相同性が高いことから、BLAST 等の相同性を利用した方法によって、テルペン合成酵素遺伝子を比較的容易にクローン化することが可能である。一方、原核細胞生物からのテルペン合成酵素の単離は *S. exfoliatus* UC5319 の生産する sesquiterpene 抗生物質 pentalenolactone の母核構造 pentalenene を生成する pentalenene 合成酵素が初めてであり、その後 21 世紀初頭に放線菌ゲノム解析が完了し、geosmin 合成酵素が明らかにされた。植物由来のテルペン合成酵素で見出される、N 末端側の特徴的なモチーフ(PF01397)は他の植物由来のテルペン合成酵素とアミノ酸配列に高い相同性が見出されるため、この領域を基に BLAST 検索で検出することが可能であると推察される。一方、放線菌を含む原核細胞生物のテルペン合成酵素には植物のテルペン合成酵素で見出される PF01397 のモチーフ配列は存在せず、PF03936 モチーフのみが存在する。さらに細菌のテルペン合成酵素ではこの領域のアミノ酸配列の相同性が互いに低いことが特徴的である。このことは、植物由来のテルペン合成酵素のアミノ酸配列を利用して、BLAST 解析による細菌のタンパク質データベースからのテルペン合成酵素の探索が極めて困難であったことの原因である。我々は 2008 年に PF03936 のモチーフ配列を使用して、相同性解析ではなく、統計モデル(hidden Markov models; HMM)を使用したモチーフ解析を行い、放線菌から 2-methylisoborneol 合成酵素遺伝子の存在を明らかにした<sup>2</sup>。この方法をさらに拡張し、細菌タンパク質データベースから統計モデルの作製および改良を行った。最終的に細菌のタンパク質データベース(総数 8,759,463 タンパク質、5,152 菌種)から 262 個のテルペン合成酵素と推定されるタンパク質を見出すことができた。

我々がこれまで構築した *S. avermitilis* 最適化株での異種遺伝子発現系は、これらの候補酵素遺伝子の発現には有用である。系

統分類の系統樹の中で分離した分岐群を形成しているものは新規な反応を触媒することが期待できる。これら 29 種の遺伝子を *S. avermitilis* 最適化株の発現系に供し、ほとんどの形質転換体でテルペン化合物を検出することができた。半数以上の生成物は、これまで植物あるいは糸状菌から単離されたものであったが、公的データベースなどによる検索に一致を生じない、いわゆる「新規テルペン化合物」を 13 種も見出すことができた。これらのおかげによって細菌においても、植物と同様のテルペン合成酵素の多様性が初めて示された。

- (1) Nett, M. Ikeda, H. Moore, B.S. *Nat. Prod. Rep.* 2009, **26**, 1362-1384.
- (2) Komatsu, M. Tsuda, M. Omura, S. Oikawa, H. Ikeda, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008, **105**, 7422-7427.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 35 件)

1. Komatsu, M. Uchiyama, T. Omura, S. Cane, D.E. Ikeda, H. Genome-minimized *Streptomyces* host for the heterologous expression of secondary metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010, **107**, 2646-2651.
2. Xu, L. Fushinobu, S. Takamatsu, S. Wakagi, T. Ikeda, H. Shoun, H. Regio- and stereospecificity of filipin hydroxylation sites revealed by crystal structures of cytochrome P450 105P1 and 105D6 from *Streptomyces avermitilis*. *J. Biol. Chem.* 2010, **285**, 16844-16853.
3. Chou, W.K.W. Fanizza, I. Uchiyama, T. Komatsu, M. Ikeda, H. Cane, D.E. Genome mining in *Streptomyces avermitilis*: Cloning and characterization of SAV\_76, the synthase for a new sesquiterpene, Avermitilol. *J. Am. Chem. Soc.* 2010, **132**, 8850-8851.
4. Ichikawa, N. Oguchi, A. Ikeda, H. Ishikawa, J. Kitani, S. Watanabe, Y. Nakamura, S. Katano, Y. Sasagawa, M. Ankai, A. Fukui, S. Hashimoto, Y. Kamata, S. Otoguro, M. Tanikawa, S. Nihira, T. Horinouchi, S. Ohnishi, Y. Hayakawa, M. Kuzuyama, T. Arisawa, A. Nomoto, F. Miura, H. Takahashi, Y. Fujita, N. Genome sequence of *Kitasatospora setae* NBRC 14216T: An evolutionary snapshot of the family *Streptomycetaceae*. *DNA Res.* 2010, **17**, 393-406.
5. Takamatsu, S. Xu, L-H. Fushinobu, S. Shoun, H. Komatsu, M. Cane, D.E. Ikeda, H. Pentalenic acid is a shunt metabolite in the biosynthesis of the pentalenolactone family of metabolites: Hydroxylation of 1-deoxypentalenic acid mediated by CYP105D7 (SAV\_7469) of *Streptomyces avermitilis*. *J. Antibiot.* 2011, **64**, 65-71.
6. Giglio, S. Chou, W.K.W. Ikeda, H. Cane, D.E. Monis, T. Biosynthesis of 2-methylisborneol in *Cyanobacteria*. *Environ. Sci. Technol.* 2011, **45**, 992-998.
7. Takamatsu, S. Lin, X. Nara, A. Komatsu, M. Cane, D.E. Ikeda, H. 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.* 2011, **4**, 184-191.
8. Zhu, D. Seo, M-J. Ikeda, H. Cane, D.E. 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.* 2011, **133**, 2128-2131.
9. Seo, M-J. Zhu, D. Endo, S. Ikeda, H. Cane, D.E. Genome mining in *Streptomyces*. Elucidation of the role of Baeyer-Villiger monooxygenases and non-heme iron-dependent dehydrogenase/oxygenases in the final steps of the biosynthesis of pentalenolactone and neopentalenolactone. *Biochemistry* 2011, **50**, 1739-1754.
10. Miyamoto, T.K. Kitani, S. Komatsu, M. Ikeda, H. Nihira, T. The autoregulator-receptor homologue AvaR3 plays a regulatory role in antibiotic production, mycelial aggregation and colony development of *Streptomyces avermitilis*. *Microbiology* 2011, **157**, 2266-2275.
11. Takahashi, S., Toyoda, A., Sekiyama, Y., Takagi, H., Nogawa, T., Uramoto, M., Suzuki, R., Koshino, H., Kumano, T., Panthee, S., Dairi, T., Ishikawa, J., Ikeda, H., Sakaki, Y., Osada, H. Reveromycin A biosynthesis uses RevG and RevJ for stereospecific spiroacetal formation. *Nat. Chem. Biol.* 2011, **7**, 461-468.
12. Chu, W.K.W. Ikeda, H. Cane, D.E. Cloning and characterization of Pfl\_1841, a 2-methylenebornane synthase in *Pseudomonas fluorescens* PfO-1. *Tetrahedron* 2011, **67**, 6627-6632.
13. Kitani, S. Miyamoto, K.T. Takamatsu, S. Herawati, E. Iguchi, H. Nishitomi, K. Uchida, M. Nagamitsu, T. Omura, S. Ikeda, H. Nihira, T. Avenolide, a *Streptomyces* hormone controlling antibiotic production in *Streptomyces avermitilis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011, **108**, 16410-16415.
14. Uchida, M. Takamatsu, S. Arima, S. Miyamoto, K.T. Kitani, S. Nihira, T. Ikeda, H. Nagamitsu, T. Total synthesis and absolute configuration of avenolide, extracellular factor in *Streptomyces avermitilis*. *J. Antibiot.* 2011 **64**, 781-787.

15. Miyamoto, K.T. Kitani, S. Komatsu, M. Ikeda, H. Nihira, T. The autoregulator receptor homolog AvaR3 plays a regulatory role in antibiotic production, mycelial aggregation and colony development of *Streptomyces avermitilis*. *Microbiology* 2011 **157**, 2266-2275.
  16. 池田 治生 物質生産のための放線菌ゲノムのデザイン, バイオサイエンスとインダストリー, 69 巻、No.4, 274-278 (2011)
  17. 池田 治生 物質生産のための *Streptomyces avermitilis* ゲノムの改変, 化学と生物, 49 巻、No.11, 738-740 (2011)
  18. Cane, D.E. Ikeda, H. Exploration and Mining of the Bacterial Terpenome. *Accounts of Chemical Research* 2012 **45** 463-472.
  19. Inokoshi, J. Matsuhama, M. Miyake, M. Ikeda, H. Tomoda, H. Molecular cloning of the gene cluster for lariatins biosynthesis of *Rhodococcus jostii* K01-B0171. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2012 **95**, 451-460.
  20. Aroonsri, A. Kitani, S. Ikeda, H. Nihira, T. Kitasatoline, a novel beta-carboline alkaloid from *Kitasatospora setae* NBRC 14216. *J. Biosci. Bioeng.* 2012 **114**, 56-58.
  21. Aroonsri, A. Kitani, S. Hashimoto, J. Kosone, I. Izumikawa, M. Komatsu, M. Fujita, N. Takahashi, Y. Shin-ya, K. Ikeda, H. Nihira, T. Pleiotropic control of secondary metabolism and morphological development by KsbC, a butyrolactone-autoregulator receptor homologue in *Kitasatospora setae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012 **78**, 8015-8024.
  22. Yamamura, H. Ohnishi, Y. Ishikawa, J. Ichikawa, N. Ikeda, H. Sekine, M. Harada, T. Horinouchi, S. Otoguro, M. Tamura, T. Suzuki, K. Hoshino, Y. Arisawa, A. Nakagawa, Y. Fujita, N. Hayakawa, M. Complete genome sequence of the motile actinomycete *Actinoplanes missouriensis* 431T (=NBRC 102363T). *Stand. Genomic Sci.* 2012 **7**, 294-303.
  23. 小松 護、池田 治生 放線菌における物質生産のための合成生物学、生物工学、第 90 巻、第 6 号、285-288 (2012)
  24. Zhu, D. Wang, Y. Zhang, M. Ikeda, H. Deng, Z. Cane, D.E. Product-mediated regulation of pentalenolactone biosynthesis in *Streptomyces* by the MarR/SlyR family activators PenR and PntR. *J. Bacteriol.* 2013 **195**, 1255-1266.
  25. Komatsu, M. Komatsu, K. Koiwai, H. Yamada, Y. Kozono, I. Izumikawa, M. Hashimoto, J. Takagi, M. Omura, S. Shin-ya, K. Cane, D.E. Ikeda, H. Engineered *Streptomyces avermitilis* host for heterologous expression of biosynthetic gene cluster for secondary metabolites. *ACS Synth. Biol.* 2013 **2**, 384-396.
  26. 池田 治生 有用物質生産における次世代基盤技術の開発, バイオサイエンスとインダストリー, 71、492-498 (2013)
  27. Ikeda, H. Shin-ya, K. Omura, S. Genome mining of the *Streptomyces avermitilis* genome and development of genome-minimized hosts for heterologous expression of biosynthetic gene clusters. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2014 **41**, 233-250.
  28. Hayashi, S. Ozaki, T. Asamizu, S. Ikeda, H. Omura, S. Oku, N. Igarashi, Y. Tomoda, H. Onaka, H. Genome mining reveals a minimum gene set for the biosynthesis of 32-membered macrocyclic thiopeptides lactazoles. *Chem. Biol.* 2014 **21**, 679-688.
  29. Miyamoto, K.T. Komatsu, M. Ikeda, H. Discovery of gene cluster for mycosporine-like amino acid biosynthesis from Actinomycetales microorganisms and production of a novel mycosporine-like amino acid by heterologous expression. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014 **80**, 5028-5036.
  30. 新家 一男、池田 治生 異種発現による天然化合物創製, 化学と生物、52、616-621 (2014)
  31. Xu, L. Ikeda, H. Lin, L. Arakawa, T. Wakagi, T. Shoun, H. Fushinobu, S. Structural basis for the 4'-hydroxylation of diclofenac by a microbial cytochrome P450 monooxygenase. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2015 **99**, 3081-3091.
  32. Hashimoto, T. Hashimoto, J. Teruya, K. Hirano, T. Shin-ya, K. Ikeda, H. Liu H. Nishiyama, M. Kuzuyama, T. Biosynthesis of versipelostatin: Identification of an enzyme-catalyzed [4+2]-cycloaddition required for macrocyclization of spiro-tetronate-containing polyketides. *J. Am. Chem. Soc.* 2015 **137**, 572-575.
  33. Yamada, Y. Kuzuyama, T. Komatsu, M. Shin-ya, K. Omura, S. Cane, D.E. Ikeda, H. Terpene synthases are widely distributed in bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2015 **112**, 857-862.
  34. Yamada, Y. Arima, S. Nagamitsu, T. Johmoto, K. Uekusa, H. Eguchi, T. Shin-ya, K. Cane, D.E. Ikeda, H. Novel terpenes generated by heterologous expression of bacterial terpene synthase genes in an engineered *Streptomyces* host. *J. Antibiot.* 2015 DOI:10.1038/ja.2014.171.
  35. Ito, F. Ohbatake, Y. Aoyama, S. Ikeda, T. Arima, S. Yamada, Y. Ikeda, H. Nagamitsu, T. Total synthesis of (+)-clavulatriene A. *Synthesis* 2015 **47**, 1348-1355.
- [学会発表] (計 13 件)
1. Genome Minimization of an Industrial Microorganism *Streptomyces avermitilis*. 11th International Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms, 28th June - 1st July, 2010, Melbourne, Australia
  2. Characterization of *relA* mutant of industrial

- microorganism *Streptomyces avermitilis*. 11th International Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms, 28th June - 1st July, 2010, Melbourne, Australia
3. Discovery of new sesquiterpenoid compounds, "Avermitilol" and "Avermitilone" by genome mining of *Streptomyces avermitilis*. 2010 KSBB Fall Meeting & International Symposium. October 7-9 2010, Seoul, Korea
  4. Exploring the bacterial Terpenome. RIKEN Chemical Biology International Symposium. October 26-27 2010, Wako, Japan
  5. Discovery of new branch of pentalenolactone family tree and two different region-specific Baeyer-Villiger monooxygenases. International Union of Microbiological Societies 2011, September 6-10, 2011, Sapporo, Japan
  6. Synthetic Biology of the Secondary Metabolism in the Industrial Microorganism. International Union of Microbiological Societies 2011, September 6-10, 2011, Sapporo, Japan
  7. Engineered *Streptomyces* host for heterologous expression of secondary metabolism. ESF-EMBO Symposium Synthetic Biology of Antibiotic Production, October 2-7, 2011, Sant Feliu de Guixols, Spain
  8. Discovery of new branch of pentalenolactone family tree and two different region-specific Baeyer-Villiger monooxygenases. The 6th Korea-Japan Chemical Biology Symposium, January 26-28, 2012, Sapporo, Japan
  9. Avernolide, a new signaling molecule for antibiotic production in *Streptomyces*. The 6th Korea-Japan Chemical Biology Symposium, January 26-28, 2012, Sapporo, Japan
  10. Heterologous expression for biosynthetic gene clusters in a versatile *Streptomyces* host. International Conference of Natural Products Biosynthesis 2012 (8<sup>th</sup> US-Japan Seminar on the Biosynthesis of Natural Products), June 17-22, 2012, Awaji, Japan
  11. Second version of versatile hosts for heterologous expression of biosynthetic gene(s) for secondary metabolites. 1st European Conference on Natural Products: Research and Applications, September 22-25, 2013, Frankfurt, Germany.
  12. Synthetic Biology of Secondary Metabolite Production in *Streptomyces*. The 7th Japan-Korea Chemical Biology Symposium, February 9-11, 2014, Jeju, Korea.
  13. Novel terpenes generated by heterologous expression of genes encoding bacterial terpene synthases. Natural Product, Discovery & Development in the post genomic era, January 11-14, 2015, San Diego, USA

[図書] (計 3 件)

1. Diversity and Analysis of Bacterial Terpene Synthases. Yamada, Y. Cane, D.E. Ikeda, H. In Chapter seven, Natural Product Biosynthesis by Microorganisms and Plants, Part A, Methods in Enzymology, Volume 515 (D.A. Hopwood ed.), pp. 123-166, Elsevier Inc. Academic Press, New York, 2012.
2. 放線菌のゲノムデザイン、池田 治生、微生物を活用した新世代の有用物質生産技術、pp. 42-48, 穴澤 秀治 監修、シーエムシー出版、東京 2012
3. Genome design of actinomycetes for secondary metabolism. Miyamoto, K.T. Ikeda, H. Microbial Production from genome design to cell engineering. (H. Anazawa & S. Shimizu ed.), pp.63-74, Springer, 2013

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称：新規テルペノイド化合物およびその製造法

発明者：池田治生・曾田匡洋

権利者：学校法人北里研究所、長瀬産業株式会社

種類：特許

番号：特願 2013-168230 および PCT/JP2014/064029

出願年月日：平成 25 年 8 月 13 日

国内外の別：国内・国外

名称：微生物を用いたマイコスポリン様アミノ酸を生産する方法

発明者：池田治生・曾田匡洋・松本淳・山本省吾

権利者：学校法人北里研究所、長瀬産業株式会社

種類：特許

番号：特願 2014-099647

出願年月日：平成 26 年 5 月 13 日

国内外の別：国内

[その他]

ホームページ等

<http://avermitilis.ls.kitasato-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田 治生 (IKEDA, Haruo)

北里大学・大学院感染制御科学府・教授

研究者番号：9 0 1 5 9 6 3 2

(2) 研究分担者

小松 護 (KOMATSU, Mamoru)

北里大学・大学院感染制御科学府・講師

研究者番号：4 0 4 1 4 0 5 7