

Title	産業微生物の有用物質生産における包括的な解析
Sub Title	Comprehensive analysis of the production of useful substances by industrial microorganisms
Author	土居, 志織(Doi, Shiori)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>Streptomyces属放線菌は多種多様な二次代謝産物を生産する産業微生物として知られ、これらの二次代謝産物は、抗生物質や農薬などの有用な化合物として利用されている。二次代謝産物は一次代謝産物を前駆物質として、また、一次代謝経路で生産されるエネルギーや補酵素を利用して生成される。</p> <p>したがってStreptomyces属放線菌の工業レベルでの二次代謝産物の生産は、生合成遺伝子群の発現のみならず、前駆体として利用される一次代謝産物の供給に大きく依存すると考えられる。そこで本研究では、S. avermitilis大規模染色体欠失株SUKA38株の一次代謝の中でも、エネルギー生産やアミノ酸供給に大きく関わるTCA回路の増強株を作成し、二次代謝産物生産への応用を検討した。</p> <p>作成したTCA回路増強株に抗生物質生合成クラスター（クロラムフェニコール、チオストレプトン、セファマイシン、アクチノマイシン）を導入、HPLC分析により生産量を定量した。この結果、クロラムフェニコール生産量が顕著に増加した。一方で、セファマイシンの生産量は顕著に減少した。</p> <p>これらの結果から、本研究による一次代謝フラックスの制御が効率的な有用二次代謝生産への応用に有用であることが証明された。しかしながら、チオストレプトン、アクチノマイシンの生産量は変化が見られず、なぜクロラムフェニコール生産量が増加し、セファマイシン生産量が減少したかは不明のため、今後更なる詳細な解析を行なっていきたい。</p> <p>Streptomyces species are valuable for industrial purposes, such as for the synthesis of drugs. This study aimed to enhance the production of secondary metabolites by examining optimum metabolic flux.</p> <p>Since all secondary metabolites are ultimately derived from primary metabolic building blocks and require an adequate source of energy and reducing equivalents derived from primary metabolism such as ATP and NAD(P)H, successful production of the desired products requires the optimum relationship of the timing and flux between primary and secondary cellular metabolism.</p> <p>Therefore, in this study, among the primary metabolism of <i>S. avermitilis</i> large-scale chromosome-deficient strain SUKA38, we created a TCA cycle, involved in energy production and amino acid supply, enhanced strain in genetically engineered <i>Streptomyces avermitilis</i>. We investigated the effects of overexpression of 2-oxoglutarate ferredoxin oxidoreductase in TCA cycle.</p> <p>Secondary metabolite biosynthetic gene clusters (chloramphenicol, thiostreptone, cephamycin, actinomycin) were introduced into the prepared TCA cycle-enhanced strain, and the production of those secondary metabolites were quantified by HPLC analysis. As a result, the production of chloramphenicol was significantly increased. On the other hand, the production of cephamycin was drastically decreased.</p> <p>The results of our study indicate that overexpression of 2-oxoglutarate ferredoxin oxidoreductase in <i>S. avermitilis</i> SUKA38 is better suited for chloramphenicol production compared with its wild-type strain, SUKA38. But, the reason of these results have not been understood. We would like to carry out a more detailed analysis in the future.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000008-20200159

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	法学部	職名	助教(有期)(自然科学)	補助額	500(特B)千円
	氏名	土居 志織	氏名(英語)	DOI Shiori		
研究課題(日本語)						
産業微生物の有用物質生産における包括的な解析						
研究課題(英訳)						
Comprehensive analysis of the production of useful substances by industrial microorganisms						
1. 研究成果実績の概要						
<p>Streptomyces 属放線菌は多種多様な二次代謝産物を生産する産業微生物として知られ、これらの二次代謝産物は、抗生物質や農薬などの有用な化合物として利用されている。二次代謝産物は一次代謝産物を前駆物質として、また、一次代謝経路で生産されるエネルギーや補酵素を利用して生合成される。</p> <p>したがって Streptomyces 属放線菌の工業レベルでの二次代謝産物の生産は、生合成遺伝子群の発現のみならず、前駆体として利用される一次代謝産物の供給に大きく依存すると考えられる。そこで本研究では、<i>S. avermitilis</i> 大規模染色体欠失株 SUKA38 株の一次代謝の中でも、エネルギー生産やアミノ酸供給に大きく関わる TCA 回路の増強株を作成し、二次代謝産物生産への応用を検討した。</p> <p>作成した TCA 回路増強株に抗生物質生合成クラスター(クロラムフェニコール、チオストレプトン、セファマイシン、アクチノマイシン)を導入、HPLC 分析により生産量を定量した。この結果、クロラムフェニコール生産量が顕著に増加した。一方で、セファマイシンの生産量は顕著に減少した。</p> <p>これらの結果から、本研究による一次代謝フラックスの制御が効率的な有用二次代謝生産への応用に有用であることが証明された。しかしながら、チオストレプトン、アクチノマイシンの生産量は変化が見られず、なぜクロラムフェニコール生産量が増加し、セファマイシン生産量が減少したかは不明のため、今後更なる詳細な解析を行なっていきたい。</p>						
2. 研究成果実績の概要(英訳)						
<p>Streptomyces species are valuable for industrial purposes, such as for the synthesis of drugs. This study aimed to enhance the production of secondary metabolites by examining optimum metabolic flux.</p> <p>Since all secondary metabolites are ultimately derived from primary metabolic building blocks and require an adequate source of energy and reducing equivalents derived from primary metabolism such as ATP and NAD(P)H, successful production of the desired products requires the optimum relationship of the timing and flux between primary and secondary cellular metabolism.</p> <p>Therefore, in this study, among the primary metabolism of <i>S. avermitilis</i> large-scale chromosome-deficient strain SUKA38, we created a TCA cycle, involved in energy production and amino acid supply, enhanced strain in genetically engineered <i>Streptomyces avermitilis</i>. We investigated the effects of overexpression of 2-oxoglutarate ferredoxin oxidoreductase in TCA cycle.</p> <p>Secondary metabolite biosynthetic gene clusters (chloramphenicol, thiostreptone, cephamycin, actinomycin) were introduced into the prepared TCA cycle-enhanced strain, and the production of those secondary metabolites were quantified by HPLC analysis. As a result, the production of chloramphenicol was significantly increased. On the other hand, the production of cephamycin was drastically decreased.</p> <p>The results of our study indicate that overexpression of 2-oxoglutarate ferredoxin oxidoreductase in <i>S. avermitilis</i> SUKA38 is better suited for chloramphenicol production compared with its wild-type strain, SUKA38. But, the reason of these results have not been understood. We would like to carry out a more detailed analysis in the future.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
土居志織, 他4名	Metal chaperon, Nhpc, involved in the metallocenter biosynthesis of nitrile hydratase.	J. General and Applied Microbiology	2020			
土居志織, 他2名	Modifications to central carbon metabolism in an engineered <i>Streptomyces</i> host to enhance secondary metabolite production	Journal of Bioscience and Bioengineering	2020			
土居志織, 他5名	Oryzamide acid K and oryzadiamine C, alkaloids from an <i>Oryza sativa</i> mutant with yellow endosperm	Tetrahedron Letters	2020			