

物理的接触が介在する放線菌二次代謝誘導

Combined-culture: Antibiotic Production Induced by Microbial Physical Contact

尾仲 宏康*, 浅水 俊平

HIROYASU ONAKA* and SHUMPEI ASAMIZU

東京大学大学院農学生命科学研究科 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

* TEL: 03-5841-1602 FAX: 03-5841-1608

* E-mail: aonaka@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo, Tokyo 113-8657, Japan

キーワード: 複合培養, 抗生物質生産, 天然物生合成, ミコール酸, 微生物相互作用

Key words: combined-culture, antibiotic production, natural product biosynthesis, mycolic acid, bacterial interaction

(原稿受付 2020年3月25日/原稿受理 2020年4月1日)

1. はじめに

環境中での微生物コミュニケーションにおいて物理的接触が介在する現象はほとんど知られていないが、最近の我々の研究から放線菌の二次代謝誘導において異属間の物理的接触が介在していることが明らかになってきた¹⁾。

放線菌は抗生物質などの医薬品をはじめとして、多様な二次代謝を行う細菌である。放線菌の主要な属である *Streptomyces* 属放線菌においては、全ゲノム情報から二次代謝産物の種類は一菌株あたり 30 種類以上と見積もられている²⁾。それにも関わらず、実験室での純粋培養によって生産が確認された二次代謝産物の数は、一菌株あたりせいぜい数種類にとどまっている。このことは、未発見のユニークな二次代謝産物が膨大な種類存在していることを示唆しており、このような潜在的二次代謝産物の発見が新たな医薬品開発へとつながることが期待できる。

2. 複合培養の発見～ミコール酸含有細菌による二次代謝活性化～

我々は、放線菌の生息する土壤環境にヒントを得、潜在的二次代謝の活性化には生育環境中の他微生物の影響が必要であるという仮説を立てた。そして、その仮説に基づき、様々な土壤由来微生物と放線菌 *Streptomyces lividans* との共培養を行い、*S. lividans* が潜在的に生産する赤色色素、undecylprodigiosin (1) 及び actinorhodin (2) (図 1) の生産誘導を指標にして二次代謝生産誘導微生物を探索することにした。この二種の赤色色素、undecylprodigiosin (1) 及び actinorhodin (2) は実験室での通常の純粋培養では生産されず、浸透圧やリン酸飢餓、遺伝子組換え等のストレスがかかった状況においてのみ生産することが知られている。そこで、様々な土壌

から分離した約 400 株の土壌由来微生物を、*S. lividans* を一面に塗布したプレート上に点植菌し、コロニー周辺での *S. lividans* の赤色色素誘導生産を指標に探索した。その結果、*Tsukamurella pulmonis* TP-B0596 が *S. lividans* の潜在的赤色色素生産を活性化する菌株として単離された (図 2a)。この誘導現象は液体培養中でも起こり、*T. pulmonis* と *S. lividans* を液体培地中で培養すると共培養時のみ赤色色素の生産が観察された (図 2b)。さらに、*T. pulmonis* に限らず、近縁の属である *Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Gordonia*, *Nocardia*, *Mycobacterium*, *Williamsia*, *Dietzia* などにも赤色色素誘導活性があり、現時点で 8 属 19 種に同様の活性を確認している (図 2c)。これらの菌株に共通する特徴は、いずれも細胞表層にミコール酸 (3) を含有する点 (図 3a) である。ミコール酸の関与を明らかにするために、*Corynebacterium glutamicum* のミコール酸生産能欠損株である *C. glutamicum* Δ pk13 と *S. lividans* との共培養を行ったところ、赤色色素の誘導は見られなかったため、ミコール酸の関与が強く示唆された (図 3b)。

また、*T. pulmonis* と自然環境から分離された 112 株の放線菌を共培養した結果、約 9 割、99 株の二次代謝産物の HPLC のピークプロファイルが純粋培養と比較して変化していた。61 株の放線菌においては二次代謝産物ピークのいくつかにおいて増加が見られ、49 株においては逆に減少が見られた。また、41 株においては新たな二次代謝産物のピークが観察され、12 株においては共培養によってピークの消失が見られた。このことは、ミコール酸含有細菌 (MACB: Mycolic acid containing bacteria) によって、多くの放線菌の潜在的二次代謝が活性化されることを示している (図 4)。また、それぞれの放線菌の二次代謝産物ごとに誘導パターンが異なることは、二次代謝産物の生産誘導機構が多様であることを同時に示唆している。このような放線菌の潜在

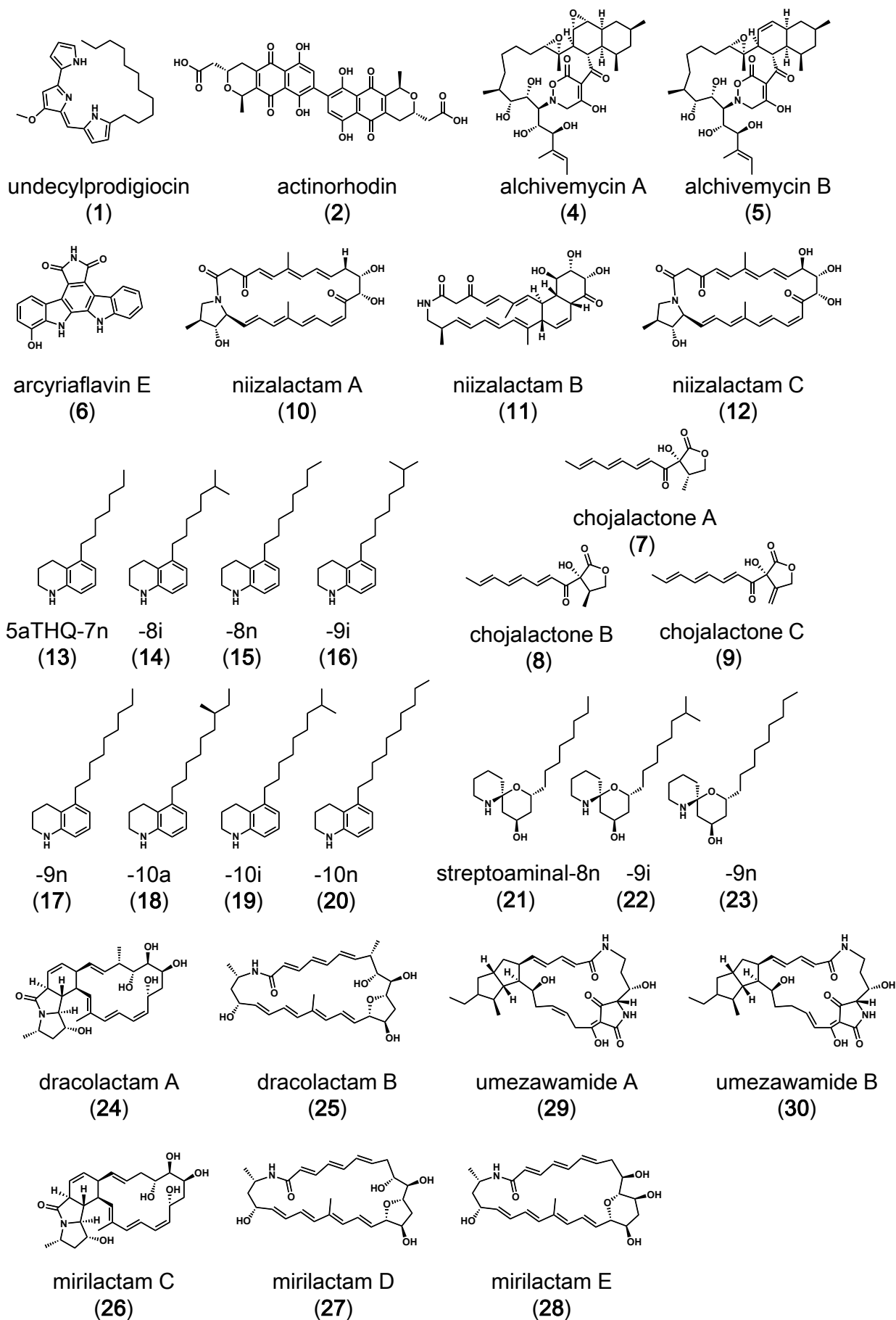


図 1. 複合培養によって特異的に生産された化合物および複合誘導によって生産増大が見られた化合物の化学構造

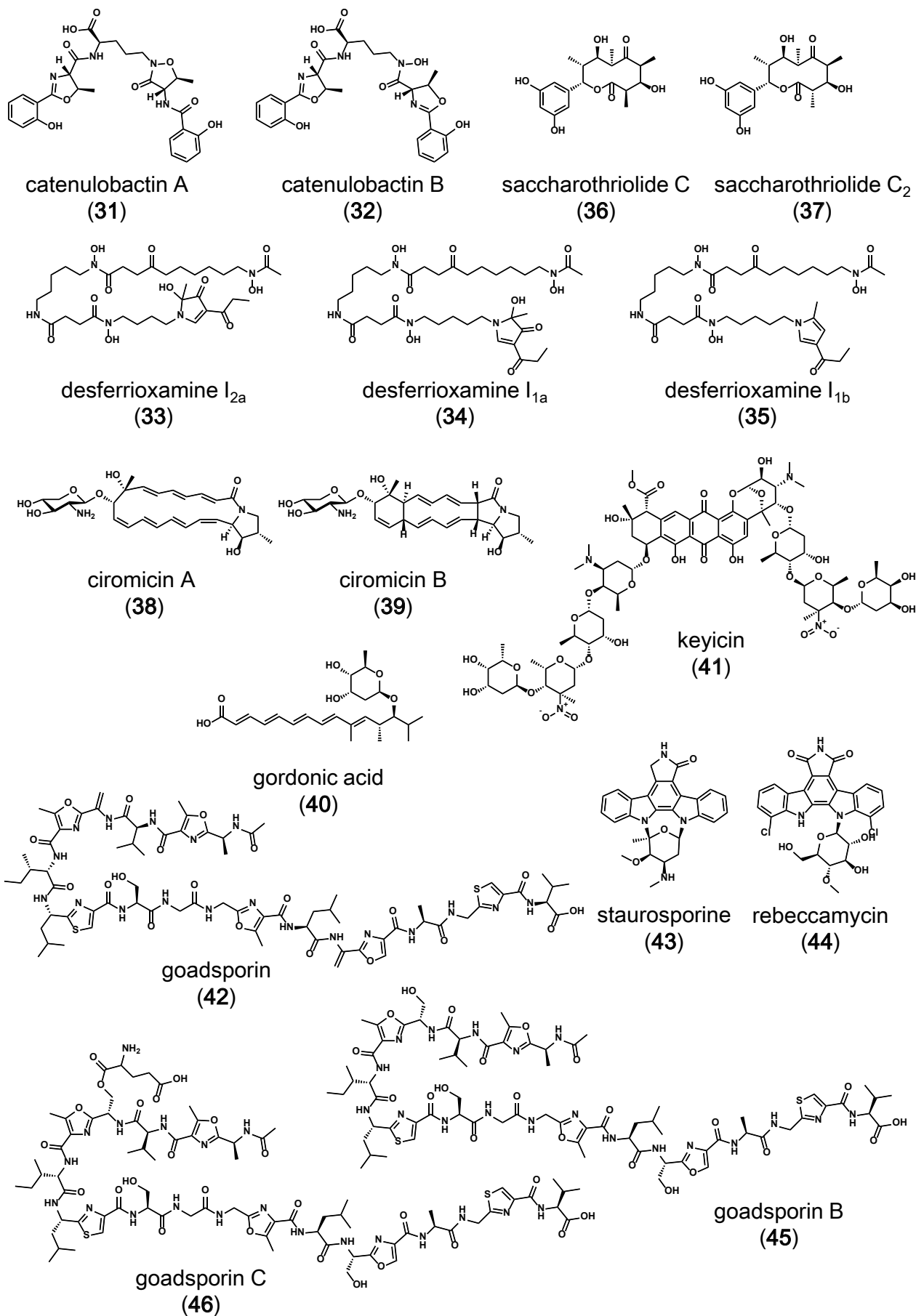


図 1. つづき

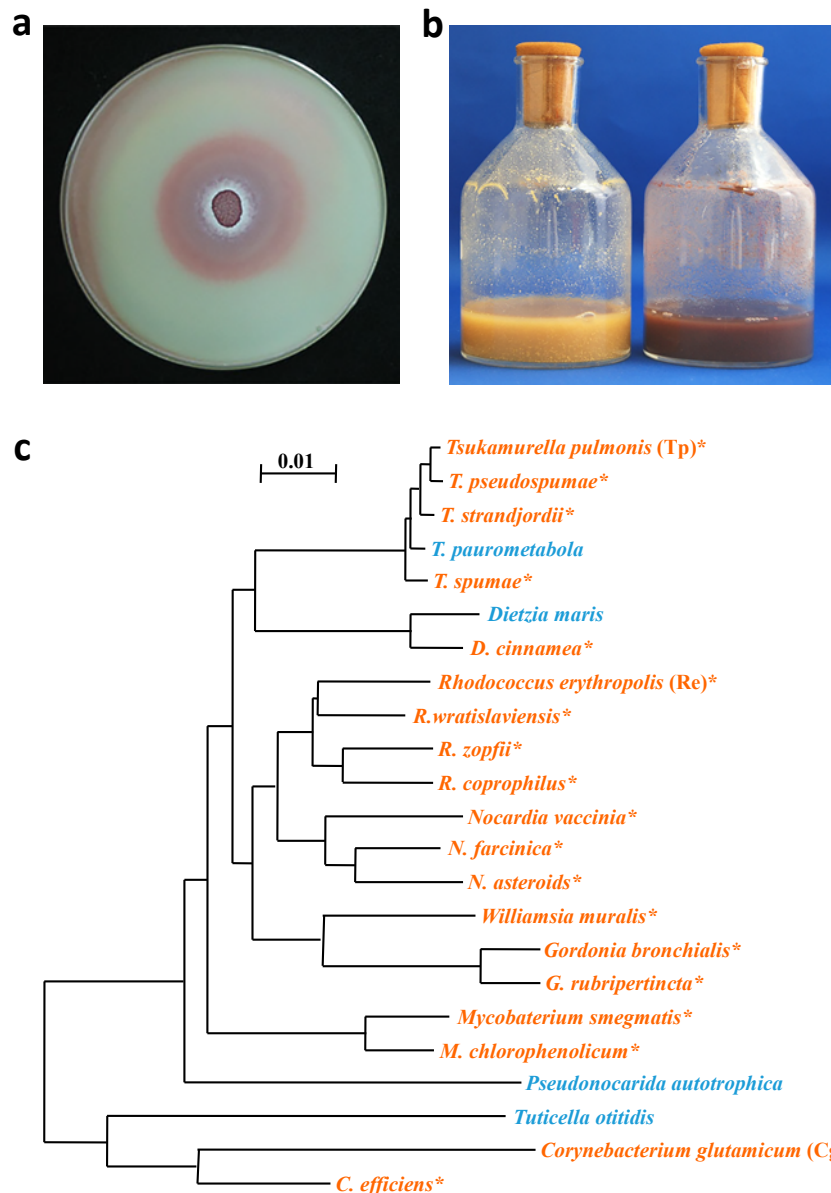


図2. MACB による *Streptomyces lividans* 赤色色素生産誘導

(a) *S. lividans* を一面に生育させたプレート上に *Tsukamurella pulmonis* を点植菌した。点植菌した *T. pulmonis* の周りにのみ赤色色素生産と胞子形成誘導が認められる。(b) 液体培養における *T. pulmonis* と *S. lividans* の複合培養(右)と *S. lividans* の純粋培養(左)複合培養特異的に赤色色素生産が観察される。(c) *T. pulmonis* とその近縁種の系統樹。赤色で示した菌株(菌株名の末尾に*が付いている株)は *S. lividans* に赤色色素生産誘導を引き起こす。

的二次代謝を活性化するために MACB と共培養する手法を「複合培養法」と我々は命名し、その作用機構についてさらなる解析を進めた³⁾。

3. 物理的接触の関与

本誘導機構は MACB の生産する特定の物質によるケミカルシグナリングではなく、MACB が放線菌に物理的に接触することによって刺激が伝達される。*T. pulmonis* と *S. lividans* を固体培地上で近接させて培養すると、互いに接触した部位でのみ赤色色素生産が観察される(図5a)。さらには、二層式フラスコを用いて透析膜を挟んで両菌を培養しても、赤色色素生産は観察されないことから、両菌株の信号伝達とは特定の物質による誘導ではな

く接触によることが明らかとなった(図5b)³⁾。物理的接触を介した異属菌株間の制御機構に関しては VI 型分泌装置によるグラム陰性細菌同士の相互作用が知られている⁴⁾。また、二次代謝に関連した研究では、*Aspergillus nidulans* の二次代謝が *Streptomyces rapamycinicus* の物理的接触によって誘導されることが知られているのみである⁵⁾。しかしながら、この二種菌間の場合は *S. rapamycinicus* が種特異的に *A. nidulans* のエビジェネティック制御に影響を与える現象である。一方、複合培養の場合は広範な放線菌において見られる現象であることから、より一般的な制御機構が介在していると予想している。

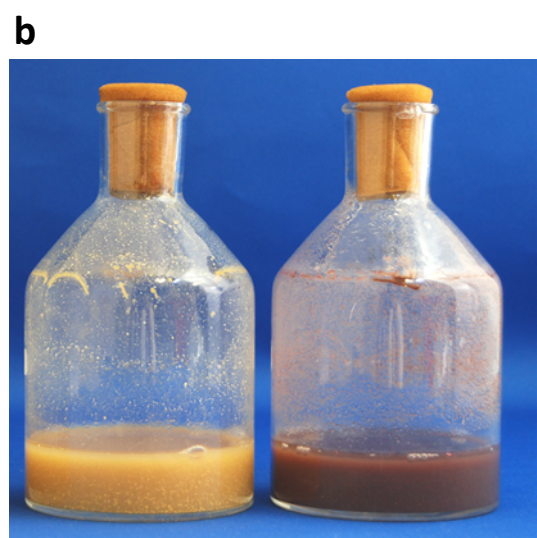
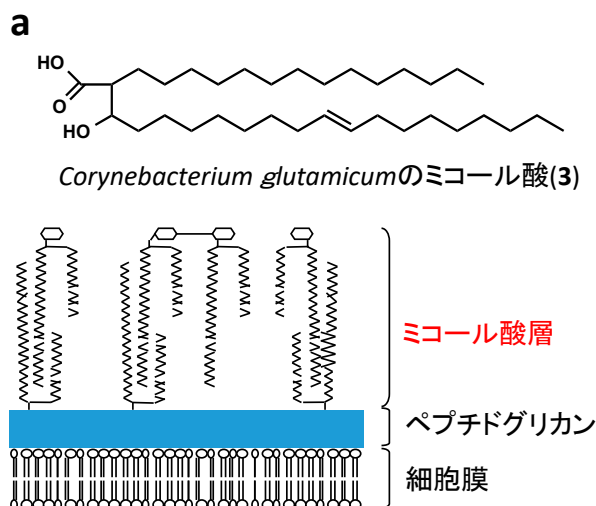


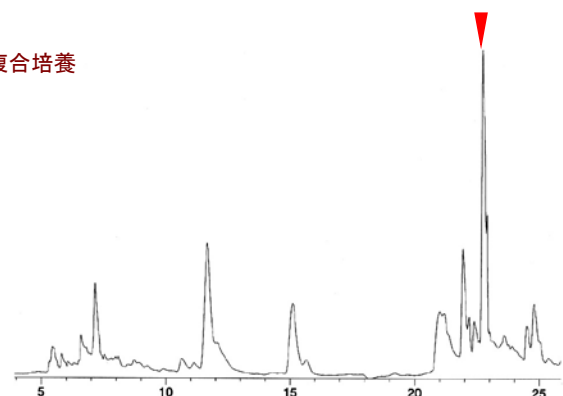
図 3. 複合培養におけるミコール酸の関与

(a) *Corynebacterium glutamicum* 由来ミコール酸の化学構造とミコール酸含有細菌の細胞表層。ミコール酸は菌種により炭素鎖長が異なるが、菌体の最外層に存在する。(b) ミコール酸欠損株 *C. glutamicum* $\Delta pks13$ との複合培養(左)では *S. lividans* は赤色色素生産を行わない。右は *C. glutamicum* との複合培養であり、赤色色素を生産する。

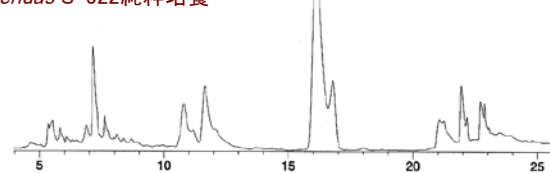
4. 放線菌は他微生物の生死を見分けているのか？

液体培養における *S. lividans* と *R. erythropolis* との複合培養を電子顕微鏡で観察すると、両者は凝集体となっていることがわかる(図 6a & b)。このことは、MACB が放線菌に物理的接触し、放線菌側がその物理的接触を感知して、二次代謝の誘導を起こしているようにみえる。MACB は表層にミコール酸を有しているが、この表層構造が放線菌の物理的接触感知機構に重要であると思われた。そこで、MACB の細胞構造を維持した状態の死菌体を調製し、これを *S. lividans* の純粋培養に添加すれば、*S. lividans* の物理的接触感知が働き、赤色色素生産が行われるのではないかと推測した。まず、MACB の死菌体をホルマリン処理および放射線照射によって調製し、*S. lividans* と固体培地上で対峙培養させたところ、予想に反して *S. lividans* はいずれの方法で調製した死菌

複合培養



S. endus S-522 純粋培養



T. pulmonis 純粋培養

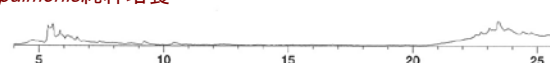


図 4. 複合培養における二次代謝産物生産の誘導

Streptomyces endus S-522 と *T. pulmonis* の複合培養 7 日目における培養液のブタノール粗抽出液を HPLC で解析した。複合培養時に特異的に生産される化合物が存在することがわかる。*Streptomyces endus* S-522 は alchivemycin A, B (4, 5) を複合培養特異的に生産する。赤矢印が alchivemycin のピークである。

体においても赤色色素生産誘導を受けなかった(図 7a)。さらに、*S. lividans* の液体培養に死菌体を添加したところ、固体培養時と同様に赤色色素生産は認められなかった⁹⁾。以上の結果から、*S. lividans* が MACB の生死を見分けており、生菌が接触した際にのみ、赤色色素が生産誘導されると考えられた。この液体培養産物中の凝集体を電子顕微鏡で観察したところ、*S. lividans* と死菌体の凝集体は観察されず、*S. lividans* に死菌体は絡みつけないことが明らかとなった(図 7b)。つまり、MACB は生菌の時のみ *S. lividans* に絡みつき、その結果、*S. lividans* の接触応答感知機構が働くようになる。一方、MACB 死菌体は *S. lividans* に絡みつけないため、*S. lividans* の接触応答感知は起こらない⁹⁾。MACB の死菌体が絡みつけない理由としては、MACB 生菌が絡みつきの必要な何らかの付着物質を分泌している可能性、また、放線菌側が有機物を周囲に凝集させないように、表面にプロテアーゼやリパーゼなどの菌体外酵素を分泌し分解している可能性等も考えられるが、現時点ではこの理由は明らかになっていない。

しかしながら、以上の実験結果は、複合培養における二次代謝はミコール酸を細胞表層に有する微生物が放線菌に物理的接触をすることにより引き起こされる微生物間相互作用であることを強く示唆している。

5. 複合培養を用いた新規天然物の探索

複合培養法を用いて、我々は現在までに 30 種類以上

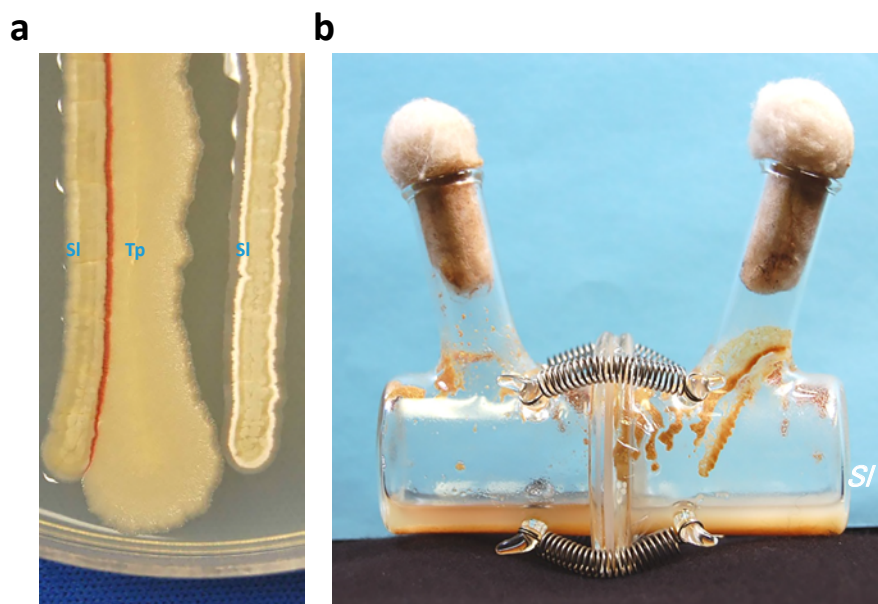


図5. 接触刺激による赤色色素生産誘導

(a) プレート上で *S. lividans* (Sl) と *T. pulmonis* (Tp) を接触させたときのみ両者の境界面で赤色色素生産が見られる。(b) 二層式フラスコ（通称，別府フラスコ）を用いた Tp と Sl の培養。本写真は培養7日目であり，複合培養において赤色色素が生産されるのに十分な日数である。しかしながら，透析膜を介した2者の培養では赤色色素生産が誘導されないことから，両菌株の接触が必要であることがわかる。

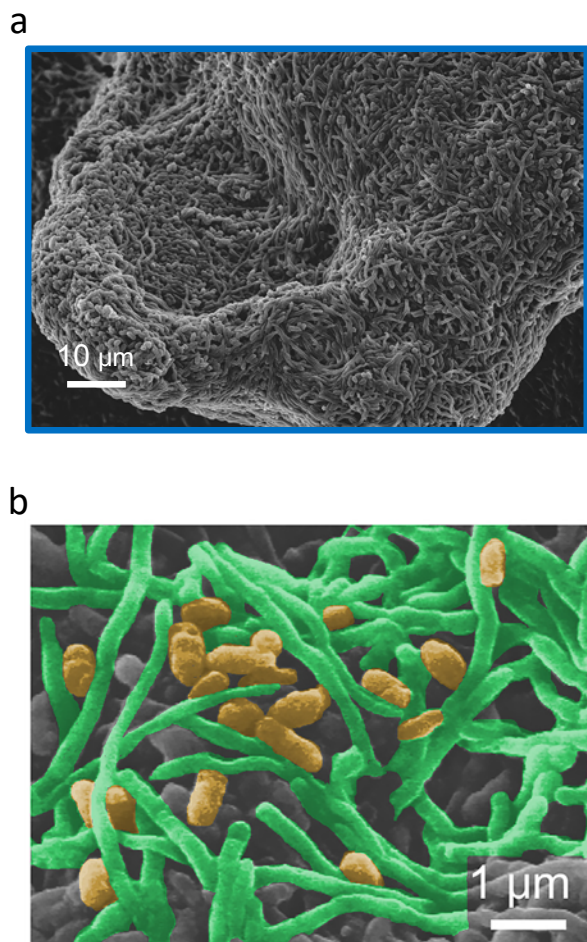


図6. 複合培養時に見られる MACB と放線菌の凝集体

(a) *S. lividans* と *T. pulmonis* を液体培養した際に生じる凝集体の SEM 画像。(b) 更に (a) を拡大した SEM 画像。放線菌と MACB を画像解析ソフトにより識別しやすいように色分けした。両菌株が絡み合っている様子がわかる。

の新規二次代謝産物を放線菌より同定している（表1）。alchivemycin A と B (4, 5) (図1) は *T. pulmonis* と *Streptomyces endus* S522 の複合培養の際に特異的に生産されるマクロライド系抗生物質であり，内部に N-O 結合を有したユニークな6員環を有している。alchivemycin A (4) は *Micrococcus luteus* に対して 50 nM の極濃度で特異的な抗菌活性を有しており，さらにはマウス大腸癌 26-L5 細胞に対して細胞毒性を伴わずに 0.34 μM で癌細胞浸潤阻害活性が見いだされている⁷⁾。arcyriaflavin E (6) は *Streptomyces cinnamoneus* NBRC 13823 と *T. pulmonis* の複合培養によって特異的に生産される二次代謝産物であり，2個のインドール骨格が縮合したインドロカルバゾール化合物であり，マウス P388 白血病細胞に対して 39 μM で増殖阻害が生じる⁸⁾。chojalactone A および B, C (7-9) は，A-factor に代表される放線菌由来微生物ホルモン⁹⁾ が特徴的に有している γ -butyrolactone 構造を有しており，千葉県長考町で採取した土壌より分離した *Streptomyces* sp. CJ-5 と *T. pulmonis* の複合培養産物から分離されている。chojalactone A (7), B (8) はマウス P388 白血病細胞においてそれぞれ 28 μM, 18 μM で増殖阻害が生じるが，放線菌に対する微生物ホルモン様活性は見いだされていない¹⁰⁾。niizalactam A および B, C (10-12) は埼玉県新座市で採取された土壌より分離された *Streptomyces* sp. NZ-6 と *T. pulmonis* の複合培養より単離された¹¹⁾。8種および3種類の類縁体からなる 5aTHQs (13-20)¹²⁾ および streptoaminals (21-23)¹³⁾ は石川県舩倉島の土壌より分離された *Streptomyces nigrescens* HEK616 と *T. pulmonis* の複合培養により見いだされた。それぞれテトラヒドロキノリンもしくはヘミアミナール構造の2環性の骨格に炭素鎖長7から10のアルキル基が付加した構造をとっている。両化合物は共通する II 型ポリケタイド生合成遺伝子群・

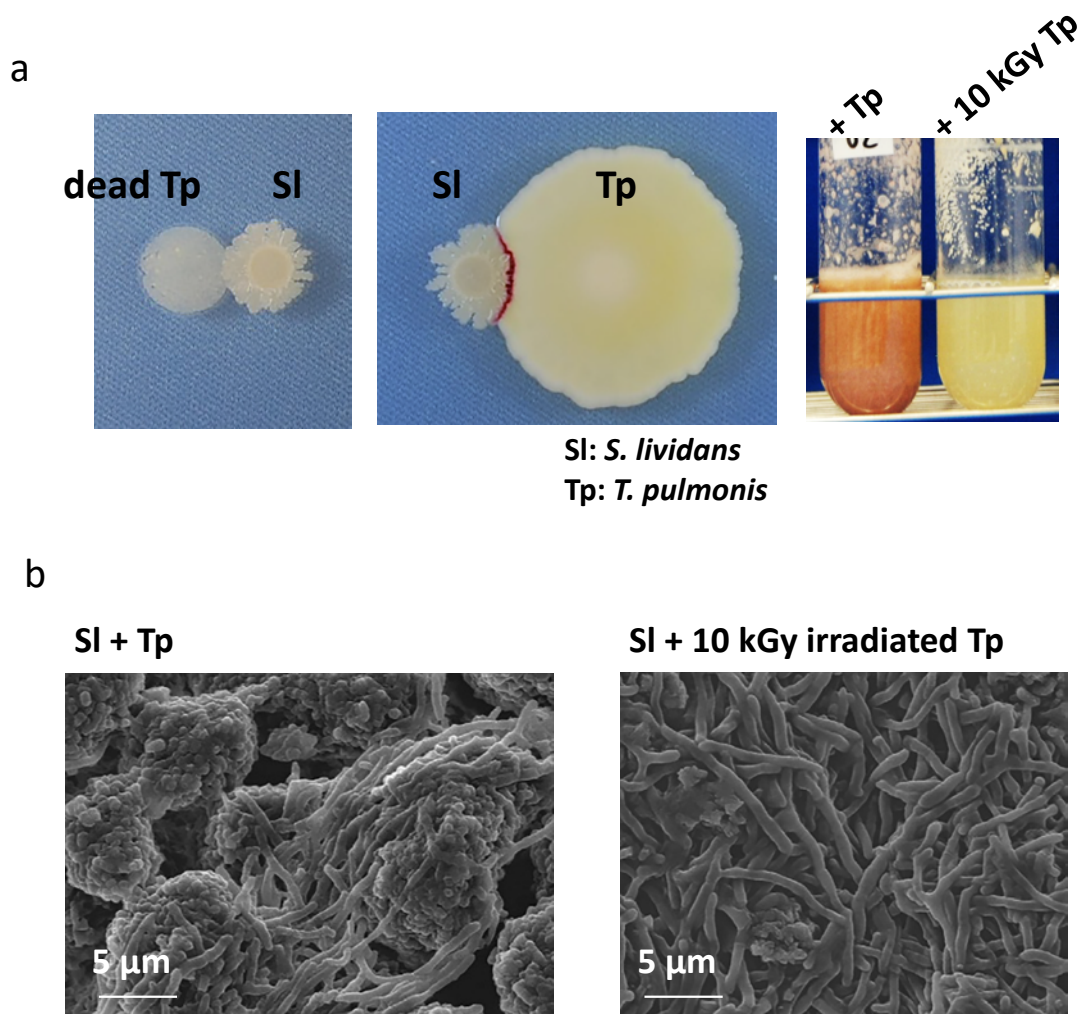


図 7. 放線菌は死菌体では赤色色素生産誘導がなされない

(a) 放射線照射によって作製した *T. pulmonis* 死菌体 (dead *Tp*) と *S. lividans* (*Sl*) を接触させても赤色色素生産は誘導されない。液体培養においても *T. pulmonis* の 10 kGy 放射線照射株 (死菌体) と混ぜて培養しても *S. lividans* は赤色色素生産が誘導されない。(b) (a) における液体培養時の SEM 画像。コントロールである *T. pulmonis* 生菌との複合培養 (左) では *Tp* が絡みつく様子が観察されるのに対して、死菌体添加培養 (右) では *Tp* は全く絡みついていない。

stm クラスターによって併産されることが明らかとなっている¹⁴⁾。5aTHQs (13–20) は酵母に対して抗真菌活性を有しており、一方 streptoaminals (21–23) は抗真菌に加えて抗細菌活性も見いだされている。興味深いことに、5aTHQs の生理活性はアルキル鎖の違いによって強さが異なるが、混合物の状態では細胞膜透過性が高まることにより活性が増強されることが明らかとなっている¹⁵⁾。dracolactam A, B (24, 25) はマクロラクタム構造を有するポリエン化合物であり、石川県舩倉島の土壌より分離された *Micromonospora wenchangensis* HEK797 と *T. pulmonis* の複合培養によって特異的に生産される¹⁶⁾。3 種の多環性マクロラクタム mirilactam C および D, E (26–28) は *Actinosynnema mirum* NBRC 14064 と *T. pulmonis* の複合培養によって特異的に生産される¹⁷⁾。Umezawamide A と B (29, 30) は新規多環性テトラミン酸マクロラクタムであり、*Umezawaea* sp. RD066910 と *T. pulmonis* の複合培養によって特異的に生産される¹⁸⁾。Catenulobactin A と B (31, 32) は *Catenuloplanes* sp. RD067331 が生産するが *T. pulmonis*

との複合培養で生産が顕著に増加する複素環ペプチドであり、シデロフォア活性とマウス P388 白血病細胞に対する増殖阻害活性が見出されている¹⁹⁾。*Streptomyces davawensis* JCM 4913 と *T. pulmonis* の複合培養では、5 員複素環構造を含む 3 種類の新規な desferrioxamine 誘導体 (33–35) が特異的に生産される²⁰⁾。*Saccharothrix* sp. A1506 は saccharothriolide C (36) を生産することが知られているが、本菌と *T. pulmonis* との複合培養によって C-2 エピマー体である saccharothriolide C₂ (37) が特異的に生産される。また、同時に saccharothriolide C (36) の生産も複合培養によって増大する²¹⁾。

我々以外のグループによっても放線菌と MACB との複合培養によって新規天然物を単離している例が報告されている。ciromicin A と B (38, 39) は放線菌 *Nocardopsis* sp. FU40 と MACB である *Rhodococcus wratislaviensis* もしくは *T. pulmonis* との複合培養で特異的に生産される²²⁾。ポリエンマクロライドの gordonic acid (40) は *Streptomyces tendae* KMC006 と MACB の *Gordonia* sp. KMC005 との複合培養で生産されるが、放

表 1. 本稿で取り上げた複合培養及び複合誘導一覧

No	actinomycetes	MACB	inducing compounds
1	<i>S. lividans</i>	<i>Tsukamurella pulmonis</i>	actinorhodin (1), undecylprodigiosin (2)
2	<i>T. pulmonis</i>	18 species of MACB	actinorhodin (1), undecylprodigiosin (2)
3	<i>Streptomyces endus</i>	<i>T. pulmonis</i>	alchivemycin A and B (4, 5)
4	<i>Streptomyces cinnamoneus</i>	<i>T. pulmonis</i>	arcyriaflavin E (6)
5	<i>Streptomyces</i> sp. CJ-5	<i>T. pulmonis</i>	chojalactone A, B, and C (7–9)
6	<i>Streptomyces</i> sp. NZ-6	<i>T. pulmonis</i>	niizalactam A, B, and C (10–12)
7	<i>Streptomyces nigrescens</i>	<i>T. pulmonis</i>	5-alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinolines (5aTHQs) (13–20)
8	<i>S. nigrescens</i>	<i>T. pulmonis</i>	streptoaminals (21–23)
9	<i>Micromonospora wenchangensis</i>	<i>T. pulmonis</i>	dracolactam A and B (24–25)
10	<i>Actinosynnema mirum</i>	<i>T. pulmonis</i>	mirilactam C, D, and E (26–28)
11	<i>Umezawaea</i> sp. RD066910	<i>T. pulmonis</i>	umezawamide A and B (29, 30)
12	<i>Catenuloplanes</i> sp. RD067331	<i>T. pulmonis</i>	catenulobactin A and B (31, 32)
13	<i>Streptomyces davawensis</i>	<i>T. pulmonis</i>	desferrioxamine derivatives (33–35)
14	<i>Saccharothrix</i> sp. A1506	<i>T. pulmonis</i>	saccharothriolide C and C ₂ (36, 37)
15	<i>Nocardiopsis</i> sp. FU40	<i>R. wratislaviensis</i> or <i>T. pulmonis</i>	ciromicin A and B (38, 39)
16	<i>Streptomyces tendae</i>	<i>Gordonia</i> sp. KMC005	gordonic acid (40)
17	<i>Micromonospora</i> sp. WMMB-235	<i>Rhodococcus</i> sp. WMMA-185 or <i>Mycobacterium</i> sp. WMMA-183	keyicin (41)
18	<i>S. lividans</i> GSBC1	<i>T. pulmonis</i>	goadsporin (42)
19	<i>S. lividans</i> pTOYAMA-Sta	<i>T. pulmonis</i>	staurosporine (43)
20	<i>S. lividans</i> pTOYAMA-Reb	<i>T. pulmonis</i>	rebeccamycin (44)
21	<i>S. lividans</i> GSBC1Δ <i>godG</i>	<i>T. pulmonis</i>	goadsporin B and C (45, 46)

線菌の代謝物を MACB のバイオコンバージョンによって合成されることが明らかとなっている²³⁾。keyicin (41) は *Micromonospora* sp. WMMB235 と *Rhodococcus* sp. WMMA185 もしくは *Mycobacterium* sp. WMMA183 との複合培養によって生産される²⁴⁾。

6. 複合誘導による異種発現活性化

複合培養法は放線菌を用いた異種発現にも活用できる。*S. lividans* を宿主にして二次代謝産物遺伝子群の異種発現を行う際に、MACB と複合培養を行うとその生産量が最大 200 倍まで増大する²⁵⁾。例えば、全長 16 kb, 10 個の *god* 遺伝子からなる *Streptomyces* sp. TP-A0584 由来の goadsporin 生合成遺伝子群で形質転換した *S. lividans* GSBC1 は純粋培養時には培養 13 日目で 178 mg/L の goadsporin (42) を異種生産する。これに対して、*T. pulmonis* と複合培養を行うと 332 mg/L となり、187% 生産量が増える。また、staurosporine (43) や rebeccamycin (44) などのインドロカルバゾール化合物は *S. lividans* を宿主に用いた異種生産において生産量は微量であるが、複合培養を用いることによってその生産性が大きく改善する。例えば、*Streptomyces* sp. TP-A0274 由来 staurosporine 生合成遺伝子群 (*sta* cluster) を染色体

に組み込んだ *S. lividans* は、純粋培養では培養 12 日目で staurosporine (43) の生産量がわずか 0.52 mg/L に対して、*T. pulmonis* との複合培養では生産量が 104.3 mg/L まで 200 倍増大する。また、*Lechevalieria aerocolonigenes* ATCC39243 由来 rebeccamycin 生合成遺伝子群 (*reb* cluster) を染色体に組み込んだ *S. lividans* は純粋培養では、培養 12 日目で rebeccamycin (44) の生産量が 8.2 mg/L に対して、*T. pulmonis* との複合培養では生産量が 44.5 mg/L まで 5.4 倍増大する。

また、生合成遺伝子破壊株が蓄積する生合成中間代謝産物は少量蓄積に留まる例が多いが、前述の *S. lividans* GSBC1 の *godG* 遺伝子破壊株を複合培養することにより、*godG* の機能解析が行えるようになった。複合培養を用いることにより、本破壊株では純粋培養において生産量が少なく確認できなかった goadsporin B (45) および goadsporin C (46) の同定に成功した。特にグルタミル化された化合物である goadsporin C (46) の同定は特筆すべきである。これまで Thiopeptide など RiPPs 系天然物群のデヒドロアラニン生合成中間代謝物としてグルタミル化化合物の存在は予想されていたが、微量故に構造解析が出来なかった。複合培養法による生産量増大によって、この推定構造を有する goadsporin C (46) は遂に明らかとなった²⁶⁾。

このように複合培養は異種発現株においてもその代謝産物の生産量増大を起こすことから、我々は複合培養を異種生産株に適用する本法を「複合誘導法」と命名し、様々な異種発現生産において活用している。

おわりに

放線菌が抗生物質を生産して、周りの微生物の生育を抑制する「抗生」作用は、放線菌が他者に対して一方的に与える作用であるとこれまで考えられていた。しかし、複合培養現象は、放線菌が他者に対して影響を与えるだけでなく、相手側である MACB から放線菌自身も接触刺激を受けることにより、二次代謝生産誘導へ影響を受けていることを示している。このことは、放線菌二次代謝が一方的に他微生物に影響を与えるだけでなく、他微生物からも影響を受ける相互作用の様式であることを強く示唆している（図 8）。

単細胞である微生物は本来、周囲の環境に影響を受けず自己複製のみを行う単純な生存戦略を取っていると考えられてきた。しかし、最近の微生物群集を対象とした研究によって、自然環境中では同じニッチに生存する異種菌株同士がお互いに影響しあい、社会性を有しながら生存している姿が浮かびあがりつつある。複合培養による天然物探索法は、近年、新たに明らかにされつつある微生物の社会性を取り入れた新しい培養法であるといえる。

放線菌由来二次代謝産物の中には、人類にとって有用な化合物が少なくないことから、それらの生理活性は決して偶然に備わったものではなく、生産する放線菌自身においても、その生存のために有効に利用されているのではないかという仮説を唱える研究者も多く存在する。しかしながら、実際にそれを証明できる直接的な実験的証拠は未だ存在せず、真偽のほどは定かでないのが現状である。本総説で紹介した放線菌二次代謝に介在する微生物間相互作用の存在は、二次代謝がニッチでの他微生物との共生のために用いられていることを示唆してお

り、上記のような仮説を裏付けるものの一つである。今後も本研究で得られた接触応答機構現象を切り口に、自然環境における放線菌二次代謝の役割を少しでも明らかにしたいと考えている。

文 献

- 1) Onaka, H. 2017. Novel antibiotic screening methods to awaken silent or cryptic secondary metabolic pathways in actinomycetes. *J Antibiot* (Tokyo). 70: 865–870.
- 2) Nett, M., H. Ikeda, and B.S. Moore. 2009. Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the actinomycetes. *Nat. Prod. Rep.* 26: 1362–1384.
- 3) Onaka, H., Y. Mori, Y. Igarashi, and T. Furumai. 2011. Mycolic acid-containing bacteria induce natural-product biosynthesis in *Streptomyces* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 400–406.
- 4) Russell, A.B., S.B. Peterson, and J.D. Mougous. 2014. Type VI secretion system effectors: poisons with a purpose. *Nat. Rev. Microbiol.* 12: 137–148.
- 5) Schroeckh, V. et al. 2009. Intimate bacterial-fungal interaction triggers biosynthesis of archetypal polyketides in *Aspergillus nidulans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 106: 14558–14563.
- 6) Asamizu, S., T. Ozaki, K. Teramoto, K. Satoh, and H. Onaka. 2015. Killing of mycolic acid-containing bacteria aborted induction of antibiotic production by *Streptomyces* in combined-culture. *PloS one.* 10: e0142372.
- 7) Kim, Y., Y. In, T. Ishida, H. Onaka, and Y. Igarashi. 2013. Biosynthetic origin of alchivemycin A, a new polyketide from *Streptomyces* and absolute configuration of alchivemycin B. *Org. Lett.* 15: 3514–3517.
- 8) Hoshino, S. et al. 2015. Arcyriaflavin E, a new cytotoxic indolocarbazole alkaloid isolated by combined-culture of mycolic acid-containing bacteria and *Streptomyces cinnamoneus* NBRC 13823. *J. Antibiot* (Tokyo). 68: 342–344.
- 9) Horinouchi, S. 2007. Mining and polishing of the treasure trove in the bacterial genus *Streptomyces*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71: 283–299.
- 10) Hoshino, S., T. Wakimoto, H. Onaka, and I. Abe. 2015. Chojalactones A-C, cytotoxic butanolides isolated from *Streptomyces* sp. cultivated with mycolic acid containing bacterium. *Org. Lett.* 17: 1501–1504.
- 11) Hoshino, S. et al. 2015. Niizalactams A-C, multicyclic macrolactams isolated from combined culture of *Streptomyces* with mycolic acid-containing bacterium. *J. Nat. Prod.* 78: 3011–3017.
- 12) Sugiyama, R. et al. 2015. 5-Alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinolines, new membrane-interacting lipophilic metabolites produced by combined culture of *Streptomyces nigrescens* and *Tsukamurella pulmonis*. *Org. Lett.* 17: 1918–1921.
- 13) Sugiyama, R. et al. 2016. Discovery and total synthesis of streptoaminals: antimicrobial [5,5]-spirohemiaminals from the combined-culture of *Streptomyces nigrescens* and *Tsukamurella pulmonis*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 55: 10278–10282.
- 14) Ozaki, T. et al. 2019. Identification of the common biosynthetic gene cluster for both antimicrobial streptoaminals and antifungal 5-alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinolines. *Org. Biomol. Chem.* 17: 2370–2378.
- 15) Sugiyama, R. et al. 2019. Chemical interactions of cryptic actinomycete metabolite 5-Alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinolines through aggregate formation. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 58: 13486–13491.
- 16) Hoshino, S. et al. 2017. Mycolic acid containing bacterium stimulates tandem cyclization of polyene macrolactam in a lake sediment derived rare actinomycete. *Org. Lett.* 19: 4992–4995.
- 17) Hoshino, S. et al. 2018. Mirilactams C-E, novel polycyclic

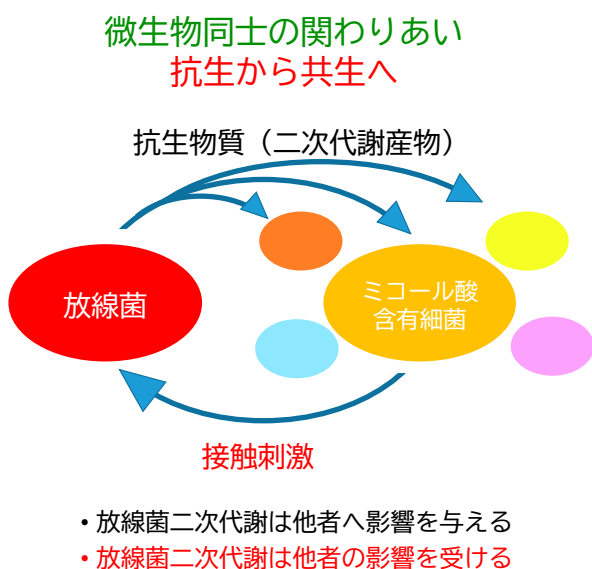


図 8. 放線菌と MACB との相互作用様式

- macrolactams isolated from combined-culture of *Actinosynnema mirum* NBRC 14064 and mycolic acid-containing bacterium. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 66: 660–667.
- 18) Hoshino, S. et al. 2018. Umezawamides, new bioactive polycyclic tetramate macrolactams isolated from a combined-culture of *Umezawaea* sp. and mycolic acid-containing bacterium. *J. Antibiot (Tokyo)*. 71: 653–657.
- 19) Hoshino, S. et al. 2018. Catenulobactins A and B, heterocyclic peptides with Fe(III)-chelating activity isolated from rare actinomycetes *Catenuloplanes* sp. RD067331 combined-cultured with mycolic acid-containing bacterium. *J. Nat. Prod.* 81: 2106–2110.
- 20) Hagihara, R., Y. Katsuyama, Y. Sugai, H. Onaka, and Y. Ohnishi. 2018. Novel desferrioxamine derivatives synthesized using the secondary metabolism-specific nitrous acid biosynthetic pathway in *Streptomyces davawensis*. *J. Antibiot (Tokyo)*. 71: 911–919.
- 21) Jiang, Y.L. et al. 2019. Enhancement of saccharothriolide production and discovery of a new metabolite, saccharothriolide C-2, by combined-culture of *Saccharothrix* sp. and *Tsukamurella pulmonis*. *Tetrahedron. Lett.* 60: 1072–1074.
- 22) Derewacz, D.K., B.C. Covington, J.A. McLean, and B.O. Bachmann. 2015. Mapping microbial response metabolomes for induced natural product discovery. *ACS Chem. Biol.* 10: 1998–2006.
- 23) Park, H.B. et al. 2017. Gordonic acid, a polyketide glycoside derived from bacterial coculture of *Streptomyces* and *Gordonia* species. *J. Nat. Prod.* 80: 2542–2546.
- 24) Adnani, N. et al. 2017. Coculture of marine invertebrate-associated bacteria and interdisciplinary technologies enable biosynthesis and discovery of a new antibiotic, keyicin. *ACS Chem. Biol.* 12: 3093–3102.
- 25) Onaka, H. et al. 2015. Mycolic acid-containing bacteria activate heterologous secondary metabolite expression in *Streptomyces lividans*. *J. Antibiot (Tokyo)*. 68: 594–597.
- 26) Ozaki, T. et al. 2016. Insights into the biosynthesis of dehydroalanines in goadsporin. *Chembiochem.* 17: 218–223.