

[明治薬科大学研究紀要 43, 1-20 (2014)]

放線菌の自己耐性機構
— 特に β - ラクタム抗生物質を中心に —

小河原 宏

HO Bio研

明治薬科大学

放線菌の自己耐性機構 —特にβ-ラクタム抗生物質を中心に—

小河原 宏

HO Bio 研
明治薬科大学

1. はじめに

今をさかのぼる約 40 年前は新しい抗生物質の探索もままならず、一方で薬剤耐性が問題になりつつある時期であった。当時私が所属していた国立予防衛生研究所（国立予研、現国立感染症研究所）抗生物質部（梅沢濱夫部長）では、β-ラクタム剤に対する主要な耐性機構である β-ラクタマーゼに対する阻害剤¹⁾を探索していた。そのようなわけで私も β-ラクタマーゼ阻害剤のスクリーニングに従事しつつ、β-ラクタム抗生物質の世界に足を踏み入れることになった。そうはいつてもそのうちの何を研究するかについて考えつつ、誰も行っていない β-ラクタム抗生物質に対する自己耐性を行ってみたいと思うようになった。それ以来、β-ラクタマーゼ特に放線菌の β-ラクタマーゼと β-ラクタム剤の標的であるペニシリン結合蛋白質（PBP）を、その自己耐性の面から研究することになった。本総説では最近全ゲノム配列が解明された放線菌の遺伝子について、放線菌の PBP および β-ラクタマーゼに関する解析を中心に述べる。その前に自己耐性一般と、β-ラクタム抗生物質の生合成と自己耐性の関係について考察する。以前の研究については、参考文献²⁾を参照願いたい。なおもう一つの主要な研究テーマであったチロシンキナーゼの阻害剤については著書³⁾に纏めたので、それを参照して頂けると有難い。これに関連して、我々が発見した蛋白質チロシンキナーゼ阻害剤であるイソフラボンの 1 種ゲニステインに関する論文⁴⁾の被引用回数は、長年にわたり世界のトップテンを占めていたこと（Fig. 1）、現在多方面のシグナル伝達系が解明されておりシグナル伝達系全盛時代であるが、この解明にこのゲニステインが試薬として大きく貢献できたことを付記したい。



ここで日本人研究代表者が深見泰夫（神戸大）となっているが、これは著者名最後の名前を単に研究代表者として編集上記載されているためであって実際の研究代表者は小河原宏（明治薬科大）である。

Figure 1. 総合評価 大学ランキンング. 日本のバイオ研究論文の被引用回数

2. 自己耐性について

放線菌特に *Streptomyces* 属放線菌は、 β -ラクタムを含む多くの抗生物質を生産することで知られる、高 G+C 含有グラム陽性細菌である。抗生物質は細菌を標的とするため、生産菌のうちでも β -ラクタム抗生物質であるペニシリンやセファロsporinを生産する真菌と異なり、放線菌は少なくともその生産時期に自分自身を防御するために耐性機構を働かせねばならない。これが自己耐性であり、現在までにテトラサイクリン^{5,6)}、マクロライドであるオレアンドマイシン⁷⁾、抗癌剤であるミスラマイシン⁸⁾、アミノグリコシドであるカスガマイシン⁹⁾ (これらはいずれも ABC トランスポーターが関与)、マクロライドのメチマイシン¹⁰⁾ (23S rRNA のグリコシル化)、ヌクレオシドのカブラマイシン¹¹⁾ やアミノグリコシドのリン酸化^{12,13)}、ストレプトスリシンやアミノグリコシドのアセチル化¹⁴⁻¹⁶⁾ などが報告されている。この自己耐性は *Streptomyces* 以外の放線菌例えばフォーチミン生産菌の *Micromonospora*¹⁷⁾ やグリコペプチド生産菌の *Amycolatopsis*¹⁸⁾、サーファクチン¹⁹⁾ やサブチリン²⁰⁾、バチトラシン生産菌である *Bacillus*²¹⁾ (グラム陽性菌) や、カリマンタシンやバツミン生産菌である *Alcaligenes*²²⁾ や *Pseudomonas*²³⁾ (いずれもグラム陰性のプロテオバクテリア) でも報告されている。これら自己耐性に関与する遺伝子は、一般にその抗生物質生合成遺伝子クラスターの中あるいはそれに隣接して存在している^{11,24-25)}。

抗生物質の耐性機構としては7種が考えられているが²⁶⁻²⁷⁾、そのうち自己耐性では主に抗生物質本体の化学修飾による不活性化、標的部位の修飾、輸送蛋白質による抗生物質の排出が関与している。しかし1つの機構で十分な耐性機構を付与しているとは限らず、2種以上の機構が関与していることも多い。例えばパロモマイシン生産菌である *Streptomyces rimosus* forma *paromomycinus* においては抗生物質のアセチル化とリン酸化が関与している²⁸⁾、カナマイシン生産菌である *Streptomyces kanamyceticus* においては標的であるリボソームの修飾と抗生物質のアセチル化が関与している²⁹⁾。またハイグロマイシン A 生産菌である *Streptomyces hygroscopicus* において自己耐性に関与すると考えられるリン酸化酵素遺伝子 *hyg21* を不活性化すると、不活性化株のハイグロマイシン A に対する感受性は親株と変わらずに、ハイグロマイシン生産性が90%以上減少することが報告されている³⁰⁾。






3. β -ラクタム系抗生物質の生合成

β -ラクタム系抗生物質は、その化学構造から大きく5群に分類される (Fig. 2)。放線菌 (*Streptomyces* および *Nocardia*) はこのいずれの群の抗生物質も生産する。これら抗生物質のうちペニシリンとセファロsporin、セファマイシン群は共通の経路を経由して生合成される (Fig. 3)。放線菌を含む細菌では *aatA* / *penDE* 遺伝子を持たないので、ペニシリン骨格 (イソペニシリン N およびペニシリン N) を生合成できてもペニシリン G を生合成できない。また真菌ではイソペニシリンエピメラーゼ遺伝子は *cefD1* (アシル CoA シンテターゼ、609 アミノ酸からなる) と *cefD2* (イソペニシリン N CoA エピメラーゼ、383 アミノ酸からなる) の2個の遺伝子から構成されているが、細菌では *cefD* (エピメラーゼ、*S. clavuligerus* の蛋白質で398 アミノ酸からなる) 1個の遺伝子からなるし、ペニシリン N よりデアセチルセファロsporin C (DAC) の合成は真菌では1個の遺伝子 (*cefEF*、332個のアミノ酸からなるデアセチルセファロsporin C シンテターゼ/ヒドロキシラーゼをコード) で賄っているが、細菌ではデアセトキシセファロsporin C (DAOC) までは *CefE* 遺伝子 (311個のアミノ酸からなるデアセトキシセファロsporin C シンテターゼをコード)、デアセチルセファロsporin C (DAC) までは別の *cefF* 遺伝子 (318個のアミノ酸からなるデアセトキシセファロsporin C ヒドロキシラーゼ) が担当している (Fig. 4)。更に真菌では、セファマイシン合成系の遺伝子である *cmcH*、*cmcI* および *cmcJ* 遺伝子が存在しない。

クラブラン酸は放線菌である *Streptomyces clavuligerus* により生合成される (Fig. 5) が、その生合成遺伝子クラスターはセファマイシン生合成遺伝子クラスターと共にスーパークラスターを構成している (Fig. 6)。この遺伝子クラスターの両端に自己耐性に関与すると考えられるペニシリン結合蛋白質が存在

し (SCLAV_4179、SCLAV_4180 および SCLAV_4214, 他に SCLAV_4198 にもう一つ存在する)、更に β -ラクタマーゼが SCLAV_4187 に存在している (実際にこれら遺伝子が自己耐性に関与しているかどうかは不明である)。興味あることに、このクラブラン酸の骨格であるクラブラム生合成遺伝子とパラログ遺伝子クラスターが、*S. clavuligerus* の染色体の別領域 (SCLAV_2920 から SCLAV_2935) とプラスミド上 (Fig. 7) に存在する³¹⁾。このクラブラン酸合成酵素と相同な遺伝子クラスター (SCLAV_p1074 から SCLAV_p1079) が、1.8Mb の巨大直鎖状プラスミド (pSCL4) 上に存在することは、最近の全ヌクレオチド配列の決定により確認された³²⁾。即ち *S. clavuligerus* においては、染色体上のセファマイシン-クラブラン酸生合成遺伝子クラスターの他に、クラブラン酸生合成遺伝子様クラスターが染色体の別の場所とプラスミド上に存在することになる。そのほかこの巨大プラスミド上にはクラブラム生合成遺伝子様の配列が 1 カ所 (SCLAV_p1508 から SCLAV_p1510) 存在し、更に二次代謝産物生合成遺伝子クラスター (SCLAV_4740 から SCLAV_4758) に存在する SCLAV_4749 は、アミノ酸残基 6842 個からなる巨大非リボソーム性ペプチドシンターゼをコードするが、その C 末端側 6514 から 6842 位のアミノ酸配列は β -ラクタマーゼをコードしていること (PFAM00144) が推定されている³²⁾。

一方、放線菌 *Streptomyces cattleya* においてはセファマイシン生合成遺伝子クラスターともう一つの β -ラクタムであるカルバペネム型のチエナマイシン生合成遺伝子クラスターに関して、前者が染色体上に存在するのに対し (Fig. 8 ; SCAT_5676 から SCAT_5692)、後者はプラスミド上 (SCAT_p0820 から SCAT_p840) に存在し、*S. clavuligerus* の場合と異なっている³³⁻³⁴⁾。チエナマイシンは放線菌である *S. cattleya* により生合成されるが、カルバペネム骨格はグラム陰性の植物病原菌である *Erwinia* などでも生合成される³⁵⁾。

Structure	Class	Example	Source organism
	Penicillin	Penicillin G Penicillin N	<i>Penicillium</i> <i>Acremonium</i> <i>Streptomyces</i> <i>Lysoacter</i>
	Cephalosporin Cephameycin	Cephalosporin C Cephameycin C	<i>Acremonium</i> <i>Streptomyces</i> <i>Lysoacter</i>
	Monobactam	Nocardicin A	<i>Nocardia</i>
	Clavam	Clavulanic acid	<i>Streptomyces</i>
	Carbapenem	Car Thienamycin	<i>Erwinia/Serratia/</i> <i>Photobadus</i> <i>Streptomyces</i>

Car: 1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid

Figure 2. The five main classes of β -lactam antibiotics.

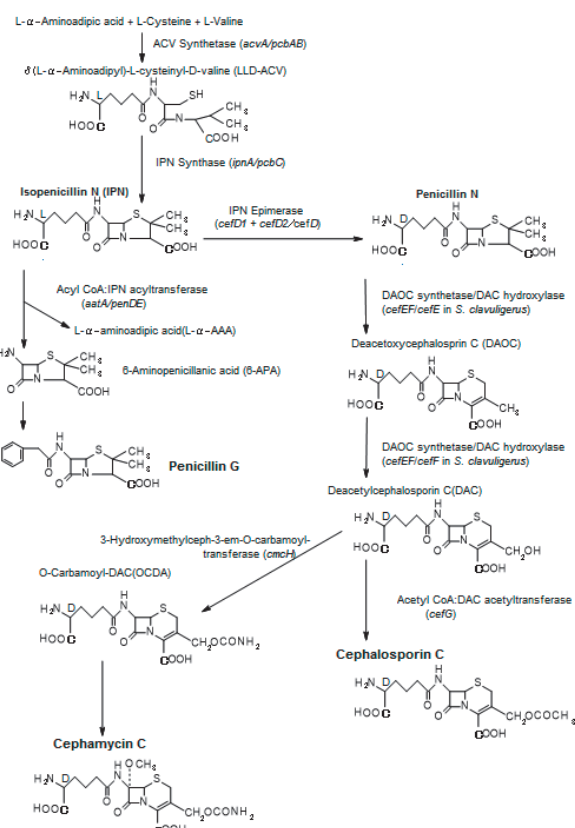
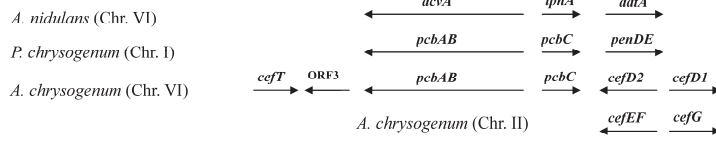


Figure 3. Biosynthetic pathways of fungal penicillin G and cephalosporin C and bacterial cephamycin C.

Fungi



Bacteria

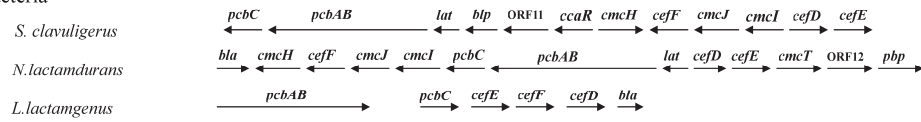


Figure 4. Construct of penicillin/cephalosporin biosynthetic gene clusters in fungi and bacteria.

Abbreviations: *A. nidulans* : *Aspergillus (Emericella) nidulans* ; *P. chrysogenum*: *Penicillium chrysogenum*; *A. chrysogenum*: *Acremonium chrysogenum*; *S. clavuligerus*: *Streptomyces clavuligerus* ; *N. lactamdurans* : *Nocardia lactamdurans* ; *L. lactamgenus* : *Lysobacter lactamgenus*.

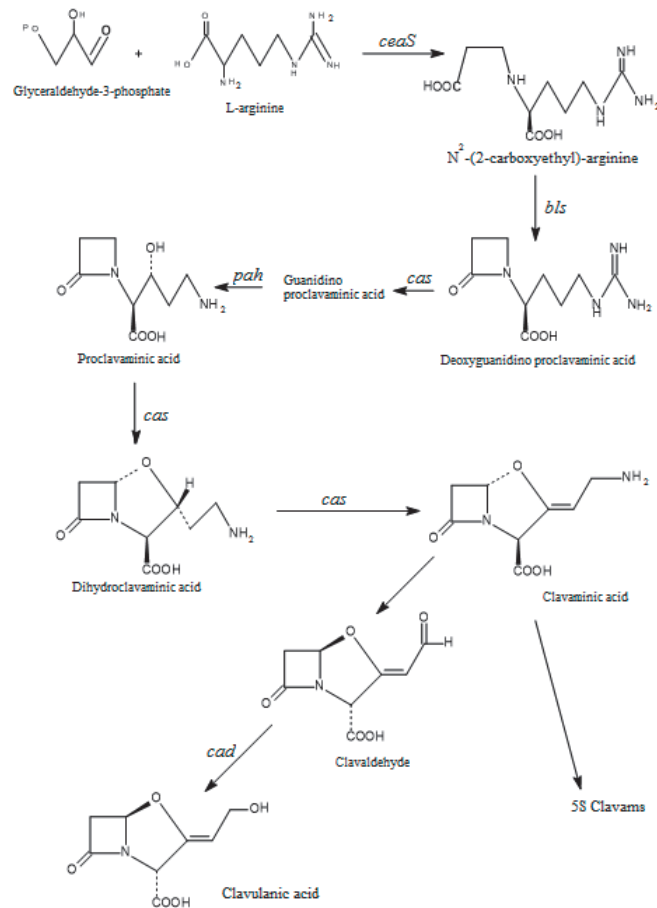


Figure 5. Clavulanic acid and 5S clavam biosynthetic pathways in *Streptomyces clavuligerus*.

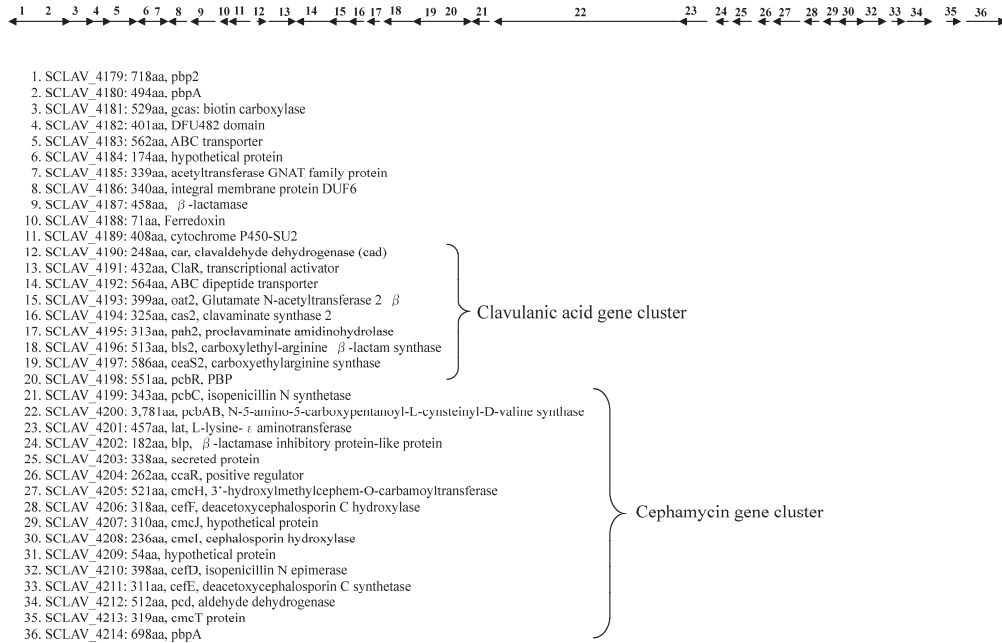


Figure 6. Clavulanic acid and cephamycin biosynthetic gene clusters in *Streptomyces clavuligerus*.

Gene names, amino acid numbers of the products and their functions are shown in the Figure.

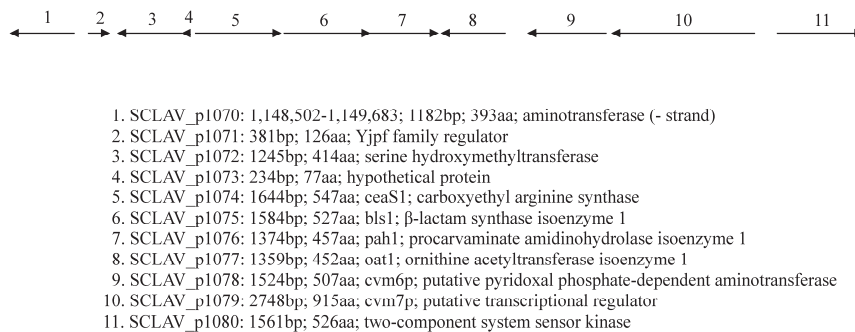


Figure 7. Clavulanic acid paralog gene cluster in pSCL4 plasmid.

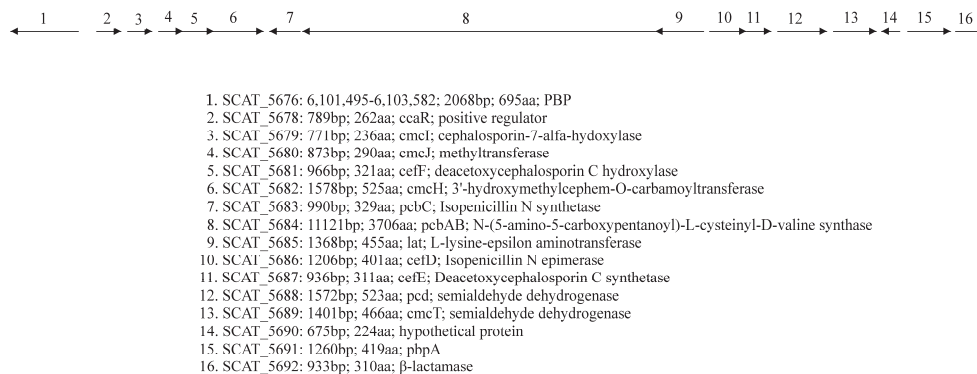


Figure 8. Cephamycin biosynthetic gene cluster in *Streptomyces cattleya* chromosome.

4. 放線菌のペニシリン結合蛋白質 (PBP)

ペニシリン結合蛋白質 (PBP) は、N 末端ドメインの構造と機能からクラス A、クラス B およびクラス C の 3 群に分類される³⁶⁻³⁷⁾。このうちクラス A とクラス B の PBP は共に、C 末端領域にペプチドグリカン骨格で隣接するグリカン鎖間のペプチド交差を触媒するトランスペプチダーゼドメインを有する。そのほかクラス A PBP は N 末端領域に交差グリカン鎖の伸長を触媒するグリコシルトランスフェラーゼ活性ドメインを持つものに対し、クラス B PBP ではこのドメインを欠いている。クラス C PBP は低分子量 PBP とも呼ばれ、カルボキシピペチダーゼ活性を持ち、主にペプチドグリカンの成熟化およびリサイクリングに関与し、生育に必須と考えられていないので、以後の考察からは除外する。

表 1 に現在全ゲノム配列が決定されている放線菌のうち *Streptomyces* 24 種を含む 92 種のゲノムサイズ、そのゲノムが環状か直鎖状か、PBP の数、PBP のタイプ、クラス A およびクラス B への帰属、その菌の特徴を纏めた。また Clustal X で作成したこれら PBP の系統樹を Fig. 1S および Fig. 2S に纏めた。ここで *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 および *Kytococcus sedentarius* DSM 20547 を除きいずれの菌もクラス A およびクラス B の PBP を有しているが、種によって PBP の数が 2 個から 13 個と極めてバラエティーに富んでいる。特に *Streptomyces* 属放線菌は際だって多く、10 個以上の PBP を有している。興味あることに、調べた *Streptomyces* 24 種の内 14 種ではクラス B の PBP 遺伝子が直列に 2 個配列しており、しかも両者が類似しているのみでなく (E 値が $1e-50$ 以下)、1 種 (*S. clavuligerus*) を除き連続した遺伝子群の PBP のアミノ酸配列それぞれ自身も極めて類似し、系統樹で同一のクラスターに属している。例えば、*S. albus* の SSHG_03834 と SSHG_03835 の E 値は $2.6e-58$ であり、*S. avermitilis* の SAV_3603 と SAV_3604 の E 値は $2.9e-64$ であり、*S. coelicolor* の SCO_3156 と SCO_3157 の間の E 値は $3.7e-46$ である。さらに *S. clavuligerus* および *S. pristinaespiralis* を除く 12 種の連続配列間での相同性も高く、系統樹で同じクラスターに属し、例えば *S. albus* の SSHG_03834 と *S. coelicolor* の SCO_3156 間の E 値は $6.9e-72$ でアミノ酸配列がきわめて類似する。*S. clavuligerus* では、並列した 2 個の PBP (SCLAV_4179 と SCLAV_4180) 間の類似性が低く (E 値で $5e-12$)、しかも遺伝子は逆方向を向いている。これら *S. clavuligerus* の 2 個の PBP は、セファマイシン - クラブラン酸生合成遺伝子クラスターの端に位置している。更に、この PBP (SCLAV_4179) は *S. cattleya* のセファマイシン生合成系の端に位置する PBP (SCAT_5676) と極めて類似性が高く (E 値で $8.4e-186$)、セファマイシン生合成遺伝子クラスターが両者間で伝達され、その後複雑な遺伝子組換えが起き現在の遺伝子構成になったことが推定される (Fig. 6 と Fig. 8 の遺伝子構成の比較および Fig. 9)。またはそのアミノ酸配列類似性の高さ (Fig. 10) から、生合成遺伝子が伝達された後に、極めて最近 PBP 遺伝子が伝達されたとも考えられる。この SCLAV_4179 は SCLAV_4180 に比較してペニシリン G に対する親和性が低く、その生育に必須と報告されている³⁸⁾。

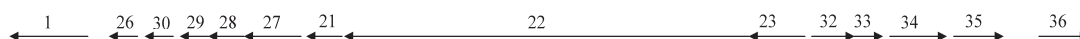
興味あることに、この SCLAV_4179 に類似する PBP はここで解析した *Streptomyces* 属細菌全てに存在し、しかも β -ラクタムを生合成する *S. clavuligerus* および *S. cattleya* では 2 個存在し (それぞれ SCLAV_4179 と SCLAV_1774 および SCAT_5676 と SCAT_1730 で、SCLAV_4179 と SCLAV_1774 の間の E 値は $2.8e-136$ 、SCAT_5676 と SCAT_1730 の間の E 値は $2.9e-141$ で極めて類似している)、 β -ラクタムに対する自己耐性で機能していることが想像される³⁹⁾。この SCLAV_4179 で Blast 検索すると、類似のアミノ酸配列を持つ蛋白質として多くの *Streptomyces* 属の PBP が最初に検索されるが、続いて検索される *Frankia*, *Kribbella*, *Nocardioidea*, *Thermomonospora*, *Nocardiosis*, *Janibacter*, *Intrasporangium*, *Acidothermus*, *Dermacoccus*, *Conexibacter*, *Halothermothrix*, *Dialister*, *Pelosinus*, *Atopobium*, *Olsenella* などは β -ラクタムに低親和性の PBP と類似性の高い PBP を持つことから β -ラクタムに耐性であることが推定される⁴⁰⁾。このうち *Halothermothrix*, *Dialister*, *Pelosinus* (これらは低 G+C グラム陽性菌) を除く種は高 G+C グラム陽性菌である。

S. clavuligerus においてセファマイシンあるいはクラブラン酸生合成遺伝子クラスター内あるいはその近

くに存在する PBP は SCLAV_4179, SCLAV_4180, SCLAV_4198 (以上クラス B), SCLAV_4214 (クラス C)、SCLAV_2887 (クラス A), SCLAV_2947 (クラス B) で、プラスミド p SCL4 のパラログ中のクラバム生合成遺伝子クラスター領域 (SCLAV_1050 から SCLAV_1100) には PBP らしき配列は見当たらない。*S.cattleya* においてもセファマイシンあるいはチエナマイシン生合成遺伝子クラスター内あるいはその近傍に存在する PBP は SCAT_5676 および SCAT_5691 のみで、チエナマイシン生合成遺伝子クラスター内には PBP らしき配列は見当たらない (β -ラクタマーゼ遺伝子は SCAT_p0838 に存在する)。

Streptomyces 属放線菌の PBP に隣接して蛋白質キナーゼが存在することは、特筆すべきことである。例えば SSHG_02907、SAV_4338、SBI_05406、SCATT_30800、SCAT_3089、SCLAV_2946、SMCF_8885、SCO_3848、SFLA_3201、SSFG_03588、SGM_3503、SSRG_03159、SGR_3725、SHJG_5218、SSPG_03807、SSDG_03054、SCAB_45561、SACTE_3284、SSEG_02705 (SSEG_09019 に隣接)、SVEN_3632、STRVI_0274 などである。興味あることに、隣接する PBP はすべて系統樹で同じクラスターに属し、一方の蛋白質キナーゼのアミノ酸配列は互いにきわめて類似し、例えば SCATT_30800 と SSEG_02705 間の E 値は $3e-93$ 、SCATT_30800 と SSHG_02907 間の E 値は $3.2e-102$ である (Fig. 11)。特に N 末端半分は殆ど同一といっても良いほどである。この群の蛋白質キナーゼについてモチーフデータベースである Pfam⁴¹⁾ で検索すると、いずれもキナーゼドメイン 1 個と、 β -ラクタム結合ドメインであり、ペプチドグリカンのセンサとして機能していると考えられている PASTA (penicillin-binding protein and serine/threonine kinase associated) ドメイン^{42, 43)} 4 個から構成されている。一方の PBP に関しては、少なくとも *S. coelicolor* A3(2) および *S. clavuligerus* のクラス A およびクラス B PBP とともに PASTA ドメインは見当たらない⁴⁴⁾。一方で蛋白質キナーゼが細胞分裂や細胞の形態形成調節に関与することが *Streptomyces*、*Corynebacterium* や *Mycobacterium* で知られているが⁴⁵⁻⁴⁷⁾、蛋白質キナーゼと PBP との関係は明らかにされていない。

S. clavuligerus



S.cattleya



<i>Streptomyces clavuligerus</i>			<i>Streptomyces cattleya</i>			Similarity	Function
No.	SCLAV No.	aa No.	No.	SCAT No.	aa No.		
1	SCLAV_4179	717	1	SCAT_5676	695	1.4E-168	PBP
26	SCLAV_4204	262	2	SCAT_5678	262	1.7E-60	ccaR; positive regulator
30	SCLAV_4208	236	3	SCAT_5679	236	1.1E-82	cmcI; cephalosporin-7- α -hydroxylase
29	SCLAV_4207	310	4	SCAT_5680	290	2.6E-66	cmcJ; methyltransferase
28	SCLAV_4206	318	5	SCAT_5681	321	1.8E-95	cefI; deacetoxycephalosporin C hydroxylase
27	SCLAV_4205	521	6	SCAT_5682	525	7.2E-174	cmcH; 3'-hydroxymethylcephem-O-carbamoyltransferase
21	SCLAV_4199	343	7	SCAT_5683	329	1.2E-128	pcbC; Isopenicillin N synthetase
22	SCLAV_4200	3781	8	SCAT_5684	3706	87.3%	pcbAB; N-(5-amino-5-carboxypentanoyl)-L-cysteinyl-D-valine synthase
23	SCLAV_4201	457	9	SCAT_5685	455	7.9E-135	lat; L-lysine-epsilon aminotransferase
32	SCLAV_4210	398	10	SCAT_5686	401	7.7E-92	cefI; Isopenicillin N epimerase
33	SCLAV_4211	311	11	SCAT_5687	311	1.5E-94	cefE; Deacetoxycephalosporin C synthetase
34	SCLAV_4212	512	12	SCAT_5688	523	2.7E-145	pcd; semialdehyde dehydrogenase
33	SCLAV_4213	319	13	SCAT_5689	466	4E-43	cmcT; semialdehyde dehydrogenase
36	SCLAV_4214	698	15	SCAT_5691	419	9.8E-89	pbpA
	SCLAV_4216	partial stop	16	SCAT_5692	310	2.9E-58	β -lactamase

Figure 9. Comparison of cephamycin biosynthetic gene clusters in *Streptomyces clavuligerus* and *Streptomyces cattleya*.


```

10      20      30      40      50      60      70      80
4179 MSNIPETGRTPRVRIRLVVQIILVLSLLLTLGGRLNHLQIREGERYAEKASGNRVRVQVAVRGAILDARGAIPADNET
5676 MIVNVRSGRSPRIIRTLVAIQIILVLSLLLPLGGRLNHLQIRGVAVYAREASGNHVQVQVAVRGMILDARGVPLAENET
10      20      30      40      50      60      70      80
4179 RLVVSASRTELLKAPDRGRAVLTRLAAGLGLPARELMDKVRLCDSKTPPCWNGSPYQIPLTDEATARGALQIRERSQ
5676 RLVVTASRGELLSMRDGGKAVLTRLASVGLMIRPETVRDKVRLCDARTPOPCWNGSPYQIPIIDRATPRGALQIRERAED
90      100     110     120     130     140     150     160
4179 FPGITAEPTAVRRYPGGSANTAOVLGYLSPVTEELRAAOTSDSPYLRSDOVGRSGLERQYDDILRGRAGITEYVDHL
5676 FPGITAEPEAVRRYPGYPAGTAQVLGYLSPVTEDEFGRARHGSSPFLRSDOVGRSGLEREYDQDLRGRDGVTRYQVDNL
170     180     190     200     210     220     230     240
4179 GRVIGRSGDTPATPGANLITSIDARVQRIAEYELNEAMKAKRQWDRNTRRNYEADSGAVVMEARTGRIVAMASPSYD
5676 GRVVGRAGDVGPRPGSDLYTISIDARVQHI AETOLDQALKDARKKWDHNTGTNYKADSGAVVMEARTGRIVAMASPSYD
250     260     270     280     290     300     310     320
4179 PNAHWGGISAKDYRKLTEGNSNHPLLNRAIQGVAAPGSIFKVIPTVAAVNAGYFDRGECSSYSIGGSRFGNFSKAY
5676 PNVWVGVSADYRRLTGPSSDOPLLNRAIQGLSAPGSIFKVVVPTTAAVNAAGYFDRGECSSSYAIGSDVFGNYESRGY
330     340     350     360     370     380     390     400
4179 GPIDLGRALVSCDVTYVYRLAHEEWRKGGGLTPKKGAKDFYRTAHQFGLGKTTGVLDLPNEVTGRVDPHRWKGQYEAANK
5676 GPIITLGRALVSCDVTYVYRLADEEWRKGGGLTPKKNPADWFYRTAHQFGLGELTGVLDLPNEVTGRVDPDRRKRQFQWANK
410     420     430     440     450     460     470     480
4179 DSWCEHGRKRGTMLEQFSWENCRGQGNQVRAQDSVNYISIGGDTLTPIQMATIYALANGGTLTYPVSGKAVSADGRKI
5676 DTWCROGRDGDYVERIAYENCRDGDRIAGDLVWYISIGGDTLTPVQMASIYAAIANGGTLTYPVSGKAVSADGRKHV
490     500     510     520     530     540     550     560
4179 REIEPKAHGKLPMDRVTROKMDQALAGVATARGTAGWRFGWQPEQIPIIRAKTSTAIEVFGKOTTSWFATYDDYAVLTI
5676 QEITPRVGRRLPMTKRTRDQIDEALAGVAT-RGTADWRFDGWQPDRIIPMHAKTSTAIEVFGKOTTSWFATYTKOYAVMTI
570     580     590     600     610     620     630     640
4179 SOGGTSGGSGAPAVRKIYNALYGVADGTIDRSRALLPTPORKLPAIRPDGSDAPRIIRAYRPGAEGPAERPLRREP
5676 ADBGTSGGASAPAVRKIYNALYGVADGTIDRSRALLPTPORKLPAIRPDGSDYAP
640     650     660     670     680     690

```

Active sites are marked with square boxes.

Figure 10. Comparison of amino acid sequences of SCLAV_4179 and SCAT_5676.

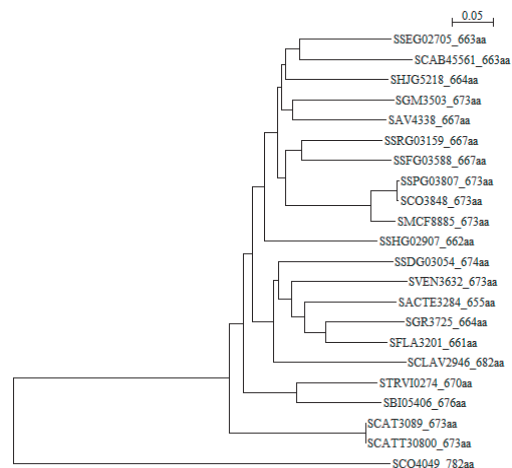


Figure 11. Phylogenetic tree of protein kinases from *Streptomyces* constructed by using Sco4049 as an out-group.

5. 放線菌のβ-ラクタマーゼ

β-ラクタマーゼはβ-ラクタム系抗生物質のβ-ラクタム環の加水分解を触媒する酵素で、病原菌ではその薬剤耐性の面から広く研究されている。しかし非病原性の細菌である放線菌や枯草菌、藍藻類などもβ-ラクタマーゼを生産する。これらβ-ラクタマーゼについては昨年の明治薬科大学紀要に纏めたので、それを参照していただきたい⁴⁸⁾。

6. β-ラクタム抗生物質に対する自己耐性

β-ラクタム抗生物質の自己耐性については、ペニシリンが広く用いられる以前に単離した放線菌でもほとんどの *Streptomyces* 属放線菌でβ-ラクタマーゼが構成的に、β-ラクタム生産と無関係に生合成されていること、*Streptomyces* 属放線菌のPBPのペニシリンGに対する親和性が極端に低いことから、PBPが主たる役割を果たしていると考えられている^{2, 49-50)}。

セファマイシンおよびクラブラン酸を生合成する *Streptomyces clavuligerus* において自己耐性に関与する可能性のある蛋白質としては、PBP (SCLAV_4179, SCLAV_4180, SCLAV_4198, SCLAV_4214, SCLAV_2887 および SCLAV_2947)、β-ラクタマーゼ (SCLAV_4187, SCLAV_4749)、排出蛋白質およびABCトランスポーター (SCLAV_4183, SCLAV_4192, SCLAV_2930) および阻害剤蛋白質 (SCLAV_4455 および SCLAV_4723) および阻害剤様蛋白質 (SCLAV_4202) が考えられる。セファマイシン生合成遺伝子クラスター中に存在する SCLAV_4202 に関しては詳細な研究がないが、SCLAV_4455 (Doran ら⁵¹⁾が報告したβ-ラクタマーゼ阻害剤蛋白質 BLIP) は各種のクラスAβ-ラクタマーゼをpMからμM範囲の親和性で阻害する⁵²⁾。またこの遺伝子 (bli) の破壊株および bli 遺伝子およびクラブラン酸非生産二重変異株は

蛋白質性 β -ラクタマーゼ阻害活性を示さないことから、*S. clavuligerus* には β -ラクタマーゼ阻害蛋白質は BLIP のみしか存在しないこと、*bli* 遺伝子を破壊してもクラバン以外の二次代謝産物の生産に影響しないこと、増殖および分化時の細胞形態、孢子形成に影響しないことが示唆されている⁵³⁾。興味あることに、BLIP の産生はセファマイシン C およびクラバン酸生成遺伝子クラスター中のレギュレーター *ccaR* (SCLAV_4204) の欠損変異株でダウンレギュレートされることが報告されており、 β -ラクタマーゼ阻害剤蛋白質 BLIP の生産調節と β -ラクタム生産調節の間に何らかの関連があることが示唆される⁵³⁾。しかし詳細については不明である。PBP に関しては SCLAV_4179 がペニシリン B に対する親和性が特に低いことが報告されているので、自己耐性に関与していることが極めて高い。即ち *S. clavuligerus* がクラバン酸を多量に産生しても、自己のペプチドグリカンを生合成できるものと推定される。同様にセファマイシンとチエナマイシンを産生する *S. cattleya* においても、SCLAV_4179 と相同性が極めて高い SCAT_5676 が自己耐性で主要な役割を果たしていることが推定される。このことと関連して先に述べた SCLAV_4179 に相同性な PBP を持つ *Frankia*, *Kribbella*, *Nocardioides*, *Thermomonospora*, *Nocardiosis*, *Janibacter*, *Intrasporangium*, *Acidothermus*, *Dermacoccus*, *Conexibacter*, *Halothermothrix*, *Dialister*, *Pelosinus*, *Atopobium*, *Olsenella* などの PBP 生産の程度と β -ラクタム耐性の関連性に興味を持たれる。

7. SCLAV_4179 の分子モデリングと薬剤耐性

ここでセファマイシンおよびクラバン酸を生合成する *Streptomyces clavuligerus* における、 β -ラクタム自己耐性に関与する蛋白質候補である SCLAV_4179 の分子モデルと薬剤耐性について考察する。現在アミノ酸配列が明らかにされた蛋白質の分子モデル予測は、アミノ酸配列を基に配列同一性の高い結晶構造既知の蛋白質の分子モデルと比較することにより行われる。ここでは Imperial College London の Kelly らが開発した Phyre2⁵⁴⁾を用い、分子構造予測を行った。Phyre2 は目的の蛋白質のアミノ酸配列から PSI-Blast により蛋白質の各位置の変異傾向を読み取り、隠れ Markov モデルデータベースの分子構造既知の蛋白質の隠れ Markov モデルと照合することで、目的の蛋白質のアミノ酸配列を Confidence (信頼性) によりランク付けする。これにより分子モデルを推定することで、分子構造既知の蛋白質と 15%以下の配列同一性を持つ蛋白質でも正確な分子モデルが予測できるとされる。実際に SCLAV_4179 について行くと、MRSA のセフォタキシムが結合した PBP3 B 鎖の結晶構造 (PDB コード: 3vsl_B) を鋳型として用いた分子モデルが、Confidence=100.0%、%i.d.=23、カバー率=86%のトップランキングモデルとして選択された (Fig. 12A および Fig. 12B)。ほかの PBP を鋳型とした分子モデル例えば *S. pneumoniae* の PBP2b (PDB コード: 2wad_B)、*S. pneumoniae* の PBP2x (PDB コード: 1pmd_A) あるいは *Pseudomonas aeruginosa* の PBP3 (PDB コード: 3oc2_A) を鋳型として得られたモデルでもほぼ分子構造的にきわめて類似し、特に N 末端の頭部領域を除く立体構造はほとんど同一といっても良いほどである (いずれの PBP を用いて得られた分子モデルは Confidence=100.0%)。それゆえ、以下 3vsl_B⁵⁵⁾を鋳型として得られた分子モデルを基に議論する。得られた分子モデルの鋳型の結晶構造との比較を、Fig. 13A および Fig. 13B に示した。また鋳型の二次構造と比較しての、得られた分子モデルの推定二次構造を Fig. 14 に示す。ここで得られた推定二次構造は、Chou-Fasman 法⁵⁶⁾およびコンセンサス予測法⁵⁷⁾での結果と良い一致を示す。358SIFK361、412SCD414 および 612KTS614 により構成される活性部位ポケットは大腸菌の PBP4 などに比較して狭いが立体構造的に塞がれておらず、十分小さい β -ラクタムとの反応に適した位置に存在している。この点は反応速度定数の比較から、 β -ラクタム耐性には Michaelis 複合体の形成ではなくアシル化 PBP 中間体の形成が重要であるという MRSA の PBP2a の場合と類似する⁵⁸⁾。また *S. pneumoniae* の PBP2b および PBP1a の高度耐性獲得に重要である β 3 と β 4 (対応する SCLAV_4179 領域はそれぞれ 607-613 位および 625-630 位) を連結するリンカー⁵⁹⁾および PBP2x の高度耐性獲得で重要とされる α 4- α 5 ループ⁶⁰⁾ (対応する SCLAV_4179 領域で 386-411 位) は、活性部位の入り口の両側に位置しており、その柔軟性が β -ラクタム

耐性に重要であると考えられる。更に、このモデルには 328-345 位の 18 残基および 470-506 位の 37 残基が現れておらず、この領域がどのような構造をしているかは耐性との関連から興味ある点である。

SCLAV_4179 のアミノ酸配列の基本骨格はクラス B PBP のもの⁶¹⁾であり、モチーフ 1 ($\beta 2n/\beta 3n$) : 64RGX₃DX₂G-99aa-モチーフ 2 ($\beta 6n$) : 172RXYPX₂-36aa-モチーフ 3 (ai) : 214GX₂GXEX₃D-31aa-モチーフ 4 (βh) : 255GX₇DX₃Q-39aa-モチーフ ($\beta 2$) : 307TGX₃AX₄PSXDX-36aa-モチーフ 5 ($\alpha 2$) : 358SX₂K-50aa-モチーフ 6 ($\alpha 4/\alpha 5$) : 412SXN-197aa-モチーフ 7 ($\beta 3$) : 612KXG で構成されている。しかし、その活性部位 (モチーフ 5、6 および 7) のアミノ酸配列はきわめて特異な配列をしている。例えば、SX₂K 配列では多くの PBP では STXK であるが SCLAV_4179 では SIFK であり、SXN 配列はほとんどが SS/DN であるの対し SCD であり、KT/SG 配列は KTS となっている。これは *S. clavuligerus* の 12 個の PBP で比較しても STXK 以外は SCLAV_1774 の SIFK と SCLAV_4179 の SIFK、SCLAV_2947 の SPFK のみであり、SXN では SCLAV_4179 と SCLAV_1774 のみが SCD であり、KTG 配列では SCLAV_4179 のみが KTS となっている。*S. pneumoniae* の感受性菌 (R6) と耐性菌 (Sp328) の PBP2x の比較からそのアミノ酸変異率は N 末端で 16%の変動であるのに対し、C 末端では 31%の変動、活性中心部で 26%と C 末端および活性部位付近での変異率が高い。特にリンカー領域では 64%に達する⁶⁰⁾。類似のことは PBP2b、PBP1a および *S. aureus* の PBP3 でも見られる。更にコアを形成する $\beta 1$ から $\beta 5$ までの 5 本の β -シートではほとんど変異が起きていない^{62, 63)}。このことを考慮に入れ、SCLAV_4179 での耐性に関与すると思われるアミノ酸について考える。PBP2x の 337STMK の 338T が A/G/P/S に変異すると、T の OH 基の 340K および 547K (KT/SG 配列の K) および水分子との安定な水素結合が消失し、全体としてより柔軟な構造をとり、アシル化効率が減少するといわれる。これはほかの PBP についても同様である。また PBP2x の 339M (SX₂K 領域) は耐性菌の PBP では F に変異している。SCLAV_4179 ではこれに対応する T の位置は I で占められ、更に M の位置は F となっており、この二つのアミノ酸残基が耐性に関与している可能性が極めて高い。また PBP2x では 547KSGTAQ552 の Q が耐性菌で E に変異しているが、SCLAV_4179 では 612KTSTAE617 となっており、この変異に相当する変化が起きている。耐性菌である MRSA の PBP3 でも 618KTGTAE623 である。ただ PBP2a では 615KTGTAE620 である。以上のことを纏めると、SCLAV_4179 の β -ラクタムに対する耐性には、活性部位入り口の両側に位置する $\beta 3$ と $\beta 4$ を連結するリンカーおよび $\alpha 4$ - $\alpha 5$ ループの柔軟性と、活性部位 SX₂K、SXD および KXG 領域のアミノ酸の変異が大きく関与しているものと推定される。なお *Streptomyces clavuligerus* の SCLAV_4198 (pcbR) を欠損すると β -ラクタムに対する耐性が減少することから、この PBP が β -ラクタム耐性に関与することが示唆されている⁵⁰⁾が、詳細は不明である。

PBP のうちクラス B1 PBP は一般に β -ラクタムに対する親和性が低いといわれている⁶³⁾。しかし、SCLAV_4179 はアミノ酸配列アラインメントおよび系統樹での比較からクラス B1 よりクラス B4 あるいは B5 に近い。



Figure 12A. Molecular model of SCLAV_4179 based on 3vsl_B as a template.

Active sites are marked with red (358SIFK361), orange red (412SCD414) and orange (612KTS614). Amino acid numbers are inserted in the Figure.



Figure 12B. Molecular model of SCLAV_4179 based on 3vsl_B as a template.

Active sites are marked with red (358SIFK361), orange red (412SCD414) and orange (612KTS614). The model can be viewed in 3D by using a software such as Jmol (<http://jmol.sourceforge.net/>), Chimera (<http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/index.html>) and DeepView Swiss PDB Viewer (<http://spdbv.vital-it.ch/>).



Figure 13A. Comparison of molecular models of SCLAV_4179 (brown) and 3vsl_B (light blue).

Active sites are marked with red (358SIFK361), orange red (412SCD414) and orange (612KTS614). Amino acid numbers and secondary structures are inserted in the Figure. β 3- β 4 linker and α 4- α 5 loop are shown in green (SCLAV_4179) and yellow (3vsl_B). Prefix 'B' in amino acid numbers and secondary structures indicates those of the template (3vsl_B).

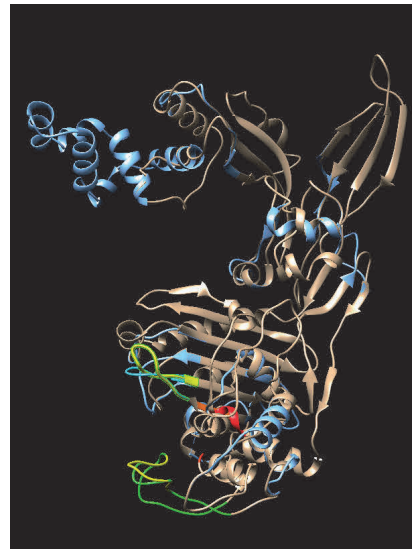


Figure 13B. Comparison of molecular models of SCLAV_4179 (brown) and 3vsl_B (light blue).

Active sites are marked with red (358SIFK361), orange red (412SCD414) and orange (612KTS614). β 3- β 4 linker and α 4- α 5 loop are shown in green (SCLAV_4179) and yellow (3vsl_B). The models can be viewed in 3D by using a software such as Jmol (<http://jmol.sourceforge.net/>), Chimera (<http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/index.html>) and DeepView Swiss PDB Viewer (<http://spdbv.vital-it.ch/>).

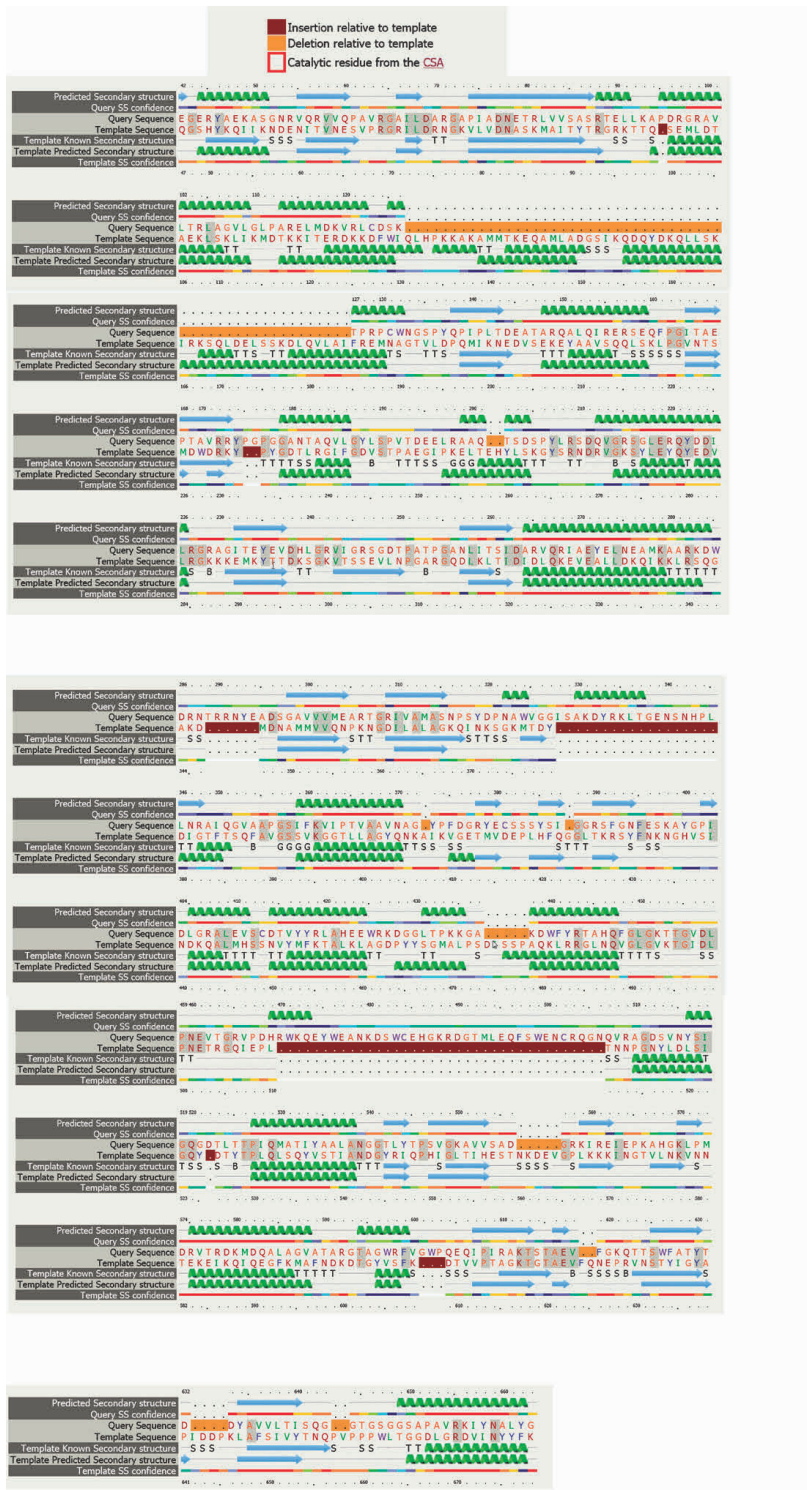


Figure 14. Comparison of predicted secondary structure of SCLAV_4179 and template known secondary structure and their amino acid sequences.

Secondary structure confidence is indicated by red (high) to blue (low). A green twist shows α -helix and a blue arrow shows β -structure.

8. おわりに

以上、 β -ラクタム抗生物質を中心に、放線菌における自己耐性について述べてきた。この研究の出発点になったのは、*Streptomyces* 属放線菌について β -ラクタマーゼ生産をスクリーニングすると、 β -ラクタム生産およびペニシリン G に対する耐性とは無関係に殆どの *Streptomyces* 属放線菌が β -ラクタマーゼを構成的に多量に産生すること⁶⁴⁾、 β -ラクタム生産放線菌のペニシリン結合蛋白質 (PBP) の存在パターンを標識ペニシリン G を用いたオートラジオグラフィーで検討すると、大腸菌や枯草菌では数日で結果が得られるにもかかわらず、放線菌では数月～半年を要したこと⁴⁹⁾であった。以前放線菌の β -ラクタマーゼの論文の原稿の校閲のため梅沢濱夫先生をお訪ねしたとき、先生は原稿を見て直ちに、「昔青カビでペニシリンを培養していたとき、放線菌を混入させたら培養はいっぺんにだめになってしまうと云われていたものである」といわれたのを思い出す。殆どの放線菌は β -ラクタマーゼを生産するので、混入するとせっかく生産されたペニシリンがいっぺんで分解されてしまうと云うことが、経験的に知られていたのである。それ以来 40 年近くが経過し、 β -ラクタム抗生物質の自己耐性が遺伝子のレベル、分子のレベルで議論できるようになったのは大変な進歩である。50 年以上前に大学院に入学して、蛋白質の X 線結晶解析に非常な興味を覚え、わざわざ理学部に出かけて行って当時大阪大学から特別講義に来られた仁田勇教授のお話をわからないながらも熱心に拝聴し、先生の分厚い X 線結晶解析の著書をむさぶり読んだのを、今更のように思い出す。蛋白質の X 線結晶構造はミオグロビンについて、英国の Kendrew らにより 1958 年 (著者が大学を卒業した年) に報告された⁶⁵⁾のが初めてである。本論文の最後に分子モデリングを考察したのは、この延長線にあるものである。

β -ラクタム抗生物質の自己耐性についていえば、本論文は 1981 年に *Microbiological Reviews* 誌で総説²⁷⁾を発表してから 33 年ぶりの報告となった。その間に大きな進歩があったとはいえ、最初の目的の一つである病原菌の β -ラクタム抗生物質への薬剤耐性と放線菌の自己耐性の関連性が十分に解明されていないこと、また病原菌の薬剤耐性が克服されていないことは残念である。これは細菌とヒトの頭脳比べの問題であり、永遠に解決できないことなのかもしれない。

参考文献

1. Drawz, S. M. and Bonomo, R. A.: Three decades of β -lactamase inhibitor. *Clin. Microbiol. Rev.* 23: 160-201, 2010.
2. 小河原宏: 抗生物質の自己耐性と生合成調節機構の遺伝生化学. *Yakugaku Zasshi* 121: 193-213, 2001.
3. 小河原宏: イソフラボンとシグナル伝達 —化学から骨粗鬆症・成人病・癌まで—. 廣川書店、2007.
4. Akiyama, T., Ishida, J., Nakagawa, S., Ogawara, H., Watanabe, S., Itoh, N., Shibuya, M. and Fukami, Y. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol. Chem.* 262: 5592-5595, 1987.
5. Dairi, T., Aisaka, K., Katsumata, R. and Hasegawa, M.: A self-defense gene homologous to tetracycline effluxing gene essential for antibiotic production in *Streptomyces aureofaciens*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 59: 1835-1841, 1995.
6. Yu, L., Yan, X., Wang, L., Chu, J., Zhuang, Y., Zhang, S and Guo, M.: Molecular cloning and functional characterization of an ATP-binding cassette transporter OtrC from *Streptomyces rimosus*. *BCM Biotechnol.* 12: 52, 2012.
7. Rodríguez, A. M., Olano, C., Vilches, C., Méndez, C. and Salas, J. A.: *Streptomyces antibioticus* contains at least three oleandomycin-resistance determinants, one of which shows similarity with proteins of the ABC-transporter superfamily. *Mol. Microbiol.* 8: 571-582, 1993.
8. Fernández, E., Lombó, F., Méndez, C. and Salas, J. A.: An ABC transporter is essential for resistance to the antitumor agent mithramycin in the producer *Streptomyces argillaceus*. *Mol. Gen. Genet.* 251: 692-698, 1996.

9. Ikeno, S., Yamane, Y., Ohishi, Y., Kinoshita, N., Hamada, M., Tsuchiya, K. S. and Hori, M.: ABC transporter genes, kasKLM, responsible for self-resistance of a kasugamycin producer strain. *J. Antibiot (Tokyo)*. 53: 373-384, 2000.
10. Zhao, L., Beyer, N. J., Borisova, S. A. and Liu, H. W.: β -glucosylation as a part of self-resistance mechanism in methymycin/pikromycin producing strain *Streptomyces venezuelae*. *Biochemistry* 42:14794-14804, 2003.
11. Yang, Z., Funabashi, M., Nonaka, K., Hosobuchi, M., Shibata, T., Pahari, P. and Van Lanen, S. G: Functional and kinetic analysis of the phosphotransferase CapP conferring selective self-resistance to capuramycin antibiotics. *J. Biol. Chem.* 285: 12899-12905, 2010.
12. Janssen, G. R., Ward, J. M. and Bibb, M. J.: Unusual transcriptional and translational features of the aminoglycoside phosphotransferase gene (*aph*) from *Streptomyces fradiae*. *Genes Dev.* 3: 415-429, 1989.
13. Nakano, M. M., Kikuchi, T., Mashiko, H. and Ogawara, H.: Analysis of the promoter region of the cloned kanamycin resistance gene (*kmr*) from *Streptomyces kanamyceticus*. *J Antibiot (Tokyo)*. 42: 413-422, 1989.
14. Ohnuki, T., Imanaka, T. and Aiba, S.: Self-cloning in *Streptomyces griseus* of an *str* gene cluster for streptomycin biosynthesis and streptomycin resistance. *J. Bacteriol.* 164: 85-94, 1985.
15. Haupt, I., Thrum, H. and Noack, D. : Self-resistance of the nourseothricin-producing strain *Streptomyces noursei*. *J Basic Microbiol.* 26: 323-328, 1986.
16. Hotta, K., Ishikawa, J., Ogata, T. and Mizuno, S. : Secondary aminoglycoside resistance in aminoglycoside-producing strains of *Streptomyces*. *Gene.* 115: 113-117, 1992.
17. Ohta, T. and Hasegawa, M.: Analysis of the self-defense gene (*fmrO*) of a fortimicin A (astromicin) producer, *Micromonospora olivasterospora*: comparison with other aminoglycoside-resistance-encoding genes. *Gene* 127: 636-69, 1993.
18. Schäberle, T. F., Vollmer, W., Fräsch, H. J., Hüttel, S., Kulik, A., Röttgen, M., von Thaler, A. K., Wohlleben, W. and Stegmann, E.: Self-resistance and cell wall composition in the glycopeptide producer *Amycolatopsis balhimycina*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55: 4283-4289, 2011.
19. Tsuge, K., Ohata, Y. and Shoda, M.: Gene *yerP*, involved in surfactin self-resistance in *Bacillus subtilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 3566-3573, 2001.
20. Klein, C. and Entian, K. D.: Genes involved in self-protection against the lantibiotic subtilin produced by *Bacillus subtilis* ATCC 6633. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2793-2801, 1994.
21. Neumüller, A. M., Konz, D. and Marahiel, M. A.: The two-component regulatory system BacRS is associated with bacitracin 'self-resistance' of *Bacillus licheniformis* ATCC 10716. *Eur. J. Biochem.* 268: 3180-3189, 2001.
22. Mattheus, W., Masschelein, J., Gao, L. J., Herdewijn, P., Landuyt, B., Volckaert, G. and Lavigne, R.: The kalimantacin/batumin biosynthesis operon encodes a self-resistance isoform of the FabI bacterial target. *Chem. Biol.* 17: 1067-1071, 2010.
23. Yanagisawa, T. and Kawakami, M.: How does *Pseudomonas fluorescens* avoid suicide from its antibiotic pseudomonic acid?: Evidence for two evolutionarily distinct isoleucyl-tRNA synthetases conferring self-defense. *J. Biol. Chem.* 278: 25887-25894, 2003.
24. Wang, Y., Chen, Y., Shen, Q. and Yin, X. : Molecular cloning and identification of the laspartomycin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces viridochromogenes*. *Gene* 483: 11-21, 2011.
25. Kumagai, T., Koyama, Y., Oda, K., Noda, M., Matoba, Y. and Sugiyama M. : Molecular cloning and heterologous expression of a biosynthetic gene cluster for the antitubercular agent D-cycloserine produced by *Streptomyces lavendulae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54: 1132-1139, 2010.

26. Davis, B. D. and Maas, W. K.: Analysis of the biochemical mechanism of drug resistance in certain bacterial mutants. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 38: 775-785, 1952.
27. Ogawara, H.: Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria, with special reference to β -lactam antibiotics. Microbiol. Rev. 45: 591-619, 1981.
28. Pérez-González, J. A., López-Cabrera, M., Pardo, J. M. and Jiménez, A.: Biochemical characterization of two cloned resistance determinants encoding a paromomycin acetyltransferase and a paromomycin phosphotransferase from *Streptomyces rimosus* forma *paromomycinus*. J. Bacteriol. 171: 329-334, 1989.
29. Nakano, M. M., Mashiko, H. and Ogawara, H.: Cloning of the kanamycin resistance gene from kanamycin-producing *Streptomyces* species. J. Bacteriol. 157: 79-83, 1984.
30. Dhote, V., Gupta, S., and Reynolds, K. A.: An O-phosphotransferase catalyzes phosphorylation of hygromycin A in the antibiotic-producing organism *Streptomyces hygroscopicus*. Antimicrob. Agents Chemother. 52: 3580-3588, 2008.
31. Tahlan, K., Anders, C., Wong, A., Mosher, R. H., Beatty, P. H., Brumlik, M. J., Griffin, A., Hughes, C., Griffin, J., Barton, B. and Jensen, S. E.: 5S clavam biosynthetic genes are located in both the clavam and paralog gene clusters in *Streptomyces clavuligerus*. Chem. Biol. 14:131-142, 2007.
32. Medema, M. H., Trefzer, A., Kovalchuk, A., van den Berg, M., Müller, U., Heijne, W., Wu, L., Alam, M. T., Ronning, C. M., Nierman, W. C., Bovenberg, R. A., Breitling, R. and Takano, E.: The sequence of a 1.8-mb bacterial linear plasmid reveals a rich evolutionary reservoir of secondary metabolic pathways. Genome Biol. Evol. 2: 212-24, 2010.
33. Rodríguez, M., Núñez, L. E., Braña, A. F., Méndez, C., Salas, J. A. and Blanco, G.: Mutational analysis of the thienamycin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces cattleya*. Antimicrob. Agents Chemother. 55:1638-1649, 2011.
34. Núñez, L. E., Méndez, C., Braña, A. F., Blanco, G. and Salas, J. A.: The biosynthetic gene cluster for the β -lactam carbapenem thienamycin in *Streptomyces cattleya*. Chem. Biol. 10:301-311, 2003.
35. Coulthurst, S. J., Barnard, A. M. and Salmond, G. P.: Regulation and biosynthesis of carbapenem antibiotics in bacteria. Nat. Rev. Microbiol. 3: 295-306, 2005.
36. Sauvage, E., Kerff, F., Terrak, M., Ayala, J. A. and Charlier, P.: The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis. FEMS Microbiol. Rev. 32:234-258, 2008.
37. Macheboeuf, P., Contreras-Martel, C., Job, V., Dideberg, O. and Dessen, A.: Penicillin binding proteins: key players in bacterial cell cycle and drug resistance processes. FEMS Microbiol. Rev. 30:673-691, 2006.
38. Ishida, K., Hung, T. V., Liou, K., Lee, H. C., Shin, C. H. and Sohng, J. K.: Characterization of *pbpA* and *pbp2* encoding penicillin-binding proteins located on the downstream of clavulanic acid gene cluster in *Streptomyces clavuligerus*. Biotechnol. Lett. 28: 409-417, 2006.
39. しかし SCLAV_4179 および SCAT_5676 と異なり、SCLAV_1774 と SCAT_1730 の近傍には β -ラクタム生合成に関与する遺伝子は存在せず、これらが自己耐性に関与しているかどうかは不明である。ただその近傍 (SCLAV_1773 から SCLAV_1777 および SCAT_1729 から SCAT_1733 まで) にペプチドグリカン生合成に関与すると思われる *mre* 蛋白質遺伝子が存在し、しかも相当する蛋白質同士の相同性は極めて高い。
40. SCLAV_4179 による BLAST 検出で相同性順位が低い *Streptomyces roseosporus* NRRL11379 の PBP (ZP_04708259、740 アミノ酸からなる) との相同性が 3.9e-161 であるのに対し、*Olsenella uli* DSM 7084 の PBP2 (YP_003800853、677 アミノ酸からなる) との相同性は 9.7e-51 であり、ENHANCED BLAST 検索された *Pseudomonas putida* CSV86 の PBP2 (ZP_19212830、630 アミノ酸からなる) との

相同性は 4.2e-36 であるので、アミノ酸の数もかなり異なることと合わせ、どの程度の耐性を示すかは不明である。

41. <http://pfam.janelia.org/>
42. Yeats, C., Finn, R. D., and Bateman, A.: The PASTA domain: β -lactam-binding domain. *Trends in Biochem. Sci.* 27: 438-440, 2002.
43. Young, T. A., Delagoutte, B., Endrizzi, J. A., Falick, A. M. and Alber, T: Structure of *Mycobacterium tuberculosis* PknB supports a universal activation mechanism for Ser/Thr protein kinases. *Nature Struct. Biol.* 10: 168–174, 2003.
44. *Streptococcus pneumoniae* のクラス B の PBP (アクセシオン No. SP0336) や *Mycobacterium tuberculosis* のクラス A の PBP (アクセシオン No. C70791) では PASTA ドメインがそれぞれ 2 個および 1 個存在する。更に Actinobacteria である *Nocardia* (アクセシオン No. WP_019931711) や *Rhodococcus* (アクセシオン No.016884523) の PBP でも 1 個ずつの PASTA ドメインが存在する。
45. Hempel, A. M., Cantlay, S., Molle, V., Wang, S. B., Naldrett, M. J., Parker, J. L., Richards, D. M., Jung, Y. G., Buttner, M. J. and Flårdh, K.: The Ser/Thr protein kinase AfsK regulates polar growth and hyphal branching in the filamentous bacteria *Streptomyces*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109: E2371-E2379, 2012.
46. Fiuza, M., Letek, M., Leiba, J., Villadangos, A. F., Vaquera, J., Zanella-Cléon, I., Mateos, L. M., Molle, V. and Gil, J. A.: Phosphorylation of a novel cytoskeletal protein (RsmP) regulates rod-shaped morphology in *Corynebacterium glutamicum*. *J. Biol. Chem.* 285: 29387-29397, 2010.
47. Molle, V. and Kremer, L.: Division and cell envelope regulation by Ser/Thr phosphorylation: *Mycobacterium* shows the way. *Mol. Microbiol.* 75: 1064-1077, 2010.
48. Ogawara, H.: Molecular phylogenetics of β -lactamases in Actinobacteria. *明治薬科大学研究紀要.* 42: 1-18, 2013.
49. Ogawara, H., Horikawa, S.: Penicillin-binding proteins of *Streptomyces cacaoi*, *Streptomyces olivaceus*, and *Streptomyces clavuligerus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 17, 1-7, 1980.
50. Paradkar, A. S., Aidoo, K. A., Wong, A. and Jensen, S. E.: Molecular analysis of a β -lactam resistance gene encoded within the cephamycin gene cluster of *Streptomyces clavuligerus* *J. Bacteriol.* 178: 6266-6274, 1996.
51. Doran, J. L., Leskiw, B. K., Aippersbach, S. and Jensen, S. E.: Isolation and characterization of a β -lactamase-inhibitory protein from *Streptomyces clavuligerus* and cloning and analysis of the corresponding gene. *J. Bacteriol.* 172: 4909-4918, 1990.
52. Brown, N. G. and Palzkill, T.: Identification and characterization of β -lactamase inhibitor protein-II (BLIP-II) interactions with β -lactamases using phage display. *Protein Enz. Des. Sel.* 23: 649-478, 2010.
53. Thai, W., Paradkov, A. S. and Jensen, S. E. : Construction and analysis of β -lactamase-inhibitory protein (BLIP) non-producer mutants of *Streptomyces clavuligerus*. *Microbiology* 147: 325-335, 2001.
54. Kelley, L. A. and Sternberg, M. J. E.: Protein structure prediction on the web: a case study using the Phyre server. *Nature Protocols* 4: 363-371, 2009.
55. Yoshida, H., Kawai, F., Obayashi, E., Akashi, S., Roper, D. I., Tame, J. R. and Park, S. Y. : Crystal structures of penicillin-binding protein 3 (PBP3) from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the apo and cefotaxime-bound forms. *J. Mol. Biol.* 423: 351-364, 2012.
56. Chou, P. Y. and Fasman, G. D.: Prediction of protein conformation. *Biochemistry* 13, 222-245, 1974.
57. http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_seccons.html
58. Lim, D. and Strynadka, N. C.: Structural basis for the β -lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat. Struct. Biol.* 9: 870-876, 2002.

59. Contreras-Martel, C., Dahout-Gonzalez, C., Martins, A. dos S., Kotnik, M., Dessen, A.: PBP active site flexibility as the key mechanism for β -lactam resistance in pneumococci. *J. Mol. Biol.* 387: 899-909, 2009.
60. Dessen, A., Mouz, N., Gordon, E., Hopkins, J., Dideberg, O. : Crystal structure of PBP2x from a highly penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* clinical isolate: a mosaic framework containing 83 mutations. *J. Biol. Chem.* 276 : 45106-45112, 2001.
61. Goffin, C. and Ghuysen, J.-M.: Multimodular penicillin-binding proteins: an enigmatic family of orthologs and paralogs. *Microb. Mol. Biol. Rev.* 62: 1079-1093, 1998.
62. Contreras-Martel, C., Job, V., Di Guilmi, A. M., Vernet, T., Dideberg O. and Dessen, A.: Crystal structure of penicillin-binding protein 1a (PBP1a) reveals a mutational hotspot implicated in β -lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *J. Mol. Biol.* 355: 684-696, 2006.
63. Job, V., Carapito, R., Vernet, T., Dessen, A. and Zapun, A.: Common alterations in PBP1a from resistant *Streptococcus pneumoniae* decrease its reactivity toward β -lactams: structural insights. *J. Biol. Chem.* 283: 4886-4894, 2008.
64. Ogawara H.: Production and property of beta-lactamases in *Streptomyces*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 8: 402-408, 1975.
65. Kendrew, J. C., Bodo, G., Dintzis, H. M., Parrish, R. G., Wyckoff, H. and Phillips, D. C.: A three-dimensional model of the myoglobin molecule obtained by x-ray analysis. *Nature* 181: 662-666, 1958.

Supplemental files

<http://www.my-pharm.ac.jp/koho/education/index.html>

Figure 1S. Phylogenetic tree of 254 class A penicillin-binding proteins from 92 Actinobacteria constructed by using Sco4049 (β -lactam acylase/penicillin-binding protein in *Streptomyces coelicolor* A3 (2)) as an out-group.

Figure 2S. Phylogenetic tree of 366 class B penicillin-binding proteins from 92 Actinobacteria constructed by using Sco4049 as an out-group.

Table1. The numbers and types of putative PBP genes.

Bacteria	Prefix	Genome size	No. of PBP	Type of PBP	Class A PBP	Class B PBP	Comment
<i>Acidimicrobium ferrooxidans</i> DSM 10331	AFER	2.16 (C)	3	B3		0089, 0769, 1250	ferrous-iron-oxidizing, moderately thermophilic, acidophilic bacteria;
<i>Acidothermus cellulolyticus</i> 11B	ACEL	2.44 (C)	5	A2; B3	2004, 2135	0020, 0751, 1004	a moderately thermophilic, aerobic, cellulolytic bacterium originally recovered from the acidic hot springs
<i>Actinoplanes missouriensis</i> 431	AMIS	8.77 (C)	8	A5; B3	10850, 39800, 60090, 78300, 80960	00450, 15180, 71610	aerobic, motile, filamentous, sporulating bacterium; produces actaplanin, azacytidine, D-xylase isomerase; degrades flavonoids and natural rubber;
<i>Actinosynnema mirum</i> DSM 43827	AMIR	8.25 (C)	6	A3; B3	0235, 5121, 7034	0023, 5772, 5886	a producer of nocardinin; Pseudonocardineae
<i>Anycolicoccus subflavus</i> DQS3-9A1	AS9A	4.74 (C)	5	A2; B3	0253, 2577	0033, 4146, 4510	isolated from a saline soil contaminated with crude oil; no mycolic acids and MK-8 was the major menaquinone
<i>Arthrobacter aureoscens</i> TC1	AAUR	4.60 (C)	6	A2; B4	3369, 3416	0030, 1704, 3184, 4181	reduce hexavalent chromium; found in extreme environments: deep subsurface soils, arctic sea and radioactive waste tanks; catabolize a variety of xenobiotic compounds; used in the bioremediation
<i>Beutenbergia cavernae</i> DSM 12353	BCAV	4.67 (C)	5	A2; B3	0604, 4182	0028, 0389, 2416	isolated from cave soil; no mycolic acid; not acid-fast, non-motile, non-spore-forming and a red-oxcus growth cycle; peptidoglycan contains lysine in position 3 of the peptide subunit and an interpeptide bridge of L-LYS+ L-Glu.
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC 15703	BAD	2.09 (C)	4	A2; B2	0157, 1336	0040, 1107	normal inhabitants of healthy human and animal intestinal tracts
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> AD011	BLA	1.93 (C)	3	A1; B2	0208	0077, 0782	an anaerobic Gram-positive lactic acid bacterium commonly found in the guts of healthy humans; utilize nondigestible oligosaccharides
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BLC1	BLC1	1.94 (C)	4	A2; B2	0209, 1314	0079, 1166	
<i>Bifidobacterium bifidum</i> FRI_2010	BBPR	2.21 (C)	4	A2; B2	0401, 1743	0104, 0550	
<i>Bifidobacterium bifidum</i> S17	BBIF	2.19 (C)	4	A2; B2	0427, 1684	0137, 0574	
<i>Bifidobacterium breve</i> ACS-071-V-Sch8b	HMPREF9228	2.33 (C)	4	A2; B2	0187, 1410	0067, 0606	
<i>Bifidobacterium breve</i> UCC2003	BBR	2.42 (C)	4	A2; B2	0176, 0487	0069, 1263	
<i>Bifidobacterium dentium</i> Bd1	BDP	2.64 (C)	4	A2; B2	0244, 1801	0040, 1548	
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i> 157F	BLIF	2.40 (C)	4	A2; B2	0139, 0411	0048, 1329	
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i> ATCC 15697	BLIJ	2.83 (C)	4	A2; B2	0174, 2144	0078, 0867	utilizes milk oligosaccharides, produces fucosidases; anaerobic, non-halophilic, Gram-positive bacterium; hexose metabolism; phosphotolase pathway (bifid shunt)
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>longum</i> F8	BIL	2.38 (L)	2	A1; B1	14530	18970	
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>longum</i> JCM 1217	BLIJ	2.39 (C)	4	A2; B2	0150, 0394	0060, 1278	
<i>Catenulispora acidiphila</i> DSM 44928	CACI	10.47 (C)	8	A1; B7	1390	0037, 1307, 1448, 1656, 5826, 8659, 7282	an aerobic, free-living, nonmotile, acidophilic Gram-positive bacterium; resistant to lysozyme; peptidoglycan type is A3gamma II-Dpm-Gly
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> NCTC 13129	DIP	2.49 (C)	5	A2; B3	0298, 2294	0055, 1497, 1604,	Gram-positive, nonmotile rods; produces the diphtheria toxin; isolated from soil, plant material, waste water, and dairy products
<i>Corynebacterium glutamicum</i> ATCC 13032	NOGL	3.31 (C)	5	A2; B3	0274, 2884	0042, 1933, 2084	unusual outer membrane approximately 8nm thick; mycolic acid-arabinogalactan-peptidoglycan polymer form the cell wall
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> 1/06-A	CP106	2.28 (C)	5	A2; B3	0194, 1992	0032, 1278, 1380	a facultative intracellular pathogen; causes caseous lymphadenitis in animals; pleomorphic forms: coccoids and filamentous rods; non-sporulating, non-capsulated, non-motile bacterium; it has fimbriae
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> 1002	CP1002	2.34 (C)	5	A2; B3	0200, 2034	0035, 1298, 1397	
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> 42/02-A	CP4202	2.34 (C)	5	A2; B3	0198, 2027	0034, 1288, 1387	
<i>Corynebacterium resistens</i> DSM 45100	CRES	2.6 (C)	6	A2; B4	2033, 2137	0042, 0263, 0788, 1250	highly resistant to antimicrobial agents; anaerobic, rod-shaped, nonmotile, nonsporulating, mesophile
<i>Frankia alni</i> ACN14a	FRAAL	7.50 (C)	7	A3; B4	1281, 6546, 6857	1919, 2190, 5852, 6753	aerobic, filament-shaped, nonmotile, sporulating, nitrogen-fixing; differentiate into sporangium and vesicles (specialized cell for nitrogen-fixation), contain lipid components called hopanoids. Hopanoids
<i>Frankia</i> sp. CeI3	FRANCCIE3	5.43 (C)	7	A3; B4	0754, 4277, 4526	1214, 1409, 3641, 4434	
<i>Frankia</i> sp. EuI1c	FraEuI1c	8.82 (C)	8	A3; B5	0346, 6058, 7178	0085, 1014, 1303, 1960, 2368	
<i>Gardnerella vaginalis</i> 409-05	HMPREF0424	1.62 (C)	4	A2; B2	0304, 1277	0032, 1107	a facultative anaerobic, rod-shaped, free-living Gram-variable bacterium; a risk factor for the acquisition of HIV;

<i>Gardnerella vaginalis</i> HMP9231	HMPREF9231	1.73 (C)	4	A2: B2	1162, 1288	0015, 1089	
<i>Gordonia alkanivorans</i> NBRC 16433	GOALK	5.07 (L)	7	A2: B5	00350, 01250	00210, 00240, 00270, 01580, 01900	isolated from tar-contaminated soil/marine sediment; use alkanes as a carbon source
<i>Gordonia polyisoprenivorans</i> VH2	GPOL	5.67 (C)	6	A2: B4	07230, 49200	00240, 05610, 20210, 27800	isolated from soil of a rubber tree plantation and from fouled water inside a decayed automobile tire; degrade natural and synthetic poly(cis-1,4-isoprene) rubber;
<i>Isopterocola variabilis</i> 225	ISOVA	3.31 (C)	5	A2: B3	2701, 3000	0021, 1284, 2892	a cellulolytic bacterium isolated from the termite hindgut; biofuels, biomass conversion; rod-shaped, motile
<i>Kineococcus radiotolerans</i> SRS30216	KRAD	4.76 (L)	5	A2: B3	0429, 4341	0073, 0475, 3205	an aerobic, coccoid bacterium isolated from a high-level radioactive waste cell; resistant to ionizing γ radiation and desiccation; dramatic change in colony morphology over prolonged incubation
<i>Kitasatospora setae</i> KM-6054	KSE	8.78 (L)	8	A4: B4	27750, 36430, 38960, 59840	26130, 39410, 46160, 46190,	an aerobic, soil-habiting mycelial gram-positive bacterium isolated from oil; produce bacitracin B1 and bacitracin A1, 2, specific inhibitors of vacuolar ATPase; LL- and meso-DAP
<i>Kocuria rhizophila</i> DC2201	KRH	2.7 (C)	3	A1: B2	04490	14880, 20650	a coccoid, halotolerant, phenol-degrading gram-positive bacterium isolated from the rhizosphere of narrowleaf cattail; amino acid transporters and drug efflux pumps
<i>Kytococcus sedentarius</i> DSM 20547	KSED	2.79 (C)	3	B3		00200, 09230, 16620	a free-living, nonmotile, human opportunistic pathogen; grows as spherical coccoid; produces moenomycin A and E isolated from varying environments such as human skin and groundwater
<i>Leifsonia xyli</i> subsp. <i>xyli</i> str. CTCB07	LXX	2.58 (C)	6	A4: B2	02090, 03600, 05450, 23190	00230, 15320	an aerobic, rod-shaped, Gram-positive bacterium, causes ratoon stunting disease and affects sugarcane; a plant pathogen; no endospore or motility; an unusual cell wall peptidoglycan with 2,4-diaminobutyric acid
<i>Micromonospora aurantiaca</i> ATCC 27029	MICAU	7.03 (C)	9	A6: B3	3350, 4230, 4961, 5144, 5927, 6271	0098, 4478, 5070	metabolic versatility like nitrogen fixation, exhibit saprophytic (living off dead tissues) and symbiotic lifestyles, ubiquitous in the environment, degrade plant cell walls and fibers; spore formation; bioremediation
<i>Mobiluncus curtisii</i> ATCC 43063	HMPREF0573	2.15 (C)	4	A2: B2	10708, 10751	10644, 11576	an anaerobic, rod-shaped Gram-positive bacterium found in the human vagina
<i>Mycobacterium avium</i> 104	MAV	5.48 (C)	5	A2: B3	0071, 0446	0020, 2330, 3723	<i>Mycobacterium avium</i> complex (MAC), causes a serious infection in people with advanced AIDS; mycolic acid-arabinogalactan-peptidoglycan polymer form the cell wall;
<i>Mycobacterium bovis</i> BCG str. Tokyo 172	JTY	4.37 (C)	5	A2: B3	0051, 3742	0016, 2174, 2881	a major cause of tuberculosis in animal species and man; an unusual outer membrane approximately 8nm thick; the outer membrane and the mycolic acid-arabinogalactan-peptidoglycan polymer form the cell wall
<i>Mycobacterium leprae</i> TN	ML	3.27 (C)	5	A2: B3	2308, 2688	0018, 0908, 1577	An unculturable very slow-growing, acid-fast, obligate intracellular bacterium; non-motile and rod-shaped; responsible for leprosy.
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	RV	4.41 (C)	5	A2: B3	0050, 3682	0016, 2163, 2864	Acid-fast, obligate aerobic, non-motile, rod-shaped bacterium, the causative agent of tuberculosis; persists in a dormant or latent form for years
<i>Nakamurella multipartita</i> DSM 44233	NAMU	6.06 (C)	4	A1: B3	0707	0079, 2190, 3930	an obligately aerobic chemolithoautotrophic, polysaccharide-accumulating gram-positive bacterium isolated from active sludge;
<i>Nocardia farcinica</i> IFM 10152	NFA	6.02 (C)	8	A3: B5	03390, 55490, 55570	820, 17600, 18430, 41160, 54970	a gram-positive, filamentous-growing soil saprophyte;
<i>Nocardioides</i> sp. JS614	NOCA	4.99 (C)	6	A2: B4	0328, 4676	0024, 3069, 3462, 4600	an aerobic mesophilic gram-positive bacterium; grows on media containing vinyl chloride (VC) and ethane; monooxygenase system plays a major role in the VC starvation response
<i>Propionibacterium acnes</i> 266	PAZ	2.49 (C)	4	A2: B2	01380, 22310	01980, 08010	
<i>Propionibacterium acnes</i> KPA171202	PPA	2.56 (C)	4	A2: B2	0126, 2149	0185, 0752	
<i>Propionibacterium acnes</i> SK137	HMPREF0675	2.5 (C)	4	A2: B2	3139, 5213	3226, 3820	an anaerobic, non-spore forming, gram-positive bacterium; produces propionic acid; non-toxicogenic; a common resident of the pilosebaceous (hair follicle) glands of the human skin; acne vulgaris
<i>Renibacterium salmoninarum</i> ATCC 33209	RSAL33209	3.16 (C)	4	A1: B3	2795	2241, 2500, 2891	a gram-positive, rod-shaped bacterium that causes the bacterial kidney disease in salmonids;
<i>Rhodococcus erythropolis</i> PR4	RER	6.52 (C)	8	A3: B5	04630, 58380, 58990	00300, 10660, 10670, 25560, 35580	aerobic, gram positive, capable of morphological differentiation; broad metabolic diversity; desulphurization of fossil fuels, production of acrylamide and extracellular polysaccharides; bioremediation
<i>Rothia dentocariosa</i> ATCC 17931	HMPREF0733	2.51 (C)	3	A1: B2	10478	10948, 11665	an aerobic, pleomorphic, coccoid- to rod-shaped bacterium frequently isolated from the human oral cavity
<i>Saccharomonospora azurea</i> NA-128	SACAZ	4.76 (C)	4	A2: B2	02388, 02721	01210, 02813	aerobic, gram-negative bacterium; aerial mycelium and single spores; degrades hemicellulose
<i>Saccharomonospora viridis</i> DSM 43017	SVIR	4.31 (C)	4	A2: B2	36250, 39340	24950, 33330	aerobic, gram-negative bacterium; typical mycelium morphology of <i>Saccharomonospora</i> ; found in hot compost and hay, its spores cause farmer's lung disease bagassosis and humidifier fever; metabolize pentachlorophenol
<i>Saccharomonospora marina</i> XMU15	SACMA	5.97 (C)	5	A2: B3	5053, 5737	0205, 1393, 2176	aerobic, gram-positive bacterium; forms substrate and aerial mycelia, non-motile; isolated from ocean sediment; degrades hemicellulose; contains an unusually large number of glycosyltransferases
<i>Saccharopolyspora erythraea</i> NRRL 2338	SACE	8.21 (C)	7	A4: B3	0314, 0385, 6352, 7356	0046, 5864, 5990	aerobic, filamentous-shaped, nonmotile, sporulating, free-living gram-positive bacterium; produces erythromycin
<i>Salinispora arenicola</i> CNS-205	SARE	5.79 (C)	7	A5: B2	3240, 3923, 4021, 4796, 5078	0051, 3444	isolated from tropical marine sediment; produces staurosporine and rifamycin; requires seawater for growth
<i>Salinispora tropica</i> CNB-440	STROP	5.18 (C)	7	A5: B2	3015, 3548, 3639, 4354, 4560	0046, 3218	resides in ocean sediments; requires seawater for growth; produces salinosporamide A, a potent inhibitor of the 20S proteasome;
<i>Shackia heliotrinireducens</i> DSM 20476	SHEL	3.17 (C)	3	A1: B2	08350	08800, 14210	a nonmotile, obligate anaerobe, pyrrolizidine alkaloids metabolizer gram-positive bacterium, isolated from the rumen of a sheep;

<i>Streptomyces albus</i> J1074	SSHG	6.62 (L)	10	A4: B6	01811, 02961, 03197, 04158	01149, 01599, 02906, 03834, 03835, 04127	nonmotile, aerobic, sporulating, gram-positive bacterium:
<i>Streptomyces avermitilis</i> MA-4680	SAV	9.03 (L)	13	A6: B7	3225, 4294, 4423, 4583, 5179, 7219	2952, 3603, 3604, 4339, 5458, 6116, 6387	soil and water Gram positive filamentous bacteria, produces avermectin, a human and veterinary medicine:
<i>Streptomyces hingchengensis</i> BCW-1	SBI	11.94 (L)	12	A6: B6	03076, 04174, 05361, 05810, 06697, 09068	02283, 04376, 05407, 06233, 07119, 07873	a soil bacterium: the largest bacterial genome that has been sequenced to date: produces milbemycin, an anthelmintic macrolide
<i>Streptomyces cattleya</i> NRRL8057	SCAT	6.28 (L)	11	A4, B7	1929, 2889, 3140, 3906	0768, 1207, 1730, 1901, 3088, 4153, 5676	produces thiaminoyl, cephamycin C, penicillin N and fluorinated metabolites
<i>Streptomyces cattleya</i> DSM146488	SCATT	6.28 (L)	11	A4: B7	19200, 28790, 31330, 38910	07700, 12070, 17240, 18950, 30790, 41420, 56770	
<i>Streptomyces clavuligerus</i> ATCC27064	SCLAV	6.76 (L)	12	A3: B9	2006, 2887, 3942	1087, 1301, 1774, 2276, 2947, 4154, 4179, 4180, 4198	clavulanic acid, cephamycin C, deacetoxycephalosporin C, penicillin N: cannot use glucose as a carbon source, because it lacks a glucose transport system, has all the enzymes of the urea cycle
<i>Streptomyces coelicoflavus</i> ZG0656	SMCF	8.48 (L)	11	A3: B8	1708, 4389, 7595	3764, 4686, 7469, 7795, 7796, 8190, 8286, 8884	produces novel acarviosatin family α -amylase inhibitors:
<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)	SCO	8.67 (L)	13	A4: B9	2897, 3580, 3901, 5039	1875, 2090, 2608, 3156, 3157, 3771, 3847, 4013, 5301	a filamentous, high G-C, gram-positive bacterium: degrades chitin, takes part in the nitrogen cycle:
<i>Streptomyces flavogriseus</i> ATCC33331	SFLA	7.34 (L)	12	A4: B8	2228, 3158, 3398, 4003	0559, 1988, 3202, 3620, 3741, 4275, 4730, 4938	an aerobic, Gram-positive bacterium isolated from soil: produces cellulases and xylanases
<i>Streptomyces ghanaensis</i> ATCC 14672	SSFG	8.22 (L)	10	A4: B6	02387, 02608, 03635, 04479	02394, 03587, 04216, 04217, 04765, 05266	aerobic, filamentous, nonmotile, high-GC Gram-positive bacterium, which produces moenomycin
<i>Streptomyces griseourantiacus</i> M045	SGM	7.71 (L)	10	A5: B5	0550, 6740, 1814, 3549, 4216	0325, 3502, 4547, 5988, 5989	isolated from marine sediment, produces manumycin and chinikomycin:
<i>Streptomyces griseodivus</i> Tu4000	SSRG	7.36 (L)	12	A4: B8	02182, 02879, 03203, 03961	01957, 03076, 03158, 03705, 03706, 04177, 04634, 04850	anaerobic, filamentous, nonmotile, free-living, gram-positive bacterium
<i>Streptomyces griseus</i> subsp. <i>griseus</i> NBRC 13350	SGR	8.55 (L)	10	A4: B6	2494, 3341, 3679, 4647	2203, 3726, 4232, 4340, 4934, 5621	anaerobic, filamentous, nonmotile, free-living, gram-positive bacterium: produces streptomycin
<i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>jinggangensis</i> 5008	SHJG	10.15 (L)	11	A5: B6	3853, 4373, 5171, 5432, 6136	3336, 4100, 4627, 4628, 5219, 6411	produces validamycin:
<i>Streptomyces lividans</i> TK24	SSPG	8.19 (L)	11	A3: B8	02649, 03751, 04641	02381, 03670, 03808, 03892, 04382, 04383, 04919, 05673	a gram-positive, filamentous, soil bacterium
<i>Streptomyces pristinaespiralis</i> ATCC 25486	SSDG	8.13 (L)	11	A3: B8	00591, 04208, 06322	02572, 02766, 03053, 06246, 06247, 07051, 07138, 07139	aerobic, filamentous, nonmotile, gram-negative, sporulating bacterium: produces pristinaamycin
<i>Streptomyces roseosporus</i> NRRL 11379	SROSN1	7.76 (L)	10	A4: B6	12023, 17747, 19666, 23998	05995, 09849, 13775, 14509, 17500, 25622	aerobic, filamentous, nonmotile, gram-positive bacterium
<i>Streptomyces scabies</i> 87.22	SCAB	10.15 (L)	11	A4: B7	33601, 41401, 56801, 64431	10101, 29591, 45551, 53611, 53621, 60051, 70631	aerobic, filamentous, nonmotile, sporulating bacterium: an important plant pathogen: produces phytotoxins called thaxtomins: pathogenicity island
<i>Streptomyces</i> sp. SirexAA-E	SACTE	7.41 (C)	11	A4: B7	2371, 3027, 3329, 4291	1307, 1519, 2029, 2618, 2701, 3283, 4532	aerobic, filamentous, nonmotile, sporulating free-living bacterium
<i>Streptomyces sviveus</i> ATCC 29083	SSEG	9.31 (L)	10	A4: B6	01073, 07525, 03439, 04164	00010, 00011, 00733, 01896, 09019, 09517	aerobic, filamentous, nonmotile, sporulating free-living bacterium
<i>Streptomyces venezuelae</i> ATCC 10712	SVEN	8.23 (L)	10	A4: B6	2646, 3350, 3677, 4705	1522, 1745, 2386, 2985, 3631, 4955	aerobic, filamentous, nonmotile, sporulating free-living bacterium: produces chloramphenicol,
<i>Streptomyces violaceusniger</i> Tu4113	STRVI	10.66 (C)	11	A5: B6	1350, 2314, 3845, 8252, 9005	0275, 1135, 3190, 7171, 7897, 7904	aerobic, filamentous, motile, sporulating, mesophilic, bacterium: produces spirofungin, antifungal agent
<i>Streptomyces viridochromogenes</i> DSM 40736	SSQG	8.55 (L)	11	A5: B6	02328, 02941, 03901, 04279, 05113	01781, 02628, 03242, 03243, 03958, 05348	aerobic, filamentous, nonmotile, sporulating bacterium:
<i>Streptomyces zinciresistens</i> K42	SZN	8.22 (L)	10	A4: B6	06389, 16730, 18682, 28493	02952, 10458, 13352, 17932, 18819, 22026	aerobic, filamentous, nonmotile, nonsporulating, halophilic bacterium: isolated from soil from a zinc and copper mine
<i>Streptosporangium roseum</i> DSM 43021	SROS	10.34 (C)	11	A4: B7	2902, 3010, 8177, 9363	0113, 1441, 1456, 2864, 3583, 4062, 7683	aerobic, filamentous, nonmotile, sporulating, mesophilic bacterium: produces angucycline, an inhibitor of the endohelmin converting enzyme
<i>Thermobifida fusca</i> YX	TFU	3.64 (C)	4	A2: B2	0570, 3097	1416, 2475	aerobic, rod-shaped, nonmotile, sporulating, moderate thermophilic soil bacterium: degrades organic material and cellulose: Farmer's lung, Mushroom worker's disease, Respiratory infection
<i>Thermobispora bispora</i> DSM 43833	TBIS	4.19 (C)	10	A4: B6	0195, 1426, 3106, 3566	0053, 0796, 1401, 1685, 1727, 2465	aerobic, filamentous, nonmotile, sporulating, thermophilic bacterium
<i>Thermomonospora curvata</i> DSM 43183	TCUR	5.64 (C)	8	A4: B4	1026, 1268, 4921, 4955	0065, 1542, 2932, 4002	an aerobic, cellulolytic, thermophilic Gram-positive bacterium: produces a number of industrially important compounds like cellulase, alpha-amylase, and polygalacturonate lyase
<i>Tropheryma whippelii</i> str. Twist	TWT	0.93 (C)	3	A1: B2	0705	0222, 0776	aerobic, rod-shaped, nonmotile, nonsporulating, mesophilic bacterium: deficient in amino acid metabolisms, the lack of clear thioredoxin and thioredoxin reductase: causes Whipple's disease:
<i>Tropheryma whippelii</i> TW08/27	TW	0.93 (C)	3	A1: B2	0722	0548, 0787	a gram-positive, filamentous, aerobic, soil dwelling actinomycete. It is the causative agent of the Whipple's disease
<i>Tsukamurella paurometabola</i> DSM 20162	TPAU	4.38 (C)	7	A2: B5	3939, 4192	0029, 0340, 1690, 2652, 3973	obligate aerobic, rod-shaped, nonmotile, nonsporulating, mesophilic bacterium: isolated from ovaries of Cimex lectularius: a human opportunistic pathogen

