

УДК: 575.224+577.21

КЛОНУВАННЯ ТА ГЕТЕРОЛОГІЧНА ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ О-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗ *STREPTOMYCES NOGALATER* ІМЕТ43360 ЗАДІЯНИХ У БІОСИНТЕЗІ НОГАЛАМІЦИНУ

Д.О. КЛИМИШИН¹, А.М. ЛУЖЕЦЬКИЙ², О.М. ГРОМИКО¹,
Л.Р. МУРАЩЕНКО¹, В.О. ФЕДОРЕНКО¹

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
Україна, 79005, Львів, вул. Грушевського, 4
e-mail: v_fedorenko@franko.lviv.ua

²Альберт-Людвіг університет
Німеччина, 72076, Фрайбург, вул. Стефана-Мейера

*Фрагменти кластера біосинтезу ногаламіцину, які включають гени метилтрансфераз *snogM* та *snogL* субклоновано у векторах *pKC1218EsnogM* та *pKC1218EsnogL*. Створені конструкції перенесено в штам-продуценти аранціаміцину та доксорубіцину. Аналіз сполук, що синтезуються штамом *S. echinatus pKC1218EsnogM* виявив нову сполуку жовтого кольору. Припускається, що це може відбуватися внаслідок експресії гена *snogM* і модифікації молекули аранціаміцину за рахунок активності його продукту.*

Ключові слова: Streptomyces nogalater, ногаламіцин, гетерологічна експресія, метилтрансферази.

Вступ. Основним об'єктом нашої роботи є штам *Streptomyces nogalater* ІМЕТ43360 – продуцент промислового протипухлинного антибіотика ногаламіцину (рис 1, а.). Ногаламіцин – антрацикліновий антибіотик, активний проти багатьох грам-позитивних бактерій, а також деяких видів пухлин [1]. Маючи високу активність щодо низки пухлинних ліній, а також низьку токсичність його похідні використовуються у хіміотерапії раку [1–3].

Незважаючи на високий інтерес до ногаламіцину та його похідних, штам *S. nogalater* є недостатньо вивченим генетично. Кластер генів біосинтезу ногаламіцину секвеновано і клоновано. Функції окремих генів передбачено на основі порівняння амінокислотних послідовностей продуктів цих генів з іншими відомими білками. Проте встановлення їхньої конкретної функцій не було встановлено [2,3].

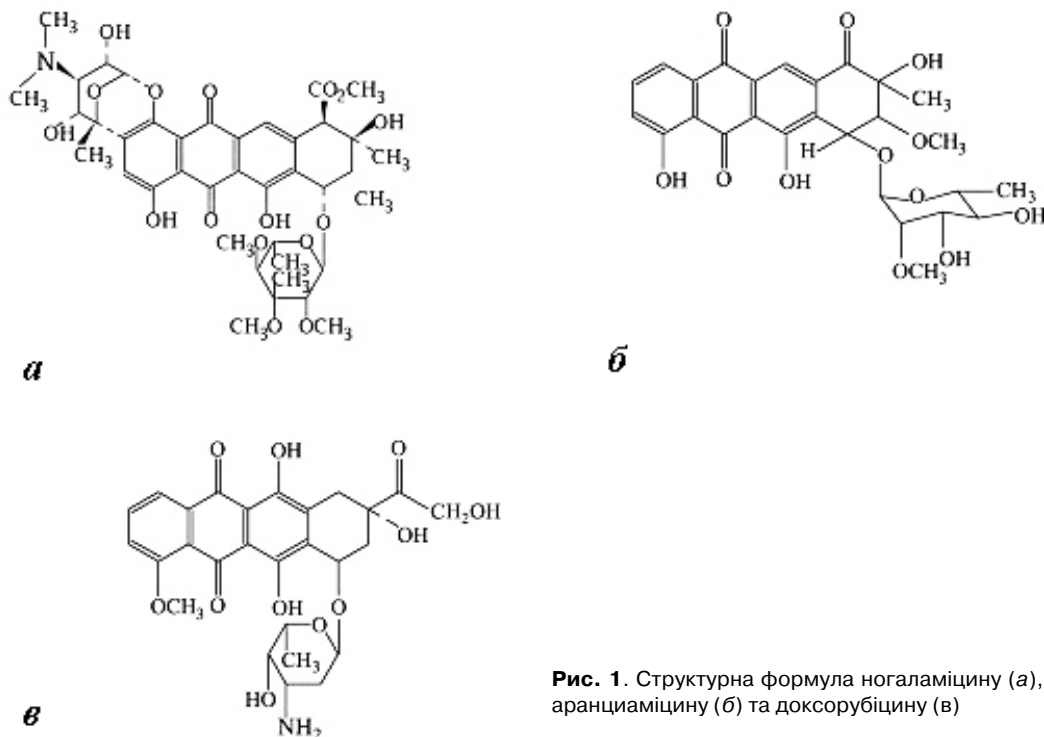


Рис. 1. Структурна формула ногаламіцину (а), аранціаміцину (б) та доксорубіцину (в)

У кластері генів біосинтезу ногаламіцину ідентифіковано три гени імовірних метилтрансфераз: *snogM*, *snogL* та *snogY*. Детальні функції продуктів цих генів у біосинтезі антибіотика є нез'ясованими [2,3]. Найближчі гомологи *snogM*, та *snogL* виявлено у кластерах генів біосинтезу авермектину та тилозину (а.к.з.). До складу білка *SnogM* входить 278 амінокислотних залишків і він є подібним до AveD, задіяного у 5-O-метилуванні авермектину, в той час як TylF – гомолог SnogL (273 а.к.з.), каталізує реакцію 3-O-метилування тилозину [3].

Нашим завданням було дослідити роль генів *snogM* та *snogL*, шляхом їхньої експресії в гетерологічних умовах. Увага до цих генів зумовлена тим, що саме активність метилтрансфераз, а також глікозилтрансфераз є ключо-

вою у визначенні біологічної дії різних антибіотиків. У гетерологічних умовах такі білки демонструють субстратну “гнучкість”, що зумовлює те, що різні полікетидні каркаси можуть сприйматися як субстрат [4].

Те, що ферменти біосинтезу деяких антрациклінів можуть каталізувати реакції метилування з використанням альтернативних субстратів, може бути успішно використаним для вивчення цих генів. Саме тому експресія генів у гетерологічних умовах є зручним підходом, як для вивчення функції окремих генів, так і для отримання нових сполук з потенційно вищими біологічними активностями.

У нашій роботі для експресії генів *snogM* та *snogL* було використано штамми *S. echinatus* DSM40730 та *S. peuce-tius peuce-tius subsp. caesius*, що є про-

дуцентами аранциаміцину (рис. 1, б) та доксорубіцину (рис. 1, в.) відповідно. Метою роботи є модифікація цих антибіотиків за рахунок експресії генів метилтрансфераз *S. nogalater* у вказаних штаммах, що дасть можливість отримати нові представники цього класу сполук з новими хімічними та біологічними властивостями, а також доповнеможе встановити характер метилування молекули ногаламіцину.

Матеріали і методи

У роботі використовували штам дикого типу *S. nogalater* IMET43360 (продуцент ногаламіцину), *S. echinatus* DSM40730 (продуцент аранциаміцину), *S. peucetius subsp. caesius* (продуцент доксорубіцину), *E. coli* DH5 α ? F-80d (*lacZM15recA1endA1gyrA96thi1(lacZYA-argF)u169*), *E. coli* ET12567 (*dam13::Tn9 dcm-6 hsdM*), що містить кон'югативну плазмиду pUB307 (канаміцин-резистентна похідна плазмиди RP1). Штами актиноміцетів *S. nogalater* IMET43360, *S. echinatus* DSM40730 та *S. peucetius subsp. caesius* зберігаються в колекції культур мікроорганізмів – продуцентів антибіотиків Львівського

національного університету імені Івана Франка. Використані в роботі плазмиди подано в табл. 1.

Штами актиноміцетів вирощували на вівсяному та кукурудзяному середовищах та в рідкому середовищі TSB при температурі 28°C; а *E. coli* та *Sarcina lutea* – на LA та LB при температурі 37°C [5].

Виділення препаратів сумарної та плазмідної ДНК, обробку ДНК ендонуклеазами рестрикції, T4-ДНК-полімеразою, T4-ДНК-лігазою, електрофоретичний аналіз ДНК, проводили за [5].

Трансформацію *E. coli* проводили згідно стандартної “кальцієвої” методики [5]. Кон'югацію *E. coli* – *Streptomyces* проводили за методикою Лужецького та ін. [6]. Антибіотичну активність штамів *S. echinatus* та *S. peucetius* вивчали методом дифузії в агар з використанням тест-культури *S. luteae*. Антибіотик екстрагували з рідкого середовища SG [5] хлороформом, розчиняли у метанолі і переносили на паперові диски. Диски накладали на середовище з тест-культурою. Індекс продуктивності (ІП) визначали як відношення діаметру зони при-

Таблиця 1. Плазмиди, використані в роботі

Плазміда	Характеристика	Джерело отримання
pKC1218E	реплікативний човниковий <i>E. coli</i> – <i>Streptomyces</i> вектор, з клонованим промотором <i>ErmEr</i> гена стійкості до еритроміцину <i>Saccharopolyspora erythraea</i>	Ф.Ломбо, ун-т м.Ов'єдо (Іспанія)
pKC1218EsnogM	похідна вектора pKC1218E, що містить ген <i>snogM</i> під контролем промотора гена стійкості до еритроміцину <i>ErmEr</i>	Отримана в роботі
pKC1218EsnogL	похідна вектора pKC1218E, що містить ген <i>snogL</i> під контролем промотора гена стійкості до еритроміцину <i>ErmEr</i>	—”—
pBluescriptsnoGM	pBluescript II KS/SK (+), з клонованим 2,1 тпн фрагментом хромосоми <i>S. nogalater</i> IMET43360	—”—
pBluescriptsnoGL	pBluescript II KS/SK (+), з клонованим 2,4 тпн фрагментом хромосоми <i>S. nogalater</i> IMET43360	—”—

гнічення росту тест-культури до діаметра диску з антибіотиком. Для аналізу продукції аранциаміцину штами *S. echinatus* вирощували в середовищі SG та проводили екстракцію антибіотика з культуральної рідини хлороформом. Екстракти випаровували до сухого стану і розчиняли у метанолі. Тонкошарову хроматографію проводили на селікагелевих пластинках Silufol, в системі розчинників хлороформ–метанол (9:1). Аналіз сполук, які продукуються штамми *S. peucetius* проводили згідно з [7]. Детекцію антибіотиків проводили у видимому та ультрафіолетовому світлі (λ 254 нм.).

Результати та обговорення

Для ампліфікації необхідних ділянок кластера генів біосинтезу ногаламіцину, що включають імовірні гени метилтрансфераз *snogM* та *snogL*, нами було використано метод полімеразної

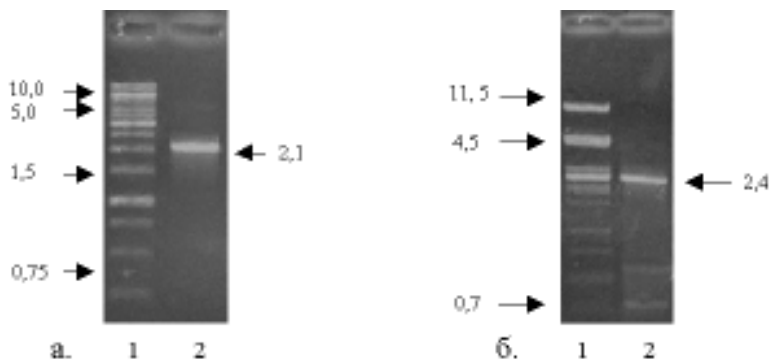
ланцюгової реакції. Як матрицю використовували сумарну ДНК, виділену з клітин *S. nogalater* IMET43360. Для створення праймерів з метою ампліфікації фрагментів хромосомної ДНК *S. nogalater* IMET43360, що включають гени метилтрансфераз, ми проаналізували нуклеотидну послідовність кластера генів біосинтезу ногаламіцину. Праймери підібрано таким чином, щоб вони фланкували ділянки ДНК, до складу яких входять досліджувані гени, а також містили невисокий Г-Ц склад для оптимізації умов проведення ПЛР (табл. 2.).

На рис. 2. наведено електрофореграми продуктів ПЛР з праймерів SnoMFI і SnoMRI (рис. 2, а.) та SnogMFII і SnogMRII (рис.2, б.). Розмір ампліфікованого фрагмента з використанням пари праймерів SnoMFI і SnoMRI становить 2,1 тпн, а з використанням пари SnogMFII і SnogMRII – 2,4 тпн, що

Таблиця 2. Характеристика праймерів використаних в роботі

Назва праймера	Послідовність праймера	Застосування
SnoMFI SnoMRI	5'-TCG TAG GTC ACC GGT GTC -3' 5'-GCG GCA CCG GAA GCT TAC-3'	ампліфікація 2,1 тпн фрагмента хромосоми <i>S. nogalater</i> , що містить ген <i>snogM</i>
SnogMFII SnogMRII	5'-ATC TGC GGA TCC TCG TAG-3' 5'-GAG CGG GAG AAG GTC TTC-3'	ампліфікація 2,4 тпн фрагмента хромосоми <i>S. nogalater</i> , що містить ген <i>snogL</i>

Рис. 2 а. 1 – 1 тпн ДНК маркери; 2 – електрофореграма продуктів ПЛР, отриманих з використанням пари праймерів SnoMFI та SnoMRI; **б.** 1 – PstI-фрагменти ДНК бактеріофага λ ; 2 – електрофореграма продуктів ПЛР, отриманих з використанням пари праймерів SnogMFII та SnogMRII. Розмір фрагментів вказано у тпн



збігається з ділянками хромосоми *S. nogalater* необхідними для клонування досліджуваних генів.

Отримані в ПЛР-реакції 2,1 тпн та 2,4 тпн ділянки хромосоми *S. nogalater* клоновано у вектор рBluescript KS/SK (+). Таким чином було отримано плазмиди рBluescripts*snogM* та рBluescript-*snogL*.

Як вектор для експресії генів *snogM* та *snogL* в клітинах *S. echinatus* DSM40730 та *S. peucetius subsp. caesius* було використано плазмиду рКC1218Е, що дає змогу здійснити перенесення клонованих генів шляхом кон'югації в системі *E. coli* – *Streptomyces*. Експресія клонованих в складі цього вектора генів відбувається з конститутивного промотора гена резистентності до еритроміцину *ErmEr* *Sacch. erythraea* [8].

З метою експресії гена ймовірної метилтрансферази *snogM*, плазмиду рBluescripts*snogM* розщеплювали ендонуклеазою рестрикції *SacI* та елюю-

вали фрагмент розміром 1,1 тпн після чого обробляли його Т4 ДНК-полімеразою. Вектор рКC1218Е обробляли ендонуклеазою рестрикції *EcoRV*, унікальний сайт якої міститься в кодуєчій ділянці гена β-галактозидази, та лігували з елюйованим фрагментом. Лігазною сумішшю трансформували штам *E. coli* DH5α та відбирали білі апраміцин-стійкі клони, плазмідну ДНК з яких аналізували рестрикційним картуванням. У результаті отримано плазмиду рКC1218Е*snogM* (рис. 3, а), що містить ген *snogM* під контролем конститутивного промотора *ErmEr*. Будову цієї плазмиди підтверджено рестрикційним аналізом (рис. 3, б). Після розщеплення плазмиди рКC1218Е*snogM* ендонуклеазами рестрикції *HindIII* та *EcoRI* відбувається її лінеаризація, про що свідчить утворення одного фрагмента розміром 7,1 тпн (рис. 3, б, доріжки 3, 5). Плазмиди рКC1218Е*snogM* містить два сайти впізнавання для ендонуклеази рестрикції *SacI*. Обробивши плаз-

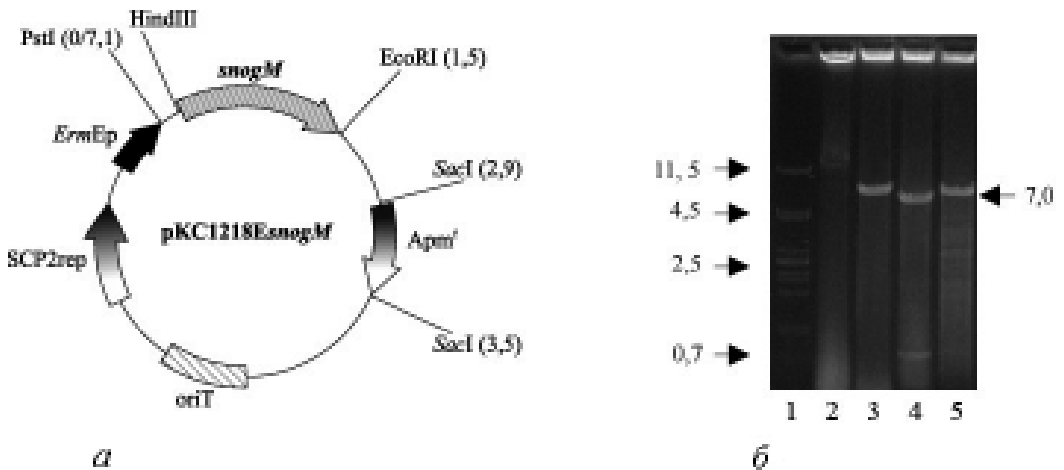


Рис. 3. а – Фізична карта плазмиди рКC1218Е*snogM*. *AprM'* – ген стійкості до апраміцину, *SCP2rep* – реплікон плазмиди *SCP2*. **б** – Електрофореграма фрагментів плазмиди рКC1218Е*snogM*: 1 – *PstI*-фрагменти ДНК бактеріофага λ; 2 – нативна плазмиди; 3 – рКC1218Е*snogM*, розщеплена ендонуклеазою рестрикції *HindIII*; 4 – рКC1218Е*snogM*, розщеплена ендонуклеазою рестрикції *SacI*; 5 – рКC1218Е*snogM*, розщеплена ендонуклеазою рестрикції *EcoRI*. Розмір фрагментів вказано у тпн

міду цією ендонуклеазою отримано два фрагменти розміром 7,4 тпн та 0,7 тпн (рис. 3, б, доріжка 4), що відповідає фізичній карті цієї плазміди.

Для побудови рекомбінантної плазміди рКC1218*EsnogL*, отриманий нами раніше вектор рBluescripts*snogL* обробили ендонуклеазами рестрикції HindIII та EcoRI. Елюйований фрагмент ДНК, розміром 1,5 тпн, що містить ген *snogL*, оброблено T4 ДНК-полімеразою. Вектор рКC1218Е обробляли ендонуклеазою рестрикції EcoRV та проводили лігування з елюйованим фрагментом 1,5 тпн. У результаті отримано плазмиду рКC1218*EsnogL* (рис. 4, а).

З результатів рестрикційного аналізу плазміди рКC1218*EsnogL* (рис.4, б) видно, що після обробки плазміди ендонуклеазою рестрикції SacI утворюється три фрагменти розміром 4,3 тпн, 2,5 тпн та 0,7 тпн (рис. 4, б, доріжка 2), що свідчить про наявність трьох сайтів впізнання для SacI, які знаходяться в отриманій плазміді. Сайти

впізнання для ендонуклеаз рестрикції EcoRI та PvuII в ній є унікальними. Лінеаризація рКC1218*EsnogL* цими ферментами дає змогу отримати фрагменти розміром 7,5 тпн (рис.4, б, доріжки 5, 6), що відповідає розміру цієї плазміди.

Отримані рекомбінантні плазміди переносили в штам *E. coli* ET12567 (рUB307). Цей штам несе плазмиду рUB307, яка містить гени *tra* плазміди RK2. Продукти цих генів забезпечують кон'югаційне перенесення корезидентних плазмід з *E. coli* в клітини широкого кола актиноміцетів [6, 8]. За допомогою кон'югації плазміди рКC1218*EsnogM* та рКC1218*EsnogL* перенесено з *E. coli* ET12567 у штам *S. echinatus* DSM40730. У результаті кон'югації одержано апраміцин-резистентні клони *S. echinatus* з частотою $4,0 \times 10^{-6}$. Аналогічно плазміди рКC1218*EsnogM* та рКC1218*EsnogL* перенесено у клітини штаму *S. peucetius subsp. caesius*. Частота от-

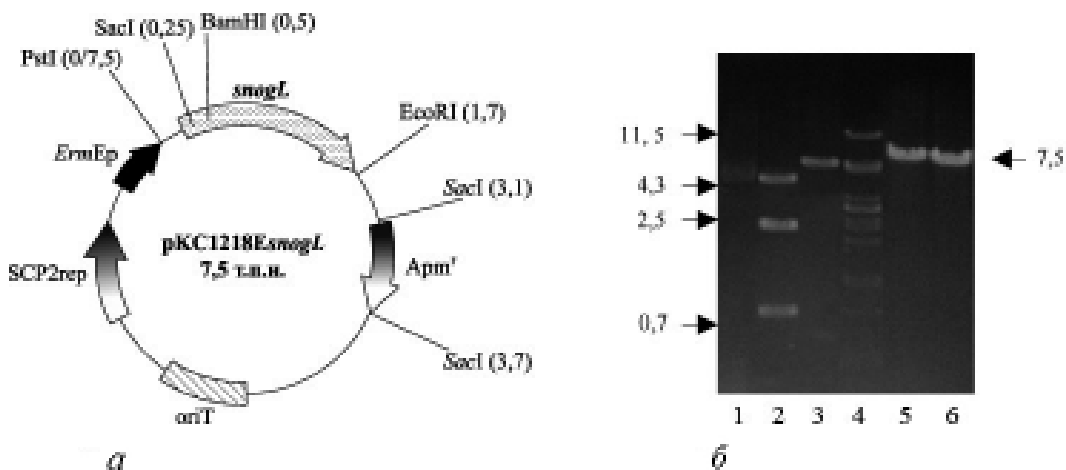


Рис. 4. а – Фізична карта плазміди рКC1218*EsnogL*; *Apm^r* – ген стійкості до апраміцину, SCP2rep – реплікон плазміди SCP2, б – Електрофореграма фрагментів плазміди рКC1218*EsnogL*: 1 – нативна плазміда; 2 – рКC1218*EsnogL*, розщеплена ендонуклеазою рестрикції SacI; 3 – рКC1218*EsnogL*, розщеплена ендонуклеазою рестрикції BamHI; 4 – PstI-фрагменти ДНК бактеріофага λ; 5 – рКC1218*EsnogL*, розщеплена ендонуклеазою рестрикції EcoRI; 6 – рКC1218*EsnogL*, розщеплена ендонуклеазою рестрикції PvuII. Розмір фрагментів вказано у тпн

римання екскон'югантів з цими плазмідами становила $3,2 \times 10^{-5}$. Наявність плазмід в отриманих штаммах було підтверджено шляхом трансформації клітин *E. coli* DH5 α сумарною ДНК штамів з подальшим картуванням виділених плазмід за допомогою рестриктаз.

Дослідження стабільності успадкування кон'югативних плазмід екскон'югантами показало, що фенотип *Apm^r*, який забезпечується плазмідами рКC1218*EsnogM* та рКC1218*EsnogL*, повністю втрачається екскон'югантами після трьох пересівів у рідкому середовищі TSB без апраміцину. Проте ці плазміди стабільно успадковуються за умов вирощування штамів екскон'югантів у присутності апраміцину у кінцевій концентрації 50 мкг/мл, стійкість до якого забезпечується зазначеними плазмідами.

Було проведено аналіз метаболітів отриманих штамів та вивчено вплив плазмід на рівень синтезу антибіотиків штамми *S. echinatus* та *S. peucetius*. У результаті порівняння індексів продуктивності (ІП) штамів *S. echinatus* рКC1218*EsnogM*, *S. echinatus* рКC1218*EsnogL* із вихідним штамом, ІП для якого становить 2,2, було встановлено, що рекомбінантні штамми не відрізняються від дикого типу за антибіотичною активністю.

Аналіз сполук, що синтезуються *S. echinatus* рКC1218*EsnogM*, методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) показав, що крім сполук, які синтезуються штамом дикого типу, утворюється нова сполука жовтого кольору (рис. 5). Ми припускаємо, що ця сполука з'являється внаслідок експресії гена *snogM*, клонованого у плазміді рКC1218*EsnogM* і модифікації молекули аранциаміцину за рахунок активності продукту цього гена. По-

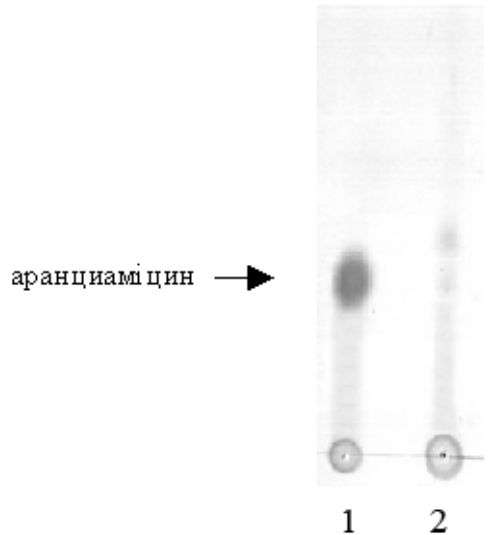


Рис. 5. Результати ТШХ екстрактів з штамів *S. echinatus* DSM40730 (1) та *S. echinatus* рКC1218*EsnogM* (2)

дібним чином було проаналізовано метаболіти штамів *S. echinatus*, що містять ген *snogL*, клонований у складі плазміді рКC1218*EsnogL*. При цьому ми не спостерігали продукції рекомбінантними штамми жодних нових сполук.

За допомогою ТШХ також проаналізовано метаболіти штамів *S. peucetius* рКC1218*EsnogM* та *S. peucetius* рКC1218*EsnogL*. Крім сполук, що синтезуються штамом дикого типу, в екстрактах *S. peucetius* рКC1218*EsnogM* та *S. peucetius* рКC1218*EsnogL* нових сполук виявлено не було.

Висновки

Клоновані гени *snogM* та *snogL* з кластеру генів біосинтезу ногаламіцину перенесено у штамми *S. echinatus* DSM40730 та *S. peucetius subsp. caesius*. Показано, що внаслідок експресії гена, імовірної метилтрансферази *snogM*, в клітинах *S. echinatus* DSM40730 спостерігається утворення

нової сполуки. Досліджено, що антибіотична активність отриманого штаму не відрізняється від антибіотичної активності дикого типу. Отриманий результат свідчить про те, що штам *S. echinatus* DSM40730 є перспективним господарем для гетерологічної експресії генів, задіяних у метилуванні цукрів ногаламіцину.

Перелік літератури

1. Li H., Krueger C. The biochemical pharmacology of nogalamycin and its derivatives // *Pharmac. Ther.* – 1991. – Vol.51. – P.239–255.
2. Torkkell S., Kunnari T., Palmu K., Mantala P., Hakala J., Ylihonko K. The entire nogalamycin biosynthetic gene cluster of *Streptomyces nogalater*: characterization of 20-kb DNA region and generation of hybrid structures // *Mol. Gen. Genet.* – 2001. – Vol. 266. – P. 276–288.
3. Ylihonko K., Tuikkanen J., Jussila S., Cong L., Mantala P. A gene cluster involved in nogalamycin biosynthesis from *Streptomyces nogalater*: sequence analysis and complementation of early-block mutations in the anthracycline pathway // *Mol. Gen. Genet.* – 1996. – Vol. 251. – P. 113–120.
4. Baltz RH. Genetic manipulation of antibiotic-producing *Streptomyces* // *Trends Microbiol.* – 1998. – Vol. 6. – P.76–83.
5. Федоренко В.О., Осташ Б.О., Гончар М.В., Ребець Ю.В. Великий практикум з генетики, генетичної інженерії та аналітичної біотехнології мікроорганізмів. – Л.: Видавн. центр ЛНУ імені Івана Франка, 2007. – 277 с.
6. Лужецкий А.Н., Осташ Б.Е., Федоренко В.А. Межродовая конъюгация *Escherichia coli*–*Streptomyces globisporus* 1912 с использованием интегративной плазмиды рSET152 и ее производных // *Генетика.* – 2001.- Т. 37, №10. – С.1340-1347.
7. Федоренко В.О., Дубицька Л.П. Конструювання штамів *Streptomyces subsp. caesius* з підвищеною здатністю перетворювати даунорубіцин в доксорубіцин // *Біополімери і клітина.* – 2002.– Т.18, №2. – С.91–94.
8. Mazodier Ph., Peffer R., Thompson Ch. Intergeneric conjugation between *Escherichia coli* and *Streptomyces* species // *J. Bacteriol.* – 1989. – Vol. 171. – P.75–83.
9. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual.* 2nd edition. – N.Y.: CSH Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1989. – 450 p.
10. Mendez C., Weithauer G., Bechtold A., Salas J.A. Structure alteration of polyketides by recombinant DNA technology in producer organisms – prospects for the generation of novel pharmaceutical drugs // *Cur.pharm. biotech.* – 2000. – Vol. 1. – P. 355–395.
11. Kieser T., Bibb M.J., Buttner M.J., Chater K.F. and Hopwood D.A. *Practical Streptomyces genetics.* Norwich, England: John Innes Foundation. – 2000. – 634 p.

Представлено Ф.І. Товкачем
Надійшла 14.05.2008

КЛОНИРОВАНИЕ И ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ О-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗ *STREPTOMYCES NOGALATER* ИМЕТ43360 УЧАСТВУЮЩИХ В БИОСИНТЕЗЕ НОГАЛАМИЦИНА

Д.А. Климишын¹, А.Н. Лужецкий²,
А.Н. Громико¹, Л.П. Муращенко¹,
В.А. Федоренко

Львовский национальный университет
имени Ивана Франко
ул. Грушевского 4, Львов 79005, Украина
e-mail: v_fedorenko@franko.lviv.ua
² Альберт-Людвиг университет
ул. Стефана-Мейера, Фрайбург, 72076,
Германия

Фрагменты кластера биосинтеза ногаламицина, включающие гены метилтрансфераз *snogM* и *snogL*. субклонированы в векторах *pKC1218EsnogM* и *pKC1218EsnogL*. Созданные конструкции перенесены в

штаммы-продуценты аранциамицина и доксорубицина. Анализ соединений, синтезируемых штаммом *S. echinatus* pKC1218EsnogM, обнаружил новое соединение желтого цвета. Предполагается, что его синтез происходит вследствие экспрессии гена *snogM* и модификации молекулы аранциамицина за счет активности продукта этого гена.

Ключевые слова: *Streptomyces nogalater*, ногаламицин, гетерологическая экспрессия, метилтрансферазы.

CLONING AND HETEROLOGICAL
EXPRESSION OF *STREPTOMYCES*
NOGALATER IMET43360 O-
METHYLTRANSFERASE GENES, INVOLVED
IN NOGALAMYCIN BIOSYNTHESIS

D.O. Klymyshyn¹, A.M. Luzhetsky²,
O.M. Gromyko¹, L.R. Myrashchenko¹,
V.O. Fedorenko¹

¹Ivan Franko National University of L'viv
Hrushevskyy str.4, L'viv, 79005, Ukraine
e-mail: v_fedorenko@franko.lviv.ua

²Albert-Ludwig University
Stephan-Meyers str., Freiburg 72076,
Germany

The *snogM* and *snogL* genes were subcloned from nogalamycin biosynthesis cluster. A set of plasmid constructions, caring *snoM* and *snoL* fragments, were used for heterological gene expression in the *S. echinatus* and *S. peucetius* strains. These vectors were transferred into aranciamycin and doxorubicin producers using bacterial conjugation. It was found that *S. echinatus* pKC1218EsnogM strain produced a novel compound. This fact is a result of the aranciamycin molecule modification by the expression of *snogM* gene in *S. echinatus*.

Key words: *Streptomyces nogalater*, nogalamycin, heterological expression, methyltransferases.