



令和 5 年 11 月 10 日



アゾキシアルケン化合物生産菌から新規ヒドラジドアルケン化合物を単離 ～窒素・窒素結合形成酵素の基質認識多様性～

論文掲載

【本研究成果のポイント】

- 以前、我々は放線菌 *Streptomyces rochei* の三重遺伝子変異株 KA57 株がアゾキシアルケン化合物 KA57A を生産することを見だし、ゲノムマイニングによる「休眠」二次代謝の覚醒に成功しました。今回も新規化合物の獲得を目指し、本株の微量代謝産物の解析を行ったところ、2つの新規ヒドラジド化合物 KA57D1, KA57D2 の蓄積を見だしました。
- 両化合物の構造解析を行ったところ、いずれも新規ヒドラジドアルケン化合物であり、KA57D1 は (Z)-N-acetyl-N'-(hex-1-en-1-yl)isobutylhydrazide、KA57D2 は (Z)-N-acetyl-N'-(hex-1-en-1-yl)-2-methylbutanehydrazide と決定しました。
- KA57A、KA57D1、KA57D2 はいずれも異なるアミノ酸を出発原料としていることから、本菌で見いだされた窒素・窒素結合形成酵素は、染料、抗菌剤、化学合成原料など新たな窒素・窒素含有化合物の「ものづくり」に利用できます。

【概要】

広島大学大学院統合生命科学研究科（旧 大学院先端物質科学研究科）・広島大学健康長寿研究拠点の荒川賢治准教授の研究グループは、東邦大学薬学部の安齊洋次郎博士・福本敦博士の研究グループとの共同研究により、放線菌 *Streptomyces rochei* 7434AN4 株の三重遺伝子変異株 (KA57 株) からアゾキシアルケン化合物 KA57A に加え、吸収極大の異なる2つの UV 活性化化合物 KA57D1、KA57D2 の蓄積を見だしました。

KA57D1 は、分子式 $C_{12}H_{22}N_2O_2$ をもつ新規ヒドラジドアルケン化合物 (Z)-N-acetyl-N'-(hex-1-en-1-yl)isobutylhydrazide、
KA57D2 は、分子式 $C_{13}H_{24}N_2O_2$ をもつ新規ヒドラジドアルケン化合物 (Z)-N-acetyl-N'-(hex-1-en-1-yl)-2-methylbutanehydrazide と決定しました。

KA57A、KA57D1、KA57D2 の α 位窒素 (N_α) の起源がいずれも異なり(セリン、バリン、イソロイシン)、窒素・窒素結合形成酵素の基質認識が寛容であることが強く示唆されました。このことより、本酵素が様々なアミノ酸などの窒素含有化合物を結合させることが期待でき、新たな窒素・窒素含有化合物の創成が期待できます。

本研究成果は、2023 年 8 月 25 日にアメリカ化学会の学術誌「Journal of Natural Products」に掲載され、当該号の表紙に採用されました。

- 掲載雑誌：Journal of Natural Products
 - URL：https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jnatprod.3c00476
 - DOI：10.1021/acs.jnatprod.3c00476
 - 論文題目：Isolation of hydrazide-alkenes with different amino-acid origins from an azoxy-alkene-producing mutant of *Streptomyces rochei* 7434AN4
 - 著者名：田中悠^{1,2}，長野遥^{1,2}，岡野芽衣^{1,2}，岸本拓也³，達川綾香³，國武博文³，福本敦⁴，安齊洋次郎⁴，荒川賢治^{1,2,3*}
- 1：広島大学大学院統合生命科学研究科
2：広島大学健康長寿研究拠点
3：広島大学大学院先端物質科学研究科（現 大学院統合生命科学研究科）
4：東邦大学薬学部
*：責任著者

【背景】

微生物は、抗生物質、抗がん剤、免疫抑制剤など顕著な生理活性を有する天然有機化合物を生産してきており、我々人類の健康長寿に多大な貢献をしてくれています。微生物の中でも「放線菌」とよばれる原核生物は、今までに見出された微生物由来の12,000種類を超える抗生物質の約7割を生産していると言われており、さらに2015年ノーベル生理学医学賞を受賞された北里大学・大村 智先生が開発された抗寄生虫薬エバーメクチンも放線菌由来の化合物です。以前、我々は放線菌 *Streptomyces rochei* の三重遺伝子変異株 KA57 株がアゾキシアルケン化合物 KA57A を生産することを報告しましたが、今回、本株の微量代謝産物の解析を行い、2つの新規ヒドラジド化合物を単離しました。

【研究成果の内容】

KA57 株を培養したところ、アゾキシアルケン化合物 KA57A に加え、2つのUV活性化合物が検出できました。これら(KA57D1、KA57D2 と命名)の極大吸収波長は218 nmであり、KA57A が236 nmであったことを考慮すると、KA57A と異なる分子団を持つことが示唆されました。KA57D1 は分子式 $C_{12}H_{22}N_2O_2$ であり、二次元 NMR による構造解析を行ったところ、新規ヒドラジドアルケン化合物 (Z)-N-acetyl-N'-(hex-1-en-1-yl)isobutylhydrazide と決定しました。一方、KA57D2 は分子式 $C_{13}H_{24}N_2O_2$ であり、新規ヒドラジドアルケン化合物 (Z)-N-acetyl-N'-(hex-1-en-1-yl)-2-methylbutanehydrazide と決定しました。KA57D1、KA57D2 の生合成起源を明らかにするために、同位体標識化合物の取り込み実験を行ったところ、KA57D1 のβ位窒素(Nβ)の起源はグルタミン酸、イソブチルアミド基はバリン由来であること、KA57D2 の2-メチルブタンアミド基はイソロイシン由来であることを立証しました。KA57A、KA57D1、KA57D2 はいずれも窒素・窒素結合を有しており、KA57A、KA57D1、KA57D2 のα位窒素(Nα)の起源(セリン、バリン、イソロイシン)がいずれも異なる点を考慮すると、窒素・窒素結合形成酵素の基質認識が寛容であることが強く示唆されました。

【今後の展開】

本成果により、本菌の窒素・窒素結合形成酵素は少なくとも3つのアミノ酸を認識可能であることが分かりました。本酵素がこれら以外のアミノ酸を認識することで、新たな窒素・窒素含有化合物の創成が期待できます。

【参考資料】

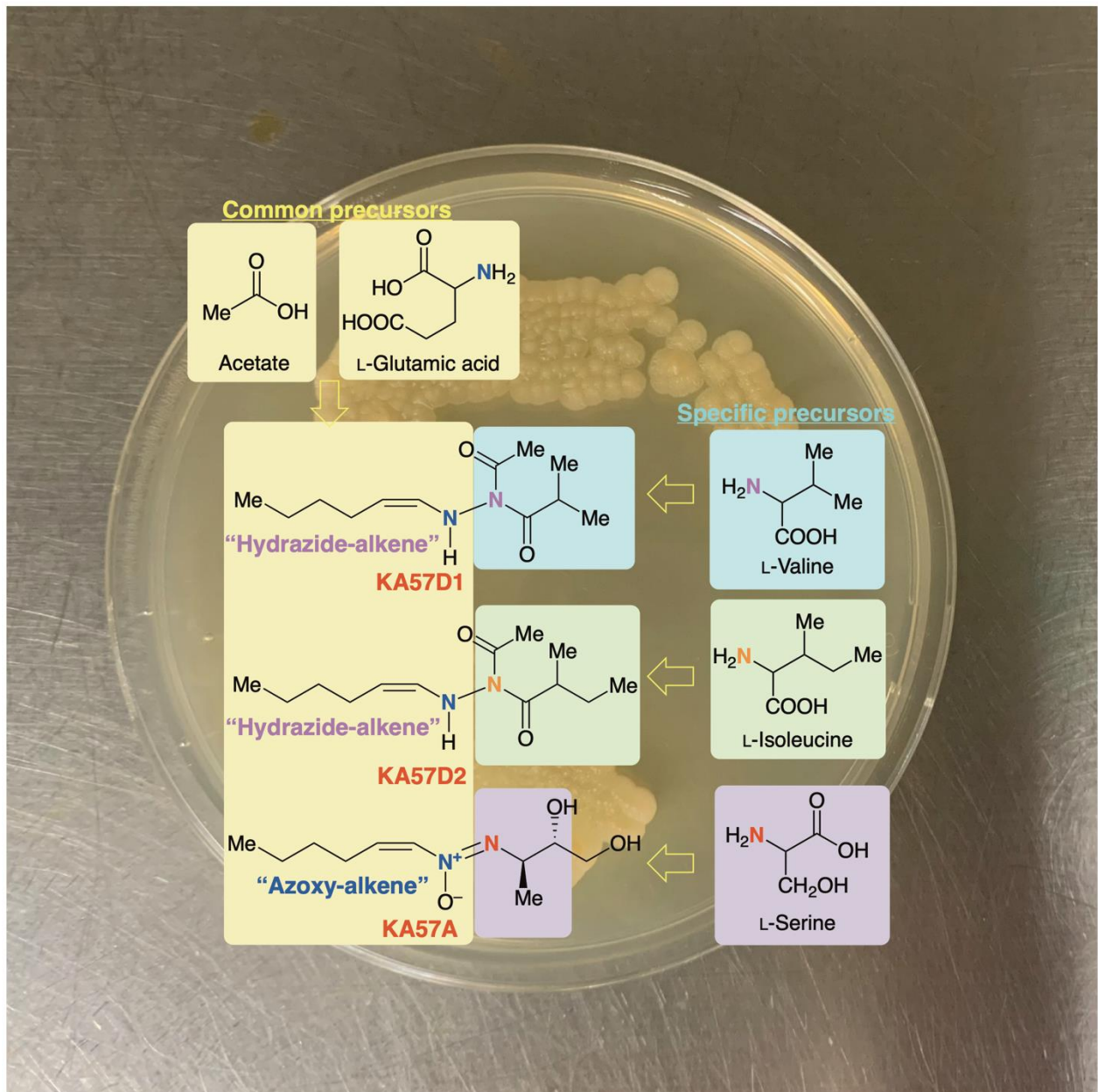


図 放線菌 *Streptomyces rochei* KA57 株の寒天上ででの生育およびアゾキシアルケン化合物 KA57A、ヒドラジドアルケン化合物 KA57D1、KA57D2 の生合成起源

【用語説明】

・放線菌 抗生物質・抗がん剤など我々の健康長寿に役立つ生理活性物質（二次代謝産物ともいう）を生産する微生物の総称。

・二次代謝産物 生物の成育・分化・増殖に必要な化合物群は一次代謝産物（タンパク質、糖、脂質など）と呼ばれるのに対し、生育には必須ではないが個々の生物に特徴的な生産物として認められる化合物群のことを指す。色素、抗生物質などが知られており、他生物からの防御物質として機能していると言われている。

・ゲノムマイニング 生物の遺伝情報には数多くの二次代謝産物生合成遺伝子が存在する(例えば放線菌では1株あたり30種類以上の二次代謝産物遺伝子を有している)が、通常の生育では僅か数種類の物質生産しか認められず、八割以上は「休眠状態」にある。その「休眠状態」の遺伝子を覚醒化し、新規かつ顕著な生理活性を有する二次代謝産物を獲得する試みのことをゲノムマイニングとよぶ。

・アゾキシアルケン化合物 アゾキシ結合($N=N^+-O^-$)を分子内に有する化合物群の総称。とくに二重結合と共役した化合物をアゾキシアルケン化合物とよぶ。

・ヒドラジドアルケン化合物 窒素・窒素単結合をもった化合物のうち、二重結合を隣接窒素官能基に有する化合物を示す。本菌はアゾキシアルケン化合物とヒドラジドアルケン化合物の両者を生産しており、窒素・窒素結合形成酵素の基質認識多様性が示唆される。

【お問い合わせ先】

<研究に関すること>

大学院統合生命科学研究科 准教授 荒川賢治

Tel : 082-424-7767

E-mail : karakawa@hiroshima-u.ac.jp

<報道に関すること>

広島大学 広報室

Tel : 082-424-6762

Email : koho@office.hiroshima-u.ac.jp



発信枚数：A4版 4枚（本票含む）