

[生物工学会誌 第73巻 第6号 503-511. 1995]

 総 合 論 文

微生物炭酸固定の多様性とその利用

(平成6年度 日本生物工学会生物工学賞受賞)

児 玉 徹

東京大学大学院農学生命科学研究科
〒113 東京都文京区弥生1-1-1Diversity of Microbial Carbon Dioxide Fixation and Its Utilization
—Monograph—TOHRU KODAMA (*Department of Biotechnology, Division of Agriculture and Agricultural Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113*) *Seibutsu-kogaku* 73: 503-511, 1995.

There are many species of autotrophs on the earth, including plants, archea and eubacteria, which fix carbon dioxide *via* various different pathways and produce abundant amount of organic compounds supporting the lives of heterotrophic organisms. This article deals with the variety of autotrophic organisms and the diversity of carbon dioxide fixation pathways by those autotrophs. Many species of novel microorganisms were isolated, chemolithoautotrophic bacteria using gaseous hydrogen as an energy source and cyanobacteria under thermophilic condition. One of them, an extremely thermophilic hydrogen bacterium, was first proved to function a new fixation pathway, reductive TCA cycle, as an aerobic bacterium. The key enzymes of Calvin cycle, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) from both a marine hydrogen bacterium and a thermophilic cyanobacterium were revealed to have characteristic features, L₂ form and thermostable RubisCO, respectively. The possibility of utilizing the ability of microorganisms to fix carbon dioxide, rapid production of organic materials and a tool for improving the RubisCO genes of plants, is also discussed.

[**Key words:** microbial CO₂ fixation, RubisCO, hydrogen bacteria, thermophiles, reductive TCA cycle]

は じ め に

炭酸ガスの存在は生物と切っても切れない関係にある。われわれを含めた従属栄養生物は、有機化合物を代謝しエネルギーを得た結果として炭酸ガスを排出し、他方、独立栄養生物は種の保存のために炭酸ガスを炭素源として生育増殖すると同時に、呼吸による炭酸ガスの排出も行っている。独立栄養生物の種は多岐にわたり、高等植物から原核微生物まで幅広く存在するが、それに伴って炭酸固定様式も多様である。

ところで、われわれの生活を豊かにしている発酵・醸造プロセスは現在に至るまでほとんどすべて従属栄養微生物の作用によって行われており、用いられる基

質は当然、独立栄養生物によってつくられた炭酸固定産物である。筆者は約25年前に発酵基質として炭酸ガスを利用できないか、また独立栄養生物の炭酸固定能力を向上させることができないか、という発想のもとに炭酸固定の研究を始めた。ところが、研究を行っている間に大気圏中の炭酸ガス濃度の著しい増加が、地球温暖化などの環境問題として注目を集めるようになった。しかし、本研究は上述のように、炭酸ガス問題を環境問題としてよりむしろ資源問題としてとらえて始められたものである。¹⁾ 研究の流れとしては、まず独立栄養生物や生物的炭酸固定経路についての従来の知見をまとめ、それを基礎としていろいろな観点から微生物による炭酸固定について追求した。その結果、

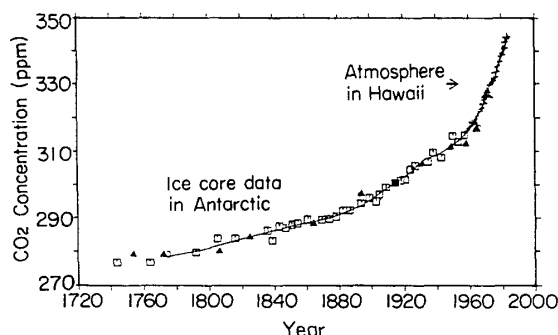


Fig. 1. Changes in concentration of CO_2 in atmosphere. (EPA, 1989)

種々の新規炭酸固定微生物を自然界から発見，それらのもつ炭酸固定経路の多様性にメスを入れて新たな経路の存在を提唱し，さらに微生物のもつすぐれた炭酸固定機能を資源・環境問題の解決のために利用する可能性についても検討し，それらをこの小文にまとめた。

1. 資源・環境問題と生物的炭酸固定

最近における大気中の炭酸ガス濃度の増加は著しく，すでに 350 ppm を超える状態になり，その増加速度も年率 1.5% を上回るようになっている。その状況は Fig. 1 に示すとおりで，最近約 30 年間に於けるその上昇率がきわめて顕著であるが，その主因が過去に生成された有機物である化石燃料の過剰消費にあることは間違いなく，それによって排出される炭素重量基準で年間約 60 億トンにおよぶ炭酸ガスのほぼ半分が毎年大気圏に蓄積しつつあるといわれている。大気中の炭酸ガス量が増すということは当然のことながら，炭酸ガスからの有機物合成量よりも，有機物が分解されて炭酸ガスになる量の方が多いということである。地球上における炭酸ガスの有機化は，上述のように主として独立栄養生物の行う炭酸同化作用によるものと考えられ，炭酸同化能力のない従属栄養生物は独立栄養生物のつくる生産物に完全に依存して生きている。生物界における炭素とエネルギーの流れを生物の種類との関係を含めて表したものが Fig. 2 である。炭酸固定を行う独立栄養生物のうち，明らかに量的に多く中心的役割を担っているのは言うまでもなく植物であり，現在直面している資源・環境・エネルギー問題の多くは根本的には植物の炭酸固定量の増加によって解決されると思われる。しかし一方，従来はほとんど注目されていなかったが，地球上のさまざまな環境，特に植物の生育し得ないような特殊環境や光の届かない環境下で，いろいろな種類の微生物が炭酸固定を行っ

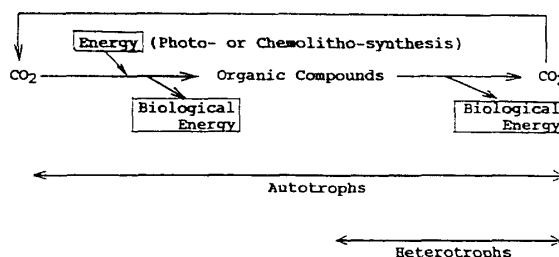


Fig. 2. Carbon and energy flow in biological world.

ていることが次第に明らかになってきている。これらの微生物が行う炭酸固定総量については今のところ明らかなデータはないが，地球の生態系全体としてみれば決して無視できない量であるはずである。微生物の中には生育速度，ひいては炭酸固定速度が植物とは比較にならない桁違いの速さを示すものもしばしば発見され，さらに極限環境における微生物の炭酸固定方式には，いわゆる植物型のカルビンサイクルとはまったく異なる方式があることも知られてきており，そのような量的，質的な特長を生かした利用法も考えられてよいであろう。

2. 種々の炭酸固定生物とその固定経路

炭酸固定能力をもつ生物として知られるものは，植物などの高等生物から原始的な細菌まできわめて多岐にわたっている。これらの炭酸固定生物（独立栄養生物）は，炭酸同化のためにエネルギー源を必要とするが，それを太陽光から得るか無機物質の酸化反応から得るかによって，光独立栄養生物と化学独立栄養生物に分けられる。Table 1 に挙げたように，前者には高等植物のほかラン藻類や光合成細菌など多彩な生物群が含まれる一方，後者はすべて細菌に限られているものの，そのエネルギー源となるものは水素，還元型イオウ化合物，二価鉄，アンモニア，亜硝酸，一酸化炭素など多種類にわたっている。われわれに身近な常温かつ好気的な環境では，ほとんどの炭酸固定は光独立栄養生物によって行われているが，たとえば太陽光の届かない深海底の熱水噴出域などの特殊環境では，むしろ還元型イオウ化合物や水素などをエネルギーとして利用する化学独立栄養生物の方が一次生産者の主役となって有機物を供給する生態系が成り立っていると考えられている。

地球上でもっとも普遍的と考えられる炭酸固定経路は，現在のところすべての植物が行っていると考えられている，いわゆるカルビンサイクル，別名，還元型ベン

Table 1. Various autotrophs.

	Energy	Aerobic/Anaerobic	Organism
Eukaryotes	Phototroph	Aerobic	Plant Green algae Brown algae
Archaeobacteria	Chemolithotroph	Anaerobic	Methanogen Acetogen
		Aerobic	Thermophilic, acidophilic, sulfur-oxidizer
Bacteria	Phototroph	Aerobic	Blue-green algae
		Anaerobic	Photosynthetic bacteria
	Chemolithotroph	Aerobic	Hydrogen bacteria Sulfur-oxidizer Iron bacteria Ammonia-oxidizer Nitrite-oxidizer Manganese-oxidizer

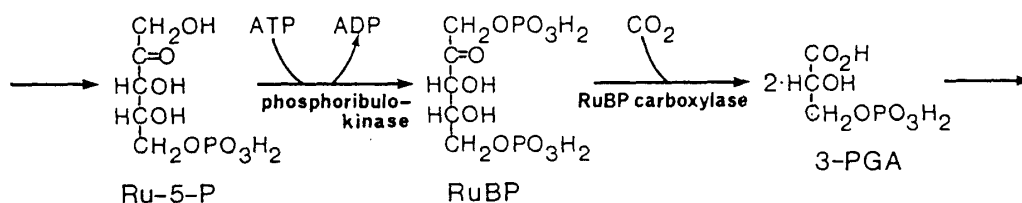
トースリン酸回路である。植物以外にもラン藻や多くの光合成細菌ならびに化学合成細菌、特に酸素の存在する好気的環境下ではほとんどの場合この経路が働いている。一方、嫌気的条件下や高温、強酸性などの特殊な環境下で生育する微生物においては、別の経路が働いていることが明らかにされつつあり、さまざまないわゆる非カルビンサイクル型炭酸固定が存在することが判明してきた。現在までに提唱されている経路をまとめたものが Table 2 であるが、表に見られるようにいまだに解明に至っていないものも残されている。以下にそれらのさまざまな炭酸固定経路のうちの主要なものの特徴とその経路をもつ微生物の生育環境との関連性について述べてみたい。

まずカルビンサイクルであるが、これは糖質の代謝

を利用している点で、有機酸の代謝を利用している他のすべての非カルビンサイクル型炭酸固定と異なっており、それが最大の特徴となっている。その全容は複雑でもあり、すでに多くの成書に挙げられてもいるので、ここでは炭酸固定に関わる中心部分のみを Fig. 3 に示す。Fig. 3 に見られる2つの鍵酵素、ホスホリブロキナーゼとリブローズ-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ・オキシゲナーゼ (Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase/Oxygenase, 以下 RubisCO と略称) 以外のすべての酵素活性は、従属栄養生物にも一般的に存在する糖代謝関連酵素活性である。この経路で用いられる還元力は、通常の糖代謝で容易に得られる NAD(P)H であり、それがほとんどすべての好気性独立栄養生物でこの経路が働いている最大の理由である

Table 2. Diversity of CO₂ fixation pathways in biological world.

	Eubacteria	Cyanobacteria	Archaea	Eukarya
Anaerobes	Mesophiles Calvin Reductive TCA Acetogens Acetyl CoA <i>Chloroflexus</i> (70°C) Malonyl-CoA	—	Methanogens Acetyl-CoA <i>Thermoproteus</i> (80°C) Reductive TCA	—
Aerobes	Mesophiles Calvin <i>Pseudomonas</i> (52°C) Calvin <i>Hydrogenobacter</i> (70°C) Reductive TCA	Mesophiles Calvin <i>Chroococcidiopsis</i> (50°C) Calvin <i>Synechococcus</i> (65°C) Calvin	Halophiles (RubisCO?) <i>Sulfolobus</i> (70°C) Malonyl-CoA?	Calvin

Fig. 3. Central part of CO_2 fixation by Calvin cycle.

う。

この経路は大変複雑で、しかも一周りして1モルの炭酸ガスを固定するために実に多くの酵素活性を必要とすることと、炭酸固定を実際に行う酵素 RubisCO の効率があまり高くないことが問題点である。それゆえ、炭酸固定に必要な代謝系だけを改変して固定効率を上げを試みることは容易でなく、また RubisCO は地球上で単一のタンパク質としてはもっとも多量に存在するといわれている²⁾にもかかわらず、その活性が炭酸固定反応全体の律速因子となっている。さらに RubisCO は2つの相対する反応、すなわち carboxylation と oxygenation を行うので、その反応比 (specificity) を carboxylation 側に傾けることも重要である。すなわちすぐれた RubisCO を得るには、活性そのものだけでなく specificity も高くしなければならない。幸い RubisCO の三次元構造はすでに明らかにされている³⁾ので、今後は部位特異的変異など遺伝学的手法により炭酸固定反応効率の高い RubisCO をもった独立栄養生物、特に植物の育種が可能になると期待される。

非カルビンサイクル型の炭酸固定としては、嫌気性光合成細菌に属する緑色イオウ細菌の一種 *Chlorobium limicola* で存在が示唆され、⁴⁾後述の好熱好気性化学合成細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* での詳細な研究により存在が確認された Fig. 4 に示すような還元的 TCA 回路がその一つである。^{5,6)}この回路は、好気的な生物

の酸化エネルギー獲得経路として知られる TCA 回路を逆回転させて炭酸固定を行っている点に特徴がある。

この回路では、1つの C-4 の有機酸を起点として考えると、回路を一周する間に炭酸ガスが4分子固定されて、C-4 有機酸が2つになる。回路全体も比較的単純なので効率的な炭酸固定が行われていると見ることもできる。

メタン生産菌は炭酸ガスをメタンに還元してエネルギーを得ているが、それらの菌の生育するきわめて嫌気度の高い環境下では、アセチル CoA 経路とよばれる炭酸固定経路が働いていることが知られている。^{7,8)}この経路は Fig. 5 に示すように上記の2経路と異なり、回路を形成せず、炭酸ガス2分子から酢酸 (アセチル CoA) 1分子を一方通行で生成する点に特徴がある。このことは、この経路を利用して炭酸ガスから有機酸など一種類の有機化合物を生産する目的のためには有利な面となるであろう。

これらの他にも、まだ確定するには至っていないが、好熱性の光合成細菌⁹⁾や好酸性のイオウ酸化古細菌などの特殊環境微生物において、有機酸代謝を基礎にした非カルビンサイクル型の炭酸固定経路が存在することが示唆されている。

ちなみに独立栄養生物の進化系統樹と、おのおのの生物で働いている炭酸固定経路との関係を調べてみると、好気性の光合成生物では例外なくカルビンサイク

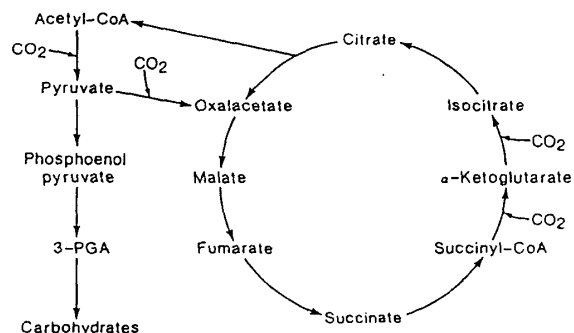
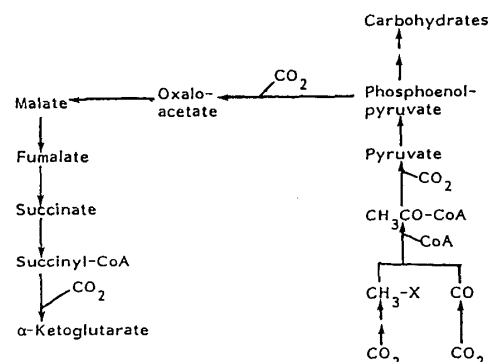
Fig. 4. CO_2 fixation by reductive TCA cycle in *Hydrogenobacter thermophilus*.

Fig. 5. Acetyl CoA pathway in methanogens.

ルが働いているが、おおよその傾向として、好熱性の化学合成細菌や古細菌では還元的 TCA サイクルあるいはアセチル CoA 経路、嫌気性の中温古細菌では大体アセチル CoA 経路が働いているようである。

3. 各種環境からの新たな炭酸固定微生物の分離

われわれは上述のような独立栄養生物のうち、極限環境でも炭酸固定しつつ生育可能な微生物に着目して高温、高塩濃度、酸性、アルカリ性などさまざまな環境からの新たな炭酸固定微生物の分離を試みた。化学合成微生物については、種々のエネルギー源を用いて生育速度を比較した結果、水素酸化細菌がもっとも材料として適していることを見だし、高温性、高度好熱性、好塩性、好アルカリ性あるいは海洋性などの種々の性質をもつ水素酸化細菌を探索し、一方、光独立栄養微生物については高温性のラン藻に焦点を当てた。

水素酸化細菌に関しては、われわれの研究開始時には7属23種程度が知られていたが、いろいろな条件であらためてスクリーニングを行ったところ多数の菌株

が取得できた。同様に、世界各地でも新たな発見が相次ぎ、現在では Table 3 に示したように18属33種以上の多様な性質をもつ菌株が報告されている。

われわれが分離した特徴的な4菌株の主要な性質をまとめたものが Table 4 である。これらのうち2株は従来まったく知られていなかった種類の菌で、一方は高度好熱性 (*Hydrogenobacter*)^{10,11)} 他方は中温性 (*Hydrogenovibrio*)^{12,13)} であるが、いずれも絶対化学独立栄養性という性質をもっており、水素酸化細菌はすべて独立栄養性と従属栄養性を合わせ持つ、というそれまでの常識を覆し、ともに新属として世界的に認められた。また本発見を契機として、以後世界の各地から相次いで *Hydrogenobacter* 属菌が発見されている。さらに他にも表にあるように、安定して生育する炭酸固定生物としては植物を含めた地球上のあらゆる生物の中でもっとも生育速度が速いと思われる *Pseudomonas hydrogenothermophila*^{14,15)} や、炭酸ガスを固定して培地中に多量の有機化合物(菌体外粘性多糖)を分泌することが初めて見いだされた *Pseudomonas hydrogenovora*^{16,17)} など、多くの新種の炭酸固定微生物を発見した。

Table 3. Various hydrogen-oxidizing bacteria.

Strain	Gram stain	Motility	N ₂ Fixation	Growth temp.	Strain	Gram stain	Motility	N ₂ Fixation	Growth temp.
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	—	+	—	M	<i>Mycobacterium gordonae</i>	—	+	—	M
<i>hydrogenophilus ruhlandii</i>	—	+	—	M	<i>Nocardia autotrophica opaca</i>	+	—	—	M
<i>latus paradoxus</i>	—	+	+	M	<i>Paracoccus denitrificans</i>	+	—	—	M
<i>Aquaspirillum autotrophicum</i>	—	V	—	M	<i>Pseudomonas facilis</i>	—	+	—	M
<i>Arthrobacter</i> sp.	+	—	—	M	<i>flava</i>	—	+	—	M
<i>Azospirillum lipoferum</i>	—	+	+	M	<i>pseudoflava</i>	—	+	—	M
<i>Bacillus schlegelii</i>	+	+	—	ET	<i>hydrogenovora</i>	—	+	—	M
<i>tusciae</i>	+	+	—	T	<i>hydrogenothermophila</i>	—	+	—	T
<i>Calderobacterium hydrogenophilum</i>	—	—	—	ET	<i>palleronii</i>	—	+	—	M
<i>Derxia gummosa</i>	—	+	+	M	<i>thermophila</i>	—	+	?	T
<i>Flavobacterium autothermophilum</i>	—	—	—	T	<i>saccharophila</i>	—	+	—	M
<i>Hydrogenobacter thermophilus</i>	—	—	—	ET	<i>Renobacter vacuolatum</i>	—	—	+	M
<i>Hydrogenovibrio marinus</i>	—	+	—	M	<i>Rhizobium japonicum</i>	—	+	+	M
<i>Microcyclus aquaticus</i>	—	—	+	M	<i>Xanthobacter autotrophicus flavus</i>	—	—	+	M
<i>ebruneus</i>	—	—	+	M					

M, mesophile (30–37°C); T, thermophile (around 50°C); ET, extreme thermophile (around 70°C).

Table 4. Characteristics of hydrogen bacteria isolated by the authors.

Strain	<i>Pseudomonas hydrogenovora</i> sp. nov.	<i>Hydrogenovibrio marinus</i> gen. nov. sp. nov.	<i>Pseudomonas hydrogenothermophila</i> sp. nov.	<i>Hydrogenobacter thermophilus</i> gen. nov. sp. nov.
Size	1.0 μ × 2–3 μ	0.2–0.5 μ × 1–2 μ	0.5–0.6 μ × 2–3 μ	0.2–0.3 μ × 2–3 μ
Shape	rods	comma-shaped rods	rods	straight rods
Motility	motile with polar flagella	motile with a polar flagellum	motile with a polar flagellum	non-motile
Gram-stain	negative	negative	negative	negative
GC content	62.3–62.5 mol%	44.1 mol%	63.5 mol%	42.4–42.9 mol%
Opt. temp.	30°C	37°C	52°C	70–75°C
$\mu_{\max}$	0.18 h ⁻¹	0.67 h ⁻¹	0.73 h ⁻¹	0.38 h ⁻¹
Growth substrate	CO ₂ , Sugars Organic acids	CO ₂ only	CO ₂ , Organic acids	CO ₂ only

光合成生物については、ほとんど純粋分離が行われていない高温性ラン藻のスクリーニングを試みた結果、50～60°C でよく生育する2菌株の Cyanobacteria を単離することができた。^{18,19)} そのうち特に *Synechococcus* 属菌と同定された a-1 株の RubisCO は、現在までに精製された同種酵素としては至適温度および熱安定性が高く、¹⁸⁾ クローン化され塩基配列も決定されており、大腸菌を宿主としてまったく同じタンパクとして高発現することが明らかになった。²⁰⁾ さらに最近、前述の高温性水素細菌 *P. hydrogenothermophila* の RubisCO についてもやはり熱安定性が確認された。²¹⁾

4. 新規炭酸固定経路の解明とカルビンサイクル鍵酵素の相互比較

種々の環境下で新たに分離された多種にわたる炭酸固定微生物について、それらがどのような経路で炭酸ガスの固定を行い、有機物の第一次生産者としての役割を果たしているのかについて検討した。その結果、植物界で例外なく働いているカルビンサイクルによる固定系は、これら微生物の多くにも存在しているが、炭酸固定に関わる鍵酵素である RubisCO の構造と性質には菌株間で差があること、そればかりではなく、特にいわゆる特殊環境においては、カルビンサイクルとはまったく異なる経路が存在していることを見だし、前述のごとく好気性微生物として初めての知見であるが、好熱性の *Hydrogenobacter* 属菌における炭酸固定経路として“還元的 TCA サイクル”が働いていることを新たに提唱した。^{5,6)} この経路が解明されたのは、この代謝サイクルにおいて重要な分岐路に存在しているクエン酸が、合成されるのか分解されるのかを

決める酵素が精製されたためである。すなわち、クエン酸分解酵素 ATP : citrate lyase が精製され、その位置の反応の平衡が極端に分解側に傾いていることが明らかになり経路全体が確認された。²²⁾ また、この経路においてサイクルがうまく逆回転するためには、少なくとも2個所で強い還元力が必要とされる。同様の炭酸固定経路をもつ嫌気性菌の *C. limicola* の場合には還元型フェレドキシンがその役割を果たしているが、好気性菌である *H. thermophilus* でも同じくフェレドキシン様物質が関わっていることが最近ほぼ明らかになってきた。

好酸性イオウ酸化古細菌 *Acidianus (Sulfolobus) brierleyi* の炭酸固定経路についてはいまだ定説がなく、還元的 TCA 回路とする説もあるが、われわれが調べた限りでは、当該菌にはカルビンサイクルの鍵酵素である RubisCO およびアセチル CoA 経路の鍵酵素である一酸化炭素デヒドロゲナーゼはもとより、還元的 TCA 回路の鍵酵素である ATP : citrate lyase 活性も検出されず、それらのいずれの経路でもないことが明らかになった。現在研究を進めているが、嫌気性光合成細菌に属する緑色非イオウ細菌の一種 *Chloroflexus aurantiacus* で提唱されている Malonyl-CoA 経路²³⁾ に類似の経路である可能性が高いと考えている。

つぎに、普遍的な炭酸固定経路であるカルビンサイクルが、植物の生育し得ない 50～60°C に適温をもつ高温性水素細菌ならびに高温性ラン藻でも機能していることに着目し、前述のようにそれらの菌の RubisCO を精製する^{18,21)} とともに、DNA およびアミノ酸配列を植物由来のものと比較した。^{20,24)} その結果、生育適温の異なる生物間では RubisCO の性質にも差が

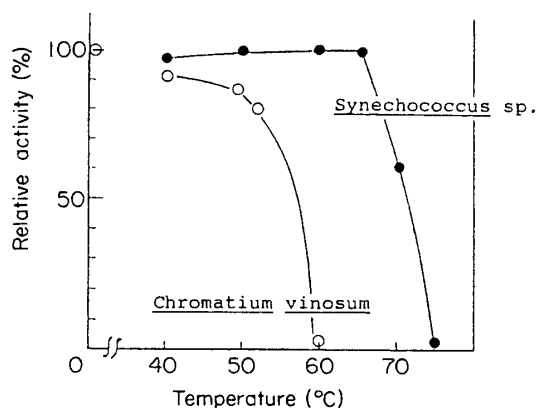


Fig. 6. Thermal stability of RubisCO purified from *Synechococcus a-1*.

あり、生育温度に対応して至適反応温度が高くなることが分かったが、それらの配列にはかなりの相同性があることも明らかになった。熱に対する安定性を示す一つの例として、高温性ラン藻である *Synechococcus a-1* 株からの精製 RubisCO を比較的高温耐性とされている *Chromatium vinosum* の RubisCO と比較したものを Fig. 6 に示した。これらの RubisCO は微生物由来、植物由来ともに大サブユニット、小サブユニットおのの8個からなる16量体 (Form I, L_8S_8 型) であるため分子量がかなり大きく (約550,000)、それらの構造と高温耐性ないし好高温性との相関を明らかにすることは容易ではないが、今後その関係についての研究は進むと期待され、基礎となる知見を少しでも増やすべく努力しているところである。

一方、いろいろの分離菌の RubisCO について検討しているうちに、光合成細菌の一部でしか知られていなかった大サブユニット2個のみからなる新しいタイプの RubisCO (Form II, L_2 型) が上記の *Hydrogenovibrio marinus* から化学独立栄養細菌としては初めて発見された。^{25,26)} RubisCO の進化系統樹では、化学独立栄養細菌は原始的なタイプである L_2 型から進化した L_8S_8 型が発生した後に現れたという説が有力であるが、この菌の発見はこの説を覆すものである。しかもその後さらに、この菌は3種の RubisCO 遺伝子 (L_2 型1種と L_8S_8 型2種) をもっていることも明らかになった。従来2種類の RubisCO をもつ菌株は知られていたが3種類ももっているものは知られていない。これらの遺伝子はすべてクローン化され塩基配列が明らかになっているが、3種の大サブユニット間の相同性はあまり高くなく、Form II のものが光合成細菌である *Rhodospirillum rubrum* の Form II 大サブユニット

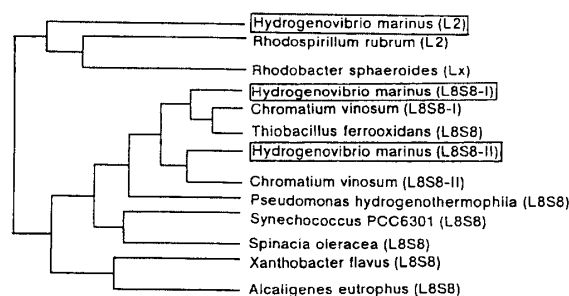


Fig. 7. Phylogenetic tree of RubisCO large subunits.

と似ていただけでなく、Form I のものもお互い同士よりもむしろ光合成細菌である *C. vinosum* の2種の Form I 大サブユニットとそれぞれ相同性が高いという不思議な結果が得られた (Fig. 7)。このほか、いまだ自然条件下で機能しているか否かは明確でないが、高度好塩菌にも RubisCO が存在していることが確実になり、それらが高塩濃度下で活性が高いことも明らかになった。上のようなさまざまな環境下で働く RubisCO について得られる多くの知見をもとにして、植物の炭酸固定機能を改善することが可能になると期待しているところである。

5. 微生物炭酸固定の利用

地球上の炭酸固定量と固定産物の重要性から考えれば、植物の果たす役割が大きいことは疑いないところであるが、ここでは地球環境上重大な問題となりつつある廃棄炭酸ガスの処理および再資源化という観点に立って生物的炭酸固定の利用をまとめたものを Table 5 に示した。すなわち、微生物のもつ高い炭酸固定能力を利用するとすれば、炭酸ガスからの積極的な有機物生産と、植物と共通の鍵酵素 RubisCO についての知見を利用した上述のような植物炭酸固定機能の向上が候補としてあがってくる。すでに述べたように後者はまだ基礎研究の段階にあると言わざるを得ないが、前者については炭酸ガスを発生サイトで利用することが可能なので期待がもてる。目的有機物として、この表ではタンパクのような大量生産を目指すものだけでなく、付加価値の高いファインケミカルズまで挙げている。具体的に生産物として手っ取り早く得られそうなものはむしろファインケミカルズなどの方であろうが、資源・環境問題を第一義として考えるならば大量に生産、消費されるものを重視すべきであろう。

このように考えてくると、光エネルギーなり、化学エネルギーを用いて効率よく炭酸ガスを固定・有機化

Table 5. Utilization of biological carbon dioxide fixation.

Plant	Agriculture (Foods, Feeds, Energy) Forestry
Giant kelp	Biomass (Feeds, Fertilizer, Energy)
Blue-green algae	Microbial cells
Bacteria	Cell components and metabolites Single Cell Protein (SCP) (Phototroph, Hydrogen bacteria) Hydrocarbons and lipids (Phototroph) Extracellular polysaccharide (Hydrogen bacteria) Redox or electron transport substance Pigment Quinone, Cytochrome Enzymes and coenzymes Hydrogenase Nitrogenase Vitamin B ₁₂ Chemicals Methane Formic acid Acetic acid

する微生物の選択が重要となる。現段階では、筆者は前者では光合成微細藻類、後者では水素酸化細菌がもっとも有望であると考え、それらを用いていくつかの有機化の試みを行った。まず、微細藻類については、菌体などの生産を目的にして、約3時間ごとに分裂を繰り返す前述の高温性ラン藻がすでに得られており、¹⁶⁾ この種の微生物は生育の速い点、雑菌汚染の危険性が少ない点、光照射による昇温をあまり気にする必要のない点などの利点をもっている。残念ながら、現状では生物側よりむしろ光エネルギー供給による大量培養装置の開発が十分でないために生育律速となっているが、光合成微生物の利用については、炭酸固定以外にも水素発生などの大型プロジェクトが進められており、近い将来に光ファイバーなどを用いた効率の良い光利用反応槽の開発が期待できる。一方、水素酸化細菌については前記の約1時間で細胞分裂が可能な高温性菌 *P. hydrogenothermophila* を用いて菌体タンパクの生産を試みた。その結果、水素・酸素・炭酸ガスからなるガス状基質と同時に培地をも連続的に供給する連続培養法を採用して、ガス状基質で得られた値としてはきわめて高い 3 g/l・h 以上の生産性が得られることを明らかにした。また、新種の中温性水素細菌 *P. hydrogenovora* を用いて菌体外に粘性ヘテロ多糖類を蓄積させること、¹⁷⁾ ならびに海洋性中温水素細菌 *Hydrogenovibrio marinus* を用いて菌体内にグリコーゲン様多糖を著量蓄積させることにも成功した。²⁷⁾ これらの水素酸化細菌の炭酸固定能はきわめてすぐれているが、

その利用という観点からの最大の問題は、光エネルギーの場合と同じようにエネルギー源としての水素を、炭酸ガスの副生を伴わない形でかつ安価にいかにか得るかという点である。水からの低コストの水素の供給が切望されるところである。なお、ファインケミカルズではあるが、高度好熱性水素細菌 *H. thermophilus* の菌体成分として耐熱性の高い特異なチトクロム *c* が発見され、この場合には同じタンパクの従属栄養微生物での生成も可能となったので、まったく新しい電子伝達体としての利用について展望が開けつつあることを付記しておきたい。

以上述べてきたことのくり返しになるが、地球上でもっとも豊富で再利用の容易な炭素資源は炭酸ガスであるが、それを産業として有機化しているのは現状ではほとんど農業、林業などの植物の営みを利用したもののみである。微生物の機能を利用した炭酸固定を産業として成り立たせることは容易でないが、それを経済的に可能なものとするか否かは、世界的に対処が迫られている炭酸ガスの排出規制の強化と、増加しつつある大気圏の炭酸ガスの処理コストを経済的にどう評価するかにかかっているであろう。

本研究はきわめて多くの方々のご指示とご協力によって行われました。特に、炭酸ガスが究極の炭素資源であることをご示唆いただき、研究を支援して下さった恩師、東京大学名誉教授故山田浩一先生、ご懇篤なご指導をいただいた東京大学名誉教授故養田泰治先生に謹んで謝意を表します。また、五十嵐泰夫博士（現助教）をはじめとする東京大学農学部農芸化学科微生物利用学研究室のきわめて有能な多数の研究者のご協力とご努力によって成し得たもので、ここに共同研究者の皆様にご心から感謝いたします。

文 献

- 1) 五十嵐泰夫, 児玉 徹: 微生物, **6**, 525-534 (1989).
- 2) Mizioroko, H. M. and Lorimer, G. H.: *Ann. Rev. Biochem.*, **52**, 507-535 (1983).
- 3) Andersson, I., Knight, S., Schneider, G., Lindqvist, T., Branden, C.-I., and Lorimer, G. H.: *Nature*, **337**, 229-234 (1989).
- 4) Evans, M. C. W., Buchanan, B. B., and Arnon, D. I. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **55**, 928-934 (1968).
- 5) Shiba, H., Kawasumi, T., Igarashi, Y., Kodama, T., and Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2809-2813 (1984).
- 6) Shiba, H., Kawasumi, T., Igarashi, Y., Kodama, T., and Minoda, Y.: *Arch. Microbiol.*, **141**, 198-203 (1985).
- 7) Holder, U., Schmidt, D. E., Stupperich, E., and Fuchs, G.: *Arch. Microbiol.*, **141**, 229-228 (1985).
- 8) Wood, H. G., Ragsdale, S. W., and Pezacka, E.: *FEMS Microbiol. Reviews*, **39**, 345-362 (1986).
- 9) Holo, H.: *Arch. Microbiol.*, **151**, 252-256 (1989).
- 10) Kawasumi, T., Igarashi, Y., Kodama, T., and Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 1985-1986 (1980).
- 11) Kawasumi, T., Igarashi, Y., Kodama, T., and Minoda, Y.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **34**, 5-10 (1984).
- 12) Nishihara, H., Igarashi, Y., and Kodama, T.: *Arch. Microbiol.*, **152**, 39-43 (1991).
- 13) Nishihara, H., Igarashi, Y., and Kodama, T.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **41**, 130-133 (1991).
- 14) Goto, E., Kodama, T., and Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 685-690 (1977).
- 15) Goto, E., Kodama, T., and Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1305-1308 (1978).
- 16) Igarashi, Y., Kodama, T., and Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 1277-1281 (1980).
- 17) Nguyen, B.-T., Kodama, T., and Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 2925-2930 (1980).
- 18) Yaguchi, T., Chung, S.-Y., Igarashi, Y., and Kodama, T.: *J. Ferment. Bioeng.*, **73**, 348-351 (1992).
- 19) Hayashi, N. R., Peerapornpisal, Y., Nishihara, H., Ishii, M., Igarashi, Y., and Kodama, T.: *J. Ferment. Bioeng.*, **78**, 179-181 (1994).
- 20) Yaguchi, T., Chung, S.-Y., Igarashi, Y., and Kodama, T.: *J. Ferment. Bioeng.*, **75**, 1-8 (1993).
- 21) Chung, S.-Y., Yokoyama, K., Gomi, M., Teamroong, N., Ishii, M., Igarashi, Y., and Kodama, T.: *J. Ferment. Bioeng.*, **78**, 469-471 (1994).
- 22) Ishii, M., Igarashi, Y., and Kodama, T.: *J. Bacteriol.*, **171**, 1788-1792 (1989).
- 23) Strauss, G.: *Eur. J. Biochem.*, **205**, 853-866 (1992).
- 24) Yokoyama, K., Hayashi, N. R., Arai, H., Chung, S.-Y., Igarashi, Y., and Kodama, T.: *Gene*, **153**, 75-79 (1995).
- 25) Chung, S.-Y., Yaguchi, T., Nishihara, H., Igarashi, Y., and Kodama, T.: *FEMS Microbiol. Letters*, **109**, 49-54 (1993).
- 26) Yaguchi, T., Chung, S.-Y., Igarashi, Y., and Kodama, T.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1733-1737 (1994).
- 27) Nishihara, H., Igarashi, Y., Kodama, T., and Nakajima, T.: *J. Ferment. Bioeng.*, **75**, 414-416 (1991).