

e-バイオ的視点から独立栄養的代謝を斬る

石井 正治

はじめに～e-バイオ (Electron-oriented Biotechnology for Energy and Ecology) ～

生物工学会会員諸氏のうち、少なからぬ方々がe-バイオなる言葉を耳にしたことがあるかもしれない。京都大学 加納氏、京都大学 小川氏、宮崎大学 林氏、電力中央研究所 松本氏、そして東京大学 石井による造語である。

生物のエネルギー代謝の中核ともいえる電子（水素）の流れに着目し、電子（水素）の生物（群）への注入、生物（群）中の流れの制御、生物（群）からの引き抜きなどにより、炭素循環をベースとした有用物質生産に資するまったく新たな反応場の創生を目指す、という理念をこの言葉に載せてもいる。

本稿では、2012年10月26日に行われたシンポジウムでの発表を基に記述を進めていく。独立栄養生物の代謝を基盤に書き進めるつもりではあるが、考えそのものは広く生物に応用可能なのでは？ と密かに自負している。

e-バイオの対象としての独立栄養生物

地球上のすべての生物は、生物学的エネルギーを代謝的に生産し、かつ生産されたエネルギーの消費を伴いながら炭素を基盤した代謝を進めている。e-バイオの理念を発展させると、エネルギー生産と炭素基盤代謝とを分けて考えることができるような生物を対象とすると話しが分かりやすくなっていく。では、そのような生物がいるのかとなると、独立栄養生物がまさにそのような生物種として浮かび上がってくる。

独立栄養生物は、光エネルギーの利用や無機化合物の酸化により、炭素代謝とはまったく無関係に、還元力（NAD(P)Hや還元型フェレドキシンなど）や生物学的エネルギー（ATPなど）を獲得できる。加えて独立栄養生物は、こうして得られた還元力や生物学的エネルギーを用いて、二酸化炭素ガスだけを用いて細胞を構成しているすべての炭素成分を生合成できる。

e-バイオの実際（独立栄養生物にあてはめる）

エネルギー生産と消費とを分けて考えるようにすると、独立栄養的代謝のe-バイオ的斬り方も自然に見えてくる。なお、以下の項では、独立栄養生物の内、化学独立栄養生物に焦点を絞って記載を進めていく。

まず、エネルギー生産系について。

独立栄養的代謝においては、基質レベルのリン酸化による生物エネルギーの生産はほとんどなされておらず、主としてプロトンの電気化学ポテンシャル差に基づいたATP生成が主要なものとなっている。換言すれば、エネルギー基質（水素、硫黄化合物、アンモニアなど）を酸化する時に、単位基質あたりどれだけのプロトンを排出できるかでエネルギー生産性が決まってくるようになる。そこで、まず知悉すべきは、電子伝達系を中心としたエネルギー基質酸化系とそれに伴うプロトン排出能についてであろう。電子伝達系が分岐したものであれば、個々の系のプロトン排出能にも違いが見られる可能性が高く、それ故、工学的手法に基づき高性能な電子伝達系だけを残すことも研究対象となってこよう。

一方では、既存の系の改良ではなく、新規エネルギー代謝系を導入する、という方向性を持った研究も当然出てくる。現在可能と思われる方向性は以下の2点であろう。

- (1) 他のエネルギー代謝系を機能的に発現させ、宿主に新たなエネルギー獲得機能を付与する。
- (2) エレクトロンバイファーケーションを戦略的、包括的に研究し、エネルギー的uphill反応を自在に制御できるようにする。

(1) に関しては、進め方は明らかであろう。要は、化学独立栄養生物が有するエネルギー代謝能力（水素酸化能、硫黄化合物酸化能、アンモニア酸化能）を、本来そうした基質を酸化する能力を持たない生物種で機能的に発現させ、エネルギー代謝能力を向上させれば良い訳である。なお、この考え方は独立栄養生物に他の独立栄養

生物のエネルギー代謝能力を入れ込むという場合でも、従属栄養生物に独立栄養生物のエネルギー代謝能力を入れ込む場合でも、どちらでも成立する。

(2) エレクトロンバイファーケーションとは、直訳すれば電子の分岐である。一般的には、同じエネルギー準位を有した2個の電子が関わる反応において、一方が他方のエネルギーを吸い取るような恰好で電子の有するエネルギー自体の不均化が生じているような反応である¹⁾。たとえば、シトクロム *bc₁* コМПレックスで生じている還元型キノン依存のシトクロム *b* の還元と鉄硫黄タンパク質の還元は、エレクトロンバイファーケーションの古典的例として知られているし、最近の例では、水素ガス依存のフェレドキシン還元、フラビン化合物が関与しながらエレクトロンバイファーケーションが生じている例が報告されている(図1)²⁾。

こうした事柄を背景に、筆者は2電子が1電子ずつ関与する反応に関して、エレクトロンバイファーケーションが生じるか否かの検証を含めた、戦略的かつ包括的な研究が重要であろうと考えている。エレクトロンバイファーケーションが生じるためには、電子供与体は少なくとも2電子を放出できる(=2電子還元を受ける)必要があり、電子受容体は1電子還元を受ける必要がある。2電子還元が可能な電子供与体としては、キノン類そしてフラビン類に限られてくる。キノン類が電子伝達系の構成要素として細胞膜などでも機能していることを考えると、エレクトロンバイファーケーション能力を有するフラビン酵素類の電子授受反応を精査することが重要であろうことに落ち着いてくる。なかでも、個々の電子授受におけるフラビンの立体的配置の変化と伝達される電子の放出方向の変化には興味を持たれる。フラビンからの電子授受はタンパク質の殻を纏ったFe-Sクラスターなどの補欠分子族が関与している。そのため、高エネルギーを有する電子は、酸化還元電位の低いタンパク質の還元に関与しており、低エネルギーを有する電子は酸化還元電位の高いタンパク質の還元に関与している。エレクトロンバイファーケーションにおいて、二つの電子受容体が電子を受け取る部位は異なっている筈なので、これは裏を返せば、1電子ごとの電子の放出方向が異なっていることを意味している。こうした事柄をきっかけとして、エレクトロンバイファーケーションの理解が進み、さらにその工学的利用の道筋が見えてくること

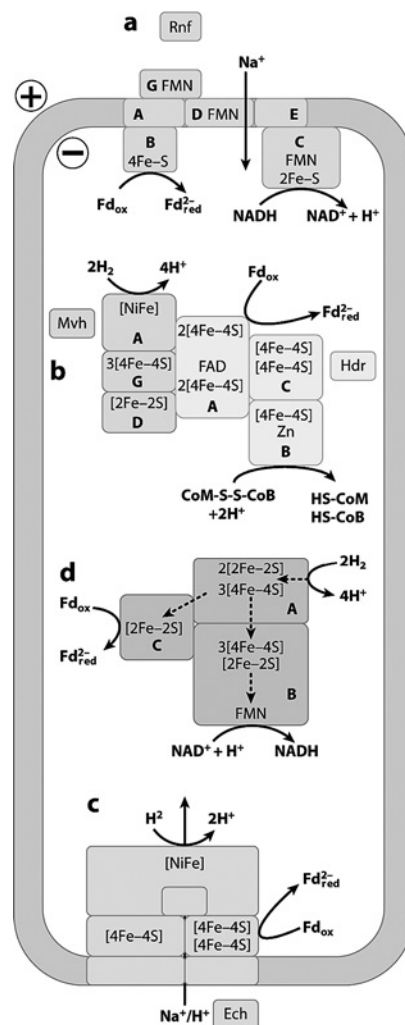


図1. NADHあるいは水素依存のフェレドキシン還元²⁾. a: Rnf (*Rhodospirillum rubrum* Nitrogen fixation) 複合体における、NADHによるフェレドキシン還元、b: メタン生成菌における、可溶性 [Ni-Fe] 型ヒドロゲナーゼとヘテロジスルフィドレダクターゼによるフェレドキシン還元 (エレクトロンバイファーケーションが関与している)、c: メタン生成菌他の嫌気性菌における、膜結合型ヒドロゲナーゼならびにイオン透過にリンクしたフェレドキシン還元、d: 可溶性 [Fe-Fe] 型ヒドロゲナーゼ反応によるフェレドキシン還元 (実験的には示されていない)。

を強く期待したい。

次いで、エネルギー消費系について。

独立栄養生物を対象とした時、もっとも主要なエネルギー消費系とは二酸化炭素ガス固定系であろう。さらに言えば、二酸化炭素ガス固定酵素そのものが、代謝的に重要であろうことには大きな問題はないと考える。

現在、独立栄養的二酸化炭素ガス固定系としては、以下の6種類が知られている。

特 集

- (1) カルビン-ベンソンサイクル
- (2) アセチル-CoA 経路
- (3) 還元的TCAサイクル
- (4) ジカルボン酸-4-ヒドロキシ酪酸サイクル
- (5) 3-ヒドロキシプロピオン酸-4-ヒドロキシ酪酸サイクル
- (6) 3-ヒドロキシプロピオン酸バイサイクル

(1) は高等植物で機能している点で、(2) は2分子の二酸化炭素ガスからメチル基とカルボニル基を合成し、その後それらを CoA と付加させることでアセチル-CoA を生合成する、という説明で概ね理解できよう。なお、

(2) の経路中には二酸化炭素ガスを還元する酵素は存在するが、二酸化炭素ガスを固定する酵素は存在していないことも特徴と言えよう。さて、残りの4種類の経路は有機酸代謝を基盤としたものであり、アセチル-CoA とスクシニル-CoA をそれぞれ図の上端と下端に置くように描くと、図2ようになる³⁾。それぞれの二酸化炭素ガス固定経路が半分ずつをシェアしているような恰好で描けることに、進化生化学的意味合いがどの程度在るのかは今のところ不明ではあるが、興味を持たれる。

二酸化炭素ガス固定酵素を概観してみると、酵素内のアミノ酸で活性中心をうまく形成しているか(カルビン-ベンソンサイクル内の RubisCO とホスホエノールピル

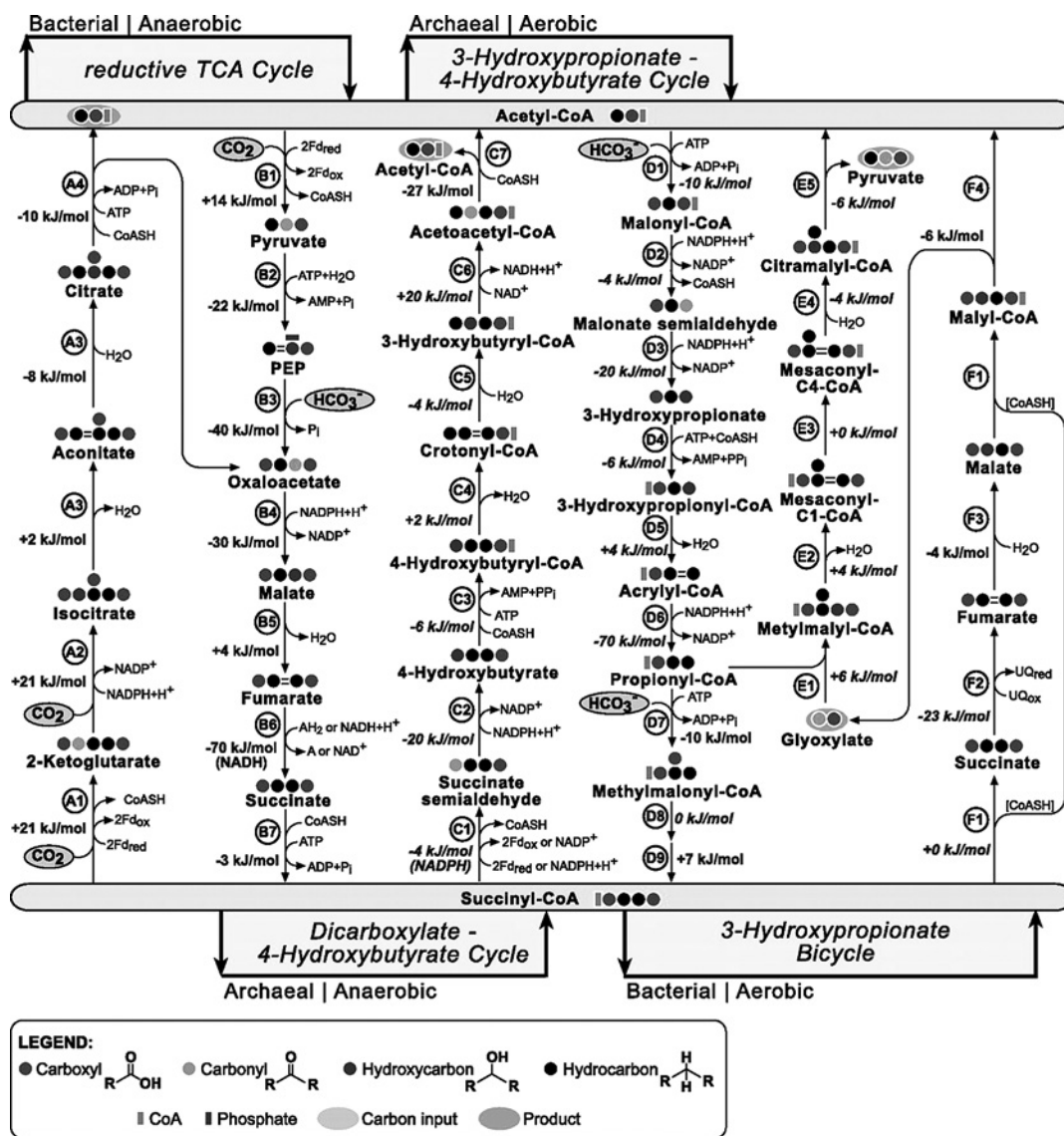


図2. 有機酸代謝を基盤とした炭酸固定経路³⁾

ビン酸カルボキシラーゼ), 補酵素としてビオチンを機能させているか, TPP (チアミンピロリン酸) を機能させているかのどちらかに分かれてくる。

ここまでの考察で, エネルギー消費系についての研究方向性が見えてくる。

- (1) 二酸化炭素ガス固定性ビルトイン型補酵素の研究
- (2) ビオチンやTPPが関与する酵素の高機能化
- (3) 新規二酸化炭素ガス固定系

(1) は大阪大学産業科学研究所の谷澤氏らが提唱しているものであるが⁴⁾, 二酸化炭素ガスに特化したような研究も可能なのでは? と筆者は考えてもいる。

(2) については, 別々に述べていく。

ビオチンが関与する二酸化炭素ガス固定反応は, 図3のように進行することが分かっている⁵⁾。カルボキシルビオチン生成部分に手をつけるのはあまり得策ではないだろう, むしろ, カルボキシルトランスフェラーゼの基質特異性を広げるような研究, あるいは, 新たな基質を探索するような研究が望ましいものと考えている。

TPPが関与する二酸化炭素ガス固定反応では, 活性中心に電子を供与する電子授受の部位と活性中心部位とが立体的に離れていることが多い。このことは, 活性そのものと電子伝達とを分けてデザインすることが可能なことを示唆しており, 筆者らもそうした考えに基づいた研究を進展させている。なお, TPP酵素の一つであるピル

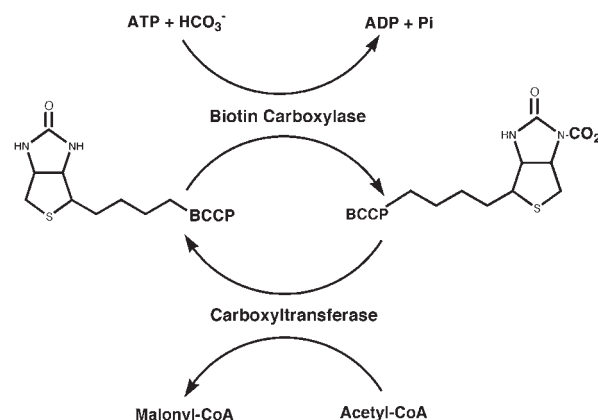


図3. ビオチン依存カルボキシラーゼの反応機構概略⁵⁾

ビン酸: フェレドキシン酸化還元酵素においては, 反応機構解析も行っており, 図4のような機構が提唱されている⁶⁾。

(3) については, 文献7に掲載されているものを図5に紹介する⁷⁾。ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの高機能性を利用した二酸化炭素ガス固定系であり, 生成するグリオキシル酸の代謝的取扱いには熟慮を要するものの, 巧みに考察されたものと言える。

終わりに

e-バイオって何だか面白そうだな, と思っていただければ幸いである。本稿では独立栄養生物に絞って記載し

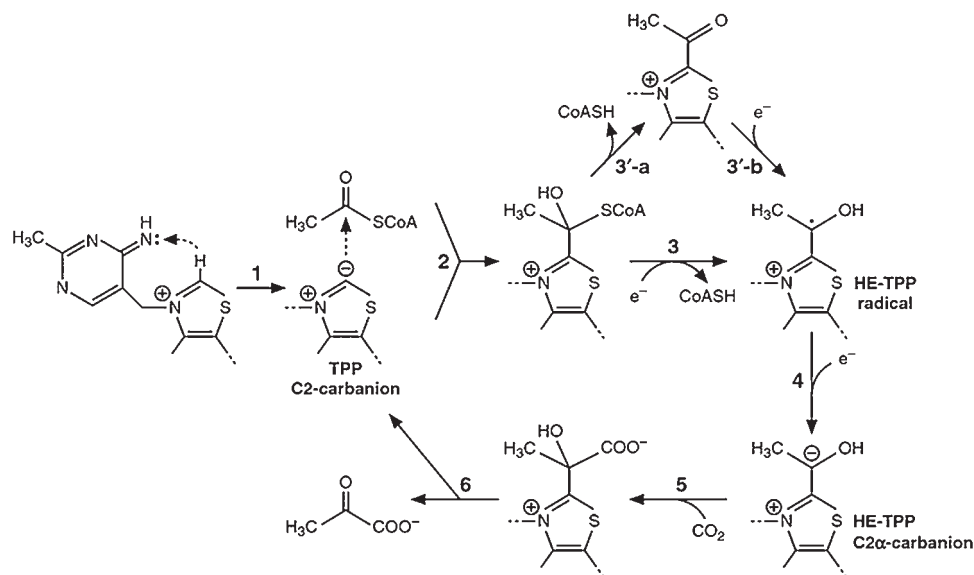


図4. ビオチン依存カルボキシラーゼの反応機構概略⁵⁾

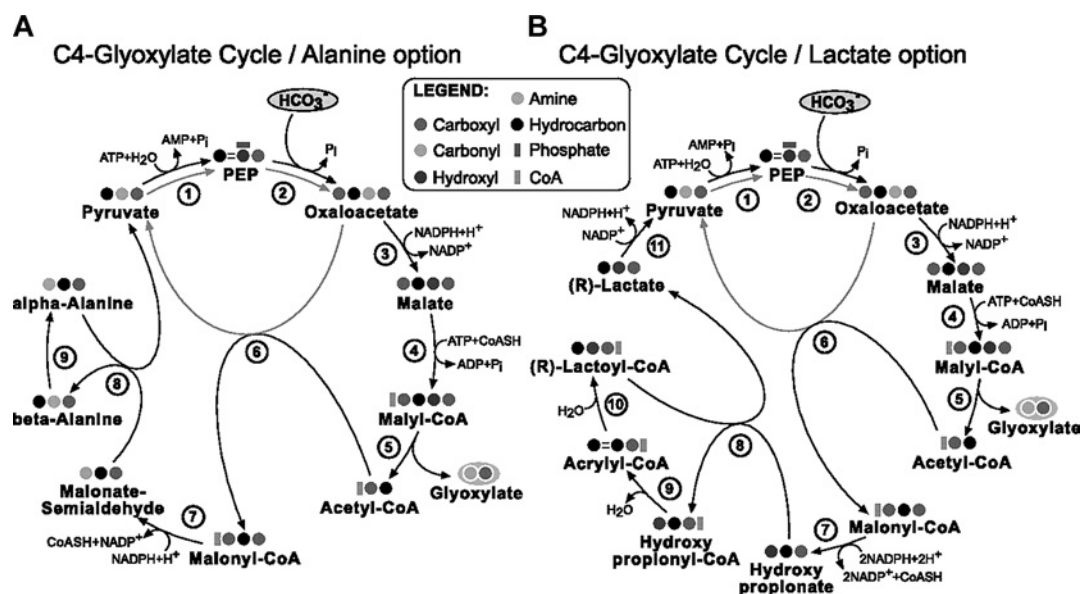


図5. 人工的にデザインされた炭酸固定経路の

たが、筆者は以下を束ねる統一的理念としてe-バイオを掲げている。

つまり、

○生命が司る代謝を、特に電子の流れを意識し、明らかにする研究

○生命が司る代謝を、特に電子の流れを意識し、細胞の内側・外側から制御する研究

○電子の流れを意識したライフサイエンス・バイオテクノロジー研究

このような研究を重ねていきたいと浅学者は夢ばかり追っている。

文 献

- 1) Nitschke, W. and Russell, M. J.: *Bioessays*, **34**, 106 (2012).
- 2) Fuchs, G.: *Annu. Rev. Microbiol.*, **65**, 631 (2011).
- 3) Bar-Even, A. *et al.*: *J. Exp. Bot.*, **63**, 2342 (2012)
- 4) 岡島俊英ら：生化学, **83**, 691 (2011).
- 5) Cronan, Jr. J. E.: *J. Biol. Chem.*, **276**, 37355 (2001).
- 6) Ikeda, T. *et al.*: *FEBS J.* **277**, 501–510 (2010).
- 7) Bar-Even, A. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 8889 (2010).