

一酸化炭素デヒドロゲナーゼを鍵とする微生物触媒の探索と応用基盤の構築

立命館大学 立命館グローバル・イノベーション研究機構 井上 真男



【略歴】

2017 年 大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻博士後期課程 単位取得退学

2017 年 博士（理学）大阪大学

2017 年 京都大学大学院農学研究科 特定研究員

2021 年 立命館大学立命館グローバル・イノベーション研究機構 助教（現在に至る）

はじめに

一酸化炭素（CO）と水素（H₂）は合成ガスの主成分であり、次世代エネルギー・炭素循環において重要な役割を担っている。C1 化学では合成ガス中の CO を出発物質として様々な炭素化合物が合成され、工業的 H₂ 生産は水性ガスシフト反応（ $\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CO}_2 + \text{H}_2$ ）によって合成ガス中の H₂ の存在量を高めることで行われる。H₂ 生成型 CO 酸化菌（HydCO 菌）は CO デヒドロゲナーゼ（CODH）と呼吸型ヒドロゲナーゼ（ECH）を有し、水性ガスシフト反応を利用して呼吸を行う（図 1）¹⁾。本菌は 100% CO 雰囲気下でも生育可能な高い CO 耐性と利用能を有している。さらに、本菌の一部は CO を炭素源としても利用できるほか、CODH を還元的に利用することで CO₂ からアセチル CoA の合成を行う。これら CODH を用いた呼吸や CO₂ 固定経路は始原的な代謝経路であるとされ、本菌は我々人類が産業革命より叡智を結集して築き上げた次世代エネルギー生産技術を単独の細胞内で実現し、太古より地球環境に適応・進化して生存してきたと考えられている。これらの特徴から高性能 CODH や新奇 HydCO 菌を探索し資源化することが望まれているが、これまで行われてきた CODH の研究は一部の微生物およびモデル酵素に限られていた。そこで本研究では、CODH を鍵酵素とする高性能微生物触媒を探索することを目的とした。

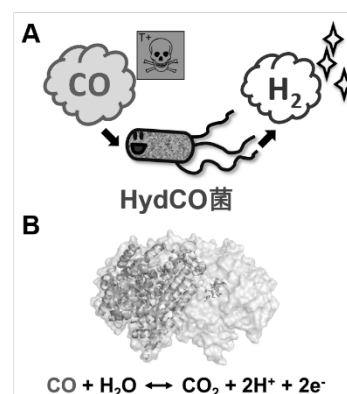


図 1. HydCO 菌の模式図 (A) と CODH の立体構造 (B)

ゲノム・メタゲノム情報を利用した CODH の網羅的探索と分類

新奇 CODH や HydCO 菌を探索するため、大規模配列解析により得た約 2,000 の CODH 系統について、系統群や立体構造、関連遺伝子群、生物圏の情報を統合した（図 2）^{2,3)}。CODH 遺伝子は全原核生物門の半分に相当する幅広い微生物ゲノムにコードされており、水圏環境やヒト腸内など幅広い環境に存在することが分かった。また、CODH の活性に重要なアミノ酸残基の多様性を明らかにし、新奇な金属配位モチーフを持つ CODH を発見した。さらに、CODH/ECH 遺伝子群を標的とすることで、これまで HydCO 菌として報告例のない新奇 HydCO 菌ゲノムを同定することに成功した。本成果は、CODH 遺伝子を遺伝子資源として活用していくための情報基盤となり、HydCO 菌の生態研究⁴⁾などに利用されている。

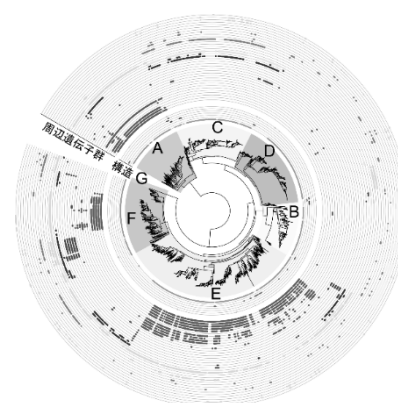


図 2. CODH の系統樹とその分類。系統分類した CODH 配列それぞれについて構造的特徴と周辺遺伝子群の機能をマッピングした。

CODH を鍵酵素とする CO 代謝の多様性と転写調節機構

上記の大規模配列解析の結果、*Calderihabitans maritimus* が既知の生物の中で最多の 7 つの CODH を持つ HydCO 菌であることが分かった。本菌がどのように複数の CODH を使い分けるのか、を明らかにすべく CO 応答

トランスクリプトーム解析を行ったところ、これまで知られていなかった CO の還元力を利用したアミノ酸合成や細胞外への電子伝達など、新たな代謝共役機構の存在が明らかになった⁵⁾。加えて、CO 酸化で得られた還元力に応答する新奇 CO 応答転写調節機構を発見した。本成果は、CO 酸化が複数の代謝経路と共役して機能していることを明らかにし、CO 酸化と他の有用物質生産経路との共役による炭素・エネルギー循環技術の可能性をより強固なものにすると考えられる。

高性能微生物触媒としての好熱性通性嫌気性 HydCO 菌

既知の HydCO 菌はそのほとんどが偏性嫌気性であり、培養や遺伝子組み換えなどが簡便ではない。大規模配列解析によって好熱性通性嫌気性細菌 *Parageobacillus thermoglucosidasius* が CODH/ECH 遺伝子を有しており、HydCO 菌である可能性が示唆された。そこで本菌の培養を行ったところ、酸素存在下での好氣的呼吸による従属栄養増殖能に加え、嫌気 CO 雰囲気下では高い CO 消費活性と H₂ 生成能が認められた⁶⁾。本菌の内在性 CODH/ECH 遺伝子群の欠損株を作製し、その表現型を解析したところ、本菌の CO 消費 H₂ 生成活性は CODH と ECH の両方に依存しており、CODH/ECH は呼吸を介して本菌の発酵条件における増殖をサポートすることが明らかになった。

奇しくもこれらの解析と同時期に好熱性通性嫌気性 *Parageobacillus* 属 G301 株と TG4 株を含む新奇 HydCO 菌 5 株⁷⁻⁹⁾ の分離培養に成功しており、ゲノム解析の結果、G301 株は CODH/ECH の他に CO 代謝酵素遺伝子として CO 酸化と好気呼吸を共役させる好気型 CODH を有していることが判明した。そこで、電子受容体を変えて G301 株の CO 酸化能を調べた結果、本株は CODH/ECH と好気型 CODH の両方の酵素を用いる初めての HydCO 菌であり、G301 株は発酵・好気呼吸・硝酸呼吸のすべての条件において CO 酸化に依存した呼吸を行う CO 利用に特化した微生物であることが明らかになった。これらの酸素に対して耐性を有する好熱性通性嫌気性 HydCO 菌は、扱いが容易で酸素の混入に耐える新しい高性能微生物触媒としてのモデル生物になるとことが期待できる。

今後の展望

本研究で得られた生物情報資源および微生物資源は CODH や HydCO 菌を用いた C1 化学や次世代エネルギーである H₂ ガス生産における微生物触媒候補を総合的に理解し、将来的なバイオ新技術の開発に資する。一方で、メタゲノムデータ解析から未知の HydCO 菌の存在も示唆されており、環境サンプルや分離方法を工夫することで新奇 HydCO 菌の分離培養も期待できるのではないかと考えている。

謝辞

本研究は、京都大学大学院農学研究科海洋分子微生物学分野において行われたものであり、ご指導いただきました左子芳彦名誉教授、吉田天士教授、神川龍馬准教授をはじめ、共同研究者の皆様、研究室の方々に心より感謝申し上げます。

参考文献

1. Fukuyama, Inoue, *et al.* (2020) *Adv. Appl. Microbiol.* **110**, 99-418.
2. Inoue, *et al.* (2019) *Front. Microbiol.* **9**, 3353.
3. Inoue, *et al.* (2022) *Extremophiles* **26**, 9.
4. Omae, Oguro, Inoue, *et al.* (2021) *Extremophiles* **25**, 61-76.
5. Inoue, *et al.* (2020) *Extremophiles* **24**, 551-564.
6. Adachi, Inoue, *et al.* (2020) *Microbes Environ.* **35**, ME20101.
7. Inoue, *et al.* (2019) *Microbiol. Resour. Announc.* **8**, e01666-18.
8. Fukuyama, Tanimura, Inoue, *et al.* (2019) *Microbiol. Resour. Announc.* **8**, e00663-19.
9. Inoue, *et al.* (2020) *Microbiol. Resour. Announc.* **9**, e00608-20.