

平成22年度採択研究代表者

跡見晴幸

京都大学大学院工学研究科  
教授

海洋性アーキアの代謝特性の強化と融合によるエネルギー生産

## § 1. 研究実施体制

### (1)「京都大学・工学研究科(跡見)」グループ

- ① 研究代表者: 跡見晴幸 (京都大学大学院工学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・ *Thermococcus kodakarensis* のキチン分解経路の解明と機能強化
  - ・ *Thermococcus* のキシラン分解能の評価・強化およびペントース代謝機構の解明
  - ・ *Thermococcus kodakarensis* の水素生産機構の解明と機能強化
  - ・ アーキアへのスクアレン合成能付与
  - ・ *Methanococcus* への糖質取り込み能 / *Thermococcus* へのメタン生成能の付与
  - ・ 細胞増殖を伴わないバイオマス分解・バイオエネルギー生産
  - ・ 糖中央代謝経路の理解と強化
  - ・ スクアレン前駆体合成増強のための細胞工学
  - ・ 外来遺伝子発現に利用可能な有用 promoter 探索と開発

### (2)「京都大学・理学研究科(三木)」グループ

- ① 主たる共同研究者: 三木邦夫 (京都大学大学院理学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・ *Thermococcus kodakarensis* のキチン分解経路の解明と機能強化
  - ・ *Thermococcus* のキシラン分解能の評価・強化およびペントース代謝機構の解明
  - ・ *Thermococcus kodakarensis* の水素生産機構の解明と機能強化
  - ・ スクアレン前駆体合成増強のための細胞工学

(3)「立命館大学・生命科学部(今中)」グループ

① 主たる共同研究者:今中忠行 (立命館大学生命科学部、教授)

② 研究項目

- ・キチン・キシラン等バイオマス高分解微生物・酵素の探索
- ・*Thermococcus kodakarensis* の水素生産機構の解明と機能強化(機能評価)

(4)「大阪大学・工学研究科(本田)」グループ

① 主たる共同研究者:本田孝祐 (大阪大学大学院工学研究科、准教授)

② 研究項目

- ・耐熱性酵素を利用したバイオエネルギー・バイオコモディティ生産

(5)「神戸大学大学院・人間発達環境学研究科(蘆田)」グループ

① 主たる共同研究者:蘆田弘樹 (神戸大学大学院人間発達環境学研究科、准教授)

② 研究項目

- ・メタン産生に関わる新規炭素代謝回路の機能解析

## § 2. 研究実施の概要

アーキアとは系統学的に真核生物や細菌とは異なる第3の生物界を構成し、真核生物や細菌には見られない固有の生命機能(メタン生成等)や生体分子(イソプレノイド型膜脂質)が数多く同定されている。本研究では、まずアーキアにおけるバイオマス分解およびバイオエネルギー生産に関わる機能(キチン分解能、ペントース代謝能、水素生産能、炭酸固定、メタン生成等)を対象に、それらに關与するタンパク質や遺伝子を同定し、それらのメカニズムを解明する。次に遺伝子工学的・培養工学的手法を用いてそれらの機能強化を進めるとともに、超好熱性アーキア由来耐熱性酵素を利用した *in vitro* 人工代謝経路の設計・構築による物質生産を目指す。さらに異種生物由来の機能(スクワレン合成能等)も導入し機能の融合を図ることにより、非可食性バイオマスからの水素・メタン・スクワレン様炭化水素等バイオエネルギー生産能を示すアーキアの創製を目指す。平成26年度中に実施した研究の主な成果は以下の通りである。

いままでに超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* のキチン分解に関わる各遺伝子の発現強化を進め、キチン分解能・資化能が大幅に向上した株を作製することができた。今年度はこの株の増殖特性を明らかにした。他の超好熱性アーキアから同定してきたキチン分解酵素に関しては、その立体構造を明らかにすることができた。*T. kodakarensis* のペントース代謝に関しては、生化学的・遺伝学的解析を通じて、ヌクレオシドのペントース部位を中央代謝あるいはヌクレオチドに導く新しい代謝経路を同定することができた。真核生物やバクテリアにおいてはヌクレオシドのペントース部位を中央糖代謝に導く経路はペントースに1つリン酸がついた化合物を中間体とするペントースリン酸経路である。一方、今回明らかにした代謝経路はペントースを2つリン酸がついたペントースビスリン酸の状態代謝していくことから、ペントースビスリン酸経路と名付けた。また本経路は Rubisco による炭酸固定反応を介することから、ペントースから得られる3-ホスホグリセリン酸がペントースリン酸経路より多い<sup>(1)</sup>。またメタン生成菌においても Rubisco の存在が確認されているが、これと関連する代謝酵素の同定および機能解析を進めた。*T. kodakarensis* の水素生産能の強化に関しては、水素発生を担うヒドロゲナーゼ以外の関連酵素の強化を進め、菌体あたりの水素生産能力を向上させた。異種生物由来の機能との融合に関しては、いままでに好熱菌由来スクワレン・ファイトエンシンターゼホモログを *T. kodakarensis* に導入し、炭化水素ファイトエン生成能を付与することができたが、本年度は引き続き培養工学的アプローチを進め、培地中に担体を加えることにより、ファイトエン合成量の増加が観察された。また acetyl-CoA の供給を強化するため、解糖系の解析を進め、糖の初発リン酸化機構を明らかにすることができた。人工代謝経路の構築については、耐熱性酵素を利用することによりグリセロールから乳酸へのワンポット変換が達成できた。

上記の機能に関連する候補遺伝子の解析を通じて、新しい酵素が複数同定できた。イノシトールキナーゼ、CoA 生合成に關与する酵素、水素生成に關与する酵素を中心に、機能や構造上重要かつ新規性の高いものについては、立体構造を決定し、反応メカニズムの解明、機能改良に必要な基盤的知見を得た。

### 【主要論文】

- (1) Aono, R., Sato, T., Imanaka, T. and Atomi, H.  
A pentose biphosphate pathway for nucleoside degradation in Archaea.  
Nat. Chem. Biol. Published On-Line, doi: 10.1038/nchembio.1786, 2015.