作物が窒素固定する時代に向けて酵素のエベレストに挑戦

作物が自ら窒素を固定して、自らの生育を促進する時代が来るかもしれない。名古屋大学大学院生命農学研究科の藤田祐一教授らの研究チームは、微生物の一種であるシアノバクテリアに窒素固定酵素の遺伝子を導入し、働かせることに成功した。光合成生物では初めてとなる。窒素肥料を前提とした現代の作物栽培の常識を変える上で大きな成果だ。今後はこの窒素固定酵素の活性を高めるとともに、作物に導入する方法を模索していく。

ふじた　ゆういち
藤田 祐一
名古屋大学 大学院生命農学研究科　教授
1991年 大阪大学大学院理学研究科博士課程修了。理学博士。92年 大阪大学蛋白質研究所助手、98年米国インディアナ大学生物学科客員研究員、2002年 名古屋大学大学院生命農学研究科助教授、07年同准教授を経て、16年より現職。17年より未来社会研究開発代表者。

原発150基のエネルギーを消費

窒素はリン、カリウムとともに肥料の3要素の1つで、作物の収穫量を上げるには欠かせない。それを工業的に製造する技術が誕生したのは20世紀初頭。大気中の窒素をアンモニアに変換する窒素固定法で、ハーバー・ボッシュ法と呼ばれている。これにより食料生産は飛躍的に増大した。もしこの技術がなければ、現在の地球の人口は半分に満たなかったとされる。

問題は工業的窒素固定に年間で原発150基分に相当するエネルギーが消費されていることだ。さらに収穫量を増やそうと窒素肥料を過剰に使用してしまうことも問題だ。2005年にハーバー・ボッシュ法で製造した窒素肥料1億トンのうち1700万トン(いずれも窒素相当)しか、農作物などに利用されていないとする報告もある。残りは環境中に流出し、水質や土壌を汚染する。

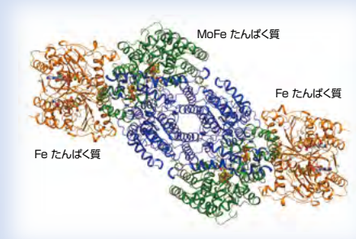
もし、作物が自ら環境中の窒素を固定できるようになれば、窒素肥料の使用を減らし、こうした問題の解決に大きく貢献できるのではないか。名古屋大学大学院生命農学研究科教授の藤田祐一教授は、作物自身に窒素を固定する能力を付与する試みを続けている。

窒素固定と光合成を両立できるか

注目したのは、窒素固定をする微生物が持つニトロゲナーゼという酵素だ(図1)。この酵素は常温・常圧で窒素をアンモニアに変換する。この遺伝子を作物に導入できないかと考えた。

しかし、事は簡単には運ばない。ニトロゲナーゼは複雑な反応を持ち、「酵素のエベレスト」と呼ばれるほど研究が難しい酵素なのだ。藤田さんの前には、高い壁が立ちはだかった。

「空気を肥料とする窒素固定植物の創出」の概念図。作物に窒素固定能力を導入し、窒素肥料の削減を目指す。



■図1　窒素固定に関わる酵素ニトロゲナーゼはMoFeたんぱく質とFeたんぱく質という2つのたんぱく質から成る。活性中心である金属クラスターが酸素に触れると破壊されるため、酸素に非常に弱い。

「ニトロゲナーゼは酸素に非常に弱く、触れるとすぐに破壊されてしまうのです。作物は光合成で酸素を発生する場でもあるので、植物がニトロゲナーゼを作り出せても、機能を果たせません」。

この課題を克服している唯一の生物として着目したのが、シアノバクテリアという微生物だ。植物と同じ光合成をすることから、葉緑体の起源とされている。シアノバクテリアには光合成と窒素固定を両立できる種と、できない種が存在する。このうち両立できない、つまり窒素固定ができない種に窒素固定に関連する遺伝子を導入し、ニトロゲナーゼを作らせる方法を探ることにした。

シアノバクテリアに窒素固定の遺伝子を導入

まず、プレクトネマというシアノバクテリア(図2)で、光合成と窒素固定が両立する仕組みを調べた。光合成と窒素固定を両立するシアノバクテリアの中には光合成をしない窒素固定専門の細胞を持つものもいるが、プレクトネマはそのような細胞を持たない。野外環境では、光合成が行われない夜間に窒素固定をすることで、酸素を避けているらしい。

プレクトネマのDNA配列を調べ、ニトロゲナーゼの合成に関わる遺伝子が集まっている箇所と、それらの遺伝子群を発現させるCnfRたんぱく質を突き止めた。さらにこのCnfRたんぱく質は、窒素源が不足し、かつ酸素の濃度が低くなったことを検知し、指令を出していることもわかった。

「酸素が少なくなって、ニトロゲナーゼがちゃんと作動できそうだということを検知して、ニトロゲナーゼを作れという指令を出すのです。夜に窒素固定を行うリズムは、こうして生み出されているのだろうと考えています」。

藤田さんは、CnfR遺伝子とこの遺伝子が制御するニトロゲナーゼ、そしてその合成に関わる遺伝子群のセットを、窒素固定ができないシアノバクテリアに導入すれば、窒素固定が可能になるに違いないと考えた。

しかし、導入したいDNA配列は20.8kb(キロベース。DNAの長さの単位で1キロベースは1000塩基)と長すぎた。そこでこれを5つの断片に分離。最初の断片を導入した株を作り、その株に次の断片を導入するという操作を繰り返した。最後に制御のためのCnfR遺伝子を入れて、まずはCN1という株を作った。CN1に導入した20.8kbの遺伝子群だけで窒素固定ができるか不安が残ったため、CN1から遺伝子の数を1つ増やしたCN2、さらに4つの遺伝子を増やしたCN3も用意したという。

「苦労して作った株でしたが、最初はニトロゲナーゼ活性がまったく検出できなかったのです。地道に努力したのに何で駄目なのだろうと、かなり落ち込みました」。

その後も試行錯誤を繰り返し、脱酸素試薬ジチオナイトの添加や活性測定時間の延長により、ついに全ての株でニトロゲナーゼ活性を確認した。

しかし、作られたニトロゲナーゼのうち活性を持つのは1～4パーセントで、これでは窒素固定のみでの生育は難しい。考えられる原因は2つあると藤田さんは説明する。

「1つは酸素に対する防御が十分ではないことです。シアノバクテリアの酸素消費を強化する必要があります。もう1つは還元力の強化です。もともと窒素固定能力を持たないので、ニトロゲナーゼへの電子やエネルギーの供給が上手くできていないのです。この2つをなんとかしようと、取り組んでいるところです」。

活性の向上と並行して、植物への導入にも着手した。実際の植物にニトロゲナーゼ遺伝子を導入し、窒素固定できるかを確かめたいと考えている。

作物に窒素固定能力を持たせる研究は、世界的に熾烈な競争になっている。目標はハーバー・ボッシュ法を乗り越えること。環境や資源の面からも社会的な期待は高い。

「窒素肥料ゼロが可能になるかは、正直なところわかりません。それでも、生物学者として社会の期待に応えるため、まずは窒素肥料の半減を実現したい」。大きな頂を向こうにして藤田さんは力強くこう語る。

■図2　窒素固定能を持つシアノバクテリア「プレクトネマ」

嫌気チャンバーの内部は約1パーセント程度の水素を含む窒素ガスで充填されており、酸素レベルは0.0001パーセント以下に保たれている。ニトロゲナーゼは、酸素に触れると数秒で失活してしまうため、精製から活性測定までの一連の操作を嫌気チャンバーの中で行う。

■未来社会創造事業
社会・産業ニーズを踏まえ、経済・社会的にインパクトのあるターゲット(出口)を明確に見据えた技術的に挑戦的な目標を設定し、有望な基礎研究成果の活用を通しながら、実用化が可能かどうか見極められる段階(概念実証:POC)を目指した研究開発を行います。このため、斬新なアイデアの取り込み、事業化へのジャンプアップなどを柔軟かつ迅速に実施できるよう、研究開発を後押しします。