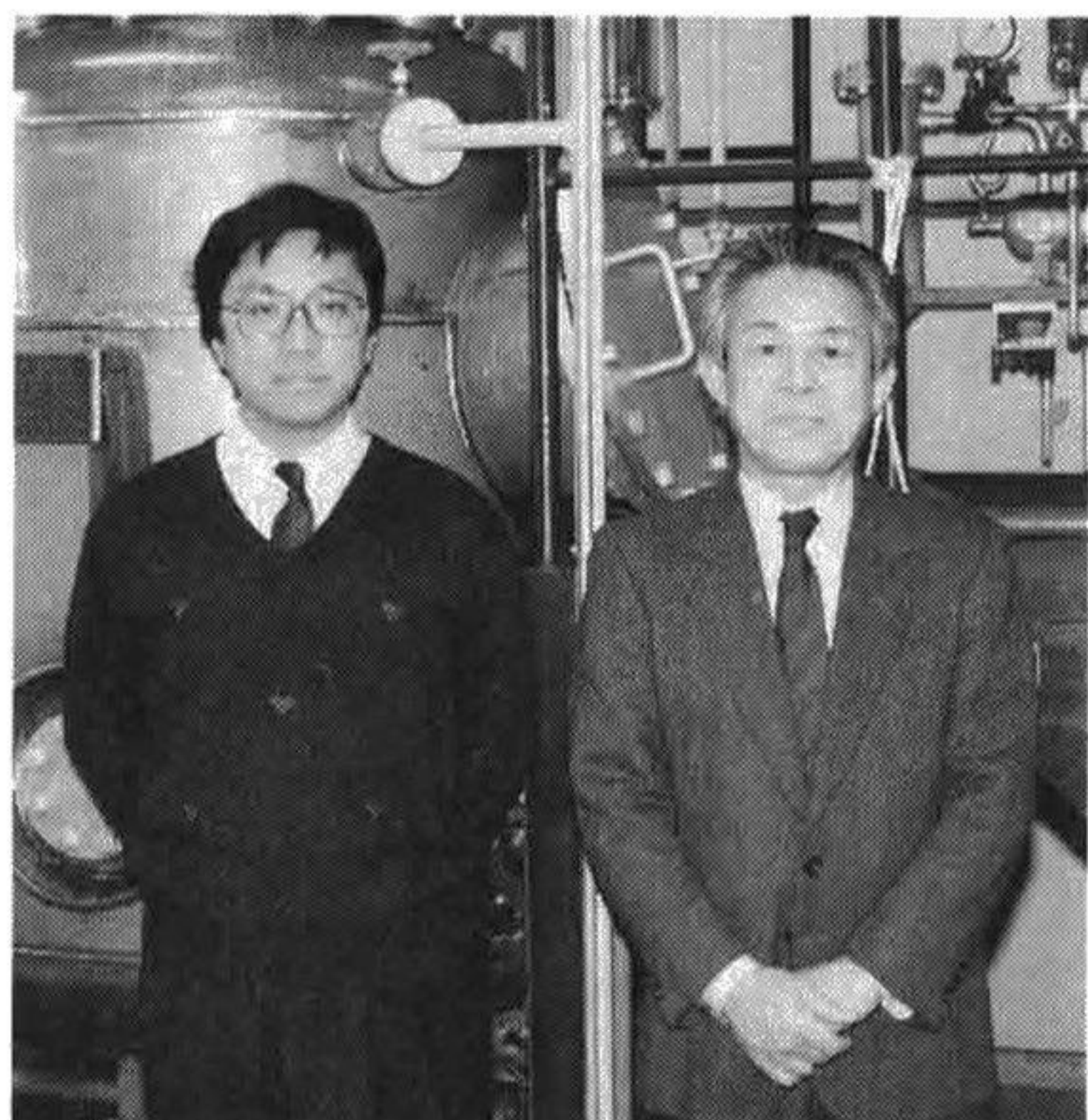




分子レベルにおける微生物のエネルギー獲得系

—— 山中・福森研究室～生命理学科 ——



(右) 山中 健生 教授
(左) 福森 義宏 助教授

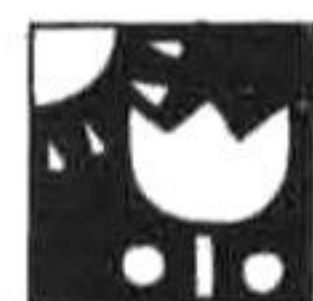
私たちの日常生活の中で、微生物はほとんど意識されることがない。それでも、微生物が生態系の一部として重要な役割を果たしていることは、皆さんも御承知のことと思う。

微生物というと往々にして、土中で有機物を分解する生物を思い浮かべがちであるが、微生物の中には他にも、食塩濃度の高い水中で生育する細菌(高度好塩菌)や、アルカリ性下で生育する細菌、無機物だけで生きている細菌(オートトロフィック細菌)等、変わった環境、極

限の環境で生活しているバクテリアもある。

今回は、そのような極限の環境で生きている微生物のエネルギー獲得系、つまりどのようにして微生物が生命活動のためのエネルギーを得ているのか、分子レベルで研究をしておられる山中・福森研究室を訪ね、山中教授にお話を伺った。

ここでは特に、オートトロフィック細菌を中心にして述べてみたいと思う。



無機物だけで生きているバクテリア

「無機物だけで生きている」とは一体どういうことなのだろうか。私たち人間を含めて、生物が生きていくためには必ずエネルギーが必要である。私たちは有機物を食べ、ブドウ糖などに消化した後、呼吸という作業で二酸化炭素に分解する。そして、それによって生成されたエネルギーを、ATP(アデノシン三リン酸、図

1)の結合エネルギーとして蓄えておき使用する。ところが、先に述べたオートトロフィック細菌は全く有機物を取り入れる必要はなく、無機物の酸化によって、そのエネルギーを得ているのである。そして、植物が光のエネルギーを使って有機物を合成するように、酸化のエネルギーを使って体の構成成分などを合

成しているのである。

これらのオートトロフィック細菌は、酸化する無機物によっていくつかの種類に分類することができる。アンモニアを亜硝酸にするアンモニア酸化細菌や、亜硝酸を硝酸にする亜硝酸酸化細菌は硝化細菌ともいわれ、動物の排出物や死骸、枯れた植物などから出るアンモニアを硝酸にまで酸化している。そして、この硝酸は脱窒菌により窒素ガスとなり、アンモニアによる汚染は完全に浄化される。このように硝化細菌は、自然界の窒素循環に大きな役割を果たしている。それとは逆にイオウ酸化細菌は硫化水素やチオ硫酸など、イオウ化合物を硫酸に酸化し、酸性公害のもとを作っている。そのほか、2価鉄を3価鉄にする鉄酸化細菌や、水素と二酸化炭素をメタンにするメタン発生細菌などがある。

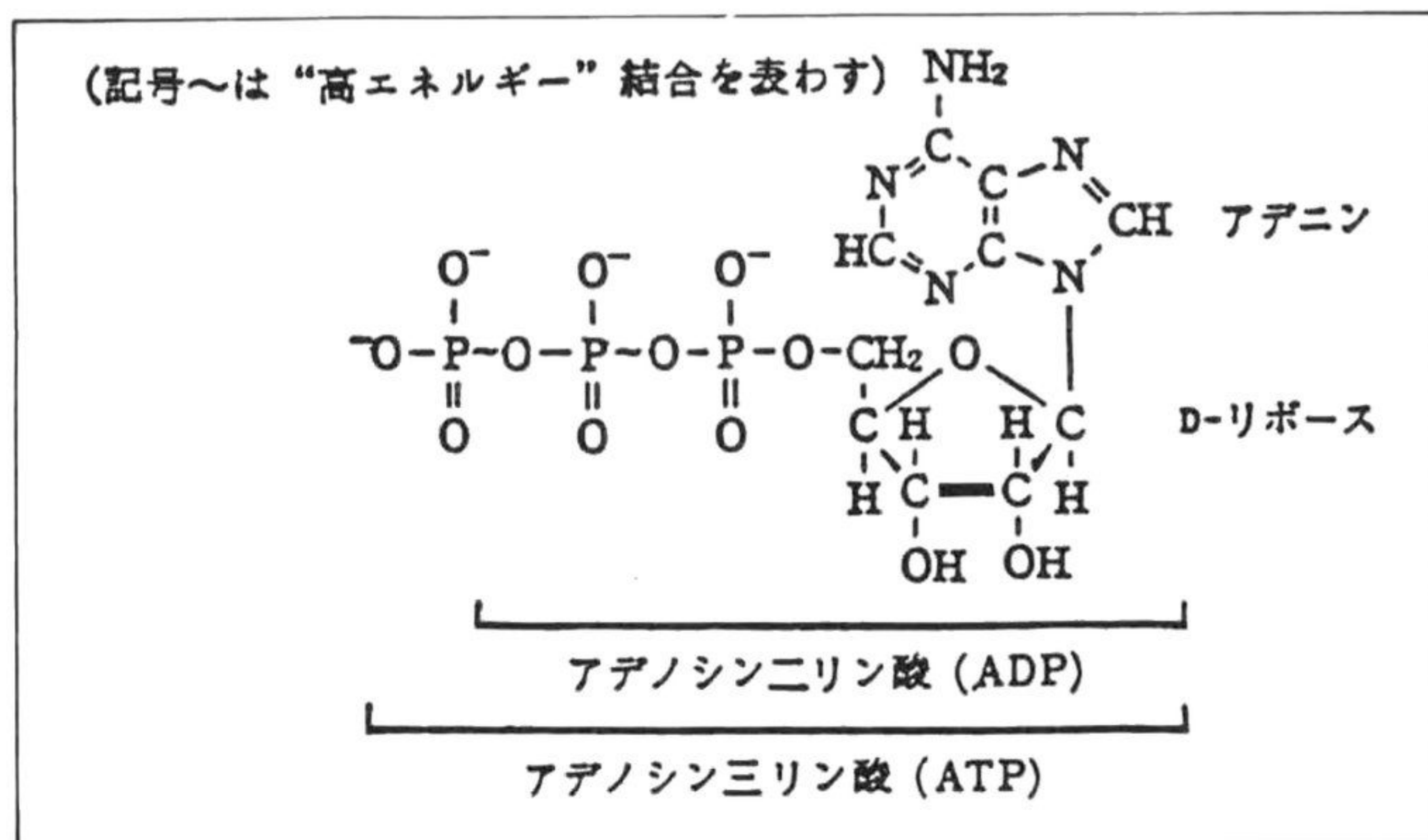


図1 ATPの構造



無機物の酸化によるエネルギー獲得のしくみ

オートトロフィックバクテリアの酸化作用は、自分で体の構成成分などを合成するという点で植物の光合成に似ている。そこで、オートトロフィックバクテリアによる酸化作用について述べる前に、光合成について考えてみる(図2)。植物はまず、光のエネルギーを葉の緑色色素であるクロロフィルタンパク質で受け取る。そして、水を酸素にする電子伝達系を通して得たエネルギーを、NADPH という補酵素と先に述べたATPという物質の結合エネルギーとして蓄える。ATPは生きていくためのエネルギー源として使い、NADPHはCO₂からブドウ糖などの有機物を合成するための還元力として使っている。このようにして、植物は光合成を営み、生きているのである。

これに対して、オートトロフィックバクテリアはどのようにしてエネルギーを得ているのだろうか。ここでは、その仕組みについて亜硝酸酸化細菌を例にとって考えてみる(図

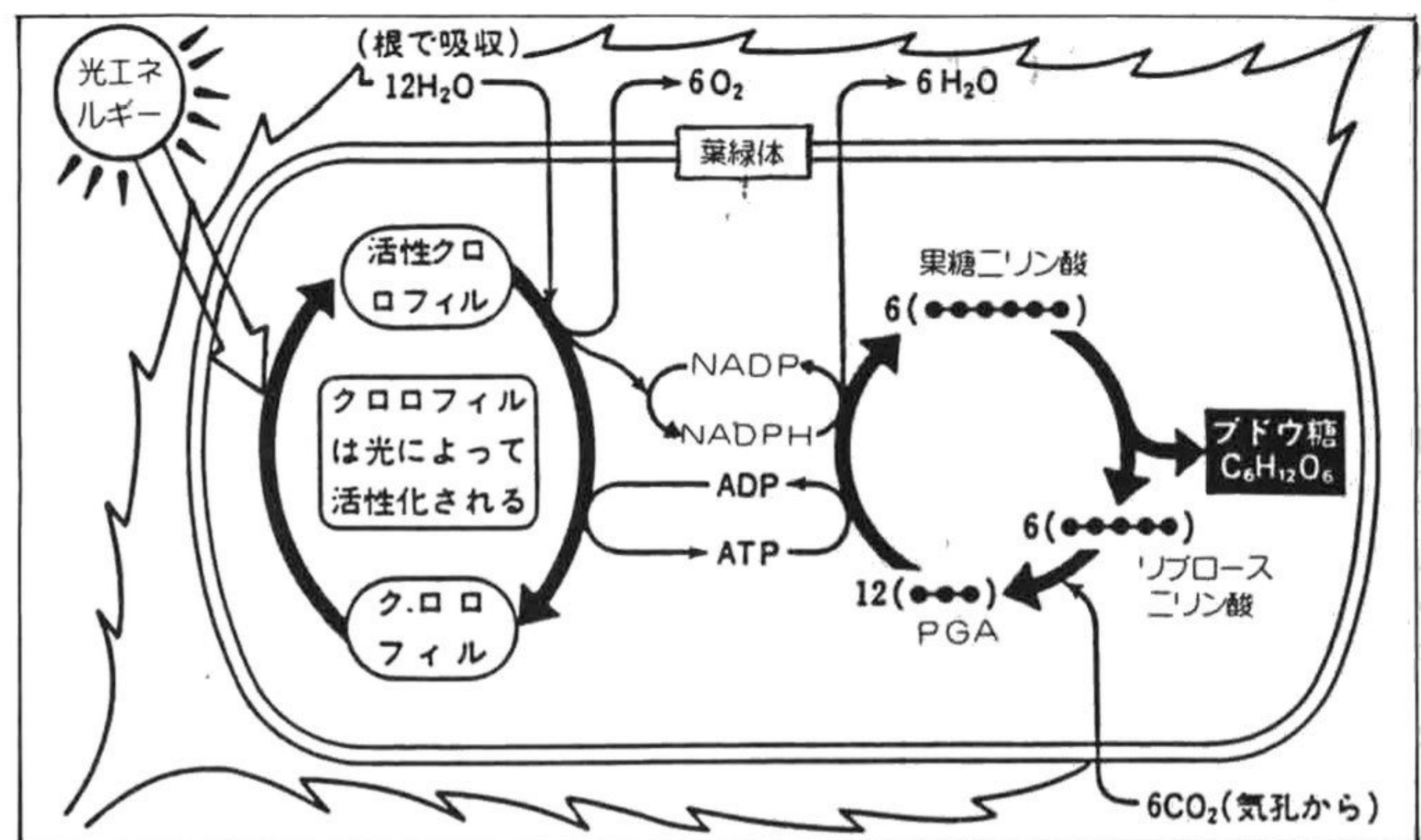


図2 光合成のしくみ (図中の●は一分子中の炭素数を示す)

3)。まず亜硝酸を酸化することによって電子を抜き取る。これをチトクロム*というタンパク質の中の3価の鉄イオンが受け取り、2価の鉄イオンとなる。これをまた違う種類のチトクロムが受け取る、というように次々と電子を伝達していき、最後に酸素を還元する。この時、チトクロム間の酸化還元電位差のために生じたエネルギーを植物と同じようにATPやNADPHとして蓄え、利用しているのである。

*チトクロム

ポルフィリンという化合物の鉄錯塩「ヘム」とタンパク質が結合したもので、ヘムタンパク質と呼ばれるタンパク質の仲間である。この仲間には、赤血球中の色素ヘモグロビン等がある。そして、このヘムは構造の微妙な違いによってヘムa、プロトヘム等に分類されている。ヘムaを持つものはチトクロムa、プロトヘムを持つものはチトクロムbと呼ばれ、チトクロムからチトクロムへ電子を渡すもの、酸素を還元するものなど、少しずつ働きが異なっている。

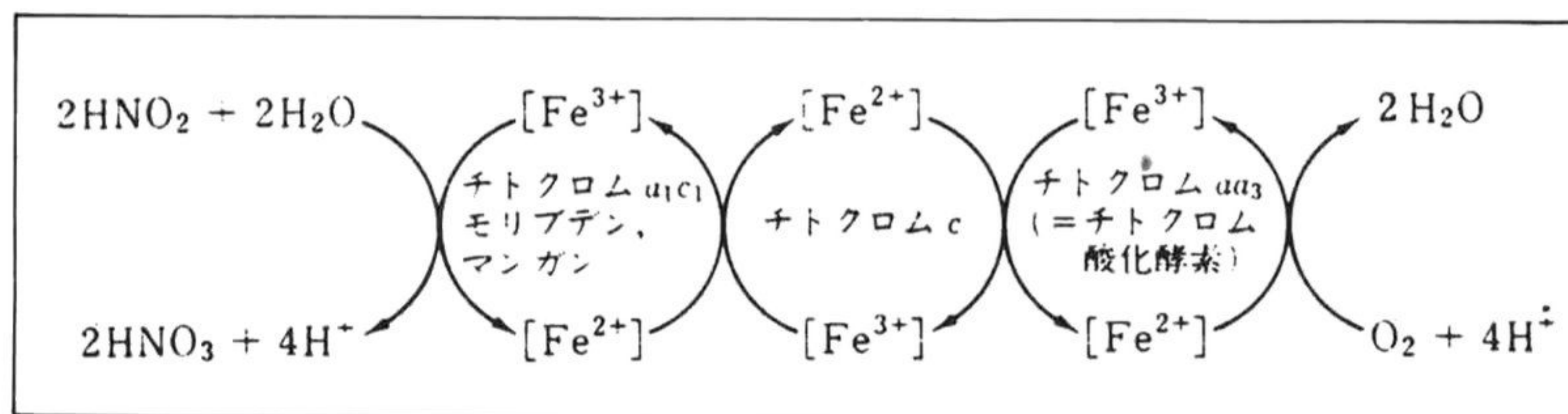


図3 亜硝酸の硝酸への酸化に関与する電子伝達系

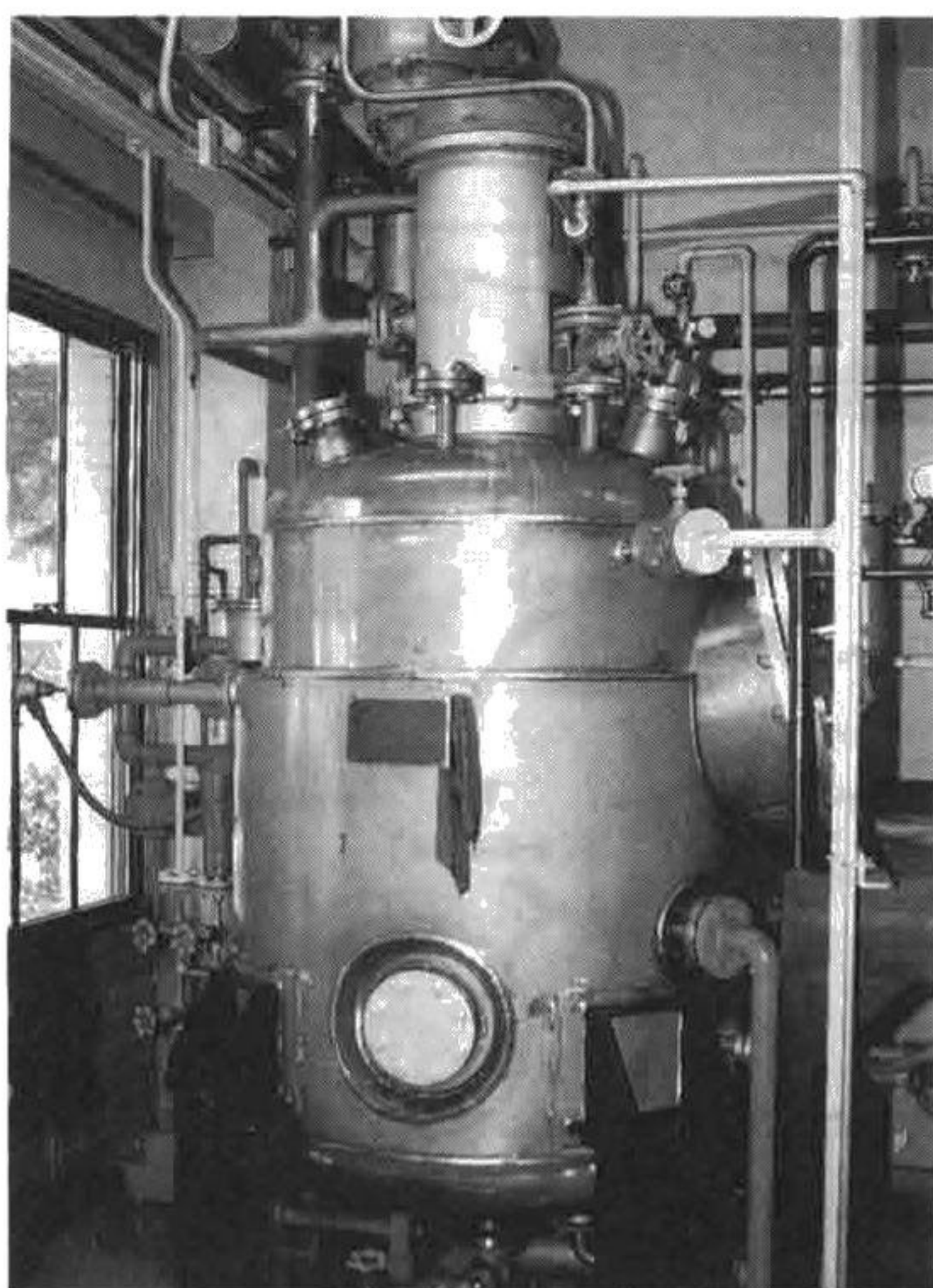


酵素やタンパク質を取り出すために

この酸化のメカニズムを明らかにするために山中・福森研では、その舞台をつくるチトクロムのような酵素やタンパク質をバクテリアから取り出し、その並び方を再構成するという方法をとっている。そのためには、まずフレンチプレスという機械で800~1000気圧の圧力をかけて小さ

な穴からバクテリアを噴き出し、急に圧力を下げて壊す。それを超遠心分離機にかけて、沈澱した膜結合性酵素を界面活性剤で溶かし、クロマトグラフィーで精製していくのである。こうして精製されたいくつかの酵素やタンパク質をリン脂質で作った微小胞(リポソーム)にはめこみ、

活性が認められれば再構成は成功したことになる。しかし、性質も並び方もわからない酵素やタンパク質を扱っているのだから、これには大変時間がかかる。新しい酵素やタンパク質を見つけて精製するためには、最低2年くらいが必要なのだそうです。このような地道な作業を通し



容量500ℓの培養装置

て、研究室では現在までに、亜硝酸酸化と亜硫酸酸化の系の再構成に成功している。

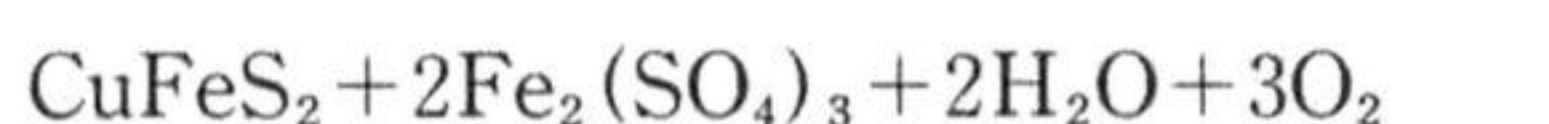
この再構成をするには、まずバクテリアが必要である。ところがオートトロフィックバクテリアは、前述したように、大量にある光エネルギーと違い、少ない酸化エネルギーでNADPHとATPを作っているので生育速度が遅く、大腸菌を培養したときの百分の一くらいしかとれないのである。十分な研究を行うためには200gくらいのバクテリアが必要であるが、外国などではその1%の2gのバクテリアしか取れず、とても研究に苦労しているところもあると

いう。そこで大きな力を発揮しているのが、500ℓのバクテリア培養装置(写真)である。これはステンレス製で、ボイラーから出てくる120℃の蒸気により雑菌を殺し、温度を一定に保つための単純な装置である。しかし、これを使えば500ℓの培地で1週間培養して、40gのバクテリアがとれる。だから、それを4～5回繰り返せば、研究するのに十分な量を得ることができるのである。だから、「この培養装置を持っているおかげで、この方面の研究では世界中のどの研究室にも負けない研究ができる自信がある」のだそうである。



小さな微生物から大きな生物の世界を視る

このような微生物の研究によるメリットは、おもに3つあげることができる。第一のメリットは地球の環境保全に関係したものである。微生物は前述した窒素循環のように地球の環境に深く関わっているからである。例えば、農薬により土壌中の硝化細菌が殺されてしまったら、酸化されなくなったアンモニアや亜硝酸が蓄積し、また二酸化窒素などが発生して大気に出てゆき、地球が汚染されてしまう恐れがある。そこで、微生物の性質を知ることは農薬を作る上で参考になるのである。また、イオウ酸化細菌により生じる硫酸の公害にも何らかの対策が見つかる可能性も出てくるのである。第二のメリットは、工業的応用に役立つことである。例えば、銅の精錬では次のような反応



が起こり、銅が浸出するのであるがこの時還元される鉄を再利用するために鉄酸化細菌を使っている(バクテリアリーチングという)が、バイオテクノロジーで酸化の能力を増幅しようとするれば、酸化酵素について知らなければならないのである。そして第三のメリットは、微生物の酵素と普通の動物の酵素を比較することによって、酵素そのものの構造と機能の関係がわかり、同時に人間などの動物の、より複雑な酵素についても解明できることである。これをもとにして、原核生物と真核生物の関係を見ることができるようである。

原核生物と真核生物だけでなく、山中教授は、生物と無生物の世界の進化の過程についてもつなげてみた

いとおっしゃっておられた。それは進化的に非常に古いと思われる細菌の酵素を調べたり、いろいろな生物の酵素を比較したりすることを通して、進化の初期である生命の起源当時までさかのぼる。そして更に、無生物的にアミノ酸を合成することによってできるプロテインイド(タンパク質に似たもの)と、実際の生物のタンパク質のペプチド結合の種類やその割合を比較して、生命の起源以前に無機物から有機物を生成していた時代を考えるのである。

そのほかにも、チトクロムの構造と機能の関係や無機物酸化のメカニズム、極限の環境の中で生きることの必然性、そして環境保全との関係等について、今後明らかにしていきたいとおっしゃっておられた。

今回の取材では、これからの科学の発展のためには、直接実生活への応用を目的としないこれらの地道な基礎研究、純粋に学問的な研究も大切なのだと改めて感じた。最後にな

りましたが、お忙しい中私たちのために時間を割いて取材に協力して下さった山中教授に深く感謝いたします。

(若月)