

地球微生物学(その1) 微生物のエネルギー獲得戦略 —岩石と放射性核種で呼吸する微生物

鈴木 庸平¹⁾・須甲 武志¹⁾

はじめに

生命が誕生, 進化, 繁栄する地球は, 我々が知る限り最も興味深い惑星の一つである。太陽光エネルギーの供給度合いにより生物存在量がコントロールされ, それは水の物理学的存在状態に対応している。水は極地では氷として存在し, 生物活動は氷の状態では営まれないが, 微かな氷の溶解により生命活動が息を吹き返す。他方, 砂漠では著しい水の気化により生物が必要な水を獲得する事が極めて困難である。従って適度な太陽光エネルギーの供給と液体としての水の安定が熱帯雨林に代表される巨大生態系の形成や, 植物の光合成産物である有機物と酸素を用いる動物の活動には必須である。

深海底熱水孔等の太陽光の届かない暗黒の世界でも局所的ではあるが, 地表に匹敵する多様で密集した生態系が形成される。この暗黒の生態系は中央海嶺やプレートの沈み込みに伴う熱水活動域に卓越し, 太陽光エネルギーではなく, 熱水から供給される化学的還元物質からエネルギーを獲得している。しかし, この生態系を形成する生物がエネルギーを獲得する際に, 還元物質を酸化するために利用するのは酸素であり, 酸素は地球表層での光合成により生産される為, 深海底の生態系ですら太陽光エネルギーに支配されていると言える。

その一方で太陽光および酸素の届かない地下環境で, 太陽光エネルギーに全く依存しない地下生物圏の存在が示唆されている。この生態系は, 岩石と水の相互作用により生成された, 水素および二酸化炭素を用いてエネルギーを獲得する微生物から成る生態系である。この太陽光エネルギーに依存しない生態系は, 地球初期生態系や火星や金星の衛星エウロパの地球外生命体と類似していると考えられている。

生命と共生する惑星地球で生物活動が地球表層環境の形成に深く関わり続けている事は明白である。その代表例として, 我々が呼吸する空気中の酸素は全て生物の光合成により作られ, 窒素も微生物により生産されている。地球史を遡っても, 光合成の明反応により, 水から酸素を生成する光合成細菌であるシアノバクテリアが誕生・繁栄する事により, それまでの還元的表層環境が酸化的な環境に遷移していったと考えられている。

生物によるエネルギー生産について, あまり精通してない読者のため, 本稿ではまず, 全生命が用いる普遍的なエネルギー生産の原理について概説した後, 最近脚光を浴びる岩石および放射性核種で呼吸する微生物と, その特筆すべきエネルギー獲得戦略を紹介する。

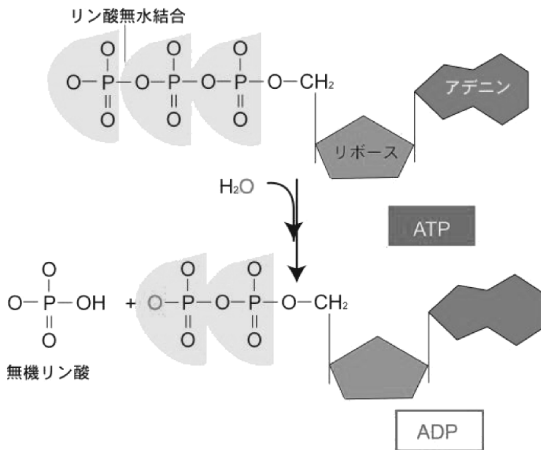
生命共通のエネルギー通貨ATP

全ての生命は外部のエネルギーに依存している。我々人間も食物連鎖のピラミッドの頂点で他の生物が作り出した有機物をエネルギー源としている。植物は光合成, すなわち太陽光をエネルギー源として二酸化炭素から有機物を生合成し一次生産者として生態系の底辺を支えている。いずれの外部エネルギーを用いた場合も, 生物が使いやすく, 且つ保存可能な状態に変換する必要がある。この変換のプロセスはエネルギー源の種類に関わらず, どの生物も共通の物質を介して行われる。それが生物共通のエネルギー通貨であるATP(アデノシン三リン酸)である。

ATPはアデニンとリブロースからなるアデノシンに3個のリン酸基が結合した化合物で, ATPの外側二つのリン酸基はそれぞれ高エネルギーのリン酸無水結合で結合する(第1図)。ATPは水の付加によりADP

1) 産総研 深部地質環境研究センター

キーワード: 微生物代謝, 嫌気微生物, アクチノイド, 金属還元, ナノバイオサイエンス, 地下生命圏, 物質循環



第1図 ATPからADPと無機リン酸への変換(中村桂子・松原謙一監訳(2004)細胞の分子生物学第4版から一部改変引用)。

(アデノシン二リン酸)と無機リン酸に加水分解され、この反応から細胞内の状況に応じて11~13kcal/molのエネルギーが得られ、種々の化学反応を推進するために用いられる。従って生物は外部エネルギーをリン酸基の結合エネルギーに変換(リン酸化)し利用している。

リン酸化反応の仕組み

リン酸化反応には2種類ある。一つが基質レベルのリン酸化で、発酵という言葉で馴染みの深い生化学反応である。グルコースがピルビン酸に酸化(解糖)される際にADPからATPが生成される。解糖には補酵素のニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD⁺)が必須で、解糖が進行するにつれてNAD⁺がNADHに還元され細胞内のNAD⁺が消費される。効率的に解糖反応が継続するにはNADHからNAD⁺が再生される必要がある。我々が良く知る方法の一つがピルビン酸を乳酸へ変換する事によりNADHからNAD⁺に再生する反応である。激しく運動すると筋肉痛になるのも、筋細胞中でATP生成に伴いNAD⁺を再生するために乳酸発酵しているからである。酵母などは乳酸ではなくピルビン酸からアルコールであるエタノールとCO₂を発酵生成する。

基質レベルのリン酸化はグルコース1分子当たり、2分子のATPしか生成しないが、電子伝達系を介した

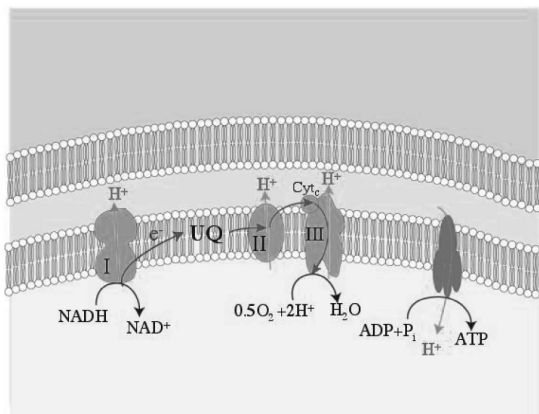
リン酸化は効率的で最大30分子のATPが1分子のグルコースから生産される。電子伝達系を介した効率の良いエネルギー生産方法は、生命の歴史の初期に出現したと考えられ、植物が光合成する際にも、我々が酸素を使って食物から大量のATPを作り出す際にも、この過程が中心的な役割を果たす。電子伝達系によるリン酸化はバクテリア等の原核生物全般と真核生物の小器官であるミトコンドリアや葉緑体により行われる。ミトコンドリアと葉緑体は原核生物が真核生物の祖先と細胞内共生して進化したと考えられており、電子伝達系によるリン酸化は原核生物固有の能力である。

原核細胞は2重の膜により囲まれている。内側は細胞膜、外側は細胞壁と呼ばれ生命の小宇宙を形成する。細胞膜の内側では生命の設計図であるDNA、タンパク質合成装置のRNAが存在し、様々な生化学的反応が行われる。電子伝達系によるリン酸化は細胞膜に埋め込まれたタンパク複合体が行う2段階からなる反応である。

第1段階 太陽光や食物の酸化からのエネルギーにより生成された高エネルギー電子が、膜にある一連の電子伝達体を伝わって運搬される。この過程で水素イオン(H⁺)が細胞膜を透過し、細胞膜と細胞壁間の空間に蓄積される。この細胞膜を挟んだ電気化学的水素イオン勾配が第2段階でのATP生成に活用される。

第2段階 電子伝達系と同様に細胞膜に埋め込まれるATP合成酵素は巨大なタンパク複合体で、水素イオンを細胞膜の外側から内側へ通過させるチャネルと、水素イオンがチャネルを通過するとローターのように回転する部分から成る。ローター部分にADPと無機リン酸の結合部位があり、回転で起こるタンパク質の構造変化によって力学的エネルギーが化学結合エネルギーに変換され、ADPと無機リン酸からATPが生成される。

この過程についてミトコンドリアを例に挙げもう少し具体的に説明する(第2図)。先述のグルコースが解糖する際生成するNADHは電子を細胞膜中にある電子伝達系に供与し、最終的に電子は酸素に受容される。電子伝達系は三つの大きな膜酵素複合体および二つの可動性電子伝達物質であるユビキノン(UQ)とシトクロムc(Cyt c)から成る。NADHの電子はNADH脱水素酵素複合体(complex I)中のフラビン



第2図 ミトコンドリアの電子伝達鎖を用いたリン酸化過程の概要図。

と呼ばれる酵素と鉄-硫黄から成る反応中心を持つ酵素を介してUQに渡される。次にシトクロムb-c₁複合体 (complex II) にUQから電子が渡り、その電子がシトクロムcを介して、シトクロム酸化酵素複合体 (complex III) に伝達される。シトクロム酸化酵素複合体は電子を酸素に受け渡し、酸素が水に還元される。それぞれの複合体が電子の受け渡しをする際、水素イオンが細胞膜外に放出される。細胞膜外に貯まった水素イオンはATP合成酵素を介して細胞膜内に流入し、ローター部分が回転してADPと無機リン酸からATPを生成する。酸素を電子受容体とした電子伝達系では、グルコースの化学的エネルギーの50%をATPに変換し、モーターなどの非生物学的エネルギー変換装置の効率 (<20%) に比べてきわめて高い。

光エネルギーを用いたATP生成過程 (光リン酸化) も化学物質の酸化と類似している。植物や藻類などが行う、酸素生成を伴う光合成の明反応において、クロロフィルの分子軌道電子が太陽光のエネルギーによって励起される。励起された高エネルギー電子が、膜酵素複合体と可動性電子伝達物質のキノンを伝達する際に細胞膜を挟んで水素イオン濃度勾配が生じ、ATP合成酵素によりATPが生産される。

岩石で呼吸する微生物のエネルギー獲得戦略

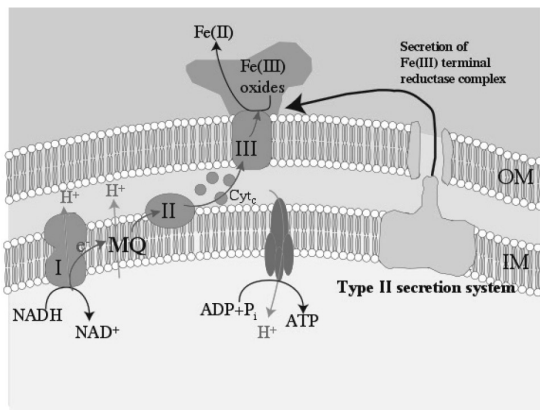
呼吸とは、化学的エネルギーを、電子伝達系経由でATP生産する過程の総称である。我々人間を例とすると食物を電子伝達系経由で酸素により酸化し

ATPを生産する過程である。細胞外部から摂取する高エネルギー電子を与える還元物質を電子供与体と呼び、電子伝達系の末端で電子の受け皿になる酸化物質を電子受容体と呼ぶ。真核生物は、食物である有機物と酸素しか呼吸に利用できないが、原核生物は無機物の水素や硫化水素を電子供与体として利用できるだけでなく、電子受容体としても硝酸、硫酸、二酸化炭素等の多様な化学物質を用いる事ができる。本稿では最近注目される岩石と放射性核種を用いた呼吸についてのみ言及し、原核生物の呼吸の多様性に関してはNealson and Popa (2005)による総説を参照頂きたい。

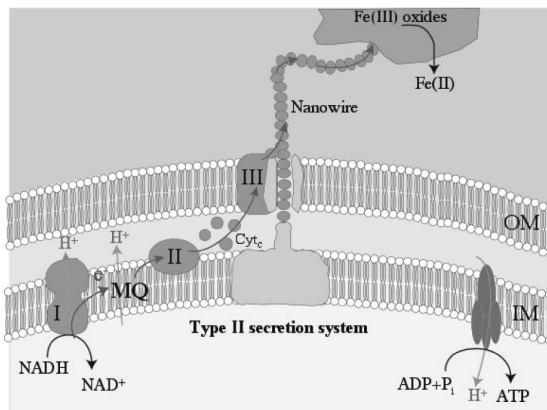
生物の効率的なエネルギー生産のためには、細胞膜中の電子伝達系を介して水素イオン濃度勾配が形成される必要がある。しかし、岩石等の固体を使って生物がエネルギー生産するためには、細胞外にある物質から細胞壁を通り越して細胞膜にある電子伝達系まで電子を出し入れしなければならない。それ故に固体を用いて呼吸できるならば、溶存物質を用いた電子伝達系とは明らかに異なる仕組みが存在する事が容易に予想される。金属硫化物の酸化溶解過程に微生物呼吸が関与する事は、鉱石のバイオリーチングでよく知られている。微生物が溶解したイオン種を活用している事は明白であるが、固体から直接電子を獲得しているかは不明である。

固体を使った呼吸様式の存在が疑いのない事実となったのは、溶解度が極めて低い三価鉄もしくは四価マンガン酸化物を電子受容体として呼吸する微生物の発見がきっかけである (Nealson and Saffarini, 1994)。金属還元微生物として知られるこれらの原核生物の中には、造岩鉱物として主要な磁鉄鉱を電子受容体として呼吸できる種類もいる。そのため、岩石で呼吸する微生物と筆者が好んで呼んでいる。

この発見以来、細胞外の固体である電子受容体に電子を伝達する機構は盛んに研究されてきた。まず、微生物が三価鉄と高い錯体形成能を有する有機化合物を分泌して三価鉄鉱物を溶解し、溶存の三価鉄-有機化合物錯体を細胞膜中の鉄還元酵素で還元する事が証明された。この過程の証明により電子伝達系酵素の直接的な固体状電子受容体の還元は否定的に考えられた。続いて、細胞壁の外側に三価鉄還元酵素が存在し、三価鉄と錯体形成するキレート剤が無くても微生物が鉄還元能を有する事が報告さ



第3図 Type II secretion system (タイプIIタンパク質分泌系)を介した三価鉄還元機構の概略図。Fe (III) terminal reductase complex (末端三価鉄還元酵素複合体)を分泌し細胞外の固体電子受容体であるFe (III) oxides (鉄酸化物)に電子を受け渡す。



第4図 三価鉄還元酵素から成るナノ導線を介した鉄還元機構の概略図。Nanowire (ナノ導線)を介して細胞外の固体電子受容体であるFe (III) oxides (鉄酸化物)に電子を受け渡す。

れ、電子伝達酵素による直接的な三価鉄鉱物の還元が再び支持された。

ここで「微生物は細胞内、すなわち細胞膜の内側で生合成された鉄還元酵素を2枚の膜を飛び越えて細胞壁の外側に輸送するのか?」という疑問が生じる。三価鉄還元する微生物に人為的に変異を導入し、鉄還元能を喪失した変異体を作成し、どの遺伝子に変異が入っているか調べる遺伝学的手法により、三価鉄還元呼吸に必須な遺伝子が特定された。その遺伝子はタイプIIタンパク質分泌系を構成するタンパク質であり、タイプIIタンパク質分泌系はこれまで植物の根に微生物が感染(植物細胞内に侵入)する際に植物の厚い細胞壁を溶かすタンパク質を分泌するために用いられると考えられていた。

鉄還元微生物は他の原核生物と同様に、まずNADHから高エネルギー電子を獲得して、NADH脱水素酵素複合体(complex I)－メナキノン(MQ)－シトクロムb-c₁複合体(complex II)を介して膜間のチトクロムcに電子を渡す(第3図)。その際に水素イオン勾配が形成されATPを生成する。チトクロムcに受け渡された電子はタイプIIタンパク質分泌系により細胞壁外側に運搬された鉄還元酵素複合体(complex III)に伝達し、最終的に細胞外の固体である三価鉄鉱物に到達する。上述の鉄還元機構についてDiChristina *et al.* (2005)に詳しく解説されており、興味のある読者はそちらを参照頂きたい。

三価鉄で呼吸するためには三価鉄と微生物細胞が接触し電子を供与する、または有機化合物を分泌して錯体形成により三価鉄鉱物を溶解すると考えられてきた。地圏は土壤、堆積岩および結晶岩で主に構成されるが、ごく表層を除いては貧栄養で電子供与体である有機物に乏しいと考えられている。この条件下でエネルギー対価の高い有機化合物を細胞自体に戻ってくる保証無しで分泌するのは効率の良いエネルギー生産法でない。従ってこの有機錯体による三価鉄呼吸は有機物に富む土壌中で行われる微生物のエネルギー獲得戦略である。また固結した堆積岩や結晶岩体中の空隙の大きさは、微生物細胞の大きさ(約1～5ミクロン)よりはるかに小さいサブミクロンのオーダーである場合が多く、サブミクロンの空隙中にある三価鉄鉱物は直接接触型の戦略を持つ微生物は呼吸に用いる事ができない。

このような一般的な地下環境で、微生物が固体三価鉄で呼吸する新たな方法が発見され、それは我々の想像を超える生物進化の産物であった(Gorby *et al.*, 2006)。三価鉄還元細菌を電子供与体である有機基質を最低限しか与えず培養すると、細胞内から細胞外に、犬のしっぽのような付属体(appendages)を複数本出している事が明らかになった。付属体は直径が約50～150nm、長さが数十ミクロンに及び、導電性がある事が原子間力顕微鏡および走査トンネル顕微鏡の観察により確認された。遺伝学的手法により、タイプIIタンパク質分泌系および三価鉄還元酵素の

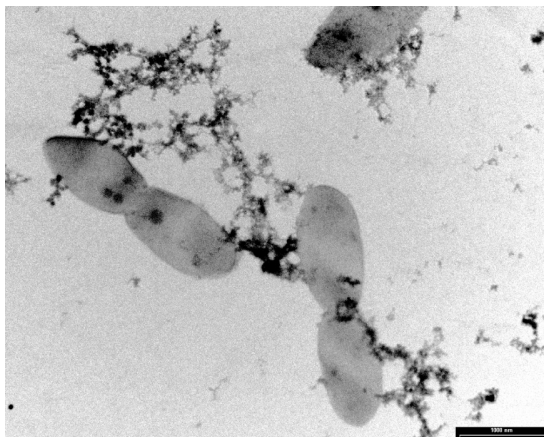
遺伝子に変異の入っている変異体は導電性の付属体を発現しないため、タイプIIタンパク質分泌系で三価鉄還元酵素をピンボールの様に分泌して導線上に配列させている事が明らかになった(第4図)。このナノ導線を用いた三価鉄還元によるエネルギー獲得法は岩石中のナノスケールの割れ目中の三価鉄鉱物でも呼吸できる可能性を強く示唆している。

放射性核種で呼吸する微生物のエネルギー獲得戦略

これまで触れてきた三価鉄還元微生物は六価ウランを電子受容体として呼吸できる事が知られている。三価鉄の場合は、細胞外の固体を用いるという点で通常の溶存基質を用いたリン酸化と異なった。六価ウランは四価に還元されると溶解度が著しく低下し、ウラン酸化物(UO_2)として沈殿する事が知られている。六価ウランは毒性が非常に高く、細胞内に入るとDNAやRNAなどと強く結合し生命活動を停止させる。それ故に、ウランで呼吸するためには細胞内で還元される酸素や他の主要な電子受容体と異なり、細胞膜と細胞壁の間もしくは膜外で電子のやり取りが行われる必要がある。さらに六価ウラン還元によるエネルギー生産には問題点がある。もし、細胞膜と細胞壁の間がウラン酸化物の沈殿物で満たされると、ATP合成酵素を駆動するための水素イオン勾配を物理的に形成できない。固体の電子受容体なら細胞膜と細胞壁の間に浸入しづらいが、溶存の六価ウランは容易に浸入する。第5図の透過型電子顕微鏡写真にはウラン還元微生物が還元沈殿したウラン酸化物を細胞外に放出している姿が映し出されている(Suzuki *et al.*, 2002)。未だ科学的データに基づくこのウラン還元呼吸の機構の説明はなされていないが、微生物がタイプIIタンパク質分泌系によりウラン還元酵素を細胞外に分泌して細胞膜と細胞壁の間に詰まったウラン酸化物を排泄して、ウランで呼吸している可能性が高いと考えられている。

終わりに

生命は、その活動のために外部エネルギーを利用可能な化学形態に変換する事を常に必要とする。誕生以来、生命は多様なエネルギー獲得様式を数十億



第5図 ウラン還元細菌による UO_2 ナノ粒子の膜間から膜外への放出。

年の進化の過程で確立し、その活動が現在の表層生命圏を形作っている。本稿で紹介した岩石および放射性核種で呼吸する微生物が、ナノ導線やタンパク質分泌系を用いて地圏のどの深度まで生命圏を掘り下げているか解明する事は、放射性廃棄物地層処分の分野だけでなく、生命進化の潜在能力および限界を知る上で重要である。

引用文献

- 中村桂子・松原謙一監訳(2004):細胞の分子生物学第4版. Newton Press, 1681p.
- Nealson, K.H. and Popp, R. (2005) : Introduction and overview: What do we know for sure? *Am. J. Sci.*, 305, 449-466.
- Nealson, K.H. and Saffarini, D. (1994) : Iron and manganese in anaerobic respiration - environmental significance, physiology, and regulation. *Annu. Rev. Microbiol.*, 48, 311-343.
- DiChristina, T.J., Fredrickson, J.K. and Zachara, J.M. (2005) : Enzymology of electron transport: energy generation with geochemical consequences. *Rev. Mineral. Geochem.*, 59, 27-52.
- Gorby, Y.A., Yania, S., McLean, J.S., Rosso, K.M., Moyles, D., Dohnalkova, A., Beveridge, T.J., Chang, I.S., Kim, B.H., Kim, K.S., Cullley, D.E., Reed, S.B., Romine, M.F., Saffarini, D.A., Hill, E.A., Shi, L., Elias, D.A., Kennedy, D.W., Pinchuk, G., Watanabe, K., Ishi, S., Logan, B., Nealson, K.H. and Fredrickson, J.K. (2006) : Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 11358-11363.
- Suzuki, Y., Kelly, S.D., Kemner, K.M. and Banfield, J.F. (2002) : Radionuclide contamination-nanometer-size products of uranium bioreduction. *Nature*, 419, 134-134.

SUZUKI Yohey and SUKO Takeshi (2007) : Microbial Energy Generation through Respiration with Rocks and Radionuclides.

<受付: 2006年10月10日>