



**最終普遍共通祖先 LUCA の炭素代謝経路を支配する新たな速度論的仮説  
～速度論的競合が生み出す炭素代謝経路の多様性～**

**<概要>**

岡山大学異分野基礎科学研究所の墨智成准教授と豊橋技術科学大学 IT 活用教育センターの原田耕治准教授は、始原的で最終普遍共通祖先（LUCA）（図1）に近いとされる独立栄養嫌気性好熱細菌（注1）*Thermosulfidibacter takaii* の炭素代謝に関する反応速度論的ネットワークモデル（注2）を開発し、従来酸化方向にしか反応が進まないと考えられてきたクエン酸合成酵素に依存した *T. takaii* の TCA 回路が還元方向にも反応が進むことを反応速度論的シミュレーションにより実証しました。

さらに LUCA の炭素代謝経路として提案されている、還元的トリカルボン酸（rTCA）回路（注3）と還元的アセチルコエンザイム A（rACoA）経路が共存する条件では、互いに競合が起こり、rTCA 回路の一部のフラックス（化学反応の流れ）が強く抑制された部分還元的 TCA 回路が出現することをシミュレーション実験により実証しました。我々は「rTCA 回路と rACoA 経路の競合により新たな炭素代謝経路が出現する」を速度論的仮説として提案し、この仮説が KEGG データベースに登録されている深部分岐細菌および古細菌において成立していることをシミュレーション実験により確認しました。

**<詳細>**

**背景：**最終普遍共通祖先 LUCA（Last Universal Common Ancestor）は、その起源を約 40 億年前にまでさかのぼる単細胞生物であり（図1）、現存する細菌および古細菌の遺伝子の解析と子孫の辿った進化の歴史を解析することで、LUCA の遺伝子が特定されています [1]。それによると LUCA は、今日でも地球上に存在する熱水噴出孔に似た環境、つまり酸素がなく非常に高温で、鉱物の豊富な極限環境において、 $H_2$  と  $CO_2$  から還元的アセチルコエンザイム A（rACoA）経路（Wood-Ljungdahl 経路とも呼ばれる）を使って化学合成独立栄養成長をしていたと推定されています [1]。一方、代謝フラックスバランス解析（注4）に基づく系統代謝分析からは、LUCA あるいは LUCA を導く生物学的原始システムが、rACoA 経路および還元的トリカルボン酸（rTCA）回路が共存した冗長的代謝ネットワークを持つことが、Braakman らによって提案されています [2]。

**研究成果の内容：**TCA 回路において、クエン酸合成酵素によりアセチル CoA とオキサロ酢酸からクエン酸を合成する酸化反応は自発的に進む反応であることが知られています。そのため、この反応を逆方向（還元方向）へ進めるには、アデノシン三リン酸（ATP）の加水分解

解反応とクエン酸リアーゼの働きが必須であると考えられてきました。ところが、*T. takaii* 並びに *Desulfurella acetivorans* は、従来酸化方向にしか反応が進まないと考えられてきたクエン酸合成酵素から成る TCA 経路を有しているにもかかわらず、還元的に TCA 回路を使って CO<sub>2</sub> 固定をしながら独立栄養成長出来ることを、二つのグループがほぼ同時に実証しました [3、4]。墨准教授および原田准教授は、この興味深い現象がどのように実現されているのか疑問を持ち、計算機シミュレーションによる解明を目指し、*T. takaii* のゲノム解析によって特定された炭素代謝に関与する酵素を考慮した反応速度論的ネットワークモデルを開発しました (図 2)。そして、還元フェロドキシン (Fd<sub>x<sub>red</sub></sub>) などの強力な還元力および、逆反応の生成物 (アセチル CoA およびオキサロ酢酸) の濃度を十分低下させることにより、*T. takaii* で確認された、クエン酸リアーゼによらない還元的 TCA 反応が可能であることをシミュレーション実験により実証しました (図 2 a)。

次に我々は Braakman らが LUCA の炭素代謝モデルとして提案した rTCA 回路と rACoA 経路の共存 [2] が仮に単一細胞内で実現する場合、rTCA 回路にどのような影響が現れるのか調査しました。すると予想外にも、rACoA 経路からの ACoA 流入により、rTCA 回路のフラックスが部分的に著しく低下することが明らかとなりました (図 2 b)。我々はこの知見に基づき「rACoA 経路と TCA 回路が共存し、rACoA からの ACoA フラックスが TCA 回路にインプットされるとき、両経路は競合し、部分的に抑制された TCA 回路が出現する」とする速度論的仮説を提案しました。

我々はこの速度論的仮説の正しさを KEGG 遺伝子データベースに登録されている細菌、古細菌に対して検証しました。まず、KEGG 遺伝子データベースから rACoA 経路が存在し、rTCA 回路との競合が予想される細菌・古細菌類を集めたグループ (Type I) と、rACoA 経路が不在で rTCA 回路との競合が起きないと予想される細菌・古細菌類を集めたグループ (Type II) に分類しました。そして KEGG 遺伝子データベース情報をもとに、細菌/古細菌の炭素代謝モデルを構築し、シミュレーション実験を行いました。その結果、Type I のグループでは競合を回避した部分的 TCA 回路のみが出現し、Type II のグループでは完全な rTCA 回路が出現する事を、以下の 1、2、3 で確認し、速度論的仮説の正しさを実証しました。

1. Type-I に分類された細菌・古細菌のグループでは、速度論的仮説が示唆するように完全な rTCA 回路は現れず、部分還元的および部分酸化的 TCA 回路が表現型として出現することを確認しました (図 3、A1、B1、B2)。LUCA は深部分岐細菌および古細菌に共通な表現型と考えられるので、部分還元的 TCA (図 3、A1、B1) が LUCA の炭素代謝システムとして有力です。
2. Type-II に分類された細菌のグループでは、速度論的仮説が示唆するように完全な rTCA 回路 (図 3、B3) が出現しました。一方、還元的グリシン (rGly) 経路 [5] と rTCA の共存する細菌ではシミュレーションの結果、部分還元的 TCA 回路 (図 3、B4) が現れました。この場合、rACoA 経路はありませんが、rGly 経路から ACoA 流入があるため、化学反応同士の競合が起こり、部分還元的 TCA 回路が現れたと考えられます。カルビン回路

(Calvin-Benson-Bassham (CBB) 回路) が共存する場合は、酸化的 TCA 回路 (図 3、B5) が化学反応同士の競合による効率低下を回避する表現型として出現します。

3. Type-II に分類された古細菌のグループでは、速度論的仮説が示唆するように完全な酸化的 TCA 回路 (図 3、A2) が出現しました。一方、CO<sub>2</sub> 固定経路 (注 5) であるジカルボキシレート/4-ヒドロキシ酪酸 (DC/4-HB) 経路あるいは 3-ヒドロキシプロピオン酸/4-ヒドロキシ酪酸 (3-HP/4-HB) 経路が共存する古細菌では、rCoA 経路以外から ACoA 流入があるため rTCA 回路上に著しい反応速度の低下が現れると予想されますが、実際には、rTCA フラックスは DC/4-HB または 3-HP/4-HB 経路を迂回するので、同化反応の低下に至りませんでした (図 3、A3)。

#### <今後の展望>

本研究で見出された「rCoA 経路と TCA 回路の競合による新たな炭素代謝経路の出現」という考え方は、微生物のゲノム情報から推定される炭素代謝経路と実際作動している炭素代謝経路には大きな違いがある可能性を示唆しました。今後、システム生物学に基づく代謝デザイン等においても、反応速度論的アプローチの重要性が再認識されると共に、バイオテクノロジーにおける新たな展開にも貢献してゆくことが期待されます。

#### <研究資金>

本研究は、独立行政法人日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費補助金 (JP20K05431) の助成を受け実施しました。

#### <論文情報>

論文名 : Kinetics of the ancestral carbon metabolism pathways in deep-branching bacteria and archaea

掲載誌 : *Communications Chemistry*

著者 : Tomonari Sumi, Kouji Harada

DOI : 10.1038/s42004-021-00585-0

URL : <https://doi.org/10.1038/s42004-021-00585-0>

#### <参考文献>

1. Weiss MC, Sousa FL, Mrnjavac N, Neukirchen S, Roettger M, Nelson-Sathi S, et al. The physiology and habitat of the last universal common ancestor. *Nat Microbiol.* Nature Publishing Group; 2016;1: 16116–8. doi:10.1038/nmicrobiol.2016.116
2. Braakman R, Smith E. The Emergence and Early Evolution of Biological Carbon-Fixation. *PLoS Comput Biol.* Public Library of Science; 2012;8. doi:10.1371/journal.pcbi.1002455
3. Nunoura T, Chikaraishi Y, Izaki R, Suwa T, Sato T, Harada T, et al. A primordial and reversible

- TCA cycle in a facultatively chemolithoautotrophic thermophile. *Science*. 2018;359: 559–563. doi:10.1126/science.aao3407
4. Mall A, Sobotta J, Huber C, Tschirner C, Kowarschik S, Bačnik K, et al. Reversibility of citrate synthase allows autotrophic growth of a thermophilic bacterium. *Science*. American Association for the Advancement of Science; 2018;359: 563–567. doi:10.1126/science.aao2410
  5. Sánchez-Andrea I, Guedes IA, Hornung B, Boeren S, Lawson CE, Sousa DZ, et al. The reductive glycine pathway allows autotrophic growth of *Desulfovibrio desulfuricans*. *Nature Communications*. Nature Publishing Group; 2020;11: 5090–12. doi:10.1038/s41467-020-18906-7

### <補足・用語説明>

#### 注1：独立栄養嫌気性好熱細菌

独立栄養生物とはCO<sub>2</sub>などの無機化合物のみを炭素源として、無機化合物または光をエネルギー源として成長する生物です。嫌気性生物は、増殖に酸素を必要としない生物であるので、本研究で研究対象とした独立栄養嫌気性好熱細菌 *Thermosulfidibacter takaii* は、酸素を必要とせず、高温環境下（生育限界温度が55°C以上）でCO<sub>2</sub>を炭素源として生育する細菌です。超好熱かつ嫌气的環境は生命誕生当初の地球に似ていることから、独立栄養嫌気性好熱菌は原始生物に近いと考えられています。実際、最終普遍共通祖先 LUCA も同様なライフスタイルを持つと推定されています。

#### 注2：反応速度論的ネットワークモデル

本研究では、*T. takaii* のゲノム解析によって特定された酵素に対して、生化学実験により報告されている反応速度の反応物および生成物濃度依存性を定量的に再現する反応速度モデルを構築し、それらを考慮して炭素代謝で生じる化学反応回路をシミュレートするための「反応速度論的ネットワークモデル」を開発しました。本モデルでは、少なくとも各酵素反応における平衡定数が考慮されているため、反応物と生成物の濃度に応じた可逆的な化学反応を再現でき、反応ギブスエネルギーによって規定される反応方向と矛盾しない化学反応フラックスを与えるのが特筆すべき点で、この特性は、注4の「代謝フラックスバランス解析」と質的に異なる利点の一つとして挙げられます。

#### 注3：還元的トリカルボン酸（rTCA）回路

トリカルボン酸（TCA）回路は高等学校の生物学の教科書ではクエン酸回路と呼ばれており、酸素呼吸を行う生物全般に見られる好氣的代謝で最も重要な生化学反応回路です。解糖系におけるグルコースの異化によるエネルギー産生反応の生成物として与えられるピルビン酸が TCA 回路に組み込まれると、酸化方向への反応により、極めて効率の良い

エネルギー生産が行われます。一方、有機物を炭素源として用いない一部の独立栄養生物も TCA 回路を所有し、この回路でエネルギー物質を消費しながら CO<sub>2</sub> を有機物へ取り込む炭素固定を行うことができます。この同化反応を行う TCA 回路を、還元的トリカルボン酸 (rTCA) 回路と呼びます (図 2)。

#### 注 4 : 代謝フラックスバランス解析

ゲノム解析に基づく代謝ネットワークの情報から、代謝フラックスを定量的に予測する方法で、注 2 の反応速度論的モデリングと異なり、生化学実験によって与えられる反応速度論的データに基づく反応速度式の決定を回避することが可能となります。生化学の分野では、酵素反応に対する反応速度式の決定は、それだけでも一つの論文として研究成果を発表することもある大変な仕事です。一方、代謝フラックスバランス解析と呼ばれる方法では、代謝フラックスは定常である」という仮定を課すことにより、この煩雑な作業を回避し、モデル内の全ての代謝物質を生成するフラックスと消費するフラックスがバランスした状態を探索することが出来ます。しかしながら、代謝フラックスを一意的に決定するためには、例えば「細胞増殖速度を最大化する」などの付加条件をさらに加える必要があり、それにより観測されている代謝状態を定量的に予測できる場合があることが、これまでの研究で示されています。

#### 注 5 : CO<sub>2</sub> 固定経路

CO<sub>2</sub> 固定とは、CO<sub>2</sub> として存在する炭素を、エネルギーを消費しながら有機物質の形に変換して、生体内に取り込む過程のこと。現在、CO<sub>2</sub> 固定を行う 7 つの経路の存在が知られている。

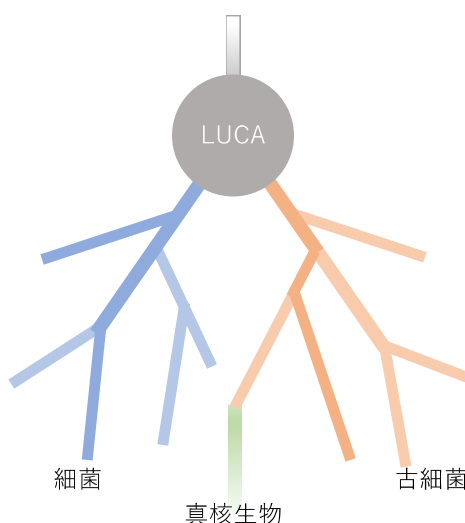


図 1. 最終普遍共通祖先 LUCA (Last Universal Common Ancestor) から分岐した細菌

および古細菌並びに真核生物の模式的な系統発生図

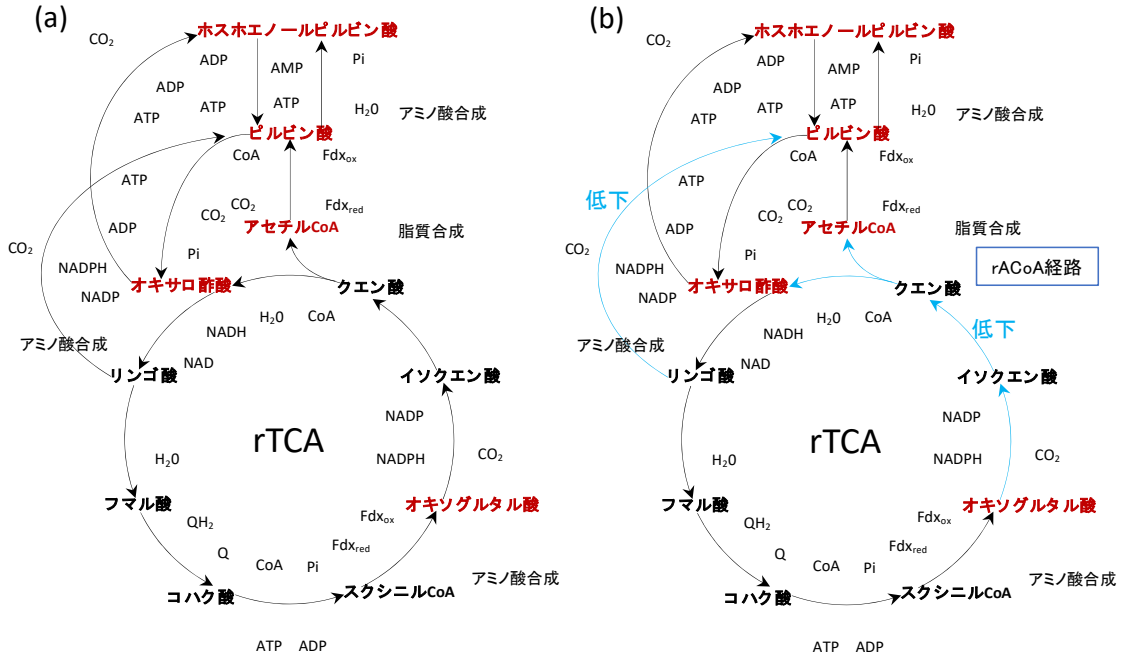


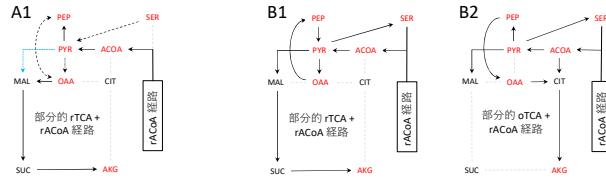
図 2. *T. takaii* に対する炭素代謝ネットワークモデルを用いたシミュレーションによって得られた定常状態における反応の流れやすさ。同化作用における 5 つの普遍的な前駆体 (赤字) は生合成反応で消費されます。(a) 独立栄養成長時の *T. takaii* における rTCA 回路における炭素代謝フラックス。(b) rACoA 経路が共存した場合を仮定した, ACoA 流入を考慮した TCA 回路フラックス。水色の矢印は ACoA 流入において生じたフラックスとの競合によって著しく低下したフラックスを示します

# LUCA

## Type-I 進化過程

古細菌

細菌



## Type-II 進化過程

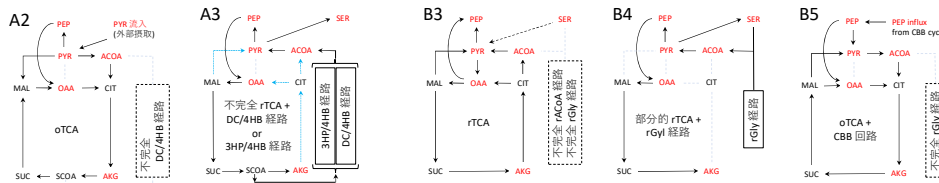


図 3. 深部分岐細菌および古細菌に対してシミュレーション実験で出現した炭素代謝経路。Type-I および Type-II はそれぞれ、rACoA 経路と TCA 回路が共存する場合および共存しない場合に対応しています。

本件に関する連絡先

広報担当：総務課広報係 岡崎・高柳

TEL:0532-44-6506 FAX : 0532-44-1270

Email: [kouho@office.tut.ac.jp](mailto:kouho@office.tut.ac.jp)