

令和 6 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14025

研究課題名(和文) 祖先的な亜硫酸生成反応の起源に迫る酵素の探索

研究課題名(英文) Exploration of a key enzyme to understand origin of ancestral sulfite-producing reactions

研究代表者

渡邊 友浩 (Watanabe, Tomohiro)

北海道大学・低温科学研究所・准教授

研究者番号：80731968

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：初期の地球生命のエネルギー代謝には、亜硫酸が関与していた可能性がある。近年、一部の硫黄酸化菌において、ヘテロジスルフィド還元酵素様の酵素複合体(以下、sHdr)と正体不明の酵素が、異化的な亜硫酸合成反応を推進する可能性が提案された。本研究では、この未知酵素の正体を検討した。Sulfuricellaceae科の8種の硫黄酸化菌をモデルとして、ゲノムとトランスクリプトームを比較した結果、亜硫酸合成を推進する未知酵素の存在は否定された。したがって、sHdrは未知のメカニズムによって亜硫酸合成反応を推進する可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究以前は、ヘテロジスルフィド還元酵素様の酵素複合体(sHdr)が単独で亜硫酸を合成することは難しいと考えられており、sHdrと一緒に反応を推進する未知酵素の存在を予想した。しかし本研究の結果は未知酵素の存在を否定した。このことは、sHdrが単独で亜硫酸合成反応を推進する可能性を支持しており、この反応メカニズムは既知の酵素反応では説明できない、すなわち新たな亜硫酸合成反応メカニズムの存在を示唆する。sHdrによる未知の亜硫酸合成反応を証明してその進化起源を解明することで、亜硫酸を用いるエネルギー代謝の起源および祖先的な微生物エネルギー代謝の理解が大きく前進する。

研究成果の概要(英文)：There is a possibility that sulfite was involved in the primitive microbial energy metabolism. Recently, it has been proposed that the heterodisulfide reductase-like enzyme complex of some sulfur-oxidizing bacteria (sHdr) and an unidentified enzyme may drive the dissimilatory sulfite synthesis reaction. In this study, we investigated the identity of this unknown enzyme. By comparing the genomes and transcriptomes of seven sulfur-oxidizing bacteria from the family Sulfuricellaceae, we found no evidence for the presence of an unknown enzyme promoting sulfite synthesis. Therefore, it is possible that sHdr drives the sulfite synthesis reaction by an unknown mechanism.

研究分野：微生物生態学

キーワード：生命進化 微生物 エネルギー代謝 亜硫酸 硫黄酸化 ヘテロジスルフィド還元酵素 トランスクリプトーム スルファン硫黄

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

初期地球の生命は亜硫酸を使ってエネルギー代謝を駆動していたと考えられている。このため、亜硫酸を使うエネルギー代謝を推進するシロヘム含有酵素は、生命進化を解明する鍵として長年に渡って研究されてきた。一方で近年、一部の硫黄酸化菌がシロヘム含有酵素を使わずに亜硫酸を中間体とするエネルギー代謝を推進する可能性が示された。提案されているエネルギー代謝の仮説では、ヘテロジスルフィド還元酵素様の酵素複合体 (sHdr) と未知酵素が亜硫酸を合成すると考えられている。しかし、sHdr の触媒反応も未知酵素の正体も未だに不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、一部の硫黄酸化菌のエネルギー代謝において、sHdr と一緒に亜硫酸の合成反応を推進する可能性がある未知酵素を探索および同定することである。

3. 研究の方法

硫黄酸化菌から構成される *Sulfuricellaceae* 科をモデルとして、本科の基準株ゲノム (4 属 8 種) を比較解析に用いた。また、本科の *Sulfuriferula plumbophilus* Gro7 株、*Sulfuriferula multivorans* TTN 株、*Sulfuriferula thiophila* mst6 株、*Sulfuriferula nivalis* SGTM 株、*Sulfurirhabdus autotrophica* BiS0 株の培養条件を最適化することで、トランスクリプトーム解析を実現した。培養過程の硫黄化学種はイオンクロマトグラフィーと比色法で定量した。Gro7 株は電子供与体として水素ガス、チオ硫酸、テトラチオン酸で培養し、対数増殖期および定常期のトランスクリプトームを解析した。その他の株はテトラチオン酸で培養し対数増殖期のトランスクリプトームを解析した。合計 27 のトランスクリプトームを比較することで、硫黄を酸化してエネルギーを保存する代謝経路を予測した。Gro7 株の各培養条件のトランスクリプトームを DESeq2 で解析した。

4. 研究成果

Sulfuricellaceae 科の硫黄酸化菌のトランスクリプトーム解析を実現するために、培養条件を最適化した (図 1)。

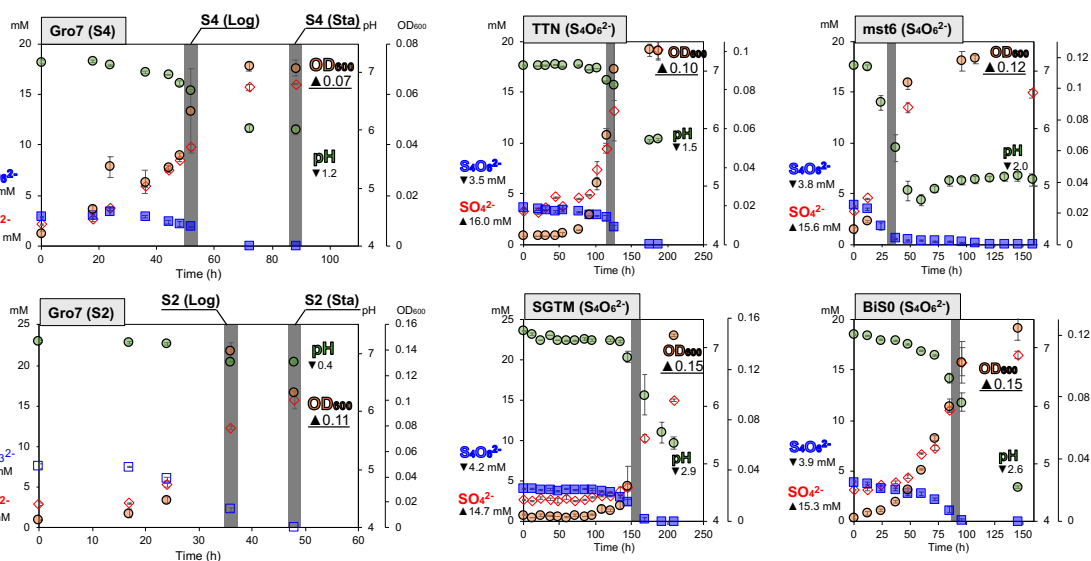


図 1. *Sulfuricellaceae* 科の硫黄酸化菌の増殖曲線。トランスクリプトーム解析のために細胞を回収した培養時間を灰色のボックスで示し、硫黄化学種の濃度、OD₆₀₀ および培地 pH の変化値を示した。

トランスクリプトーム解析の結果から、エネルギー代謝経路の全貌を推定することに成功した。今回トランスクリプトームを解析した硫黄酸化菌は共通して、①電子供与体のチオ硫酸 ($S_2O_3^{2-}$) あるいはテトラチオン酸 ($S_4O_6^{2-}$) を硫黄リレータンパク質に結合してスルファン硫黄 (R-S) として細胞内に輸送し、②スルファン硫黄を酸化して亜硫酸 (HSO_3^-) を生じ、③亜硫酸を酸化して硫酸を細胞外に放出されると考えられる (図 2)。本研究では、②の亜硫酸合成反応を推進する未知酵素の遺伝子を発現変動解析によって探索した (図 3)。探索条件は、「亜硫酸を生じる培養条件でのみ発現量が増加する遺伝子」かつ、「エネルギー代謝に関わる遺伝子と発現量が同程度の遺伝子」かつ、「sHdr 遺伝子を持つ硫黄酸化菌ゲノムに共通する遺伝子」とした。まず比較ゲノム解析によって *Sulfuricellaceae* 科の sHdr をコードする硫黄酸化菌から約 200 のユニークな遺伝子を特定した。そのうち、亜硫酸を生じる際にその発現量を増加した遺伝子は 50/200 であ

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 野村朋史、渡邊友浩、福井学
2. 発表標題 硫黄酸化細菌におけるテトラチオン酸酸化経路の検討
3. 学会等名 日本微生物生態学会第35回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomohiro Watanabe, Tomofumi Nomura, Jackson Tsuji, Manabu Fukui
2. 発表標題 Transcriptomic analysis of tetrathionate oxidation by freshwater sulfur-oxidizing bacteria in the family Sulfuricellaceae
3. 学会等名 6th International Symposium on Microbial Sulfur Metabolism (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------