

## バイオ燃料を生産する酵素が効率的に働く仕組みを解明

### 1. 発表者：

工藤 恒(東京大学大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系 学振特別研究員)  
林 勇樹(東京大学大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系 助教)  
新井 宗仁(東京大学大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系 教授)

### 2. 発表のポイント：

- ◆ラン藻が持つ酵素の中から、軽油に近い燃料を効率的に生産できる酵素を同定しました。
- ◆この酵素を構成しているアミノ酸の中から、酵素のはたらきを効率的にする上で重要なアミノ酸を見出しました。
- ◆本成果は、再生可能エネルギーであるバイオ燃料の生産の効率化に応用可能と期待されます。

### 3. 発表概要：

藻類の一種であるラン藻(注1)は、酵素(注2)を用いて軽油に近い性質の燃料を生産できます。しかしラン藻にはさまざまな種類があり、どのラン藻に由来する酵素が効率的に燃料を生産できるのかは未解明でした。また、この酵素のはたらきを効率的にするための仕組みは不明でした。

東京大学大学院総合文化研究科の工藤恒学振特別研究員と新井宗仁教授らの研究グループは、さまざまなラン藻に由来する酵素の効率を比較し、軽油に近い燃料を効率的に生産できる酵素を同定しました。また、この酵素を構成しているアミノ酸の一部を変えたときに、働く効率がどのように変化するかを調べました。その結果、酵素のはたらきを効率的にする上で重要なアミノ酸を見出しました。本研究の成果は、今後、再生可能エネルギーであるバイオ燃料の生産の効率化に応用できると期待されます。

本研究成果は2019年4月17日付でオープンアクセス誌「バイオテクノロジー・フォー・バイオフューエルズ」オンライン版に掲載されました。

### 4. 発表内容：

#### ①研究背景

現在のエネルギー消費の主流は石油、石炭、天然ガスなどの化石燃料ですが、これらは将来、枯渇する恐れがあります。これに対し、一度使用しても短期間で再生でき、枯渇することのないエネルギーを再生可能エネルギーといい、化石燃料に代わるエネルギーとして注目されています。生物に由来する物質を燃料として用いる「バイオ燃料」も、再生可能エネルギーの一つです。植物や微生物の中には、軽油や重油の主成分である炭化水素(アルカンやアルケン)を生産できるものがあります。特に、藻類の一種であるラン藻という微生物は、大気中の二酸化炭素を材料にして光合成を行い、軽油の主成分である炭化水素(炭素数15と17)を生産することから、地球温暖化の防止にも貢献しうるバイオ燃料の生産源として期待されています(図1)。

近年、ラン藻はアルデヒド脱ホルミル化オキシゲナーゼ(ADO)という酵素(タンパク質)を用い、生体内にあるアルデヒドを原料にして炭化水素を生産することが明らかになりました。炭化水素を生産できない微生物に酵素ADOを導入すると、その微生物が炭化水素を生産でき

るようになることから、酵素 ADO はバイオ燃料生産において重要な酵素です。この酵素が働く効率（活性）を高めることができれば、バイオ燃料の生産を効率化できると期待されます。

酵素 ADO は、20 種類のアミノ酸が合計で約 230 個、決められた順番で鎖のようにつながってできています。このアミノ酸の並び方を、アミノ酸配列と呼びます。アミノ酸配列が異なると、酵素の活性も異なる可能性があります。また、ラン藻にはさまざまな種類があり、それぞれが持つ酵素 ADO のアミノ酸配列は少しずつ異なっています。すなわち、酵素 ADO にもさまざまな種類があり、その中には活性の高い ADO と活性の低い ADO が存在すると考えられます。しかし、どのラン藻に由来する酵素 ADO が高い活性を持つのかは未解明でした。また、酵素 ADO のはたらきを効率的にするための仕組みは不明でした。

## ②研究内容

本研究グループは、まず、代表的な 10 種類のラン藻を選び、それらが持つ酵素 ADO の活性を正確に測定しました（図 2）。その結果、ラン藻 *Synechococcus elongatus* PCC 7942 に由来する ADO が最も高い活性を有することを見出しました（図 2 の A）。一方、ラン藻 *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 に由来する ADO の活性は低い値でした（図 2 の I）。それぞれの ADO が持つアミノ酸の並び方は 37% も異なっており、この並び方の違いが酵素活性の違いを決めていると考えられます。

そこで次に、活性の低い ADO のアミノ酸配列を、活性の高い ADO のアミノ酸配列に近づける実験を行いました。具体的には、低活性の ADO が持つアミノ酸配列の中の 1 か所を、高活性の ADO が持つアミノ酸に置き換えた変異体を作りました。このとき、アミノ酸の置換によって活性が向上すれば、置換したアミノ酸は、酵素 ADO の活性を高める上で重要なアミノ酸であると言えます。アミノ酸を置換する場所を変えて 37 個の変異体を作製し、それぞれの活性を測定した結果、20 個の変異体で活性の向上が見られました。すなわち、酵素 ADO の活性を高める上で重要なアミノ酸を 20 個同定することに成功しました。

これらの 20 か所を酵素 ADO の立体構造上に表示したところ、酵素活性を高める上で重要なアミノ酸は、3 つの領域に分かれて存在することがわかりました（図 3）。領域 1 は、酵素 ADO が触媒反応を行う際の反応中心に近い領域でした。また領域 2 は、原料となるアルデヒドが酵素の内部に入り込む際の入口でした。さらに領域 3 は、らせん状のヘリックス構造をつなぐ領域であり、その領域が蝶つがいのように働いて、領域 2 にある原料の入口の開閉をコントロールすることが示唆されました。このように、酵素がはたらく上で重要な領域に適切なアミノ酸を配置することにより、酵素 ADO のはたらきが効率的になることが明らかになりました。

## ③研究の意義・今後の展望

本研究で同定された高活性の酵素 ADO は、軽油に近い燃料を大量生産する上で有用と考えられます。また、明らかになった仕組みに基づいて、さらに高活性の ADO 変異体を創出できることが期待されます。このように、本研究の成果は今後、再生可能エネルギーであるバイオ燃料の生産の効率化に応用可能と期待されます。

本成果は、日本学術振興会の科学研究費補助金と公益財団法人発酵研究所の支援を受けたものです。

## 5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Biotechnology for Biofuels*」 (2019年4月17日 オンライン)

論文タイトル：Identification of non-conserved residues essential for improving the hydrocarbon-producing activity of cyanobacterial aldehyde-deformylating oxygenase

著者：Hisashi Kudo, Yuuki Hayashi, Munehito Arai\*

DOI 番号：10.1186/s13068-019-1409-8

アブストラクト URL：

<https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-019-1409-8>

## 6. 問い合わせ先：

東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系

教授 新井 宗仁 (あらい むねひと)

## 7. 用語解説：

注1) ラン藻

藻類の一種であり、シアノバクテリアともいう。光合成をして酸素を生み出す微生物である。海水や淡水などに生息する。植物がもつ葉緑体の起源と考えられている。

注2) 酵素

化学反応を触媒するタンパク質のこと。

8. 添付資料：

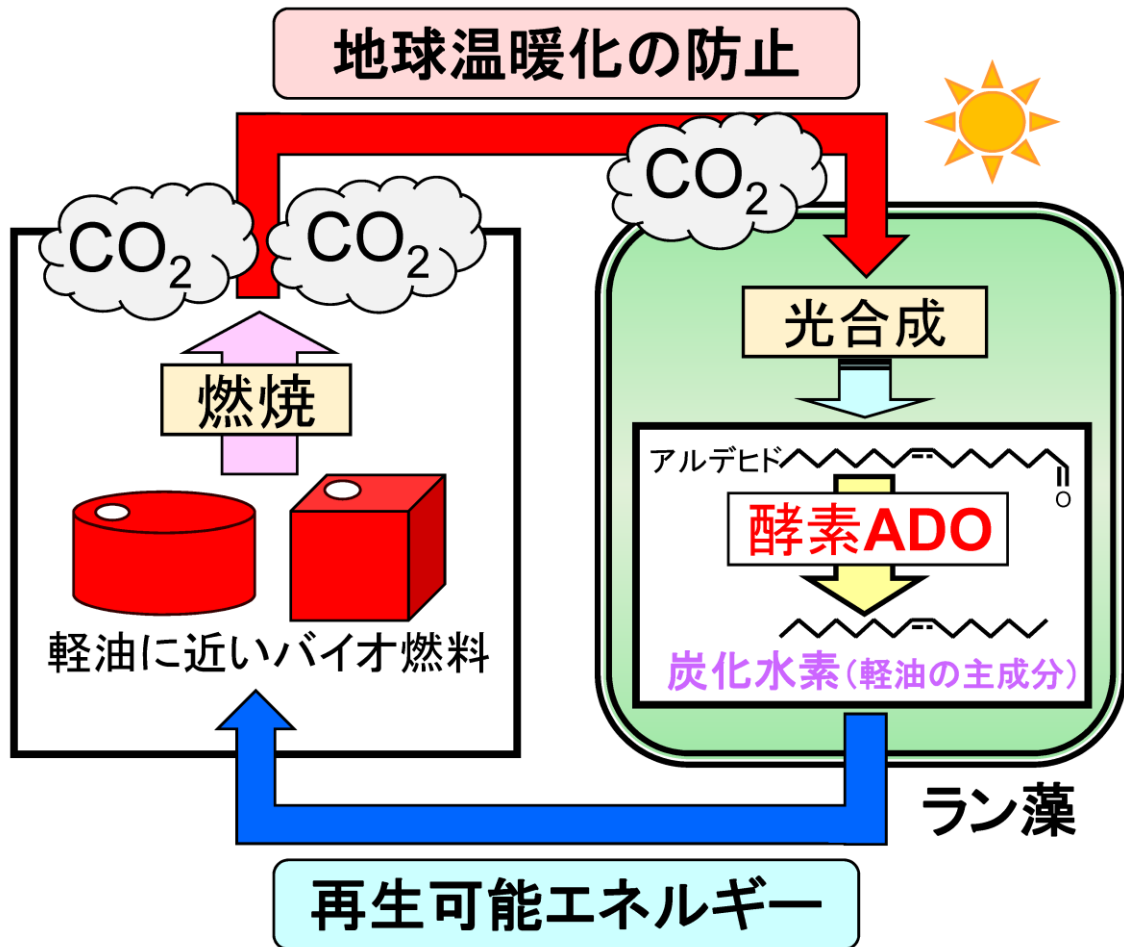


図1. ラン藻が生産するバイオ燃料は、地球温暖化の防止に貢献しうる再生可能エネルギーとして期待されている。ラン藻は大気中の二酸化炭素を元にして光合成を行うとともに、酵素ADOを用いて、内部にあるアルデヒドを軽油の主成分である炭化水素に変換する。この炭化水素は、軽油に近い性質のバイオ燃料として利用できる。また、燃焼によって発生した二酸化炭素は、再びラン藻中で燃料に変換される。

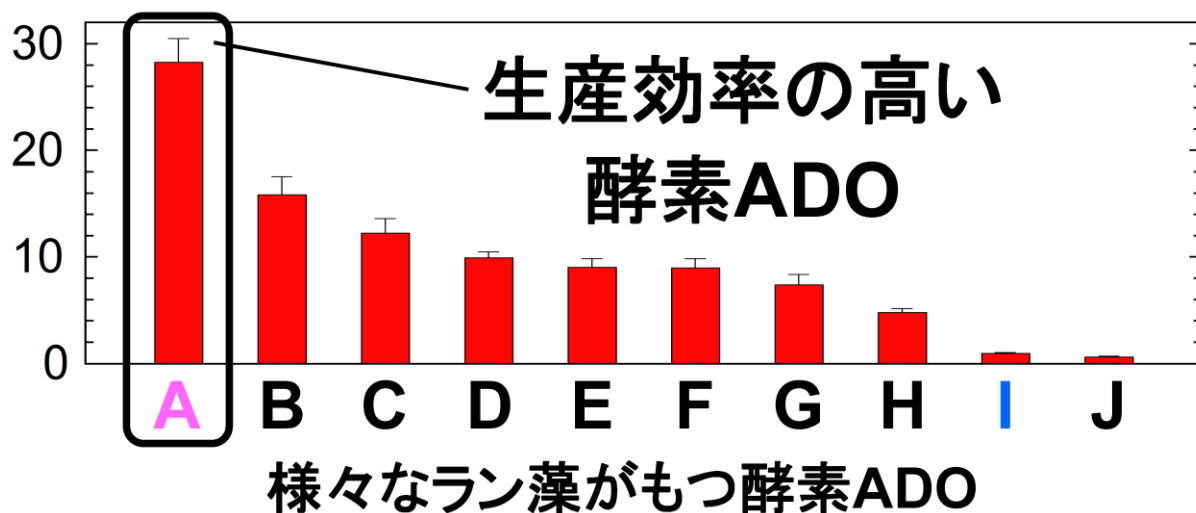
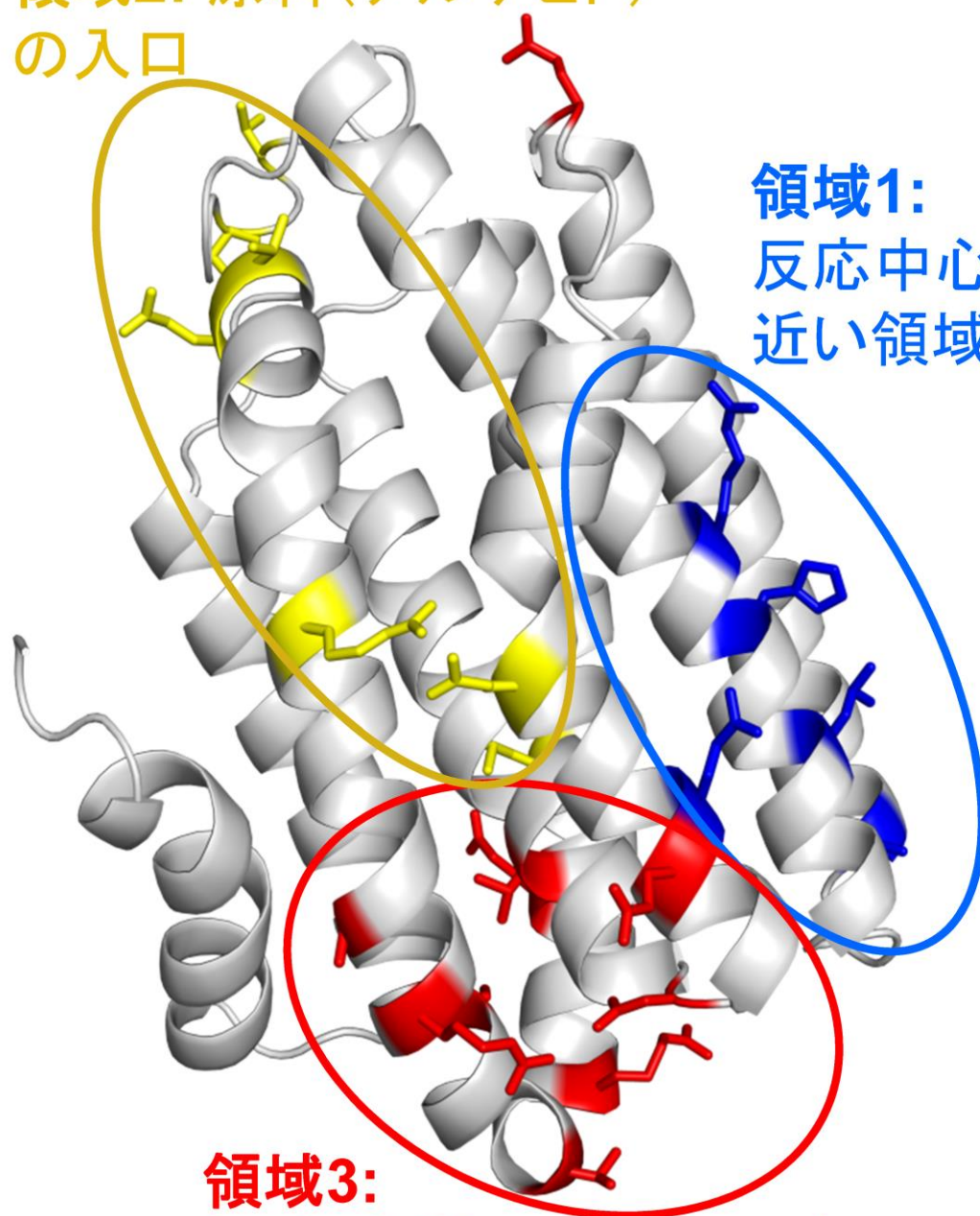


図2. さまざまなラン藻に由来する酵素 ADO の生産効率 (活性) を比較した結果。横軸の記号 A~J は、下記のラン藻が持つ酵素 ADO を表す。縦軸の値は、活性の低い ADO (横軸の I) の活性を 1 として表した。A, *Synechococcus elongatus* PCC 7942 ; B, *Synechocystis* sp. PCC 6803 ; C, *Prochlorococcus marinus* str. MIT 9313 ; D, *Nostoc punctiforme* PCC 73102 ; E, *Planktothrix agardhii* NIVA-CYA 126/8; F, *Cyanothece* sp. PCC 7425; G, *Microcystis aeruginosa* PCC 9443; H, *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 ; I, *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 ; J, *Synechococcus* sp. PCC 7336.

**領域2: 原料(アルデヒド)  
の入口**

**領域1:  
反応中心に  
近い領域**



**領域3:  
領域2を開閉する蝶つがい**

図3. 酵素 ADO の活性を高める上で重要な 20 カ所のアミノ酸を立体構造上に表示した図。これらのアミノ酸は 3 つの領域に分かれて存在していた。領域 1 は酵素 ADO が触媒反応を行う際の反応中心付近、領域 2 は原料となるアルデヒドが酵素の内部に入り込む際の入口付近、領域 3 は蝶つがいのように働いて領域 2 にある入口を開閉すると考えられる。