

## 独立栄養細菌の炭酸固定経路と基本的性質

(書籍『独立栄養細菌による CO<sub>2</sub> 資源化技術』 第 I 編 総論 第 1 章)

亀谷将史、新井博之、石井正治

東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学専攻、東京大学微生物科学イノベーション連携研究機構

### 1. はじめに

独立栄養生物は、炭素源として有機物を必要とせず、CO<sub>2</sub> を唯一の炭素源として生育可能な生物である。地球生物圏の炭素循環において、無機物から有機物を供給可能なのは独立栄養生物のみであり、地球規模の物質循環において重要な位置を占める生物種と言える。

独立栄養生物は、CO<sub>2</sub> を炭素源として同化し有機物とするための代謝経路、すなわち炭酸固定経路を有する。一般的に炭酸固定と聞けば、多くの人は植物の光合成や Calvin 回路を思い浮かべるであろう。高等生物に限るならそのイメージも誤りではないが、原核生物にも目を向けるとそれがごく一握りの例に過ぎないことがわかる。Calvin 回路以外にも様々な炭酸固定経路がバクテリアやアーキアにおいては見つかった(金尾忠芳, 2014; 石井正治, 2012; 石井正治, 2013)。また、先ほどの植物の例では「独立栄養=光合成」というイメージを挙げたが、これも原核生物では正しくない。実際の独立栄養微生物は多様なエネルギー獲得系を有しており、光以外の様々な化学物質をエネルギー源として生育する。

本章では、これまで自然界で確認されている炭酸固定経路 7 種を紹介し、その性質を比較する。さらにこれら代謝経路の生理学的役割や、CO<sub>2</sub> 資源化において重要となり得る性質を紹介する。

### 2. 炭酸固定経路

本節では、これまで自然界で見つかった 7 種の炭酸固定経路を、発見された順に紹介する。本章はタイトルに「独立栄養細菌の」と冠しているが、本項では細菌に限定せず、アーキアのみで報告されている経路も含めて紹介する(図 1、表 1)。近年発見された還元的 Gly 経路を除く 6 種の炭酸固定経路については、すでに様々な優れた総説でまとめられている(Berg, 2011; Fuchs, 2011; Montoya *et al.*, 2012)。本章では各経路の触媒酵素や中間代謝物に関する網羅的記載は省略するが、詳細は上記総説を参照されたい。

#### 2.1. Calvin 回路

本回路は炭酸固定経路の中でも代表的な経路であり、発見者(Bassham *et al.*, 1950)に因んで Calvin-Benson (CB) 回路や Calvin-Benson-Bassham (CBB) 回路などの名称で知られる。また、一般的な従属栄養菌も有する pentose phosphate 経路と構成反応の多くが共通することから、reductive pentose phosphate (RPP) 回路とも呼ばれる。

本回路は ribulose 1,5-bisphosphate (RuBP) carboxylase/oxygenase (RubisCO) を鍵酵素とし、carboxylase 反応により RuBP 1 分子から 3-phosphoglycerate (3-PGA) 2 分子を生成する(図 1A)。本酵素は地球上のタンパク質の中でもっとも存在量が多く、地球上の炭素循環に大きく影響する酵素である(Erb & Zarzycki, 2018)。

そのように重要な酵素でありながら、RubisCO には短所が複数知られている。本酵素は触媒活性が低く、1 秒間あたり 1~10 程度の turnover しか示さない。また、本酵素は CO<sub>2</sub> を基質とした carboxylase 反応を触媒するが、高酸素存在下では CO<sub>2</sub> の代わりに O<sub>2</sub> を基質とした oxygenase 反応を触媒してしまい、RuBP を再生するために ATP 消費や代謝中間体からの CO<sub>2</sub> 放出を要する(光呼吸)。この生理学的に望ましくない oxygenase 反応を抑え、carboxylase 反応の効率を高めるため、生物種によっては CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism (CCM) が本酵素と共同して働き CO<sub>2</sub> の濃縮および O<sub>2</sub> からの隔離を行うことが知られている。CCM の詳細な機構については本書の第 II 編 第 1 章および第 19 章を参照されたい。

図 1A に示すような典型的な Calvin 回路の反応経路が多く生物で知られている一方で、部分的に構成の異なる回路も見つかった(Hudson, 2023)。例えば線虫に寄生する  $\gamma$ -proteobacteria では、回路中の反応で生成するリ

ン酸の一部をピロリン酸の形で回収し、さらに ribulose 5-phosphate (Ru5P) から RuBP へのリン酸化で ATP の代わりにピロリン酸を用いることで、全体での ATP 消費量を 30%削減した非典型的回路が報告されている(Kleiner *et al.*, 2012)。こうした非典型的回路では、ATP 消費の低減の他、系の安定性向上といった効果が生じると推測されている(Hudson, 2023)。またメタン生成アーキアでは、fructose-6-phosphate (F6P) から Ru5P の再生を通常の Calvin 回路とは異なる酵素で行い、glyceraldehyde-3-phosphate (GAP) ではなく formaldehyde を産物とする経路が発見されている(Kono *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2019)。本経路は reductive hexulose-phosphate (RHP) 経路と呼ばれ、Calvin 回路の進化的原形とも推測されている。

Calvin 回路は高等植物や藻類、シアノバクテリア、酸素非発生型光合成細菌などに分布していることがよく知られている。ただし本回路の存在は光合成生物に限られず、非光合成のプロテオバクテリア(Hayashi *et al.*, 1999; Nishihara *et al.*, 1991)など、多くの化学独立栄養性細菌でも広く用いられている。

## 2.2. 還元的 TCA 回路

Tricarboxylic acid (TCA) 回路 (別名クエン酸回路、Krebs 回路) を逆回しにしたような経路であり、英語では reductive TCA (rTCA) または reverse TCA cycle と呼ばれる。本回路は、嫌気性の緑色硫黄細菌 *Chlorobaculum thiosulfatophilum* (旧名 *Chlorobium thiosulfatophilum*) で 1966 年に発見された(Buchanan *et al.*, 2017; Evans *et al.*, 1966)。その後、好気性の水素細菌(亀谷将史 *et al.*, 2020)である *Hydrogenobacter thermophilus* でも機能していることが報告され(Shiba *et al.*, 1985)、回路を構成する酵素が詳細に解析された(亀谷将史 *et al.*, 2023)。

*H. thermophilus* における生化学的研究の結果、本菌の還元的 TCA 回路は単純な TCA 回路の逆回しではなく、エネルギー的に不利な炭酸固定反応を進行させるための特徴を有していることが明らかになった (図 1B) (亀谷将史 *et al.*, 2023)。

第一の特徴は、通常の TCA 回路において一酵素により触媒される反応が、本回路では二酵素反応に分割され、その一段階目の反応で ATP が消費され反応駆動力となっていることである。TCA 回路では citrate synthase が acetyl-CoA と oxaloacetate から citrate への縮合を、isocitrate dehydrogenase が isocitrate から 2-oxoglutarate (2-OG) への酸化を触媒するが、*H. thermophilus* の還元的 TCA 回路ではこれら逆反応の中間体としてそれぞれ citryl-CoA と oxalosuccinate が ATP 依存的に生成される(Aoshima *et al.*, 2004a; Aoshima *et al.*, 2004b; Aoshima *et al.*, 2004c; Aoshima & Igarashi, 2006)。ATP 加水分解と共役することにより、本来吸エルゴン反応であった反応がトータルで発エルゴン反応となり、回路の炭酸固定方向への回転を可能にしている。

第二の特徴は、TCA 回路よりも酸化還元電位の低い電子キャリアーを用いることである。TCA 回路における pyruvate および 2-OG の脱炭酸反応は、それぞれ pyruvate dehydrogenase と 2-OG dehydrogenase によって触媒される。このとき電子受容体には  $\text{NAD}^+$  が用いられるが、 $\text{NAD}^+$  の酸化還元電位はこれら脱炭酸反応よりも高く、反応は不可逆的に進行する。これらの逆反応を可能にするため還元的 TCA 回路では、NADH よりも酸化還元電位の低い ferredoxin が電子供与体として用いられ、pyruvate:ferredoxin oxidoreductase (POR) と 2-OG:ferredoxin oxidoreductase (OGOR) により炭酸固定反応が駆動される(Ikeda *et al.*, 2006; Yamamoto *et al.*, 2003; Yoon *et al.*, 1996)。同様の特徴は、fumarate と succinate の間の酸化還元でも見られる。TCA 回路では succinate dehydrogenase (呼吸鎖の Complex II) がキノンを電子受容体として酸化反応を触媒するのに対し、*H. thermophilus* の還元的 TCA 回路では fumarate reductase が NADH を電子供与体として還元反応を触媒する(Miura *et al.*, 2008)。NADH はキノンや fumarate/succinate 間の変換反応よりも低い酸化還元電位を有し、fumarate から succinate への不可逆的な還元を駆動する。

*H. thermophilus* の還元的 TCA 回路は、回路内に高い対称性を有することも特徴とする。Acetyl-CoA を基点とする半周と succinyl-CoA を基点とする半周を比較すると、前者では pyruvate、oxaloacetate へのカルボキシル化と malate への還元が起きるが、後者でも炭素鎖が 2 長い代謝物で類似の反応が繰り返される。上述の citryl-CoA 合成反応は半周離れた succinyl-CoA 合成反応と、また oxalosuccinate 合成反応は oxaloacetate 合成反応と類似してい

る。このような対称性を代謝進化のパッチワーク仮説(Jensen, 1976; Yčas, 1974)にあてはめると、祖先型代謝においてこれら類似した反応群は基質選択性の低い共通の酵素群によって触媒されており、遺伝子重複と基質選択性の向上(亀谷将史, 2014)を通じて現在の還元的 TCA 回路が成立したと推定される。一方、TCA 回路は脱炭酸方向に進むのに不必要な酵素を欠き、還元的 TCA 回路のような対称性を失っている。このことから、*H. thermophilus* で見られるような還元的 TCA 回路が TCA 回路の祖先型代謝と考えられ、それを裏付ける酵素学的研究結果も報告されている(Verschuere *et al.*, 2019)。

本回路は緑色硫黄細菌や *Aquificota* 門、*Nitrospirota* 門、*proteobacteria*(Hügler *et al.*, 2005; Williams *et al.*, 2006)などのバクテリアで見つかっている。アーキアにも本回路が存在すると予想された時期があったが、実際にそれらの菌が有するのは還元的 TCA 回路ではなく後述の dicarboxylate (DC) /4-hydroxybutyrate (4HB) 回路であることが後年判明した。近年メタゲノムデータから、*Thermoplasmatota* 門アーキアや *Elusimicrobiota* 門バクテリアにも還元的 TCA 回路特異的な遺伝子の存在が示唆されているが(Garritano *et al.*, 2022)、実際に炭酸固定系として働いているか今後の検証が待たれる。

本回路は通常の TCA 回路と同様に、炭素鎖長 2~6 の多様な炭素骨格を供給し、アミノ酸や核酸など多くの生体分子合成の必須な前駆体となる。本回路のような代謝系なしで原始生命が誕生したとは考えにくく、生命進化における最古の炭酸固定経路の一つと推定されている(Braakman & Smith, 2012)。

上述の「第一の特徴」で述べたように、エネルギー的に不利な citrate 開裂反応を進めるためには ATP 消費が不可欠だと考えられてきたが、citryl-CoA 合成酵素を有さず、ATP 非依存的な citrate synthase の逆反応だけで開裂反応を行い炭酸固定する生物が近年発見された(Mall *et al.*, 2018; Nunoura *et al.*, 2018)。このような回路は、反応基質である CO<sub>2</sub> 濃度が高い条件下(Steffens *et al.*, 2021)で、citrate 開裂酵素の活性を高く、また反応産物の細胞内濃度を低く保つことなどで炭酸固定経路として成立すると考えられる。本回路は独立栄養条件では炭酸固定方向に、従属栄養条件では酸化方向に進むことから、reversed oxidative TCA (roTCA) 回路(Mall *et al.*, 2018)あるいは可逆的 TCA 回路(布浦拓郎, 2018)と呼ばれる。なお、従来知られていた ATP 依存的な還元的 TCA 回路は「不可逆」であるかのように誤解されることがあるが、可逆的であることは ATP 依存性酵素の有無に関わらず共通である(対照的に、一般的な TCA 回路は不可逆に酸化方向に流れる)。

可逆的 TCA 回路のように citryl-CoA 合成酵素を欠失したとき、回路を 1 回転させるために必要な ATP は 1 分子減少する。さらに、可逆的 TCA 回路や *C. thiosulfatophilum* の還元的 TCA 回路は oxalosuccinate 生成酵素も欠いており、この部分でも ATP 消費量が 1 分子減る。すなわち、*H. thermophilus* の還元的 TCA 回路と比較してこれらの生物の回路では ATP 消費量が最大 2 分子少なくなり(表 1)、よりエネルギー効率の高い炭酸経路となっている。

### 2.3. Wood-Ljungdahl (WL) 経路

還元的 acetyl-CoA 経路、あるいは発見者 (Ljungdahl, 1986)に因んで WL 経路として知られる。

1986 年に報告された本経路は、それまで知られていた炭酸固定経路のように環状ではなく、2 分子の CO<sub>2</sub> から 1 分子の acetyl-CoA を生成する(図 1C)。CO<sub>2</sub> のうち一方は多段階の反応を経て 6 電子還元され、メチル基として corrinoid iron-sulfur protein に転移する。もう一方の CO<sub>2</sub> は CO dehydrogenase (CODH) によって CO へ還元される。CODH と複合体を形成する acetyl-CoA synthase (ACS) がこれら 2 分子と反応し、acetyl-CoA を生成する。鍵酵素である CODH/ACS 複合体は酸素感受性であり、本経路は嫌気性菌でしか見つかっていない。CO やギ酸、ホルムアルデヒドなど、他の炭酸固定経路の多くでは資化できない C<sub>1</sub> 化合物を代謝中間体として取り込めることも本経路の特徴である。

本経路は、主に酢酸生成細菌 (acetogen) およびメタン生成アーキア (methanogen) で見つかっている。両者で経路の構成は類似しているものの、補因子や還元力などに細かな相違がある(Fuchs, 2011)。CO<sub>2</sub> からメチル基までの還元過程で、酢酸生成菌は tetrahydrofolate (THF) を C<sub>1</sub> 運搬体として用いるのに対し、メタン生成アーキ

アは tetrahydromethanopterin を用いる(Fuchs, 2011)。前者では CO<sub>2</sub>還元でギ酸を生成するのに対し、後者ではギ酸の代わりに formyl-methanofuran を生成する。また前者の経路は ATP 消費反応を含むのに対し、後者の経路は ATP を消費せずに進行する（その引き替えに、より強い還元力を要する）という違いもある。酢酸生成細菌とメタン生成アーキア以外に、*Thermodesulfobacteria* 門のバクテリアなどでも本経路の遺伝子の存在が報告されている(Mardanov *et al.*, 2016) が、本当にこれら生物で炭酸固定経路として機能しているか実験的検証はなされていない。

他の炭酸固定経路と異なり WL 経路は、炭酸固定だけではなく、エネルギー獲得という役割も果たす。酢酸生成細菌が acetyl-CoA から酢酸を生成する過程では基質レベルのリン酸化により ATP が得られるが、それ以外の反応ステップもプロトン排出に共役し ATP 合成をもたらす(Mock *et al.*, 2015; Schuchmann & Müller, 2014; 嶋盛吾, 2014)。すなわち本経路は、CO<sub>2</sub>を最終電子受容体とした嫌氣的呼吸ともみなすことができ、CO<sub>2</sub>以外に電子受容体も炭素源もない環境でも生育を可能とする代謝と言える。

バクテリア・アーキア両方への広い分布や経路の単純さ、エネルギー獲得系としての機能も備えることなどから、本経路は原始生命から存在した最古の炭酸固定経路の一つと推測されている。本経路だけでは生命に必要な代謝物のうち C<sub>2</sub> までのごく限られた分子種しか供給できないため、原始的な独立栄養生物の中央炭素代謝系は WL 経路と還元的 TCA 回路の共役であった可能性が提案されている(Braakman & Smith, 2012)。

## 2.4. 3-Hydroxypropionate (3HP) 回路

光合成緑色非硫黄細菌 *Chloroflexus aurantiacus* で 1993 年に発見された経路である(Holo, 1989; Strauss & Fuchs, 1993)。当初発見されたのは、acetyl-CoA を出発物質として acetyl-CoA carboxylase および propionyl-CoA carboxylase が炭酸固定を行い、3HP や propionyl-CoA、succinyl-CoA を経て acetyl-CoA を再生する回路（図 1D 左側の環）のみであった。しかし、本回路では炭酸固定産物として glyoxylate を生成するが、本菌で glyoxylate がどのように中央代謝に入り唯一炭素源として利用されうかが不明であった。後年、glyoxylate から pyruvate を生成するもう一つの回路（図 1D 右側の環）が発見され、現在は二環式の経路と見なされている(Zarzycki *et al.*, 2009)。

本回路は *Chloroflexota* 門でしか見つかっておらず、きわめて狭い範囲の生物種にしか分布していない(Garritano *et al.*, 2022) (Ward & Shih, 2019)。本回路が成立したのは生命進化の歴史上ではかなり遅く、水平伝達で得た遺伝子が組み合わさることで、好気環境に適応する形で成立したと考えられている(Shih *et al.*, 2017)。近年、海洋環境のメタゲノム解析で *Actinobacteriota* 門細菌から本回路の遺伝子が検出され、*Chloroflexota* 門以外でも本回路が機能している可能性が示唆されたが(Ruiz-Fernandez *et al.*, 2020)、これらの菌は回路の一部の遺伝子しか有しておらず、炭酸固定ではなく有機物資化のために 3HP 回路中酵素の一部を利用していると推測されている(Garritano *et al.*, 2022)。

## 2.5. 3HP/4HB 回路

好熱好酸性の *Crenarchaeota* である *Acidianus brierleyi* に 3HP 回路に類似した炭酸固定経路が存在することが 1996 年に報告された(Ishii *et al.*, 1996)。本菌は 3HP 経路の鍵酵素である acetyl-CoA carboxylase や propionyl-CoA carboxylase を有する一方で、malyl-CoA から acetyl-CoA を再生するのに必須な酵素活性を欠いており、既知の 3HP 経路とは構成の異なる新規経路の存在が示唆された。この経路の全容は、同じく好熱好酸性 *Crenarchaeota* である *Metallosphaera sedula* で 2007 年に解明された(Berg *et al.*, 2007)（図 1E）。本経路のうち、acetyl-CoA が 3HP や propionyl-CoA を経て succinyl-CoA まで変換される過程は 3HP 回路に類似している。一方、succinyl-CoA から acetyl-CoA を再生する過程は 3HP 回路と大きく異なり、*Clostridium aminobutyricum* で報告されている 4-aminobutyrate 資化経路に類似している(Gerhardt *et al.*, 2000)。この過程は特徴的な代謝物として 4HB を含むことから、本回路は 3HP/4HB 回路と名付けられた。

本経路においても、還元的 TCA 回路で見られるような対称性が回路内に存在する。Acetyl-CoA を基点とする半周と propionyl-CoA を基点とする半周を比較すると、炭素鎖長が一つ違うだけの類似反応が繰り返し用いられ

ている。こうした重複は反応レベルにとどまらず、酵素レベルにも及び、同一酵素が acetyl-CoA および propionyl-CoA 両方のカルボキシル化反応を触媒している(Chuakrut *et al.*, 2003)。このような回路内対称性は、本回路および類似経路を共有する 3HP 回路や DC/4HB 回路（次項参照）がどのような進化過程で成立したかを考える上で示唆に富む性質である。

本経路でも生物種間での差異が報告されている。図 1E に示した *Crenarchaeota* で見られる経路では 2 箇所の ATP 消費反応で ATP が AMP にまで分解されるが、*Thaumarchaeota* で見られる経路では AMP ではなく ADP を生成する(Könneke *et al.*, 2014)。ATP から AMP への分解を ATP 2 分子から ADP 2 分子への分解に相当すると見なしたとき、後者の方が 1 サイクルあたり ATP 消費量が 2 少なく、3HP/4HB 回路間でもエネルギー効率に差を生じている（表 1）。

## 2.6. DC/4HB 回路

嫌気性の好熱性 *Crenarchaeota* である *Ignicoccus hospitalis* で 2008 年に報告された経路である(Huber *et al.*, 2008)。本回路のうち、acetyl-CoA から succinyl-CoA を生成する過程は還元的 TCA 回路と類似し、malate や fumarate、succinate などの dicarboxylate を中間体とする。一方、succinyl-CoA から acetyl-CoA 2 分子を再生する過程は、3HP/4HB 回路と類似し 4HB を中間代謝物とする（図 1F）。

本経路は還元的 TCA 回路と同様に酸素感受性酵素である POR を含み、嫌気性 *Crenarchaeota* である *Thermoproteales* や *Desulfurococcales* でのみ存在が確認されている（これに対し 3HP/4HB 回路は POR を含まず、すべての酵素が酸素耐性を有し、実際に *M. sedula* をはじめとする好気性アーキアで機能していることが確認されている）。近年メタゲノムデータ解析から、DC/4HB 回路が *Lokiarchaeia* 綱や、微好気性の *Sulfolobus* 属のアーキアにも分布する可能性が示唆されている(Garritano *et al.*, 2022)。

## 2.7. 還元的 Gly 経路

亜リン酸化で独立栄養的に生育する細菌 *Candidatus Phosphitivorax anaerolimi* のメタゲノム解析から 2018 年に存在が予想され(Figueroa *et al.*, 2018)、実際に生体内で機能していることが硫酸還元細菌 *Desulfovibrio desulfuricans* で 2020 年に立証された経路である(Sánchez-Andrea *et al.*, 2020)。本経路の前半は酢酸生成細菌の WL 経路と類似し(千葉洋子, 2021)、CO<sub>2</sub>を還元し CH<sub>2</sub>-THF を生成する（図 1G）。本経路の下流で働く Gly 開裂系（Gly cleavage system; GCS）は一般的に、Gly を CO<sub>2</sub> と NH<sub>3</sub> に分解するとともに、C<sub>1</sub> 供与体として CH<sub>2</sub>-THF を供給する系として知られる。GCS は可逆的であり、還元的 Gly 経路においては CH<sub>2</sub>-THF を基質として炭酸固定方向に進み、Gly を生成する。

Gly から下流の経路は 2 通り知られ、一方の経路では Gly が還元型チオレドキシンを電子供与体として還元され、acetyl-CoA へと変換される。もう一方の経路では、Gly が CH<sub>2</sub>-THF と反応して Ser になり、pyruvate を経て炭素骨格が資化される。*D. desulfuricans* においては前者が主要な経路として働くと推測されている(Sánchez-Andrea *et al.*, 2020)。前者の経路で pyruvate を生成させるには、acetyl-CoA から pyruvate への炭酸固定で酸素感受性の POR を用いる必要がある。

なお還元的 Gly 経路は、上述の *Ca. P. anaerolimi* のメタゲノム解析に先立ち、合成生物学的観点から人工的な炭酸固定経路として設計・提案されていた(Cotton *et al.*, 2018)。非天然型の代謝経路として提案された経路が、実は自然界に存在していたことが後に示された希有な例と言える。

ギ酸は本経路の中間代謝物であり、WL 経路と同様に本経路でもギ酸取り込みが可能である。WL 経路の鍵酵素 CODH/ACS が酸素にきわめて弱いのにに対し、還元的 Gly 経路は酸素耐性の酵素のみから成る（上述の POR を含まない経路の場合）ため、ギ酸資化経路としても近年多くの研究で利用されている（第 I 編第 4 章）。

本経路は CO<sub>2</sub> 固定量あたりの ATP 消費量が少なく、また還元型フェレドキシンのような強力な還元力を必要としない。生産効率という観点からは優れた炭酸固定経路であるが、これは反応の進みやすさとトレードオフの

関係にあると言える。本経路は可逆的な GCS に基づく経路であり、炭酸固定方向への駆動には GCS の基質である CO<sub>2</sub> やアンモニアが高濃度存在していることが必須となる(Sánchez-Andrea *et al.*, 2020; Yishai *et al.*, 2018)。

### 3. 炭酸固定経路の比較

上記 7 種の炭酸固定経路間で CO<sub>2</sub> 固定量あたりの ATP 消費量を比較すると、顕著な差があることがわかる (表 1)。膜電位勾配形成と共役してエネルギー保存を行う WL 経路に次いで、還元的 TCA 回路と還元的 Gly 経路は ATP 消費量が少ない。WL 経路と還元的 TCA 回路は、酸化還元電位の低いフェレドキシンを電子供与体として用いることで反応を駆動しており、その分 ATP 消費が抑えられる。しかしこれら経路を利用するには、NAD(P)<sup>+</sup> よりも還元が困難なフェレドキシンの還元系を備え、またフェレドキシンが自動酸化されないような還元的な状態に細胞内を維持するという制約が生物には課せられる。一方、電子供与体のうちフェレドキシンの占める割合の低い DC/4HB 回路や、フェレドキシンを用いない Calvin 回路、3HP 回路、3HP/4HB 回路は、ATP 消費量が多い。フェレドキシンを用いない経路は好気環境に適応した経路として捉えられ、これら経路が酸素感受性酵素を含まないことからこの見方が裏付けられる。

フェレドキシンを電子供与体として用いる経路 (還元的 TCA 回路、WL 経路、DC/4HB 回路) は酸素感受性酵素を含み、好氣的環境下での利用が制限される。実際にこれらの経路を有する生物種のほとんどは嫌気性菌または微好気性菌である。ただし例外も存在し、還元的 TCA 回路を有する *H. thermophilus* は好気性であり、最大 40% の酸素存在下でも生育可能である(Sato *et al.*, 2012)。本菌からは新規な酸化ストレス耐性機構(Sato *et al.*, 2012; Sato *et al.*, 2014)や、酸素の有無による酸素感受性酵素の使い分け(Yamamoto *et al.*, 2006)が見つかっている。このような防御機構の存在によっては、酸素感受性酵素を含む経路も好気生菌で機能しうると考えられる。

7 種の炭酸固定経路を比較すると、互いに共通するユニットから構成されることがわかる。還元的 TCA 回路と 3HP 回路、3HP/4HB 回路、DC/4HB 回路は acetyl-CoA と succinyl-CoA を中間代謝物として含む。Acetyl-CoA を succinyl-CoA に変換する過程に着目すると、還元的 TCA 回路と DC/4HB 回路、また 3HP 回路と 3HP/4HB 回路はそれぞれ互いに共通する反応から構成される。Succinyl-CoA を acetyl-CoA に変換する過程も同様に、3HP/4HB 回路と DC/4HB 回路は互いに共通する反応で構成される。また、酢酸生成細菌の WL 経路と還元的 Gly 経路も CO<sub>2</sub> 還元による CH<sub>2</sub>-THF 生成過程で互いに類似しており、ここから acetyl-CoA を生成するのに際し、ACS/CODH を介するか GCS を介するかの違いにより WL 経路と還元的 Gly 経路に分かれる、と見なすことができる(千葉洋子, 2021)。

### 4. 独立栄養細菌における炭酸固定代謝

独立栄養性細菌において炭酸固定代謝が果たしている役割は、CO<sub>2</sub> 固定だけに限られない。WL 経路がエネルギー保存経路としても機能していることは、本章第 2 節で述べたとおりである。また、炭酸固定経路は CO<sub>2</sub> を還元するための電子を必要とするが、生体内の余剰還元力の捨て場として炭酸固定経路が使われていることが Calvin 回路などで報告されている(Hädicke *et al.*, 2011)。各種炭素骨格の供給という役割では、多くの代謝産物の前駆体となる acetyl-CoA や pyruvate、oxaloacetate、2-OG などのハブ代謝物供給系として還元的 TCA 回路は重要であり、古い進化的起源が推定される根拠の一つとされる (本章第 2 節)。Calvin 回路も、その経路の大部分がペントースリン酸経路と重複し、糖代謝に寄与している。有機物資化という観点では、3HP 回路中酵素は低分子の有機化合物取り込みに利用され(Garritano *et al.*, 2022; Ward & Shih, 2019; Zarzycki *et al.*, 2008)、また aminobutyrate 資化経路に類似した反応を有する 3HP/4HB 回路と DC/4HB 回路も有機炭素源資化に寄与しうる。このように炭酸固定経路が生体内でさまざまな役割を果たしていることから、「進化的起源の古い還元的 TCA 回路と WL 経路以外の炭酸固定経路は、他の用途で使われていた酵素反応を流用してつなぎ合わせることで出来上がった」という進化的仮説が考えられる(Satanowski *et al.*, 2020)。

CO<sub>2</sub> は炭素のもっとも酸化された形態であり、その有機物への変換には必然的に還元力が必要となる。また炭

酸固定というエネルギー的に不利な反応を駆動するため、WL 経路を除く経路では外部からの ATP 供給も必要である。すなわち、生物の炭酸固定能力は本章で紹介した炭酸固定経路だけによって達成されるのではなく、還元力およびエネルギーの供給系によって支えられている。従属栄養生物において、還元力およびエネルギーは環境由来有機物の異化代謝によって供給される。一方、栄養源として有機物を必要としない独立栄養生物は、無機物（・光）から還元力およびエネルギーを獲得する代謝能を備える。このような代謝として、本書で紹介する水素酸化や鉄酸化、硫黄酸化、硝化、光合成など、多様な代謝モードが微生物には存在する。

CO<sub>2</sub> 資源化への独立栄養生物の利用にあたっては、このような生物の代謝多様性の活用が鍵となる。利用する生物種の還元力・エネルギー源によって、必要な原料（水素、鉄、光など）は変わってくる。各生物種の酸素耐性や生育温度も、どの生物を生産プロセスに利用するかを決定する上で重要なファクターである。また本章で紹介した炭酸固定経路をはじめとして、生体内での中央炭素代謝系は生物種間で大きく異なる。特定の化合物の生産に際しては、目的化合物の生産に適した炭素代謝系を有する生物種の利用が有効となろう(亀谷将史 *et al.*, 2020)。様々な独立栄養生物が備える多彩な代謝能について、本書で紹介する知見が今後の CO<sub>2</sub> 資源化技術の拡大に役立てば幸いである。

## 5. 引用文献

Aoshima, M., Ishii, M. & Igarashi, Y. (2004a). A novel enzyme, citryl-CoA synthetase, catalysing the first step of the citrate cleavage reaction in *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. *Mol Microbiol* **52**, 751-761.

Aoshima, M., Ishii, M. & Igarashi, Y. (2004b). A novel biotin protein required for reductive carboxylation of 2-oxoglutarate by isocitrate dehydrogenase in *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. *Mol Microbiol* **51**, 791-798.

Aoshima, M., Ishii, M. & Igarashi, Y. (2004c). A novel enzyme, citryl-CoA lyase, catalysing the second step of the citrate cleavage reaction in *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. *Mol Microbiol* **52**, 763-770.

Aoshima, M. & Igarashi, Y. (2006). A novel oxalosuccinate-forming enzyme involved in the reductive carboxylation of 2-oxoglutarate in *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. *Mol Microbiol* **62**, 748-759.

Bassham, J. A., Benson, A. A. & Calvin, M. (1950). The path of carbon in photosynthesis. *J Biol Chem* **185**, 781-787.

Berg, I. A., Kockelkorn, D., Buckel, W. & Fuchs, G. (2007). A 3-Hydroxypropionate/4-Hydroxybutyrate Autotrophic Carbon Dioxide Assimilation Pathway in Archaea. *Science* **318**, 1782-1786.

Berg, I. A. (2011). Ecological Aspects of the Distribution of Different Autotrophic CO<sub>2</sub> Fixation Pathways. *Appl Environ Microbiol* **77**, 1925-1936.

Bierbaumer, S., Nattermann, M., Schulz, L., Zschoche, R., Erb, T. J., Winkler, C. K., Tinzl, M. & Glueck, S. M. (2023). Enzymatic Conversion of CO<sub>2</sub>: From Natural to Artificial Utilization. *Chemical Reviews*.

Braakman, R. & Smith, E. (2012). The emergence and early evolution of biological carbon-fixation. *PLoS Comp Biol* **8**, e1002455.

Buchanan, B. B., Sirevag, R., Fuchs, G., Ivanovsky, R. N., Igarashi, Y., Ishii, M., Tabita, F. R. & Berg, I. A. (2017). The Arnon-Buchanan cycle: a retrospective, 1966-2016. *Photosynth Res* **134**, 117-131.

- Chuakrut, S., Arai, H., Ishii, M. & Igarashi, Y. (2003).** Characterization of a Bifunctional Archaeal Acyl Coenzyme A Carboxylase. *J Bacteriol* **185**, 938-947.
- Cotton, C. A., Edlich-Muth, C. & Bar-Even, A. (2018).** Reinforcing carbon fixation: CO<sub>2</sub> reduction replacing and supporting carboxylation. *Curr Opin Biotechnol* **49**, 49-56.
- Erb, T. J. & Zarzycki, J. (2018).** A short history of RubisCO: the rise and fall (?) of Nature's predominant CO<sub>2</sub> fixing enzyme. *Curr Opin Biotechnol* **49**, 100-107.
- Evans, M. C., Buchanan, B. B. & Arnon, D. I. (1966).** A new ferredoxin-dependent carbon reduction cycle in a photosynthetic bacterium. *Proc Natl Acad Sci U S A* **55**, 928-934.
- Figuerola, I. A., Barnum, T. P., Somasekhar, P. Y., Carlström, C. I., Engelbrektson, A. L. & Coates, J. D. (2018).** Metagenomics-guided analysis of microbial chemolithoautotrophic phosphite oxidation yields evidence of a seventh natural CO<sub>2</sub> fixation pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* **115**, E92-E101.
- Fuchs, G. (2011).** Alternative pathways of carbon dioxide fixation: insights into the early evolution of life? *Annu Rev Microbiol* **65**, 631-658.
- Garritano, A. N., Song, W. & Thomas, T. (2022).** Carbon fixation pathways across the bacterial and archaeal tree of life. *PNAS Nexus* **1**, pgac226.
- Gerhardt, A., Çinkaya, I., Linder, D., Huisman, G. & Buckel, W. (2000).** Fermentation of 4-aminobutyrate by *Clostridium aminobutyricum*: cloning of two genes involved in the formation and dehydration of 4-hydroxybutyryl-CoA. *Arch Microbiol* **174**, 189-199.
- Hädicke, O., Grammel, H. & Klamt, S. (2011).** Metabolic network modeling of redox balancing and biohydrogen production in purple nonsulfur bacteria. *BMC Systems Biology* **5**, 150.
- Hügler, M., Wirsén, C. O., Fuchs, G., Taylor, C. D. & Sievert, S. M. (2005).** Evidence for Autotrophic CO<sub>2</sub> Fixation via the Reductive Tricarboxylic Acid Cycle by Members of the  $\epsilon$  Subdivision of Proteobacteria. *J Bacteriol* **187**, 3020-3027.
- Hayashi, N. R., Ishida, T., Yokota, A., Kodama, T. & Igarashi, Y. (1999).** *Hydrogenophilus thermoluteolus* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, facultatively chemolithoautotrophic, hydrogen-oxidizing bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* **49**, 783-786.
- Holo, H. (1989).** *Chloroflexus aurantiacus* secretes 3-hydroxypropionate, a possible intermediate in the assimilation of CO<sub>2</sub> and acetate. *Arch Microbiol* **151**, 252-256.
- Huber, H., Gallenberger, M., Jahn, U., Eylert, E., Berg, I. A., Kockelkorn, D., Eisenreich, W. & Fuchs, G. (2008).** A dicarboxylate/4-hydroxybutyrate autotrophic carbon assimilation cycle in the hyperthermophilic Archaeum *Ignicoccus hospitalis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**, 7851-7856.

- Hudson, E. P. (2023).** The Calvin Benson cycle in bacteria: New insights from systems biology. *Semin Cell Dev Biol*.
- Ikeda, T., Ochiai, T., Morita, S., Nishiyama, A., Yamada, E., Arai, H., Ishii, M. & Igarashi, Y. (2006).** Anabolic five subunit-type pyruvate : ferredoxin oxidoreductase from *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. *Biochem Biophys Res Commun* **340**, 76-82.
- Ishii, M., Miyake, T., Satoh, T., Sugiyama, H., Oshima, Y., Kodama, T. & Igarashi, Y. (1996).** Autotrophic carbon dioxide fixation in *Acidianus brierleyi*. *Arch Microbiol* **166**, 368-371.
- Jensen, R. A. (1976).** Enzyme Recruitment in Evolution of New Function. *Annu Rev Microbiol* **30**, 409-425.
- Könneke, M., Schubert, D. M., Brown, P. C., Hügler, M., Standfest, S., Schwander, T., Schada von Borzyskowski, L., Erb, T. J., Stahl, D. A. & Berg, I. A. (2014).** Ammonia-oxidizing archaea use the most energy-efficient aerobic pathway for CO<sub>2</sub> fixation. *Proc Natl Acad Sci USA* **111**, 8239-8244.
- Kleiner, M., Wentrup, C., Lott, C., Teeling, H., Wetzel, S., Young, J., Chang, Y.-J., Shah, M., VerBerkmoes, N. C., Zarzycki, J., Fuchs, G., Markert, S., Hempel, K., Voigt, B., Becher, D., Liebeke, M., Lalk, M., Albrecht, D., Hecker, M., Schweder, T. & Dubilier, N. (2012).** Metaproteomics of a gutless marine worm and its symbiotic microbial community reveal unusual pathways for carbon and energy use. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**, E1173-E1182.
- Kono, T., Mehrotra, S., Endo, C., Kizu, N., Matusda, M., Kimura, H., Mizohata, E., Inoue, T., Hasunuma, T., Yokota, A., Matsumura, H. & Ashida, H. (2017).** A RuBisCO-mediated carbon metabolic pathway in methanogenic archaea. *Nat Commun* **8**, 14007.
- Ljungdhal, L. G. (1986).** The Autotrophic Pathway of Acetate Synthesis in Acetogenic Bacteria. *Annu Rev Microbiol* **40**, 415-450.
- Mall, A., Sobotta, J., Huber, C., Tschirner, C., Kowarschik, S., Bačnik, K., Mergelsberg, M., Boll, M., Hügler, M., Eisenreich, W. & Berg, I. A. (2018).** Reversibility of citrate synthase allows autotrophic growth of a thermophilic bacterium. *Science* **359**, 563-567.
- Mardanov, A. V., Beletsky, A. V., Kadnikov, V. V., Slobodkin, A. I. & Ravin, N. V. (2016).** Genome Analysis of *Thermosulfurimonas dismutans*, the First Thermophilic Sulfur-Disproportionating Bacterium of the Phylum *Thermodesulfobacteria*. *Frontiers in Microbiology* **7**, 950.
- Miura, A., Kameya, M., Arai, H., Ishii, M. & Igarashi, Y. (2008).** A soluble NADH-dependent fumarate reductase in the reductive tricarboxylic acid cycle of *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. *J Bacteriol* **190**, 7170-7177.
- Mock, J., Zheng, Y., Mueller, A. P., Ly, S., Tran, L., Segovia, S., Nagaraju, S., Köpke, M., Dürre, P. & Thauer, R. K. (2015).** Energy Conservation Associated with Ethanol Formation from H<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> in *Clostridium autoethanogenum* Involving Electron Bifurcation. *J Bacteriol* **197**, 2965-2980.
- Montoya, L., Celis, L. B., Razo-Flores, E. & Alpuche-Solis, A. G. (2012).** Distribution of CO<sub>2</sub> fixation and acetate mineralization

pathways in microorganisms from extremophilic anaerobic biotopes. *Extremophiles* **16**, 805-817.

**Nishihara, H., Igarashi, Y. & Kodama, T. (1991).** *Hydrogenovibrio marinus* gen. nov., sp. nov., a marine obligately chemolithoautotrophic hydrogen-oxidizing bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* **41**, 130-133.

**Nunoura, T., Chikaraishi, Y., Izaki, R., Suwa, T., Sato, T., Harada, T., Mori, K., Kato, Y., Miyazaki, M., Shimamura, S., Yanagawa, K., Shuto, A., Ohkouchi, N., Fujita, N., Takaki, Y., Atomi, H. & Takai, K. (2018).** A primordial and reversible TCA cycle in a facultatively chemolithoautotrophic thermophile. *Science* **359**, 559-563.

**Ragsdale, S. W. & Pierce, E. (2008).** Acetogenesis and the Wood–Ljungdahl pathway of CO<sub>2</sub> fixation. *Biochim Biophys Acta* **1784**, 1873-1898.

**Ruiz-Fernandez, P., Ramirez-Flandes, S., Rodriguez-Leon, E. & Ulloa, O. (2020).** Autotrophic carbon fixation pathways along the redox gradient in oxygen-depleted oceanic waters. *Environ Microbiol Rep* **12**, 334-341.

**Sánchez-Andrea, I., Guedes, I. A., Hornung, B., Boeren, S., Lawson, C. E., Sousa, D. Z., Bar-Even, A., Claassens, N. J. & Stams, A. J. M. (2020).** The reductive glycine pathway allows autotrophic growth of *Desulfovibrio desulfuricans*. *Nat Commun* **11**, 5090.

**Satanowski, A., Dronsella, B., Noor, E., Vögeli, B., He, H., Wichmann, P., Erb, T. J., Lindner, S. N. & Bar-Even, A. (2020).** Awakening a latent carbon fixation cycle in *Escherichia coli*. *Nat Commun* **11**, 5812.

**Sato, Y., Kameya, M., Fushinobu, S., Wakagi, T., Arai, H., Ishii, M. & Igarashi, Y. (2012).** A novel enzymatic system against oxidative stress in the thermophilic hydrogen-oxidizing bacterium *Hydrogenobacter thermophilus*. *PLoS ONE* **7**, e34825.

**Sato, Y., Arai, H., Igarashi, Y. & Ishii, M. (2014).** Adaptation of *Hydrogenobacter thermophilus* toward oxidative stress triggered by high expression of alkyl hydroperoxide reductase. *Biosci Biotechnol Biochem* **78**, 1619-1622.

**Schuchmann, K. & Müller, V. (2014).** Autotrophy at the thermodynamic limit of life: a model for energy conservation in acetogenic bacteria. *Nature Reviews Microbiology* **12**, 809-821.

**Shiba, H., Kawasumi, T., Igarashi, Y., Kodama, T. & Minoda, Y. (1985).** The CO<sub>2</sub> assimilation via the reductive tricarboxylic-acid cycle in an obligately autotrophic, aerobic hydrogen-oxidizing bacterium, *Hydrogenobacter thermophilus*. *Arch Microbiol* **141**, 198-203.

**Shih, P. M., Ward, L. M. & Fischer, W. W. (2017).** Evolution of the 3-hydroxypropionate bicycle and recent transfer of anoxygenic photosynthesis into the *Chloroflexi*. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**, 10749-10754.

**Steffens, L., Pettinato, E., Steiner, T. M., Mall, A., König, S., Eisenreich, W. & Berg, I. A. (2021).** High CO<sub>2</sub> levels drive the TCA cycle backwards towards autotrophy. *Nature* **592**, 784-788.

**Strauss, G. & Fuchs, G. (1993).** Enzymes of a novel autotrophic CO<sub>2</sub> fixation pathway in the phototrophic bacterium *Chloroflexus*

*aurantiacus*, the 3-hydroxypropionate cycle. *Eur J Biochem* **215**, 633-643.

**Verschueren, K. H. G., Blanchet, C., Felix, J., Dansercoer, A., De Vos, D., Bloch, Y., Van Beeumen, J., Svergun, D., Gutsche, I., Savvides, S. N. & Verstraete, K. (2019).** Structure of ATP citrate lyase and the origin of citrate synthase in the Krebs cycle. *Nature* **568**, 571-575.

**Ward, L. M. & Shih, P. M. (2019).** The evolution and productivity of carbon fixation pathways in response to changes in oxygen concentration over geological time. *Free Radical Biol Med* **140**, 188-199.

**Williams, T. J., Zhang, C. L., Scott, J. H. & Bazylinski, D. A. (2006).** Evidence for Autotrophy via the Reverse Tricarboxylic Acid Cycle in the Marine Magnetotactic Coccus Strain MC-1. *Appl Environ Microbiol* **72**, 1322-1329.

**Yamamoto, M., Arai, H., Ishii, M. & Igarashi, Y. (2003).** Characterization of two different 2-oxoglutarate : ferredoxin oxidoreductases from *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. *Biochem Biophys Res Commun* **312**, 1297-1302.

**Yamamoto, M., Arai, H., Ishii, M. & Igarashi, Y. (2006).** Role of two 2-oxoglutarate : ferredoxin oxidoreductases in *Hydrogenobacter thermophilus* under aerobic and anaerobic conditions. *FEMS Microbiol Lett* **263**, 189-193.

**Yang, P., Tan, G.-Y. A., Aslam, M., Kim, J. & Lee, P.-H. (2019).** Metatranscriptomic evidence for classical and RuBisCO-mediated CO<sub>2</sub> reduction to methane facilitated by direct interspecies electron transfer in a methanogenic system. *Sci Rep* **9**, 4116.

**Yčas, M. (1974).** On earlier states of the biochemical system. *J Theor Biol* **44**, 145-160.

**Yishai, O., Bouzon, M., Doring, V. & Bar-Even, A. (2018).** *In vivo* assimilation of one-carbon via a synthetic reductive glycine pathway in *Escherichia coli*. *ACS Synth Biol* **7**, 2023-2028.

**Yoon, K. S., Ishii, M., Igarashi, Y. & Kodama, T. (1996).** Purification and characterization of 2-oxoglutarate: Ferredoxin oxidoreductase from a thermophilic, obligately chemolithoautotrophic bacterium, *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. *J Bacteriol* **178**, 3365-3368.

**Zarzycki, J., Schlichting, A., Strychalsky, N., Müller, M., Alber, B. E. & Fuchs, G. (2008).** Mesoconyl-Coenzyme A Hydratase, a New Enzyme of Two Central Carbon Metabolic Pathways in Bacteria. *J Bacteriol* **190**, 1366-1374.

**Zarzycki, J., Brecht, V., Muller, M. & Fuchs, G. (2009).** Identifying the missing steps of the autotrophic 3-hydroxypropionate CO<sub>2</sub> fixation cycle in *Chloroflexus aurantiacus*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**, 21317-21322.

**亀谷将史 (2014).** 逆進化は“specialist”の壁を破るか？—酵素工学の視点から—。 *生物工学会誌* **92**, 238.

**亀谷将史, 新井博之 & 石井正治 (2020).** 水素細菌の代謝特性と低炭素社会実現に向けての展開。 *極限環境生物学会誌* **18**, 30-38.

**亀谷将史, 新井博之 & 石井正治 (2023).** 極限環境から分離された好熱性水素細菌の代謝解析。 In 極限環境微生物の先端

科学と社会実装最前線, pp. in press: エヌ・ディー・エス.

金尾忠芳 (2014). カルビン回路, じゃない方の炭酸固定(バイオミディア). *生物工学会誌* **92**, 239.

石井正治 (2012). 生物炭酸固定と生物工学(「環境」と生物工学,<特集>バイオ技術 10 年の軌跡, 創立 90 周年記念特別企画). *生物工学会誌* **90**, 165-169.

石井正治 (2013). c-バイオ的視点から独立栄養的代謝を斬る(<特集>日本から発信するエネルギー革新省エネ型炭素固定と c-バイオの融合). *生物工学会誌* **91**, 388-392.

千葉洋子 (2021). アミノ酸生合成と CO<sub>2</sub>固定経路の密接な関係: グリーンバイオケミストリーから生命進化まで: 2020 年農芸化学若手女性研究者賞. *化学と生物: 日本農芸化学会会誌: 生命・食・環境* **59**, 458-463.

嶋盛吾 (2014). メタン生成と嫌気メタン酸化の酵素化学. *化学と生物* **52**, 307-312.

布浦拓郎 (2018). 水素酸化好熱細菌からの可逆的 TCA 回路の発見. *日本微生物生態学会誌* **33**, 56-58.

6. 図表

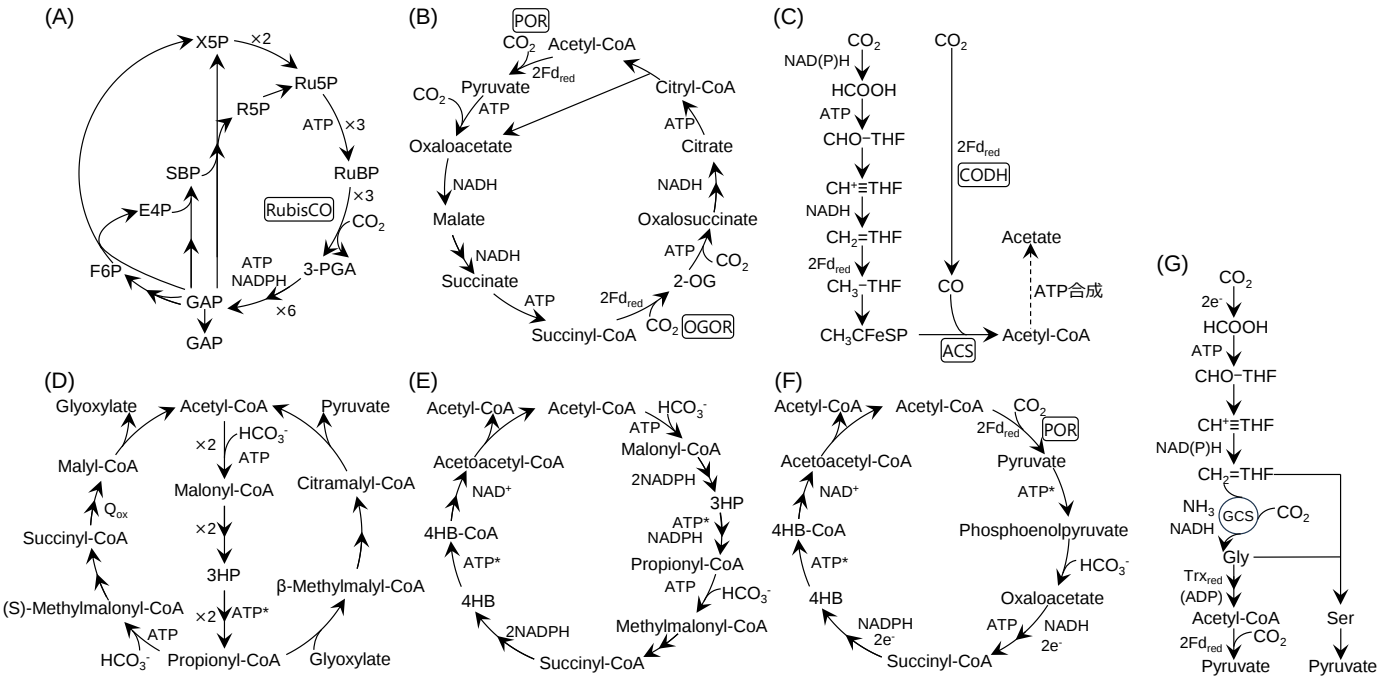


図 1. 自然界で見つかった 7 種の炭酸固定経路。(A) Calvin 回路。(B) 還元的 TCA 回路。 *H. thermophilus* の回路を示すが、生物種によって中間代謝物や ATP 消費量などに差がある。(C) WL 経路。 *Moorella thermoacetica* などの酢酸生成細菌の経路を示す(Ragsdale & Pierce, 2008)。(D) 3HP 回路。 *Crenarchaeota* の回路を示すが、 *Thaumarchaeota* の回路では ATP 消費により AMP ではなく ADP を生成しエネルギー効率が高い。(E) 3HP/4HB 回路。(F) DC/4HB 回路。(G) 還元的 Gly 経路。 Gly から acetyl-CoA への変換においては、ADP 消費を伴う経路と伴わない経路が知られている。一部の反応中間体は省略し、複数の酵素反応を 1 本の矢印でまとめて表記した。還元反応については、NADH や Fd<sub>red</sub> (還元型フェレドキシン)、Trx<sub>red</sub> (還元型チオレドキシン) などの電子供与体を示す。e<sup>-</sup>で示した反応は、生理学的な供与体がわかっていない。酸化反応については、NAD<sup>+</sup>や Q<sub>ox</sub> (キノン) などの電子受容体を示す。ATP から ADP または AMP への加水分解を伴う反応は、それぞれ「ATP」「ATP\*」と示す。E4P, erythrose 4-phosphate; R5P, ribose 5-phosphate; SBP, sedoheptulose 1,7-bisphosphate; X5P, xylulose 5-phosphate。

表 1. 炭酸固定経路の生物種分布と特徴の比較

| 炭酸固定経路     | 生物種                                                                        | ATP 消費 <sup>a</sup> | 電子供与体 <sup>d</sup>   | 酸素感受性酵素         |
|------------|----------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------------------|-----------------|
| Calvin 回路  | 植物、シアノバクテリア、光合成細菌、プロテオバクテリアなど                                              | 7                   | NAD(P)H              | なし              |
| 還元的 TCA 回路 | <i>Aquificota</i> 、緑色硫黄細菌、 <i>Nitrospirota</i> などのプロテオバクテリア                | 1~3                 | NAD(P)H、Fd           | あり              |
| WL 経路      | 酢酸生成細菌、メタン生成アーキアなど                                                         | 0 <sup>b</sup>      | NAD(P)H、Fd           | あり              |
| 3HP 回路     | <i>Chloroflexota</i>                                                       | 7 <sup>c</sup>      | NAD(P)H              | なし              |
| 3HP/4HB 回路 | <i>Sulfolobales</i> などの <i>Crenarchaeota</i> や、 <i>Thaumarchaeota</i>      | 4~6                 | NAD(P)H              | なし              |
| DC/4HB 回路  | <i>Thermoproteales</i> 、 <i>Desulfurococcales</i> などの <i>Crenarchaeota</i> | 5                   | NAD(P)H、Fd           | あり              |
| 還元的 Gly 経路 | <i>D. desulfuricans</i> 、 <i>Clostridium drakei</i> など                     | 2                   | NAD(P)H <sup>e</sup> | なし <sup>e</sup> |

a Acetyl-CoA 1 分子を生成するのに消費される ATP 分子数を示す(Bierbaumer et al., 2023; Mall et al., 2018)。  
b 炭酸固定に共役したプロトン排出による ATP 生成を考慮した。  
c ATP の AMP への加水分解は、ATP 2 分子の消費と換算した。  
d Fd, フェレドキシン。  
e Gly から acetyl-CoA を経由して pyruvate を合成する場合は Fd やチオレドキシン、酸素感受性の POR が関与するが、Ser を前駆体として pyruvate 合成する場合にはこれら電子供与体や酸素感受性酵素は関与しない。