

Metabolic features of hydrogen-oxidizing bacteria and their application to achieve a low-carbon society

水素細菌の代謝特性と低炭素社会実現に向けての展開

Kameya M<sup>a,b</sup>, Arai H<sup>a,b</sup>, and Ishii M<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Department of Biotechnology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

<sup>b</sup> Collaborative Research Institute for Innovative Microbiology, The University of Tokyo

亀谷将史<sup>a,b</sup>、新井博之<sup>a,b</sup>、石井正治<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学専攻

<sup>b</sup> 東京大学微生物科学イノベーション連携研究機構

Corresponding author: Masafumi Kameya, akameya@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

Phone: +81-3-5841-5143

## Abstract

Hydrogen bacteria, often called hydrogen-oxidizing bacteria or knallgas bacteria, are a bacterial group that autotrophically grows utilizing hydrogen and carbon dioxide as the electron donor and the carbon source, respectively. This article presents an overview of physiological features and central metabolism, including hydrogen oxidation and carbon fixation, of hydrogen bacteria in order to explain what metabolic mechanisms endow the distinct features with these bacteria. We also discuss the potential application of hydrogen bacteria and their advantages to achieve a low-carbon society based on the metabolic features.

## Key words

hydrogen-oxidizing bacteria, autotrophy, hydrogenase, carbon fixation, Calvin cycle, rTCA cycle, low-carbon society, hydrogen society, gas fermentation

## キーワード

水素細菌、独立栄養性、ヒドロゲナーゼ、二酸化炭素固定、カルビン回路、還元的 TCA 回路、低炭素社会、水素社会、ガス発酵生産

## 1. はじめに

「水素細菌」とは、“水素の酸化エネルギーを利用してエネルギー生産を行い、独立栄養的に生育することができる一群の細菌”を指す<sup>1)</sup>。

「水素細菌」という言葉を聞いたとき、この定義とは逆に、「水素を生産する細菌」というイメージを持つ人もいるだろう。しかしそのような菌は、「水素細菌」ではなく、「水素生成菌」と呼ばれている。例えば、活性汚泥で有機物を酸化し、共生するメタン生成菌に水素を供給する菌<sup>2)</sup>や、水素生成能を有する嫌気性アーキア<sup>3)</sup>などがよく知られている。これらの菌は、嫌気的環境で有機物を酸化し、生じた還元力の最終的な捨て場としてプロトンをも H<sub>2</sub> に還元して放出する。またこれ以外に水素を生成する菌としては、窒素固定酵素 nitrogenase の副反応により水素を生じる窒素固定菌も挙げられる<sup>4)</sup>。

「水素細菌」はこれらの菌と異なり、「水素酸化細菌」とも呼ばれ、主に好気的環境で水素を水に酸化することでエネルギーを獲得し生育する菌を指す。従属栄養生物は有機物を摂取しエネルギー源としなければ生育できないのに対し、水素細菌は有機物なし

で生育することができる。すなわち水素細菌は、水素を唯一のエネルギー源とする能力だけではなく、二酸化炭素を唯一炭素源として固定して独立栄養的に生育する能力も有している。

本稿では水素細菌について、「そもそもどういう菌なのか」といった基本的なことから、菌の特性、またその特性がどのような代謝機構によるものなのかを、できる限り平易に紹介したい。またこうした代謝特性を踏まえた上で、低炭素社会の実現など昨今社会的に求められている課題に水素細菌をどのように活用できるか、その可能性を論じたい。

## 2. 水素細菌の特性や分類、環境中分布

筆者の所属する研究室では、水素を唯一のエネルギー源、二酸化炭素を唯一の炭素源とした条件で水素細菌のスクリーニングが行われてきた。温泉土壌からは、70℃を至適温度とする *Hydrogenobacter thermophilus* や、50℃を至適温度とする *Hydrogenophilus thermoluteolus* といった好熱性水素細菌が単離されている<sup>5,6)</sup>。単離源は陸上淡水環境に限られず、海洋からは *Hydrogenovibrio marinus* といった中温性の水素細菌も得られている<sup>7)</sup>。これらの菌株は、ゲノム解読<sup>8-10)</sup>をはじめ、その特異な代謝機構の解明を目指した研究が進められている。また一般的に知られる水素細菌としては、中温の土壌から単離された *Ralstonia eutropha* (*Cupriavidus necator*) H16 が代表的な菌株として広く研究されている<sup>11)</sup>。

このように様々な環境に遍在する水素細菌であるが、どのような特性を有しているのだろうか。水素細菌を他の独立栄養性生物と比較したとき、その特性の一つとして増殖能の高さが挙げられる<sup>1)</sup>。中でも *H. thermoluteolus* は、倍加時間約1時間という、独立栄養性生物としては異例の速さで増殖する<sup>6)</sup>。

また系統分類上でも広い範囲に分布することも、水素細菌の特徴として挙げられる。上述の菌のうち *H. marinus* は  $\gamma$ -Proteobacteria、*R. eutropha* は  $\beta$ -Proteobacteria、*H. thermoluteolus* は *Hydrogenophilia* と、Proteobacteria 門の各綱に属する。一方グラム陽性菌

でも、Firmicutes 門に属する *Kyrpidia tusciae*<sup>12)</sup> や *Actionobacteria* 門に属する *Mycobacterium llutzerense*<sup>13)</sup> などが水素細菌として報告されている。さらに、*H. thermophilus* は *Bacteria* 界でもっとも古くに他から分岐した *Aquificae* 門に属する。このように広範な系統に分布することからも、後述する hydrogenase の研究から支持されるように、水素酸化という代謝様式 of 生命進化における古さが窺われる。

## 3. 水素細菌の代謝機構

水素を唯一のエネルギー源、二酸化炭素を唯一の炭素源として生育するという水素細菌の特性はすでに述べたが、ではどのような生物学的機構でこれを可能にしているのだろうか。これに関して、水素酸化代謝と炭酸固定代謝を中心に紹介したい。

### 3-1. 水素酸化代謝

#### 水素酸化と hydrogenase

「水素をエネルギー源とする」という、水素細菌で最も重要な特性を支えている酵素が hydrogenase である。Hydrogenase は、



という反応を可逆的に触媒することで、分子状水素をプロトンに変換し電子を引き抜くことができる。水素細菌はこの反応で得た電子を呼吸鎖などに渡すことで、ATP 合成や各種代謝への還元力供給を行っている。

#### Hydrogenase の分類と生理学的機能

Hydrogenase が水素酸化に必須であることは述べたが、それでは水素細菌は hydrogenase を1つ持っていれば十分なのだろうか。それとも何らかの理由で複数の hydrogenase を使い分けたりするのだろうか。

細胞内での局在性と生理学的役割によって、hydrogenase は大きく3つに分類される。第一のグループは、細胞膜上にある membrane-bound hydrogenase (MBH) である (図1)。本グループの酵素は膜上でキ

ノンと電子授受することから、呼吸鎖やプロトン膜勾配形成と共役することができる。多くの水素細菌において、ATP合成に寄与しているのはMBHとされる。第二のグループは soluble hydrogenase (SH) と呼ばれ、細胞質でNAD(P)Hなどの酸化還元を行う。様々な生体反応でNAD(P)Hなどの電子供与体が必要とされるが、水素細菌の多くはSHによってこれら電子供与体を供給している。第三のグループは regulatory hydrogenase (RH) と呼ばれる。RHは水素をセンシングし、histidine protein kinaseを介してMBHやSHなど水素応答性タンパク質の発現を制御する。多くの水素細菌はこれら3種のhydrogenaseのうち複数を有し、役割に応じて使い分けている。

上記の分類とは別に、活性中心に配位する金属によってもhydrogenaseは分類される。大きくは3グループに分けられ、[NiFe]型や[FeFe]型、[Fe]型と呼ばれる<sup>14)</sup>。このうち[Fe]型はメタン生成アーキアに特異的とされ、水素細菌は主に[NiFe]型と[FeFe]型を有する。一次配列によってさらに細かいサブグループへと分類され、サブグループ間で異なる機能や役割を有することが知られている<sup>15)</sup>。

各種hydrogenaseは水素細菌から精製され、その酵素学的性質や立体構造が明らかにされている<sup>14)</sup>。水素細菌は好気環境で旺盛に生育するが、一般にhydrogenaseは酸素に弱い酵素であることが知られている。水素細菌由来hydrogenaseの構造の解明により、これら酵素がどのようなメカニズムで比較的高い酸素耐性を有しているかについても理解が進みつつある<sup>16-18)</sup>。

### Hydrogenaseは普遍的酵素？

水素細菌には欠かせないhydrogenaseだが、水素細菌にしか存在しないわけではない。Hydrogenaseは水素生成方向の反応も可逆的に触媒するため、水素生成菌でも用いられている。

水素細菌や水素生成菌以外の身近な菌でも、hydrogenaseの存在は知られている。例えば大腸菌のゲノム中にも4種類のhydrogenaseがコードされてお

り、嫌気条件下でフマル酸を電子受容体とした際の水素酸化<sup>19)</sup>やギ酸を電子供与体とした際の水素生成<sup>20)</sup>などに関与している。水素細菌に比べればごく限られた能力ではあるものの、一般的に思われているより多くの生物が実は水素酸化能(・生成能)を有していると言える。

「水素酸化能を有していたとしても、普通の生育環境には水素ガスなどないのだから使いどころがないのではないか」と思う人もいるだろう。大気中に水素分子は、0.5 ppmという微少な濃度でしか存在しない。しかし近年、このような低濃度の水素を酸化する*Streptomyces*属細菌が発見され<sup>21)</sup>、同様の代謝機構を有する生物が環境中に広く分布することも示されている<sup>22)</sup>。こうした一連の研究は、菅野氏の日本語総説<sup>23)</sup>に詳しくまとめられている。

このように多くの生物種がhydrogenaseを保持していることには、進化的な背景があると考えられる。生命起源については様々な説が提唱されているが、「原始生命はエネルギー源として水素を用いており、そのため生命初期からhydrogenaseが用いられていた」とする説も多い<sup>24)</sup>。タンパク質の構造を見ても、MBHは呼吸鎖のcomplex I (NADH dehydrogenase)と類似しており、complex Iの進化的起源と推測されている<sup>25)</sup>。こうしたことから、hydrogenaseは現存生命の共通祖先以前から存在する古い酵素であり、それが多くの現存生物種で保持されている一因と考えられる。水素細菌におけるhydrogenaseの研究は、水素細菌にとどまらず生物普遍的なエネルギー代謝の進化を理解する上でも大きな鍵を握っているのかもしれない。

### 3-2. 炭酸固定代謝

#### カルビン回路

シアノバクテリアや植物では、カルビン回路で炭酸固定が行われていることがよく知られている。水素細菌でも*H. thermoluteolus*や*H. marinus*、*R. eutropha*といった菌では、炭酸固定経路としてカルビン回路が機能している<sup>7,26,27)</sup>。これらの菌においては、光合成生物とも共通の代謝経路で二酸化炭素が固定され

ていると言える。

カルビン回路の鍵酵素 ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO)は CO<sub>2</sub> を基質とするが、細胞内に十分な濃度の溶存 CO<sub>2</sub> を常に供給するのは困難である。そこでシアノバクテリアなどの光合成細菌は、細胞内に carboxysome と呼ばれる構造体を形成する<sup>28, 29)</sup>。RubisCO を carboxysome 内に局在させると共に、内部に CO<sub>2</sub> を濃縮する機構を働かせることで、局所的な CO<sub>2</sub> 濃度を上げ炭酸固定効率を高めている (図 2)。また、通常 RubisCO は酸素存在下で oxygenase 反応を触媒し生育に悪影響を与える (光呼吸) が、carboxysome 内に RubisCO を隔離することでこうした反応も抑制できる。

では水素細菌もこのような CO<sub>2</sub> 濃縮機構を有しているだろうか。カルビン回路を有する水素細菌のうち、*H. thermoluteolus* や *R. eutropha* などは carboxysome を形成しない。一方、*H. marinus* は carboxysome 遺伝子を有し、実際に低 CO<sub>2</sub> 条件特異的に carboxysome を形成することが確かめられている<sup>30)</sup>。さらに本菌では、局在の異なる複数の RubisCO を有し二酸化炭素濃度に応じて使い分けるといふ、シアノバクテリアにもない機構が見つかっている<sup>31, 32)</sup>。

### 非カルビン回路による炭酸固定

上述の水素細菌とは異なり、カルビン回路を持たない水素細菌も存在する。

*H. thermophilus* は、カルビン回路の代わりに reductive tricarboxylic acid (rTCA; 還元的 TCA)回路と呼ばれる経路で炭酸固定を行う<sup>33-36)</sup> (図 3A)。rTCA 回路は TCA 回路を逆回転させた経路として知られ、有機物を二酸化炭素に分解する TCA 回路とは逆に、二酸化炭素を取り込んで有機物を合成する。

rTCA 回路は、NADH よりも酸化還元電位が低く強力な電子供与体としてフェレドキシンを必要とする<sup>35, 36)</sup>が、少ない ATP 消費で効率的に炭酸固定を行うことができる。例えば 2 分子の CO<sub>2</sub> から 1 分子の acetyl-CoA を合成するのに、カルビン回路では ATP が 7 分子消費されるのに対し、*H. thermophilus* の rTCA

回路では 3 分子しか消費されない<sup>37)</sup>。さらに、rTCA 回路を構成する酵素反応ステップは水素細菌によって異なり<sup>38)</sup>、上記の反応に ATP を 1 分子しか使わない高エネルギー効率な rTCA 回路も近年発見されている<sup>37, 39)</sup> (図 3B, C)。

なお、TCA 回路の変わり種のように思われがちな rTCA 回路であるが、実は rTCA 回路こそが TCA 回路の祖先型代謝という説も唱えられている<sup>40)</sup>。また、rTCA 回路は起源も古く、無機炭素から有機物を合成し原始生命に供給していた反応経路とも推定されている<sup>41)</sup>。このような代謝が、水素細菌の中でも古い進化的起源を有する *H. thermophilus* (*Aquificae* 門) で機能しているのは、生命進化の観点からも興味深い。

### 3-3. 水素細菌の中央代謝全体像

上記の水素酸化代謝と炭酸固定代謝を踏まえると、水素細菌の中央代謝を図 4A のように俯瞰的に見ることができる。このような見方をしたとき、エネルギー合成と還元力供給、炭素代謝の 3 つが、互いに独立した関係にあると言える。

こうした関係性は当たり前のことに聞こえるかもしれないが、実はそうではない。例えば大腸菌で同様の見方をすると、解糖系や TCA 回路のところでこれら 3 つの系が入り交じって重複している (図 4B)。このように、エネルギー合成・還元力供給・炭素代謝が混線せずに独立しているというのは水素細菌の代謝の特徴の一つであり、後述するような応用上の利点・可能性をもたらすと我々は考えている。

### 3-4. 水素細菌の代謝の柔軟性

水素細菌が一般的な微生物とは異なる環境で生育できることを述べてきたが、必ずしもそうした環境でしか生きられないというわけではない。

例えば多くの水素細菌は、チオ硫酸などの無機化合物も還元力源として利用でき、こうした条件では水素なしで生育できる<sup>42)</sup>。また、有機物を資化できる菌も多く、水素や二酸化炭素なしでも有機物存在下では従属栄養的に生育する<sup>43)</sup>。さらに、水素細菌

が生育できるのは好気環境だけに限られない。嫌気条件では酸素の代わりに硝酸を最終電子受容体とした脱窒などを行い生育できる菌も多い<sup>44)</sup>。

このような水素細菌は、電子供与体（水素など）と最終電子受容体（酸素など）を環境に応じて使い分け、柔軟に電子伝達系を切り替えることでエネルギーを獲得していると言える。水素資化能を持つ菌が非水素細菌にもいるように、水素細菌らしからぬ環境で生育できる水素細菌も多いのだ。

## 4. 水素細菌の産業利用

上で述べたような興味深い代謝特性から、水素細菌についての研究は学術的見地から長年行われてきた。しかし近年はそれに加え、社会情勢の変化から、水素細菌の産業利用についても検討されるようになった。

### 4-1. 社会的背景

水素細菌を産業利用に結びつける一つのキーワードは、「低炭素社会」である。2016年のパリ協定発効をはじめとした世界的な取り組みとして、二酸化炭素などの温室効果ガス排出の大幅な削減が求められていることは説明の必要がないだろう。古くは「脱石油」として可食部バイオマスや非可食部バイオマスの利用が推進されてきたが、さらなる持続可能性向上のため、二酸化炭素など無機炭素の資源化が今日では不可欠とされている。こうした資源化を自然界で実際に行っているのが、水素細菌をはじめとする独立栄養性生物である。

もう一つのキーワードは、「水素社会」である。2017年に政府が水素基本戦略を決定するなど、化石燃料から水素へのシフトが国を挙げて推進されている。2014年に策定されたロードマップでは水素社会実現までの期間を3つのフェーズに分けているが、興味深いことにフェーズ1として掲げられたのは「水素の大量製造・供給」などではなく、「水素利用の飛躍的拡大」である。これは、「とりあえず水素をたくさん作ってから使い道を考える」のではなく、「水素を

使うことでこういうことが可能になる、という新たな価値をまず創出し、それを原動力に水素社会を進める」という戦略に根ざしたものであろう。

これら2つのキーワードで表されるニーズに対し、バイオでどう応えるかは生物工学に携わる研究者に課せられた使命と言えよう。上記の水素基本戦略では、「水素と二酸化炭素を利用した革新的化学品合成方法」が必要な技術開発の一つとして挙げられている。もし水素細菌を宿主とし、水素と二酸化炭素を原料として物質生産ができれば、求められている技術としてぴたりと当てはまるだろう。

### 4-2. ガス発酵生産の潮流

このように水素細菌の利用が期待される一方で、「水素や二酸化炭素などガスを原料とした発酵生産なんて現実的にあり得るのか」という疑問を持つ人もいるだろう。そこで、実はこうした取り組みは *gas fermentation* と呼ばれ、すでに世界中の企業で行われていることを示す事例を簡単に紹介したい。

ガス状の水素や無機炭素（CO<sub>2</sub>とCO）を原料とした物質生産を行っている企業としては、アメリカの *LanzaTech* 社や、ドイツの *Evonik* 社と *Siemens* 社<sup>45)</sup> などが知られている。これらの企業では、*Clostridium* 属の嫌気性酢酸生成菌（*acetogen*）を用い、エタノールやブタノールなどの有機溶媒を生産している。

こうした物質生産で使用されるのは *acetogen* だけにとどまらず、水素細菌も用いられている。国内の企業では、CO<sub>2</sub> 資源化研究所が水素・二酸化炭素からのイソブタノール生産などに成功している<sup>46)</sup>。また東京大学においても、水素細菌に外来遺伝子を導入することで乳酸生産を行えること、また電気化学的に還元力を与えることで生産量が飛躍的に増加することなどを示している（木村ら、unpublished）。

ガスを原料とした発酵生産は、化合物生産に限られない。アメリカの *CALYSTA* 社やデンマークの *Unibio* 社は、メタンを原料として好気性メタン酸化菌を培養し、得られた菌体を家畜飼料化している。こうした事業は、微生物菌体が飼料として高い価値（高

タンパク質含量と良好な必須アミノ酸バランス)を備えている点に着目したものである。国内でも、2019年に水産庁の養殖業成長産業化推進事業で「水素細菌を原料とする純国産養魚飼料開発」が採択されるなど、水素細菌の飼料としての活用を目指した産学官連携プロジェクトを進めている。

### 4-3. 物質生産における水素細菌の特長

物質生産に水素細菌を利用するメリットとしては、CO<sub>2</sub>とCO、CH<sub>4</sub>といった無機炭素を原料とし、カーボンニュートラル・クリーンな物質生産ができることがまず挙げられる。このメリットはガス発酵生産で用いられる他の菌とも共通するが、そうした独立栄養性生物と比較して高い増殖能を示すことは水素細菌ならではの特長と言える。

水素細菌の培養には必ずしも高濃度のガスを必要とせず、爆発限界(約4%)以下の水素濃度、1%以下の二酸化炭素濃度でも大きな生育遅延なしに培養できることを我々は確認している(宮野ら, unpublished)。化学触媒法など高濃度・高純度のガスを必要とする手法と異なり、安価な低純度ガスや排ガスが利用できることも期待される。

エネルギー合成・還元力供給・炭素代謝が独立しているという性質も、水素細菌で物質生産を行う上で有利な点だと我々は考えている(図4)。大腸菌で発酵生産を行う場合を考えると、炭素代謝を改変したときに、酸化還元やエネルギー合成のバランスが崩れてしまうことが往々にして起きる。例えば、物質生産や菌の生存に必要なATPを合成するためにエネルギー合成系が動くとき、重複している炭素代謝も動いてしまい、必然的に収率の低下や副生成物の蓄積が起きてしまう。同様に、還元力が足りないときや余剰となるときもそのバランスを取るため炭素代謝が動き、収率低下や副生成物蓄積につながる。水素細菌と同様にガス発酵生産に用いられる acetogen においても、こうした代謝系の重複が見られ、同じ問題が起こりうる。一方、水素細菌ではこれらが独立しており、エネルギーが足りない分はMBHが、還元力が足りない

分はSHが自由に動き、水以外の副生成物を生じない。すなわち、目的生成物が酸化的な化合物であろうが還元的な化合物であろうが、また合成過程でエネルギーコストがどれだけかかる化合物であろうが、副生成物の蓄積などを起こさないという、物質生産ホストとして高いポテンシャルを有している。

## 5. 終わりに

本総説では、水素細菌の特性や代謝のあらましを概説し、産業利用上どのような可能性を有しているかを紹介した。「水素細菌」という言葉自体、認知度はあまり高くなく、ニッチな研究対象の重箱の隅をつついていようなイメージを持たれるかもしれない。しかしその代謝を詳細に調べていくと、他の独立栄養性生物や生物全般に共通する生体機構、また生命の進化についてヒントとなるものまでが見えてくる。水素細菌に限った話ではないが、こうした菌の代謝研究の魅力ではないかと思っている。

水素細菌の産業利用について、本稿では「低酸素社会」など昨今のキーワードに沿って紹介した。しかしその土台になっているのは、こうした言葉が生まれる前から地道に水素細菌の性状を明らかにしてきた先人の研究結果である。今後も、「水素細菌って面白いかも」と思う研究者が続き、水素細菌の新たな可能性を見出す研究が盛り上がっていくことが望まれる。本総説がそのきっかけになれば幸いである。

## 引用文献

- 1) 大島泰郎, 今堀和友, 山川民夫. 2007. 生化学辞典, 第4版 ed. 東京化学同人.
- 2) 中村浩平, 鎌形洋一. 2005. Recent topics on methanogenic syntrophs. *J Environ Biotechnol* 5:81-89.
- 3) Kanai T, Imanaka H, Nakajima A, Uwamori K, Omori Y, Fukui T, Atomi H, Imanaka T. 2005. Continuous hydrogen production by the hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus kodakaraensis* KOD1. *J Biotechnol* 116:271-282.

- 4) Madamwar D, Garg N, Shah V. 2000. Cyanobacterial hydrogen production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 16:757-767.
- 5) Kawasumi T, Igarashi Y, Kodama T, Minoda Y. 1980. Isolation of strictly thermophilic and obligately autotrophic hydrogen bacteria. *Agric Biol Chem* 44:1985-1986.
- 6) Goto E, Kodama T, Minoda Y. 1977. Isolation and culture conditions of thermophilic hydrogen bacteria. *Agric Biol Chem* 41:685-690.
- 7) 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.
- 8) Arai H, Ishii M. 2019. Complete genome sequence of a mesophilic obligately chemolithoautotrophic hydrogen-oxidizing bacterium, *Hydrogenovibrio marinus* MH-110. *Microbiol Resour Announc* 8:e01132-19.
- 9) Arai H, Kanbe H, Ishii M, Igarashi Y. 2010. Complete genome sequence of the thermophilic, obligately chemolithoautotrophic hydrogen-oxidizing bacterium *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. *J Bacteriol* 192:2651-2652.
- 10) Arai H, Shomura Y, Higuchi Y, Ishii M. 2018. Complete genome sequence of a moderately thermophilic facultative chemolithoautotrophic hydrogen-oxidizing bacterium, *Hydrogenophilus thermoluteolus* TH-1. *Microbiol Resour Announc* 7:e00857-18.
- 11) Schlegel HG, Gottschalk G, Von Bartha R. 1961. Formation and utilization of poly- $\beta$ -hydroxybutyric acid by knallgas bacteria (*Hydrogenomonas*). *Nature* 191:463-465.
- 12) Klenk HP, Lapidus A, Chertkov O, Copeland A, Del Rio TG, Nolan M, Lucas S, Chen F, Tice H, Cheng JF, Han C, Bruce D, Goodwin L, Pitluck S, Pati A, Ivanova N, Mavromatis K, Daum C, Chen A, Palaniappan K, Chang YJ, Land M, Hauser L, Jeffries CD, Detter JC, Rohde M, Abt B, Pukall R, Goker M, Bristow J, Markowitz V, Hugenholtz P, Eisen JA. 2011. Complete genome sequence of the thermophilic, hydrogen-oxidizing *Bacillus tusciae* type strain (T2) and reclassification in the new genus, *Kyrpidia* gen. nov. as *Kyrpidia tusciae* comb. nov. and emendation of the family *Alicyclobacillaceae* da Costa and Rainey, 2010. *Stand Genomic Sci* 5:121-134.
- 13) Gomila M, Ramirez A, Gasco J, Lalucat J. 2008. *Mycobacterium llatzerense* sp. nov., a facultatively autotrophic, hydrogen-oxidizing bacterium isolated from haemodialysis water. *Int J Syst Evol Microbiol* 58:2769-2773.
- 14) Shima S, Pilak O, Vogt S, Schick M, Stagni MS, Meyer-Klaucke W, Warkentin E, Thauer RK, Ermler U. 2008. The crystal structure of [Fe]-hydrogenase reveals the geometry of the active site. *Science* 321:572-575.
- 15) Sondergaard D, Pedersen CN, Greening C. 2016. HydDB: A web tool for hydrogenase classification and analysis. *Sci Rep* 6:34212.
- 16) Shomura Y, Taketa M, Nakashima H, Tai H, Nakagawa H, Ikeda Y, Ishii M, Igarashi Y, Nishihara H, Yoon K-S, Ogo S, Hirota S, Higuchi Y. 2017. Structural basis of the redox switches in the NAD<sup>+</sup>-reducing soluble [NiFe]-hydrogenase. *Science* 357:928-932.
- 17) Shomura Y, Yoon KS, Nishihara H, Higuchi Y. 2011. Structural basis for a [4Fe-3S] cluster in the oxygen-tolerant membrane-bound [NiFe]-hydrogenase. *Nature* 479:253-256.
- 18) 天尾 豊. 2012. 結晶構造解析から見えてきた酸素耐性ヒドロゲナーゼの鉄-硫黄クラスターの仕組み. *生物工学会誌* 90:591.
- 19) Macy J, Kulla H, Gottschalk G. 1976. H<sub>2</sub>-dependent anaerobic growth of *Escherichia coli* on L-malate: succinate formation. *J Bacteriol* 125:423-428.
- 20) Bagramyan K, Trchounian A. 2003. Structural and

- functional features of formate hydrogen lyase, an enzyme of mixed-acid fermentation from *Escherichia coli*. *Biochemistry (Moscow)* 68:1159-1170.
- 21) Constant P, Poissant L, Villemur R. 2008. Isolation of *Streptomyces* sp. PCB7, the first microorganism demonstrating high-affinity uptake of tropospheric H<sub>2</sub>. *ISME J* 2:1066.
- 22) Greening C, Biswas A, Carere CR, Jackson CJ, Taylor MC, Stott MB, Cook GM, Morales SE. 2016. Genomic and metagenomic surveys of hydrogenase distribution indicate H<sub>2</sub> is a widely utilised energy source for microbial growth and survival. *ISME J* 10:761-777.
- 23) 菅野 学. 2017. 地球規模の大気水素循環に重要な役割を果たす鍵微生物群の発見と生理生態学的特性:超低濃度の水素を酸化可能な新規ヒドロゲナーゼをもつ植物共生放線菌. *化学と生物* 55:587-589.
- 24) Lane N, Martin William F. 2012. The origin of membrane bioenergetics. *Cell* 151:1406-1416.
- 25) Yu H, Wu C-H, Schut GJ, Haja DK, Zhao G, Peters JW, Adams MWW, Li H. 2018. Structure of an ancient respiratory system. *Cell* 173:1636-1649 e16.
- 26) Hayashi NR, 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.
- 27) Bowien B, Kusian B. 2002. Genetics and control of CO<sub>2</sub> assimilation in the chemoautotroph *Ralstonia eutropha*. *Arch Microbiol* 178:85-93.
- 28) 小川晃男. 1997. ラン藻における CO<sub>2</sub>濃縮と H<sup>+</sup>輸送. *化学と生物* 35:269-273.
- 29) Turmo A, Gonzalez-Esquer CR, Kerfeld CA. 2017. Carboxysomes: metabolic modules for CO<sub>2</sub> fixation. *FEMS Microbiol Lett* 364:fnx176.
- 30) Yoshizawa Y, Toyoda K, Arai H, Ishii M, Igarashi Y. 2004. CO<sub>2</sub>-responsive expression and gene organization of three ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase enzymes and carboxysomes in *Hydrogenovibrio marinus* strain MH-110. *J Bacteriol* 186:5685-5691.
- 31) Toyoda K, Yoshizawa Y, Arai H, Ishii M, Igarashi Y. 2005. The role of two CbbRs in the transcriptional regulation of three ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase genes in *Hydrogenovibrio marinus* strain MH-110. *Microbiology* 151:3615-3625.
- 32) Toyoda K, Ishii M, Arai H. 2018. Function of three RuBisCO enzymes under different CO<sub>2</sub> conditions in *Hydrogenovibrio marinus*. *J Biosci Bioeng* 126:730-735.
- 33) 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.
- 34) Aoshima M. 2007. Novel enzyme reactions related to the tricarboxylic acid cycle: phylogenetic/functional implications and biotechnological applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 75:249-255.
- 35) Ikeda T, Yamamoto M, Arai H, Ohmori D, Ishii M, Igarashi Y. 2010. Enzymatic and electron paramagnetic resonance studies of anabolic pyruvate synthesis by pyruvate: ferredoxin oxidoreductase from *Hydrogenobacter thermophilus*. *FEBS J* 277:501-510.
- 36) Yamamoto M, Ikeda T, Arai H, Ishii M, Igarashi Y. 2010. Carboxylation reaction catalyzed by 2-oxoglutarate:ferredoxin oxidoreductases from *Hydrogenobacter thermophilus*. *Extremophiles* 14:79-85.
- 37) Mall A, Sobotta J, Huber C, Tschirner C, Kowarschik S, Bačnik K, Mergelsberg M, Boll M, Hügler M, Eisenreich W, Berg IA. 2018. Reversibility of citrate synthase allows autotrophic growth of a thermophilic bacterium. *Science* 359:563-567.
- 38) Giovannelli D, Sievert SM, Hügler M, Markert S, Becher D, Schweder T, Vetriani C. 2017. Insight into the evolution of microbial metabolism from the deep-



- branching bacterium, *Thermovibrio ammonificans*. eLife 6:e18990.
- 39) 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.
- 40) Verschueren KHG, Blanchet C, Felix J, Dansercoer A, De Vos D, Bloch Y, Van Beeumen J, Svergun D, Gutsche I, Savvides SN, Verstraete K. 2019. Structure of ATP citrate lyase and the origin of citrate synthase in the Krebs cycle. *Nature* 568:571-575.
- 41) Kitadai N, Kameya M, Fujishima K. 2017. Origin of the reductive tricarboxylic acid (rTCA) cycle-type CO<sub>2</sub> fixation: a perspective. *Life* 7:39.
- 42) Sato Y, Kanbe H, Miyano H, Sambongi Y, Arai H, Ishii M, Igarashi Y. 2012. Transcriptome analyses of metabolic enzymes in thiosulfate- and hydrogen-grown *Hydrogenobacter thermophilus* cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 76:1677-1681.
- 43) Nguyen HT, Hirano S-i, Arai H, Nishihara H, Ishii M. 2017. Transcriptome profiles of central carbon metabolism under autotrophic, heterotrophic, and mixotrophic conditions in *Hydrogenophilus thermoluteolus* TH-1. *J Jpn Soc Extremophiles* 16.
- 44) Kameya M, Kanbe H, Igarashi Y, Arai H, Ishii M. 2017. Nitrate reductases in *Hydrogenobacter thermophilus* with evolutionarily ancient features: distinctive localization and electron transfer. *Mol Microbiol* 106:129-141.
- 45) Haas T, Krause R, Weber R, Demler M, Schmid G. 2018. Technical photosynthesis involving CO<sub>2</sub> electrolysis and fermentation. *Nature Catalysis* 1:32-39.
- 46) 湯川英明, 大谷直人, 石井正治. 2018. ヒドロゲノフィラス属細菌形質転換体 特許 6450912.

## Figures

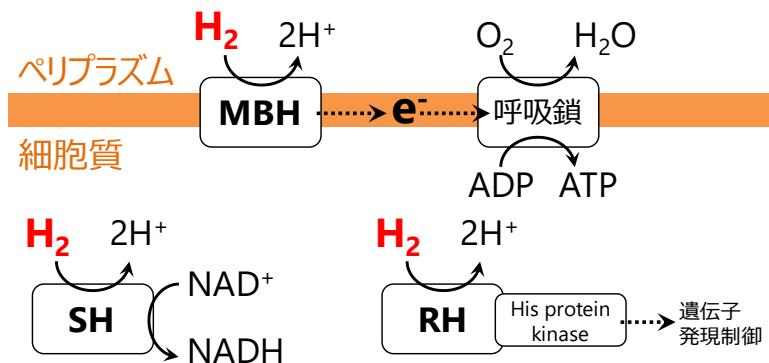


図 1. 水素細菌の hydrogenase の局在と機能。

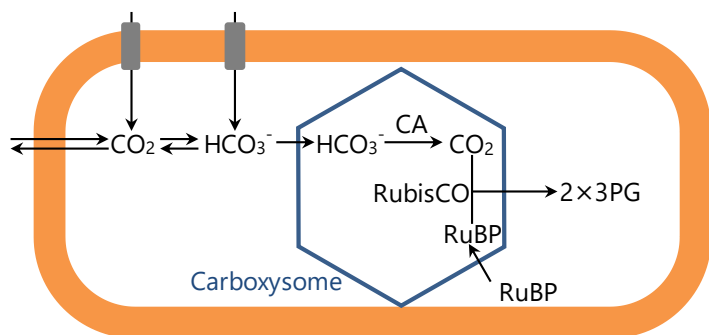


図 2. カルボキシソームによる CO<sub>2</sub> 濃縮機構。Carbonic anhydrase (CA)は HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>と CO<sub>2</sub>とを可逆的に変換する。HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>はカルボキシソームの殻を通過できるのに対し、CO<sub>2</sub>は通過できずカルボキシソーム内に濃縮される。RuBP, D-ribulose 1,5-bisphosphate。3PG, 3-phosphoglycerate。

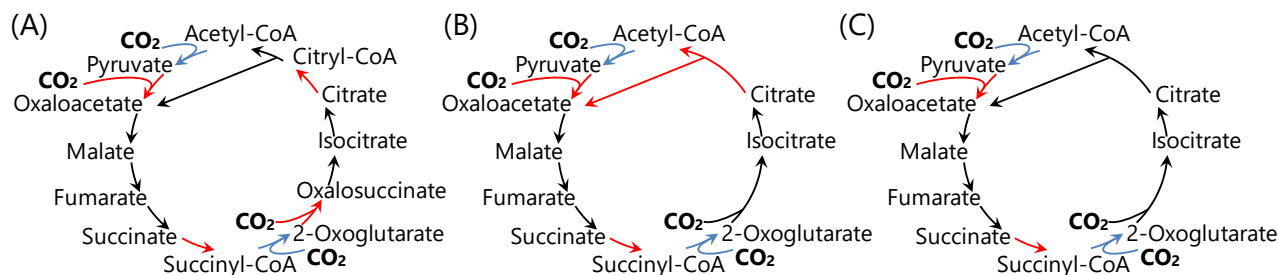


図 3. 水素細菌で知られる rTCA 回路。赤矢印は ATP を消費する酵素反応を示す。青矢印は電子供与体としてフェレドキシンを必要とする酵素反応を示す。(A) *H. thermophilus*をはじめとする *Aquificae* 門 *Aquificaceae* 科の水素細菌が有する rTCA 回路。(B) *Aquificae* 門 *Hydrogenothermaceae* 科と *Desulfurobacteriaceae* 科の rTCA 回路<sup>38)</sup>。2-Oxoglutarate から isocitrate の生成、citrate から acetyl-CoA + oxaloacetate への開裂がそれぞれ一段階の酵素反応で進み、前者は ATP を消費せずに進行する。(C) *Thermosulfidibacter takaii* (*Aquificae* 門) と *Desulfurella acetivorans* ( $\delta$ -proteobacteria) の rTCA 回路<sup>37, 39)</sup>。Citrate 開裂反応が ATP 消費なしに進行する。

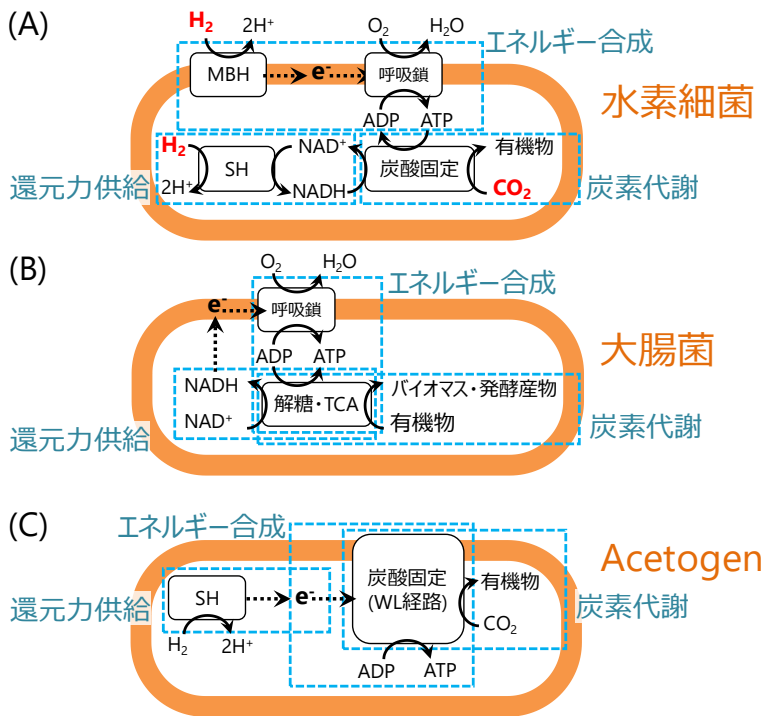


図 4. 各種細菌のエネルギー合成と還元力供給、炭素代謝。水素細菌(A)と大腸菌(B)、acetogen (C)の中央代謝系を示す。Acetogen は Wood-Ljungdahl 経路 (WL 経路; 別名 acetyl-CoA 経路) で炭酸固定およびエネルギー獲得を行う。