



報道関係各位

2025年3月7日

大学共同利用機関法人 高エネルギー加速器研究機構
国立大学法人 長岡技術科学大学

木質由来の低分子性リグニンを分解できる細菌の炭素利用の一端を解明

～バイオマスの利用に向けて～

本研究成果のストーリー

● Question

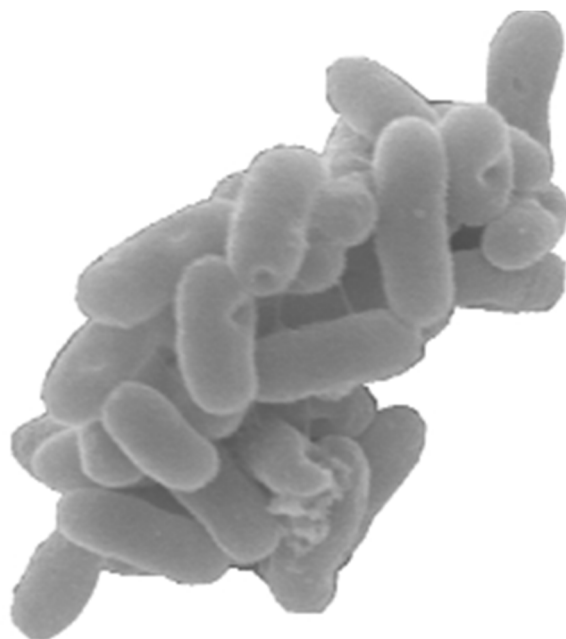
木はリグニンという分解されにくい高分子を多く含んでおり建材などさまざまな用途に使われています。しかしバイオマスとして利用が難しく、リグニンに由来する物質を分解代謝できる微生物の理解とそこに関わる酵素の理解が必須です。我々は、そうした細菌の一つ *Sphingobium lignivorans* SYK-6 株の研究を行ってきました。この株はヒトや大腸菌など典型的な生物とは異なっていることがわかってきました。これは代謝系の進化の面からも興味深く、その違いや進化を解明するために研究が始まりました。

● Findings

SYK-6 株の代謝を調べたところ、多くの生物とは異なったやり方で炭素を取り入れて利用しています。このため、通常の代謝酵素のセットを使っているだけでは不都合が生じてしまうのです。そこで、炭素を有効利用するための酵素 (MTHFR) の構造を変えることで還元反応が得意な酵素から酸化反応が得意な酵素に変化させ、炭素の取り込みの違いをやりくりしている様子が見えてきました。しかも SYK-6 株のような特別と思われていた微生物が、何種類も自然界に存在することが遺伝子配列のデータベースの調査からわかったのです。

● Meaning

本研究の結果は、炭素の取り込み方法の違いによって生じる色々な差に、微生物は酵素の性質を変えることで柔軟に進化させて対応してきたことを示しているのかもしれませんが。さらに今回の成果は、木を食べる微生物の代謝を理解する手がかりになるほか、人工的に分解して活用することが難しいリグニンを持続可能な形で利用する観点からも役に立ちます。



リグニン分解に関与する細菌 *Sphingobium lignivorans* SYK-6 株。多くの生物と違う 1 炭素代謝を進化の過程で生み出しました。活性中心を変えることで、反応の向きを変えています（提供：長岡技術科学大学 政井英司 教授）



バイオマスとしての利用に注目が集まっているリグニンに由来する低分子性芳香族化合物を分解する微生物の葉酸の代謝の一端を、X 線結晶構造解析と生化学を用いて解明しました。

概要

生物の細胞は DNA やアミノ酸の合成に関わる「1 炭素代謝」というよく知られた代謝経路があり、MTHFR という酵素が重要な役割を果たします。ヒト、マウス、酵母、大腸菌などの通常の生物では MTHFR はメチレンテトラヒドロ葉酸をメチルテトラヒドロ葉酸に変換（還元）しますが、リグニン分解菌 *Sphingobium lignivorans* SYK-6 株（SYK-6 株）の MTHFR は通常とは違い、メチルテトラヒドロ葉酸を酸化してメチレンテトラヒドロ葉酸を生成する反応を触媒することが分かりました。これは、SYK-6 株が通常のようにグルコースなどを取り込んで生育することができず、低分子性のリグニン（一種の芳香族化合物）を摂取して生育するために、独自の 1 炭素代謝を進化させてきたものと考えられます。本研究では SYK-6 株の MTHFR が持つ独特な酵素機能とその触媒反応メカニズムを結晶構造に基づき解明しました。さらに、SYK-6 株と同様に一風変わった 1 炭素代謝を持つ微生物が多数存在しそうなこともデータベース解析から発見しました。この成果は、微生物の代謝研究に新たな視点を提供するものです。

研究グループ

高エネルギー加速器研究機構（KEK）物質構造科学研究所 構造生物学研究センター(SBRC)
于宏洋 研究員（当時）
千田美紀 特任助教

長岡技術科学大学 技学研究院 物質生物系
長岡技術科学大学 先端工学専攻 社会環境・生物機能工学分野
長岡技術科学大学 技学研究院 物質生物系

GENOVESO, MICHELLE 研究員
千田俊哉 教授
上村直史 准教授
加藤諒 大学院生
政井英司 教授

研究者からひとこと



KEK 物質構造科学研究所の于宏洋 研究員（当時）

研究の過程で多くの予期しない発見や挑戦がありましたが、それらが研究に深みを与え、最終的には新しい知見を得るための貴重な経験となりました。また、今回の発見は、基礎研究のみならず、酵素工学や合成生物学をはじめとするバイオテクノロジー分野での応用にも新たな視点を提供すると期待しています。

なぜこの研究を始めたのですか

リグニンは、木質を構成する主要な成分の一つであり、環境中に大量に存在しています。その化学構造は図1に示すように、芳香環が多数繋がってできている複雑かつ安定な高分子です。一般的な生物はリグニンを直接利用する（非常に簡単に言えば、“食べて”栄養にするということです）ことができず、微生物による分解を経て利用可能な低分子化合物へと変換されていきます。リグニンを人工的に分解することは可能ですが、雑多な分解物を単一の化合物に変換することが難しく、リグニンを分解する微生物の研究は、持続可能な資源利用の観点からも大いに注目されています。

長岡技術科学大学の政井英司教授は、リグニンの分解の途中で現れる低分子性リグニンを炭素源として生育することができる *Sphingobium lignivorans* SYK-6 株（以下、SYK-6 株）という微生物を対象とした研究を長年続けており、この微生物はリグニン分解のモデル系として広く知られています。SBRC の千田俊哉教授らは、政井教授と約 30 年にわたって共同研究を続けており、政井教授らの見つけ出した様々なリグニン分解に関わる酵素の構造解析に携わってきました。今回の研究は、この微生物の持つ 1 炭素代謝という一連の化学反応に関わる酵素の研究です。このテーマに関しては、2017 年にも共同研究の結果を論文発表しており（原田彩佳ら、2017 年、参考文献）、今回の研究はその研究の続報となるもので、微生物の栄養摂取と進化の関係を考える上でも興味深いものです。

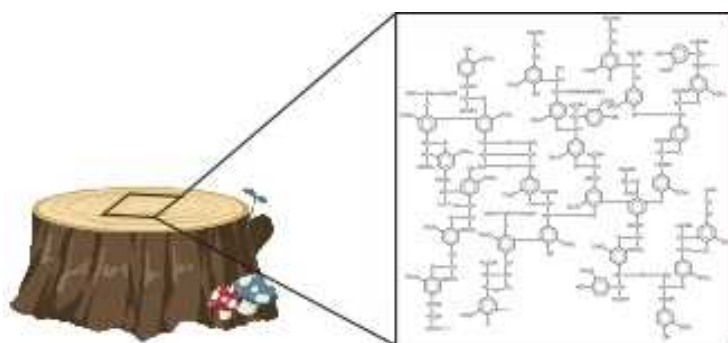


図 1 リグニンについて リグニンは複雑で分解されにくい物質です。しかし、自然界にはリグニンを分解するための経路が存在し、低分子性リグニンの分解はある種の微生物が担っています。リグニンの化学構造式はウィキペディアより

ひらめいたところはどこですか

1 炭素代謝は、葉酸と呼ばれる化合物の誘導体を使って 1 炭素単位（1 つの炭素からなる単位でメチル基やメチレン基などです）を他の分子との間でやり取りし、核酸やアミノ酸の合成に利用される生物に普遍的な反応系です。葉酸の誘導体としては、メチルテトラヒドロ葉酸 (5-CH₃-THF) (図 2 のピンクの四角) とメチレンテトラヒドロ葉酸 (5,10-CH₂-THF) (図 2 の緑の四角) の 2 つが重要です (図 2)。ヒト、酵母、大腸菌などの通常の生物では、グルコース (ブドウ糖) から作られるセリンやグリシンというアミノ酸から 1 炭素単位を取り出し 5,10-CH₂-THF を合成し、チミジン (※1) などの合成などに使います (図 2 (a))。それと同時に、一部の 5,10-CH₂-THF は、Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) という酵素により 5-CH₃-THF へと還元され、メチオニンや SAM (※2) の合成に使われます。しかしながら、SYK-6 株はグルコースなどの通常の生物が利用する分子を使わず低分子性リグニンを摂取して生きているため、一風変わった代謝系を持っています。

つまり、グリシンから 1 炭素単位を取り出すグリシン開裂系 (参考文献参照) は無くなっているだけでなく、その一部が低分子性リグニンの分解代謝の途中で生じるバニリン酸から 1 炭素単位としてメチル基を取り出すための LigM という酵素に変化 (進化) していました (このことは我々の研究グループが 2017 年に明らかにしています (参考文献))。つまり SYK-6 株は、バニリン酸から 5-CH₃-THF を作っていたのです (参考文献)。

しかしそうなると、チミジンの生合成に必要な 5,10-CH₂-THF の生合成経路が SYK-6 株では謎になってきます。他の実験結果も考えれば、SYK-6 株の MTHFR は通常とは反対の反応、5-CH₃-THF を酸化して 5,10-CH₂-THF を作る反応を触媒すると予想されましたが、そのような酵素はこれまでに見つかっておらず確たる証拠はありません。しかし研究グループはこれまでの結果を総合的に考えると SYK-6 株の MTHFR は 5-CH₃-THF を酸化する反応を触媒するはずだと考えて、これを実証することにしました。

※1. チミジン

チミン (T) と呼ばれる塩基部分とデオキシリボースからなる。チミジンがトリリン酸化 (3つリン酸基がつくということ) を受けてチミジン三リン酸 (TTP) となる。TTP は DNA を合成する際に使われる4つのヌクレオチド三リン酸 (ATP, TTP, GTP, CTP) の一つで、T は A と対になる。

※2. SAM

S-アデノシルメチオニンの略称。アミノ酸であるメチオニンとアデノシンから生成される。酵素の反応に使われる補酵素の一つで、メチル基の供与体として大切な働きをする。例えば、DNA のメチル化に使われている。

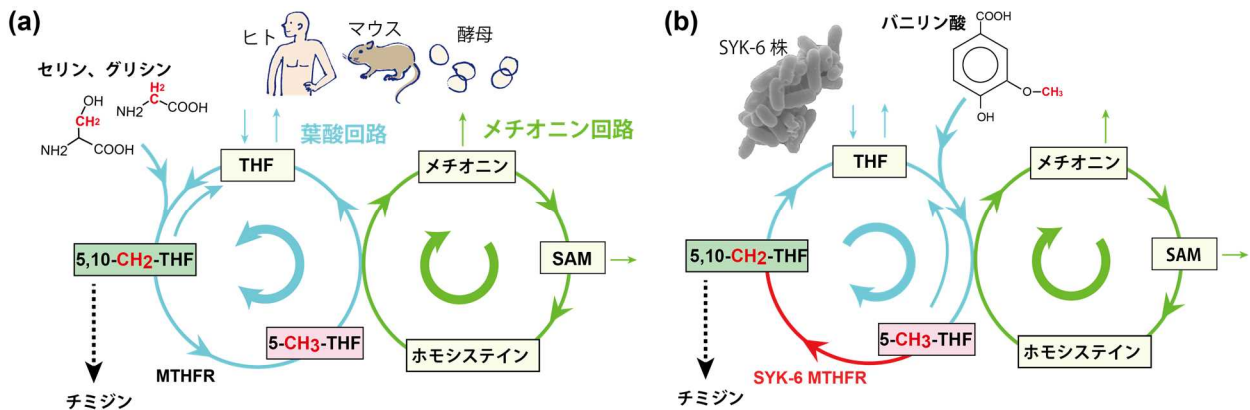


図2 葉酸誘導体の代謝 ヒトを含む通常の生物と SYK-6 株では葉酸誘導体の反応が違う。これは SYK-6 株がバニリン酸などの低分子性リグニンを摂取して生きていることと関係があります

努力したところはどこですか

上記の目的を達成するためには、SYK-6 株の MTHFR の触媒する化学反応を正確に解析し、通常の生物と異なる触媒反応の性質の違いを明らかにすることが必要になってきます。更に、なぜそのようなことが起きるのかを分子、原子レベルで明確に説明する必要があります。そのためには、対象となっている酵素の立体構造を原子レベルで解明し、これまでに明らかになっている他の生物の MTHFR と比較して触媒反応の違いの原因を説明する必要があります。今回は、非常によく研究されている大腸菌の MTHFR との比較が重要になりました。このような解析を行うために、SYK-6 株の MTHFR を精製して生化学的な解析 (酵素の触媒反応の性質を調べる) をするとともに、この酵素の立体構造を明らかにするために放射光 X 線を用いた X 線結晶構造解析を行いました。X 線結晶構造解析には、KEK 物構研放射光実験施設フォトンファクトリーの BL-1A に加え、スイスのポールシェラー研究所の Swiss Light Source X06DA (PXIII) を利用して行いました。その結果、SYK-6 株の MTHFR は 5-CH₃-THF の酸化を効率よく触媒することを実証し、その理由も明らかにすることができました。

何がわかったのですか

MTHFR が 5,10-CH₂-THF を還元するには、NADH (※3) という分子が MTHFR に結合することが必要です。ヒトや酵母の MTHFR は NADH との複合体を作り 5,10-CH₂-THF を還元します。しかし SYK-6 株の MTHFR は NADH を結合できない構造になっており、その結果 5,10-

CH₂-THF の還元反応を触媒できないことが結晶構造解析の結果から明らかになりました (図 3b)。その代わりに、反対の反応 (5-CH₃-THF の酸化) は効率よくできるようになっていたので。このようにして SYK-6 株は細胞内で必要な 5-CH₃-THF をバニリン酸のメトキシ基のメチル部分を取ることで合成し、さらに特別あつらえの MTHFR で 5,10-CH₂-THF を作っていることがわかったのです。

※3. NADH

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドの略号で、生体内の酵素による酸化還元反応に使われる補酵素。NADH はヒドリド (H⁻) を放出し、反応の相手を還元する還元剤の働きをする。

さらに、構造を用いた研究からわかってきた SYK-6 株の MTHFR の機能に必要な構造的な特徴を明らかにした上で、SYK-6 株の MTHFR と似た機能を持つと考えられるタンパク質をデータベース中で探したところ、幾つもの細菌が SYK-6 株の MTHFR とよく似た構造的な特徴を持つ MTHFR を使っていることが分かってきました。つまり、SYK-6 株の一風変わった MTHFR と思っていたものは、自然界に多く見つかることがわかったのです。これらの細菌は環境中にあるメトキシ基を持つ分子を取り込み、1 炭素代謝へと導く機構を持っている可能性が高く、今回明らかにした一風変わった MTHFR の機能は、実は広範な細菌群に共通するものであることを示唆しています。

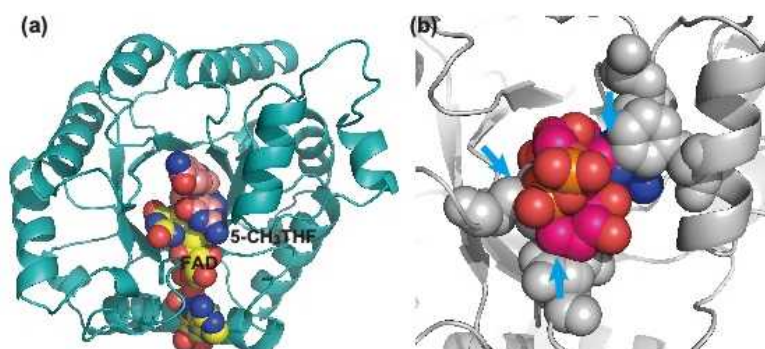


図 3 SYK-6 株の MTHFR (a) SYK-6 株の MTHFR の全体構造。炭素を黄色とピンクで表した分子はそれぞれ、水素を受容・運搬する補酵素である FAD (※4) と 5-CH₃-THF。(b) この酵素の活性中心に NADH (炭素が橙色の分子) が結合できないことを確かめた。青い矢印の部分が周囲の SYK-6 株の MTHFR 原子とぶつかっており、NADH を結合できないことがわかる

※4. FAD

フラビンアデニンジヌクレオチドの略号。NADH と同様に、酸化還元に関わる補酵素で、還元状態により色が変わる。空気中で安定な酸化状態であれば、黄色物質。

それで世界はどう変わりますか

本研究の成果は、リグニン由来の芳香族化合物を効率的に変換する微生物の育種や、SYK-6 株の MTHFR を活用した新規な酵素反応の開発を促進することが期待され、微生物を活用した環境に優しいリグニン資源の活用方法を示す重要な一歩となります。また、SYK-6 株が持つ 1 炭素代謝の詳細なメカニズムを解明することで、人工代謝経路の設計にもつながる可能性があり、微生物のみならずヒトも含めた代謝研究のためのツールの開発や創薬に貢献する研究にも繋が

るかもしれません。



謝辞

本研究は、AMED のライフサイエンス・創薬研究支援事業（創薬・ライフサイエンス研究支援基盤（BINDS））の助成番号 JP24ama121001 および JST の助成番号 JPMJPF2104 の支援を受けて実施されました。

論文情報

タイトル : Discovery of a distinct type of methylenetetrahydrofolate reductase family that couples with tetrahydrofolate-dependent demethylases

著者 : HongYang Yu, Naofumi Kamimura, Ryo Kato, Michelle Jane Genoveso, Miki Senda, Eiji Masai, Toshiya Senda*

雑誌名 : Communications Biology

DOI: 10.1038/s42003-025-07762-0

参考文献

タイトル : The crystal structure of a new *O*-demethylase from *Sphingobium* sp. strain SYK-6.

著者 : Harada, A., Kamimura, N., Takeuchi, K., Lo, Y.-H., Masai, E. and Senda, T.

雑誌名 : **FEBS J.** **284**, 1855-1867 (2017)

DOI: 10.1111/febs.14085. Epub 2017 May 11.

お問い合わせ先

<研究内容に関すること>

高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所 構造生物学研究センター

教授 千田 俊哉

e-mail: toshiya.senda@kek.jp

<報道担当>

大学共同利用機関法人 高エネルギー加速器研究機構 広報室

Tel: 029-879-6047 e-mail: press@kek.jp

国立大学法人 長岡技術科学大学 大学戦略課 企画・広報室

Tel: 0258-47-9209

e-mail : skoho@jcom.nagaokaut.ac.jp