

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

|                   |   |
|-------------------|---|
| 題目(和文)            | ランタノイド存在下におけるMethylosinus trichosporium OB3bのグリセロールによる増殖阻害とその回避メカニズム  |
| Title(English)    | Restoration mechanism of glycerol-induced growth inhibition of Methylosinus trichosporium OB3b in the presence of lanthanides   |
| 著者(和文)            | 椎名 渉  |
| Author(English)   | Wataru Shiina   |
| 出典(和文)            | 学位:博士(工学),<br>学位授与機関:東京工業大学,<br>報告番号:甲第12747号,<br>授与年月日:2024年3月26日,<br>学位の種別:課程博士,<br>審査員:蒲池 利章,和地 正明,福居 俊昭,平沢 敬,朝倉 則行  |
| Citation(English) | Degree:Doctor (Engineering),<br>Conferring organization: Tokyo Institute of Technology,<br>Report number:甲第12747号,<br>Conferred date:2024/3/26,<br>Degree Type:Course doctor,<br>Examiner:,,,,, |
| 学位種別(和文)          | 博士論文  |
| Category(English) | Doctoral Thesis   |
| 種別(和文)            | 要約  |
| Type(English)     | Outline   |

# ランタノイド存在下における *Methylosinus trichosporium* OB3b のグリセロールによる増殖阻害とその回避メカニズム

椎名 渉

## 【はじめに】

*Methylosinus trichosporium* OB3b (OB3b 株)は、メタンを単一の炭素源として生育することができるメタン資化細菌である。メタン資化細菌は、メタンモノオキシゲナーゼやメタノールデヒドロゲナーゼ(MDH)などの一炭素化合物の代謝に関わる酵素を有しているが、多炭素化合物の代謝についてはあまり知られていない。例えば、細菌の炭素源や凍結保護剤として用いられるグリセロールは、メタン資化細菌の増殖を阻害する<sup>1)</sup>がそのメカニズムは明らかになっていない。本研究では、OB3b 株におけるグリセロールとランタノイドイオンによる増殖阻害のメカニズムの解明を目指した。また OB3b 株の工業的な応用に向けて、グリセロールによる増殖阻害を回避する手法の探索およびそのメカニズムの解明を目指した(Figure)。

## 【結果と考察】

### グリセロール耐性株の解析と OB3b 株の Ln トランスポーターの同定

セリウムイオン存在下で培養した OB3b 株のグリセロールを用いた凍結保存菌体の作成の過程で生じたグリセロール耐性株を用いた。単離した株を全ゲノムリシーケンシングしたところ、TonB 依存性トランスポーターをコードする遺伝子上の機能喪失変異を同定した。比較ゲノム解析から、この遺伝子は、*Methylobacterium extorquens* AM1 の Ln トランスポーター遺伝子 *lutH* のオルソログであることが明らかとなった。OB3b 株における *lutH* の機能を調べるために、OB3b 株の *lutH* 破壊株および *lutH* 補完株を構築し、これらの MDH 発現パターンを調べた。その結果、完全長の *lutH* と  $\text{Ce}^{3+}$  イオンの存在が XoxF1 の発現に必要であったことから、OB3b 株の *lutH* は Ln トランスポーター遺伝子であると考えられる。

変異株の出現とグリセロールの関連を調べるために、強い増殖阻害が起きるグリセロールと  $\text{Ce}^{3+}$  イオンの存在下で OB3b 野生株の実験室進化を行った。2 回の継代後に単離した株は、グリセロールと  $\text{Ce}^{3+}$  イオンの存在下での増殖阻害が緩和された。単離した株は、 $\text{Ce}^{3+}$  イオン存在下でも XoxF1 が発現せず、*lutH* 上に機能喪失変異があることが分かった。この結果から、(1)グリセロールと  $\text{Ce}^{3+}$  イオンの存在下での培養によりグリセロール耐性株が生じること、(2) *lutH* に機能喪失変異が入り  $\text{Ln}^{3+}$  イオンが取り込まれなくなるためグリセロール耐性を獲得することを明らかにした。