

軽希土類元素と細菌C1代謝: *Bradyrhizobium* 属細菌のメタノールデヒドロゲナーゼ Rare earth elements and bacterial C1 metabolic system

南澤 究^{1*}; 関 謙二郎¹; 包 智華¹; 菅原 雅之¹; 篠田 亮¹; 谷 明生²; 増田 幸子²; 三井 亮司³
MINAMISAWA, Kiwamu^{1*}; SEKI, Kenjiro¹; ZHIHUA, Bao¹; SUGAWARA, Masayuki¹; SHINODA, Ryo¹;
TANI, Akio²; MASUDA, Sachiko²; MITSUI, Ryoji³

¹ 東北大学大学院生命科学研究科, ² 岡山大学資源植物科学研究所, ³ 岡山理科大学理学部生物化学科

¹Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, ²Institute of Plant Science and Resources, Okayama University, ³Department of Biochemistry, Faculty of Science, Okayama University of Science

軽希土類元素 (La, Ce, Nd など) はレアアースとも呼ばれ、宇宙存在比はケイ素の 100 万分の 1 程度と極めて低いが、土壌も含めた地殻存在度はその数十倍で、数十 ppm に達する。Methylobacterium. extorquens AM1 のメタノールデヒドロゲナーゼ遺伝子 *xoxF* の産物は、Ca によって活性を得る MxaF と異なり、La や Ce のような希土類元素存在下で活性を示すことが報告された (Nakagawa et al. 2012)。Bradyrhizobium 属細菌には、マメ科植物の根粒菌だけでなく、非マメ科植物のイネ根などにエンドファイトとして生息している。そこで、本研究では、これらの Bradyrhizobium 属細菌の C1 代謝系に及ぼす希土類元素の影響を検討した。Bradyrhizobium 属細菌における *xoxF*, *mxoF* の有無を確認するために、クサネム根粒菌である *B. oligotrophicum* S58, Bradyrhizobium sp. BTai1, Bradyrhizobium sp. ORS278、イネ根から分離された Bradyrhizobium sp. RP5, Bradyrhizobium sp. RP7, Bradyrhizobium sp. WD16 の 6 株のゲノム情報より、*xoxF* と *mxoF* (*M. extorquens* AM1 株由来) の配列を対象とした BLASTN による遺伝子検索を行った。その結果、対象菌株全てが *xoxF* を有すること、およびイネ根から分離された 3 株 (RP5, RP7, WD16) は *xoxF* と *mxoF* の両方を有することが予想された。供試菌のメタノール資化能に及ぼす希土類元素の影響を検討した。炭素源を除いた液体の HM 培地 5 ml にメタノールを 0, 0.1, 1, 10% (v/v) の 4 段階添加し、La 添加区 (30 μ M) と Ce 添加区 (30 μ M)、非添加区を設けた。6 株 (S58, BTai1, ORS278, RP5, RP7, WD16) を液体 HM 培地で前培養し、OD660 を 24 時間毎に測定した。その結果、*xoxF* のみを有するクサネム根粒菌 3 株 (S58, BTai1, ORS278) では La もしくは Ce を添加し且つメタノール濃度 0.1% と 1% の条件で生育が観察された。*xoxF* と *mxoF* の両方を有するイネ根分離菌 3 株 (RP5, RP7, WD16) は La, Ce の添加の有無に関わらずメタノール濃度 0.1 と 1% の条件で生育が見られた。*B. oligotrophicum* S58 株を対象に、 $\Delta xoxF::\Omega$ (*xoxF* 遺伝子の Ω カセット挿入変異) と $\Delta xoxF$ (*xoxF* 遺伝子のマーカーレス欠損変異) の 2 種類の変異株を作製し、培養実験を行った。その結果、 $\Delta xoxF::\Omega$ 変異株では希土類元素存在下で野生株に比べ生育は低下したが、 $\Delta xoxF$ 変異株では逆に野生株よりも生育が促進された。野生株において La 添加区メタノール濃度 0.1% の系で、濁度の上昇と共に培養液中のメタノール濃度が減少した。一方、 $\Delta xoxF::\Omega$ 変異株では野生株に比べメタノール濃度の減少は抑制され、 $\Delta xoxF$ 変異株は野生株と同様のメタノール濃度の減少が見られた。供試したクサネム根粒菌 Bradyrhizobium 属 3 株 (S58, BTai1, ORS278) は *mxoF* を持たず *xoxF* を有し、0.1~1% のメタノールを添加した HM 培養液において La, Ce 依存的な生育を示した。一方、イネ根分離 Bradyrhizobium 属 3 株 (RP5, RP7, WD16) は、*mxoF* と *xoxF* を保有し、La, Ce 非依存的な生育を示した。この結果より、*xoxF* のみを持つクサネム根粒菌 3 株がメタノール依存的な生育に La, Ce が必要であることが明らかになった。しかし、S58 株の $\Delta xoxF::\Omega$ 変異株はメタノール依存的な生育能力が低下し、 $\Delta xoxF$ 変異株ではメタノール資化能が失われず、かつ La, Ce 依存的に生育の促進が観察された。これらのことから、S58 株が *xoxF* とは異なる新規の希土類元素依存的メタノールデヒドロゲナーゼ遺伝子を保持していることが強く示唆された。また $\Delta xoxF::\Omega$ 変異株の生育能力の低下は、 Ω カセット挿入によってアルデヒドデヒドロゲナーゼなどの C1 代謝系に関わる下流遺伝子の転写が抑制されたことによると考えられた。以上より、植物共生 Bradyrhizobium 属細菌には広く *xoxF* 遺伝子が存在し、特にクサネム根粒菌は希土類元素依存的なメタノール代謝能を示すこと、および新規の希土類元素依存的メタノール資化に関する遺伝子の存在が示唆された。本発表では、希土類元素と微生物の関係について生物地球化学視点からも議論したい。

キーワード: 希土類元素, 細菌, C1 代謝, Bradyrhizobium, メタノール, メタノールデヒドロゲナーゼ

Keywords: Rare earth elements, Bacteria, C1 compound metabolism, Bradyrhizobium, Methanol, Methanol dehydrogenase