

## メタン酸化細菌中のメタノール脱水素酵素発現制御による メタン/メタノール変換

(東工大生命理工\*・名大工\*\*\*) ○伊藤栄紘\*・吉森孝成\*・石川聖人\*\*・堀克敏\*\*・蒲池利章\*

### 1. 緒言

化学品原料だけでなく次世代燃料源として注目されているメタノールは、工業的な製造に高温高压下、多段階の反応を必要とする。一方、メタンを代謝して生育するメタン酸化細菌は、メタンをメタノール、ホルムアルデヒド、ギ酸、二酸化炭素へと段階的に酸化する各種酵素を持つ。本研究では、メタノールを代謝する酵素であるメタノールデヒドロゲナーゼ (MDH) の発現を制御可能なメタン酸化細菌を遺伝子工学手法で作成した。この菌体を用いて培地中の金属イオンの交換により MDH 発現を制御することで、メタノールの蓄積と菌体増殖の切替えを目指した (Fig.1) 1)。

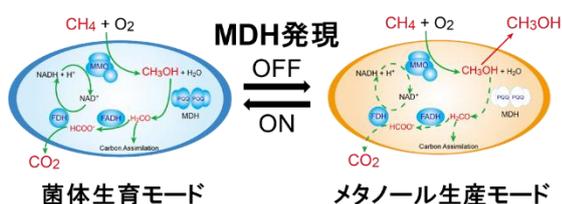


Fig. 1 Cell growth and methanol production induced in methanotrophs by switching methanol dehydrogenase gene expression.

### 2. 実験

メタン酸化細菌 *Methylosinus trichosporium*

OB3b (以下 OB3b 株) を用いて、相同組換え法によりメインの MDH である *mxoF* 遺伝子を欠損させた変異株を構築した。この OB3b *mxoF* 遺伝子欠損株 (OB3b  $\Delta mxoF$  株) を、別の MDH である XoxF の発現条件である  $Ce^{3+}$  イオン含有培地にて培養し、ゲノム DNA の PCR とウェスタンブロッティングを行った。さらに、培地中の金属イオンを菌体生育モード ( $Cu^{2+}$  イオン不含、 $Ce^{3+}$  イオン含有) からメタノール生産モード ( $Cu^{2+}$  イオン含有、 $Ce^{3+}$  イオン不含) へ切り替えて OB3b  $\Delta mxoF$  株を植え継ぎ、菌体の増殖と培地中のメタノール濃度を測定した。

### 3. 実験結果および考察

構築した OB3b  $\Delta mxoF$  株からゲノム DNA を抽出し、*mxoF* 遺伝子の周辺領域を PCR で増幅すると、野生 OB3b 株よりも短いアンプリコンが得られ、*mxoF* 遺伝子が欠損していることが確認できた。抗 MxaF 抗体を用いてウェスタンブロッティング解析を行ったところ、タンパク質レベルでの MxaF の欠損を確認した。

OB3b  $\Delta mxoF$  株の培地交換における  $Cu^{2+}$  および  $Ce^{3+}$  イオンの添加/除去により、菌体生育モードとメタノール生産モードのスイッチングを試みた (Fig. 2)。菌体生育モードで培養した OB3b  $\Delta mxoF$  株をメタノール生産モードの培地に植え継いだ場合、菌体増殖は低下し、時間経過と共に培地中にメタノールが蓄積した。その後回収した菌体を再度菌体生育モードに植え継いだ場合、わずかにメタノールが蓄積したが、菌体増殖に伴ってメタノールが消費され最初の状態と同程度まで菌体増殖が回復した。以上の結果から、OB3b  $\Delta mxoF$  株のメタノール脱水素酵素発現制御によるメタン/メタノール変換に成功した。

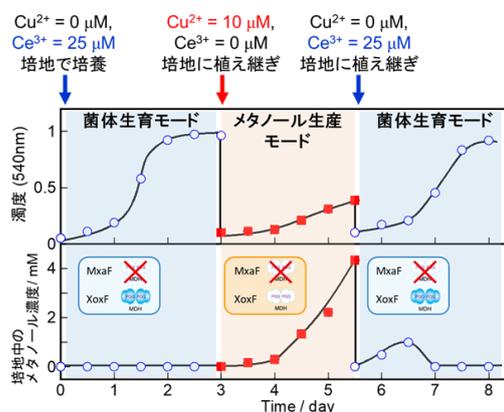


Fig. 2 OB3b  $\Delta mxoF$  mutant switching between cell growth and methanol production conditions by modulating copper and cerium concentrations.

1) Ito, H.; Yoshimori, K.; Ishikawa, M.; Hori, K.; Kamachi, T., *Front. Microbiol.*, 2021, Mar 22; 12, 639266