

第 71 回高分子討論会への 参加レポート

永 濱 充 貴

Mitsuki NAGAHAMA

物質化学専攻修士課程 2022 年度修了

1. はじめに

私は今回、2022 年 9 月 5 日から 7 日にかけて北海道大学札幌キャンパスにて開催された高分子学会の「第 71 回高分子討論会」に参加した。本大会で私は「*R. eutropha* により混合炭素源比率の異なるグリセリンとステアリン酸 Na 中で代謝される炭素源」のポスター発表を行った。

2. 緒 言

微生物 *Ralstnia eutropha* (*R. eutropha*) は窒素制限下で細胞内にエネルギー貯蔵物質として Poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) を蓄積することが知られている。*R. eutropha* に炭素源としてグリセリンを用いて培養すると菌体重量に対して P3HA のポリマー含有率は 30-40% と高くはないが、1) 脂肪酸との混合炭素源を用いることで P3HB の収量が大きくなるのが本研究室で報告されている。2) そこで本研究ではグリセリンとステアリン酸ナトリウムの混合炭素源を用いた生合成の時、どちらが優先的に代謝されるかについて報告する。

3. 実験操作

R. eutropha (NCIMB 11599) を窒素制限下で炭素源としてグリセリン 50mmol/100ml およびステアリン酸ナトリウム 1mmol/100ml またはその両方を用いて振とう培養した。混合比はグリセリンを 10-50 mmol/100ml の範囲で変化させた。生合成された P3HA はクロロホルムで抽出した。培養後の培地に内部標準物質としてベンズアミド 1.0g を加え、¹H NMR にてグリセリンとステアリン酸 Na のピーク強度比から残留量を計算し、添加量とのモル比を代

謝率とした。

4. 結果と考察

混合炭素源の培養を行う前に単体での培養を行った。Fig. 1 は各炭素源での培養におけるポリマー含有率をプロットしたグラフである。

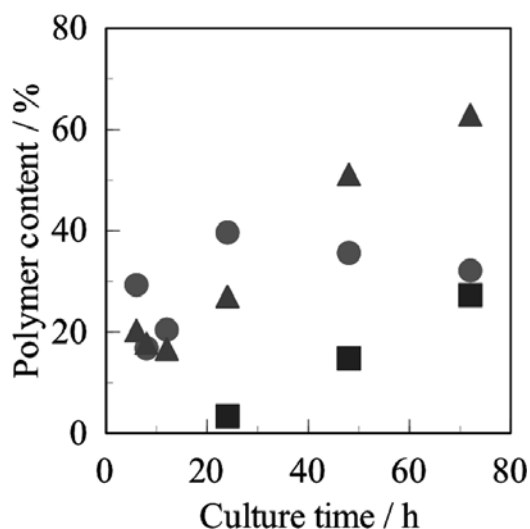


Fig. 1 Polymer Content at biosynthesis P3HB using Each Carbon Sources

■: Glycerin ●: Sodium Stearate
▲: Mixed Carbon Sources

こちらのグラフよりいずれの炭素源でも培養時間が長くなるにつれて得られる P3HB は大きくなり、グリセリンでは 72 時間の培養で 27.2% の P3HB が蓄積された。ステアリン酸ナトリウムでは培養時間が 24 時間で 39.6% と最大となり、それ以上の培養時間では小さくなった。混合炭素源を用いた培養では単一炭素源では得ることができなかった 50% 以上の P3HB が得られた。続いて培養後の各炭素源の炭素源代謝率を Fig. 2 に示す。こちらの結果より各炭素源は培養時間が長くなるにつれて代謝率が大きくなることから *R. eutropha* が炭素源を代謝して P3HB を蓄積したことが確認できる。

グリセリンの代謝は単体と混合ではそれほど大きな差は無く 72 時間の培養でも 20% 程度のグリセリンが代謝された。ステアリン酸ナトリウムでも 24

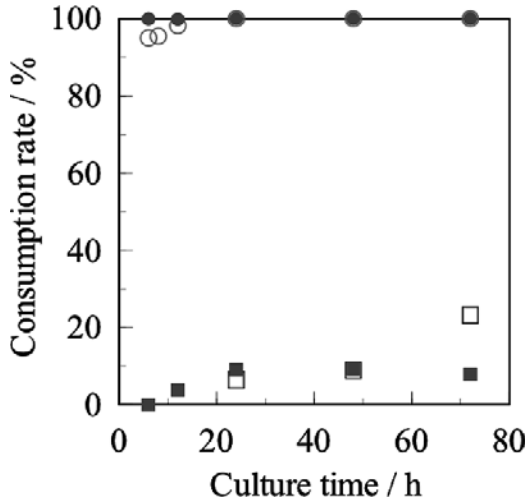


Fig. 2 Carbon consumption of each carbon sources at biosynthesis P3HB
 □: Glycerin ○: Sodium Stearate
 ■: Glycerin (Mixed Carbon Sources)
 ●: Sodium Stearate (Mixed Carbon Sources)

時間以前の培養では10%程度残留していたが、24時間以降の培養ではステアリン酸ナトリウムのピークが確認されなかった。このことからステアリン酸ナトリウムは24時間以内に完全に代謝されたと考えられる。これは混合炭素源でも同様であった。各培養にて得られたP3HBをSECにて測定した数平均分子量と分子量をFig. 3, Fig. 4に示す。このグラフから培養時間が長くなるごとに数平均分子量は大きくなる傾向が見られた。グリセリン単体の培養にて得られたP3HBは分子量が20万程度になった。一方でステアリン酸ナトリウム単体では24時間以降の培養で分子量が増大し、最大で60万程度となった。混合基質を用いたP3HBはグリセリンに近い分子量を示し、分子量分布は単体での培養よりも大きくなる傾向が見られた。このことからグリセリンとステアリン酸ナトリウムの混合基質では *R. eutropha* はステアリン酸ナトリウムを優先的に代謝してP3HBを蓄積していると考えられる。そして、培地中のステアリン酸ナトリウムが枯渇するとグリセリンを代謝したためP3HBの収率が向上したと考えられる。

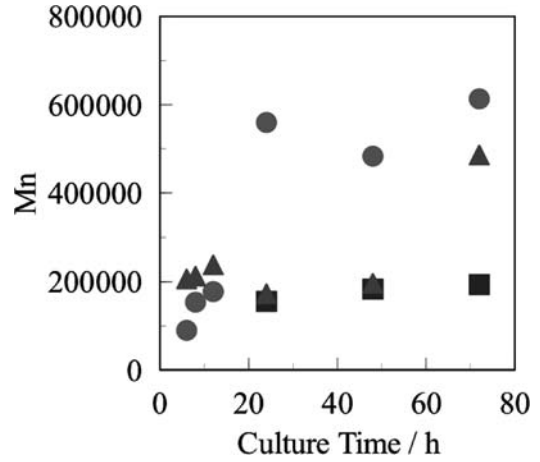


Fig. 3 Number average molecular weight of P3 HB biosynthesized each carbon sources
 ■: Glycerin ●: Sodium Stearate
 ▲: Mixed Carbon Sources

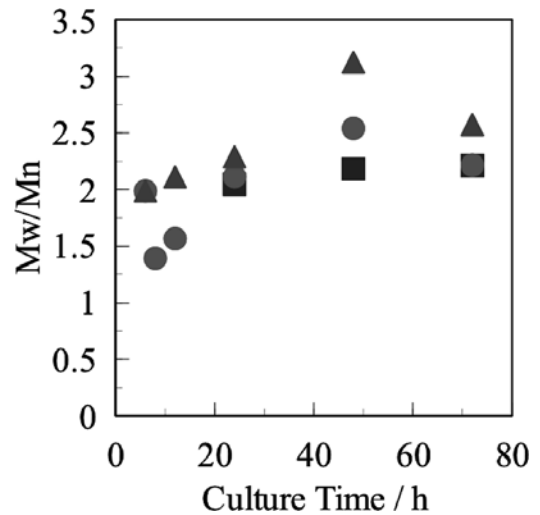


Fig. 4 Molecular weight distribution of P3HB biosynthesized each carbon sources
 ■: Glycerin ●: Sodium Stearate
 ▲: Mixed Carbon Sources

5. おわりに

今まで学会発表はオンラインが基本で今回が初めての対面でのポスター発表になりました。発表を聞きに来てくださった方はそれほど多くは無かったのですが、今後の研究に生かすことができる質問を多くいただき、今までで一番ためになった学会発表でした。