

メタノールを唯一の炭素源およびエネルギー源として生育できる *Methylobacterium* spp. は、植物の葉上微生物の優占種であり、植物種ごとに特定の菌株が優占化することが明らかとなっている。葉面などの植物地上部は、光・温度など日周変動する環境からの刺激の影響を大きく受ける環境の一つであり、このような環境に棲息する *Methylobacterium* spp. は、これらの環境刺激に対する適応能力を持つと考えられる。しかし、この菌が環境刺激に対応し葉面に定着するメカニズムや、特定の株が優占化する要因については、ほとんどわかっていない。

第1章では、植物表層に棲息している多くの *Methylobacterium* spp. がビタミン B<sub>5</sub> (パントテン酸) を生育に必要とすることを見出し、このパントテン酸要求性を詳細に解析することで葉面定着との関連を調べた。パントテン酸要求性株は前駆体である βアラニンの添加により生育でき、更に、βアラニンの前駆体である 5,6-dihydrouracil、*N*-carbamoyl-β-alanine、spermine、spermidine および 3-hydroxypropanoate の添加によっても生育が回復することが明らかとなった。葉面におけるこれらの化合物の存在量を測定すると、βアラニンが  $(1.1 \pm 0.7) \times 10^3$  pmol/g-fresh leaves と最も多く存在していたことから、パントテン酸要求性株は主に葉面の βアラニンを利用して葉面に棲息していることがわかった。よって、パントテン酸要求性株が葉面に優占化できる理由としては、パントテン酸合成前駆体を植物から獲得することで、パントテン酸合成に必要なコストを節約し、その分、環境適応能を向上させていると考えられる。このように 葉面で棲息するパントテン酸要求性 *Methylobacterium* spp. は、パントテン酸合成に必要な化合物を植物葉面で獲得して生存していることを明らかにした。

第2章では、葉面定着能の異なる *Methylobacterium* spp. を競合培養した場合の増殖特性について解析した。*M. extorquens* AM1 株と *Methylobacterium* sp. OR01 株をシロイヌナズナ葉面において共培養させると *Methylobacterium* sp. OR01 株が優占化する。半透膜を介し培地を共有できる二層式フラスコを用いて *M. extorquens* AM1 株と *Methylobacterium* sp. OR01 株の競合培養を行った結果、コハク酸を単一の炭素源とした場合には *M. extorquens* AM1 株の増殖能が上回った一方で、メタノールを炭素源とした場合には *Methylobacterium* sp. OR01 株の増殖能が上回った。また各株におけるメタノール消費速度を比較したところ、*Methylobacterium* sp. OR01 株のほうがメタノールをより早く消費することを明らかにした。以上より、葉上での主要な炭素源と考えられるメタノールを炭素源とした時の競合培養時には *Methylobacterium* sp. OR01 株の増殖能が高かったことから、葉上での優占化にはメタノール資化能の有無のみならず、競合条件下におけるメタノールの代謝能力も影響することが示された。

第3章では、光合成細菌では概日性遺伝子として知られている *kaiC* の *M. extorquens* AM1 株 *kaiC* ホモログが葉面定着に貢献することを発見し、その機能解析を行った。2つの KaiC タンパク質をコードする遺伝子 *kaiC1* および *kaiC2* の遺伝子破壊株、*kaiC1kaiC2* 二重遺伝子破壊株について、許容生育温度下 (24~32°C) における UV 耐性について調べた結果、野生株では、培養温度の上昇に伴って UV 耐性が上昇した一方で、いずれの破壊株においても野生株とは異なる応答が見られた。また2つの KaiC タンパク質の発現量・リン酸化と培養温度との関係を調べると、KaiC1 タンパク質は培養温度の上昇に伴い発現量が減少し、KaiC2 タンパク質は温度上昇とともにリン酸化レベルが低下していた。このことから、*M. extorquens* AM1 株においては、概日性遺伝子ホモログ *kaiC* が葉面定着能に貢献すること、KaiC タンパク質の発現量とリン酸化が生育温度により調節され、UV に対する環境適応を制御していることを示した。