

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔令和2（2020）年度 中間評価用〕

平成30年度採択分  
令和2年3月31日現在

深部地下圏における根源有機物からの生物的メタン生成機構の解明

Methanogenesis from root organic matters in deep subsurface

課題番号：18H05295

鎌形洋一（KAMAGATA, YOICHI）

産業技術総合研究所・生命工学領域・招聘研究員



研究の概要（4行以内）

地下圏には多様な微生物が存在し、地球規模の炭素循環に深く関わっている。しかし、その多くは未知であり、どのような有機物が地下生命圏を支えているのかほとんどわかっていない。本研究では地下圏における生物学的メタン生成に関わる微生物群を明らかにするとともに、地下生命圏を支える有機物の実態を解明することにより、地下圏におけるメタンの成因過程に迫った。

研 究 分 野：環境科学 地球惑星科学 微生物学

キ ー ワ ー ド：地下圏 根源有機物 メタン生成 地下圏微生物 分離培養

1. 研究開始当初の背景

ガス田・油田・炭田などの地下環境に賦存する天然ガスの埋蔵量は膨大であり、世界の総エネルギー需要の約24%を担っている。地下環境におけるメタンの形成・集積機構を理解することは、地球環境における炭素循環ならびに天然ガスの資源量評価において重要な基盤的知見を与える。しかし、地下圏における生物学的なメタン生成機構ならびに生命圏を支える有機物の実態ならびにその供給機構は謎に包まれていた。

2. 研究の目的

生物学的メタンの起源については多くの議論はあるものの、深部地下圏の高温域から超高温域（非生物圏）において堆積有機物の部分分解で生成した有機物が生物生存域でメタンに転換された結果と考えるのが妥当である。

一方地下生命圏に存在するメタン生成アーキアは $H_2/CO_2$ 、ギ酸、酢酸、メチル化合物など、限られた単純な物質からしかメタンを作ることができない。換言すれば、こうした単純な基質の多くは発酵微生物の「代謝産物」として供給されているはずである。

そこで本助成事業の最初の2年は 1) 高温高压条件下における熱化学反応によって根源有機物からどのような物質群が生成しうるのか 2) どのような発酵微生物がメタン生成菌の基質を供給しているのか、を明らかにすることを目的に研究を行った。

3. 研究の方法

褐炭などの石炭を加熱し、抽出される極性・非極性画分をGC-MS等で解析した。地下生物圏試料としては提案者らがこれまで調査対象としてきた国内油田、炭層などの試料を採取、全DNAを抽出し、16S rRNA遺伝子のアンプリコンの次世代シーケンス解析を行うとともに、試料を原油やモデル基質とともに環境を模擬した高压培養に供した。またすでに我々が陸地地下圏ならびに海洋地下圏から得ているメタン生成アーキアや他のバクテリア・アーキアのゲノム解析ならびに、メタトランスクリプトーム解析を行った。

4. これまでの成果

1) 根源有機物からの熱化学反応生成物の解析  
まずは褐炭の熱分解を試みた。加熱によって非

極性成分としては直鎖炭化水素、イソプレノイドアルカン、芳香族炭化水素などが検出された。極性成分は中鎖鎖脂肪酸、トルイル酸、ヒドロキシ安息香酸、ナフトールなどの芳香族化合物も多く検出された。また各種石炭からは少ないながらもメキシ系芳香族化合物も検出された。

## 2) 油田の微生物相解析

深部地下油層環境として、秋田県ならびに山形県の油田（いずれも複数の坑井）の微生物群集構造を解析した。秋田の油田ではほとんどの坑井において高温性酢酸酸化共生細菌として知られている *Thermacetogenium* 属細菌と水素資化性メタン生成アーキア (*Methanothermobacter*) が優占しており、これらの微生物群が油層環境における酢酸からのメタン生成反応において重要な役割を担っていることが示唆された。また、原油分解の兆候が認められた山形の油田においては、門レベルの未培養系統群に属する機能未知の未培養細菌が水素資化性メタン生成アーキアとともに優占していることを明らかにした。

## 3) 高圧・常圧培養法を用いた根源有機物分解に関わる地下圏微生物の集積と培養

山形の油田の油層水を微生物接種源として用い、高圧培養実験を行ったところ、原油中の各種炭化水素を分解しメタンを生成する集積培養系の獲得に成功した。本集積培養系には主に門レベルの未培養系統群の細菌や水素資化性アーキア (*Methanothermobacter*) などが優占しており、実環境でも優占している主要メンバーを含む未知地下圏微生物が培養できていることが明らかになった。

## 4) すでに純粋培養が確立した地下圏微生物のゲノム解析

実施者らが深部地下圏から発見したメキシ系芳香族化合物分解メタン生成アーキアである

*Methermicoccus shengliensis* AmaM 株について、ゲノム解析ならびにメタトランスクリプトーム解析を実施し、脱メキシ系反応の中核を担う未知酵素遺伝子の特定に成功、同株が従来経路とは全く異なる新規な経路でメキシ系芳香族化合物からメタンを生成していることを明らかにしつつある。さらに、集積培養に成功している未知バクテリア・アーキアのゲノムの再構築にも成功し、その代謝機能の解明を進めている。また、すでに海洋地下圏から純粋分離に成功していた門レベルで新規な Asgard アーキアのゲノム解析を海洋研究

開発機構と共同で行った。その結果、本アーキアが、最も真核生物に近縁なアーキアであること、またゲノム系統樹により真核生物がアーキアから進化したことを明らかにするとともに、形態・生理・ゲノム情報に基づいて、アーキアから真核生物細胞の誕生に至るまでの新たな進化モデル (E3 モデル) を提唱した。

## 5. 今後の計画

引き続き深部地下圏の高温域における根源有機物の熱分解生成物の同定を進めていく。また、深部地下圏の微生物代謝を鋭意明らかにしてゆく予定である。

## 6. これまでの発表論文等(受賞等も含む) 発表論文(主なもの)

1. Preiner M, Igarashi K, Nobu MK, Kamagata Y et al: A hydrogen-dependent geochemical analogue of primordial carbon and energy metabolism. *Nature Ecol. Evol.* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41559-020-1125-6>
2. Imachi H, Nobu MK, Nakahara N, T, Kamagata Y, Tamaki H, Takai K et al: Isolation of an archaeon at the prokaryote-eukaryote interface. *Nature* **577**: 519–525(2020).
3. Katayama T, Nobu MK, Kusada H, Meng XY, Yoshioka H, Kamagata Y, Tamaki H: Membrane-bounded nucleoid discovered in a cultivated bacterium of the candidate phylum 'Atribacteria'. *bioRxiv* 728279 (2019).
4. Yamamoto K, Kamagata Y, Tamaki H et al: Diversity and geochemical community assembly processes of the living rare biosphere in a sand-and-gravel aquifer ecosystem in the Midwestern United States. *Scientific Reports* **9**:1-11 (2019).
5. Kato S, Kamagata Y et al: Improved isolation of uncultured anaerobic bacteria using medium prepared with separate sterilization of agar and phosphate. *Microbes Environ.* **35**: ME19060 (2020).

## 受賞

1. 玉木秀幸: 第 4 回日本微生物生態学会奨励賞 受賞 (2018).
2. 玉木秀幸: 第 3 回バイオインダストリー奨励賞 受賞 (2019).