

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：82626

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(A））

研究期間：2020～2023

課題番号：19KK0389

研究課題名（和文）深部油ガス田に生息する新規微生物の生態解明と海洋における機能の解明

研究課題名（英文）Elucidating the ecology and function of novel microorganisms that dominate oil fields

研究代表者

持丸 華子（Mochimaru, Hanako）

国立研究開発法人産業技術総合研究所・地質調査総合センター・主任研究員

研究者番号：90462861

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,700,000円

渡航期間： 16ヶ月

研究成果の概要（和文）：油田、海洋堆積物、メタンハイドレート含有層などのメタン生成環境には共通する未培養微生物が複数種類存在する。本研究では、これらの環境試料からAtribacterota門細菌やBathyarchaeota門古細菌等の新しい微生物を分離同定することを目的とした。その結果、同門の新属の細菌の単離と同定に成功した。これにより、同門の1種目の細菌と同様に、核様体を取り囲む膜があることが明らかとなった。さらに、未培養古細菌のBathyarchaeota門に含まれる古細菌をマングローブの泥から培養することに成功した。本研究によりこの古細菌がリグニン関連物質を直接的または間接的に利用できることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

微生物により原油がメタンガスに分解されている油田、メタンハイドレート含有層など、商業的に重要なメタン生成環境において、Atribacterota門細菌やBathyarchaeota門古細菌等が優占していることが知られている。しかし、分離株がほとんどなく、これらの微生物の環境中における役割は未知であった。これらの微生物の生態を明らかにすることはガス田の成因解明、探鉱、微生物によるメタンガスの増産に資する基盤的知見となる。

研究成果の概要（英文）：Uncultured Atribacterota are known to be the dominant bacterial species in oil fields, marine sediments, and methane hydrate-containing strata. Although this phylum encompasses a phylogenetically diverse group, only one species has been isolated. This study aimed to isolate and identify new microorganisms from various marine samples. We isolated and characterized a culture from a new genus in the phylum Atribacterota. This is only the second isolate obtained from this phylum, and both strains have a membrane surrounding the nucleoid. Additionally, uncultured Archaea of the phylum Bathyarchaeota were successfully cultured from mangrove mud that can directly or indirectly utilize lignin-related substances.

研究分野：Geomicrobiology

キーワード：嫌気微生物 油ガス田 海洋底泥 細菌 古細菌

様式 F-19-2

1. 研究開始当初の背景

Atribacterota (旧 Atribacteria)門細菌は、世界各地の油ガス田やメタンハイドレート、海洋底泥に数多く生息することが知られている。しかしながら、それぞれの環境で優占する同門の細菌は、ほとんど分離同定されておらず、その環境中における生態は未知であった。これらの環境は微生物によるメタン生成が起きていることが想定される環境であり、メタン生成アーキアに基質を供給する重要な細菌であることが予想され、その生態解明が求められている。

2. 研究の目的

本研究では、Atribacterota 門細菌の生態解明のため、油ガス田または海洋それぞれの環境で検出されている同門細菌の異なる系統およびその関連微生物の分離同定を行い、その生態を解明することを目的としている。

3. 研究の方法

海洋で優占する未培養微生物の分離同定の第一人者である、ハワイ海洋生物研究所 Michael S. Rappe 教授の研究室に滞在し、現地でしか入手できない試料を用いて嫌気微生物の培養を行った。日本の油ガス田に存在するのは海水であるため、淡水試料ではなく、様々な海水の試料を用いて培養を行った。

(1) マングローブが生育するラグーンの水および砂試料

ハワイ海洋生物研究所がある島の中で、マングローブが生育するラグーンの水を用いて、油田の Atribacterota 門細菌の培養に有効であった基質を含め、いくつかの基質を用いて培養を行った。微生物の生育の見られたものは、複数回継代培養を行い、遺伝子解析を行い、生育した微生物の種類を明らかにした。

(2) カリブ海の熱水噴出孔(チムニー)岩石試料

有人潜水艇 Alvin6500 を用いた航海において、共同研究者であるハワイ・パシフィック大学の Olivia Nigro 准教授に嫌気培地を提供し、共同で微生物の培養を行った。

カリブ海の Puerto Rico Trench の Mid-Cayman Rise において、水深 2500m で透明な高温流体を噴出する Von Damm Vent Field の熱水噴出孔試料を一試料として用いた。さらに、水深 5200m という世界で最も深い熱水噴出孔で黒い熱水を噴き出すブラックスモーカーである Beebe Vent Field のチムニーの岩を培養試料として用いた。それぞれ 25 種類の嫌気培地を作成し、65°C で嫌氣的に培養を行った。培地に濁度が見られ、顕微鏡下で微生物の生育が確認されたものは Kelle Freel 博士、Nigro 准教授と Rappe 教授が遺伝子解析を行った。

(3) Juan de Fuca 海嶺付近の試料

北米の太平洋岸北西部の沖に位置する Juan de Fuca 海嶺付近の試料を有人潜水艇 Alvin6500 を用いて採取する航海に招待され、海底下 300m 付近の地殻内熱水および深海底堆積物を用いて嫌気微生物の培養を行った。Freel 博士、Nigro 准教授と Rappe 教授に加えてハートウィック・カレッジの Stephanie Carr 准教授とも共同で研究を行った。65°C または室温で培養を行い、顕微鏡観察で微生物の増加が見られたものについて、遺伝子解析を行った。

(4) 国内ガス田試料

在外研究と並行して、原油が存在しないガス田からの堆積物試料を用いて、嫌気培養を行った。メタン生成が起きた培養系の試料を複数回継ぎ、遺伝子解析を行った。また、単離した Atribacterota 門細菌の同定を行った。

4. 研究成果

(1) マングローブが生育するラグーンの水および砂試料

メタンハイドレート層や海洋底泥で Atribacterota 門細菌と共に優占していることが知られている、Bathyarchaeota 門古細菌の集積培養に成功した。リグニンを添加すると同門の古細菌が増加することは知られていたが、リグニンを加えずに、リグニン関連のモデル有機物で培養できることを明らかにした。油田の Atribacterota 門細菌に有効であった基質は、マングローブに存在する同門細菌には有効ではなかった。生育温度帯および系統が離れているからか、油田のものとは性質が異なっていることが推察された。

(2) カリブ海の熱水噴出孔(チムニー)岩石試料

培養物の顕微鏡観察の結果、球菌、短桿菌、長桿菌、細長い菌、スパイラル状菌など様々な形態の微生物の培養に成功した。遺伝子解析の結果、好熱性の古細菌 1 種および好熱性のメタン生成菌 1 種が少なくとも培養できていることが明らかになった。これらの試料から Atribacterota 門細菌は培養されなかったが、熱水噴出孔に同門の細菌が存在しないか、高温油田の Atribacterota 門細菌の培養方法がこの地域の同門の細菌の培養に適さないということが示唆された。

(3) Juan de Fuca 海嶺付近の試料

これまでの Nigro 准教授の研究により、この地殻内熱水で優占していることが知られている、好熱性の *Archaeoglobus* 属古細菌の培養に成功した。これは現地の微生物の 10 倍存在するウイルスの培養用に Nigro 准教授が取得を切望されていた微生物である。地殻内生態系の解明に必要な不可欠な嫌気微生物を培養できたことは、同航海における最も重要な成果であった。

(4)国内ガス田試料

原油が存在しないガス田からの堆積物試料の培養により、Atribacterota 門細菌の単離に成功し、新属新種として川本博士と共に *Atrimonas thermophila* と命名した。これは同門で 2 番目の分離株であったが、1 番目の *Atribacter laminatus* で報告されたのと同様の核様体を取り囲む膜があることが明らかとなった。また、メタン生成菌に水素を供給できる細菌であることも明らかとなった。この他、リグニン関連物質で、上記の系統とは離れた Atribacterota 門細菌が集積できることを発見した。日本のガス田の地層の多くは半深海で堆積し、河川により海に運ばれた陸源有機物と海洋プランクトンが有機物として含まれて形成されている。比較的分解されにくいリグニン関連物質がガス田地層中に残り、長い時間をかけて微生物に分解されていることが推測された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Souichiro Kato, Motoko Takashino, Kensuke Igarashi, Hanako Mochimaru, Daisuke Mayumi, Hideyuki Tamaki	4. 巻 10
2. 論文標題 An iron corrosion-assisted H ₂ -supplying system: a culture method for methanogens and acetogens under low H ₂ pressures	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-76267-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kawamoto Hiroki, Watanabe Miho, Mochimaru Hanako, Nakahara Nozomi, Meng Xiang-Ying, Sakamoto Sachiko, Morinaga Kana, Katayama Taiki, Yoshioka Hideyoshi, Nomura Nobuhiko, Tamaki Hideyuki	4. 巻 47
2. 論文標題 Atrimonas thermophila gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic thermophilic bacterium of the phylum Atribacterota isolated from deep subsurface gas field and proposal of Atrimonadaceae fam. nov. within the class Atribacteria in the phylum Atribacterota	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Systematic and Applied Microbiology	6. 最初と最後の頁 126515 ~ 126515
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.syapm.2024.126515	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hiroki Kawamoto, Miho Watanabe, Hanako Mochimaru, Nozomi Nakahara, Xiang-Ying Meng, Hideyoshi Yoshioka, Nobuhiko Nomura, Hideyuki Tamaki
2. 発表標題 Isolation and characterization of the novel deep subsurface Atribacterota member possessing membrane-bounded nucleoid
3. 学会等名 18th International Symposium on Microbial Ecology（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 持丸 華子, 青柳 智, 堀 知行, 井上 一大, 佐々木 拓郎, 吉岡秀佳
2. 発表標題 タンニン酸により集積されたガス田の新規古細菌
3. 学会等名 第35回日本微生物生態学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川本 大輝, 渡邊 美穂, 持丸 華子, 中原 望, 孟 憲英, 片山 泰樹, 吉岡 秀佳, 野村 暢彦, 玉木 秀幸
2. 発表標題 核膜様構造を持つ新規 Atribacterota門地下細菌の培養化と機能解明
3. 学会等名 第35回日本微生物生態学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
ラッペ マイケル (Rappe Michael)	ハワイ大学・HIMB・Professor	

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
ニグロ オリビア (Nigro Olivia)	ハワイ・パシフィック大学・Assistant Professor	
カー ステファニー (Carr Stephanie)	ハートウィック・カレッジ・Assistant Professor	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
	フリール ケリー (Freel Kelle)	ハワイ大学・HIMB・Postdoctoral Researcher	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	University of Hawaii			
米国	Hawaii Pacific University			
米国	Hartwick College			