

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20H00366

研究課題名(和文)炭層環境における微生物起源CBM形成メカニズムの解明およびCBM増産技術の開発

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanisms of microbial CBM formation in coal seam and development of enhanced CBM recovery technology

研究代表者

眞弓 大介 (Mayumi, Daisuke)

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：30549861

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,600,000円

研究成果の概要(和文)：石炭層において炭層微生物(群)の機能を最大限活用して回収不可能な石炭資源を新たなエネルギー資源(メタンガス)に変換し回収する革新的エネルギー資源開発技術の創成を目指し、国内外の多様な炭層環境から能力の高い石炭分解メタン生成微生物群の獲得を試みた。本研究では、独自の石炭分解メタン生成ポテンシャル評価技術と地下環境を模擬した高圧培養システムを駆使することで石炭分解メタン生成微生物群を獲得し、その反応機構の解明および微生物群の能力を最大限発揮させる技術の開発を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

国内に大量に存在する未回収石炭資源を微生物の働きによって天然ガス(メタン)に変換し回収する技術の開発を目指し、石炭を分解しメタンを生成する微生物群の獲得を試みた。その結果、国内の石炭層から石炭を分解するメタン生成微生物群を実験室で培養することに成功し、その分解機構を解明した。その知見を基に、当該メタン生成微生物群の働きを最大限引き出す技術の開発を行った。

研究成果の概要(英文)：In aiming to establish innovative energy development technologies that convert unrecoverable coal into a new energy resource (methane gas) by maximizing the functions of microbial communities in coal seams, we attempted to acquire highly capable methanogenic coal-degrading microbial communities from various coal seams. In this study, we utilized our potential evaluation technique for methanogenic coal degradation and a high-pressure cultivation system that simulates deep subsurface environments to obtain methanogenic coal-degrading microbial communities. Furthermore, we elucidated the mechanisms of coal degradation and developed a technology to maximize the capabilities of these microbial communities.

研究分野：生物地球化学

キーワード：メタン生成 石炭 地下生命圏

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年注目されるシェールガスやタイトサンドガスといった非在来型天然ガス資源(埋蔵量: 在来型天然ガス資源の70%以上)の中で、石炭層に内包される炭層ガス、すなわちコールベッドメタン(CBM)の開発が世界各国で進められている。CBMの中には微生物活動で作られたメタンも多く含まれており、最近では、そのような炭層微生物のメタン生成活動を活性化させることでCBMの増産を図る技術開発がアメリカや中国などの石炭資源国によって先駆的に進められている。しかし、深部地下石炭層のような無酸素環境下において、実際にどのような微生物が、石炭中のどのような有機物からメタンを生成するかは全く不明である。これらの疑問について我々は最近、石炭中のメトキシ芳香族化合物のメトキシ基(-OCH<sub>3</sub>)がある種のメタン生成菌(*Methermicoccus shengliensis*)によって直接メタンに変換されるメトキシ化合物資化性メタン生成反応を世界に先駆けて発見し(*Science*, 2016)、CBMの形成メカニズムの解明に一步迫る成果を得た。

石炭は高等植物由来のリグニン成分が地下に埋没していく過程で生分解や熱化学的変性(熟成)を受けた堆積有機物であり、その構造はメトキシ基などを含む芳香族化合物と長鎖アルカン(脂肪族炭化水素)の重合体である。上記の研究で我々は石炭中のメトキシ基から生成されるメタンがCBMの生成起源の1つであることを実証したが、それだけでは量的に全てのCBMの生成起源を説明できない。すなわち、石炭中のメトキシ基含有量から試算されるメタン生成量は実際に炭層に存在するCBM量の一部でしかない。このことから、微生物活動に起因するCBMの形成は、褐炭などの未熟成石炭に含まれるメトキシ基からのメタン生成反応が初期段階として起こり、その後、さらに熟成された石炭(亜瀝青炭や瀝青炭など)に含まれるメトキシ基を失った芳香族化合物および脂肪族炭化水素からのメタン生成反応が進行し、そのメタンが量的にCBMの主要な生成起源であると我々は推測している。すなわち、CBMの形成メカニズムの全貌を明らかにするためには、石炭中のメトキシ基だけでなく芳香族化合物および脂肪族炭化水素からのメタン生成メカニズム(関与微生物や反応経路)の解明が必須であり、それは石炭資源としてはもはや回収できず地下に大量に眠る未回収石炭を炭層微生物の働きを活用してメタンに変換し、CBMとして回収する未回収石炭資源からのCBM増産技術の創成に大きく役立つ知見になる。

### 2. 研究の目的

本研究では、国内外の様々な炭層を対象に、原位置の地球化学的・微生物学的特徴から各種石炭成分(メトキシ基、芳香族化合物、脂肪族炭化水素)分解メタン生成ポテンシャルを有する炭層を選定する。次に同ポテンシャルが確認された炭層から各種石炭成分を分解するメタン生成微生物群を獲得するとともに、個々の微生物の役割を明らかにしてそれぞれの石炭分解メタン生成メカニズムを解明する。さらに、本研究の最終目的として、炭層環境を忠実に模擬する高圧培養システムを活用し、原位置の石炭分解微生物群を活性化してメタン生成反応を促進する技術の開発を目指す。

### 3. 研究の方法

初年度は、様々な炭層の石炭分解メタン生成ポテンシャルに関連する現場情報を多角的な視点から収集し解析・整理することで、石炭分解メタン生成ポテンシャルを有する炭層を選定することを中心に進めた。対象とする炭層は過去に我々が地球化学的分析によって石炭分解メタン生成ポテンシャルを検出した炭層(北海道の天北炭田・猿払炭層)を含め、国内では北海道や九州の炭田から10カ所以上の炭層を選定し、新たに石炭試料(石炭・ガス・地層水)を採取した。これらを用いて、石炭分解ポテンシャルに関連する現場炭層環境の地球化学的データの収集・解析と現場炭層環境の微生物学的データの収集・解析を行った。それらのデータから石炭分解ポテンシャルが確認された炭層試料を用いて、炭層環境を模擬した高圧連続培養システムによる石炭分解メタン生成微生物群の獲得を試みた。

獲得した石炭分解メタン生成微生物群による各種石炭成分(メトキシ基化合物、芳香族化合物、脂肪族炭化水素)分解メカニズム(中核的関与微生物種と反応経路)を明らかにするため、安定炭素同位体(<sup>13</sup>C)化合物を用いた安定同位体トレーサー法を適用した。具体的には<sup>13</sup>Cでラベル化されたメトキシ基やアルカン、トルエンなどを獲得した培養系に添加し、分解・生成する<sup>13</sup>C化合物(メタンを含む各種代謝産物)をGC-C-IRMSやGC-MSで検出・特定することで、添加した<sup>13</sup>C化合物からメタンへと至る反応経路を明らかにした。

### 4. 研究成果

現場炭層環境の地球化学的データの解析を行うために、各地から褐炭から瀝青炭まで多様な石炭および地層水を採取した。また、地層水に付随するメタンガスの炭素安定同位体比を測定した結果、多くのメタンが微生物起源であることが明らかになった。一方で、現場炭層環境の微生物学的データの解析として、地層水中の全微生物DNAを抽出し16S rRNAアンプリコン解析によ

る菌叢解析を行った。その結果、ほとんどの炭層の地層水でメタン生成菌が検出されると共に、多くの未培養細菌・古細菌の存在が認められた。これらの結果から、今回調査した炭層ではメタン生成菌や機能未知の細菌による有機物分解が進行していることが明らかになり、様々な炭層環境で石炭分解メタン生成反応のポテンシャルを検出した。

上記の石炭分解メタン生成ポテンシャルが観察された炭層試料を用いて、炭層環境を模擬する高圧培養を実施し、石炭分解微生物群の獲得を試みた。本高圧培養実験では、石炭を細かく(50-100  $\mu$ メッシュ)砕き、その石炭を基質&微生物接種源&微生物の住処になる「担体」として利用しつつ、高圧条件でありながらも常にフレッシュな培地を連続的に供給する高圧連続培養法を採用することにより、1年の培養期間を経てメタン生成活性を観察することに成功した。当該メタン生成微生物コミュニティについては継代培養を行うことで安定培養化を目指している。一方で、石炭中の有機物成分の一つであるメトキシ化合物を基質に用いた培養実験では、我々が過去に発見したメトキシ化合物資化性メタン生成菌 (*Methermicoccus shengliensis*) とは異なる全く新しい古細菌 (*Candidatus Bathyarchaeota*) を主要メンバーとした集積培養系が得られた。当該微生物コミュニティのメタゲノム解析により、*Ca. Bathyarchaeota* は *Methermicoccus shengliensis* と相同性が高いメトキシ基転移酵素を有していることが明らかになった。

メトキシ化合物を基質として獲得した微生物コミュニティによるメトキシ化合物分解メカニズム(中核的関与微生物種と反応経路)を明らかにするため、メトキシ基の炭素を  $^{13}\text{C}$  でラベル化したメトキシ化合物を用いた安定同位体トレーサー法を実施した。その結果、 $^{13}\text{C}$  でラベル化されたメタンおよび二酸化炭素が検出された。また、二酸化炭素よりもメタンのラベル化率が高かったことから、メトキシ基は主に酢酸を介してメタンに変換されることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Suda Konomi, Ikarashi Masayuki, Tamaki Hideyuki, Tamazawa Satoshi, Sakata Susumu, Haruo Maeda, Kamagata Yoichi, Kaneko Masanori, Ujiie Tomomi, Shinotsuka Yumi, Wakayama Tatsuki, Iwama Hiroki, Osaka Noriko, Mayumi Daisuke, Yonebayashi Hideharu	4. 巻 201
2. 論文標題 Methanogenic crude oil degradation induced by an exogenous microbial community and nutrient injections	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Petroleum Science and Engineering	6. 最初と最後の頁 108458 ~ 108458
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.petrol.2021.108458	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Daisuke Mayumi
2. 発表標題 Methane production from crude oil by a single methanogen
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2022年大会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 眞弓大介、中原望、風呂田郷史、金子雅紀、延優、玉澤聡、須田好、前田治男、鎌形洋一、坂田将、玉木秀幸
2. 発表標題 原油を分解するメタン生成菌を発見
3. 学会等名 日本微生物生態学会第34回
4. 発表年 2021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
研究分担者	玉木 秀幸  (Tamaki Hideyuki)  (00421842)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究グループ長    (82626)	
研究分担者	金子 雅紀  (Kaneko Masanori)  (80633239)	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    (82626)	

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			
カナダ	University of Calgary			