

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 28 日現在

機関番号： 82706
 研究種目： 若手研究（B）
 研究期間： 2010～2012
 課題番号： 22760646
 研究課題名（和文） 深海底での微生物腐食：誘因微生物叢と腐食機序の解明

研究課題名（英文） Microbial corrosion in the deep sea environment

研究代表者

牧田 寛子 (MAKITA HIROKO)
 独立行政法人 海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・技術研究副主任
 研究者番号： 40553219

研究成果の概要（和文）：

本研究は、深海底という海洋環境をモデルに微生物生態学、生化学および物理化学的な手法を用いて微生物による金属腐食（Microbiologically induced Corrosion, 以下 MIC）の分子機序を明らかにする事を目的とした。研究期間内に、硫化水素を高濃度で発生させ（間接的に）腐食を引き起こす新属新種の菌の単離に成功した他、自然の金属腐食地帯である酸化鉄被膜地帯の環境中の化学成分分析および微生物調査の実施や、微生物と鉱物の相互作用を直接観測できる分析手法を確立した。

研究成果の概要（英文）：

The main objective of this study is to reveal the molecular mechanisms of microbiologically induced corrosion (MIC) in the deep-sea environments. During the investigation process, we have succeeded in isolation of a high H₂S-producing novel bacterium, chemical analyses and biological studies of the natural corrosion areas (iron mats), as well as establishing a new analytical method for directly determining the relationships between mineral and microorganisms.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目： 総合工学・船舶海洋工学

キーワード： 微生物腐食、MIC、微生物、深海底、腐食、鉄酸化細菌、硫化水素、酸化鉄被膜地帯

1. 研究開始当初の背景

油田、メタンハイドレートや金属鉱床といった海底資源の回収・有効活用は、極めて重要な課題である。その手段として、近年海底パイプラインが多用されるに伴い、敷設され

た金属材料の腐食が問題となっている。金属腐食による経済損失は、米国では年間約 2,700 億ドル、日本でも年間 4 兆円を超え、金属腐食の機構解明やその防止は世界経済の持続的発展に向け喫緊の重要課題である。また腐

食の防止は金属資源の確保やその加工に伴うエネルギー消費 (CO₂) の削減に直結するため、環境面でも非常に重要である。この金属腐食の主要原因に、微生物による腐食(MIC)があり、古くから活発に研究されてきた。しかしながら、それらの調査は沿岸域や陸域に限られ、海底パイプラインの敷設されるような深海底では MIC の研究は全く行なわれていなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、深海底という海洋環境をモデルに微生物生態学、生化学および物理化学的手法を用いて微生物による金属腐食 (Microbiologically induced Corrosion, 以下 MIC) の分子機序を明らかにする事にある。深海底に設置した金属片に生じる腐食を微生物学的、物理化学的に解析するとともに、原因微生物の特定、MIC 原因微生物の単離、それらの腐食能の評価を行い、MIC の機序を明らかにするというものである。

3. 研究の方法

深海環境での「微生物による金属腐食-MIC-」の機序について、微生物生態学および物理化学的手法を用いて解明する。一定期間設置した金属片の腐食部位や周辺環境、さらに天然の金属腐食地帯である酸化鉄被膜地帯に生息する微生物群集構造を分子生物学的な手法により調査するとともに、腐食をもたらす微生物についてバッチ式およびフロー型の培養装置を用いて単離・培養を試みる。また、新しい腐食の評価方法の確立を行う。

4. 研究成果

金属腐食確認用の金属片の深海底への設置と天然の腐食地帯ともいえる深海底の鉄酸化物皮膜地帯にてサンプルの採取および解析を中心に行った。金属片の設置場所としては、沖縄トラフ、相模湾初島沖、北部および南部マリアナである。回収したサンプルのクローン解析によって、それらの微生物叢は海洋性の鉄酸化細菌として近年注目されている *Mariprofundus* 属を含む系統群 *Zetaproteobacteria* または硫黄化学種を利用する *Epsilonproteobacteria* が優占的に存在することが明らかとなった。*Mariprofundus* 属は、鉄と酸素をエネルギー源として生育する独立栄養細菌であることがわかっている。また、この微生物は、自身が産生する有機物質に鉄酸化物を吸着・保持させ生育するが、この有機物・鉄酸化物の複合体が、非常に特

徴的な螺旋状の形態を有しているため、金属の腐食部にこのような螺旋状の構造物が見られた場合には、ほぼこの微生物によって引き起こされた腐食であると考えられる。

Epsilonproteobacteria は、硫黄化学種を利用して生育し、その過程で硫化水素を発生させるため、このような微生物が多く存在する場所では硫化水素による間接的な微生物腐食が行われることが予想された。

深海底に存在する天然の腐食地帯である鉄酸化物被膜地帯には鉄と酸素をエネルギー源として生育する微生物や硫黄化学種を利用して生育し、その過程で硫化水素を発生させる微生物が繁茂していることが明らかとなったため、これらの微生物の生理・生態を解明する事は金属腐食をもたらす微生物の生態を明らかにする上で重要と考えた。そこで、鉄酸化物被膜地帯の試料を植種源として、バッチ式での培養およびフロー型の培養装置を用いた培養を開始した。6ヶ月間稼働させた後に、フロー型の培養装置の微生物叢を確認したところ、鉄酸化および鉄還元に関する微生物の集積培養に成功している事が明らかになった。なお、フロー型培養槽内で確認された微生物叢は、バッチ式培養とは全く異なる微生物叢であった。一方、バッチ式での培養によって硫化水素を発生させる新属新種の細菌の単離に成功した。さらに、鉄を酸化させる新種の細菌についてもバッチ式培養法によって集積培養が成功した。

新しい腐食の評価手法として放射光X線解析を用いる事でより詳細な腐食状況と微生物の寄与をする事が可能であると考え、まずは既知の海洋性鉄酸化細菌由来の鉄酸化物と天然の腐食地帯の鉄酸化物との比較を行った。その結果、微生物腐食の原因微生物種を知る上でも有効な手段であることを確認した。また両者のスペクトルが非常に類似している事から、天然の腐食地帯における鉄酸化細菌の現場環境に及ぼす影響についての知見も得る事ができた。さらに、それら微生物の存在様式と鉱物との関係を明確にするための手法を確立した。これは放射光X線解析技術と FISH 法を組み合わせることで、微生物の影響を受けた鉱物の直接的な観察が可能となるというものである。この手法により、腐食部などの微小領域における微生物の影響力(微生物-金属元素相互作用)を知ることが可能となった。

以上のように、微生物による金属の腐食機構の解明に貢献できる新しい分析手法を確立したとともに、腐食を齎す微生物の培養にも成功し、深海底における微生物腐食に関する知見を得ることが出来た。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計5件)

- ① Mino S., Makita H., Toki T., Miyazaki J., Kato S., Watanabe H., Imachi H., Watsuji T., Nunoura T., Kojima S., Sawabe T., Takai K. and Nakagawa S., (2013) Biogeography of *Persephonella* in deep-sea hydrothermal vents of the Western Pacific, *Front. Microbial.* **4**(107), 1-12
DOI:10.3389/fmicb.2013.00107, 査読有り
- ② Nunoura T., Hirai M., Miyazaki M., Kazama H., Makita H., Hirayama H., Furushima Y., Yamamoto H., Imachi H., Takai K. (2013) Isolation and characterization of a thermophilic, obligately anaerobic and heterotrophic marine Chloroflexi bacterium from a Chloroflexi dominated microbial community associated with a Japanese shallow hydrothermal system, and proposal for *Thermomarinilinea lacunofontalis* gen. nov., sp. nov. *Microbes & Environments* **28**(2), 228-235 (DOI:なし), 査読有り
- ③ Makita H., Nakagawa S., Miyazaki M., Nakamura K-i., Inagaki F., Takai K (2012) *Thiofractor thiocaminus* gen. nov., sp. nov., sulfur-reducing epsilonproteobacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vent chimney in the Nikko Seamount field of the northern Mariana Arc. *Archives of Microbiology*, **194**(9), 785-794
DOI:10.1007/S00203-012-0814-1, DOI: 10.1007/s00203-012-0814-1, 査読有り
- ④ Mitsunobu, S., Shiraiishi, F., Makita, H., Orcutt, B., Kikuchi, S., Kjeldsen, K., Jørgensen, B., Takahashi, Y., (2012) Bacteriogenic iron oxyhydroxides revealed by synchrotron microprobe coupled with spatially-resolved phylogenetic analysis, *Environ. Sci. Technol.* **46**(6), 3304-3311, DOI: 10.1021/es203860m, 査読有り
- ⑤ Kikuchi S., Makita H., Mitsunobu S., Terada Y., Yamaguchi N., Takai K., and Takahashi Y., (2011) Application of Synchrotron m-XRF-XAFS to the Speciation of Fe on a Single Stalk in Bacteriogenic Iron Oxides (BIOS). *Chemistry Letters* **40**(7), 680-681, (DOI:なし), 査読有り

〔学会発表〕(計19件)

- ① 牧田寛子、深海底に存在する酸化鉄被膜地帯の微生物調査、海洋における極限環境生物の研究および調査現場における課

題、日本海洋事業株式会社(神奈川県横須賀市)、2013年5月13日

- ② 石居拓巳、牧田寛子、山本正浩、高井研、中村龍平、橋本和仁、深海熱水噴出孔生態系における電流依存型低エネルギーCO₂還元、日本農芸化学会大会、2013年3月25日、東北大学(宮城県仙台市)
- ③ Nakagawa S., Shimamura S., Takaki Y., Mino S., Makita H., Sawabe T., Takai K., Genomic and population genetic analysis of deep-sea vent chemoautotrophs. AGU Fall Meeting, California USA, 2012年12月5日
- ④ Mino S., Nakagawa S., Sawabe T., Miyazaki J., Makita H., Nunoura T., Yamamoto M., Toki T., Population structure of deep-sea chemolithoautotrophs: identification of phenotypic and genotypic correlations. AGU Fall Meeting, California USA, 2012年12月3日
- ⑤ Nagashio H., Yamanaka T., Watanabe H., Makita H., Evaluation of nutrient sources for the sponges inhabited around seafloor hydrothermal fields in the Okinawa Trough. AGU Fall Meeting, California USA, 2012年12月3日
- ⑥ 美野さやか、中川聡、宮崎淳一、牧田寛子、和辻智郎、布浦拓郎、山本正浩、高井研、澤辺智雄、深海底熱水活動域に生息する化学合成微生物の群集遺伝構造解明、地球惑星連合大会、幕張メッセ(千葉県千葉市)、2012年5月21日
- ⑦ 長塩皓美、山中寿朗、渡部裕美、山上翔世、伊勢優史、牧田寛子、沖縄トラフの海底熱水系周辺に生息する海綿動物の栄養源の推定、幕張メッセ(千葉県千葉市)、2012年5月23日
- ⑧ 牧田寛子ら、南部沖縄トラフ多良間海丘に存在する酸化鉄被膜地帯での微生物調査: NT11-18 研究航海概要、Blue Earth'12、東京海洋大学(東京都港区)、2012年2月23日
- ⑨ Makita, H., et al., Microbiological investigation of the Iron-Containing Flocculent Mats in various deep sea environments, ISEB XX- International Symposium on Environmental Biogeochemistry, Istanbul, Turkey, September, 2011年9月30日
- ⑩ Makita, H., et al., Microbiological investigation of the Iron-Containing Flocculent Mats in various deep sea environments, 21th Annual V.M. Goldschmidt conference, Prague, Czech Republic, 2011年8月15日
- ⑪ Kikuchi S., Makita H., Mitsunobu S., Takai

K., and Takahashi Y. Speciation of Iron in Natural and Synthesized Bacteriogenic Iron Oxides(BIOS) Using XAFS and μ -XRF-XAFS, 21th Annual V.M. Goldschmidt conference, Prague, Czech Republic, 2011年8月15日

- ⑫ 菊池早希子、**牧田寛子**、光延聖、高井研、高橋嘉夫、「合成および天然 BIOS の鉱物種」、地球惑星連合大会、幕張メッセ(千葉県千葉市)、2011年5月24日
- ⑬ 美野さやか、中川聡、**牧田寛子**、稲垣史生、山本正浩、布浦拓郎、中村光一、Anne Godfroy、高井研、澤辺智雄、深海底に生息する化学合成微生物の群集遺伝学的構造解明へのアプローチ、地球惑星連合大会、幕張メッセ(千葉県千葉市)、2011年5月23日
- ⑭ 山本正浩、**牧田寛子**、川口慎介、土田真二、高井研、中川太郎、深海熱水環境で作動する電気化学センサーの開発と改良、Blue Earth'11、2011年3月8日、東京海洋大学(東京都港区)
- ⑮ 美野さやか、中川聡、**牧田寛子**、稲垣史生、山本正浩、布浦拓郎、中村光一、Anne Godfroy、高井研、澤辺智雄、深海底に生息する化学合成微生物の群集遺伝学的構造解明へのアプローチ、Blue Earth'11、2011年3月8日、東京海洋大学(東京都港区)
- ⑯ **牧田寛子**ら、各地の深海底に存在する褐色変色域での微生物調査、Blue Earth'11、2011年3月8日、東京海洋大学(東京都港区)
- ⑰ 美野さやか、中川聡、**牧田寛子**、稲垣史生、山本正浩、布浦拓郎、中村光一、Anne Godfroy、高井研、澤辺智雄、深海底に生息する化学合成微生物の群集遺伝学的構造解明へのアプローチ、第26回日本微生物生態学会、筑波大学大学会館(茨城県つくば市)、2010年11月24日-25日
- ⑱ 美野さやか、中川聡、**牧田寛子**、稲垣史生、山本正浩、布浦拓郎、中村光一、Anne Godfroy、高井研、澤辺智雄、深海底に生息する化学合成微生物の群集遺伝学的構造解明へのアプローチ、海底拡大系の総合研究 -InterRidge-Japan 研究発表集会-、東京大学大気海洋研究所講堂(千葉県柏市)、2010年11月4日
- ⑲ 菊池早希子、光延聖、**牧田寛子**、高橋嘉夫、セシウムおよびセレンの BIOS への吸着:無機的に生成した水酸化鉄との比較、日本地球化学会第57回年会、立正大学(埼玉県熊谷市)、2010年9月9日

[その他]

ホームページ等

独立行政法人 海洋研究開発機構 深海・地殻内生命圏システム研究プロジェクトホームページ

<http://www.jamstec.go.jp/biogeos/j/xbr/sugar/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牧田 寛子 (MAKITA HIROKO)

独立行政法人 海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・技術研究副主任
研究者番号：40553219

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし