

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：82104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06234

研究課題名(和文) 藻類が関与するメタン共生系の解明とその利用

研究課題名(英文) Elucidation and utilization of methane symbiosis system including algae

研究代表者

藍川 晋平 (Aikawa, Shimpei)

国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生物資源・利用領域・主任研究員

研究者番号：40567252

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、「メタン酸化菌と微細藻類から成る共生系を証明する」、「微生物タンパク質を例として、共生系を用いた物質生産技術を提案する」ことを目的とした。国内のメタンガスが発生している環境から採水し、メタンを唯一の炭素源とする条件で培養し、微細藻類の増殖を確認した。またメタゲノム解析により微細藻とメタン酸化菌が増殖していることを明らかにした。さらにメタン条件にて増殖した微細藻およびメタン酸化菌の単離に成功し、それらを共培養することでメタン環境で微細藻類の増殖が促進されることを明らかにした。今後、共培養システムの高度化により、メタンからのメタン酸化菌・微細藻による物質生産が可能になると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メタン酸化菌と微細藻類は生育環境が近いにもかかわらず、これまでその生物間相互作用について言及されていない。これは両者が一般的に広く生息している微生物であること、網羅的な微生物相解析において微細藻類と細菌類を同時に対象としないことが原因であると考えられる。メタン酸化菌と微細藻類から成るメタン共生系を明らかにすることは、「メタン循環メカニズムの一端の解明」につながるため、学術的に重要であると共に、メタン共生系を活用した温暖化抑制技術やメタンからの物質生産技術などの「バイオテクノロジーの基盤」としても有望である。

研究成果の概要(英文)：The objectives of this study were to "prove a symbiotic system consisting of methane-oxidizing bacteria and microalgae" and "propose a material production technology using the symbiotic system. Microalgae growth was confirmed when water samples were collected from a domestic methane gas generating environment and cultured under conditions in which methane was the sole carbon source. In addition, metagenome analysis confirmed the growth of microalgae and methane-oxidizing bacteria. Furthermore, microalgae and methane-oxidizing bacteria grown in a methane environment were successfully separated, and it became clear that growth is promoted when microalgae are co-cultured in a methane environment. In the future, it is expected that the production of substances from methane by methane-oxidizing bacteria and microalgae will become possible through the advancement of the co-culture system.

研究分野：水圏生命科学

キーワード：微細藻類 メタン酸化菌 物質生産

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メタンは二酸化炭素に次ぐ温室効果ガスであり、過去の温度変化への寄与は二酸化炭素の58%に相当する(伊藤、2017)。メタンガスは湖沼・海洋・湿地・土壌など様々な自然起源から放出されているが、人為的な発生源(水田、牧畜など)からも放出されており、その削減が課題となっている。自然起源のメタンは、大気中に放出される前にメタン酸化菌によって炭素源やエネルギー源として消費されるため、メタン生成量は放出量の少なくとも数十倍にのぼると見積もられている(伊藤、2017)。しかし、メタン酸化菌が関与するメタン循環の全貌は明らかになっておらず、メタン排出量抑制にむけて、水圏におけるメタン循環メカニズムの解明が重要である。またバイオガス生産とその変換技術では、リグノセリウス系バイオマスからのメタンガス製造技術や炭酸ガスをメタンガスへと変換するメタネーション技術が開発されており、メタン生産プラットフォームが構築されつつある。このような状況から、触媒反応あるいは微生物の代謝反応などを介したメタンを中心とした様々な液体燃料や化学物質などの有用化合物への変換技術の開発が進められている。研究代表者は日本各地の環境サンプルから、メタンを単一炭素源とする条件で微細藻類が増殖することを確認した。50年以上前にメタンを炭素源として利用できる単細胞緑藻の報告はあるが(Enebo, 1967)、その後の報告はない。これまでもメタン酸化菌と陸上植物などとの共生関係が報告されていることから(Iguchi et al., 2012)、研究代表者は「メタン酸化菌と微細藻類から成る共生系が存在している」と着想した。

2. 研究の目的

本研究では、「メタン酸化菌と微細藻類から成る共生系を証明する」、「微生物タンパク質を例として、共生系を用いた物質生産技術を提案する」ことを目的とした。

2. 研究の方法

上記の目的を達成するために、下記の4つの課題に取り組んだ。

課題 : 環境サンプルの微生物相解析・網羅的代謝物解析・ガス成分解析

本課題では共生系内の優占種および共生状態での環境条件を明らかにするために、環境サンプルの微生物相、代謝物組成、ガス成分組成などを調べる。

課題 : メタン共生系を構成する微生物の単離と人工共生系の構築

本課題ではメタン共生系を構成している微生物の単離と、必要十分な微生物種を混合して、人工的にメタン共生系を構築する。

課題 : メタン共生系を構成する微生物単独と人工共生系の生理学解析

課題 で選抜した微生物(メタン酸化菌、微細藻、その他の従属栄養微生物)単独での生理学的特徴を調べる。

課題 : メタン共生系を利用した微生物タンパク質生産法の開発

本課題では、課題 で構築した人工共生系を用いたメタンからの微生物タンパク質生産を例として、メタン共生系を利用した物質生産技術の有用性を提案する。

4. 研究成果

国内のメタンガスが発生している水田や河川、井戸など10サイトから採水し、採水したサンプルを微細藻類用の淡水培地に少量加え、好気条件、嫌気条件、嫌気条件かつメタンを唯一の炭素源とする条件で連続的に光照射しながら、2週間培養を行った。その結果、10サイトのうち7サイト(サイト2~4、7~10)のサンプルでメタンを唯一の炭素源とする条件(以下、メタン条件)で藻類の増殖を確認することができた(図1)。特にサイト2、3、8、9では嫌気条件よりもメタン条件の方が藻類の増殖が良く、特にサイト8では藻類が増殖しやすい好気条件と比べても、メタン条件での藻類の増殖が良く、嫌気条件での増殖に適した微細藻が増殖していると予想

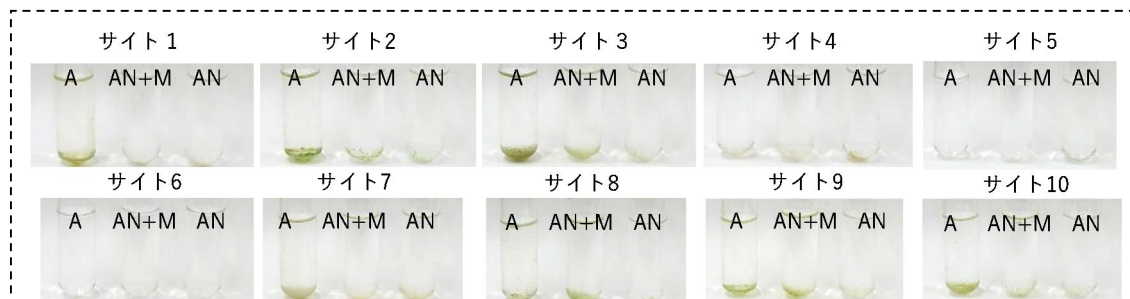


図1) 採水サンプルを試験管中の微細藻用淡水培地に加え、好気条件(A)、嫌気条件+メタン(AN+M)、嫌気条件(AN)にて2週間培養した後の細胞増殖の様子

された。

つぎにサイト 8 の好気条件とメタン条件での微生物叢の違いを 16s および 18s メタゲノム解析により調べた。その結果、16s メタン酸化菌やメタノール資化菌などと共に微細藻が増殖していることが明らかとなった（図 2a と 2b）。またこのサンプルでの光合成電子伝達解析の結果、メタン環境・酸素濃度が極めて低い環境下においても、微弱ながら電子伝達系が駆動していた。メタン環境下にて微細藻類が独立栄養条件にて光合成を行い、増殖していることが明らかとなった。

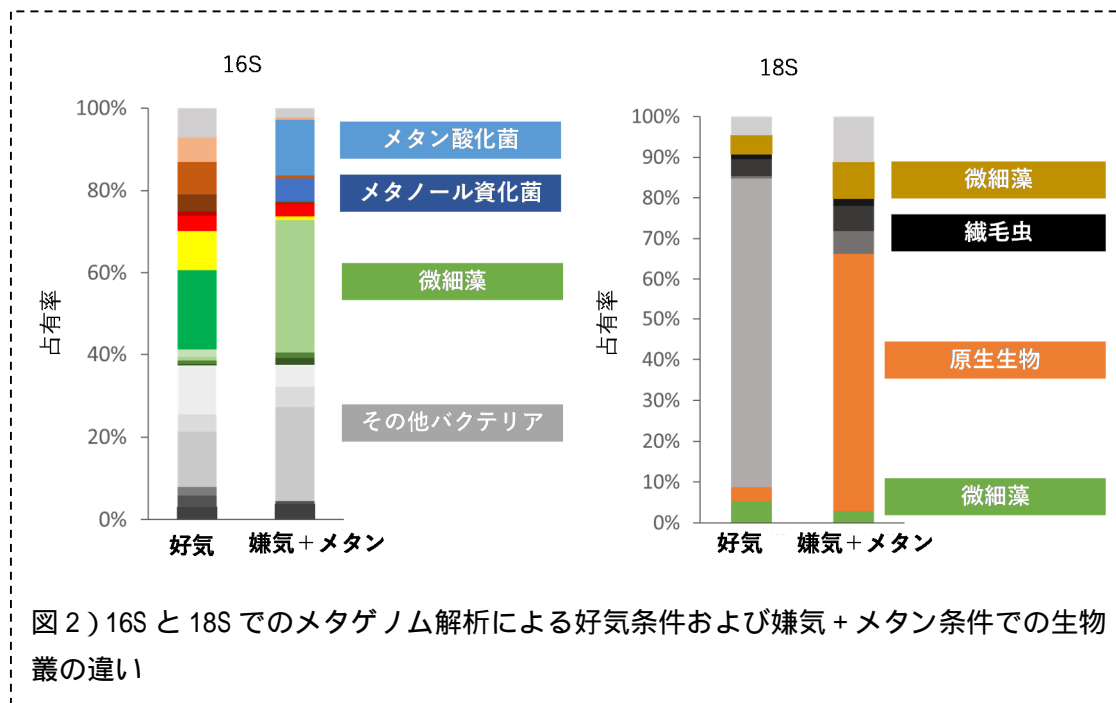


図 2) 16S と 18S でのメタゲノム解析による好気条件および嫌気 + メタン条件での生物叢の違い

上記の 10 サイトに加え、様々な環境から採水したサンプルをメタン条件で培養し、その培養液からメタン資化菌および微細藻の分離・無菌化を実施した。その結果、メタン資化性菌を 50 株、微細藻類を 10 株獲得することに成功した。獲得したメタン資化菌の中から微細藻類用淡水培地でも増殖可能かつ比較的増殖の速い株を 5 株選抜し、微細藻のみ、メタン資化菌のみ、微細藻とメタン資化菌でメタンを唯一の炭素源とする試験管内で培養した。その結果、微細藻のみでは、メタン環境にて微細藻類の増殖が見られなかったが、微細藻とメタン資化菌を同時に培養することで微細藻類が増殖できることが明らかとなった。また膜で培養槽を隔てた共培養フラスコを設計し、微細藻とメタン酸化菌をそれぞれの培養槽で培養することを試みた。当初、増殖の違いが見られる結果が得られていたが、繰り返し検討した結果、培養槽からメタンガスが漏れていることが判明し、改良を加えたものの十分な結果を得ることができなかった。完全な共培養システムの開発には至らなかったものの、本研究では微細藻類とメタン資化菌を共培養することでメタン条件にて微細藻類の増殖が促進されることを明らかにすることができた。今後、共培養に適した培養槽を開発することで、メタンを利用したメタン酸化菌・微細藻による物質生産プロセスが構築できると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Shimpei Aikawa, Atsumi Nishida, Tomohisa Hasunuma, Jo-Shu Chang, Akihiko Kondo
2. 発表標題 Short-term metabolic responses of a halophilic cyanobacterium <i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002 after salt shock
3. 学会等名 World Microbe Form (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Aikawa S., Hama, S., Kosugi, A., Ogino, C.
2. 発表標題 Heterotrophic cultivation of microalgae using crude glycerol from enzymatic biodiesel production process
3. 学会等名 10th Asian conference on Biomass Sciences (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藍川晋平、菓子野康浩、秋本誠志、植野嘉文、和泉自泰、小杉昭彦
2. 発表標題 光質・光量が藍藻・微細藻の光合成におよぼす影響
3. 学会等名 第70回生態学会（招待講演）
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------