

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：82706

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23760797

研究課題名(和文)「環境電流生態系」なる新規バイオマス生産システムの証明と解明

研究課題名(英文)'Environmental Electric Ecosystem', a novel biomass production system

研究代表者

山本 正浩(YAMAMOTO, Masahiro)

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・研究員

研究者番号：60435849

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：本研究提案では、遠隔的酸化還元反応によって環境中に発生する電流を積極的に利用する「環境電流生態系」が存在するという作業仮説を立て、その存在量とメカニズムを解明することを目的とした。本課題において、我々は熱水噴出孔で電流が発生することを、鉱物の電気特性、鉱物の触媒特性、熱水と海水の酸化還元電位、現場発電試験などを通して照明した。さらに、微生物がこの環境電流環境下で鉱物表面に付着することも明らかにした。現場での長期微生物培養試験は天候不良の影響により実現できなかったが、疑似環境下における電流利用微生物の集積培養については今後の進展に期待が持てる。

研究成果の概要(英文)：In this study, I formed the working hypothesis of existence of 'Environmental Electric Ecosystem', in which some microorganisms use electric current produced by remote oxidation-reduction reactions in the environment. The purpose of the study was solution of the amount and mechanism of the Environmental Electric Ecosystem.

Through the study subject, we showed that environmental electric current occurred around the deep-sea hydrothermal vents, by analyses of mineral electrical property, mineral catalytic characterization, oxidation-reduction potential in hydrothermal fluid and seawater, and on-site power generation examination, etc. Furthermore, we also showed that microbes adheres to the mineral surface under this environmental electric current. We were not able to realize the long-term microbial cultivation under the deep-sea electrical current because of bad weather. However, future progress is promising about the enrichment cultivation of the current use microbes in the laboratory.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：総合工学・地球・資源システム工学

キーワード：電気化学 微生物生態学 深海熱水系

1. 研究開始当初の背景

深海や地殻内におけるバイオマスの総量は巨大であると見積もられているが、そのバイオマスがどのようなエネルギー循環メカニズムにより生産・維持されているかはほとんど未知である。最近、細胞外電子授受は広範な微生物によって行われバイオマス生産に寄与しているのではないかと提案されたが、その科学的根拠は不十分であった。

我々は深海熱水噴出孔に形成された鉱物片の解析を行い、微生物による細胞外電子授受に有利な特性を有することを明らかにしていた。

2. 研究の目的

電気伝導体を介した遠隔的細胞外電子授受による生命活動系を我々は『環境電流生態系』(Environmental Electric Ecosystem: E³)と名付け、深海熱水噴出孔環境を E³ モデル環境と位置づけた。本研究では、E³ バイオマス生産が自然界 (特に還元物質や鉱物の流入が多い深海底や地殻内) でも相当量起っていると仮定し、E³ が、どのような時に、何者によって、どれだけの量が、どのような仕組みで起こるか、を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では深海熱水系を環境電池のモデルとし、その有機物生産性とメカニズムを解析する。研究船と深海探査機を用いて深海底熱水フィールドで環境解析データを採取しつつ、堆積物・鉱物・熱水などの試料も採集し、これらについて物理・化学・生物学的解析を行う。環境電池としての起電力や電気伝導性、付着微生物群集の組成や栄養性などを明らかにし、E³ の存在の有無を調査する。得られた情報と深海試料を用いて実験室内に疑似熱水的な電気培養装置を構築し、E³ を人工的に発生させ、その組成を解析するとともに、バイオマス生産量の評価を行う。また E³ に携わる微生物の大量培養を行い、電子伝達反応や炭酸固定反応の分子生物学的・電気化学的解析を行うことで E³ のメカニズムの分子レベルで

の解明を目指す。

(1) 深海熱水環境からの試料・測定データの採取：熱水、海水、堆積物、鉱物、生物等の試料を採取する。また現場で電気特性やその他の物理・化学特性 (温度・pH・ORP・各種化合物濃度など) の測定を行う。本研究提案者は深海用電気化学測定装置 D-Pote を開発した実績がある。この D-Pote は深海環境で電気化学測定を高精度で行える世界で唯一の装置と言える (類似の装置は数台存在するが目的が異なるため性能が本装置よりも劣る)。深海熱水系について得られた高分解のデータは以降の E³ 解析のための有用な情報となる。

(2) 深海熱水試料の解析：取得した熱水試料について、鉱物特性、化学特性、電気特性、生物特性の解析を行う。

(3) 疑似熱水系の構築：得られた試料とデータを元にして疑似熱水系を構築し、E³ が起こるか解析する。多様な条件で発電効果を解析し、また実際に熱水に近い環境を擬似的に構築してやることで実際に発電が起こるかを測定する。

(4) 深海熱水系における発電解析：深海熱水系に電気化学測定装置を持ち込み、熱水環境で発電が起きることを実証する。また現場に培養装置を持ち込み、環境電流によって卓越する微生物の現場集積培養を試みる。

(5) 発電による有機化学反応解析：我々は過去に「好熱性のフェレドキシン (電子運搬タンパク質) の人工的な再還元による炭酸固定の促進」について報告したが、本研究ではこのフェレドキシンの再還元を電気的に行うことに挑戦する。本実験が成功すれば、E³ による炭酸固定の促進が証明され、全地球的なバイオマス生産について大きなインパクトを与えることになる。

(6) 電気培養と微生物解析：細胞外電子授受を行う微生物は既に知られているが鉄呼吸

| Area | Quadrat | Depth (m) | In situ sensors | | | | | Onboard sensors | | | | | Onboard colorimetry [S ²⁻] (μM) |
|---------|---------|-----------|-------------------------|------------------------|----------|------------------------|------------|-------------------------|------------------------|-----------|-----------|-----------|---|
| | | | [S ²⁻] (μM) | [S ⁰] (μM) | ORP (mV) | [O ₂] (μM) | Temp. (°C) | [S ²⁻] (μM) | [S ⁰] (μM) | ORP (mV) | pH | | |
| MinaE | 1326-Q2 | 700 | 4 | 11 | +1227 | 91 | 17.1 | 0 | 0 | +287 | 7.4 | 0 | |
| | 1326-Q1 | 700 | 49 | 11 | +1202 | 90 | 17.2 | 2 | 1 | +305 | 7.2 | 2 | |
| | 1327-Q1 | 701 | 415 | 11 | +1198 | 84 | 17.6 | 0 | 0 | +287 | 7.6 | 0 | |
| Yron | 1333-Q1 | 580 | 0 | 11 | +2501 | 127 | 19.7 | 2 | 16 | +270 | 7.9 | 0 | |
| | 1333-Q2 | 580 | 13 | 12 | +1224 | 127 | 110.2 | 0 | 0 | +272 | 7.4 | 0 | |
| | 1333-Q5 | 566 | 19 | 15 | +1196 | 119 | 12.5 | 1 | 2 | +275 | 7.6 | 0 | |
| | 1333-Q4 | 566 | 225 | 11 | +1205 | 133 | 12.0 | No Sample | No Sample | No Sample | No Sample | No Sample | |
| Izons | 1329-Q5 | 1,617 | 0 | 0 | -106 | 67 | 14.1 | 3 | 2 | +314 | 7.6 | 4 | |
| | 1329-Q4 | 1,617 | 0 | 11 | -239 | 67 | 14.4 | 9 | 2 | +299 | 7.5 | 17 | |
| | 1329-Q3 | 1,617 | 2 | 11 | -299 | 68 | 14.5 | 37 | 6 | +288 | 7.3 | 25 | |
| | 1329-Q5 | 1,617 | 21 | 11 | -290 | 62 | 18.1 | 155 | 10 | -173 | 7.2 | 99 | |
| Irbu | 1332-Q5 | 1,632 | 25 | 0 | +149 | 64 | 14.1 | No Sample | No Sample | No Sample | No Sample | No Sample | |
| | 1330-Q4 | 1,646 | 19 | 12 | +192 | 62 | 14.3 | 32 | 2 | +212 | 7.0 | 21 | |
| | 1330-Q5 | 1,650 | 29 | 10 | +186 | 62 | 14.4 | 26 | 35 | +172 | 7.5 | 29 | |
| | 1330-Q3 | 1,649 | 34 | 10 | +178 | 59 | 15.5 | 170 | 2 | -263 | 6.9 | 156 | |
| | 1332-Q2 | 1,644 | HS ⁻ | 132 | +176 | 49 | 17.5 | 96 | 9 | +97 | 6.5 | 52 | |
| Haloma | 1331-Q1 | 1,499 | 4 | 0 | +2591 | 68 | 13.9 | No Sample | No Sample | No Sample | No Sample | No Sample | |
| | 1331-Q4 | 1,477 | 12 | 0 | +157 | 68 | 13.9 | 0 | 1 | +282 | 7.6 | 0 | |
| | 1331-Q3 | 1,477 | 18 | 12 | +181 | 65 | 14.0 | 15 | 2 | +266 | 7.3 | 11 | |
| | 1331-Q5 | 1,477 | 72 | 12 | +137 | 66 | 14.9 | 91 | 15 | +123 | 6.2 | 683 | |
| 1331-Q2 | 1,477 | 76 | 19 | +182 | 61 | 15.5 | 116 | 2 | -235 | 7.0 | 218 | | |

Fig. 1 Measurement of some chemical and physiological elements in seawater of hydrothermal fields.

菌などに限られている。深海熱水に構築されるチムニーが高い触媒効率を示すことから、チムニー電極を用いた電気培養を行えば新規に細胞が遺伝子授受に携わる微生物が単離される可能性が高い。まずは電極表面の微生物群集の DNA による系統解析を行い、さらに集積培養細胞を用いた生化学・分子生物学的な解析を行う。

4. 研究成果

(1) 深海熱水環境からの試料・測定データの採取：深海熱水環境からの試料・測定データの採取を目的として沖縄トラフにおける潜航調査航海に参加し、深海底熱水環境試料（熱水、海水、堆積物、鉱物、生物等の試料）の採取を行った。また電気化学センサーを深海に持ち込んで硫化水素に代表される無機硫黄化合物の動態、水銀や鉄などの金属イオン、酸化還元電位（ORP）の測定を行ない、さらに他のセンサーで温度や溶存酸素濃度の測定も行った（Fig. 1）。

(2) 深海熱水試料の解析：取得した深海底熱水環境試料のうち特に熱水噴出孔近傍で析出沈殿した硫化物鉱物に関して、鉱物組成や結晶構造を明らかにし、さらに電気特性を測定した。これらの結果を白金やイリジウムやグラファイトのような電極素材の電気特性と比較したところ、硫化水素酸化や酸素還元など環境電流発生に関わる触媒効率において電極素材と遜色のない程に高いことが判明した（Fig. 2）。

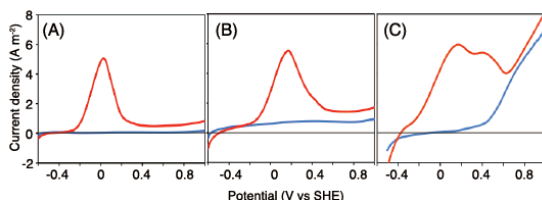


Fig. 2 Linear sweep voltammetry (LSV) in the laboratory. Platinum sintered on a titanium plate (a), iridium sintered on a titanium plate (b) and a natural chimney minerals plate (c) were tested as the working electrode. The electrolytes contained 0.6 M NaCl in the presence (red line) and absence (blue line) of 0.1 M Na₂S. Both electrolytes were adjusted to a pH of 8.0. The scan rate was 10 mVs⁻¹, and the scan direction was from a negative to positive potential.

(3) 疑似熱水系の構築：実験室に電気培養槽を構築した。アノード電極を熱水噴出孔（還元的）、カソード電極を海水（酸化的）に見立てた疑似熱水系を培養槽の中に構築した。この培養槽において発電が起きることを実証した。この培養槽に深海底から採取した試料を添加し微生物の生育をモニタリングした。また硫化物電極および導電体としての能力も検証した。

(4) 深海熱水系における発電解析：深海に電気化学測定装置を持ち込み、世界で初めて熱水の直接的な電気化学的解析を行った（Figs. 3 and 4）。得られた結果は熱水と海水

が発電能力を有することを示していた。深海熱水系に熱水-海水発電システムを導入し、熱水系が実際に発電現象が起こることを確認し、その潜在的発電力を数値として示した（Fig. 5）。さらに現場電気培養システムを作成し、深海熱水系を導入することを試みたが天候不良のために熱水噴出孔へのアクセス回数が限られたため、培養装置の長期設置は成功せず、わずかに2時間の設置に留まり微生物培養は行えなかった（Fig. 6）。

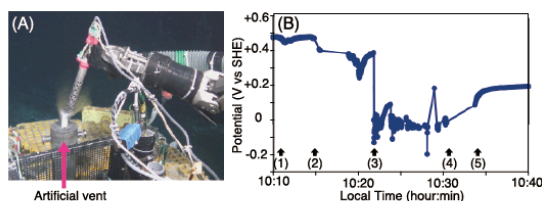


Fig. 3 In situ measurement of oxidation-reduction potential (ORP) in hydrothermal fluid (HF) and ambient seawater (SW). (A) Photograph showing the measurement of the ORP in the hydrothermal fluid at the C0014G vent site with the inserted electrode. (B) Change in the ORP value during the ROV dive. The measuring points are shown in closed circles. The arrows indicate the times when (1) the ROV was above the vent, (2) the ROV landed on the seafloor beside the vent, (3) the anode was inserted into the hydrothermal fluid, (4) the anode was removed from the hydrothermal fluid and (5) the ROV left from the vent.

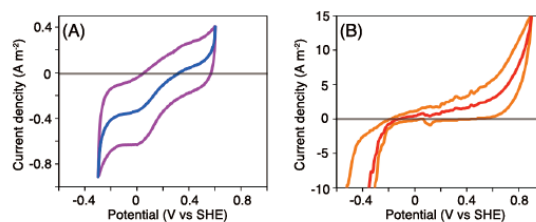


Fig. 4 Electrochemical properties of SW and HF determined by voltammetry methods. (A) Cyclic voltammetry (CV) in ambient seawater. The scan rate was 200 mVs⁻¹. The current densities of oxidation and reduction are represented by purple and blue lines, respectively. (B) CV in the hydrothermal fluid. The current densities of oxidation and reduction are represented by red and orange lines, respectively.

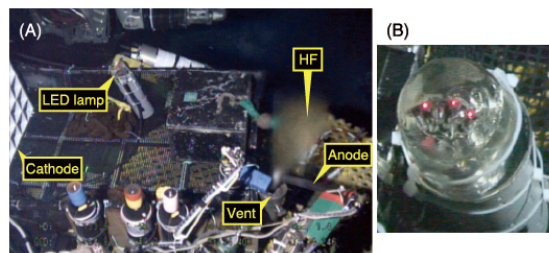


Fig. 5 HF-SW fuel cell installed at a deep-sea hydrothermal vent and its electrical generation. (A) A photograph taken by a camera located above the payload of the ROV. The anode of the fuel cell is inserted into the hydrothermal fluid. (B) A close-up photograph of the LED lamp showing that all the red lights were illuminated.

(5) 発電による有機化学反応解析：炭酸固定反応をはじめとするいくつかの重要代謝反応にける電気的な影響の解析を行った。電流は明らかにある種の化学反応に影響を与えることを明らかにした。すなわち、水素の発生、二酸化炭素の還元とメタンの生産、ケト酸の還元、フェレドキシンの還元などである。これらの現象は電力が直接的に生物の代謝

を促進させる能力を持つことを示すものである。

(6) 電気培養と微生物解析：熱水系の発電能力を培養槽に反映させて深海より採取した鉱物試料を摂取することで電気培養を試みた。興味深いことに、深海熱水系の電位では微生物の多くは鉱物表面に吸着することが観察された。得られた微生物相からは特に電気を利用する微生物の集積は確認されていない。これは炭酸を唯一の炭素源、電流を唯一のエネルギー源という極めて過酷な環境で培養しているため微生物の旺盛な生育が困難なことが原因と考えられるが、微生物の染色法を変更することや、鉱物表面からの微生物の剥離操作を工夫することで効率的な微生物の回収と検出を可能にできているので、今後の電気利用微生物の取得に期待が持てる。

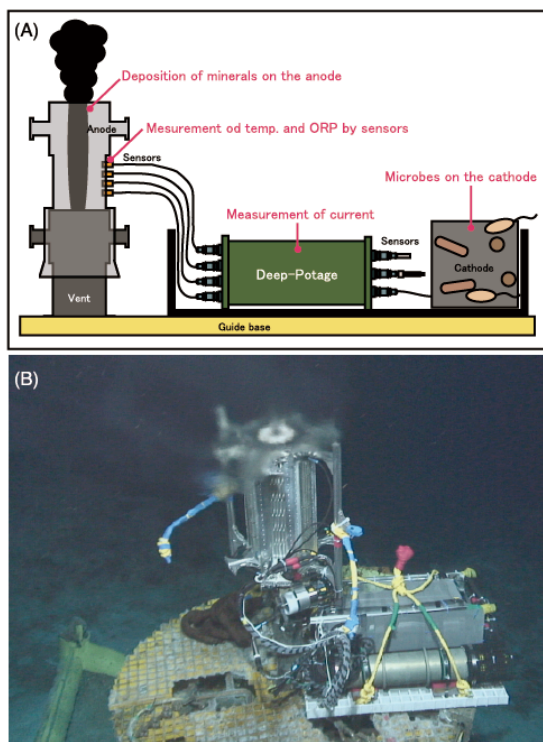


Fig. 6 In situ electro-cultivation system on the deep-sea hydrothermal vent. (A) A schematic illustration of the electro-cultivation system. (B) A photograph taken by a camera of the ROV. The electro-cultivation system is installed on the hydrothermal vent.

(7) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト：本課題で得られた成果の多くはまだ論文になっていないが、一部は論文や学会で公表した。特にドイツ化学会誌 *Angewandte Chemie* に発表した論文は反響が大きく *Nature* 誌でも紹介された。国内外からインタビューや問い合わせを多数受け、執筆依頼や講演依頼も多数寄せられた。また、同じ研究分野でライバル関係にある USA の NASA の研究グループからも共同研究の申し込みを受け、現在は彼らと協力関係にある。以上のことから、本研究成果のインパクトは

非常に大きいと言える。

(8) 今後の展望：本課題期間中に深海熱水系から電流を利用する微生物の集積培養には至らなかったもの手応えを感じており、研究を継続すれば電気利用微生物を取得できると期待できる。電気利用微生物の報告例は非常に稀少であるので、取得に成功すればその分子生物学的メカニズムの解析なども進みインパクトは大きいと考えられる。また、電気が微生物だけではなく無機的・有機的な化学反応に与える影響が大きいことも本研究中に捉えており、この面での研究を進めることも今後の重要な課題になると想像している。この研究が展開されれば、これまで考えられてきた生物の生存限界が見直され、地殻内や他天体の生命探査に役に立つだろう。

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 6 件)

- ① 山本正浩, 海底から噴出する熱水を利用した燃料電池型発電に成功～発電のメカニズム, 化学業界参入の可能性～, *Material Stage*, 査読無, 14, 2014, 1-5, URL: http://www.gijutu.co.jp/doc/magazine/m_2014_05.htm
- ② 山本正浩, 燃料電池を用いて深海熱水噴出孔から電力を取り出す, *Petrotech*, 査読無, 37, 2014, 366-370, URL: <http://sekiyu-gakkai.or.jp/jp/kankou/petro/petro3705.pdf>
- ③ 山本正浩, 中村龍平, 深海熱水噴出孔での発電：熱水-海水燃料電池の開発, *燃料電池*, 査読無, 13, 2014, 83-87, URL: <http://www.fcdic.com/ja/kikanshi/VOL13-3.pdf>
- ④ 山本正浩, 深海熱水噴出孔での自然発電は生態系に影響するか, *日本微生物生態学会誌*, 査読無, 28, 2013, 70-72, URL: <http://157.7.197.143/ja/g4.pdf>
- ⑤ Yamamoto, M., Nakamura, R., Oguri, K., Kawagucci, S., Suzuki, K., Hashimoto, K., Takai, K., Generation of electricity and illumination by an environmental fuel cell in deep-sea hydrothermal vents, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 査読有, 52, 2013, 10758-10761, doi: 10.1002/anie.201302704
- ⑥ Yoshida-Takashima, Y., Nunoura, T., Kazama, H., Noguchi, N., Inoue, K., Akashi, H., Yamanaka, T., Toki, T.,

Yamamoto, M.,
Furushima, Y., Ueno, Y., Yamamoto, H.,
and
Takai, K., Spatial distribution of
viruses associated with planktonic and
attached microbial communities in
hydrothermal environments, Appl.
Environ. Microbiol., 査読有, 78, 2012,
1311-1320, doi: 10.1128/AEM.06491-11

[学会発表] (計 10件)

- ① 美野さやか, 中川聡, 牧田寛子, 宮崎淳一, 和辻智郎, 渡部裕美, 西澤学, 中村謙太郎, 布浦拓郎, 井町博之, 山本正造, 高井研, 加藤真悟, 小島茂明, 島伸和, 石橋純一郎, 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分布様式と集団構造の解明, Blue Earth 2014, 2014年2月19日-20日, 東京海洋大学, 東京都
- ② 土田真二, 羽生毅, 滋野修一, 山本正造, Sinniger Harii, F., 木本徹, 駒井智幸, Clark, M., Rowden, A. A., Schnabel, K., Wysoczanski, R., Boschen, R., De Ronde, C., Stucker, V., 奈須俊勝, 北部ケルマディック島弧およびルイビル海山列において発見された海山生物群集 —YK13-11 航海報告, Blue Earth 2014, 2014年2月19日-20日, 東京海洋大学, 東京都
- ③ Yamamoto, M., Nakamura, R., Oguri, K., Kawagucci, S., Suzuki, K., Hashimoto, K., Takai, K., Possibility of electro-ecosystem around deep-sea hydrothermal vents, International Astrobiology Workshop 2013, 2013年11月28日-30日, JAXA, 神奈川県
- ④ 山本正造, 中村龍平, 小栗一将, 川口慎介, 鈴木勝彦, 橋本和仁, 高井研, 深海底熱水孔での発電: 環境燃料電池を熱水孔に設置する, Blue Earth 2013, 2013年03月14日-15日, 東京海洋大学, 東京都
- ⑤ Mino, S., Nakagawa, S., Sawabe, T., Miyazaki, J., Makita H., Nunoura T., Yamamoto, M., Takai, K., Population structure of deep-sea chemolithoautotrophs: identification of phenotypic and genotypic correlations, AGU Fall Meeting 2012, 2012年12月3日-7日, San Francisco, USA
- ⑥ Watanabe, H., Yamamoto, M., Ogura, T., Takahashi, Y., Yahagi, T., Nakamura, M., Seo, M., Kojima, S., Watsuji, T., Takai, K., Biodiversity of deep-sea hydrothermal vent fauna and its relationships to environments in

Okinawa Trough, 13th International Deep-Sea Biology Symposium, 2012年12月3日-7日, Wellington, New Zealand

- ⑦ 美野さやか, 中川聡, 宮崎淳一, 牧田寛子, 和辻智郎, 布浦拓郎, 山本正造, 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, JpGU, 2012年05月20日-25日, 幕張メッセ, 千葉県
- ⑧ 山本正造, 高井研, 河野百合子, 児玉谷仁, 富安卓滋, 小室光世, 丸茂克美, ストリッピングボルタンメトリー法による深海水銀センサーの開発, 電気化学会, 2012年3月29日-31日, 浜松アクトシエイ, 静岡県
- ⑨ 山本正造, 渡部裕美, 和辻智郎, 高井研, 宮崎ゆかり, 鈴木庸平, 石橋純一郎, 熱水生態系における硫化水素の動態を深海水電気化学センサーを用いて探る, Blue Earth 2012, 2012年2月22日-23日, 東京海洋大学, 東京都
- ⑩ 山本正造, 中村龍平, 高嶋敏宏, 加藤創一郎, 橋本和仁, 高井研, 深海底熱水系における電流発生: チムニーが生命誕生の場になり得る新仮説, 日本地球化学会(招待講演), 2011年9月14日-16日, 北海道大学, 北海道

[産業財産権]

○出願状況 (計 1件)

名称: 発電システム

発明者: 山本正造, 高井研, 猿橋具和, 澤田郁郎, 宮崎淳一, 渋谷岳造, 中村謙太郎, 中村龍平, 橋本和仁

権利者: 独立行政法人海洋研究開発機構, 国立大学法人東京大学

種類: 特許権

番号: 特願 2012-071864

出願年月日: 2012年3月27日

国内外の別: 国内, 外国

[その他]

ホームページ等

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

<https://www.jamstec.go.jp/biogeos/e/xbr/sugar/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 正浩 (YAMAMOTO, Masahiro)

独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏研究領域・研究員

研究者番号: 60435849