

陸上ガス井におけるメタン生成古細菌の分子生態学的解析

もちまるはなこ いまちひろゆき せきぐちゆうじ あまいしあや ほあきとしひろ うちやまひろお かまがたよういち
 ○持丸華子^{1,4}、井町寛之²、関口勇地¹、天石文³、帆秋利洋³、内山裕夫⁴、鎌形洋一¹

¹産総研・生物機能工学、²長岡技大・環境システム工学系

³大成建設・技術センター、⁴筑波大・生命環境科学

【目的】天然ガスはその起源によって油田ガス、炭田ガス、無機起源メタン、水溶性ガスに分類される。前 3 者は熱分解起源であるが、水溶性ガスは生物起源のメタンであることが地球科学的な研究から示唆されている。水溶性ガスはメタンの純度が高く、一酸化炭素や硫黄分を含まないクリーンなエネルギーである。日本では主に千葉県と新潟県で生産され、都市ガスとして利用されている。しかし、どのような微生物がどのようにメタンを生成しているか、また現在も生成され続けているかということについては明らかになっていない。本研究では、ガスと共に採取された鹹水に存在するメタン生成古細菌および共生微生物の探索と機能解明を行い、メタン生成メカニズムを解明することを目的としている。

【方法】試料は 2003 年 6 月に千葉県茂原市および新潟県新潟市の天然ガス生産井から採取した。通常、ガスは地表下約 500-2000 m の深度まで差し込まれたパイプを通り、鹹水と地下砂泥と共に採取される。このとき気液分離された鹹水と地下砂泥の混合物を用いて 16S rDNA による古細菌の群集構造解析とメタン生成古細菌の培養を行った。群集構造解析は古細菌に特異的なプライマーセット (Ar109F-UNI1492R) を用いて PCR 増幅させた後クローニングを行い、5' 側からの前半約 500 bp を解析した。培養はメタン生成古細菌が直接利用できる H₂-CO₂、acetate、methanol の他に、細菌との共生で利用される間接基質である ethanol、butyrate を用いて行った。基質はそれぞれ 20 mM 添加し継代培養を行った。

【結果と考察】採取深度が異なる 4 サンプルの古細菌群集構造解析の結果、水温が中温程度であった 3 つのサンプルからは、既存の *Methanosaeta* に 93% の相同性を示すクローンが確認された。また、すべてのサンプルにクローンクラスター WSA2 に近縁のクローンおよび *Methanobacterium aarhusense* に 98% 近縁のクローンが確認された。地域が同じでもガス井によってメタン生成古細菌の多様性および種類は異なっていた。これらのサンプルを用いて継代培養を行い、集積された古細菌について 16S rDNA によるクローン解析を行った結果、*Methanosaeta* に 93% の相同性を示すメタン生成古細菌や WSA2 に近縁の古細菌が集積されていることが確認された。これらは系統的に新規性が高く、ガス田地下環境に普遍的に存在する可能性が高いことから、今後その諸性質の解明を行っていく予定である。

E-mail: h-mochimaru@aist.go.jp (持丸華子)