

## OF-007

結晶性酸化鉄を還元する新しい微生物の  
分離培養と生理学的特徴

○青柳 智<sup>1</sup>、堀 知行<sup>1</sup>、伊藤 英臣<sup>2</sup>、尾形 敦<sup>3</sup>、成廣 隆<sup>3</sup>、花田 智<sup>3</sup>、  
鎌形 洋一<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>産総研・環境管理、<sup>2</sup>産総研・生物プロセス

【目的】鉄は、第4位の地殻構成元素であり、地下深部に至るまで酸化鉄鉱物として分布している。地圏の大部分を占める嫌気環境において、鉄還元菌は酢酸をめぐりメタン生成菌と競合するため、地球の炭素循環を理解する上で重要である。私たちは、結晶性酸化鉄(Hematite, Goethite, Lepidocrocite, Magnetite)を還元する微生物の集積培養系を構築してきた。本研究では、それら微生物集積系の群集構造を詳細に明らかにし、さらに集積系から分離された鉄還元菌を生理学的に特徴づけることを目的とした。【方法・結果】58の微生物集積系の16S rRNA遺伝子に基づくT-RFLPパターンを主成分分析したところ、HematiteやGoethiteの集積系がマップ中央の狭い領域に集まり、それら酸化鉄の選択圧の高さが示唆された。また16S rRNA遺伝子ディープシーケンシングにより集積系構成種を鉄ごとに特徴づけた結果、*Deltaproteobacteria*綱細菌が主要となった。次に、新規細菌群が高度に集積する培養系を対象に、結晶性酸化鉄から溶解性の鉄へと基質を置き換えることで、優占微生物の増殖を促進させた。限界希釈やロールチューブ法を用いて、*Geobacter*属5種、*Pelobacter*属1種の分離培養に成功した。全ての分離株はNTA鉄の還元と酢酸酸化により生育するが、それぞれで増殖速度やタンパク合成時期などが異なっていた。さらに分離株のほとんどが結晶性酸化鉄を還元することができた。4種全ての酸化鉄に高い還元能を示す菌やMagnetite還元能が相対的に高い菌などがおり、分離株ごとに特徴的な酸化鉄の利用性が見出された。本発表では、結晶性酸化鉄の還元による微生物の増殖および鉄還元菌の生存戦略についても議論する。

Key words: crystalline iron oxide, 16S rRNA gene deep sequencing, isolation, iron(III)-reducing bacteria  
E-mail: aoyagi-to@aist.go.jp

## OF-009

## 北八戸沖の褐炭層を含む海底下深部堆積物中の酢酸酸化活性

○井尻 暁<sup>1</sup>、稲垣 史生<sup>1</sup>、IODP第337次乗船研究者  
<sup>1</sup>海洋研究開発機構・高知コア研

【目的】下北八戸沖の海底下深部に埋没した未熟性の石炭層(褐炭層)に関連する炭化水素循環システムと微生物学的・地球化学的過程を調査することを目的とする。【方法】2013年の地球深部探査船「ちきゅう」による国際統合掘削計画(IODP)第337次航海「下北八戸沖石炭層生命圏調査」によって掘削された褐炭層(海底下2km)を含む堆積物コア試料(海底下2466m)に、<sup>14</sup>Cで標識した酢酸([2-<sup>14</sup>C]-acetate)をトレーサーとして添加し、酢酸基質によるメタン生成と嫌氣的酢酸酸化活性を測定した。【結果】酢酸開裂型メタン生成活性は、海底下約2kmの褐炭層より浅部で0.2~1.2 pmol cm<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>であり、最も高い活性は海底下1990mの褐炭層試料で検出された。褐炭層以深では、0.1~0.2 pmol cm<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>程度とより低い活性を示した。酢酸のメチル基に<sup>14</sup>Cでラベルした[2-<sup>14</sup>C]-acetateを添加した試料中の<sup>14</sup>C-CO<sub>2</sub>の生成量から見積もられた酢酸酸化活性は、1800 mbsfで最も高く(33 pmol cm<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>)、深度の増加と共に低くなり、夾炭層以深では検出限界以下となった。1800 mbsf付近では海緑石(グラウコナイト)が多産することから、この深度での高い酢酸酸化活性には、同鉱物成分に含まれる酸化態の鉄(Fe(III))が電子受容体として寄与している可能性が示唆される。

Key words: Acetate oxidation, Acetoclastic methanogenesis, Lignite, Deep biosphere

## OF-008

## Cultivation of methanogenic microbial community from 2-km deep seafloor coalbeds using a continuous-flow bioreactor

○Imachi Hiroyuki<sup>1</sup>、Tasumi Eiji<sup>1</sup>、Morono Yuki<sup>2</sup>、Ito Motoo<sup>2</sup>、  
Takai Ken<sup>1</sup>、Inagaki Fumio<sup>2</sup>、IODP Expedition 337 Scientists  
<sup>1</sup>Inst. Biogeoscience, JAMSTEC、<sup>2</sup>Kochi Inst. Core Sample Res., JAMSTEC

Deep seafloor environments associated with hydrocarbon reservoirs have been least explored and hence the nature of deep seafloor life and its ecological roles in the carbon cycle remain largely unknown. In this study, we performed cultivation of seafloor methanogenic community using a continuous-flow bioreactor, called down-flow hanging sponge (DHS) reactor. The sample used for the reactor cultivation was obtained from 2 km-deep coalbeds off the Shimokita Peninsula of Japan, using the drilling vessel *Chikyu*. The coalbed samples were incubated anaerobically in the DHS reactor at the *in-situ* temperature of 40°C. After 34 days of the operation, microbial methane production was evident. Phylogenetic analysis of 16S rRNA genes showed the growth of phylogenetically diverse microorganisms in the reactor. Predominant archaeal components were closely related to hydrogenotrophic methanogens *Methanobacterium*. Some predominant bacteria were related to the clostridial spore-formers. We clearly observed <sup>13</sup>C-bicarbonate incorporation in rod-shaped methanogens, as well as <sup>13</sup>C-acetate incorporation of other cells by a NanoSIMS ion imaging technique. These microbiological data obtained from the DHS reactor generally support a geochemical indication that microbial processes contribute to the biogeochemical carbon cycle associated with 2 km-coalbeds in the deep seafloor biosphere.

Key words: methanogenesis, coalbed, seafloor, continuous-flow bioreactor  
E-mail: imachi@jamstec.go.jp

## OF-010

## 巨大地震後の深海底におけるメタン生成ホットスポットの出現

○田角 栄二<sup>1</sup>、野牧 秀隆<sup>1</sup>、柳川 勝紀<sup>1</sup>、今野 祐多<sup>1</sup>、酒井 早苗<sup>1</sup>、平井 美穂<sup>1</sup>、藤倉 克則<sup>1</sup>、布浦 拓郎<sup>1</sup>、高井 研<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>海洋研究開発機構

JAMSTECでは、2011年に発生した東北地方太平洋沖地震により日本海溝の深海生態系にどのような影響が生じ、変動するかを経時的にモニタリングし、明らかにしようとしている。我々は、地震後の2年間に渡って三陸沖の深海底堆積物を採取し、間隙水の化学分析、堆積物中の微生物群集構造および定量解析、さらにメタン生成活性測定を行い、巨大地震後の深海底堆積物における微生物生態系の変遷を、メタン生成に着目して調査した。

地震直後の深海底では、ウニやヒトデなどの遺骸が大量に堆積(約10cm)していた。熱水噴出孔やメタン湧水等の生物活動が活発な「深海のオアシス」ではない、いわゆる「普通の深海底」で、これほど大量の有機物が広域に渡り堆積するというのは、極めて希有な事象である。遺骸の堆積箇所ではバクテリアマットが形成されており、その直下の微生物群集は、富栄養環境で見られるような従属栄養細菌群から構成されていた。通常、貧栄養状態にある深海底で、このような微生物群集構造が見られることは希であることから、海底面に堆積した生物遺体由来有機物が、堆積物中の微生物生態系に大きく影響を及ぼしたと考えられる。さらに、これらの堆積物中ではメタン濃度が高く、メチルアミンを基質とするメタン生成活性が高いことも判明した。これらの結果は、巨大地震により生じたメチル化合物を多く含む大量の海産生物遺骸の堆積により、深海底に高メタン生成活性領域(メタン生成ホットスポット)が形成されたことを示しており、深海底におけるメタン生成メカニズムおよび海洋におけるメタン生成アーキアの進化および生態を考える上で、新たなヒントを与えてくれるものと期待している。

Key words: mega-earthquake, methane, methylamine, deep sea  
E-mail: etasumi@jamstec.go.jp