

## マーカー遺伝子によるメタン漏洩の原位置検出技術の開発

## Search for microbial genetic markers associated with methane leakage from gas hydrates in the deep sea

# 吉田 光毅 [1]; 布施 博之 [2]; 福場 辰洋 [3]; 藤井 輝夫 [4]; 沖田 紀子 [5]; 帆秋 利洋 [6]

# Kouki Yoshida[1]; Hiroyuki Fuse[2]; Tatsuhiko Fukuba[3]; Teruo Fujii[4]; Noriko Okita[5]; TOSHIHIRO HOAKI[6]

[1] 大成・技術セ; [2] 産総研・生物機能; [3] 東大生研; [4] 東大生研; [5] タック; [6] 大成

[1] Taisei Co. Tecnology CTR; [2] BRF, AIST; [3] Institute of Industrial Science, Tokyo Univ.; [4] IIS, Univ. of Tokyo; [5] TAC JAPAN; [6] TAISEI

国家エネルギー戦略のひとつとして進められているメタンハイドレート研究開発事業(MH21)は、2017年以降の操業を目標として現在研究開発が進められている。深海底のメタンハイドレート賦存層からメタンガスを回収する開発行為においては、メタンの漏洩防止と生態系保全がパブリックアクセプタンスを得るための重要な課題と考えられる。そこで、我々はメタン漏洩の検知手法としてメタン酸化細菌の遺伝子を指標とした原位置遺伝子マーカーモニタリングシステムの開発を目指している。

地球上にはさまざまな生物が生息するが、ある種の生物は淘汰され、またある種の生物は適応することを繰り返しつつ、進化という過程を経て現在の生態系が成立している。なお、生態系ピラミッドの底辺に位置付けられる微生物は一般的に、環境の変化に対して素早く応答すると共に増殖速度の最も速い生き物である。従って、微生物の挙動を捉える事で生態系の変化を逸早く察することが出来る可能性がある。一方、微生物の種類は多様であり、培養できない未知の微生物も未だ多く存在することが知られている。これらの未知微生物の挙動を環境中でモニタリングするためには、その微生物の持つ遺伝子を特定することによりPCR法による検出が可能となる。

以上の背景により我々は、メタン漏洩の検知手法としてメタン酸化細菌の遺伝子を指標とした原位置遺伝子マーカーモニタリングシステムの開発を行っている。本技術は、メタン酸化細菌がメタンを唯一の炭素源として生育できる特徴に着目して、メタン酸化酵素を司る遺伝子をPCR法により高感度・高精度で検出する手法を基幹技術としている。また、本法を現場分析装置として応用するためにマイクロ流体デバイスを採用し、深海底の原位置で迅速にかつコンタミネーション無く自動で定点観測を可能とする画期的な装置の実用化を目指している。

我々は、これまで南海トラフ広域にわたる15カ所の海底表層試料を採取し、PCR反応を利用して海底表層試料より微生物群由来の特定の遺伝子を複数個単離し、配列を決定・分類して微生物群集構造を解析した。南海トラフ非メタン湧出域の海底表層13カ所では、場所によらず、メタン酸化関連微生物由来の遺伝子が検出される確率は非常に低い事が分かった。これに対して、南海トラフ海域のメタンシープS1サイトでは、メタン酸化細菌に近縁な遺伝子クローンが数多く検出された。これらメタン酸化細菌に近縁な遺伝子クローンは、いずれも - プロテオバクテリアのタイプIに分類された。さらに、メタン酸化細菌のメタンモノオキシゲナーゼpMMOをコードするpmoAもS1サイトのみから検出された。これらの結果より、海底からメタンが湧出しているS1サイトには好氣的なメタン酸化細菌が棲息している事が示唆された。

一方、還元的メタン酸化を司るANMEの存在について古細菌の16SrRNA遺伝子のクローニング解析を行った結果、ANME-2a, b, cおよびANME-3に近縁なMethanosarcinales目に該当することが明らかとなった。すなわち、黒島海丘のメタンシープ域で発見されている現象と同様、メタンシープ海底S1サイト表層では好氣的メタン酸化と還元的メタン酸化が近接して起こっていることが示唆された。

以上の結果より、メタン漏洩のマーカーの1つとしてpmoA遺伝子を利用し、遺伝子マーカーの原位置検出を目的として、集積型現場微生物遺伝子解析装置(IISA-Gene)の開発・評価を進めている。さらに、我々は南海トラフ海域数カ所から採取した海底表層試料からのメタン酸化細菌の分離を試みている。興味深い事に、非メタン湧出域由来の試料でメタン酸化細菌の遺伝子が検出されないものであっても、ある培養条件では原位置の温度条件下でメタン消費活性が検出される事を最近発見した。この新たな知見は、南海トラフ海域の広域にわたって、メタン酸化細菌がPCR法の検出限界以下で潜在的に存在・分布しておりメタン濃度の増加という環境変化に応答して増殖を開始する事を示唆している。現在、海底表層試料のメタン消費速度と潜在菌の増殖速度との関係を調査中であり、近々メタン酸化細菌の漏洩マーカーとしての適用性が検証できるものと期待している。

本研究は、経済産業省の受託事業としてMH21コンソーシアムのもとで(財)エンジニアリング振興協会にて実施された。また、IISA-Geneの研究開発の一部は、科学研究費補助金基盤研究S(課題番号17106012)によって実施されている。鳩間海域の海底表層泥および直上水については(独)海洋研究開発機構のNT06-14航海(首席研究者:藤井輝夫)において採取されたものである。関係者各位に感謝の意を表す。