

幌延地域の深部地下堆積岩からの CO₂ 固定微生物の探索と特徴づけ

清水 了¹・Rahul Upadhye¹・石島 洋二¹・長沼 毅²

1 財団法人北海道科学技術総合振興センター 幌延地圏環境研究所 地下微生物環境研究グループ

2 広島大学大学院 生物圏科学研究科

〒098-3221 北海道天塩郡幌延町栄町 5 番地 3 電話: 01632-9-4112

Fax: 01632-9-4113 E-mail: satoru.shimizu@h-rise.jp

地球環境の温暖化対策として、火力発電所等の大規模排出源由来の CO₂ 削減技術の開発を目指し、化学合成独立栄養微生物をモデルに研究を進めている。我々は数年前から北海道の幌延地域に（独）日本原子力研究開発機構が建設中の深地層研究施設から CO₂ 固定微生物の探索と特徴づけ研究を行ってきた。本稿では今年 5 月に新たに単離された硫黄酸化細菌をモデルに行っている CO₂ 固定研究について紹介する。本単離株は *Thiomicrospira* 属細菌であり、陸域深部地下環境から単離されたおそらく最初の事例である。興味深いことに本単離株は単離に用いた培地ではエネルギー獲得反応である硫黄酸化反応が途中で停止していることから、培養条件の改善により CO₂ 固定能を劇的に改善できる可能性がある。

1. はじめに

産業革命以降の化石燃料の大量消費により大気中に排出されている CO₂ に代表される温室効果ガスによる地球環境の温暖化が問題になっている。温暖化対策としての CO₂ 削減技術として、(1) 原子力や再生可能エネルギーなどの CO₂ 発生抑制技術、(2) 緑化などの CO₂ 吸収源拡大技術および (3) 発生した CO₂ を大気に放出する前に回収して貯留・隔離する技術に大別される。このうち、CO₂ を回収・吸収する方法としては、化学吸収法がもっとも有望視されている。これに対して生物学的アプローチとしては、緑化を除いては、光合成および非光合成独立栄養微生物を用いた CO₂ 固定研究がなされてきたが、実用化には至っていない。しかしながら、化学吸収法には CO₂ の放散（吸収液の再生）に大きな熱エネルギー（110–140℃）が必要であり、吸収液の損失が多く、環境汚染の恐れがあるなどの課題がある。一方、生物学的手法は化学吸着法に比べて反応はすべて中温で可能であるなど緩和な条件で CO₂ 固定が可能であり、生産された微生物体バイオマスはメタン発酵の原料となるため、エネルギーとして再生可能であるなどの利点があり、化学吸収法と比較して環境調和型の CO₂ 固定技術であるといえる。このよう

な生物学的アプローチにおいては、光合成微生物による方法と化学合成独立栄養微生物による方法があるが、後者の方が高密度に培養できる点で優れている。

我々は過去 6 年間、幌延地域の深部地下環境から CO₂ 固定微生物の探索を行ってきた。深部地下環境は無光層の貧栄養な環境であるため、太陽光に依存しない化学合成独立栄養微生物の探索に適した生態系の一つである。同地域の深部地下水には比較的高い濃度の重炭酸が含まれている点でも CO₂ 固定微生物の探索に適しているといえる。我々はこれまでにメタン生成古細菌、硫酸塩還元細菌および硫黄酸化細菌など化学合成独立栄養細菌を数多く単離しており、CO₂ 削減に資するための探索および特徴付け研究を継続中である。本稿では、その中でも今年 5 月に単離された好気性の硫黄酸化細菌をモデルに低コストな CO₂ 固定技術の開発を目指して行っている研究について紹介する。従前の化学合成独立栄養細菌を用いた CO₂ 固定技術の開発研究は実用化を目指した研究事例自体が少ないが、我々は低コストな CO₂ 固定技術の開発研究という点で差別化を目指している。

2. 方法

(1) 深部地下環境のサンプル

研究に用いた化学合成独立栄養微生物の探索は、（独）日本原子力研究開発機構が北海道の幌延地域で建設中である深地層研究施設の GL-140m 坑道および GL-250m 坑道から採取した地下水を用いて行った。GL-140m 坑道は声問層（珪藻質泥岩）に位置し、GL-250m 坑道は声問層と稚内層（珪質泥岩）との遷移帯に位置している。これらの地層は空隙率は大きい透水性が低く、化石海水とメタンがトラップされている特徴がある[1]。

(2) 集積培養

集積培養は、火力発電所等の大規模排出源の煤煙中の CO₂ 固定を想定して、高濃度の炭酸を炭素源とし、酸素（あるいは窒素酸化物）とチオ硫酸ナトリウムをエネルギー源とした硫黄酸化細菌用の培地を用いて行った。なお、集積培地は *Thiobacillus denitrificans* 用を基礎培地とし、ビタミン類および微量元素が含まれていない極力シンプルな組成の培地を独自に設計した。

3. 結果と考察

(1) 単離株の系統と形態学的特徴

GL-250m 坑道の地下水を接種した中低温の好気培養条件においてのみ微生物の生育がみられた。生育のみられた集積培養物から得られた単離株 V2501 の 16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析の結果、同株は *Thiomicrospira thyasirae* DSM 5322 と 98.2% の相同性を有していることが明らかになり、新種の可能性が示された。*Thiomicrospira* 属は絶対化学合成独立栄養生物で主に深海底などの海洋環境から単離されており、陸域の深部地下環境から単離されたのは本株がおそらく最初の事例である。同株の落射型蛍光生物顕微鏡像は 0.3 × 0.7 ~ 1.7 μm の湾曲した桿菌であり、*Thiomicrospira* 属の形態と一致していた。

(2) 生理学的な特徴

集積培養に用いた培地を基礎培地として、いくつかの条件で単離株 V2501 の生理学的な性質を調査した。生理学的性質については以下のようなことが今までに明らかになっている。なお、以下の性質のいくつかは、単離源となった深部地下水環境の水質[1, 2]を反映しているのかもしれない。

- 既知の *Thiomicrospira* 属よりも低濃度の Mg 濃度を好む。
- 炭素源は気相の CO₂ よりも溶解させた高濃度の重

- 炭酸の方が適している。高濃度の炭酸（炭酸水素ナトリウム 0.25%–1.5%）は生育に影響を与えない。
- Thiomicrospira* 属の至適塩分濃度である 0.5 M NaCl よりも 0.1 M NaCl で生育がわずかによい。
- ビタミン類や微量元素の要求性はない。
- 硝酸塩(0.5%)の存在は生育に影響を与えない。

本株は既知の *Thiomicrospira* 属細菌とは多くの共通点を有していたが、栄養要求性が低く培地を簡素化できる可能性が高いことについて我々は注目しており、研究を進めている。

(3) CO₂ 固定効率改善の可能性

単離株 V2501 は約 15 時間で定常期に達し、このときの比増殖速度は約 0.3 であった。培養液の OD 値と微生物密度の間には正の相関があり、培養中期から後期にかけて凝集塊を形成し速やかに沈殿する。この沈殿物の元素組成を調べた結果、硫黄 95% 以上、炭素約 2% であり、チオ硫酸の硫黄と亜硫酸への開裂反応でエネルギー獲得反応である硫黄酸化反応が停止していることが示唆された。既知の *Thiomicrospira* では、この反応の後、速やかに硫酸まで酸化反応が進むが、この反応は pH、酸素分圧、チオ硫酸濃度などに依存していることが報告されている[3]。そのため、硫黄酸化反応が最後まで進むように培養条件を検討することにより本単離株の生育、すなわち CO₂ 固定量が劇的に改善されることが期待できる。

4. 今後の展望

現在、用いている培地の成分は *Thiomicrospira* 用の培地と多くの点で異なっており、単離株 V2501 に最適な組成ではない可能性が高い。今後、培地成分および培養条件の検討を行い、CO₂ 固定量の改善および培地成分の低コスト化を目指す。本単離株あるいは新たに探索した単離株について、実用化の可能性が示されれば、連続培養系をモデルにした低コストな CO₂ 固定方法を構築し、それをもとに問題点の抽出および改善を行う予定である。

参考文献

- 岩月輝希, *et al.*: 地学雑誌, Vol.118 No.4, 700–716 (2009)
- Shimizu S, *et al.*: Geobiology, 4, 203–213 (2006)
- Javor BJ, *et al.*: Arch. Microbiol., 154, 231–138 (1990)