

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 山田 千早

メタンはクリーンエネルギー源として利用される一方で、強力な温室効果ガスとしても知られている。メタン生成は鉄によって影響を受けることが報告されている。鉄は自然界に豊富に存在する物質であり、酸化還元を受けやすさ、電気伝導性といった性質がその組成や結晶構造により変化するため、異なる性質を持つ鉄の存在は微生物の活性に様々な影響を及ぼしうる。

特に鉄の存在がメタン生成に及ぼす影響として、2つの相反する効果が報告されている。一つは還元を受けやすいFerrihydriteの存在がメタン生成に阻害的に働くというものである。もう一つは高い導電性を有するMagnetiteの存在が、嫌気性微生物間の電子移動反応を促進しメタン生成を効率化する、というものである。しかしこれらの現象は水田土壌等の限られた環境でしか調べられておらず、またその詳細なメカニズムは不明な部分が多い。本研究では、高温メタン発酵をモデル生態系として使用し、異なる結晶構造を持つ酸化鉄がメタン生成活性に及ぼす影響を調べた。

まず、高温メタン発酵汚泥を微生物源、酢酸とYeast extractを基質とし、20-160 mMのFerrihydriteの存在下、55°Cでメタン生成微生物群を培養し、メタン生成量、鉄還元量を測定した。その結果、Ferrihydrite添加量の増加に伴うメタン生成量の低下、および二価鉄生成量の増加が見られた。このとき、Ferrihydriteの還元に使われた電子量から求められる量以上にメタン生成量が減少していた。

次に、鉄還元が生じた条件の微生物群集構造解析をおこなった結果、既知の鉄還元細菌と近縁な微生物は検出されなかった。またメタン生成アーキアとしては酢酸利用型の*Methanosarcina thermophila*に近縁なクローンが検出された。近縁株の*M. thermophila* TM-1^T株を用いて培養実験を行ったところ、酢酸、もしくはメタノールからのメタン生成は130 mMのFerrihydriteで完全に阻害された。

以上の結果から、本実験条件でのFerrihydriteによるメタン生成阻害は鉄還元微生物との競争阻害ではなく、メタン生成アーキアへの直接的な阻害によるものと考えられた。

Magnetiteによるメタン生成の促進について調べるため、まず高温メタン発酵汚泥を微生物源、酢酸を基質とし、5, 10 mMのMagnetiteの存在下、55°Cでメタン生成微生物群を培養した。その結果、Magnetiteの存在下でメタン生成が有意に促進された。微生物群集構造解析の結果、Magnetite添加条件においてバクテリアでは酢酸分解菌*Tepidanaerobacter acetatoxydans*の近縁種、アーキアでは酢酸利用型メタン生成菌*Methanosarcina thermophila*の近縁種がそれぞれ優占しており、電気共生反応へ関与していると考えられた。またプロピオン酸を基質として同様の培養を行ったところ、MagnetiteだけではなくFerrihydrite添加条件でもメタン生成の促進がみられた。

さらに、*M. thermophila*が電気共生に必要な細胞外電子伝達能を有しているかを調べる

ために、分離した FE-1 株、および近縁種の TM-1^T 株の Ferrihydrite 還元能を調べた結果、両株ともにメタノールと水素を同時に添加した培養系で Ferrihydrite 還元を行い、細胞外電子伝達能を有することが示された。生成した鉄化合物の結晶構造を X 線回析により解析した結果、Ferrihydrite の還元に伴う Magnetite の生成が確認された。さらに SEM-EDX 解析により、生成した Magnetite 粒子は *M. thermophila* の細胞周辺に局在していることが示された。以上の結果は、*M. thermophila* は電気共生に必須な導電性粒子を自ら作り出している可能性を示唆する。

本研究では、高温メタン発酵をモデル生態系として使用し、異なる性質を持つ Ferrihydrite と Magnetite がメタン生成に及ぼす影響を調べた。高温条件下でも高濃度 Ferrihydrite によるメタン生成阻害がみられ、その原因はメタン生成アーキアの直接的な阻害によるものと考えられた。一方で導電性の Magnetite が高温メタン発酵において酢酸およびプロピオン酸の分解を促進させることを初めて示した。また *M. thermophila* が固体鉄の還元能、すなわち細胞外電子伝達能を有し、Ferrihydrite 還元に伴う Magnetite 生成を行うことがわかった。以上の結果は、酸化鉄がメタン生成に及ぼす影響、また、高温メタン発酵の安定化・効率化にも繋がる知見である。

以上により、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。