

余裕深度処分調査坑周辺における微生物群集解析

背景

青森県六ヶ所村における低レベル放射性廃棄物の次期埋設処分では、安全性確保の観点から、地下 50～100m程度の余裕深度処分が計画されている。一方、近年の地下環境における微生物生態に関する研究の進展に伴い、地下岩盤の酸化還元状態など放射性廃棄物処分システムのバリア性能に及ぼす微生物影響に関する関心が高まっている。そのため、余裕深度処分事業においても、処分環境における微生物群集を明らかとし、それら微生物が処分システムに及ぼす影響を解明することが望まれている。しかしながら、埋設処分施設の候補岩盤中における微生物の存在に関する知見も乏しい現状にある。

目的

余裕深度処分調査坑の坑壁より岩石ブロック試料(4種類の軽石凝灰岩及び礫質砂岩、図1)を採取し、分子生物学的手法を用いて、岩石中の微生物群集を明らかにする。

主な成果

1. 岩石からの微生物 DNA 抽出方法の検討(表 1)

界面活性剤、タンパク消化酵素及び物理的破碎などを組み合わせた9種類の方法により、岩石試料中からの DNA 抽出を試みた。その結果、全ての岩石試料から 0.9～14.7 $\mu\text{g/g-wet rock}$ の DNA が抽出され、岩石中における微生物の存在が明らかとなった。また、抽出効率を比較検討した結果、主に界面活性剤による細胞溶解処理を行う市販キット(MO BIO 製)とビーズ攪拌による破碎装置を組み合わせた方法を用いた場合に、岩石からの微生物 DNA 回収率及び純度ともに最も良好な結果が得られた。

2. 岩石中の微生物群集解析(図 2)

抽出した DNA を用いて、ランダムクローニング法による微生物群集解析を行った結果、以下のことが明らかとなった。

(1) 岩石から検出された微生物群集

系統分類学的に α 、 β 、 γ -proteobacteria を主体した 22-30 種類の微生物種が検出され、窒素固定、脱窒及び鉄還元能等を有する微生物の近縁種であることが明らかとなった。

(2) 岩石の酸化還元状態と微生物群集の関連性

採取した4種類の岩石試料から検出された微生物群集を系統分類別に分類し、岩石試料の酸化還元状態と比較した。その結果、還元状態の岩石では嫌気性細菌の割合が高く、酸化状態の岩石では割合が低い傾向が認められた。そのため、微生物群集と岩石の酸化還元状態には、相関があることが示唆された。

今後の展開

遺伝子解析のみならず、微生物の生理活性などを測定することにより、岩盤の酸化還元状態に及ぼす微生物の影響を明らかとする。

主 担 当 者 環境科学研究所 バイオテクノロジー領域 特別契約研究員 吉田 直樹 (2007年3月退職)

関連報告書「低レベル放射性廃棄物の余裕深度処分調査坑周辺における微生物群集解析」

電力中央研究所報告: V06022

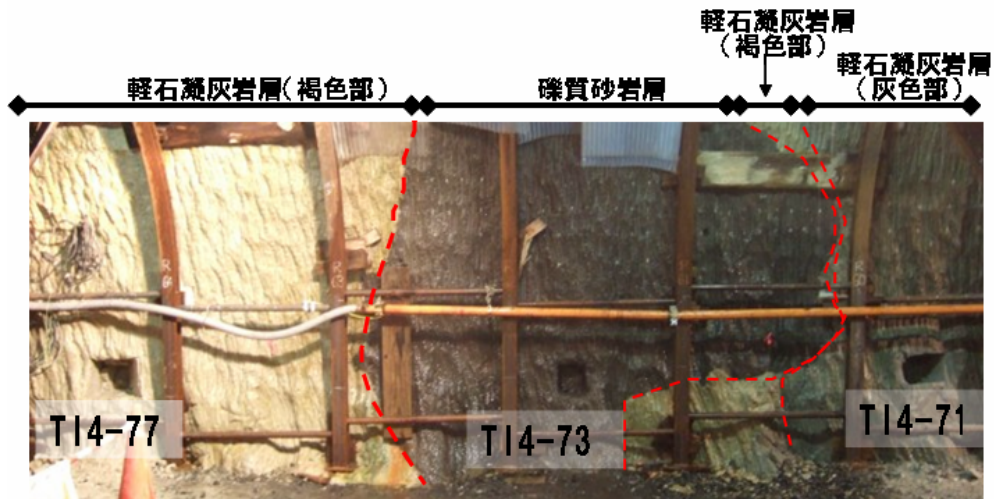


図1 岩石ブロック試料採取位置

※T14-78は反対側坑壁(左側)から採取した

表1 岩石からの微生物 DNA の抽出方法の検討

	抽出作業							抽出ゲノムDNA収量 (ug/g wet rock)			
	化学処理			生化学処理		物理処理		T17-71	T17-73	T17-77	T17-78
	SDS*1	塩化ベンジル	フェノール	プロテアーゼ	ビーズ	熱処理	ビードビーター				
市販キット	Mobio soil extract キット	○	-	-	-	○	-	2.2	3.6	5.6	4.5
	QハイオDNA抽出キット	○	-	-	-	○	-	2.4	2.5	4.3	3.3
	フナコシDNA抽出キット	○	-	-	-	○	-	0.9	1.6	1.6	2.8
	Beating法	○	-	-	-	○	-	6.8	9.1	11.3	6.6
文献参考	BzCl 法	○	○	○	-	○	○	3.1	5.7	12.1	5.4
	BzCl破砕法	○	○	-	-	○	○	8.1	9.4	14.7	11.9
	Protease法	○	-	-	○	○	○	9.6	11.6	12.2	10.1
	Surfactant 法	○	-	-	-	-	○	1.5	2.8	4.3	3.4
	BzCl熱処理法	○	○	○	-	○	○	7.7	8.9	5.4	3.9

*1:トテシル硫酸ナトリウム

黄色でハイライトしてあるものはDNA純度が $(Abs_{260nm}/Abs_{280nm}) > 1.8$ 、かつアガロースゲル電気泳動上に10kbp以上の断片を有するものを示す。

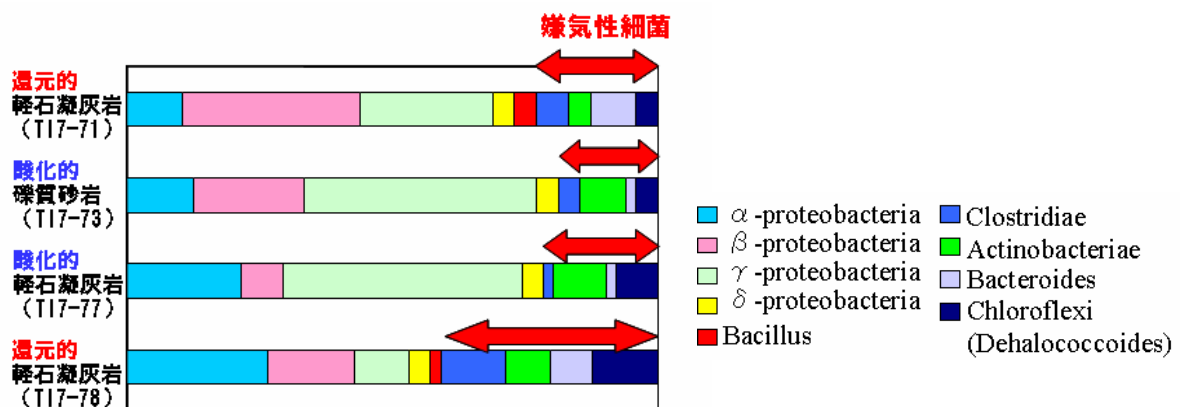


図2 岩石中の微生物種と酸化還元状態の関連性