



**研究目的** 近年、省エネルギー・廃棄物削減・CO<sub>2</sub>削減などの社会的要請から、活性汚泥を用いた廃水処理など、複数の微生物から成る「微生物複合系」を用いたバイオプロセスを、より高機能化することが求められている。そのためには、これまでブラックボックスとされていた微生物複合系の持つ機能をより詳細に解析することが必要であるが、複合系中の各微生物の動態を解析するツール、たとえば微生物複合系の個々の遺伝子の発現変化を網羅的に解析するバイオインフォマティクス手法などは、まだ整備されていない。本研究は、活性汚泥による廃水処理や土壌・地下水のバイオレメディエーションなどにおいて、微生物の遺伝子を指標とした微生物群集解析を研究手法に取り入れている研究者がグループとして研究交流・情報交換・共同研究を行い、微生物複合系の各微生物の動態変化を遺伝子を指標に網羅的に解析する、微生物複合系のバイオインフォマティクスによる解析手法を開発していくことを目的としている。

### 研究成果(1) 重金属を含む地下水の生物ろ過による上水処理プロセスにおける微生物群集の解析

微生物を利用して地下水の鉄・マンガンを除去する生物ろ過法を用いる浄水処理場において、浄化に参与する微生物群集の遺伝子塩基配列を解析し、鉄・マンガン酸化細菌やアンモニア酸化古細菌などの遺伝子を特異的に検出するプライマーを作製した。これを用いてリアルタイムPCRにより、ろ過槽の各細菌の動態変化を定量的に解析した。

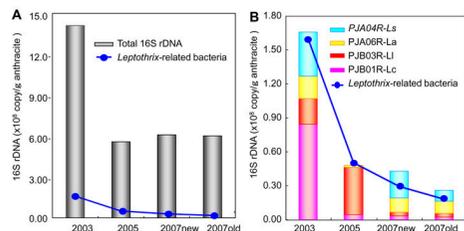


図1. リアルタイムPCRによる生物ろ過槽内の全バクテリアおよびFe・Mn酸化細菌*Leptothrix*属に近縁な細菌群の16SリボソームRNA遺伝子量の解析。(A)全バクテリア及び*Leptothrix*属近縁細菌群全体、(B)生物ろ過槽から検出された*Leptothrix*属近縁の4種類の細菌の動態変化

### 今後の課題

従来のPCR-クローニング解析では、「網羅的」な解析を行うのに十分な量の遺伝子情報を得られていない



次世代シーケンス技術を用いたメタゲノム解析による遺伝子情報の収集および、リアルタイムPCR用プライマーの設計の効率化

### 研究成果(2) 膜分離活性汚泥法(MBR)によるアンモニア含有廃水処理プロセスにおける微生物群集の解析

アンモニア含有廃水を処理する膜分離活性汚泥法(MBR)の装置を運転し、得られた処理水の水質を経時的に分析した。また同時にアンモニア除去に参与するアンモニア酸化細菌(AOB)および亜硝酸酸化細菌(NOB)の遺伝子数をリアルタイムPCRで測定し、MBR装置内の各細菌の動態変化を定量的に解析した。

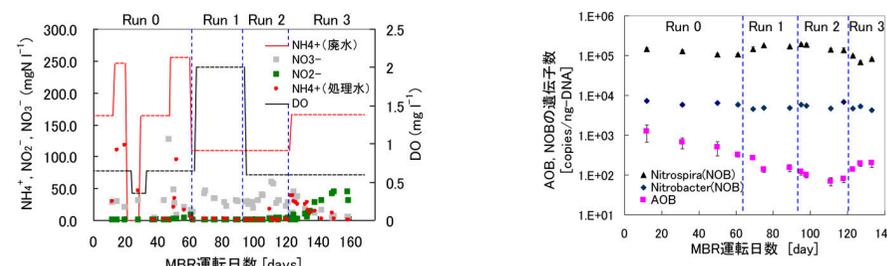


図3. 廃水中のNH<sub>4</sub><sup>+</sup>濃度と硝化槽の溶存酸素(DO)濃度の制御値、および処理水中のNH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の各濃度。

図4. リアルタイムPCRによる硝化槽内のAOBおよびNOB (*Nitrospira*, *Nitrobacter*) 遺伝子量の解析。硝化槽から経時的に採取した活性汚泥からDNAを抽出して解析した。

### 研究成果の発表等

- 国際学会発表: Suzuki, I., Sahabi, D.M., Takeda M., Koizumi, J.-I. *Asia Pacific Biochem. Eng. Conf. (APBioChEC '09)*, 発表予定 (2009).
- 総説・解説: 鈴木市郎, 武田稔, 小泉淳一. *生物工学会誌*, 86:605-607 (2008).
- 論文: Nittami, T., Magura, T., Imai, Y., Matsumoto, K., *J. Biosci. Bioeng.* 108: 394-399 (2009).
- 新田見匡, 今井裕子, 中村一穂, 松本幹治. *水環境学会誌*, 31: 269-274 (2008).
- 招待講演: 鈴木市郎. *第60回日本生物工学会大会講演要旨集*, p.37 (2008).
- 国内学会発表: 村山壮史, 鈴木市郎, 武田稔, 小泉淳一. *第25回日本微生物生態学会*, 発表予定 (2009).
- 佐藤経久, 笠井翔太, 村山壮史, 鈴木市郎, 武田稔, 小泉淳一. *第24回日本微生物生態学会講演要旨集*, p.78 (2008).
- 新田見匡, 大竹弘晃, 細貝雄也, 中村一穂, 松本幹治. *第45回環境工学研究フォーラム講演集*, pp. 29-31 (2008).