

都市下水処理場の活性汚泥に生息する微生物ダークマターの機能に迫る

研究者所属・職名：先進理工系科学研究科・准教授

ふりがな きんだいち ともりの

氏名：金田一 智規

主な採択課題：

- [基盤研究（B）「活性汚泥内に存在する微生物ダークマター-CPR細菌群の代謝機能の解明と分離培養」（2020-2023）](#)
- [基盤研究（B）「新規分離培養戦略で実現する微生物ダークマターの獲得」（2016-2018）](#)
- [挑戦的萌芽研究「門レベルの系統群に分類される未培養環境微生物の分離培養ストラテジー」（2014-2015）](#)

分野：土木環境システム、環境負荷低減技術

キーワード：活性汚泥、微生物ダークマター、CPR細菌群、環境微生物、分離培養

課題

● なぜこの研究をおこなったのか？（研究の背景・目的）

下水処理場で生活排水の浄化に使われている活性汚泥は、多種多様な微生物から構成される人工複合微生物系である。活性汚泥を用いた排水処理は100年以上の実績があり、水環境の保全に貢献しているが、処理を担う細菌の85%以上は単離されていない（学名記載のない）細菌群であり、代謝機能が未解明であることから、宇宙を占める暗黒物質になぞらえて「微生物ダークマター」と呼ばれている。活性汚泥には、門レベルの系統分類群を構成するCPR（Candidate Phyla Radiation）細菌群（図1）が無視できない割合で存在している。

本研究では活性汚泥内のCPR細菌群の代謝機能の解明し、さらには集積培養およびその後の分離培養を試みる。

● 研究するにあたっての苦労や工夫（研究の手法）

CPR細菌群は培養が困難な微生物であるため、培養を介さずに解析が可能な以下の手法を組み合わせる。

- CPR細菌群の構成比を把握するための16S rRNA遺伝子に基づく系統解析と可視化するためのFISH法
- 増殖可能な有機物を特定するためのメタゲノム解析および放射性標識基質をトレーサーとしたMAR-FISH法
- 微生物の高濃度保持が可能なバイリアクターによる集積培養と従来の単離手法とは一線を画す新規分離培養

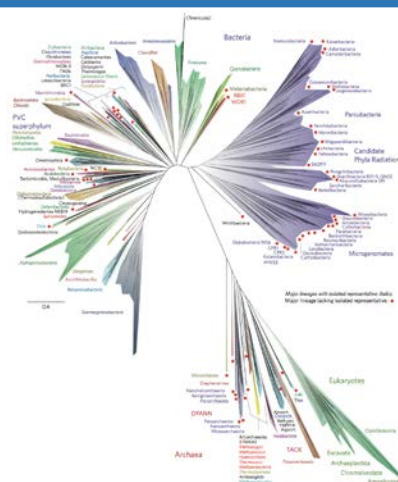


図1 全生物の系統樹¹⁾
右側紫色の系統がCPR細菌群

¹⁾ Hug et al., *Nature Microbiol.* 2016

都市下水処理場の活性汚泥に生息する微生物ダークマターの機能に迫る

研究成果

● どんな成果がでたか？どんな発見があったか？

本研究で対象とした活性汚泥内の微生物の構成比からは少なくとも3つのCPR細菌群（Parcubacteria, Saccharibacteria, Gracilibacteria）が存在し、無視できない割合（2-11%）を占めていた（図2）。そこでこれらのCPR細菌群を可視化するために蛍光プローブを設計した。FISH法による顕微鏡観察結果の一例を図3に示す。図3Aは3つのCPR細菌群のうちのGracilibacteria（図中の黄色）の観察結果であり、世界で初めて可視化に成功した²⁾。図3Bは糸状性を示すSaccharibacteria（図中の白色または紫色）の観察結果であり、様々な太さの細菌が確認されたことから、少なくとも数種類のSaccharibacteriaが活性汚泥に存在することがわかった³⁾。

放射同位元素で標識された有機化合物をトレーサーとしたMAR-FISH法を活性汚泥に適用したところ、Saccharibacteriaは主に糖類を利用し、Gracilibacteriaはアミノ酸を主に利用して増殖していることが推察された。

Saccharibacteriaを対象に糖類を基質として集積培養を試みた。集積培養の評価に用いる定量PCR法において、Saccharibacteriaのみを標的とするプライマーセットを設計・最適化することができた⁴⁾。

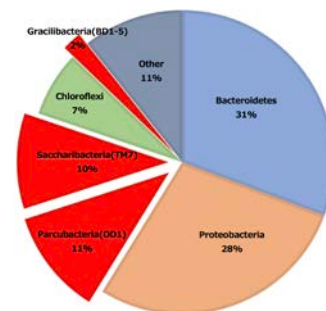


図2 活性汚泥内のCPR細菌群(赤)の構成比

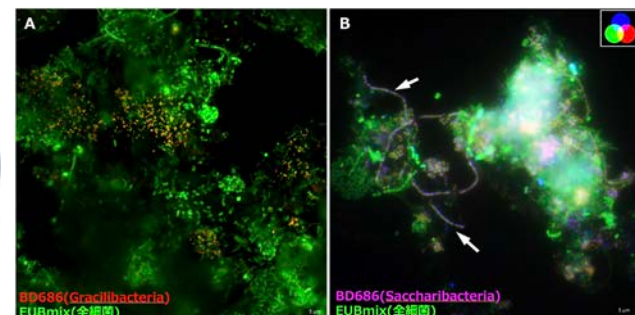


図3 FISH法による顕微鏡観察結果
AはGracilibacteria（黄色の小さい細菌）
BはSaccharibacteria（白矢印の糸状細菌）

2) 赤木・金田一ら, 第53回日本水環境学会年会, 2019
3) Kindaichi et al., *FEMS Microbiol. Ecol.* 2016
4) Takenaka, Kindaichi et al., *Materials* 2018

今後の展望

● 今後の展望・期待される効果

メタゲノム解析を併用することで、活性汚泥内に存在するSaccharibacteriaおよびGracilibacteriaの代謝機能を解明し、増殖可能な有機物を基質としたバイオリアクターにより集積培養を行う。ある程度集積が達成された際には、新規分離培養法（図4）を適用して単離を試みる。

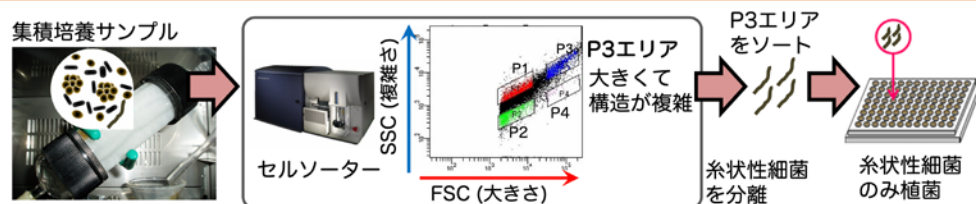


図4 セルソーターを用いた特定細菌の新規分離培養方法