

嫌気性バルキング現象に関与する門レベルで新規な糸状性細菌の解析

やまだたけし　せきぐちゆうじ　かまがたよういち　いまちひろゆき　しらいしこうじ　おねはしあきよし　はらだひでき
○山田剛史¹、関口勇地²、鎌形洋一²、井町寛之¹、白石皓二³、大橋晶良¹、原田秀樹¹

長岡技術科学大学環境システム工学系¹産業技術総合研究所生物機能工学研究部門²富士化水工業(株)³

目的 近年、嫌気性廃水処理プロセスの普及と多様な廃水種への適用範囲の拡大に伴い、現在まで認知されてこなかった問題が頻繁に確認されるようになってきた。その中で特に深刻な問題は、糸状性微生物の異常増殖による汚泥のバルキング化である。バルキング化した汚泥は、通常の汚泥と比較して浮上しやすく、汚泥の流出に伴うプロセスの破綻が懸念される。従って、バルキング現象の解明とその制御技術の確立は、プロセスを安定的に運転する上で極めて重要な課題であるといえる。我々は、嫌気性バルキング現象を明らかにするために、その原因となる糸状性微生物に対し分子生態学的、微生物分類学的、分子遺伝学的な解析を試みてきた。先の報告では、*Chloroflexi* 門に属する細菌がバルキング原因菌の一つであることを明らかにし、そのバルキング原因菌の分離とその生理学的特徴を報告した [1]。しかしながら、最近、食品加工工場からの糖系廃水を処理する嫌気性廃水処理プロセス内において、上記細菌とは形態学的に明らかに異なる微生物による汚泥のバルキング化が観察された。本報告では、そのバルキング化した汚泥を対象とし、そのバルキング原因微生物の特定と分子遺伝学的同定、及びその微生物の特異的検出技術の確立を行った。

実験方法 嫌気性バルキング汚泥に存在する微生物の解析では、各種光学及び電子顕微鏡による形態観察、16S rRNA 遺伝子に基づくクローンライブリ法による分子遺伝学的同定、FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) 法による特異的検出を行った。糸状性微生物を特異的に検出する DNA プローブの設計は、得られたクローン配列を元にし、ARB プログラム (<http://www.arb-home.de/>) を用いて行った。

結果と考察 バルキング化した汚泥を顕微鏡観察したところ、その大部分が比較的太い糸状性微生物によって構成されていた。この形態は、今まで知られている *Chloroflexi* 門細菌とは明らかに異なっていた。そこで、この糸状性微生物を分子遺伝学的に同定するために、16S rRNA 遺伝子に基づいたバルキング汚泥内微生物のクローン解析を行った。その結果、最も高頻度に検出されたクローン(30 クローン中 27 クローン)は、分子系統的にどの門にも属さない極めて新規な細菌由来の塩基配列であった。得られた塩基配列が、バルキング汚泥に優占的に存在する糸状性微生物由来のものであるかを確かめるため、この塩基配列に特異的な DNA プローブを作成しバルキング汚泥に対して FISH 法を適用した。その結果、本プローブは、バルキング汚泥を構成する糸状性細菌のみを特異的に検出することが判明した。以上のことから、本糸状性細菌は、今まで全く分離・培養されたことのない、門レベルで未知な細菌であることが明らかとなった。

[1] Sekiguchi et al. *Appl. Environ. Microbiol.* (2001) 67 5740-5749

tyamada@stn.nagaokaut.ac.jp (山田剛史)