

B-22

Micromanipulation を用いた活性汚泥中のポリヒドロキシアルカノエイト(PHA)

蓄積細菌同定の試み

おしき まもる おくぬき すぐる おぬき もとはる さとう ひろやす みの たかし かかわはらさき まもる かながわ たかひろ
 ○押木 守¹、奥貫 優²、小貫 元治¹、佐藤 弘泰¹、味埜 俊¹、川原崎 守³、金川 貴博³

¹東京大・新領域・環境学、²筑波大・生命環境・生物機能、³産総研・生物機能工学

Screening of Polyhydroxyalkanoate(PHA)-Accumulating Bacteria in Activated Sludge by Micromanipulation

Mamoru Oshiki¹, Suguru Okunuki², Motoharu Onuki¹, Hiroyasu Satoh¹, Takashi Mino¹,

Mamoru Kawaharasaki³, Takahiro Kanagawa³

¹Inst. Environ. Studies, the Univ. of Tokyo, ²Grad. Sch. of Life and Environ. Sci., Tsukuba Univ.

³Inst. for Biological Resources and Functions, Natl Inst. of Adv. Ind. Sci. Technol.(AIST)

Key words: PHA-accumulating organisms, activated sludge, micromanipulation, phylogenetic analysis

【目的】生物学的リン除去反応を担うポリリン酸蓄積細菌や、その競合細菌とされるグリコーゲン蓄積細菌に属する細菌種の全体像は未だ把握されていない。生物学的リン除去プロセスにおいてしばしば問題となるリン除去能が突然低下するといった問題を解決する糸口が、生物学的リン除去反応に寄与する微生物の知見を充実させることから得られる可能性がある。我々はポリリン酸蓄積細菌や、グリコーゲン蓄積細菌の有する PHA 蓄積能に注目し、生物学的リン除去プロセス内に存在する PHA 蓄積細菌を同定し、未知のポリリン酸蓄積細菌やグリコーゲン蓄積細菌を同定することを試みた。

【方法】嫌気好気法で運転されている実験室規模リアクターおよび、都内の下水処理場 3 箇所から活性汚泥を採取し、0.1% Nile Blue A 染色液による PHA 染色後、超音波分散した。顕微鏡観察下で Nile blue A 陽性細菌のみから構成される微小フロックを Micromanipulation により分取し、16S rRNA 遺伝子を標的とするプライマー 27f-1500r を用いた遺伝子増幅を行い、得られた遺伝子断片より系統解析を行った。

【結果および考察】Micromanipulation により分取した微小フロック 77 個の内、16S rRNA 遺伝子断片が得られた微小フロックは計 23 個であった。系統解析の結果から得られた 16S rRNA 遺伝子断片はそれぞれ α 、 β 、 γ -Proteobacteria、Cytophaga-Flexibacter-Bacteroidetes、Gemmatimonadetes、Actinobacteria、Firmicutes グループに属することが明らかとなった。興味深いことに、生物学的リン除去プロセスから頻繁に検出され、かつ PHA 蓄積能を有することが報告されている *Candidatus 'Accumulibacter phosphatis'* や *Candidatus 'Competibacter phosphatis'* に近縁な配列は検出されなかった。検出された細菌種は新規のポリリン酸蓄積細菌、あるいはグリコーゲン蓄積細菌である可能性がある。

E-mail: oshiki@env.t.u-tokyo.ac.jp