

論文内容の要旨

氏名 黒田 恭平

嫌気性廃水処理法は様々な廃水種に適用可能な優れた技術である。嫌気性廃水処理では、異なる微生物群が複雑な有機物を段階的に分解していくため、その保持汚泥中には好気性廃水処理汚泥と比較して複雑な微生物群集構造が形成される。16S rRNA 遺伝子情報に基づいた廃水処理汚泥の微生物群集構造解析は、廃水処理システム中の微生物群集構造を理解するために広く利用されており、近年では、次世代 DNA シークエンサーと呼ばれるハイスループット DNA シークエンサーが開発され、一回で大量の遺伝子情報が得られるようになった。本研究では、次世代 DNA シークエンサーを利用することにより、様々な異なる嫌気性廃水処理反応槽保持汚泥の群集構造を比較解析することで、機能未知な微生物の生態や嫌気性汚泥形成微生物に関する包括的知見を収集することを目的とした。

第 3 章では、嫌気性廃水処理汚泥中に存在するバクテリアの門レベルの未培養系統分類群に関する基礎的知見の収集を目的とし、17 種類の廃水処理槽から 54 種類の廃水処理汚泥を採取し、次世代 DNA シークエンサーを利用した 16S rRNA 遺伝子解析により未培養系統分類群の出現パターンを解析した。各種廃水処理汚泥より合計 1,041,539 リードの 16S rRNA 遺伝子配列を解析した結果、廃水処理汚泥中の門レベルの未培養系統分類群の出現パターンからこれら系統分類群が存在する環境条件を推定した。

第 4 章では、嫌気性廃水処理汚泥中に存在するアーキアの既知・未培養系統分類群に関する生態学的知見の収集を目的として、次世代 DNA シークエンサーのためのアーキア特異的なプライマーセットを用意し、12 種類の嫌気性もしくは無酸素性の廃水処理槽の微生物群集構造比較解析を行った。無酸素条件下の窒素／リン除去汚泥中からは Deep Sea Hydrothermal Vent Group 6 と呼ばれる主に深海などの極限環境下において検出されるアーキアが優占して検出された (85.1%)。本章では、アーキア特異的な微生物群集構造解析を高解像度に行うことで、まだ見ぬアーキアの多様性を明らかにすることができた。

第 5 章では、嫌気性廃水処理槽の連続運転に伴う微生物群集構造の変化を評価し、廃水処理に関与する微生物を推定するために、糖蜜廃水を処理する高温 (55°C) UASB 反応槽、中温 (35°C) UASB 反応槽および中温 (35°C) 下降流懸垂型スポンジ (DHS) 反応槽を組み合わせたシステムの連続処理実験と 16S rRNA 遺伝子情報に基づく微生物群集構造解析を行った。全 456 日間の連続処理実験の結果、高温 UASB 反応槽は最大 COD 容積負荷 42 kgCOD \cdot m⁻³ \cdot d⁻¹を許容し、この最大容積負荷条件の高温 UASB 反応槽では、酢酸酸化、酪酸酸化を担う *Thermacetogenium*, *Syntrophothermus* と水素資化性の *Methanothermobacter* とが優占して検出された。このことから、酢酸からのメタン生成はこれらの微生物の共生により、酢酸酸化・水素生成経路で進行していたことが示唆された。

第 6 章では、300 個の個々の UASB 反応槽保持汚泥の 16S rRNA 遺伝子解析により、テレフタル酸含有廃水 (PTA) 廃水を処理する UASB 反応槽内グラニュール汚泥の “heterogeneity” を評価した (Single-granule-level アプローチ)。300 個のグラニュール汚泥は実規模 PTA 廃水処理 UASB 反応器 E (120 個：反応器高さ下部 60 個、反応器高さ上部

60 個), 実規模 PTA 廃水処理 UASB 反応器 F (120 個 : 反応器高さ下部 60 個, 反応器高さ上部 60 個) とラボスケール PTA 廃水処理 UASB 反応器 (60 個) から採取した。各サンプリング箇所からは, 汚泥サイズ直径 1-2 mm, 2-3 mm, 3-4 mm のグラニュール汚泥をそれぞれ 20 個ずつ採取した。UASB 反応器 E と F は運転条件・有機物処理性能がほとんど同じであった。結果, UASB 反応器 E と F では, principal coordinate analysis with weighted UniFrac により, それぞれ 2 種類のグラニュール汚泥の存在が確認された。300 個のグラニュール微生物群集構造データを基にして, PTA 廃水処理のコア微生物群, 異なる汚泥サイズにおける生物多様性, メタン生成アーキアと栄養共生細菌の基質特異的なパートナーシップを示唆する知見を得ることができた。これまで UASB 反応槽内の 16S rRNA 遺伝子解析は”平均化”された微生物群集を評価していたが, 本章の結果により異なる微生物群集構造を持つ汚泥が UASB 反応槽内に存在している可能性を示した。

本研究では, 次世代 DNA シークエンサーを利用することにより, 様々な異なる嫌気性廃水処理反応槽保持汚泥の群集構造を比較解析し, 未培養微生物群の新たな生態学的知見や嫌気性実廃水処理槽の微生物動態変化, 嫌気性廃水処理槽内保持汚泥の”heterogeneity”を評価することが可能であった。これらの知見は, 嫌気性廃水処理システムのブラックボックスを解明するための情報蓄積への貢献だけに留まらず, 嫌気性廃水処理槽の微生物群集構造解析方法に関する新たなアプローチを示すことができた。