

P-013

活性汚泥内に存在する Candidate division 細菌群の FISH 法を用いた可視化

○西村 恭平¹, 金田一 智規¹, 大橋 晶良¹, 尾崎 則篤¹, 青井 義輝²

¹広島大・院工, ²広島大・サステナセンター

E-mail: m160082@hiroshima-u.ac.jp

【目的】 広島県のある下水処理場の活性汚泥に対して次世代シーケンサーによる微生物群集構造解析を行ったところ、Candidate division 細菌群が数種類、一定量存在することが明らかになった。そこで本研究では上記下水処理場の活性汚泥内で存在割合が比較的高かった Candidate division SR1、OD1、BD1-5 に着目して、詳細な系統分類、subdivision の提案、新たに設計した FISH による活性汚泥内 in situ の可視化を行い、他の細菌との共存関係を明らかにすることを目的とする。【方法】 着目した 3 つの細菌群に対して、16S rRNA 遺伝子の増幅、クローニング、系統樹の作成を行った。その後 ARB ソフトを用いて FISH プロブの設計を行った。設計できたそれぞれの FISH プロブに対して、clone-FISH 法を用いて最適ホルムアミド濃度を算出した。最適ホルムアミド濃度で活性汚泥の FISH 観察を行い、プロブの検出範囲に応じて二重染色を行った。【結果】 SR1 と BD1-5 の細菌群は、他の活性汚泥から検出されたクローンとその近縁種を網羅するような FISH プロブを設計できた。SR1 門はいくつかのプロブの候補のうちアクセシビリティが高く、ハイブリタイゼーション効率が 1 に近く、推定ホルムアミド濃度も 20% 前後でカバー率も 100% に近い値となった SR-929、SR-393 プロブを用いることで、活性汚泥の中の SR1 細菌群を可視化できた。BD1-5 門も同様に、BD-686、BD-95 の二つのプロブを用いることで活性汚泥内の BD1-5 を可視化することに成功した。【展望】 それぞれの細菌群に特異的な FISH プロブを用いて MAR ? FISH 法を行い、基質利用特性を把握し、集積培養を行う。