

## 水資源と水環境に関する研究

### Researches on Water Resources and Environments



准教授 久保田 健吾  
Associate Professor  
Kengo Kubota



教授 李玉友  
Professor (協力教員)  
Yu-You Li



教授 佐野 大輔  
Professor  
Daisuke Sano



准教授 小森 大輔  
Associate Professor  
Daisuke Komori

水資源システム学分野では、世界の水問題を解決することを目指し、以下の研究に取り組んでいる。

- 1) 脱炭素型下水処理システムの開発
- 2) 下水疫学的アプローチによる COVID-19 早期検知システムの構築
- 3) 気候変動と土地利用変化が自然環境に与える影響評価手法の開発
- 4) 地球温暖化と林業の衰退など森林の荒廃による流木発生メカニズムの解明
- 5) 環境バイオテクノロジーを用いた排水・廃棄物処理と微生物群集の解明

Our research topics in 2022 were as follow:

- 1) Development of a self-sustainable sewage treatment system
- 2) Development of an early warning system for COVID-19 centered on wastewater-based epidemiology
- 3) Development of evaluation approaches for the effect of climate change and land utilization change on natural environments
- 4) Mechanisms of flood wood generation caused by global warming and forest industry declination
- 5) Waste and wastewater treatment using environmental biotechnologies and microbial community analysis

### 下水処理活性汚泥の微生物群集の解明にむけて

生物学的廃水処理は、下水道システムにおける中核技術の1つである。微生物によって駆動される処理プロセスにおいて、微生物群の理解は限定的である。原核生物の解析は古くは分離・培養を伴っていたが、微生物の大部分は人為的な培養が難しく、活性汚泥についても1-15%程度しか培養できないと言われていた。そこで培養に依らない微生物の解析方法として分子生物学的手法が導入された。これにより、従来ブラックボックスであった生物学的処理プロセスの解明が進んでいる。本研究室では、日本の下水処理活性汚泥の微生物群集構造およびコア微生物群を明らかにするために、原核生物の16S rRNA 遺伝子を標的として解析をおこなった。その結果、下水処理活性汚泥には400-1,100の属、600-1,500の種が存在していると推察された。門レベルの微生物群集構造ではProteobacteria (Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Deltaproteobacteriaが主)とBacteroidetesが優占していることを明らかにした。この他に、Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi, Firmicutes, Nitrospirae, Patescibacteriaが平均して1%以上存在していた。またコア微生物群として全サンプルに共通して見られる属レベルのOTUは32であり、相対存在率の約25%を占めた。コア微生物群を世界各地の活性汚泥と比較したところ、共通性が一部見られるものの、多くは日本の下水処理活性汚泥に独自なものであることがわかった。

また活性汚泥内に存在するPatescibacteriaについてより詳細な研究を行った。Patescibacteriaの細胞サイズが小さいという特徴を活かし、活性汚泥サンプルを孔径0.22 μmで濾過してから解析することで、Patescibacteriaに属する微生物の相対存在率を10倍以上にすることができた。活性汚泥中に見られる

### Understanding activated sludge microbiome

Biological wastewater treatment is one of the core technologies in sewer systems. Treatment processes are driven by microorganisms, but our understanding of the sewage-treating microbiome is limited. Analysis of prokaryotes has traditionally involved isolation and cultivation, but the majority of microorganisms are in fact difficult to cultivate, and it is said that only 1-15% of microorganisms in activated sludge can be cultured. Molecular biological techniques have been introduced as a culture-independent approach for analyzing environmental microorganisms. Our laboratory investigated the microbial community and core microorganisms in activated sludge in Japanese sewage treatment plants. We estimated that there are 400-1,100 genera and 600-1,500 species in activated sludge. The community structure at the phylum level revealed that Proteobacteria (Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria, and Deltaproteobacteria) and Bacteroidetes were dominant. In addition, Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi, Firmicutes, Nitrospirae, and Patescibacteria were present at an average rate of more than 1%. There were 32 genus-level operational taxonomic units common to all samples as core microbiota, accounting for approximately 25% of the relative abundance. Some members of the core microorganisms in Japanese activated sludge were identical to those found from activated sludge in other countries, but most of the core microorganisms were unique to Japanese activated sludge.

We also conducted detailed investigation of Patescibacteria present in activated sludge. By taking an advantage of the small cell size of Patescibacteria, we filtered activated sludge samples through a 0.45-μm pore size filter before analysis. It was found that the relative abundance of Patescibacteria increased more than 10-fold. The number of operational taxonomic units (97% sequence identity) of Patescibacteria found in activated sludge increased about six-fold after size-fractionation treatment, revealing the greater diversity of Patescibacteria in activated

PatescibacteriaのOperational Taxonomic Unit (97% 相同性)の数はサイズ分画処理を行うことで約6倍になり、これまで見過ごされていた活性汚泥中におけるPatescibacteriaの多種多様性を明らかにすることができた。またメタゲノム解析を行うことで、Patescibacteriaに属する微生物のbinsを回収することができ、Patescibacteriaのゲノムアプローチによる生理生態解明に寄与する基礎的な知見が得られた。

sludge, which had been overlooked so far. The metagenomic analysis also revealed the diversity of Patescibacteria in activated sludge. We were able to recover bins of Patescibacteria, and obtained basic knowledge that may contribute to the elucidation of the physiology and ecology of Patescibacteria in an activated sludge ecosystem.



Fig.1 Activated sludge bioprocess in a sewage treatment plant.

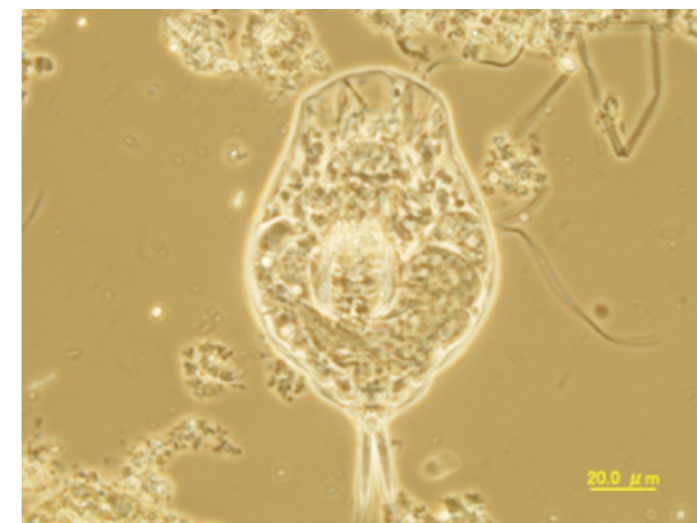


Fig.2 Microorganisms in activated sludge.