

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：82626

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K22939

研究課題名(和文) バクテリアを食べるバクテリアを用いた生態系再編成：生態系機能制御への挑戦

研究課題名(英文) Reorganization of microbial community using predatory bacteria

研究代表者

佐藤 由也 (SATO, Yuya)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・エネルギー・環境領域・主任研究員

研究者番号：80711291

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では水処理微生物群集である活性汚泥をモデル微生物生態系として用い、捕食性細菌を利用して、人為的に微生物組成を改変することを試みた。複数の捕食性細菌およびその近縁種を菌株保存機関より取得し、複数の捕食性細菌候補を活性汚泥から取得した。それらを活性汚泥に添加して培養したところ、種によって活性汚泥に与える影響は大きく異なり、活性汚泥の微生物組成に影響がないものや、捕食されるターゲット細菌の存在量を大きく減少させるものなどが見られた。また、微生物組成だけでなく、活性汚泥の微生物濃度を減少させる効果も見られた。今回は数種類のみ試行したが、今後はより多くの細菌を使って同様の研究を進めたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

微生物は地球上のいたるところに存在し、様々な化学反応を介して、環境変化や物質循環を促している。病気や腐敗のなど負の側面もあるが、廃水処理や発酵食品では微生物活性が有効利用されており、近年では動植物の健康維持に共生細菌の働きが重要であることもわかってきた。微生物は自然環境では単独で存在することは稀で、多種と混在して微生物コミュニティを形成している。そして、コミュニティを構成する微生物の組成(どのような微生物がどれだけいるか)は、その微生物コミュニティの機能と密接に関係する。微生物コミュニティ全体の微生物組成を人為的に改変しようとする本研究は、挑戦的であり、学術的・社会的にも意義あるものである。

研究成果の概要(英文)：In this study, we used activated sludge, a microbial community used for wastewater treatment, as a model microbial ecosystem and attempted to artificially reorganize its microbial composition using predatory bacteria. Several predatory bacteria and their relatives were obtained from strain repositories, and several candidate predatory bacteria were obtained from activated sludge. These bacteria were added to activated sludge and cultured, showing that their effects on the activated sludge largely differed depending on the species; with some having no effect on the microbial composition and others substantially reducing the amount of prey bacteria. In addition to the microbial composition, some also reduced the microbial concentration in the activated sludge. Although only a few types of bacteria were tested in this study, we would conduct similar studies with more bacteria in the future.

研究分野：微生物生態学

キーワード：捕食性細菌 種間相互作用 活性汚泥

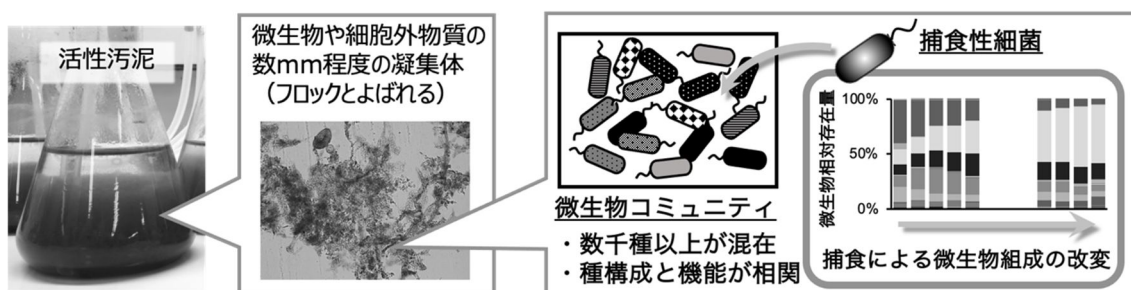
### 1. 研究開始当初の背景

微生物は地球上のいたるところに存在し、様々な化学反応を介して、環境変化や物質循環を促している。病気や腐敗の原因となるなど負の側面もあるが、廃水処理や発酵食品では微生物活性が有効利用されており、近年では動植物の健康維持に共生細菌の働きが重要であることもわかってきた。微生物は自然環境では単独で存在することは稀で、多種と混在して微生物コミュニティを形成している。そして、環境中の微生物活性は個々の微生物代謝反応の総和、つまり、微生物コミュニティ単位で機能が発揮される。そのため、コミュニティを構成する微生物の組成(どのような微生物がどれだけいるか)は、その微生物コミュニティの機能と密接に関係する。このことは、近年多く行われている環境メタゲノム解析研究によって裏付けられてきた。

一方で、微生物の存在量は周囲の環境変化に応じて敏感に変化する。そのため、微生物コミュニティにおける微生物組成は変化しやすく、その制御は困難である。しかし、環境中の微生物生態系や、水処理装置内の微生物群の機能を制御するためには、微生物コミュニティ全体の微生物組成をコントロールできることが望ましい。

### 2. 研究の目的

環境中の微生物コミュニティでは、系内の微生物群が周囲の環境変化に応じて存在量を変えるため、その微生物組成を制御することは難しい。例えば、培養する温度や pH などを変えることで微生物組成を変化させることはできるはずだが、それではほぼ全ての微生物が影響を受けてしまい、特定の微生物の存在量を増減させることは難しい。栄養源や生育抑制物質を添加すれば、対象の微生物種をある程度限定できるかもしれないが、それでも多種の微生物が影響を受けると考えられる。一方で我々は、他の微生物を捕食する、捕食性細菌とよばれる微生物に着目した。捕食性細菌の中には非特異的に微生物を捕食するものもいれば、特定の微生物だけを捕食すると報告されている種も存在する。そこで本研究では、捕食性細菌を使って、微生物コミュニティの微生物組成を改変することを試行する。数千種以上の微生物で構成される、活性汚泥と呼ばれる水処理微生物コミュニティをモデル微生物生態系として用い、捕食性細菌を作用させることで、コミュニティ内の微生物組成の変化を試みる。



### 3. 研究の方法

捕食性細菌およびその近縁種として報告されている細菌株を、菌株保存機関より取得する。また、活性汚泥等の環境試料からも捕食性細菌候補の分離を試みる。取得もしくは分離した捕食性細菌およびその近縁種について、活性汚泥に添加して培養することで、活性汚泥の微生物組成への影響を評価する。微生物組成の変化は、次世代シーケンサーを用いた菌叢解析によって行う。

また、捕食性細菌等、外来微生物の活性汚泥内への定着性も評価する。定着性の評価は、対象微生物を活性汚泥に添加して培養し、顕微鏡観察もしくは次世代シーケンサーによる菌叢解析によって行う。

### 4. 研究成果

複数種の捕食性細菌および近縁種を菌株保存機関より取得した。また、活性汚泥の微生物細胞を栄養源として複数種の細菌を分離・取得した。

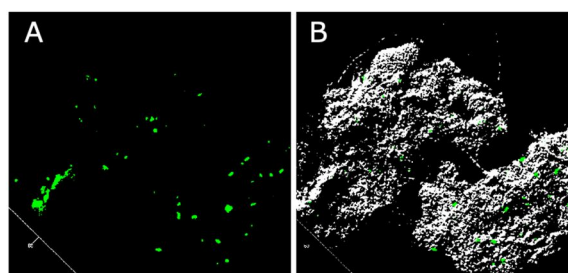
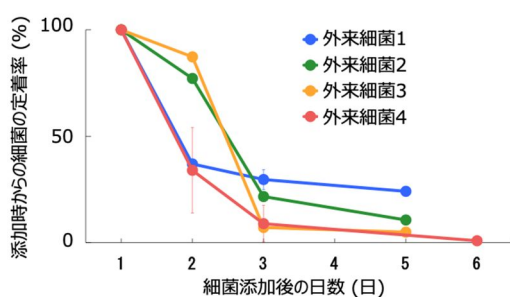
これらの捕食性細菌を活性汚泥に添加して培養したところ、添加する微生物の種類によって、活性汚泥に与える影響が大きく異なることがわかった。ある細菌を添加しても活性汚泥の微生物組成に変化はみられなかったが、別のある細菌を添加すると、捕食されるターゲットと思われる微生物の相対存在量が大きく減少することがわかった。また、いくつかの細菌については、添加することによって活性汚泥の微生物組成だけでなく、活性汚泥の微生物濃度を減少させる効果があることがわかった。

本事業では数種類の捕食性細菌および近縁種の効果について調べ、実際に対象となる微生物

コミュニティの微生物組成を変化させることができた。また、捕食されるターゲット微生物は、捕食性細菌の種類によっても異なる。今回は数種類のみ試行したが、これまでに数十種の捕食性細菌および近縁種が報告されているため、今後もより多くの細菌を使って同様の研究を進めていきたい。

なお、上記の実験で、外部から添加した外来の細菌は活性汚泥に長く定着することが難しいものが見られた。そこで、活性汚泥の定着性に着目して実験を行った。上記実験に用いた捕食性細菌およびその近縁種を含む外来細菌 4 種を活性汚泥に添加し、活性汚泥内に定着している存在量を経時的に評価した。その結果、やはり種によって定着性が高いものと低いものがあることがわかった。

そこで次に、定着性が高かった細菌については蛍光標識を行い、活性汚泥内にどのように局在しているかを調べた。その結果、定着性が高かった細菌は、ポピュレーションの一部が活性汚泥のフロック(微生物凝集体)内部に潜り込むように局在することがわかった。これによって定着性が高まっていると推察される。捕食性細菌が微生物コミュニティに及ぼす影響は、定着している期間にも関係すると考えられる。そのため、外来微生物の定着性は重要なファクターであり、今後も研究を進めていきたい。



A : 活性汚泥内に存在する外来微生物1  
B : 汚泥表面に存在する外来微生物1

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sato Yuya†, Zhao Yan-Jie†, Hori Tomoyuki, Aoyagi Tomo, Inaba Tomohiro, Aizawa Hidenobu, Ogata Atsushi, Habe Hiroshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Transition of microbial community structures after development of membrane fouling in membrane bioreactors (MBRs)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 AMB Express	6. 最初と最後の頁 18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13568-020-0959-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	青柳 智  (AOYAGI Tomo)  (10812761)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・エネルギー・環境領域・主任研究員   (82626)	
研究分担者	稲葉 知大  (INABA Tomohiro)  (90760439)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・エネルギー・環境領域・主任研究員   (82626)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------