

令和 2 年 7 月 6 日現在

機関番号：13904

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03333

研究課題名(和文)嫌気性廃水処理の新たな未知現象：複数種の微生物による嫌気性バルキングの理解と制御

研究課題名(英文) New unknown phenomena of anaerobic wastewater treatment : understanding and control of anaerobic bulking by multiple species of microorganisms

研究代表者

山田 剛史 (Yamada, Takeshi)

豊橋技術科学大学・工学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：90533422

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：Expanded granular sludge bedリアクターの普及や適用廃水種の拡大に伴って、グラニューク汚泥の突発的な流出(嫌気性バルキング)が報告されている。この問題を克服するためには、この問題に関与する原因菌を解明するとともに、その情報をもとにした制御技術の確立が必要不可欠である。本研究では、嫌気性バルキング原因菌の基質利用性を推定し、その分離培養に成功した。また、バルキングメカニズムを推定に必要なドラフトゲノムの構築にも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、Expanded granular sludge bed (EGSB) リアクターの問題となっていた嫌気性バルキング現象に焦点を当て、その制御方法を確立するため、バルキングメカニズムの解明に関する研究を試みた。嫌気性バルキングに関与する糸状性細菌は分離・培養が困難な難培養微生物であったが、本研究を通して分離とそのドラフトゲノムの解読に成功した。これらの成果は、EGSBリアクターの安定的な運転を実現する上で必要となる制御技術の確立に先鞭を付ける成果であり、その学術的・社会的意義は大きいと考えている。

研究成果の概要(英文)：A sudden outflow of granule sludge (anaerobic bulking) has been reported with the spread of expanded granular sludge bed reactors and the expansion of applied wastewater species. In order to overcome this problem, it is essential to elucidate the causative bacteria involved in this problem and establish control technology based on that information. In this study, we estimated the substrate utilization of causative bacteria for anaerobic bulking, and succeeded in the isolation of the causative bacteria. We also succeeded in constructing the draft genome required for estimating the bulking mechanism.

研究分野：廃水処理工学、微生物生態学

キーワード：EGSB 嫌気性バルキング アナエロリネア綱細菌 メタノサエタ属アーキア ドラフトゲノム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

嫌気性廃水処理は、廃水処理におけるエネルギー削減や廃水からのエネルギー生産(メタン回収)を同時に達成できる技術として広く知られている。とくに、Upflow anaerobic sludge blanket (UASB)リアクターや、UASBリアクターより高負荷運転が可能なExpanded granular sludge bed (EGSB)リアクターは、日本のみならず、世界的にも食品製造廃水などの中・高濃度有機性廃水処理の中核的な処理技術となった感がある。しかしながら、UASBやEGSBリアクターの普及や適用廃水種の拡大に伴い、長年にわたって、上述したリアクターを販売しているメーカーの運転実績でも経験のない問題が、リアクターの立ち上げ過程や、運転過程においてしばしば生じてきている。とくに深刻な問題として、ある種の微生物の異常増殖によって、UASBやEGSBリアクターに形成されたグラニュール汚泥の突発的な浮上・流出(嫌気性バルキング)が挙げられる。ひとたび、嫌気性バルキングが発生すると、廃水処理効率の低下を招き、最終的には処理プロセスを停止しなければならない事態が生じる。実際の廃水処理現場では、有機物負荷の操作、廃水処理システムの分割・統合により廃水成分の調整などの対応は可能ではあるが、そもそも、嫌気性バルキングの発生メカニズムはおろか原因菌すら同定ができていないため、安定的かつ即効性の高い対策が立てられずにいる。現時点では、グラニュール汚泥の総入れ替えや洗浄によって現状復帰を行っているが、それに伴う労力やコストの増加が大きな問題となっている。種々の食品製造企業でUASBやEGSBリアクターによる廃水処理を安定的に実現するには、嫌気性バルキング現象のメカニズムを解明し解決を図ることが必要である。

これまで申請者は、世界に先駆けて、(1)油揚げ製造過程で排出される高濃度有機性廃水を処理する実験室レベルの高温(55°C)UASBリアクターでの嫌気性バルキング現象のバルキング原因菌(アナエロリネア属糸状性細菌)と(2)異性化糖等製造過程で排出される有機性廃水を処理する実処理レベルの中温(37°C)UASBリアクターでの嫌気性バルキング現象のバルキング原因菌(KSB3門糸状性細菌)の生理・生態を明らかにしてきた。また、それらの微生物情報と廃水処理パラメーターをもとに、突発的な処理条件の変動(とくに糖成分の変動)が糸状性細菌の異常増殖を招き、嫌気性バルキングを引き起こすことを示した。また、近年、KSB3門糸状性細菌のゲノム情報が解読され、KSB3門糸状性細菌の分子機構の全容も明らかにされつつある。しかしながら、現時点において2種の嫌気性バルキング原因菌の情報が明らかされただけであり、広範囲に適用可能な対策には、嫌気性バルキングに関するさらなる情報の拡充が必要となっている。

2. 研究の目的

近年、EGSBリアクターでも、世界初の嫌気性バルキングの発生が確認されており、これまで研究した廃水と異なる処理プロセスからも生じている。現在、申請者は、これらのEGSBリアクターの嫌気性バルキング現象の解明に着手しており、従来のUASBリアクターで発見された単一種の微生物による嫌気性バルキングとは異なり、微生物機能の未知な複数の微生物群が関与していることを突き止めている。しかしながら、複数の未知微生物が引き起こす嫌気性バルキング現象を俯瞰的に評価する方法がなく、嫌気性バルキングの対策技術の提案はおろか、嫌気性バルキングのメカニズムの理解に大きな支障をきたしている。そこで本研究では、嫌気性バルキング原因菌の生理・生態情報を明らかにし、流入廃水のどの成分の変化が引き金になったのかを探る。その後、複合微生物群中の個々の原因菌のゲノム再構築とトランスクリプトーム解析を軸とした新たな方法論を用いて、得られた遺伝子ビックデータを基に、複数のバルキング原因菌が関与する嫌気性バルキング現象の真実に迫る。最終的には、これらの解析結果をもとに、UASBやEGSBにまたがる広範囲な制御技術体系の構築を目指す。

3. 研究の方法

(1) 嫌気性バルキング原因菌の基質利用情報の獲得

食品系有機性廃水を処理する実規模のEGSBリアクターより、嫌気性バルキング汚泥と採取時期の違う健全なグラニュール汚泥をそれぞれ採取した。それぞれの汚泥よりDNAを抽出した後、16S rRNA遺伝子アンプリコン解析および16S rRNA遺伝子クローニング解析を行った。塩基配列情報を基にした既存の分子系統群への帰属は、Quantitative Insights Into Microbial Ecologyパイプラインを用いて行った。バルキング原因微生物の形態観察を行うため、バルキング原因微生物の16S rRNAに特異的なDNAプローブを用いた*in situ* DNA-Hybridization chain reaction (HCR)法を行った。バルキング原因微生物の形態観察は、共焦点レーザー顕微鏡により行った。さらに、嫌気性バルキング汚泥および健全なグラニュール汚泥内微生物の存在比をもとに、スピアマンの順位相関係数を算出した。嫌気性バルキング汚泥構成微生物における統計的に有意な相関関係は、Cytoscapeソフトウェアにより図示した。バルキング原因菌の健全なグラニュール汚泥における空間分布は、Fluorescence *in situ* hybridization (FISH)法を用いて評価した。

(2) 嫌気性バルキング原因菌の分離・培養

集積培養するために用いた植種源は、EGSBリアクターの立ち上げ期間と運転期間において発生した嫌気性バルキング汚泥をそれぞれ用いた。バルキング原因菌の集積培養系は、バルキング原因菌のグラニュール汚泥における空間的位置から推定される基質利用性とバルキング原因菌に近縁な既存種の情報をもとに、グルコース 10 mM と 0.1 % (v/v) 酵母抽出液を用いて行った。

集積培養系では、既存種が耐性を持つアンピシリン（最終濃度 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ）を加えた限界希釈培養法を行った。集積培養は、静置条件において 37°C において 2 週間行った。集積培養系内の微生物の分離は、ロールチューブ法を用いて行った。ロールチューブは、 37°C において 4 週間行った。ロールチューブ内に形成されたコロニーは、顕微鏡下で注意深く採取し、グルコース 10 mM と 0.1% (v/v) 酵母抽出液を添加した培地を用いて再度培養した。これらの操作は、3 回繰り返して行った。得られた株の純粋性は、バルキング原因菌に特異的な DNA プローブを用いた FISH 法によって確認した。

(3) 嫌気性バルキング原因菌のドラフトゲノム構築

分離したバルキング原因菌のドラフトゲノム解析は、株式会社生物技研に依頼して実施した。分離株の DNA サンプルは、DNA 剪断システム M220 を用いて 400 bp になる条件で断片化した。ゲノムライブラリーは、剪断化した DNA と MGIEasy Universal DNA Library Prep Set を用いて作製した。環状化 DNA は、作製された PCR 産物と MGIEasy Circularization Kit (MGI) ($2 \times 150 \text{ bp}$) を用いて作製した。断片化した DNA 塩基配列は、DNBSEQ-G400 を用いて解析した。精製されたペアエンドリードは、Trimmomatic v0.39 を用いて低クオリティリードの除去を行った。それぞれのリードのアセンブリは、SPAdes v3.13.1 を用いて行った。ドラフトゲノムのアノテーションは Prokka v1.12 を使用して行い、機能予測は、Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes を使用して行った。近縁な種とのタンパク質相同性検索は、ncbi blast v2.5.0+ を使用して行った。近縁な株のゲノム情報は、Integrated Microbial Genomes および Uniprot よりダウンロードして使用した。

4. 研究成果

(1) 嫌気性バルキング原因菌の基質利用情報の獲得

本研究では、バルキング汚泥において豊富に観察された糸状性微生物を推定するため、嫌気性バルキング汚泥と採取時期の異なる 2 種の健全なグラニュール汚泥の微生物群集構造の比較を試みた。微生物群集構造解析は、各サンプルの平均した値が 1% 以上の微生物種を対象とした。健全なグラニュール汚泥と比較して嫌気性バルキング汚泥において有意に増加していた ($p < 0.001$) 微生物は、ユリアーキオータ門に属する 2 種のアーキアとクロロフレキシ門に属する 2 種およびプロテオバクテリア門に属する 3 種の細菌であった。さらに本研究では、2 度目の嫌気性バルキングにおいても同様な解析を行った。健全なグラニュール汚泥と比較して嫌気性バルキング汚泥において有意に増加していた ($p < 0.001$) 微生物は、アナエロリネア綱に属する 3 種の細菌であった。とくに、アナエロリネア綱細菌由来の 2 種は、 0.9% (健全なグラニュール汚泥) から 6.3% (嫌気性バルキング汚泥) および 0.1% (健全なグラニュール汚泥) から 12.9% (嫌気性バルキング汚泥) へと大きく増加していた。本研究では、嫌気性バルキング汚泥内の嫌気性バルキング原因菌の同定を行うため、作製した DNA プローブを用いた *in situ* DNA-HCR 法を行った。メタノサエタ属アーキアおよびアナエロリネア綱細菌を検出する *in situ* DNA-HCR 法は、プローブ陽性菌が糸状性の形態を有することを示した。また、メタノサエタ属アーキアとアナエロリネア綱細菌を同時検出したところ、糸状性微生物が豊富に観察できた。

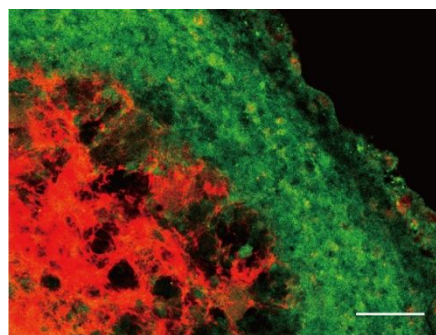


図 1 GNSB941 (green)-ARC915 (red) を用いた FISH 法を適用した健全なグラニュール汚泥切片の染色写真 (bar : $50 \mu\text{m}$)

16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析によって得られた微生物存在比をもとにスピアマンの順位相関係数を算出した後、1 度目のバルキング汚泥内の構成微生物間の相関関係の評価を試みた。その結果、メタノサエタ属アーキアとアナエロリネア綱細菌の間には、強い正の相関が得られた。2 度目のバルキングでも同様の解析を行った結果、アナエロリネア綱細菌同士に正の相関が得られた。これらの結果は、糸状性微生物の異常増殖は、同一の環境条件の変化によるものと推定された。これらの嫌気性バルキング原因菌の基質利用情報を獲得するため、健全なグラニュール汚泥切片に対する FISH 法を試みた。メタノサエタ属アーキアに特異的な MX825 プローブとアナエロリネア綱細菌に特異的な GNSB941 プローブを用いた FISH 法は、アナエロリネア綱細菌とメタノサエタ属アーキアは、汚泥表面と汚泥内部に分かれて存在していることを明らかにした。これらの空間分布の結果は、アナエロリネア綱細菌は糖やタンパク質など比較的高分子の基質を利用していることが示唆していた。

(2) 嫌気性バルキング原因菌の分離・培養

嫌気性バルキング原因菌 (アナエロリネア綱細菌) の異常増殖の要因を明らかにするため、アナエロリネア綱細菌の分離を試みた。まず、 10 mM グルコースおよび 0.1% (v/v) 酵母抽出液の基質を用いた集積培養系を構築するため、段階希釈した培養物を 37°C で培養した。植種源は、2 度目の嫌気性バルキング汚泥を用いた。位相差顕微鏡を用いて集積培養系内に生育した微生物を確認した後、糸状性の形態を有する微生物が高頻度に検出された培養系を新しい培地にて再度培養を行った。この操作は、3 回繰り返した。得られた培養物に対して GNSB941 プローブを

用いた FISH 法を適用した結果、GNSB941 プローブ陽性菌が豊富に存在する集積培養系を構築することに成功した。GNSB941 プローブ陽性菌を分離するため、抗生物質を使用した希釈培養法やロールチューブ法を用いて行った。ロールチューブ法によって4週間培養を行った結果、ロールチューブ内の寒天培地上に小さい薄茶色のコロニーが形成された。コロニーをランダムに採取した後、10 mM グルコースおよび0.1 % (v/v) 酵母抽出液を添加した液体培地に植種した。コロニーを植種した液体培地は、37 °C で培養を行った。約2週間の培養後、糸状性の形態を有する微生物のみが増殖していた。この操作を3回繰り返すことによって、アナエロリネア綱に属するバルキング原因菌 (HRD-3 株) の分離に成功した。得られた分離株の最も近縁な細菌は *Bellilinea caldifistulae* GOMI-1^T 株であり、GOMI-1^T 株の 16S rRNA 遺伝子の 92 % を共有していた。



図2 分離したバルキング原因菌 HRD-3 株の位相差顕微鏡写真 (bar : 10 μm)

(3) 嫌気性バルキング原因菌のドラフトゲノム構築

HRD-3 株のドラフトゲノム解析を行った結果、56 個のコンティグ (1,000bp 以上) から構成されるドラフトゲノムの構築に成功した。バルキング原因菌のドラフトゲノムのサイズと G+C 含量は、それぞれ 3.61Mb と 54.4% であった。ドラフトゲノム配列には、硝酸塩や硫酸塩を用いた嫌気呼吸に関する遺伝子は存在していなかった。また、発酵過程において、酢酸および乳酸を代謝する遺伝子を有していたが、エタノールを代謝する遺伝子を有していなかった。バルキングメカニズムの分子機構の解明までは到らなかったものの、培養困難なバルキング原因菌の分離培養に成功したとともに、ほぼ完全なドラフトゲノムの構築に成功した。将来的には、本株をもとに、バルキングメカニズムの分子機構の詳細解明に到る基盤は確立することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Jun Harada, Takeshi Yamada, Surya Giri, Masako Hamada, Masaru Konishi Nobu, Takashi Narihiro, Hideto Tsuji, Hiroyuki Daimon	4. 巻 6
2. 論文標題 Draft genome sequence of Moorella sp. strain Hama-1, a novel acetogenic bacterium isolated from a thermophilic digestion reactor	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genome announcements	6. 最初と最後の頁 e00517-18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1128/genomeA.00517-18	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 -
1. 著者名 Takeshi Yamada, Jun Harada, Misaki Kurobe, Surya Giri, Masaru Konishi Nobu, Takashi Narihiro, Hideto Tsuji, Hiroyuki Daimon	4. 巻 8
2. 論文標題 Draft Genome Sequence of Thermodesulfobrio sp. Strain Kuro-1, a Thermophilic, Lactate-Degrading Anaerobe Isolated from a Thermophilic Anaerobic Digestion Reactor	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00709-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.00709-19	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 -
1. 著者名 Takeshi Yamada, Jun Harada, Yuki Okazaki, Tsuyoshi Yamaguchi, Atsushi Nakano	4. 巻 8
2. 論文標題 16S rRNA Gene Amplicon Profiling of Anaerobic Bulking- Associated Prokaryotic Microbiota in a Mesophilic Expanded Granular Sludge Bed Reactor for Beverage Wastewater Treatment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00678-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.00678-19	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 -
1. 著者名 Takeshi Yamada, Jun Harada, Yuki Okazaki, Tsuyoshi Yamaguchi, Atsushi Nakano	4. 巻 8
2. 論文標題 16S rRNA Gene Amplicon Sequencing of Microbial Communities Involved in Anaerobic Bulking in a Mesophilic Expanded Granular Sludge Bed Reactor Treating Wastewater Discharged from a Japanese-Style Thickened Worcestershire Sauce-Producing Factory	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00801-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.00801-19	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17件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 原田淳, 岡崎祐輝, 浜田雅子, 山口剛士, 中野淳, 成廣隆, 山田剛史
2. 発表標題 EGSBリアクターにおける数種の未培養糸状性細菌群が関与する嫌気性バルキング
3. 学会等名 日本微生物生態学会第32回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡崎祐輝, 山口剛士, 原田淳, 山田剛史, 中野淳
2. 発表標題 EGSBリアクター内の汚泥に対するHCR-FISH法を用いた未培養微生物の視覚的検出
3. 学会等名 日本微生物生態学会第32回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 原田淳, 岡崎祐輝, 浜田雅子, 山口剛士, 中野淳, 成廣隆, 山田剛史
2. 発表標題 EGSBリアクターの新たな嫌気性バルキングに関与する複数種の嫌気性バルキング原因菌の解明
3. 学会等名 土木学会全国大会 第73回年次学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 原田淳, 岡崎祐輝, 山口剛士, 中野淳, 山田剛史
2. 発表標題 分子生物学的技法と統計解析を用いたEGSBリアクターにおける新たな嫌気性バルキングの原因解明
3. 学会等名 平成30年度日本水環境学会中部支部研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jun Harada, Yuki Okazaki, Tsuyohi Yamaguchi, Atsushi Nakano, Takeshi Yamada
2. 発表標題 Identification of causative filamentous bacteria for anaerobic bulking occurred in an EGSB reactor
3. 学会等名 Irago conference 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡崎祐輝, 山口剛士, 原田淳, 山田剛史, 中野淳
2. 発表標題 高感度FISH法を用いた微生物回収の試み
3. 学会等名 第53回日本水環境学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原田淳, 岡崎祐輝, 山口剛士, 中野淳, 山田剛史
2. 発表標題 EGSBリアクターで発生した嫌気性バルキングのバルキング原因菌の同定と原因解明
3. 学会等名 第53回日本水環境学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田剛史, 原田淳, 岡崎祐輝, 浜田雅子, 山口剛士, 中野淳
2. 発表標題 嫌気性廃水処理汚泥のバルキングに関与する未培養微生物群の解析
3. 学会等名 環境微生物系学会合同大会2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡崎祐輝, 山口剛士, 中野淳, 山田剛史
2. 発表標題 高感度FISH法を用いた水処理装置内の未培養微生物の視覚的検出
3. 学会等名 土木学会全国大会 第72回年次学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 原田淳, 山田剛史
2. 発表標題 嫌気性排水処理を行うEGSBリアクターでの嫌気性バルキングに関する微生物の検出
3. 学会等名 東三河生態系ネットワークフォーラム2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田剛史, 原田淳, 岡崎祐輝, 浜田雅子, 山口剛士, 中野淳
2. 発表標題 食品系有機性廃水を処理するEGSBリアクターで発生した嫌気性バルキングに関する微生物評価
3. 学会等名 第54回環境工学研究フォーラム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 原田淳, 浜田雅子, 岡崎祐輝, 山口剛士, 中野淳, 山田剛史
2. 発表標題 EGSBリアクターの新たな嫌気性バルキング：複数種の原因微生物の関わりを視覚的に捉える
3. 学会等名 第52回日本水環境学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡崎祐輝, 原田淳, 山田剛史, 中野淳, 山口剛士
2. 発表標題 EGSBリアクター内に生息する未培養微生物の視覚的検出
3. 学会等名 第52回日本水環境学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jun Harada, Tsuyoshi Yamaguchi, Takashi Narihiro, Atsushi Nakano, Takeshi Yamada
2. 発表標題 Morphology and Distribution of Causative Microorganisms involved in Anaerobic Bulking in the EGSB Reactor
3. 学会等名 Water and Environment Technology Conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原田淳, 岡崎祐輝, 山口剛士, 成廣隆, 中野淳, 山田剛史
2. 発表標題 食品系有機性廃水を処理するEGSB リアクターの新たな嫌気性バルキングの原因解明
3. 学会等名 令和元年度土木学会全国大会 第74回年次学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原田淳, 山口剛士, 成廣隆, 中野淳, 山田剛史
2. 発表標題 EGSB リアクターの嫌気性バルキングに関与する未培養系状性微生物の分離と培養
3. 学会等名 日本微生物生態学会第33回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原田淳, 岡崎祐輝, 山口剛士, 成廣隆, 中野淳, 山田剛史
2. 発表標題 EGSBリアクターで発生した嫌気性バルキングに關与する糸状性細菌のグラニュール汚泥内空間分布の評価
3. 学会等名 第56回環境工学研究フォーラム
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計8件

1. 著者名 Yamada, T. and Y. Sekiguchi	4. 発行年 2018年
2. 出版社 John Wiley	5. 総ページ数 5
3. 書名 "Anaerolinea", in Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (BMSAB), Whitman, W.B. (Eds.)	

1. 著者名 Yamada, T and Y. Sekiguchi	4. 発行年 2018年
2. 出版社 John Wiley	5. 総ページ数 4
3. 書名 "Anaerolineaceae", in Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (BMSAB), Whitman, W.B. (Eds.)	

1. 著者名 Yamada, T and Y. Sekiguchi	4. 発行年 2018年
2. 出版社 John Wiley	5. 総ページ数 2
3. 書名 "Anaerolineae", in Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (BMSAB), Whitman, W.B. (Eds.)	

1. 著者名 Yamada, T. and Y. Sekiguchi	4. 発行年 2018年
2. 出版社 John Wiley	5. 総ページ数 3
3. 書名 "Bellilinea", in Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (BMSAB), Whitman, W.B. (Eds.)	

1. 著者名 Yamada, T. and Y. Sekiguchi	4. 発行年 2018年
2. 出版社 John Wiley	5. 総ページ数 4
3. 書名 "Leptolinea", in Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (BMSAB), Whitman, W.B. (Eds.)	

1. 著者名 Yamada, T. and Y. Sekiguchi	4. 発行年 2018年
2. 出版社 John Wiley	5. 総ページ数 4
3. 書名 "Levilinea", in Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (BMSAB), Whitman, W.B. (Eds.)	

1. 著者名 Yamada, T. and Y. Sekiguchi	4. 発行年 2018年
2. 出版社 John Wiley	5. 総ページ数 3
3. 書名 "Longilinea", in Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (BMSAB), Whitman, W.B. (Eds.)	

1. 著者名 Yamada, T. and Y. Sekiguchi	4. 発行年 2018年
2. 出版社 John Wiley	5. 総ページ数 1
3. 書名 "Anaerolineales", in Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (BMSAB), Whitman, W.B. (Eds.)	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 アンモニア酸化細菌に結合する核酸分子、その核酸分子を用いるアンモニア酸化細菌の検出方法及び検出キット	発明者 山田剛史、萩原達也	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2018-036166	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	山口 剛士 (Yamaguchi Tsuyoshi) (30759832)	松江工業高等専門学校・環境・建設工学科・講師 (55201)	