

令和 5 年 9 月 26 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H04362

研究課題名(和文)新規培養法と安定同位体プローブ法で迫るN₂O還元細菌の新機能：排出削減と物質産生研究課題名(英文) Exploring new functions of N₂O-reducing bacteria by a novel culturing method and stable isotope probing: N₂O mitigation and production of valuables

研究代表者

寺田 昭彦 (Terada, Akihiko)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：30434327

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高効率なN₂O還元細菌が有する様々な生理学的特性の解明、および有価物を産生可能なN₂O還元細菌の探索を目的とした。安定同位体¹⁵Nトレーサー法と微小呼吸活性測定法を融合することで、Clade II nosZタイプのN₂O還元細菌がN₂O削減に効果を示す環境条件を明らかにした。この細菌はN₂Oに高い親和性を有する一方、限られた有機炭素源の供給時にのみ高い活性を発揮することも明らかになった。さらに省エネ型窒素除去バイオリアクター、埋立地浸出水、水田土壤中に生息する微生物の群集構造や活性評価を通し、N₂O削減と有価物産生に有用な細菌群の選出が行えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

排水処理施設の窒素除去の過程で排出される強力な温室効果ガスである亜酸化窒素(N₂O)は、より一層の排出削減が求められている。この課題に対する有力な手段として、N₂OをN₂に変換するN₂O還元細菌の利用に期待が寄せられている。一方、この細菌の生理生態への理解は不十分である。さらに、近年の排水処理施設は資源回収型への転換が求められている。本研究では、獲得したN₂O還元細菌が優れたN₂O消費活性を示す条件を明らかにした。さらに、有価物産生とN₂O削減の双方を達成する微生物に迫る成果を得た。これらの成果は、排水処理施設からのN₂O排出削減の達成や、有価物産生プロセスの開発に繋げられる可能性を有する。

研究成果の概要(英文)：This study aimed at unraveling the physiological traits of efficient nitrous-oxide (N₂O)-reducing bacteria and exploring the potential of bacteria able to synthesize value-added products by metagenomic analysis. Applying the ¹⁵N tracer approach and micro-respirometric assay allowed environmental conditions to fully harness clade II nosZ N₂O-reducing bacteria for effective N₂O mitigation. The bacteria showed high N₂O affinity, whereas having a low availability of organic carbon species. Furthermore, microbial community and activity analyses of samples from an energy-saving nitrogen-removing reactor, a landfill treatment site, and rice paddies allowed the selection of efficient N₂O-reducing bacteria potentially capable of synthesizing value-added production.

研究分野：環境化学工学

キーワード：亜酸化窒素 亜酸化窒素還元細菌 資源回収 微小呼吸活性 メタゲノム解析 ¹⁵Nトレーサー 脱窒細菌 メタン酸化

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

亜酸化窒素 (N_2O) は二酸化炭素の 273 倍の温室効果を示すとともに、21 世紀の最も深刻なオゾン層破壊物質として知られている (Forster *et al.*, 2021; Ravishankara *et al.*, 2009)。 N_2O は農地の微生物による窒素変換反応から様々な経路を介して生成しており、主要な N_2O の排出源になっている。また、生活排水処理施設からの N_2O 排出や、畜産や養殖業などの産業廃水処理施設からの N_2O 排出が増えることが予測されており (Tian *et al.*, 2020)、その削減の抑制が急務となっている。 N_2O 削減には N_2O 還元酵素を保有する細菌 (N_2O 還元細菌) の代謝機能が非常に重要になってくる。窒素過多の問題が顕在化している 21 世紀において、 N_2O 還元細菌の生理生態を正しく理解し、その機能を最大限に発揮できる環境を創製する工学的プロセスの開発が、排水処理プロセスで排出される N_2O の削減にとって重要であるといえる。

窒素除去の強化および N_2O 排出の削減といった課題に加え、排水中に含まれる栄養に富んだ成分のバイオガスへの変換、有価物への変換、といった資源回収に向けたシステム開発の重要性が喧伝されている (Guest *et al.*, 2009)。排水中の窒素除去プロセス自体は、大量のエネルギーを必要とし、エネルギー創出が見込めないことを鑑みると、 N_2O の排出抑制に新たな価値が創出できることが望ましい。

2. 研究の目的

そこで本研究では、 N_2O の排出削減の鍵となる N_2O 還元細菌の中で、高効率に N_2O を N_2 に変換可能な種類の生理学的特性評価を行うとともに、 N_2O の消費と有価物を産生可能な細菌の探索を行うことを目的とした。これまでの研究で得られてきた Clade II *nosZ* のグループに属する N_2O 還元細菌 (Suenaga *et al.*, 2019) の生理学的特性評価として、電子供与体・受容体の種類が N_2O 消費活性に及ぼす影響を評価した。さらに、有価物を産生可能な N_2O 還元細菌の探索に関しては、生活排水処理施設、埋立地浸出水の処理施設や、水田土壌などから集積化を行い、有用種の獲得を目指した。

3. 研究の方法

(1) 高活性 N_2O 還元細菌の生理生態解析

これまでの既往研究を通し、 N_2O を供給するガス透過膜デバイスによる N_2O 還元細菌の集積化を行い、Clade II *nosZ* の N_2O 還元細菌の集積化、および分離培養に成功している (Suenaga *et al.*, 2019)。分離培養が行えた Clade II *nosZ* である *Azospira sp.* strain I09, I13、および Clade I *nosZ* である *Alicyclophilus denitrificans* strain I51 の N_2O 還元細菌に対し、溶存酸素および溶存 N_2O 電極を挿入した微小呼吸活性装置による動力学的解析を実施した。装置の運転条件および解析方法に関しては、既往の研究 (Suenaga *et al.*, 2018a) を参考にした。酸素を含む培養液に飽和 N_2O 水を適量チャンパーに注入することにより、溶存酸素および溶存 N_2O 濃度を時系列的に測定し、溶存 N_2O 濃度の減少より細胞当たりの最大 N_2O 消費速度と N_2O の半飽和定数を取得した。さらに、 N_2O と共存する電子受容体として亜硝酸イオン (NO_2^-) を供与した時の N_2O 消費速度を評価した。

次に、電子供与体が N_2O 消費速度に及ぼす影響を評価するため、*Azospira sp.* strain I09, I13 に加え、Clade I *nosZ* の完全脱窒型の N_2O 還元細菌 *Paracoccus denitrificans* および *Pseudomonas stutzeri* の 4 種を用いた動力学的解析を実施した。酢酸塩、コハク酸塩、メタノール、エタノール、グリセロールを唯一の電子供与体として、 N_2O を主たる電子受容体として微小呼吸活性装置のチャンパーに供給し、溶存 N_2O 濃度の減少から N_2O 消費活性を定量的に評価した。また、酸素存在時の N_2O 消費に関する活性変動の動態を確認し、酸素暴露後の N_2O 消費活性の還元能力の違いについても評価した。

Azospira sp. strain I09, I13 および *Al. denitrificans* strain I51 の N_2O 還元細菌のゲノム解析より、脱窒酵素をコードする遺伝子を保有しており、硝酸イオン (NO_3^-) から N_2 まで変換可能な代謝能力を保有していることが明らかになっている (strain I13 に関しては報告済み。Suenaga *et al.*, 2018b)。電子受容体として NO_3^- や NO_2^- をこれらの N_2O 還元細菌に供給した場合、検出される N_2O 濃度は、 N_2O 生成速度と N_2O 消費速度の正味の値となる。真の N_2O 生成速度と N_2O 消費速度を見積もるため、安定同位体である ^{15}N トレーサー法を適用した。具体的には、安定同位体 ^{15}N の NO_3^- や NO_2^- を N_2O と同時に供給した培養を行い、分子量の異なる N_2O および N_2 を追跡することにより真の N_2O 生成速度と N_2O 消費速度を算出した。これに加え、*Azospira sp.* strain I13 と *Al. denitrificans* strain I51 は発現遺伝子の網羅的解析であるトランスクリプトーム解析を実施し、それぞれの電子受容体の嗜好性を考察した。

(2) 省エネ型排水処理施設に潜む N_2O 還元細菌のキャラクタリゼーション

省エネ型窒素処理バイオリアクターとして、上向流型固定床の嫌気性アンモニア酸化 (Anammox) リアクターを対象とした N_2O 還元細菌の探索と分離培養に向けた検討を実施した。Anammox リアクターにアンモニアおよび NO_2^- を含む無機培地を連続供給し、バイオフィルムを形成させた。バ

イオマスを回収し、既往研究の方法 (Suenaga *et al.*, 2019) に準拠して 16S rRNA 遺伝子のアンプリコン解析を実施した。一方、16S rRNA 遺伝子に加え、Clade I *nosZ* および Clade II *nosZ* 遺伝子を対象とした DNA レベルと RNA レベルのサブクローニングを実施した。RNA レベルの解析に関しては、RNA 抽出後に逆転写による相補的 DNA を合成して PCR に適用して評価を進めた。また、抽出した DNA サンプルに関しては定量 PCR を行い、窒素変換を担う機能遺伝子の定量を実施した。さらに、微小呼吸活性装置にバイオマスを適用し、集積されたバイオマスサンプルの N_2O 消費活性を評価した。

(3) 埋立地浸出水処理施設の活性汚泥のメタゲノム解析

有機物を産生可能な N_2O 還元細菌のスクリーニングを行うため、埋立地浸出水の処理施設の活性汚泥サンプルを採取し、メタゲノム解析を実施した。ショットガンメタゲノム解析を通し、高品質なアセンブリ配列 Metagenome Assembled Genomes (MAGs) を回収した。得られた MAGs からそれぞれの代謝に關与する機能遺伝子の有無を確認し、 N_2O 還元細菌の有機物生産の潜在性について議論を行った。

(4) メタノールを資化する N_2O 還元細菌のキャラクタリゼーション

埋立地浸出水や高窒素負荷の生活排水から窒素を除去する際、脱窒のための外部炭素源としてメタノールが供給されるケースがある。このケースを想定し、メタノールを供給するケモスタット型バイオリアクターを 2 系列用意し、流入させる電子受容体である NO_3^- および N_2O 供給量を変えて運転を継続し、バイオリアクター内で集積される N_2O 還元細菌のキャラクタリゼーションを行った。得られたバイオマスの群集構造の評価として、16S rRNA 遺伝子に関するアンプリコン解析を実施した。さらに、バイオマス内で優占される N_2O 還元細菌の Clade タイプを評価するために定量 PCR を実施し、遺伝子量の評価を実施した。

(5) 安定同位体プロービング (RNA-SIP) 法を用いたメタン資化性細菌のキャラクタリゼーション

これまでの研究として、高濃度メタンが排出される水田の土壌からメタン酸化細菌の分離培養を実施し、メタン酸化細菌 *Methylosinus* がポリヒドロキシアルカノイトを合成する一連の酵素をコードする遺伝子を保有することが分かっている (Yasuda *et al.*, 2020)。そこで、脱窒と嫌氣的メタン酸化を行う細菌の探索とその有機物産生能評価を目的にした、RNA ベースの安定同位体プロービング法 (RNA-SIP 法) の適用を試みた。水田土壌をバイオマスとして植種したバイアルに ^{13}C でラベルしたメタンおよび NO_2^- を封入し、嫌気状態での回分培養を実施した。 NO_2^- の濃度減少と $^{13}CO_2$ の濃度上昇が確認された時点でバイオマスのサンプリングを行い、土壌中バイオマスから DNA および RNA を抽出した。抽出 RNA に関しては逆転写反応により相補的 DNA を獲得し、16S rRNA 遺伝子のアンプリコン解析を行い、脱窒とメタン酸化を同時に行う活性のある細菌の同定を目指した。これらの方法は既往研究に準拠した (Aoyagi *et al.*, 2015)。

4. 研究成果

(1) 高活性 N_2O 還元細菌の生理生態解析

微小呼吸活性装置を用いた動力的解析により、*Al. denitrificans* strain I51 および *Azospira* sp. strain I13 の NO_2^- に対する半飽和定数はともに低い値であり、どちらの細菌も NO_2^- に対する基質親和性が高いことが示唆された。また、真の N_2O 生成速度および N_2O 消費速度の比較を行った結果、pH 中性付近においては *Azospira* sp. strain I13 の N_2O 消費速度が N_2O 生成速度を上回った。strain I13 は最適な条件が担保された場合、 N_2O 消費に適した細菌であることが明らかになった。次に、pH を変動させて、 NO_2^- と平衡状態の関係で生成する遊離亜硝酸 (HNO_2) の影響を評価した。pH の低下に伴って HNO_2 濃度が上昇し、真の N_2O 消費速度が減少することが明らかになった。 NO_2^- 濃度が高く弱酸性～酸性の条件においては、 N_2O 還元細菌が N_2O 生成に寄与してしまう可能性が示唆された。

次に、 ^{15}N の NO_3^- と N_2O の共存下での各 N_2O 還元細菌の電子受容体の選好性について評価を行った。*Azospira* sp. strain I09 と I13 は NO_3^- と N_2O の共存下で優先的に N_2O を利用することが明らかになり、 N_2O 選好性が強いことが明らかになった。一方で、Clade I *nosZ* の *Pa. denitrificans* と *Ps. stutzeri* では NO_3^- を優先的に使うことが示された。試験に供した N_2O 還元細菌は、 NO_3^- から N_2 への脱窒反応を担う還元酵素をコードする遺伝子を保有しているにもかかわらず、脱窒の生理学的特性は大きく異なることが明らかになった。この機構を解明するために、*Azospira* sp. strain I13 と *Al. denitrificans* strain I51 に対してトランスクリプトーム解析を実施した結果、 NO_3^- と N_2O の電子受容体の選好性の違いを明瞭に示す遺伝子発現パターンは得られなかった。したがって、電子受容体の選好性は電子供与体から電子受容体に配分される電子伝達機構の違いが影響を及ぼしている可能性が示唆された。

電子供与体の種類が N_2O 消費活性に及ぼす影響を評価した結果、Clade I *nosZ* の N_2O 還元細菌 (*Pa. denitrificans* と *Ps. stutzeri*) および Clade II *nosZ* の N_2O 還元細菌 (*Azospira* sp. strain I09 と I13) では、電子供与体の種類の違いによって活性が大きく異なることが示された。Clade II *nosZ* の N_2O 還元細菌では電子供与体による N_2O 消費活性が大きく変動し、*Azospira*

sp. strain I13 では、 N_2O 消費の最大活性が得られた酢酸塩に対し、グリセロールでの活性は約 1/10 に落ち込んだ。また、*Azospira* sp. strain I13 に酢酸塩を供給した際の N_2O 消費速度は他の N_2O 還元細菌の速度と比較して、7~37 倍の大きいことが示された。さらに、高い N_2O 消費速度が得られる電子供与体の際、酸素暴露後の N_2O 消費活性の回復は短い時間で達成された。これらの結果はゲノム解析によって得られた各有機物の分解に関連する機能遺伝子の有無により説明できることが示された。例えば、*Azospira* sp. strain I13 は、メタノール、エタノール、およびグリセロールの一連の分解酵素をコードする一部の遺伝子が欠落しており、完全分解には代謝経路をバイパスする必要があると推察される。これに伴う代謝効率の低下が N_2O 消費活性に影響をもたらしていることが示唆された。以上より、Clade II *nosZ* の完全脱窒型の N_2O 還元細菌である *Azospira* sp. strain I09 および I13 は、限られた有機炭素源で高い N_2O 消費を行うスペシャリストであることが示唆された。

(2) 省エネ型排水処理施設に潜む N_2O 還元細菌のキャラクタリゼーション

16S rRNA 遺伝子のアンプリコンシーケンス解析の結果、Chloroflexi が Anammox に次ぐ細菌群であることを示唆した。また、Clade I および Clade II *nosZ* に基づくサブクロニングの結果、Chloroflexi が DNA および cDNA をベースとする Clade II *nosZ* で高い割合で検出され、 N_2O 還元細菌である可能性を示唆した。Chloroflexi は Anammox 細菌と共生関係を有しており、遺伝子型から N_2O 還元能を有していることが報告されているが (Hosokawa *et al.*, 2022, Lawson *et al.*, 2017)、本成果は、Chloroflexi が電子受容体として Anammox リアクターで生成する N_2O を用いて N_2 に変換している可能性を示唆するものである。

Anammox リアクターから採取したバイオマスを微小呼吸活性装置に適用し、動力学的解析を行った結果、このバイオマスは N_2O の半飽和定数が高い値となり、バイオマスの凝集状態によっては、 N_2O の消費は限定的である可能性が示された。

(3) 埋立地浸出水処理施設の活性汚泥のメタゲノム解析

埋立地浸出水処理施設の活性汚泥のメタゲノム解析を実施し、高品質の MAGs を獲得した。Completeness が高く Contamination が低い 49 の MAGs のうち、33 の MAGs は N_2O 還元酵素をコードする *nosZ* を保有していることが明らかになった。さらに、この 33 の MAGs のうち、 NO_2^- 還元酵素および一酸化窒素還元酵素を保有している MAGs は 2 つのみであり、ほとんどの N_2O 還元細菌は脱窒反応が完結しない非脱窒性の遺伝子型であることが示唆された。さらに、33 の MAGs のうち、3 つの MAGs は 20 種類全てのアミノ酸の合成酵素をコードする遺伝子を保有しており、有機物産生に長けた種類である可能性が示された。

(4) メタノールを資化する N_2O 還元細菌のキャラクタリゼーション

メタノールを唯一の炭素源として連続運転を行ったケモスタット型バイオリアクターにて集積された微生物の群集構造解析として、16S rRNA 遺伝子に基づくアンプリコン解析を実施した。 N_2O や NO_3^- の供給負荷に関わらず、集積された N_2O 還元細菌はほとんどが Clade I *nosZ* であり、(1) で実施した電子供与体の種類が Clade I および Clade II の N_2O 還元細菌の N_2O 消費活性に及ぼす影響評価の結果と一致する結果が得られた。 N_2O や NO_3^- の供給量の違いは Proteobacteria の優占種に違いをもたらし、 N_2O 供給負荷が高い際には *Burkholderiales*、*Rhizobiales*、*Rhodobacterales* が、負荷が低い際には *Burkholderiales* の相対存在率が高くなった。また、それぞれのバイオリアクターで集積されたバイオマスは、高い酸素濃度によっても N_2O 消費活性が大きく阻害されることがなく、微好気条件においても N_2O 排出の削減が見込める可能性が示唆された。作用機序を明らかにするために、遺伝子転写やタンパク質発現解析を行うことが今後の課題となった。

(5) RNA-SIP 法を用いたメタン資化性細菌のキャラクタリゼーション

^{13}C を高い割合で取り込んだ微生物は Gammaproteobacteria の Methylococcaceae 科の一種に相対性が高い種であった。この種類の相対割合はバイオマス中の約 5% であり、バイオマスサンプル中の優占種ではないものの、高いメタン酸化活性を有することが示唆された。相対性が高い種が保有するゲノム情報をデータベースから調査した結果、ポリヒドロキシアルカノイトを合成する一連の酵素をコードした遺伝子、および NO_2^- 還元酵素や N_2O 還元酵素をコードする遺伝子は保有していなかった。今回検出された高活性なメタン酸化細菌は、脱窒能やポリヒドロキシアルカノイト産生能を保有していない可能性が高く、 N_2O 消費や有機物産生を可能にする細菌の同定には至らなかった。 N_2O 還元を含めた脱窒反応を行いながら有機物を産生する細菌の同定と獲得に向け、バイオマスの集積化方法や、 ^{13}C でラベルされたメタンを用いた培養条件の再検討が課題として残された。

引用文献

- Aoyagi, T., Hanada, S., Itoh, H., Sato, Y., Ogata, A., Friedrich, M.W., Kikuchi, Y. and Hori, T. 2015. Ultra-high-sensitivity stable-isotope probing of rRNA by high-throughput sequencing of isopycnic centrifugation gradients. *Environmental Microbiology Reports* 7(2), 282-287.
- Forster, P., T. Storelvmo, K. Armour, W. Collins, J.-L. Dufresne, D. Frame, D.J. Lunt, T. Mauritsen, M.D. Palmer, M. Watanabe, M. Wild, and H. Zhang: 2021, The Earth's Energy Budget, Climate Feedbacks, and Climate Sensitivity. In *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A. Pirani, S.L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M.I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J.B.R. Matthews, T.K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu, and B. Zhou (eds.)]. Cambridge University Press.
- Guest, J.S., Skerlos, S.J., Barnard, J.L., Beck, M.B., Daigger, G.T., Hilger, H., Jackson, S.J., Karvazy, K., Kelly, L., Macpherson, L., Mihelcic, J.R., Pramanik, A., Raskin, L., Van Loosdrecht, M.C.M., Yeh, D. and Love, N.G. 2009. A New Planning and Design Paradigm to Achieve Sustainable Resource Recovery from Wastewater. *Environmental Science & Technology* 43(16), 6126-6130.
- Hosokawa, S., Kuroda, K., Narihiro, T., Aoi, Y., Ozaki, N., Ohashi, A. and Kindaichi, T. 2021. Cometabolism of the Superphylum Patescibacteria with Anammox Bacteria in a Long-Term Freshwater Anammox Column Reactor. *Water* 13(2), 208.
- Lawson, C.E., Wu, S., Bhattacharjee, A.S., Hamilton, J.J., McMahon, K.D., Goel, R. and Noguera, D.R. 2017. Metabolic network analysis reveals microbial community interactions in anammox granules. *Nature Communications* 8, 15416.
- Ravishankara, A.R., Daniel, J.S. and Portmann, R.W. 2009. Nitrous oxide (N₂O): The dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century. *Science* 326(5949), 123-125.
- Suenaga, T., Riya, S., Hosomi, M. and Terada, A. 2018a. Biokinetic Characterization and Activities of N₂O-Reducing Bacteria in Response to Various Oxygen Levels. *Frontiers in Microbiology* 9(697).
- Suenaga, T., Aoyagi, T., Hosomi, M., Hori, T. and Terada, A. 2018b. Draft genome sequence of *Azospira* sp. strain I13, a nitrous oxide-reducing bacterium harboring clade II type nosZ. *Genome Announcements* 6(20).
- Suenaga, T., Hori, T., Riya, S., Hosomi, M., Smets, B.F. and Terada, A. 2019. Enrichment, Isolation, and Characterization of High-Affinity N₂O-Reducing Bacteria in a Gas-Permeable Membrane Reactor. *Environmental Science & Technology* 53(20), 12101-12112.
- Tian, H., Xu, R., Canadell, J.G., Thompson, R.L., Winiwarter, W. et al. 2020. A comprehensive quantification of global nitrous oxide sources and sinks. *Nature* 586(7828), 248-256.
- Yasuda, S., Suenaga, T. and Terada, A. 2020. Complete Genome Sequence of *Methylosinus* sp. Strain C49, a Methane-Oxidizing Bacterium Harboring phaABC Genes for Polyhydroxyalkanoate Synthesis. *Microbiology Resource Announcements* 9(27), e00113-00120.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Oba Kohei, Suenaga Toshikazu, Kuroiwa Megumi, Riya Shohei, Terada Akihiko	4. 巻 56
2. 論文標題 Exploring the functions of efficient canonical denitrifying bacteria as N ₂ O sinks: Implications from 15N tracer and transcriptome analyses	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Environmental Science & Technology	6. 最初と最後の頁 11694 ~ 11706
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.est.2c02119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kim Daehyun D., Han Heejoo, Yun Taeho, Min Joon Song, Terada Akihiko, Lauren Michele, Yoon Sukhwan	4. 巻 16
2. 論文標題 Identification of nosZ-expressing microorganisms consuming trace N ₂ O in microaerobic chemostat consortia dominated by an uncultured Burkholderiales	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The ISME Journal	6. 最初と最後の頁 2087 ~ 2098
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41396-022-01260-5	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 該当する
1. 著者名 Kobayashi Masumi, Agari Ryosei, Kigo Yunje, Terada Akihiko	4. 巻 183
2. 論文標題 Efficient oxygen supply and rapid biofilm formation by a new composite polystyrene elastomer membrane for use in a membrane-aerated biofilm reactor	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical Engineering Journal	6. 最初と最後の頁 108442 ~ 108442
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bej.2022.108442	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Qi Chuang, Zhou Yiwen, Suenaga Toshikazu, Oba Kohei, Lu Jilai, Wang Guoxiang, Zhang Limin, Yoon Sukhwan, Terada Akihiko	4. 巻 209
2. 論文標題 Organic carbon determines nitrous oxide consumption activity of clade I and II nosZ bacteria: Genomic and biokinetic insights	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Water Research	6. 最初と最後の頁 117910 ~ 117910
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.watres.2021.117910	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Zhou Yiwen, Zhao Shuting, Suenaga Toshikazu, Kuroiwa Megumi, Riya Shohei, Terada Akihiko	4. 巻 428
2. 論文標題 Nitrous oxide-sink capability of denitrifying bacteria impacted by nitrite and pH	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Engineering Journal	6. 最初と最後の頁 132402 ~ 132402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cej.2021.132402	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suenaga Toshikazu, Ota Takumi, Oba Kohei, Usui Kentaro, Sako Toshiki, Hori Tomoyuki, Riya Shohei, Hosomi Masaaki, Chandran Kartik, Lackner Susanne, Smets Barth F., Terada Akihiko	4. 巻 55
2. 論文標題 Combination of 15N Tracer and Microbial Analyses Discloses N2O Sink Potential of the Anammox Community	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environmental Science & Technology	6. 最初と最後の頁 9231 ~ 9242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.est.1c00674	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yasuda Shohei, Suenaga Toshikazu, Orschler Laura, Agrawal Shelesh, Lackner Susanne, Terada Akihiko	4. 巻 12
2. 論文標題 Metagenomic Insights Into Functional and Taxonomic Compositions of an Activated Sludge Microbial Community Treating Leachate of a Completed Landfill: A Pathway-Based Analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2021.640848	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 該当する

1. 著者名 Zhou Yiwen, Suenaga Toshikazu, Qi Chuang, Riya Shohei, Hosomi Masaaki, Terada Akihiko	4. 巻 118
2. 論文標題 Temperature and oxygen level determine N2O respiration activities of heterotrophic N2O reducing bacteria: Biokinetic study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biotechnology and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 1330 ~ 1341
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bit.27654	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Aizono Maki, Mori Kanako, Oba Kohei, Kuroiwa Megumi, Riya Shohei, Hori Tomoyuki, Terada Akihiko
2. 発表標題 Spatial distributions of transcriptionally active nitrous oxide-producing/reducing bacteria and microbial communities in a membrane-aerated biofilm reactor
3. 学会等名 IWA BIOFILMS CONFERENCE 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kigo Yunje, Hori Tomoyuki, Terada Akihiko
2. 発表標題 Hybrid Membrane-Aerated Biofilm Reactor (H-MABR) for Nitrogen Removal from a Mixture of Municipal and Agricultural Wastewater: Performances and Nitrifiers Communities
3. 学会等名 IWA BIOFILMS CONFERENCE 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三浦宏斗, 木子胤制, 寺田昭彦
2. 発表標題 新規ガス透過膜を用いた膜通気型バイオフィルムリアクターによる排水処理プロセスの開発
3. 学会等名 第57回日本水環境学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大石彬人, 武井大輝, 黒岩恵, 寺田昭彦
2. 発表標題 異なる脱窒酵素を有するアンモニア酸化細菌のN ₂ O生成ポテンシャルの評価
3. 学会等名 第57回日本水環境学会年会 2023年3月15日
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 徐 天祥, 安田昌平, 黒岩恵, 利谷 翔平, 大川泰一郎, 寺田昭彦
2. 発表標題 メタン酸化細菌による微生物タンパク質の産生: イネ根圏と土壌からの集積培養と性能評価
3. 学会等名 化学工学会第88年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大場康平, 末永俊和, 黒岩恵, 寺田昭彦
2. 発表標題 15N トレーサー法を用いた脱窒細菌のN ₂ O 生成・消費ポテンシャルの定量化とメカニズム解明
3. 学会等名 第24回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大場康平, 黒岩恵, 利谷翔平, 寺田昭彦
2. 発表標題 ガス透過膜を用いた集積培養技術による高活性N ₂ O 還元細菌群の集積化と活性評価
3. 学会等名 第56回日本水環境学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小笠原 瑠里, 安田 昌平, 黒岩 恵, 利谷 翔平, 寺田 昭彦
2. 発表標題 メタン酸化細菌 <i>Methylobacterium</i> によるメタンからのエクトイン産生ポテンシャルの評価
3. 学会等名 化学工学会第87年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Magomnang Jameil Jr. Decatoria, Yasuda Shohei, Kuroiwa Megumi, Riya Shohei, Terada Akihiko
2. 発表標題 Growth optimization and biokinetic characterization of a novel bioplastic-producing, methane-oxidizing bacterium, Methylosinus sp. C49
3. 学会等名 化学工学会第87年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Akihiko Terada
2. 発表標題 Membrane-aerated biofilm as a way to mitigate N2O emissions during nitrogen removal
3. 学会等名 2020 Biofilms Virtual Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔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	堀 知行 (Hori Tomoyuki) (20509533)	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・上級主任研究員 (82626)	
研究分担者	末永 俊和 (Suenaga Toshikazu) (80828377)	広島大学・先進理工系科学研究科(工)・助教 (15401)	

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			
ドイツ	ダルムシュタット工科大学			
デンマーク	デンマーク工科大学			
米国	コロンビア大学			
韓国	韓国科学技術院			
中国	南京師範大学			