

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：12605

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2020～2023

課題番号：20KK0243

研究課題名（和文）高効率窒素除去プロセスの温室効果ガス削減に向けた亜酸化窒素還元細菌の全容解明

研究課題名（英文）Revealing the ecophysiologicals of nitrous oxide-reducing bacteria towards the mitigation of greenhouse gas emissions in advanced nitrogen removal processes for wastewater treatment

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） 14,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、省エネ型窒素除去技術に存在する亜酸化窒素（N₂O）の除去を担うN₂O還元細菌の探索、生理生態の解明、細菌の獲得を行い、N₂Oの排出削減に向けた利用技術開発を目的とした。15Nトレーサー法を用いた精緻な活性評価により、N₂O還元細菌の潜在能力と律速因子を明らかにした。メタゲノム解析により、N₂O還元細菌の多くは、脱窒経路の一部が欠落した非脱窒性であること、メチオニン合成で重要なビタミンB₁₂の生成に長けていることを示した。さらに集積培養を介した分離培養により、報告例の無い非脱窒性N₂O還元細菌の獲得に成功した。さらに、N₂O排出削減に適したN₂O還元細菌のゲル固定化の基盤を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

富栄養化の原因物質の窒素化合物を省エネで除去可能なAnammoxプロセスは、場合によって強力な温室効果ガスである亜酸化窒素（N₂O）の排出を増長させるトレードオフを有している。N₂Oは排水処理施設のCO₂フットプリントの大部分を占めることが知られており、排出削減が必要不可欠である。本研究では、省エネ型窒素除去プロセスにおいて安定的にN₂Oを除去可能なN₂O還元細菌の深層理解と有用種の獲得、および削減技術開発の基盤構築を達成した。このような成果により、従来の課題であった排水処理の省エネ化と温室効果ガスの排出削減を両立し、温室効果ガスの削減を達成する技術確立に寄与できることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Energy-saving nitrogen removal from wastewaters occasionally offsets the mitigation of greenhouse gas nitrous-oxide (N₂O) emissions. To break down the trade-off, this study aimed at exploring uncultured N₂O-reducing bacteria, understanding their ecophysiologicals, culturing them, and harnessing them to mitigate N₂O emissions from engineered systems. A fine-tuned 15N tracer method disentangled the potential of N₂O-reducing bacteria and their limiting factors. Metagenomic analysis revealed that the majority of N₂O-reducing bacteria in energy-saving nitrogen removal processes have a non-denitrifying nature, lacking some denitrifying genes, and a trait possessing diversified genes to synthesize vitamin B₁₂, essential for methionine biosynthesis. Long-term enrichment, followed by isolation, attained non-denitrifying N₂O-reducing bacteria. Furthermore, a design of a suitable gel-entrapment technology immobilizing N₂O-reducing bacteria for N₂O mitigation was established.

研究分野：環境バイオテクノロジー

キーワード：亜酸化窒素（N₂O） N₂O還元細菌 Anammox細菌 N₂O消費速度 メタゲノム解析 脱窒細菌 集積培養 15Nトレーサー

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

産業界で過剰に生成された反応性窒素の水環境への流出により、今もなお世界中の閉鎖性水域における富栄養化問題が顕在化している。このような水環境問題解決のための中核的役割として、微生物を用いた窒素除去技術が適用されている。特に嫌気性アンモニア酸化 (Anammox) 細菌を用いた排水中の窒素除去技術は、従来の硝化・脱窒法に比較して必要とするエネルギーを削減できるとともに、廃棄物となる余剰汚泥の発生も少ないことから、省エネ・低コスト型技術として普及展開が加速している (Lackner et al., 2014)。しかしながら、この窒素除去技術では、二酸化炭素の 273 倍の温暖化係数を有する亜酸化窒素 (N_2O) (IPCC, 2022) の排出が懸念されている。条件によっては、この排出量は従来の硝化・脱窒法を上回ることがあり、排水からの窒素除去の省エネ化と温室効果ガスの削減はトレードオフの関係になっている (Terada, 2017)。

このトレードオフを打破すべく、自然界に生息する N_2O を N_2 に変換可能な細菌群である N_2O 還元細菌の利用が期待されている (Shan et al., 2021)。自然界や水処理などの工学システムにおいて有用な N_2O のシンクとなる N_2O 還元細菌の生理生態の深層理解は、 N_2O 還元細菌を利用した N_2O 削減技術の開発につなげられる極めて重要な課題である。しかしながら、省エネ型窒素除去技術に潜む N_2O 還元細菌の生理生態に関する知見は限られている。また、 N_2O 還元細菌が保有する N_2O 還元を担う酵素の酸素耐性が低いいため、酸素暴露により酵素活性が大幅に低下することが懸念されている (Pomowski et al., 2011)。以上のような課題を鑑みると、省エネ型窒素除去技術で N_2O のシンクとして作用する N_2O 還元細菌の生理生態の理解を深めること、それらの細菌を分離培養して応用に繋げること、 N_2O 還元細菌の活性が維持されるような技術を開発すること、が肝要である。

2. 研究の目的

そこで本研究は、省エネ型窒素除去技術に存在する未培養 N_2O 還元細菌の探索、集積化、生理生態の理解を行うとともに、 N_2O の排出削減に向けた利用技術の開発を目的とした。具体的には、省エネ型窒素除去技術として世界的に実用化が進められている Anammox リアクター内に生息している細菌群を対象に、正確な N_2O の生成・消費活性の検出を目指した。次に、窒素除去を行う高度排水処理施設に潜む高活性 N_2O 還元細菌を独自の装置で連続培養し、高効率に N_2O 還元を行う細菌群の集積化・分離培養を行った。さらに、細菌を高密度に固定化する技術として、ゲルによる有用細菌の包括固定化を実施し、その効果を検証した。

3. 研究の方法

3. 1. 安定同位体を用いた Anammox リアクター内の N_2O 還元細菌の活性検出

^{15}N トレーサー法を用いた Anammox リアクターに潜む N_2O 還元細菌の活性検出を行った。アンモニウムイオン (NH_4^+) と亜硝酸イオン (NO_2^-) を含む人工排水 (van de Graaf et al., 1996) を連続的に供給している Anammox リアクター内で集積されているバイオマスを用いた。Anammox リアクターは不織布を担体として充填した容積 5 L の上向流型カラムの形式であり、内部の不織布で形成された顆粒状のバイオフィルムをサンプルとして採取し、リン酸緩衝液で洗浄後、バイオマス濃度を調整して、バイアルに供給した。安定同位体 ^{15}N でラベルしたアンモニウムイオン ($^{15}NH_4^+$) のみを窒素源として供給するバイアル 1 系と、 ^{15}N でラベルした亜硝酸イオン ($^{15}NO_2^-$) と非ラベルの NH_4^+ を液体培地に加えるバイアル 2 系を用意した。 $^{15}NH_4^+$ のみ供給するバイアルと、 $^{15}NO_2^-$ と NH_4^+ を供給するバイアル 1 系には N_2O をバイアル内のヘッドスペースに充填し、回分実験を開始した。ヘッドスペース中に蓄積する分子量の異なる N_2O (分子量 44、45、46) および N_2 (分子量 28、29、30) の濃度を四重極型 GC-MS を用いて時系列的に追跡した。条件は既往の研究を参考にした (Oba et al., 2022)。 $^{15}NH_4^+$ と N_2O を供給したバイアル ($^{15}NH_4^+ + N_2O$) では N_2O が制限基質とならないため、本来備わっている N_2O 消費活性の評価が可能となる。また、 NH_4^+ と $^{15}NO_2^-$ を供給したバイアル ($NH_4^+ + ^{15}NO_2^-$) では、本来備わっている Anammox 活性と、 N_2O 制限下での N_2O 生成・消費活性の評価が可能である。さらに NH_4^+ 、 $^{15}NO_2^-$ 、 N_2O を供給したバイアル ($NH_4^+ + ^{15}NO_2^- + N_2O$) では、本来備わっている Anammox および N_2O 生成・消費活性の評価が可能である。これらの回分試験を通し、Anammox リアクターのバイオフィルムが有する潜在的な N_2O 消費能力を検証した。

3. 2. 産業排水中の窒素除去を行う Anammox リアクター内の N_2O 還元細菌の特徴付け

高濃度に窒素を含む実産業排水の処理を行う Anammox リアクターに潜む N_2O 還元細菌の探索および機能の包括的理解に向け、メタゲノム解析を実施した。 NH_4^+ と NO_2^- を含む人工排水から段階的に実排水の割合を高め、Anammox リアクター内の微生物の馴致を行った。安定的なリアクター運転を達成している期間でサンプルを採取し、DNA 抽出を行った後、RNase による RNA 除去および DNA の精製を行った。これらの方法は既往の研究に準拠した (Yasuda et al., 2021)。得られた DNA に対し、MinION のポータブルシーケンサーによるロングリードシーケンスと、DNSEQ-G400 によるショートリードシーケンスを用いたハイブリッドシーケンスを実施し、高品質なメタゲノムアセンブルゲノム (MAGs) を獲得した。得られた MAGs の網羅的解析を通し、特に窒素代謝に関する代謝能力の評価を行った。

3.3. N_2O 供与型 Anammox リアクター内の微生物叢解析

Anammox リアクターの中で、 N_2O を優先的に利用できる脱窒型 N_2O 還元細菌や、 N_2O 生成が無い非脱窒性 N_2O 還元細菌の生理生態の解明に向け、ガス透過膜を用いた N_2O 供給型の Anammox リアクターを作製した。3.1. で得られた研究結果より、 N_2O 還元細菌の電子受容体である N_2O の供給が制限基質であるという仮説の元、ガス透過膜を介して N_2O の供給をバブルレスに行う連続培養系を構築した。ガス透過膜上に形成されたバイオフィーム中の微生物の機能と系統を評価し、報告例の無い N_2O 還元細菌の集積の可能性を検討した。対照系として N_2O を供給しない同じ寸法・形式の非 N_2O 供給型の Anammox リアクターを構築し、 N_2O の外部供給が集積される N_2O 還元細菌の種類や N_2O 消費活性に及ぼす影響を評価した。3.1. で使用した人工排水を N_2O 供給・非供給型の Anammox リアクターに連続通水させた。集積されたバイオマスは時系列的に採取して DNA 抽出を実施した後、16S rRNA 遺伝子の V4 超可変領域を対象としたアンプリコンシーケンス、ならびに脱窒に関連する機能遺伝子量の定量を実施した。これらの方法は既往の研究を参考にした (Suenaga et al., 2019)。リアクター運転期間の終盤にバイオマスを採取し、3.1. に示す ^{15}N トレーサー法を適用して N_2O 外部供給がバイオマスの N_2O 消費性能の向上に及ぼす影響を評価した。また、リアクター運転終了時に、バイオマスに蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法を適用し、Anammox 細菌と共存する細菌の空間分布を評価した。さらに、採取したバイオマスに対して、既往研究 (Yasuda et al., 2021) を参考に DNA 抽出および精製を行い、メタゲノム解析を実施した。高品質な MAGs を獲得した後、 N_2O を含めた脱窒に関連する遺伝子型の網羅的な評価を行った。Anammox リアクターで外部供給する N_2O は、メチオニン合成に必須となるビタミン B12 (Lawson et al., 2017) を酸化分解することから (Sullivan et al., 2013)、Anammox 細菌から供給されるビタミン B12 で片利共生している細菌の生存にもたらす影響も併せて評価した。

3.4. N_2O 還元細菌の分離培養の試みと網羅的代謝ポテンシャル・活性評価

3.3. の N_2O 供給型 Anammox リアクターで集積されたバイオマスを、リン酸緩衝液で段階希釈し、3.3. で用いた Anammox リアクターの処理水を混ぜ込んだ 1.0 wt% のゲランガム固体培地に塗布した。5% (vol/vol) の N_2O で満たした嫌気ジャー内で培養を行った後、培地上で形成されたコロニーをピックアップし、単離菌株を獲得した。活性評価として、JCM 12 培地を用いて好氣的に培養を行った単離菌株をバイアルに入れた。JCM 12 培地をバイアルに添加し、ヘッドスペースに N_2O を充填させることで N_2O のみを電子受容体とした。30°C の無酸素条件下で N_2O の消費を確認した。実験の詳細は既往研究の方法に準拠した (Oba et al., 2022)。全ゲノム解読に向け、JCM 12 培地で好氣的に液体で培養後、バイオマスを遠心分離を経て回収し、DNA の抽出と精製を行った。MinION を用いたロングリードシーケンスを実施し、全ゲノム配列を解読した。得られた配列より、特に窒素化合物の変換に関連する遺伝子の有無を調査した。

3.5. アルギン酸カルシウムのゲルを用いた N_2O 還元細菌の包括固定化の試み

すでに分離培養に成功している N_2O 還元細菌 *Azospira* sp. strain I13 のゲル固定化と動力学的解析を行った。ゲル固定化で用いるアルギン酸カルシウム濃度 0.5 wt% から 3.0 wt% まで変化させた際の固定化細菌の N_2O 消費活性を評価した。動力学的解析では、既往研究 (Suenaga et al., 2018) を参考にして酸素および N_2O 微小電極を導入した呼吸活性装置を用いた。得られた酸素濃度および N_2O 濃度をモノ式にカーブフィッティングし、動力学的パラメーターを算出した。

4. 研究成果

4.1. 安定同位体を用いた Anammox リアクター内の N_2O 還元細菌の活性検出

バイアル内のヘッドスペースに N_2O を添加したバイオマスの N_2O 消費活性は N_2O を外部添加しないそれと比較して、1.51-1.64 倍に上昇した。この結果は、Anammox 細菌が優占したバイオマスの微生物叢において、 N_2O が消費速度の律速因子になっていることを示している。また、 $^{15}NH_4^+ + N_2O$ のバイアルと $NH_4^+ + ^{15}NO_2^- + N_2O$ のバイアルのバイオマスの N_2O 消費活性に有意差が無いことが明らかになった。 $^{15}NH_4^+ + N_2O$ のバイアルでは Anammox 反応の電子受容体である NO_2^- が枯渇しており、Anammox 活性が非検出であること、 $NH_4^+ + ^{15}NO_2^- + N_2O$ のバイアルでは、Anammox 活性があることが示されていることから、 N_2O 消費活性は Anammox 活性に影響を受けないことを明らかにした。また、 $NH_4^+ + ^{15}NO_2^- + N_2O$ のバイアルでは、 N_2O 消費活性が N_2O 生成活性を上回ったことから、Anammox リアクターに生息する微生物叢は、 N_2O の供給が十分であれば、 N_2O シンクとして働くことを明らかにした。また、潜在的な N_2O 消費能力としての N_2O 消費速度は Anammox 細菌の反応速度の 10% 未満であった。

4.2. 産業排水中の窒素除去を行う Anammox リアクター内の N_2O 還元細菌の特徴付け

実産業排水中の窒素除去を担う Anammox リアクターの微生物叢解析として、66 の MAGs を獲得した。 N_2O 還元酵素をコードする機能遺伝子 *nosZ* を手掛かりとして N_2O 消費能力を有する細菌群の解析を行ったところ、66 の MAGs のうち 28 が *nosZ* を保有していること、そのうちの 21 が NO_2^- から窒素ガスに変換する脱窒のいずれかの経路が欠落した N_2O 還元細菌であることを明らかにした。この結果より、実排水の窒素除去を担う Anammox リアクターには Anammox 細菌と共存する非脱窒性の細菌群が N_2O 消費を担っている可能性を示唆した。

4.3. N_2O 供与型 Anammox リアクター内の微生物叢解析

N_2O 供給型および N_2O 非供給型 Anammox リアクターの微生物叢の解明と活性評価を実施した。2 つのリアクターで集積されたバイオマスを取り出し、バイアル内で真の N_2O 生成と N_2O 消費速度を比較した結果、 N_2O 生成速度において差が見られなかった一方、 N_2O 消費速度は N_2O 外部供給により集積されたバイオマスにおいて高くなることを明らかにした。これにより、外部 N_2O 供給が、集積される N_2O 還元細菌の N_2O 消費能力を高めることを示唆した。時系列的に微生物叢を追跡した結果、 N_2O の外部供給の有無にかかわらず、非脱窒性の N_2O 還元細菌の多くが集積化され、これらが帰属する clade II *nosZ* の遺伝子コピー数が、既知の N_2O 還元細菌が帰属する clade I *nosZ* の遺伝子コピー数より高くなることを示した。また、Chlorflexota 門が Anammox 細菌と共存する主要な従属栄養細菌であることも明らかにした。さらに、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法を適用した結果、Chlorflexota 門の細菌が Anammox 細菌を覆い、バイオマス凝集体の表層に生息していることを解明し、Chlorflexota 門と Anammox 細菌の共生関係を示唆した。

メタゲノム解析を実施し、Anaerolineaea, Ignavibacteria, Gemmatimonadota, Planctomycetota に属する MAGs を獲得した。これらのゲノムの多くが clade II *nosZ* を保有し、硝酸イオンから N_2O への還元経路を担う酵素をコードするいずれかの遺伝子が欠損していることを確認した。また、Anaerolineaea の一種である *Dehalococcidia* の MAG は、 N_2O の存在によって分解されるビタミン B12 の合成経路の遺伝子を多く保有しており、過剰な N_2O 存在時でも代謝活性を維持してビタミン B12 を合成してメチオニンの生成をサポートする可能性を示唆した。一方、ビタミン B12 に依存しないメチオニン合成経路を有する MAG は、 N_2O 供給型 Anammox リアクターで検出されなかった。以上より、 N_2O 供給においても、ビタミン B12 を合成して生存できる N_2O 還元細菌により、 N_2O 削減に寄与できる可能性が示唆された。

4.4. N_2O 還元細菌の分離培養の試みと網羅的代謝ポテンシャルと活性評価

Anammox リアクターの処理水をゲランガムに混ぜ込んだ固体培地にコロニーの形成を確認した。獲得したコロニーを用いて、細菌の分離培養を行った。コンタミネーション無く増殖可能な種類を選別し、全 16S rRNA 遺伝子のシーケンスを解読してデータベースと照合した結果、*Afipia carboxidovorans* と近縁な *Afipia carboxidovorans* strain SH125 を獲得した。*A. carboxidovorans* strain SH125 の全ゲノム解析の結果、サイズは 3.74 Mb、G + C 含有量は 62.3% であった。また、3682 のタンパク質コード配列を有し、3 つの rRNA 遺伝子を有していた。*A. carboxidovorans* strain SH125 の窒素化合物の変換に関連する遺伝子群を確認した結果、従来から知られている clade I *nosZ* を保有することを確認した。バイアルを用いた N_2O 消費活性試験において *A. carboxidovorans* strain SH1 は有機炭素の存在下で N_2O の消費を確認し、 N_2O 還元細菌であることを明らかにした。Clade I *nosZ* を保有する一方、 NO_2^- 還元により一酸化窒素 (NO) を生成する酵素をコードする *nirK* および *nirS*、NO を N_2O に還元する酵素をコードする *norB* を保有していないことを明らかにした。

これより、*A. carboxidovorans* strain SH125 は非脱窒性の clade I *nosZ* タイプの N₂O 還元細菌であると同定した。さらに、*A. carboxidovorans* strain SH125 は、NO₂⁻を NH₄⁺に異化的に変換可能な酵素をコードする *nirB* と *nirD* 遺伝子を保有することを明らかにした。

4.5. アルギン酸カルシウムのゲルを用いた N₂O 還元細菌の包括固定化の試み

N₂O 還元細菌 *Azospira* sp. strain I13 を細胞が漏出することなくアルギン酸カルシウム内に包括固定する条件を特定できた。顕微鏡観察により、アルギン酸カルシウムのゲルの厚さ方向にかかわらず細胞が分散していることも明らかにできた。さらに、アルギン酸カルシウム濃度が高くなるにつれて、機械的強度が高くなり、長期間の使用によるゲルの崩壊が抑制できた。呼吸活性装置を用いた活性評価を実施した結果、懸濁状態の *Azospira* sp. strain I13 は酸素の存在下で N₂O 消費活性が低下するものの、ゲル内に固定化することで酸素濃度に対する N₂O 消費活性の低下を緩和できることを明らかにした。一方、アルギン酸カルシウム濃度を上げることで見かけ上の N₂O 消費活性が下がる一方、見かけ上の N₂O の半飽和定数に大きな影響を与えないことを示した。また、獲得した *A. carboxidovorans* strain SH125 のアルギン酸カルシウムへの固定化にも成功した。今後は、ゲル内の酸素および N₂O 濃度分布を明らかにすることでゲルの最適なサイズを解明し、N₂O 還元細菌の固定化ゲルによる長期 N₂O 削減効果の検討を行う予定である。

引用文献

- IPCC 2022 Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [H.-O. Pörtner, D.C.R., M. Tignor, E.S. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Craig, S. Langsdorf, S. Löschke, V. Möller, A. Okem, B. Rama (eds.)] (ed), p. 3056, Cambridge, UK and New York, NY, USA.
- Lackner, S., Gilbert, E.M., Vlaeminck, S.E., Joss, A., Horn, H. and van Loosdrecht, M.C.M. 2014. Full-scale partial nitrification/anammox experiences - An application survey. *Water Research* 55, 292-303.
- 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.
- Oba, K., Suenaga, T., Kuroiwa, M., Riya, S. and Terada, A. 2022. Exploring the Functions of Efficient Canonical Denitrifying Bacteria as N₂O Sinks: Implications from 15N Tracer and Transcriptome Analyses. *Environmental Science & Technology* 56(16), 11694-11706.
- Pomowski, A., Zumft, W.G., Kroneck, P.M.H. and Einsle, O. 2011. N₂O binding at a [4Cu:2S] copper-sulphur cluster in nitrous oxide reductase. *Nature* 477(7363), 234-237.
- Shan, J., Sanford, R.A., Chee-Sanford, J., Ooi, S.K., Löffler, F.E., Konstantinidis, K.T. and Yang, W.H. 2021. Beyond denitrification: The role of microbial diversity in controlling nitrous oxide reduction and soil nitrous oxide emissions. *Glob. Change Biol.* 27(12), 2669-2683.
- 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.
- Suenaga, T., Riya, S., Hosomi, M. and Terada, A. 2018. Biokinetic Characterization and Activities of N₂O-Reducing Bacteria in Response to Various Oxygen Levels. *Frontiers in Microbiology* 9(697).
- Sullivan, M.J., Gates, A.J., Appia-Ayme, C., Rowley, G. and Richardson, D.J. 2013. Copper control of bacterial nitrous oxide emission and its impact on vitamin B12-dependent metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110(49), 19926-19931.
- Terada, A. 2017. Breaking trade-off in nitrogen management and sustainability. *Clean Technologies and Environmental Policy* 19(8), 1993-1994.
- van de Graaf, A.A., de Bruijn, P., Robertson, L.A., Jetten, M.S.M. and Kuenen, J.G. 1996. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology* 142(8), 2187-2196.
- Yasuda, S., Suenaga, T., Orschler, L., Agrawal, S., Lackner, S. and Terada, A. 2021. Metagenomic Insights Into Functional and Taxonomic Compositions of an Activated Sludge Microbial Community Treating Leachate of a Completed Landfill: A Pathway-Based Analysis. *Frontiers in Microbiology* 12(948).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Toshikazu Suenaga, Takumi Ota, Kohei Oba, Kentaro Usui, Toshiki Sako, Tomoyuki Hori, Shohei Riya, Masaaki Hosomi, Kartik Chandran, Susanne Lackner, Barth F. Smets, Akihiko Terada | 4. 巻 55(13) |
| 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 Kohei Oba, Toshikazu Suenaga, Shohei Yasuda, Megumi Kuroiwa, Tomoyuki Hori, Susanne Lackner, Akihiko Terada | 4. 巻 39 |
| 2. 論文標題 Quest for Nitrous Oxide-reducing Bacteria Present in an Anammox Biofilm Fed with Nitrous Oxide | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Microbes and Environments | 6. 最初と最後の頁 Me23106 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1264/jsme2.ME23106 | 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 Kohei Oba, Shohei Yasuda, Akihiko Terada | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 Complete genome sequence of Afipia carboxidovorans strain SH125, a non-denitrifying nitrous oxide-reducing bacterium isolated from anammox biomass | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements | 6. 最初と最後の頁 e01279-23 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/mra.01279-23 | 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 |

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 3件/うち国際学会 6件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Kohei Oba, Toshikazu Suenaga, Megumi Kuroiwa, Shohei Riya, Akihiko Terada |
| 2. 発表標題 A15N tracer method reveals canonical denitrifiers, Azospira spp., as a nitrous oxide consumer in the presence of nitrate |
| 3. 学会等名 18th International Symposium on Microbial Ecology（国際学会） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Akihiko Terada |
| 2. 発表標題 Harnessing microbial communities for bioenergy recovery;greenhouse gas mitigations |
| 3. 学会等名 The 6th International Conference on Integrated and Innovative Solutions for Circular Ecology (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 大場康平, 黒岩恵, 堀知行, 寺田昭彦 |
| 2. 発表標題 Anammoxプロセスの温室効果ガス削減に貢献するN2O還元細菌の探索と機能解明 |
| 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 Akihiko Terada |
| 2. 発表標題 A novel biofilm reactor using a gas-permeable membrane for cost-effective nitrogen removal: Challenges and opportunities |
| 3. 学会等名 Sustainable Development on Water Reclamation and Reuse (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Jannah Salsabil, Tokuyama Hideaki, Terada Akihiko |
| 2. 発表標題 Effect of Calcium Alginate Gel Concentration on Mitigation of N2O Emission by Gel Entrapped Azospira sp. strain I13: A Biokinetic Study |
| 3. 学会等名 Water Technology Conference 2023 (Online) (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Akihiko Terada |
| 2. 発表標題 Organic carbon species selects predominant N2O-reducing bacteria: The insights from biokinetics and genomics of canonical denitrifying bacteria |
| 3. 学会等名 18th IWA Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Oba Kohei, Kuroiwa Megumi, Terada Akihiko |
| 2. 発表標題 Phylogeny, abundance, and function of N2O-reducing bacteria in an anammox biofilm |
| 3. 学会等名 The Eighth International Conference on Nitrification and Related Processes (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 大場 康平、寺田 昭彦 |
| 2. 発表標題 ガス透過膜を用いた集積培養装置の亜酸化窒素還元細菌群の集積化培養への利用 |
| 3. 学会等名 化学工学会第89年会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2024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 | 黒岩 恵 (Kuroiwa Megumi) (00761024) | 東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・助教 (12605) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 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 | 徳山 英昭 (Tokuyama Hideaki) (10363029) | 東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授 (12605) | |
| 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) | |
| 研究分担者 | 安田 昌平 (Yasuda Shohei) (10910672) | 東京農工大学・学内共同利用施設等・特任助教 (12605) | |

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 |
|---------|---------|
| | |