

生物診断（遺伝子解析技術による微生物の定量および群集解析）

生物学的排水処理においては、汚泥（MLSS）濃度などの管理が行われています。これに加え、実際に処理に参与している微生物の種類や量をモニタリングすることで、より高度な維持管理を行うことができる場合があります。

もともと、活性汚泥などの環境試料の中に存在する微生物の検出は培養法で行われてきました。しかし、環境中の微生物のうち、通常の培養法で検出できる微生物はごく一部であり、ほとんどは培養が非常に困難であることが明らかになっています。

当社では、生物学的排水処理の維持管理に有用な情報となる汚泥中の微生物の種類や量を解析するため、培養を伴わない遺伝子解析技術を利用した生物診断を実施しています。ここでは、実施頻度の高い「定量解析」と、最近開始した「網羅的微生物群集解析」についてご紹介します。

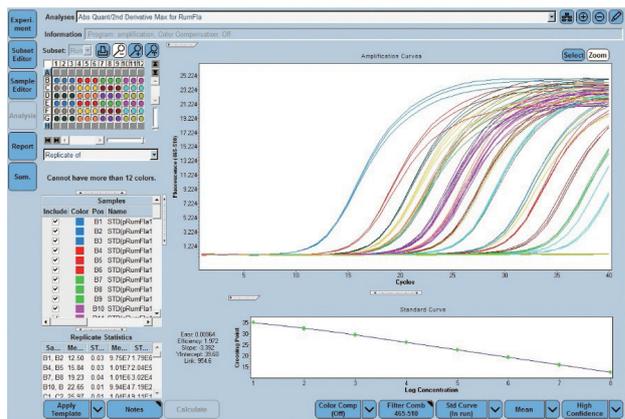
1. 特定微生物の定量解析

新型コロナウイルス検査でも採用されているリアルタイム PCR 法により、着目している微生物がどれくらい存在するかを高精度・高感度に測定します。PCR（Polymerase Chain Reaction）法とは、特定の遺伝子の断片を増幅し、目的物の検出・調査に十分な量まで増やす技術です。

例えば、新型コロナウイルス感染者の陽性確認では唾液などから、下水中のウイルス検査では下水流入水から、当社の生物診断では汚泥などから、それぞれの試料に適した方法で DNA（デオキシリボ核酸：生物の遺伝情報が書込まれた生体高分子）や RNA（リボ核酸：同上）を抽出し、リアルタイム PCR 法でウイルスや微生物を定量します。関西熱化学株式会社など、排水処理設備をお持ちのお客様から定期的に数種類の微生物の定量解析を当社にご依頼頂き、維持管理の指標として活用頂いている実績があります。検出事例がある微生物として、工場排水・下水処理分野ではアンモニア酸化細菌・亜硝酸酸化細菌・硝酸還元細菌などの硝化脱窒に参与する細菌、メタン発酵分野ではメタン生成古細菌、上水処理分野では鉄・マンガン酸化細菌などがあります。



リアルタイム PCR 装置
(Roche 社製 LightCycler® 480 system II)



リアルタイム PCR 装置
解析結果表示画面の例

2. 網羅的微生物群集解析

次世代シーケンス解析という手法により、試料から抽出した微生物群の DNA 塩基配列を網羅的に解析し、試料中に存在する微生物の構成と存在比率（どんな微生物が、どんな比率で存在するのか）を推定します。

この解析で使用する次世代シーケンサーでは、1回の解析で従来の DNA シーケンサー（96 well タイプ）に比べて最大約20,000倍の数の DNA 塩基配列データが得られるため、試料中に存在するほぼ全ての微生物の網羅的な検出が可能です。活用方法の例として、排水処理の状況が良い時と悪い時にそれぞれ数回ずつ網羅的微生物群集解析を実施し、処理水質との関連性を統計解析によって明らかにし、処理性能を左右する微生物（キーバクテリア；KB）を特定する、という方法が挙げられます。さらに、KBを特定した後は、リアルタイム PCR 法でKBを定期的に定量解析して排水処理の安定化の指標にする、という利用も考えられます。

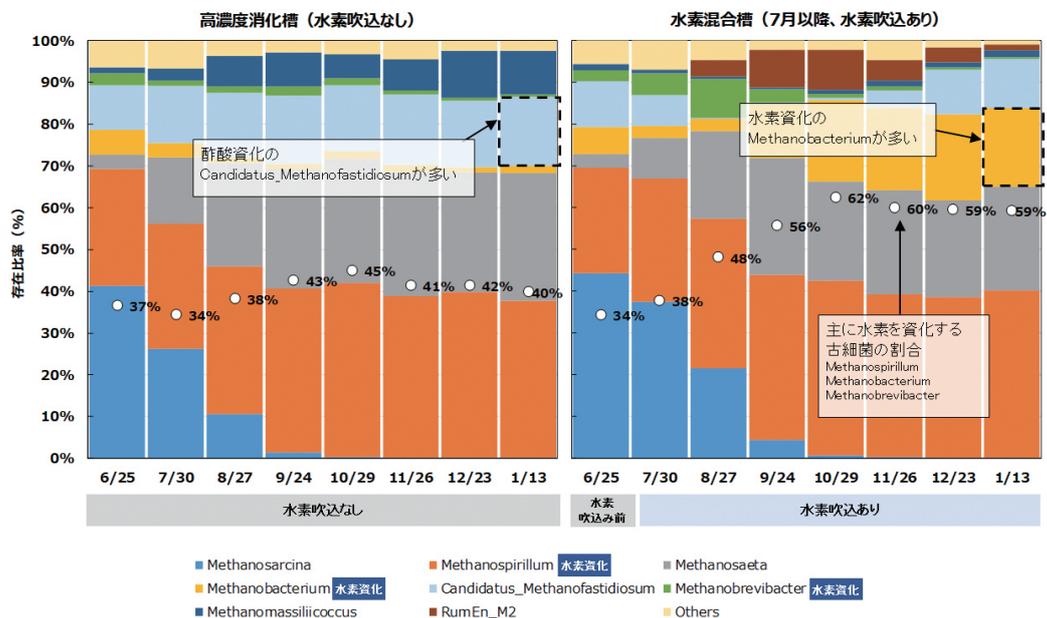
なお、網羅的微生物群集解析を実施する場合は、試験方法や試料採取方法に注意点がありますので、事前に（できれば試験計画等の立案前に）ご相談下さい。



網羅的微生物群集解析の活用例

【網羅的微生物群集解析の実施例】

富士市東部浄化センターで実施した B-DASH プロジェクトにおけるメタン生成古細菌の解析結果



高濃度消化槽および水素混合槽における古細菌の存在比率

高濃度消化槽と水素混合槽から定期的に消化汚泥をサンプリングし、微生物全体の DNA を抽出した後、メタン生成古細菌を対象に解析を行いました。その結果、水素吹込みを開始した7月以降で両槽の微生物群集に違いが現れ、水素を吹込んだ水素混合槽では水素吹込み無しの高濃度消化槽よりも水素資化性メタン生成古細菌の存在比率が高くなっていったことが分かりました。