

特異的プライマーを用いたPCR法による 硝化細菌16SrRNA遺伝子の特異的検出

成田勝*, 中村玄正**, 松本順一郎***, 遠藤銀朗****

* 東北学院大学大学院 工学研究科土木工学専攻

** 日本大学 工学部土木工学科

*** (現) 東北大学・東京大学名誉教授

**** 東北学院大学 工学部土木工学科

概 要

水域の富栄養化現象防止のために新しい浄化槽の機能として、窒素等で代表される栄養塩の除去を行う必要がある。現在、窒素除去プロセスは、生物学的硝化・脱窒素法が最も優れた方法とされている。しかし、これに関与する硝化細菌の動態調査のための細菌の検出、同定および定量には多くの時間と困難を要している。本研究においては、近年進展の著しい遺伝子工学の分野で用いられている分子生物学的手法、すなわち、時間遅れの無い即時的手法と期待されるPCR法を用いることで、硝化細菌を特異的に検出する方法を確立しようとするものである。従属栄養の硝化細菌である *Arthrobacter globiformis* を対象細菌とし、それに特異的とされる2つのDNAプライマーセットを用い、PCR法を適用することで硝化細菌の特異的検出を検討した。結果として、Nested PCR法を適用することによりPCR反応条件のアニーリング温度を68℃と設定することで4種の対照菌株から識別して *A. globiformis* のみを特異的に検出することが可能となった。

Specific Detection of 16SrRNA Gene of Heterotrophic Nitrifying Bacteria by PCR Method with Specific Primers.

Masaru NARITA*, Michimasa NAKAMURA**
Junichiro MATSUMOTO***, Ginro ENDO****

* ,****Dept. of Civil Engineering, College of Engineering,
Tohoku Gakuin University

**Dept. of Civil Engineering, College of Engineering,
Nihon University

***Tohoku University • Tokyo University

Abstract

Nitrogen removal in domestic wastewater treatment processes is very important to prevent environmental water eutrophication. Especially, biological nitrogen removal processes are much economic for the purpose. To develop more effective biological nitrogen removal processes, microbial ecology of nitrifying bacteria must be studied in detail, because nitrifying process is a rate-limiting step in the nitrogen removal processes.

However, ecological research of nitrifying bacteria participated in the biological nitrification is very difficult with the conventional bacteriological methods.

In this study, we tried specific detection of 16SrRNA gene of nitrifying bacteria, by using PCR method which is widely used in the detection of environmental microorganisms. *Arthrobacter globiformis*, a heterotrophic nitrifying bacteria was employed as a target microorganisms by the PCR detection. It was known that two species specific oligonucleotide PCR primers named Ag2R and Ag3R and one universal PCR primer named 520F can be used for the specific amplification of the *A. globiformis* 16SrRNA gene. Nested PCR with these three PCR primers at 68°C of annealing temperature was found to be effective for the specific detection of *A. globiformis*, a heterotrophic nitrifying bacteria.

(1997年11月17日受理)