1Jp20 原位置バイオレメディエーションへの利用を目指した *Dehalococcoides* 属細菌の簡易検出方法の開発

○岩本 めぐみ¹, 石川 智仁¹, 崎原 盛^{1,2}, 西村 実²,
宮下 雪子³, 山田 和弘¹, 尾高 雅文¹, 養王田 正文¹
(¹農工大・院工・生命工, ²IS Solutions, ³Precision System Science)

<背景・目的>クロロエテン類の嫌氣的バイオレメディエーションによる浄化は主に *Dehalococcoides* 属細菌が担っており、効果的な浄化にはその種類や量を把握することが必要である。これらの迅速かつ簡便な検出方法の開発を目的とし、Precision System Science社の開発した微生物回収技術（バクテリアキャプチャピーズ）による微生物濃縮系と抗還元的脱塩素化酵素（RDase）抗体を用いた検出系の構築を試みた。

<実験方法・結果>バクテリアキャプチャピーズを用いて、クロロエテン類に汚染されている地下水から微生物を回収しDNAを定量したところ、既存の方法と同等以上の回収率が得られた。また、HisTag融合タンパク質として大腸菌で発現・精製した種々のRDaseを抗原としてモノクローナル抗体を作製した。各抗体の抗原結合能を計測したところ、本検出方法において地下水中の *Dehalococcoides* 属細菌が検出可能であることが示唆された。

Development of a simple method to detect *Dehalococcoides* species for in situ bioremediation

○Megumi IWAMOTO¹, Tomonori ISHIKAWA¹, Sakari SAKIHARA^{1,2}, Minoru NISHIMURA², Yukiko MIYASHITA³, Kazuhiro YAMADA¹, Masahumi ODAKA¹, Masahumi YOYODA¹
(¹Dept. Biotechnol., Tokyo Univ. Agric. Technol., ²IS Solutions, ³Precision System Science)

Key words In situ bioremediation, *Dehalococcoides*, VOCs, Reductive dehalogenase

1Jp22 外来菌を用いた 2,4-D 汚染土壌スラリー浄化が土着微生物群集に及ぼす影響の評価

○井上 大介¹, 山崎 祐二¹, 筒井 裕文¹, 清 和成¹, 惣田 訓¹,
藤田 正憲^{1,2}, 池 道彦¹
(¹阪大院・工・環エネ, ²高知高専)

【目的】遺伝子組換え菌等の外来菌を用いたバイオオーグメンテーションは高等生物への健康被害や微生物群集の攪乱等のバイオリスクを上昇させる可能性があるため、その利用には適正なリスク評価が必要となる。本研究では、バイオリスク評価のモデルスタディとして、外来菌による2,4-D汚染土壌スラリーの浄化実験を行い、外来菌の導入が土着微生物群集に及ぼす影響を評価した。

【方法及び結果】2,4-D部分分解プラスミドpJP4をもつ外来菌を2,4-D汚染土壌スラリーマイクロコスムに導入し、2,4-D分解、及び土着微生物群集の構造と炭素・窒素代謝能、病原菌プロファイルの変遷をモニタリングした。外来菌は速やかに減少したが、外来菌導入系ではコントロール系より速やかな2,4-D分解が確認された。土着微生物群集構造は、実験初期にはコントロール系と異なったが、外来菌減少後にはコントロール系と高い類似性を示した。炭素・窒素代謝能も、一時的な活性化/低下を招くケースがあったが、時間経過とともに緩和された。また、1012種の病原菌を標的としたマイクロアレイを用いて病原菌プロファイルを解析した結果、検出された病原菌の多くは特に変化せず、ごく少数が一時的に増加するのみであった。これらの結果から、外来菌の導入が土着微生物群集に及ぼす影響は大きくないと示唆された。

Impact of bioaugmentation of 2,4-D-contaminated soil slurry with exogenous bacteria on indigenous microbial community

○Daisuke INOUE¹, Yuji YAMAZAKI¹, Hirofumi TSUTSUI¹, Kazunari SEI¹, Satoshi SODA¹, Masanori FUJITA^{1,2}, Michihiko IKE¹
(¹Div. Sustain. Energy Environ. Engineer., Osaka Univ., ²Kochi Natl. Coll. Technol.)

Key words bioaugmentation, bio-risk, indigenous microbial community, soil slurry microcosm

1Jp21 *Dehalococcoides* コンソシア解析技術の開発と次世代 DNA シークエンサーによる解析

○養王田 正文¹, 大石 章二¹, 牛頭峰一峰¹, 臺場 昭人¹,
宮下 雪子², 宮島 隆³, 西村 実⁴, 矢木 修身⁵, 塚原 正俊^{6,7},
照屋 盛実^{7,8}, 喜久里 育也^{7,9}, 藤森 一浩^{7,10}, 今田 有美^{6,7},
鼠尾 まい子^{6,7}, 佐藤 友紀^{7,9}, 矢野 修一^{6,7}, 三輪 友希乃^{6,7},
町田 雅之^{7,10}, 平野 隆^{7,10}
(¹東京農工大, ²PSS, ³TM Software, ⁴IS Solutions, ⁵日大,
⁶トビカルテクノセ, ⁷沖繩先端ゲノム, ⁸沖繩工技セ, ⁹沖繩科技振興セ, ¹⁰産総研)

クロロエテン類等の揮発性有機塩素化合物で汚染された土壌や地下水を浄化する方法として、微生物の嫌氣的脱塩素化を利用したバイオレメディエーションが期待されている。この浄化は *Dehalococcoides* 属細菌を中心とするコンソシアが担っていることから、コンソシアを形成している微生物群の状況を正確に把握することが浄化の成否に重要である。今回は、我々が開発している 16S rRNA 遺伝子や脱塩素化酵素を対象とした新しいコンソシア解析技術の開発と次世代 DNA シークエンサーによるコンソシア遺伝子解析の結果を報告する。

Development of DNA analysis technology for *Dehalococcoides* and its genome analysis by next generation DNA sequencer consortia

○Masafumi YOYODA¹, Shoji OHISHI¹, Minekazu GOZU¹, AKITO DAIBA¹, Yukiko MIYASHITA², Takashi MIYAJIMA³, Minoru NISHIMURA⁴, Osami YAGI⁵, Masatoshi TSUKAHARA^{6,7}, Morimi TERUYA^{7,8}, Ikuya KIKUZATO^{7,9}, Kazuhiro FUJIMORI^{7,10}, Yumi IMADA^{6,7}, Maiko NEZUTA^{6,7}, Yuki SATOU^{7,9}, Shuichi YANO^{6,7}, Yukino MIWA^{6,7}, Masayuki MACHIDA^{7,10}, Takashi HIRANO^{7,10}
(¹Tokyo Univ. A & T, ²PSS, ³TM Software, ⁴IS Solutions, ⁵Nihon Univ., ⁶TTC, ⁷OGCP, ⁸OITC, ⁹OSTC, ¹⁰AIST)

Key words dehalogenation, bioremediation, trichloroethylene, genome

1Jp23 Biodegradation of DDT by Cattle Manure Compost

○Purnomo Adi¹, Futoshi Koyama¹, Toshio Mori¹,
Ryuichiro Kondo¹
(¹Dept. Forest and Forest Products Sciences, Kyushu University)

The purpose of this study is to investigate the ability of cattle manure compost (CMC) to degrade 1,1,1-Trichloro-2,2-bis-(4-chlorophenyl) Ethane (DDT). DDT was degraded during composting and also by all composting stages of compost matters. DDD (1,1-dichloro-2,2-bis-(4-chlorophenyl) ethane) was detected as metabolic product. Degradation of DDT at 60°C is more effective in all stages of composting. Finished stage of CMC degraded DDT to 1,1-dichloro-2,2-bis-(4-chlorophenyl) ethylene (DDE). Seventeen strains of fungi were isolated from CMC. Most of them showed high ability to degrade DDT both at 30° and 60°C. DDD and 4,4-dichlorobenzophenone (DBP) were detected as metabolic products. For application purpose, degradation of artificial DDT-contaminated soil by CMC was investigated. Mesophilic, maturation and finished stages degraded DDT about 33%, 15%, and 28%, respectively, during 4 weeks incubation time. These results indicated that CMC is the potential nature source which can be used for bioremediation of DDT.

Biodegradation of DDT by Cattle Manure Compost

○Purnomo Adi¹, Futoshi Koyama¹, Toshio Mori¹, Ryuichiro Kondo¹
(¹Dept. Forest and Forest Products Sciences, Kyushu University)

Key words biodegradation, DDT, cattle manure compost, contaminated-soil