

B-24

トリクロロエチレンおよびフェノール高分解リアクターにおける
Variovorax 属細菌の分解特性

ふたまた ひろゆき はらやま しげあき わたなべ かずや ひらいし あきら
 ○二又 裕之、原山 重明*、渡辺 一哉*、平石 明
 豊橋技科大 エコロジー工学系、海洋バイオ 釜石研*

【目的】飽和帶土壤を接種源とし、フェノールを唯一の炭素源とする培地を連続供給することで構築したバイオリアクターは、トリクロロエチレン (TCE) およびフェノールを高効率で分解した。本リアクターにおける細菌群集の優占種が、最終的に *Variovorax* 属細菌となることを明らかにした¹⁾。そこで、本研究では *Variovorax* 属細菌の分離とそれらの分解特性の解析を行った。

【方法】*Variovorax* 属細菌の増殖過程を追跡するため、遺伝的手法による本細菌数の測定を試みた。そこでまず、直接プレート法により分離した複数の *Variovorax* 属細菌を用いて phenol hydroxylase の α サブユニットをコードしている遺伝子 (LmPH) を解析した。異なる複数の LmPH と比較することで本遺伝子を特異的に增幅するプライマーを設計し、競合 PCR 法により *Variovorax* 属細菌の菌数を推定した。次に *Variovorax* 属細菌の分解特性を把握するため、連続培養によって生育した各菌体を用いて TCE およびフェノールに対する速度論量を解析し、他のフェノール資化性 TCE 分解細菌のそれらと比較した。

【結果および考察】培養 21 日目まで *Variovorax* 属細菌数は約 3×10^7 copies mL⁻¹ で推移し、全細菌および TCE 高分解細菌に占める割合はそれぞれ 0.7% および 4.3% であった。培養 24 日目以降、菌数は徐々に増加し最終的に約 2×10^9 copies mL⁻¹ に達した。全細菌および TCE 高分解細菌に占める割合はそれぞれ 42% および 100% であった。分離した *Variovorax* 属細菌 4 菌株の TCE に対する見かけの親和定数および最高速度は約 5.2 μM および 1.5 $\mu\text{mol min}^{-1}\text{g}^{-1}\text{dry cells}$ 、フェノールに対するそれらは約 7.1 μM および 114 $\mu\text{mol min}^{-1}\text{g}^{-1}\text{dry cells}$ であった。一方、これまでに分離されたフェノール資化性 TCE 分解細菌の TCE に対する親和定数はフェノールに対するそれの 10 倍から 100 倍以上大きいことが示されている²⁾。このことから、これまでの TCE 分解菌よりも *Variovorax* 属細菌は基質間の競合阻害を受けにくく、TCE 汚染に対するバイオレメディエーションへの本菌株群およびリアクターの有効性が示唆された。しかし、*Variovorax* 属細菌の特異的な分解特性が何に依存しているのかは定かでない。現在、分離した *Variovorax* 属細菌を用いて phenol hydroxylase 遺伝子のクローニングおよび解析を行っている。

1) 二又ら：日本微生物生態学会講演要旨集 p83 (2000)

2) Futamata H. et al.. Appl. Microbiol. Biotech. (2001) 55:248-253