

P19-5

Biokinetic analysis of 1,2-DCA dechlorination by *Geobacter* sp. AY harboring a plasmid pAY30 coding 1,2-DCA reductive dehalogenase

○Binti Abdullah Umami Afifah¹、Kiyotoshi Asahi²、Yuu Hirose³、Arata Katayama⁴、Wataru Kioka¹、Naoko Yoshida⁵

¹Dept. Civil Eng. Sys. Manag., Nagoya Inst. Technol., ²Environ. Sci. Inst. Nagoya city, ³Electronics-Inspired Interdisciplinary Res. Inst., Toyohashi Tech, ⁴EcoTopia Sci. Inst., Nagoya Univ., ⁵Center for Fostering Young and Innovative Researchers, Nagoya Inst. Technol.

Geobacter sp. AY, a dehalorespiring bacteria that dechlorinates 1,2-dichloroethane (DCA) to ethane, has the following advantages to be applied in bioremediation compared to yet isolated 1,2-DCA dechlorinators; the activity for 1,2-DCA higher than 1,000 ppm, the culturability using only acetate as sole electron and carbon source, and the constitutive dechlorination activity. The genome analysis revealed that AY has chromosome DNA of about 3.9Mbp and a plasmid pAY30 of about 30kbp including gene encoding 12DCA dehalogenase (*dcaA*). For forecasting the bioremediation progress, the stability of plasmid probably has to be considered. In this study, the half velocity of constant (K_s), the maximum dechlorination velocity (V_{max}) were determined for the cultures of AY grown on acetate and either fumarate, 1,2-DCA or the combination. In addition, the gene copy numbers of *rpoB* and *dcaA* were determined by qPCR. As the result, AY grown on 1,2-DCA has $8.8 \mu M$ of K_s and $20 \times 10^{-10} \mu mol \cdot h^{-1} \cdot cell^{-1}$ of V_{max} . The V_{max} is 10 fold faster than that for the dechlorination of 1,2-cisDCE by *Dehalococcoides* spp. While, the velocity and the copy number of *dcaA* were quite lower in the AY maintained without 1,2-DCA. As the conclusion, AY constitutively expressed 1,2-DCA dehalogenase, but the plasmid was not stable. The plasmid stability must be taken into account for the forecasting 1,2-DCA dechlorination by AY.

P19-6

***Dehalococcoides* sp. UCH007株を用いたバイオオーグメンテーションのための技術開発**

○内野 佳仁¹、山副 敦司¹、伊藤 雅子²、三浦 隆匡¹、福田 雅夫³、鈴木 健一朗¹、藤田 信之¹、高畑 陽²

¹NITE・NBRC、²大成建設・技セ、³長岡技科大

本研究では、国内で初めて純粋分離に成功した*Dehalococcoides*属細菌 UCH007株を塩素化エチレン類汚染帯水層に導入するバイオオーグメンテーションの技術開発を行っている。*Dehalococcoides*属細菌は難培養微生物であり純粋培養で大量培養することが難しかったため、UCH007株の増殖を促進させる微生物株（UCH001株またはUCH003株）との混合培養による培養方法を検討してきた（第29回日本微生物生態学会大会）。

本報告では、*Dehalococcoides*属細菌UCH007株を単独で大量培養する技術の取り組みについて紹介する。UCH007株は、培地成分に改良を加えることによって純粋培養による菌体濃度を 10^7 個/ml程度まで増加できることが示された。一方、純粋培養には、培地に添加したトリクロロエチレンや*cis*-1,2-ジクロロエチレンの全てがエチレンまで完全に脱塩素化されず、塩化ビニルモノマーが蓄積する課題が存在することも明らかとなった。

我々は、UCH007株の大量培養を確立して、UCH007株単独でのバイオオーグメンテーションを目指しており、「微生物によるバイオレメディエーション利用指針」の適合確認を申請する予定である。