

P-166

嫌氣的従属栄養性鉄酸化細菌の集積培養

細田 晃文, ○加藤 明穂, 井本 舞, 田村 廣人

名城大・農

E-mail: hosoda@meijo-u.ac.jp

これまで研究されてきた鉄酸化細菌は好酸性が多く、空気酸化との競合に依存しない中性環境で増殖する鉄酸化細菌の単離例はそれほど多くない。また、2価鉄はその性質から嫌氣的環境下では電子供与体となり得ることも知られている。本講演では、中性環境で塩化鉄を基質とした嫌氣的従属栄養性鉄酸化細菌の集積培養について報告する。鉄酸化細菌の接種源として製鉄会社から排出される含油スラッジ（5%油分含有）を用いた。オートクレーブ滅菌した *Geobacter* 培地（1 mM KH_2PO_4 , 10 mM NH_4Cl , 1 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 30 mM NaHCO_3 , 1 mM Na_2SO_4 ）30 mL を含むブチルゴム栓付きバイアルに含油スラッジ 10 g を接種し、静置培養した。鉄酸化細菌の増殖基質には、含油スラッジより抽出した酸化鉄 0.5 g および酢酸（10 mM 酢酸ナトリウム相当）を電子供与体とした。3価鉄沈殿が認められた培養液を 10% (v/v) ずつ継代し集積培養を行った。また、鉄酸化細菌の純化を目指し上記の培地にて電気化学的培養（MEC：培地 200 mL, 接種源 10%, 22°C）を行った。MEC によって得られた細胞は、PAFe2N2 培地（5 mM NaNO_3 , 5 mM FeCl_2 , 5 mM CH_3COONa , 0.6 mM CaCl_2 , 0.2 mM KCl , 0.5 mM MgCl_2 , 1.0 mM NH_4Cl , 0.1 mM KH_2PO_4 , yeast extract 25 mg/L）を用いて再度、液体培養した。集積培養などの細胞増殖に伴う 2 価鉄の酸化量は、*o*-フェナントロリン法にて、酢酸の減少は電気伝導度計付き HPLC にて継時的に定量した。また、16S rDNA に基づく変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法（DGGE）により、集積培養液および MEC の鉄酸化に関わる細菌群集を解析した。塩化鉄 (II) を用いた集積培養および MEC により酢酸を資化するのと同時に 2 価鉄を酸化する嫌氣的な集積培養物を得た。培養 12 日間における 2 価鉄の酸化率は 0.29 mM/日、この時の酢酸は 1.1 mM 資化され、pH の上昇が認められた。集積培養液および MEC の DGGE 解析から、鉄酸化に関わる細菌は、硝酸依存性の嫌氣的鉄酸化細菌として報告がある *Acidovorax* 属に近縁（99% 相同性）であることが明らかとなった。今後は、この菌株の単離と生理的特性解析を行う予定である。