

[自主研究]

バイオエアロゾル観測研究基盤の構築: 大気中微生物DNA濃度の計測

村田浩太郎 市川有二郎 長谷川就一 松本利恵 佐坂公規 米持真一 渡邊圭司

1 目的

バイオエアロゾルは生物起源物質が空気中に粒子として浮遊しているものであり、花粉や細菌、ウイルス、真菌胞子なども含まれる。環境中においてバイオエアロゾルは、(1)大気汚染物質の一部、(2)アレルゲン、(3)病原体、(4)環境微生物叢の攪乱あるいは調整・維持、(5)雲の凝結核・氷晶核としてはたらく(図1)。人への影響だけでなく、生物多様性や気候変動とも関係するため、現代の環境問題を横断する新たな大気環境学の研究対象である。

バイオエアロゾル研究は、従来の大気環境研究とは全く異なる分子生物学的手法を用いる。そのため、手法の検討はもちろんのこと新たな試薬・器具等の研究基盤構築が必要である。本研究では、埼玉県におけるバイオエアロゾル研究着手を目指し、まずは大気中DNAの取得手法の確立と実大気での濃度計測を行う。同時に、大気環境モニタリング調査事業で取得された予備のフィルター試料への応用も検討する。

2 研究概要

2.1 内容

バイオエアロゾル研究に資するDNA試料を大気環境中から効果的に回収するため、フィルター捕集あるいはサイクロン捕集にて得られた大気中浮遊粒子からDNAを抽出する方法の検討・効率化を行い、デジタルPCR (Applied Biosystems QuantStudio Absolute Q, ThermoFisher Scientific) で定量する。本研究ではまず細菌を対象にし、その存在量の計測を実施する。DNA抽出キットの比較検討や採取条件の最適化の他、保存条件についても検討する。手法の確立後、実大気への応用を行って地点特性による濃度差を検証する。採取地点は都市部、郊外、山・林で実施する予定である。さらに、過去に大気環境モニタリング事業で得られたフィルター試料からのDNA抽出を試み、大気中細菌DNA濃度の経年変動を明らかにし、大気質変化との関連性を解析する。

2.2 役割分担

試料採取や過去得られたフィルター試料の選定は大気環境担当が必要に応じて補助し、DNA抽出及びデジタルPCR計測については渡邊が必要に応じて補助する体制で実施する。

2.3 達成目標

大気環境中から取得したDNAから細菌の存在量を計測する手法を確立する。その過程で、最低限の分子生物学的実験の実験環境を整備し、CESSにおけるバイオエアロゾル研究基盤を構築する。

3 年次計画

1年目: 方法の検討・確立

CESSにてテスト用の大気中浮遊粒子をフィルターあるいはサイクロンで採取し、異なるDNA抽出キットを用いてDNA抽出効率の比較検討を行う。その際、最適な採取時間も検討する。また、DNAは保存状態にも影響を受けると考えられるため、試料の保存温度や保存可能期間が結果に与える影響の検討も行う。

2年目: 実大気の計測・比較

実大気資料の採取を実施する。採取地点を都市部、郊外、山・林として、地点を設定して大気中細菌DNA濃度の濃度範囲、地点間の差を明らかにする。地点としては、さいたま市内、CESS、東秩父、さらに上空の参考データとして富士山を想定しており、通年アクセス可能な場所であれば各季節1、2回の採取を予定している。

3年目: 過去データの復元および大気質データとの比較

令達事業の大気環境モニタリング調査の予備フィルターを活用して細菌DNA濃度の中・長期的変動を明らかにする。同時期に得られたイオン、重金属等との関係性も解析することで、バイオエアロゾル(細菌)と大気質との関係性の有無を明らかにする。

4 研究成果の活用方法

大気環境中DNAの研究手法の確立は、応用の範囲が極めて広い。対象とするDNA配列を調整することで、花粉やウイルスなど一般的にも関心の強い問題への研究に活用できる。また、大気環境中に存在するDNAの配列情報は大気環境データに新しい情報軸を与えることになり、従来の大気環境研究において移流や発生源のトレーサーなどとして活用可能である。埼玉県行政への支援効果としては、大気環境の保全・創生に関する新たな視点を提供しつつ、感染リスク評価や予防対策、公衆衛生の推進など部署を横断して活用できる知見とする。

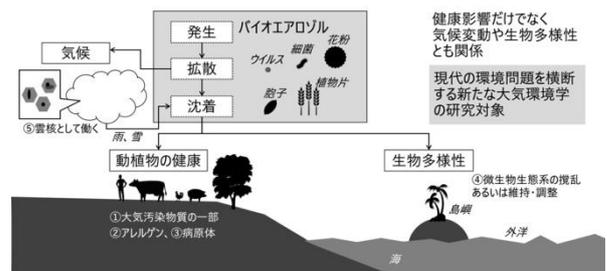


図1 環境中におけるバイオエアロゾルの働き及び影響