

# 生物エアロゾルのモニタリングとその課題

富山大学理学部  
田中大祐

# バイオエアロゾル(生物エアロゾル)

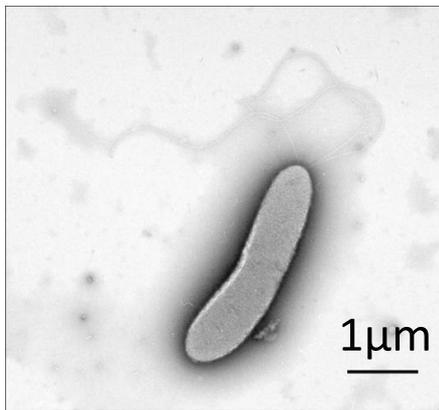
- 大気中の粒子状物質(エアロゾル)の約10~25%を占める。
- 生態系, 気候変動, 大気質, 公衆衛生において重要な役割を果たす。
- バイオエアロゾルの「発生源 — 空間的および時間的分布 — 影響因子 — 健康リスク」の関連を理解することは重要である。

## 総説論文

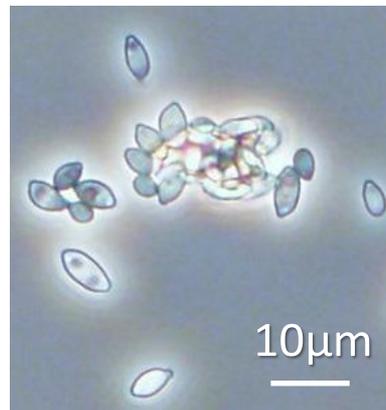
1. Feng *et al.* (2024) "Sources, compositions, spatio-temporal distributions, and human health risks of bioaerosols: A review." *Atmos. Res.* 305: 107453.
2. Tastassa *et al.* (2024) "Aeromicrobiology: a global-scale review of the cycling and relationships of bioaerosols with the atmosphere." *Sci. Total Environ.* 912: 168478.
3. Ruiz-Gil *et al.* (2020) "Airborne bacterial communities of outdoor environments and their associated influencing factors." *Environ. Int.* 145: 106156.

# バイオエアロゾルの組成

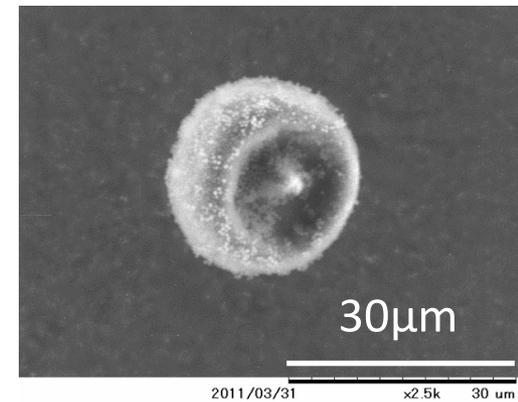
- 細菌, 真菌, ウィルス, 花粉等の生物粒子
- 大きさは, 0.001 ~ 100  $\mu\text{m}$ 程度



細菌  
(*Pseudomonas* sp.)

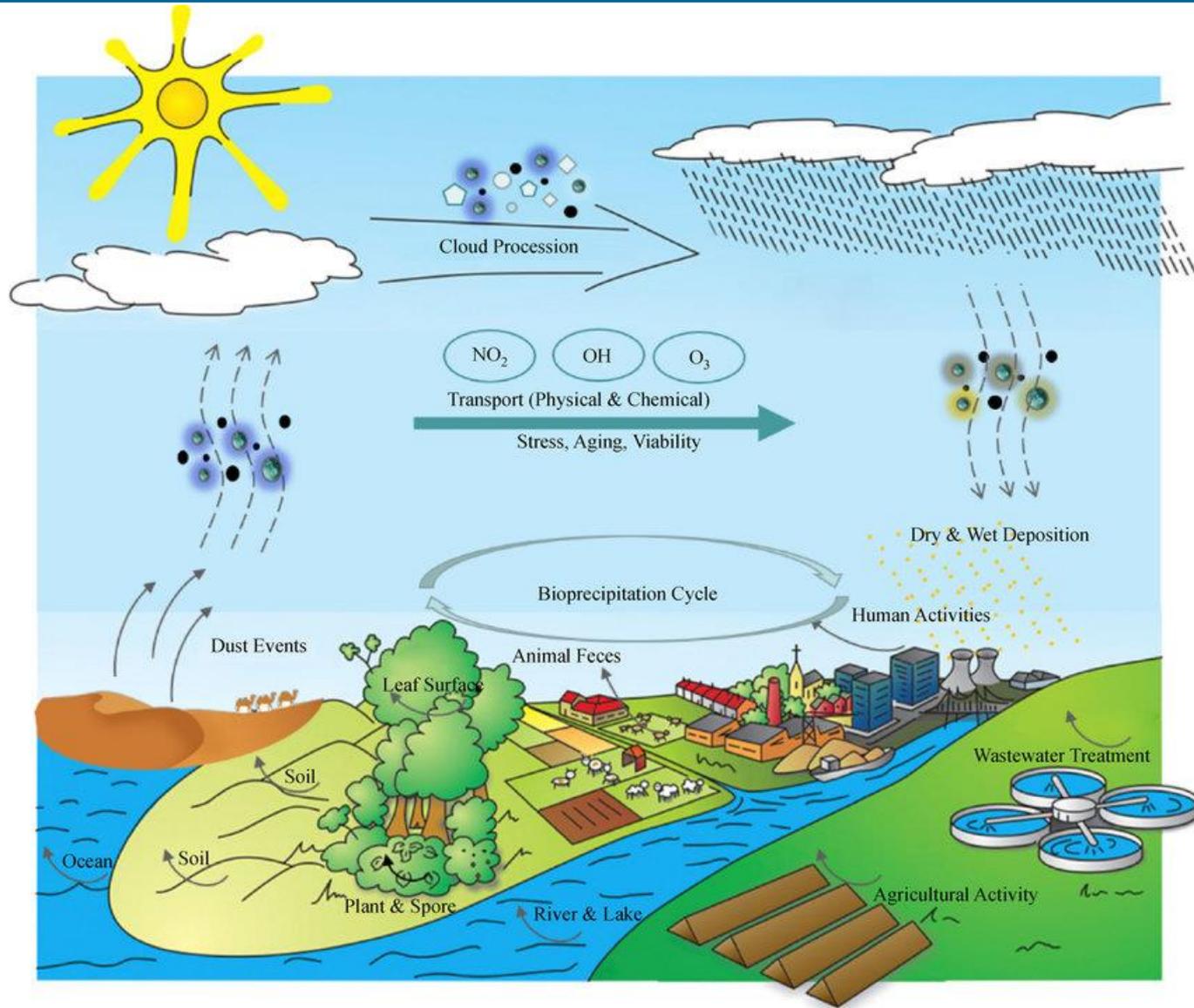


真菌の孢子  
(*Cladosporium* sp.)



スギ花粉

# バイオエアロゾルの発生源



# バイオエアロゾルのモニタリング

## 研究1 都市部(横浜市)と地方都市郊外(富山市)の細菌バイオエアロゾル

Tanaka, D.\*, Fujiyoshi, S., Maruyama, F., Goto, M., Koyama, S., Kanatani, J.I., Isobe, J., Watahiki, M., Sakatoku, A., Kagaya, S., Nakamura, S.

Size resolved characteristics of urban and suburban bacterial bioaerosols in Japan as assessed by 16S rRNA amplicon sequencing. *Sci. Rep.* 10: 12406 (2020).

## 研究2 富山県の高地と郊外の大気中微生物群集

Tanaka, D.\*, Sato, K., Goto, M., Fujiyoshi, S., Maruyama, F., Takato, S., Shimada, T., Sakatoku, A., Aoki, K., Nakamura, S.

Airborne microbial communities at high-altitude and suburban sites in Toyama, Japan suggest a new perspective for bioprospecting. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 7: 12 (2019).

## 研究3 韓国と日本の大気中の潜在的な日和見ヒト病原体

Seki, M., Tanaka, H., Yonemochi, S., Lee, K.H., Kim, Y.J., Iwamoto, R., Sato, K., Tanaka, D.\*

Spatial variation of airborne bacterial heterogeneity and potential opportunistic human pathogens: a comparative study of sites in Korea and Japan. *Aerobiologia* 40: 287–295 (2024).

## 研究4 培養可能な大気中クロストリジウム属菌のサイズ分布と潜在的病原性

Seki, M., Iwamoto, R., Hou, J., Fujiyoshi, S., Maruyama, F., Furusawa, Y., Kagaya, S., Sakatoku, A., Nakamura, S., Tanaka, D.\*

Size Distribution and Pathogenic Potential of Culturable Airborne *Clostridium* spp. in a Suburb of Toyama City, Japan. *Microb. Environ.* accepted.

# 研究1 都市部(横浜市)と地方都市郊外(富山市)の細菌バイオエアロゾル

**目的:** 各地点(富山, 横浜)における, 大気中細菌群集の組成, 多様性, 密度を粒径と関連させて把握する。

## 材料と方法

### ➤ 大気試料

- ・アンダーセンエアサンプラー  
流量 $28.3 \text{ L min}^{-1}$ , 24時間  
石英繊維フィルター



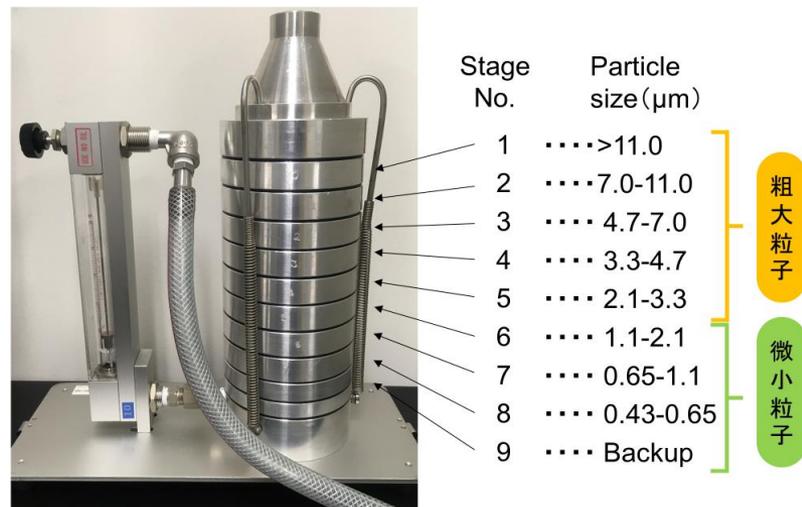
### ➤ DNA抽出

- ・PowerSoil DNA isolation kit (MO BIO Laboratories, USA)



- 16Sメタゲノム解析 Illumina MiSeq
  - ・16S rRNA遺伝子V3-V4領域を標的とする細菌群集構造解析
- リアルタイムTaqMan PCR
  - ・16S rRNA遺伝子V8領域を標的とする全細菌の定量

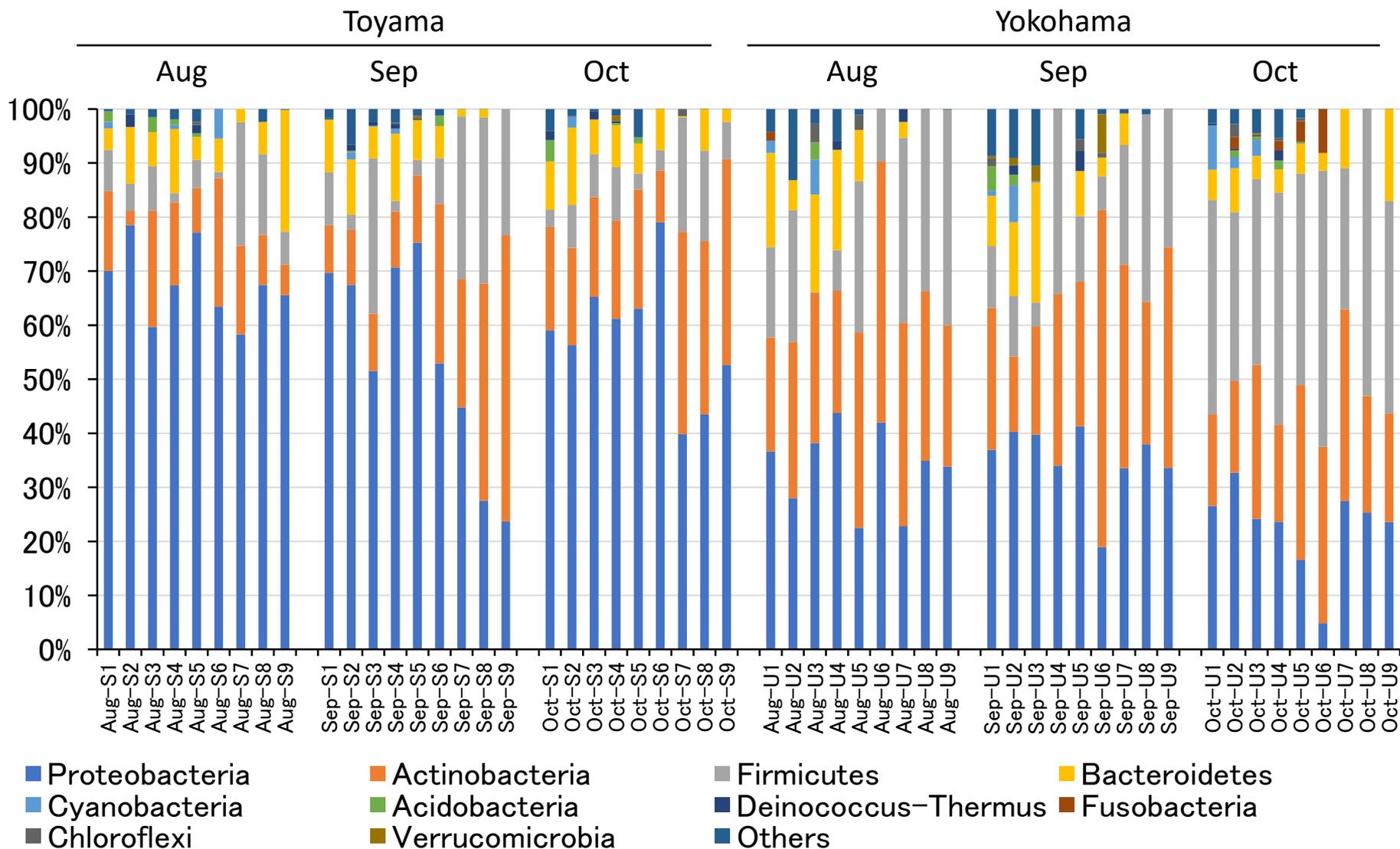
アンダーセンエアサンプラー



エアロゾルを9段階の粒径別に分級捕集

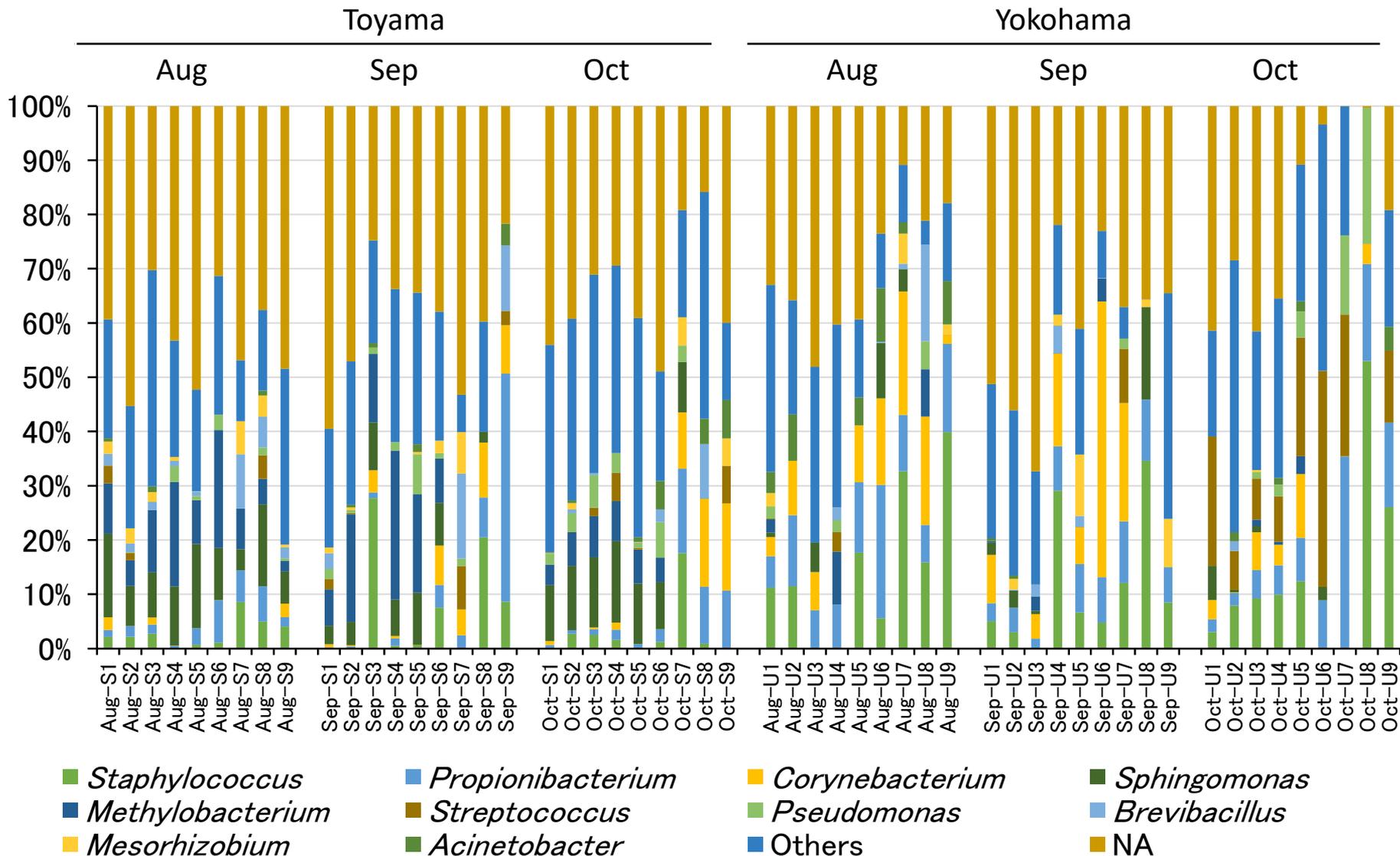
# 研究1 都市部(横浜市)と地方都市郊外(富山市)の細菌バイオエアロゾル

## 分級捕集した大気試料中の細菌群集構造(門レベル)



# 研究1 都市部(横浜市)と地方都市郊外(富山市)の細菌バイオエアロゾル

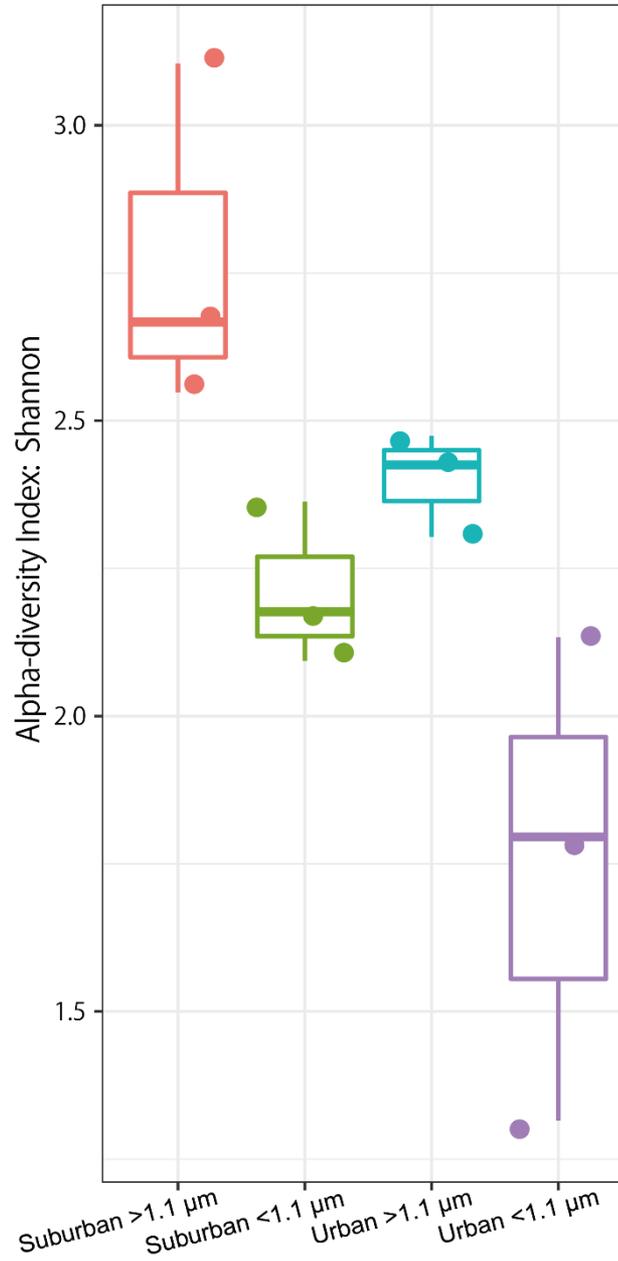
## 分級捕集した大気試料中の細菌群集構造(属レベル)



# 研究1 都市部(横浜市)と地方都市郊外(富山市)の細菌バイオエアロゾル

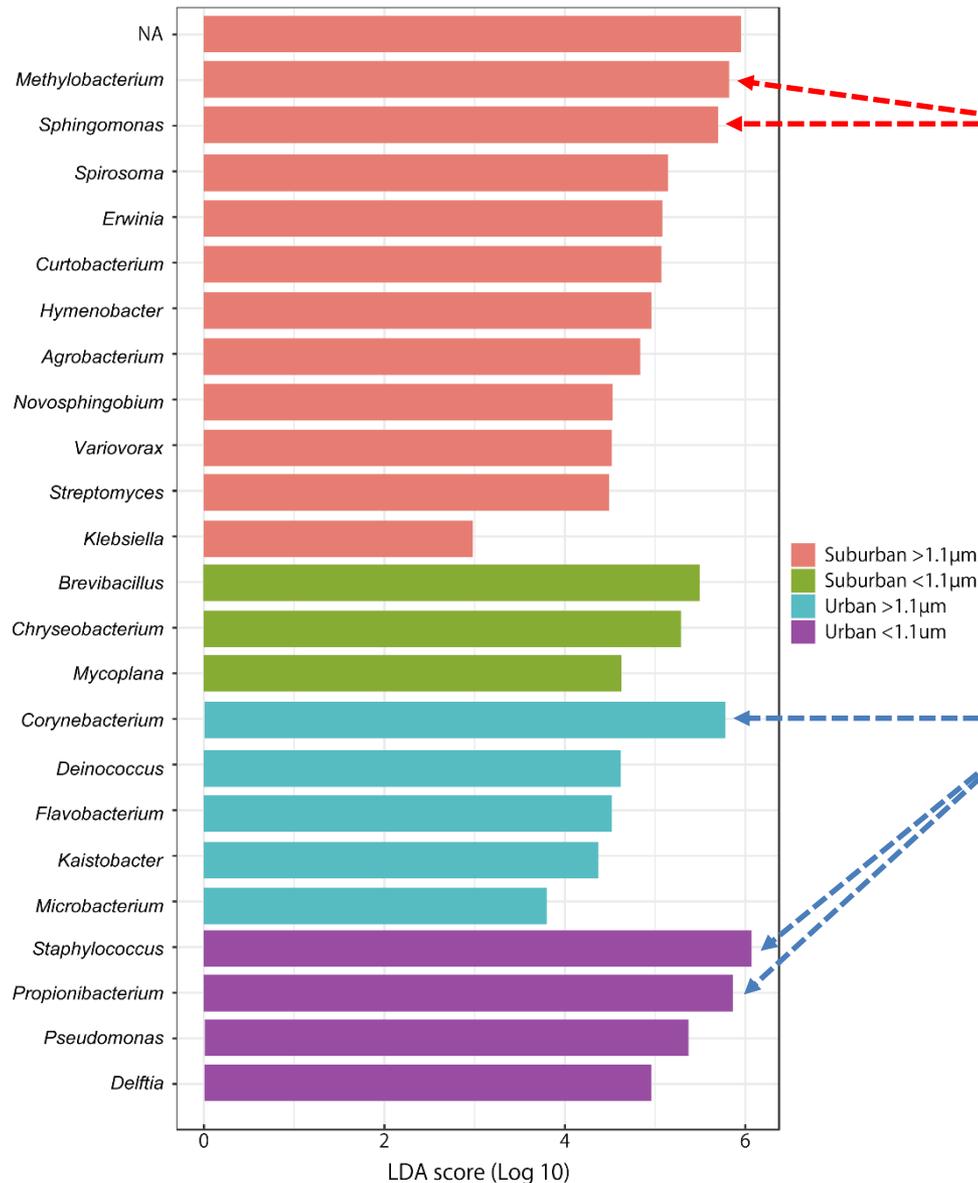
## シャノン多様性 指数の比較

富山の粒径  $>1.1 \mu\text{m}$   
の試料のシャノン多様  
性指数は、他よりも高  
い。





# 研究1 都市部(横浜市)と地方都市郊外(富山市)の細菌バイオエアロゾル



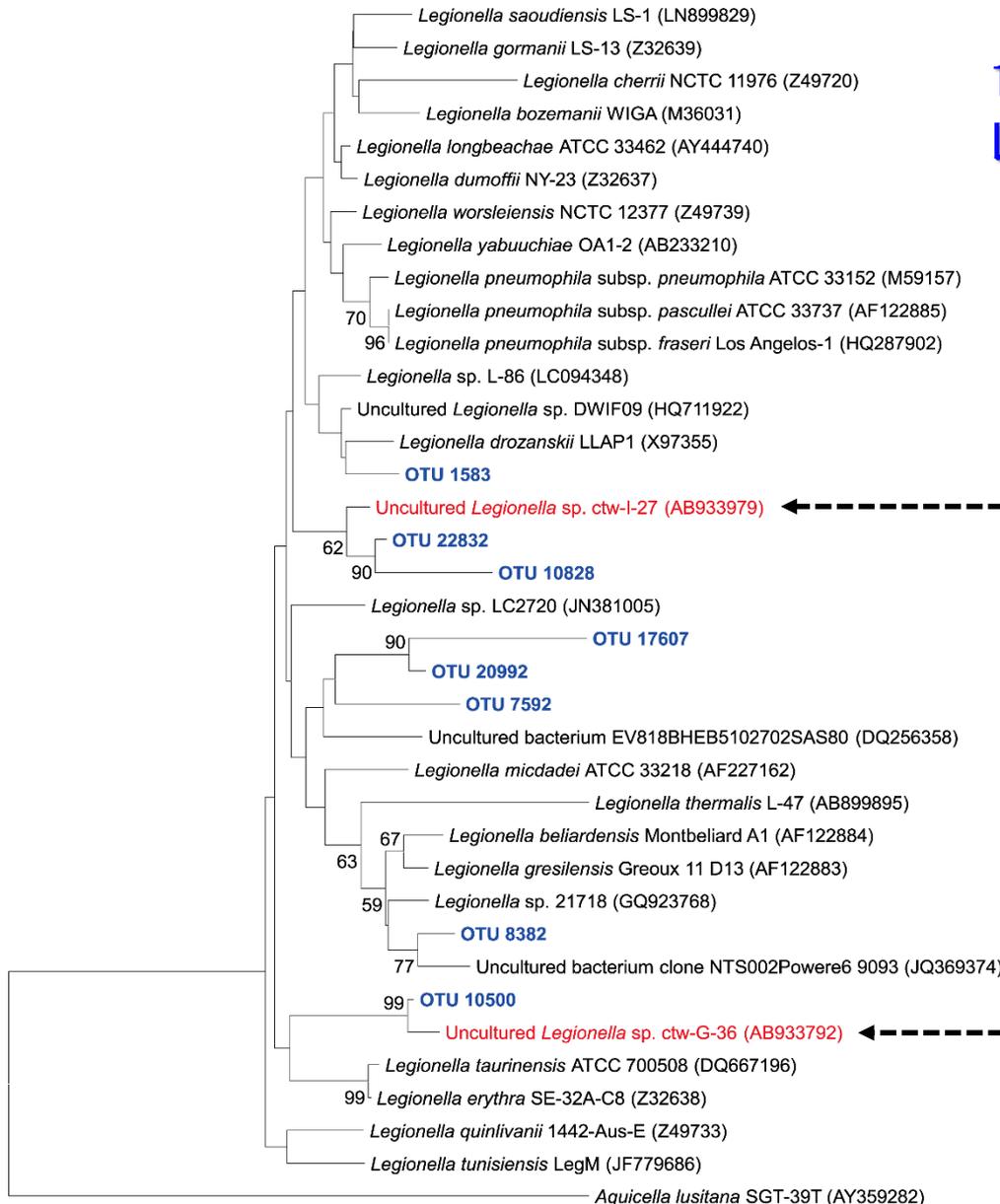
地方都市郊外の富山での特徴  
土壌・植物関連細菌

都市部の横浜での特徴  
ヒトの皮膚関連細菌

LEfSe解析による各グループで  
特徴的な細菌属の探索結果

# 研究1 都市部(横浜市)と地方都市郊外(富山市)の細菌バイオエアロゾル

16S rRNA遺伝子塩基配列に基づく  
レジオネラ属菌の系統解析(NJ法)



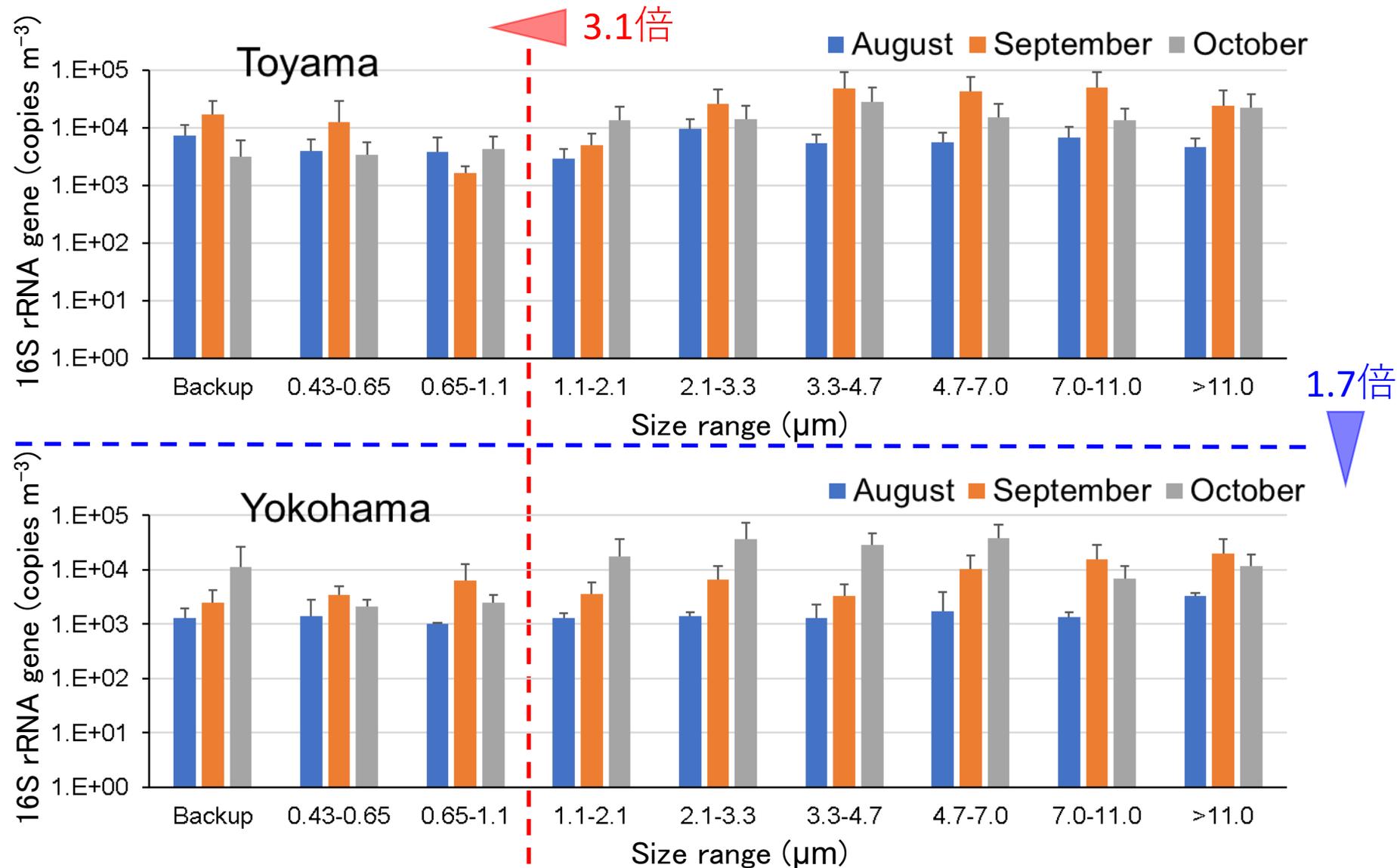
福岡県の冷却塔水からの  
レジオネラ属菌の塩基配列  
(Inoue et al., 2015)

埼玉県の冷却塔水からの  
レジオネラ属菌の塩基配列  
(Inoue et al., 2015)

0.02

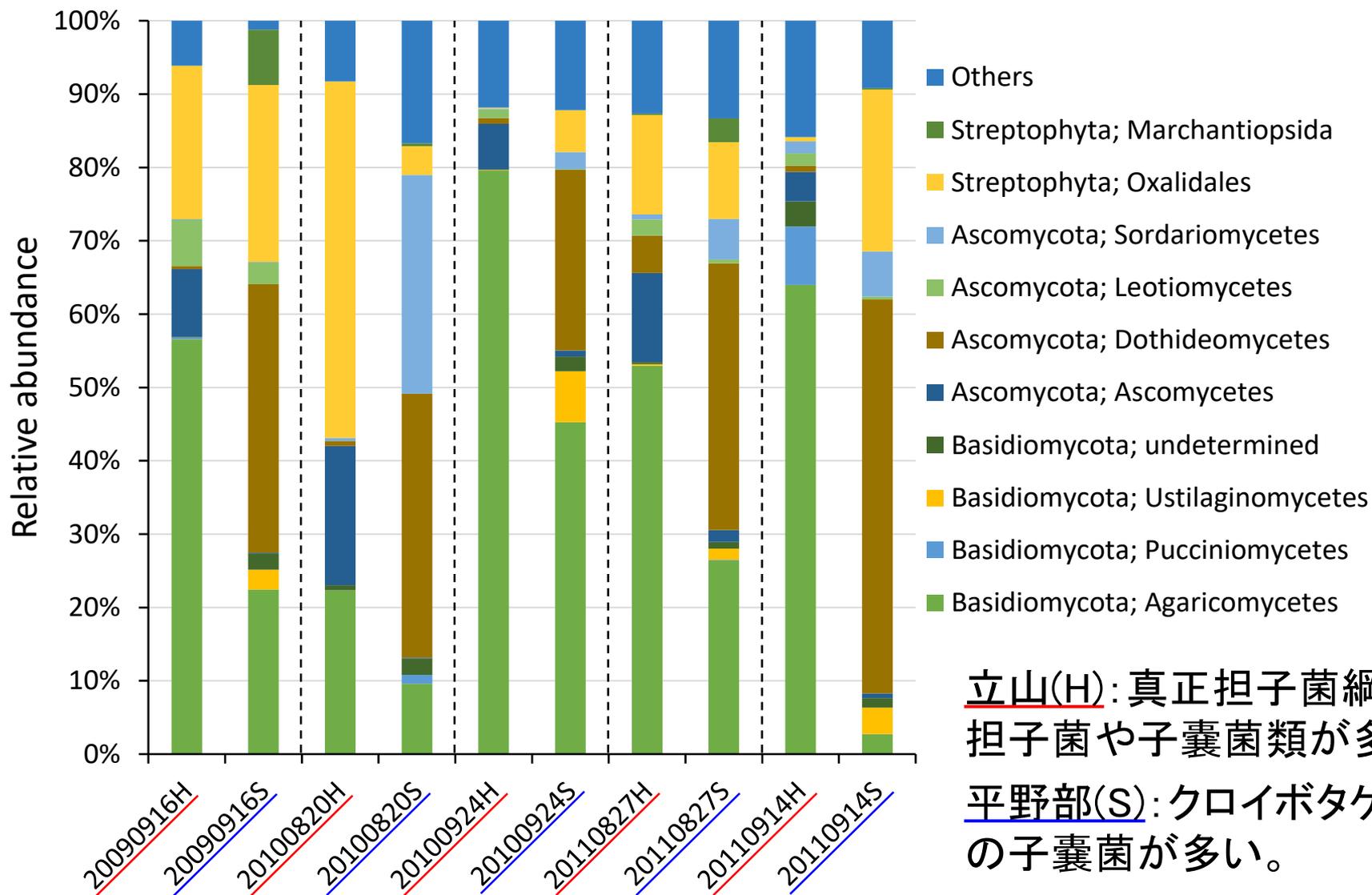
# 研究1 都市部(横浜市)と地方都市郊外(富山市)の細菌バイオエアロゾル

リアルタイムPCRを用いた全細菌の定量

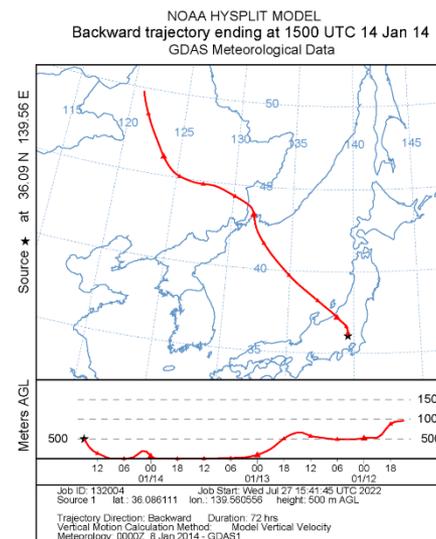
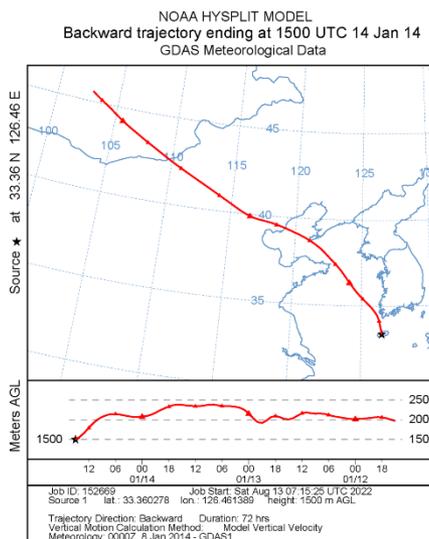
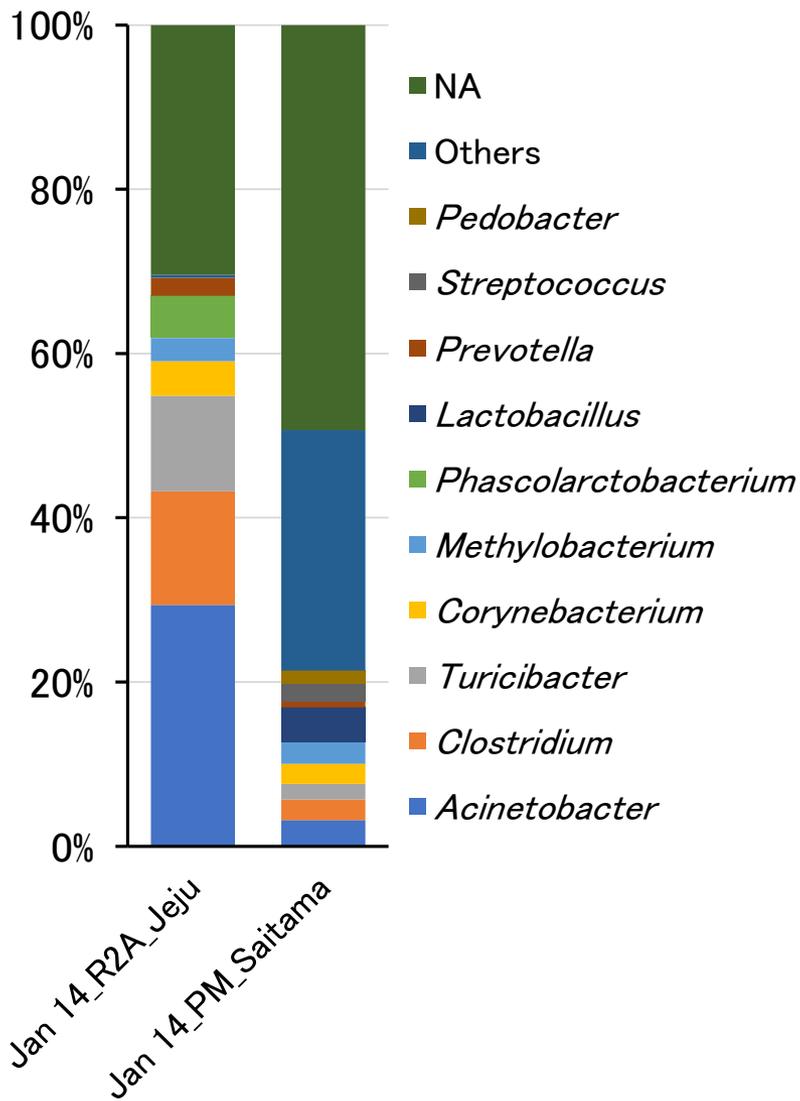


## 研究2 富山県の高地と平野部の大気中微生物群集

### ろ過捕集した大気試料中の真核生物群集構造(綱レベル)



# 研究3 韓国と日本の大気中の潜在的な日和見ヒト病原体



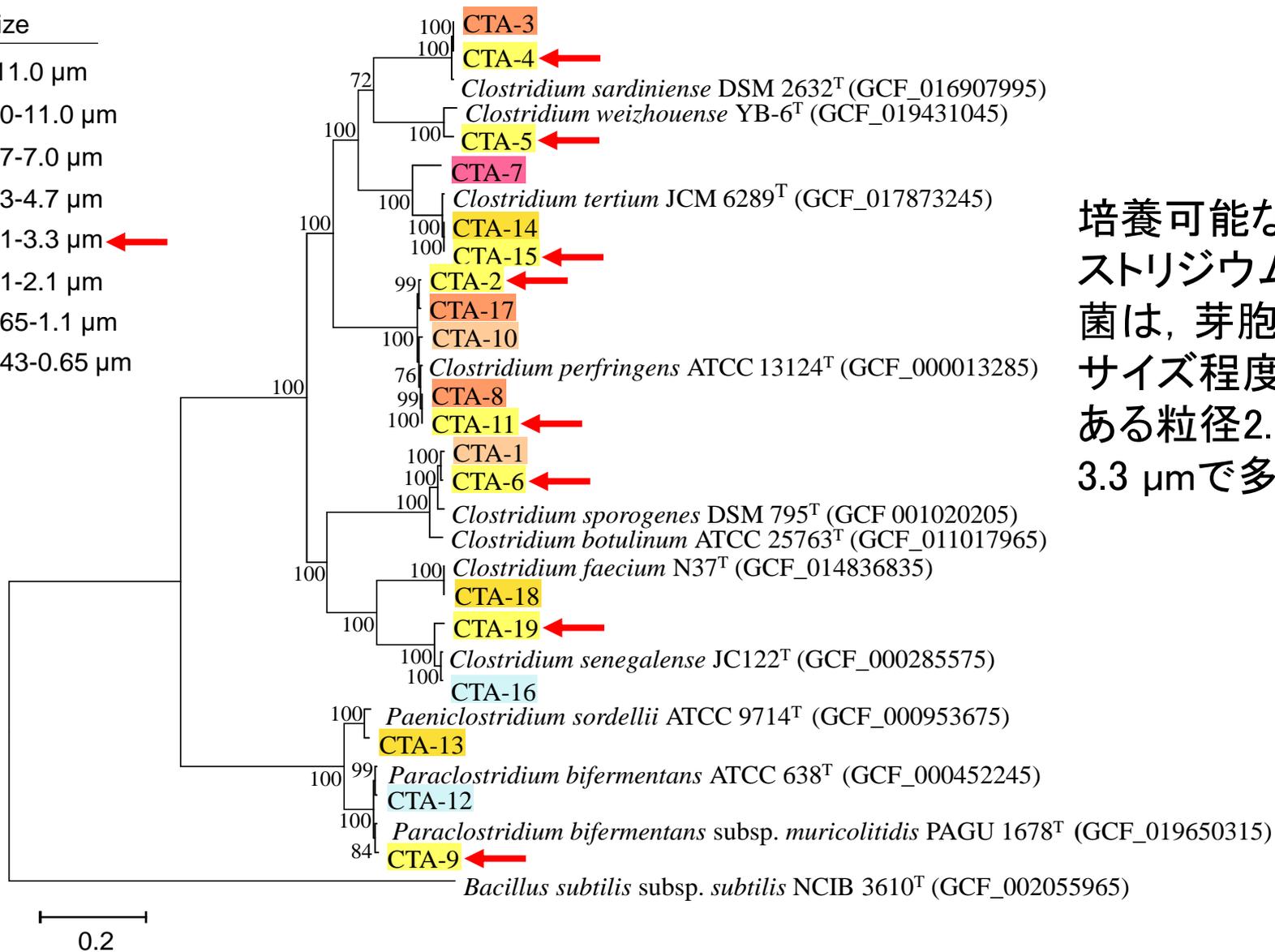
アシネトバクター属とクロストリジウム属の細菌が、韓国の済州島と日本の埼玉県の大気から同日に検出。長距離輸送され、人間の健康に影響を及ぼす可能性。

# 研究4 富山市における大気中の培養可能な嫌気性細菌*Clostridium*

## 32 個のマーカー遺伝子の連結アラインメントに基づく系統樹

Particle size

- >11.0  $\mu\text{m}$
- 7.0-11.0  $\mu\text{m}$
- 4.7-7.0  $\mu\text{m}$
- 3.3-4.7  $\mu\text{m}$
- 2.1-3.3  $\mu\text{m}$
- 1.1-2.1  $\mu\text{m}$
- 0.65-1.1  $\mu\text{m}$
- 0.43-0.65  $\mu\text{m}$



培養可能なクロストリジウム属菌は、芽胞のサイズ程度である粒径2.1~3.3  $\mu\text{m}$ が多い。

# バイオエアロゾルのモニタリングにおける課題

- **大気中の微生物の密度は低い。**
  - 大気:  $10^3 \sim 10^7$  cells  $m^{-3}$ ,
  - 河川や海の水:  $10^5$  cells  $mL^{-1}$ 以上, 土壌:  $10^8$  cells  $g^{-1}$ 以上
  - サンプリング方法, 捕集する大気の種類などに注意。
  - 実験器具, 試薬, 周辺環境からの微生物の混入(コンタミ)に注意。
- **大気中から低密度の微生物を効率的に検出する上で, サンプリングやサンプル処理のための標準化されたプロトコルがない。**
  - 各自でプロトコルを作成し, 分子生物学的手法や培養法などを用いて, 微生物の群集構造解析や定量が実施。
  - DNAシーケンシング技術の進歩により, ゲノミクスとメタゲノミクスに関する幅広い知識が生まれ, 大気中の微生物の多様性を特定して研究する能力が大幅に向上。
- **高高度でのサンプルの収集の際に, 地表面に近い大気による汚染を回避するのは難しい。**
  - 航空機, 気球などの利用が必要だが, まだ研究例は少ない。