第46回日本水環境学会年会優秀発表賞（クリタ賞）を受賞して

長岡技術科学大学大学院工学研究科環境システム工学専攻　山　口　剛　士

この度は日本水環境学会年会優秀発表賞（クリタ賞）という名誉ある賞をいただきまして誠にありがとうございます。（公益財団）クリタ水・環境科学振興財団の皆様および審査を行っていただきました先生方をはじめ，学会関係者の皆様に深くお礼申しあげます。私は，これまで検出が困難であった環境微生物の検出を可能にする高感度 fluorescence in situ hybridization（FISH）法の開発を行いました。水環境中には我々の生活に有用な未培養微生物が多数存在しています。FISH 法は培養を介さず視覚的に検出することが可能であるため原位置における微生物検出に有効な手法です。しかし，FISH 法は菌体内の rRNA を標的としているため rRNA 含有量が少ない微生物の検出が困難です。現在，そのような微生物には代表的な高感度 FISH 法である catalyzed reporter deposition（CARD）-FISH 法を適応させ，微生物検出を行っています。CARD-FISH 法に用いられる酵素は蛍光物質と比べ分子量が大きいため細胞浸透性を向上させる細胞壁処理を施す必要があります。しかし，すべての微生物に効果を示す細胞壁処理は報告されておらず標的微生物に合った細胞壁処理を検討しているのが現状です。したがって，微生物の多様性を考慮すると細胞壁処理の問題からこれまでの技術では検出が困難な微生物の存在が考えられます。私は，CARD-FISH 法よりも細胞浸透性が高い高感度 FISH 法の開発を目指し研究を行い，酵素触媒反応を用いない遺伝子検出技術である hybridization chain reaction（HCR）法を FISH 法に応用した in situ HCR 法の開発を行いました。本発表では in situ HCR 法を環境サンプルへ適応させ，CARD-FISH 法よりも高感度 FISH 法として優れた手法なのか検討を行いました。環境サンプルには，FISH 法では検出が困難である海洋性細菌を選定し，CARD-FISH 法，in situ HCR 法を適応させ検出率を求めました。その結果，細胞壁処理を施さない場合，in situ HCR 法の検出率は CARD-FISH 法よりも高い検出率を示しました。この検出率の差異はプローブの分子量に起因していると考えられ，酵素を用いない in situ HCR 法の高い細胞浸透性を示しています。したがって，本手法は細胞壁構造が未知である未培養微生物の検出に有効であると考えています。今後の展開は in situ HCR 法の更なる蛍光の高感度化による mRNA や機能遺伝子の検出および FISH 法や CARD-FISH 法では検出が困難な環境サンプルの検出を行っていこうと考えています。もし，皆様の手元に FISH 法や CARD-FISH 法で検出できないサンプルがありましたらご相談ください。今後の研究発展につなげたいと思います。最後に，本研究を遂行するにあたり終始手厚いご指導を賜りました長岡技術科学大学山口隆司教授，高橋優信特任助教，幡本将史研究員，阿南高専川上周司助教，東北大学久保田健吾助教，海洋研究開発機構井町寛之主任研究員，長岡高専荒木信夫教授に心より感謝申しあげます。私のみでは本研究の発展およびクリタ賞を受賞することができなかったと思います。また，学業に専念させてくれた家族に対し深く感謝申しあげます。