

---

## 病原微生物の許容感染リスクに基づく水質基準設定方法の構築 — 遺伝子マーカーの利用 —

Development of the Hygiene Standard Value of Indicators Based on the Acceptable Risk of Pathogen Infection: Application of Genetic Markers



北海道大学大学院工学院 小林 彩乃

この度は、平成 25 年度日本水環境学会博士研究奨励賞（オルガノ賞）最優秀賞を授与いただき、誠にありがとうございました。ご選考賜りました先生方ならびに学会関係者の皆様に深くお礼申し上げます。

本研究では、従来型の指標微生物の欠点を補う新たな衛生指標として、糞便汚染源追跡に用いられる「宿主特異的遺伝子マーカー」、とりわけ最も広汎に用いられている *Bacteroides-Prevotella* 属 16S rRNA 遺伝子マーカーに着目し、環境水中遺伝子マーカー量と病原微生物量の調査データを用い、微生物学的安全性を担保する水質基準値を許容感染リスクに基づいて確立するプロセスを構築しました。これまで、従来型糞便汚染指標は病原微生物濃度との間に強い相関があるという仮定に基づいて、糞便汚染や上下水道処理における処理効率の指標として用いられてきましたが、これらの糞便汚染指標の基準値は病原微生物の許容感染リスクに基づき理論的に設定されたものではないことが問題視されているという点に着目しました。世界保健機関は、水の微生物学的安全性を担保するために、飲料水や再生水などの水利用形態別にモニタリング項目や基準値の設定を推奨しており、いわゆる「科学的根拠のある」基準値を水利用形態別に設定することがグローバルスタンダードとなりつつあることから、この研究が非常に重要なものであるといえます。

今回は遺伝子マーカーを新規糞便汚染指標として用いましたが、この許容感染リスクに基づく手法は他の指標に対しても適用可能です。そこで私は、将来的に、従来型糞便汚染指標による糞便汚染評価、遺伝子マーカーによる病原微生物汚染評価、指標ウイルスによるウイルス汚染評価という 3 つの指標を用いた汚染のモニタリングが可能となると考えております。「科学的根拠のある基準値」を設定して複数の汚染指標を用いることで、水安全計画で提唱されている「安全をより一層高める総合的な水質管理」が可能となり、利用者の健康を守ることが期待されます。10 年、20 年後になるかもしれませんが、この研究が人々の快適で健やかな生活に役立ってくれると信じて、一層の努力をする所存です。

最後に、本研究の遂行にあたり懇切丁寧なご指導・ご協力いただきました北海道大学の岡部聡教授、佐野大輔准教授、石井聡助教ならびに所属研究室の皆様にご心より感謝申し上げます。

---

## Characterization of Biodegradable Organic Matter in Reclaimed Water by Bacterial Growth Response

The University of Tokyo, Graduate School of Engineering, Urban Engineering Department  
Research Center for Water Environment Technology

Parinda THAYANUKUL



When I was informed to win the Orugano Award, I was so surprised because there were many highly qualified candidates and I was the only international student. The things that came to my mind were the full appreciation and sincere thank to all the committees and the audiences who attended to my presentation and supported me to receive this honored award.

My work is about the characterization of biodegradable organic matter (BOM), one of the important factors promoting microbial regrowth that causes problems to the water reuse. Conventional assimilable organic carbon (AOC) test was applied and bacterial growth fingerprint (BGF) test was developed to assess the changes of BOM content and composition during water reclamation. My study showed the level of AOC in Japanese reclaimed wastewater and the changes of AOC and BGF in several kinds of treatment processes which could provide better understanding of the effects of treatment processes on the BOM removal possibly leading to further mitigation of the bacterial regrowth problems in reclaimed water.

The achievement of this work could not be happened and successful without the supports from my advisors, Assoc. Prof. Dr. Futoshi Kurisu, Assist. Prof. Dr. Kasuga Ikuro, and Prof. Dr. Hiroaki Furumai. I would like to thank them from the bottom of my heart for their keen mentoring and invaluable advice during my study. They shaped up and fulfilled this work with their precious experiences and innovative vision. I would like to express appreciation to the University of Tokyo, and all the faculties, staffs, and friends in the Urban Engineering department for the supports and encouragements. I am also grateful for the scholarships granted to me by Government of Japan and Panasonic Company which enabled me to complete my study. And finally, I would like to thank all members in my family, my friends, and my teachers in all the courses for their valuable supports and education.

# 難培養性亜硝酸酸化細菌 *Nitrospira* を標的とした革新的分離培養戦略

An innovative cultivation and isolation strategy for uncultured *Nitrospira*

早稲田大学先進理工学部生命医科学科 藤谷拓嗣



この度は、第16回日本水環境学会シンポジウムにおきまして、博士研究奨励賞（オルガノ賞）の授与を賜り、誠にありがとうございました。ご選考いただきました先生方、学会関係者の皆様に厚くお礼申し上げます。亜硝酸酸化細菌 *Nitrospira* は、海洋、土壌、河川、排水処理場などに生息し、地球環境の亜硝酸酸化を担う最も重要な細菌です。しかし、難培養性微生物として知られており、現在までに獲得されている純菌株には限りがあります。とくに、排水処理槽内の活性汚泥から獲得された報告例はありません。培養が難しい理由として、高濃度の遊離亜硝酸による阻害を受けること、増殖速度が遅いこと、従属栄養性微生物など他の微生物と凝集体を形成していること、などが挙げられます。そこで、これらの問題点を克服し、難培養性亜硝酸酸化細菌 *Nitrospira* を標的とした新規な分離培養手法を開発しました。まず、亜硝酸塩を含有する無機性の基質を連続的に供給した集積培養槽内で *Nitrospira* の高度集積化を行いました。槽内の亜硝酸濃度を厳密に制御することで系統的に異なる2種類の *Nitrospira* を選択的に集積化することができました。つづいて、集積サンプル中に存在している *Nitrospira* のマイクロコロニー(10-100細胞)の大きさと凝集構造に着目しました。セルソーターを使用し、蛍光標識を用いずに分画することで、マイクロコロニーだけを“生きたまま”特異的に分取することを試みました。96ウェルプレートにマイクロコロニーを一つずつ分注し、亜硝酸塩を含有した培地で1-2ヶ月間培養しました。その結果、活性汚泥サンプルから世界初の *Nitrospira* の純粋培養に成功しました。獲得した複数の純菌株は、系統的にも生理学的にも異なる性質を示し、アンモニア酸化細菌との新たな共生関係の可能性も示唆されました。また、本手法はマイクロコロニーを形成する他の硝化細菌（アンモニア酸化細菌など）にも適用できることが分かりました。今後は、獲得した純菌株を用いた生理学的な解析やオミックス解析など詳細な機能解明を行うとともに、他の難培養性微生物への本手法の適用も検討していきます。最後に、本研究を遂行するにあたり、常田聡教授、青井謙輝講師をはじめ、研究室内外の多くの先生方からのご指導、ご助言、ご協力をいただきましたことを心より感謝申し上げます。