科研費

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 2 1 日現在

機関番号: 13501

研究種目: 基盤研究(B)(一般)

研究期間: 2020~2022

課題番号: 20H02284

研究課題名(和文)宿主特異的ウイルス遺伝子マーカー群の検出に基づく水環境中の糞便汚染評価法の構築

研究課題名(英文) Development of a method for evaluating fecal contamination sources in aquatic environments based on the detection of host-specific viral genetic markers

研究代表者

原本 英司 (HARAMOTO, Eiji)

山梨大学・大学院総合研究部・教授

研究者番号:00401141

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文):本研究では,宿主特異性が高いウイルスやファージを微生物遺伝子マーカーとして活用した水環境中の糞便汚染評価法の開発を試みた。新たな微生物遺伝子マーカーとして体表面吸着大腸菌ファージに着目し,遺伝子型レベルで検出することで糞便汚染源解析が可能となるかどうかを検討した。また,ウイルスのみならず,バクテロイデスやミトコンドリアDNAも対象に加えて糞便汚染源を一度の測定で同定可能とする技術として,マイクロ流体工学に基づくハイスループットリアルタイムPCRを用いた測定法を開発し,大腸菌の測定のみでは捉えることができない野生動物による糞便汚染の実態を評価可能とする技術を構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2022年4月に水質環境基準の衛生指標が大腸菌群から大腸菌に改正され,水環境中における大腸菌の存在実態に関する知見が蓄積されていくことに伴い,基準超過地点に対する対応策を検討していくことが重要となる。本研究の成果は,宿主特異性の高いウイルスやファージを遺伝子マーカーとして用いることにより,これまでは明らかにされてこなかった水環境中の糞便汚染源に関する知見を得ることを可能とするものであり,世界的に見ても非常に高い学術的成果が得られている。水環境中の糞便汚染源を明らかにし,高度下水処理の導入等の適切な排出負荷低減対策の実施へと繋げることで,健全な水環境の構築に貢献でき,社会的意義も高いと言える。

研究成果の概要(英文): This study aimed to develop a method for evaluating fecal contamination sources in aquatic environments using host-specific microbial genetic markers including viruses and phages. Somatic colipanges were assessed as a novel microbial genetic marker whether the genotype-level detection would enable analysis of fecal contamination sources. In addition, a method using high-throughput real-time PCR based on microfluidics was developed to identify fecal contamination sources in a single reaction by adding not only viruses but also Bacteroidales and mitochondrial DNA. The developed method enables to evaluate the acutal conditions of fecal contamination by wild animals, which cannot be detected by the analysis of Escherichia coli alone.

研究分野: 環境工学

キーワード: ウイルス ファージ 糞便汚染源解析 公共用水域

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等に ついては、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1.研究開始当初の背景

水質環境基準における衛生指標として用いられている大腸菌群数は,糞便由来を主とする大腸菌に加え,培地上で培養される他の細菌も含んだ指標であることから,糞便汚染を正確に反映できていないことが問題となっている。そのため,環境省において,衛生指標を大腸菌群数から大腸菌数に変更することが検討されており,糞便汚染レベルをより正確に評価することが可能になると期待される。大腸菌数に切り替わり,環境基準の達成率が評価されるようになった際,基準値を超過する地点では,大腸菌の由来を把握したいというニーズが生じることが想定される。基準超過の影響が特に大きくなることが考えられる AA 類型や A 類型に分類される河川源流域には,シカやイノシシ等の野生動物が多く生息しているため,大腸菌の排出起源として,野生動物によるものも看過することはできない。さらに,大腸菌は土壌で生残・増殖し,河川水中に供給されている可能性もある。河川水中から検出される大腸菌をはじめとする微生物の排出起源を同定することで,適切な排出負荷低減対策を講じることが可能となる。

水環境中の糞便汚染源を解析するための手法として,ヒトやウシ,ブタ等から宿主特異的に排出される微生物をマーカーとして検出することに基づく微生物起源解析がある。宿主特異的な微生物遺伝子マーカーとして,糞便中に豊富に存在することからバクテロイデスが広く用いられており,それぞれの宿主に対応した PCR 系が多く開発されている。しかしながら,これらのPCR 系の課題として,ある特定の地域で開発された検出系を他の地域へ適用した際に,宿主特異性が得られないということが挙げられる。微生物遺伝子マーカー検出系の使用に際しては,水試料への適用に先立ち,対象地域での有効性を十分に検討する必要がある。

2.研究の目的

本研究では,宿主特異性が高いウイルスやファージを微生物遺伝子マーカー(ウイルス遺伝子マーカー群)として活用した水環境中の糞便汚染評価法の開発を試みた。新たな微生物遺伝子マーカーとして,これまで主に研究対象とされてきた F 特異大腸菌ファージではなく,大腸菌の菌体表面に感染する体表面吸着大腸菌ファージ(体表面ファージ)に着目し,遺伝子型レベルで検出することで糞便汚染源解析が可能となるかどうかを検討した。また,ウイルスのみならず,バクテロイデスやミトコンドリア DNA も対象に加えて糞便汚染源を一度の測定で同定可能とする技術として,マイクロ流体工学に基づくハイスループットリアルタイム PCR を用いた測定法を開発した。

3.研究の方法

(1) 微生物遺伝子マーカーとしての体表面ファージの有効性評価

2020年9月~2022年3月に山梨県甲府盆地内において採水調査を実施すると共に 2019年10月~2020年1月に採取したアーカイブ試料も活用することで,水環境中における体表面ファージの存在実態を調査した。下水処理場の流入水(77試料),塩素消毒前の2次処理水(71試料)と放流水(68試料),豚舎排水(2試料)および河川水(76試料)の計294試料を対象に,大腸菌WG5を宿主に用いたプラック法によって体表面吸着大腸菌ファージを培養して定量し,形成したプラックの一部を単離した。

プラック単離株に対し、マイクロウイルス科に属する3種類の属(PhiX174マイクロウイルス属、Alpha3マイクロウイルス属およびG4マイクロウイルス属)に特異的なリアルタイムPCR(Lee 2009)に供した。30サイクル以内に蛍光強度の増幅曲線が閾値を超えたプラックをマイクロウイルス科陽性であると判断した。マイクロウイルス科陽性と判定された単離株について、PhiX174マイクロウイルス属に特異的な定性PCRに供した後、アガロースゲル電気泳動によるバンドの切り出しとQIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN)を用いたPCR産物の精製を行い、ダイレクトシーケンシングによって体表面ファージの塩基配列を決定し、系統樹を作成した。

(2) ハイスループットリアルタイム PCR を用いた微生物遺伝子マーカーの一斉検出

2020年8月~2022年3月に河川源流域において,土壌67試料と河川水13試料を採取した。 土壌試料はAIIPrep PowerViral DNA/RNA Kit (QIAGEN)を用いたDNA/RNA抽出に供した。河川 水試料は,混合セルロース膜(孔径0.8 μm,直径90mm, Merck)を用いた陰電荷膜破砕型濃縮法 (Haramoto et al. 2012,原本ら2010)と遠心式フィルターユニットを用いた濃縮法により1mL 程度に濃縮した後,AIIPrep PowerViral DNA/RNA Kit (QIAGEN)を用いたDNA/RNA抽出に供した。

ヒト特異的遺伝子マーカーとして2種類のヒトバクテロイデス(BacHum, gyrB)とヒトアデノウイルス,反芻動物特異的遺伝子マーカーとして反芻動物バクテロイデス(BacR)とウシミトコンドリア DNA,ブタ特異的遺伝子マーカーとしてブタバクテロイデス(Pig2Bac)とブタアデノウイルス,イヌ特異的遺伝子マーカーとしてイヌミトコンドリア DNA,二ワトリ特異的遺伝子マーカーとしてニワトリパルボウイルスの計9種類を選定した。ハイスループットリアルタイムPCRには Biomark HD システム(スタンダード・バイオツールズ)を使用し, DNA/RNA 抽出液と反

応液を混合して 14 サイクルの前増幅 PCR を行った後, TE バッファーで 5 倍希釈し, 192.24 ダイナミックアレイ集積流体回路 (IFC)のサンプルインレットに添加した。また,各リアルタイム PCR 系の反応液をアッセイインレットに添加した。試料とリアルタイム PCR 反応液を IFC の4,608 個の反応チャンバーに分注した後,40 サイクルのリアルタイム PCR を実行し,蛍光データを取得・解析した。

4.研究成果

(1) 微生物遺伝子マーカーとしての体表面ファージの有効性評価

表 1 に示すように ,体表面ファージは ,放流水 1 試料を除くすべての下水と豚舎排水試料から検出され ,河川水からの陽性率も 92% (70/76) と高い値であった。下水流入水中のファージ濃度は $150\sim38,000$ plaque-forming units (PFU)/mL であり ,豚舎排水中の濃度 ($3,600\sim29,000$ PFU/mL)と重複する濃度範囲であり ,ヒトとブタのいずれからも高濃度で排出されていることが確認された。下水流入水および下水放流水中の検出濃度から算出した下水処理工程での体表面ファージの低減率は平均 99.89%であり ,十分に低減されているものの ,定常的に環境中に排出されていることが分かった。

表 2 に示すように,これらの試料から得た 993 個のプラック単離株を用いた解析では,マイクロウイルス科および PhiX174 マイクロウイルス属のいずれも下水と豚舎排水の両方から検出されており,これらの検出に基づくのみでは糞便汚染源は判別できないことが明らかとなった。さらに,PhiX174 マイクロウイルス属を対象とした系統解析においても,体表面ファージは高い遺伝的多様性を有していることが確認され,今回対象とした塩基配列領域では糞便汚染源解析は困難であると判断された。

	表 1	水試料からの体表面フ	アージの検出結果
--	-----	------------	----------

P	13 H-V1 1/3 D 10 11 D(HI)	> 0 1/1 LL MAN
	陽性試料数/測定試料数	陽性試料中のファージ濃度
5以个子 	(陽性率)	(PFC/mL)
下水流入水	77/77 (100%)	150 ~ 38,000
下水 2 次処理水	71/71 (100%)	3.8~70
下水放流水	67/68 (99%)	0.1 ~ 103
豚舎排水	2/2 (100%)	3,600 ~ 29,000
河川水	70/76 (92%)	0.1 ~ 60
計	287/294 (98%)	0.1~38,000

表 2 水試料からのマイクロウイルス科および Phi X174 マイクロウイルス属の検出結果

試料	測定 プラック数	マイクロウイルス科 陽性プラック数 (陽性率)	Phi X174 マイクロウイルス属 陽性プラック数 (陽性率)
下水流入水	230	121 (53%)	66 (29%)
下水 2 次処理水	161	109 (68%)	49 (30%)
下水放流水	111	20 (18%)	11 (10%)
豚舎排水	18	2 (11%)	2 (11%)
河川水	473	195 (41%)	158 (33%)
計	993	447 (45%)	286 (29%)

(2) ハイスループットリアルタイム PCR を用いた微生物遺伝子マーカーの一斉検出法

9 種類の微生物遺伝子マーカーのうち,ヒトバクテロイデス(BacHum),反芻動物バクテロイデスおよびブタミトコンドリア DNA の 3 種類のみが検出され,土壌試料からの陽性率はそれぞれ,3%(2/67),21%(14/67),31%(21/67)であった。調査地域の特徴を踏まえると,反芻動物バクテロイデスはシカ,ブタミトコンドリア DNA はイノシシに由来していた可能性が高いと考えられる。なお,付近ではヒトの活動が確認されていないことから,BacHum はヒトに近縁なサル等の野生動物と宿主を区別できていない可能性が示唆された。また,河川水 13 試料中 2 試料(15%)から反芻動物バクテロイデスが検出され,上流域に生息する野生動物に由来する汚染である可能性も示唆された。

土壌試料中における微生物遺伝子マーカーと大腸菌の存在実態の関係性を検討するため,クロモアガーECC 寒天培地法(関東化学)で測定した大腸菌の測定結果と微生物遺伝子マーカーの検出結果を比較した。表3に示すように,67試料のうち,大腸菌が検出されなかった6試料から反芻動物バクテロイデス,12試料からブタミトコンドリアDNAが検出され,培養法に基づく大腸菌の検出のみでは糞便汚染源を適切には評価できないことが示唆された。

表 3 土壌試料からの微生物遺伝子マーカーと大腸菌の検出結果との関係

			141 1		NH MIN C	- N 1 1/2 1
	ヒトバクラ	テロイデス	反芻動物/	バクテロイ	ブタミト:	コンドリア
大腸菌	(Bac	:Hum)	デ	゚ス	D	NA
	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
陽性	2	36	8	30	9	29
陰性	0	29	6	23	12	17
計	2	65	14	53	21	46

(3) まとめ

本研究では,宿主特異的な微生物遺伝子マーカーを用いた水環境中の糞便汚染評価法の開発に取り組み,糞便汚染源試料(下水,豚舎排水)および河川水中における体表面ファージの存在実態を科・属および遺伝子型レベルで解析すると共に,ヒト,反芻動物,ブタ等に特異的な9種類の微生物遺伝子マーカーの一斉検出が可能なハイスループットリアルタイム PCR を,河川源流域で採取した土壌および河川水試料に適用した。その結果,遺伝子型レベルで分類した場合においても体表面ファージを糞便汚染源解析に用いることは困難であることが示唆された。一方,ハイスループットリアルタイム PCR を用いることで,土壌試料から複数の微生物遺伝子マーカーが検出され,大腸菌の測定のみでは捉えることができない野生動物による糞便汚染の実態を評価する手法を開発することができた。

2022 年 4 月に水質環境基準の衛生指標が大腸菌群から大腸菌へと改正され,水環境中における大腸菌の存在実態に関する知見が蓄積されていくことに伴い,基準超過地点に対する対応策を検討していくことが重要となる。本研究で開発したウイルスを含む微生物遺伝子マーカー群を用いた糞便汚染評価法を活用することにより,水環境中の糞便汚染源を明らかにし,高度下水処理の導入等の適切な排出負荷低減対策の実施へと繋げることで,健全な水環境の構築に貢献できると期待される。

参考文献

- 1. Haramoto, E., Katayama, H., Asami, M., and Akiba, M. (2012) Development of a novel method for simultaneous concentration of viruses and protozoa from a single water sample. J Virol Methods 182, 62-69.
- 2. Lee, H. S. (2009) Somatic coliphage families as potential indicators of enteric viruses in water and methods for their detection. PhD. University of North Carolina, Chapel Hill.
- 3. 原本英司, 片山浩之, 浅見真理, 秋葉道宏, 国包章一(2010)河川水からのウイルス及び原虫の同時濃縮法の開発. 水道協会雑誌 79, 2-11.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件(うち査読付論文 11件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 10件)

〔雑誌論文〕 計11件(うち査読付論文 11件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 10件)	
1.著者名	4 . 巻
Tandukar Sarmila, Ghaju Shrestha Rajani, Malla Bikash, Sthapit Niva, Sherchand Jeevan B., Sherchan Samendra P., Haramoto Eiji	5
	F 76/-/-
2.論文標題	5 . 発行年
Virus reduction at wastewater treatment plants in Nepal	2021年
3 . 雑誌名	6.最初と最後の頁
Environmental Challenges	100281
LINTTOHIIIETTAT CHATTENGES	100201
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.1016/j.envc.2021.100281	有
10.1010/j.cnvc.2021.100201	'H
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	該当する
1.著者名	4 . 巻
Tandukar Sarmila、Khanal Rajendra、Manandhar Rija、Pandey Ashok、Sthapit Niva、Sherchan	13
Samendra P., Haramoto Eiji	
2.論文標題	5 . 発行年
Possibility of Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)	2021年
through Wastewater in Developing Countries	c = = = = = = = = = = = = = = = = = = =
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Water	3412
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.3390/w13233412	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	該当する
1.著者名	4 . 巻
Tandukar Sarmila、Sthapit Niva、Thakali Ocean、Malla Bikash、Sherchan Samendra P.、Shakya Bijay	824
Man、Shrestha Laxman P.、Sherchand Jeevan B.、Joshi Dev Raj、Lama Bhupendra、Haramoto Eiji	
2 . 論文標題	5 . 発行年
Detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater, river water, and hospital wastewater of Nepal	2022年
beteetron or oako-oov-2 kina in wastewater, river water, and hospital wastewater or hepar	2022—
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Science of The Total Environment	153816
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
`	
10.1016/j.scitotenv.2022.153816	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	該当する
, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	
1 . 著者名	4 . 巻
Haramoto Eiji、Malla Bikash、Thakali Ocean、Kitajima Masaaki	737
•	
2 . 論文標題	5 . 発行年
First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and river	2020年
water in Japan	
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Science of The Total Environment	140405 ~ 140405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.1016/j.scitotenv.2020.140405	有
,	.5
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	

1.著者名	4 . 巻
Thakali Ocean, Malla Bikash, Raya Sunayana, Sthapit Niva, Sherchan Samendra P., Furukawa	7
Takashi、Sei Kazunari、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji	
2 . 論文標題	5 . 発行年
Prevalence of antibiotic resistance genes in drinking water of the Kathmandu Valley, Nepal	2022年
Frevarence of antibiotic resistance genes in drinking water of the kathmandu variey, Nepar	2022#
0. 1824.67	C = 171 = 14 o =
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Environmental Challenges	100527 ~ 100527
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.1016/j.envc.2022.100527	有
	13
オープンアクセス	国際共著
	該当する
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	該当りる
. ***	
1.著者名	4 . 巻
Sabar Muhammad Adnan、Honda Ryo、Haramoto Eiji	221
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
2.論文標題	5 . 発行年
CrAssphage as an indicator of human-fecal contamination in water environment and virus	2022年
reduction in wastewater treatment	2022 1
	こ 目知し目後で下
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Water Research	118827 ~ 118827
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.1016/j.watres.2022.118827	有
10.1010/j.wattes.2022.11002/	H
オープンアクセス	国際共著
	国际 共省
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	-
1.著者名	4 . 巻
Sthapit Niva、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Ghaju Shrestha Rajani、Thakali Ocean、Sherchand	14
Jeevan B., Haramoto Eiji, Kazama Futaba	
2.論文標題	5 . 発行年
Occurrence and Reduction of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in Wastewaters in the	2022年
Kathmandu Valley, Nepal	
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
We the m	
Water	2224 ~ 2224
water	2224 ~ 2224
water	2224 ~ 2224
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224	査読の有無 有
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス	査読の有無 有 国際共著
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224	査読の有無 有
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス	査読の有無 有 国際共著
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	査読の有無 有 国際共著
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	査読の有無 有 国際共著 該当する 4.巻
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra	査読の有無 有 国際共著 該当する
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji	査読の有無 有 国際共著 該当する 4 . 巻 9
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1 . 著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2 . 論文標題	査読の有無 有 国際共著 該当する 4 . 巻 9
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2.論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and	査読の有無 有 国際共著 該当する 4 . 巻 9
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2.論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and implications for future research	査読の有無 有 国際共著 該当する 4 . 巻 9
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2.論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and	査読の有無 有 国際共著 該当する 4.巻 9 5.発行年
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1. 著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2. 論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and implications for future research 3. 雑誌名	直読の有無 有 国際共著 該当する 4 . 巻 9 5 . 発行年 2022年 6 . 最初と最後の頁
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2.論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and implications for future research	査読の有無 有 国際共著 該当する 4.巻 9 5.発行年 2022年
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1. 著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2. 論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and implications for future research 3. 雑誌名	直読の有無 有 国際共著 該当する 4 . 巻 9 5 . 発行年 2022年 6 . 最初と最後の頁
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1. 著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2. 論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and implications for future research 3. 雑誌名 Environmental Challenges	査読の有無 有 国際共著 該当する 4 . 巻 9 5 . 発行年 2022年 6 . 最初と最後の頁 100614~100614
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2.論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and implications for future research 3.雑誌名 Environmental Challenges	直読の有無 有 国際共著 該当する 4 . 巻 9 5 . 発行年 2022年 6 . 最初と最後の頁 100614~100614
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1. 著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2. 論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and implications for future research 3. 雑誌名 Environmental Challenges	査読の有無 有 国際共著 該当する 4 . 巻 9 5 . 発行年 2022年 6 . 最初と最後の頁 100614~100614
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1. 著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2. 論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and implications for future research 3. 雑誌名 Environmental Challenges 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envc.2022.100614	直読の有無 有 国際共著 該当する 4.巻 9 5.発行年 2022年 6.最初と最後の頁 100614~100614
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2.論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and implications for future research 3.雑誌名 Environmental Challenges	直読の有無 有 国際共著 該当する 4 . 巻 9 5 . 発行年 2022年 6 . 最初と最後の頁 100614~100614
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/w14142224 オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1. 著者名 Thakali Ocean、Raya Sunayana、Malla Bikash、Tandukar Sarmila、Tiwari Ananda、Sherchan Samendra P.、Sherchand Jeevan B.、Haramoto Eiji 2. 論文標題 Pilot study on wastewater surveillance of dengue virus RNA: Lessons, challenges, and implications for future research 3. 雑誌名 Environmental Challenges 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envc.2022.100614	直読の有無 有 国際共著 該当する 4 . 巻 9 5 . 発行年 2022年 6 . 最初と最後の頁 100614~100614 査読の有無

1 . 著者名 Malla Bikash、Thakali Ocean、Shrestha Sadhana、Segawa Takahiro、Kitajima Masaaki、Haramoto Eiji	4.巻 853
2.論文標題 Application of a high-throughput quantitative PCR system for simultaneous monitoring of SARS-CoV-2 variants and other pathogenic viruses in wastewater	5.発行年 2022年
3.雑誌名 Science of The Total Environment	6 . 最初と最後の頁 158659~158659
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2022.158659	 査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著
1 . 著者名 Angga Made Sandhyana、Malla Bikash、Raya Sunayana、Kitajima Masaaki、Haramoto Eiji	4.巻 882
2.論文標題 Optimization and performance evaluation of an automated filtration method for the recovery of SARS-CoV-2 and other viruses in wastewater	5 . 発行年 2023年
3.雑誌名 Science of The Total Environment	6.最初と最後の頁 163487~163487
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2023.163487	 査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著
. ***	
1 . 著者名 Hata Akihiko、Meuchi Yuno、Liu Miaomiao、Torii Shotaro、Katayama Hiroyuki	4.巻 15
2.論文標題 Surfactant Treatment for Efficient Gene Detection of Enteric Viruses and Indicators in Surface Water Concentrated by Ultrafiltration	5 . 発行年 2023年
3.雑誌名 Food and Environmental Virology	6.最初と最後の頁 8~20
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s12560-022-09543-y	 査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著
〔学会発表〕 計23件(うち招待講演 6件/うち国際学会 7件)	
1 . 発表者名 Eiji Haramoto	
2.発表標題 Health-related water microbiology: wastewater-based epidemiology and microbial source tracking	

Health-related water microbiology: wastewater-based epidemiology and microbial source tracking

Virtual Conferences: ERIS International Scientific Week (招待講演) (国際学会)

3 . 学会等名

4 . 発表年 2021年

1.発表者名 Niva Sthapit, Bikash Malla, Sarmila Tandukar, Eiji Haramoto
2. 発表標題 Wastewater surveillance of enteric viruses for wastewater-based epidemiology
3.学会等名 4th International Forum on Asian Water Environment Technology(国際学会)
4 . 発表年 2021年
1. 発表者名 Nana Frempong Manso, Bikash Malla, Eiji Haramoto
2. 発表標題 Selection and application of bacteriophages as a microbial genetic marker in environmental water: the case of somatic coliphages
3.学会等名 4th International Forum on Asian Water Environment Technology(国際学会)
4 . 発表年 2021年
1.発表者名 明地柚乃,中田美雨,花本征也,端昭彦
2 . 発表標題 汚染要因の異なる富山県内3河川における微生物汚染指標の特性評価
3 . 学会等名 第24回日本水環境学会シンポジウム
4 . 発表年 2021年
1 改丰本々
1.発表者名 明地柚乃,中田美雨,端昭彦,花本征也
2 . 発表標題 水環境の糞便汚染指標としてのF特異バクテリオファージの利用可能性評価
3.学会等名 第56回日本水環境学会年会
4.発表年

2022年

1.発表者名 高松由樹,明地柚乃,石黒伶奈,黒田啓介,端昭彦
2 . 発表標題 平常時のプール水における微生物学的水質調査
3 . 学会等名 第56回日本水環境学会年会
4 . 発表年 2022年
1.発表者名 原本英司
2.発表標題 水環境中におけるノロウイルスの汚染実態
3 . 学会等名 第69回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第67回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会(招待講演)
4 . 発表年 2020年
1.発表者名 原本英司
2 . 発表標題 水環境中の病原微生物の汚染実態の解明と下水疫学研究の推進
3.学会等名 科学技術振興機構(JST)2020年度第4回理事長記者説明会(招待講演)
4 . 発表年 2020年
1.発表者名 原本英司
2 . 発表標題 環境水中における病原微生物の汚染実態と微生物指標の活用
3 . 学会等名 第66回日本水環境学会セミナー「水環境における病原性ウイルスモニタリング技術の動向 」(招待講演)
4 . 発表年 2021年

1.発表者名 伊藤聖晃,原本英司
2 . 発表標題 環境水中の微生物遺伝子マーカーとしての体表面吸着大腸菌ファージの有効性評価
3.学会等名 第55回日本水環境学会年会
4 . 発表年 2021年
1.発表者名 石崎知依,木村克輝,岡部聡,北島正章
2.発表標題 パイロットスケールMBRを設置した下水処理場における病原・指標ウイルスの定量解析
3 . 学会等名 第55回日本水環境学会年会
4 . 発表年 2021年
1.発表者名 原本英司,八束響,Sunayana Raya,Bikash Malla,濱端一苑,吉田響太,瀬川高弘,八重樫咲子,松林尚志
2.発表標題 ヌタ場における微生物の存在実態調査
3 . 学会等名 第25回日本水環境学会シンポジウム
4 . 発表年 2022年
1.発表者名 原本英司
2.発表標題 ウィズコロナ時代の下水疫学調査へのハイスループットリアルタイムPCRの活用
3.学会等名 スタンダード・バイオツールズ プロフェッショナルウェビナーシリーズ:ウィズコロナ時代に活用,マイクロフリューディクス技術の応用(招待講演)
4 . 発表年 2023年

1. 発表者名
Nana Frempong Manso, Bikash Malla, Eiji Haramoto
2.発表標題
Fate of somatic coliphages as a microbial genetic marker in environmental water
3.学会等名
Water and Environment Technology Conference Online 2022(国際学会)
4.発表年

1.発表者名

2022年

Sunayana Raya, Bikash Malla, Ocean Thakali, Made Sandhyana Angga, Takahiro Segawa, Eiji Haramoto

2 . 発表標題

Development and application of high-throughput qPCR for detection of microbial source tracking markers in environmental water samples

3 . 学会等名

Water and Environment Technology Conference Online 2022 (国際学会)

4 . 発表年 2022年

1.発表者名

Masaaki Kitajima

2 . 発表標題

Genomics Methods for Identifying, Tracking and Tracing Pathogens in Irrigation Water

3 . 学会等名

Singapore International Water Week (国際学会)

4.発表年

2022年

1.発表者名

荒川千智,左近直美,橋本温,岸田文,三浦郁修,安藤宏紀,原本英司,岡部聡,北島正章

2 . 発表標題

下水疫学に基づくSARS-CoV-2とノロウイルスの流行動向の都市間比較

3 . 学会等名

第59回環境工学研究フォーラム

4 . 発表年

2022年

2 . 発表標題 水中ウイルス研究の進歩と社会実装を支える工学的技術開発思想 3 . 学会等名 第43回環境技術思想小委員会・臨床環境技術小委員会合同講演会(招待講演) 4 . 発表年 2023年 1 . 発表者名 Yuno Meuchi, Miu Nakada, Akihiko Hata, Seiya Hanamoto 2 . 発表標題 Applicability of F-specific Bacteriophage Subgroups as Indicators of Viral Contamination and Inactivation in Rivers in Toyama Prefecture 3 . 学会等名 Water and Environment Technology Conference Online 2022(国際学会) 4 . 発表年 2022年 1 . 発表者名 業山みのり、明地柚乃、端昭彦 2 . 発表標題 RT-PCR阻害物質を含む河川水試料中のRNAウイルスを対象とした定量RT-PCR手法の比較検討
水中ウイルス研究の進歩と社会実装を支える工学的技術開発思想 3 . 学会等名 第43回環境技術思想小委員会・臨床環境技術小委員会合同講演会(招待講演) 4 . 発表年 2023年 1 . 発表者名 Yuno Meuchi, Miu Nakada, Akihiko Hata, Seiya Hanamoto 2 . 発表標題 Applicability of F-specific Bacteriophage Subgroups as Indicators of Viral Contamination and Inactivation in Rivers in Toyama Prefecture 3 . 学会等名 Water and Environment Technology Conference Online 2022(国際学会) 4 . 発表年 2022年 1 . 発表者名 葉山みの19 , 明地柚乃 , 端昭彦
第43回環境技術思想小委員会・臨床環境技術小委員会合同講演会(招待講演) 4. 発表年 2023年 1. 発表者名 Yuno Meuchi, Miu Nakada, Akihiko Hata, Seiya Hanamoto 2. 発表標題 Applicability of F-specific Bacteriophage Subgroups as Indicators of Viral Contamination and Inactivation in Rivers in Toyama Prefecture 3. 学会等名 Water and Environment Technology Conference Online 2022(国際学会) 4. 発表年 2022年 1. 発表者名 葉山みのり,明地柚乃,端昭彦
第43回環境技術思想小委員会・臨床環境技術小委員会合同講演会(招待講演) 4. 発表年 2023年 1. 発表者名 Yuno Meuchi, Miu Nakada, Akihiko Hata, Seiya Hanamoto 2. 発表標題 Applicability of F-specific Bacteriophage Subgroups as Indicators of Viral Contamination and Inactivation in Rivers in Toyama Prefecture 3. 学会等名 Water and Environment Technology Conference Online 2022 (国際学会) 4. 発表年 2022年 1. 発表者名 葉山みのり,明地柚乃,端昭彦 2. 発表標題
1. 発表者名 Yuno Meuchi, Miu Nakada, Akihiko Hata, Seiya Hanamoto 2. 発表標題 Applicability of F-specific Bacteriophage Subgroups as Indicators of Viral Contamination and Inactivation in Rivers in Toyama Prefecture 3. 学会等名 Water and Environment Technology Conference Online 2022 (国際学会) 4. 発表年 2022年 1. 発表者名 葉山みのり,明地柚乃,端昭彦
Yuno Meuchi, Miu Nakada, Akihiko Hata, Seiya Hanamoto 2 . 発表標題 Applicability of F-specific Bacteriophage Subgroups as Indicators of Viral Contamination and Inactivation in Rivers in Toyama Prefecture 3 . 学会等名 Water and Environment Technology Conference Online 2022 (国際学会) 4 . 発表年 2022年 1 . 発表者名 葉山みのり,明地柚乃,端昭彦
Applicability of F-specific Bacteriophage Subgroups as Indicators of Viral Contamination and Inactivation in Rivers in Toyama Prefecture 3 . 学会等名 Water and Environment Technology Conference Online 2022(国際学会) 4 . 発表年 2022年 1 . 発表者名 葉山みのり,明地柚乃,端昭彦
Water and Environment Technology Conference Online 2022 (国際学会) 4 . 発表年 2022年 1 . 発表者名 葉山みのり , 明地柚乃 , 端昭彦 2 . 発表標題
2022年 1 . 発表者名 葉山みのり, 明地柚乃, 端昭彦 2 . 発表標題
葉山みのり,明地柚乃,端昭彦 2.発表標題
3 . 学会等名 第25回日本水環境学会シンポジウム
4 . 発表年 2022年
1.発表者名 高松由樹,端昭彦,石黒伶奈,明地柚乃,黒田啓介
2 . 発表標題 利用状況や利用者属性に応じたプール水中での化学的・微生物学的汚染指標群の関連
3 . 学会等名 第59回環境工学研究フォーラム
4 . 発表年 2022年

	表者名 柚乃,三小田憲史,花本征也,端昭彦
2.発表 河川:	表標題 水を対象とした糞便汚染源追跡ツールとしての環境DNAメタバーコーディング法の有用性評価
3.学 2 第57	会等名 回日本水環境学会年会
4 . 発表	表年

1.発表者名 葉山みのり,端昭彦

2 . 発表標題

2023年

水中ウイルス濃縮液中のPCR阻害物質量推定手法の検討

3 . 学会等名

第57回日本水環境学会年会

4 . 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6 四京知典

6	. 研究組織						
	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考				
	北島 正章	北海道大学・工学研究院・准教授					
研究分担者	(KITAJIMA Masaaki)						
	(30777967)	(10101)					
	端昭彦	富山県立大学・工学部・講師					
研究分担者	(HATA Akihiko)						
	(70726306)	(23201)					

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	テュレーン大学	モーガン州立大学		