

令和 2 年 7 月 7 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03332

研究課題名(和文) 公共用水域の糞便汚染源の可視化を実現する宿主特異的ウイルス遺伝子マーカー群の探索

研究課題名(英文) Identification of host-specific viral genetic markers for fecal contamination analysis of environmental water

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) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ウイルスやファージが高い宿主特異性を有することに着目し、研究対象流域内で採取した糞便汚染源試料を用いて比較検討することで、当該流域の水環境における糞便汚染源解析を行う上で最適となる「ウイルス遺伝子マーカー群」を決定した。さらに、最適と判断されたウイルス遺伝子マーカー群を土地利用特性の異なる河川水試料に適用することにより、ヒトのみならず動物による糞便汚染の実態を可視化することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、環境省により水質環境基準における衛生指標を大腸菌群から大腸菌に変更することが検討されているが、大腸菌を測定するのみでは糞便汚染源となる宿主に関する情報を得ることはできない。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。

本研究の成果は、水環境中の糞便汚染源を特定し、適切な糞便汚染負荷低減策を採ることを可能とするものであり、健全な水環境の構築に貢献できるものであり、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 identify host-specific viral genetic markers which can be used for fecal contamination analysis of the aquatic environments. Various types of fecal-source samples were used to find suitable viral genetic markers in the tested area. Furthermore, the selected markers were successfully used to determine the situations of fecal contamination of river water samples with different characteristics.

研究分野：健康関連微生物

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

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、水質環境基準における衛生指標として大腸菌群数が用いられているが、大腸菌群には糞便由来を主とする大腸菌以外の細菌も含まれることから、糞便汚染を正確に反映できていないことが懸念されている。この問題を解決するため、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となると期待される。一方で、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、対象地域の糞便汚染源となり得る試料を用いてその有効性を検証し、最適なものを選定する必要がある。

2. 研究の目的

本研究では、ウイルスおよびファージの宿主特異性の高さに着目し、微生物遺伝子マーカーとして用いることにより、河川水中の糞便汚染源解析を試みた。まず、糞便汚染源試料(下水処理場の流入水と2次処理水、合併浄化槽排水、豚舎排水およびウシ糞便)における11種類のウイルス遺伝子マーカーの検出特性を把握し、当該流域の水環境中における糞便汚染源解析を行う上で最適となる「ウイルス遺伝子マーカー群」を決定した。さらに、最適と判断されたウイルス遺伝子マーカー群を複数の河川水試料に適用することにより、糞便汚染源の可視化を試みた。また、新たなウイルス遺伝子マーカー群の候補として、F 特異 DNA 大腸菌ファージ (F-DNA ファージ) と体表面吸着大腸菌ファージ (体表面ファージ) に着目し、遺伝子群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。

3. 研究の方法

(1) 試料の採取

糞便汚染源試料として、アーカイブ試料も含め、2016年8月~2019年12月下水処理場において下水流入水と2次処理水(各16試料)、2016年12月~2018年1月に合併浄化槽排水(3試料)、2017年12月~2019年10月に豚舎において豚舎排水(5試料)、2016年10月~12月に牛舎においてウシ糞便(15試料)を採取した。

河川水試料として、2017年10月~2018年12月に甲府盆地内の環境基準点を中心とした21地点(63試料)、さらに、2019年10月~2020年1月に土地利用特性の異なる3地点(21試料)において表流水を採取した。

(2) 指標微生物の測定

指標微生物として、大腸菌群と大腸菌をクロモカルト・コリフォーム寒天培地法 (Merck Millipore)、クロモアガーECC寒天培地法 (関東化学)、コリラート法 (Idexx Laboratories) またはコリラート18法 (Idexx Laboratories) を用いて測定した。

(3) ウイルスの測定

水試料は、混合セルロース膜 (孔径 0.8 μ m, 直径 90mm, Merck Millipore) 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 (Centriprep YM-50, Merck Millipore) を用いた濃縮法により 1mL 程度に濃縮した。糞便試料は、PBS (-) に懸濁した。この試料から 200 μ L を分取し、QIAamp DNA mini kit (QIAGEN) を用いた DNA 抽出に供した。また、140 μ L を分取し、QIAamp viral RNA mini kit (QIAGEN) を用いた RNA 抽出と、High capacity cDNA reverse transcription kit (Thermo Fisher Scientific) を用いた逆転写反応に供した。

ヒト特異的なウイルス遺伝子マーカーの候補として、ヒトアデノウイルス (Heim et al. 2003)、JC ポリオーマウイルスおよび BK ポリオーマウイルス (Pal et al. 2006)、アイチウイルス (Kitajima et al. 2013) を測定した。また、ヒト特異的なマーカーとなり得る可能性が示唆されているトウガラシ微斑ウイルス (Haramoto et al. 2013, Zhang et al. 2006) と CrAssphage (Stachler et al. 2017) を測定した。動物特異的なウイルス遺伝子マーカーの候補として、ウシポリオーマウイルス (Hundesia 系 (Hundesia et al. 2010)、Wong 系 (Wong and Xagorarakis 2011)) とウシノロウイルス (Wolf et al. 2010)、ブタアデノウイルス (Hundesia et al. 2009)、ブタテスコウイルス (Jimenez-Clavero et al. 2003) を測定した。定量 PCR には Thermal Cycler Dice Real Time System TP800 (Takara Bio) を使用し、40 サイクル以内に蛍光強度の増幅曲線が閾値を超えた場合に陽性と判断した。

(4) F-DNA ファージの測定

Salmonella enterica serovar Typhimurium WG49 を宿主に用いたブラック法によって試料中の F

特異大腸菌ファージ(Fファージ)を培養した。その際、F-DNA ファージの選択的な検出を目的として適宜 RNase を 10 μ g/mL の濃度で添加し、F 特異 RNA 大腸菌ファージの増殖を抑制した。

糞便汚染源試料および水試料から単離した F ファージのブラックから DNA を加熱抽出し、F-DNA ファージに特異的な定量 PCR (Haramoto et al. 2009, Vinjé et al. 2004) 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ブラックを F-DNA ファージ陽性であると判断した。陽性ブラックに対し、定量 PCR 系と同一のプライマーを用いた定性 PCR に供し、アガロースゲル電気泳動によって確認できたバンド (PCR 産物) を回収した。QIAquick gel extraction kit (QIAGEN) を用いてゲルから PCR 産物を精製し、ダイレクトシーケンシングによって F-DNA ファージの塩基配列を決定し、系統樹を作成した。

(5) 体表面ファージの測定

体表面ファージは、*Escherichia coli* WG5 を宿主に用いたブラック法によって測定した。単離したブラックを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) に特異的な定量 PCR 系 (Lee 2009) に供した。マイクロウイルス科と判定された場合には、PhiX174 マイクロウイルス属に特異的なプライマーを用いた定性 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 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。

4. 研究成果

(1) 大腸菌群および大腸菌の測定結果

大腸菌群および大腸菌は、測定したすべてのヒト糞便汚染源試料から検出され、大腸菌の濃度は、下水流入水が 10⁵ colony-forming units (CFU)/mL 程度、2 次処理水と合併浄化槽排水が 10² CFU/mL 程度であった。大腸菌群と大腸菌は、すべてのウシ・ブタ糞便汚染源試料からも検出された。また、上流に人為汚染源のない地点の河川水からも検出された。2019 年度に採取した河川水試料を用い、クロモアガー-ECC 寒天培地法とコリラート 18 法による河川水からの大腸菌群と大腸菌の検出濃度 (常用対数値) を比較した結果、大腸菌群は 0.95、大腸菌は 0.92 の相関係数が得られ、両手法共に河川水に対して使用可能であることが分かった。

(2) ウイルス遺伝子マーカーの測定結果

糞便汚染源試料からのウイルス遺伝子マーカーの検出結果に加え、最適なウイルス遺伝子マーカーを選定するための指標である、感度 (陽性試料を正しく陽性と判定できた割合)、特異度 (陰性試料を正しく陰性と判定できた割合) および正確度 (陽性・陰性試料を正しく判別できた割合) を算出した結果を表 1 に示す。

ヒトアデノウイルス、JC ポリオーマウイルス、BK ポリオーマウイルスおよびアイチウイルスは、ヒト糞便汚染源試料から検出されない場合があり、感度は 66~72%、特異度は 95~100%、正確度は 78~84%を示した。近年新たなヒト糞便汚染指標として注目されているトウガラシ微斑ウイルスと CrAssphage は、感度は 100%を示したが、ウシおよびブタ糞便汚染源試料からも検出されたことから、宿主を問わない糞便汚染指標マーカーとして利用できる可能性が示唆された。

3 種類のウシ特異的遺伝子マーカー検出系はいずれも感度が低く、多くの個体から排出される糞便を含む排水ではなく、糞便を測定したことに起因していると推察された。一方、ブタアデノウイルスとブタテスコウイルスは、感度、特異度、正確度いずれも 98~100%と高く、ブタ特異的ウイルス遺伝子マーカーとして適していると判断した。

糞便汚染源試料を用いた検討により宿主特異的遺伝子マーカーとしての利用が可能であると判断された、ヒトアデノウイルス、ブタアデノウイルスおよびブタテスコウイルス、さらに、宿主を問わない糞便汚染指標マーカーとして適していると判断されたトウガラシ微斑ウイルスと CrAssphage を対象に、河川水試料からの検出を試みた。2017~2018 年度に実施した甲府盆地全域調査では、CrAssphage は上流に人家が存在しない上流域の地点を除くすべての地点から検出され、そのうち 12 地点ではヒトアデノウイルスも検出されていたことから、ヒト糞便汚染源を受けている地点であると推定された。ブタテスコウイルスは、上流域に豚舎を有する 4 地点において高頻度で検出された。

2019 年度に採取した 3 地点の河川水においても同様の傾向が認められ、2017~2018 年度にも調査した上流に人家が存在しない上流域の地点では、7 試料中 4 試料 (57%) からトウガラシ微斑ウイルスと CrAssphage のいずれかまたは両方が検出され、ヒト以外の動物由来の糞便汚染の影響も示唆された。また、豚舎排水放流口の直下に位置する地点では、7 試料中 6 試料 (86%) からブタアデノウイルスとブタテスコウイルスのいずれかまたは両方が検出され、ブタ糞便汚染レベルが高いことが確認された。

表1 糞便汚染源試料からのウイルス遺伝子マーカーの検出結果

宿主	ウイルス遺伝子マーカー	陽性試料数/測定試料数					指標		
		下水流入水	下水2次処理水	合併浄化槽排水	ウシ糞便	豚舎排水	感度	特異度	正確度
ヒト	ヒトアデノウイルス	10/13	11/13	0/3	0/15	0/5	72%	100%	84%
	JC ポリオーマウイルス	12/13	6/13	3/3	2/15	0/5	72%	90%	80%
	BK ポリオーマウイルス	13/13	4/13	2/3	0/15	1/5	66%	95%	78%
	アイチウイルス	11/13	9/13	0/3	0/15	0/5	69%	100%	82%
	トウガラシ微斑ウイルス	13/13	13/13	3/3	6/15	4/5	100%	50%	80%
	CrAssphage	13/13	13/13	3/3	0/15	5/5	100%	75%	90%
ウシ	ウシポリオーマウイルス (Hundesia 系)	0/13	0/13	0/3	0/15	0/5	0%	100%	69%
	ウシポリオーマウイルス (Wong 系)	0/13	0/13	0/3	0/15	0/5	0%	100%	69%
	ウシノロウイルス	0/13	0/13	0/3	6/15	0/5	40%	100%	82%
ブタ	ブタアデノウイルス	0/13	0/13	0/3	0/15	5/5	100%	100%	100%
	ブタテスコウイルス	0/13	1/13	0/3	0/15	5/5	100%	98%	98%

(3) F-DNA ファージの測定結果

糞便汚染源および水試料から単離した F ファージのブラックを F-DNA ファージの定量 PCR と定性 PCR に供した結果、96 株が F-DNA ファージであると判定された。ダイレクトシーケンシングを行った結果、96 株中 89 株の塩基配列を決定することに成功した。ヒト糞便汚染源試料から単離したブラックの大部分は、fd 群または WT 群に分類されたが、いずれにも分類されないものもあった。一方、ブタ糞便汚染源試料から単離されたブラックは、単一の遺伝子群に分類された。河川水試料から単離したブラックは fd 群または WT 群に分類されたことから、これらのファージの由来はヒト糞便である可能性が示唆された。

(4) 体表面ファージの測定結果

体表面ファージは、ブラック法によって測定した糞便汚染源試料すべてから検出され、河川水からも 95% の陽性率を示した。また、マイクロウイルス科に特異的な定量 PCR に供した結果、下水流入水、下水処理水および豚舎排水から単離したブラックの 36%、63% および 87% がマイクロウイルス科であると判定され、体表面ファージあるいはマイクロウイルス科の検出に基づくのみでは、糞便汚染源解析は行えないことが分かった。そこで、PhiX174 マイクロウイルス属を増幅可能な定性 PCR を用い、マイクロウイルス科と判定されたブラックを塩基配列解析に供した。その結果、ヒト糞便汚染源試料とブタ糞便汚染源試料から単離したブラックは異なるクラスターに分類され、PhiX174 マイクロウイルス属の遺伝子群を決定することにより、糞便汚染源の判別が可能となることが示唆された。

(5) まとめ

本研究では、水環境中への主要な糞便汚染源であると想定される宿主(ヒト、ウシおよびブタ)に対し、様々な糞便汚染源試料中におけるウイルス遺伝子マーカーの測定を通じ、調査対象地域において利用可能なウイルス遺伝子マーカーを決定すると共に、それを河川水試料に適用することで、流域の土地利用状況と整合性のある糞便汚染の実態を明らかにすることができた。また、F-DNA ファージと体表面ファージを遺伝子群レベルで検出することの有効性が示され、新たなウイルス遺伝子マーカーとなり得ることが示唆された。これらのウイルス遺伝子マーカー群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

- 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.
- Haramoto, E., Kitajima, M., Katayama, H., Asami, M., Akiba, M., and Kunikane, S. (2009) Application of real-time PCR assays to genotyping of F-specific phages in river water and sediments in Japan. *Water Res* 43, 3759-3764.
- Haramoto, E., Kitajima, M., Kishida, N., Konno, Y., Katayama, H., Asami, M., and Akiba, M. (2013) Occurrence of pepper mild mottle virus in drinking water sources in Japan. *Appl Environ Microbiol* 79, 7413-7418.
- Heim, A., Ebnet, C., Harste, G., and Pring-Akerblom, P. (2003) Rapid and quantitative detection of human adenovirus DNA by real-time PCR. *J Med Virol* 70, 228-239.
- Hundesia, A., Bofill-Mas, S., Maluquer de Motes, C., Rodriguez-Manzano, J., Bach, A., Casas, M., and Girones, R. (2010) Development of a quantitative PCR assay for the quantitation of bovine

- polyomavirus as a microbial source-tracking tool. *J Virol Methods* 163, 385–389.
6. Hundesa, A., Maluquer de Motes, C., Albinana-Gimenez, N., Rodriguez-Manzano, J., Bofill-Mas, S., Suñen, E., and Girones, R. (2009) Development of a qPCR assay for the quantification of porcine adenoviruses as an MST tool for swine fecal contamination in the environment. *J Virol Methods* 158, 130–135.
 7. Jimenez-Clavero, M. A., Fernandez, C., Ortiz, J.A., Pro, J., Carbonell, G., Tarazona, J.V., Roblas, N., and Ley, V. (2003) Teschoviruses as indicators of porcine fecal contamination of surface water. *Appl Environ Microbiol* 69, 6311–6315.
 8. Kitajima, M., Hata, A., Yamashita, T., Haramoto, E., Minagawa, H., and Katayama, H. (2013) Development of a reverse transcription-quantitative PCR system for detection and genotyping of Aichi viruses in clinical and environmental samples. *Appl Environ Microbiol* 79, 3952–3958.
 9. 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.
 10. Pal, A., L. Sirota, T. Maudru, K. Peden, and A. M. Lewis Jr. 2006. Real-time, quantitative PCR assays for the detection of virus-specific DNA in samples with mixed populations of polyomaviruses. *J Virol Methods* 135, 32–42.
 11. Stachler, E., Kelty, C., Sivaganesan, M., Li, X., Bibby, K., and Shanks, O. C. (2017) Quantitative CrAssphage PCR assays for human fecal pollution measurement. *Environ Sci Technol* 51, 9146–9154.
 12. Vinjé, J., Oudejans, S. J. G., Stewart, J. R., Sobsey, M. D., and Long, S. C. (2004) Molecular detection and genotyping of male-specific coliphages by reverse transcription-PCR and reverse line blot hybridization. *Appl Environ Microbiol* 70, 5996–6004.
 13. Wolf, S., Hewitt, J., and Greening, G. E. (2010) Viral multiplex quantitative PCR assays for tracking sources of fecal contamination. *Appl Environ Microbiol* 76, 1388–1394.
 14. Wong, K., and Xagorarakis, I. (2011) Evaluating the prevalence and genetic diversity of adenovirus and polyomavirus in bovine waste for microbial source tracking. *Appl Microbiol Biotechnol* 90, 1521–1526.
 15. Zhang, T., Breitbart, M., Lee, W. H., Rum, J. Q., Wei, C. L., Soh, S. W., Hibberd, M. L., Liu, E. T., Rohwer, F., and Ruan, Y. (2006) RNA viral community in human feces: prevalence of plant pathogenic viruses. *PLoS Biol* 4, e3.
 16. 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10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 8件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Malla Bikash, Ghaju Shrestha Rajani, Tandukar Sarmila, Bhandari Dinesh, Thakali Ocean, Sherchand Jeevan B., Haramoto Eiji	4. 巻 8
2. 論文標題 Detection of Pathogenic Viruses, Pathogen Indicators, and Fecal-Source Markers within Tanker Water and Their Sources in the Kathmandu Valley, Nepal	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 81～81
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/pathogens8020081	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 該当する
1. 著者名 Malla Bikash, Ghaju Shrestha Rajani, Tandukar Sarmila, Sherchand Jeevan B., Haramoto Eiji	4. 巻 11
2. 論文標題 Performance Evaluation of Human-Specific Viral Markers and Application of Pepper Mild Mottle Virus and CrAssphage to Environmental Water Samples as Fecal Pollution Markers in the Kathmandu Valley, Nepal	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Food and Environmental Virology	6. 最初と最後の頁 274～287
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12560-019-09389-x	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 該当する
1. 著者名 Malla Bikash, Makise Koki, Nakaya Koki, Mochizuki Taizo, Yamada Takahiro, Haramoto Eiji	4. 巻 11
2. 論文標題 Evaluation of Human- and Animal-Specific Viral Markers and Application of CrAssphage, Pepper Mild Mottle Virus, and Tobacco Mosaic Virus as Potential Fecal Pollution Markers to River Water in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Food and Environmental Virology	6. 最初と最後の頁 446～452
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12560-019-09398-w	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 -
1. 著者名 Tandukar Sarmila, Sherchan Samendra P., Haramoto Eiji	4. 巻 10
2. 論文標題 Applicability of crAssphage, pepper mild mottle virus, and tobacco mosaic virus as indicators of reduction of enteric viruses during wastewater treatment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3616
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-60547-9	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 該当する

1. 著者名 Malla Bikash, Haramoto Eiji	4. 巻 16
2. 論文標題 Host-specific mitochondrial DNA markers for tracking the sources of fecal pollution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Environmental Science & Health	6. 最初と最後の頁 34 ~ 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.coesh.2020.02.006	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 -

1. 著者名 Sarmila Tandukar, Jeevan B. Sherchand, Dinesh Bhandari, Samendra P. Sherchan, Bikash Malla, Rajani Ghaju Shrestha, Eiji Haramoto	4. 巻 7
2. 論文標題 Presence of human enteric viruses, protozoa, and indicators of pathogens in the Bagmati River, Nepal	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 38 ~ 38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pathogens7020038	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 該当する

1. 著者名 Eiji Haramoto, Masaaki Kitajima, Akihiko Hata, Jason R. Torrey, Yoshifumi Masago, Daisuke Sano, Hiroyuki Katayama	4. 巻 135
2. 論文標題 A review on recent progress in the detection methods and prevalence of human enteric viruses in water	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Water Research	6. 最初と最後の頁 168 ~ 186
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.watres.2018.02.004	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 該当する

1. 著者名 Akihiko Hata, Masaaki Kitajima, Eiji Haramoto, Suntae Lee, Masaru Ihara, Charles P. Gerba, Hiroaki Tanaka	4. 巻 8
2. 論文標題 Next-generation amplicon sequencing identifies genetically diverse human astroviruses, including recombinant strains, in environmental waters	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11837
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-30217-y	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 該当する

1. 著者名 M. Kitajima, H. P. Sassi, J. R. Torrey	4. 巻 1
2. 論文標題 Pepper mild mottle virus as a water quality indicator	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 npj Clean Water	6. 最初と最後の頁 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1038/s41545-018-0019-5	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 該当する

1. 著者名 Sadhana Shrestha, Shankar Shrestha, Junko Shindo, Jeevan B. Sherchand, Eiji Haramoto	4. 巻 10
2. 論文標題 Virological quality of irrigation water sources and pepper mild mottle virus and tobacco mosaic virus as index of pathogenic virus contamination level	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Food and Environmental Virology	6. 最初と最後の頁 107 ~ 120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12560-017-9324-2	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 該当する

[学会発表] 計18件(うち招待講演 0件/うち国際学会 7件)

1. 発表者名 Sarmila Tandukar, Jeevan B. Sherchand, Bikash Malla, Rajani Ghaju Shrestha, Ocean Thakali, Eiji Haramoto
2. 発表標題 Enteric virus contamination in hospital wastewater of the Kathmandu Valley, Nepal
3. 学会等名 20th International Symposium on Health-Related Water Microbiology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤聖晃, 原本英司
2. 発表標題 河川水中の糞便汚染指標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54回日本水環境学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Bikash Malla, Jeevan B. Sherchand, Eiji Haramoto
2. 発表標題 Performance evaluation of animal-specific viral and mitochondrial DNA markers and their application to microbial source tracking of drinking water sources in the Kathmandu Valley, Nepal
3. 学会等名 Water and Environment Technology Conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masaaki Ito, Taizo Mochizuki, Eiji Haramoto
2. 発表標題 Evaluation of applicability of somatic coliphages as indicators of fecal contamination in river water
3. 学会等名 Water and Environment Technology Conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sarmila Tandukar, Jeevan B. Sherchand, Bikash Malla, Rajani Ghaju Shrestha, Ocean Thakali, Eiji Haramoto
2. 発表標題 Reduction of enteropathogens at two conventional wastewater treatment plants in Nepal
3. 学会等名 Water and Environment Technology Conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Samendra Sherchan, Sarmila Tandukar, Eiji Haramoto
2. 発表標題 Reduction of crAssphage and enteric viruses during conventional wastewater treatment
3. 学会等名 20th International Symposium on Health-Related Water Microbiology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Bikash Malla, Rajani Ghaju Shrestha, Sarmila Tandukar, Jeevan B. Sherchand, Eiji Haramoto
2. 発表標題 Pepper mild mottle virus and crAssphage as fecal pollution markers in aquatic environments of the Kathmandu Valley, Nepal
3. 学会等名 20th International Symposium on Health-Related Water Microbiology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原本英司
2. 発表標題 宿主特異的微生物遺伝子マーカーを用いた水環境中の糞便汚染源解析
3. 学会等名 第21回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堂山貴広, 原本英司
2. 発表標題 塩素消毒処理による大腸菌ファージ野生株の遺伝子型別の不活化効果
3. 学会等名 第53回日本水環境学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 牧瀬晃基, Bikash Malla, 原本英司, 坂本康
2. 発表標題 河川水中の糞便汚染指標としてのCrAssphageの有効性の検討
3. 学会等名 第53回日本水環境学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤聖晃, 望月大蔵, 原本英司
2. 発表標題 環境水中における体表面吸着大腸菌ファージの糞便汚染指標としての有効性評価
3. 学会等名 第53回日本水環境学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古賀皓晟, 堂山貴広, 原本英司, 坂本康
2. 発表標題 河川水中におけるF特異DNA大腸菌ファージの存在実態および糞便汚染源指標としての有効性の検討
3. 学会等名 第53回日本水環境学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本一輝, Bikash Malla, 原本英司, 坂本康
2. 発表標題 ミトコンドリアDNAおよびバクテロイデス遺伝子マーカーを用いた河川水中の糞便汚染源解析
3. 学会等名 第53回日本水環境学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sarmila Tandukar, Bikash Malla, Rajani Ghaju Shrestha, Dinesh Bhandari, Jeevan B. Sherchand, Eiji Haramoto
2. 発表標題 Presence of enteric viruses and protozoa in different sources of water in the Kathmandu Valley, Nepal
3. 学会等名 ASM Microbe 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堂山貴広, 望月大蔵, 原本英司
2. 発表標題 下水および河川水中におけるF特異大腸菌ファージの遺伝子群別解析
3. 学会等名 第20回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中谷航己, 山田貴大, Bikash Malla, 原本英司
2. 発表標題 宿主特異的ウイルス遺伝子マーカーを用いた甲府盆地河川水中の糞便汚染源の解析
3. 学会等名 第45回土木学会関東支部技術研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堂山貴広, 原本英司
2. 発表標題 F特異RNA大腸菌ファージ野生株の遺伝子群別の塩素消毒耐性
3. 学会等名 第52回日本水環境学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 望月大蔵, 原本英司
2. 発表標題 河川水中の糞便汚染指標としての体表面吸着大腸菌ファージの遺伝子群別検出の有効性
3. 学会等名 第52回日本水環境学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分担者	北島 正章 (KITAJIMA Masaaki) (30777967)	北海道大学・工学研究院・助教 (10101)	
研究 分担者	端 昭彦 (HATA Akihiko) (70726306)	富山県立大学・工学部・講師 (23201)	