

第 336 回雑誌会  
(Aug. 28, 2020)

**(1) Consecutive ultrafiltration and silica adsorption for recovery of extracellular antibiotic resistance genes from an urban river**

Liu, M., Hata, A., Katayama, H. and Kasuga, I.

Environmental Pollution, **260**, 114062 (2020).

Reviewed by S.Tamai

薬剤耐性 (AR) 菌の拡散は、国際的な問題となっている。一般に、細菌は、細胞外 DNA (exDNA) を取り込むこと (形質転換) により AR を獲得することが知られている。しかしながら、水中における exDNA の検出は、その濃度の低さから困難である。そこで本研究では、中空糸限外ろ過 (HFUF) によって、細胞内 DNA (inDNA)、水中に溶解した exDNA (Dis\_exDNA)、および浮遊粒子に吸着した exDNA (Ads\_exDNA) を同時に回収する方法を検討した。HFUF によって、試料中の各 DNA 分画を濃縮後、遠心分離器を使用して Dis\_exDNA を上澄みとして inDNA と Ads\_exDNA を含むペレットから分離した。ペレット中から Ads\_exDNA の脱離を行うため、プロテイナーゼ K とリン酸ナトリウムバッファーで洗浄した。洗浄されたペレットは inDNA として、FastDNA spin kit for soil によって抽出した。Dis\_exDNA と Ads\_exDNA は、シリカ粉末に吸着後、溶出することで、PCR の際の阻害化合物を除去した。プロセス全体 (HFUF~シリカ吸着処理) の回収率を評価するため、4 種類の Dis\_exDNA (0.5, 1.0, 4.0, 10.0 kbp) を河川水にスパイクし、リアルタイム PCR 法を用いて、Dis\_exDNA の回収率を検討した。各 DNA 分画の回収が実証されたプロセスを用いて、東京の多摩川の上流 (排水排出前) 1 地点、下流 (排水排出後) 5 地点からサンプルを採取し、5 つの AR 遺伝子 (ARG) (*sul1*, *tet(A)*, *ere(A)*, *bla*TEM, *qnrD*) と *intI1*, および 16s rRNA 遺伝子を定量し、排水が河川に与える影響を評価した。

Dis\_exDNA の全体を通した回収プロセスの回収率は、0.5 kbp 44.5%, 1.0 kbp 38.8%, 5.0 kbp 62.9%, 10.0 kbp 62.2%であった。長鎖 exDNA の回収は、形質転換のプールを評価するために重要である。また、プロテイナーゼ K 処理によって、Ads\_exDNA の回収率が 4.0~10.7 倍に向上し、細胞の溶解は確認されなかった。多摩川から採取された実河川水のサンプルでは、inDNA, Dis\_exDNA, Ads\_exDNA の ARG のコピー数は、排水処理場の下流で増加が確認された。総 DNA に対する Dis\_exDNA と Ads\_exDNA の ARG の割合は、それぞれ 0.03~20.9%と 1.8~26.7%を占め、Dis\_exDNA と Ads\_exDNA は無視することのできない ARG の水平伝播のプールであることが確認された。さらに、HFUF は、従来法と比較して、低コストかつろ過速度が迅速であり、inDNA と exDNA を同時に回収できる有望なツールであることが示唆された。

## (2) Proposal of a complementary tool to assess environmental river quality: The River Classification Index (RCI)

Ana, M., Aline, V., Bruna, B., Marcelo, M.

Journal of Cleaner Production, 254, 120000 (2020).

Reviewed by R. Tanaka

流域開発が河川の生物多様性や接続性の喪失を引き起こしている。これまでは、河川環境評価のために水質や生物データが収集されてきた。しかし、環境モニタリングは一般的に高コストであり、河川管理者にとって十分な情報は蓄積されていないのが現状である。そこで本研究では、河川管理者が利用しやすく、河川の環境状態を簡単・迅速かつ高解像度で評価ができる、生物と水質の要素を組み合わせた川分類指数 (RCI) を提案する。RCI は、河岸状態と河川接続性を表す二つの指標の加重積であり、河川環境の状態を 0~1 の値で示す (0.4 以下は劣悪な環境, 0.6 以上は良好な環境を示す)。河岸状態は、川の両岸の幅 15m 以上に覆われた植生区間の割合で評価した。また、河川接続性は、縦、横、垂直の三方向で表した。さらに、縦方向はダムによる河川の分断、横方向は多くの生物種の避難所として機能する氾濫原区間の割合、垂直方向は水面下と地下水間面で発生する水・栄養素・生物の交換でそれぞれ評価した。対象流域は、ブラジルのセスマリア川流域 (SR) とペレケ・アス川流域 (PAR) とした。SR は流域の 75%以上が農村部、25%未満が都市部によって構成されている。PAR は流域の約 83%が環境保護地域であり、森林に覆われている。これら 2つの流域を対象に、現況シナリオ (CS)、現況からさらに都市拡大をして、河川植生と河川接続性が減少したシナリオ (S1)、都市拡大に際して河川接続性と河川植生を維持する環境に配慮したシナリオ (S2) を設定して、それぞれ RCI を計算した。なお、SR の S1 シナリオにおいては、ダム設置による接続性の低下も加味した。

SR.CS (SR の CS シナリオ) における RCI の値は 0.37 であり、PAR.CS の値 (=0.87) と比較して低い結果となった。このことから、RCI によって環境への配慮が異なる流域における河川環境状態の違いを表現できることが示された。SR.S1 と PAR.S1 における RCI は、それぞれ 0.27 と 0.75 になり、都市拡大によって現在と比較して値が低下した。一方、SR.S2 と PAR.S2 の RCI はそれぞれ 0.67 と 0.92 になり、環境に配慮して都市拡大することによって、現在よりも RCI が増加する傾向が確認された。以上のことから、環境モニタリングが不要で、流域都市計画に伴う河川環境状態の変化を定量化できる RCI の有効性が示された。