

氏 名 (本 国 籍)	Panyapon Pumkaeo (タイ王国)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 7 5 0 号
学 位 授 与 年 月 日	令和 2 年 9 月 3 0 日
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	Identification of Species and Origin Information from Bioaerosols (バイオエアロゾルからの種と起源情報の特定)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教 授 鈴 木 徹 副査 岐阜大学 教 授 岩 橋 均 副査 静岡大学 教 授 河 合 真 吾

論 文 の 内 容 の 要 旨

エアロゾルとは、大気中に浮遊している液体や固体を含む微小な粒子のことである。この微小粒子には、土壌粒子、海のしぶきから発生する塩の粒子、発電や人間の活動から発生する煙粒子など、様々な種類がある。バイオエアロゾルは、微生物、花粉、生物の断片など、非常に多様な生物由来の物質、構造、大きさの集団である。大気中における生物の存在は数世紀前から知られていた。現在では、大気中の生物学的粒子の大部分は、ウイルス、細菌、真菌の断片や孢子、花粉、藻類、その他植物や動物の断片のようなものであることがわかっている。本研究では、バイオエアロゾルからの生物学的情報の痕跡をモニタリングすることを試みた。

バイオエアロゾルから抽出した生物学的痕跡情報

アンデルセンサンプラーを用いてサンプルを採取し、細菌の 16S rDNA 遺伝子、原核生物の内部転写スペーサー1 (ITS1) 領域、植物の葉緑体遺伝子 (*rbcL*) の DNA 配列の増幅と配列決定を、動物と植物の配列を標的とした数セットの特異的プライマーを用いて行った。

バイオエアロゾルからは多くの細菌情報が検出された。ITS1 を用いた動物の検出では、未培養の真菌のみが半数以上のヒットで検出され、*Cladosporium sp.*が多く検出された。*rbcL* 領域をターゲティングすることで、本研究で高頻度に検出された *Medicago papillosa* など、多様な植物情報が得られた。

バイオエアロゾル中の昆虫痕跡の検出とモニタリング

2017 年 8 月から 2019 年 8 月にかけて収集した塵埃サンプルから昆虫由来の DNA 痕跡を検出することを試みた。これらのサンプルは 1 ヶ月間隔で系統的に収集した。シトクロム C

オキシダーゼ I 遺伝子を、抽出された DNA の起源を特定するためのバーコーディング領域として利用した。これらのサンプル中の空中昆虫群集を Illumina Miseq プラットフォームを用いて分析した。最も豊富な配列は *Hemiptera* (真性昆虫) に属する種 (43%) であった。また、真菌類の多様性は昆虫類よりも高く、ほとんどの菌類はアスコミコータや担子菌類に属していることがわかった。

電子顕微鏡を用いたバイオエアロゾルの形態学的特性評価

配列情報を確認するために、SEM 画像モニタリングを採用した。採取した 1 ヶ月間の空気サンプルを走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて特徴付けを行った。SEM 画像から、大気中に一般的に見られる浮遊粒子の大部分は、生物学的粒子と非生物学的粒子の両方を含んでいることが明らかになった。さらに、SEM 画像を用いて、ブロッコソーム、内皮粒子などの昆虫由来の微粒子の存在を観察した。

審 査 結 果 の 要 旨

申請者、Panyapon Pumkaeo は、バイオエアロゾルからの生物学的情報の痕跡をモニタリングすることを試みた。その結果、バイオエアロゾルからは多くの細菌情報が検出された。ITS1 を用いた動物の検出では、未培養の真菌のみが半数以上のヒットで検出され、*Cladosporium sp.* が多く検出された。*rbcL* 領域をターゲティングすることで、*Medicago papillosa* など、多様な植物情報が得られた。また、塵埃サンプルから昆虫由来の DNA 痕跡を検出することを試みた。シトクロム C オキシダーゼ I 遺伝子を、バーコーディング領域として利用したところ、最も豊富な配列は *Hemiptera* (真性昆虫) に属する種 (43%) であった。さらに、SEM 画像から、大気中に一般的に見られる浮遊粒子の大部分は、生物学的粒子と非生物学的粒子の両方を含んでいることが明らかになった。さらに、SEM 画像を用いて、ブロッコソーム、内皮粒子などの昆虫由来の微粒子の存在を観察した。

審査委員会は、上記の内容が学術的に充分であることを確認した。

基礎となる学術論文

1) Panyapon Pumkaeo, Wenhao Lu, Youki Endou, Tomofumi Mizuno, Junko Takahashi and Hitoshi Iwahashi

Biological Trace Information Extracted from Bioaerosols Using NGS Analysis

Bioscience Journal, in press

2) Panyapon Pumkaeo, and Hitoshi Iwahashi

Bioaerosol sources, sampling methods, and major categories: A comprehensive overview

Review in Agricultural Science, in press