

審査の結果の要旨

氏名 吳 政 祐
(お じょん う)

本論文は、「Evaluation of bacterial regrowth potential in drinking water system using cell cycle parameters (水供給システムにおける細胞周期因子を用いた細菌再増殖能の評価)」と題し、水供給システムにおける細菌再増殖能を評価するため、分子生物学的な情報である細胞周期因子を導入し、新たな評価指標としての適用性、ならびに、栄養塩類の制限による細菌再増殖能の抑制効果を検討した成果である。

本論文は8つの章から構成されている。

第1章は、序論である。

第2章は、既存の研究の知見をとりまとめている。

第3章は、本研究で用いた実験方法を説明している。

第4章は、BRP法の改善及び細胞周期の測定法に関する成果である。

BRP法は対象水道水から分離された土着細菌を植種菌として使用する方法である。従来のBRP法を改善し、植種菌液に含まれている栄養塩類を遠心膜分離によって植種菌液から除く過程を導入し、BRP法を改善し、その信頼性を確立している。

細胞周期因子の定量には対数増殖期の細胞の各周期のDNA含量の比を測定しなければならないとし、対数増殖期の期間に採水された試料に対して細胞周期因子の定量を行うことの必要性を示している。また、細胞周期を分析するためにはSYTO-9は使用できないため、染色剤としてSYBR Green-1が有効であることを示している。

第5章は、水道水に対する細胞周期因子の適用に関する成果を説明している。

水道水から分離された混合土着細菌と4種類の純菌 *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* P17, *Sprillum* NOX 及び *Aeromonas hydrophila* の増殖量と増殖速度を比較し、水道水の混合土着細菌の増殖特性をよく反映する指標菌として *Pseudomonas fluorescens* P17 を選定している。

Pseudomonas aeruginosa 及び *Pseudomonas fluorescens* P17 の細胞周期特性を解析し、細菌が分裂する過程においてDNA含量の分布を意味するDNAヒストグラムは二つのピークで分かれること示し、遅い増殖速度で現れる特性の一つであるとしている。また、DNAヒストグラムから算定される各周期段階の長さは、相対的にB段階が長く、C及びD段階は短かく、遅い増殖速度の分裂特性をよく反映していることも明らかにしている。

細菌比再増殖速度と細胞周期因子、すなわち DNA 分裂指標（分裂初期の細胞質量/平均細胞質量）及び D/B 比(D 段階の長さ/B 段階の長さ)の相関性を調べ、強い相関があることを明らかにしている。この結果から、貧栄養塩類の水道水に対して、細胞周期因子を用いた細菌再増殖能による評価方法が有効であるとしている。

第 6 章は、栄養塩類の制限による細菌再増殖能の解析に関する成果である。

炭素(Glucose, Acetate 及び Humic Acids)、窒素(NH₄-N, NO₂-N 及び NO₃-N)及びリン(PO₄-P)に対する増殖特性を調べ、比再増殖速度が濃度依存しなくなる栄養塩類の特定濃度の存在を示し、「充足濃度(Sufficient Nutrient Concentration)」と定義している。この充足濃度は細菌再増殖能を抑制するための方法を開発するために有用な情報であることを示している。充足濃度を基準にして、栄養塩類を一つ、二つあるいは三つを同時に制限した場合、リンを制限した場合に増殖抑制効果が高いことを明らかにしている。

第 7 章では、細菌比再増殖速度と細胞周期因子を実際の水供給システム(東京都の金町浄水場及びその配水系統)に適用し、その有効性を示している。

急速ろ過工程(凝集沈殿-砂ろ過)及び高度処理工程(凝集沈殿-オゾン-生物活性炭-砂ろ過)の両者について、水質と細菌再増殖能を測定し、各処理工程中の細菌再増殖能とリン濃度は同様の変化を示し、金町浄水場内の細菌再増殖はリンの制限によって支配されていることを明らかにしている。この結果より、リンは細菌再増殖を制御する重要な因子であることを明解に示している。

さらに、細胞周期因子を用いて実際の細菌比再増殖速度を求める方法の実証を行っている。金町浄水場及びその配水系統の DNA 分裂指標の実測値から、第 6 章の実験室内で得られた細胞周期因子と細菌比再増殖速度の回帰曲線を用いて、その細菌比再増殖速度を計算し、実測の細菌比再増殖速度の値と高い相関を示すことを明らかにしている。この結果は、水道水に存在する指標菌の DNA 含量の比が測定できれば、培養操作なしに細菌比再増殖速度の導出ができる可能性を拓いたことを示している。

第 8 章はまとめである。

このように、本論文は、水道水のような低濃度栄養塩系における細菌再増殖能を、細菌細胞周期により評価する新しい方法を開発し、加えて、栄養塩類の細菌再増殖能への影響に新しい概念を加えたものであり、都市環境工学の学術分野に大いに貢献する成果である。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。