

九州大学伊都キャンパスにおけるPM_{2.5}の生物学的 観点からの分析と実態調査

三浦, 夏琳
九州大学大学院工学研究院応用化学部門 (機能)

井手, 幸子
九州大学大学院工学研究院応用化学部門 (機能)

内藤, 豊裕
九州大学大学院工学研究院応用化学部門 (機能)

嶋田, 泰祐
名古屋大学大学院工学研究科生命分子工学専攻

他

<https://hdl.handle.net/2324/7160858>

出版情報 : 分析化学. 69 (12), pp.741-746, 2020-12-05. 日本分析化学会
バージョン :
権利関係 : © 2020 The Japan Society for Analytical Chemistry



ノート

九州大学伊都キャンパスにおける PM_{2.5} の 生物学的観点からの分析と実態調査

三浦 夏琳¹, 井手 幸子¹, 内藤 豊裕¹, 嶋田 泰祐²,
安井 隆雄^{2,3}, 馬場 嘉信^{2,4,5,6}, 加地 範匡^{*1,4}

1 緒言

大気中を浮遊する微小な固体や液体の粒子であるエアロゾルの形状・組成は多岐にわたり、発生源や発生時期によって大気中の粒子濃度とともに変化する^{1)~4)}。エアロゾルは0.5~5 μm程の大きさの黄砂や20~100 μmの大きさの花粉等も含むが、特に2.5 μm以下の小さな微小粒子状物質 (particulate matter, 以後 PM) のことを PM_{2.5} といひ、肺の奥深くまで侵入する⁵⁾。PM_{2.5} の短期曝露 (日単位) により喘息や慢性閉塞性肺疾患⁶⁾、長期曝露 (月・年単位) により肺がんや心筋梗塞等が引き起こされるとされ^{7)~9)}、人体への健康被害が懸念されている¹⁰⁾。2018年のWHOの調査によると、PM_{2.5}等の大気汚染による死亡者数は世界で年間700万人¹¹⁾であると報告されている。また、最近では地下鉄のような閉鎖空間において、プレーキ使用時のレールとの摩擦等で発生する PM_{2.5} が大気中へ拡散されないために PM_{2.5} 濃度が上昇し、その濃度は地上の約5倍とも報告されている¹²⁾¹³⁾。

エアロゾルは大気中を浮遊している間に、ガスや水蒸気と凝結することで複雑な組成・形態に変化し、その一部は大気中を浮遊している間にウイルスや細菌、真菌等が付着することでバイオエアロゾルとなる^{14)~16)}。バイオエアロゾルはヒトの健康被害や大気汚染だけでなく¹⁷⁾、生態系のバランスや大気プロセスにも影響を与えており¹⁸⁾¹⁹⁾、光散乱吸収によって霞等の現象を起こしたり^{20)~22)}、エアロゾル粒子が雲を形成する際の核となって雲の成長を促したりと気候にも大きな影響を与えている^{23)~27)}。一方で微粒子

の堆積は酸性雨を緩和し、海洋の栄養分を供給する等、生態系にプラスの効果をもたらすこともある²⁸⁾。近年、中国大陸で発生した黄砂から細菌が検出されたという研究報告もあるが²⁹⁾、PM_{2.5}は細菌 (直径1~5 μm程度) と同程度の大きさしかないことから、細菌の運搬体となりうるかどうかといった点に関しては依然として不明な点が多い。そこで本研究では、中国大陸に近接する九州大学伊都キャンパスにおいてバイオエアロゾル、特に PM_{2.5} の生物学的観点からの実態調査及び分析を行った (Fig. 1a, b)。

2 実験

2.1 PM_{2.5} 捕集装置

環境省が定める「成分測定用微小粒子状物質捕集法」に従い³⁰⁾、ポンプ等の各機器を選定し本研究で使用する PM_{2.5} 捕集装置を作製した。PM_{2.5} 捕集装置は、マルチノズルカスケードインパクト (MCI) サンプラー (東京ダイレック)、マスフロコントローラー (MQV0020BSRN0000Y0, Azbil)、マスフロコントローラー保護用 HEPA フィルター (1602051, Flow Balance Filter, TSI)、吸引ポンプ (NLY-60, 東京ダイレック)、吸引インレット (東京ダイレック)、外置き用シェルター (東京ダイレック) の六つから構成される。

MCI サンプラーの1段目と2段目にはドーナツ型のフッ素樹脂バインダーガラス繊維フィルター (47×20 mm TX40HI20-WW, PALL) を装着し、1段目では10 μm以上の粒子を50%カットし、2段目では2.5~10 μmの粒子を50%カットすることができる。そして、3段目で滅菌サポートリング付 PTFE フィルター (47 mm ポア径 2.0 μm, 66695, PALL) 上に微小粒子状物質 (PM_{2.5}) を捕集する。吸引ポンプの流量は環境測定基準である 16.7 L min⁻¹ に設定し吸引することで捕集を行った³⁰⁾。マスフロコントローラーで吸引する大気の流量を計測・制御し、マスフロコントローラー保護用 HEPA フィルターでマスフロコントローラーへの水分の侵入を防いだ。さらに外置き用シェルターを付けることで雨風対策を行った。

九州大学伊都キャンパス (福岡市西区元岡) 近辺では、2015年3月21日から22日にかけて PM_{2.5} 濃度の1時間平

* E-mail: kaji@cstf.kyushu-u.ac.jp

¹ 九州大学大学院工学研究院応用化学部門 (機能): 819-0395 福岡県福岡市西区元岡 744

² 名古屋大学大学院工学研究科生命分子工学専攻: 464-8603 愛知県名古屋市中千種区不老町

³ JST さきがけ: 464-8603 愛知県名古屋市中千種区不老町

⁴ 名古屋大学未来社会創造機構ナノライフシステム研究所: 464-8603 愛知県名古屋市中千種区不老町

⁵ 量子科学技術研究開発機構 量子生命科学領域: 263-8555 千葉県千葉市稲毛区穴川 4-9-1

⁶ School of Pharmacy, College of Pharmacy, Kaohsiung Medical University: 100, Shih-Chuan 1st Rd., Kaohsiung, 807, Taiwan, R.O.C.

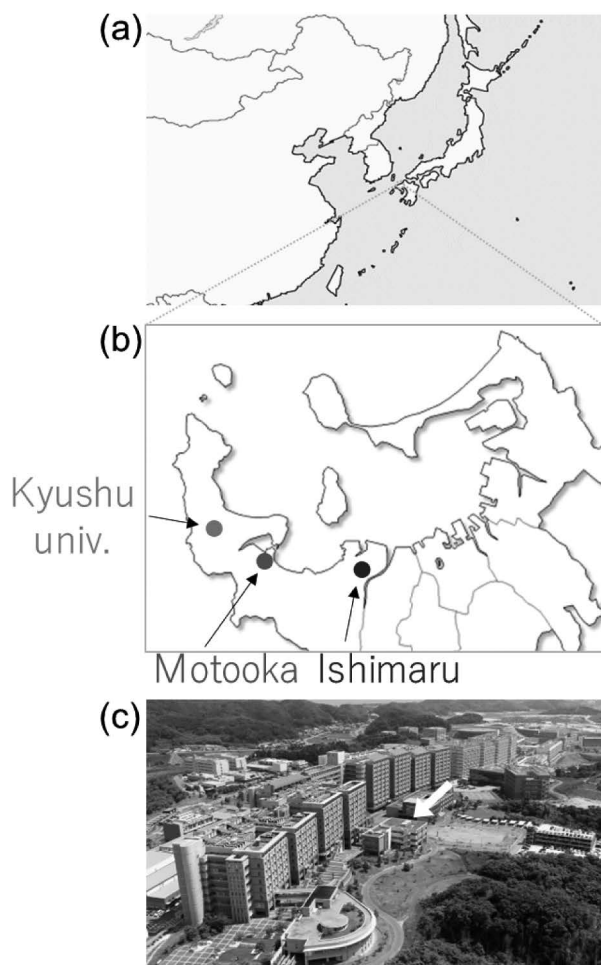


Fig. 1 Sampling location of airborne particulate matter

(a, b) Location of Ito campus in Kyushu university, Fukuoka, Japan. (c) Collection device was set up on the roof of the lecture building as indicated by the arrow.

均濃度が $140 \mu\text{g m}^{-3}$ となり、国の環境基準値 ($35 \mu\text{g m}^{-3}$) を大きく上回る値がしばしば記録されている³¹⁾。環境省の基準として、捕集装置を建物の屋上に設置する場合、「採取口の高さが 30 m を超えていないこと」が定められている。そこで、九州大学伊都キャンパス 3 号館横の西講義棟屋上スペース（地上高：約 10 m）を設置場所として選定した（Fig. 1c）。

捕集は 2018 年 9 月から 2019 年 2 月の間、分析の目的に応じて一定期間ごとに行った。MCI サンプラーを 70 % エタノールで拭き、新しいフィルターを取り付けて吸引ポンプを 16.7 L min^{-1} となるように作動させ、捕集を開始した。なお、捕集終了時の吸引ポンプの流量が 16.7 L min^{-1} であることも確認した。捕集後、滅菌済ピンセットを用いて捕集したフィルターを取り出しシャーレに入れた。捕集後のフィルターは、重量測定及び粒径測定に供するものは室温にて保存し、細菌の検証に供するものはすぐにアルミニウ

ムでシャーレごと包み遮光し、 -80°C にて保存した。また、回収から分析までの運搬時の影響を考慮するために、未使用のフィルターをシャーレに入れてブランクフィルターとして分析した。

2.2 重量測定

捕集前後のフィルターの重量をウルトラマイクロ天秤（ME5, ザルトリウス・ジャパン）で量り、その重量差を捕集した $\text{PM}_{2.5}$ の重さとした。このとき、フィルターの吸湿性を考慮しなければならない。環境省の定める「成分測定用微小粒子状物質捕集法」では³⁰⁾、フィルターを「 $21.5 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $35 \pm 5\%$ でコンディショニング後に秤量^{ひょうりょう}」することが定められている。しかし、実験室内においてこの条件を満たすことは困難であったため、本実験においては、秤量前のフィルターをデシケーター（2-7918-01 ユニットデシケーター（非帯電タイプ）UD-1ESD, アズワン）内で 24 時間静置し、一定湿度（20 % 未満）に保ってから秤量することとした。

大気中の $\text{PM}_{2.5}$ 濃度は、通常、 $10 \mu\text{g hr}^{-1}$ 、1 日あたりでも $200 \mu\text{g}$ 程度である³¹⁾。24 時間捕集では $\text{PM}_{2.5}$ の正確な重量測定は難しいため、3 日間もしくは 1 週間連続で捕集して重量測定を行った。重量測定後、環境省の大気汚染物質広域監視システムのそらまめ君が設置されている元岡局（福岡市西区大字田尻）と石丸局（福岡市西区石丸）で測定された $\text{PM}_{2.5}$ 濃度の 1 時間あたりの平均値とデータ比較を行い、作製した $\text{PM}_{2.5}$ 捕集装置の性能評価を行った。

2.3 粒度分布測定

走査型電子顕微鏡（SEM）（SU3500, 日立ハイテクノロジーズ）で粒子の形状観察と粒度分布を行った。捕集に使われたフィルターは、観察前に金スパッタ装置（MSP-mini, 真空デバイス）にて、厚さ 3 nm コートした。

SEM で得られた画像より画像解析ソフト Image J を用いて二値化処理を行い、粒子の面積を真円の面積とみなして直径を計算することで粒子の大きさを定義した。本実験では、3 日間捕集フィルター（2018 年 9 月 25 日～28 日分、2018 年 10 月 1 日～4 日分）の SEM 画像（フィルター $15 \mu\text{m} \times 25 \mu\text{m}$ の画像 4 枚分）から粒子の大きさを計測し、粒度分布を求めた。

2.4 培養可能細菌の培養（分離培養法）

捕集した $\text{PM}_{2.5}$ に細菌が含まれるかどうかを検証するために、細菌叢解析^{さいきんそう}を行った。細菌叢解析には非培養法と分離培養法の二つの方法がある。環境試料である捕集フィルターから直接、細菌の DNA を抽出する非培養法は、培養が難しい細菌の存在も明らかにできる可能性がある一方で、極少量の DNA しか存在しないため、ポリメラーゼ連

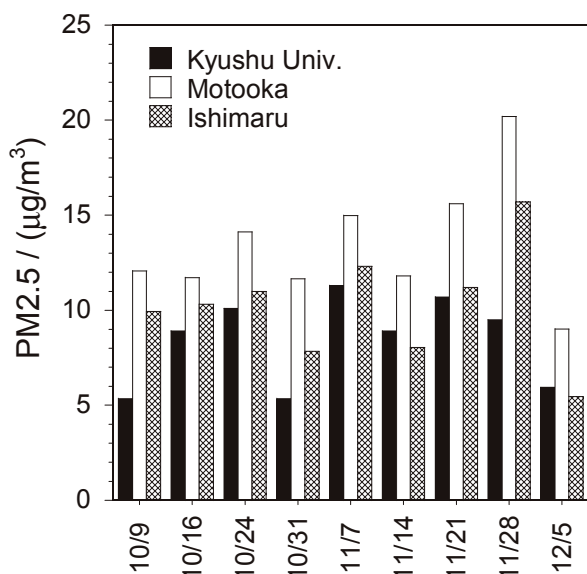


Fig. 2 Hourly mean value of the mass concentrations of PM_{2.5} during the sampling periods
The dates in the x-axis indicate the first day of the sampling week, lasting 7days, in 2018.

鎖反応 (PCR) 法では検出できない可能性がある。そこで本実験では、まず捕集フィルターから回収した細菌を含むと思われる PM_{2.5} を培養し、その後、DNA を抽出する分離培養法を行った。分離培養法は、培養条件によって増殖できる細菌の種類を限定 (全体の約 2 %) してしまうが、確実に DNA を抽出して同定することができるため、今回は分離培養法を採用した。

本実験では、捕集した PM_{2.5} に付着していると考えられる細菌の好気培養を行った。培地はトリプトソーヤ (SCD) 寒天培地の平板培地を用い、-80℃ で凍結保存した PM_{2.5} 捕集フィルター及びブランクフィルターから PM_{2.5} を回収した。フィルターを 8 等分して 1.5 mL マイクロチューブに入れたのち、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を 300 µL を加え、1 分間ボルテックスした。この懸濁液 100 µL を SCD (トリプトソーヤ) 寒天培地 (51048, 日水製薬) 上に均一にのばし、35℃ で 65 時間培養した。インキュベート後、寒天培地に PBS を 2 mL 加え、コンラージ棒で培養した菌体を混合しながら集め、マイクロチューブに回収した³²⁾。

Bacteria Screening PCR Kit (RR114A, タカラバイオ) を用いて培養した菌体から DNA を抽出し、PCR 法により 16S rRNA 遺伝子を増幅させることで細菌群を確認した。ENT プライマーにより大腸菌とサルモネラ菌を含む腸内細菌科の菌群を、また BS プライマーによりセレウス菌を含むバチルス属及び黄色ブドウ球菌を含むスタフィロコッカス属の菌群が検出できる³³⁾。PCR 反応条件は、95℃ 1 分、(95℃ 30 秒, 59℃ 30 秒, 72℃ 30 秒) × 30 サイクル, 72℃ 1 分とした。PCR 後のサンプルは、2 % アガロースゲルを用いて電気泳動を行った。本実験で用いた PCR キットは、PCR

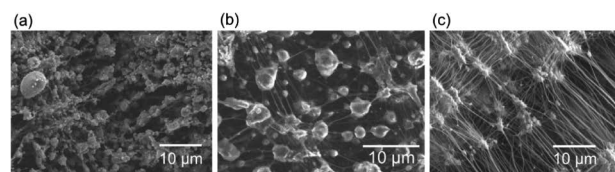


Fig. 3 SEM images of the PM_{2.5} samples collected on PTFE filter for (a) 7, (b) 3, and (c) 0 days (without sampling)

産物中に大腸菌やサルモネラ菌を含む腸内細菌科菌群が存在すれば、ENT プライマーにより、約 420 bp (大腸菌の場合は 424 bp) のバンドが検出される。また、セレウス菌を含むバチルス属及び黄色ブドウ球菌を含むスタフィロコッカス属の菌群が存在すれば、BS プライマーにより、約 380 bp (バチルスセレウス菌の場合は 381 bp) のバンドが検出される。

また抽出した DNA は、次世代シーケンス解析サービス (北海道システム・サイエンス) により 16S rDNA の解読を行い、細菌叢の同定を行った。

3 結果と考察

3.1 PM_{2.5} の重量測定

PM_{2.5} 捕集装置で PM_{2.5} を捕集したあとのフィルターと捕集する前のフィルターの違いを観察した。捕集後のフィルターは捕集前のフィルターと比較して黒くなっていることが分かった。このことから、作製した PM_{2.5} 捕集装置で大気から捕集できていることが示された。西講義棟屋上にて 1 週間捕集した PM_{2.5} の重量を、環境省大気汚染物質広域監視システムそらまめ君の測定所 2 か所 (元岡局・石丸局) で測定した PM_{2.5} 濃度を比較した。Fig. 2 より、例えば 2018 年 11 月 7 日から 11 月 14 日までの捕集では、九州大学では 11.30 µg m⁻³、元岡局では 14.99 µg m⁻³、石丸局では 12.32 µg m⁻³ であった。PM_{2.5} の大気中の濃度は風向きや天気等の気象条件、発生源の周辺環境等に大きく影響を受ける。場所によって PM_{2.5} の重量平均値に差が生じたのは、気象条件等が主因であると考えられるが、九州大学の数値は全般に低い値となっており、これは計測法 (九州大学では重量測定法、他の 2 局では β 線吸収法) の違いに由来すると考えられる。

3.2 形状観察

捕集したフィルターを SEM で観察したところ、フィルター上に PM_{2.5} を確認した。Fig. 3 の写真より、3 日間捕集したフィルターからは PM_{2.5} の形状を一粒子レベルで確認できたが、1 週間捕集したフィルターではフィルターの繊維に粒子が密集して堆積しており、PM_{2.5} の形状を確認するのが難しかった。PM_{2.5} は、大きさはもちろんのこと、針状や球状等、様々な形状をとることが明らかとなった。

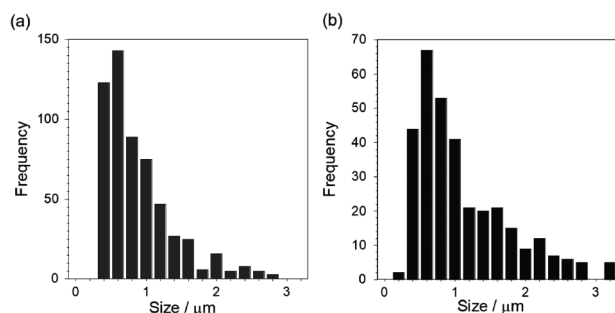


Fig. 4 Size distribution of the collected $PM_{2.5}$ measured by SEM images

The particle size was defined as the equivalent circular diameter. The number of particle samples are (a) from September 25 to 28, in 2018 and (b) from October 1 to 4, in 2018. The number of samples are (a) $N = 572$ and (b) $N = 328$.

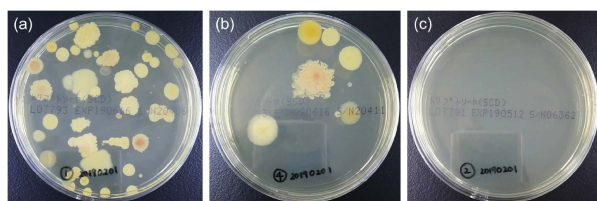


Fig. 5 Trypticase soy agar plats culture of (a) 7-days, (b) 1-day, and (c) 0-day sampling period

3.3 粒度分布測定

このようにして得られた画像（3日間捕集したフィルター）から、画像解析ソフト Image J を用いて $PM_{2.5}$ の粒度分布を測定した。Fig. 4 より、いずれの捕集期間でも $0.1 \mu m \sim 3 \mu m$ の粒径のものが数多く存在しており、特に $0.4 \sim 0.6 \mu m$ の粒子が多く存在することが分かった。Fig. 4a と b の平均粒径は、それぞれ $0.789 \mu m$ と $1.01 \mu m$ であり、 $1 \mu m$ 以下の粒子の割合を比較すると、それぞれ 60 % 以上と 75 % 以上であった。このような粒度分布は、国立環境研究所の都市大気粉塵（1996 年から 2005 年の 10 年間に北京市中心部のビルの換気フィルターに捕集された大気粉塵）の粒度分布と類似していた³⁴⁾。大気中のエアロゾルの粒径は、二峰性分布を示すことが報告されており、粒径 $0.4 \mu m$ 程にピークがあり $3 \mu m$ 程度まで幅広く分布する微小粒子と、 $15 \mu m$ 程にピークがある比較的大きな粗粒粒子の二つの分布がある³⁵⁾。今回は人為活動由来の微小粒子を観察しており、九州大学近隣から発生したものに加え、偏西風により中国外陸から運ばれてきたものも含まれると考えられる。

3.4 分離培養法による細菌の有無の検証

$PM_{2.5}$ 捕集フィルターから抽出した溶液を SCD（トリプトソーヤ）寒天培地にて培養した結果、複数の菌体の存在が観察された (Fig. 5)。このことから、 $PM_{2.5}$ には細菌・真

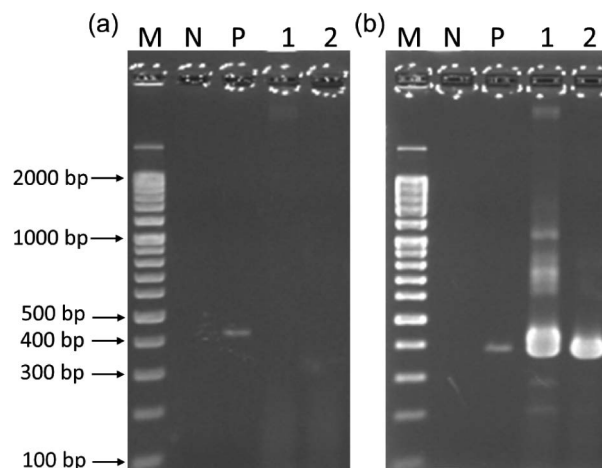


Fig. 6 Agarose gel electrophoresis images of the PCR products amplified with (a) ENT and (b) BS primer

M: 100 bp marker (OneSTEP Ladder 100 (0.1-2 kbp), Nippon gene Co., Ltd., Tokyo, Japan), N: negative control, P: positive control, 1: PCR product of 1-week sampling period, 2: PCR product of 1-day sampling period. The electrophoresis condition: 2 % agarose gel (Agarose S, Nippon gene Co., Ltd., Tokyo, Japan), 100 V, 50 minutes.

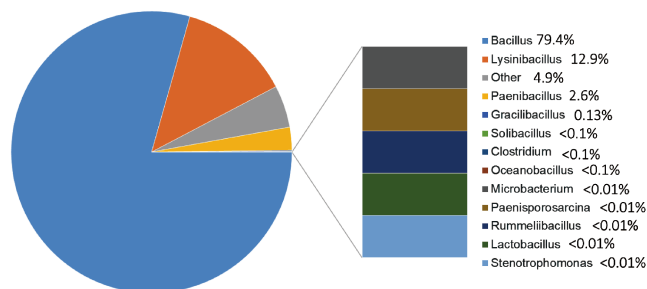


Fig. 7 Composition of the partial sequences of 16S rDNA obtained from $PM_{2.5}$ sampling at Ito campus in Kyushu university, Fukuoka, Japan

菌類が付着、もしくは大気中に浮遊していることが示唆された。菌体の形状は、丸状や、繊維状、糸状の菌糸が放射状に伸びているもの等様々であった。菌体の色も白色や灰色、うすい黄色、赤色、だいたい色等があった。また、捕集期間や時期によって菌体の数・形状・色が異なり、捕集期間が長いほど菌体の数が多く、時期によって細菌・真菌の種類は異なることも分かった。

3.5 PCR 法による細菌の検出

培養した菌体を寒天培地から取り出し、DNA 抽出を行った。PCR 法により細菌の分類学的多様性の特徴を含む配列をもつ 16S rRNA 遺伝子を増幅させ、PCR 産物をアガロースゲル電気泳動することでバンドを確認した (Fig. 6)。

各フィルターの培養した菌体からの DNA 抽出液の PCR 産物において、Fig. 6a の ENT プライマーでは約 420 bp に

バンドは確認できなかったが, Fig. 6b の BS プライマーでは約 380 bp にバンドが確認できた. このことから, 培養した菌体に腸内細菌科の菌群は存在しないが, バチルス属またはスタフィロкокカス属の菌群は存在していることが示された. これまでに中国の北京で捕集した黄砂から *Staphylococcus* や *Bacillus* 等が検出されている³⁶⁾. このことから, 九州大学伊都キャンパスで捕集した PM_{2.5} には, 中国で捕集した黄砂と同類の菌群が含まれていることが明らかとなった. この結果からは, 空中浮遊菌である可能性も含めて PM_{2.5} がどの程度どのような機序で細菌の運搬にかかわっているかを特定することはできないが, PM_{2.5} の物理化学的性状と生物学的観点から細菌の存在との関連を明らかにすることは, 健康被害の本質を見極めるうえでも重要である.

さらに詳細な細菌叢の同定を行うため, 培養した菌体の 16S rRNA の塩基配列解読を行い, 細菌群集の組成を調べた結果を Fig. 7 に示す. 検出された菌種は, *Firmicutes* 門 *Bacillus* (79.4 %) が最も多く, 次いで *Lysinibacillus* (12.9 %), *Paenibacillus* (2.6 %), *Gracilibacillus* (0.1 %), *Solibacillus* (0.1 %) であった. バチルスは, ゴビ砂漠やタクラマカン砂漠など, 中国の砂漠で優勢な空气中浮遊細菌であることが知られている²⁴⁾. 例えば金沢では, 中国大陸からの黄砂が観察された際にバチルスが検出されている²⁵⁾²⁶⁾. バチルスは耐塩性の高い細菌であるため, 日本海を越えて長距離輸送されやすい. この実験では, 黄砂のシーズンに PM_{2.5} を採取していないが, 九州大学での捕集した PM_{2.5} にはバチルスが含まれていた. 現時点では, この PM_{2.5} の元素分析を行っておらず, 中国大陸と九州大学での細菌組成の比較データもないため, 検出された PM_{2.5} と *Bacillus* の起源を特定することはできない. しかしながら, 非常に軽い PM_{2.5} は長距離を移動可能であり, 中国大陸から PM_{2.5} に付着もしくは凝集塊を形成するなどしてエアロゾルとして細菌が移動してきた可能性も否めないことから, 今後の PM_{2.5} を含めたバイオエアロゾルの生物学的観点からの詳細な解析が待たれる.

4 結 言

今回の実験で, 九州大学伊都キャンパスにて捕集した PM_{2.5} の重量・形状・粒度分布等の実態が明らかとなった. また, PM_{2.5} から培養された細菌群には, バチルス属またはスタフィロкокカス属の菌群が含まれることを, 16S rRNA の情報をもとに確認した. 今後は, PM_{2.5} のより詳細な生物学的情報の取得とその起源について解析が求められる.

謝 辞

本研究の一部は, 総合科学技術・イノベーション会議が主導する革新的研究開発推進プログラム (ImPACT) の一

環として実施したもので, ここに謝意を表します.

文 献

- 1) W. E. Wilson, H. H. Suh : *J. Air Waste Manage. Assoc.*, **47**, 1238 (1997).
- 2) W. R. Kozłowska : *Air Qual. Atmos. Health*, **9**, 533 (2016).
- 3) Z. Wu, F. Liu, W. Fan : *Atmosphere*, **6**, 1195 (2015).
- 4) Y. L. Zhang, F. Cao : *Sci. Rep.*, **5**, 14884 (2015).
- 5) W. Glover, H. K. Chana, S. Eberl, E. Daviskas, J. Verschuer : *Int. J. Pharm.*, **349**, 314 (2008).
- 6) M. H. Li, L. C. Fan, B. Mao, J. W. Yang, A. M. K. Choi, W. J. Cao, J. F. Xu : *Chest*, **149**, 447 (2016).
- 7) R. D. Brook, B. Franklin, W. Cascio, Y. Hong, G. Howard, M. Lipsett, R. Luepker, M. Mittleman, J. Samet, C. Smith Jr, I. Tager : *Circulation*, **109**, 2655 (2004).
- 8) A. Zanobetti, M. Franklin, P. Koutrakis, J. Schwartz : *Environmental Health*, **8**, 58 (2009).
- 9) Q. Sun, X. Hong, L. E. Wold : *Circulation*, **121**, 2755 (2010).
- 10) C. Xu, M. Wei, J. Chen, X. Wang, C. Zhu, J. Li, L. Zheng, G. Sui, W. Li, W. Wang, Q. Zhang, A. Mellouki : *Sci. Total Environ.*, **580**, 188 (2017).
- 11) World Health Organization : "Burden of disease from Household Air Pollution for 2016", (2018).
- 12) T. N. Nguyen, D. Park, Y. Lee, Y.-C. Lee : *Sustainability*, **9**, 2135 (2017).
- 13) E. Guo, H. Shen, L. He, J. Zhang : *Toxicol. Ind. Health*, **33**, 588 (2017).
- 14) J. M. Prospero, E. Blades, G. Mathison, R. Naidu : *Aerobiologia*, **21**, 1 (2005).
- 15) C. A. Kellogg, D. W. Griffin : *Ecol. Evol.*, **21**, 638 (2006).
- 16) Y. Iwasaka, G. Y. Shi, M. Yamada, F. Kobayashi, M. Kakikawa, T. Maki, B. Chen, Y. Tobo, C. Hong : *Air Qual. Atmos. Health*, **2**, 29 (2009).
- 17) P. N. Polymenakou : *Atmosphere*, **3**, 87 (2012).
- 18) I. Gandolfi, V. Bertolini, R. Ambrosini, G. Bestetti, A. Franzetti : *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **97**, 4727 (2013).
- 19) Z. G. Fang, Z. Y. Ouyang, H. Zheng, X. K. Wang, L. F. Hu : *Microb. Ecol.*, **54**, 487 (2007).
- 20) S. Husárová, M. Vařtilingom, L. Deguillaume, M. Traikia, V. Vinatier, M. Sancelme, P. Amato, M. Matulová, A. M. Delort : *Atmos. Environ.*, **45**, 6093 (2011).
- 21) M. Vařtilingom, P. Amato, M. Sancelme, P. Laj, M. Leriche, A. M. Delort : *Appl. Environ. Microbiol.*, **76**, 23 (2009).
- 22) M. Vařtilingom, L. Deguillaume, V. Vinatier, M. Sancelme, P. Amato, N. Chaumerliac, A. M. Delort : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 559 (2013).
- 23) S. Fuzzi, U. Baltensperger, K. Carslaw, S. Decesari, H. D. van der Gon, M. C. Facchini, D. Fowler, I. Koren, B. Langford, U. Lohmann : *Atmos. Chem. Phys.*, **15**, 521 (2015).
- 24) Y. Li, R. Lu, W. Li, Z. Xie, Y. Song : *J. Aerosol Sci.*, **106**, 83 (2017).
- 25) D. O'Sullivan, B. J. Murray, J. F. Ross, T. F. Whale, H. C. Price, J. D. Atkinson, N. S. Umo, M. E. Webb : *Sci. Rep.*, **5**, 8082 (2015).

- 26) C. Pöhlker, K. T. Wiedemann, B. Sinha, M. Shiraiwa, S. S. Gunthe, M. Smith, H. Su, P. Artaxo, Q. Chen, Y. Cheng : *Science*, **337**, 1075 (2012).
- 27) A. L. Steiner, S. D. Brooks, C. Deng, D. C. O. Thornton, M. W. Pendleton, V. Bryant : *Geophys. Res. Lett.*, **42**, 3596 (2015).
- 28) S. B. Pointing, B. Jayne : *Biodivers Conserv.*, **23**, 1659 (2014).
- 29) F. Kobayashi, K. Iwata, T. Maki, M. Kakikawa, T. Higashi, M. Yamada, T. Ichinose, Y. Iwasaka : *Air Qual. Atmos. Health*, **9**, 3 (2016).
- 30) 環境省 : 成分測定用微小粒子状物質捕集法 (2012).
- 31) 環境省 : 環境省大気汚染物質広域監視システム そらまめ君, 微小粒子状物質 (PM_{2.5}) 濃度測定データ (2018).
- 32) I. Luhung, Y. Wu, C. K. Ng, D. Miller, B. Cao, V. W.-C. Chang : *PLoS One*, **10**, e0141158 (2015).
- 33) A. Klindworth, E. Pruesse, T. Schweer, J. Peplies, C. Quast, M. Horn, F. O. Glöckner : *Nucleic Acids Res.*, **41**, e1 (2013).
- 34) 国立環境研究所 : No. 28 都市大気粉塵, 標準物質データベース.
- 35) W. E. Wilson, H. H. Suh : *J. Air Waste Manag. Assoc.*, **47**, 1238 (1997).
- 36) D. Yan, T. Zhang, J. Su, L. Zhao, H. Wang, X. Fang, Y. Zhang, H. Liu, L. Yu : *Appl. Environ. Microbiol.*, **84**, 9 (2018).

Analysis and Survey of PM_{2.5} from a Biological Viewpoint at Kyushu University Ito Campus

Karin MIURA¹, Sachiko IDE¹, Toyohiro NAITO¹, Taisuke SHIMADA²,
Takao YASUI^{2,3}, Yoshinobu BABA^{2,4,5,6} and Noritada KAJI^{*1,4}

* E-mail : kaji@cstf.kyushu-u.ac.jp

¹ Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyushu University, 744, Motoooka, Nishi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 819-0395

² Department of Biomolecular Engineering, Graduate School of Engineering, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya-shi, Aichi 464-8603

³ JST, PRESTO, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya-shi, Aichi 464-8603

⁴ Institute of Nano-Life-Systems, Institutes of Innovation for Future Society, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya-shi, Aichi 464-8603

⁵ Institute of Quantum Life Science, National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology, 4-9-1, Anagawa, Inage-ku, Chiba-shi, Chiba 263-8555

⁶ School of Pharmacy, College of Pharmacy, Kaohsiung Medical University, 100, Shih-Chuan 1st Rd., Kaohsiung, 807, Taiwan, R.O.C.

(Received August 18, 2020; Accepted September 11, 2020)

Fine particulate matter sized 2.5 µm or less, referred to as PM_{2.5}, causes serious air pollution in urban cities and is responsible for several health problems, such as respiratory disease and asthma in urban populations. Although seasonal Asian dust, called Kosa (~5 µm), has been extensively studied for over decades, and has been shown to be an allergen in Japan, the influence of PM_{2.5} on human health has remained unclear due to the intrinsic chemical and biological complexity of isolating variables for study. In this study, PM_{2.5} was collected at Ito Campus in Kyushu University, Fukuoka, located in extreme western Japan and its physical and biological characteristics were analyzed. The presence of bacteria, *Firmicutes* genus *Bacillus*, *Lysinibacillus*, *Paenibacillus*, *Gracilbacillus*, and *Solibacillus* in the collected PM_{2.5} sample was confirmed by culturing and conducting DNA sequencing of their 16S rRNA gene.

Keywords: PM_{2.5}; bacteria; 16S rRNA.