

RF-072 黄砂バイオエアロゾルの越境的健康被害調査のためのサンプリング・同定に関する研究

(5) 黄砂バイオエアロゾル長距離輸送の中間地点（韓国）におけるサンプリング・同定に関する研究

金沢大学

Kim Yang-Hoon

(Chungbuk National University)

<研究協力者> 中国科学院大気物理研究所 石 廣玉
中国科学院大気物理研究所 陳 彬

平成19～20年度 合計予算額 2,730千円
(うち、平成20年度予算額 2,730千円)

※上記の合計予算額金額には、間接経費630千円を含む

[要旨] 韓国Chongju市のChungbuk National Universityの建物の屋上にて、2008年11月にサブテーマ1と連携してサンプリングを行った。本サブテーマでは、黄砂バイオエアロゾルの多様性解明のためのプロテオミクス解析を行った。プロテオミクス解析には、黄砂中の生きているバイオエアロゾルを同定・検出することが必要である。黄砂中の微生物を採取（中国敦煌市、韓国清州市、日本天草市）・分離し、ゲルベースプロテオーム分析システム・液体ベースタンパク分画二次元電気泳動・質量分析法を用いた同定のための増幅を行った。メタプロテオーム研究の目的は、存在している微生物群のタイプを解析することであり、特定の微生物について分析することではない。有毒な細菌やウィルスの早期検出のために、タンパク分画システムを基礎とした高スループットプロテオミクスと質量分析法を開発した。微生物コミュニティから発現した混合タンパク分析（メタプロテオーム）の研究は、生態系の微生物組成の機能性に関する情報を提供した。本研究のプロテオミクス分析の応用は、黄砂エアロゾル中の微生物を理解するための環境エアロゾル研究の発展に寄与するであろう。

[キーワード] を記載のこと

1. はじめに

黄砂 (Asian dust) は、中国内陸部の砂漠や黄土地域で発生する土壌である。韓国では「yellow sand」、日本では「黄砂」と呼ばれている。黄砂の粒子は分散し、太陽熱の放射を吸収し、化学反応部位や大気中で雲の凝集核や氷の核となることから、局地的あるいは地球全体の気象と環境の変化に著しく影響を与える。一方、最近では毎年春に、韓国や日本、太平洋地域まで黄砂バイオエアロゾルが偏西風によって運ばれる¹⁾。最近、中国の経済成長が著しいため、環境汚染がひどくなってきている。特に、菌類や細菌、マイコトキシン、ウィルスのようなヒト病原菌を含む高度に汚染されたバイオエアロゾルが、近隣諸国に重大な環境問題と健康問題を引き起こしている。黄砂バイオエアロゾルは、生物（植物、微生物、動物）由来の浮遊微粒子で、至るところに存在する。黄砂は、一般に生物種を含むバイオエアロゾルと非生物種を含むバイオエアロゾルがある。

生物種含有バイオエアロゾルには、細菌、ウイルス、カビ、菌類、花粉、チリダニ、昆虫の死骸のような生物あるいは生物由来の浮遊微粒子が含まれており、一方、非生物種含有バイオエアロゾルにはタンパク質、炭水化物、細胞の破片等が含まれている²⁾。黄砂は、毒素（即ち、農薬、炭化水素、金属類）やヒト病原体の運び手として有害であり他の海洋生物にも害のある藻の異常発生の引き金となるため、ヒトの健康ばかりではなく生態系の健全さとともに、地球環境にも重大な影響を与える。特に以前から、屋内外の環境において病原性浮遊微生物が確実に検出されていることは、病原物質の感染や制御に関連して、さまざまな科学上、公衆衛生上の課題が生じ、ますます重要になってきている^{3,4)}。既にいくつかの研究が、バイオエアロゾル、特に生菌種が病気感染のベクターであり、環境問題上重要になることを報告しているが^{5,6)}、この現象への系統的なアプローチは、まだ最初の段階にある。プロテオミクス分析法には、多環式芳香族炭化水素、殺虫剤、高分子量アレルゲンを含む複数の有機物質を検出して同定する可能性があり、凝集体による汚染量の評価を可能にし、病気の原因における粒子関連化学混合物を研究できるようにする。土地固有の微生物群により発現されたタンパク質の大規模研究は、生態系の微生物成分の機能化に洞察を得るための情報を提供するであろう^{7,8)}。このような理由で、著者達は「メタプロテオミクス：黄砂バイオエアロゾルにおける機能性微生物生態系を研究するための新しい方法」を創出するために、この現象について、韓国-日本の共同研究を提案してきた。最初の研究は、黄砂バイオエアロゾルの多様性の範囲をカバーする理想的な条件と実験を定義するために、研究方法の開発に向けて行われた。

本サブテーマにおけるプロテオミクス解析は、2つのカテゴリーのもとで進められる。第一のカテゴリーは、ピークの同定を必要としない場所でのフィンガープリントに大きく依存するものである。第二のカテゴリーは、プロテオミクス/バイオ-インフォマティクスを用いたピーク同定を目指している。研究の第一の部分は、検出のためのフィンガープリントに大きく依存する、バイオエアロゾル質量分析計に焦点を絞った。研究の第二の部分は、特定ペプチドのマイクロシーケンス法により微生物を同定するプロテオミクス/バイオ-インフォマティクスに集中した。また、タンパク分画の二次元電気泳動（2-DE）法と最新型質量分析計を使用して、黄砂試料中の浮遊性生物媒体の混合微生物群のメタプロテオミクス研究も行った。これらの技術を統合して利用することで、微生物機能についてより包括的観点が得られる。一方でこの研究には、黄砂現象と関連して、大気によって輸送されている化合物の毒性評価も含まれる。

2. 研究目的

本研究の最終的な目的は、黄砂バイオエアロゾルの長距離輸送による微生物の飛来の実相調査と病原性微生物飛来による健康被害の可能性を検討することにある。本サブテーマにおいては、黄砂バイオエアロゾルの長距離輸送における中間地点である韓国におけるサンプリングの実施と微生物の飛来の実相調査として、プロテオミクス解析について検討した。

3. 研究方法

(1) 韓国におけるサンプリング

韓国Chongju市のChungbuk National Universityの建物の屋上にて、2008年11月にサブテーマ1と連携してサンプリングを行った。係留気球は用いることができなかったが、サンプルは、サブ

テーマ2（分離培養・同定）とサブテーマ3（メタゲノム解析）に配付し、両サブテーマでは現在分析中である。

（2）中国・韓国・日本上空で採取したサンプルのプロテオミクス解析

バイオエアロゾル試料は、2008年10月22～26日に敦煌市気象部（北緯40° 東経90°）の構内および敦煌市近郊の砂漠4カ所においてサンプリングを行った。敦煌市は、日本や韓国に飛来する黄砂の発生地であるタクラマカン砂漠の東側境界に位置している。さらにサンプリングは、2008年11月13～15日に黄砂の長距離移動の中間点である韓国の清州市（北緯36° 東経127°）、2008年12月12～14日に最終的に黄砂が降下する地域として日本の天草市（北緯32° 東経130°）においても実施した。清州市と天草市の試料は分析が継続中であり、ここでは敦煌市の試料について報告する。バイオエアロゾル試料は繫留気球⁹⁻¹¹)を用いて、地表面から約800 mの高さで採取した。一方、地表面から10 mの高さでの採取はある建物の屋上で行った。各高度でのサンプリング方法は、1日のうち1時間で0.7 m³の空気を0.45 μmの膜フィルター付エアポンプで採取するものである。1時間というサンプリング時間は、バッテリーが切れる前にエアポンプが800 mの高度で機能できる最大時間である。サンプリングの前に、フィルターはフィルターホルダーとともに蒸気滅菌した（インライン・フィルターホルダー47 mm；ミリポア社、日本東京）。

図5-1に示すように、2-DEの第一段階であるIEFは、20℃でPharmacia Biotech IPGphor 電気泳動システムで行った。試料は、シーブルー・プラス2マーカー（Invitrogen, ca, USA）で銀染色したゲルにタンパク質濃度700 gで搭載した。IEFは、分析・調製ゲル用IPGphorにおいて500Vで2時間、1000Vで0.5時間、2000Vで0.5時間、4000Vで0.5時間行い、最終的に8000Vで70000V・時間に保った。プロモフェノールブルーがゲル底部に達するまで12時間、30 mA gel⁻¹でSDS-PAGE (PROTEAN II Xiセルシステム (Bio-rad、アメリカ・カリフォルニア) 使用) を行った。銀染色ゲルはUMAX Powerlook 1100スキャナーでスキャンした。Progenesisi PG 200 (Amersham Pharmacia Biotech、アメリカ・ニュージャージー) を用いて、体積をベースとするスポット強度の定量（即ち、スポット面積全体のスポット光強度の積分値から値を算出）を含め、ゲルの画像解析を行った。既に述べた方法¹²⁾に従ってMALDI-TOF質量分析を実施した。MALDI-TOF質量分析システム (Voyager DE-STR, PE Biosystem, Framingham, マサチューセッツ) を用いてタンパク分析を行った。マトリックスとトリプシンの自己消化イオンピークを内部標準としてスペクトルを較正した。MS-Fit (<http://prospector.ucsf.edu/>) を用いてペプチド・マスフィンガープリント法で解析した。各理論パラメータ (pI, 分子質量) をもつタンパクの同定は、ペプチド質量が10 ppmの質量許容範囲内にある場合に限った。このようなデータの同定可能率は、SWISS-2D-PAGE (<http://www.expasy.org/>) のようなインターネット上のプロトコールによって大きく変化した。

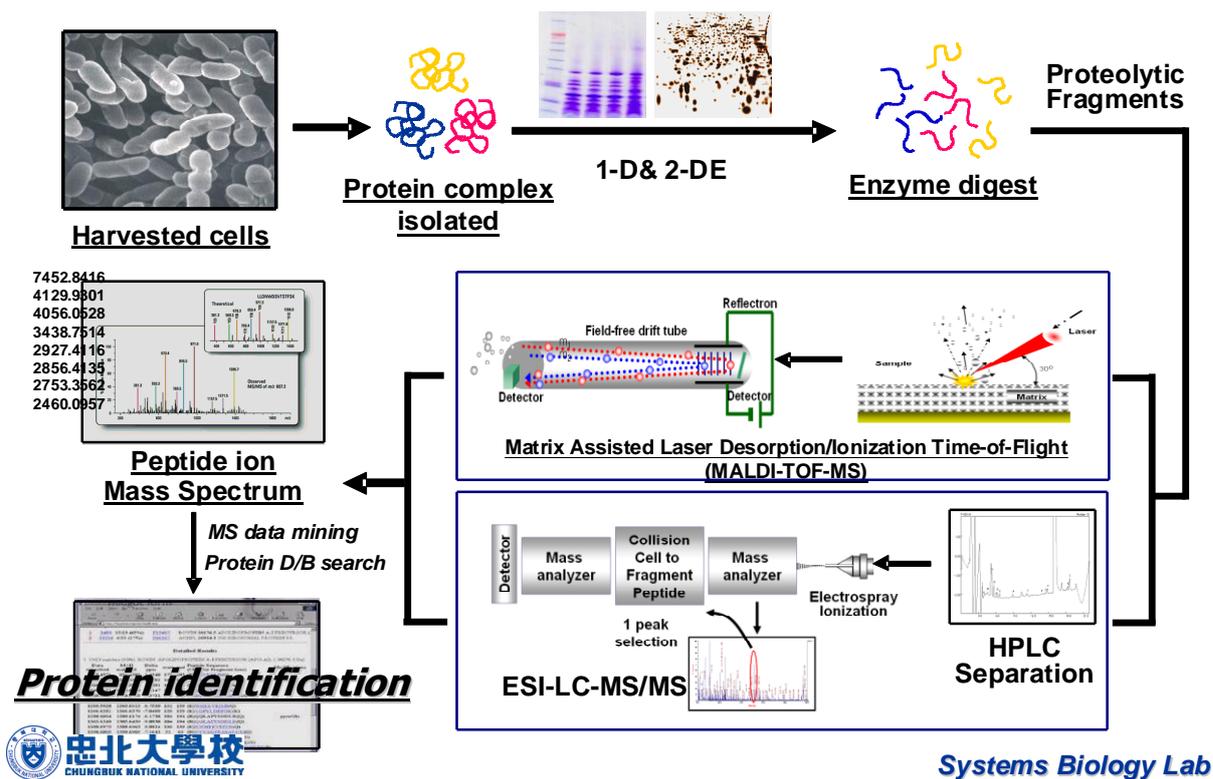


図 5 - 1 2-DEシステムおよび最新質量分析計を用いたメタプロテオーム分析の実験スキーム

4. 結果・考察

(1) 韓国におけるサンプリング

実際に2008年11月13日から15日まで、Chongju市のChunbuk National Universityの建物の屋上で、サブテーマ1が開発した黄砂バイオエアロゾルサンプラーを用いてサンプリングを行った。図5-2は、サンプリングの様子を示す。



図5-2 韓国サンプリングの様子

(2) 中国・韓国・日本上空で採取したサンプルのプロテオミクス解析

図5-3に示すように、各タンパク試料について、二次元SDS/PAGEを4〜8回繰り返し、銀染色後、ソフトウェアImageMaster (Amersham Biosciences) を用いて比較画像解析用に平均2-DE画像を作成した。それぞれの平均ゲル画像について約300スポットを画像化し、DH-A (N 40° 01' 4", E 94° 47' 39") と DH-B (N 40° 21 '28", E 93° 48 '49") の2-DE画像を系統的に比較した。この比較画像解析により、17種類の細胞内タンパク質がDH-AとDH-Bの間のスポット強度に30%以上の差を示すことが判明した。現在、各タンパク質のスポットについてMALDI-TOF解析を行い、続いてExPASyデータベースを用いて試料特有のタンパク質のピークについてペプチド・マスフィンガープリント法を行っているところである。

Beckman Coulter社製 ProteomeLab PF 2Dシステム (図5-4) を適用して、既に述べたように¹³⁾、血漿タンパク発現プロファイル実験を行った。試料注入の前に、BSA法でタンパク濃度を決定し、一次元開始緩衝液で1.5 mg mL⁻¹の濃度になるよう調節した。一次元クロマトフォーカシングを室温で、流速0.2 mL min⁻¹で実施した。各測定の前に、カラムはpH 8.3〜8.5の安定したベース

ラインになるまで、約30カラム容量の開始緩衝液 (pH 8.5) により平衡状態に調整した。全試料ループが試料で満たされた時、改良された分離再現性が観察された。従って、調整試料2.25 mLをルーチンの一次元クロマトフォーカシングのカラムに注入した。試料注入20分後に溶出緩衝液 (pH 4.0) に切り替わって、溶出が始まった。タンパク質は等電点 (pI) を下げるために溶出された。溶出最終点において、10カラム容量の1M NaCl溶液で、続いて10カラム容量の水でカラムを洗浄した。画分を0.3 pH間隔でディープウェルプレート上に集め、逆相カラムに注入する前にオートサンプラーに入れて10°Cで保存した。50°C、流速0.75 mL min⁻¹で逆相クロマトグラフィによって二次分離を行った。溶媒Aは0.1 % (v/v) TFA水溶液、溶媒BはTFA0.08 % (v/v) TFAアセトニトリル溶液である。pH 8.0~4.0領域の各一次元pH画分から200 μLを注入した。ペプチドとタンパク質は、濃度勾配0~100%のB溶媒で30分間溶出し、続いて100%のB溶媒で5分間洗浄した。開始から6.3分から24.3分まで、画分を30秒ごとに集めた。各操作前に、カラムは10カラム容量の溶媒Aで再度平衡状態に調整した。図5-5、図5-6、図5-7に示すように、ProteomeLab TM PF 2Dシステムは、一次元でpI値、二次元で疎水性によってペプチドとタンパク質を分離した。次に、プロテイン発現差を検出するために、同一のpH画分のクロマトグラフィ・プロファイルをDH-A試料とDH-B試料の間で比較した。一次元ではタンパク質はその等電点 (pI) に従ってクロマトフォーカシングにより分離した (図5-5)。二次元ではタンパク質はその疎水性に従って、ノンポーラス逆相クロマトグラフィにより、さらに分画した (図5-6)。また、黄砂試料によってタンパク質発現のプロファイルに顕著な違いがあることを図5-7は示している。現在我々は、飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF MS) のマトリックス補助レーザー脱着イオン化時間により試料固有のタンパク質のピーク (即ち、各2D分離で合計217画分を生成) についてタンパク質同定と官能基のキャラクタリゼーションを行っている。

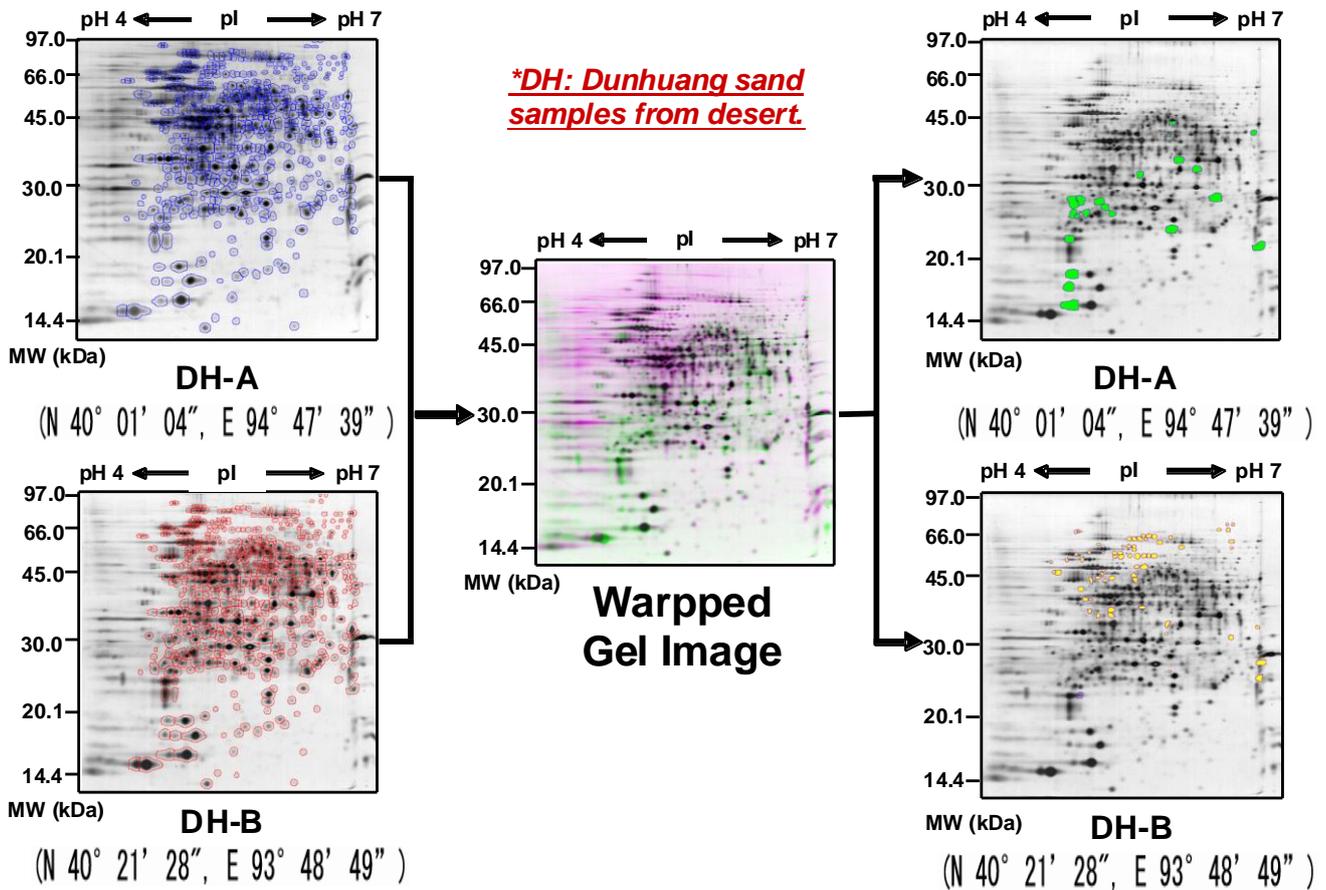


図 5 - 3 DH-AおよびDH-Bの比較メタプロテオーム分析

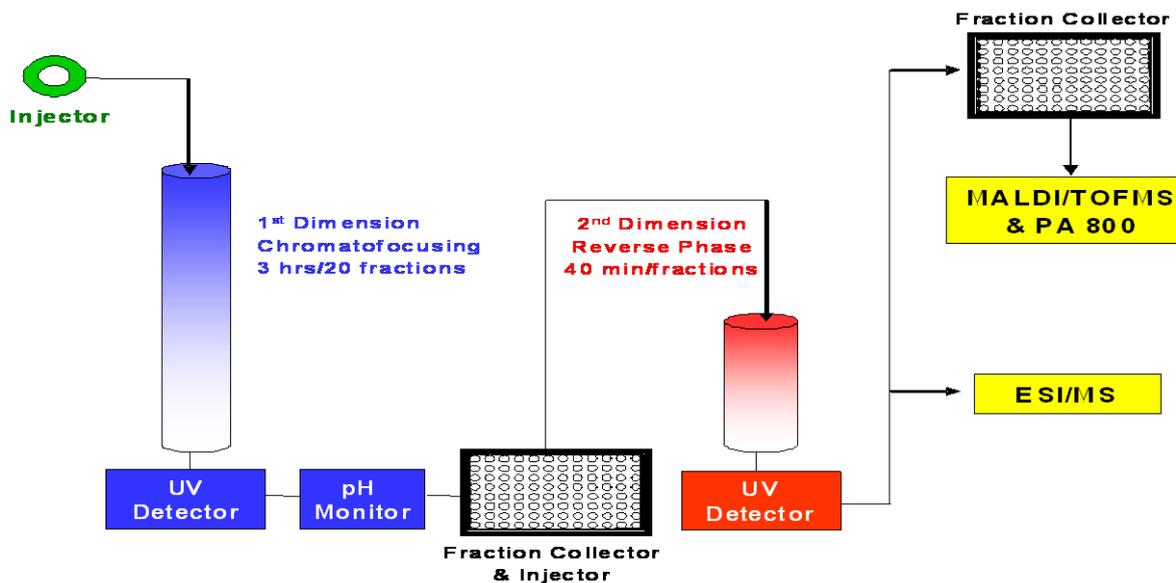


図 5 - 4 黄砂バイオエアロゾルのメタプロテオーム分析用ProteomeLab PF-2Dシステム

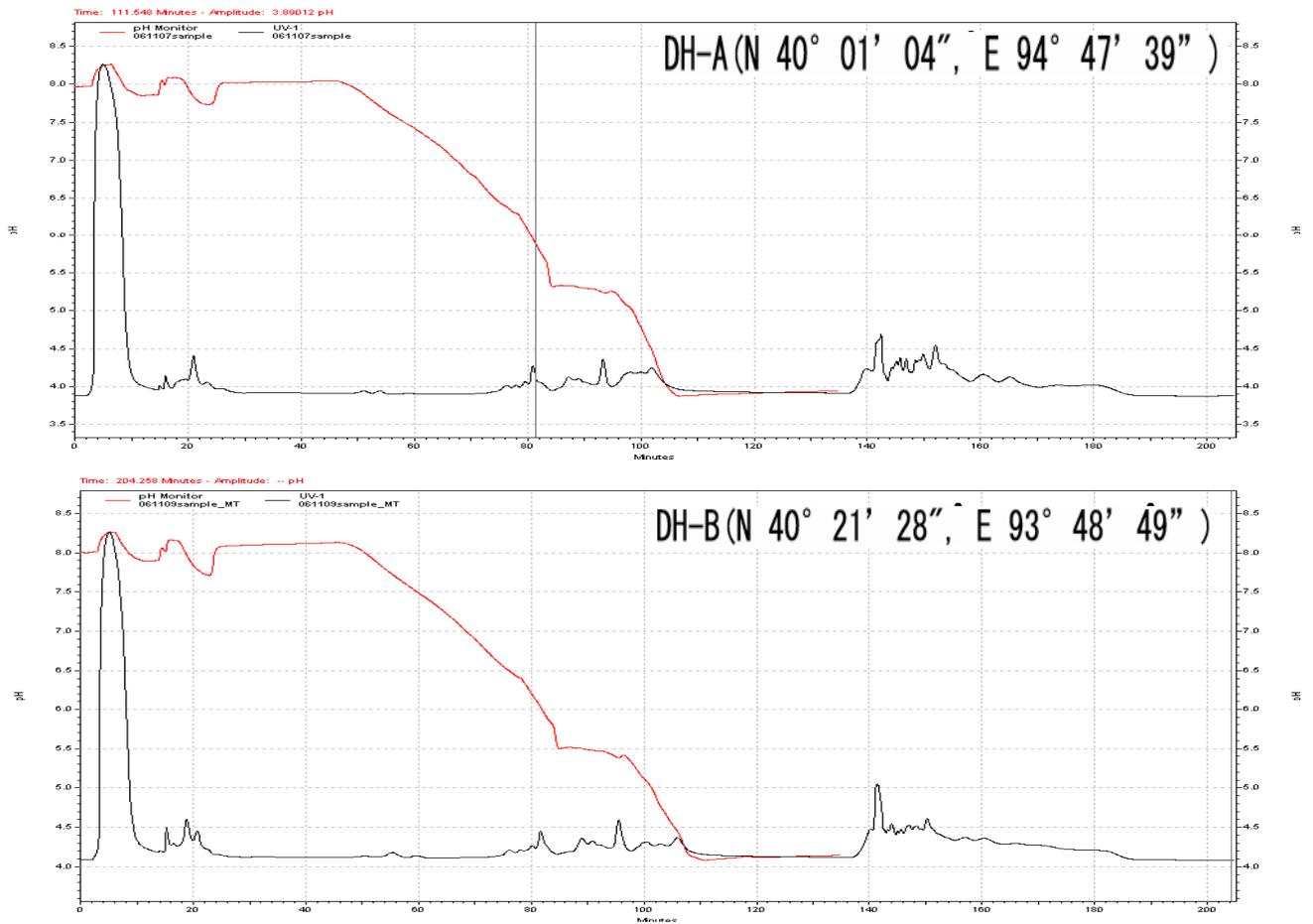
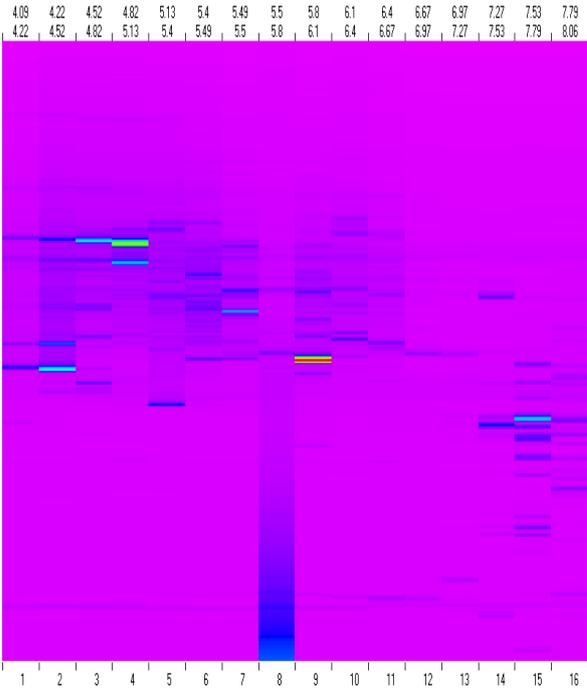
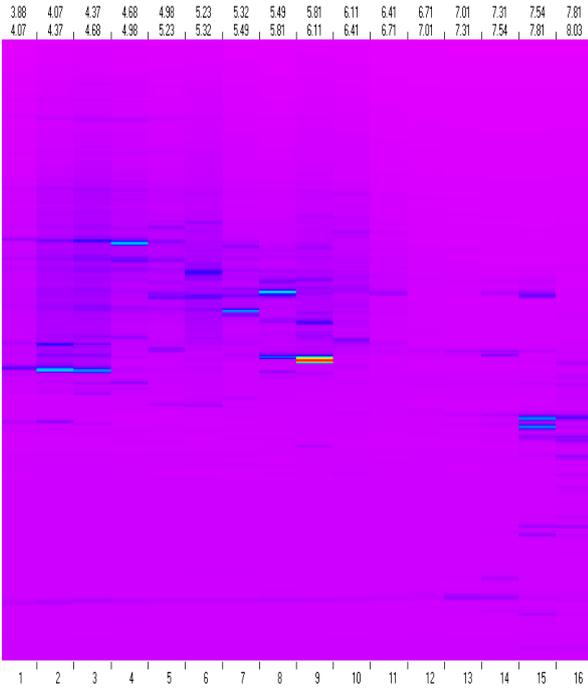


図 5 - 5 2 種類黄砂バイオエアロゾルのクロマトフォーカシング・プロファイル



DH-A(N 40° 01' 04", E 94° 47' 39")

DH-B(N 40° 21' 28", E 93° 48' 49")

図 5 - 6 DH-AおよびDH-BのProteomeLab PF-2D pI/Mwマッピング

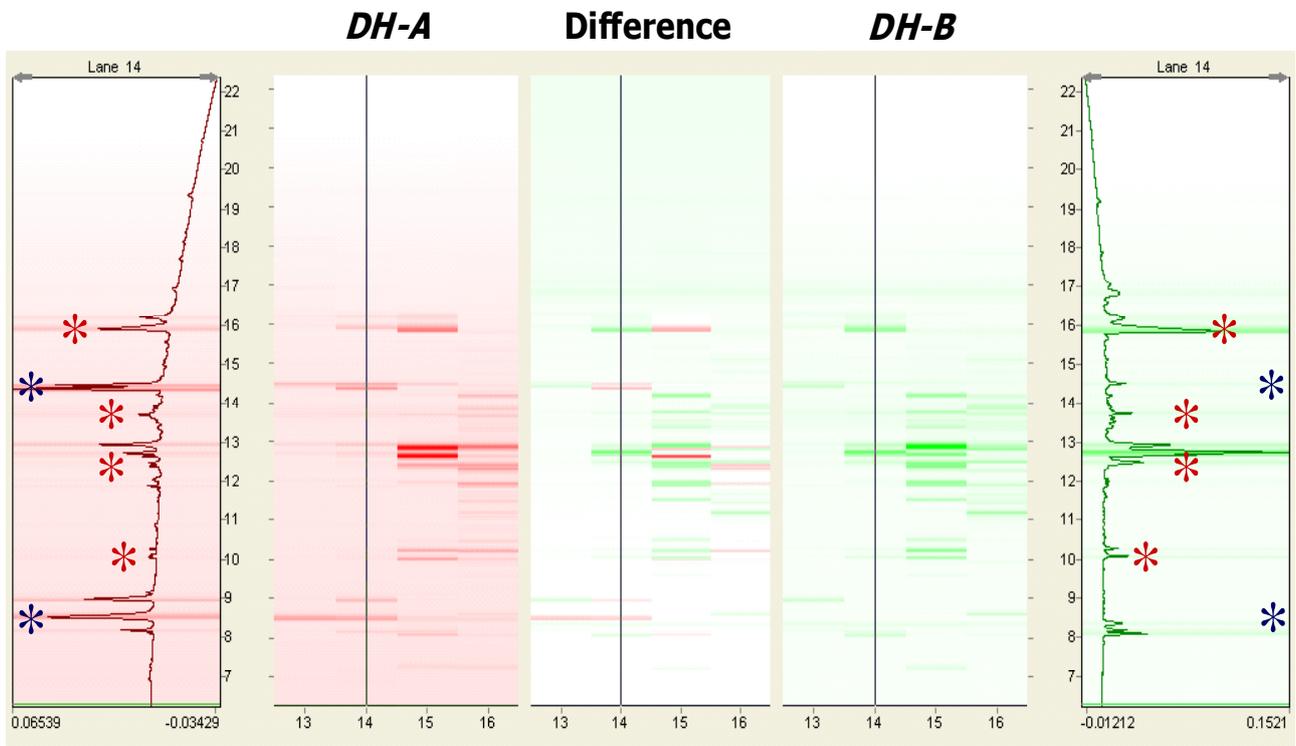


図 5 - 7 PF-2Dシステムによる比較メタプロテオーム分析

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

黄砂発生期間中、中国-韓国-日本における大気中の微生物多様性を調査し、研究することが可能となった。特に、我々の研究により、黄砂バイオエアロゾル中に同定された微生物の環境毒性や、各微生物に曝された時の呼吸器系疾患との相関性を評価できるようになるだろう。従って、今後の研究は、自然発生する大気中エアロゾルの生物への影響をさらに深く理解するために、環境のエアロゾル研究とプロテオーム分析を統一する予定である。

(2) 地球環境政策への貢献

発見された菌株には、病原性のものや農林水産業などの産業に影響を及ぼすものもあったので、新たなアプローチでの黄砂に関する環境政策や黄砂予報の必要性を訴えることとなった。また、社会的にも関心が高く、新聞・テレビのメディアから取材を受けることとなった。

6. 引用文献

- 1) Y. Tanaka, Y. Taniguchi, D. Tanaka, M. Toyoda, H. Ishii, T. Tanabe, Y. Terada, S. Hayakawa, J. Kawai: *Analytical Sciences*, 21, 839-843 (2005)
“Investigation of Individual Micrometer-Size Kosa Particle with On-Site Combination of Electron Microscope and Synchrotron X-ray Microscope”
- 2) D.W. Griffin, C.A. Kellogg: *EcoHealth*, 1, 284- 295 (2004)
“Dust storms and their impact on ocean and human health”
- 3) O. Pyankov, I. Agranovski, O. Pyankova, E. Mokhonova, V. Mokhonov, A. Safatov, A. Khromykh: *Environmental Microbiology*, 9, 992- 1000 (2007)
“Using a bioaerosol personal sampler in combination with real-time PCR analysis for rapid detection of airborne viruses”
- 4) M. Lipsitch, T. Cohen, B. Cooper, J. Robins, S. Ma, L. James, et al.: *Science*, 300, 1966-1970 (2003)
“Transmission dynamics and control of severe acute respiratory syndrome”
- 5) J. Lacey, J. Dutkiewicz: *J. Aerosol Science*, 25, 1371- 1404 (1994)
“Bioaerosols and occupational lung disease”
- 6) D.W. Griffin, C.A. Kellogg, V.H. Garrison, E.A. Shinn: *Am Sci*, 90, 228235 (2002)
“The global transport of dust: an atmospheric river of dust, micro-organisms and toxic chemicals crosses oceans”
- 7) P.A. Maron, L. Ranjard, C. Mougél, P. Lemanceau: *Microb Ecol.*, 53, 486-493 (2007)
“Metaproteomics: a new approach for studying functional microbial ecology”
- 8) P. Wilmes, P.L. Bond P.L. *Trends Microbiol.*, 14, 92-97 (2006)
“Metaproteomics: studying functional gene expression in microbial ecosystems”
- 9) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, B. Chen, G. Shi, C. Hong, Y. Tobo, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka: *Air Qual Atmos Health DOI*

10. 1007/s11869-008-0016-9 (2008)

“Phylogenetic diversity and vertical distribution of a halobacterial community in the atmosphere of an Asian dust (KOSA) source region, Dunhuang City”

- 10) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, B. Chen, C. Hong, Y. Tobo, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka: Journal of Ecotechnology Research 13, 309-313 (2008)

“Ecophysiological analysis of halobacteria in bioaerosol”

- 11) M. Yamada, Y. Iwasaka, A. Matsuki, D. Trochkin, Y.S. Kim, D. Zhang et al :Water Air Soil Pollut 5, 231- 250 (2005)

“Feature of dust particles in the spring free troposphere over Dunhuang in Northwestern China: Electron microscopic experiments on individual particles collected with ballon-borne impactor”

- 12) L.H. Jin, H.-J. Um, C.-J. Yin, J.-H. Lee, Y.-H. Kim : Journal of Biotechnology 138, 80-87 (2008)

“Proteomic analysis of curdlan-producing *Agrobacterium* sp. in response to pH downshift”

- 13) A.T. Linke, C. Ross, H. Harrison: Journal of Chromatography A, 1123, 160-169 (2006)

“Proteomic analysis of rat plasma by two-dimensional liquid chromatography and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry”

7. 国際共同研究等の状況

本サブテーマでは、韓国における黄砂バイオエアロゾルサンプリングに推進費の国際交流研究 (EFF) の国際共同研究により実施された。また、本サブテーマ研究には、黄砂発源地域として中国タクラマカン砂漠東端にあたる敦煌市の気象台上空の黄砂バイオエアロゾルサンプル (サブテーマ1が主として実施) のプロテオミクス解析などの生物分析を行った。この解析実施には中国の研究者の協力が必要不可欠であり、中国科学院大気物理研究所教授 石廣玉先生および中国科学院大気物理研究所 陳彬氏に多大なる尽力を賜った。

8. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文 (査読あり)>

- 1) 小林史尚, 柿川真紀子, 山田丸, 陳彬, 石廣玉, 岩坂泰信: エアロゾル研究, 22, 218-227 (2007)
“黄砂発源地域におけるバイオエアロゾル拡散に関する研究”: 2008年度日本エアロゾル学会論文賞受賞
- 2) N.-P. Hua, F. Kobayashi, Y. Iwasaka, G.-Y. Shi, T. Naganuma: Aerobiologia, 23, 291-298 (2007)
“Detailed identification of desert-originated bacteria carried by Asian dust storms to Japan”
- 3) F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, B. Chen, G.-Y. Shi, Y. Iwasaka: Proceeding of

- the 5th Asian Aerosol Conference, 333-334 (2007)
- “Isolation and identification of bioaerosols in a KOSA source region, Dunguang”
- 4) M. Yamada, Y. Iwasaka, D. Zhang, A. Matsuki, D. Trochkine, G.-Y. Shi, M. Nagatani, Y.-S. Kim, H. Nakata, B. Chen, K. Hayakawa: Proceeding of the 5th Asian Aerosol Conference, 380-381 (2007)
- “Existence of background dust in the free troposphere over an Asian dust source region”
- 5) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, C. Hong, Y. Toubou, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka : Proceeding of the 2nd International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology, 152 (2007)
- “Composition of halophilic bacteria survived in bioaerosol”
- 6) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, C. Hong, Y. Toubou, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka: Journal of Ecotechnology Research, 13, 309-313 (2008)
- “Ecophysiological analysis of halobacteria in bioaerosol”
- 7) G.-Y. Shi, F. Kobayashi, S. Toda, M. Yamada, M. Kakikawa, T. Maki, T. Higashi, C. Hong, Y. Tobo, B. Chen, T. Naganuma, Y. Iwasaka : Proceeding of 5th International Workshop on Sand/Duststorms and Associate Dustfall, p.42 (2008)
- “Direct sampling and identification of bioaerosols in the convective mixed layer over KOSA region, Dunhuang, using the separate culture”
- 8) M. Kakikawa, F. Kobayashi, T. Maki, M. Yamada, T. Higashi, B. Chen, G.-Y. Shi, C. Hong, Y. Tobo, Y. Iwasaka : Proceeding of 5th International Workshop on Sand/Duststorms and Associate Dustfall, p.11 (2008)
- “Dustborne microorganisms in KOSA source region, Dunhuang”
- 9) M. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, B. Chen, G.-Y. Shi, C. Hong, Y. Tobo, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka : Proceeding of 5th International Workshop on Sand/Duststorms and Associate Dustfall, p.14 (2008)
- “Halotolerant bacterial community survived in atmosphere of Asian dust (KOSA) source region, Dunguang City”
- 10) M. Yamada, T. Maki, F. Kobayashi, B. Chen, D. Zhang, G.-Y. Shi, Y. Iwasaka : Proceeding of Asia Oceania Geosciences Society 2008, AS09-A011 (2008)
- “Mineral particles in the boundary layer over a desert area of the northwest China: Number concentration and mixture state with microorganisms”
- 11) S. Toda, F. Kobayashi, M. Yamada, M. Kakikawa, T. Maki, T. Higashi, C. Hong, Y. Tobo, B. Chen, G.-Y. Shi, Y. Iwasaka : Proceeding of International Aerosol Symposium 2008, p.227-228 (2008)
- “Isolation, Identification, and Direct sampling of Bioaerosols in the convective mixed layer over KOSA region, Dunhuang”
- 12) M. Yamada, Y. Iwasaka, D. Zhang, T. Miyazawa, F. Kobayashi, M. Kakikawa, K. Hayakawa : Proceeding of International Aerosol Symposium 2008, p.263-264 (2008)
- “Development of a particle counter for bioaerosol measurement”

- 13) F. Kobayashi, S. Toda, M. Yamada, M. Kakikawa, T. Maki, T. Higashi, C. Hong, Y. Tobo, B. Chen, G.-Y. Shi, Y. Iwasaka : Proceeding of International Global Atmospheric Chemistry 10th International Conference, Th123 (2008)
 “Bioaerosols in the convective mixed layer over KOSA region, Dunhuang”
- 14) M. Yamada, T. Maki, F. Kobayashi, B. Chen, M. Kakikawa, D. Zang, M. Nagatani, C. Hong, G.-Y. Shi, Y. Iwasaka : Proceeding of International Global Atmospheric Chemistry 10th International Conference, Th114 (2008)
 “Diffusion of bioaerosols linked with mineral particles in the boundary layer over a desert area of the northwest China”
- 15) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, B. Chen, G.-Y. Shi, C. Hong, Y. Tobo, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka : Air Quality Atmosphere and Health, 1, 81-89 (2008)
 “Phylogenetic diversity and vertical distribution of a halobacterial community in the atmosphere of an Asian dust (KOSA) source region, Dunhuang City”
- 16) M. Kakikawa, F. Kobayashi, T. Maki, M. Yamada, T. Higashi, B. Chen, G. Shi, C. Hong, Y. Tobo, Y. Iwasaka : Air Quality Atmosphere and Health, 1, 195-202 (2008)
 “Dustborne microorganisms in the atmosphere over Asian dust source region, Dunhuang”
- 17) Y. Iwasaka, G. Shi, M. Yamada, F. Kobayashi, M. Kakikawa, T. Maki, T. Naganuma, B. Chen, Y. Tobo, C. Hong : Air Quality Atmosphere and Health, 2, 29-38 (2009)
 “Mixture of Kosa (Asian Dust) and bioaerosols detected in the atmosphere over the Kosa particles source regions with Balloon-borne measurements: Possibility of long-range transport”
- 18) J. Yoon, J.-M. Park, S.-K. Jung, K.-Y. Kim, J. Min Y.-H. Kim: Current Microbiology 59, 48-52 (2009)
 “Characterization of antimicrobial activity of the lysosomes isolated from *Saccharomyces cerevisiae*”
- 19) J.-M. Park, M. Kim, J. Yoon, F. Kobayashi, Y. Iwasaka, C.-S. Hong, J. Min, Y.-H. Kim: Journal of Basic Microbiology 49: 1-5 (2009)
 “Biodegradation of diisodecyl phthalate (DIDP) by *Bacillus* sp. SB-007”
- 20) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, A. Matsuki, C. Hong, Y. Tobo, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka : Journal of Ecotechnology Research
 “Phylogenetic diversity and vertical distribution of a halobacterial community in the atmosphere of an Asian dust (KOSA) arrival region, Suzu City” (in press)

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 小林史尚：銀行倶楽部，第507号，p.2-4（2008）
 巻頭コラム「黄砂とともに微生物がやって来る－黄砂バイオエアロゾル研究－」
- 2) 柿川真紀子，生物工学会誌，第87巻，p.239（2009）
 「バイオエアロゾルとは？」

(2) 口頭発表 (学会)

- 1) F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, B. Chen, G.-Y. Shi, Y. Iwasaka : The 5th Asian Aerosol Conference (2007)
“Isolation and identification of bioaerosols in a KOSA source region, Dunguang”
- 2) M. Yamada, Y. Iwasaka, D. Zhang, A. Matsuki, D. Trochkin, G.-Y. Shi, M. Nagatani, Y.-S. Kim, H. Nakata, B. Chen, K. Hayakawa: The 5th Asian Aerosol Conference (2007)
“Existence of background dust in the free troposphere over an Asian dust source region”
- 3) X.Y. Yang, M. Yamada, N. Tang, T. Kameda, A. Toriba, K. Hayakawa : The 5th Asian Aerosol Conference (2007)
“Long-range transport of fluoride from China to Japan”
- 4) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, C. Hong, Y. Toubou, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka : 2nd International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (2007)
“Composition of halophilic bacteria survived in bioaerosol”
- 5) 小林史尚, 山田丸 : 環日本海域の環境シンポジウム (2007)
“大気バイオエアロゾル学の展開”
- 6) 小林史尚 : 第二回大気バイオエアロゾルシンポジウム (2008)
“黄砂バイオエアロゾルプロジェクトと敦煌・金沢におけるサンプリング”
- 7) 山田丸 : 第二回大気バイオエアロゾルシンポジウム (2008)
“黄砂発生源上空のエアロゾル粒子の性状と大気鉛直構造”
- 8) 牧輝弥 : 第二回大気バイオエアロゾルシンポジウム (2008)
“黄砂バイオエアロゾルの混合状態と耐塩細菌に注目した解析”
- 9) 柿川真紀子 : 第二回大気バイオエアロゾルシンポジウム (2008)
“分離培養法による同定と直接ゲノム解析”
- 10) 東朋美 : 第二回大気バイオエアロゾルシンポジウム (2008)
“同定・解析結果からみた健康影響の可能性”
- 11) 牧輝弥, 鈴木振二, 小林史尚, 柿川真紀子, 山田丸, 東朋美, 長谷川浩, 上田一正, 岩坂泰信 : 第56年会日本分析化学会 (2007)
“黄砂バイオエアロゾルの生態調査にむけた生理化学的分析手法の確立”
- 12) M. Yamada, D. Zhang, T. Miyazawa, K. Hayakawa, Y. Iwasaka: The 3rd International Workshop on Asian Dust and Ocean EcoSystem (ADOES) (2007)
“Mobile bioaerosol particle counter: Development and perspective”
- 13) M. Kakikawa, S. Hashimoto, M. Iwahara, S. Yamada : The Bioelectromagnetics Society 29th Annual Meeting (2007)
“Effect of extremely low frequency magnetic fields on anticancer drug potency”
- 14) M. Kakikawa, Y. Oda, S. Sunata, N. Suzuki, K. Kitamura, A. Hattori, M. Iwasaka, S. Ueno, S. Yamada : The Bioelectromagnetics Society 29th Annual Meeting (2007)
“Effects of extremely low frequency magnetic fields on osteoclasts and osteoblasts:”

- Development of a new model system using fish scale”
- 15) M. Kakikawa, S. Maeda, R. Hosono, S. Yamada : The Bioelectromagnetics Society 29th Annual Meeting (2007)
“Learning behaviors on the nematode *C. elegans* exposed to electromagnetic fields are greatly affected”
 - 16) S. Yamada, C. Komkrit, C. Gooneratne, M. Kakikawa, M. Iwahara : The Bioelectromagnetics Society 29th Annual Meeting (2007)
“Estimation of magnetite density by needle type giant magnetoresistance probe”
 - 17) 小多雄太、柿川真紀子、鈴木信雄、山田外史、岩原正吉 : 平成19年度電気関係学会北陸支部連合大会 (2007)
“骨形成におよぼす静磁場効果に関する研究”
 - 18) 小多雄太、鈴木信雄、山田外史、柿川真紀子、北村敬一郎、服部淳彦 : 第31回日本応用磁気学会 (2007)
“骨形成におよぼす交流磁界効果”
 - 19) N. Suzuki, F. Kobayashi, M. Matada, S. Ito, Y. Oshima, A. Hattori : The Japan Society for Comparative Endocrinology (2007)
“Effect of tributyltin of the calcium metabolism in teleosts and attempt to biodegrade by marine bacteria”
 - 20) F. Kobayashi, M. Daidai, Y. Nakamura : 2nd International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (2007)
“Landfill leachate treatment using ozone oxidation and moss”
 - 21) T. Shimada, T. Maki, W. Hirota, T. Kakimoto, H. Hasegawa, K. Ueda : 14th Asian Symposium on Ecotechnology (2007)
“Bacterial community in the lake water spiked with Dimethylarsenic acid estimated by PCR- DGGE analysis : Saul, Korea”
 - 22) T. Suzuki, T. Maki, K. Kido, A. Nakahara, T. Higashi, H. Hasegawa, K. Ueda, K. Saijoh : 14th Asian Symposium on Ecotechnology (2007)
“Effect of iron stress on gene expression in harmful microalga *Prymnesium parvum* : Saul, Korea”
 - 23) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, C. Hong, Y. Toubou, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka : 14th Asian Symposium on Ecotechnology (2007)
” Ecophysiological analysis of halophilic bacteria in bioaerosol : Saul, Korea”
 - 24) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, C. Hong, Y. Tobo, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka : Biomicroworld 2007 (2007)
“Ecophysiological Analysis of Halophilic Bacteria in Bioaerosol : Spain”
 - 25) W. Hirota, T. Maki, T. Kakimoto, T. Shimada, H. Hasegawa, K. Ueda, Biomicroworld 2007 (2007)
“Seasonal dynamics of bacterial population degrading dimethylarsenic acid in Lake Kahokugata : Spain”
 - 26) 牧輝弥 : こまつものづくり技術シーズ発表会 (2008)

- “ヒ素無機化細菌を利用した有機ヒ素汚染土壌のファイトレメディエーション”
- 27) 牧輝弥、鈴木峰、城戸耕介、長谷川浩、上田一正：第3回日本進化原生生物学研究会（2008）
“有害ハプト藻 *Prymnesium parvum* の鉄欠乏ストレスに関わる遺伝子群の探索”
- 28) M. Kakikawa, F. Kobayashi, T. Maki, M. Yamada, T. Higashi, B. Chen, G.-Y. Shi, C. Hong, Y. Tobo, Y. Iwasaka : The Fifth International Workshop on Sand and Dust Storms (2008)
“Dustborne microorganisms in KOSA source region, Dunhung”
- 29) G.-Y. Shi, F. Kobayashi, S. Toda, M. Yamada, M. Kakikawa, T. Maki, T. Higashi, C. Hong, Y. Tobo, B. Chen, T. Naganuma, Y. Iwasaka : The Fifth International Workshop on Sand and Dust Storms (2008)
“Direct Sampling and Identification of Bioaerosols in the Convective Mixed Layer Over KOSA Region, Dunhuang, Using the Separate Culture”
- 30) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, C. Hong, Y. Tobo, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka : The Fifth International Workshop on Sand and Dust Storms (2008)
“Halotolerant bacterial community survived in atmosphere of Asian dust (KOSA) source region, Dunhuang City”
- 31) Y. Iwasaka, G.-Y. Shi, M. Yamada, F. Kobayashi, M. Kakikawa, T. Maki, T. Naganuma, B. Chen : The Fifth International Workshop on Sand and Dust Storms (2008)
“Mixing state of micro-biota and KOSA particles: Balloon-borne measurements at Dungguang, China”
- 32) 牧輝弥、鈴木振二、青木一真、小林史尚、柿川真紀子、山田丸、東朋美、長谷川浩、上田一正、岩坂泰信：日本分析化学会第57年会(2008)
“立山積雪断面に含まれる黄砂バイオエアロゾルからの細菌群の検出”
- 33) Susuki S., Maki T., Kobayashi F., Kakikawa M., Yamada M., Higashi T., Hong C., Toubou Y., Hasegawa H., Ueda K., Iwasaka Y. : 15th Asian Symposium on Ecotechnology (2008)
“The bacterial species composition of the bioaerosol in the Suzu City by PCR-DGGE methods”
- 34) 牧輝弥、鈴木振二、小林史尚、柿川真紀子、山田丸、東朋美、長谷川浩、上田一正、岩坂泰信：第24回日本微生物生態学会（2008）
“珠洲市上空のバイオエアロゾルにおける耐塩細菌群の種組成解析”
- 35) M. Kakikawa, T. Fujihata, M. Iwahara, S. Yamada: Asian-Pacific Symposium on Applied Electromagnetics and Mechanics (2008)
“Enhanced Potency of Anticancer Drug, Bieomycin by ELF Magnetic Fields,”
- 36) Y. Hirai, M. Kakikawa, S. Yamada, M. Iwahara: Asian-Pacific Symposium on Applied Electromagnetics and Mechanics, (2008)
“Influence of ELF Magnetic Fields on Anticancer Drug Cisplatin Potency”
- 37) C. P. Gooneratne, S. Yamada, M. Iwahara, M. Kakikawa, Y. Matsumoto: Asian-Pacific Symposium on Applied Electromagnetics and Mechanics (2008)
“Novel GMR Sensor for Detection of Magnetic Nanoparticles Inside Minute Cavities,”
- 38) 藤井邦明, 松本有加, 柿川真紀子, 岩原正吉, 山田外史：平成20年度電気関係学会北陸支部連合

- 大会, A-44, (2008)
 “磁性微粒子モデルによる磁性流体の濃度と比透磁率の関係”
- 39) 松本有加, 藤井邦明, 柿川真紀子, 岩原正吉, 山田外史: 平成20年度電気関係学会北陸支部連合大会, A-45, (2008)
 “磁性流体の磁性微粒子の分散状態と透磁率”
- 40) 藤畑貴史, 柿川真紀子, 岩原正吉, 山田外史: 平成20年度電気関係学会北陸支部連合大会, A-46 (2008)
 “抗がん剤の作用における交流磁界の影響評価”
- 41) C. Gooneratne, S. Yamada, M. Iwahara, M. Kakikawa: 第32回日本応用磁気学会, 12pC-9 (2008)
 “GMR Sensor Application in Detecting and Estimating Magnetic Fluid Weight Density inside Various Size Tumors”
- 42) 柿川真紀子, 平井雄一郎, 岩原正吉, 山田外史: 第32回日本応用磁気学会 14a1PS-41 (2008)
 “抗がん剤シスプラチンの作用における交流磁界曝露影響”
- 43) 岩坂泰信, 小林史尚, 牧輝弥, 柿川真紀子, 山田丸: 第25回エアロゾル科学・技術研究討論会 A01 (2008)
 “黄砂バイオエアロゾルを考えるわけ”
- 44) 柿川真紀子, 小林史尚, 牧輝弥, 山田丸, 東朋美, 陳彬, 石廣玉, 當房豊, 洪天祥, 岩坂泰信: 第25回エアロゾル科学・技術研究討論会 A04 (2008)
 “黄砂発生源のエアロゾルに含まれる微生物”
- 45) 山田丸, 小林史尚, 牧輝弥, 柿川真紀子, 張代洲, 陳彬, 洪天祥, 當房豊, 長谷正博, 東朋美, 原和嵩, 石廣玉, 岩坂泰信: 第25回エアロゾル科学・技術研究討論会 A03 (2008)
 “気球を用いた対流圏バイオエアロゾルの拡散に関する研究”
- 46) 鈴木振二, 牧輝弥, 小林史尚, 柿川真紀子, 山田丸, 東朋美, 陳彬, 石廣玉, 當房豊, 洪天祥, 長谷川浩, 上田一正, 岩坂泰信: 第25回エアロゾル科学・技術研究討論会 A05 (2008)
 “黄砂粒子上に生残する耐塩細菌群の種組成解析”
- 47) S. Toda, F. Kobayashi, M. Yamada, M. Kakikawa, T. Maki, T. Higashi, C. Hong, Y. Tobo, B. Chen, G.-Y. Shi, Y. Iwasaka: International Aerosol Symposium 2008, 227-228 (2008)
 “Isolation, Identification, and Direct sampling of Bioaerosols in the convective mixed layer over KOSA region, Dunhuang”
- 48) M. Yamada, Y. Iwasaka, D. Zhang, T. Miyazawa, F. Kobayashi, M. Kakikawa, K. Hayakawa: International Aerosol Symposium 2008, 263-264 (2008)
 “Development of a particle counter for bioaerosol measurement”
- 49) 小林史尚, 牧輝弥, 柿川真紀子, 東朋美, 山田丸, 石廣玉, 岩坂泰信, 第49回年会大気環境学会 (2008)
 “敦煌気球観測で見られる微生物と黄砂”
- 50) 山田丸, 小林史尚, 牧輝弥, 柿川真紀子, 張代洲, 陳彬, 洪天祥, 當房豊, 長谷正博, 石廣玉, 岩坂泰信: 第49回年会大気環境学会 (2008)
 “気球を用いた対流圏バイオエアロゾル観測: 粒子数濃度計測とバイオエアロゾル混合状態の解析”

- 51) F. Kobayashi, S. Toda, M. Yamada, M. Kakikawa T., Maki, T. Higashi, C. Hong, Y. Tobo, B. Chen, G.-Y. Shi, Y. Iwasaka: IGAC 10th International Conference (2008)
 “Bioaerosols in the Convective Mixed Layer Over KOSA Region, Dunhuang”
- 52) M. Yamada, T. Maki, F. Kobayashi, B. Chen, M. Kakikawa, D. Zhang, M. Nagatani, C. Hong, G.-Y. Shi, Y. Iwasaka: IGAC 10th International Conference (2008)
 “Diffusion of bioaerosols linked with mineral particles in the boundary layer over a desert area of the Northwest China,”
- 53) 小林史尚, 山田丸, 牧輝弥, 柿川真紀子, 山田洋一, 東朋美, 荻野千秋, Kim Yang-Hoon :
 第三回大気バイオエアロゾルシンポジウム (2009)
 “黄砂バイオエアロゾルの越境的健康被害調査のためのサンプリング・同定に関する研究”
- 54) 柿川真紀子, 小林史尚, 牧輝弥, 山田丸, 東朋美, 陳彬, 石廣玉, 當房豊, 洪天祥, 岩坂泰信 : 第三回大気バイオエアロゾルシンポジウム (2009)
 “敦煌で採集したバイオエアロゾルのメタゲノム解析”
- 55) 牧輝弥, 鈴木振二, 小林史尚, 柿川真紀子, 山田丸, 東朋美, 岩坂安信 : 第三回大気バイオエアロゾルシンポジウム (2009)
 “大気バイオエアロゾル中に生残する耐塩細菌群の種組成の解明”
- 56) 山田丸, 小林史尚, 岩坂泰信, 柿川真紀子, 牧輝弥, 張代洲, 長谷正博, 陳彬, 石廣玉 : 第三回大気バイオエアロゾルシンポジウム (2009)
 “敦煌における対流圏バイオエアロゾルの顕微鏡観察”

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

- 1) 第二回大気バイオエアロゾルシンポジウム (2008年1月12日、熊本県立大学、約50名)
- 2) 第三回大気バイオエアロゾルシンポジウム (2009年1月11日、仙台KKRホテル、約50名)

(5) マスコミ等への公表・報道等

- 1) 朝日新聞 (2008年6月20日、全国版一面、次頁参照)
- 2) 熊本日日新聞 (2009年4月25日、朝刊社会面)
- 3) 北國新聞 (2008年5月8日、石川版)
- 4) 北陸中日新聞 (2008年5月8日、石川版)
- 5) 朝日新聞 (2008年5月8日、石川版)
- 6) 読売新聞 (2008年5月8日、石川版)
- 7) 北陸中日新聞 (2009年4月29日、石川版)
- 8) 週刊文春 (2009年3月12日号、文藝春秋社、p. 46-49、次頁参照)
- 9) テレビ朝日報道ステーション (2009年3月17日、黄砂バイオエアロゾルの採取と同定の成果について資料提供し、5分ほど紹介)
- 10) フジテレビサキヨミLive (2009年4月19日、黄砂バイオエアロゾルの採取、分析と健康影響

の成果について10分ほど紹介)

- 11) NHKサイエンスゼロ (放送日未定2009年5月30日の予定、珠洲における黄砂バイオエアロゾルの採取、分析と健康影響などについて紹介)
- 12) NHKニュース石川版 (2008年5月7日、珠洲での黄砂バイオエアロゾルサンプリングについて5分ほど紹介)
- 13) 北陸朝日放送ニュース石川版 (2008年5月7日、珠洲での黄砂バイオエアロゾルサンプリングについて5分ほど紹介)

(6) その他

2008年度日本エアロゾル学会論文賞受賞 (2008年8月21日, 論文名「黄砂発生源におけるバイオエアロゾル拡散に関する研究」: 8. 研究成果の発表状況 (1) 誌上発表〈論文(査読あり)〉の 1) に記載した論文、次頁参照)

