

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		培養不可能な水系感染症ウイルスの新規浄水処理性評価手法の開発と応用			
研究テーマ (欧文) AZ		Development and application of a novel method for the evaluation of non-culturable waterborne virus removal in drinking water treatment process			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓) シラサキ	名) ノブタカ	研究期間 B	2012 ~ 2013 年
	漢字 CB	白崎	伸隆	報告年度 YR	2014 年
	ローマ字 CZ	SHIRASAKI	NOBUTAKA	研究機関名	北海道大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		白崎伸隆 北海道大学大学院工学研究院・助教			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>ノロウイルスは、感染性急性胃腸炎を引き起こすウイルス性食中毒の主要な病原体であり、その感染事例が世界中で年々増加しているため、社会的な注目を集めている。しかしながら、ノロウイルスは、生体外での効率的な培養法が未確立であることから、添加実験を行うことが非常に困難であり、浄水処理性、特に次世代の技術として期待される膜ろ過処理における処理性はほとんど明らかになっていないのが現状である。</p> <p>そこで、本研究では、野生のノロウイルスと構造的・抗原的に同等であるノロウイルスのウイルス様粒子(rNV-VLPs: recombinant Norovirus-Virus Like Particles)と、抗原抗体反応の特異性と PCR 法の高感度性を組み合わせた免疫 PCR 法による rNV-VLPs の定量を併用することにより、培養法の確立を待つことなく、膜ろ過処理におけるノロウイルス粒子の処理性を詳細に評価することを目的とした。また、ノロウイルスの代替指標ウイルスとしての大腸菌ファージ Qβ 及び MS2 の可能性について議論した。</p> <p>作製した rNV-VLPs の濃度を新たに構築した免疫 PCR 法にて定量したところ、従来の酵素免疫測定法に比べ、検出感度が 1,000 倍程度向上した。従って、本研究で作製した rNV-VLPs と新たに構築した免疫 PCR 法を併用することにより、膜ろ過処理におけるノロウイルス粒子の処理性を詳細に評価可能であると判断した。精密ろ過膜処理、限外ろ過膜処理、凝集-精密ろ過膜処理における rNV-VLPs の除去率を免疫 PCR 法にて評価したところ、精密ろ過膜処理単独(膜孔径 0.1 μm)では rNV-VLPs をほとんど除去できなかったのに対し、凝集処理を前処理として導入した凝集-精密ろ過膜処理では、米国環境保護局の要求値である 4 log(99,99%) 以上の除去率が達成され、また、分画分子量 1 kDa の膜を用いた限外ろ過膜処理と同等、あるいはそれ以上の高い除去率が得られた。従って、凝集-精密ろ過膜処理は、ノロウイルス粒子の除去に有効であることが示唆された。膜ろ過処理における rNV-VLPs、Qβ、MS2 の除去率を比較したところ、いずれの膜ろ過処理においても、rNV-VLPs の除去率は、Qβ 及び MS2 の除去率よりも低かった。従って、大腸菌ファージ Qβ 及び MS2 は、ノロウイルス粒子の安全側の指標とは成り得ない可能性が示唆された。</p>					
キーワード FA	ウイルス様粒子	水系感染症ウイルス	膜ろ過処理	免疫 PCR 法	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA							
研究機関番号 AC					シート番号							

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Estimating norovirus removal performance in an in-line coagulation–ceramic microfiltration process by using recombinant norovirus VLPs and immuno-PCR method							
	著者名 <sup>GA</sup>	Shirasaki <i>et al.</i>	雑誌名 <sup>GC</sup>	Proceedings of 7th IWA Specialised Membrane Technology Conference and Exhibition for Water and Wastewater Treatment and Reuse					
	ページ <sup>GF</sup>	in USB #181 (8 pages)	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	3	巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要 EZ

Norovirus (NV) is the prototype strains of a group human caliciviruses responsible for epidemic outbreaks of acute gastroenteritis in the worldwide. As a result of the lack of a mammalian cell culture model for this virus, the studies on drinking water treatment are still hampered. Accordingly, the removal performance of NV in the membrane filtration process which is becoming one of the most important technologies in this century for drinking water treatment has not been investigated fully.

In the present study, we estimated NV removal performance as particles during membrane filtration processes by using recombinant NV virus-like particles (rNV-VLPs) morphologically and antigenically similar to native NV and the immuno-polymerase chain reaction (I-PCR) method that combine antibody capture of antigen and DNA amplification. In addition, we experimentally investigated the behaviors of the F-specific RNA bacteriophages Q $\beta$  and MS2 for comparison with the behavior of rNV-VLPs to evaluate the suitability of these bacteriophages as surrogates for NV during membrane filtration processes.

Because rNV-VLP quantification limit of the I-PCR method was improved approximately 1,000-fold as compared with the enzyme-immunosorbent assay, which is generally used to detect rNV-VLPs, smaller rNV-VLP concentration in membrane permeate were successfully quantified by this method. More than 4-log removals of rNV-VLPs were achieved by a coagulation–microfiltration (MF) process. This high removal ratio of rNV-VLPs achieved by this process satisfied the U. S. Environmental Protection Agency requirement of 4-log removal/inactivation. Moreover, the removal performance of rNV-VLPs in this process was greater than that in the direct ultrafiltration process with regenerated cellulose membrane having a nominal molecular weight cut off of 1 kDa. Accordingly, the coagulation–MF process appears to be effective for the NV removal. Through the present study, the removal ratios of Q $\beta$  and MS2 were larger than that of rNV-VLPs. Accordingly, neither Q $\beta$  nor MS2 can be used as a conservative surrogate for native NV in membrane filtration processes.