

厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
「水道システムにおける生物障害の実態把握とその低減対策に関する研究」
分担研究報告書

研究課題：分子生物学的手法によるろ過漏出障害の原因生物の評価

研究代表者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院 統括研究官
研究分担者 藤本 尚志 東京農業大学 応用生物科学部 教授

研究要旨

ピコプランクトンとは大きさが 0.2~2 μm のプランクトンであり、水源において細胞数が高まると、浄水場においてろ過池の出口の濁度を 0.1 度以下に維持することが困難になる。これまで分子生物学的手法（クローニング）により浄水場におけるろ過漏出障害原因生物の調査を行い、複数の系統に位置づけられるピコシアノバクテリアのクローンおよび緑藻綱 *Mychonastes homosphaera* に近縁なクローンが検出され、これらの微生物がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。しかしながらろ過水の生物相データが不足しており、また、クローニングにより生物相を完全に評価できていない可能性が示唆された。そこで本研究課題ではさらに知見を集積するとともに次世代シーケンサーによる詳細な生物相の評価手法の確立を行った。2 年間の調査により長沢浄水場ろ過水では、藍藻綱 *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンおよび *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの検出頻度および割合が多く、主要なろ過漏出障害の原因生物である可能性が示唆された。原水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合が大きく、ろ過水では *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの割合が大きくなる傾向があり、*Synechococcus* 属の種類によって処理工程における除去特性が異なる可能性が示唆された。次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析により長沢浄水場工程水において Proteobacteria 門、Actinobacteria 門、Bacteroidetes 門といった従属栄養細菌の割合が大きく、80~100%を占めた。原水、沈澱水と比較してろ過水のほうが *Synechococcus* 属の割合が高まる傾向にあり、*Synechococcus* 属の砂ろ過による除去率が低いことが示唆された。ろ過水に占める Proteobacteria 門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析により水道水源の微生物群集構造を門レベルから属レベルまで定量的に評価することが可能であった。水域ごとに優占する *Synechococcus* 属の種が異なり、様々な *Synechococcus* 属の種がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。

A. 研究目的

近年、湖沼・貯水池を水源とする浄水場においてピコプランクトンによるろ過漏出障害が発生し問題となっている。平成 19 年に厚生労働省が水道事業に対して義務付けた「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」において、クリプトスポリジウム等による汚染の対応措置として、リスク判断がレベル 4(クリプトスポリジウム等による汚染のおそれが高い)またはレベル 3(クリプトスポリジウム等による汚染のおそれがある)の場合、ろ過池またはろ過膜の出口の濁度を 0.1 度以下に維持することが可能なろ過設備(急速ろ過、緩速ろ過、膜ろ過等)を整備することが義務付けられている。しかしながらピコプランクトンによるろ過漏出障害が発生すると、この対策指針に従って濁度 0.1 度以下に維持することが困難になり、浄水場では対応に苦慮している。この問題となるピコプランクトンとは 0.2~2 μm の大きさの

プランクトンを指し *Synechococcus* 属等の藍藻類と真核生物に属するものが含まれる。ピコプランクトンはこれまで落射蛍光顕微鏡による観察における蛍光の色調により 3 グループに分けて検討されているが、ろ過池から漏出する種に関する知見が不足しているのが現状である。これまで、分子生物学的手法により浄水場工程水を調査し、複数の系統に位置づけられるピコシアノバクテリアのクローンおよび緑藻綱 *Mychonastes homosphaera* に近縁なクローンが検出され、これらの微生物がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。しかしながらろ過水まで解析できたことが少なく、ろ過水の生物相が多様であり、クローニングにより生物相を完全に評価できていない可能性が示唆された。そこで本研究課題ではピコプランクトン対策に関する基礎的知見を得ることを目的として、相模湖を水源とする川崎市上下水道局長沢浄水場の各工程水を対象とし、

継続して分子生物学的手法を用いてピコプランクトンの生物相について解析するとともに、次世代シーケンスによる 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析を用いて詳細な評価を行った。

B. 研究方法

B-1 供試試料

2012年3月27日、4月17日、5月24日、6月19日、7月18日、9月19日、10月17日、11月22日、2013年1月23日、2月20日、3月19日、4月17日、5月22日、6月21日、7月17日、8月21日、9月18日、10月16日、11月20日、12月18日に川崎市上下水道局長沢浄水場着水井、凝集沈澱池、急速砂ろ過池より採水した試料を用いた。

次世代シーケンサーによる水道水源の群集構造解析には以下の試料を用いた。群馬県草木ダム堰堤直上流の表層より、2012年7月2日、8月21日、10月23日に採水した試料、宮ヶ瀬湖ダム中央の表層より2012年、8月1日、9月5日、2013年4月17日、5月8日、6月5日に採水した試料、江戸川矢切取水場より、2012年8月7日、2013年5月29日に採水した試料、茨城県鰐川より2012年6月13日、2013年4月23日、5月29日に採水した試料を用いた。鰐川は霞ヶ浦(北浦)から流れる河川である。

B-2 細胞数測定方法

試料中の細胞数に応じて適量(25~300ml)を、孔径0.2 μ mメンブレンフィルターを用いて吸引ろ過を行った。ろ過したフィルターについて落射蛍光顕微鏡のB励起、G励起で20視野それぞれ写真を撮影し、PE-type、PC-type、CH-typeの細胞数を計測した。

B-3 クローニングによる生物相の解析

ピコシアノバクテリアのクローニングはIvanikovaら¹⁾に従って行った。ナノプランクトンの除去を目的として試料を孔径3 μ mもしくは5 μ mのメンブレンフィルターを用いて吸引ろ過を行い、前処理を行った後、そのろ液を孔径0.2 μ mのポリカーボネート製メンブレンフィルターを用いて吸引ろ過し集菌を行った。集菌したフィルターを裁断して50ml容ファルコンチューブに回収した。CTAB(Cetyltrimethyl ammonium bromide)法により遺伝子の抽出を行った。アガロースゲル電気泳動によりゲノムDNAの確認を行った後PCRに供した。16S rRNA 遺伝子のPCRには106Fおよび789Rのプライマーペアを用いて行った。PCR終了後、アガロースゲル電気泳動によりPCR産物の確認を行い、切り出したゲルをQIAquick Gel Extraction Kit(QIAGEN社)を用いてゲル精製を行った。精製したPCR産物を用いてTOPO TA Cloning Kitによりクローニングを行った。コロニーPCRにより挿入部分の遺伝子を増幅し、RFLP

法により、グルーピングを行った。これに基づいて目視でグループ分けを行い、各グループについて塩基配列の解析を行った。クローンの塩基配列約600塩基の前半100塩基、後半100塩基についてFASTAサーチを行い、近縁種が一致するか確認を行った。一致しないものはキメラとした。その後、アライメントを行い決定した塩基配列を基に相同性検索を行った。

B-4 ピコシアノバクテリアの分離

分離・培養にはシクロヘキシミドを添加したCB培地を用いた。CB培地10mlを試験管に分注しオートクレーブにより滅菌した。孔径5 μ mメンブレンフィルターを用いて試料をろ過した。そのろ過液のピコシアノバクテリア細胞数を10 cells/mlになるまで希釈し、各試験管に0.1ml、0.2ml、0.3ml添加した。培養は1,500 lx、20 $^{\circ}$ Cの恒温器で行った。

B-5 次世代シーケンサーによる群集構造解析

真正細菌の16S rRNA 遺伝子を特異的に増幅させるプライマー515F、806Rを用いてTailed PCRを行った。増幅を確認した後、精製、濃度調整を行い、Illumina社のMiSeqによりアンプリコンシーケンシングを行った。得られた塩基配列はQIIMEを利用して解析を行った。宮ヶ瀬湖以外の試料において、Cyanobacteria門のリード数に真核藻類の葉緑体遺伝子のリード数も含まれる。

C. 研究結果およびD. 考察

C-1 長沢浄水場工程水の生物相評価

1) 細胞数の推移

長沢浄水場の原水においてPE-typeおよびPC-typeのピコシアノバクテリアが観察された。400 cells/ml以下を検出限界以下とした。PE-typeは2012年は春季から秋季に高まり最大5000 cells/mlであった(図1)。2012年は春季に高まった。PC-typeは夏季に細胞数が高まる傾向が見られ最大3400 cells/mlであった。この期間におけるろ過水の濁度は0.01~0.03の間で推移した。

2) クローニングによる評価

2012年は原水、沈澱水はすべての試料でクローニングに成功したが、ろ過水については3月と10月のみ成功した。2013年は3月の沈澱水、2013年4、5月のろ過水においてPCRによる増幅が見られなかったがそれ以外の試料ではクローニングに成功した。

工程水において*Synechococcus*属は75塩基配列が検出され、配列間の相同性が99%以上の場合、同一のOTU(Operational Taxonomic Unit)としたところ8 OTUsに分けられた(表1、図2)。2012年3~6月の原水において真核藻類の葉緑体に含まれる遺伝子が多く検出された。7月~11月の原水において本研究のターゲットではないVerrucomicrobia門の細菌が多く検出され、

Synechococcus 属系統の生物相を正確に評価できなかった。そのため 2013 年は Verrucomicrobia 門の検出を抑えるため、PCR のアニーリング温度を 65 に設定して行った。2013 年は PE-type の細胞数が多い 4 月、5 月は PE-type である *Synechococcus* sp. MW6B4 や Uncultured *Synechococcus* sp. clone LS51 に近縁なクローンが検出され、PC-type の細胞数が多い 7 月、8 月は PC-type である *Synechococcus* sp. 0BB26S03 が検出され、顕微鏡観察結果と遺伝子解析結果の間に整合性が見られた。沈澱水は原水に比べ *Synechococcus* 属の割合が増加し、*Synechococcus* 属の凝集沈澱処理による除去率が低いことが示唆された。沈澱水は原水に比べ細菌の検出割合が減少し、前塩素処理・凝集沈澱処理により細菌が減少していることが明らかとなった。

Synechococcus 属の組成を比べたところ、原水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合、検出頻度が多いことが明らかとなった。沈澱水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に加えて Uncultured *Synechococcus* sp. clone LS51、*Synechococcus* sp. MW6B4、*Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの検出頻度が高く、多くの *Synechococcus* 属の種類が検出されることが明らかとなった。ろ過水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンおよび *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの割合および検出頻度が高いことが明らかとなった。2013 年 6 月～9 月の原水・沈澱水において PC-type である *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合が多いが、ろ過水では PE-type である *Synechococcus* sp. MH305 等に近縁なクローンの割合が多く、*Synechococcus* 属の種類によつてろ過池における除去特性が異なる可能性が示唆された。

3) 次世代シーケンサーによる評価

2012 年 3、10 月および 2013 年の試料について評価したところ、総リード数は 13 万～29 万であった。工程水において Proteobacteria 門、Actinobacteria 門、Bacteroidetes 門といった従属栄養細菌の割合が大きく、80～100%を占めた(図 3～9)。Proteobacteria 門の割合が最も高く 36%～100%を占めた。2013 年 8 月(データは示していない)、10 月、11 月は原水、沈澱水に比較してろ過水のほうが Cyanobacteria 門の割合が高まった。この時、Cyanobacteria 門に占める *Synechococcus* 属の割合は 95%であり、*Synechococcus* 属の砂ろ過による除去率が低いことが示唆された。*Synechococcus* 属のリード数が多かった 2013 年 8 月、10 月、11 月のろ過水についてクローニングによる生物相と比較したところ、一致が見られ、次世代シーケンサーによるアンプリコン解析によりクローニング結果を裏付けることができた。各試料において

ろ過水に占める Proteobacteria 門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。

4) 分離・培養

2013 年 8 月の原水より一株 (N-1)、10 月の原水より一株 (N-2)、9 月の沈澱水より一株 (N-3) の計 3 株のピコシアノバクテリアの分離に成功した(写真 1～3)。N-1 株、N-2 株は PC-type の桿菌であった。N-3 株は PE-type の桿菌であった。分離株の遺伝子解析の結果、N-1 株は *Synechococcus* sp. 0BB26S03、N-2 株は *Synechococcus* sp. PS721、N-3 株は Uncultured *Synechococcus* sp. clone LS51 に近縁なピコシアノバクテリアであることが明らかとなった。N-3 株は未培養の系統に位置する *Synechococcus* 属であることが明らかとなった。N-1 株、N-3 株の分離はクローニング結果を裏付けるものと考えられた。

C-2 次世代シーケンサーによる水源における真正細菌群集構造の評価

1) 草木湖

1 試料あたりのリード数は 16 万リードから 20 万リードであった。各門のリード数の割合を評価したところ Proteobacteria 門のリード数は各月において 43～60%であり主要な微生物群であることが明らかとなった(図 10)。Cyanobacteria 門のリード数は細胞数が $10^5 \sim 2 \times 10^5$ cells/ml と高い 7、8 月は 20%を占めたが、 4×10^4 cells/ml と低下した 10 月は 1%となった。Cyanobacteria 門に占める *Synechococcus* 属の割合は 70%以上であり、細胞数の高い 7、8 月は約 90%となった。*Synechococcus* 属について種レベルで評価すると、細胞数が高い 7、8 月は *Synechococcus* sp. MH305 の割合が高く 90%以上を占めた(図 11)。細胞数が低下した 10 月は *Synechococcus* sp. PS721 が約 60%を占め、季節によって *Synechococcus* 属の種組成が変化することが明らかとなった。

2) 宮ヶ瀬湖

2012 年 8、9 月、2013 年 4～6 月の 1 試料あたりのリード数は 13 万リードから 22 万リードであった。各門のリード数の割合を評価したところ、Actinobacteria 門、Proteobacteria 門のリード数が多く合計で 66～86%を占め、主要な微生物群であることが明らかとなった(図 12)。Cyanobacteria 門は 0.5%～8%の間で推移した。Cyanobacteria 門に占める *Synechococcus* 属の割合は 97～100%であった。次世代シーケンサーにより検出された *Synechococcus* 属について配列間の相同性が 99%以上の場合、同一の OTU としたところ 12 OTUs に分けられた(表 2)。各試料に共通して *Synechococcus* sp. MW6B4 に近縁な OTU のリード数の割合が高く 29～80%を占めた。また、*Synechococcus* sp. MH301 といったクローニングでは検出できなかった存在割合の低い種も各試料で検出できた。

3) 江戸川

1 試料あたりのリード数は2012年8月は13万4千リード、2013年5月は23万3千リードであった。Proteobacteria 門の占める割合が大きくそれぞれ44%、91%を占めた(図13)。ピコシアノバクテリアの細胞数が 10^5 cells/ml を超えていた2012年8月においてもCyanobacteria 門のリード数は1%程度と低かった。これは下水処理場の放流水が流入し、従属栄養の細菌数が多いことが原因として考えられた。シアノバクテリア門のうち、真核藻類の葉緑体に含まれる遺伝子のリード数が3割程度を占めており、*Synechococcus* 属の系統が6~7割を占めていた。*Synechococcus* 属の種組成として2012年8月は*Synechococcus* sp. PS721 が71%、2013年5月は*Synechococcus* sp. 0BB26S03 が68%を占めていた(図14)。*Synechococcus* sp. PS721 は琵琶湖からの分離株、*Synechococcus* sp. 0BB26S03 はイタリア Bubano Basin からの分離株である。

4) 鰯川

1 試料あたりのリード数は16万9千リードから18万7千リードであった。Actinobacteria 門、Bacteroidetes 門、Cyanobacteria 門、Proteobacteria 門のリード数は各月において10%以上であり、主要な微生物群であることが明らかとなった(図15)。Cyanobacteria 門は2013年4月、5月において30%以上と高く推移した。

Cyanobacteria 門の総リード数に占める、真核藻類の葉緑体に含まれる遺伝子のリード数の割合は2012年6月、2013年4月、5月においてそれぞれ、33%、61%、42%であり、2013年4月に高かった。このとき、珪藻綱 *Nitzschia* 属、*Synedra* 属、*Aulacoseira* 属、*Skeletonema* 属、クリプト藻綱 *Cryptomonas* 属、渦鞭毛藻綱 *Dinophysis* 属の葉緑体に含まれる遺伝子に近縁な塩基配列のリード数が多かった。Cyanobacteria 門について目レベルで評価すると、2012年6月、2013年5月はSynechococcales 目のリード数が多く、それぞれ、89%、68%であった(図16)。富栄養貯水池においてピコ植物プランクトンが植物プランクトン総量に占める割合は10%以下と小さいと報告されているが²⁾、本水域では、シアノバクテリアに限ってみると、割合が高い時期もあることが明らかとなった。2013年4月はNostocales 目が54%、Pseudanabaenales 目が25%を占めた。Nostocales 目として *Aphanizomenon flos-aquae* NIES81、Pseudanabaenales 目として、*Pseudanabaena* sp. PCC7402 に近縁な塩基配列のリード数がほとんどを占めた。2013年4月は2-MIB濃度が240 ng/l と他の月よりも高く、*Pseudanabaena* sp. PCC7402 に近縁な藻類が2-MIBの原因となっていると推察された。

Synechococcus 属としては、*Synechococcus* sp. PCC7009 および *Synechococcus* sp. PS680 が主要で

あった(図17)。Synechococcales 目のリード数が多い2012年6月、2013年5月は*Synechococcus* sp. PCC7009 に近縁な塩基配列のリード数がそれぞれ42%、60%を占めた。*Synechococcus* sp. PCC7009 はピコシアノバクテリアのPC(Phycocyanin rich)typeである³⁾。

E. 結論

長沢浄水場ろ過水から *Synechococcus* sp. 0BB26S03、*Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンは検出され、主要なる過漏出障害の原因生物である可能性が示唆された。次世代シーケンサーによる16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析によりろ過水に占めるProteobacteria 門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。

次世代シーケンサーにより水道水源の微生物群集構造を門レベルから属レベルまで定量的に評価することが可能であった。水域ごとに優占する *Synechococcus* 属の種が異なり、様々な種の *Synechococcus* 属がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 論文発表

(1) 藤本尚志, 村田昌隆, 大西章博, 鈴木昌治, 矢島修, 岸田直裕, 秋葉道宏 (2013) 分子生物学的手法による浄水場における濁度障害原因生物の解明、水道協会雑誌, 82(5), pp.2-10.

(2) Fujimoto N., Matsuo E., Murata M., Nomura K., Ohnishi A., Suzuki M., Enmoto K., Yamaguchi S., Yanagibashi Y., Kishida N. and Akiba M., Evaluation of the Small-Eukaryote Community Composition in a Mesotrophic Lake by Sequencing the 18S rRNA Genes, Japanese Journal of Water Treatment Biology, 2014, 50(2), pp. 85-94.

2) 学会発表

(1) 横山友紀, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 蘭 勝司, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による宮ヶ瀬湖におけるピコシアノバクテリア群集構造の季節変化の解析. 第47回日本水環境学会年会; 2013年3月; 大阪. 同講演集 pp. 14.

(2) 石原匠, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 山口 茂, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による草木湖における真核ピコプランクトンの生物相の解析. 第47回日本水環境学会年会; 2013年3月; 大阪. 同講演集 pp. 664.

(3) 大谷将太郎, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 山口 茂, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による草木湖におけるピコシアノバクテリア群集構造解析. 第47回日本水環境学会年会; 2013

年 3 月；大阪．同講演集 pp. 665.

(4) 藤本尚志，藤瀬大輝，岸田直裕，秋葉道宏．分子生物学的手法によるろ過漏出障害の原因生物の評価．平成 25 年度全国会議(水道研究発表会)；2013 年 10 月；郡山．同講演集 pp. 530-531.

(5) 水野恵伍，藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，岸田直裕，秋葉道宏，野田尚宏，松倉智子，関口勇地．クローニングおよび次世代シーケンサーによる宮ヶ瀬湖のピコシアノバクテリア群集構造解析．第 48 回日本水環境学会年会；2014 年 3 月；仙台．同講演集 pp. 620.

(6) 藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，岸田直裕，秋葉道宏，村田直樹，本山信行，野田尚宏，松倉智子，関口勇地．次世代シーケンサーによる鱒川の植物プランクトン生物相の評価．第 48 回日本水環境学会年会；2014 年 3 月；仙台．同講演集 pp. 245 .

(7) 福田真美子，藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，村田直樹，本山信行，岸田直裕，秋葉道宏．分子生物学的手法による鱒川の植物プランクトン生物相の評価．第 48 回日本水環境学会年会；2014 年 3 月；仙台．同講演集 pp. 619 .

(8) 遠藤沙紀，藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，藤瀬大輝，岸田直裕，秋葉道宏．分子生物学的手法による浄水場におけるろ過漏出障害原因生物の評価．第 48 回日本水環境学会年会；2014 年 3 月；仙台．同講演集 pp. 630 .

(9) 小高千裕，藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，

藤瀬大輝，岸田直裕，秋葉道宏．分子生物学的手法による相模湖のピコシアノバクテリア生物相の評価．第 48 回日本水環境学会年会；2014 年 3 月；仙台．同講演集 pp. 618 .

(10) 藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，藤瀬大輝，岸田直裕，秋葉道宏．クローニング法および次世代シーケンサーによるろ過漏出障害原因生物の評価．平成 26 年度全国会議(水道研究発表会)；2014 年 10 月；名古屋．同講演集 pp. 540-541.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。) 該当なし

I. 参考文献

1) Ivanikova, N. V., Popels, L. C., McKay, R. M. L., Bullerjahn, G. S., Lake Superior supports novel clusters of cyanobacterial picoplankton, *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 4055-4065 (2007).

2) 一柳淳一、千葉信男、後藤光亀、須藤隆一：水源貯水池における植物ピコプランクトンの出現実態、*水環境学会誌*, 20, 29-35(1997).

3) Crosbie, N. D., Pöckl, M., Weisse, T., Dispersal and Phylogenetic Diversity of Nonmarine Picocyanobacteria, Inferred from 16S rRNA Gene and *cpcBA*-Intergenic Spacer Sequence Analyses, *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 5716-5721 (2003).

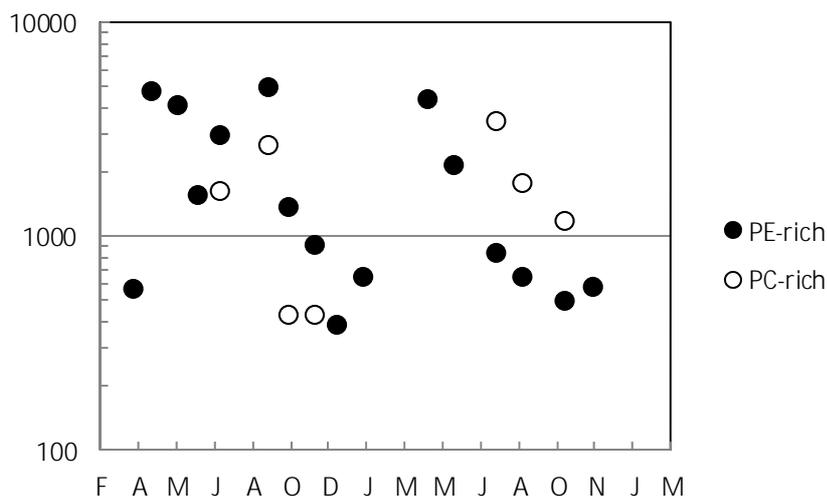


図 1 長沢浄水場原水のピコシアノバクテリア細胞数の推移 (2012 年、2013 年)

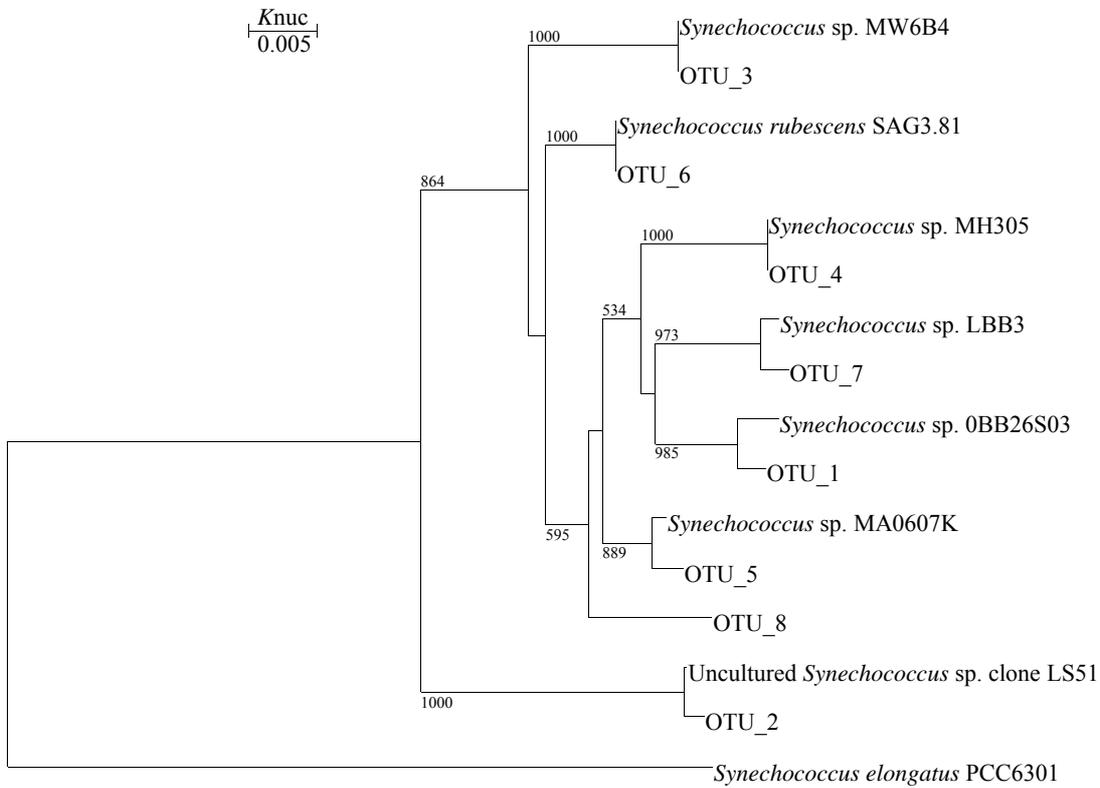


図2 長沢浄水場工程水から検出された OTU および分離株の 16S rRNA 遺伝子に基づく系統樹、約 580 塩基に基づいて作成、 \square : PE-type \square : PC-type

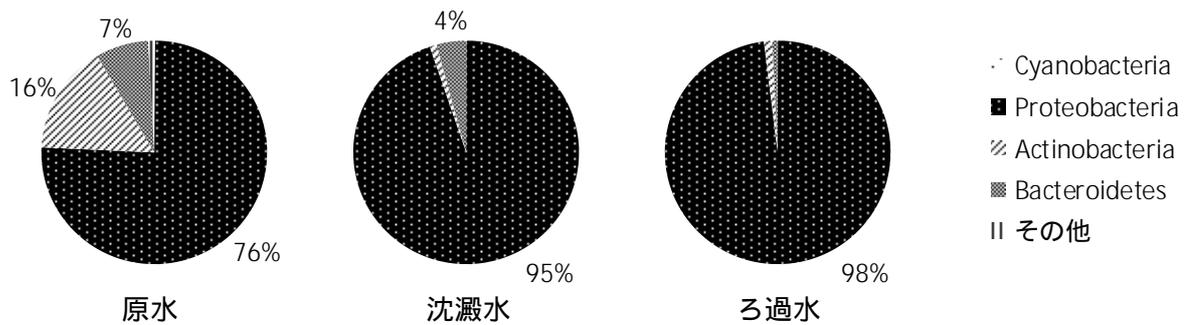


図3 長沢浄水場工程水の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2012 年 10 月)

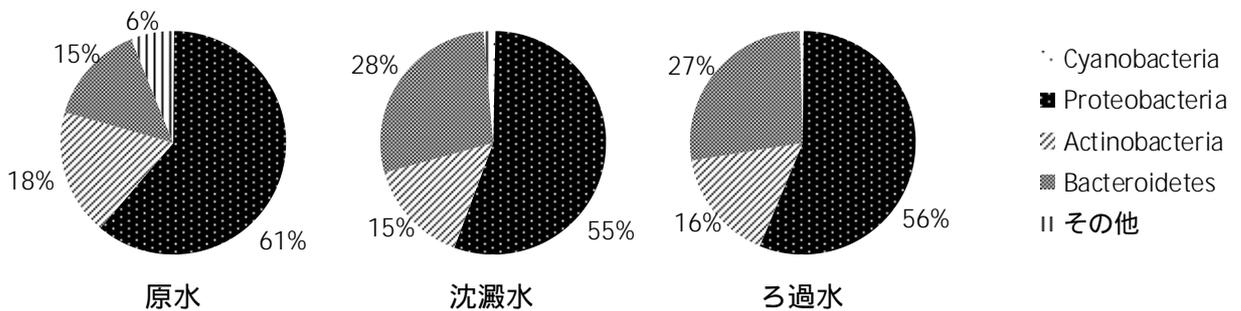


図4 長沢浄水場工程水の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013 年 2 月)

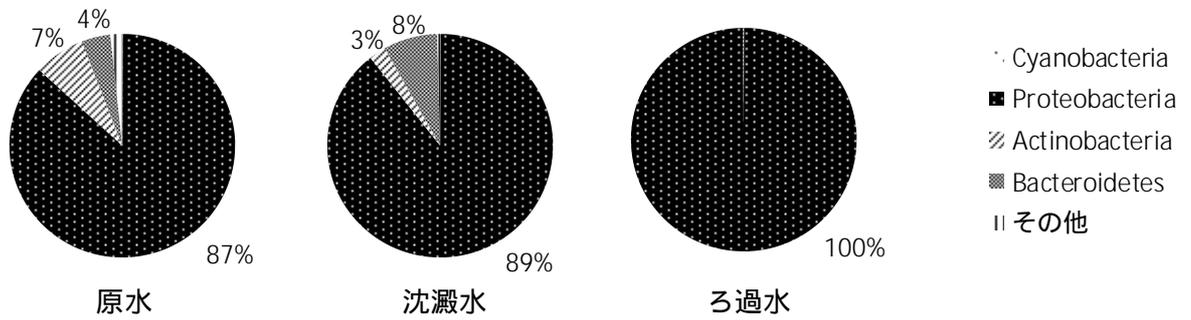


図5 長沢浄水場工程水の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年6月)

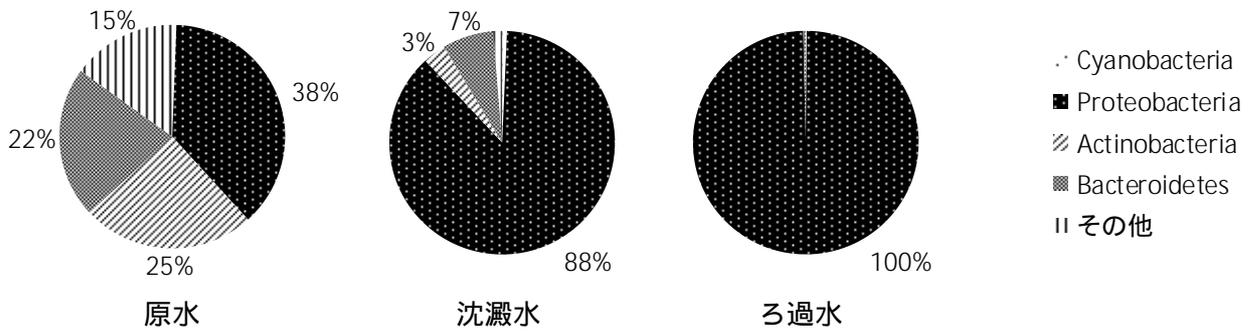


図6 長沢浄水場工程水の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年7月)

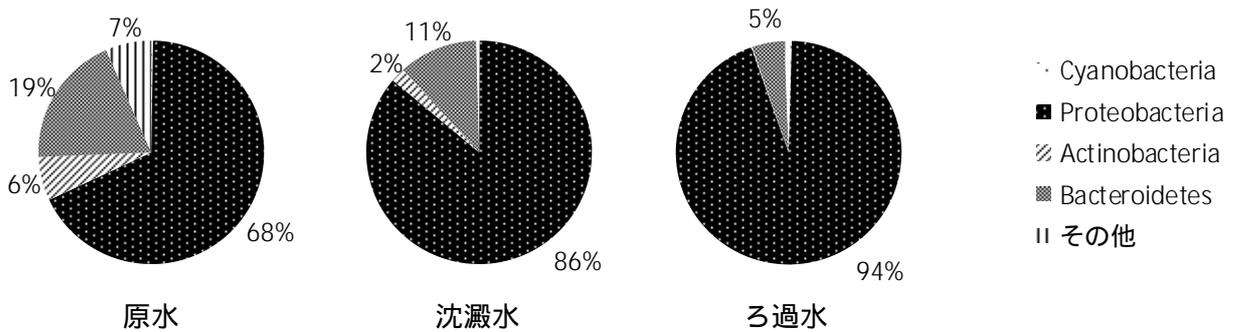


図7 長沢浄水場工程水の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年9月)

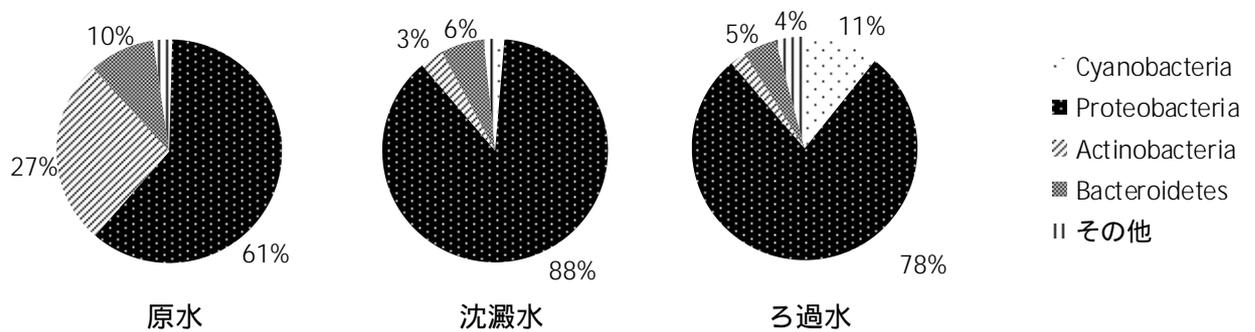


図8 長沢浄水場工程水の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年10月)

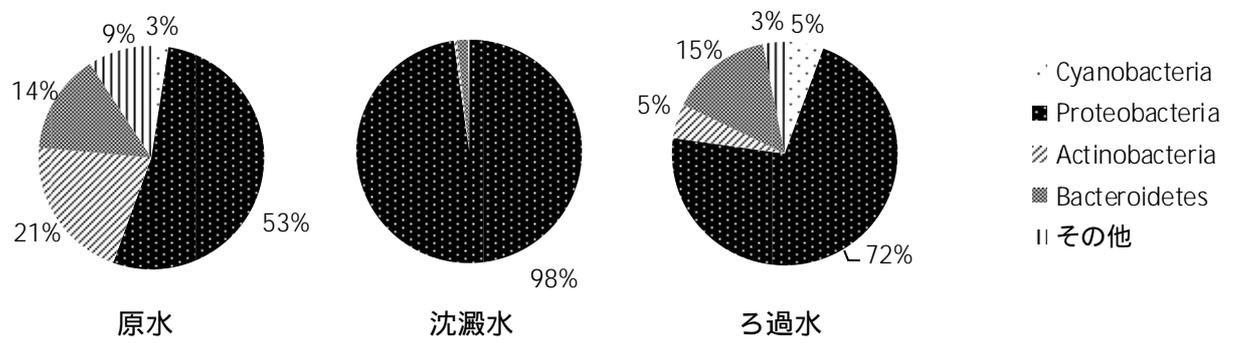


図9 長沢浄水場工程水の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年11月)

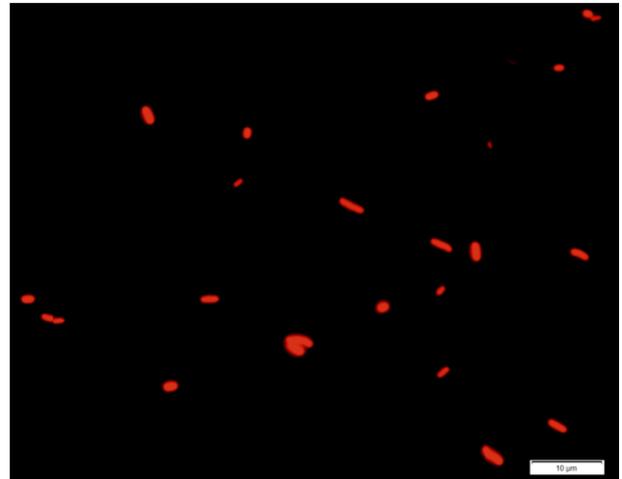
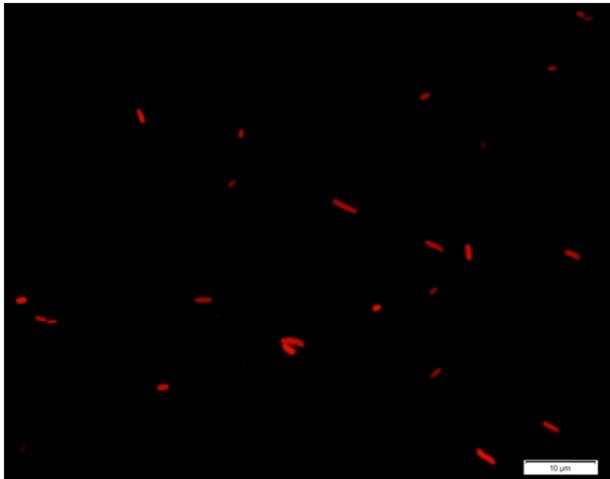


写真1 長沢浄水場原水から分離した N-1 株の落射蛍光顕微鏡写真 (左:B 励起、右 G 励起、バーは 10 μ m)

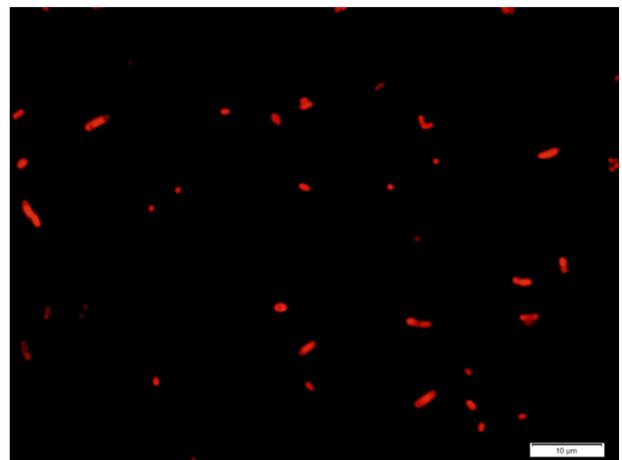
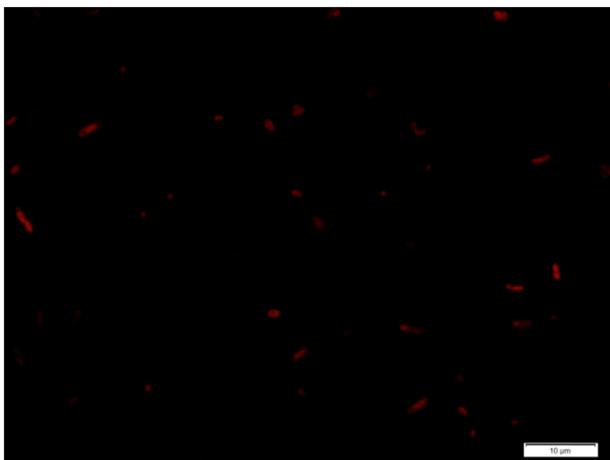


写真2 長沢浄水場原水から分離した N-2 株の落射蛍光顕微鏡写真 (左:B 励起、右 G 励起、バーは 10 μ m)

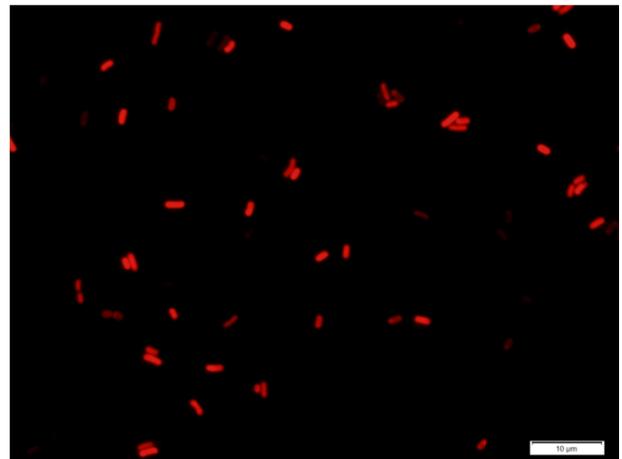
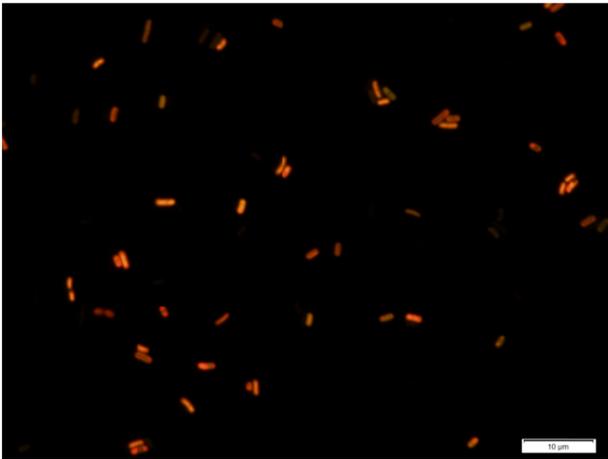


写真3 長沢浄水場沈澱水から分離した N-3 株の落射蛍光顕微鏡写真
(左: B 励起、右 G 励起、バーは 10 μm)

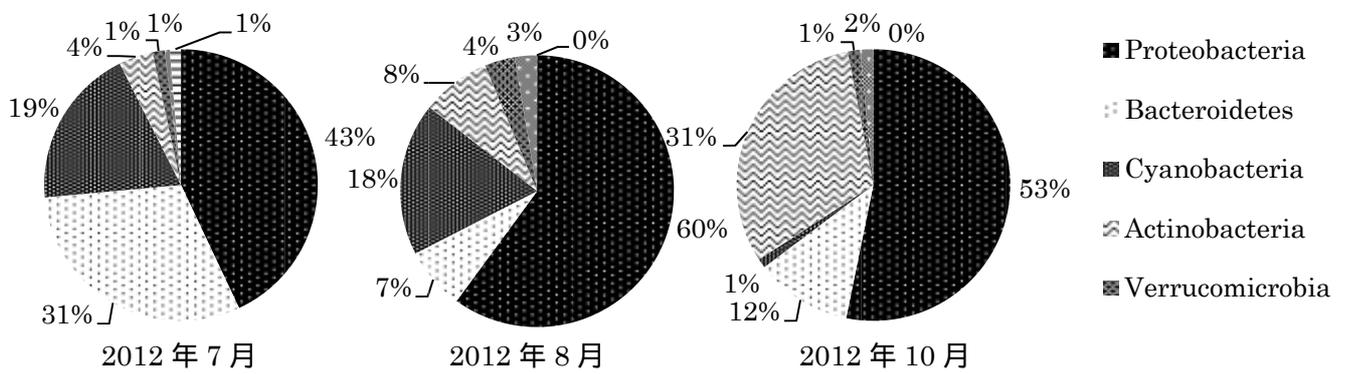


図10 草木湖の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

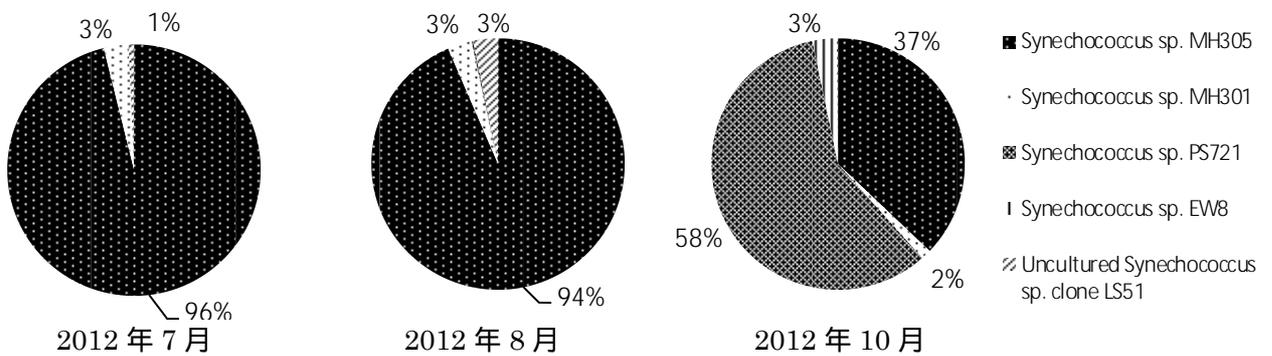


図11 草木湖の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる *Synechococcus* 属の組成

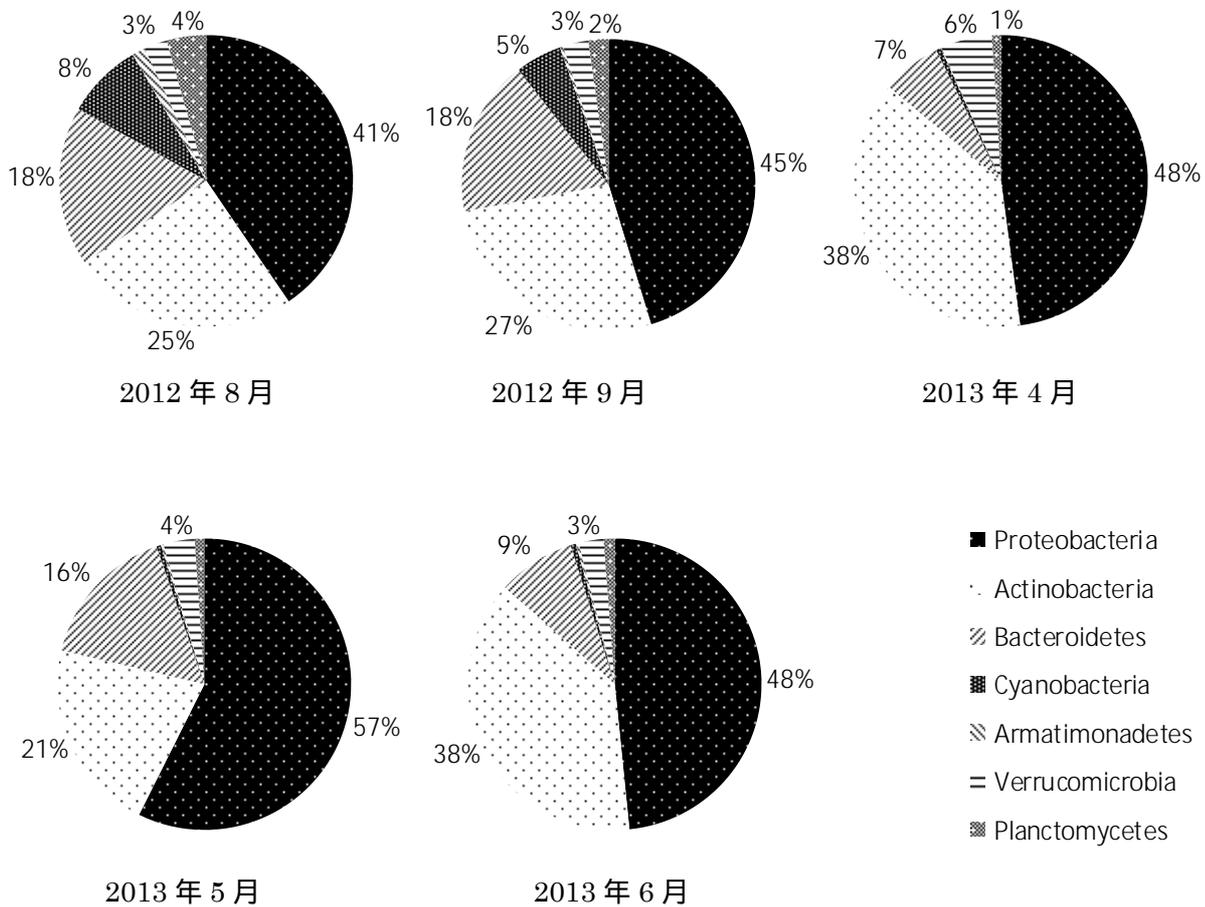


図 12 宮ヶ瀬湖の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

表 2 宮ヶ瀬湖の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる *Synechococcus* 属の OTU とその各月におけるリード数

OTU	Closest Relative	Identity(%)	2012		2013		
			Aug	Sep	Apr	May	Jun
LM_otu_1	<i>Synechococcus</i> sp. MW6B4	100	11510	3064	502	501	609
LM_otu_2	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG 3.81	96	109	359	103	88	17
LM_otu_3	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG 3.81	100	4276	107	27	88	61
LM_otu_4	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	100	469	195	219	64	22
LM_otu_5	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	97.2	91	4360	3	91	1
LM_otu_6	<i>Synechococcus</i> sp. PCC7918	99.2	96	2118	0	32	0
LM_otu_7	<i>Synechococcus</i> sp. MA0607K	99.6	275	104	0	1	0
LM_otu_8	<i>Synechococcus</i> sp. LBG2	99.6	4	192	0	3	0
LM_otu_9	<i>Synechococcus</i> sp. MH301	100	17	0	35	6	53
LM_otu_10	<i>Synechococcus</i> sp. PS721	100	130	36	0	1	0
LM_otu_11	<i>Synechococcus</i> sp. PCC7920	99.2	38	0	0	0	0
LM_otu_12	<i>Synechococcus</i> sp. 0BB22S0	99.2	7	0	0	0	0

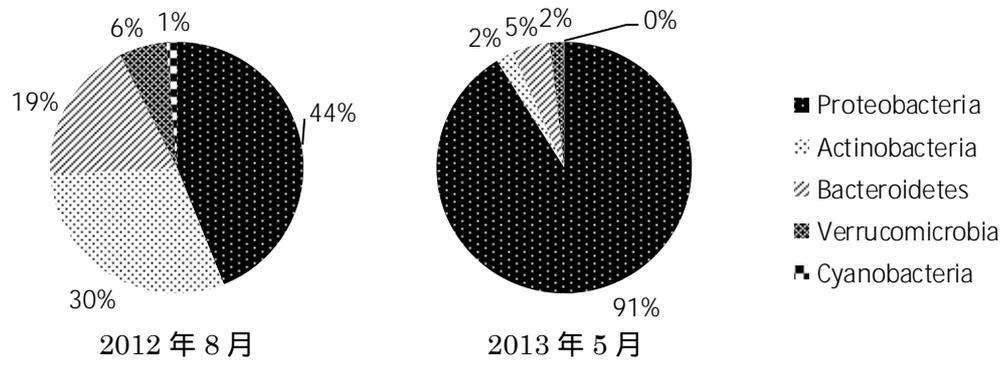


図13 江戸川の16S rRNA遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

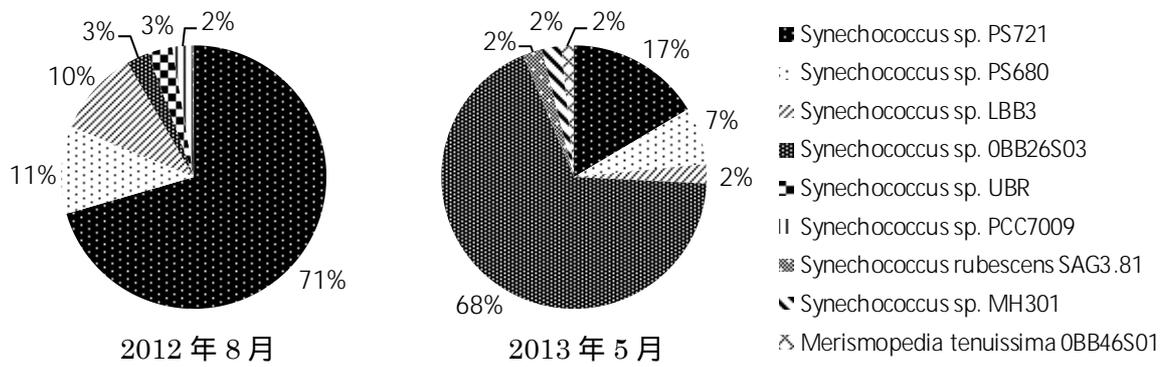


図14 江戸川の16S rRNA遺伝子アンプリコンシーケンスによるSynechococcus属の組成

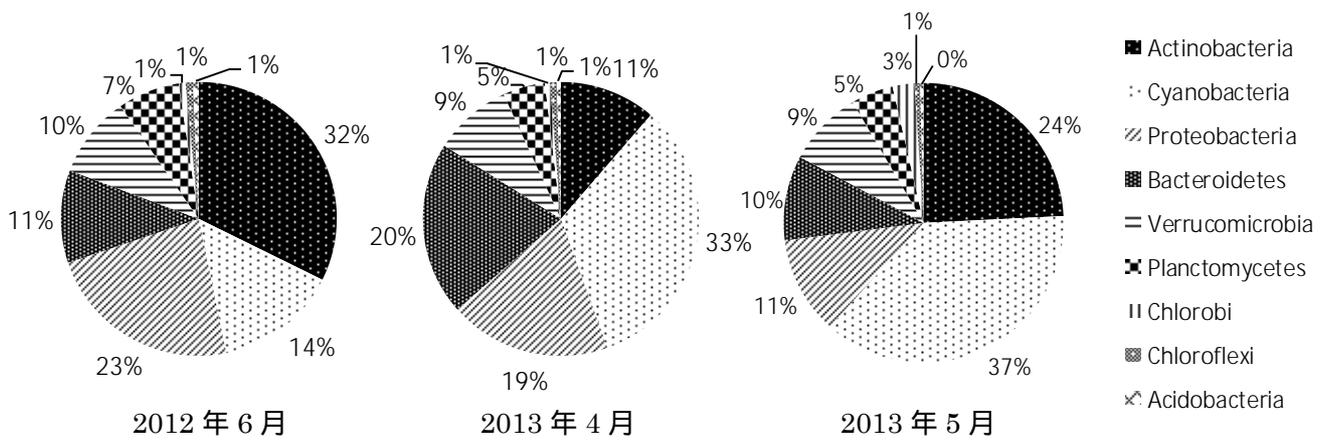


図15 鰐川の16S rRNA遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

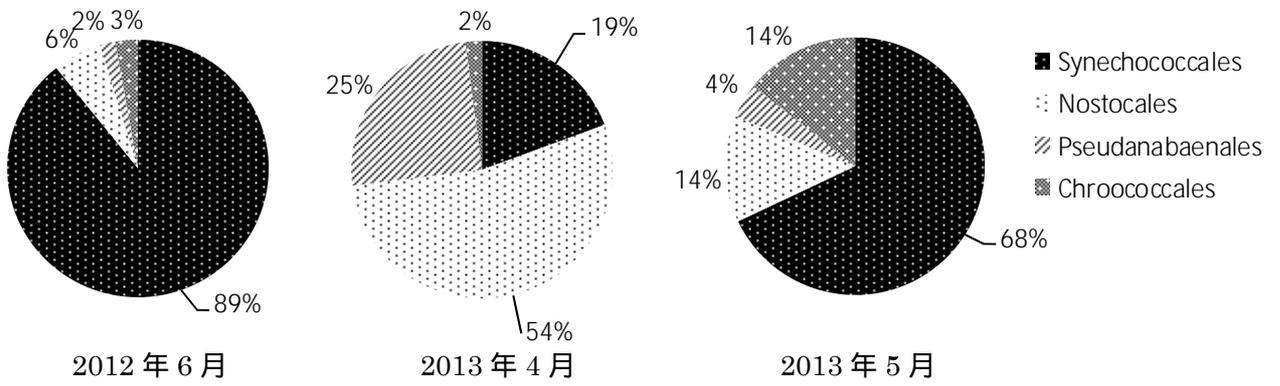


図 16 鱈川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる Cyanobacteria 門の組成

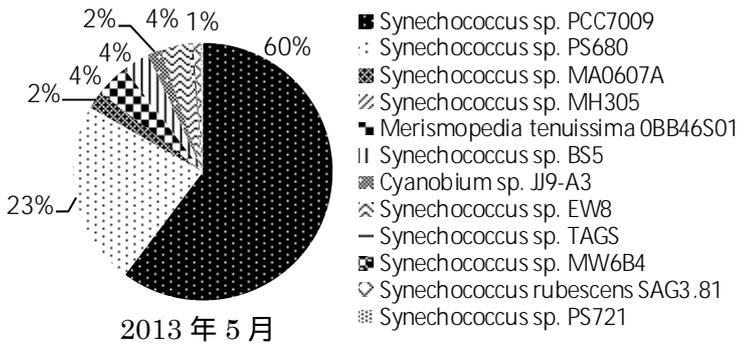
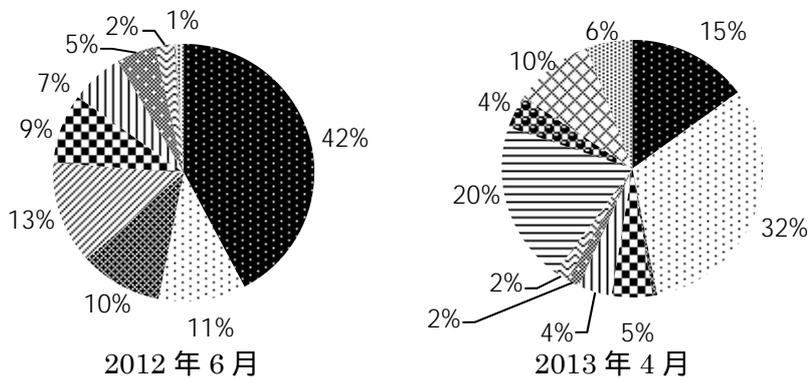


図 17 鱈川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる *Synechococcus* 属の組成