

神奈川県における PM_{2.5}中の タンパク質の実態把握

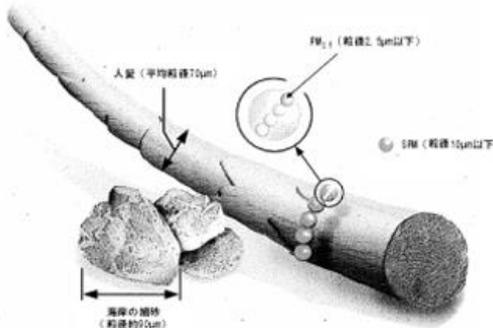
環境科学センター 調査研究部

石割 隼人

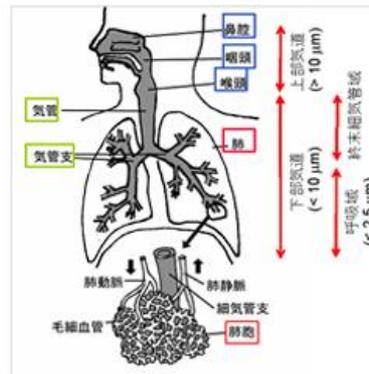
PM2.5とは

1. 微小粒子状物質 (PM2.5) とは

- 大気中に浮遊している $2.5\mu\text{m}$ ($1\mu\text{m}$ は 1mm の千分の1) 以下の小さな粒子のことで、従来から環境基準を定めて対策を進めてきた浮遊粒子状物質 (SPM : $10\mu\text{m}$ 以下の粒子) よりも小さな粒子です。
- PM2.5は非常に小さいため (髪の毛の太さの $1/30$ 程度)、肺の奥深くまで入りやすく、呼吸器系への影響に加え、循環器系への影響が心配されています。



PMの大きさ (人髪や海岸細砂) との比較 (概念図) (出典 : USEPA資料)



人の呼吸器と粒子の沈着領域 (概念図) (出典 : 国立環境研究所)

PM2.5とは

環境基準（平成21年9月9日環境省告示第33号）

項目	環境上の条件
微小粒子状物質 (PM2.5)	1年平均値が $15\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下であり、かつ、 1日平均値が $35\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下であること。



質量濃度のみ！？

効果的なPM2.5対策を推進するため

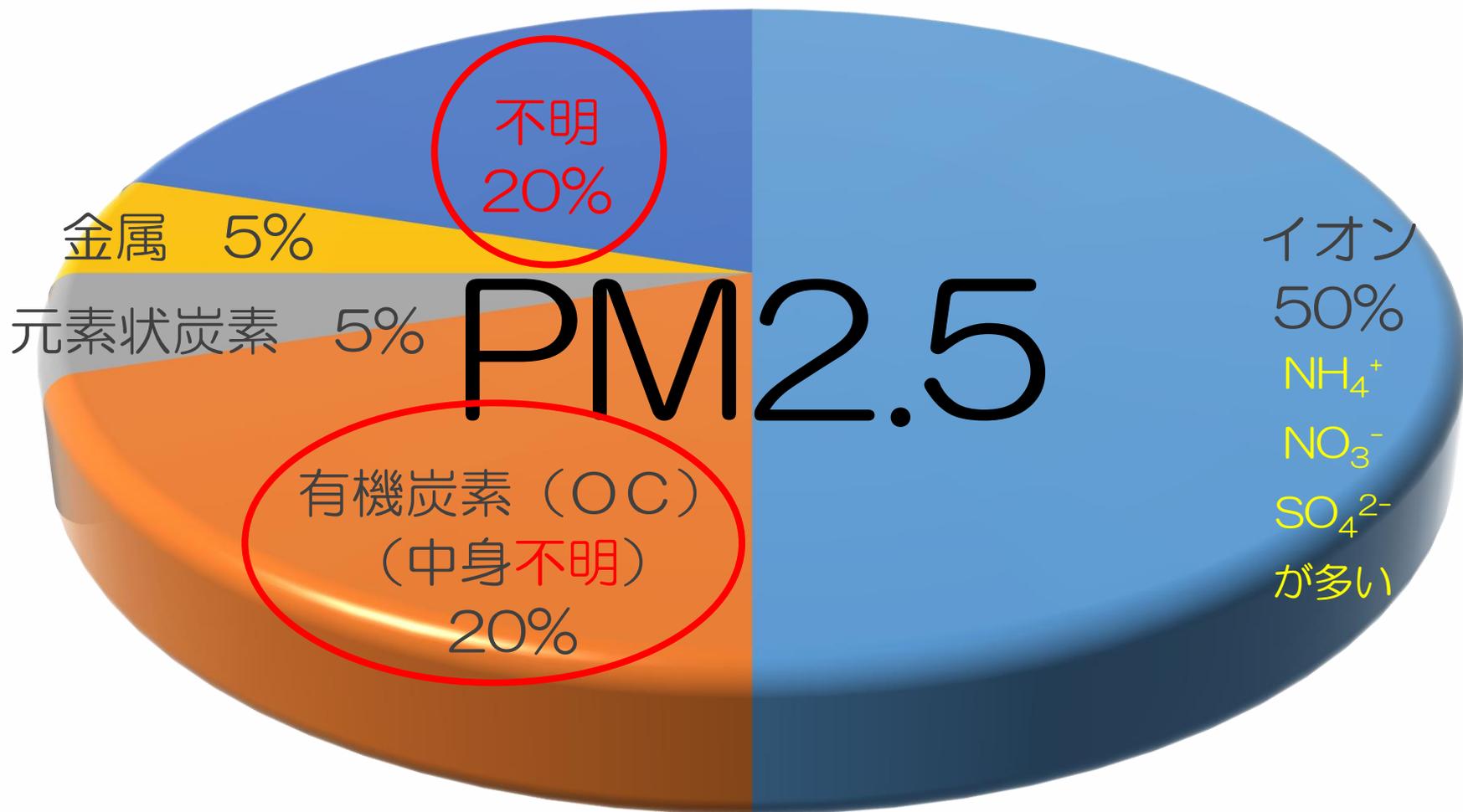
2011年に「微小粒子状物質 (PM2.5) の成分分析ガイドライン」

2012年に「大気中微小粒子状物質 (PM2.5) 成分測定マニュアル」
を策定（環境省）

↓（分析結果を用いてシミュレーション）

発生源の種類と地域を（間接的に）推定！

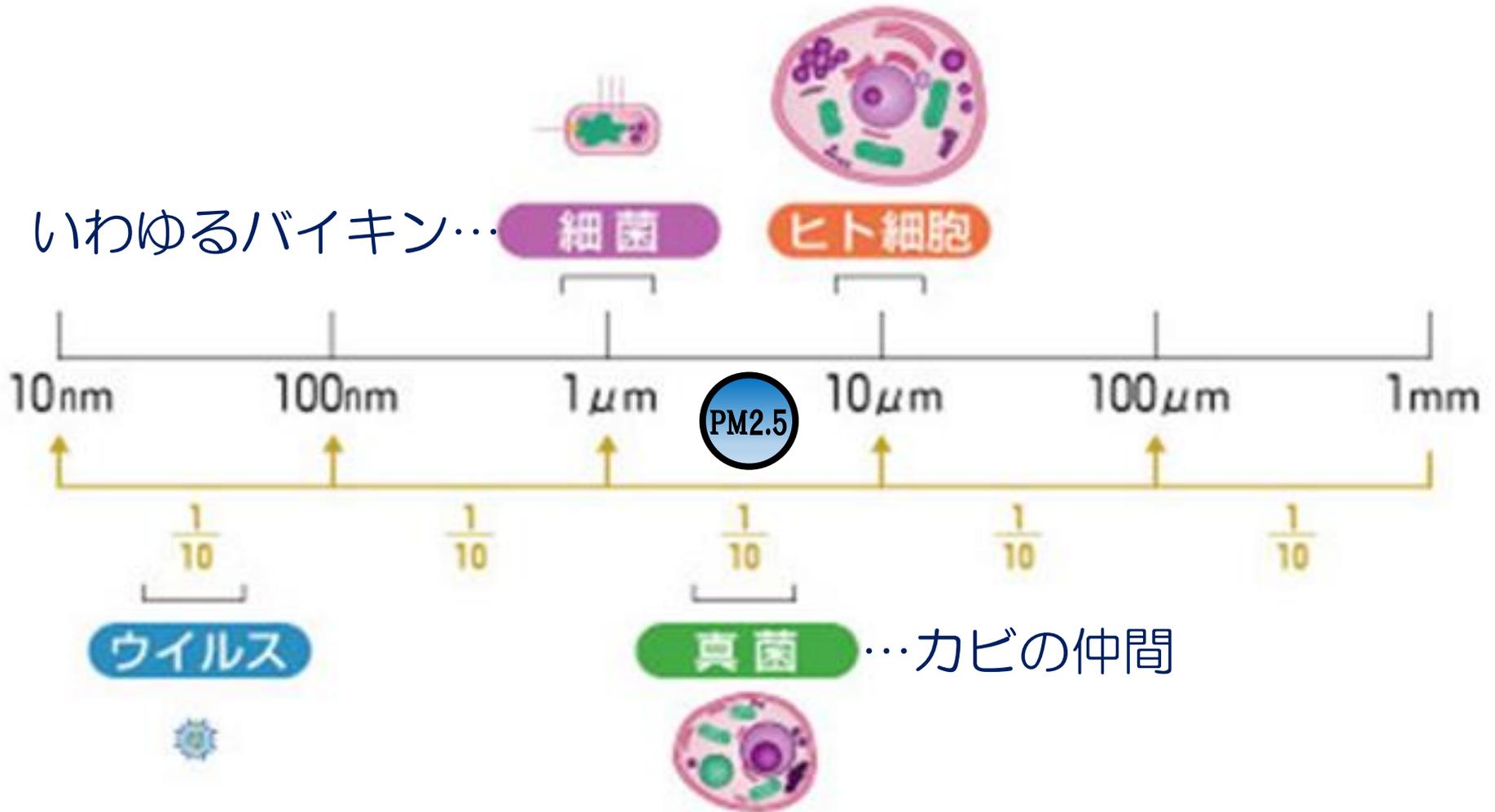
PM2.5の成分分析



不明分が多く残されている

削減対策に上手く繋がっていない! ?

研究の背景



研究の背景

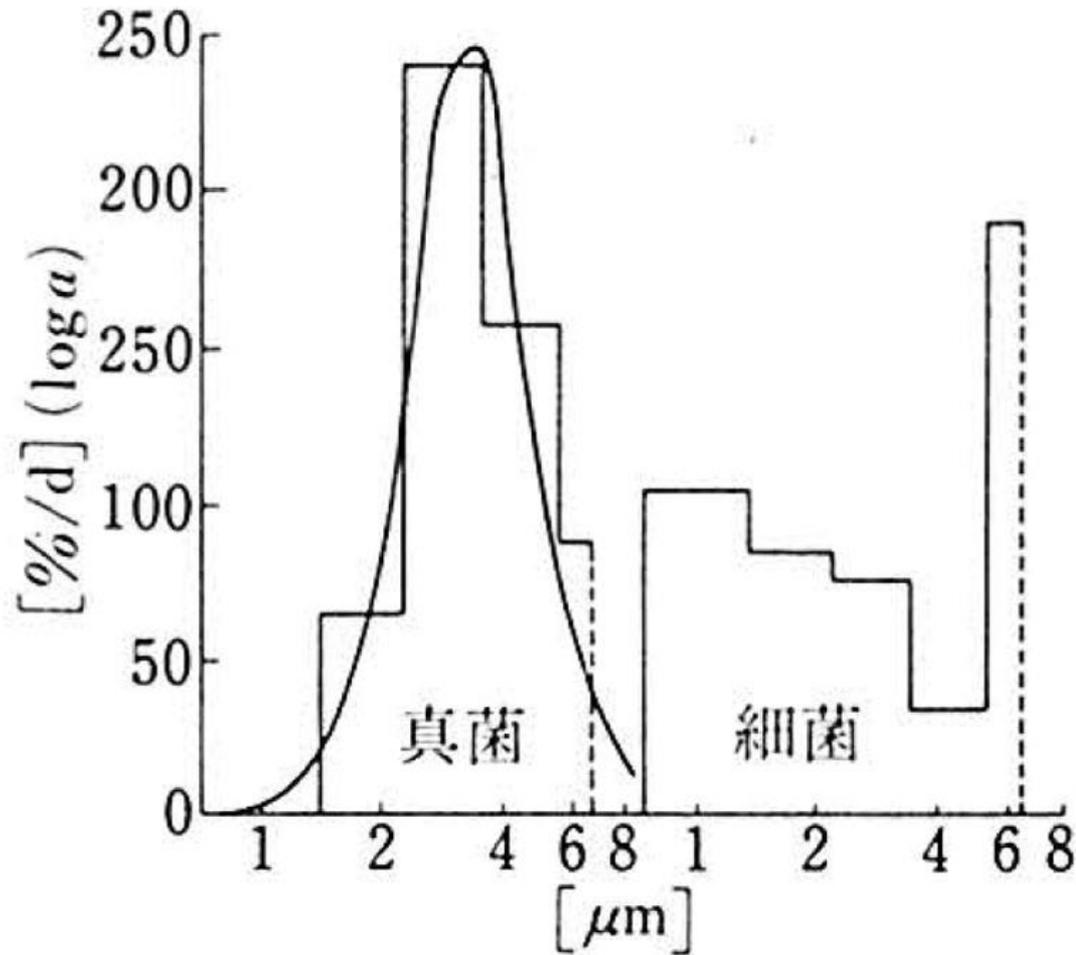


図-5 細菌・真菌の粒径分布

室内の

研究の背景

西日本における大気中のタンパク質、エンドトキシン、イオン類の濃度の季節的変動と長距離輸送の影響

○渡辺徹志¹⁾, Mohammad Shahriar Khan¹⁾, 古川奈美¹⁾, 久保裕希¹⁾, 中大路友亮¹⁾, 河瀬裕美¹⁾, 長谷井友尋¹⁾, 松本崇宏¹⁾, 出口雄也²⁾, 長岡寛明²⁾, 山岸伸行³⁾

¹⁾ 京都薬科大学, ²⁾ 長崎国際大学薬学部, ³⁾ 摂南大学薬学部

【目的】喘息発作の危険因子として、NO₂、SO₂、浮遊粒子状物質などの大気汚染物質のほか、花粉や真菌などのタンパク質（アレルゲン）やグラム陰性菌の外膜成分であるエンドトキシンなどがあげられている。一方、黄砂発生地域の粉塵に真菌やグラム陰性菌が付着していること、黄砂飛散時に大気中の細菌数が非常に増加することなどが報告されているが、本邦の大気におけるタンパク質及びエンドトキシンの濃度に関する情報は非常に乏しく、長期にわたるそれらの変動についてはこれまで明らかにされてこなかった。私達は、本邦の大気中におけるタンパク質及びエンドトキシンの濃度の季節的変動並びにそれらに対する中国大陸からの長距離輸送の影響について明らかにするため、本邦の最西端に位置し、中国大陸からの影響が大きいと考えられる長崎県佐世保市とその影響が比較的小さいと考えられる京都府京都市において長期にわたって大気粉塵を捕集し、タンパク質、エンドトキシン、イオン類を調査した。

【方法】2015年3月から3ヶ月間にわたり、佐世保市と京都市においてハイボリウムエアサンプラーを用いて、総大気粉塵（TSP）を1日分ずつ捕集した。また、2015年3月から1年間にわたり、両地点においてPM_{2.5}用インパクターを装着したハイボリウムエアサンプラーを用いて、大気粉塵を微小粒子と粗大粒子に分けて1週間分ずつ捕集した。各試料中のタンパク質、エンドトキシン及びイオン類は、それぞれマイクロBCA法、ライセート試薬（Limulus Amebocyte Lysate）を用いるエンドトキシン試験及びイオンクロマトグラフ法により測定した。後方流跡線解析は米国海洋大気局 NOAA の HYSPLIT モデルにより行った。

【結果及び考察】気象庁により黄砂飛散が長崎市及び京都市において観測された3月22日に、本調査においても佐世保市と京都市で TSP 及び Ca²⁺の濃度が高く、黄砂の飛散が確認された。また、4月17日にも、両地点において TSP と Ca²⁺の濃度が上昇し、後方流跡線解析の結果、両地点の気塊が中国大陸より移流したことが示唆され、黄砂が飛散したと考えられた。両地点におけるタンパク質とエンドトキシンの濃度はこれら黄砂が飛散したと予想された日に高く、特に佐世保市では、エンドトキシン濃度は 0.19~0.27 EU/m³ であり、京都市の 0.09~0.11 EU/m³ より顕著に高く越境輸送による影響と考えられた。

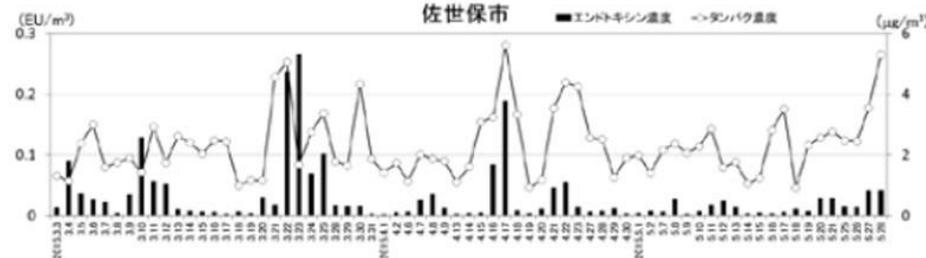


図1 佐世保市の大気中のタンパク質及びエンドトキシンの濃度（2015年3月～5月）

期待される成果、行政上の効果

○本研究の実施により、PM2.5中の不明成分を明らかにし、人為起源の有無を判断できる。

○新たな成分項目（タンパク質）が加わることでシミュレーションの精度が上がる。

○PM2.5に対するリスク（アレルギー等）評価再考の契機となる可能性がある。

タンパク質定量用アッセイキット

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Search All



Search



お問い合わせ

サインイン

クイックオーダー



Micro BCA™ Protein Assay Kit



製品番号: 23235

Thermo Scientific™ 関連する製品群 [Protein Assays and Analysis](#)

[サポートについてのお問い合わせ](#)

	製品番号(カタログ番号)	容量	標準価格 (JPY)
☆	23235	500 mL	38,500 (お問い合わせください)

[価格と在庫状況を確認](#)

[製品概要](#) [マニュアル](#) [MSDS](#) [COA](#) [FAQ\(よくある質問と答え\)](#) [引用及び参考文献](#)

BCA法の原理

BCA法の化学反応

BCA法は、アルカリ条件下でタンパク質によって2価の銅イオン (Cu^{2+}) が1価の銅イオン (Cu^+) に還元される原理と、1価の銅イオンが2分子のビスシンコニン酸 (BCA: Bicinchoninic Acid) と配位結合して紫色に呈色する原理を組み合わせた方法です (図1)。

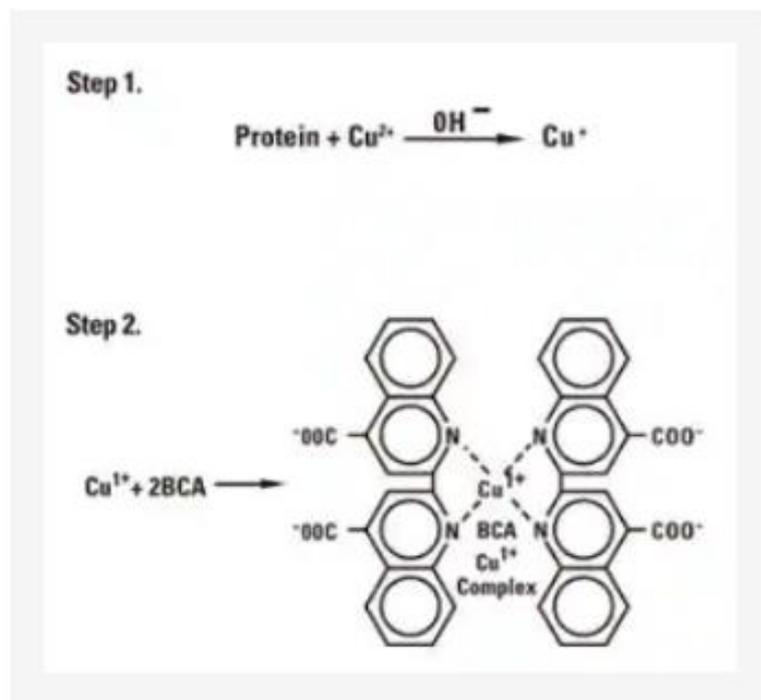
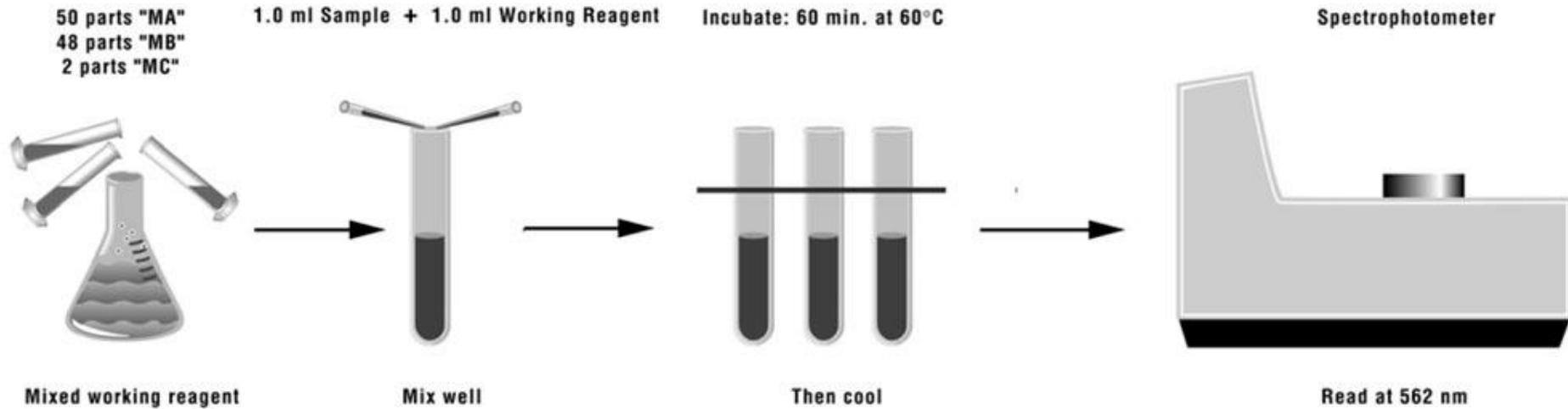


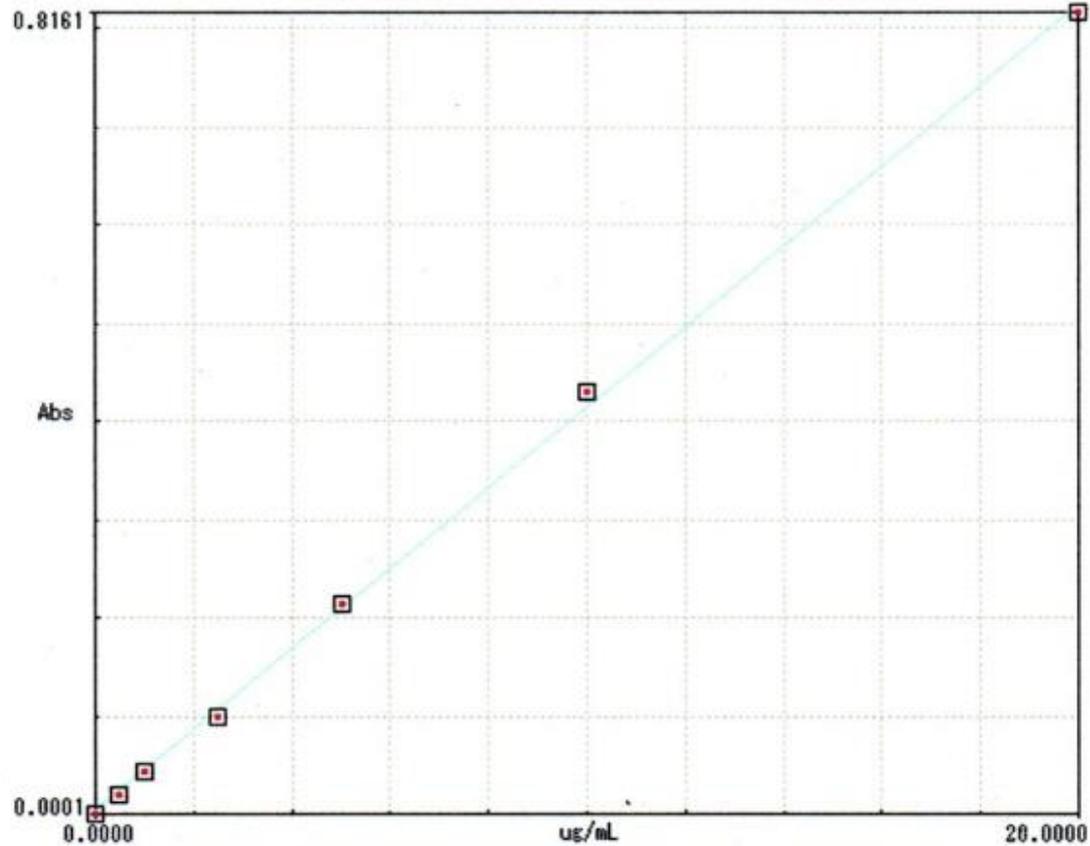
図1 BCA法の反応スキーム

タンパク質定量手順

Procedure Summary (Test Tube Procedure)



Micro BCA法 検量線



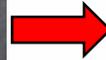
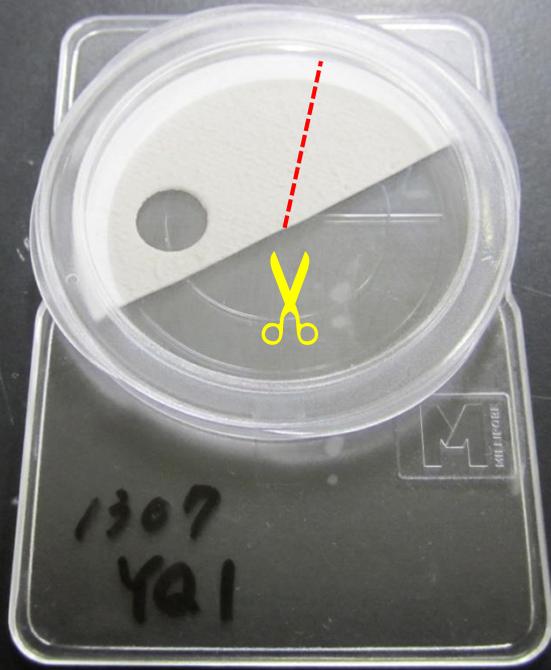
作成日 2018/04/12 13:31
検量線モード 一次式
 $Y = A * X + B$
A = 0.041076
B = 0.003064
相関係数 0.999616
標準誤差 0.220062

PM2.5サンプラー



タンパク質定量手順

石英ろ紙1/8を超純水2 mlで超音波抽出

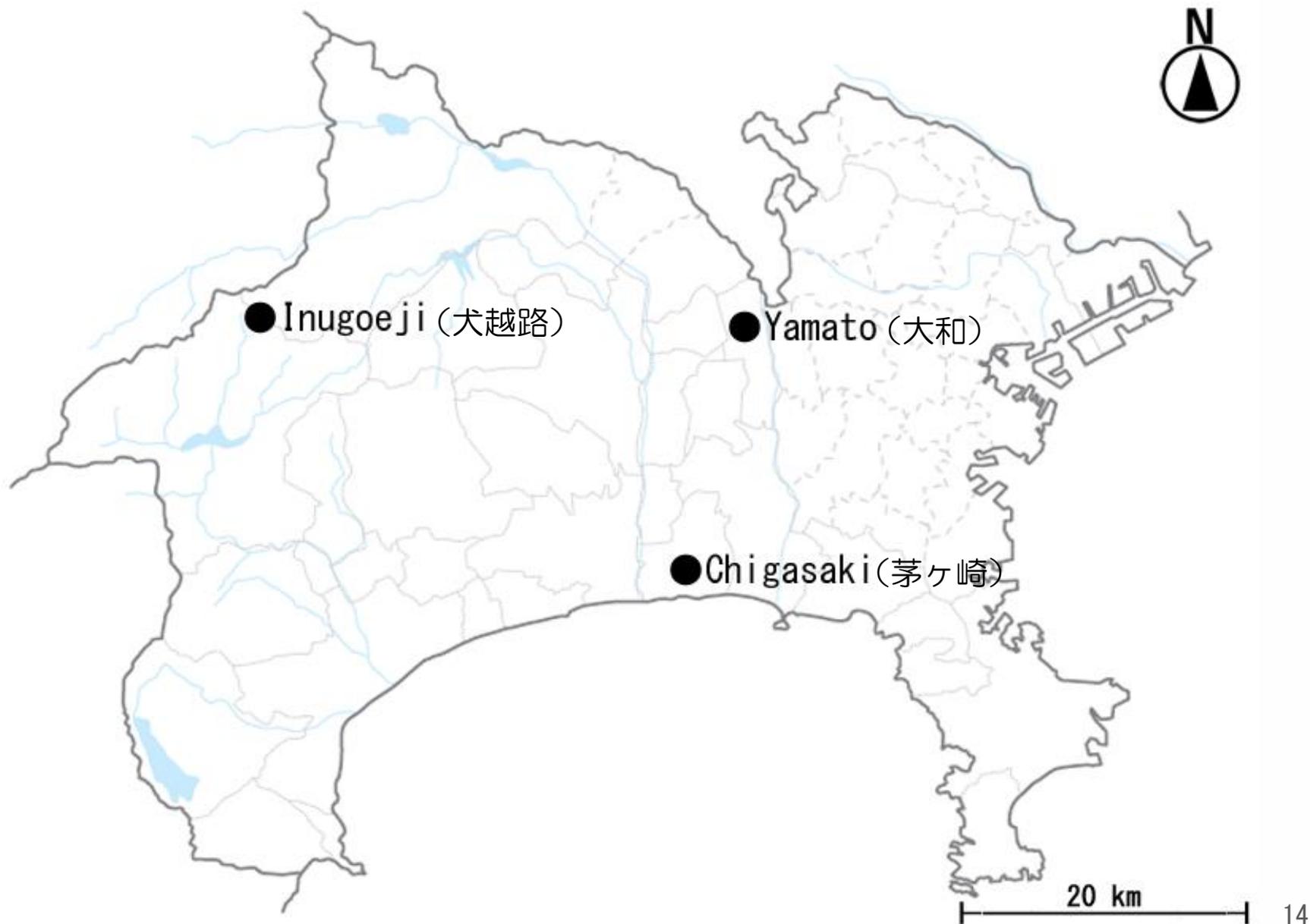


4°Cで15分以上

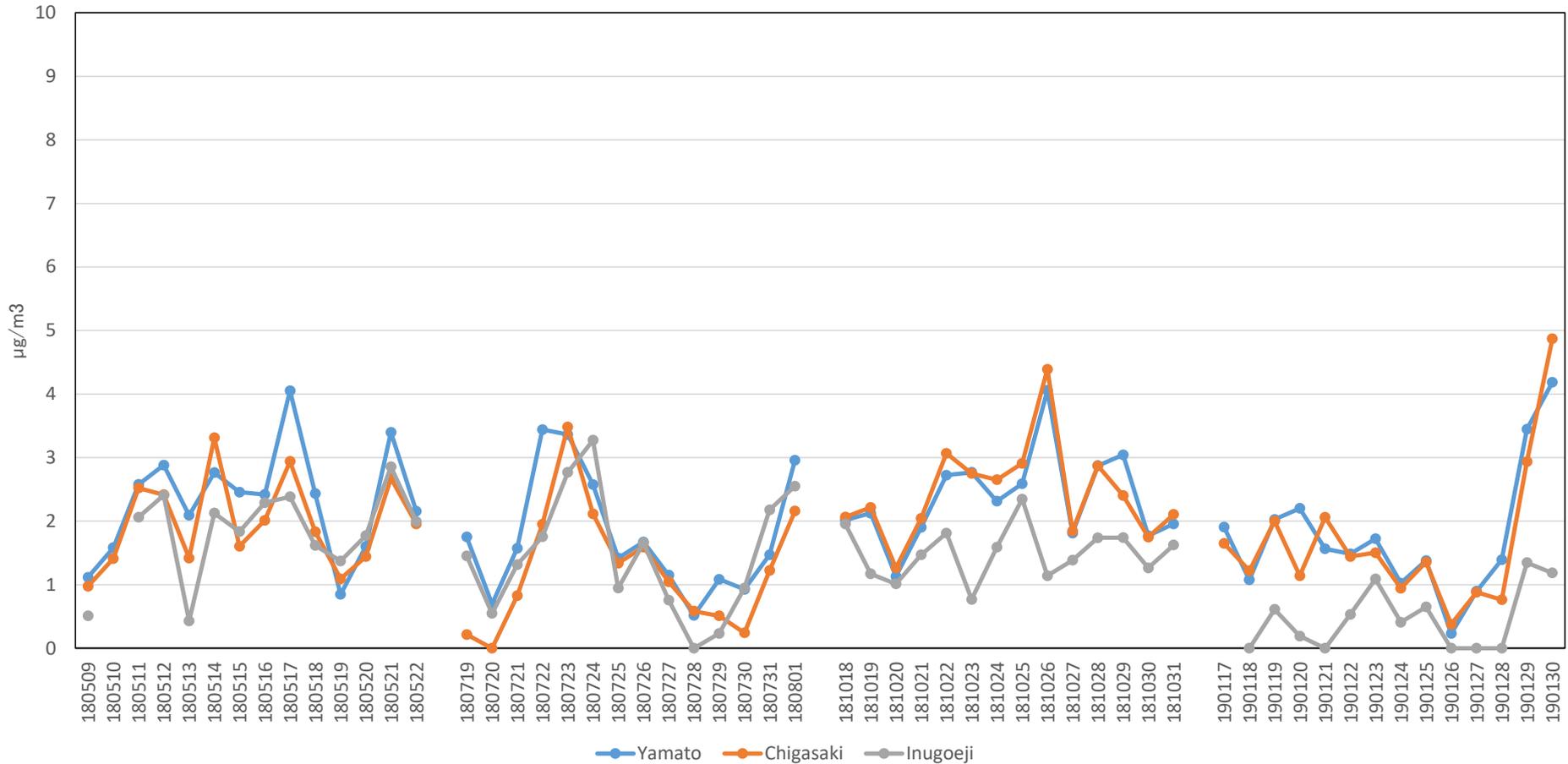


↓
遠心分離 (4,000 ×g、15分@4°C) 後、
上澄み液1 mlについてキットでタンパク質を定量

PM2.5サンプリング地点



2018年度常時監視PM2.5試料中のタンパク質の定量



PM2.5中のタンパク質濃度

2018年度常時監視PM2.5試料中のタンパク質の寄与割合



PM2.5中のタンパク質の寄与割合

タンパク質は炭素、水素、酸素、窒素等から構成されている



有機炭素成分（OC）分析や水溶性有機炭素成分（WSOC）分析で検出される可能性が考えられる。



モデルタンパク質（測定キットの検量線作成用タンパク質（ウシ血清アルブミン））を用いて確認する。

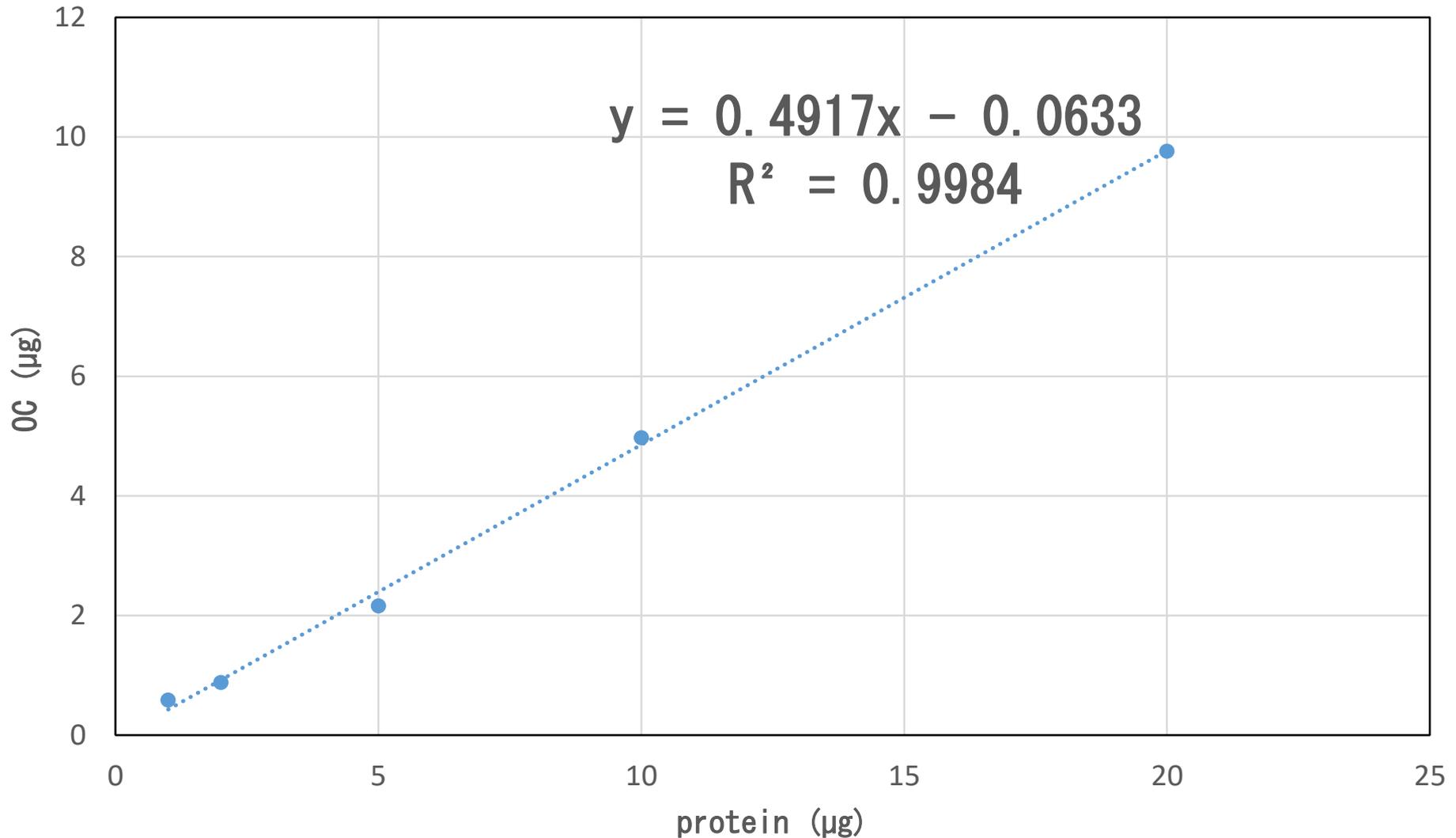
ウシ血清アルブミンのアミノ酸配列

MKWVTFISLL L FSSAYSRG VFRRDTHKSE IAHRFKDLGE EHFKGLVLI A
FSQYLQQCPF DEHVKLVNEL TEFAKTCVAD ESHAGCEKSL HTLFGDELCK
VASLRETYGD MADCCEKQEP ERNECFLSHK DDSPDLPKLK PDPNTLCDEF
KADEKKFWGK YLYEIARRHP YFYAPELLYY ANKYNGVFQE CCQAEDKGAC
LLPKIETMRE KVLASSARQR LRCASIQKFG ERAKAWVA RLSQKFPKAE
FVEVTKLVTD LTKVHKECCH GDLLECADDR ADLAKYICDN QDTISSKLKE
CCDKPLLEKS HCIAEVEKDA IPENLPPLTA DFAEDKDVCK NYQEAKDAFL
GSFLYEYSRR HPEYAVSVLL RLAKEYEATL EECCA KDDPH ACYSTVFDKL
KHLVDEPQNL IKQNC DQFEK LGEYGFQNAL IVRYTRKVPQ VSTPTLVEVS
RSLGKVGTRC CTKPESERMP CTEDYLSLIL NRLCVLHEKT PVSEKVTKCC
TESLVNRRPC FSALTPDETY VPKAFDEKLF TFHADICTLP DTEKQIKKQT
ALVELLKHKP KATEEQLKTV MENFVAFVVK CCAADDKEAC FAVEGPKLVV
STQTALA

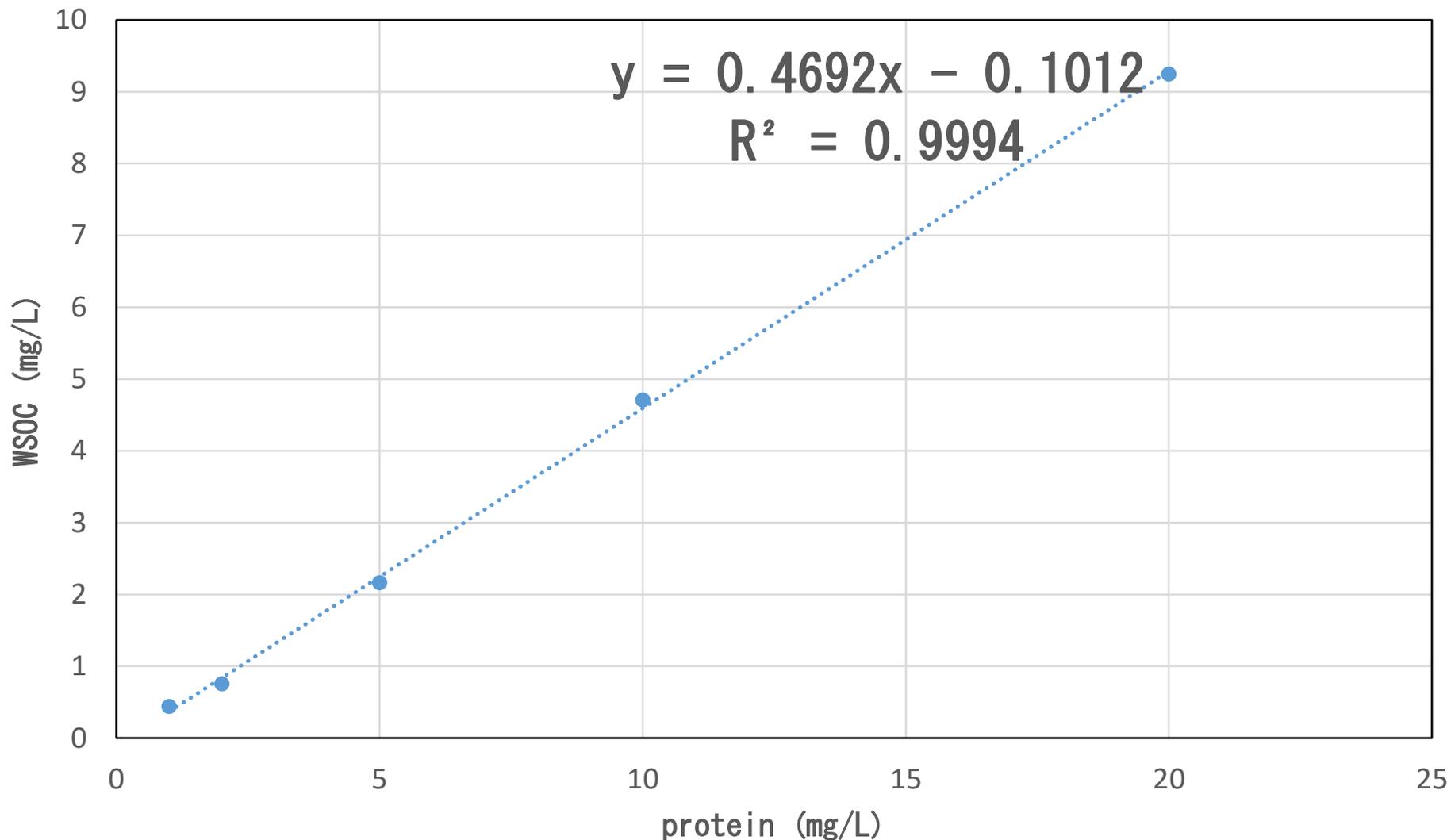
分子式（完成型）： $C_{2934}H_{4615}N_{781}O_{898}S_{39}$
(分子量：66,463)

C：それ以外の元素（重量比） $\div 53 : 47$

ウシ血清アルブミンのOC分析結果



ウシ血清アルブミンのWSOC（ろ過有り）分析結果

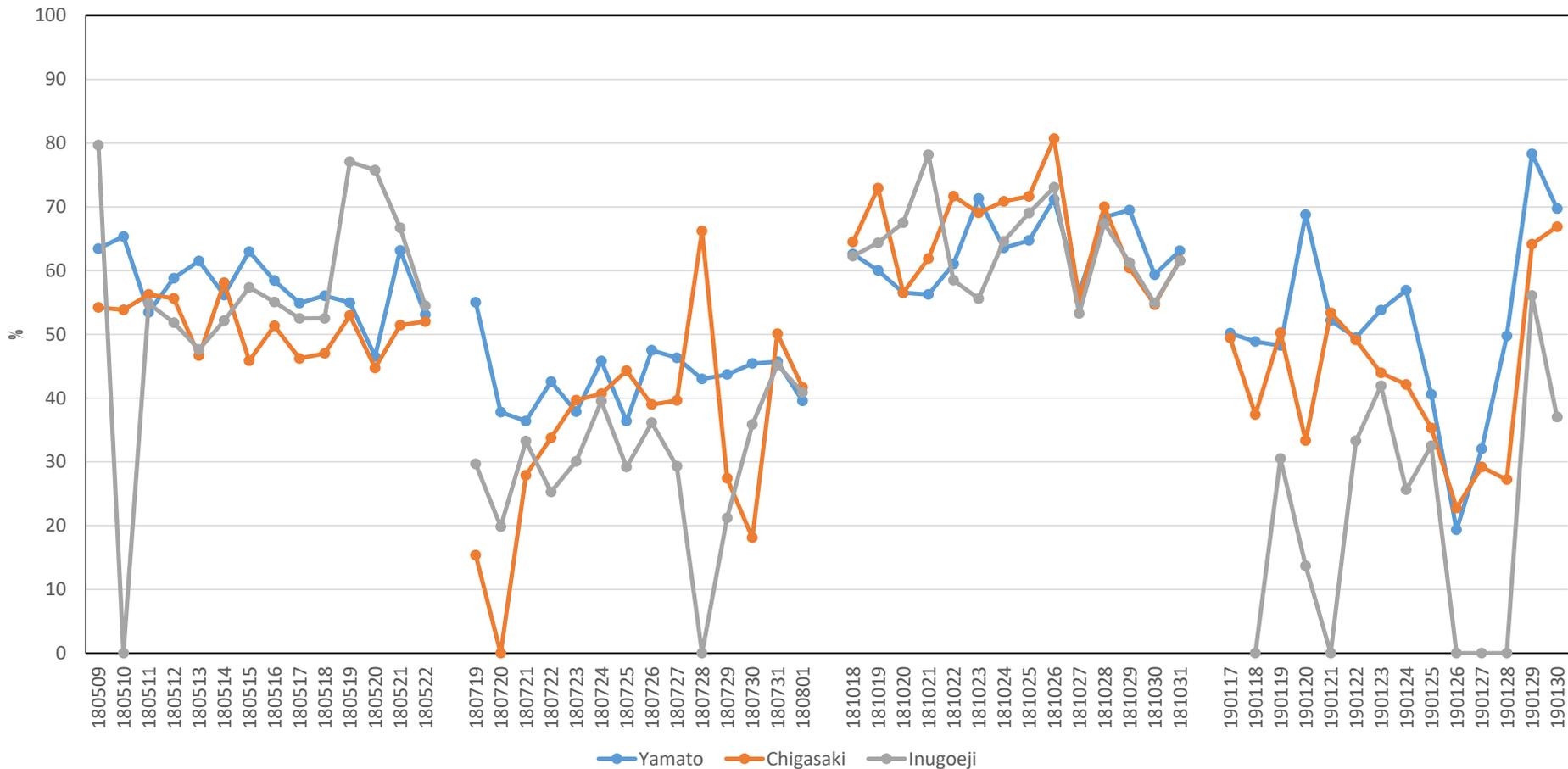


2018年度常時監視PM2.5OC中のタンパク質の寄与割合



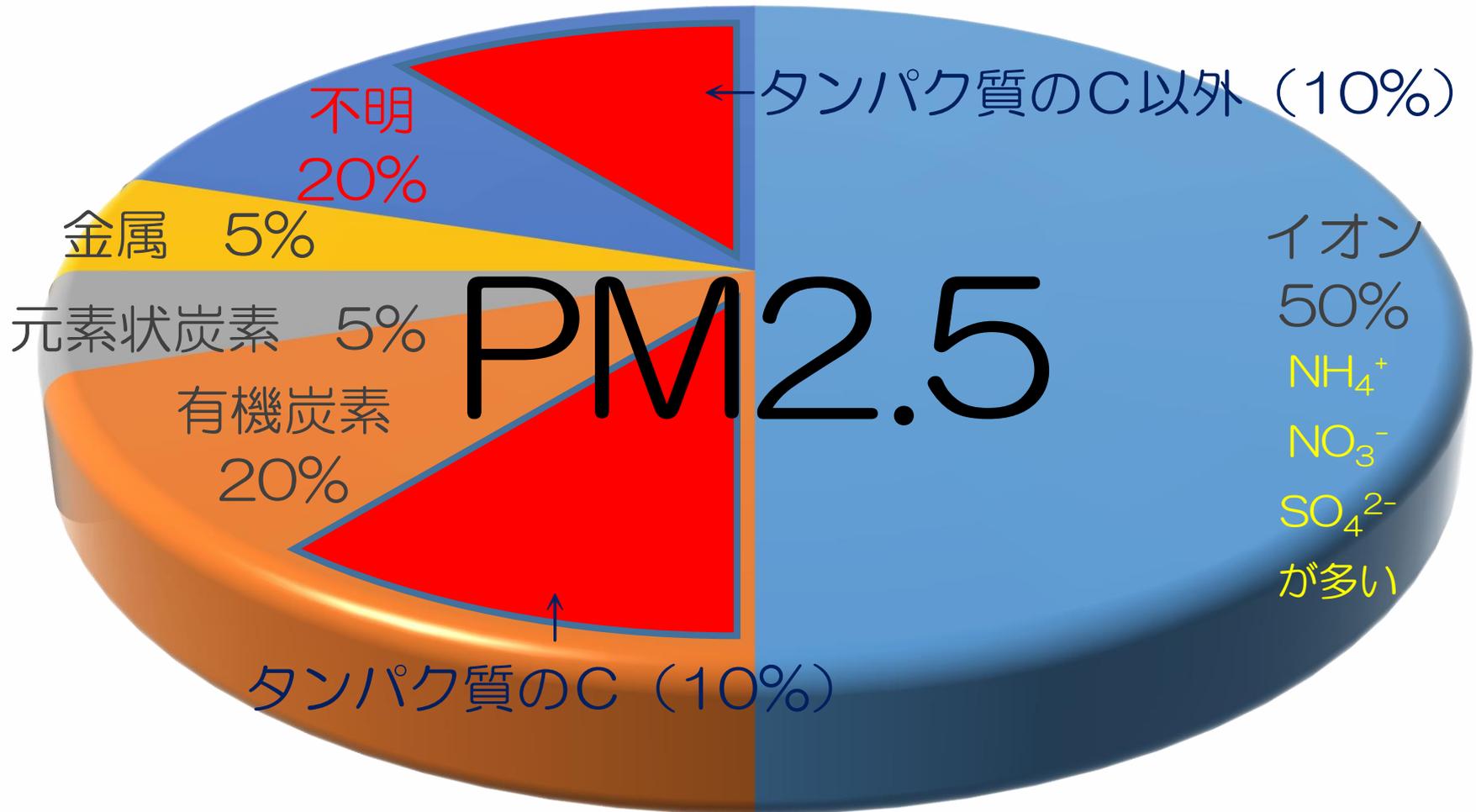
PM2.5OC中のタンパク質Cの寄与割合
(タンパク質の炭素重量比を50%と仮定)

2018年度常時監視PM2.5WSOC中のタンパク質の寄与割合



PM2.5WSOC中のタンパク質Cの寄与割合
(タンパク質の炭素重量比を50%と仮定)

実はこんな感じ？



タンパク質と他成分との間の相関

季節	サンプリングポイント	相関係数が ≥ 0.8 の項目																						
		相関係数																						
春	大和																		Sb	Ba	WSOC	OC	EC	
	茅ヶ崎																			Ba	WSOC	OC		
	犬越路																					WSOC	OC	EC
夏	大和	質量濃度 0.92										Cu							Sb		WSOC	OC	EC	
	茅ヶ崎	質量濃度 0.93		SO ₄ ²⁻	NH ₄ ⁺						Co		Zn		Se						Pb	WSOC	OC	EC
	犬越路	質量濃度 0.88																	Sb	Ba	WSOC	OC	EC	
秋	大和	質量濃度 0.89	NO ₃ ⁻		NH ₄ ⁺	K ⁺						Cu							Sb		WSOC	OC	EC	
	茅ヶ崎	質量濃度 0.92	NO ₃ ⁻		NH ₄ ⁺	K ⁺	Al	K	Ca	Mn	Fe	Co		Zn		Rb	Sb	Cs	Ba	La	Th	WSOC	OC	EC
	犬越路																					WSOC	OC	EC
冬	大和	質量濃度 0.92		SO ₄ ²⁻	NH ₄ ⁺	K ⁺		K						As	Rb	Sb	Cs				Pb	WSOC	OC	EC
	茅ヶ崎	質量濃度 0.89	NO ₃ ⁻			K ⁺		K						As	Rb						Pb	WSOC	OC	EC
	犬越路			SO ₄ ²⁻	NH ₄ ⁺	K ⁺																WSOC	OC	EC

すべての地点でタンパク質⇔OC、タンパク質⇔WSOCの相関高い！
有機炭素および水溶性有機炭素の結構な割合がタンパク質？

期待される成果、行政上の効果

- 本研究の実施により、PM2.5中の不明成分を明らかにし、人為起源の有無を判断できる。
→不明成分の一部が明らかとなった。人為起源かどうかは不明。
- 新たな成分項目（タンパク質）が加わることでシミュレーションの精度が上がる。
→今後の研究に期待。
- PM2.5に対するリスク（アレルギー等）評価再考の契機となる可能性がある。
→タンパク質の起源は本当に微生物か？

令和3年度～令和6年度

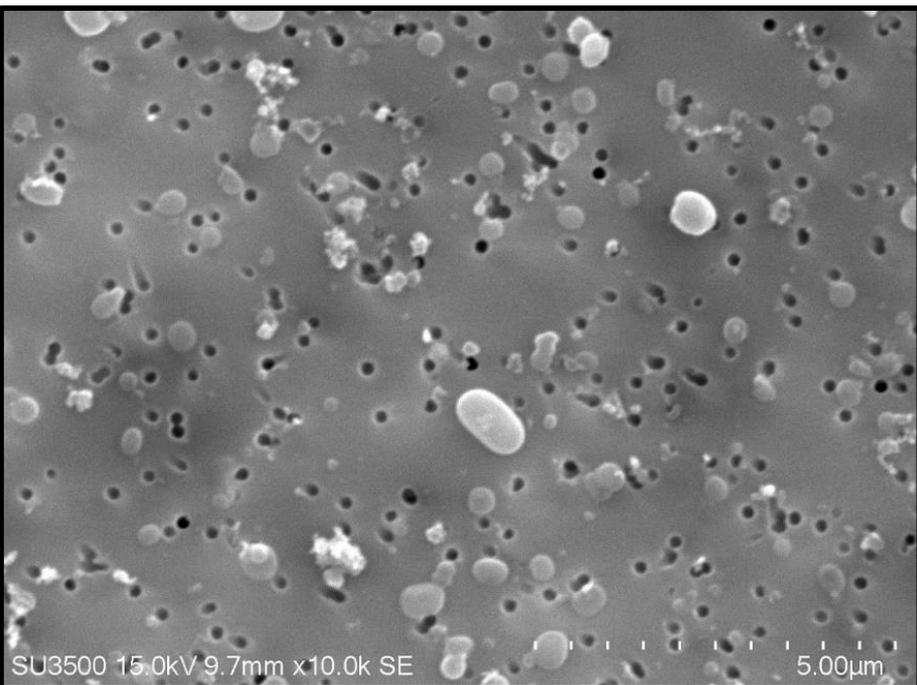
走査型電子顕微鏡を用いた PM2.5の実態把握



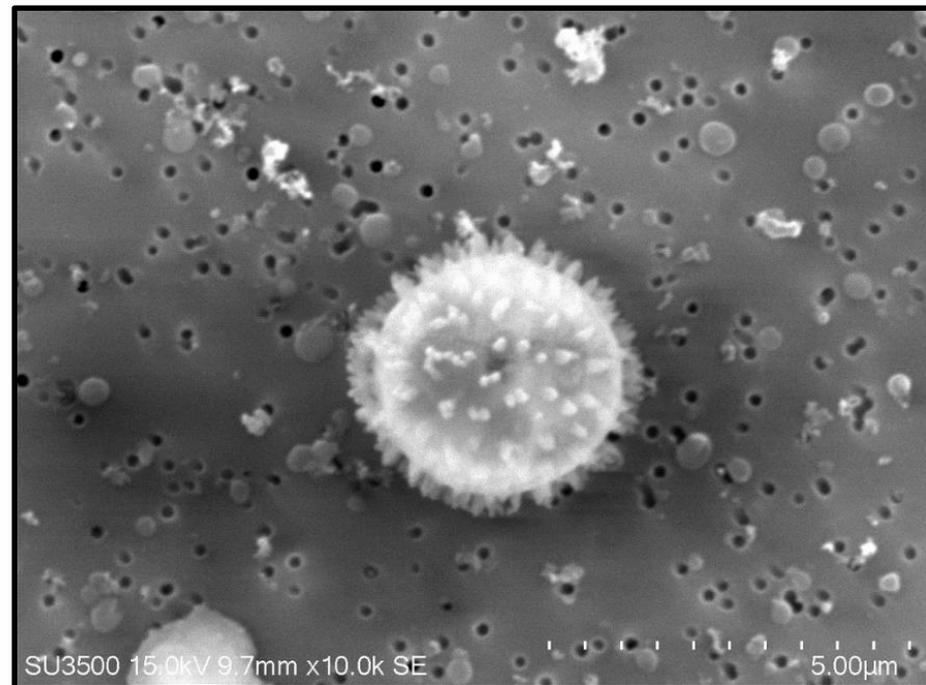
環境科学センター 調査研究部

○石割 隼人・菊池 麻希子・武田 麻由子

PM2.5中の微生物？のSEM画像



細菌！？



真菌！？

成果発表

★口頭発表

- 第60回大気環境学会年会（令和元年9月）
神奈川県におけるPM2.5中のタンパク質の定量
- 第61回大気環境学会年会（令和2年9月（誌上開催））
PM2.5中の微生物を走査型電子顕微鏡で観察してみた
- 第62回大気環境学会年会（令和3年9月）
神奈川県におけるPM2.5に含まれるタンパク質の季節変動
- 第64回大気環境学会年会（令和5年9月）
走査型電子顕微鏡を用いたPM2.5の実態把握
- 第65回大気環境学会年会（令和6年9月）
走査型電子顕微鏡を用いたPM2.5の季節変動観察

★論文発表

- 神奈川県におけるPM2.5に含まれるタンパク質の定量,
大気環境学会誌 (2024年 59巻 2号 p. 30-37).

https://www.jstage.jst.go.jp/article/taiki/59/2/59_590206/_pdf/-char/ja

みなさま

ご清聴ありがとうございました！
ぜひご意見等お願いいたします！

m(_ _)m