JAEA-Review 2020-047 DOI:10.11484/jaea-review-2020-047



微生物生態系による原子炉内物体の 腐食・変質に関する評価研究 (委託研究)

- 令和元年度 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業-Study of Corrosion and Degradation of the Objects in the Nuclear Reactor by Microorganisms (Contract Research) -FY2019 Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource Development Project-

> 福島研究開発部門 福島研究開発拠点 廃炉環境国際共同研究センター 慶應義塾大学

Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science Fukushima Research Institute, Sector of Fukushima Research and Development Keio University

KRVIRV

January 2021

Japan Atomic Energy Agency

日本原子力研究開発機構

本レポートは国立研究開発法人日本原子力研究開発機構が不定期に発行する成果報告書です。 本レポートの入手並びに著作権利用に関するお問い合わせは、下記あてにお問い合わせ下さい。 なお、本レポートの全文は日本原子力研究開発機構ホームページ(<u>https://www.jaea.go.jp</u>) より発信されています。

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構 研究連携成果展開部 研究成果管理課 〒319-1195 茨城県那珂郡東海村大字白方 2 番地4 電話 029-282-6387, Fax 029-282-5920, E-mail:ird-support@jaea.go.jp

This report is issued irregularly by Japan Atomic Energy Agency. Inquiries about availability and/or copyright of this report should be addressed to Institutional Repository Section,

Intellectual Resources Management and R&D Collaboration Department, Japan Atomic Energy Agency.

2-4 Shirakata, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken 319-1195 Japan Tel +81-29-282-6387, Fax +81-29-282-5920, E-mail:ird-support@jaea.go.jp

© Japan Atomic Energy Agency, 2021

微生物生態系による原子炉内物体の腐食・変質に関する評価研究 (委託研究)

-令和元年度 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業-

日本原子力研究開発機構 福島研究開発部門 福島研究開発拠点 廃炉環境国際共同研究センター

慶應義塾大学

(2020年10月28日受理)

日本原子力研究開発機構(JAEA)廃炉環境国際共同研究センター(CLADS)では、令和元年度 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業(以下、「本事業」という)を実施している。

本事業は、東京電力ホールディングス株式会社福島第一原子力発電所の廃炉等を始めとした原 子力分野の課題解決に貢献するため、国内外の英知を結集し、様々な分野の知見や経験を、従前 の機関や分野の壁を越えて緊密に融合・連携させた基礎的・基盤的研究及び人材育成を推進する ことを目的としている。平成 30 年度の新規採択課題から実施主体を文部科学省から JAEA に移行 することで、JAEA とアカデミアとの連携を強化し、廃炉に資する中長期的な研究開発・人材育成 をより安定的かつ継続的に実施する体制を構築した。

本研究は、研究課題のうち、「微生物生態系による原子炉内物体の腐食・変質に関する評価研究」の令和元年度の研究成果について取りまとめたものである。

本研究の目的は、福島第一原子力発電所の廃炉プロセスに有用となる微生物に関係した知見を 得ることにある。このため、同発電所やその敷地内外に生息する微生物群集の実態を明らかにす る。令和元年度は、敷地境界南(処理水タンク群の南)の表層土、発電所近くの海底土とその直上 水、3 km 沖合の表層水等からサンプルを採取し、各環境 DNA の取得に成功した。環境 DNA の塩基 配列を決定することで、主にバクテリアと微細藻類における生物群集を明らかにした。また、ロ シアのカザン大学との共同研究を開始した。

本報告書は、日本原子力研究開発機構の英知事業における委託業務として、慶應義塾大学が実施した成果を取りまとめたものである。

廃炉環境国際共同研究センター:〒979-1151 福島県双葉郡富岡町大字本岡字王塚 790-1

JAEA-Review 2020-047

Study of Corrosion and Degradation of the Objects in the Nuclear Reactor by Microorganisms (Contract Research)

- FY2019 Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource Development Project -

Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science Fukushima Research Institute, Sector of Fukushima Research and Development Japan Atomic Energy Agency Tomioka-machi, Futaba-gun, Fukushima-ken

Keio University

(Received October 28, 2020)

The Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science (CLADS), Japan Atomic Energy Agency (JAEA), had been conducting the Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource Development Project (hereafter referred to "the Project") in FY2019.

The Project aims to contribute to solving problems in the nuclear energy field represented by the decommissioning of the Fukushima Daiichi Nuclear Power Station, Tokyo Electric Power Company Holdings, Inc. (TEPCO). For this purpose, intelligence was collected from all over the world, and basic research and human resource development were promoted by closely integrating/collaborating knowledge and experiences in various fields beyond the barrier of conventional organizations and research fields. The sponsor of the Project was moved from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology to JAEA since the newly adopted proposals in FY2018. On this occasion, JAEA constructed a new research system where JAEA-academia collaboration is reinforced and medium-to-long term research/development and human resource development contributing to the decommissioning are stably and consecutively implemented.

Among the adopted proposals in FY2019, this report summarizes the research results of the "Study of corrosion and degradation of the objects in the nuclear reactor by microorganisms" conducted in FY2019.

The purpose of the study is to obtain knowledge related to microorganisms that will be useful in the decommissioning process of the Fukushima Daiichi Nuclear Power Station. For this reason, the current conditions of the microbial community inhabiting the power plant and its premises will be clarified. In the first research year, we obtained environmental samples such as soils from the south of the boundary of the plant, seabed soils near the plant, and surface water 3 km offshore from the plant, and successfully prepared their microbial genomic DNAs. Nucleotide sequence analysis revealed bacterial and microalgae communities in the environments. In addition, we started joint research with the Kazan Federal University in Russia.

Keywords: Environmental Microbiome, Metagenome Analysis, Bacteria, Microalga, Next Generation Sequencer (NGS), Soil, Seawater, Joint Research with Russia

This work was performed by Keio University under contract with Japan Atomic Energy Agency.

目次

1.	英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業の概要	. 1
2.	平成 30 年度 採択課題(継続分)	. 2
3.	令和元年度 採択課題	. 5
付鈕	録 成果報告書	. 9

Contents

1.	Outline of Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource Development Project 1
2.	Accepted Proposal in FY2018 ~Continued~2
3.	Accepted Proposal in FY20195
Ap	pendix Result Report9

This is a blank page.

1. 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業の概要

文部科学省では、「東京電力(株)福島第一原子力発電所の廃止措置等研究開発の加速プラン(平 成26年6月文部科学省)」等を踏まえ、平成27年度から「英知を結集した原子力科学技術・人材 育成推進事業」(以下、「本事業」という。)を立ち上げ、「戦略的原子力共同研究プログラム」、「廃 炉加速化研究プログラム」及び「廃止措置研究・人材育成等強化プログラム」を推進している。

具体的には、国内外の英知を結集し、国内の原子力分野のみならず様々な分野の知見や経験を、 機関や分野の壁を越え、国際共同研究も含めて緊密に融合・連携させることにより、原子力の課 題解決に資する基礎的・基盤的研究や産学が連携した人材育成の取組を推進している。

一方、日本原子力研究開発機構(以下、「JAEA」という。)では、平成27年に廃炉国際共同研 究センター(以下、「CLADS」という。現:廃炉環境国際共同研究センター)を組織し、「東京電 カホールディングス(株)福島第一原子力発電所の廃止措置等に向けた中長期ロードマップ」等 を踏まえ、東京電力ホールディングス(株)福島第一原子力発電所廃炉(以下、「1F廃炉」とい う。)に係る研究開発を進めている。

また、平成 29 年 4 月に CLADS の中核拠点である「国際共同研究棟」の運用を開始したことを 踏まえ、今後は CLADS を中核に、廃炉の現場ニーズを踏まえた国内外の大学、研究機関等との基 礎的・基盤的な研究開発及び人材育成の取組を推進することにより、廃炉研究拠点の形成を目指 すことが期待されている。

このため、本事業では平成30年度の新規採択課題から実施主体を文部科学省からJAEA に移行 することで、JAEA とアカデミアとの連携を強化し、廃炉に資する中長期的な研究開発・人材育成 をより安定的かつ継続的に実施する体制を構築することとし、従来のプログラムを、①共通基盤 型原子力研究プログラム、②課題解決型廃炉研究プログラム、③国際協力型廃炉研究プログラム、 ④研究人材育成型廃炉研究プログラム(令和元年度より新設)に再編した。

- 1 -

2. 平成 30 年度 採択課題(継続分)

平成30年度採択課題(継続分)については以下のとおりである。

課題数:19課題

共通基盤型原子力研究プログラム 11 課題

(若手研究6課題、一般研究5課題)

課題解決型廃炉研究プログラム 6課題

国際協力型廃炉研究プログラム 2課題

(日英共同研究)

平成 30 年度 採択課題一覧

共通基盤型原子力研究プログラム

【若手研究】

課題名	研究代表者	所属機関
被災地探査や原子力発電所建屋内情報収集のための 半自律ロボットを用いたセマンティックサーベイマ ップ生成システムの開発	河野 仁	東京工芸大学
汚染土壌の減容を目的とした重液分離による放射性 微粒子回収法の高度化	山﨑 信哉	筑波大学
ラドンを代表としたアルファ核種の吸入による内部 被ばくの横断的生体影響	片岡 隆浩	岡山大学
炉心溶融物の粘性及び表面張力同時測定技術の開発	大石 佑治	大阪大学
iPS 細胞由来組織細胞における放射線依存的突然変 異計測系の確立	島田 幹男	東京工業大学
レーザー共鳴イオン化を用いた同位体存在度の低い ストロンチウム 90 の迅速分析技術開発	岩田 圭弘	東京大学

共通基盤型原子力研究プログラム

【一般研究】

, <u>12</u> , 19, 19, 19, 19, 19, 19, 19, 19, 19, 19		
課題名	研究代表者	所属機関
放射性核種の長期安定化を指向した使用済みゼオラ イト焼結固化技術の開発	新井 剛	芝浦工業大学
燃料デブリ取り出しを容易にするゲル状充填材の開 発	牟田 浩明	大阪大学
レーザー蛍光法を用いた燃料デブリ変質相の同定	斉藤 拓巳	東京大学
過酷炉心放射線環境における線量測定装置の開発	岡本 保	木更津工業 高等専門学校
レーザー加工により発生する微粒子の解析と核種同 定手法の開発	長谷川 秀一	東京大学

課題解決型廃炉研究プログラム

課題名	研究代表者	所属機関
合金相を含む燃料デブリの安定性評価のための基盤 研究	桐島 陽	東北大学
ガンマ線画像スペクトル分光法による高放射線場環 境の画像化による定量的放射能分布解析法	谷森 達	京都大学
燃料デブリ取出し時における放射性核種飛散防止技 術の開発	鈴木 俊一	東京大学
アルファダストの検出を目指した超高位置分解能イ メージング装置の開発	黒澤 俊介	東北大学
ナノ粒子を用いた透明遮へい材の開発研究	渡邉 隆行	九州大学
先端計測技術の融合で実現する高耐放射線燃料デブ リセンサーの研究開発	萩原 雅之	高エネルギー 加速器研究機構

国際協力型廃炉研究プログラム(日英共同研究)

課題名	研究代表者	所属機関
放射性微粒子の基礎物性解明による廃炉作業リスク 低減への貢献	五十嵐 康人	茨城大学
放射線耐性の高い薄型 SiC 中性子検出器の開発	三澤 毅	京都大学

JAEA-Review 2020-047

3. 令和元年度 採択課題

令和元年度は、4 つのプログラムにおいて、研究課題の採択を決定した。 公募の概要は以下のとおりである。

・ 公募期間:平成31年4月24日~令和元年6月7日
 令和元年5月30日~令和元年7月18日 ※日露共同研究のみ

· 課題数:19課題

 共通基盤型原子力研究プログラム 7 課題 (若手研究 2 課題、一般研究 5 課題)
 課題解決型廃炉研究プログラム 4 課題 国際協力型廃炉研究プログラム 4 課題 (日英共同研究 2 課題、日露共同研究 2 課題)
 研究人材育成型廃炉研究プログラム 4 課題

これらの提案について、外部有識者から構成される審査委員会において、書面審査及び面接審 査、日英共同研究については二国間の合同審査を実施し、採択候補課題を選定した。その後、PD (プログラムディレクター)・PO(プログラムオフィサー)会議での審議を経て、採択課題を決定 した。

令和元年度 採択課題一覧

共通基盤型原子力研究プログラム

【若手研究】

課題名	研究代表者	所属機関
ウラニル錯体化学に基づくテーラーメイド型新規海 水ウラン吸着材開発	鷹尾 康一朗	東京工業大学
動作不能からの復帰を可能とする多連結移動ロボッ トの半自律遠隔操作技術の確立	田中 基康	電気通信大学

共通基盤型原子力研究プログラム

【一般研究】

課題名	研究代表者	所属機関
一次元光ファイバ放射線センサを用いた原子炉建屋 内放射線源分布計測	瓜谷 章	名古屋大学
低線量・低線量率放射線被ばくによる臓器別酸化ス トレス状態の検討	鈴木 正敏	東北大学
単一微粒子質量分析法に基づくアルファ微粒子オン ラインモニタリングに向けた基礎検討	豊嶋 厚史	大阪大学
幹細胞動態により放射線発がんを特徴付ける新たな 評価系の構築	飯塚 大輔	量子科学技術 研究開発機構
耐放射線性ダイヤモンド半導体撮像素子の開発	梅沢 仁	産業技術総合 研究所

課題解決型廃炉研究プログラム

課題名	研究代表者	所属機関
Multi-Physics モデリングによる福島 2・3 号機ペデス タル燃料デブリ深さ方向の性状同定	山路 哲史	早稲田大学
燃料デブリ取出しに伴い発生する廃棄物のフッ化技 術を用いた分別方法の研究開発	渡邉 大輔	日立 GE ニュークリア・ エナジー
アパタイトセラミックスによる ALPS 沈殿系廃棄物 の安定固化技術の開発	竹下 健二	東京工業大学
拡張型スーパードラゴン多関節ロボットアームによ る圧力容器内燃料デブリ調査への挑戦	高橋 秀治	東京工業大学

国際協力型廃炉研究プログラム(日英共同研究)

課題名	研究代表者	所属機関
高い流動性および陰イオン核種保持性を有するアル カリ刺激材料の探索と様々な放射性廃棄物の安全で 効果的な固化	佐藤 努	北海道大学
再臨界前の中性子線増に即応可能な耐放射線 FPGA システムの開発	渡邊 実	静岡大学

国際協力型廃炉研究プログラム(日露共同研究)

課題名	研究代表者	所属機関
燃料デブリ取出し臨界安全技術の高度化	小原 徹	東京工業大学
微生物生態系による原子炉内物体の腐食・変質に関 する評価研究	金井 昭夫	慶應義塾大学

研究人材育成型廃炉研究プログラム

課題名	研究代表者	所属機関
燃料デブリ取り出し時における炉内状況把握のため の遠隔技術に関する研究人材育成	淺間 一	東京大学
化学計測技術とインフォマティックスを融合したデ ブリ性状把握手法の開発とタイアップ型人材育成	高貝 慶隆	福島大学
放射線・化学・生物的作用の複合効果による燃料デブ リ劣化機構の解明	大貫 敏彦	東京工業大学
燃料デブリ分析のための超微量分析技術の開発	永井 康介	東北大学

本報告書は、採択課題のうち、国際協力型廃炉研究プログラム(日露共同研究)「微生物 生態系による原子炉内物体の腐食・変質に関する評価研究」の令和元年度の研究成果につい て記したものである。

研究成果を取りまとめた成果報告書を付録として添付する。

付録

成果報告書

This is a blank page.

令和元年度

日本原子力研究開発機構

英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業

微生物生態系による

原子炉内物体の腐食・変質に関する評価研究 (契約番号 311137)

成果報告書

令和2年3月

学校法人慶應義塾大学

JAEA-Review 2020-047

本報告書は、国立研究開発法人日本原子力研究開発機構の 「英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業」に よる委託業務として、学校法人慶應義塾大学が実施した 「微生物生態系による原子炉内物体の腐食・変質に関する 評価研究」の令和元年度の研究成果を取りまとめたもので す。

目次

概略····································
1. はじめに・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
2. 業務計画 2 2.1 全体計画 2
 3. 令和元年度の実施内容及び成果
 (連携先:JAEA) 3.1.3 福島第一原発敷地内外に生息する微生物群集のメタゲノム解析 ······23 3.2 データベース構築 ·····35 3.2.1 データベース構築 (再委託先:理化学研究所) ·····35
 3. 2. 2 Kazan Federal University との情報交換 (慶應義塾大学、再委託先:理化学研究所) 3. 3 研究推進 3. 3. 1 核燃料物質使用施設でのゲノム分析手法について 3. 3. 2 汚染水試料の入手について 41 3. 3. 3 国際会議 0PIC-LSSE2020 について
4. 結言 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
/ 1 市 川 行 市 八 千 市 八 一 一 一 一 一 一 一 一 一 一 一 一 一 一 一 一 一 一

表一覧

表 3.1.1-1	慶應義塾大学先端生命科学研究所(山形県鶴岡市)環境サンプル3
表 3.1.1-2	検討した環境サンプルからの DNA 調製キット4
表 3.1.1-3	本研究に使用したプライマーのリスト6
表 3.1.2-1	福島メタゲノム解析 サンプルリスト まとめ
表 3.1.3-1	ONT 社ミナイオン解析記録
表 3.3.1-1	核燃料物質使用施設において汚染水を分析する上での制約40

図一覧

図 1.1	本プロジェクトの研究体制
図 2.1-1	全体計画図
⊠ 3.1.1-1	慶應義塾大学先端生命科学研究所(山形県鶴岡市)での環境サンプルの取得
⊠ 3.1.1-2	慶應義塾大学(鶴岡市)環境サンプルからの DNA 調製とキットの検討4
⊠ 3.1.1-3	生物の三大ドメインの系統樹
図 3.1.1-4	慶應義塾大学(鶴岡市)環境サンプル DNA を用いた PCR 実験例7
⊠ 3.1.1-5	簡易 PCR システムのセットアップ8
図 3.1.2-1	福島県及び隣接地の地質概略図13
図 3.1.2-2	福島県石川町産の燐灰ウラン鉱石
図 3.1.2-3	福島第一原発建屋周辺の地層構造15
図 3.1.2-4	小型冷凍庫と-40 ℃で凍結した土壌と河川水のサンプル16
図 3.1.2-5	福島第一原発近隣のサンプリングポイント候補17
図 3.1.2-6	関連地域候補地
図 3.1.2-7	土壌サンプリングポイント
図 3.1.2-8	表層水サンプリングポイント
図 3.1.2-9	海底土とその直上水のサンプリング
図 3.1.2-10	日立港でのサンプリングポイント
図 3.1.2-11	人形峠環境技術センターでのサンプル水採取
図 3.1.2-12	和久観音鉱山の様子
図 3.1.3-1	福島第一原発 南森林土壌サンプルからの微生物ゲノム DNA の調製23
図 3.1.3-2	福島第一原発 近隣海洋の表層水からの微生物ゲノム DNA の調製24
図 3.1.3-3	塩基配列決定に使用した福島環境微生物由来の PCR 産物
図 3.1.3-4	生物の階層的な分類
⊠ 3.1.3-5	福島土壌由来 B1 サンプルを構成する生物ドメイン、門、綱26
図 3.1.3-6	福島土壌、海水サンプルに由来するバクテリアの門レベルでの比較28
図 3.1.3-7	福島土壌、海水サンプルに由来するバクテリアの綱レベルでの比較28
図 3.1.3-8	福島土壌には CPR バクテリアが生息する

図 3.1.3-9	福島海洋の表層水由来 B7 サンプルを構成する生物ドメイン、門、綱 30
図 3.1.3-10	福島土壌、海水サンプルに由来する微細藻類の門レベルでの比較32
図 3.1.3-11	福島土壌、海水サンプルに由来する微細藻類の綱レベルでの比較32
図 3.1.3-12	ONT 社ミナイオン (MinION) シークエンサーシステム
図 3.2.1-1	メタゲノムデータベース「MicrobeDB.jp」のフロントページ35
図 3.3.1-1	福島第一原子力発電所汚染水中のゲノム分析手順
図 3.3.3-1	OPIC-LSSE2020 のポスター

略語一覧

CPF	:	Chemical Processing Facility	(高レベル放射性物質研究施設)
CPR	:	Candidate Phyla Radiation	(放射状の候補門)
DB	:	Database	(データベース)
DNA	:	Deoxyribonucleic Acid	(デオキシリボ核酸)
EtBr	:	Ethidium Bromide	(臭化エチジウム)
FY2019	:	Financial Year 2019	(2019 会計年度)
NGS	:	Next Generation Sequencer	(次世代シークエンサー)
ONT	:	Oxford Nanopore Technologies	(オックスフォード ナノポア テクノロジー社)
PCR	:	Polymerase Chain Reaction	(ポリメラーゼ[DNA 合成酵素]連鎖反応)
RNA	:	Ribonucleic Acid	(リボ核酸)
rRNA	:	Ribosomal RNA	(リボソーム RNA)

概略

研究の背景

福島第一原子力発電所(以下、福島第一原発と記す)を取り巻く環境状況の分析は、これまで 主に物理化学的分析を中心としてきており、生物学的なアプローチは未だなされていないのが現 状である。一方で、事故を起こしたスリーマイル島原子炉二号機の燃料棒除去作業において、炉 内に藻類、菌類、酵母、細菌などの微生物が繁殖し、作業の妨げになったとの報告がなされてい る(Hofstetter and Ausmus 1989)。実際、線量率が毎時 180 Gy というような、人間が即死する高 放射能環境下でも、一部の微生物は繁殖可能であり(Shuryak *et al.* 2017)、高放射能に繰り返し 曝された微生物が放射能耐性を獲得することもある(Davies *et al.* 1973)。福島第一発原発におい ても地下水の流入により浸入した微生物等が建屋内で生息し、その繁殖が燃料デブリや構造材の 腐食・変性を促進している可能性を否定できない。例えば、東京電力は多核種除去設備入り口に おいて、硫化水素の発生を確認し、硫酸塩還元菌との関係を議論している(東京電力 2019)。 また、劉らは、模擬デブリの鉄イオン溶出実験を行い、微生物が鉄イオンの溶出を促進している ことを明らかにしている(Ryu *et al.* 2019)。

参考文献

- Hofstetter, K. J. and Ausmus, B. S. The identification and control of microorganisms at Three Mile Island Unit 2. Nuclear Technology, 87, 837-844 (1989).
- Shuryak, I. *et al.*, Microbial cells can cooperate to resist high-level ionizing radiation. PLoS One, 0189261 (2017).
- Davies, R. and Sinskey, A. J., Radiation-resistant mutants of Salmonella typhimurium LT2: development and characterization, Journal of Bacteriology, 113, 133-144 (1973).
- ・ 東京電力ホールディングス,「硫化水素検出に伴う溶接型タンクの内面点検結果及び今後の タンク計画について」,令和元年4月25日.
- Ryu, J. *et al.* 2019.A laboratory investigation of microbial degradation of simulant fuel debris by oxidizing microorganisms, FDR2019-1069, Presentation at "International Topical Workshop on Fukushima Decommissioning Research", May 24-26, 2019, J-Village, Naraha, Fukushima, Japan.

2 解決すべき課題

廃炉プロセスを効果的に進めるために、福島第一原発の内外に実際にどのような微生物が生息 しているのかを、最新のゲノム科学の手法を用いて、明らかにする。

③ 本研究の目的

福島第一原発の炉内の環境に加え、周辺の土壌や海水などに生息する微生物を、メタゲノムの 手法(微生物の培養を介することなく、環境サンプルから直接に、微生物叢に由来する環境 DNA を調製し、その塩基配列を決定・解析することで、生物種の同定を行い、特徴を明らかに すること)を用いて、性状解析することを主たる目的とする。令和元年度は、福島第一原発周辺 の土壌や海水の環境サンプルを解析する。また、ロシアの Kazan Federal University との共同研究 を通して、得られた遺伝子の特徴を解析すると共に、チェルノブイリ原発事故やその廃炉に関す る資料を集めることも副次的な目的とする。

④ 本研究の実施内容

本研究は、福島第一原発敷地内外に生息する微生物群集のメタゲノム解析を基軸として研究を 進める。得られた情報をロシアの Kazan Federal University と共に解析し、データベースとしてま とめる。また Kazan Federal University とは、ロシアの廃炉研究における現状を調査し、まとめる。

福島第一原発敷地内外に生息する微生物群集のメタゲノム解析

1) 簡便かつ最新の方法を用いた微生物群集のメタゲノム解析法の確立

福島第一原発敷地内で、原子炉内の微生物群集サンプルから DNA や RNA のサンプルが調 製でき、簡便かつ最新のメタゲノム解析を遂行できる手法を確立するため、遺伝子解析施設 のある慶應義塾大学の先端生命科学研究所(山形県鶴岡市)で、山形県の土壌や河川のサン プルを用いて、微生物に由来する核酸の効率的な調製法や正確な PCR 法(DNA 合成酵素連鎖 反応による DNA 増幅法)の条件を決め、プロトコールを構築する。

2) 福島第一原発敷地内外の地下水や敷地内の土壌のサンプリング(連携先: JAEA)

福島第一原発敷地内外のサンプリングポイントを検討すると共に、敷地内に関してはサン プルの入手方法を検討する。また、これらの解析を進めるため、地元自治体や東京電力との 調整を図る。決定したサンプリングポイントにおいて、微生物含有サンプルの採取を行い、 放射能を測定する。

3) 福島第一原発敷地内外に生息する微生物群集のメタゲノム解析

上記 2) で取得した環境サンプルからゲノム DNA の調製を行う。調製した DNA に関して、 以下の 2 つの方法にて微生物叢のメタゲノム解析を遂行する。(a) PCR 法によりリボソーム DNA 遺伝子を増幅し、その塩基配列の決定をする。決定した配列により、種の情報を取得す る。(b) Nanopore シーケンサーにより、比較的長い DNA 断片の配列解析と、その断片の塩基 配列情報を用いた生物種の情報学的な同定を行う。

データベース構築

1) データベースの構築(再委託先:理化学研究所)

本研究で得られるメタゲノム情報(遺伝子の配列)及び生息環境に関する各種物理・化学 情報は、国立遺伝学研究所が開発・運用している微生物に関するデータベース「MicrobeDB.jp」 に収録する。また、得られたデータの可視化及びサンプル間の比較、さらに、公開されてい る他の膨大な情報との比較などを可能とするためのアプリケーションを開発する。

- 2) Kazan Federal University との情報交換(慶應義塾大学、再委託先:理化学研究所)
- ロシア Kazan Federal University の微生物研究者と情報交換をしながら、お互いのデータに関して議論する。また、データベースで公開できるデータに関して取りまとめる。

⑤ 本研究の成果

福島第一原発敷地内外に生息する微生物群集のメタゲノム解析(成果)

1) 簡便かつ最新の方法を用いた微生物群集のメタゲノム解析法の確立

慶應義塾大学の先端生命科学研究所の土壌や河川のサンプルを用いて、市販の DNA 抽出キットの有効性を検討し、土壌と河川のサンプルそれぞれから環境の微生物に由来する DNA の調 製が可能となった。また、同 DNA からバクテリアの 16S rRNA 遺伝子等を PCR 法にて増幅す るためのプロトコールを完成させた。

2) 福島第一原発敷地内外の地下水や敷地内の土壌のサンプリング(連携先: JAEA)

福島第一原発敷地内外において、敷地境界南(処理水タンク群の南)の表層土、3 km 沖合の表層水、福島第一原発近くの海底土とその直上水からサンプルを採取した。また関連する 環境サンプルとして岡山県人形峠のウラン鉱床の湧き水や、福島県石川町和久観音のウラン 鉱山近傍の土壌、茨城県日立港やその沖合の海水等の採取をした。また、東京電力との打合 せを経て、保管してある福島第一原発原子炉建屋内の滞留水などの分析に着手することで了 解を得た。合わせて、管理区域内の分析準備を行った。

3) 福島第一原発敷地内外に生息する微生物群集のメタゲノム解析

上記 2) で取得した環境サンプルからゲノム DNA の調製を行った。調製した DNA に関し て、以下の 2 つの方法にて微生物叢のメタゲノム解析を遂行した。(a) PCR 法により、リボソ ーム DNA 遺伝子を増幅し、その塩基配列の決定をした。決定した配列により、主にバクテリ アと微細藻類における生物群集を明らかにした。(b) 一部の環境ゲノムサンプルに対し Nanopore シーケンサーにより、比較的長い DNA 断片の配列解析を行った。

データベース構築 (成果)

1) データベースの構築(再委託先:理化学研究所)

本事業で解析されたシークエンスデータを統合データベース「MicrobeDB.jp」に登録するこ とを検討し、本プロジェクト専用のプライベートデータベースを構築した。これにより、統 合データベースシステムに付随する解析パイプラインで、本プロジェクト産出のデータ群の みならず公共データベースに収録されているデータとの比較解析が可能となった。

2) Kazan Federal University との情報交換(慶應義塾大学、再委託先:理化学研究所)

令和元年 12 月にロシア側研究代表者の来日を受け、理化学研究所で会議を行った。ロシア 側は日本の配列データを極限環境微生物の観点から解析することになった。また、ロシア語 で発表されたウクライナ国立研究所のチェルノブイリ原子炉関連の資料の英訳を相手方に依 頼した。その結果、チェルノブイリ原子炉内における微生物腐食の兆候についての情報を得 た。

6 次年度の見通し

令和2年度は、東京電力から入手した高放射線環境(冷却水貯蔵タンク、福島第一原子炉内、 チャンバー内滞留水 等)のサンプルを対象に環境 DNA を調製し、そこに生息する微生物叢を明 らかにできると考えている。また、その結果を、初年度の非汚染環境、低放射線環境における微 生物群集構造と比較し、放射線強度と微生物群集構造との関係性を考察可能である。本研究は令 和2年12月末に終了予定であるが、それまでに、以上の結果を、データベース「MicrobeDB.jp」 に収録可能と判断している。その上で、本研究を通して、廃炉に役立つ提言を行うことを予定し ている。

1. はじめに

本研究は、ゲノム解析に豊かな経験を持つ慶應義塾大学先端生命科学研究所の金井昭夫の研究 グループが主体となってメタゲノム解析を行う。さらに、日本におけるメタゲノム解析のパイオ ニアである国立遺伝学研究所の黒川顕 教授や高放射線耐性を持つ微生物の研究の第一人者であ る東洋大学の鳴海一成 教授が、理化学研究所を通して参加している。この意味で、メタゲノム 解析や高放射能環境における微生物群集の挙動の解析に関して、万全の態勢をとっている。また、 ロシアで唯一の次世代シーケンサーセンターを擁する Kazan Federation University が、ロシア側パ ートナーとして参加している。ロシアでは、チェルノブイリ事故に関して多くの研究が行われて おり、彼らを通して貴重な情報が手に入る可能性がある。さらに、本研究は、ゲノム科学者、微 生物学者、天文学者、地球科学者、ロボット工学者、原子炉工学者の非常に広い分野からの超学 際チームで遂行されるので、これまでの常識にこだわらない新規な発想を得る可能性がある(図 1.1 を参照)。



図 1.1 本プロジェクトの研究体制

これまでの廃炉研究は主に物理、化学、工学的な側面からのみ遂行されてきたが、本研究は最 新のゲノム科学的な解析を通じて、微生物による腐食・変性の効果を考慮した上で、最も安全で 効率的な炉内の汚染水環境安定化制御に関する指針を与える可能性がある。本研究を契機として、 この側面での研究が評価され、具体的な成果として結実できるようにと考えている。

2. 業務計画

2.1 全体計画

本業務の全体計画図を図 2.1-1 に示す。



図 2.1-1 全体計画図

研究期間の約 14 ヶ月のうち、前半に低放射線量サンプル(福島第一原発近隣の敷地内土壌 や海水、海底土等)を、後半に、福島第一原発建屋内の高放射線量サンプルを取り扱い、 各々の微生物群集構造を明らかにする。解析は、日本(慶應義塾大学、理化学研究所、国立 遺伝学研究所、JAEA 等)とロシア(Kazan Federation University)の合同チームによって行い、 その結果をデータベースに格納する。また、ロシア側にチェルノブイリ事故等に関する情報 の収集を依頼する。

3. 令和元年度の実施内容及び成果

- 3.1福島第一原発敷地内外に生息する微生物群集のメタゲノム解析
 - 3.1.1 簡便かつ最新の方法を用いた微生物群集のメタゲノム解析法の確立
 - ① 慶應義塾大学先端生命科学研究所(山形県鶴岡市)での環境サンプルの取得

本年度は福島第一原発敷地内で、原子炉内の微生物群集サンプルから DNA が調製でき、 簡便かつ最新のメタゲノム解析を遂行できる手法を確立する。この第一段階として、まず、 慶應義塾大学 先端生命科学研究所(山形県鶴岡市)の土壌や川水のサンプルを用いて、市 販の DNA 抽出キットの有効性を検討した。サンプルの採取場所や日時等は表 3.1.1-1 に、採 取場所の写真を図 3.1.1-1 にまとめてある。

分類	場所	採集日	コメント				
土壤	山形県鶴岡市大宝 寺日本国 403-1	令和元年 10月7日(月)	慶應義塾大学先端生命科学研究所裏山の川 に面した土壌表面1-2 cm (10 g程度×6袋)				
川水	同上	令和元年 12月17日(火)	慶應義塾大学先端生命科学研究所裏の川水 (16.5 ℃ pH: 7.4)				

表 3.1.1-1 慶應義塾大学先端生命科学研究所(山形県鶴岡市)環境サンプル



В



図 3.1.1-1 慶應義塾大学先端生命科学研究所(山形県鶴岡市)での環境サンプルの取得 (A) 土壌サンプル、(B) 川水サンプル

② 環境サンプルからの DNA 調製キットの検討と簡便なプロトコールの作成

慶應義塾大学 先端生命科学研究所近隣の土壌や川水を環境サンプルの資料例として、そ こに生息する微生物の DNA を、培養を介さずに直接調製できる市販のキットを検討した。 文献やカタログによる選別の後で、まず、土壌では Takara 社の NucleoSpin Soil キットと Nippon Gene 社の ISOIL キットを幾つかの条件で比較したが、基本的にどちらのキットでも 環境由来のゲノム DNA の調製ができた(表 3.1.1-2 及び図 3.1.1-2)。一方で、ISOIL キット の方が、より高分子のゲノム DNA (20 キロベース以上)を再現性良く調製できたので、以 後、全ての土壌サンプルで ISOIL キットを用いることにした。なお PCR 解析には、どのキ ットで取得した DNA も良い鋳型になることを確認している(後述)。次に環境水に由来す る微生物のゲノム DNA を、本研究分野で信頼の厚い Qiagen 社の DNeasy Power Water キット を用いて検討した。この初段階として、環境水(ここでは川水)をミリポア社の 0.22 µm (あるいは 0.1 µm) ポアの Durapore PVDF フィルターを通し、微生物群集をフィルター上に トラップした。DNeasy Power Water キットでは、環境 DNA は調製できるものの、サイズが 3-8 キロベースでスメア(ブロード)状になった。なお、環境水のフィルターからも ISOIL キットを用いてゲノム DNA の調製をすると、高分子のゲノム DNA が調製できたが、その収 量は極めて悪かった。

対象	会社名	キット名	コメント		
土壤	Takara	NucleoSpin Soil	ゲノム DNA を調製できるが、きれいな高分子のもの は望めず、スメアを引く。		
土壤	Nippon Gene	ISOIL	20 キロベース以上の長さのゲノム DNA が調製できる。		
川水	Qiagen	DNeasy Power Water	スメアを引くが川水などから、解析に十分な量のゲ ノム DNA が調製できる。		

表 3.1.1-2 検討した環境サンプルからの DNA 調製キット



図 3.1.1-2 慶應義塾大学(鶴岡市)環境サンプルからの DNA 調製とキットの検討

(A) 土壌からのゲノム DNA 調製の検討。Takara 社と Nippon Gene 社のキットを、付属の 試薬(SL1、SL2 や Enhancer SX と明記)の有無や、サンプルの量などを変えて比較して いる。Nippon Gene 社の ISOIL のキットが高分子のゲノム DNA を調製できることが分か る。(B) 川水からのゲノム DNA の調製。2種のポアサイズのろ紙を用いて微生物を集めた が、DNeasy Power Water キットでゲノム DNA は調製できるものの、サイズが 3-8 キロベ ースでスメア状になる。M は DNA の分子量マーカーを示す。 3 環境 DNA に対するアンプリコン解析



図 3.1.1-3 生物の三大ドメインの系統樹

生物の三大ドメインであるバクテリア(Bacteria; 真正細菌)、アーキア(Archaea; 古細菌)、及び真核生物(Eukaryotes)の系統樹。Candidate Phyla Radiation (CPR) バクテリアは近年、メタゲノム解析によって発見、提唱された、これまでのバクテリアと系統的に別群となるバクテリア群である。本図は、Hugら Nature Microbiology (2016) 1: 4-5 の図を改変したものである。

図3.1.1-3 は、現在考えられている地球上に存在する生物種の系統樹である。環境に由来す る微生物の解析はほとんどバクテリアを対象に行われているが、本研究ではその対象をバク テリアのみならず、アーキアや単細胞の真核生物(真菌類や藻)にも広げて解析することに した。環境に由来するどのような生物が、福島第一原発の原子炉内で増殖しているのか、ど の生物種が廃炉のプロセスと関係があるか不明なために、まず、そこに存在すると思われる 生物種のゲノム情報を網羅的に取得するためである。この目的のために生物種を同定するた めの PCR プライマー(人工的に合成した短い DNA、オリゴヌクレオチド)を複数種、文献 調査により絞り込んだ(表 3.1.1-3)。

JAEA-Review 2020-047

表 3.1.1-3	本研究に使用したプ	゚ライマーのリスト
-----------	-----------	-----------

生ド	プライマー 名称	環境	複製 領域	PCR 産物	配列		
궄物 の ン					F (5'-3')	R (5'-3')	コメント
バクテリア	341f & 785r	土壤	V3-V4	465	CCTACGGGN GGCWGCAG	GACTACHVG GGTATCTAAT CC	 真菌と真核生物の擬 似コミュニティーの 中で最も多くの OTU 数が得られる。 (参考文献 1)
	515F-Y & 926R	海水	V4-V5	412	GTGYCAGC MGCCGCGG TAA	CCGYCAATT YMTTTRAGT TT	モックコミュニティ の細菌叢のより正確 な推定値を示し,通 常のプライマーでは 見つけられない分類 群の識別が可能。 (参考文献 2)
	27F & 1492R		全長 16S rRNA	1506	AGAGTTTGA TCMTGGCTC AG	TACGGYTAC CTTGTTAYG ACTT	V3-V4 領域と比べて 高い分類学解像度。 (参考文献 3)
アーキア	SSU1ArF & SSU520R		V1-V4	519	TCCGGTTGA TCCYGCBRG	GCTACGRRY GYTTTARRC	アーキアで,最も多 くのOTU数が得られ る (ショートリー ド)。 (参考文献 4)
	340F & 806rB		V4-V5	467	CCCTAYGGG GYGCASCAG	GGACTACNV GGGTWTCTA AT	ショートリード。 (参考文献 4)
真核生物	nu-SSU-1333-5 & nu-SSU-1647-3	菌類	V7-V8	348	CGATAACGA ACGAGACCT	AICCATTCAA TCGGTAIT	真菌特異的セット。 (参考文献 5)
	V8f & 1510r	微細藻類	V8-V9	372	ATAACAGGT CTGTGATGC CCT	CCTTCYGCA GGTTCACCT AC	藻類においてより多くの多様性の評価が可能。(参考文献6)
	1389F & ITS4ngsUni	真核	V9-ITS2	984	TTGTACACA CCGCCC	CCTSCSCTTA NTDATATGC	 真菌と真核生物の擬 似コミュニティーの 中で最も多くの OTU 数が得られる。(参 考文献 7)

参考文献

(1) Thijs, S. *et al.* (2017). Comparative evaluation of four bacteria-specific primer pairs for 16S rRNA gene surveys. Frontiers in Microbiology, 8, 494.

6 - 24 -

- (2) Parada, A. E. *et al.* (2016). Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. Environmental Microbiology, 18(5), 1403-1414.
- (3) Johnson, J. S. *et al.* (2019). Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. Nature Communications, 10(1), 5029,1-11.
- (4) Bahram, M. *et al.* (2019). Newly designed 16S rRNA metabarcoding primers amplify diverse and novel archaeal taxa from the environment. Environmental Microbiology Reports, 11(4), 487-494.
- (5) Banos, S. *et al.* (2018). A comprehensive fungi-specific 18S rRNA gene sequence primer toolkit suited for diverse research issues and sequencing platforms. BMC Microbiology, 18(1), 190,1-15.
- (6) Bradley, I. M. *et al.* (2016). Design and evaluation of Illumina MiSeq-compatible, 18S rRNA genespecific primers for improved characterization of mixed phototrophic communities. Appl. Environ. Microbiol., 82(19), 5878-5891.
- (7) Tedersoo, L. *et al.* (2018). PacBio metabarcoding of Fungi and other eukaryotes: errors, biases and perspectives. New Phytologist, 217(3), 1370-1385.

図 3.1.1-4 を見ると、表 3.1.1-3 に示したプライマーのうち、バクテリアの部分的な 16S リ ボソーム RNA 遺伝子を増幅できるプライマーを用いた場合に、期待されるサイズの PCR 産 物が増幅されている。また、その増幅の効率は、得られた DNA の性状(図 3.1.1-2 を参照) にあまり依存しておらず、プライマーの対象となる微生物の有無に依存すると考えられる。



図 3.1.1-4 慶應義塾大学(鶴岡市)環境サンプル DNA を用いた PCR 実験例

慶應義塾大学の環境サンプルから調製したいずれの DNA (図 3.1.1-2 を参照) においても、 バクテリア 16S リボソーム RNA 遺伝子に対する PCR 産物(465 ベース)は、差がなく増幅 されていることが分かる。一方、土壌サンプルでは真核生物のカビ類の18S リボソーム RNA 遺伝子が、川水ではアーキア(古細菌)の 16S リボソーム RNA が増幅されていないことも 分かる。

④ 簡易 PCR システム



図 3.1.1-5 簡易 PCR システムのセットアップ

(A) PCR 装置 (1) Qamp Mini、(2) GeneAmp PCR system 9700
(B) PCR 増幅の例 1.0%アガロースゲル電気泳動(EtBr 染色)
(1)の簡易 PCR システムは、(2)の通常の PCR システムと変わることなく、 大腸菌遺伝子 (alkB)を増幅できる。

令和2年度に福島第一原発に由来する高放射線サンプルを管理区域内で取り扱うための準備として簡易型のPCR装置を検討した。このPCR装置Qamp Mini(BiOptic社)は、同時に解析できるサンプル数は8本と少ないが、手のひらサイズで、今回の目的にあっている。 PCR増幅も我々が通常行っているGeneAmp PCR system 9700システムを用いた解析と遜色ない(図3.1.1-5)。

⑤ 確立したプロトコール

上述した文献調査や実験検討を経て、確立した実験プロトコール3種を以下に示す。プロ トコールは、

- 1) 土壌微生物ゲノム DNA の抽出
- 2) 環境水微生物ゲノム DNA の抽出
- 3) PCR 法による 16S リボソーム RNA 遺伝子の増幅(簡易版)である。

プロトコール1:土壌微生物ゲノム DNA の抽出

ゲノム DNA の抽出には ISOIL (NIPPON GENE) キットを使用する。

サンプル(0.5 g の土壌を用いる場合)

注意点

* 実験を行う際には、必ずマスクと手袋を着用し、フィルター付きチップを使用すること。 * 実験で使用する 2 ml チューブは予めオートクレーブ滅菌しておくこと。

手法

- 1. 滅菌した 2 ml チューブに 0.5 g の土壌サンプルを入れる。
- 2. **950 µl** の Lysis Solution HE 及び **50 µl** の Lysis Solution **20**S を加え、チューブのフタをパラフ ィルムでシールしたら転倒混和で十分に混合する。
- 3. 10 分毎に転倒混和しながら 65 ℃で 1 時間インキュベート(ローテーターで穏やかに回転させながらインキュベートしても良い)。
- 4. 12,000×g 室温で1分間遠心分離した後、上清 600 µl を新しい2 ml チューブに回収する。
- 5. Purification Solution を 400 µl 加えて十分に混合する(濁る)。
- 6. 600 μl のクロロホルムを加えて 15 秒間ボルテックスした後、12,000×g 室温で 15 分間遠心 分離する。
- 7. 中間層を入れないように注意しながら水層 800 µl を新しい 2 ml チューブに回収する。
- 8. Precipitation Solution (開封後 4 ℃保存) を 800 µl 加えて十分に混合し、20,000×g、<u>4 ℃</u>で 15 分間遠心分離する。
- 9. 上清を捨て、1 mlの Wash Solution (開封後4℃保存)を加えて数回転倒混和した後、20,000 ×g、<u>4℃</u>で10分間遠心分離する。
- 10. 上清を捨て、1 ml の 70 % エタノール及び 2 µl の Ethachinmate (開封後 4 ℃ 保存) を加え、 ボルテックスミキサーを用いて攪拌した後、20,000×g、<u>4 ℃</u>で 5 分間遠心分離する。
- 11. 上清を捨て、チューブを風乾した後、沈殿を 100 µl の TE buffer (pH 8.0) に溶解する。サ ンプルは4℃にて保存する。
- 12. それぞれ 1 μl を使用して、O.D. の測定(A₂₆₀以外に A₂₃₀と A₂₈₀ も測り、DNA の純度を確認 しておくこと)と 0.8%アガロースゲル電気泳動で確認を行う。

プロトコール2:環境水微生物ゲノム DNA の抽出

ゲノム DNA の抽出には DNeasy[®] PowerWater[®] (QIAGEN) キットを使用する。

サンプル(約 500 ml の環境水)

注意点

- * 実験を行う際には、必ずマスクと手袋を着用し、フィルター付きチップを使用すること。
- * Solution PW1 は予め 55 ℃で 5~10 分間温めて沈殿を溶かしておき、使用中も 55 ℃をキー プしておくこと。
- * Solution PW3 に沈殿が見られる場合は 55 ℃で 5~10 分間温めて沈殿を溶かす。
- * Solution PW4 は使用前にボトルを振って中の溶液を混ぜること。

手法

環境水のフィルターろ過:500 ml分

- 1. 再利用可のフィルター用漏斗を使用する場合は、器具の上部を取り外し、0.22 μm のフィル ター (Durapore 0.22 μm PVDF Membrane, 47 mm; フィルターも滅菌しておく)を滅菌したピ ンセットでセットする。この時フィルターを折り曲げないこと。
- 2. ろ過装置をポンプに繋ぎ、大きな沈殿がある場合はガーゼなどで濾しながら 500 ml のサンプ ルをろ過し、微生物をフィルターにトラップする。

環境水からのゲノム DNA 抽出: DNeasy[®] PowerWater[®] Kit (QIAGEN)

- 3. 微生物をトラップさせたフィルターの両端をピンセットでつかみ、フィルターの表面がシリンダーの内側に来るように丸めながら 5 ml PowerWater DNA Bead Tube に入れる(すぐに使用しない場合は、シャーレに平らに張り付けて、-80 ℃で保存する)。
- 4. 予め 55 ℃で温めておいた Solution PW1 を 1 ml 加える。
- 5. (サンプルに溶解しにくい組織が含まれる場合(菌類・藻類など)は、Solution PW1 を加え た後、65 ℃で 10 分間インキュベートする)。
- 5 ml PowerWater DNA Bead Tube を水平になるようにボルテックスアダプター (SI-H512 Horizontal 15ml Tube Holder; Scientific Industries, Inc.) に固定する。
 * 固定する際には Tube の角度と中央からの距離を等しくセットするように気を付ける事。
 テープなどでボルテックスに固定するのは懸濁の効率が悪くなるので避ける。
- 7. 最大速度で5分間ボルテックスした後(室温)、4,000×g室温で1分間遠心分離する。
- 1 ml のピペットチップをビーズの底に突っ込むように入れて上清を吸い、2ml Collection Tube に移す(600~650 μl 回収できる)。

- 9. 13,000×g 室温で1分間遠心分離。
- 10. ペレットを吸わないように注意しながら、上清を新しい 2ml Collection Tube に移す。
- 11. Solution IRS を 200 µl カラムに加えて軽くボルテックスで混ぜた後(白濁する)、2-8 ℃ (on ice) で 5 分間インキュベートする。
- 13,000×g で 1 分間、室温にて遠心分離後、ペレットを吸わないように注意しながら上清を 新しい 2ml Collection Tube に移す。
- 13. Solution PW3 を 650 µl カラムに加えて軽くボルテックスで混ぜる。
- 14. 混合液 **650 μl** を **MB Spin Column** に Load し、13,000×g で 1 分間、室温にて遠心分離後、 flow-through を捨てる。
- 15. 14 のステップを混合液が無くなるまで繰り返す。
- 16. MB Spin Column Filter を新しい 2ml Collection Tube に移す。
- 17. 使用直前に振り混ぜた Solution PW4 (Wash buffer) を 650 μl 加え、13,000×g で1分間、室 温にて遠心分離する。
- 18. flow-through を捨て 650 µl の ethanol (Kit に付属) を加え 13,000×g で 1 分間、室温にて遠心 分離する。
- **19.** flow-through を捨てたら、ethanol を完全に取り除くため 13,000×g で 2 分間、室温にて遠心 分離する。
- 20. MB Spin Column Filter を新しい 2ml Collection Tube に移す。
- 21. Solution EB を 100 µl フィルターの中央に Load する。 * Solution EB の代わりに滅菌した D.W.や TE buffer を使用しても良い。
- 22. 13,000×g で 1 分間、室温にて遠心分離し、DNA を回収する。回収した DNA は 4 ℃にて保存する。
- 23. DNA 溶液 1 μl を使用して、O.D. の測定(A₂₆₀以外に A₂₃₀ と A₂₈₀ も測り、DNA の純度を確認しておくこと)と 0.8 % アガロースゲル電気泳動で確認を行う。

JAEA-Review 2020-047

プロトコール3: PCR 法による 16S リボソーム RNA 遺伝子の増幅(簡易版)

PCR の増幅対象遺伝子

Bacteria 16SrRNA V3-V4 領域(増幅サイズ 465 bp)

鋳型サンプル(環境ゲノム DNA: 5~30 ng/5 µl 程度)

プライマー

- 1. Forward (341f, 17 mer, 100 pmol/ μl)
- 2. Reverse (785r, 21 mer, 100 pmol/ µl)

PCR 反応

1Tube あたり		PCR 反応条件
2×buffer for KOD FX Neo	25 µl	
2mM dNTP mix	10 µl	94 °C 2 min
Template DNA	5 µl	98 °C 10 sec
Primer F (100 pmol)	1 µl	$60 ^{\circ}\text{C}$ 30 sec > 35 cycles
Primer R (100 pmol)	1 µl	68 °C 60 sec
KOD FX Neo DNA polymerase	1 µl	4 °C soak
D.W	7 µl	
Total	50 µl	

PCR 反応後の産物の 1.5% アガロースゲル電気泳動による確認

マーカー: DM2100 DNA Ladder marker 5µl を使用する。

サンプル:

PCR product	5 µl
TE buffer	4 µl
10×Dye	1 µl

を混合し、計10µlを泳動し、EtBrにて染色する。

<u> 残りの PCR 産物は -30 ℃で保管し、塩基配列の決定に用いる。</u>
3.1.2 福島第一原発敷地内外の地下水や敷地内の土壌のサンプリング(連携先: JAEA)

ここでは福島第一原発敷地内外のサンプリングポイントを検討すると共に、敷地内に関し てはサンプルの入手方法を検討した。また、これらの解析を進めるため、地元自治体や東京 電力との調整を図った。決定したサンプリングポイントにおいて、微生物含有サンプルの採 取を行い、放射能を測定した。

福島第一原発敷地内外において、敷地境界南(処理水タンク群の南)の表層土、3km沖合の表層水、福島第一原発近くの海底土とその直上水からサンプルを採取した。また関連する 環境サンプルとして岡山県人形峠のウラン鉱床の湧き水や、福島県石川町和久観音のウラン 鉱山近傍の土壌、茨城県日立港やその沖合の環境サンプル等の採取をした。また、東京電力 との打合せを経て、保管してある福島第一原発原子炉建屋内の滞留水などの分析に着手する ことで了解を得た。合わせて、管理区域内の分析準備を行った。

上記に関して、以下に述べる4項目について実施した具体的内容を示す。

① 福島第一原発敷地内外のサンプリングポイントの検討

福島第一原発内部には、地下水や雨水と共に、微生物が流入している。微生物分析のため 福島第一原発内から滞留水を得る前準備として、周辺の地形・地質について調査した(図 3.1.2-1)。福島第一原発の北側には前田川が流れ双葉海水浴場に注いでいる。環境省の推薦 の海水浴場100選の一つであったが事故後は警戒区域となり、立入り制限となった。平成25 (2013)年5月からは避難指示解除準備区域となり再び立入りが可能となった。ここから福

島第一原発の敷地を挟んで 6 km 南側には熊川が流れ海に注ぐ。熊川河口には熊川鮭漁業協





13 - 31 - 同組合があり、鮭の稚魚の放流が為されている。これらの河川に南北を挟まれた福島第一原 発敷地には地下水が押し寄せ、建屋の基礎の破孔部分より流入が続いている。

参考文献

- ・ https://www.youtube.com/watch?v=4 6YQPhXK8g(双葉未来会議より双葉海水浴場).
- ・ https://www.town.okuma.fukushima.jp/soshiki/somu/9647.html (大熊町役場より鮭放流).

福島第一原発は太平洋と阿武隈山地に挟まれた浜通り地方の太平洋岸に位置する。この浜 通り地方は、その中央部を南北に走る双葉断層によって阿武隈山地と隔てられている。ここ には中生界と古第三系・新第三系、さらに更新世の海岸段丘や完新統が分布する。この双葉 断層は宮城県岩沼市から福島県いわき市に至る全長約 100 km の活断層である。また、阿武 隈山地南部の西縁には棚倉断層があり、茨城県常陸太田市と福島県棚倉町の間を北北西から 南南東方向へ通る横ずれ断層である。

これらの断層帯は日本列島形成におい て多種多様な変成岩を生み出した。特に 石川町周辺は、東部に御齊所・竹貫変成 岩帯が、西部に花崗岩類が分布する。中 でもペグマタイト(巨晶花崗岩)からは 我が国有数の巨大な「石英」「雲母」

「長石」などの結晶を産出した。さら に、「サマルスキー石」「ジルコン」 「電気石」他、ランタノイド、アクチノ イド含有鉱石が産出する。特に、ウラン 鉱物である燐灰ウラン鉱は有名であり

(図 3.1.2-2)、後に岡山県と鳥取県の県 境の人形峠に高品質のウラン鉱が発見さ



図 3.1.2-2 福島県石川町産の燐灰ウラン鉱石 (石川町歴史民俗資料館にて許可を得て撮影)

れるまでは、当時では日本一の品質であり大規模な調査発掘が行われた。

敷地内は、新第三系の富岡層が、敷地全域にわたって、海抜±0m~30m程度に分布する。 その最上位のT3部層は、主として塊状の砂質泥岩~泥岩からなり、上部から中粒砂岩層、 泥質部、互層部(砂岩と泥岩の互層)、泥質部から構成される。富岡層は敷地の全域にわた りほぼ同じ層厚で分布し、南北方向ではほぼ水平に、東西方向では東側に2°程度傾斜してい る。表層近くに分布する中粒砂岩層は透水層である。なお、福島第一原発建屋東側の海底面 は中粒砂岩で構成されている。中粒砂岩層の下は、数~10m程度の厚さで連続して分布して いる泥質部により遮水されている。そして福島第一原発建屋の地下外周部は中粒砂岩層に接 している(図 3.1.2-3)。従って、建屋に流入する地下水は、段丘堆積物を通過した雨水が中 粒砂岩層を通じて建屋の東側に押し寄せ、建屋の何処かにある破孔より流入していると思わ れる。

参考文献

- http://www.town.ishikawa.fukushima.jp/admin/material/(石川町歴史民俗資料館).
- http://rss.tepco.co.jp/nu/fukushima-np/roadmap/images/c130823 05-j.pdf

(東京電力「福島第一原子力発電所周辺の地質・地下水および解析」平成25年8月23日資料).



図 3.1.2-3 福島第一原発建屋周辺の地層構造

以上、福島第一原発周辺の地形・地質に関する検討を行い、建屋内に流入する地下水の起 源と海洋への流出を考慮して、周辺からサンプリングポイントを決定した。また、炉内に残 留する核燃料デブリの長期的な変質を考慮して、これに関連する地域をサンプリングポイン トとして選んだ。

② 敷地内外からのサンプルの入手方法の検討

敷地内からのサンプルの入手方法については、これまで JAEA は福島第一原発において採 取された汚染水等に含まれるイオン種の化学分析を実施してきた。具体的には集中廃棄物処 理建屋等の地下滞留水とその処理により得られる水を対象とした。核種は、H-3、C-14、Cl-36、Ca-41、Mn-54、Ni-59、Co-60、Ni-63、Se-79、Sr-90、Nb-94、Tc-99、Sb-125、I-129、 Cs-137、Eu(-152,-154)、U(-233、-234、-235、-236、-238)、Np-237、Pu(-238、-239、 -240、-241、-242)、Am(-241、-242m、-243)、Cm(-244、-245、-246)である。これら はデータ集として公表されている。

参考文献

 ・ 浅見誠、高畠容子、明道栄人、飛田剛志、小林究、早川美彩、他(2017)、東京電力福 島第一原子力発電所において採取された汚染水及び瓦礫等の分析データ集、JAEA-Data/Code 2017-001,78p.

一方、敷地外については JAEA のこれまでの監視活動に協力を求めた。JAEA は福島第一 原発事故直後より周辺環境の放射線量測定を実施してきた。福島第一原発周辺の環境放射能 の監視は原子力規制委員会の実施義務でもあり、有人ヘリと無人ヘリを活用した空中ダスト の線量測定を実施している。加えて、現場を観測員が徒歩で巡回監視しつつ環境放射能の測 定を継続している。この9年間の計測の結果、事故直後と比較して一桁程度まで低下してい る。

参考文献

- Sanada, Y. *et al.*, Evaluation of ecological half-life of dose rate based on airborne radiation monitoring following the Fukushima Dai-ichi nuclear power plant accident. J. Environ. Radioact., 192, 417-425 (2018).
- Mikami, S. *et al.*, The deposition densities of radiocesium and the air dose rates in undisturbed fields around the Fukushima Dai-ichi nuclear power plant; their temporal changes for five years after the accident. J. Environ. Radioact., 210, 105941 (2019).

さらに、JAEA は海洋研究開発機構との連 携により海洋ドローンの開発を進め、海洋で の無人計測を実施している。これらの線量測 定活動を発展的に延長する形をとりつつ、本 事業での微生物サンプリングを通常業務に追 加することを検討した。これにより福島第一 原発敷地外からのサンプリング問題を解決す ることができた。また、敷地内についても、 これまでの滞留水の核種分析の作業に、無理 の無い形で微生物分析を付加することで対処 した。

入手したサンプルの保全方法として、冷却 遠心機及び小型冷凍庫を準備した。冷却遠心



図 3.1.2-4 小型冷凍庫と-40 ℃で凍結 した土壌と河川水のサンプル

機はサンプルから遺伝子を抽出する際に使用する。具体的な使用法はプロトコール 2 (10ペ ージ)を参照のこと。また、小型冷凍庫は、採取した水や土壌を遺伝子分析準備が揃うまで の保管に使用する(図 3.1.2-4)。

・微量高速冷却遠心機

トミー精工社製(KITAMAN-T24)

- 最高回転数 : 13,500 rpm
- 最大遠心加速度: 17,730 G
- 最大容量 : 2 ml x 24 本
- 温度設定範囲 : -9~-40 ℃
- ・小型冷凍庫(メディカルフリーザー)
 福島工業社製(FMF-038F1)
 温度調整範囲 : -40~-15 ℃
 内容量 : 38 リットル

③ サンプリングポイントの決定について

福島第一原発敷地周辺(沖海洋、周辺土壌、地下水)に関するサンプリングポイントの 候補地を図 3.1.2-5 に示す。



図 3.1.2-5 福島第一原発近隣のサンプリングポイント候補

加えて、関連地域としてウラン鉱山として図 3.1.2-6 の 2 ヵ所(人形峠環境技術センター及 び福島県石川町和久観音鉱山)を選んだ。福島第一原発格納容器内に落下している核燃料デ ブリは、それ自身の発熱を続け炉内の滞留水と供給されている冷却水の影響で徐々に変質し ている。炉内は高放射線のため水分子の乖離と窒素ラジカル等の生成が進行している。この 炉内の環境下で、核燃料の二酸化ウランが化学的及び微生物的な変質を受けつつあるという 検討の一助として、本事業では自然界に存在するウラン鉱石と微生物の関連を調査する。ま た海水の関連環境として日立港やその沖合の海水も採取した。採取場所やサンプルの詳細は 表 3.1.2-1 にまとめてある。



④ 微生物含有サンプルの採取と放射線強度の測定

ここではサンプリングの様子について記述する。

1) 福島第一原発敷地周辺からの土壌サンプリング



図 3.1.2-7 土壌サンプリングポイント

令和元年 11 月 18 日、図 3.1.2-7 に示した地点において深さ 13 cm の穴を設けて、その 穴の側面から深度別に3か所採取した(微生物叢が土壌の深さにより影響を受けることが 知られているため)。地表面からの距離は、上から 0-2 cm、中程の位置 6-7 cm、穴の底 部 11-13 cm である(図 3.1.3-1)。加えて、穴から 100 cm 離れた位置の表面土壌を 3 か所 採取した(サンプリングの再現性に言及できる)。穴からの向きは、北西、北東、南東 である。表面の付着物をよけて土壌を採取した(図 3.1.3-1)。採取した土壌は保冷剤入 りのクーラーボックスに入れて、福島県三春町の JAEA まで運搬し、冷凍庫(-20 °C) に 入れ保管した。採取場所では電離箱を用いて、線量を測定した。地表から 5 cm の位置で 71 μ Sv/h であった。

2) 海洋からのサンプリング

福島第一原発近隣の海洋からのサンプリングは令和元年12月19日に表層水と海底土な らびにその直上水の採取が行われた(図 3.1.2-8 及び図 3.1.2-9)。さらに、比較対象とし て令和2年2月6日に、日立港及びその沖合の海水の採取が行われた(図 3.1.2-10)。表 層水の一部は現地にてフィルターを用いた集菌が行われ(プロトコール2を参照)、その 他のサンプルは速やかに、冷蔵、または冷凍にて慶應義塾大学先端生命科学研究所に送 付された。



図 3.1.2-8 表層水サンプリングポイント

表層水のサンプリングポイント(W1)は福島第一原発(1F)から約3kmの海上である。



図 3.1.2-9 海底土とその直上水のサンプリング

(A) 海底土と直上水のサンプリングの様子。
(B) St1、St2、St4 は海底土をサンプリングした地点である。
W1 は表層水(図 3.1.2-8 を参照)のサンプリングポイント。



図 3.1.2-10 日立港でのサンプリングポイント(福島海洋の比較実験として用いる) (A)日立港 (B)日立港沖合

3) 関連地域(人形峠、和久観音鉱山)

さらに本事業の関連地域として、人形峠環境技術センター(図 3.1.2-11)及び福島県石 川町和久観音鉱山(図 3.1.2-12)よりサンプリングを実施した。人形峠環境技術センター では、見学坑道が整備されており内壁はコンクリート吹き付けとなっており、鉱床の一 部が見学用に露出した状態である。坑道内の湧き水は土中に埋設されたヒューム管を通 じて、坑道入り口の向かいにある集積槽に集められる。この集積槽には送水ポンプが設 置されており、集積槽内の貯水量が一定量を超えると自動的に汲み上げられて外部の鉱 砕屑の堆積場に散水される仕組みとなっている。すなわち、ウラン鉱床の中を通ってき た湧き水である。以下に、採取の様子を示す。採取後すぐに慶應義塾大学先端生命科学 研究所に送付した。



集積槽と送水ポンプ サンプル場所:送水ポンプ室 日時:2020/01/15 15:16



サンプル水の溶存酸素、pH、温度の測定 OD:10.11 mg/l@11.1 ℃ pH:6.22@14.3 ℃

図 3.1.2-11 人形峠環境技術センターでのサンプル水採取

また、石川町和久観音鉱山においては、歴史的文化財としての保存が施され坑道内の 立入りは制限されている。このため坑道入り口の表土を採取した。坑道の入り口は小高 い古墳状の丘の裾野にあり、周囲には棚田が広がる。坑道入り口から 30 m 程の場所には 小川が流れる。表土と併せて小川の水も採取した。これらは持ち帰り、日本原子力研究 開発機構原子力科学研究所にて、図 3.1.2-4 に示すように -40 ℃で 10 日間の凍結保管の 後、慶應義塾大学先端生命科学研究所に送付した。解析は来年度に実施する。



図 3.1.2-12 和久観音鉱山の様子

さらに、原子炉内の汚染水に関して東京電力と話し合いをもった。その結果、汚染水の 使用、並びに成果の発表の前には、あらかじめ東京電力に相談し、了解を得ることを条件とし て、使用することとなった。

表 3.1.2-1 福島メタゲノム解析 サンプルリスト まとめ

分類	サンプル詳細	場所	採集日	コメント
土壤	表層土 1) 1 m 北西 (NW) 2) 1 m 北東 (NE) 3) 1 m 南東 (SE) 深度別 4) 上 (0-2 cm) 5) 中 (6-7 cm)	福島県双葉群大 熊町大字夫沢北 台 37°24'59.3"N, 141°01'24.7"E	令和元年 11月18日 (月)	福島第一原子力発電所 敷地境界南(処理水タンク群の 南)
海水	6) ト (11-13 cm) 表層水 1) W1	1) W1 : 37°25'27.54"N, 141°3'11.255"E	令和元年 12月19日 (木)	福島第一原子力発電所から3 km 沖 合 電気伝導度(EC): 9.03 mS/cm@8.7 ℃ DO:9.18 mg/L@10.0 ℃ pH 8.2

(A) 福島第一原子力発電所近隣の環境サンプル

海底土	1) St1 :	令和元年	福島第一原子力発電所の
1) St1	37°29'27.6"N,	12月19日(木)	近隣海域
2) St2	141°2'58.9"E		1) St1:
3) St4	2) St2 :		電気伝導度 (EC) :
	37°35'4.8"N,		11.60 mS/cm
	141°3'57.5"E		pH 8.4
	3) St4:		2) St2:
	37°23'8.1"N,		電気伝導度 (EC) :
	141°5'30.5"E		13.44 mS/cm
			pH 8.5
直上水	同上	令和元年	
(海底土の上清)		12月19日(木)	
1) St1			
2) St2			
(St4 は、抜けたため			
無し)			
	海底土 1) St1 2) St2 3) St4 直上水 (海底土の上清) 1) St1 2) St2 (St4 は、抜けたため 無し)	 海底土 1) St1: 37°29'27.6"N, 2) St2 3) St4 2) St2: 37°35'4.8"N, 141°3'57.5"E 3) St4: 37°23'8.1"N, 141°5'30.5"E 直上水 (海底土の上清) 1) St1 2) St2 (St4 は、抜けたため 無し) 	海底土1) St1:令和元年1) St137°29'27.6"N, 141°2'58.9"E12月19日(木)3) St42) St2:37°35'4.8"N, 141°3'57.5"E3) St4:3) St4:37°23'8.1"N, 141°5'30.5"E3直上木 (海底土の上清)同上令和元年 12月19日(木)1) St1 2) St2 (St4 は、抜けたため 無し)同上令和元年 12月19日(木)

(B) 日立港環境サンプル

分類	サンプル詳細	場所	採集日	コメント
海水		茨城県日立港	令和2年 2月6日(金)	第5埠頭 気温: 4℃ 海水温度: 12.5℃
海水		茨城県日立港 沖合 36°29'66"N, 140°38'805"E	令和2年 2月7日(土)	 水温 : 13.04 ℃ 塩分 : 34.08 塩素量 : 18.87 ‰ 密度 : 25.67

(C) 人形峠ウラン鉱山坑道内の環境サンプル

分類	サンプル詳細	場所	採集日	コメント
湧水		岡山県苫田郡	令和2年	人形峠環境技術センター見
		鏡野町上齋原	1月15日 (水)	学坑道内の送水ポンプ室
		1550		OD 10.11 mg/l @ 11.1 °C
				рН 6.22 @ 14.3 °С

(D) 和久観音山鉱山の環境サンプル

分類	サンプル詳細	場所	採集日	コメント
土壤		福島県石川郡 石川町字和久	令和2年 3月17日(木)	周辺の土壌
川水		同上	同上	近隣の川水

3.1.3 福島第一原発敷地内外に生息する微生物群集のメタゲノム解析

① 福島第一原発近隣の環境に生息する微生物からのゲノム DNA 調製

研究初年度(令和元年11月より令和2年3月)においては表 3.1.2-1にまとめた数多くの 環境サンプルを収集し、その環境に生息する微生物に由来すると考えられるゲノム DNA を、 目的とする解析に十分な質と量にて調製することができた。これは、令和元年11月~12月 にかけて、慶應義塾大学先端生命科学研究所のある山形県鶴岡市の土壌や川水サンプルで、 条件検討を行って、プロトコールを完成させておいたことが大きい(3.1.1項参照)。本項で は、これらの環境サンプルの中から、福島第一原発 南森林土壌サンプルと、同 原発近隣海 洋の表層水に焦点を当て、(i)同環境サンプルからのゲノム DNA 調製、(ii)調製したゲノム DNA から、リボソーム RNA 遺伝子(バクテリアやアーキアでは16S リボソーム RNA 遺伝 子、真核生物では18S リボソーム RNA 遺伝子)の PCR 法による増幅(アンプリコンの取 得)、(iii)次世代シークエンサー(NGS)によるアンプリコンの塩基配列決定と同環境に生 息している微生物叢を推定、そして、(iv)調製した土壌ゲノム DNA の Oxford Nanopore Technologies (ONT) 社ミナイオン(MinION)シークエンサーによる解析に関してまとめた。



図 3.1.3-1 福島第一原発 南森林土壌サンプルからの微生物ゲノム DNA の調製

土壌サンプルの取得場所に関しては、図 3.1.2-7 を参照されたい。 (A) 3 段階の深さによるサンプリング(左図) と調製したゲノム DNA の 0.8 % アガロース電気泳動(EtBr 染色)(右図)。 (B) 深さによるサンプリング位置から、それぞれ北西、北東、南東に 100 cm の地点の土壌表面をサンプリング(左図)と調製したゲノム DNA の 0.8 % アガロース電気 泳動(EtBr 染色)(右図)。ゲノム DNA の調製は ISOIL キットを用いた。



図 3.1.3-2 福島第一原発 近隣海洋の表層水からの微生物ゲノム DNA の調製 表層水のサンプリングポイントは福島第一原発から約3kmの海上である(図 3.1.2-8 を参照)。 DNeasy Power Water キット調製したゲノム DNA を 0.8% アガロース電気泳動(EtBr 染色)に て解析した(lot1、2 ともに 250 ml の海水を 0.22 µm のフィルターにトラップした)。

図 3.1.3-1 と図 3.1.3-2 はそれぞれ、福島第一原発 南森林土壌サンプルと、同 原発近隣海 洋の表層水サンプルから調製したゲノム DNA に関してまとめたものである。どちらの環境 からも図 3.1.1-2 にて検討したのと同等のゲノム DNA が取得できていることが分かる。



② 福島第一原発近隣の環境 DNA サンプルの PCR と塩基配列決定に使用した PCR 産物

図 3.1.3-3 塩基配列決定に使用した福島環境微生物由来の PCR 産物

各 PCR 産物をアガロースゲルから切り出して精製後に 1.5 % アガロース電気泳動(EtBr 染 色)にて解析した。Sample # にある B はバクテリアの 16S リボソーム RNA 遺伝子に対する 共通領域のプライマー (341f/785r) で、M は微細藻類(真核生物)の18S リボソーム RNA 遺 伝子対象としたプライマー (V8f/1510r) で、そして MB は海洋バクテリアの 16S リボソーム RNA 遺伝子を対象としたプライマー (515F-Y/926R)で増幅したものである。B1, M1, MB1: 土壌(深さ 0-2 cm)、B2, M2, MB2: 土壌(深さ 6-7 cm)、B3, M3, MB3: 土壌(深さ 11-13 cm)、B4, M4: 土壌表面(北西)、B5, M5: 土壌表面(北東)、B6, M6: 土壌表面(南東)、 B7, M7, MB4: 表層水(海水 W1)に由来する微生物のゲノム DNA を PCR 反応の鋳型に使用 した。 ③ 次世代シークエンサーによるアンプリコンシークエンスの解析

PCR によって増幅した DNA のライブラリー調製及びシークエンシングは、株式会社ジー ンベイに委託した。配列決定ライブラリーは、NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs、England)を使用し、メーカーの推奨のプロトコールに従っ て調製され、Illumina ハイスループットシークエンサーNovaSeq PE250 によって 250bp のペ アエンドシークエンシングが行われた。図 3.1.3-3 に示した全てのアンプリコンに対して、各 100 万リード以上の配列が納品された。

シークエンスリードには、低品質のリードやアダプターが含まれているので、微生物叢組 成解析の前に、これを以下の手順で除去した。はじめに、アダプターを含むリードの除去を 行い、その後、低品質のリード(平均シークエンシングエラーの割合が1%以上)を除去し た。シークエンスリードの解析にはメタゲノム解析パイプラインツールである QIIME2 (Version 2019.10)使用した。各サンプルの FASTQ ファイル(次世代シークエンス解析で主 に使用するファイルで、リードの塩基配列と各塩基のクオリティを記載したもの)はシーケ ンサーのエラーを補正する DADA2 モデルによりノイズ除去を行ない、forward と reverse のリ ードの両端からプライマーの配列のトリミングを行なった。forward と reverse のリードを結 合し、代表配列の決定を行った。代表配列と類似性の高い配列を検索するために、SILVA 138 SSU データベース (https://www.arb-silva.de/documentation/release-138/)の 16S リボソーム RNA データベースを用いて、代表配列を問い合わせ配列として、BLASTN プログラム (Version: 2.9.0)による配列類似性検索(E-value のカットオフ 値は 1e-5)を行った。代表

配列のベストヒットを集計し、Pythonの seaborn (Version: 0.9.0) パッケージを用いて積み上 げ棒グラフを描画した。



図 3.1.3-4 生物の階層的な分類

ドメイン、界、門、綱、目、科、属、種と階層が下がるにつれて、分類はより限定されたも のになる。 微生物叢の詳細を説明する前に、生物の階層的な分類方法に関して確認しておきたい。図 3.1.3-4 は生物の階層的な分類である界、門、綱、目、科、属、種に関して示したものである。 最上階のドメインは研究者や対象とする生物の種類によっては、界(キングダム)と呼ぶこ ともあるが、本報告書では、図3.1.1-3 にも示した通り、バクテリア(真正細菌)、アーキア (古細菌)及び真核生物より構成されるドメインとしたい。ここで、上段の分類群ほど多様 な生物種を含み、階層が下がるにつれて、より限定されたものになる。微生物叢のアンプリ コンに依存したメタゲノム解析では、解析結果が特定の種に落ちることはまれなので、その 多様性を比較する時には、門、綱、目のレベルで比較するのが一般的である。



図 3.1.3-5 福島土壌由来 B1 サンプルを構成する生物ドメイン、門、綱

福島第一原発 南森林の土壌(深さ 0-2 cm) に由来するゲノムをバクテリアの 16S リボソー ム RNA 遺伝子の共通プライマーで PCR 増幅し(B1 サンプル)、その塩基配列を決定した。 配列のアノテーションをドメイン、門、綱レベルで集計した。サンプルの詳細は図 3.1.3-3 を 参照。

B1 サンプル、すなわち、福島第一原発の南森林土壌(深さ 0-2 cm)に由来する環境ゲノ ムをバクテリアの 16S リボソーム RNA 遺伝子の共通プライマーで PCR 増幅したアンプリコ ンを解析した例について説明したい(図 3.1.3-5)。まず、ドメインレベルでは、配列のほと んどがバクテリアであることが分かり、このプライマーがバクテリアの 16S リボソーム RNA の配列を優先的に増幅させていることが支持される(B7 サンプルではアーキアも多少 増える、後述)。次に、門や綱レベルで集計したグラフでは、このバクテリアが一種類では なくて多様な生物群により構成されていることが明らかになる。一方で、上位 5 群の門や綱 に属する微生物が全体の 90%以上を占めていることも分かる。例えば綱レベルでは、 Acidobacteria(青)、Alphaproteobacteria(オレンジ)、Actinobacteria(緑)、Saccharimonadia (赤)、Planctomycetes (紫)の5つの綱が主要な微生物叢を形成することになる。ここで、 各々に属する微生物種はよく解析されているものもあるが、今回決定した塩基配列のアノテ ーションの詳細を見てみると、例えば Alphaproteobacteria に属する配列の一つは、Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Roseiarcus; uncultured bacterium と登録されており、この微生物は未培養のよく解析されていない微生物と似ているとしか言 及できない。また、今回、非常に面白いのは、上記の第4位の Saccharimonadia 綱や第7位の Parcubacteria は近年になってから、その存在がはっきりと提唱された極小バクテリアに属す る CPR バクテリア (図 3.1.1-3)の一種であることである。また第6位には uncultured bacterium とあり、本土壌の微生物叢の全容は本解析だけでは厳しいことを意味している。従 って、微生物叢の割合の解析に加えて、そこに存在する主要な微生物のゲノム全体を再構成 していくような研究が必要になっていく(この方向性を持つのが、後述する、④ ONT 社ミ ナイオン (MinION)シークエンサーを用いた研究である)。

サンプリングを行った環境によって微生物叢がどのように異なるかを明らかにするために、 B1 サンプルで行ったような解析を、B2~B7 のサンプルにおいても実行し、結果を門レベル (図 3.1.3-6) と綱レベル (図 3.1.3-7) にて比較してみた。まず、同じ南森林土壌の表層を解 析した B4、B5、B6 のサンプルは、その微生物叢の割合のパターンが極めてよく似ているこ とが分かる。すなわち、本解析による解析の再現性が極めて良いことを支持している。また、 大きく土壌(B1~B6)と海洋(B7) で異なることも明らかである(海洋サンプルに関して は後述する)。面白いのは、B1、B2、B3 の段々と土壌のサンプリングの位置が深くなるサ ンプルで、例えば、綱レベルで Actinobacteria (緑) や Saccharimonadia (赤) は、採取場所 が深くなると割合が小さくなっていくのに対し、Acidimicrobiia (B1 のランクで第 8 位、灰 色)や Ktedonobacteria (B1 のランクで第 15 位、2 回目の紫)では B2 から割合が増してい る。微生物叢の割合のパターンが変わるのは、その環境の酸素濃度、温度、pH、栄養など 様々な原因と関係しているので(参考文献)、この原因を探るのには慎重でなくてはならな い。特に、本研究では、放射線という環境要因がさらに加わることになる。この問題を見越 して、コントロールとなる、ウラン鉱床のある人形峠や和久観音鉱山の環境サンプルを入手 している。

参考文献

- Nishiyama E, Higashi K, Mori H, Suda K, Nakamura H, Omori S, Maruyama S, Hongoh Y, Kurokawa K. (2018). The Relationship Between Microbial Community Structures and Environmental Parameters Revealed by Metagenomic Analysis of Hot Spring Water in the Kirishima Area, Japan. Front Bioeng Biotechnol., 6: 202, doi: 10.3389/fbioe.2018.00202.
- Kim M, Cho A, Lim HS, Hong SG, Kim JH, Lee J, Choi T, Ahn TS, Kim OS. (2015). Highly Heterogeneous Soil Bacterial Communities Around Terra Nova Bay of Northern Victoria Land, Antarctica. PLoS One, 10(3): e0119966, doi: 10.1371/journal.pone.0119966.



Phylum level classification



Class level classification

図 3.1.3-6 福島土壌、海水サンプルに由来するバクテリアの門レベルでの比較 B1~B7 サンプルの詳細は図 3.1.3-3 を参照。

図 3.1.3-7 福島土壌、海水サンプルに由来するバクテリアの綱レベルでの比較 B1~B7 サンプルの詳細は図 3.1.3-3 を参照。

さて、CPR バクテリア (図 3.1.1-3) に関して、少し補足して説明しておきたい。地球上の 生物は大きくバクテリア、アーキア、そして真核生物の 3 つのドメインに分けられることは 前述した通りであるが、図 3.1.1-3 に明らかなように、バクテリアは、これまでによく知られ た、プロテオバクテリア門やファーミキューテス門、アクチノバクテリア門などを含む系統 関係と、新しく提唱された CPR バクテリアの系統関係に大きく二分されていることが分か る。CPR のクレードには門レベルに相当するグループが数十個含まれると推定されており、 その中でも、Parcubacteria と Microgenomates と呼ばれる 2 つの大きなグループが存在し、 CPR 内の候補門の半分以上はこのいずれかに属する。

今回の解析で B1 の第 7 位に出てきた Parcubacteria に関して、その詳細を解析してみたところ、Nomurabacteria と Kaiserbacteria と命名された 2 種からなることが分かった。しかも、その系統学上の位置は、CPR の末端に位置しており(図 3.1.3-8 A)、微生物の進化を考える



図 3.1.3-8 福島土壌には CPR バクテリアが生息する

(A) 福島土壌で見出された CPR バクテリア 2 種の系統樹上での位置。系統樹は図 3.1.1-3 を
 参照。(B) 福島土壌で見出された CPR バクテリアと同種は小さなゲノム (0.5~1.0 メガベース)を持つ。

上で興味深い研究対象であることが明らかになった。さらに、これら2つのCPRバクテリア と同種のゲノム解析から、この2種のグループのゲノムサイズは0.5~1.0メガベースと極め て小さく(図 3.1.3-8B)、これらのゲノムを再構成できれば、最小ゲノム微生物がどんな遺 伝子を有するかという問題に対しても、良い研究材料を提供することになるだろう。

参考文献

- ・ 鶴巻萌、齋藤元文、丸山茂徳、金井昭夫(2020)、生命の起源研究における CPR バクテ リアの重要性、地学雑誌(Journal of Geography)、東京地学協会、in press.
- Brown CT, Hug LA, Thomas BC, Sharon I, Castelle CJ, Singh A, Wilkins MJ, Wrighton KC, Williams KH, Banfield JF. (2015) Unusual Biology Across a Group Comprising More Than 15% of Domain Bacteria. Nature 523(7559): 208-211. doi: 10.1038/nature14486.

バクテリアのメタゲノム解析のうち、海洋の表層水(B7 サンプル)由来の微生物に関し て説明したい。まず、海洋のサンプルからドメインレベルでは 80 %がバクテリアを、20 % がアーキアの 16S リボソーム RNA 遺伝子を増幅させたことが分かる(図 3.1.3-9 A)。同じ 表層水の環境ゲノムを使うと真核生物である、微細藻類の 18S リボソーム RNA 遺伝子の PCR 増幅が検出されること(図 3.1.3-10 及び図 3.1.3-11)より、341f/785r は原核生物に特異



図 3.1.3-9 福島海洋の表層水由来 B7 サンプルを構成する生物ドメイン、門、綱 B7 サンプル(福島海洋表層水)に由来するゲノムをバクテリアの 16S リボソーム RNA 遺 伝子の共通プライマーで PCR 増幅し、その塩基配列を決定した。配列のアノテーションを ドメイン、門、綱レベルで集計した。サンプルの詳細は図 3.1.3-3 を参照。 的なプライマーといえるだろう。一方で、アーキアに特化したプライマー2種(表 3.1.1-3) を用いた時には、表層水の環境ゲノムからのPCRはスメアを引き、期待されたサイズのPCR 産物のバンドは極めて希薄なバンドであった。バクテリアのゲノム配列が多すぎるために、 アーキアの PCR を競合的に阻害しているのかもしれない。B7 の微生物叢の割合が土壌のそ れと大きく異なるのは、Cyanobacteria (綱レベル第 2 位、オレンジ色、図 3.1.3-9)や Thermoplasmata (綱レベル第 3 位、緑色、図 3.1.3-9)の割合が多いことである。また、 Dadabacteriia (綱レベル第 7 位、ピンク色、図 3.1.3-9)は、本研究では海洋にしか見出され ないので、このようなバクテリア候補の詳細を調べる必要があるだろう。なお、海洋性バク テリアの 16S リボソーム RNA 遺伝子を検出できる PCR プライマー(表 3.1.1-3)において も、明確なアンプリコン (MB1~MB4)を取得できたが、その詳細は、これからの解析を待 たなければならない。

一方、真核生物では微細藻類と菌類の 18S リボソーム RNA 遺伝子を検出できる PCR プラ イマー(表 3.1.1-3)を用いて B1~B7 までと同じ環境 DNA を調べたが、期待されるアンプ リコンのサイズに明確なバンドを得たのは微細藻類であり(図 3.1.3-10及び図 3.1.3-11)、そ のアンプリコンを M1~M7 とした(図 3.1.3-3)。微細藻類のアンプリコン(実際は藻類のみ ではないことが判明している)は、バクテリアのそれに比べて多様性に乏しいように見て取 れるが、現実問題として、分類の詳細が明確になっていないと言った方が良い。現在広く受 け入れられている分類体系として、国際原生生物学会(ISOP)による分類体系が存在する (以下の参考文献)が、全く、新しい分類体系が発表されている。例えば、土壌に由来する M1~M6 の綱レベルで 80~90 %が Obazoa という分類群に含まれるが、この分類も新しいも のである。

Archaeplastida (M1 の門レベル第 3 位、緑色、図 3.1.3-10) は、これまで、陸上植物、緑 藻、紅藻、灰色植物などが含まれていたものであり、また、Rhizaria (M1 の綱レベル第 3 位、 緑色、図 3.1.3-11) は、これまで鞭毛虫(土壌によく見られる)、有孔虫(海洋底生物)、 放散虫(海洋プランクトン)が含まれた分類群であるので、現状が如何に複雑であるのか分 かるであろう。今後、これらの詳細な解析は、真核生物の進化を論ずる意味でも極めて重要 になる。本研究では、最終報告までに、放射線環境に特異的な微細藻類、原生動物などが存 在可能かどうかを判断できたら良いと考えている。

参考文献

矢崎裕規、島野智之(2020)、 真核生物の高次分類体系の改訂—Adl et al. (2019) について タクサ、日本動物分類学会誌、 48:71-83.



図 3.1.3-10 福島土壌、海水サンプルに由来する微細藻類の門レベルでの比較 M1~M7 サンプルの詳細は図 3.1.3-3 を参照。



図 3.1.3-11 福島土壌、海水サンプルに由来する微細藻類の綱レベルでの比較 M1~M7サンプルの詳細は図 3.1.3-3 を参照。

④ ONT 社ミナイオン (MinION) シークエンサーによる土壌サンプルゲノムの解析

上記までのアンプリコンを用いた解析は微生物叢の分布や割合の解析には効果を発揮する が、同定された種が既知で、そのゲノムが完全長の塩基配列を決定されていなければ、具体 的にどのような遺伝子を有しているゲノムなのかを断定することはできない。ここで、メタ ゲノム解析の結果として推定、同定される微生物種の多くは、未培養や難培養性であり、完 全長ゲノムは期待できないことが多い。本研究では、得られた環境ゲノム全体の塩基配列を 決定することで、この中にどのような遺伝子が存在しているのかも明らかにする。また、可 能であれば、決定したゲノム断片をコンピュータ上で繋ぎあわせて、再構成ゲノムを構築で きれば、該当する環境にどのような微生物が適応しているのかより明確に示すことができる と考えられた。この目的に都合が良いのが、ONT 社ミナイオン (MinION) シークエンサー システムである (図 3.1.3-12)。このシークエンサーは小型でありながら、数キロベースか ら 100 キロベース程度までの長鎖 DNA を大量に解析できるからである。また、小型である ことから次年度における管理区域内に生息する微生物のゲノムシークエンスにも役立つと判 断される (3.3.1 項を参照)。



図 3.1.3-12 ONT 社ミナイオン (MinION) シークエンサーシステム (https://nanoporetech.com/)

本研究では、まず福島 南森林表層の土壌サンプル(表 3.1.2-1 では表層土 北西サンプルに 対応)を用いてミナイオンシークエンサーをセットアップすると共に、同環境 DNA の塩基 配列を決定した。

遺伝子ライブラリーの調製は、ONT 社から提供された Genomic DNA by Ligation プロトコル (SQK-LSK109) に従って行った。シークエンシングライブラリーは、Ligation Sequencing Kit (ONT 社製; SQK-LSK109) を用いて調製した。まず、ゲノム DNA を Agencourt AMPure XP ビーズにより精製した。DNA 修復及びエンドプリップには、NEBNext Ultra II End Repair/da-tailing Module を使用した。修復した DNA を Agencourt AMPure XP ビーズと 70 %エ タノールで洗浄し、ヌクレアーゼフリー水で溶出した。その後、アダプターミックス(ONT Ltd., SQK LSK109)、NEBNext Quick Ligation Reaction Buffer(New England Biolabs、Inc., カ タログ番号 B6058S)、及び Quick T4 DNA Ligase(New England Biolabs, Inc., カタログ番号 M2200S)と混合することにより、アダプターライゲーションを行った。アダプターが連結 した DNA は、Agencourt AMPure XP ビーズで洗浄し、Elution buffer(ONT Ltd.; SQK-LSK109) に溶出した。

塩基配列の決定は、MinION (ONT Ltd.; MIN-101B) とフローセル (FLO-MIN106) を用い て行った。MinKNOW (Version 3.6.3)の実行及び Basecalling は MinIT を用いた。フローセル は、Flush Tether (ONT Ltd.; EXP-FLP001) とチューブの Flush Buffer (ONT Ltd.; EXP-FLP001)を混合して調製したプライミングバッファーでプライミングした。次に、 Sequencing Buffer (ONT Ltd.; SQK-LSK109) と Library Loading Beads (ONT Ltd.; SQK-LSK109)を混合した最終ライブラリーをフローセルの SpotON サンプルポートに滴下しなが らロードした。スタートから 22 時間 36 分後にシークエンシングを停止した。

表 3.1.3-1 ONT 社ミナイオン解析記録

Fukushima-NW-0317
NW
0a7d1ee8-26b4-4896-a274-13d4fa563971
FAM92303
March 17, 06:55
22h 36m
247.75 K
385.57 Mb
400.39 Mb

表 3.1.3-1 がミナイオンにより得られた配列の要約を示している。約 25 万個のゲノム断片 がシークエンスされ、その配列の総和は約 400 メガベースであることを示している。大腸菌 のゲノムは約 4 メガベースなので、これは、大腸菌ゲノム 100 個分の長さが得られたことに なる。現在、塩基配列の精査を行うと共に、より大量の塩基配列を決定できるような条件検 討を行っている。また、ショットガン法等による塩基配列の決定も併用することを、国立遺 伝学研究所と検討している。

3.2 データベース構築

3.2.1 データベース構築(再委託先:理化学研究所)

本研究で得られるメタゲノム情報(遺伝子の配列)及び生息環境に関する各種物理・化学 情報は、国立遺伝学研究所が開発・運用している微生物に関するデータベース 「MicrobeDB.jp」に登録する。このため、本プロジェクト専用のプライベートデータベース を構築した。これにより、統合データベースシステムに付随する解析パイプラインで、本プ ロジェクト産出のデータ群のみならず公共データベースに収録されているデータとの比較解 析が可能となった。

微生物統合 DB「MicrobeDB.jp」とは、バクテリアゲノム 30 万株、オーソログ遺伝子 38 万 種類、メタゲノム 160 万サンプルを収録し、微生物に関するデータを系統・遺伝子・環境の 3 つの軸に沿って整理・統合したデータベースある。系統、遺伝子、環境の各情報がリンク しているので、遺伝子と環境の関係性を容易に抽出することが可能である(図 3.2.1-1)。 参考 URL: https://microbedb.jp/.

MicrobeDB.jp
Integrating and representing genome, metagenome, taxonomy resources and the analysis datasets with Semantic Web Technologies.
Eestures
Data sources of MicrobeDB.jp ver. 3 Metagenome and Microbes Environmental Octology 3401 Tecnomy 12252 Ottolog Gnous: 420177 Microbial Phancippe Critelogy 277 Genome and Metagenome Sample 122038 Cuture collections in Japan 3614 Pathogenic Disease Ontology 387 Human Microbiome Associated Disease Ontology 368 1503 Ontology 22421
Q Keyword Search MicrobeDB ip provides a keyword search function with a simple interface. The keyword search gives the user free-text access to the literal fields of all RDF/OWL resources on MicrobeDB ip. Click Text search .
It Representation and Visualization For representation of database resources and analysis results, MicrobeOB (p project has developed 197 TogoStanza, which is a generic VBb framework which enables the visualizing of reusable Web components that are embeddable into any Web applications. See TogoStanza List for more information.
E Comparative Analysis MicrobiOB (p provides Comparative Analysis Tools between the metagenome samples , the environment terms , the taxa, and sample metadata and taxonomic/functional analysis based on TogoBanza framework. If you are interested in comparative analysis, it can be visualized by using a comparison tool.
Upload Your Data By uploading the data to MicrobeOB (p., you can execute comparative analysis between your data and genomic and metagenomic analysis results on MicrobeOB (p. For that, you need to CREATE your account and Sign in .
© Microbe/DB.3P project train 2019 Except where otherwise index), content on this site is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International license (CC- Br(+0,0)

図 3.2.1-1 メタゲノムデータベース「MicrobeDB. jp」のフロントページ

3.2.2 Kazan Federal University との情報交換(慶應義塾大学、再委託先:理化学研究所)

令和元年 8 月頃から、ロシア Kazan Federal University の微生物研究者である Elena Shagimardanova 博士 (ロシア側研究代表者) や、理化学研究所 研究員の Gusev Oleg 博士

(Kazan Federal University を兼任)と遠隔システムや電子メールにて情報交換をしながら、 本プロジェクトの研究方針やお互いのデータに関して議論を続けている。

令和元年 12 月には、ロシア側研究代表者の来日を受け、理化学研究所で会議を行った。 ロシア側の研究期間が令和2年9月末までなので、基本的には、日本側で得られた微生物ゲ ノムのデータを、様々な耐性遺伝子の観点から情報科学的に解析したいとの提案があった (ロシア側の専門分野である比較ゲノム解析を行う)。また、ロシア語で発表されたウクラ イナ国立研究所のチェルノブイリ原子炉関連の資料の英訳を頂いた。その結果、チェルノブ イリ原子炉内における微生物腐食の兆候についての情報を得た。Oleg Gusev 博士によれば、 ロシア国内では、チェルノブイリのケースまでの災害はなかったにしろ、15カ所以上の放射 線等による環境汚染(具体的な場所などの詳細を取得した;最終報告書でまとめたい)があ るとのことであった。さらに、現状のプロジェクトがうまくいくようならば、ロシア政府は、 このような汚染環境に由来する微生物のゲノム解析を推進していく可能性があるとのことで あった。これは、令和2年以降のプロジェクトの共同申請に発展する可能性がある。これを 受け、今回の共同プロジェクト結果をロシア国内でアピールするためにも、ロシアにてワー クショップを開催したらどうかとの提案がなされ、令和2年の8月に予定されたが、新型コ ロナウイルス感染症の世界的な蔓延を受け、計画は頓挫している。状況を見て、今後の方針 を決めたい。

日本側が決定した福島第一原発環境に由来する微生物のメタゲノムデータは、既にその一 部を、インターネットを介して共有している。

① ロシア側より得たチェルノブイリ関連論文の簡易英訳

- 論文名: Electron microscopic studies in solving problems of environmental safety of the Chernobyl Nuclear Power Plant sarcophagus (Shelter Structure) and the Chernobyl Exclusion Zone
- ・著者: А. А. Ключников, В. Б. Рыбалка, Г. И. Петелин, И. Н. Канцева, Ю. А. Зимин, Б. Б. Сероинович, Б, А. Краснов (А. А. Kljuchnikov, V. B. Rybalka, G. I. Petelin *et al.*)
- 雑誌情報: Chomobyl, 2006. 28 p. (Prepr. / National Academy of Sciences of Ukraine. Institute for safety problems of nuclear power plants; 06-2).

Introduction

The main directions of using electron microscopy and microprobe element analysis in solving problems of environmental safety of the Shelter Structure are monitoring the post-accident condition of fuelcontaining materials of the Shelter Structure and in radionuclide-contaminated soils, as well as the study of aerosols formed in the premises of the Shelter Structure. The main purpose of using electron microscopy is to study the factors that cause changes in the physical and chemical characteristics of particles, containing radionuclides, in order to develop practical solutions that can improve the radiation and environmental safety of the Shelter Structure and the contaminated Chernobyl territories. Electron microscopy allows visual monitoring of the state of the materials at the micro level, determining changes in the properties and dynamics of transformation of materials containing radionuclides during experiments, including monitoring the effects of the environment on fuel-containing and other radiation-hazardous materials.

1. Electron microscopic studies of smears from the wall surfaces of the interior of the Shelter Structure. Biotic corrosion of irradiated nuclear fuel

Smears from the walls of the Shelter Structure collected in 2003 were used for the study. Samples were divided into heavy and light fractions by decantation (elutriation) method. The bulk of the heavy fraction was consisted of organic particles, which was confirmed by the results of x-ray microprobe analysis. The light fraction was a light fibrous small flake and contained a large number of fuel particles, firmly bound by organic matter. Analysis of the light fraction was conducted, using high vacuum annealing. As a result, it was found that the large part of cesium-137 is fitted inside a material of organic origin. During high vacuum annealing, ¹³⁷Cs evaporates together with organic matter. The analysis of fuel particles showed that they were in organic "capsules" before annealing.

Analysis of the surface state of microparticles of irradiated nuclear fuel

Surface soil samples from the Red forest collected in 1993 and 1998 were compared. The fuel particles had no noticeable signs of corrosion damage in the 1993 samples. The fuel particles of the 1998 samples had a highly corroded surface in the form of irregular cavities. Probably, the corrosion was caused by deposition of particles in the soil rich in organic matter for a long period of time, hence this type of corrosion is due to bacterial activity. This type of corrosion was not observed in particles that were stored in sterile conditions for several years.

Summary

- In the studied samples the size of fuel particles was within 1-100 microns, which corresponds to the grain size of irradiated non-oxidized fuel. The main source of radioactivity is ¹³⁷Cs transported by aerosol.

- Almost all of aerosol ¹³⁷Cs is in organic material, the fuel particles are coated with organic matter of biotic origin. This indicates active microbiological processes occurring on surfaces inside the Shelter Structure.

- A trace of biotic corrosion on the surface of irradiated nuclear fuel was detected.

2. Electron microscopic studies of radioactive aerosols in the Shelter Structure

The dissolution of fuel-containing materials due to the activity of microorganisms can generate new compounds of radionuclides together with organic matter, which are potentially more mobile and more dangerous for environment. Based on the obtained experimental data, it was shown the relationship between the biotic factor and aerosols of the Shelter Structure. Bacteria of the genus Rhodococcus that

37 - 55 - can selectively accumulate cesium ions were found in samples of the Shelter Structure. Inclusion of spores of this microorganism in the aerosol of the "Shelter" may give the impression of a submicron fraction of irradiated nuclear fuel in aerosols and may lead to a reassessment of the danger of the radiation factor.

Uranium dioxide particles were found to be 4-10 microns in size. The bulk was made up of organic particles: spores, bacteria, and organic residues. Most of the mineral particles had a matrix of calcium or silicium. Some fuel-containing particles had a matrix of uranium oxide or had local inclusions of uranium in the matrix.

Summary

- The investigated aerosol samples of the Shelter Structure contained a large number of particles consisting of organic matter. A significant number of these particles were identified as microbial cells and spores.

- Usage of cascade impactors for aerosol analysis for improving the methodological approach produces more accurately assess the possibility of overestimating the radiation hazard of aerosols in the Shelter Structure. It also can show the actual biological danger of pathogenic spores penetration that cultivated under high radiation conditions into the respiratory organs of people is not taken into account. The obtained data show the relevance of revising approaches to aerosol analysis, taking into consideration the presence of the biotic factor.

- The combination of electron microscopy with using cascade impactors for efficient separation of aerosol particles into size fractions allows for a deeper interpretation of the results.

3. Electron microscopic studies of "hot" particles of nuclear fuel of the Chernobyl Nuclear Power Plant and a retrospective assessment of breakdown at the reactor #4

The scenario of breakdown process in the reactor of the 4th block of the Chernobyl Nuclear Power Plant was clarified based on the study of fuel microparticles released by the explosion.

Conclusion

The following results were obtained using electron microscopy:

- A part of irradiated nuclear fuel was bound by biotic mucus inside the premises of the Shelter Structure;

- Cesium-137 was found to be inside the contamination of walls in the premises of the Shelter Structure, binding by organic matter of biotic origin;

- Irradiated nuclear fuel had corrosion by the biotic action;

- Spores of microorganisms containing radioactive cesium that is associated with organic matter were found in aerosol of the Shelter Structure;

- The scenario of breakdown of the 4th reactor in the Chernobyl Nuclear Power Plant was clarified based on the study of fuel microparticles released by the explosion.

38

3.3 研究推進

研究代表者の下で各研究項目間並びに東京電力や CLADS との連携を密にして研究を進めた。 また、打合せについては、キックオフ会議(令和元年 11 月 11 日)を、企画調整会議として は、東京電力との意見交換会議(令和元年 8 月 23 日、9 月 25 日)を実施した。さらに、ゲノ ム分析手法の JAEA への技術移転を目的として、核燃料サイクル工学研究所内の管理区域内の 整備を検討し、慶應義塾大学先端生命科学研究所において、JAEA-慶應義塾大学の共同実験及 び研究方針会議(令和 2 年 2 月 11-13 日)を行った。また、ロシア側の研究代表者の来日を受 けての研究方針会議(令和元年 12 月 11 日)も行った。加えて、国際会議 OPIC-LSSE2020(令 和 2 年 4 月 20-24 日;新型コロナ感染症蔓延の影響で WEB 会議)において、関連研究の紹介 とロシアとの情報交換準備を実施した。

3.3.1 核燃料物質使用施設でのゲノム分析手法について

福島第一原子力発電所内の放射性核種による汚染物は「核燃料物質によって汚染されたもの」として核燃料物質使用施設において取り扱う必要がある。次年度に予定しているゲノム分析の作業は、日本原子力研究開発機構 核燃料サイクル工学研究所に所在する高レベル放射性物質研究施設(Chemical Processing Facility; CPF)での実施を想定している。CPF は使用済み核燃料からウランやプルトニウム等の核燃料物質を分離回収する試験を行う施設であり、生物実験の実績がない。そこで、ゲノム分析の準備として、核燃料物質使用施設に適合する分析手法を検討した。検討にあたっては、汚染水試料の性状に関わる制約、管理区域内における作業上の制約を考慮した。

ゲノム分析は、図 3.3.1-1 に示すように、汚染水から環境 DNA を抽出し、塩基配列の決定 までを実施する計画とした。抽出した DNA は、これを直接に ONT 社ミナイオン (MinION) シークエンサーにかけると共に、PCR 法にて 16S リボソーム RNA 遺伝子 (アンプリコン) を増幅して、同上のシーケンサーにかける 2 つの手順を検討した。ここで、DNA 抽出の後 に、分光光度計により DNA 濃度を測定し、また、アガロースゲル電気泳動によりバンドを 確認する。



図 3.3.1-1 福島第一原子力発電所汚染水中のゲノム分析手順

ゲノム分析の対象である汚染水の性状と核燃料物質使用施設にて放射性物質を取り扱う管 理区域での作業上の制約を考慮して手順を検討した。表3.3.1-1に制約する条件をまとめた。 1から4号機では、損傷した燃料(燃料デブリ)を冷却するために汚染水の処理と再利用が 行われている。³Hを含む淡水が逆浸透膜法により得られ、これが燃料デブリ等と接触して 冷却する際に、放射性核種が水へと移行する。汚染水は、原子炉建屋からタービン建屋を経 て集中廃棄物処理建屋に送られ、化学処理がなされる。この過程で、水には様々な化学物質 が溶け込む。水の流れは一様ではなく、建屋の中で滞留する水が存在するとみられる。DNA 分析の観点からは、線量率が高い領域で滞留する水が注目される。

汚染水試料の採取にあたっては、高線量率の環境での作業を要し、作業を事業者に依存す る制約がある。事業者は管理のために汚染水を採取しているので、これを利用することが期 待される。汚染水の試料を使用施設に輸送する際には、核燃料物質として輸送する必要から 時間を要する。以上のことから、本研究では、固体廃棄物の性状把握を目的として分析に供 し、残った試料を利用することとした。ここで、試料が常温にて保管されていること、試料 の量がごく少ない(10 mLのオーダー)ことに注意しなければならない。

分析を行う使用施設では、解放された実験台上での作業ができず、フード(ドラフトチャンバー)内で試料を取り扱う必要がある。フード作業は使用面積が限られており、また、被ばく低減のために短時間での操作を計画しなければならない。分析に用いた資材は放射性廃 棄物となり、管理区域内で保管管理するため、分析資材の小型化や最小化が求められる。 CPF は硝酸溶液系の取り扱う設計のため、腐食防止の観点から塩酸等を使用できない。また、 発がん性の薬品も代替品を探すこととなる。

このような制約を前提として管理区域内における作業上の制約を考慮し、分析操作手順や 資材を検討した。今後、一連の操作を確認して、分析の操作を確定していく。

項目		制約		
汚染水の入手	サンプリング	事業者(東京電力)による。		
	輸送	核燃料物質としての輸送のために時間を要する。		
汚染水の性状	サンプル量	試料量が少なく10 mL のオーダーに限られる。		
	保管状態	常温にて長期間保管されている。		
施設管理区域	作業場所	狭いフード内にて試料を取り扱う。		
	資材の節約	放射性廃棄物の発生を抑制するため、資材を最小		
		限にとどめる。		
	試薬	腐食性(塩酸等)、発がん性のある試薬は使用で		
		きない。		

表 3.3.1-1 核燃料物質使用施設において汚染水を分析する上での制約

3.3.2 汚染水試料の入手について

JAEA は廃炉・汚染水対策事業にもとづいて汚染水の分析を実施している。汚染水として は、建屋地下の滞留水、水処理設備の工程水などがあり、CPF には分析後に残った汚染水の 試料を保管している。これら試料から有望と考えられるものを選び分析に供する予定である。

なお、福島第一原発に由来する汚染水試料の入手や使用に関して東京電力ホールディング ス(株)にご協力頂いた。福島第一原発周辺環境からのサンプルの採取に関して、日本原子 力研究開発機構 廃炉環境国際共同研究センターの佐々木祥人 研究副主幹、及び眞田幸尚 グループリーダーにご協力を頂いた。関係者に深謝の意を表する。また、人形峠ウラン鉱山 の坑道湧き水の採取に関しては、人形峠環境技術センターの木原義之 所長、森本靖之 施設 管理課長、及び課室員のご協力を得た。ウラン鉱石の写真撮影及び和久観音鉱山の所在地に 関しては、福島県石川町の歴史民俗資料館のご協力を得た。ここに感謝の意を表する。

3.3.3 国際会議 OPIC-LSSE2020 について

本事業の調整と推進のため、今年度の研究の進展紹介と内外からの知見の集約を行うこと を目的として OPIC-LSSE2020 (https://lsse.opicon.jp/)のセッションとの共同企画を実施した (図 3.3.3-1)。

基調講演者は2名であり、1名は東工 大学名誉教授 丸山茂徳 氏である。発 表内容は、長年のマグマ対流と地殻運 動に関する研究と冥王代からの微生物 進化に関して発表が行われた。続い て、本事業代表者の慶應義塾大学教授 金井昭夫 氏より、本報告書の 3.1 節で 記述されている内容を含めた微生物の ゲノム解析の概要と最近の動向につい て、専門分野の異なる理工系出身者に 向けての講義が行われた。

JAEA の眞田幸尚 グループリーダー は、1F の事故以降、周辺に放出された 放射性物質による環境放射能レベルの 推移の測定結果について報告を行っ た。その測定活動の発展として、周辺 土壌及び海洋水のサンプル採取を実施 した。また、JAEA の西村昭彦 研究主 幹からは、3.1.2 項で記述したウラン鉱 山からのサンプル取得について報告を



図 3.3.3-1 OPIC-LSSE2020のポスター

行った。さらに、理化学研究所の Oleg Gusev 研究員からは、微生物の形態を損傷する事無く 走査型電子顕微鏡により撮影する技術について報告が行われた。また、東京大学准教授 鈴 木庸平 氏からは、アクチナイドイオンを体内に捕集する微生物についての報告が行われた。

> **41** - 59 -

上記に加えて JAEA の西村昭彦 研究主幹より、連携重点領域共同研究として、本事業を 今後3年間にわたり発展させる試みとして、研究テーマ「廃止措置のリスク要因低下手法に 関する研究」が承認された。

参考文献

https://tenkai.jaea.go.jp/agreement/link/link_06.html. (連携重点研究令和2年度課題公募)

本連携重点研究の意義は、異なる分野の専門家が知恵を出し合うことで、長期化する廃止 措置の潜在的リスク要因を低下できる具体的な手法を提案することにある。研究テーマとし て8つの小テーマを含む。今回の OPIC-LSSE2020 では、8 テーマの中で以下の3つのテーマ に関して、議論が行われた。

- ・テーマ3 ウラン鉱床に生息する微生物分析と核燃料デブリからのアクチノイド捕集
- ・テーマ4 炉内の温熱風乾燥と赤外線ライト・レーザー・マイクロ波等の補助加熱
- $\overline{r} \overline{\tau} \, 6$ Microbial morphology observation using a scanning electron microscope

4. 結言

本研究について、初年度では計画された研究のほとんどにおいて明確な結果を得ることができ たと判断している。サンプルの取得は JAEA の全面的な協力を得て精力的に行われ、土壌、湧き 水、海水、海底土等のそれぞれのサンプルから、成功裏に環境ゲノム DNA を調製できた。PCR 解析は、バクテリアのみならず、アーキアや単細胞の真核生物までを含めて、その多様性の一端 を明らかにしているが、配列解析(ゲノムの再構成や比較ゲノム解析を含む)とその解釈には、 まだ多くの時間が必要となるだろう。一方で、ここまでの解析は、令和2年度の攻略の本丸であ る、福島第一原発内に存在し、高放射線下にある滞留水等に由来する微生物叢のメタゲノム解析 の序曲のような位置付けになる。すなわち、現状の解析は、本丸のメタゲノム解析と比較するこ とによってはじめて、福島第一原発を囲むような環境の微生物叢が、どのような選択圧を受け、 どのような微生物叢に変化していったのか、あるいは進化していったのかを明らかにできること になる。また、その結果を考察することができる。

令和2年4月現在で、東京電力との打合せを経て、保管してある福島第一原発原子炉建屋内の 滞留水などの解析に着手することで了解を得ており、JAEA の管理区域内で実行可能なゲノム解 析の設備や技術を確立させつつある。本プロジェクトは令和2年の12月までと期間が短いが、 あと、8ヶ月の間に、最終の目的まで、計画通りに遂行したいと切望している。これと同時に、 ロシアとの共同解析や情報収集を通して、廃炉に関連した微生物の基盤情報をまとめたいと考え ている。

用語解説

PCR 法

Polymerase Chain Reaction 法(ポリメラーゼ連鎖反応法)。酵素学的に DNA を増幅する方法。

リボソーム RNA (rRNA) 遺伝子

遺伝情報の翻訳に関わるリボソームは細胞内のタンパク質合成装置であるが、リボソーム RNA とリボソームタンパク質によって構成されている。特にリボソーム RNA 遺伝子は、どんな 生物種においても保存されているために、この塩基配列を比較することで生物種の分類が可能に なる。生物種の分類には、原核生物では 16S、真核生物では 18S のリボソーム RNA 遺伝子が使 用されることが多い。

電気泳動による DNA の分離と解析

アガロース(寒天の主成分)やポリアクリルアミドゲルを使用した電気泳動を行えば、核酸で ある DNA をその分子のサイズに従って分離することができる。電気泳動時に、分子量が既知の マーカーDNA を泳動することによって、目的とする DNA 分子の大まかなサイズが分かる。多く の場合、泳動した DNA を臭化エチジウム(EtBr)で染色し、紫外線を当てることで検出する。

ゲノムのシークエンス

固有の生物種が有する遺伝子の総体であるゲノム DNA の塩基配列を決定すること。これにより、その生物種の同定やその生物種がどんな遺伝子を有するかが分かる。ゲノム全ての塩基配列 を決めた場合、これを完全長ゲノムという。

次世代シークエンサー(NGS)

Next Generation Sequencer (NGS) は遺伝子の塩基配列を大量かつ高速に読み出せる装置のこと。 イルミナ社の NGS は、ランダムに切断された数千万-数億の DNA 断片の塩基配列を同時並行的 に決定することができる。

ミナイオン (MinION) シークエンサー

ナノポア(Nanopore)はナノスケールの穴を意味する。DNA をこのナノポアに通す時に塩基 による違いを電流の変化として捉えることで、塩基配列を決定できる。オックスフォード ナノ ポア テクノロジー社による塩基配列の決定装置を Nanopore シークエンサーと呼ぶが、これは非 常にコンパクトで場所をとらず、他の NGS と比較して、長く読めるのが特徴である。

メタゲノム解析

環境サンプル中の微生物群集のゲノム DNA を培養に依存することなく網羅的に解析する手法 のこと。例えば、環境サンプルから調製したゲノム DNA に対してリボソーム RNA 遺伝子の部分 的な配列を PCR 法により増幅し、その塩基配列を決定することで、種の同定ができる。

アンプリコンメタゲノム解析

微生物叢から得た DNA に関して、上記の系統マーカー遺伝子(リボソーム RNA 遺伝子)などを PCR 法で増幅したもの(アンプリコン)を指標としてメタゲノム解析をおこなう手法のこと。

ショットガンメタゲノム解析

環境サンプルから調製した DNA を適当な長さに分断した後に NGS による網羅的な塩基配列の 決定をおこない、その配列をコンピュータ上でつなげたり、データベースに登録された配列と比 較したりする手法のこと。その環境に生息する微生物の同定や、存在している遺伝子が明らかに できる。 This is a blank page.

_

表 1. SI 基本 単位					
甘大昌	SI 基本単位				
本平里	名称	記号			
長さ	メートル	m			
質 量	キログラム	kg			
時 間	秒	s			
電 流	アンペア	Α			
熱力学温度	ケルビン	Κ			
物質量	モル	mol			
光度	カンデラ	cd			

表2. 基本単位を用いて表されるSI組立単位の例				
AI 立長 SI 組立単位	SI 組立単位			
名称	記号			
面 積 平方メートル	m ²			
体 積 立方メートル	m ³			
速 さ , 速 度 メートル毎秒	m/s			
加 速 度メートル毎秒毎秒	m/s^2			
波 数 毎メートル	m ⁻¹			
密度,質量密度キログラム毎立方メートル	kg/m ³			
面 積 密 度 キログラム毎平方メートル	kg/m ²			
比体積 立方メートル毎キログラム	m ³ /kg			
電 流 密 度 アンペア毎平方メートル	A/m ²			
磁 界 の 強 さ アンペア毎メートル	A/m			
量 濃 度 ^(a) , 濃 度 モル毎立方メートル	mol/m ⁸			
質量濃度 キログラム毎立方メートル	kg/m ³			
輝 度 カンデラ毎平方メートル	cd/m ²			
屈 折 率 ^(b) (数字の) 1	1			
比 透 磁 率 (b) (数字の) 1	1			
(a) 量濃度(amount concentration)は臨床化学の分野では物質濃度				

(substance concentration)ともよばれる。
 (b) これらは無次元量あるいは次元1をもつ量であるが、そのことを表す単位記号である数字の1は通常は表記しない。

表3. 固有の名称と記号で表されるSI組立単位

			SI 旭立単位		
組立量	名称	記号	他のSI単位による 表し方	SI基本単位による 表し方	
平 面 鱼	ラジアン ^(b)	rad	1 ^(b)	m/m	
立体鱼	ステラジアン ^(b)	$sr^{(c)}$	1 (b)	m^2/m^2	
周 波 数	ヘルツ ^(d)	Hz	-	s ⁻¹	
力	ニュートン	Ν		m kg s ⁻²	
压力,応力	パスカル	Pa	N/m ²	$m^{-1} kg s^{-2}$	
エネルギー,仕事,熱量	ジュール	J	N m	$m^2 kg s^2$	
仕 事 率 , 工 率 , 放 射 束	ワット	W	J/s	m ² kg s ⁻³	
電荷,電気量	クーロン	С		s A	
電位差(電圧),起電力	ボルト	V	W/A	$m^2 kg s^{-3} A^{-1}$	
静電容量	ファラド	F	C/V	$m^{-2} kg^{-1} s^4 A^2$	
電気抵抗	オーム	Ω	V/A	$m^2 kg s^{\cdot 3} A^{\cdot 2}$	
コンダクタンス	ジーメンス	s	A/V	$m^{2} kg^{1} s^{3} A^{2}$	
磁東	ウエーバ	Wb	Vs	$m^2 kg s^2 A^1$	
磁束密度	テスラ	Т	Wb/m ²	$\text{kg s}^{2} \text{A}^{1}$	
インダクタンス	ヘンリー	Н	Wb/A	$m^2 kg s^2 A^2$	
セルシウス温度	セルシウス度 ^(e)	°C		K	
光東	ルーメン	lm	cd sr ^(c)	cd	
照度	ルクス	lx	lm/m ²	m ⁻² cd	
放射性核種の放射能 ^(f)	ベクレル ^(d)	Bq		s ⁻¹	
吸収線量,比エネルギー分与,	ガレイ	Gv	J/kg	m ² e ⁻²	
カーマ		Gy	ong		
線量当量,周辺線量当量,	シーベルト (g)	Sv	J/kg	$m^2 e^{-2}$	
方向性線量当量,個人線量当量		50	5/Kg	III 8	
酸素活性	カタール	kat		s ⁻¹ mol	

酸素活性(1) ダール kat [s¹ mol]
 (w)SH接頭語は固有の名称と記号を持つ組立単位と組み合わせても使用できる。しかし接頭語を付した単位はもはや コヒーレントではない。
 (h)ラジアンとステラジアンは数字の1に対する単位の特別な名称で、量についての情報をつたえるために使われる。 実際には、使用する時には記号rad及びsrが用いられるが、習慣として組立単位としての記号である数字の1は明 示されない。
 (a)測光学ではステラジアンという名称と記号srを単位の表し方の中に、そのまま維持している。
 (d)へルツは周期現象についてのみ、ペラレルは放射性核種の統計的過程についてのみ使用される。 セルシウス度はケルビンの特別な名称で、セルシウス温度を表すために使用される。それシウス度とケルビンの
 (a)やレシウス度はケルビンの特別な名称で、温度器や温度開隔を表す整備はどもらの単位で表しても同じである。
 (b)放射性核種の放射能(activity referred to a radionuclide) は、しばしば誤った用語で"radioactivity"と記される。
 (g)単位シーベルト(PV,2002,70,205) についてはCIPM物告2 (CI-2002) を参照。

表4.単位の中に固有の名称と記号を含むSI組立単位の例

	SI 組立単位		
組立量	名称	記号	SI 基本単位による 表し方
粘度	パスカル秒	Pa s	m ⁻¹ kg s ⁻¹
カのモーメント	ニュートンメートル	N m	m ² kg s ⁻²
表 面 張 九	リニュートン毎メートル	N/m	kg s ⁻²
角 速 度	ラジアン毎秒	rad/s	m m ⁻¹ s ⁻¹ =s ⁻¹
角 加 速 度	ラジアン毎秒毎秒	rad/s^2	$m m^{-1} s^{-2} = s^{-2}$
熱流密度,放射照度	ワット毎平方メートル	W/m^2	kg s ⁻³
熱容量、エントロピー	ジュール毎ケルビン	J/K	$m^2 kg s^{2} K^{1}$
比熱容量, 比エントロピー	ジュール毎キログラム毎ケルビン	J/(kg K)	$m^{2} s^{2} K^{1}$
比エネルギー	ジュール毎キログラム	J/kg	$m^2 s^2$
熱伝導率	「ワット毎メートル毎ケルビン	W/(m K)	m kg s ⁻³ K ⁻¹
体積エネルギー	ジュール毎立方メートル	J/m ³	m ⁻¹ kg s ⁻²
電界の強さ	ボルト毎メートル	V/m	m kg s ⁻³ A ⁻¹
電 荷 密 度	クーロン毎立方メートル	C/m ³	m ⁻³ s A
表面電荷	「クーロン毎平方メートル	C/m ²	m ⁻² s A
電東密度, 電気変位	クーロン毎平方メートル	C/m ²	m ² s A
誘 電 卒	コアラド毎メートル	F/m	$m^{-3} kg^{-1} s^4 A^2$
透 磁 率	ペンリー毎メートル	H/m	m kg s ⁻² A ⁻²
モルエネルギー	ジュール毎モル	J/mol	$m^2 kg s^2 mol^1$
モルエントロピー, モル熱容量	ジュール毎モル毎ケルビン	J/(mol K)	$m^2 kg s^{-2} K^{-1} mol^{-1}$
照射線量(X線及びγ線)	クーロン毎キログラム	C/kg	kg ⁻¹ s A
吸収線量率	ダレイ毎秒	Gy/s	$m^{2} s^{3}$
放 射 強 度	ワット毎ステラジアン	W/sr	$m^4 m^{-2} kg s^{-3} = m^2 kg s^{-3}$
放射輝度	ワット毎平方メートル毎ステラジアン	$W/(m^2 sr)$	m ² m ⁻² kg s ⁻³ =kg s ⁻³
酵素活性濃度	カタール毎立方メートル	kat/m ³	$m^{-3} s^{-1} mol$

表 5. SI 接頭語						
乗数	名称	記号	乗数	名称	記号	
10^{24}	э 9	Y	10 ⁻¹	デシ	d	
10^{21}	ゼタ	Z	10^{-2}	センチ	с	
10^{18}	エクサ	Е	10^{-3}	ミリ	m	
10^{15}	ペタ	Р	10^{-6}	マイクロ	μ	
10^{12}	テラ	Т	10^{-9}	ナノ	n	
10^{9}	ギガ	G	10^{-12}	ピコ	р	
10^{6}	メガ	М	10^{-15}	フェムト	f	
10^3	+ 1	k	10^{-18}	アト	а	
10^{2}	ヘクト	h	10^{-21}	ゼプト	z	
10^{1}	デカ	da	10^{-24}	ヨクト	v	

表6.SIに属さないが、SIと併用される単位			
名称	記号	SI 単位による値	
分	min	1 min=60 s	
時	h	1 h =60 min=3600 s	
日	d	1 d=24 h=86 400 s	
度	۰	1°=(π/180) rad	
分	,	1'=(1/60)°=(π/10 800) rad	
秒	"	1"=(1/60)'=(π/648 000) rad	
ヘクタール	ha	1 ha=1 hm ² =10 ⁴ m ²	
リットル	L, 1	1 L=1 l=1 dm ³ =10 ³ cm ³ =10 ⁻³ m ³	
トン	t	$1 t=10^3 kg$	

表7. SIに属さないが、SIと併用される単位で、SI単位で

表される数値が実験的に得られるもの				
名称			記号	SI 単位で表される数値
電子	ボル	ŀ	eV	1 eV=1.602 176 53(14)×10 ⁻¹⁹ J
ダル	- F	\sim	Da	1 Da=1.660 538 86(28)×10 ⁻²⁷ kg
統一原	子質量単	単位	u	1 u=1 Da
天 文	単	位	ua	1 ua=1.495 978 706 91(6)×10 ¹¹ m

表8. SIに属さないが、SIと併用されるその他の単位

名称	記号	SI 単位で表される数値
バール	bar	1 bar=0.1MPa=100 kPa=10 ⁵ Pa
水銀柱ミリメートル	mmHg	1 mmHg≈133.322Pa
オングストローム	Å	1 Å=0.1nm=100pm=10 ⁻¹⁰ m
海 里	Μ	1 M=1852m
バーン	b	$1 \text{ b}=100 \text{ fm}^2=(10^{-12} \text{ cm})^2=10^{-28} \text{ m}^2$
ノット	kn	1 kn=(1852/3600)m/s
ネーパ	Np	SI単位しの粉結的な間接け
ベル	В	対数量の定義に依存。
デシベル	dB -	

表9. 固有の名称をもつCGS組立単位

名称	記号	SI 単位で表される数値	
エルグ	erg	1 erg=10 ⁻⁷ J	
ダイン	dyn	1 dyn=10 ⁻⁵ N	
ポアズ	Р	1 P=1 dyn s cm ⁻² =0.1Pa s	
ストークス	St	$1 \text{ St} = 1 \text{ cm}^2 \text{ s}^{\cdot 1} = 10^{\cdot 4} \text{ m}^2 \text{ s}^{\cdot 1}$	
スチルブ	$^{\mathrm{sb}}$	$1 \text{ sb} = 1 \text{ cd cm}^{-2} = 10^4 \text{ cd m}^{-2}$	
フォト	ph	1 ph=1cd sr cm ⁻² =10 ⁴ lx	
ガ ル	Gal	1 Gal =1cm s ⁻² =10 ⁻² ms ⁻²	
マクスウエル	Mx	$1 \text{ Mx} = 1 \text{G cm}^2 = 10^{-8} \text{Wb}$	
ガウス	G	1 G =1Mx cm ⁻² =10 ⁻⁴ T	
エルステッド ^(a)	Oe	1 Oe ≙ (10 ³ /4 π)A m ⁻¹	
(a) 3元系のCGS単位系とSIでは直接比較できないため、等号「 ≙ 」			

は対応関係を示すものである。

		表	(10.	SIに 帰	属さないその他の単位の例
名称				記号	SI 単位で表される数値
キ	ユ	IJ	ſ	Ci	1 Ci=3.7×10 ¹⁰ Bq
$\scriptstyle u$	\sim	トゲ	\sim	R	$1 \text{ R} = 2.58 \times 10^{-4} \text{C/kg}$
ラ			K	rad	1 rad=1cGy=10 ⁻² Gy
$\scriptstyle u$			Д	rem	1 rem=1 cSv=10 ⁻² Sv
ガ	3	/	7	γ	$1 \gamma = 1 \text{ nT} = 10^{-9} \text{T}$
フ	x	N	111		1フェルミ=1 fm=10 ⁻¹⁵ m
メー	ートルヌ	系カラ:	ット		1 メートル系カラット= 0.2 g = 2×10 ⁻⁴ kg
ŀ			ル	Torr	1 Torr = (101 325/760) Pa
標	進っ	大気	圧	atm	1 atm = 101 325 Pa
カ	П	IJ	Į	cal	1 cal=4.1858J(「15℃」カロリー), 4.1868J (「IT」カロリー), 4.184J(「熱化学」カロリー)
3	カ		~		$1 = 1 = 10^{-6} m$