

## 金属塩凝集剤による RNA ウイルスの不活化効果

岐阜大学工学部

同上

同上

同上

五条 貴仁

正会員 松下 拓

正会員 松井 佳彦

正会員 井上 隆信

### 1 はじめに

凝集剤は数 nm~ $\mu$ m のコロイド懸濁質を集塊させ、沈殿により分離させる働きがある。ところが、アルミニウム系凝集剤が有機物を凝集させるだけでなくウイルスを不活化させる働きがあることがわってきた。そこで本研究では、PAC、硫酸バンド、 $\text{AlCl}_3$ 、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  を用いて RNA ウイルスの不活化力を検討する。

### 2 用いたファージと凝集剤

#### 2-1 大腸菌ファージ

本研究では 1 本鎖 RNA をもつウイルスとして、大腸菌ファージ Q $\beta$ （以下 Q $\beta$  と記す）を用いて、不活化実験を行った。Q $\beta$  はエンベロープを持たず、直径が 23nm である。試料中の Q $\beta$  は宿主菌として *Escherichia coli* K12F<sup>+</sup>(A/ $\lambda$ )を用いたブラック形成法で定量し、PFU 単位で表示した。

#### 2-2 金属塩凝集剤

本実験に用いた凝集剤は、一般に浄水場で用いられている PAC（ポリ塩化アルミニウム）と硫酸バンド、一般試薬の  $\text{AlCl}_3$  と  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  の 4 種類である。PAC は高塩基度 PAC（住友化学工業製、比重 1.23、塩基度 62.5%、 $\text{Al}_2\text{O}_3$  を重量比で 10.3% 含む）を用い、硫酸バンドは住友化学工業製（比重 1.32、 $\text{Al}_2\text{O}_3$  含有量 8%）を用いた。 $\text{AlCl}_3$ 、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  はそれぞれ試薬（Wako 製）を Milli-Q 水に 500mgAl/L となるように溶解させたものを使用した。

### 3 実験方法

#### 3-1 アルミニウムフロック溶解ならびにファージ誘出方法

アルミニウム系凝集剤により形成されるフロックは pH9.5 以上で溶解する。しかし、その際の操作で、Q $\beta$  は不活化を受ける事が分かっている。本研究では pH を 9.5 としてフロックを溶解する際にビーフエキス溶液（BE 溶液）を共存させた。BE 溶液は、固体の BE を濃度 6% になるようにイオン交換水に溶かし、NaOH により pH を 9.5 に合わせ作成した。この BE 溶液を用い、pH 操作に伴うファージの不活化効果を軽減させることによりファージの計測が可能となるか検討した。

Milli-Q 水に 30mgAl/L になるように  $\text{AlCl}_3$  を添加し、12 日間攪拌した。ここに Q $\beta$  を添加し、6 時間接触させた。6 時間後にサンプルを採取し、遠心分離によりフロック吸着部（沈殿）と非吸着部（上澄み）に分離させた。非吸着 Q $\beta$  はそのまま測定し、吸着 Q $\beta$  は BE 溶液にてフロックを溶かし測定した。

#### 3-2 金属塩凝集剤によるウイルスの不活化

上記の 4 種類の凝集剤の Q $\beta$  に対する不活化効果を調べた。水温 20℃ の Milli-Q 水もしくは河川水に、 $10^6$ PFU/mL になるように Q $\beta$  を添加した。そこに凝集剤を 0.01、0.1、1、

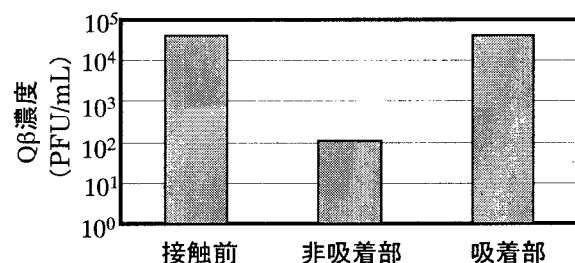


図1 フロック溶解実験結果

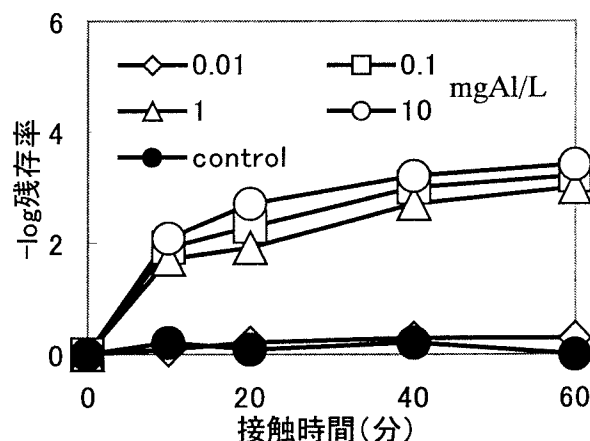


図2 Milli-Q水中における $\text{AlCl}_3$ の不活化効果

10mgAl/L になるように添加し、ファージと接触させた。0、10、20、40、60 分後においてファージ濃度を計測した。

#### 4 結果と考察

##### 4-1 BE 溶液の有効性について

図 1 に示す通り、非吸着部は接触前より 2.6log の低下が見られ、99%以上がフロックに吸着したことが分かった。また、フロックに吸着した Qβ はビーフエキス溶液を用いることですべて回収することができた。つまり BE 溶液を用いることにより Qβ に影響を与えずにフロックを溶解することが確認できた。本研究ではこの方法でフロックを溶解しファージの計測を行った。

##### 4-2 Milli-Q 水と河川水における不活化効果

図 2 に一例として Milli-Q 水における  $AlCl_3$  の不活化効果を示した。0.01mgAl/L では 60 分の間に不活化はほとんどなかった。それ以上の Al 濃度では濃度に依存せず 10 分で 2log、60 分で 4log 程度の不活化を示した。

60 分後の Milli-Q 水における凝集剤の不活化の程度を図 3 に示した。PAC が 4 種類の中で最も不活化力が高く Al 濃度 0.01mg/L でも 4log 以上の不活化が見られた。その他の凝集剤は、Al 濃度 0.01mg/L では、ほとんど不活化がないが、それ以上の濃度では 2～4log ほどの不活化があった。

##### 4-3 河川水中での不活化効果の抑制

河川水においては、図 4 に示す通り、すべての凝集剤で 0.01、0.1mgAl/L ではほとんど不活化が見られなかった。1.0mgAl/L で不活化力は 1log 程度であった。10mgAl/L では PAC が一番高い不活化力を示した。

図 5 に、一例として 60 分後における PAC の Milli-Q 水と河川水での不活化力の比較を示した。Milli-Q 水では、高い不活化力を示すが、河川水においてはその力も著しく減少している。1mgAl/L では 4.2log、10mgAl/L では 2.4log の差が出た。他の凝集剤に関しても同様の結果を得た。河川水中に含まれる有機物などが、不活化の低減に寄与している可能性がある。

#### 5 おわりに

本研究では Qβ に対するアルミニウム系凝集剤の不活化効果を Milli-Q 水および河川水中で調べ、以下の知見を得た。

- ①金属塩凝集剤は Qβ を不活化した。
- ②PAC は Milli-Q 水中においては Al 濃度に寄らず 4log 以上の不活化力を示した。
- ③PAC 以外の凝集剤は Al 濃度 0.01mg/L ではほとんど不活化しなかった。
- ④河川水中において、不活化力は大きく減少した。

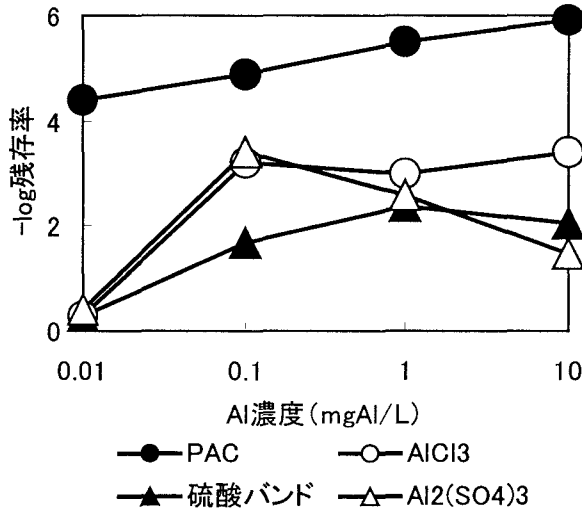


図3 Milli-Q水中における60分後の残存率の比較

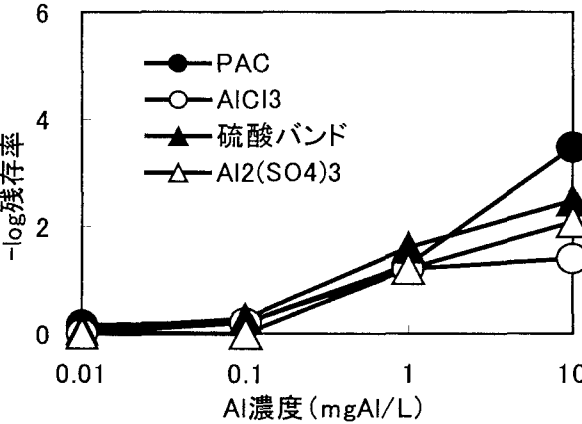


図4 河川水中における60分後の残存率の比較

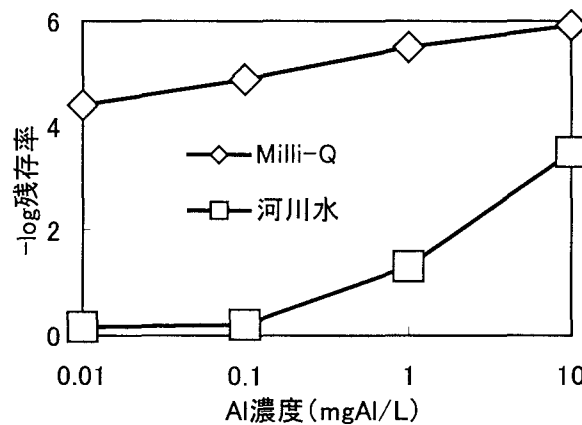


図5 Milli-Q水中、河川水中での不活化力の比較