研究レポート集 2017

Report 第18号

THE YAKUMO FOUNDATION FOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

公益財団法人 八雲環境科学振興財団

設立の趣旨

今日の環境問題は、従来の公害問題とは異なり、日常的な事業活動や生活活動に起因する部分が非常に多く、また、地球環境問題が示すように空間的・時間的広がりをもつ深刻な問題であります。岡山県は、豊かな自然と温暖な気候に恵まれた風土を背景に、古代吉備文化に代表される古い歴史と多彩な文化を持つ住みよい地域であります。しかし、より便利で快適な暮らしへと進展していく中で、現状の自然環境，社会環境，生活環境などは必ずしもバランスのとれた状態とは言い難く、多くの問題を抱えているものと思われます。

株式会社エイト日本技術開発（旧株式会社エイトコンサルタント）は、昭和３０年に八雲測量社として創業し、今日まで「自然との共生」を基本理念に、地域の社会資本整備の要請に応えて参りました。これまでの足跡を振り返りますと、今日の成果を成し遂げることができたのも、社会全般のご指導とご支援によるものと深く感謝するとともに、これまで以上の社会貢献ができないかと日頃配意しておりました。

このような中で、２１世紀に向けた「環境」に関するテーマについて、産官学がより一体となった学術研究面での充実および地球環境保全を視野に入れた国際的な意識の醸成を奨励することが必要であると考えました。そして、環境科学に関する調査研究の推進や創造性豊かな研究者の養成を支援することにより、岡山県における学術および技術開発の進展並びに国際研究交流の増進に貢献していくことを目的として、平成１０年７月２９日、「財団法人 八雲環境科学振興財団」が設立され、おかげさまで１９年目を迎えました。

今後とも当財団の育成につきまして、御協力、御支援を賜りますよう、よろしくお願い申し上げます。

公益財団法人 八雲環境科学振興財団
代表理事　小　谷　裕　司

目　次

１．巻頭言

今年の夏、モンゴルの研究所や大学との包括協定の締結のため、学長と共にモンゴルに公用で出張する機会があった。モンゴルは２回目の出張であり、今回は教員や学生の交換プログラムの実現のための打ち合わせが目的の一つであった。現地に到着し、両大学の交流協定締結セレモニーの後、モンゴル国立教育大学のお世話でウランバートルの郊外を訪問し、ゲルで一泊することになった。

ウランバートル市内から郊外に車で移動すると、見渡す限り草原が広がり、羊や牛、馬の放牧が至るところで見られる。これらの家畜は、ほとんど一日中草を食べているのだが、棘のある植物や家畜に有毒な成分を含む植物が所々に食べ残されていた。気になってキャンプ地付近の植物を詳しく見ると、私が研究しているカヤツリグサ科植物が多いことがわかった。カヤツリグサ科植物が優占する理由として、家畜は植物を食べる際、植物の根元まで強い力で引き抜くために、根が浅い１年草のイネ科植物は少なくなったことが考えられる。カヤツリグサ科植物は、モンゴルの家畜の餌として重要であり、同様な植物相がヒマラヤの高山帯の放牧地でも見られ遺伝資源として重要である。牧草地に生えている植物を数種類とり、イネ科植物とカヤツリグサ科植物の区別点をお世話になった方々に説明した。皆さんは、草原の 10m 四方には、10 種以上の植物が生えていて、その中でもカヤツリグサ科植物が 80%以上を占めていると説明すると驚いていた。家畜が食べる牧草の種類に関しては、ほとんど関心がなかったと思われる。また、カヤツリグサ科植物の分類ができる研究者もほとんどいないのではと推測した。

外国の大学や地方都市の発展に貢献できるプロジェクトは、高度な研究装置や精密機械を導入し先進的な研究を共同で行い、東アジアの国々の成長を援助する試みがなされてきた。ところが、東南アジアの地方の大学を訪問すると、最新の測定機器が設置されているが、実験設備やソフト面が整備されていないため、機器の活用が困難な場面をよく見かける。一方、植物のフロラ調査は、最新の機器はほとんど必要なく、カメラ、コレクションバック、新聞紙、野冊、野帳、地図等あれば充分である。新しい機器としてはGPS機能の付いたカメラぐらいである。この研究で特に重要なものは、種名を同定する図鑑や文献である。日本の植物相は、これまでに多くの植物図鑑や図譜が出版されており、研究者や学生が利用できる状況にある。モンゴルは、ロシア語の文献が多く、自国の研究はこれからという印象を受けた。

モンゴルの生物に関しては、地域固有種が多く、大学から調査隊を派遣し、現地の研究者と合同で、特定の地域の動物や植物相を調査し報告書にまとめることを検討している。この調査では、今まで文献に記載されていなかった動物や植物が発見される可能性が高い。また、共同研究を通して、生物の分類の知識を持った若手研究者の育成にも貢献したい。最先端の機器を利用した新しい研究も重要であるが、このような生物相の調査は、それぞれの国の生物多様性の理解や、環境保全のための基礎的なデータとして重要であり、これから積極的に推進することも大切である。

選考委員　　星　野　卓　二
（岡山理科大学　副学長）

２．財団の概要

名　　称　公益財団法人　八雲環境科学振興財団

所 在 地　岡山県岡山市北区津島京町三丁目１番21号
（株式会社エイト日本技術開発内）

主務官庁　岡山県教育委員会

設立許可　平成10年７月29日
（平成14年８月26日　特定公益増進法人に認定）
（平成24年10月１日　公益財団法人に移行）

出 捐 者　株式会社エイト日本技術開発 他

基本財産　２億７，００５万円（平成２９年３月末現在）

事業概要　（１）環境研究助成事業
環境科学に関する研究費用の助成（年間１２件程度）
①特定研究（テーマ指定）　一件当たり１００万円以内
②一般研究（テーマ自由）　一件当たり　５０万円以内
（２）国際研究交流助成事業
環境科学に関わる海外渡航費用の助成及び海外研究者招聘費用の助成（年間４件程度）　一件当たり　２０万円以内
（３）研究集会助成事業
環境科学に関する研究集会等の開催費用の助成（年間２件程度）
一件当たり　３０万円以内

助成対象　岡山県内の大学等の研究機関に所属する研究者又は研究グループ

３．役員等名簿

役職名	氏　名	現　職　等
代表理事	小谷　裕司	㈱エイト日本技術開発 代表取締役社長
理　事	河野伊一郎	倉敷芸術科学大学学長
	赤木　靖春	岡山理科大学名誉教授
	沖　　陽子	岡山県立大学副学長
	辻　　英明	岡山県立大学学長
	佐藤　豊信	岡山商科大学大学院経済学研究科教授
	伊丹　文雄	E・Jホールディングス㈱ 顧問
監　事	西田　秀史	弁護士
	石村　顕示	税理士
	小谷　浩治	E・Jホールディングス㈱ 管理本部副本部長
評 議 員	本水　昌二	岡山大学名誉教授
	杉尾　　剛	岡山大学名誉教授・杉尾化学合成独立栄養細菌研究所所長
	波田　善夫	岡山理科大学生物地球学部教授
	西垣　　誠	岡山大学名誉教授
	阿部　宏史	岡山大学大学院環境生命科学研究科教授
	鳥越　良光	岡山商科大学名誉教授
	岩田　正晴	ロック地域計画事務所 代表
	谷本　俊夫	日本インフラマネジメント㈱ 顧問
	藤井　　勉	㈱エイト日本技術開発　専務取締役
選考委員	稲井　　寛	岡山県立大学情報工学部教授
	坂本　圭児	岡山大学大学院環境生命科学研究科教授
	星野　卓二	岡山理科大学副学長
	大久保賢治	岡山大学大学院環境生命科学研究科教授
	神崎　　浩	岡山大学副学長
	永井　泉治	㈱エイト日本技術開発　取締役常務執行役員

4．定款

公益財団法人 八雲環境科学振興財団 定 款

第1章 総 則

（名 称）
第 1条 この法人は、公益財団法人八雲環境科学振興財団（英文名：Yakumo Foundation for Environmental Science）と称する。

（事業所）
第 2条 この法人は、主たる事務所を岡山県岡山市に置く。

第2章 目的及び事業

（目 的）
第 3条 この法人は、環境科学に関する調査研究の推進や創造性豊かな研究者の養成を援助・支援することによって、環境科学の振興を図り、もって学術及び技術開発の進展に寄与することを目的とする。

（事 業）
第 4条 この法人は、前条の目的を達成するため、次の事業を行う。

（1）環境科学に関する調査研究の助成及び研究者の養成援助
（2）環境科学に関する国際研究集会等への派遣並びに国際研究交流の助成
（3）環境科学に関する学術講演会、フォーラム、シンポジウム、研究集会等の助成
（4）環境教育活動への支援等による環境科学の啓発
（5）環境科学に関するフォーラム、シンポジウム、セミナー、研究発表会等の開催
（6）出版物の編集および刊行
（7）環境科学に関する技術開発・実用化に向けた研究開発等の企画、資料・情報の収集及び提供、調査・研究及び支援
（8）その他前条の目的を達成するために必要な事業

2 前項の事業については、岡山県において行うものとする。

（事業年度）
第 5条 この法人の事業年度は、毎年4月1日に始まり、翌年3月31日に終わる。

第3章 財産及び会計

（財産の種別）
第 6条 この法人の財産は、基本財産及びその他の財産の2種とする。

2 基本財産は、この法人の目的である事業を行うために不可欠なものとして理事会及び評議員会で定めた財産とする。

3 その他の財産は、基本財産以外の財産とする。

（基本財産の維持及び処分）
第 7条 基本財産については、適正な維持及び管理に努めるものとする。

2 この法人の公益目的事業遂行上やむを得ない理由があるときは、理事会の議決に加わることのできる理事の3分の2以上の議決を経て、評議員会において、議決に加わることのできる評議員の3分の2以上の議決により承認を得た後、基本財産の全部若しくは一部を処分又は担保に提供することができる。

（財産の管理・運用）
第 8条 この法人の財産の管理及び運用は、理事長が行うものとし、その方法は理事会で定める。

2 財産は、安全確実な方法で運用しなければならない。

（事業計画及び収支予算）
第 9条 この法人の事業計画書、収支予算書、資金調達及び設備投資の見込みを記載した書類については、毎事業年度の開始日の前日までに、理事長が作成し、理事会の決議を経て、評議員会の承認を受けなければならない。これらを変更する場合も同様とする。

2 前項の書類については、毎事業年度の開始日の前日までに行政庁に提出し、主たる事務所に、当該事業年度が終了するまでの間備え置き、一般の閲覧に供するものとする。

（事業報告及び決算）
第10条 この法人の事業報告及び決算については、毎事業年度終了後、理事長が次の書類を作成し、監事の監査を受けた上で、理事会の承認を経て、定時評議員会に提出し、第1号及び第2号の書類についてはその内容を報告し、第3号から第6号までの書類については承認を受けなければならない。

（1）事業報告書
（2）事業報告の附属明細書
（3）貸借対照表
（4）正味財産増減計算書
（5）貸借対照表及び正味財産増減計算書の附属明細書
（6）財産目録

2 前項の計算書類等については、毎事業年度の終了後3ヶ月以内に行政庁に提出するものとする。

3 第1項の書類のほか、次の書類を主たる事務所に5年間備え置き、一般の閲覧に供するとともに、定款を主たる事務所に備え置き、一般の閲覧に供するものとする。

（1）監査報告
（2）理事及び監事並びに評議員の名簿
（3）理事及び監事並びに評議員の報酬等の支給の基準を記載した書類
（4）運営組織及び事業活動の状況の概要及びこれらに関する数値のうち重要なものを記載した書類

（公益目的取得財産残額の算定）
第11条 理事長は、公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律施行規則第48条の規定に基づき、毎事業年度、当該事業年度の末日における公益目的取得財産残額を算定し、前条第3項第4号の書類に記載するものとする。

（長期借入金及び重要な財産の処分又は譲受け）
第12条 この法人が資金の借入をしようとするときは、その事業年度の収入をもって償還する短期借入金を除き、評議員会においては評議員の総数及び理事会においては理事の総数の3分の2以上の議決を経なけれ

ばならない。
2 この法人が重要な財産の処分又は譲受けを行おうとするときも、前項と同じ議決を経なければならない。

(会計原則)
第13条 この法人の会計は、一般に公正妥当と認められる公益法人の会計の慣行に従うものとする。

第4章 評議員

(定 数)
第14条 この法人に、評議員7名以上10名以内を置く。

(評議員の選任及び解任)
第15条 評議員の選任及び解任は、一般社団法人及び一般財団法人に関する法律第179条から第195条の規定に従い、評議員会において行う。
2 評議員を選任する場合には、次の各号の要件をいずれも満たさなければならない。
(1) 各評議員について、次のイからへに該当する評議員の合計数が評議員の総数の3分の1を超えないものであること。
イ 当該評議員及びその配偶者又はその親族
ロ 当該評議員と婚姻の届出をしていないが事実上婚姻関係と同様の事情にある者
ハ 当該評議員の使用人
ニ ロ又はハに掲げる者以外の者であって、当該評議員から受ける金銭その他の財産によって生計を維持しているもの
ホ ハ又はニに掲げる者の配偶者
へ ロからニまでに掲げる者の親族であって、これらの者と生計を一にするもの
(2) 他の同一の団体(公益法人を除く。)の次のイからニに該当する評議員の合計数が評議員の総数の3分の1を超えないものであること。
イ 理事
ロ 使用人
ハ 当該他の同一の団体の理事以外の役員(法人でない団体で代表者又は管理人の定めのあるものにあっては、その代表者又は管理人)又は業務を執行する社員である者
ニ 次に掲げる団体においてその職員(国会議員及び地方公共団体の議会の議員を除く。)である者
① 国の機関
② 地方公共団体
③ 独立行政法人通則法第2条第1項に規定する独立行政法人
④ 国立大学法人法第2条第1項に規定する国立大学法人又は同条第3項に規定する大学共同利用機関法人
⑤ 地方独立行政法人法第2条第1項に規定する地方独立行政法人
⑥ 特殊法人(特別の法律により特別の設立行為をもって設立された法人であって、総務省設置法第4条第 15 号の規定の適用を受けるものをいう。)又は認可法人(特別の法律により設立され、かつ、その設立に関し行政官庁の認可を要する法人をいう。)
3 評議員は、この法人の理事又は監事若しくは使用人を兼ねることができない。
4 この法人の評議員のうちには、評議員のいずれか1名及びその親族その他特殊の関係がある者の合計数が評議員総数(現在数)の3分の1を超えて含まれることになってはならない。

5 評議員に異動があったときは、2週間以内に登記し、登記事項証明書等を添え、遅滞なくその旨を行政庁に届け出なければならない。

(権 限)
第16条 評議員は、評議員会を構成し、第20条に規定する事項を決議する。

(任 期)
第17条 評議員の任期は、選任後4年以内に終了する事業年度のうち最終のものに関する定時評議員会の終結の時までとする。ただし、再任を妨げない。
2 任期満了前に退任した評議員の補欠として選任された評議員の任期は、退任した評議員の任期の満了する時までとする。
3 評議員は、第14条に定める定数に足りなくなるときは、任期の満了又は辞任により退任した後も、新たに選任された者が就任するまで、なお評議員としての権利義務を有する。

(報酬等)
第18条 評議員は無報酬とする。
2 評議員には、その職務を行うために要する費用の支払いをすることができる。

第5章 評議員会

(構 成)
第19条 評議員会は、すべての評議員をもって構成する。

(権 限)
第20条 評議員会は、次の事項について決議する。
(1) 理事及び監事の選任及び解任
(2) 理事及び監事の報酬等の額
(3) 役員及び評議員に対する報酬等の支給の基準
(4) 定款の変更
(5) 事業計画及び収支予算の承認
(6) 貸借対照表及び正味財産増減計算書類の承認並びにこれらの付属明細書の承認
(7) 残余財産の処分
(8) 基本財産の処分又は除外の承認
(9) その他評議員会で決議するものとして法令又はこの定款で定められた事項
2 前項の規定にかかわらず、個々の評議員会においては、第23条第1項の書面に記載した評議員会の目的である事項以外の事項は、決議することができない。

(種類及び開催)
第21条 評議員会は、定時評議員会として毎年度5月に1回開催するほか、必要がある場合に開催する。

(招 集)
第22条 評議員会は、法令に別段の定めがある場合を除き、理事会の決議に基づき理事長が招集する。
2 評議員は、理事に対し、評議員会の目的である事項及び招集の理由を示して、評議員会の招集を請求することができる。

3 前項による請求があったときは、理事長は遅滞なく評議員会を招集しなければならない。

(招集の通知)
第23条 理事長は、評議員会の開催日の5日前までに、評議員に対して、会議の日時、場所、目的である事項を記載した書面をもって招集の通知を発しなければならない。
2 前項にかかわらず、評議員全員の同意があるときは、招集の手続きを経ることなく、評議員会を開催することができる。

(議 長)
第24条 評議員会の議長は、その評議員会において、出席した評議員の中から選出する。

(定足数)
第25条 評議員会は、評議員の過半数の出席がなければ開催することができない。

(決 議)
第26条 評議員会の決議は、法令又はこの定款に別段の定めがある場合を除き、決議について特別の利害関係を有する評議員を除く評議員の過半数が出席し、その過半数をもって行なう。
2 前項の規定にかかわらず、次の決議は、決議について特別の利害関係を有する評議員を除く評議員の3分の2以上に当る多数をもって行なわなければならない。
(1) 監事の解任
(2) 評議員に対する報酬等の支給の基準
(3) 定款の変更
(4) 基本財産の処分又は除外の承認
(5) その他法令で定められた事項
3 理事又は監事を選任する議案を決議するに際しては、各候補者ごとに第1項の決議を行なわなければならない。理事又は監事の候補者の合計数が第30条に定める定数を上回る場合には、過半数の賛成を得た候補者の中から得票数の多い順に定数の枠に達するまでの者を選任することとする。

(決議の省略)
第27条 理事が評議員会の目的である事項について提案した場合において、その提案について、議決に加わることのできる評議員の全員が書面又は電磁的記録により同意の意思表示をしたときは、その提案を可決する旨の評議員会の決議があったものとみなす。

(報告の省略)
第28条 理事が評議員の全員に対し、評議員会に報告すべき事項を通知した場合において、その事項を評議員会に報告することを要しないことについて、評議員の全員が書面又は電磁的記録により同意の意思表示をしたときは、その事項の評議員会への報告があったものとみなす。

(議事録)
第29条 評議員会の議事録については、法令で定めるところにより、議事録を作成する。
2 議長とその会議に出席した評議員2人は、前項の議事録に記名押印する。

第6章 役員等

(役員の設置)
第30条 この法人に、次の役員を置く。
(1) 理事 6名以上9名以内
(2) 監事 3名

2 理事のうち1名を理事長とし、この者をもって、一般社団法人及び一般財団法人に関する法律上の代表理事とする。

(役員の選任)
第31条 理事及び監事は、評議員会の決議によって選任する。
2 理事長は、理事会の決議によって理事の中から選定する。
3 監事は、この法人の理事又は使用人を兼ねることができない。
4 理事のうち、理事のいずれか1名とその配偶者又はその親族その他法令で定める特別の関係にある者の合計数は、理事総数の3分の1を超えてはならない。監事についても、同様とする。
5 他の同一の団体(公益法人を除く)の理事又は使用人である者その他これに準ずる相互に密接な関係にある者として法令で定める者である理事の合計数は、理事の総数の3分の1を超えてはならない。監事についても、同様とする。
6 この法人の理事のうちには、理事のいずれか1名及びその親族その他特殊の関係がある者の合計数が、理事総数(現在数)の3分の1を超えて含まれることとなってはならない。
7 この法人の監事には、この法人の理事及び評議員並びにこの法人の使用人が含まれてはならない。また、監事は、相互に親族その他特殊の関係があってはならない。
8 理事又は監事に異動があったときは、2週間以内に登記し、登記事項証明書等を添え、遅滞なくその旨を行政庁に届け出るものとする。

(理事の職務及び権限)
第32条 理事は、理事会を構成し、法令及びこの定款で定めるところにより、職務を執行する。
2 理事長は、法令及びこの定款で定めるところにより、この法人を代表し、その業務を執行する。
3 理事長は、毎事業年度に4ヶ月を超える間隔で2回以上、自己の職務の執行の状況を理事会に報告しなければならない。

(監事の職務及び権限)
第33条 監事は、次に掲げる職務を行う。
(1) 理事の職務執行を監査し、法令で定めるところにより、監査報告を作成する。
(2) 監事は、いつでも、理事及び使用人に対して事業の報告を求め、この法人の業務及び財産の状況の調査をすること、並びに各事業年度に係る計算書類及び事業報告書を監査すること。
(3) 評議員会及び理事会に出席し、必要あると認めるときは意見を述べること。
(4) 理事が不正の行為をし、若しくはその行為をするおそれがあると認めるとき、又は法令若しくは定款に違反する事実若しくは著しく不当な事実があると認めるときは、これを理事会に報告すること。
(5) 前号の報告をするために必要があるときは、理事長に理事会の招集を請求すること。但し、その請求があった日から5日以内に、2週間以内の日を理事会とする招集通知が発せられない場合は、直接理事会を招集すること。
(6) 理事が評議員会に提出しようとする議案、書類その他法令で定めるものを調査し、法令若しくは定款に違

反し、又は著しく不当な事項があると認めるときは、その調査の結果を評議員会に報告すること。
(7) 理事がこの法人の目的の範囲外の行為その他法令若しくは定款に違反する行為をし、又はその行為をするおそれがある場合において、その行為によってこの法人に著しい損害が生ずるおそれがあるときは、その理事に対し、その行為をやめることを請求すること。
(8) その他監事に認められた法令上の権限を行使すること。

(役員の任期)
第34条 理事及び監事の任期は、選任後 2 年以内に終了する事業年度のうち最終のものに関する定時評議員会の終結の時までとする。ただし、再任を妨げない。
2 補欠として選任された理事又は監事の任期は、前任者の任期の満了する時までとする。
3 理事又は監事は、第30条に定める定数に足りなくなるときは、辞任又は任期終了後においても、新たに選任された者が就任するまで、なお理事又は監事としての権利義務を有する。

(役員の解任)
第35条 理事又は監事が、次のいずれかに該当するときは、評議員会の決議によって解任することができる。ただし、監事を解任する場合は、議決に加わることのできる評議員の3分の2以上の議決に基づいて行わなければならない。
(1) 職務上の義務に違反し、又は職務を怠ったとき
(2) 心身の故障のため、職務の執行に支障があり、又はこれに堪えないと認められるとき。

(報酬等)
第36条 役員は無報酬とする。
2 役員には、その職務を執行するために要する費用の支払いをすることができる。

(取引の制限)
第37条 理事が次に掲げる取引をしようとする場合は、その取引について重要な事実を開示し、理事会の承認を得なければならない。
(1) 自己又は第三者のためにする、この法人の事業の部類に属する取引
(2) 自己又は第三者のためにする、この法人との取引
(3) この法人がその理事の債務を保証することその他理事以外の者との間におけるこの法人とその理事との利益が相反する取引
2 前項の取引をした理事は、その取引の重要な事実を遅滞なく、理事会に報告しなければならない。

(責任の免除)
第38条 この法人は、役員の一般社団法人及び一般財団法人に関する法律第198条において準用される第111条第1項の賠償責任について、法令に定める要件に該当する場合には、理事会の決議によって、賠償責任額から法令に定める最低責任限度額を控除して得た額を限度として、免除することができる。

(顧 問)
第39条 この法人に、顧問を若干名おくことができる。
2 顧問は、学識経験者又はこの法人に功労のあった者のうちから、理事会において選任する。
3 顧問の任期は、2年とする。ただし、再任を妨げない。
4 顧問は、無報酬とする。ただし、その職務を行うために要する費用の支払いをすることができる。

(顧問の職務)
第40条 顧問は、理事長の諮問に応え、理事長に対し、意見を述べることができる。

第7章 理事会

(構 成)
第41条 理事会は、すべての理事をもって構成する。

(権 限)
第42条 理事会は、次の職務を行なう。
(1) 評議員会の日時及び場所並びに目的である事項の決定
(2) 規則の制定、変更及び廃止に関する事項
(3) 前各号に定めるもののほか、この法人の業務執行の決定
(4) 理事の職務の執行の監督
(5) 理事長の選任及び解職
2 理事会は次に掲げる事項その他の重要な業務執行の決定を、理事に委任することができない。
(1) 重要な財産の処分及び譲受け
(2) 多額の借財
(3) 重要な使用人の選任及び解任
(4) 第38条の責任の免除

(種類及び開催)
第43条 理事会は、通常理事会及び臨時理事会の2種とする。
2 通常理事会は、毎事業年度に4ヶ月を超える間隔で2回以上開催する。
3 臨時理事会は、次の各号の一に該当する場合に開催する。
(1) 理事長が必要と認めたとき
(2) 理事長以外の理事から会議の目的である事項を記載した書面をもって理事長に招集の請求があったとき
(3) 前号の請求があった日から5日以内に、その日から2週間以内の日を理事会とする理事会の招集通知が発せられない場合に、その請求をした理事が招集したとき
(4) 第33条第5号の規定により、監事から理事長に招集の請求があったとき、又は監事が招集したとき

(招 集)
第44条 理事会は、理事長が招集する。ただし、前条第3項第3号により理事が招集する場合及び前条第3項第4号後段により監事が招集する場合を除く。
2 理事長は、前条第3項第2号又は第4号前段に該当する場合は、その請求の日から2週間以内の日を臨時理事会の開催日として招集しなければならない。
3 理事会を招集するときは、会議の日時、場所、目的である事項を記載した書面をもって、開催日の5日前までに、役員に通知しなければならない。
4 前項の規定にかかわらず、役員の全員の同意があるときは、招集の手続きを経ることなく理事会を開催することができる。
5 理事長に事故があるとき又は理事長が欠けたときは、各理事が理事会を招集する。

（議　長）
第45条　理事会の議長は、理事長がこれに当たる。

（定足数）
第46条　理事会は、理事の過半数以上の出席がなければ会議を開くことができない。

（決　議）
第47条　理事会の決議は、決議について特別の利害関係を有する理事を除く理事の過半数が出席し、その過半数をもって行なう。

（決議の省略）
第48条　理事が理事会の決議の目的である事項について提案した場合において、その提案について、議決に加わることのできる理事の全員が書面又は電磁的記録により同意の意思表示をしたときは、その提案を可決する旨の理事会の決議があったものとみなすものとする。ただし、監事が異議を述べたときは、その限りではない。

（報告の省略）
第49条　理事又は監事が理事及び監事の全員に対し、理事会に報告すべき事項を通知したときは、その事項を理事会に報告することを要しない。
　2　前項の規定は、第32条第3項の規定による報告には適用しない。

（議事録）
第50条　理事会の議事については、法令で定めるところにより、議事録を作成する。
　2　出席した理事長及び監事は、前項の議事録に記名押印する。

第8章　委員会

（委員会）
第51条　この法人の事業を推進するために、理事会はその決議により、委員会を設置することができる。
　2　委員会の任務、構成及び運営に関し必要な事項は、理事会の決議により別に定める。

（選考委員会及び委員構成等）
第52条　この法人は、第4条第 1 項第1号から第3号に定める助成の対象となる者を選考するために、選考委員会を置く。
　2　選考委員会は、6名以上9名以内の委員をもって組織する。
　3　選考委員会の委員は、その3分の2以上が学識経験者でなければならない。
　4　前項の委員は、この法人の理事及び評議員以外の者から、理事会で選出し、理事長が委嘱する。
　5　選考委員会の議事の運営の細則等は、理事会が決定する。

（選考委員の任期）
第53条　選考委員の任期は、2年とする。ただし、再任を妨げない。
　2　補欠又は増員により選任された選考委員の任期は、前任者又は現任者の残任期間とする。
3　選考委員は、その任期満了後でも、後任者が就任するまでは、なおその職務を行う。

（選考委員の解任）
第54条　選考委員が、次のいずれかに該当するときは、理事現在数及び評議員現在数の各々の3分の2以上の議決により、理事長がこれを解任することができる。
　(1)　職務上の義務違反その他選考委員たるにふさわしくない行為があると認められるとき
　(2)　心身の故障のため、職務の執行に支障があり、又はこれに堪えないと認められるとき
　2　前項の場合、当該選考委員にあらかじめ通知するとともに、理事会及び評議員会で議決する前に、当該選考委員に弁明の機会を与えなければならない。
　3　前項の場合において、やむを得ない理由があるときは、当該選考委員から提出された弁明書をもってこれにかえることができる。なお、弁明書が一定の期限までに提出がなされないときは、第1項に規定する議決のみにて解任することができる。

第9章　定款の変更、合併及び解散等

（定款の変更）
第55条　この定款は、評議員会において、議決に加わることのできる評議員の3分2以上の議決を経て変更することができる。
　2　前項の規定は、この定款の第3条「目的」、第4条「事業」及び第15条「評議員の選任及び解任」についても適用する。
　3　公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律第11条第1項各号に掲げる事項に係る定款の変更（軽微なものを除く）をしようとするときは、その事項の変更につき、行政庁の認定を受けなければならない。
　4　前項以外の変更を行った場合は、遅滞なくその旨を行政庁に届け出なければならない。
（解　散）
第56条　この法人は、基本財産の滅失によるこの法人の目的である事業の成功の不能その他法令で定められた事由によって解散する。

（公益認定の取消し等に伴う贈与）
第57条　この法人が公益認定の取消しの処分を受けた場合又は合併により法人が消滅する場合（その権利義務を承継する法人が公益法人であるときを除く。）には、評議員会の決議を経て、公益目的取得財産残額に相当する額の財産を、当該公益認定の取消しの日又は当該合併の日から1ヶ月以内に、公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律第5条第17号に掲げる法人又は国若しくは地方公共団体に贈与するものとする。

（残余財産の帰属）
第58条　この法人が清算をする場合において有する残余財産は、評議員会の決議を経て、国若しくは地方公共団体又は公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律第5条第17号に掲げる法人であって租税特別措置法第40条第1項に規定する公益法人等に該当する法人に贈与するものとする。

第10章　事務局

（事務局及び職員）
第59条　この法人の事務を処理するため、事務局を設置する。
　2　事務局には、必要の職員を置く。

3 重要な職員は、理事長が理事会の承認を得て任免する。
4 職員は有給とすることができる。
5 事務局の組織及び運営に関し必要な事項は、理事長が理事会の議決を経て、別に定める。

(備え付け帳簿及び書類等)
第60条 この法人の事務所には、常に次に掲げる帳簿及び書類を備えておかなければならない。ただし、他の法令によりこれらに代わる書類及び帳簿を備えたときは、この限りではない。
(1) 定款
(2) 役員、評議員及びその他の職員の名簿、役員の就任承諾書並びに履歴書
(3) 認定、許可、許可等及び登記に関する書類
(4) 定款に定める機関(理事会及び評議員会)の議事に関する書類
(5) 財産目録
(6) 役員等の報酬等に関する規定
(7) 事業計画書及び収支予算書
(8) 事業報告書及び計算書類等
(9) 監査報告書
(10) 行政庁からの示達文書
(11) その他法令で定める帳簿及び書類
2 前項各号の帳簿及び書類の閲覧については、法令の定めによる。

第11章 情報公開及び個人情報の保護

(情報公開)
第61条 この法人は、公正で開かれた活動を推進するため、その活動状況、運営内容、財務資料等を積極的に公開するものとする。

(個人情報の保護)
第62条この法人は、業務上知り得た個人情報の保護に万全を期すものとする。

(公告の方法)
第63条 この法人の公告は、電子公告により行なう。
2 事故その他やむを得ない事由により、電子公告をすることができない場合は、官報に掲載する方法による。

第12章 補 則

(株式の権利行使の制限)
第64条 この法人が保有する株式について、その株式の発行会社に対して株主としての権利を行使する場合には、下記の事項を除き、あらかじめ理事会において理事の総数(理事現在数)の3分の2以上の承認を得なければならない。
(1) 配当の受領
(2) 無償新株式の受領
(3) 株主割当増資への応募

(4) 株主宛配付書類の受領

(実施細則)
第65条 法令及びこの定款に定めるもののほかに、この法人の運営に必要な事項は、理事会の決議により理事長が別に定める。

附 則

1 この定款は、一般社団法人及び一般財団法人に関する法律及び公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律の施行に伴う関係法律の整備等に関する法律第106条第1項に定める公益法人の設立の登記の日から施行する。
2 一般社団法人及び一般財団法人に関する法律及び公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律の施行に伴う関係法律の整備等に関する法律第106条第1項に定める特例民法法人の解散の登記と、公益法人の設立の登記を行なったときは、第5条の規定にかかわらず、解散の登記の日の前日を事業年度の末日とし、設立の登記の日を事業年度の開始日とする。
3 この法人の最初の理事長は、次に掲げる者とする。
理事長 小谷裕司 とする。
4 この法人の最初の評議員は、次に掲げる者とする。
本水 昌二 杉尾 剛 波田 善夫 西垣 誠 阿部 宏史
鳥越 良光 岩田 正晴 谷本 俊夫 藤井 勉
5 この定款は、平成29年3月1日一部改正。

５．平成 28 年度事業実施状況

平成 28 年度の助成事業は、環境研究助成、国際研究交流助成、研究集会助成の公募を行い、総額 1,118 万円の助成を実施した。
当年度における公募の概要は次のとおりである。

募集の目的

当法人は、環境科学に関する調査研究の推進や創造性豊かな研究者の養成を支援することによって、岡山県における学術及び技術開発の進展に寄与することを目的とし、次に掲げる助成事業を行います。

Ⅰ．環境研究助成

	一般研究	特定研究
1. 助成対象研究	テーマは設定しません 自然科学と社会科学の両分野の研究で　自然環境の改善（環境科学）に寄与するものとします。	平成 28 年度募集テーマ A 防災・減災に関する研究 B 環境保全に関する研究 C 地球温暖化、低炭素社会に関する研究（新テーマ）
2. 助成金額と件数	総　額　・・・・・・300 万円程度 １件あたり助成額　・・50 万円以内 助成件数　・・・・・・ 6 件程度	総　額　・・・・・・600 万円程度 １件あたり助成額　・・100 万円以内 助成件数　・・・・・・ 6 件程度
3. 助成対象となる期間	平成 29 年３月 31 日まで	平成 29 年３月 31 日まで

4. 助成対象となる費用

研究に直接必要な経費を助成します。汎用性のある機器（パソコン、ファクシミリ、コピー機、携帯電話、カメラ等）の購入費は助成対象外とします。

5. 助成対象者の義務等

下記の事項について財団所定の「合意書」を締結し、履行していただきます。
○助成期間終了後３ヶ月以内に研究レポート（１頁 2,000 字、Ａ４で６頁程度）の提出
○平成 29 年 11 月頃に開催予定の財団主催の研究報告会にて研究成果の発表
○財団所定の「報告書（経費使用明細書含む）」の提出
○対外的に研究成果を発表する場合には、当財団の援助を受けたことを明示
○研究を中止又は延期した場合はその理由書と経費使用明細書の提出及び助成金の精算

6. 選考基準

○当財団が助成するにふさわしい研究
○学術的・社会的要請が高く将来性豊かな研究
○独創性・先駆性に優れた研究

Ⅱ．国際研究交流助成

1. 助成対象

平成 28 年６月１日から平成 29 年５月 31 日までに出発帰着する下記の派遣又は招聘
○国内外で開催される環境科学に関する国際研究集会での発表、又は共同研究を目的とした、海外研究者の招聘。

2. 助成金額と件数

○総　　額　・・・・・・80 万円程度
○１件当たり助成金　・・20 万円以内
○助成件数　・・・・・・4 件程度

3. 助成対象となる費用

派遣又は招聘に必要な渡航費及び滞在費並びに研究集会参加費

4. 助成対象者の義務等

○公開講演会又は研究発表会にて発表をお願いする場合があります。この場合謝金はお支払できません。
○派遣又は招聘完了後１ヶ月以内に財団所定「報告書」の提出。
○渡航又は招聘を中止若しくは延期した場合、その理由書の提出と助成金の精算
○研究集会等での発表を目的とする場合、研究発表後１ヶ月以内に発表論文と応募者が発表者であることが証明できるものを提出すること。
○参加、開催を証明することのできる開催模様の写真等の提出。

Ⅲ．研究集会助成

1. 助成対象

○第１回募集（今回募集）: 3 件程度
平成 28 年 10 月１日から平成 30 年３月 31 日までに岡山県内で開催される、環境科学に　関する研究集会、学術講演会、シンポジウム等
○第２回募集（平成 28 年 10 月頃募集予定）: 1 件程度
平成 29 年２月１日から平成 30 年３月 31 日までに岡山県内で開催される、環境科学に関する研究集会、学術講演会、シンポジウム等

2. 助成金額と件数

○総　　額　・・・・・・120 万円程度
○１件当たり助成金　・・30 万円以内
○助成件数　・・・・・・４件程度

3. 助成対象となる費用

研究集会等の開催に要する会場費、印刷費、通信運搬費等の費用

4. 助成対象者の義務等

○研究集会等の開催が、当財団の助成を受けている旨の明示
○研究集会等終了後１ヶ月以内に財団所定「報告書」および財団から助成を受けたことを示すもの（ポスター、HP、チラシ等）の提出。

○開催を中止又は延期した場合、その理由書の提出と助成金の精算
○開催を証明することのできる開催模様の写真等の提出。

応　募　手　続　き

1. **応募資格**

○環境科学との関連性がないものについての助成は認めません。申請書所定欄に環境科学との関連性について記述して下さい。
○岡山県内の大学等の研究機関に所属する研究者（**博士課程（後期）の大学院生を含む**）。
○研究機関の長又は学長若しくは学部長等の推薦を受け、申請書所定欄に記入して下さい。大学院生はそれに加えて、指導教官からの推薦状（様式自由）を添付して下さい。
○環境研究助成、国際研究交流助成、研究集会助成に重複して応募はできますが、それぞれ 1 件までとします。また重複して応募された場合でも、助成対象となるのは１人又は１グループにつき最大１件とします。
○平成 27 年度に助成対象者となった研究者（共同研究者を含む）は、平成 28 年度は同一の助成部門（「環境研究助成の特定研究部門」、「環境研究助成の一般研究部門」、「国際研究交流助成部門」、「研究集会助成部門」）に再応募することはできません。
○国際研究交流助成において、研究集会等での発表を目的とする場合、応募者が発表者であることを要件とします。また、論文採択が予定の段階でも応募できますが、選定された場合の助成金の振込は、採択後とします。申請時において決定している場合は、「論文採択通知」等の写しを申請書に添付して下さい。

2. **募集期間と選考手続**

	応募締切	最終決定	結果通知
Ⅰ. 環境研究助成	平成 28 年 4 月 8 日（金）（必着）	平成 28 年 6 月上旬	申請者及び推薦者に採否、助成金額及び交付期日と方法を通知いたします
Ⅱ. 国際研究交流助成			
Ⅲ. 研究集会助成			

※　書類に不備があった場合、選定されない場合があります。

3. **申請書類**

応募申請書様式は、各大学等の事務室等に配布しています。
または、当財団のホームページからダウンロードして下さい。
申請書の様式は変更しないでください。

http://www.ej-hds.co.jp/zaidan/

応募申請書類は、下記の財団事務局にご送付下さい。

応募申請書類送付先・問い合わせ先
〒700-8617　岡山市北区津島京町３丁目１番 21 号
（株）エイト日本技術開発内
公益財団法人 八雲環境科学振興財団 事務局
ＴＥＬ:０８６－２５２－７６７０
ＦＡＸ:０８６－２５２－８９１８
Ｅメール：yakumo@ej-hds.co.jp

6. 年度別助成事業実施状況

平成 10 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
国際研究交流助成事業	7 件	7 件	1,357 千円
合　計	7 件	7 件	1,357 千円

平成 10 年度は、環境研究助成事業は実施いたしませんでした。

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
国際研究交流助成事業	岡山大学	5 件
	岡山県立大学	1 件
	岡山商科大学	1 件

平成 11 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	２４件	１１件	5,886.3 千円
国際研究交流助成事業	１３件	１０件	1,938.2 千円
合　計	３７件	２１件	7,824.5 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7 件
	岡山理科大学	2 件
	岡山商科大学	1 件
	津山工業高等専門学校	1 件
国際研究交流助成事業	岡山県工業技術センター	1 件
	岡山大学	5 件
	岡山県立大学	3 件
	岡山理科大学	1 件

平成 12 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	２０件	１３件	6,620 千円
国際研究交流助成事業	9 件	8 件	1,517 千円
合　計	２９件	２１件	8,137 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5 件
	岡山理科大学	4 件
	岡山商科大学	1 件
	川崎医科大学	1 件
	津山工業高等専門学校	2 件
国際研究交流助成事業	岡山県工業技術センター	1 件
	岡山大学	7 件

平成 13 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	１４件	１２件	6,370 千円
国際研究交流助成事業	１６件	１２件	2,350 千円
合　計	３０件	２４件	8,720 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7 件
	岡山県立大学	1 件
	川崎医科大学	1 件
	倉敷芸術科学大学	2 件
	津山工業高等専門学校	1 件
国際研究交流助成事業	岡山大学	7 件
	岡山県立大学	2 件
	岡山理科大学	1 件
	津山工業高等専門学校	1 件
	財団法人淳風会	1 件

平成 14 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	２７件	１２件	7,200 千円
国際研究交流助成事業	１０件	7 件	1,400 千円
研究集会助成事業	2 件	1 件	300 千円
合　計	３９件	２０件	8,900 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7 件
	岡山理科大学	3 件
	岡山商科大学	1 件
	川崎医科大学	1 件
国際研究交流助成事業	岡山県工業技術センター	1 件
	岡山大学	4 件
	岡山理科大学	1 件
	津山工業高等専門学校	1 件
研究集会助成事業	岡山大学	1 件

平成 15 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	２８件	１３件	6,900 千円
国際研究交流助成事業	9 件	3 件	600 千円
研究集会助成事業	2 件	2 件	600 千円
合　計	３９件	１８件	8,100 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5 件
	岡山理科大学	3 件
	岡山県立大学	1 件
	倉敷技術科学大学	2 件
	吉備国際大学	1 件
	津山工業高等専門学校	1 件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3 件
研究集会助成事業	岡山大学	2 件

平成 16 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	４２件	１２件	6,800 千円
国際研究交流助成事業	１２件	4 件	800 千円
研究集会助成事業	4 件	4 件	1,200 千円
合　計	５８件	２０件	8,800 千円

※　研究集会助成事業は平成 17 年度開催 採択２件を含む。

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7 件
	岡山理科大学	2 件
	岡山商科大学	1 件
	美作大学	1 件
	就実大学	1 件
国際研究交流助成事業	岡山大学	2 件
	岡山県立大学	1 件
	岡山県工業技術センター	1 件
研究集会助成事業	岡山大学	3 件
	岡山理科大学	1 件

平成 17 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	３４件	１３件	6,860 千円
国際研究交流助成事業	１０件	５件	1,000 千円
研究集会助成事業	１件	１件	300 千円
合　計	４５件	１９件	8,160 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	８件
	岡山理科大学	３件
	岡山商科大学	１件
	美作大学	１件
国際研究交流助成事業	岡山大学	１件
	岡山理科大学	１件
	岡山県立大学	１件
	岡山県工業技術センター	１件
	津山工業高等専門学校	１件
研究集会助成事業	川崎医科大学	１件

平成 18 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	３７件	１４件	8,250 千円
国際研究交流助成事業	８件	４件	760 千円
研究集会助成事業	１件	１件	300 千円
合　計	４６件	１９件	9,310 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	９件
	岡山理科大学	２件
	岡山県立大学	１件
	吉備国際大学	１件
	津山工業高等専門学校	１件
国際研究交流助成事業	岡山大学	３件
	岡山商科大学	１件
研究集会助成事業	岡山大学	１件

平成 19 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	２５件	１４件	7,250 千円
国際研究交流助成事業	３件	２件	400 千円
研究集会助成事業	１件	１件	300 千円
合　計	２９件	１７件	7,950 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	９件
	岡山理科大学	３件
	吉備国際大学	２件
国際研究交流助成事業	岡山大学	２件
研究集会助成事業	岡山大学	１件

平成 20 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	３４件	１３件	7,290 千円
国際研究交流助成事業	９件	４件	800 千円
研究集会助成事業	１件	１件	300 千円
合　計	４４件	１８件	8,390 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	７件
	岡山理科大学	３件
	岡山県立大学	１件
	吉備国際大学	１件
	倉敷芸術科学大学	１件
国際研究交流助成事業	岡山大学	３件
	岡山理科大学	１件
研究集会助成事業	川崎医科大学	１件

平成 21 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	２６件	１３件	7,090 千円
国際研究交流助成事業	6件	2件	400 千円
研究集会助成事業	1件	1件	150 千円
合　計	３３件	１６件	7,640 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5件
	岡山理科大学	2件
	岡山県立大学	1件
	吉備国際大学	2件
	津山工業高等専門学校	2件
	くらしき作陽大学	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	1件
	岡山県工業技術センター	1件
研究集会助成事業	岡山理科大学	1件

平成 22 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	３９件	１２件	7,360 千円
国際研究交流助成事業	3件	3件	600 千円
研究集会助成事業	3件	2件	530 千円
合　計	４５件	１７件	8,490 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	9件
	岡山商科大学	1件
	津山工業高等専門学校	1件
	川崎医療福祉大学	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3件
研究集会助成事業	岡山大学	1件
	岡山理科大学	1件

平成 23 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	２９件	１１件	6,890 千円
国際研究交流助成事業	7件	5件	1,400 千円
研究集会助成事業	2件	2件	600 千円
合　計	３８件	１８件	8,890 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5件
	岡山理科大学	1件
	岡山県立大学	1件
	津山工業高等専門学校	2件
	就実大学	1件
	岡山農林水産総合センター 生物科学研究所	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3件
	岡山理科大学	2件
研究集会助成事業	岡山大学	1件
	川崎医科大学	1件

平成 24 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	２８件	１２件	6,917 千円
国際研究交流助成事業	5件	4件	744 千円
研究集会助成事業	2件	2件	600 千円
合　計	３５件	１８件	8,261 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5件
	岡山理科大学	2件
	岡山県立大学	1件
	津山工業高等専門学校	2件
	倉敷芸術科学大学	1件
	岡山農林水産総合センター 生物科学研究所	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3件
	岡山県工業技術センター	1件
研究集会助成事業	岡山理科大学	2件

平成 25 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	１９件	１０件	4,738 千円
国際研究交流助成事業	２件	２件	400 千円
研究集会助成事業	２件	３件	800 千円
合　計	２３件	１５件	5,938 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	４件
	岡山理科大学	４件
	山陽学園大学	１件
	倉敷芸術科学大学	１件
国際研究交流助成事業	岡山大学	２件
研究集会助成事業	岡山大学	１件
	就実大学	１件
	岡山理科大学	１件

平成 26 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	２０件	１０件	5,446 千円
国際研究交流助成事業	５件	４件	775 千円
研究集会助成事業	４件	３件	900 千円
合　計	２９件	１７件	7,121 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	６件
	岡山理科大学	２件
	津山工業高等専門学校	１件
	就実大学	１件
国際研究交流助成事業	岡山大学	２件
	岡山理科大学	１件
	岡山県立大学	１件
研究集会助成事業	岡山大学	３件

平成 27 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	２８件	１４件	8,323 千円
国際研究交流助成事業	２件	２件	400 千円
研究集会助成事業	１件	１件	300 千円
合　計	３１件	１７件	9,023 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	１１件
	岡山理科大学	１件
	岡山県農林水産総合ｾﾝﾀｰ	１件
	就実大学	１件
国際研究交流助成事業	岡山大学	２件
研究集会助成事業	岡山大学	１件

平成 28 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	３３件	１４件	9,689 千円
研究集会助成事業	６件	５件	1,500 千円
合　計	３９件	１９件	11,189 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	１０件
	岡山理科大学	２件
	岡山県農林水産総合ｾﾝﾀｰ	１件
	倉敷芸術科学大学	１件
研究集会助成事業	岡山大学	４件
	岡山理科大学	１件

累計（平成 10 年度～平成 28 年度）

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	４７４件	２０９件	125,881 千円
国際研究交流助成事業	１３６件	８８件	17,641 千円
研究集会助成事業	２４件	２５件	8,680 千円
合　計	６３４件	３２２件	152,202 千円

７．研究発表会実施状況

平成 12 年度

開催日時	平成１２年９月２９日（金）１３時～
場　　所	岡山ロイヤルホテル
発表者数	８名
協　　賛	株式会社エイトコンサルタント
出 席 者	約５０名

平成 13 年度

開催日時	平成１３年１１月６日（火）１３時～
場　　所	岡山ロイヤルホテル
発表者数	１０名
協　　賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント
出 席 者	約６０名

平成 14 年度

開催日時	平成１４年１１月８日（金）１３時～
場　　所	リーセントカルチャーホテル
発表者数	１２名
協　　賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約６０名

平成 15 年度

開催日時	平成１５年１１月６日（木）１３時～
場　　所	リーセントカルチャーホテル
発表者数	１２名
協　　賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約６０名

平成 16 年度

開催日時	平成１６年１１月４日（木）１３時～
場　　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１３名
協　　賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約５０名

平成 17 年度

開催日時	平成１７年１０月２６日（水）１３時～
場　　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１２名
協　　賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約８０名

平成 18 年度

開催日時	平成１８年１１月１日（水）１２時３０分～
場　　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１４名
協　　賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ 岡山旭ライオンズクラブ 岡山吉備ライオンズクラブ 岡山ブルーライオンズクラブ
出 席 者	約１００名

平成 19 年度

開催日時	平成１９年１１月１２日（月）１２時３０分～
場　　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１４名
協　　賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約８０名

平成 20 年度

開催日時	平成２０年１１月４日（火）１３時～
場　　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１２名
協　　賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約５０名

平成 21 年度

開催日時	平成２１年１０月３０日（金）１２時５０分～
場　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１３名
協　賛	岡山県教育委員会 株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約５０名

平成 22 年度

開催日時	平成２２年１１月１日（月）１２時５０分～
場　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１３名
協　賛	岡山県教育委員会 株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約５０名

平成 23 年度

開催日時	平成２３年１０月２５日（火）１３時～
場　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１２名
協　賛	岡山県教育委員会 株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約５０名

平成 24 年度

開催日時	平成２４年１０月５日（金）１３時～
場　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１２名
協　賛	株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約６０名

平成 25 年度

開催日時	平成２５年１１月１４日（木）１３時～
場　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１２名
協　賛	株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約６０名

平成 26 年度

開催日時	平成２６年１０月２８日（火）１３時～
場　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１１名
協　賛	株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出 席 者	約６０名

平成 27 年度

開催日時	平成２７年１１月２日（月）１３時～
場　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１０名
協　賛	株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ

平成 28 年度

開催日時	平成２８年１０月３１日（月）１０時３０分～
場　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１５名
協　賛	株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ

平成 29 年度

開催日時	平成２９年１１月１日（水）１０時３０分～
場　所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	１４名
協　賛	株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ

平成 28 年度 環境研究助成報告

8．平成28年度　環境研究助成報告

①特定研究

助成対象者	所　属	研究テーマ	ページ
齋藤光代	岡山大学大学院環境生命科学研究科	岡山県日生沿岸のアマモ場に及ぼす陸水の影響評価	33
藤井達生	岡山大学大学院自然科学研究科	エピタキシャル鉄酸化物による高効率薄膜太陽電池の実現	39
御輿真穂	岡山大学大学院自然科学研究科	「川と海のつながりを保全・回復するための研究：ニホンウナギをシンボル種として」	45
吉田圭介	岡山大学大学院環境生命科学研究科	L2 規模の巨大津波外力に対する粘り強い海岸堤防設計に向けた、堤体保護工の実験的および数値解析的検討	51
田村　隆	岡山大学大学院環境生命科学研究科	湖水の環境保全を目的としたバイオ燃料電池の開発研究	57
比江島　慎二	岡山大学大学院環境生命科学研究科	振り子式水流発電 Hydro-VENUS を用いた小水力発電の開発	71

②一般研究

助成対象者	所　属	研究テーマ	ページ
椎葉大輔	倉敷芸術科学大学生命科学部	不衛生環境での生活は本当に食物アレルギー発症を予防するのか？－アナフィラキシーモデルを用いた衛生仮説の実験的検証－	78
杉山裕子	岡山理科大学理学部	FT-ICR MS を用いた有機物組成解析に基づく森林生態系の有機物の変遷の解明	84
門脇孝弘	岡山大学大学院環境生命科学研究科	豊かな生態系を育む児島湖流域の実現に向けた水質改善施策に資する研究	89
向原隆文	岡山県農林水産総合センター生物科学研究所	ナス科野生種が有する青枯病抵抗性の解明と病害克服技術の開発	95
島内寿徳	岡山大学大学院環境生命科学研究科	金属無機塩と脂質膜からなるハイブリッドナノ触媒による環境低負荷型反応プロセスの開発	103
西野直樹	岡山大学大学院環境生命科学研究科	腸内細菌叢を指標とした野生シカの食性及び生態調査	109
神野　伸一郎	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	産業ガスの複数分子同時検出が可能なウェアラブルセンサーの開発	114
大橋唯太	岡山理科大学生物地球学部	急激な寒暖差に曝露された人の気候ストレスのリアルタイム・モニタリング	120

岡山県日生沿岸のアマモ場に及ぼす陸水の影響評価

岡山大学大学院環境生命科学研究科
齋藤 光代

1. はじめに

浅海域に群生する藻場（もば）は、陸域の森林に匹敵する二酸化炭素の貯留機能を持つとして、そのカーボン・ストックとしての重要性が世界的に認識されつつある[1]ほか、魚類の産卵場や稚魚の成育場として、水産資源の保全にとっても重要な役割を果たしていると考えられる。しかしながら、瀬戸内海における藻場の面積は1960年代以降減少傾向にあり、その保全の重要性が強く指摘されている。そのような状況に対し、岡山県日生沿岸では地元の漁師を主体としたアマモ場の再生活動がいち早く開始され、1980年代にかけて急速に失われた面積が、近年ではピーク時の約1/3程度まで回復している。このように、日生沿岸は“アマモ場再生活動発祥の地”として近年全国的に注目されているが、その一方で、アマモの空間分布や生育状況の制御要因は科学的に十分解明されておらず、特に、水温、塩分および栄養塩環境に大きな影響を及ぼす陸水の流出との因果関係はいまだ不明瞭である。また、アマモのように地下部に根や茎を持つ海草類については、海域への地下水流出(Submarine Groundwater Discharge: SGD)の影響も考慮する必要があると考えられる。このSGDという現象については、沿岸域への物質輸送という観点から最近数十年間で研究が進んでおり[2]、申請者らはこれまで、海水中の放射性ラドン(^{222}Rn)などの分布から瀬戸内海沿岸域におけるSGDの存在を確認するとともに、養殖ノリや藻場への栄養塩供給に寄与している可能性を明らかにしてきた[3],[4]。また、地下水は地表水と比較して年間を通じて水温や流量が安定的であるなどの特徴も有することから、SGDを含めたアマモ場の分布や生育環境（水温、塩分、栄養塩など）に及ぼす陸水の影響を明らかにすることは、将来にわたりアマモ場を保全していくうえで重要な研究課題であると考えられる。

そこで本研究では、地下水を含む陸水の流出がアマモ場に及ぼす影響を評価することを念頭に置き、“アマモ場再生活動発祥の地”として注目されている岡山県備前市日生の鹿久居島沿岸を対象に現地調査を行い、海水の水温、塩分に加え、地下水のトレーサーとして有用なラドン(^{222}Rn)濃度などの分布および時間変化から、対象地域における陸水の流出状況について明らかにするとともに、アマモ場の空間分布との対応関係について検討を行ったので報告する。

2. 対象地域

研究対象としたのは岡山県備前市日生諸島の鹿久居島である（図1）。鹿久居島は岡山県最大の島であり（総面積10.17

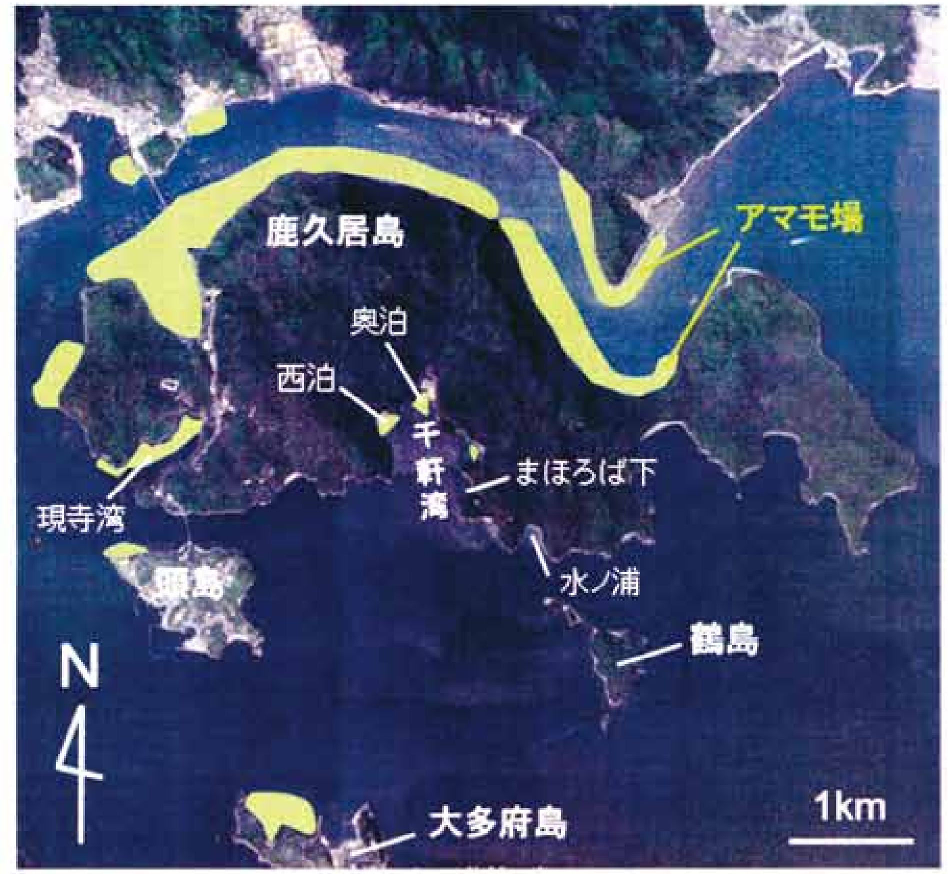


図 1 研究対象地域（アマモ場の分布は2013年の結果[6]をもとに作成）

写真1 鹿久居島沿岸部の様子
（撮影者：土居鯨太）

写真2 日生沿岸の藻場の様子
（撮影者：髙木真也）

km^2)、島内人口は11人（平成22年当時）で土地利用は一部の農用地を除きほとんどが森林となっている。また、島全体が急峻な山地地形を呈し、小規模な流出河川はいくつか存在するものの、平水時の流出はごく限られている。島の基盤地質は

主に流紋岩であり(5)、沿岸域では岩盤が露出している状況がみられる（写真 1）。

鹿久居島を含む日生沿岸には、アマモ（*Zostera marina*）を主体とする藻場が分布している（写真 2）。なお、図 1 のアマモ場分布は、2013 年の日生町地先におけるアマモ場面積(6)を参考に作成したものである。かつて、1970 年代から 80 年代にかけてはその面積が急速に減少したが、近年は再び回復傾向が確認されている(6)。鹿久居島の沿岸には、天然のアマモ場が分布する現寺湾や大多府島に加え、人工的なアマモ場造成が行われている千軒湾の西泊、奥泊、まほろば下、および水ノ浦（図 1）などがあり、岡山県による定期的なアマモ場の調査が実施されている。

3. 方法

本研究では特に、図 1 に示したアマモ場造成区が分布する鹿久居島南部の沿岸域を対象に現地調査を実施した。

まず、空間的な陸水の流出状況を把握するため、平水時および降雨後の流出河川の状況を確認するとともに、アマモ場造成区を含む数地点において、CTD センサーにより海水中の水圧、水温、電気伝導度（EC）の鉛直分布を測定し、クロロフィル濃度、DO（溶存酸素濃度）についてもあわせて測定を行った。さらに、海底湧水（SGD）の存在を検証するため、2016 年 11 月に静電捕集型ラドン測定器（RAD7）による海水のラドン（^{222}Rn）濃度測定を実施した。^{222}Rn はウラン系列の放射性核種であり、対象地域の地質にも依存するが、通常は地下水中で地表水（河川水、海水）よりも明瞭に高い濃度を示すことから、SGD のトレーサーとして国内外で利用されている(2)(4)。

また、陸水流出の時間変化を確認するため、アマモ場造成区の一つである水ノ浦において海底近傍および海底から約 1m 上部の 2 深度に CTD センサーを設置し、水圧、水温および EC の変化を 10 分間隔で約 1 ヶ月（2016 年 6 月～7 月）連続で測定した（写真 3）。

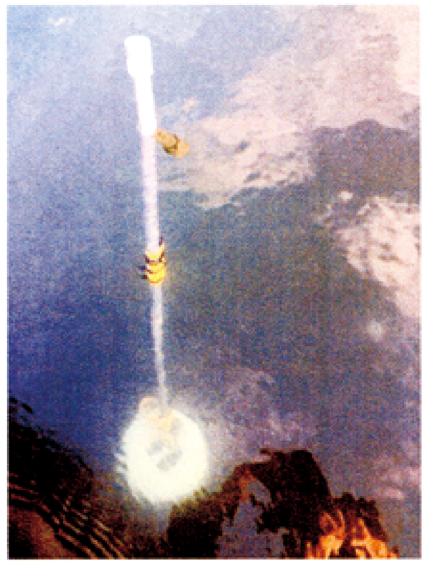


写真 3 水ノ浦における CTD 連続観測の様子（撮影者：川下勝也）

4. 結果と考察

河川の調査から、平水時の流出が確認できるのは千軒湾などに限定され、それ以外のエリアでは、降雨後のみ流出が生じている状況が明らかになった。

また、鹿久居南部の数地点における海水中の電気伝導度（EC）の鉛直分布(7)から、表層から中層に向かって一旦上昇するものの、再び海底に向かって低下する傾向が確認された。この中で、図 2 に水ノ浦の測定値について EC を実用塩分に換算した結果を示す。表層の低塩分は河

川などの流出を反映していると考えられるが、通常、海域では深度とともに塩分が上昇する傾向を示すのに対し、水ノ浦を含む鹿久居南部沿岸では低塩分水が深部に存在し、不安定な密度分布を示していることが確認された。この結果から、対象地域においては淡水性の海底湧水（SGD）が生じていることが示唆された。

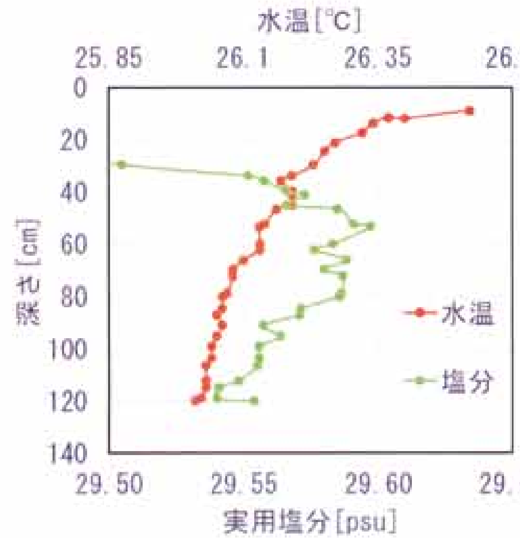


図 2 水ノ浦における海水の水温および塩分の鉛直分布

また、図 3 に鹿久居島南岸～大多府島北岸にかけての海水中の ^{222}Rn 濃度の空間分布を示す。千軒湾の奥泊、現寺湾の湾口付近で最も濃度が高く（>30 Bq/m^3）、現寺湾の湾奥、まほろば下、水ノ浦周辺でも比較的高い濃度（約 20 Bq/m^3）が確認された。これらの値は、海岸線から数 km 離れた沖合の海水と比べて明瞭に高く(4)、天然の藻場が分布する現寺湾および藻場造成区の近辺では SGD が生じている可能性が高いと考えられる。対照的に、島から距離の離れた地点では比較的低濃度を示し、SGD の影響は小さいことがうかがえる。一方で、現寺湾と同じく天然の藻場が分

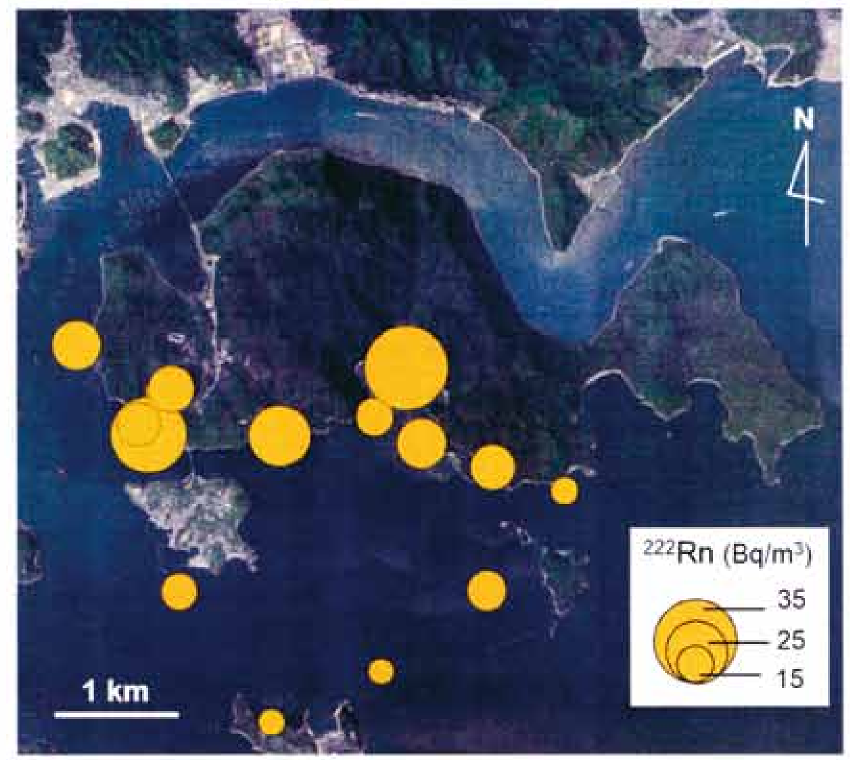


図 3 鹿久居島南岸～大多府島北岸にかけての海水中 ^{222}Rn 濃度の空間分布

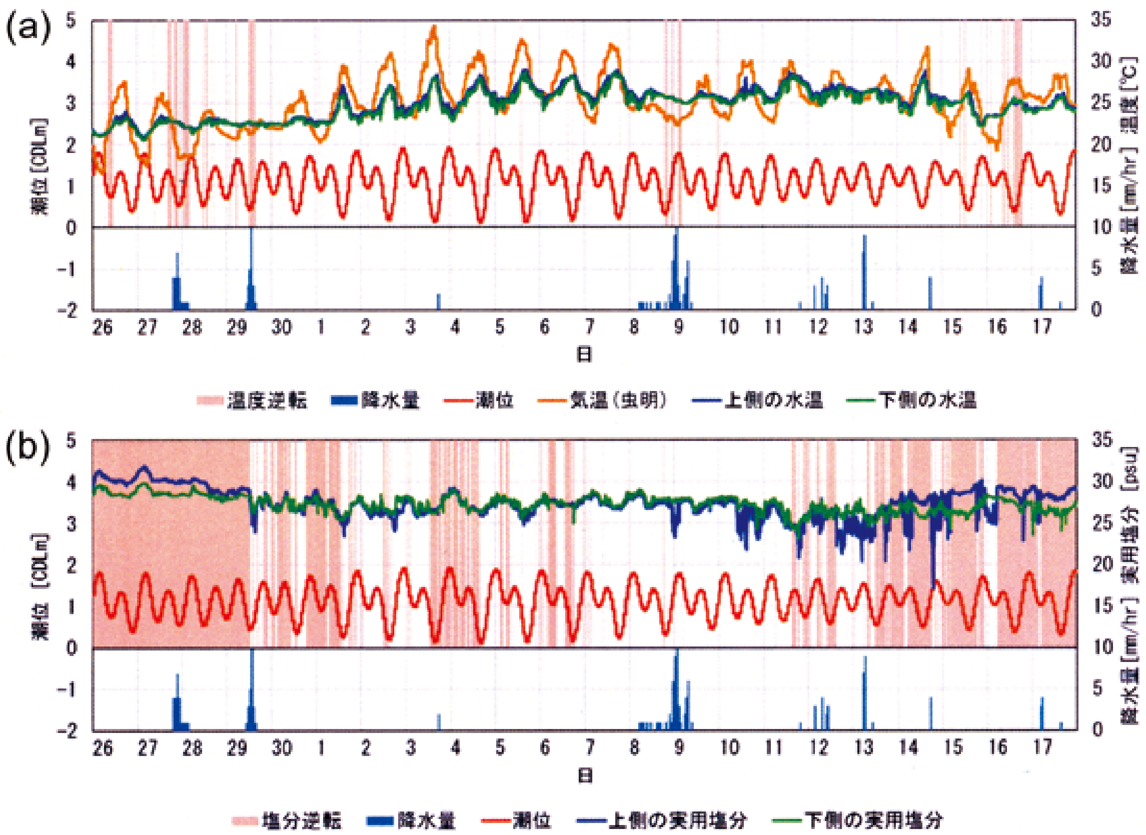


図 4 水ノ浦における海底近傍（下側）および 1m 上部（上側）二深度での海水の水温(a)および(b)塩分の時系列変化

布する大多府島沿岸や鹿久居島の東端地点では現寺湾や千軒湾と比較して濃度が低く、SGD が小さいことが示唆された。しかしながら、これらの地点は現寺湾や千軒湾と比べて閉鎖性が低くなっており、海流の影響によって ^{222}Rn 濃度が希釈されていた可能性も考えられる。

また、図 4 に水ノ浦における海底近傍（下側）および 1m 上部（上側）の二深度における海水の水温(a)および塩分(b)の時系列変化を示す。これらの図には気温、降水量および潮位のデータもあわせて示している。また、通常は水温が上側＞下側、塩分は下側＞上側の状態が密度的に安定であるが、これらが逆転し不安定状態にあった期間を橙色で示している。特に塩分が逆転していた（下側＜上側）期間は、淡水性の SGD が生じていることを示唆している。観測期間である 6 月から 7 月にかけて、水温は気温とほぼ同様の変化傾向を示し、全期間を通じて水温の逆転（上側＜下側）は少なく、生じてもその温度差はわずかであった（図 4a）。その一方で、塩分については観測開始から 6 月末まで逆転（下側＜上側）が確認され、淡水性の SGD が生じていたことが明らかになった（図 4b）。この原因として、観測開始前の大規模な降雨が影響していたと考えられる。その後、7 月上旬は降雨が少なく塩分逆転は徐々に解消された。一方で、その後

の 7 月 8 日～9 日の降雨後には強い塩分逆転は確認されず、7 月中旬からの降水後には再び逆転が生じていた。これらの結果から、対象地域では一定の連続した降雨により地下水位が上昇することで、SGD が生じている可能性が高いと考えられる。以上のように、塩分逆転は潮位変化よりも降雨と比較的よく対応していた。この原因として、鹿久居島は硬質岩であるが亀裂の多い流紋岩で構成されており、亀裂系の地下水流動が卓越することで降雨に対する地下水の応答が鋭敏であり、結果的に SGD も降雨後に増加したと考えられる。また、水ノ浦の底質が比較的透水性の良い砂泥質であることも、SGD の応答の速さに影響していると考えられる。

5. まとめ

本研究では、岡山県備前市日生の鹿久居島南部沿岸域を対象に現地調査を実施し、得られた結果から陸水の流出状況について明らかにするとともに、アマモ場の空間分布との対応関係について検討を行った。その結果は以下のとおりである。

①鹿久居島においては、平水時の河川流出が確認できるエリアは限定的で、多くは降雨後のみ流出が生じている状況が明らかになった。その一方で、沿岸海域の塩分の鉛直分布などから、地下を介した淡水の流出（淡水性 SGD）が生じている可能性が高いことが明らかになった。

②海水のラドン（^{222}Rn）濃度の空間分布から、特に天然のアマモ場が分布する現寺湾やアマモ造成区のある千軒湾において SGD がより大きいことが示唆された。

③海水の塩分の連続観測から、鹿久居島沿岸の SGD は降雨に対する応答性が高く、降雨後速やかに増加していることが示唆された。この原因として、亀裂系に支配された地下水流動が卓越していることが考えられる。

以上の結果を踏まえ、今後はアマモ場に対する SGD 由来の栄養塩供給を含めた定量的な影響評価を進めて行くことが課題である。

謝辞

本研究の遂行にあたり、（株）エイト日本技術開発の大本茂之氏、岡山県農林水産部の後藤真樹氏および日生町漁業協同組合の天倉辰己氏には、現地調査および情報提供に多大なる御協力をいただきました。ここに記し深く感謝申し上げます。

引用文献

(1)Fourqurean, J. W. et al. (2012) Seagrass ecosystems as a globally significant carbon stock, *Nature geosciences*, 5, 505-509.

(2)Moore, W. S. et al. (2008) Submarine groundwater discharge revealed by ^{228}Ra distribution in the upper Atlantic Ocean, *Nature geosciences*, 1, 309-311.

(3)Saito, M. et al. (2015) Evaluation for the effect of non-stationary nutrient transport on the coastal seaweed cultivation in western Japan. *PIAHS*, 371, 149-155.

(4) Saito, M. et al. (2012) Seasonal variation of the ^{222}Rn concentration in the central part of the Seto Inland Sea, Japan. *Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry*, 6, 339-344.

(5)植田芳郎 (1974) 中国地方の地質と生い立ち．地質ニュース, 243, 1-11.

(6)日生町漁業協同組合 (2015) カキとアマモのハーモニー 人の手で育てる豊かな里海．特集「変わりゆく養殖」，水の文化, 49, 22-25.

(7)齋藤光代ほか (2016) アマモ場の分布する岡山県沿岸部を対象とした陸水の影響評価．2016 年度日本水文科学会学術大会発表要旨集，31, 55-56.

平成 28 年度八雲環境科学振興財団　環境研究助成報告書

エピタキシャル鉄酸化物による高効率薄膜太陽電池の実現

岡山大学大学院自然科学研究科　教授　藤井達生

1. 緒言

再生可能エネルギーの先駆けである太陽電池の主流は Si 系であり、メガソーラーなどで広く用いられている。しかし、Si 系太陽電池は、発電層となる Si の光吸収係数が小さく、厚膜化が必要であること。また可視光から近赤外光（約 300～1000 nm）の波長域を主に吸収するため、夜間や雨の日は発電効率が著しく低下する等の問題点がある。

この様な背景の中、我々の研究グループは新電子相酸化物 RFe_2O_4（R：希土類金属）による新規太陽電池の可能性を提案している。この化合物は後述の特殊な電荷秩序構造に由来する様々な特性を有するが、中でも特徴的な物性に電子強誘電性と光吸収特性があり、新奇な電気・光素子材料として注目されている[1]。

RFe_2O_4 は大きな光吸収係数を持ち、薄膜でも十分な光応答が可能である。また、図 1 に示すとおり、可視光から赤外線（約 400～3300 nm）の幅広い波長域の光を吸収する。この原因として、光の吸収により電荷秩序が一時的に崩れ、大量の伝導電子が発生する 1 光子多電子励起が考えられており、このことは高効率な太陽電池の実現にもつながると期待できる。そのため、RFe_2O_4 を太陽電池に応用できれば、原料コストの少ない薄膜で、かつ夜間や雨の日にも発電可能な高変換効率薄膜太陽電池になる可能性を十分に秘めている。

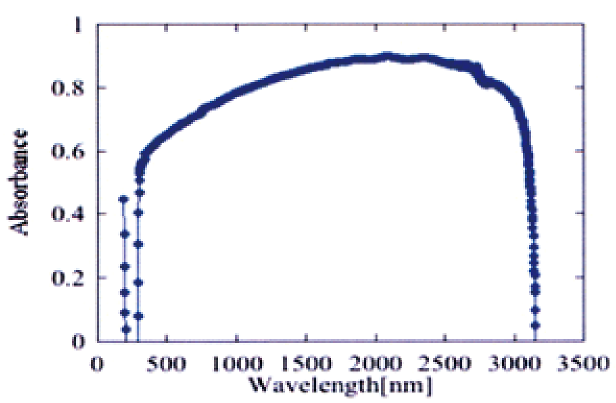


図 1. RFe_2O_4 (R=Yb) の光吸収スペクトル

ところで RFe_2O_4 は、マルチフェロイックな物性を持つ物質としても、近年注目を集めている。マルチフェロイック物質は、強誘電性や強磁性といった複数の性質が相互に関連性を持って出現する物質であり、電場による磁化制御、磁場による電気分極制御などが期待できる。また、この性質を利用して、物質磁化を磁場及び電場の 2 方向から制御することも可能である。くわえて強誘電体のような絶縁体での電場による磁化方向の制御は、ほとんど電流を流す必要がないため、低消費電力のメモリ材料の開発が期待される。

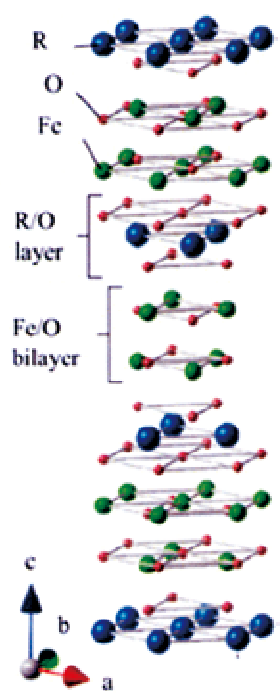


図 2. RFe_2O_4 の結晶構造

RFe_2O_4 のマルチフェロイックな物性は電子配置の不安定性に由来する独特なものである。RFe_2O_4 の結晶構造を図 2 に示す。RFe_2O_4 は、R-O 層と Fe-O 層が c 軸方向に交互に積層した結晶構造を持ち、特に Fe の三角格子が 2 枚重なった W 層と呼ばれる Fe-O 層が特徴的な性質を引き起こす。RFe_2O_4 の Fe の平均価数は、+2.5 なので化学量論組成を満たした物質であれば、Fe^{2+}、Fe^{3+}は結晶内に等量存在する。W 層内に存在する 2 種類の Fe イオンの配置は、350K 以上の高温では c 軸方向の規則性を持たないが、350K 以下の温度に冷却すると、c 軸方向にも規則性が生じ、c 軸方向に 2 枚の Fe の三角格子間で電子の濃淡による電気分極が発生する。これが結晶全体に電荷秩序を形成することで RFe_2O_4 は強誘電性を示す。さらに冷却して 260K 以下になると、電子のスピンが秩序化し、強磁性を示すようになる。このような性質により、RFe_2O_4 は 260K 以下の温度域で強磁性、強誘電性を持つマルチフェロイック物質となる。

RFe_2O_4 薄膜の先行研究では、パルスレーザー堆積法（PLD）や分子線エピタキシー法（MBE）といった成膜方法により、Lu を用いた $LuFe_2O_4$ 膜の作製が報告されている[2] [3]。しかし、この 2 種類の成膜方法は規模が小さく、大量生産には不向きである。そこで、デバイス化に向けてより広範囲に成膜ができる方法として、本研究は、スパッタ法に着目した。また、希土類元素 R として、比較的資源量が多く、安価に入手可能な Yb を選択した。ところで、これまでに行った成膜条件の検討の結果、$YbFe_2O_4$ が生成する領域は非常に狭く、スパッタ法の場合も、様々な成膜パラメータの制御が必要であることが判ってきた。そして、基板温度、酸素分圧等のパラメータを厳密に制御することで、スパッタ法においても、世界で初めて不純物の少ない $YbFe_2O_4$ 薄膜の作製に成功した。しかし、断面 TEM 観察の結果、これまでに得られた薄膜は、表面凹凸や粒界の多いものであり、デバイス化にはほど遠いものであった。このため、まずは表面平滑性に優れた良質な薄膜の作製を目指し、成膜速度を下げての成膜を試みることとした。しかも、Fe,Yb の堆積速度を下げると最適な酸素分圧も変化する可能性があるので、酸素分圧による影響と成膜速度による膜質への影響を検討した。また、$YbFe_2O_4$ と基板のミスフィットを緩和させるために Fe_3O_4 バッファ層上に $YbFe_2O_4$ を成膜することも検討した。

2. 実験方法

$YbFe_2O_4$ 薄膜を作製するにあたって、膜の組成を厳密に制御することは重要である。スパッタ法の場合、目的物となる $YbFe_2O_4$ 組成のターゲットをそのままスパッタ成膜しても、実際に堆積する薄膜の組成は、ターゲット組成からずれることが一般的である。そこで本研究では、Fe と Yb_2O_3 の 2 種類のターゲットを用意し、同時に成膜する二元式スパッタリングを行った。この方法の利点として、各カソードの出力を調整することで、任意の組成を持つ薄膜を作製することができる。これにより組成の異なるターゲットを何種類も用意する必要がなくなり、大幅に実験時間を短縮することができると考えられる。

一方、基板は主に片面を光学研磨したサファイア c 面（α-Al_2O_3(001)基板 53×53×0.5 mm）を 10×10 mm 程度にダイヤモンドカッターで切断したものを用意した。単結晶基板を用いることで、薄膜と基板の間にエピタキシャル成長を促すことが期待できる。エピタキシャル成長とは、一つの結晶が他の結晶表面の方位関係を維持したまま成長することをいう。この成長を用いれば、各デバイスに必要な結晶方位を有する薄膜状の結晶が得られ、組成や不純物を制御しやすくなるためである。

成膜は、多元 RF マグネトロンスパッタ装置を使用し、1.0×10^{-5} Pa 以下の圧力になるまで排気した後、基板温度 1130℃に加熱した。成膜中は、装置内にアルゴンガスを 13.0ccm、酸素ガス 0.120～

0.135ccm を導入した。Fe カソードの RF 出力を 30W、Yb_2O_3 カソードの RF 出力を 35W で成膜を行った。成膜後はただちにガスの導入を止め、真空中で室温まで冷却後、試料を取り出した。作製した試料は X 線回折(XRD)、正極点測定、透過型電子顕微鏡(TEM)を用いて、その構造を評価するとともに、一部の試料については磁化、光吸収、電気抵抗等の物性評価を実施した。実験の概要を図 3 に示す。

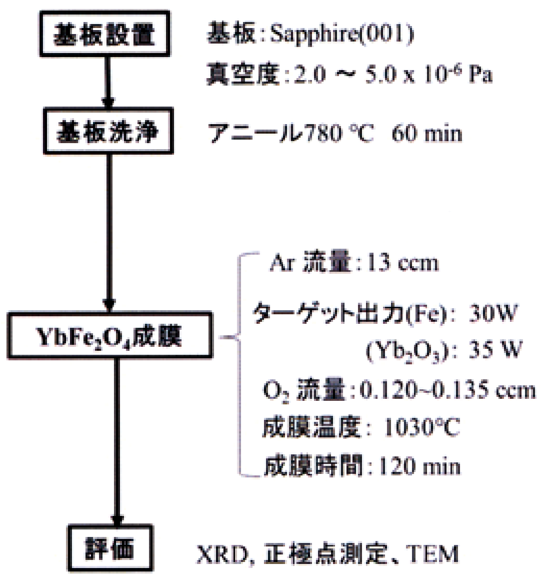


図 3. 実験のフローチャート

3. 実験結果

3.1. エピタキシャル $YbFe_2O_4$ 薄膜の作製

図 4 に酸素分圧を変化させて作製した試料の XRD パターンを示す。 全体として c 軸に配向した $YbFe_2O_4$ 相に帰属されるピークが強く出現しており、とりわけ酸素分圧が 6.72×10^{-9} (Torr) の試料では、ほぼ単相の $YbFe_2O_4$ 薄膜が得られたものと判断できる。 一方、これより酸素分圧が減少すると α-Fe 帰属されるピークが成長しており、増加すると $Yb_2Fe_3O_7$ に帰属されるピークが成長したことから、薄膜は還元又は酸化雰囲気となることがわかった。

次に $YbFe_2O_4$ 薄膜の面内での配向を確認するため、酸素分圧が 6.72×10^{-9} (Torr) の試料につい

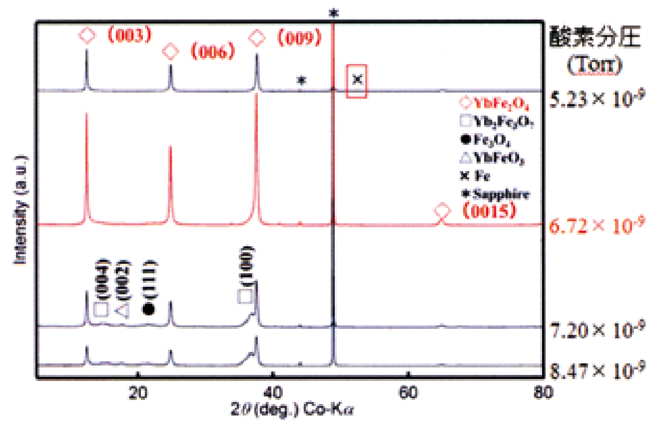


図 4. XRD パターンから見た薄膜の生成相と酸素分圧の関係

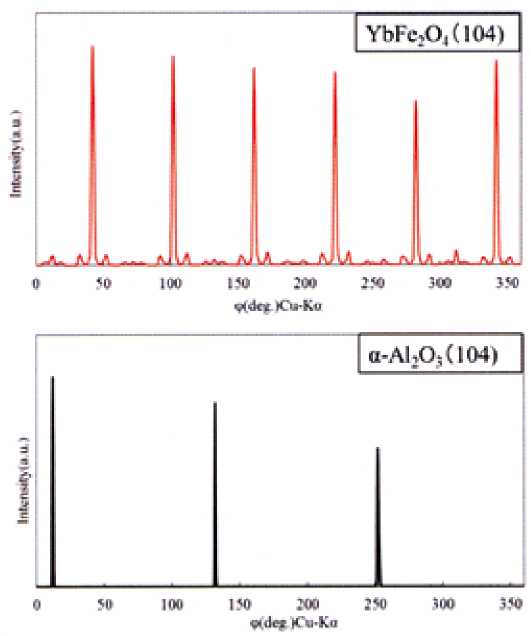


図 5. ほぼ単相となった $YbFe_2O_4$ 薄膜の基板と薄膜の（104）極点図

ため、酸素分圧が 6.72×10^{-9} (Torr) の試料について正極点測定を行った結果を図 5 に示す。$YbFe_2O_4$ 薄膜は明瞭な六回対称性を示しており、薄膜はサファイア上にエピタキシャル成長していることを確認することができた。面内配向性の良好な $YbFe_2O_4$ 薄膜を作製することに成功した。

また、図 6 に TEM による薄膜の断面観察の結果を示す。既報[4]の成膜速度が 3.3nm/min の試料では、表面の凹凸が激しく、粒界も多い薄膜となっていた。一方、成膜速度を 0.91nm/min と下げることに

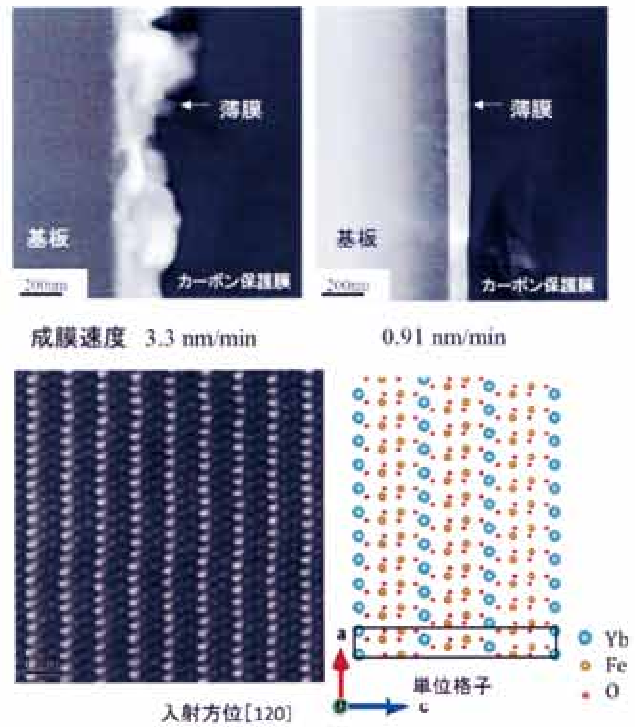


図 6. 異なる成膜速度で作製した $YbFe_2O_4$ 薄膜の断面 TEM 写真と低成膜速度(右上)に対応する薄膜の高分解能 TEM 像

より、層状成長を促し、粒成長を抑えることで、表面凹凸の少ない薄膜を作製することができた。また原子分解能での $YbFe_2O_4$ の観測にも成功し、結晶性の良い $YbFe_2O_4$ 薄膜が作製できていることが確認できた。

図 7 に断面の TEM-EDS（エネルギー分散型 X 線分光）分析結果を示す。元素マッピングの結果、枠で囲った基板と膜の界面部分には、Fe が多く存在しており、逆に Yb は減少していた。すなわち界面近傍には、主として酸化鉄からなる不純物層が形成されている可能性が示唆された。そこで、界面層に電子線を小さく収束させマイクロディフラクションを観測した結果を図 8 に示す。界面不純物相の電子回折像は、格子定数と対称性のみを考慮すると立方晶 Fe_3O_4 で説明できるものの、[110]方向に 3 倍の長周期構造を示す回折パターンとなっていた。ところで、立方晶 Fe_3O_4 は不定比性を持ち、結晶構造内に格子欠陥が導入されるとともに、長周期構造を示すことが知られている。

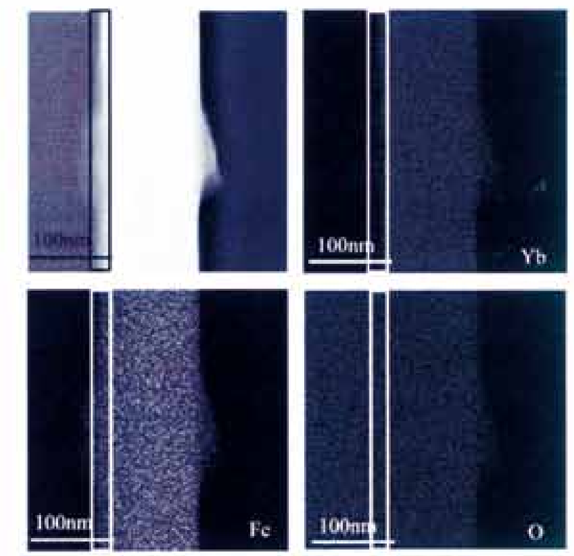


図 7. 断面の TEM-EDS 元素マッピング像

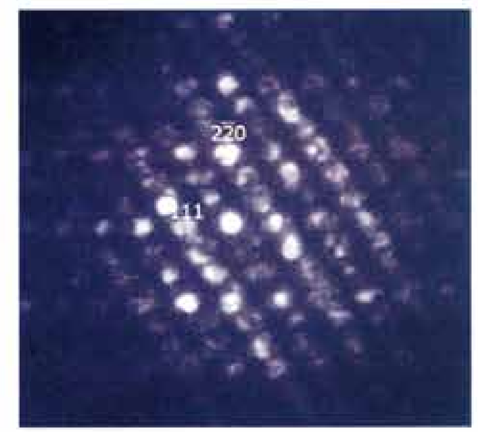


図 8. 界面不純物相のマイクロディフラクション・パターン

このことから、基板と膜の界面部分に形成された酸化鉄不純物相は、不定比性をもつ立方晶スピネル $Fe_{3-\delta}O_4$ であると判断した。

ところで、図 5 に示した正極点測定の結果では、基板に対して 30° 回転して配向して $YbFe_2O_4$ が成長することから $Fe_{3-\delta}O_4$ 相を介して、O の原子配置が優先されていると考えられる。界面に不純物相が形成される原因として基板と薄膜のミスフィットの緩和が考えられる。Al_2O_3 基板と $YbFe_2O_4$ のミスフィットは、26%であるのに対して、界面に Fe_3O_4 が形成された場合、$YbFe_2O_4$ と Fe_3O_4 (111) の各酸素イオンが形成する六方格子のミスフィットは 13%であり、ミスフィットは小さくなる。こ

のため界面不純物相が形成されたと考えられる。

3.2. Fe_3O_4 下地層上への $YbFe_2O_4$ 薄膜の作製

Fe_3O_4 が基板と $YbFe_2O_4$ のミスフィットの差を緩和すると考え、Fe_3O_4 を作製した上に $YbFe_2O_4$ 薄膜の成膜を試みた。まず Fe ターゲットのみを用いてα-Al_2O_3(001)単結晶基板上に Fe_3O_4 膜を成膜し、Fe_3O_4 膜が成長しているかを確認した。図 9 に作製した Fe_3O_4 膜の XRD を示す。Fe_3O_4（*hhh*）に帰属するピークのみが観察され、(111)配向したエピタキシャル Fe_3O_4 薄膜が単相で成長していることが確認できた。次にエピタキシャル Fe_3O_4 薄膜を下地層として、その上に成膜した $YbFe_2O_4$ 膜の XRD の結果を図 10 に示す。全体として c 軸に配向した $YbFe_2O_4$ 相に帰属されるピークが強く出現していた。それ以外に強くみられるピークは、Fe_3O_4 下地層に帰属されるもののみであり、Fe_3O_4 下地層上においても、下地層無しの場合と同様に、ほぼ単相の $YbFe_2O_4$ 薄膜を作製することに成功した。

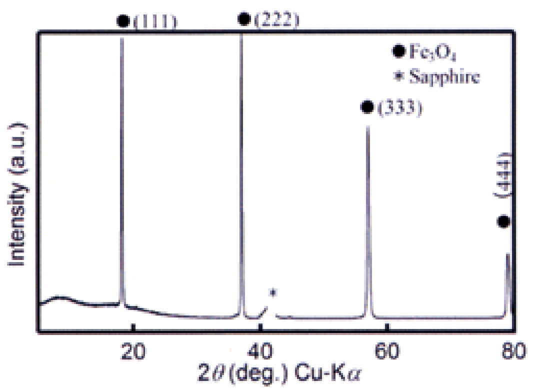


図 9.　Fe_3O_4 膜の XRD パターン

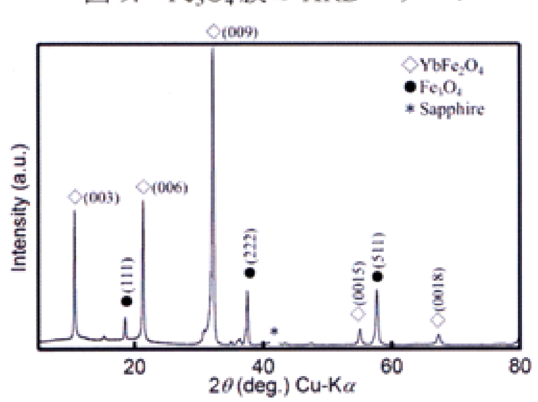


図 10.　Fe_3O_4 下地層上に成膜した $YbFe_2O_4$ 薄膜の XRD パターン

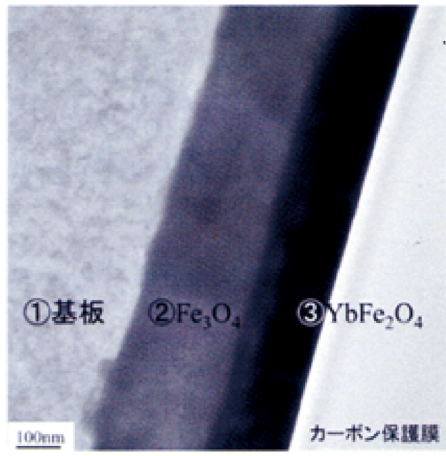


図 11.　Fe_3O_4 下地層上に成膜した $YbFe_2O_4$ 薄膜の断面 TEM 像

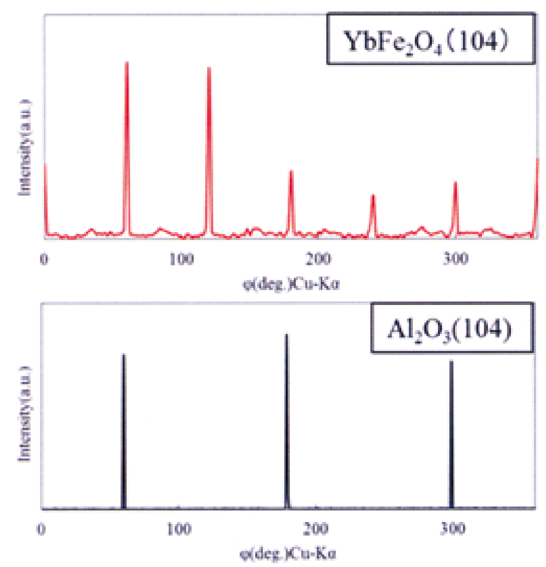


図 12.　Fe_3O_4 下地層上に成膜した $YbFe_2O_4$ 薄膜の基板と薄膜の（104）極点図

図 11 に Fe_3O_4 下地層上へ成膜した $YbFe_2O_4$ 薄膜の断面 TEM 像を示す。表面凹凸のない $YbFe_2O_4$ 薄膜が作製できており、図 12 に示す薄膜の正極点図からも面内配向性が良好なエピタキシャル薄膜が作製できていることが分かる。ところで薄膜の極点図は、図 5 の場合と異なり、基板に対して同一方位に出現した。この理由を、基板および薄膜の結晶構造に基づき考察した結果を図 13 に示す。鉄イオンの格子欠陥を多数含む $Fe_{3-\delta}O_4$ 相の場合は、鉄イオン格子が乱れているため酸素イオン格子の整合性を優先して $Fe_{3-\delta}O_4$ 上に $YbFe_2O_4$ が成長する。

その結果、基板の Al_2O_3 と薄膜の $YbFe_2O_4$ は c 面内でその単位格子を 30° 回転して整合する。一方、格子欠陥が無い Fe_3O_4 に対しては、鉄イオン格子の整合性を優先して Fe_3O_4 の上にそのまま $YbFe_2O_4$ を成長させた方が、Fe_3O_4 と $YbFe_2O_4$ のミスフットは 0.7%と非常に小さくなる。よって、Fe_3O_4(111)上には、最もミスフィットが小さくなるように $YbFe_2O_4$ が配向し、その結果、Al_2O_3 と $YbFe_2O_4$ の単位格子は c 面内で同一方位となる。ところで、下地層として導入した Fe_3O_4 は電気伝導性を持つ物質であり、下部電極として利用できると考えられる。そこで、I-V（電流-電圧）特性評価を行い、Fe_3O_4 が下部電極として機能し、成長方向の $YbFe_2O_4$ の電気伝導性が確認できるかを調べた。RFe_2O_4 の I-V 特性は、特徴的な非線形伝導になることが報告されている[5]。Fe_3O_4 上に作製した $YbFe_2O_4$ 薄膜の I-V 実験結果を図 14 に示す。我々の作製した $YbFe_2O_4$ 薄膜でも特徴的な非線形伝導が観測することができた。これにより Fe_3O_4 が電極として利用できることが分かった。

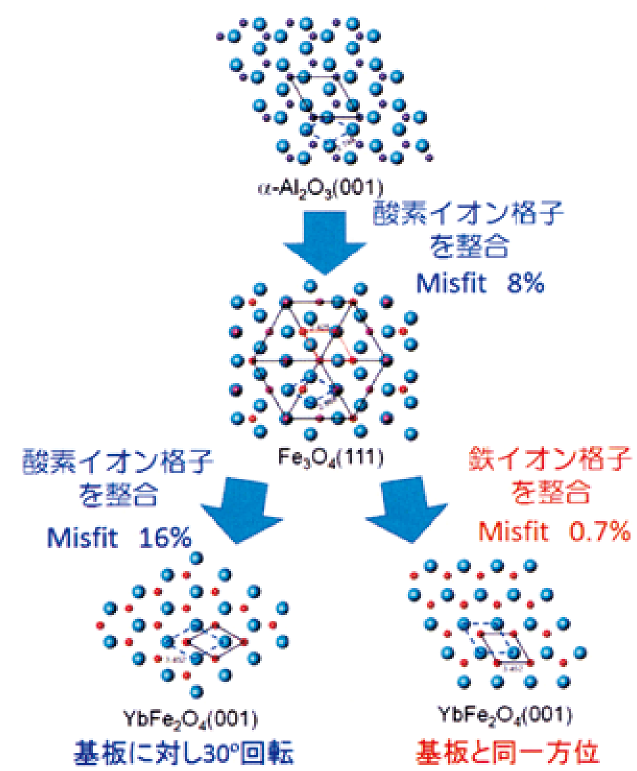


図 13. α-Al_2O_3(001)、Fe_3O_4(111)、$YbFe_2O_4$(001)の単位格子とミスフィット、及び方位関係

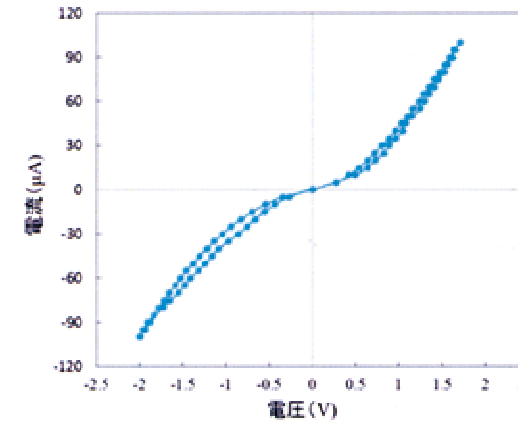


図 14.　$YbFe_2O_4$ 薄膜の電流電圧(I-V)特性

3. 結言

スパッタ法により希土類鉄酸化物 $YbFe_2O_4$ 薄膜の作製を試みた。成膜速度を下げ、かつ酸素分圧を制御することによりほぼ単相の $YbFe_2O_4$ 薄膜の作製に成功した。断面 TEM 像からは、表面凹凸の少ない $YbFe_2O_4$ 薄膜ができていることが確認できた。しかし、基板と膜の界面には Fe_3O_4 の不純物相が形成されていた。Fe_3O_4 が形成する理由は、基板と $YbFe_2O_4$ 薄膜のミスフィットを緩和するためだと考えられる。そこで、Fe_3O_4 を下地層として成膜した後、$YbFe_2O_4$ 薄膜を成膜した。XRD、TEM、正極点測定の結果から、表面凹凸のない結晶性の良好な $YbFe_2O_4$ 薄膜が作製できていることが確認できた。また、I-V 特性評価では、RFe_2O_4 の特徴的な非線形伝導を観測することに成功し、太陽電池デバイスの実現に向け、Fe_3O_4 が下部電極として利用できることを示した。今後は、n 型半導体と積層し、太陽電池特性を評価する予定である。

4. 参考文献

[1] N. Ikeda et al. *Nature*. **436** (2005) 1136-1138
[2] Wenbin Wang et al. *Phys. Rev.* B **85** (2012) 155411
[3] Charies M. Brooks et al. *Appl. Phys. Lett.* **101**, (2012) 132907
[4] 岡山大学院自然科学研究科.沼田知也,修士学位論文.(2016)
[5] F.M. Vitucci et al. *Phys. Rev.* B **84**, (2011) 153105

「川と海のつながりを保全・回復するための研究：ニホンウナギをシンボル種として」

岡山大学大学院自然科学研究科　助教
御輿 真穂（研究代表者）
中央大学法学部　准教授
海部 健三（共同研究者）

背景

淡水生態系は、森林や海洋と比較して著しく生物多様性が乏しいことが知られている。その主な要因の一つに、河川横断工作物による川と海のつながりの喪失が挙げられる。全国でも有数の淡水魚種数を誇る岡山県の河川には、本来アユ、アマゴ、ハゼ科魚類、モクズガニ、テナガエビといった、海と川を行き来して一生を過ごす「通し回遊魚」が数多く生息していた。しかし、高度経済成長期以降、河川にダムや堰、落差工といった河川横断工作物が数多く設置され、これらの回遊魚は河川上流域に進入することが困難になった。そこで本研究では、（1）岡山県旭川における川と海のつながりの現状を把握すること、および（2）川と海のつながりが残されている水域を今後も保全することを目的とした。

近年、その個体数が激減し、環境省や IUCN（国際自然保護連合）より絶滅危惧種の指定を受けたニホンウナギもまた、海と川を行き来する通し回遊魚である。本種は沿岸域から河川の源流域まで、幅広い環境を生息域として利用するため、川と海のつながりを評価するための指標種として適している。また、ニホンウナギは食材として全国的に人気があるだけでなく、岡山県で採用されている小学４年生の国語の教科書にも登場するなど、市民からも強い注目を集めている。このため本研究では、川と海のつながりを保全・回復させていくためのシンボル種としてニホンウナギを取り上げた。

目的

（1）旭川における川と海のつながりの現状把握

岡山県の中心を南北に流れる旭川は、全国の河川の中でも三番目に多い魚類数を誇っている（国土交通省 河川水辺の国勢調査より）。しかし、堤高 45 m の旭川ダム等、多くの河川横断工作物が設置されており、ニホンウナギなど回遊魚の多様性が失われている可能性は高い。本研究では、ニホンウナギを指標種として、旭川における川と海のつながりの現状を把握することを目的とした。

（2）川と海のつながりが残されている水域を保全する人材育成システムの開発

川と海のつながりを考えるには、河口から上流域まで、その水系全体を俯瞰する必要がある。このため、ある水域の川と海のつながりを保全する場合には、水辺の環境保全に関心を持ち、当該水系全体を俯瞰する目を持った地域住民を育成することが重要となる。本研究では、2012 年より毎年行われてきた市民参加型調査「旭川うなぎ探検隊」を基礎に、将来の地域の環境保全を担う次世代、および未来の環境学習リーダーを育成するシステムの開発を目指すことを目的とした。

材料と方法

（1）旭川における川と海のつながりの現状把握

材料となる指標種には、前述のとおりニホンウナギを用いた。硬骨魚類においては、耳石の酸素・炭素安定同位体比を分析することで、その個体の生活史を読み取ることができる。この手法により、採集したニホンウナギの放流個体と天然遡上個体とを識別し、川と海のつながりを評価した。

ニホンウナギから取り出した耳石試料を長軸方向で両面から研磨した（図 1）。研磨面の片面は耳石核が表面に露出する直前まで研磨した。その後、核を露出させ耳石薄層切片を作成した。耳石分析のための粉末試料は、パワーパック（Minimo、C101A、ミニター社製）に接続されたハンドピース（Minimo、スタンダードルータリー M21H、ミニター社製）を使用し、円錐のマイクロドリル（電着ダイヤモンドバー AD1201、ドリル径 0.7 mm、ミニター社製）によって顕微鏡下で耳石を掘削することにより採取した（図 2）。耳石の掘削範囲は、河川生活期あるいは養殖場生活期部分とした。シラスウナギが接岸した際に、耳石の核から 150 μm 付近にエルバーマークが形成される（図 1 矢印）。このエルバーマークよりも内側の部分は、ニホンウナギ全個体が共通して経験する海洋生活期に相当する。そのため、解析に用いた全個体において、はじめにエルバーマーク内側部分を削り取り、エアダスターで除去し、エルバーマークの内側は掘削範囲から除外した。分析を行う耳石粉末は、放流個体が養鰻場で飼育された時期にあたる部分を採取する必要がある。平成 22 年及び平成 23 年に福井県三方湖と岡山県旭川にて放流用個体として漁業協同組合によって購入された養殖個体の耳石の長径を計測したところ、放流用個体の耳石の 90%が長径 1,312 μm よりも大きかった。耳石のこの径よりも外側部分は、河川に生息する全ての個体（放流された個体も含む）において河川生活期に相当し、内側部分が天然加入個体と放流個体で生活場所に相違がある部分に相当する。そのため、エルバーマークの内側を除去後、核から長径 650 μm の範囲内を掘削し、50 から 250 μg の耳石試料粉末を得た。得られた粉末をアルミ箔上に回収し、分析用ガラスバイアルに導入した。同位体比分析は東京大学大気海洋研究所に設置された、自動前処理装置（GasBench II, Thermo Fisher Scientific）および安定同位体質量分析装置（Delta V plus, Thermo Fisher Scientific）により行った。同位体比は Pee Dee Belemnite（PDB）からの偏差を千分率（‰）で表記した（下式）。

δ_{Sample}値= ［（試料の同位体比 / VPDB の同位体比）-1 ］ x 1000

National Bureau of Standard の大理石標準試料 NBS-19（$\delta^{13}C$=+1.95‰, $\delta^{18}O$=-2.20‰, VPDB）を標準試料として用いた。

天然加入個体と放流個体の判別には、非線形判別モデルを利用した。これは、酸素・炭素安定同位体比が天然加入個体と養殖個体の間で有意に異なる組成を示す事に着目し、天然加入個体と放流個体を識別するものである。非線形判別モデルは、天然加入個体及び養殖個体合計 419 個体のニホンウナギ耳石の酸素・炭素安定同位体比を教師データとして、統計解析ソフト R（version 3.2.3）に含まれる関数「qda」を用いて得られたものを使用した。

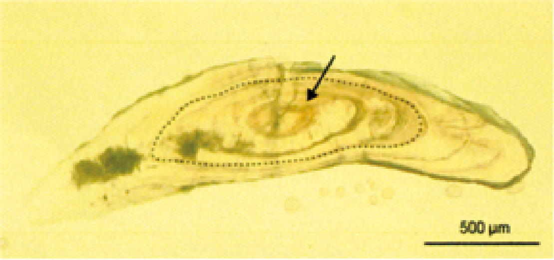


図 1　ニホンウナギの耳石切片と試料削出範囲
黒い矢印はエルバーマーク、破線は核から 650 μm の範囲を示す。放流された個体であれば、養殖場で生育している期間に形成されたと考えられる（環境省「平成 27 年度ニホンウナギ保全方策委託業務報告書」）。

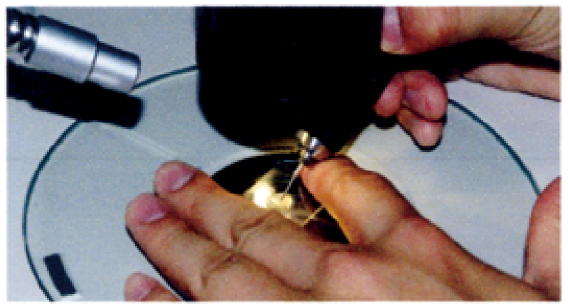


図 2　耳石試料の削出作業
ハンドドリルで耳石試料を削り出し、安定同位体比を分析する（環境省「平成 27 年度ニホンウナギ保全方策委託業務報告書」）。

（2）川と海のつながりが残されている水域を保全するための人材育成システムの開発

2016 年度で 5 回目の開催を迎える「旭川うなぎ探検隊」は、百間川との分岐部分に位置する旭川の明星堰において行っている、ニホンウナギに代表される回遊魚に着目した定点魚類相モニタリングである。これまでの 5 年間で毎年平均 100 名程度の参加者がある。岡山大学を中心とした大学生ボランティアが、子どもたちと少人数のチームを組むことで、魚取りや川遊び、回遊魚の解説を通じて、地域の河川環境、特に川と海のつながりに興味を持つ次世代として育成されることを目標としてきた。大学生ボランティアの参加は、細やかな安全対策と環境学習指導を可能にするだけでなく、活動を通じてボランティア自身が成長できるところに大きな意味がある。このため、大学生ボランティアの学びに着目し、彼らを未来の環境学習リーダーと位置づけ、市民参加型調査の意義と方法、水生生物のフィールド調査、グループ学習のファシリテーションについて、旭川うなぎ探検隊の事前・事後学習を、岡山大学理学部の夏季集中講義として行った。

このイベントは、旭川南部漁業協同組合連合会、岡山県環境保全事業団環境学習センターアスエコ、岡山県自然保護センター、岡山県内水面漁業協同組合連合会、岡山大学理学部附属臨海実験所、 岡山の自然を守る会、岡山理科大学理学部齋藤研究室、中央大学研究開発機構ウナギ保全研究ユニットから組織する、旭川うなぎ探検隊実行委員会によって運営された。また、国土交通省中国地方整備局岡山河川事務所の後援により、テントや調査機材の貸与を受けた。

結果と考察

（1）旭川における川と海のつながりの現状把握

岡山県沿岸域で捕獲した銀ウナギ 20 個体について判別を行ったところ、4 個体が「放流」と判定された（図 3）。その一方、旭川のうち、放流を行なっていない下流域では 59 個体のうち 93.2%が天然、6.8%が放流と判定され、放流を行なっている水域では 46 個体のうち 34.7%が天然、65.3%が放流と判定されている。旭川ダムの上流域でも、16 個体のうち 37.5%が天然個体と判定された。旭川ダムは堤高 45 m で、魚道は設置されていない。旭川ダムの上流で天然と判別されたこれらの個体が、本当に旭川ダムを超えて上流域へ進入したのか、今後放流魚の入手経路などを精査し、検討する必要がある。

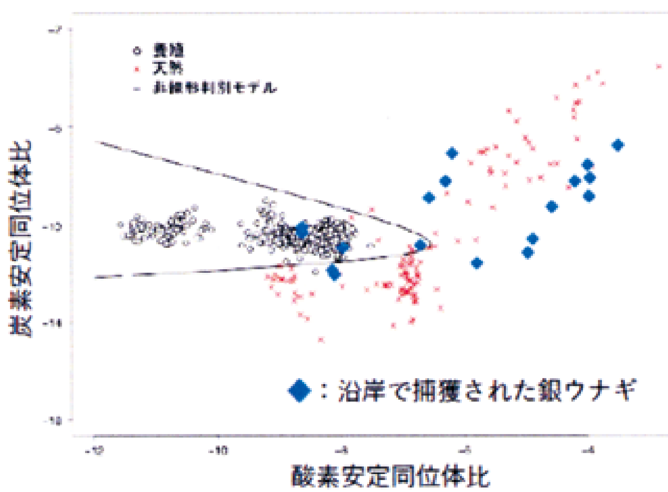


図 3　銀ウナギの耳石酸素・炭素安定同位体比
判別モデルを得るために用いた教師データ（環境省「平成 27 年度ニホンウナギ保全方策委託業務報告書」）を○および×で示す。本研究で解析した銀ウナギのデータを青い四角（◆）で示した。

（2）川と海のつながりが残されている水域を保全するための人材育成システムの開発

前述の定点魚類相モニタリングとなる第 5 回旭川うなぎ探検隊は、2016 年 8 月 27 日（土）に、旭川の明星堰周辺で開催した。未就学児を含む 53 名の子供たちと、40 名程度のスタッフが参加し、参加者の合計は 100 名近くとなった。

大学生ボランティアの事前・事後学習

8 月 25 日から 27 日の 3 日間にわたり、岡山大学理学部の夏季集中講義として、旭川うなぎ探検隊の事前・事後学習を行った。講義は共同研究者である中央大学の海部健三准教授が、申請者とともに担当した。8 月 25 日は岡山大学で講義を行い、専門家社会と非専門家社会との間には構造的に乖離が生じやすいこと、両社会の乖離を埋めるためには協働が効果を持つことを踏まえ、市民参加型調査の意義について学生とともに議論した。8 月 26 日は午前中に旭川で魚類採集を行い、午後には同定作業を行なった（図4）。8 月 27 日の午前には第 5 回旭川うなぎ探検隊にスタッフとして参加し、その後、岡山大学にて事後学習（振り返り）を行なった（図 5）。参加学生からは「今後も同様の取り組みに継続して参加したい」との声が多く寄せられ、事前・事後学習を通じた丁寧な学習環境の整備が、将来の地域の環境保全を担う次世代、および未来の環境学習リーダーを育成することに貢献することが示唆された。

図4　岡山大学における同定作業
魚類検索図鑑を初めて手にする学生が多く、市民参加型調査の学習とともに、河川生態調査の基本を学ぶ機会としても役立っていることが示された。

図5　事後学習（振り返り）の様子
市民参加型科学調査の意義を感じる学生も多いが、その限界についても多様な意見が提出され、今後の発展に大きく役立った。

市民参加型調査「旭川うなぎ探検隊」

川に入るときは子供 3 ～ 4 名に対し、大学生および社会人 2 名以上が指導員として採集方法を指導するとともに、安全管理を行った。子ども全員がライフジャケットを着用し、採集の途中に点呼と水分補給の時間を設けるなど、安全管理に配慮した。生き物の採集は、基本的にはタモ網を使った採集（ガサガサ）によって行ったが、ガサガサを開始する前に、カゴ罠の設置を行った。カゴ罠は、各グループ 2 個ずつとなるよう設置し、

「自分たちの仕掛け」という意識を持てるように、それぞれのグループが餌を入れて設置した。特に小さな子どもには、10 cm を越える大きな魚を捕らえることは難しいため、カゴ罠を使うことによって、子どもでも「大きな魚を捕った」という意識が持てることを狙っている。(図 6)

採集された魚類の種数は 22 種であり、例年と同程度であった。しかし、シマヨシノボリ、シマドジョウ、オオクチバス、カムルチーの 4 種が新たに記録され、5 年間で採集された魚類の総種数は 31 種となった(表 1)。また、これらの魚種には多くの回遊種が含まれ、明星堰周辺については、下流側に取水堰があるにもかかわらず、川と海とのつながりがよく保たれていることが確認できた。

調査を行っている水域は、第 5 回旭川うなぎ探検隊の開催後に百間川分流部分の工事が行われ、周囲の環境への影響が懸念されている。これまでの 5 年間で行った調査によって把握された魚類相と、今後の調査によって把握される魚類相を比較することによって、工事が周辺の魚類へ与えた影響を考察することが可能になると期待している。

2016 年度末に環境省が「ニホンウナギの生息地保全の考え方」を 14 の取り組み事例紹介とともに発表した。「旭川うなぎ探検隊」は、市民参加型魚類相モニタリングの事例として、冒頭で紹介された（以下 URL)。

http://www.env.go.jp/nature/kisho/hozen/unagi.html

図 6　第 5 回旭川うなぎ探検隊の様子

学生ボランティアと子供で構成されるチームを作り、チームごとにカゴ罠やタモ網で生物を採集した。採集した生物は分類し、その場でミニ水族館を設置した。水族館を前に、この水域に多くの回遊魚が存在すること、回遊魚が存在するためには川と海のつながりが重要であることをレクチャーした。

表 1　採集魚類一覧

	目	科	種名	RDB	外来生物	2012	2013	2014	2015	2016
魚類	ウナギ	ウナギ	ニホンウナギ	絶滅危惧 IB 類		○		○	○	
	コイ	コイ	フナ類			○	○	○	○	
			ヤリタナゴ	準絶滅危惧		○	○	○	○	○
			アブラボテ	準絶滅危惧		○	○	○	○	○
			カネヒラ			○	○	○	○	○
			シロヒレタビラ	絶滅危惧 IB 類			○	○	○	
			イチモンジタナゴ	絶滅危惧 IA 類	国内移入			○	○	○
			オイカワ			○	○	○	○	○
			カワムツ			○		○	○	○
			カワヒガイ			○				
			ムギツク			○	○	○	○	○
			カマツカ			○		○	○	○
			ニゴイ類			○	○	○		
			イトモロコ			○	○	○	○	○
			コウライモロコ			○	○	○		
		ドジョウ	スジシマドジョウ類	絶滅危惧 II 類		○		○	○	○
	ナマズ	ナマズ	ナマズ			○		○	○	
		ギギ	ギギ					○		○
		アカザ	アカザ	準絶滅危惧				○	○	
	カサゴ	カジカ	ウツセミカジカ			○		○	○	○
	スズキ	ケツギョ	オヤニラミ	絶滅危惧 II 類		○	○	○	○	○
		ドンコ	ドンコ			○	○	○	○	○
		ハゼ	カワヨシノボリ			○	○	○	○	○
			ヌマチチブ			○		○	○	○
			ウキゴリ				○			○
		カワアナゴ	カワアナゴ						○	
	キュウリウオ	キュウリウオ	アユ					○	○	○
新規記録			シマヨシノボリ							○
			シマドジョウ							○
			オオクチバス		外来種					○
			カムルチー		外来種					○
魚類種数(年ごと)						20種	14種	24種	22種	22種
魚類種数(累計)						20種	22種	26種	27種	31種

L2 規模の巨大津波外力に対する粘り強い海岸堤防設計に向けた堤体保護工の実験的および数値解析的検討

岡山大学大学院 環境生命科学研究科

吉田圭介

概要

東日本大震災で発生した巨大津波は堤防を越流し，裏法尻部を洗掘することによって，堤体に甚大な被害をもたらした．その被害を受け我が国では，今後発生が予想される南海トラフ地震に向け‘粘り強い’海岸堤防が求められており，その施工法の一つとして，堤体法面と法尻にコンクリートブロックの使用が提案されている．本研究では粘り強い海岸堤防の設計に資するため，水理模型実験および数値解析から津波越流時の堤防裏法尻保護工に作用する津波外力の力学的特性を検討するとともに，併せて法尻保護工のブロックの流出実験を行い，保護工被災のメカニズムを検討した．

1. はじめに

東日本大震災の巨大津波により発生した巨大津波は海岸堤防を越流し，堤防の破壊をもたらした．そこで今後の海岸堤防の設計には，津波が越流した場合についても粘り強く効果を発揮するような構造が求められている [1]．これに関連して，津波による堤防被災状況の調査では，裏法尻部の地盤洗掘による被災事例が一番多く，裏法尻部の補強が重要であることが指摘されている．現在，法尻部の地盤洗掘の対策法の一つとして，法尻部にコンクリートブロックを設置することが提案されている．河川工学分野では，施工の簡便さや費用の面からコンクリートブロックを射流場の河床保護工や護岸前面の保護工として利用されているが，現状コンクリートブロックが海岸堤防の裏法尻の補強に使用された例はなく，構造物の安定性・適応範囲について検証が必要である．そのためにも，津波越流により生じる海岸堤防の被災メカニズムやパターンに加え，法尻部における水理現象を明らかにした上で，対策工の効果を検証することが重要である．一方，津波越流時には堤防裏法尻の周辺部では射流場が形成されるが，一般に模型実験での水理計測は困難であるため，数値解析を併用して被災メカニズムや堤防設計を検討することが望まれている．

そこで本研究では，海岸堤防裏法尻部で洗掘実験を行い，洗掘性状や裏法尻保護工の効果を把握した．また，保護工流出のメカニズムに着目し，津波越流時の初期に保護工に作用する流体力が流出に与える影響を検討した．加えて，海岸堤防とブロックの模型を配置した直線水路上で模擬津波を生じさせ，系統的に越流水深を変化させた模型実験を行い，ブロック周辺の流れとブロックに働く流体力を計測した．さらに，，自由水面およびブロックの凹凸を扱い得る数値流体解析ソフト Flow-3D を用いて，模型実験と同様の流れ場において堤防裏法尻保護工周辺の流況を 3 次元的に数値解析し，そこから保護工ブロックに作用する流体力を算定した．その後，模型実験と数値解析の結果を比較して，数値解析の有用性や適用性を検証した．

2. 水理模型実験の手法

(1) 実験水路

図-1に実験設備および模型と計測機器の設置状況を示す．実験では長さ約16 m×幅0.6 m×高さ0.4 mの可変勾配型循環水路を平坦にして用いた．水路上には模擬津波を発生させるための貯水用ゲートと，海岸堤防を模した現地縮尺1/35のアクリル製模型を設置した．また，水路上流端より約11 mの位置には，長さ1.0 m×幅0.6 m×深さ0.16 mの分力計格納用ピットがある．本研究では実験，解析ともにデカルト座標系 (x, y, z) を用い，座標原点Oは堤防表法尻部（図-1参照）に置く．

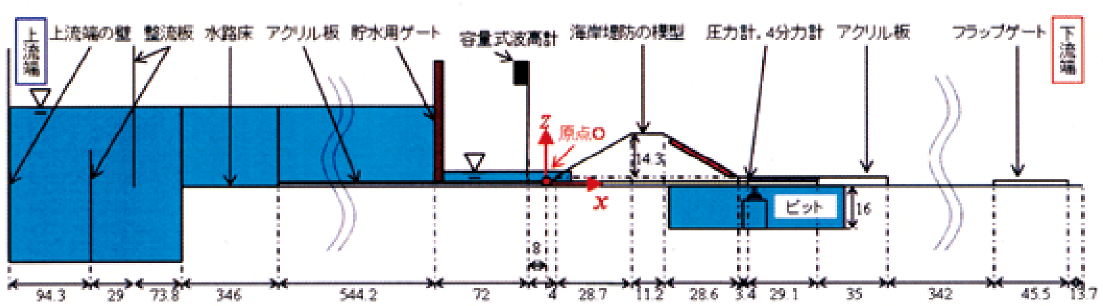


図-1　水路模型

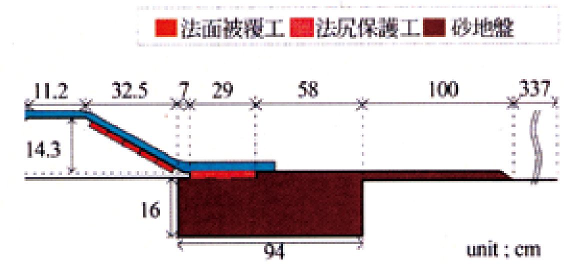


図-2　実験水路の概要（洗掘実験）

洗掘実験では，図-2に示すように水路上端から約11mの位置にあるピット内を移動床とした．実験実施時には，ピット内とピット下流端より約1.0 mの区間には，平均粒径0.23 mmの豊浦標準砂を充填した．締固め条件の違いが実験結果に影響を及ぼさないように，撒き出し厚3 cmごとに締め固めて，含水比15 %程度，乾燥密度1.44 g/cm程度となるように砂を充填した．実験では，ケース毎にピット内の砂を全て撤去し，撒き出しと締固めにより砂の充填を行った．

図-3，図-4に堤防被覆工・保護工で用いる模型コンクリートブロックの形状を示す．大型滑面ブロックは，東日本大震災の津波で被災した仙台湾南部海岸の堤防復旧の際に用いられたブロックの一つである．その形状特性から，設置時には岸沖方向のブロックが上下に噛み合う構造を持つ．小型滑面ブロックは，側面に凹凸があり，平面的に噛み合う構造である．

法面被覆工及び，流体力計測時の裏法尻保護工として大型滑面ブロックを用いた．実験で法面被覆工を設置する際に海岸堤防，側壁との間に生じた隙間はシリコンとパテを使って埋めた．また，法尻ブロックを設置する際には，計測対象のブロック以外を接着材で水路床に固定した．その際，流体力計測上の制約により，計測対象のブロックと周囲のブロックが接触しないように，1 mmのクリアランスを設けた．

洗掘実験では裏法尻保護工として小型滑面ブロックを用いた．法尻保護工設置時には，津波越流によるめくれや滑動に対して十分な安定性を確保する必要がある．現地では保護工同士を金具や鋼線などで一体化することを想定し，実験ではブロック底面にポリエステル製の鋼をエポキシ樹脂により接着することでフレキシブルな一体性構造を再現した．また，裏法尻保護工下面からの吸出しを抑制する目的で吸出し防止材を設置した．

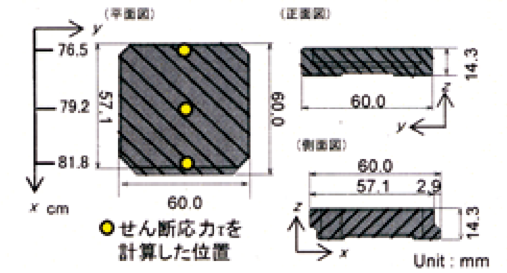


図-3　ブロック模型（大型滑面ブロック）の形状と寸法

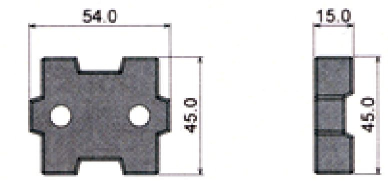


図-4　ブロック模型（小型滑面ブロック）の形状と寸法

(2) 計測項目及び計測方法

水位の計測は，容量式波高計(CHT6-40 KENEK社製)を使用する．図-1に示すように，容量式波高計は表法尻の基礎工の先端から8 cm沖側に設置した．サンプリング周波数は100 Hzに設定し，ゲートの引き上げ前から津波が収束するまでの30秒間の計測を行った．

保護工に作用する抗力 D・揚力 L・モーメント M を計測するために防水型4分力計Y116M2(東京計測製)を水路ピット内中央部に設置した．4分力計で計測されたひずみは動ひずみ計(PCD-400A 共和電業社製)を用いて出力する．出力データは，流下方向の F_y，鉛直方向の F_z，流下方向に加わるモーメント M_x である．またサンプリング周波数及び計測時間は容量式波高計と同じである．流体力計測の際にブロック上面まで水に浸かった状態で計測しており，ブロックの重量から浮力を引いた水中重量を基準としている．

洗掘範囲は，通水終了後にポイントゲージで計測を行った．計測は，水路横断方向 3 箇所で計測を行ったが，水路壁面付近では壁面の影響を受ける可能性もあるため，本報では水路側壁の影響を受けにくい水路中央部の計測結果を示す．

(3) 被災形態実験

裏法尻保護工の被災特性を定性的に評価するために，水路中央から側岸方向に3列のブロックを移動可能な状況に設置した．その際，流体力を計測した状況に合わせるため，ブロック間に約1mmのクリアランスを設けた．模擬津波来襲時の被災状況を1秒間に960コマ撮影可能な高速ビデオカメラ（Sony ; RX10II, RX100IV）で各越流水深で数回撮影して，ブロックの被災開始箇所の特定と津波到達後の被災開始時刻を計測し，分力計で計測された流体力との関係で被災特性を検討した．

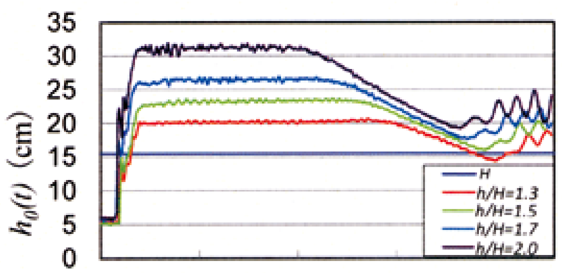


図-5　越流水深比 h/H ごとの沖側水位 $h_0(t)$ の時間変動

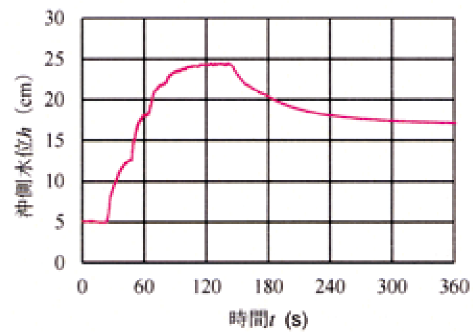


図-6　模擬津波の経時変化（バルブ調整式）

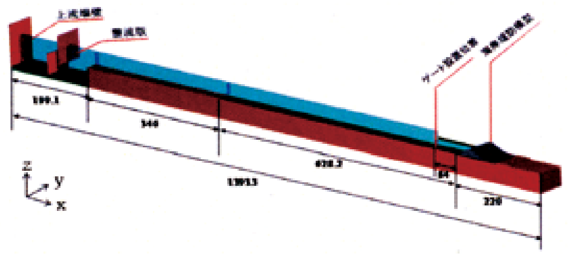


図-7　堤防裏法面及び裏法尻付近の計算格子の設置状況（数値解析）

(4)　水理条件

津波越流開始時の衝撃的な流体力を計測するため，堤防模型上流に設置したゲートを瞬時に引き上げることにより模擬津波を発生させた．模擬津波の越流水深比 h/H は，ゲート上流側に溜める水の量を調整することで変更した．h は沖側の水位，H は堤体高さを示す．

越流水深比 h/H は1.3，1.5，1.7，2.0の4種類を設けた．容量式波高計による計測を可能とするため，貯水用ゲートと海岸堤防の模型の間には初期水位として約5 cmの水位を設けた．なお，水位は表法尻を基準とする．

図-5に流体力実験で計測した模擬津波の水位変動を示す．貯水用ゲートを引き上げた直後，0.5秒～2.0秒に水位が上昇し，その後比較的水位が一定に保たれる状態（3秒～10秒）が発生する．本研究では，貯水用ゲートを引き上げ直後に瞬時に水位が上昇する範囲を衝撃時，比較的水位が一定に保たれる状態を定常時と定義する．

図-6に洗掘実験で使用した模擬津波水位の経時変化を示す．東北地方太平洋地震の際に岩手南部海岸のGPS波高形で計測された津波の状況を考慮して，模擬津波の通水時間は6分とした．このうち通水開始120秒後から150秒後の約30秒の間は，越流水深比 $h/H=1.5$ となるように通水した．

3.　数値解析

(1)　解析ソフト

数値解析では汎用3次元熱流体解析ソフトウェアFLOW-3D (Ver.11.0.3，FLOW SCIENCE社)を用いた．FLOW-3Dは有限差分法に基づいて非定常流れを解く汎用的なCFDソフトウェアである．自由表面の追跡にはVOF法が，また，複雑な幾何形状を持つ構造物の扱いに関してはFAVOR法が用いられている．本解析では計算格子には多重ブロック構造格子を用いた．

(2)　計算領域

図-7には計算領域を示す．計算領域内には実験水路と模型をほぼ再現しており，x 方向には水路上流端から堤防を含めるように約14 mまでとした．一方，予備実験で主流速の横断分布を計測し，水路中央では側壁の影響が概ね無視できることを確認した．その上で3次元解析の計算負荷を軽減するために，水路横断方向にはブロック周辺の流れの3次元性を検討できる，最小限のブロック2個分の長さとした．その結果，最小格子は1.25 mmの立方体とし，水路中央のブロックと，それを挟む横断方向のブロックの各々半分ずつとした．

(3)　解析条件

a)　水理条件

模型実験と同様に越流水深比を設定し，模擬津波（ダムブレイク）によって流れ場を生成した．

b)　境界条件

下流端を自由流出，それ以外は対称条件とした．壁面ではマニング粗度係数を与え，渦粘性係数を調節することで壁面粗度の影響を考慮している．

(4)　流体力の算定方法

以下の通り，解析結果に基づき堤防基礎から一列目中央に置いたブロック1つに働く流体力を求めた．揚力はブロックの表面を含む計算格子の圧力を積分し，その鉛直成分（z 方向）とした．一方，抗力は上記の流下方向成分（x 方向）と，ブロック表面に働くせん断応力 τ の表面積分の和とした．具体的には，**図-3**に示す3点で得られる x 方向の時間平均流速の鉛直分布 $u(z)$ に対して次式の粗面対数則を適用し，そこから各点での摩擦速度 u_* とせん断応力を求め，3点の値を平均した．

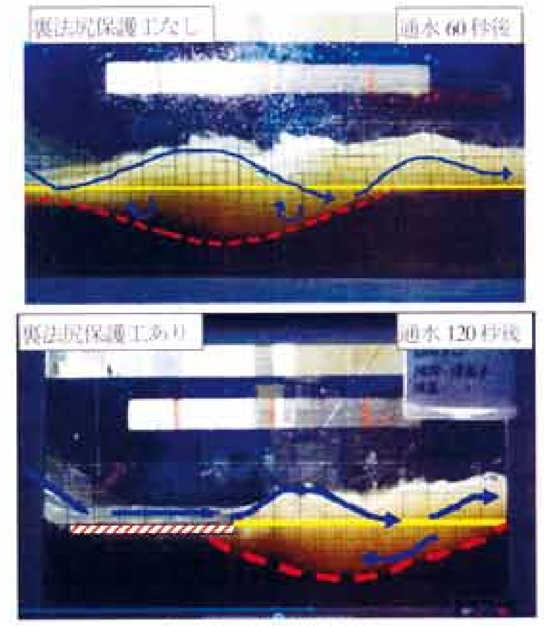


写真-1　洗掘進行状況

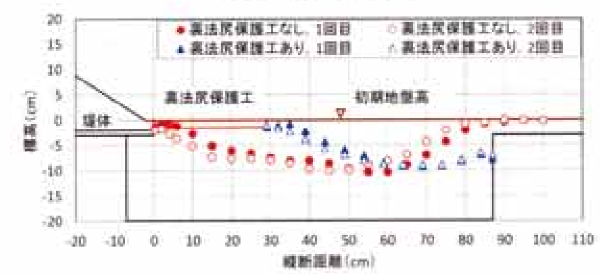


図-8　通水後の裏法尻部の地盤形状

4.　結果と考察

(1)　洗掘実験

写真-1に洗掘の進行状況を示す．裏法尻保護工が無い場合，裏法面上を斜面に沿って流下してきた越流水は，実験開始直後，主流が法面勾配に近い角度で侵入し洗掘孔内で半時計回りの渦を発生させながら洗掘が進行する．その後，洗掘孔下流側の水位の堰上げの影響を受けて波状跳水が発生し，主流が表面付近を流れるようになり洗掘孔内では時計回りの渦が卓越して洗掘が進行する．この両者の過程を繰り返しながら洗掘孔を拡大しながら最大洗掘深の発生位置を陸側へ移動させていく．その後，跳水で跳ねた水塊の落下地点が洗掘されるようになり，洗掘孔はより陸側へと拡大していく．その結果，最大洗掘深さの発生位置は，基礎工から離れた位置となる．裏法尻保護工を設置した場合，裏法面を流下してきた越流水は，法尻部で水平方向に流れが変化し，保護工下流端で波状跳水が発生する．そして，跳水により跳ね上げられた水塊が保護工下流域の地盤へと落水し，洗掘孔が発達していく．このため，最大洗掘深さの発生位置は，法尻保護工がない場合の結果に比べて基礎工からかなり離れた位置となる．**図-8**に通水後の裏法尻部の洗掘形状を示す．図より，裏法尻保護工を設置することで最大洗掘深さの低減や，洗掘影響範囲を海岸堤防から遠ざける効果が見られた．

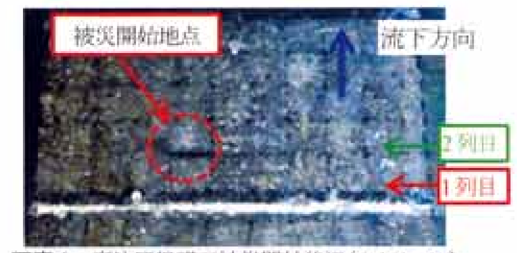


写真-2　裏法尻保護工被災開始状況（h/H =1.5）

表-1　各越流水深における海岸堤防裏法尻保護工の被災特性

hH	1.3	1.5	1.7	2.0
初期流失位置	被災せず	0.27s	0.2s	0.27s
最終被災状況		2 列目	2 列目	3,4 列目

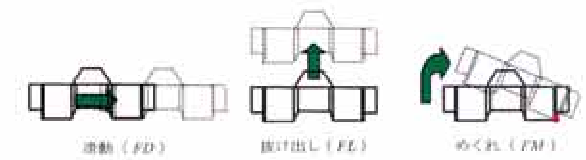


図-9　破壊モード

(2)　裏法尻保護工に作用する流体力と被災特性

裏法尻保護工の被災特性を定性的に評価するために，被災特性実験を行った．加えて，保護工に作用する流体力から保護工の安定性を評価し，被災形態実験の結果と照らし合わせることで，保護工の被災特性を検討した．

a)　被災箇所と被災状況

表-1に各ケースの越流水深比の違いによる法尻保護工の被災位置，着水時から保護工ブロックが変状するまでの時間，最終被災状況を示す．変状時間は，動画から，越流した水の着水時刻とブロックがわずかに移動し始める時刻を計測し，その差の平均値である．

被災実験では，津波波高が小さい $h/H=1.3$ の場合は被災は生じなかった．しかし，$h/H=1.5$ について被災開始状況を示した**写真-2**より，ブロックの変状は2列目から開始していることが分かる．写真には示していないが，$h/H=1.7$ の場合も同様であった．津波高が $h/H=2.0$ になると被災開始ブロックが3, 4列目になった．これは，津波の着水位置が陸側に移動したためと考えられる．

b)　裏法尻保護工の安定性照査

裏法尻保護工の安定性照査を行う場合には，**図-9**に示すような，「めくれ」，「滑動」，「抜け出し」の3つの破壊モードについて検討が必要である[2]．ここでは，破壊駆動力と抵抗力の比による破壊指数を求め，安定

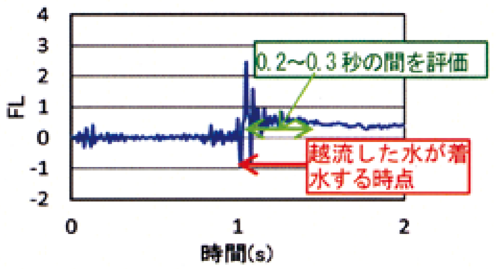


図-10　抜け出しの破壊指数のグラフ
（裏法尻保護工 1 列目 h/H =1.7）

性について評価する．本実験ではブロックが津波着水直後に被災したことから，津波越流初期の衝撃値について検討を行う．

「滑動」，「抜け出し」，「めくれ」のそれぞれに対する破壊駆動力と抵抗力の比による破壊指数 FD，FL，FM を次式によって求めた．

$$FD = D(t)/\mu(W - L(t)), (W - L(t) < 0 : FD = 0) \quad (1)$$

$$FL = L(t)/W \quad (2)$$

$$FM = M_f(t)/M_{SG} \quad (3)$$

ここに，W：ブロック水中重量，t：時刻，$D(t)$：抗力，$L(t)$：揚力，μ：静止摩擦係数，$M_f(t)$：転倒モーメント，M_{SG}：抵抗モーメントである．静止摩擦係数 μ は，河川の護岸・値固めブロックの安定性照査の場合に使用する値の0.65を採用した[2]．

ただし，破壊指数は $|FD|>1$，$FL>1$，$FM>1$ の場合では破壊（ブロックの移動）を意味し，それ以外の場合は安定を意味する．また FD は，ブロックが浮き，底面での摩擦力が働かない場合については0とする．

c)　裏法尻保護工の被災特性の評価

表-1で示したように，裏法尻保護工の被災は津波の着水後0.2〜0.3秒程度で発生する．従って，着水から保護工が変状するまでの時間について考察するためには流体力計測ブロックへの着水時刻を知る必要がある．本研究では，**図-10**に示すように津波が計測ブロックに着水した時に下向きの力が作用し，その後，上向きの力が作用することに着目して着水時刻を特定した．なお，図の時間軸の0秒はゲートを開放した時刻である．

図-11にCase1の h/H =1.5の場合の1列目，2列目の各破壊形態の破壊指数を示す．図より，破壊指数が1列目，2列目ともに，すべての破壊形態で着水直後に1より大きくなり，保護工が移動可能な状態にあることが確認できる．しかし，被災形態実験の結果によると，破壊は1列目ではなく2列目から生じることが示されており，破壊指数が1より大きくなっても必ずしも破壊に至らないことが分かる．ここで，破壊指数が1を越えた直後の変化に着目すると，図中の破線で示すように破壊に至った2列目の FL 以外は，瞬間的に破壊指数が小さくなり負となるかあるいは正負の間で短い周期で振動していることが分かる．一方，図の点線で示すように2列目の FL については，1列目のように破壊指数が瞬間的に小さくなり下向きの力が作用することはなく，0.1〜0.2秒程度の微小時間ではあるが，破壊指数が0.5程度以上の上向きの力が維持される．

以上より，1列目が破壊しなかった要因として，津波衝撃時に上向きの力が一瞬作用した後，続いて上向きと下向きの力が微小時間に振動することによってブロックの動きが抑制されて破壊に至らなかったと考えられる．逆に，2列目では津波着水時にわずかな時間継続する上向きの力によりブロックがわずかに抜け出し，その後の，揚力と抗力の作用により，ブロックがめくれて被災するものと考えられる．

(3)　裏法尻の一列目保護工に作用する流体力

堤防設計を検討するためには，衝撃時のみならず越流水が定常的に作用する条件下で保護工に働く流体力を越流水深を系統的に変えながら把握しておく必要がある．本研究では数値解析の有用性や適用性を検証するために，模型実験と数値解析の結果の比較を行った．**図-12**に

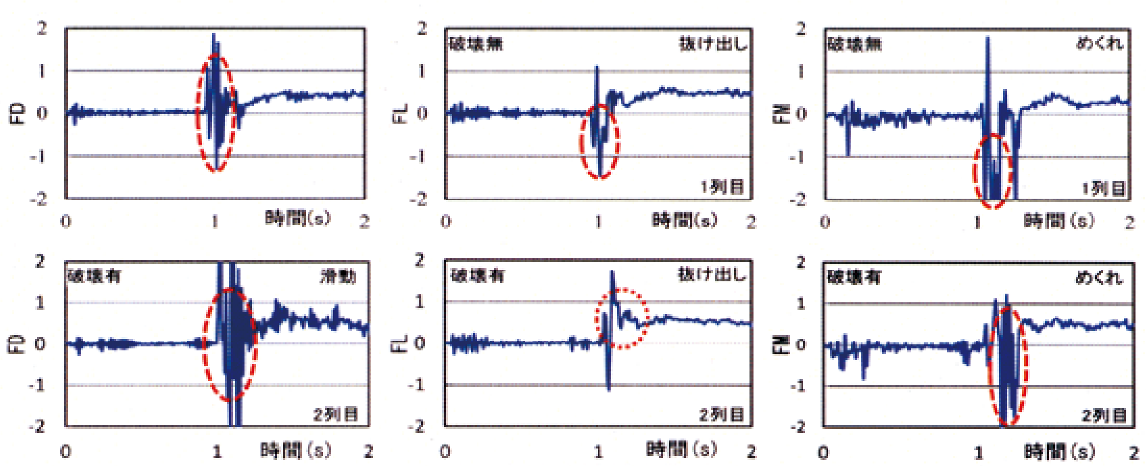


図-11　各破壊モードの破壊指数，h/H =1.5（上側 1 列目，下側 2 列目）

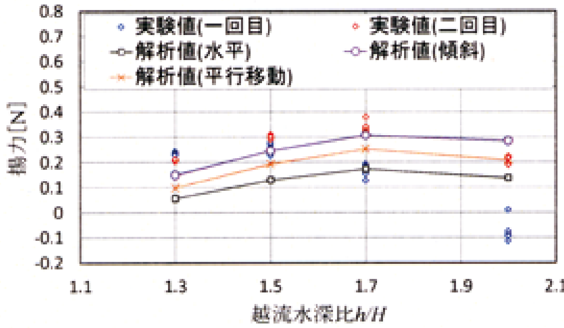


図-12　裏法尻保護ブロックに作用する揚力

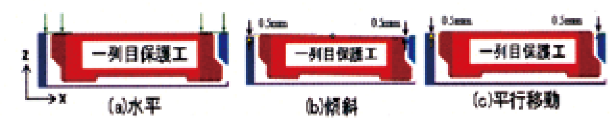


図-13　ブロック設置状況（数値解析）

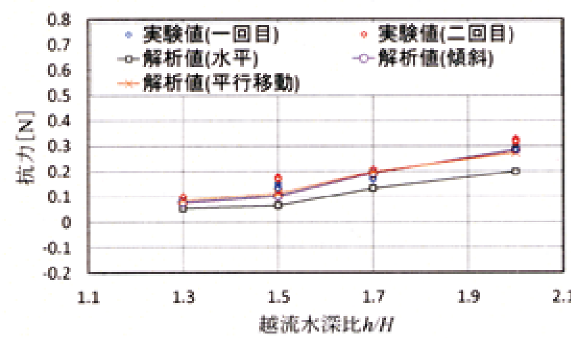


図-14　裏法尻保護ブロックに作用する抗力

揚力の実験結果，解析結果を示す．青色のひし形マーカーは一回目の実験結果を，赤色のひし形マーカーは二回目の実験結果を示している．一回目と二回目では，ブロックを一度4分力計から取り外し，もう一度付け直した．

図より揚力の実験値について，越流水深比の条件が増大するに従い，増加から減少の推移となる．また，実験値の一回目と二回目で傾向がやや異なる．実験値の一回目における揚力は，越流水深比が 1.5 から 1.7 の区間で減少する．それに対して二回目の揚力は，越流水深比が 1.7 から 2.0 の区間において減少する．その原因として 2 回の実験で，一列目保護工の設置状況がわずかに異なったことが考えられる．一列目保護工は海岸堤防の裏法尻に設置しているため，海岸堤防を越流した津波の高流速の影響を強く受ける．実験では設置状況を統一しているが，0.5 mm 以下の単位で設置は難しい．そこで，本解析では設置状況が 0.5 mm 以下の単位で異なると仮定して解析を実施した．**図-13** にブロックの設置状況を示す．(a)水平は一列目保護工の表面の高さを基礎工の高さと一致させている．(b)傾斜は一列目保護工の中心を基点に上流側を 0.5 mm 高く，下流側を 0.5 mm 低くし，中心を基点に 1°時計回りに傾けた状態に設置した．(c)平衡移動は一列目保護工を鉛直方向に 0.5 mm 移動させている．

図より，揚力の解析結果は越流水深比の条件が増大するにつれ，実験値の二回目と同様の傾向を示した．ブロックを基礎工と水平に設置した場合では，二回目の実験と定性的に合っているが，定量的には一致していない．しかしブロックの設置を傾斜にすることで，二回目の実験に近い値を再現した．

図-14 に抗力の実験結果と解析結果を示す．図より，抗力について一回目，二回目の実験では，ともに越流水深比の条件が増大するにつれ抗力が増加する傾向が見られる．また抗力の解析結果は越流水深比の条件が増大するに従い，実験結果と同様に増加する傾向を示した．しかし各設置状況の違いから，定量的に結果が異なる．基礎工と水平に設置した場合では，越流水深比が小さいとき実験値を下回る．しかし越流水深比が増大するに従い定量的に一致した．また傾斜と平行移動の設置では，水平に比べ抗力が大きい値を示した．

5．結論

本研究で得られた主要な結論を以下に示す．

(1) 海岸堤防の裏法尻保護工を設置することで，堤防を流下する越流水の流向は法尻付近で水平となり，保護工下流端で波状跳水を発生させながら，洗掘孔を発達させる．このため，保護工は洗掘を堤体から遠ざけ，堤体材料の吸出しを抑制し，堤防の安定に寄与する．

(2) 越流水による保護工被災の直接的な要因は，津波衝撃時の揚力と考えられる．つまり，津波着水後の衝撃時に上向きの力が微小時間だけ継続して作用することで，ブロックがわずかに抜け出す．その結果，ブロックがより流体力を受けやすくなり，流出に至ると考えられる．

(3) 越流がほぼ定常状態となる条件で，水路中央部の基礎工に最も近い裏法尻保護工のブロックに作用する流体力を調べた結果，抗力は越流水深に比例して増加したが，揚力は増加後に減少する傾向を示した．定性的には解析結果は実験を概ね再現したが，定量的には不十分であった．その要因として，ブロックの設置状況の再現性と解析精度が十分でない点が考えられる．

参考文献

1)　海岸における津波対策検討委員会：平成 23 年東北地方太平洋沖地震及び津波により被災した海岸堤防等の復旧に関する基本的な考え方，2011.

2)　財団法人土木研究センター：護岸ブロックの水理特性試験法マニュアル(第2版)，2003.

謝辞

本研究を遂行するに当たり，助成を賜りました八雲環境科学振興財団に深く感謝いたします．

湖水の環境保全を目的としたバイオ燃料電池の開発研究

岡山大学大学院環境生命科学研究科　　田村　隆

(緒 言)

アオコは，夏から秋にかけてダムや貯水池，ため池などの貯水施設，水源地やキャンプ場などのレジャー施設の池など多くの水域に突発的に大発生する。湖面の着色や油膜の形成によって著しく景観は損なわれ，斃死した魚からの異臭や硫化水素も発生して社会問題化する。アオコの大繁殖は，溶存酸素が少なく嫌気的な水層が湖底に形成されて，そこに蓄積した還元力によって，自然界では絶対的に不足している筈のリンが溶出する富栄養化現象に深く起因する。**アオコ発生問題は生物的現象として捉えられがちであるが，本質的には水面と湖底の電位差がもたらす物理化学現象である。**この電位差解消のために，本研究では微生物酵素ヒドロゲナーゼをコーティングしたバイオ電極の開発に取り組む。バイオ電極は，湖底に蓄積した還元力を電子として回収して水面付近で酸素に渡すことにより湖水を攪拌し続けるのと同じ効果をもたらす(Fig. 1)。通常は塩化銀や白金が電極に用いられているが[1]，貴金属の電極は高価であり，硫化水素やタンパク質などが付着するとすぐに機能を失う。一方，微生物酵素は自然環境でもっともよく機能する酸化還元触媒である。この酵素ヒドロゲナーゼをペリプラズム空間に発現するのが，硫酸還元菌である。

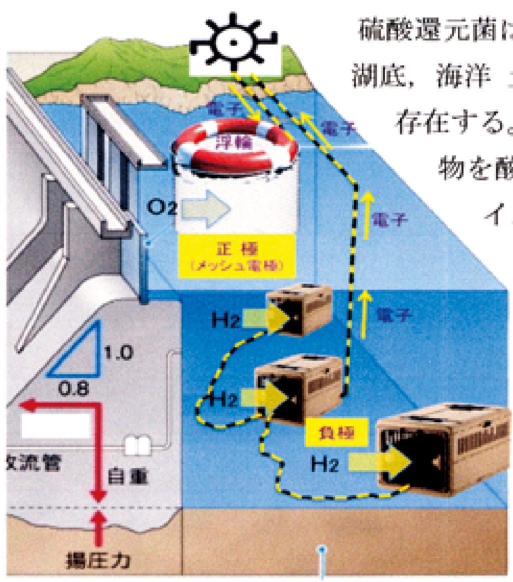


Fig. 1 バイオ燃料電池によって湖底の還元力を抜き取るしくみ

硫酸還元菌は絶対嫌気環境に棲息するグラム陰性桿菌である[2]。湖底，海洋 土壌，下水管，パイプラインや石油施設など普遍的に存在する。電子供与体として水素や乳酸，ギ酸など様々な有機物を酸化的に分解して，得られた電子の受容体として硫酸イオンを利用する硫酸呼吸によってエネルギーを獲得する[3-5]。硫酸還元呼吸で生じる最終産物である硫化水素は人体に有害で，環境においては金属やコンクリートを腐食させる原因にもなっている。一方，水素も硫酸還元におけるエネルギー・キャリアとして重要な役割を担っている[6]。

Desulfovibrio 属は乳酸，ピルビン酸など有機物によって生育する際に還元力の貯蔵や細胞外への輸送のために分子状水素を生産する[7-10]。また，近年の研究で，ギ酸を水素に変換することによって ATP を得るという新しい代謝経路も提唱されている[11]。ヒドロゲナーゼは硫酸還元菌の水素代謝の鍵となる酵素である。ヒドロゲナーゼはヘテロ二量体の $H_2 \rightleftarrows 2H^+ + 2e^-$ の可逆反応を触媒する酵素である[12]。ペリプラズム空間や細胞質に局在しており，活性中心はタンパク質内部深くに埋まっている。タンパク質表面と活性部位との間には水素が拡散するための経路，電子移動経路である鉄硫黄クラスター，さらにプロトン移動経路も存在する[13]。ヒドロゲナーゼは活性中心の金属組成によって，[FeFe]型と[NiFe]型に分類される[14](Fig. 2)。これらのヒドロゲナーゼは異なる系統関係にあると考えられる[15]。[FeFe]型は 2 つの鉄イオンで構成されており，酸素感受性が高く，酸素の存在により不可逆的に失活する[16]。[NiFe]型では活性中心はニッケルイオンと鉄イオンで構成されており，酸素で失活しても，還元条件下において活性を回復することができる[16]。この[NiFe]ヒドロゲナーゼには，さらに酸素耐性が高いサブグループが存在する。それは，[NiFe]ヒドロゲナーゼで Ni に配位しているシステインの一つがセレノシステインに置換されている[NiFeSe]ヒドロゲナーゼである。セレン含有型酵素は通常の[NiFe]ヒドロゲナーゼと比べて水素生産活性が高く，失活からの回復速度も早く，最も応用に適していると期待されている[13,17]。

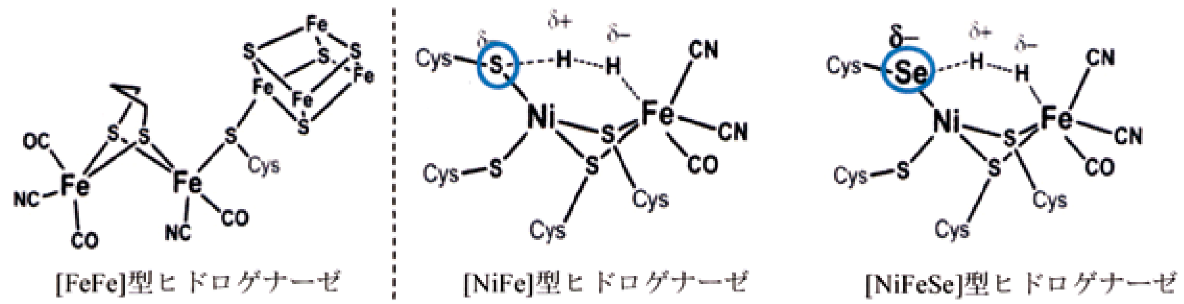


Fig. 2　活性部位の違いによるヒドロゲナーゼの分類

ヒドロゲナーゼを利用した燃料電池の開発に期待が高まっている一方で，酵素の実用化には解決しなければならない課題も数多くある。まず [NiFeSe]ヒドロゲナーゼを簡便に大量に調製する必要がある。しかし [NiFeSe]ヒドロゲナーゼを大腸菌において遺伝子組換え産物として大量調製することは困難である。この酵素は補欠分子族の構築，ペリプラズム移行などを伴う成熟化の過程を必要とする[18]。このプロセスは詳細に解明されておらず，種特異性が高いので異種の細菌でこの過程を代替することはできない。しかし，硫酸還元菌でこの酵素を生産させるにしても，遺伝子の改変が少しでもできれば，酵素精製を簡略化できるタグ配列を遺伝子に書き込むことができる。その結果，成熟化のプロセスを生産菌自身に行わせて，タグ付加された目的酵素をワンステップで精製することが可能になる。本研究では，硫酸還元菌ゲノム DNA の[NiFeSe]ヒドロゲナーゼ遺伝子に精製用タグ配列が付加するよう変異導入を行う相同組換え法を検討した。

1.　新規[NiFeSe]ヒドロゲナーゼの同定

[NiFeSe]ヒドロゲナーゼは Ni に配位しているシステインの一つが，セレノシステイン（Sec）に置換された極めて珍しいパラログ酵素である。また，[NiFe]ヒドロゲナーゼとは異なる水素拡散経路やプロトン移動経路を持ち，高い酵素活性をもたらすと考えられている。

[NiFeSe]ヒドロゲナーゼの存在が報告されているのは硫酸還元菌 *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough, *Desulfomicrobium baculatum* の二種である。Sec は終止コドンの一つであるオパールコドン TGA でコードされている。既知の配列を手がかりにゲノム情報が公開されている類縁の硫酸還元菌から相同性検索を行ってみると *Desulfovibrio alaskensis* G20, *Desulfobacter piger, Desulfovibrio africanus, Desulfovibrio salexigens, Desulfovibrio hydrothermalis, Desulfobacter postgatei, Desulfobacterium autotrophicum* において相同性が高い遺伝子がヒットしたが，オパールコドンで集結するとアノテーションされていた。その C 末端の終止コドン TGA を Sec と仮定して更に相同性を調べた結果，Sec 以降の配列も相同性が高いアミノ酸配列がコードされており 2 つ目の終止コドンによって ORF が完結していることが示唆された。これらも[NiFeSe]ヒドロゲナーゼである可能性が高い（Fig. 3)。

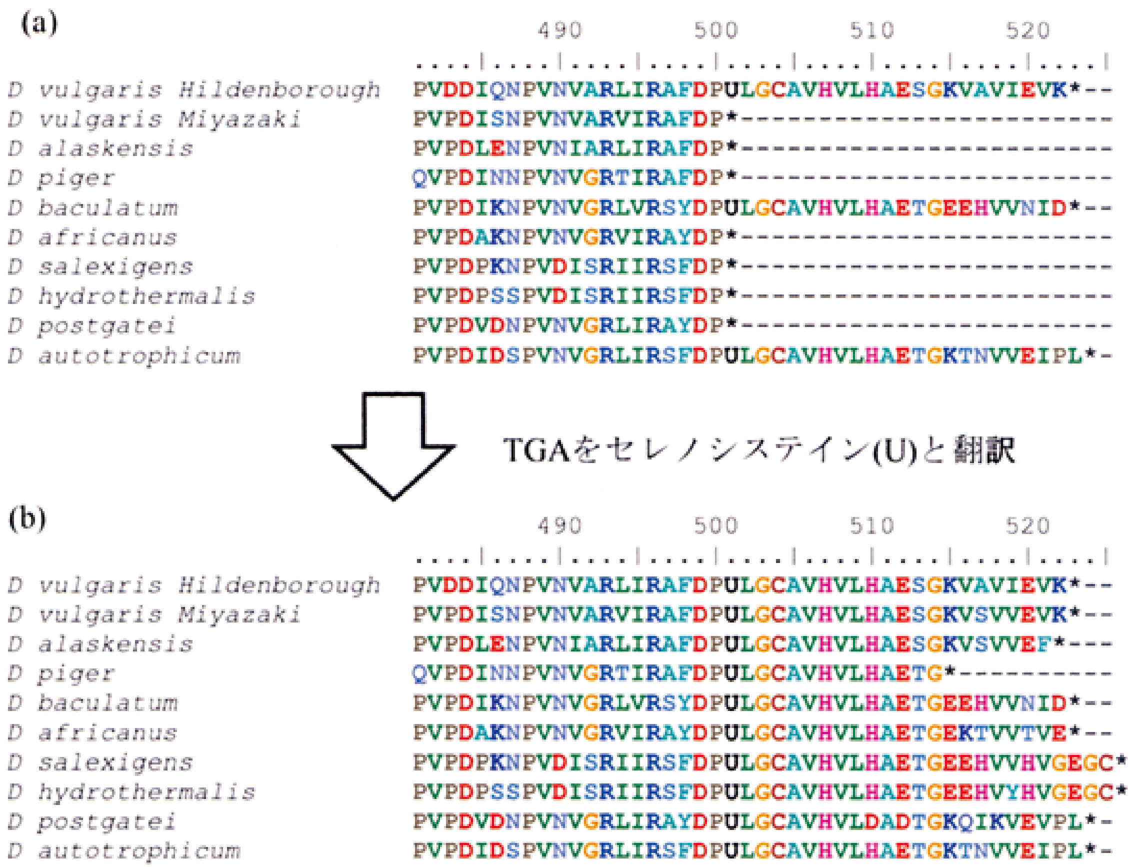


Fig. 3　アミノ酸配列の相同性検索による新規[NiFeSe]ヒドロゲナーゼの検索
(a) NCBI データベース上に公開されているアミノ酸配列で相同性を調べた結果,7 株の[NiFeSe]Hase の TGA が終止コドン(*)として翻訳されていた。(b) オパールコドン TGA をセレノシステイン(Sec)として翻訳した結果，Sec 以降の配列も類似しており，2 つ目の終止までの配列は高い相同性を示した。

これらの候補株の中から比較的培養しやすい *Desulfovibrio alaskensis* G20 において，活性染色によるヒドロゲナーゼの検出を行い，フランスの CRNS 生物無機化学・環境化学研究所

に送り，LA-ICP-MS により Se の検出を依頼した。また，もう一つの候補株として *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F についても同様にヒドロゲナーゼの活性染色と ICP-MS によるセレン同定の検討を行った。

方　法

使用菌体と使用培地

***Desulfovibrio alaskensis* G20**　　***Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F**

Medium C：0.05% (w/v) KH_2PO_4, 0.1% NH_4Cl, 0.45% Na_2SO_4, 0.006% $CaCl_2$・$2H_2O$, 0.006% $MgSO_4$・$7H_2O$, 0.6% Sodium lactate, 0.1% Yeast extract, 0.0004% $FeSO_4$, 0.03% tri-Sodium Citrate Dihydrate, 0.0001% Resazurin Sodium Salt, NaOH で pH7.5 に調製し加圧滅菌した。

嫌気培養

Desulfovibrio alaskensis G20, *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F を 50 mL Medium C に植菌し，アルゴンで気相置換してセプタム付きバイアル瓶にて静置培養した (37℃，数日間)。

菌体破砕と電気泳動

培養液を集菌（6000 rpm, 10 min, 4℃）後，上清を除去した。緩衝液 3 mL に懸濁し，遠心（6000 rpm, 10 min, 4℃）後，上清を除去した。菌体破砕液 1 mL に懸濁後，1.5 mL 容チューブに 500 μL ずつ分注し，超音波破砕（5 秒の破砕と 5 秒冷却のインターバル，10 回）を行った。破砕液を遠心（13000 rpm, 20 min）後，上清を回収し，超遠心用サンプルチューブに移した。超遠心（45000 rpm, 1 h, 4℃）後，上清を回収，これを可溶画分，ペレットを膜画分とした。ペレットには，菌体破砕液に 1/10 量の 10%Triton X-100 を添加したものを 20 μL 懸濁した。超音波破砕はハンディーソニック（Handy Sonic model UR-20p, TOMY SEIKO CO. LTD）を用いた。

菌体破砕液組成：25 mM Tris-HCl（pH7.5）Lysozyme（1 mg/mL）1 mM PMSF, 2mM DTT

泳動板，泳動用パッキンを組み立てる。分離ゲルを泳動板の 4/5 の高さまで流し込み，水飽和ブタノールを 200 μL 重層した。分離ゲルが固まった後，水飽和ブタノールを除去し，泳動板の残りの 1/5 に濃縮ゲルを流し込み，コームを差し込んだ。濃縮ゲルが固まった後，泳動用パッキンを除去し，泳動槽にセットした。　泳動槽の下に陽極用泳動 buffer，上に陰極用泳動 buffer を流し入れた。調製したサンプルをウェルに流し込み，低温室（4℃）でゲル 1 枚分を 1000 V, 20 mA, 90 min で泳動した。

分離ゲル組成：6% Acrylamide mixture, 0.08% TEMED, 1% APS, 37.5% Tris-HCl（pH8.8)

濃縮ゲル組成：5% Acrylamide mixture, 0.06% TEMED, 1%APS, 17.5% Trs-HCl（pH8.8)

活性染色と Sec（セレノシステイン）残基の化学修飾

ゲルを嫌気パウチ(Anaerocult A mini) に入れ，活性染色液 20 mL を加えた。H_2 ガスを内部に充満させ，シーリングし，2 時間振とうした。

活性染色液組成：0.05% Benzyl viologen dichloride, 0.1% 2, 3, 5-Triphenyltetrazolium Chloride, 2.5% Tris-HCl (pH 7.5)

嫌気パウチ内にヨードアセトアミド水溶液を終濃度 2 mM になるように入れ，再度密閉し，2 時間振とうした。

ゲル乾燥と LA-ICP MS 分析

ゲル乾燥装置（AE-3711 型，アトー株式会社）を用いて活性染色後のゲルを乾燥した。乾燥装置にステンレス支示板，フィルター板，濾紙，ゲル，セロハン，濾紙，シリコンカバーの順にセットして，温度 60℃で完全に乾燥するまで乾燥作業を続けた。乾燥させたゲルを共同研究者である Kasia Bieria 博士（Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement, France）に送付した。

共同研究者である Kasia Bieria 博士によって行われた。Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA ICP MS) 分析の操作は UP-213 laser (New Wave Reserch, Fremont, CA) によってサンプルを蒸発させ，Agilent 7500cs ICP MS (Agilent Technologies, Tokyo, Japan) によって解析を行った。

結　果

D. alaskensis G20 と *D. vulgaris* Miyazaki F を Medium C で嫌気培養し菌体を獲得した。さらに得られた菌体において超音波破砕と超遠心分画を行い，獲得した 2 つの粗酵素抽出液それぞれを可溶性画分と膜画分に分けて回収した。それぞれの菌体で可溶性画分 2 サンプル，膜画分 2 サンプル，計 4 サンプルを Native-PAGE に供した。その後，2,3,5-Triphenyltetrazorium Chloride（TTC）を生じることを利用した活性染色によって，発現確認を行った。その結果を Fig.4 に示す。膜画分 1,2 の粗酵素からヒドロゲナーゼのバンドが確認された。

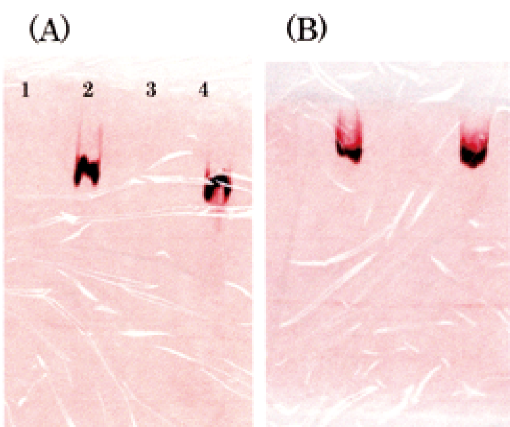


Fig. 4　活性染色
(A) *D. alaskensis* G20　(B) *D. vulgaris* Miyazaki F
1, 3：可溶性画分の粗酵素
2, 4：膜画分の粗酵素
MediumC で嫌気培養し，超音波破砕，超遠心分画して獲得したそれぞれの 4 つの画分を 6.0 (w/v) Native-PAGE へ供した。赤く染色されたバンドはヒドロゲナーゼである。

活性染色バンドのヒドロゲナーゼに Se 元素が含まれることを証明するため，2 mM ヨード酢酸アミドを用いて Sec のアルキル化保護を行った後，ゲル乾燥装置により乾燥させて LA ICP MS 分析を行った。*D. alaskensis* G20, *D. vulgaris* Miyazaki F においてヒドロゲナーゼの活性バンドに Se が検出された。(Fig. 5)

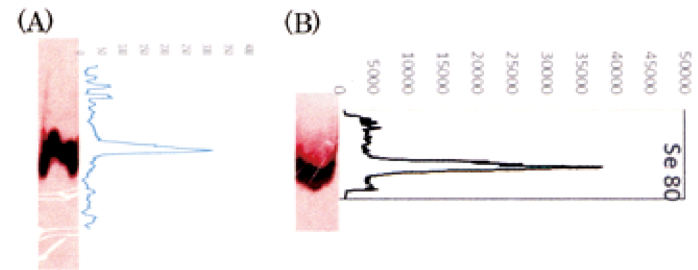


Fig. 5 ヒドロゲナーゼの Se 検出
(A) *D. alaskensis* G20
(B) *D. vulgaris* Miyazaki F

D. alaskensis G20, *D. vulgaris* Miyazaki F は新規の[NiFeSe]ヒドロゲナーゼを保有していることが示唆された。実用化のためには，これらのヒドロゲナーゼを精製する必要がある。

2.　Strep-Tag タグ導入[NiFeSe]ヒドロゲナーゼ遺伝子の構築

接合伝達用により相同組換えベクターを *D. alaskensis* G20 内に導入し，相同組換えにより[NiFeSe]ヒドロゲナーゼへの Strep-Tag アフィニティタグの導入を検討した。相同組換え効率を改善するためにリコンビナーゼをコードする遺伝子をベクター内に導入し，硫酸還元菌において 2 回の相同組換えを起こす組換えベクターを構築した。

方　法

使用菌株

Escherichia coli **JM109** ***pir*** **【*F', traD36, lacI^q, proA$^+$B$^-$/rpsL, e14$^-$(McrA$^-$), λ(lac-proAB), thi, gyrA96, endA1, hsdR17 ($r_K^-m_K^-$), relA1, supE44, λpir*】**

複製開始起点 R6Kori を持つプラスミドは *pir* 遺伝子に依存するので，宿主として *E. coli* JM109 *pir* 株を用いた。これを GENEART によるプラスミド pC18R6SacBalaAmp 構築の際にクローニング宿主として使用した。

Escherichia coli **JM109【*F', traD36, lacI^q, proA$^+$B$^-$/rpsL, e14$^-$(McrA$^-$), λ(lac-proAB), thi, gyrA96, endA1, hsdR17 ($r_K^-m_K^-$), relA1, supE44*】** pKD46 の形質転換主として使用した。

使用培地とプラスミド

LB培地：1%　(w/v) polypepton, 0.5% Bacto™ Yeast Extract(**Becton, Dickinson and Company**), 0.5% NaCl, 上記組成で調製後オートクレーブして使用した。

SOB培地：2% polypepton, 0.5% Bacto™ Yeast Extract, 0.06% NaCl, 0.02% KCl　10 mM $MgSO_4$, 10 mM $MgCl_2$(別に滅菌)を使用直前に添加した。

SOC培地：2% polypepton, 0.5% Bacto™ Yeast Extract, 0.06% NaCl, 0.02% KCl　上記組成で調製し，オートクレーブ後に20 mM グルコース(別に滅菌)を加えた。

pKD46：　アンピシリン耐性遺伝子，リコンビナーゼ遺伝子（*AmpR-bet protein* 断片）の PCR 増幅の際に鋳型としてこのプラスミドを使用した。

pC18R6SacBalaAmp：PCR における *hydL-oriT* 断片増幅の鋳型として使用した。

AmpR-bet protein 断片増幅用プライマー　(pKD46 プラスミドから増幅)

Fw : Bet_frw58　　(5' -GGGAGGGGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCAC-3')
Rv : AmpR_rev　　　(5' -GCCAAAGAGTGGATTTCGGATAACAGAAAGGC-3')
PCR 条件 : 94℃ 2 min, (98℃ 10 sec, 60℃ 30 sec, 68℃ 2:10)×25 回
(ii) *hydL-oriT* 断片増幅用プライマー　(pC18R6SacBalaAmp から増幅)
Fw : hydLala_frw58 (5'　ATTGGTAACCCCTCCCCGGACTTCAAGTGC 3')
Rv : orithyd_rev58 (5'　AAATCCACTCTTTGGCATCGTCTCTCGC 3')
PCR 条件 : 94℃ 2 min, (98℃ 10 sec, 64℃ 30 sec, 68℃ 2 min 40 sec) ×25 回

接合伝達-相同組換え用ベクターの構築

pvC18R6SacBalaGam 作製のため, AmpR-bet protein 断片, hydL-oriT 断片を増幅した。断片はそれぞれ約 4.2 kb , 5.3 kb で増幅される。それぞれの断片が単一に増幅できていることをアガロースゲル電気泳動により確認した (Fig. 6) 。これらの断片を NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up を用いて精製した。

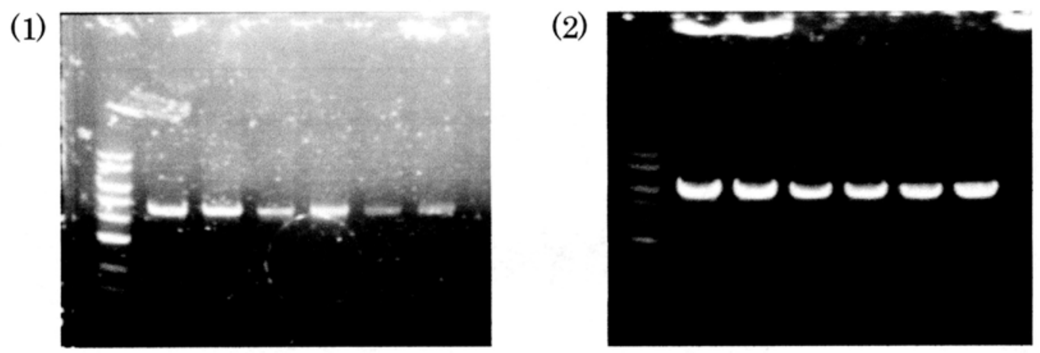
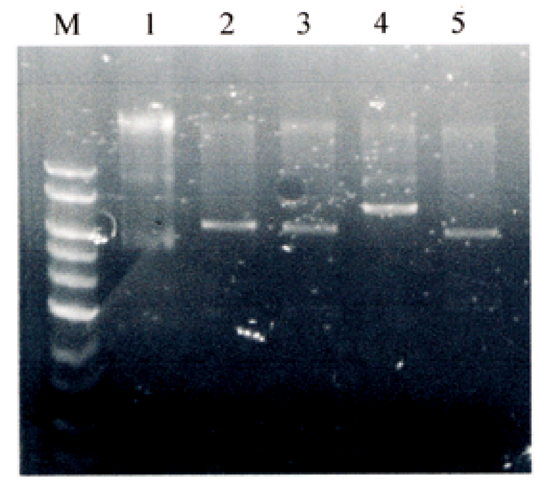


Fig. 6　PCR 断片の確認
(1) AmpR-bet protein 増幅断片（インサート）
(2) hydL-oriT 増幅断片（ベクター）
0.75%アガロースゲルによる確認。

これらの遺伝子を GENEART® Seamless Cloning and Assembly Kit により連結した。　精製した PCR 産物である AmpR-bet protein 断片と hydL-oriT 断片を 1 : 2 となるように調製してライゲーション反応に供した。形質転換株を LB 培地プレート (1.5%寒天, アンピシリン 50 μg/mL) で選抜した後, 液体 LB 培地で培養してプラスミド抽出した。それを BamHI, Eco53KI, NcoI, SmaI によって 2 か所切断し, 電気泳動によって確認を行った。

構築ベクターpvC18R6SacBalaGam は約 9.5 kb である。このベクターを BamHI 処理すると, 3.1, 6.4 kb のバンドが確認される。Eco53KI で処理すると, 3.2, 6.3 kb のバンドが確認される。NcoI で処理すると, 7.4, 2.1 kb のバンドが確認される。SmaI で処理すると, 3.4, 6.1 kb のバンドが確認される (Fig. 7)。確認されたバンドが予想される大きさと一致していることから, ベクターの構築に成功したと考えた。



1 : 未切断
2 : BamHI 処理
3 : Eco53KI 処理
4 : NcoI 処理
5 : SmaI 処理

Fig. 7　制限酵素処理によるプラスミド構築の確認
0.75%アガロースゲルによる確認。BamHI（約 3.1, 6.4 kb）, Eco53KI（約 3.2, 6.3 kb）, NcoI（約 2.1, 7.4 kb）, SmaI（約 6.1, 3.4 kb）で処理した結果，予想した断片長が確認できた。

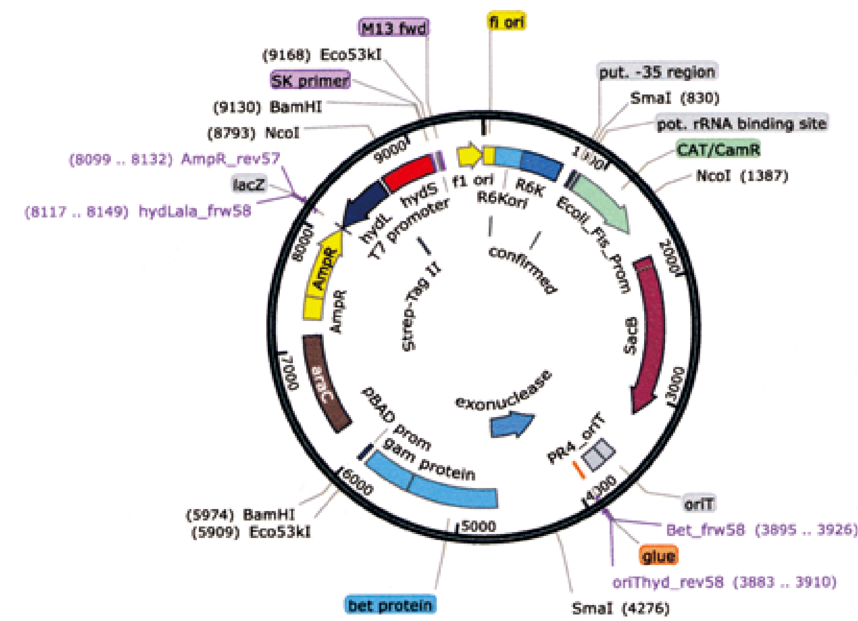


Fig. 8 pvC18R6SacBalaGam のプラスミド地図　新たに導入されたリコンビナーゼ遺伝子は水色 bet protein と表記されている。

接合伝達－相同組換え用ベクターpvC18R6sacBalaGam にリコンビナーゼ遺伝子を導入したプラスミドの構築に成功した(Fig. 8)。これは制限酵素処理による確認とシーケンス解析の結果からも裏付けられた。このベクターを大腸菌に形質転換させて, *D. alaskensis* G20 に接合伝達により取り込み, 相同組換えを起こすことで *D. alaskensis* G20 のゲノム DNA に Strep-tagII を持つ *hydSL* の遺伝子断片を組み込む。

3　*D. alaskensis* G20 の形質転換と相同組換え株の取得

構築した上記ベクターはヒドロゲナーゼ精製のための STII 配列，アンピシリン耐性遺伝子 AmpR，クロラムフェニコール耐性遺伝子 *cat*，相同組換え *bet protein* 遺伝子と *pir* 遺伝子要求性複製開始起点 R6K ori を保有しており，*pir* 遺伝子を持たない硫酸還元菌ではベクターを増幅できない。これを利用し，一度目の相同組換えを起こした株のみをクロラムフェニコール耐性株として選抜できる(Fig. 9)。また，予備実験により大腸菌 MC4100 由来ヒドロゲナーゼ遺伝子 *hyaAB* の大サブユニット N 末端に Strep-tagII を付加することで，Strep-Tactin sepharose カラムによって簡易的にヒドロゲナーゼを精製できることも確認している。これを利用して硫酸還元菌由来ヒドロゲナーゼを簡易的に精製することも検討した。

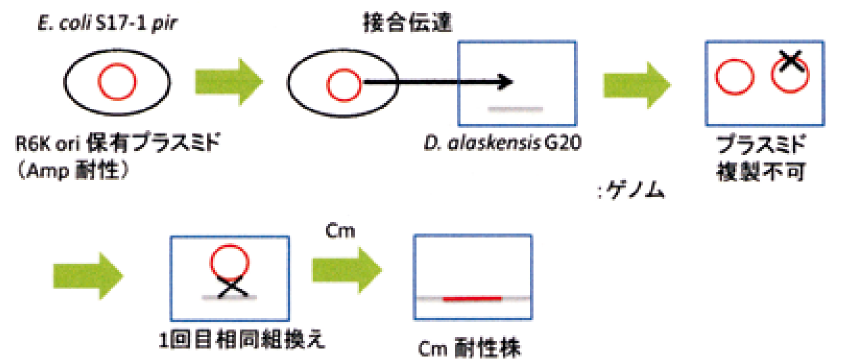


Fig. 9　1 回目の相同組換え
STII を導入するための相同配列を含む R6K *ori* 保有プラスミドを形質転換させた *pir* 遺伝子保有大腸菌 17S-1*pir* により，硫酸還元菌との接合伝達によって硫酸還元菌にプラスミドを導入する。更に硫酸還元菌は *pir* 遺伝子を保有しないため，Cm 含有培地では 1 回目の相同組換えを起こして *cat* 遺伝子を保有した株のみが生存できる。

使用培地

Medium E(接合伝達用培地)：0.05% (w/v) KH_2PO_4, 0.1% NH_4Cl, 0.1% Na_2SO_4, 0.01% $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.2% $MgCl_2 \cdot 7H_2O$, 0.35% Sodium lactate, 0.1% Yeast extract, 0.05% $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.15% KNO_3, 1.5% Agar, 0.0001%Resazurin Sodium Salt, NaOH で pH7.6 に調製しオートクレーブした。使用前に終濃度 0.01% Ascorbic acid, 0.01% Thioglycollic acid を加えて使用した。

硫酸還元菌用培地：0.05% K_2HPO_4, 0.1% NH_4Cl, 0.1% Na_2SO_4, 0.01% $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.2% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.2% Sodium lactate, 0.1% Yast Extract, 0.05% $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.0001% Resazurin Sodium Salt, 0.1 μM Na_2SeO_3, KOH で pH7.8 に調製しオートクレーブした。使用前にフィルター滅菌済み終濃度 0.01% Sodium Thioglycolate, 0.01% Ascorbic acid を加えて使用した。

(a) 相同組換え確認用プライマー
Fw：X1_fr63 (5' AAGTGCCATGTTTGATCATTCAAACATCACAC 3')
Rv：Tag_rev63 (5' CTTTTCGAACTGGGGGTGGGACCA 3')
鋳型：接合伝達株ゲノム DNA, pvC18R6SacBalaGam, *D. alaskensis* G20 ゲノム DNA

PCR 条件：94℃ 2 min, (94℃ 30 sec, 66℃ 30 sec, 68℃ 50 sec) × 35cycle
(b) 相同組換え確認用プライマー
Fw：Tag_fr63 (5' TGGTCCCACCCCCAGTTCGAAAAG 3')
Rv：X1_rev63 (5' TTCCTTGAGCCAGCGCTCTATGTAGTTG 3')
鋳型：接合伝達株ゲノム DNA, pvC18R6SacBalaGam, *D. alaskensis* G20 ゲノム DNA
PCR 条件：94℃ 2 min, (94℃ 30 sec, 66℃ 30 sec, 68℃ 50 sec) × 35cycle
(c) 相同組換え無し確認用プライマー
Fw：X1_fr63 (5' AAGTGCCATGTTTGATCATTCAAACATCACAC 3')
Rv：X1_rev63 (5' TTCCTTGAGCCAGCGCTCTATGTAGTTG 3')
鋳型：接合伝達株ゲノム DNA, *D. alaskensis* G20 ゲノム DNA
PCR 条件：94℃ 2 min, (94℃ 30 sec, 66℃ 30 sec, 68℃ 1 min 20 sec) × 35cycle

接合伝達

接合伝達用大腸菌 E. coli 17S-1pir に構築したベクターを形質転換して，LB プレート (50 μg/mL アンピシリン) からコロニーを拾い，5mL LB 培地 (50 μg/mL アンピシリン) に植菌した。振とう培養 (37℃, 7 h) 後，集菌 (13000 rpm, 1 min×5, 4℃) し，上清を除去した。1 mL LB 培地で懸濁し，洗浄 (13000 rpm, 1 min, 4℃) 後，上清を除去した。この洗浄操作をもう一度繰り返した後，100 μL LB 培地で懸濁し，これを大腸菌懸濁液とした。MediumC で OD_{600} が 0.8~1.0 になるまで培養した *D. alaskensis* を 2 mL 集菌 (13000 rpm, 1 min, 4℃) した。MediumC 1 mL で懸濁し，洗浄 (13000 rpm, 1 min, 4℃) 後，上清を除去した。回収した時の OD600 に応じて，計算上で OD_{600} が 20 になるように MediumC で濃縮し，これを *D. alaskensis* 懸濁液とした。大腸菌懸濁液と *D. alaskensis* 懸濁液を同量混合し，50 μL を MediumE プレートにスポットした。その後，嫌気チャンバー内で風乾した (1day)。

NB (Nutrient Broth) ソフトアガー重層法

風乾した大腸菌－硫酸還元菌混合プレートに NB ソフトアガーを重層し，薬剤耐性により選抜した。NB ソフトアガーは Nutrient Broth 0.8%，寒天 0.4%を混合しオートクレーブすることで調製した。50℃程度になったところでカナマイシン (終濃度 50 μg/mL)，クロラムフェニコール (終濃度 10 μg/mL) をそれぞれ加え，プレートに 3 mL 重層した。嫌気チャンバー内で風乾し (overnight)，Anaerocult A mini (Microbiology Anaearocult A mini) が入った嫌気パックで培養した (37℃, 数日間)。

クロラムフェニコール耐性株 (1 回目相同組換え株) の選抜

プレート上で黒くなった部分をバイアル瓶中の 3 mL 硫酸還元菌用培地 (含クロラムフェニコール 10 μg/mL，カナマイシン 50 μg/mL) に植菌し，Ar 脱気を行い，黒色の沈殿物が確認できるまで 37℃で数日嫌気培養した。その培養液を MediumC に 500 μL 植菌し，Ar 脱気を行い培地の色が変化するまで 37℃で数日間培養した。これらの操作は，pC18R6SacBalagam

が *cat* 遺伝子と pWM95 由来 *pir* 遺伝子要求性複製開始起点 R6K ori を保有していることを利用し，1 回目の相同組換えを起こしゲノムにプラスミドが挿入された株のみを選抜することを目的として行った。この菌体からゲノムを抽出し，PCR によって相同組換えが起きていることの確認を行った。

結果

接合伝達による *D. alaskensis* G20 への pvC18R6SacBalaGam の導入

D.alaskensis G20 の *hase* 遺伝子に相同的な配列を持つ接合伝達ベクター pvC18R6SacBalaGam の導入を行う。操作 3-3-2 に従いエレクトロポレーション法を用いて接合伝達用大腸菌 *E. coli* S17-1 pir を pvC18R6SacBalaGam により形質転換した。さらに操作 4-3-3 に沿って接合伝達を行った。

接合伝達し，操作 4-3-4 の NB ソフトアガー重層，嫌気培養後コロニーが現れた(Fig. 10)。

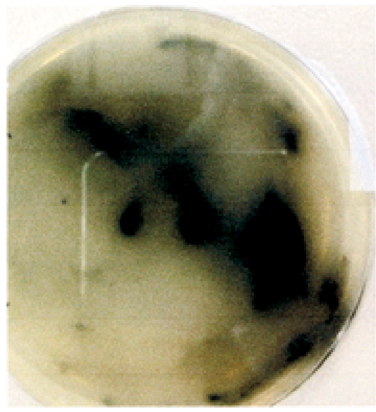


Fig. 10　pvC18R6sacBalaGam 導入株
ソフトアガー重層，嫌気培養後，部分的に黒色を呈した。

クロラムフェニコール耐性株の選抜

黒くなった部分をクロラムフェニコール 10 μg/mL 含有培地で培養後，操作 4-3-5 に従って黒色を呈した部分を拾って継代培養したところ Fig. 4-3 のようになり，クロラムフェニコール耐性株が得られた。

培養前　　培養後

Fig. 11　*D. alaskensis* G20 形質転換体の選抜
クロラムフェニコール 10 μg/mL 含有培地で耐性株が得られた。

PCR による 1 回目の相同組換えの確認

クロラムフェニコールでの選抜により得られた培養液において，操作 4-3-6 に沿ってゲノム抽出を行い，操作 4-3-7 の組成で PCR を行うことで 1 回目の相同組換えが起きているか確認した。1 回目の相同組換えには 2 つのパターンがある（Fig. 12)。パターン A で相同組換えが起こった場合，プライマー(a) において約 1 kb の増幅バンドが得られる。パターン B

で相同組換えが起こった場合，プライマー(b) において約 1 kb の増幅バンドが得られる。

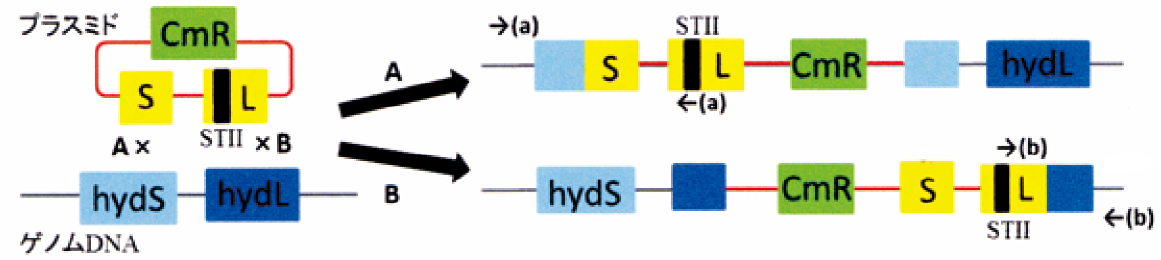


Fig. 12　1 回目相同組換えの概略
(A) hydS で組換えが起こった場合　(B) hydL で組換えが起こった場合

相同組換えが起こっていない場合は，ゲノム DNA 内の配列プライマー(c) において約 2.3 kb のバンドが得られる（Fig. 13)。

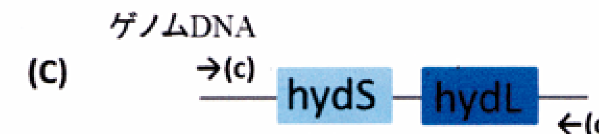


Fig. 13　(C) 相同組換えなしの場合

PCR の結果，プライマー(a)，(b)，(c) すべてにおいて目的のバンドが確認された。この結果から，接合伝達によりベクターが *D. alaskensis* G20 に導入され，相同組換えによってゲノム内に STII 配列が導入されたことが示唆された。しかし，全てのパターンでバンドが確認されたことから，A で 1 回目の組換えを起こしたものと B で 2 回目の組換えを起こしたもの，組換えを起こしていないものが混在していることが考えられる。

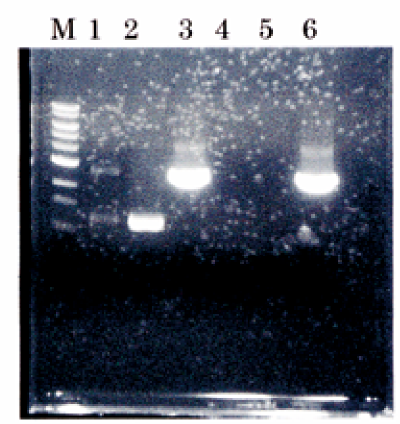


Fig. 14　1 回目相同組換えの確認
1：接合伝達株，相同組換えパターン A
2：接合伝達株，相同組換えパターン B
3：接合伝達株，相同組換えなし(C)
4：野生株，相同組換えパターン A
5：野生株，相同組換えパターン B
6：野生株，相同組換えなし(C)

今後の展望

今回，新規ベクターを用いた接合伝達，1 回目相同組換えを試みた。その結果，接合伝達に成功し，1 回目の相同組換えが起きたことが示唆された。これに続いて 2 回目の相同組換えを起こして，プラスミドをゲノム DNA から脱離させる必要がある。2 回目の相同組換えを誘発するために，アラビノースでリコンビナーゼを発現させて 2 目相同組換え体を選抜する。

pvC18R6SacBalaGam は，レバンスクラーゼ活性を有する酵素の一つである SacB タンパク質をコードする *sacB* 遺伝子を含む。この SacB タンパク質はスクロースを分解することでグラム陰性菌に有害であるレバンを生成する。よってグラム陰性菌である *D. alaskensis* G20 は，細胞内で *sacB* が発現するとスクロース存在下において生育することができない。これを利用して，スクロース含有培地で培養することで，2 回目の相同組換えを完了した株のみを選抜する（Fig. 15）。この培養液からゲノム DNA を抽出し，PCR を行って STII 配列の導入確認を行う。以上の操作により精製タグを付加した[NiFeSe]ヒドロゲナーゼを発現する *D. alaskensis* G20 株が得られるので，酵素をワンステップで精製してバイオ電極の開発に用いる。

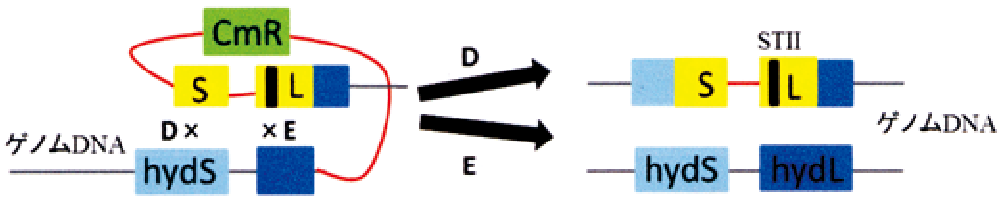


Fig. 15　2 回目の相同組換えによって STII タグ付加 *hydSL* が再構成される仕組み

参考文献

(1) Petrenko A., and Stein M., Rates and routes of electron transfer of [NiFe]-hydrogenase in an enzymatic fuel cell., *J. Phys. Chem. B*, **119**, 13870–13882 (2015)

(2) Postgate, J. R., The sulphate-reducing bacteria, 2nd edn. Cambridge University Press., Cambridge (1984)

(3) Barton, L.L, Hamilton, W.A., Sulphate-reducing bacteria, environmental and engineered systems. Cambridge University Press, Cambridge (2007)

(4) Niki, K., Yagi, T., Inokuchi, H., Kimura K., Electrode reaction of cytochrome c_3 of *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki *J. Electrochem. Soc.*, **124**, 1889-1891 (1977)

(5) Voordouw G., The genus *Desulfovibrio*: the centennial. *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 2813–2819 (1995)

(6) Peck, H. D. Jr., Bioenergetic strategies of the sulfate-reducing bacteria. In Vectorial electron transport in *Desulfovibrio vulgaris* (Marburg) growing on hydrogen plus sulfate as sole energy source (Odom, J. M. & Singleton, R., eds), *Springer*, 41–76 (1993)

(7) Badziong, W., Thauer, R. K., Vectorial electron transport in *Desulfovibrio vulgaris* (Marburg) growing on hydrogen plus sulfate as sole energy source. *Arch. Microbiol.*, **125**, 167–174 (1980)

(8) Brandis, A., Thauer, R. K., Growth of *Desulfovibrio* species on hydrogen and sulfate as sole energy source. *J. Gen. Microbiol.*, **126**, 249–252 (1981)

(9) Postgate, J. R., Growth of sulfate-reducing bacteria in sulfate-free media. *Research* (London), **5**, 189–190 (1952)

(10) Vosjan, J. H., Respiration and fermentation of the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio desulfuricans* in continuous culture. *Plant Soil.*, **43**, 141–152 (1975)

(11) Martins, M., Mourato, C., Pereira, I. A. C., *Desulfovibrio vulgaris* growth coupled to formate-driven, *Environ, Sci, Technol,* **49**, 14655-14662(2015)

(12) Stephenson, M., Stickland L. H., Hydrogenase: a bacterial enzyme activating molecular hydrogen: the properties of the enzyme, *Biochem J.*, **25**, 205-214(1931)

(13) Baltazar, C. S. A., Teixeira, V. H., Soares, C. M., Structural features of [NiFeSe] and [NiFe]hydrogenases determining their different properties: a computational approach, *J Biol Inorg Chem*, **17**, 543-555 (2012)

(14) Vignais, P. M., Billoud, B., Occurrence, classification, and biological function of hydrogenases: An overview, *Chem. Rev.*, **107**, 4206-4272 (2007)

(15) Fontecilla-Camps, J. C., Volbeda, A., Cavazza, C., Nicolet, Y. Structure/function relationships of [NiFe]-and [FeFe]-hydrogenases, *Chem, Rev.*, **107**, 4273-4303 (2007)

(16) Vincent, K. A., Parkin, A., Lenz, O., Albracht, S. P. J., Fontecilla-Camps, J. C., Cammack, R., Friedrich, B., Armstrong, F. A., Electrochemical definitions of O_2 sensitivity and oxidative inactivation in hydrogenases, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 18179-18189 (2005)

(17) Tapia, C., Zacarias, S., Pereira, I. A. C., Conesa, J. C., Pita, M., Lacey, A. L. D., *In situ* determination of photobioproduction of H2 by In2S3-[NiFeSe]hydrogenase from *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough using only visible light, *ACS Catal*, **6**, 5691-5698 (2016)

謝 辞

本研究の遂行するにあたって，多大なるご支援を頂きました八雲環境科学振興財団に厚く感謝致します。

振り子式水流発電Hydro-VENUSを用いた小水力発電の開発

岡山大学大学院環境生命科学研究科　准教授
比江島　慎二

概　要

振り子の流体励起振動を用いた革新的な水流発電機を開発してきた．本研究では，円柱振り子の渦励振を用いた従来の方式に代わり，半円柱や半楕円柱の振り子に生じるギャロッピングを採用した新方式を提案した．この新方式において，半円柱振り子は円柱振り子の5倍，半楕円柱振り子は半円柱振り子のさらに2倍のエネルギー取得性能を発揮した．

1.　はじめに

次世代の再生可能エネルギーとして，潮流，海流，波力，海洋温度差などの海洋再生可能エネルギーの開発が盛んである．海外では，英国のEMEC（European Marine Energy Centre）などを中心に，潮流発電や波力発電の技術革新が進み，すでに商用化の段階に進みつつある．それに対し，わが国は潮流エネルギーの賦存量だけでも原発20基分に相当する[1]など，海洋再生可能エネルギーに恵まれた環境にも関わらず，海外に比べ技術開発の遅れが目立つ．排他的経済水域を含め世界第6位の海洋面積を誇り，海洋立国をめざすわが国にとって，海洋再生可能エネルギーの開発は急務である．

また，国内でも小水力発電の導入は進みつつある．しかし，平野部の都市河川，農業用水路，工業用水路，浄水施設などの“落差の無い”小水力は利用されないまま手付かずである．落差式に比べれば，得られるエネルギー量は限られるため売電事業には必ずしも適さないが，街路灯や害獣用電気柵の電源，河川防災用センサーや海象観測用装置の独立電源，災害時の緊急電源，スマートモビリティの電源などとして有用である．

潮流発電や落差の無い小水力発電では，風力発電と同じく，翼型ブレードを回転させるプロペラタービン方式が主に用いられる．翼型ブレードでは，流線形の滑らかな断面形状を形成するとともに，薄く細長い筐体に強度を持たせるため，特に大型ブレードの場合には，FRPなどの複合材料を薄く何枚も積層して作られる．翼型ブレードは滑らかな流線形状に加え，長手方向にねじりを与えるなど，3次元的に複雑な形状であるため，その製造には特殊な成形技術が必要となる．これに対し，円柱などの単純な柱状物体に生じる流体励起振動を利用した水流発電の開発も進められている[2]．翼型ブレードに比べ，長手方向にねじりのない等断面のシンプルな柱状形状を用いるため，安価な単一材料での製作が可能になると期待され，中空内部に補強構造を組み込みやすく高い強度を得やすいと考えられる．

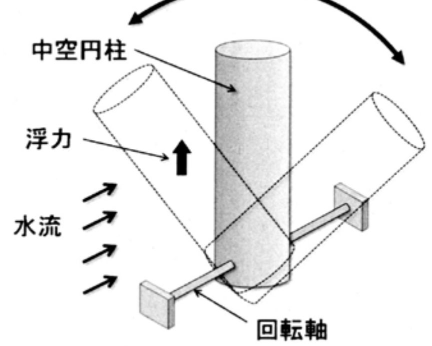


図-1　Hydro-VENUSの振り子方式

われわれは，流体励起振動に基づくそのような発電方式の1つとして，剛体振り子を回転振動させて発電するHydro-VENUS（Hydrokinetic Vortex Energy Utilization System）方式[3-8]を考案した（図-1）．最も基本的な形状である円柱を振り子として用いたところ，円柱から放出されるカルマン渦によって，渦励振と呼ばれる流体励起振動が発生した．

しかし，渦励振は流体励起振動の中でも限定的な応答振幅の振動であり，より大きなエネルギーを獲得するには，発散性の強い自己増幅型の流体励起振動が有効と考えられる．そこで本研究では，自己増幅型の流体励起振動の中でも，比較的励起しやすいギャロッピングを採用することによって，従来の円柱よりも強い振り子振動を励起し，エネルギー取得性能の大幅な向上をめざす．

2.　ギャロッピングの発生機構と振り子断面形状

(1)　ギャロッピングの発生機構

ギャロッピングを生じやすい柱状物体の断面形状として，四角形，台形，三角形などがよく知られている[9]．いずれも断面の2つの角部（断面形の頂点）を主流に対して左右対称に配置し，その角部から主流を剥離させ，一対の剥離せん断層を形成する．このとき，剥離点となる角部よりも下流には，アフターボディと呼ばれる物体の一部が連なるように，主流に対して断面を配置する．例えば，正三角形断面であれば図-2のように，正三角形の1辺を主流に正対するように最上流側に置き，その辺の対頂点を最下流側に置くような配置である．

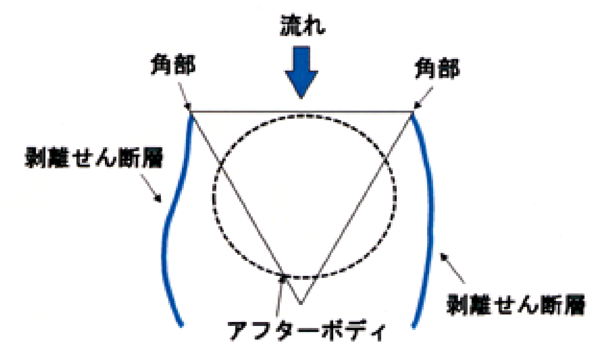


図-2　ギャロッピングを生じやすい断面とその周辺流れの特徴

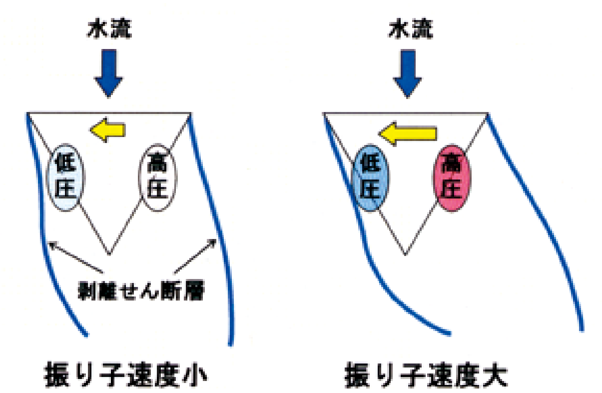


図-3　ギャロッピングの発生機構

断面上流部の2つの角部から一対の剥離せん断層が生じるが，図-3の左図のように物体が左方向に振動し始めると，左側の剥離せん断層が物体のアフターボディ部に近づき，右側の剥離せん断層は遠ざかる．そうすると，アフターボディ部の左側面が右側面よりも低圧となって，物体振動をさらに加速するような流体力が左方向に発生する．それによって物体の振動速度が増大すると，図-3の右図のように，左側剥離せん断層がアフターボディ部により近づき，右側剥離せん断層はより遠ざかって，さらに大きな流体力が左方向に作用して物体振動をさらに加速する．このように，物体振動とそれに伴う剥離せん断層の揺動に起因して生じる流体力との間にフィードバック増幅機構が発生することで，発散的な応答のギャロッピングが生じることになる[9]．

ギャロッピングを生じやすい四角形，台形，三角形などの断面はいずれも，主流を剥離させる前述の2つの角部以外に，アフターボディの最下流部にも別の角部（断面形の頂点）を有しており，それらの角部が物体振動時における振動方向の流れの剥離点となって，振動を減衰させる原因となり得る．したがって，より強いギャロッピングを発生させるには，振動方向の動きで剥離を生じにくい，例えば半円形のような，アフターボディ部に角部を持たない滑らかな表面形状の断面が適していると考えられる．本研究では，半円形，および楕円をその長径に沿って半分にした半楕円形の2種類の断面形状の振り子を対象として，農業用水路において流体励起振動実験を行い，エネルギー取得性能を検討することにした．

(2)　ギャロッピングの振動方程式

ここで，ギャロッピングの発生メカニズムや渦励振との違いをより理解するため，ギャロッピング発生時の振り子の振動方程式を導く[9,10]．振り子の回転軸からの距離rにおける振り子断面を図-4に示す．図-4は，左方向に振動速度$\dot{x}=r\dot{\theta}$（$\dot{\theta}$は振り子の角速度応答）で振動開始した直後の振り子断面を表している．このとき，主流流速Uと速度$\dot{x}$により，相対速度U'の迎角αは次式で表される．

$$\tan(90°-\alpha)=\frac{\dot{x}}{U} \tag{1}$$

振動開始直後には$90°-\alpha$が微小であるため，次式のように近似できる．

$$90°-\alpha\approx\frac{\dot{x}}{U} \tag{2}$$

また，断面に作用する揚力dF_Lと抗力dF_Dによって，断面の振動方向に作用する流体力dF_xは次式となる．

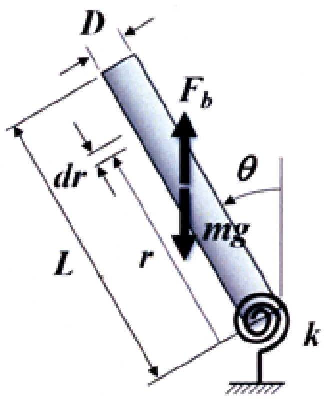
$$dF_x=dF_L\cos(90°-\alpha)-dF_D\sin(90°-\alpha) \tag{3}$$

ここで，揚力係数C_L，抗力係数C_Dを用い，振り子見付幅D，水密度ρとすればdF_xは次式となる．

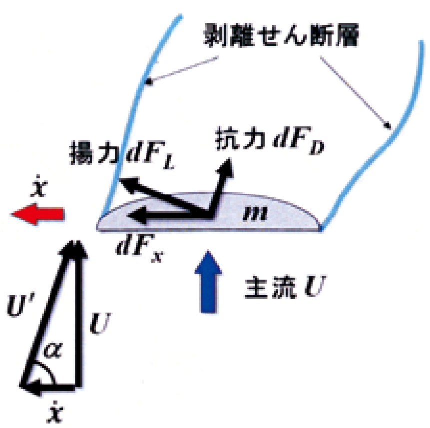
$$C_L=\frac{dF_L}{\frac{1}{2}\rho U'^2Ddr} \tag{4}$$

$$C_D=\frac{dF_D}{\frac{1}{2}\rho U'^2Ddr} \tag{5}$$

$$\begin{aligned}dF_x&=\frac{1}{2}\rho U'^2Ddr\{C_L\cos(90°-\alpha)-C_D\sin(90°-\alpha)\}\\&=\frac{1}{2}\rho U^2Ddr\{C_L-C_D\tan(90°-\alpha)\}\sec(90°-\alpha)\end{aligned} \tag{6}$$



(a) 振り子振動系



(b) 回転軸から距離rにおける振り子断面

図-4 振り子のギャロッピング振動系

これを$\alpha=90°$のまわりでテイラー展開して一次の項まで取り出すとともに，$\alpha=90°$で$C_L=0$を考慮すると次式が得られる．

$$dF_x=-\frac{1}{2}\rho U^2 Ddr\left(\frac{dC_L}{d\alpha}+C_D\right)\Bigg|_{\alpha=90°}(90°-\alpha)$$

$$=-\frac{1}{2}\rho UDdr\left(\frac{dC_L}{d\alpha}+C_D\right)\Bigg|_{\alpha=90°}\dot{x} \tag{7}$$

よって，振り子全体に作用するトルクTは次式のようになる．

$$T=\int_0^L rdF_x=-\frac{1}{6}\rho UDL^3\left(\frac{dC_L}{d\alpha}+C_D\right)\Bigg|_{\alpha=90°}\dot{\theta} \tag{8}$$

付加質量を含む振り子の慣性モーメントI，振り子質量m，重力加速度g，構造減衰係数c，回転バネ定数k，振り子に作用する浮力F_bとすれば，振り子の角度応答θに関する振動方程式は次式のようになる．

$$I\ddot{\theta}+c\dot{\theta}+\left(k+\frac{1}{2}F_bL-\frac{1}{2}mgL\right)\theta=T$$

$$=-\frac{1}{6}\rho UDL^3\left(\frac{dC_L}{d\alpha}+C_D\right)\Bigg|_{\alpha=90°}\dot{\theta} \tag{9}$$

すべて左辺に移項すると，振り子の振動方程式が次式のように表される．

$$I\ddot{\theta}+\left\{c+\frac{1}{6}\rho UDL^3\left(\frac{dC_L}{d\alpha}+C_D\right)\Bigg|_{\alpha=90°}\right\}\dot{\theta}$$

$$+\left(k+\frac{1}{2}F_bL-\frac{1}{2}mgL\right)\theta=0 \tag{10}$$

上式の減衰力項（角速度項）の係数が正のとき振動は減衰するが，負のときはいわゆる“負減衰”の状態となり，振動は逆に増幅してギャロッピングを生じることになる．特に，式(10)の減衰力項における$dC_L/d\alpha<0$のとき，すなわち，揚力が$\alpha=90°$付近の高迎角で強い負勾配を持つとき，強いギャロッピングが生じる可能性がある．このように，ギャロッピングは，物体自身の動きに連動した非定常流体力により発生する．それに対して渦励振は，物体の動きとは関係なく，カルマン渦放出に伴う変動流体力が振り子に外的に作用して発生する．つまり，式(10)の振動方程式で言えば，カルマン渦による変動流体力は，強制外力として右辺に考慮されるべきものである．

3. 農業用水路における流体励起振動実験

(1) 半円柱のエネルギー取得性能

図-5のような振り子実験装置を用い，水路幅3.5m，水深0.65～0.75m，平均流速0.96m/sの農業用水路において，半円柱と円柱の振り子による流体励起振動実験（図-6）を行った．振り子の振動は，回転軸，プーリ・ベルトを通じて，装置上部のトルク・角速度計測部に伝達される．伝達経路上の回転軸にバネを取り付けて振り子に復元力を与えるが，半円柱振り子では回転バネ定数k = 4.0, 5.6, 7.5, 9.6, 13.7, 17.4, 23.3 Nm/radの7種類，円柱振り子ではk = 0.0, 0.8, 1.6, 2.7, 4.0, 5.6, 7.5, 9.6, 13.7, 17.4, 31.1 Nm/radの11種類を用いた．なお，円柱振り子の角度振幅は最大で45°程度であるが，ギャロッピングが発生する半円柱はほとんどのケースで90°程度まで達し，回転バネが弱い場合にはそれ以上に達することもあった．角度振幅が90°を超えると，水路底に振り子が衝突してしまうため，衝突しない範囲で回転バネ定数を与えている．

振り子の往復回転運動はラチェット機構で片方向の回転に変換し，トルク・角速度計測部のトルクセンサーに伝達される．伝達経路の末端でパウダーブレーキ等でトルク負荷を変化させながら，トルクと角速度をトルクセンサーで計測し，トルクと角速度の積によって仕事率が得られる．トルクと角速度の組み合わせにより，仕事率が変化するが，そのうち最大の仕事率を各ケースで探索した．このとき，トルクと角速度はサンプリング周波数100Hzで60s間測定した．

半円柱および円柱の振り子は，肉厚1mmのステンレス製の中空構造である．いずれの振り子も，既往の研究[4),5)]で用いたのと同じ振り子長さL = 50cm，振り子直径D = 11.5cmとした．円柱振り子に関する既往の実験[4),5)]では，振り子上流に振り子と同程度の直径の固定円柱を近接設置することで振り子の励振力が向上したことから，本実験でも振り子と同直径の固定円柱を上流に設置した．このとき，固定円柱の断面下流端と円柱振り子の断面上流端の隙間距離は，既往の実験[4),5)]と同じく2cmに設定した．一方，半円柱振り子では，上流に固定円柱を設置すると逆に励振力が低下することから，固定円柱は設置していない．また，半円柱振り子にギャロッピングを発生させるには，半円形断面の直線部分を上流に向けて主流に正対させ，アフターボディとなる円弧部分を下流に向けて配置する．

振り子の回転バネ定数を様々に変化させた各ケースにおいて，トルク負荷を変化させて得た仕事率の最大値を無次元化して図-7に示す．図-7の無次元仕事率P^*と無次元流速U^*はそれぞれ次式で定義する．

$$P^*=\frac{P}{\frac{1}{2}\rho U^3L^2} \tag{11}$$

$$U^*=\frac{U}{fD} \tag{12}$$

ここで，Pは仕事率，fは振り子振動数である．fは振り子に与える前述の回転バネ定数kにより変化する．農業用水路の平均流速U = 0.96m/s，水密度ρ = 1000kg/m^3，振り子長さL = 50cmおよび直径D = 11.5cmである．なお，農業用水路の平均流速Uは，振り子と同じ位置に設置した電磁流速計により，サンプリング周波数20Hzで計測して60s平均値を求め，さらに2カ月間に不定期に計測した263個の60s平均値を平均して求めた．

無次元流速U^*は，流体励起振動における重要な無次元パラメータの一つであり，式(10)の振動方程式を無次元化する際に導出される．これまでの円柱振り子に関する研究[3)-6)]では，U^* = 10程度以上の無次元流速に設定するとき，振り子に比較的強い振動応答が得られている．図-7においても，U^* = 10付近を中心とした範囲でU^*が変化するように，U = 0.96m/sとD = 11.5cmに対して，回転バネ定数kを前述の範囲で変化させた．

図-7によれば，渦励振が発生する円柱振り子では無次元仕事率の最大はP^* = 0.05であるのに対し，ギャロッピングが発生する半円柱振り子では最大P^* = 0.26であり，円柱振り子の約5倍のエネルギー取得性能を得ることができた．半円柱振り子では無次元流速U^*とともにP^*が緩やかに増大し，最大のP^* = 0.26となったあたりでほぼ一定に達する様子がうかがえる．

図-5 農業用水路の振り子実験装置

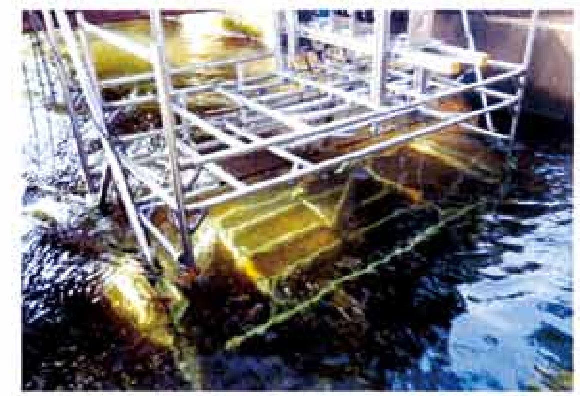


図-6 農業用水路への振り子実験装置の設置の様子

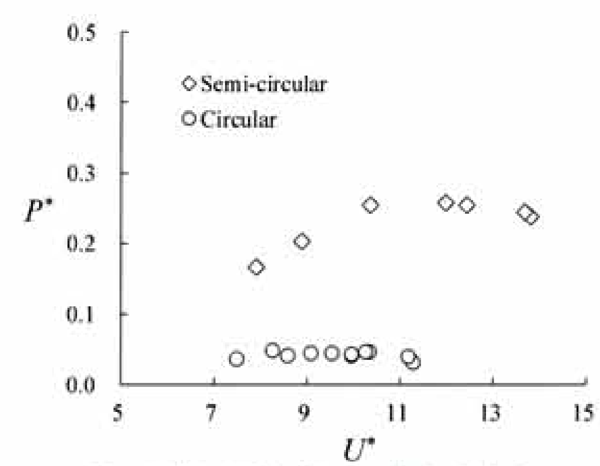


図-7 円柱と半円柱の振り子の無次元仕事率

流体励起振動で重要な無次元パラメータとして，無次元流速以外に質量比がある．回転振動の場合，慣性モーメント比が質量比に相当するが，無次元流速と同様，式(10)の振動方程式を無次元化する際に導出される．慣性モーメント比は，振り子が排除した体積部分の水の慣性モーメントに対する振り子の慣性モーメントの比率であり，一般に慣性モーメント比が大きいほど流体励起振動の応答は小さくなると考えられる．振り子が半円柱および円柱の場合，振り子振動系の慣性モーメントI_0，振り子長さL，振り子直径D，水密度ρとすると，慣性モーメント比I^*は次式となる．なお，半円柱のとき$C_s=\pi/8$，円柱のとき$C_s=\pi/4$である．

$$I^*=\frac{I_0}{C_s\rho D^2 L\left(\dfrac{D^2}{16}+\dfrac{L^2}{3}\right)} \tag{13}$$

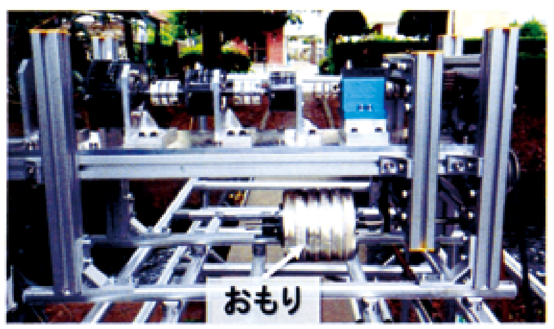


図-8 円盤状おもり

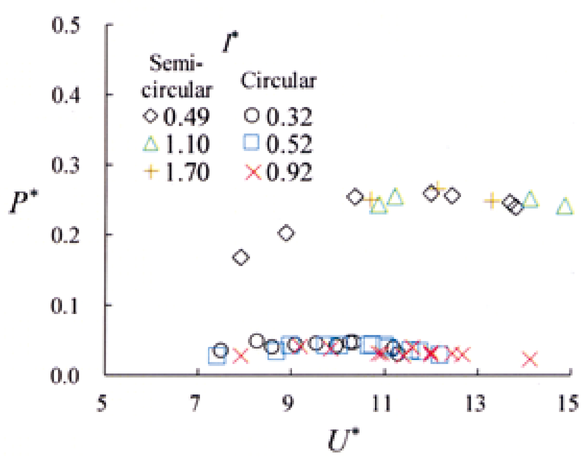


図-9 慣性モーメント比の影響

振り子の伝達経路上の回転軸に図-8の円盤状のおもり（0～14kg）を取り付けることで，慣性モーメントI_0をいくつか変化させて実験した結果を図-9に示す．図-9において，半円柱振り子のI^*=0.49と円柱振り子のI^*=0.32のケースがおもり無しのケースであり，図-7に既出のケースに相当する．半円柱と円柱のいずれの振り子も，おもりを取り付けないケースの3倍程度まで慣性モーメント比を増やしているが，この程度の違いではP^*に顕著な変化は生じていないのが分かる．また，半円柱は最大で円柱の2倍程度のI^*まで与えているが，円柱に比べて高いエネルギー取得性能を維持している．

(2) 半楕円柱のエネルギー取得性能

楕円をその長径に沿って半分に分割してできる半楕円形の断面形状は，半円形よりも扁平で（図-10），振り子の振動方向への流体抵抗が小さいため，半楕円柱振り子の角速度（回転速度）は半円柱振り子よりも高くなると予想される．振り子の角速度が高くなれば，ギャロッピングの自己励起力が高まり，トルクも大きくなって，仕事率を高められる可能性がある．ただし，半楕円の扁平率が大きすぎると，振り子の振動方向から見たときのアフターボディ部の投影面積が小さくなるため，アフターボディの表面圧力の積分で得られる励振力が低下し，振り子によるトルクが低下する可能性もある．そこで，半楕円形の振り子断面において，短半径に対する長径の比を断面アスペクト比eと定義し，e=4, 6, 8の3種類の断面アスペクト比の半楕円柱振り子について，ギャロッピングによるエネルギー取得性能を調べた．

図-10 半楕円柱振り子（左）と半円柱振り子（右）

図-5と同じ装置を用い，同じ農業用水路において，長さL=30cm，長径（見付幅）D=9cm，肉厚1mmのステンレス製の中空の半楕円柱振り子について，エネルギー取得性能を測定した．半楕円柱振り子の断面アスペクト比はe=4, 6, 8の3種類であり，それぞれの断面の短半径b=2.3, 1.5, 1.1cmである．比較のため，半楕円柱と同じ長さL=30cm，直径D=9cm，肉厚1mmのステンレス製の中空の半円柱と円柱の振り子についても測定した．ただし，円柱振り子については，振り子の上流に固定円柱は配置していない．

回転バネ定数kについては，半楕円柱はk=0.7, 1.0, 1.4, 1.9, 2.4, 3.4, 4.4 Nm/radの7種類，半円柱はk=0.2, 0.4, 0.7, 1.0, 1.4, 1.9, 2.4, 4.9 Nm/radの8種類，円柱はk=0.0, 0.2, 0.7, 1.4, 2.4, 4.4, 5.8, 9.3 Nm/radの8種類を用いた．これらの回転バネ定

数は，3.(1)と同様，無次元流速がU^*=10付近を中心とした範囲で変化することを想定して決めた．なお，振り子の角度振幅が180°になっても水路底に衝突しないよう，振り子の回転軸の位置を底上げするとともに，振り子の長さと見付幅も上述のようにそれぞれL=30cm，D=9cmに設定し，3.(1)の振り子よりも一回り小さくした．

図-7と同様に，振り子の回転バネ定数kを変化させることでU^*を様々に変化させた．その各ケースにおいて，トルク負荷を変化させて得た無次元仕事率P^*の最大値を図-11に示す．いずれの断面アスペクト比eの半楕円柱振り子も，ギャロッピングと思われる強い振動が発生した．図-11によれば，断面アスペクト比e=4, 6, 8の半楕円柱振り子の無次元仕事率P^*に大きな違いはないが，e=6の振り子の無次元流速U^*=11.1で最大の無次元仕事率P^*=0.44が得られており，同じU^*付近における半円柱振り子の最大P^*=0.20の約2倍に相当する．計測した無次元流速U^*の範囲では，U^*とともに無次元仕事率P^*が上昇傾向にあり，より高いU^*では，P^*がさらに高くなる可能性が示唆される．無次元流速U^*を高くするには，回転バネ定数をさらに小さくする必要があるが，これ以上小さなバネ定数では角度振幅が180°を超えて回転してしまい，往復の振動状態を維持できなくなる可能性があったため，これ以上のU^*では実験していない．なお，円柱振り子は，上流に固定円柱を設置していないため励振力が弱く，最大でP^*=0.01しか得られなかった．

図-12と図-13は，図-11の無次元仕事率が得られた時の振り子の平均トルクTと平均角速度ωについて，それぞれ次式で無次元化した無次元トルクT^*と周速比λである．

$$T^*=\frac{T}{\dfrac{1}{2}\rho U^2 L^3} \tag{14}$$

$$\lambda=\frac{\omega L}{U} \tag{15}$$

ここで，水路の平均流速U=0.96m/s，振り子長さL=30cm，水密度ρ=1000kg/m^{3}である．

図-12と図-13によると，半円柱は半楕円柱と同程度の無次元トルクT^*が得られているものの，周速比λが半楕円柱より低くなっており，このことが図-11の半円柱の無次元仕事率P^*が半楕円柱よりも低い要因となっている．また，同じ半楕円柱でも，e=4の半楕円柱は，e=6, 8の半楕円柱に比べ，周速比λがやや低い．e=6, 8の半楕円柱振り子に比べて，振り子の振動方向から見たときの投影面積が大きい半円柱やe=4の半楕円柱の振り子は，振動方向の流体抵抗が大きくなり，周速比が低めになったと考えられる．しかし，図-12に示すように，e=4の半楕円柱の振り子は，e=6, 8の半楕円柱振り子に比べて無次元トルクT^*がやや大きいため，結局，e=4, 6, 8の無次元仕事率P^*にはあまり大きな違いが生じなかった．今後，より広い断面アスペクト比の範囲でエネルギー取得性能を検討し，最適な断面アスペクト比の有無などを明らかにすることが望まれる．

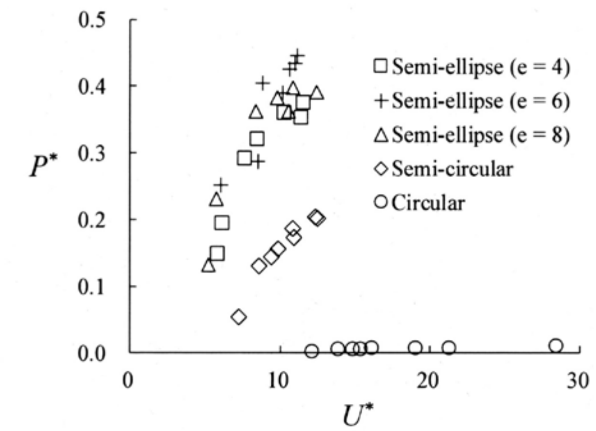


図-11 半楕円柱振り子の無次元仕事率

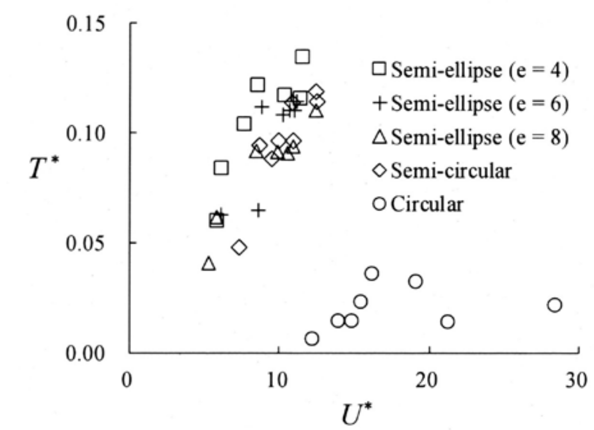


図-12 半楕円柱振り子の無次元トルク

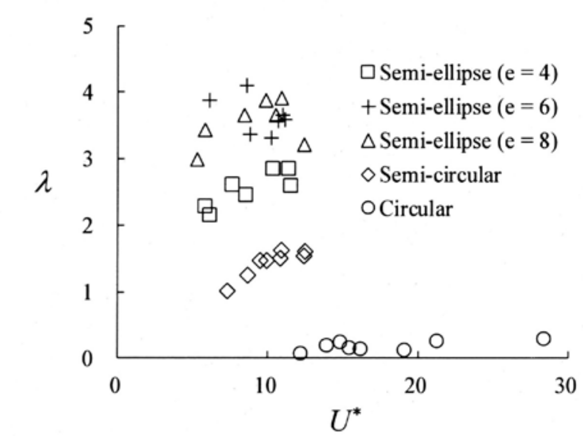


図-13 半楕円柱振り子の周速比

4. まとめ

われわれの開発してきた振り子式水流発電機Hydro-VENUSについて，従来の円柱振り子の渦励振を用いた方式に代わり，半円柱および半楕円柱の振り子に生じる

ギャロッピングを利用した方式を提案した．農業用水路実験により，エネルギー取得性能に関して以下の知見が得られた． なお，下記の記述にある仕事率とは，各ケースにおいて，トルク負荷を変化させて得た仕事率の最大値のことである．

(1) 半円柱振り子は円柱振り子の5倍程度の無次元仕事率が得られ，さらに断面アスペクト比$e=6$の半楕円柱振り子は半円柱振り子の2倍程度の無次元仕事率が得られた．

(2) (1)の無次元仕事率が得られた時の無次元トルクと周速比について，半円柱振り子では，半楕円柱振り子と同程度の無次元トルクが得られるものの，半楕円柱振り子よりも周速比が低いため，半楕円柱振り子ほどの無次元仕事率が得られなかった．また，同じ半楕円柱振り子の中でも，断面アスペクト比$e=4$では，断面アスペクト比がより大きい$e=6, 8$の半楕円柱振り子に比べると，周速比がやや低かった．$e=6, 8$の半楕円柱振り子に比べて，振り子の振動方向から見たときの投影面積が大きい半円柱や$e=4$の半楕円柱の振り子は，振動方向の流体抵抗が大きくなり，周速比が低めになったと考えられる．

(3) 断面アスペクト比$e=4$の半楕円柱振り子は，$e=6, 8$の半楕円柱振り子に比べて周速比がやや低かったものの，無次元トルクは逆にやや大きかったため，結局，$e=4, 6, 8$の異なる断面アスペクト比の半楕円柱振り子どうしでは，無次元仕事率に大きな違いは生じなかった．

謝辞：本研究を遂行するにあたって，多大なるご支援をいただきました八雲環境科学振興財団に感謝の意を表します．

参考文献

1) 独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構：海洋エネルギーポテンシャルの把握に係る業務，平成 22 年度成果報告書，2011.
2) Bernitsas, M. M., Raghavan, K., Ben-Simon, Y. and Garcia, E. M. H.: VIVACE (Vortex Induced Vibration Aquatic Clean Energy): A new concept in generation of clean and renewable energy from fluid flow, *J. Offshore Mechanics and Arctic Eng.*, Vol. 130, 041101, 2008.
3) 比江島慎二，岡圭人，林健一，井上浩男：流体励起振動を利用した潮流発電のための基礎的実験，「フラッターの制御と利用」に関する第 1 回シンポジウム梗概集，pp. 88-93, 2011.
4) 比江島慎二，岡圭人，林健一，井上浩男：倒立振り子を用いた流力振動発電のためのエネルギー取得性能の検討，第 22 回風工学シンポジウム，pp. 425-430, 2012.
5) 比江島慎二，岡圭人，林健一，井上浩男：倒立振り子の流力振動を用いた発電のための基礎的実験，土木学会論文集 B3 (海洋開発), Vol. 69, No. 1, pp. 12-21, 2013.
6) Hiejima, S., Oka, K., Hayashi, K., Inoue, H. and Sheena, R.: Energy harvesting by flow-induced vibration of Hydro-VENUS converter, *Proc. Grand Renewable Energy 2014*, O-Oc-3-2, 2014.
7) 比江島慎二，大熊広樹：振り子式潮流発電機の円柱振り子に作用する流体力特性，土木学会論文集 A1 (構造・地震工学), Vol. 72, No. 2, pp. 315-321, 2016.
8) 比江島慎二，高松宏彰，大熊広樹，上田剛慈：ギャロッピング振動を用いた振り子式水流発電，土木学会論文集 B3(海洋開発), Vol.73, No.1, pp.24-34, 2017.
9) 日本鋼構造協会：構造物の耐風工学，東京電機大学出版局，1997.
10) 岡内功，伊藤學，宮田利雄：耐風構造，p. 177, 丸善，1977.
11) Matsumoto, M., Yagi, T., Hatsuda, H., Shima, T. and Tanaka, M.: Sensitivity of dry-state galloping of cable stayed bridges to Scruton number, *Proc. 7th International Symposium on Cable Dynamics*, pp. 331-338, 2007.
12) Matsumoto, M., Yagi, T., Adachi, Y., Hatsuda, H. and Shima, T.: Cross flow response of circular cylinder influenced by Karman vortex mitigation, *Proc. 7th International Symposium on Cable Dynamics*, pp. 323-330, 2007.
13) 松本勝，八木知己，橋本三智雄，中瀬友之，前田耕治：Bluff Body Aerodynamics に及ぼすカルマン渦の影響に関する基礎的研究，第 20 回風工学シンポジウム論文集，pp. 361-366, 2007.
14) 松本勝，八木知己，橋本三智雄，中瀬友之，前田耕治：構造基本断面の渦励振とギャロッピングに及ぼすカルマン渦の影響，第 20 回風工学シンポジウム論文集，pp. 367-372, 2007.

不衛生環境での生活は本当に食物アレルギーを予防するのか？
－ アナフィラキシーモデルを用いた衛生仮説の実験的検証 －

倉敷芸術科学大学　生命科学部　健康科学科
椎葉　大輔

[緒言]

食物アレルギーや花粉症に代表されるI型アレルギー性疾患患者が先進諸国を中心として増加していることはよく知られており，我が国も例外ではない。食物アレルギーは乳幼児期に発症する場合が多く，小児の食物アレルギー罹患者の増加に歯止めをかけることは，我が国において喫緊の課題である。一方で，具体的な「発症をどのように予防するか？」については，未だ有効な手立ては見つかっておらず，アレルゲン除去や減感作療法といった発症後の処置が主となっている。また，乳児期に対象タンパク質（アレルゲン）を摂取することにより「経口免疫寛容」を誘導する取り組みがなされ始めたが，未だ特定のアレルゲンにのみに留まっている。この状況の打開策を検討する上で，環境要因により「発症しない身体づくり」を促す方法を検討することは，極めて重要である。

「衛生仮説」は，環境要因によりI型アレルギー疾患発症が制御されうる可能性を示した学説であり，Strachanの疫学報告[1]に端を発する。StrachanはこのStrachanはこの報告において，I型アレルギー性疾患である花粉症罹患率が，兄弟が多いもの，特に年長兄弟が多いものの方が低いと報告した。さらにStrachanはその理由として，「家族数の減少」や「住環境および清潔度の改善」による感染源曝露機会の減少が関係している可能性を指摘した。その後，Ballらによる「年長の兄弟を持つ者や託児所に入所していたものは喘息罹患率が低い」との報告[2]や，「農場地に居住する子供のマットレスには非居住者のものと比較して多くの細菌由来分子が存在し，I型アレルギー性疾患罹患率も農場地居住者の方が低い」といった報告[3]がなされ，「衛生環境の改善によりI型アレルギー性疾患が増加した」，逆説的に「不衛生環境曝露がI型アレルギー性疾患発症を抑制する」という「衛生仮説」を支持する報告が多く見られるようになった。一方，I型アレルギー性疾患モデルを用いたメカニズム研究においても，感染源曝露によるI型アレルギー性疾患抑制を支持する報告が多く見られるようになった。特にToll-like receptors（TLRs）を介したI型アレルギー抑制効果の検討は積極的に行われ，申請者もTLR4のリガンドであり，グラム陰性菌構成成分であるリポポリサッカライド（LPS）の投与により，I型アレルギー性疾患の原因抗体の一つであるIgE抗体産生が抑制されること，さらにI型アレルギー性疾患であるアナフィラキシー症状を抑制することをマウスを用いた検討から明らかにした[4]。これらのことから「衛生仮説的現象」が観察されるメカニズムの一端は，「不衛生環境に曝露される」ことにより「感染源曝露機会が増加」することで「IgE産生の抑制」が引き起こされ，その結果「I型アレルギー性疾患発症の抑制」である可能性が考えられる。

一方でこれらの報告は，「ヒトの疫学研究」と「実験動物や細胞を使った基礎的研究」の結果を相互に埋め合わせることで間接的に「不衛生環境に曝露されることでI型アレルギー性疾患発症が抑制される」と説明しているに過ぎない。この説明は実際に研究モデルとして，「不衛生環境下に曝露することでI型アレルギー性応答を抑制するか否か」を検討することに

より，さらに信頼性を増すと考えられるが，そのような研究は皆無である。そこで本研究では，マウスを用いて鶏卵白アルブミン（オボアルブミン；OVA）に対する抗体産生およびOVA再曝露によるアナフィラキシー症状に対する不衛生環境飼育の影響について検討することで，「不衛生環境下に曝露することでI型アレルギー性応答を抑制するか否か」の一端を明らかにすることを目的に行った。

[研究方法]

1. 実験動物

実験動物には6週齢雄性BALB/cマウス（日本エスエルシー）を用いた。飼育環境は，温度21～24℃，湿度40～60%，照明時間を明期12時間（8:00～20:00），暗期を(20:00～8:00)とした。給餌方法は，固形飼料を自由給餌とした。すべての実験は，倉敷芸術科学大学動物実験委員会の承認を受けた上で，倉敷芸術科学大学のおける動物実験指針を遵守し行った。

2. 飼育環境条件および飼育期間

本研究では「飼育環境評価モデル」として，床敷交換頻度の回数の違いから「通常飼育（図中は「交換あり」と表記）」と「不衛生環境飼育（図中は「交換なし」と表記）」を設定した。マウスはケージに床敷を敷いた状態で飼育し，「通常飼育」群は週1回床敷を飼育ケージごと交換した。一方，「不衛生環境飼育」では飼育期間中，床敷を行わなかった。その際，飼育環境を把握するため，週1回ガス検知管を用いて，ケージ内アンモニア濃度を測定した。アンモニア濃度は飼育全期間において20ppm未満であった。また，週1回マウスの体重測定を行った。本研究における飼育期間は8週間（-14日～40日，初回OVA感作を0日として）であった（図1）。

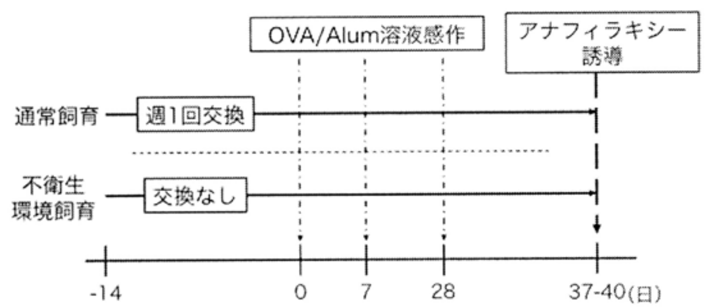


図1 実験プロトコール

3. OVA感作

マウスに50μg OVA（シグマアルドリッチ）及び2mg水酸化アルミニウム（サーモサイエンティフィック）混合液を0，7，28日目に腹腔内投与し，OVA感作を行った。35日目に血液を採取し，血清OVA特異的IgEおよびIgG1測定に用いた。

4. OVA特異的IgE／IgG1測定

血清中のOVA特異的IgE（OVA-IgE）およびIgG1（OVA-IgG1）濃度測定は，以下の方法で行った。ELISA用96ウェルプレート（Nunc Maxisorp）にOVAをコーティング（50μg/ml；IgE用，10μg/ml；IgG1用）したのち，20%ブロッキングワン（ナカライテスク）で非特異結合防止のためのブロッキング処理を行った。その後，プレートの各ウェルに5%ブロッキングワン/PBS-Tで希釈した血清を100μlずつ加え，4℃で翌日まで静置した。静置後，PBS-Tで洗浄したのち，Biotin標識抗マウスIgE抗体と抗マウスIgG1を各ウェルに添加し，室温で120分間静置した。PBS-Tで洗浄後，Streptavidin-HRP溶液を各ウェルに添加し，室温で30分間静置した。PBS-Tで洗浄後，発色液を各ウェルに100μlずつ添加し，遮光で10分間発色させた。その後，反応停止薬を100μl加え，吸光度を測定した。

5. アナフィラキシー誘導と評価

アナフィラキシー誘導は採血後48時間後以降に行った。マウスに1mg/mlのOVA/PBS溶液を腹腔内に300μl投与して，アナフィラキシーを発症させた。アナフィラキシーの評価は，体温変化から検討した。体温測定は直腸から体温計プローブを挿入することで行い，OVA投与前および投与後5，10，15，20，25，30，45，60分後に測定した。

8. 統計解析

体重およびアナフィラキシー誘導による体温の変化は，反復測定二元配置分散分析およびボンフェローニ検定を用いて評価した。血清OVA-IgEおよびOVA-IgG1濃度は，マンホイットニーのU検定を用いて評価した。

[結果および考察]

1. 飼育環境の違いによる体重変化

不衛生環境においては通常飼育と比べ，細菌等を含有した糞便等との接触頻度が高いと考えられる。先行研究において，感染源曝露により炎症性免疫応答を引き起こした際には，体重低下が観察されることが報告されており[5]，不衛生環境での飼育が体重に影響する可能性も考えられた。しかしながら，飼育期間中のマウス体重変化について検討したところ，通常飼育群と不衛生環境飼育群の間に，有意な差は観察されなかった（図2）。

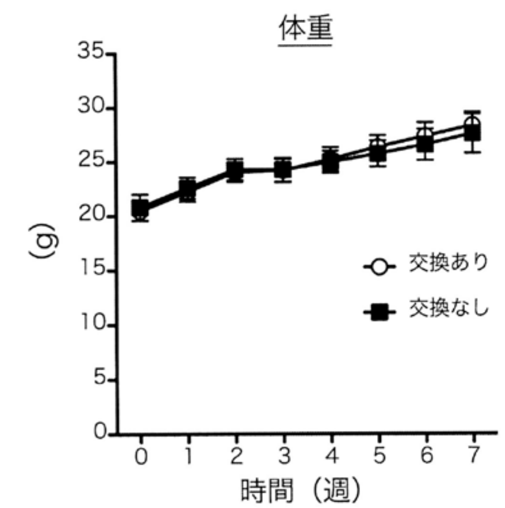


図2 不衛生環境飼育が体重に及ぼす影響

本研究で用いたマウスは「特定の微生物等が存在しない」ことを示すSpecific Pathogen Free（SPF）マウスであり，また飼育環境も各ケージ内がチューブを介して吸気される閉鎖系であった。このことから，本研究モデルでは不衛生環境ではあるものの，皮膚や腸管など常在性の微生物のみとの接触であったため，体重減少につながるような強い炎症反応は惹起されなかった可能性が考えられた。

2. 飼育環境条件の違いがOVA特異的抗体産生に及ぼす影響

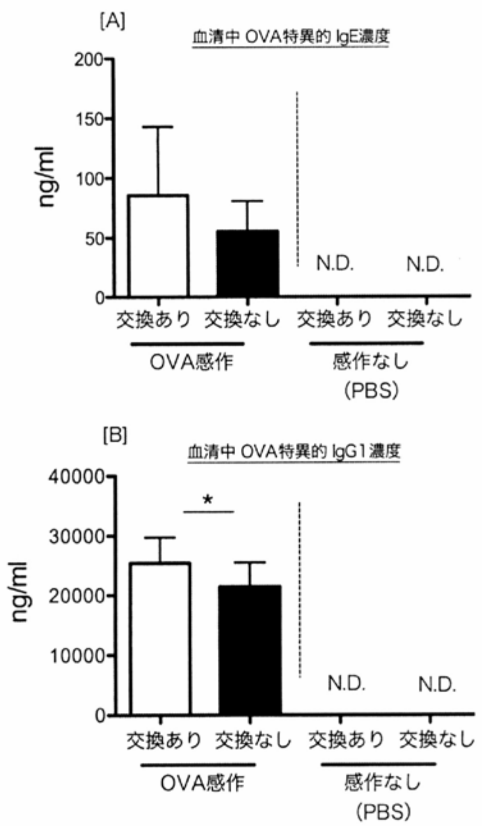


図3 不衛生環境飼育が
OVA感作性抗体産生に及ぼす影響

I型アレルギー性疾患発症には，アレルゲン特異的な抗体が関与することが知られており，IgEはその代表的な抗体である。また，ヒトにおける関与については十分明らかではないが，マウスにおいてはIgG1も強く関与することが知られている。検討の結果，血清OVA-IgE濃度が正常飼育マウスに比べ不衛生環境飼育マウスにおいて低値を示す傾向が観察された（図3A）。また，血清IgG1濃度は，正常飼育マウスに比べ不衛生環境飼育マウスにおいて有意に低値であった（図3B）。IgEおよびIgG1の産生にヘルパーT細胞2型（Th2細胞）由来のインターロイキン4（IL-4）などのサイトカインが必須であることが知られている。このため，I型アレルギー性疾患は「Th2型疾患」とも呼ばれる。Th2細胞活性の抑制的制御については，古くからTh1細胞との相互抑制関係が知られている。また，近年では，制御性T細胞（Treg）によるTh2細胞活性抑制も大変注目を集めている[6]。本研究ではリンパ球解析は行っていないため，IgE／IgG1抗体産生の抑制メカニズムは明らかでないものの，これらの結果は不衛生環境がTh2免疫応答に抑制的に作用する可能性を示していると考えられた。

3. 飼育環境条件の違いがOVA再曝露によるアナフィラキシー症状に及ぼす影響

本研究ではアナフィラキシー症状の評価として，体温（直腸温）評価を用いた。マウスのアナフィラキシー症状の指標として，体温低下は良く用いられている。体温測定は，プローブを用いて非侵襲的に簡便に評価することが出来ることから，極めて有用なマウスアナフィラキシー評価法である。検討の結果，OVA再曝露による体温低下は，正常飼育マウスに比べ

不衛生環境飼育マウスにおいて有意に抑制された（図4）。マウスアナフィラキシー発症時の体温低下には，肥満細胞や好塩基球より放出されるヒスタミンや血小板活性化因子（PAF）

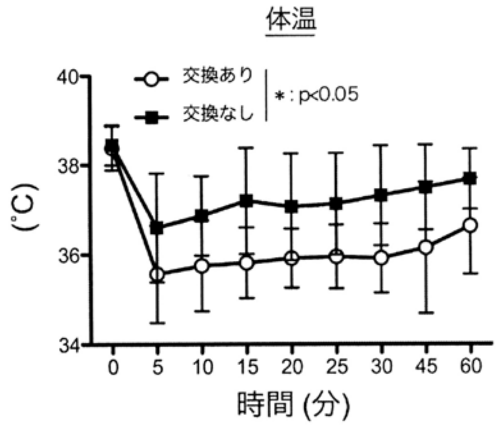


図4 不衛生環境飼育がOVA再曝露による
アナフィラキシーに及ぼす影響

が関与することが知られている[7],[8]。実際に申請者は，マウスアナフィラキシーモデルにおいて，ヒスタミンやPAFの働きを阻害することにより，体温低下が抑制されることを観察している（未発表データ）。この肥満細胞や好塩基球からヒスタミン／血小板活性化因子の放出は，細胞膜上のIgE/IgG1抗体へ抗原（アレルゲン）が結合することにより誘導されることが知られている。このことから，本研究で観察された不衛生環境曝露によるアナフィラキシー誘導性体温低下の抑制効果に，IgE／IgG1抗体産生抑制が関与している可能性が考えられた。一方で，本研究においては不衛生環境曝露による肥満細胞や好塩基球の量的・質的変化については検討していない。今後，これらを検討することでさらに詳細な抑制メカニズムが明らかになると考えられる。

[まとめ]

本研究では，「不衛生環境下に曝露することでI型アレルギー性応答を抑制するか否か」を明らかにすることを目的として，床敷交換頻度の違いによる飼育環境の違いがI型アレルギー性疾患症状に及ぼす影響について，マウスアナフィラキシーモデルを用いて検討した。その結果，I型アレルギー性疾患の原因抗体であると考えられるIgEおよびIgG1産生が不衛生環境飼育により抑制傾向を示した。さらに，アレルゲン再曝露によるアナフィラキシー症状は，不衛生環境飼育マウスにおいて有意に軽減された。これらの結果は，「衛生仮説」を支持するものであった。Strachanの報告からおおよそ30年が経過し，I型アレルギー性疾患のメカニズムもさらに詳細に検討されている。その中で「衛生仮説」は魅力的ではあるものの，現状の社会情勢を説明する上で矛盾が生じる等，真偽については否定的な見解も散見される。一方で，本研究で観察された現象は，ある一方向からの観察ではあるものの「不衛生環境下に曝露することでI型アレルギー性応答を抑制する」可能性を示すものであり，興味深い結果であった。今後さらに詳細に検討することにより，本現象のメカニズムを明らかに出来ると考えられる。

もし「衛生仮説」の科学的正しさが証明されたとして，我々は再び衛生環境の悪い社会に回帰できるであろうか。答えは恐らく「否」であり，様々な感染症リスクや個人の嗜好の観点からそのような状況は起こりえないと考えられる。一方で，本研究のようなモデル研究を通じて，Ⅰ型アレルギー性疾患抑制メカニズムを詳細に理解することは，将来的な創薬ターゲットの同定等，極めて有用な知見になると期待できる。本研究成果を通じて「衛生仮説」の更なる理解が進むとともに，新たな「Ⅰ型アレルギー性疾患抑制法」の確立されることを期待する。

最後に，本研究の実施に多大なるご支援を頂いた公益財団法人八雲環境科学振興財団に深く感謝申し上げます。

[引用文献]

1. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ.* 1989; 299:1259- 1260.

2. Ball TM, Castro-Rodriguez JA, Griffith KA, Holberg CJ, Martinez FD, Wright AL. Siblings, day-care attendance, and the risk of asthma and wheezing during childhood. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343:538- 543.

3. Braun-Fahrländer C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, Maisch S, *et al.* Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347:869- 877.DOI: 10.1056/NEJMoa020057.

4. Shiva D, Matsumoto T, Kremenik MJ, Kato Y, Yano H. High dose of lipopolysaccharide pre-treatment prevents OVA-induced anaphylactic decreases in rectal temperature in the immunized mice. *Immunology Letters.* 2008; 118:59- 64.DOI: 10.1016/j.imlet.2008.03.001.

5. Matsumoto T, Shiva D, Kawanishi N, Kato Y, Woods JA, Yano H. Salmonella administration induces a reduction of wheel-running activity via a TLR5-, but not a TLR4, dependent pathway in mice. *Exerc Immunol Rev.* 2008; 14:38- 50.

6. Palomares O, Yaman GR, Azkur AK, Akkoc T, Akdis MB, Akdis CA. Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *Eur. J. Immunol.* 2010; 40:1232- 1240.DOI: 10.4049/jimmunol.172.5.3252.

7. Makabe-Kobayashi Y, Hori Y, Adachi T, Ishigaki-Suzuki S, Kikuchi Y, Kagaya Y, Shirato K, *et al.* The control effect of histamine on body temperature and respiratory function in IgE-dependent systemic anaphylaxis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2002; 110:298 - 303.DOI: 10.1067/mai.2002.125977.

8. Cauwels A. Anaphylactic shock depends on PI3K and eNOS-derived NO. *J. Clin. Invest.* 2006; 116:2244- 2251.DOI: 10.1172/JCI25426.

平成 28 年度公益財団法人　八雲環境科学振興財団環境研究助成　報告書

FT-ICR MS を用いた有機物組成解析に基づく森林生態系の有機物の変遷の解明

岡山理科大学理学部基礎理学科　杉山 裕子

1.背景と目的

森林土壌は、森林植生に由来する落葉・落枝及び上壌の働きにより裸地・草地の 2 ~ 3.6 倍もの雨水浸透能を有することがわかっている(村井ら, 1975)。森林土壌は、他の土地利用形態土壌と比較し高い貯水能力を保持しており、日本の森林被覆率の高さ(67%)からも、森林が生命活動にとって必要不可欠である淡水源として重要な働きを担っていることは明らかである。さらに森林は、貯蔵水質にも大きな影響を与える。土壌は岩石の風化によって生成され、風化の過程で Ca^{2+}や Na^{+}のようなイオンが岩石から土壌水中に放出される。土壌中を水が通過する際には、土壌水中に存在していたイオン種や有機物質が、土壌粘土鉱物や土壌粒子によって吸着除去される反応も起こる(土の化学, 1989)。このような水質調整機能および貯蔵機能は水源涵養機能と呼ばれるが、この機能は一様ではなく、陸上の植生や土壌の性質、母岩の種類などによって左右される。

水中に存在する有機物は、濾過操作によって懸濁態(Particlate Organic Matter: POM)と溶存態(Dissolved Organic Matter: DOM)に物理的に分別される。DOM は微生物の主要な栄養源となる(Tranvik, 1992)とともに、微量金属や有機汚染物質の毒性や移動性を変化させる働きを持つ(Campbell, 1996; Cristensen et al., 1996; Céspedes et al., 2006)。金属が生体系内へ取り込まれるためにはその金属がフリーのイオン態である必要があるが、DOM が金属と錯生成しフリーイオンを減少させることにより、生体に与える影響を軽減できるためである(Free Ion Activity Model)。以上から、DOM は水圏の物質循環や生態系を支配する主要な要因のひとつであるといえる。

DOM はアミノ酸、炭化水素、炭水化物、脂質、腐植物質などから構成される有機物質の集合体であるが、環境中では常に微生物、太陽光などによって分解を受ける (Opsahl and Benner 1998; Leenheer and Crousé 2003)。そのため既存の分析法で定性・定量できる物質はほとんど含まれておらず、大半が未同定である。しかしながら DOM の果たす機能を解明するには、DOM に含まれる有機化合物を網羅的に同定することが重要である。

今日、DOM の定性のために様々な手法が使用されている。核磁気共鳴スペクトル(NMR)(Kaiser et al., 1997)、液体クロマトグラフィー(Suzuki et al., 2008)、高速サイズ排除クロマトグラフィー(HPSEC)(Chorover and Amistadi, 2000)、蛍光スペクトル (Banaitis et al., 2006)などがあるが、本研究では特に、分子レベルでの DOM の網羅的同定を可能とするフーリエ変換型イオンサイクロトロン共鳴型質量分析(Fourier Transformation Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry: FT-ICR MS)に着目した。FT-ICR MS は、非常に高い質量分解能を実現している装置である。質量分解能(m/⊿m)は、イオンピークの質量電荷比 m とそのピークの半値幅⊿m の比で表され、たとえば 9.4T のマグネットを備えた FT-ICR MS の分解能は数十万を超える。本研究では m/z=300 における分解能はおよそ 360,000 であり、m/z=300.000 の分子と m/z=300.001 のピークを分離・検出することが可能である。さらに、多価イオンの生成しにくいソフトイオン化法であるエレクトロスプレーイオン化法を適用することにより、イオンピークの m/z と元素の精密質量から、イオンピークの分子式を予想することが可能となる。

本研究は、森林生態系内における DOM の動態を解明することを目的とし、従来より DOM の定性に使用されている 3 次元励起蛍光スペクトル測定に加え、FT-ICR MS の適用を試みた。

2.試料と方法

試験地は兵庫県の中西部に位置する宍粟市一宮町東河内が管理する針広混交林整備事業地に設定した。標高は 900m、主植生は 50 年生のヒノキ、土壌は火山灰性土壌である黒ボク土であった。土壌は上部より O 層、A 層、B 層、C 層と呼ばれている。O 層は枯死、落葉といった植物遺骸が集積する層であり、試験地では薄く見られた。A 層は O 層から付加される、分解された有機物と鉱物から成っている。黒ボク土 A 層は腐植物質が非常に集積しやすいため、一般に腐植物質由来の濃い黒色を呈する。本試験地では土壌深度 0-25cm の範囲に A 層がみられた。A 層の下に位置する B 層は、A 層から溶脱してきた物質や火山噴出物由来の物質から成り、A 層とは異なる、褐色の土壌である。試験地では 25-60cm が B 層であった。C 層は淡褐色の母岩の層である。

試料は 2011 年 7 月の降雨イベント後に行ったものを使用し、サンプルの種類は、降雨、林内雨、樹

幹流、土壌水(A 層中部: 地下 10cm・下部: 地下 25cm、B 層中部: 地下 40cm・下部: 地下 60cm)、渓流水の計 8 種類とした (図 1)。降雨、林内雨は漏斗にて採取し、土壌水はテンションライシメーター、樹幹流は手製のコレクタにより採取した。渓流水はガラス瓶に採取した。試料採取後は速やかに保冷し、研究室に持ち帰った後、450 度で 2 時間焼処理を行った孔径 0.7 μm の Whatman GF/F フィルターでろ過し、分析まで 4 度以下で保存した。分析項目は、含まれる有機炭素量の定量のために溶存有機炭素(DOC)濃度測定を、有機化合物の定性のために 3 次元励起蛍光スペクトル測定(3DEEMs)、および FT-ICR MS を用いた分子式予測を行った。

DOC 濃度測定には全有機炭素計 Shimadzu TOC5000A を使用した。CO_2 などの無機炭素除去のためにサンプルに 2M 塩酸を添加し、pH を 2 に調整し測定した。

3DEEMs は HORIBA Aqualog により、励起波長 Ex: 240-600 nm (バンド幅 3 nm)、蛍光波長 Em: 210-619 nm (バンド幅 0.79 nm)の範囲で測定した。蛍光強度は 0.1M 硫酸キニーネ溶液 10 μg/L の蛍光強度 (Ex: 345 nm、Em: 450nm)を 10QSU として補正した。サンプル自身の持つ吸光作用による蛍光強度の変化を防ぐために、装置内蔵機能によってインナーフィルター補正を適用した。3DEEMs によって得られた蛍光スペクトルは複数の蛍光ピークが重なり合っており、目視での蛍光ピーク分離は難しい。従って多変量解析の 1 つであり、複雑に蛍光ピークの重なったスペクトルを、そのピークの挙動から個々の蛍光スペクトルに分離することが可能である Parallel Factor Analysis (PARAFAC)解析を適用し、蛍光ピークの分離、同定を行った。演算には MathWorks 社の MATLAB & SIMULINK R2011a を使用し、ツールボックスは N-way toolbox、DOM Flour を用いた。これらのツールボックスは、http://www.models.life.ku.dk にて公開されている。

FT-ICR MS による DOM の分子式予測には Bruker Daltonics 9.4T APEX-Q 94e FT-ICR MS を用いた。本研究では、C_{18} 固相抽出ディスクに吸着させたサンプルを 80%メタノールで溶離させ、サンプル内 DOM を 2 倍に濃縮、脱塩したものをさらに適宜希釈し、水:メタノール=1:1 に調整し、測定した。検出はネガティブイオンモードでインフュージョン分析を行った。測定したマスレンジは m/z=187-1500、分子式の予測には、National High Magnetic Laboratory が公開している Molecular Formula Calculator v1.1 を使用した (http://www.magnet.fsu.edu/)。分子式予測条件は、次のとおりである。

S/N≧4, m/z<500, C: 1 以上, H: 1 以上, N: 0-5, O: 0 以上, S: 0-33, P: 0-3, 13C: 0-1, O/C < 1.2, H/C < 2.25, H/C > 0.35, N/C < 0.5, S/C < 0.2, P/C < 0.1, (S+P)/C < 0.2, O > 3P, H < 2C+2, O < C+2, DBE ≧ 0

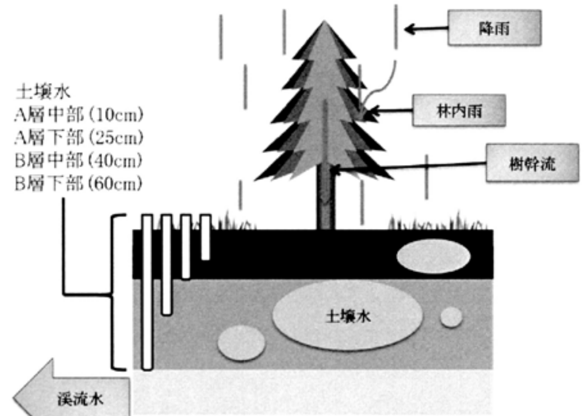


図 1.試料採取図

3.結果と考察

(1)DOC 濃度の分布

DOC 濃度は、降雨 (1.3±0.2 mgC/L, n=5)から、林内雨 (13.0±1.3 mgC/L, n=25)、樹幹流 (31.7±5.6 mgC/L, n=12)、A 層中部 (28.4±11.3 mgC/L, n=7) において上昇し、A 層下部 (2.5±0.3 mgC/L, n=10) にて急激に減少した (図 2)。ヒノキ林のような針葉樹林では、樹幹流量に比べ林内雨量が圧倒的に多く、土壌に流入する水の 70-80%は林内雨であるとされている(井上ら, 1993; 小柳ら, 2002)。このことから A 層中部における高い DOC 濃度は林内雨・樹幹流に加え、立木以外からの DOM の付加、すなわち地表に存在する植物遺骸から土壌水への DOM 供給によるものと考えられる。土壌中においては、A 層中部から下部の間で大きな濃度の減少が観測された。土壌深度の増加に伴って DOC 濃度が減少する現象は、他の森林生態系でも一般的にみられるものであるが、本研究のような急激な減少は先行研究ではほとんどみられず、通常の土壌粒子への吸着作用に加え、火山灰性土壌である黒ボク土に特に豊富に含まれる活性アルミニウムへの吸着・除去過程の機能が非常に大きく寄与していることが推測された。

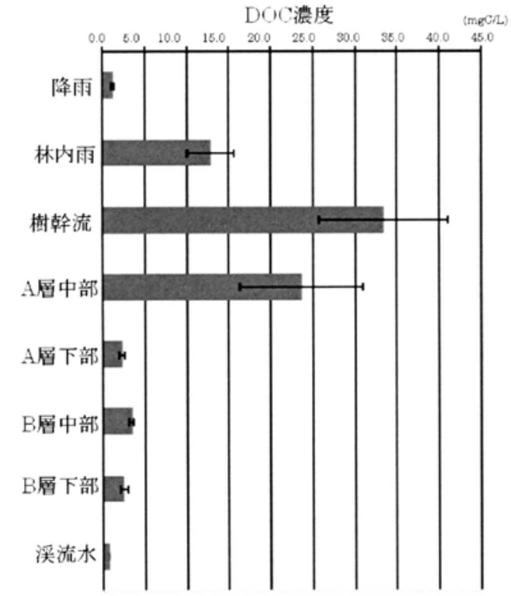


図 2.森林生態系内における DOC 濃度分布

(2)蛍光性有機物の分布

PARAFAC 解析によって成分蛍光スペクトルの分離を行った結果、図 3 に示した 4 つの異なる蛍光ピークが分離された。全ての成分蛍光ピークは先行研究においても確認されているものであり、Component1 は微生物分解起源の腐植様物質ピーク (Ex/Em: >252 nm,318 nm/428 nm)、Component2 も腐植様物質ピーク(Ex/Em: >258nm,372nm/459 nm)で、河川、湖水では陸域起源腐植物質ピークと言われており、土壌有機物由来の蛍光ピークであると考えられる。Component3,4 はタンパク様物質ピークであり、Component3 はトリプトファン様物質ピーク(Ex/Em: 282 nm/336 nm)、Component4 はチロシン様物質ピーク(Ex/Em: 276nm/302 nm)であるとされている。いずれも湖水、森林、河川など環境を問わず、水圏では普遍的に見られる蛍光成分である。

林内雨、樹幹流、A 層中部では、腐植様物質ピーク、タンパク様物質ピークのいずれも比較的高い強度で検出された (図 4)。一方、A 層下部以深では、先に述べた DOC 濃度の減少と同様に腐植様物質ピーク強度の急激な低下がみられた(Component1: 159.33QSU → 22.24QSU, Component2: 105.81QSU→12.51QSU)。タンパク様物質ピークの強度変化に規則性はみられなかった。

さらに、腐植様物質ピークの炭素濃度あたりの蛍光強度(FI/DOC)の値は、林内雨から樹幹流、A 層中部へと徐々に増加し、A 層中部以深の土壌水では逆に深度が増すにつれて減少していることがわかった。

これらのことより、長波長の蛍光を発する物質、例えば長い共役二重結合鎖を持つ分子群・不飽和度の高い分子群が、森林地上部と土壌浅層にて付加され、土壌を深く浸透する過程では逆に優先的に水相から除去されていることが推測された。

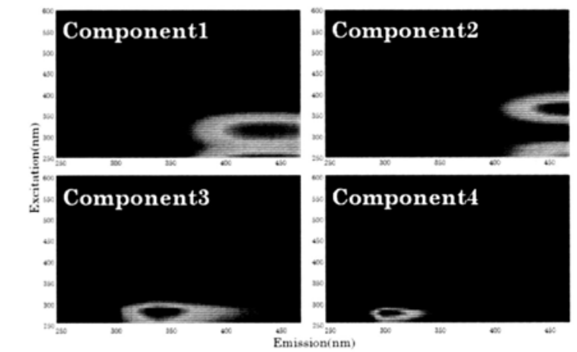


図 3.PARAFAC 解析によって分離された成分蛍光スペクトル

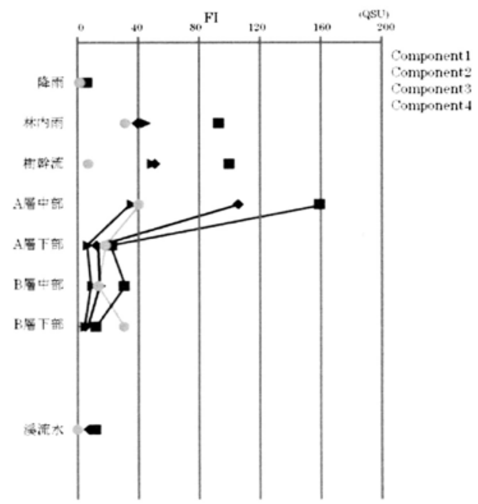


図 4.成分蛍光ピークごとの蛍光強度の推移

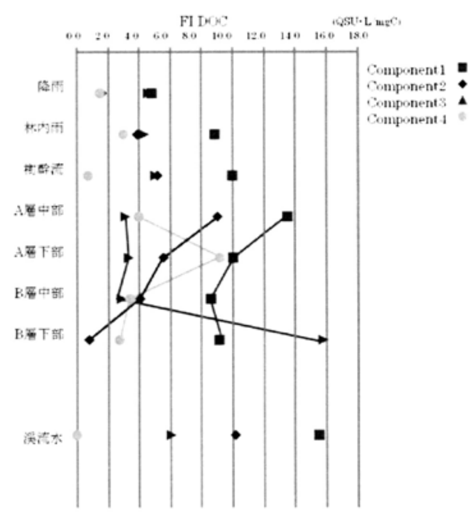


図 5.DOC 濃度で規格化した蛍光強度(FI/DOC)の推移

(3)超高分解能質量分析

C_{18}固相抽出法によって濃縮・脱塩したサンプルを FT-ICR MS で測定した結果、2500 から 4000 超のイオンピークが検出された(図 6)。

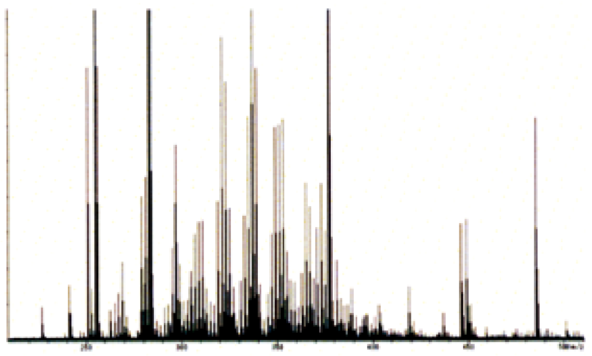


図 6.林内雨のマススペクトル

各サンプルの構成分子の特徴およびその変遷を明らかにするために、個々の分子式の酸素炭素比 O/C を相対検出強度で重み付けした重量平均 O/C_w を求めた。同様に H/C_w、各分子の二重結合、環構造の数を表す二重結合当量(Double bond equivalent: DBE_w)、および DBE を炭素数、酸素数で割った DBE/C_w、DBE/O_w も以下の式から求めた。

$$O/C_w = \sum O/C_n \times M_n$$

$$H/C_w = \sum H/C_n \times M_n$$

$$DBE = \frac{1}{2} \times (2 \times \#C + \#N + \#P - \#H + 2)$$

$$DBE_w = \sum DBE \times M_n$$

$$DBE/C_w = \sum DBE/C_n \times M_n$$

$$DBE/O_w = \sum DBE/O_n \times M_n$$

M は検出強度、#は分子式に含まれる当該元素の数、w は相対検出強度を用いて求めた重量平均値を示す。結果は表 1 にまとめた。降雨・林内雨、は樹幹流・A 層中部 DOM と比べ O/C_w 及び DBE_w が低く、H/C_w が高い値を示した。これより、降雨・林内雨 DOM は樹幹流・土壌浅層 DOM と比較して、二重結合や環構造が少ないことがわかった。さらに、樹幹流・A 層中部における O/C_w の増加は、樹幹や、植物遺骸由来の DOM が林内雨と比較し、分子内に酸素をより多く含む分子、つまり、より酸化されており、極性が高い分子が増加していることを示している。A 層中部から B 層下部にかけて DBE_w に大きな変動はなかったが、A 層下部以深で O/Cw は減少し、DBE/Ow は増加した。A 層中部から下部にかけて数値が大きく変化したことから、特に A 層内において、酸素を多く含む分子、たとえばカルボキシル基や水酸基などの官能基を多く含む分子が優先的に水相より除去されている可能性がある。

表 1. 相対強度で補正した分子特性パラメータ

サンプル	O/Cw	H/Cw	DBEw	DBE/Cw	DBE/Ow
降雨	0.29	1.45	6.93	0.37	1.73
林内雨	0.31	1.40	7.17	0.38	1.88
樹幹流	0.39	1.30	7.87	0.42	1.68
A層中部	0.39	1.26	8.49	0.43	1.52
A層下部	0.33	1.28	8.54	0.44	2.02
B層中部	0.33	1.25	8.76	0.45	2.19
B層下部	0.33	1.27	8.48	0.45	2.35
渓流水	0.31	1.30	8.24	0.44	2.32

予測した各分子の元素組成比 H/C、O/C をそれぞれ縦軸、横軸にプロットし、van Krevelen diagram (図 7)を作成し、各サンプルに含まれる分子種を予想した。降雨と林内雨、樹幹流の van Krevelen diagram を比較した結果、特に蛍光物質でもあるリグニン領域、及びリグニン領域より O/C のやや高い領域に現れるタンニン様物質、さらに脂質・タンパク領域にイオンピークの増加がみられた。樹体と接触することにより、降雨水にリグニン・タンニン様物質が付加されたと考えられる。さらに樹幹流は林内雨と比較し、O/C の大きい領域により多くピークが多くみられた。土壌水サンプルでは土壌深度が増すにつれ、平均検出分子数が減少するとともに(A 層中部: 2973 (n=3), 下部 2423 (n=3), B 層中部 2410 (n=3), 下部 2129 (n=3))、$H/C<1.0$ の領域に出現する不飽和な分子、及び $O/C>0.6$ の領域に現れる極性の高い分子においてイオンピーク数の減少がみられた。

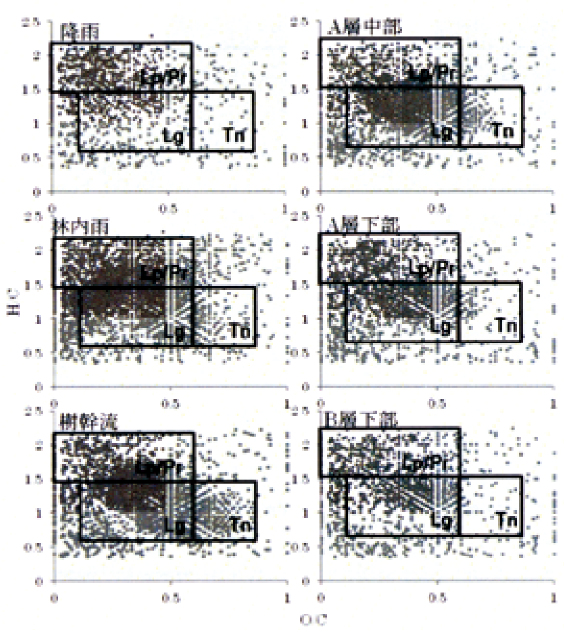


図 7.森林生態系の van Krevelen diagram
Lg はリグニン領域、Lp/Pr は脂質・タンパク領域、影は $H/C<1.0$, $O/C>0.6$ の領域を示す

4.まとめ

本研究では、3DEEMs 及び FT-ICR MS を用いて森林生態系内 DOM を網羅的に同定し、その動態を解明すること目的とした。

森林に降下した雨水は、地上部では林冠・樹幹といった樹木、大気中微粒子、微生物などから DOM を付加されていたと考えられる。さらに土壌 O 層および A 層上部にて植物遺骸由来 DOM、土壌 DOM を付加され、A 層中部から下部においては微生物分解、土壌粒子や土壌鉱物による吸着作用によって DOM 量の 90%以上が水相より除去された。先行研究ではこのような急激な減少は見られなかったことから、本試験地土壌に豊富に含まれる活性アルミニウムに由来すると考えられる、非常に高い有機物吸着能力によるものであると考えられた。

地上部および A 層土壌浅層から付加された有機物には、その起源によって分子組成に違いがみられた。3DEEMs より、林冠由来、樹幹由来、O 層・土壌有機物由来の DOM からは、比較的強度の強い腐植様物質ピークおよびタンパク様物質ピークが観測された。蛍光強度は違うものの、検出された蛍光成分に違いは見られなかった。一方で FT-ICR MS の結果からは、蛍光物質であるリグニン、タンニン、タンパク様物質の付加が示唆されるとともに、蛍光を発さない脂質様物質も付加されていることがわかった。さらに、樹幹由来 DOM 及び植物遺骸由来 DOM は、林冠由来 DOM と比較し、酸素を多く持つ有機物が多いこと、また二重結合や環構造を多く持つ構造であることが示唆された。土壌中では腐植様物質ピーク強度の減少がみられるとともに、不飽和分子、分子内極性の高い分子を中心に FT-ICR MS で検出されたイオンピークの数も減少した。また検出イオンピーク数も土壌深度によって減少していったことから、土壌内を深く浸透していくに伴い分子の多様性の減少が起こっていると推測された。土壌種類に関わらず、土壌下層ほどカルボニル基や O-アルキル基といった酸素を含む官能器を持つ分子が土壌に吸着されている (Sanderman et al., 2008, Ono et al., 2011)ことから、本研究の結果は妥当なものであり、FT-ICR MS が森林生態系内 DOM の研究に適用可能であることが判明した。

3DEEMs と FT-ICR MS を用いて DOM 解析を行うことにより、より詳細に分子の変遷をたどることができた。今回、森林生態系内 DOM を FT-ICR MS で測定した結果と、NMR などの他の手法で測定した結果には大きな違いがなかったことから、森林生態系においても FT-ICR MS を用いた測定が非常に有効であることを証明した。官能器組成がわかる NMR や、構成分子のサイズがわかる HPSEC など他の測定手法を併用することで、より詳細な DOM の動態解析が可能であると考えられる。

公益財団法人　八雲環境科学振興財団
平成 28 年度環境研究助成報告書

豊かな生態系を育む児島湖流域の実現に向けた水質改善施策に資する研究

岡山大学大学院環境生命科学研究科　門脇孝弘

1. 背景及び目的

岡山県南部に位置する児島湖は、昭和 60 年に湖沼水質保全特別措置法に基づく指定湖沼の指定を受け、以来 5 年毎に見直し策定される「湖沼水質保全計画」に基づいて対策が推進されている。さまざまな対策の結果、近年の児島湖の水質は、依然、農業用水としての環境基準値を上回るものの、ＣＯＤ及び全窒素濃度は緩やかな改善傾向を示している。一方で、全リン濃度は第 6 期の保全計画で水質目標値を達成したものの、改善の傾向は緩やかで未だ環境基準値の 1.7 倍程度で経年推移している。児島湖の汚濁負荷量の中で最も割合の大きい生活排水による汚濁負荷対策として、下水道整備が推進されているにも拘らず、全リン濃度の改善傾向が緩やかな要因としては、夏季における児島湖内や流入河川・用排水路の底泥からのリン溶出が指摘されている。また、児島湖流域において、特にリンは農業排水などの面源系からの汚濁負荷の割合も大きく、これらの削減に向けた対策が十分な改善効果をもたらしていないことも一因となっていると考えられる。さらに近年、地球温暖化が一因と考えられる局地的な豪雨の発生回数が全国的に増加しており、降雨に由来する面源系の汚濁負荷量は今後増大する可能性がある。従って、児島湖における今後の水質改善に向けては、流域からの面源系汚濁負荷量の削減に向けた対策を講じる必要がある。

2010 年 10 月に愛知県で開催された生物多様性条約第 10 回締結国会議（COP10）では、戦略計画が採択され、2050 年までに「自然と共生する世界」を実現することが長期的な世界目標として掲げられている。生物多様性の保全と持続可能な利用を目指した本目標の実現に向けては、地域における自然環境の機能を把握し、科学的なデータを踏まえて、地域に即した取り組みが求められている。一方で児島湖においては平成 18 年の第 5 期湖沼水質保全計画策定に併せて「環境に基づく地域づくり」の視点に立ち、望ましい将来像実現にむけて各種政策を推進するべく「児島湖の長期ビジョン」が掲げられている。

本研究では、児島湖流域レベルにおいて、自然と共生する地域の実現に向けた水質改善施策に資する知見を得ることを目的として以下の 5 つを主題に設定した。

（1）岡山県南部水域における水生植物の発生環境と水質との関連性の解析
（2）児島湖流域の河川、用水路における水質形成要因の解析
（3）児島湖内の地点別の水質の経年変化と水環境への影響
（4）児島湖流域における農業生産活動の現況調査
（5）生物多様性の豊かな児島湖流域の実現に向けた水質改善施策への提言（まとめ）

2. 岡山県南部水域における水生植物の発生環境と水質との関連性の解析

2.1 研究方法

2006 年 7 月中旬から 11 月初旬にかけて実施した岡山県南部における植生、水質及び諸元調査の既往データ（溜池 216 地点、用排水路 58 地点）に、ArcGIS を用いて調査地点毎の辺土地利用情報を取得し解析に供試した。統計解析手法には重回帰分析を用い、目的変数は調査地点毎の生活型別の種数、外来種の出現種数並びに過繁茂が確認されている浮葉植物の優占度とした。

2.2 結果及び考察

表 1 にヒシの優占度を目的変数とした重回帰分析結果を示す。ヒシは周辺土地利用が農用地であり、発生水域の全窒素、ＥＣが高いほど、すなわち富栄養化が進行した水域ほど優占度が高くなる傾向が示された。一方でクロロフィル a 含量が高く、農業地域内に位置する場合には優占度が低くなる傾向が示された。ヒシは旺盛な繁殖力により、優占度の高い水域においては水面を覆い尽くすほど繁茂することが知られており、本調査においても同様に過繁茂の実態が把握されている。ヒシの繁茂によって水面が覆われ、植物プランクトンの生長に必要な日射が遮られることがクロロフィル a 含量の標準編回帰係数の符号がマイナスとなった要因と考えられる。また、農業地域とは土地利用基本計画に係る農業地域内であることを示しており、本調査において、農業地域以外の地域は大半が市街化調整区域と農業地域とが重複して指定されている。農業地域の標準編回帰係数の符号がマイナスであるため、都市部と農村部の混住化した地域であれば優占度が高くなることが示された。本解析により、岡山県南部における水生植物の発生環境の特徴について、特に水生植物の発生と水質、諸元との関連性が順位を付けて示された。

表 1　ヒシの優占的発生と説明変数の関係（溜池）

説明変数	標準偏回帰係数	p値	判定
クロロフィルa含量	-0.408	0.001	[**]
全窒素	0.352	0.006	[**]
過疎地域指定	0.243	0.007	[**]
農業地域	-0.248	0.002	[**]
農用地	0.457	0.001	[**]
EC(mS/m)	0.245	0.004	[**]
所有者(水利組合・個人)	-0.315	0.000	[**]

表2　浮遊植物の出現種数と説明変数の関係（溜池）

説明変数	標準偏回帰係数	p値	判定
COD(mg/l)	0.409	0.001	[**]
PO4-P(mg/l)	0.152	0.047	[*]
農用地	0.196	0.004	[**]
硝酸態窒素(mg/l)	0.154	0.038	[*]
所有者(市町村)	0.222	0.004	[**]

表3　沈水植物の出現種数と説明変数の関係（溜池）

説明変数	標準偏回帰係数	p値	判定
標高(EL)	-0.298	0.000	[**]
EC(mS/m)	-0.185	0.024	[*]
硝酸態窒素(mg/l)	0.169	0.012	[*]

3. 児島湖流域の河川、用水路における水質形成要因の解析

3.1 研究方法

2013 年度から 2015 年度にかけて児島湖流域の河川や用排水路 30 地点について、灌漑期（6 月、9 月）、非灌漑期（4 月、12 月）の時期別に調査した水質データを用いて、農業環境等の地域特性や気象条件との関連性を考察するために解析に供試した。

3.2 結果及び考察

児島湖流域の調査地点の各水質項目の平均値と積算降水量（過去２日、10 日、20 日、30 日）との関係を図１に示す。

ＣＯＤ濃度は過去 10 日間の積算降水量と正の相関関係にあり、Ｔ－Ｎ濃度はＣＯＤよりも短い過去２日間の積算降水量と正の相関関係が認められた。一方でＴ－Ｐ濃度は最も長い過去 20 日間の積算降水量と負の相関関係が認められた。児島湖流域の各調査地点のＴ－Ｎ濃度はＣＯＤ濃度と比較して、より短期間の降水の影響を受けていると考えられ、降水に伴う耕作地等の面源からの流入の影響を受けているものと推察される。一方でＣＯＤ濃度は過去 20 日の積算降水量とは弱い正の相関関係があり、過去 30 日の積算降水量では負の相関関係に転じている。児島湖流域においてＴ－Ｎ濃度はＣＯＤ濃度、Ｔ－Ｐ濃度と比較して環境基準値に最も近く、相対的に濃度が低くなっていると考えられるが、降水に伴う窒素の流入に応じて植物プランクトンが増殖し、有機物が生産される一方で、次第にＴ－Ｎ濃度が制限要因となりＣＯＤ濃度に影響を与えていると推察される。また、Ｔ－Ｐ濃度の挙動はＣＯＤ濃度、Ｔ－Ｎ濃度と異なり、比較的変動幅が小さいが、過去 20 日間の積算降水量と負の相関があり、過去 30 日間においても同様の傾向が認められた。Ｔ－Ｐ濃度は降水により一時的には面源からの流入の影響があるものの、相対的に濃度が高いために、ＣＯＤ濃度、Ｔ－Ｎ濃度の変動の影響を受け難いと考えられる。加えて降水量が少ない場合には蒸発による濃縮や低層ＤＯの低下に起因する不溶性のリン酸第二鉄から溶解性のリン酸第一鉄への還元が生じていると推察される。本解析により、児島湖流域の水質の季節変動を含めた現況を把握し、農業環境等の地域特性や気象条件との関連性が把握できた。

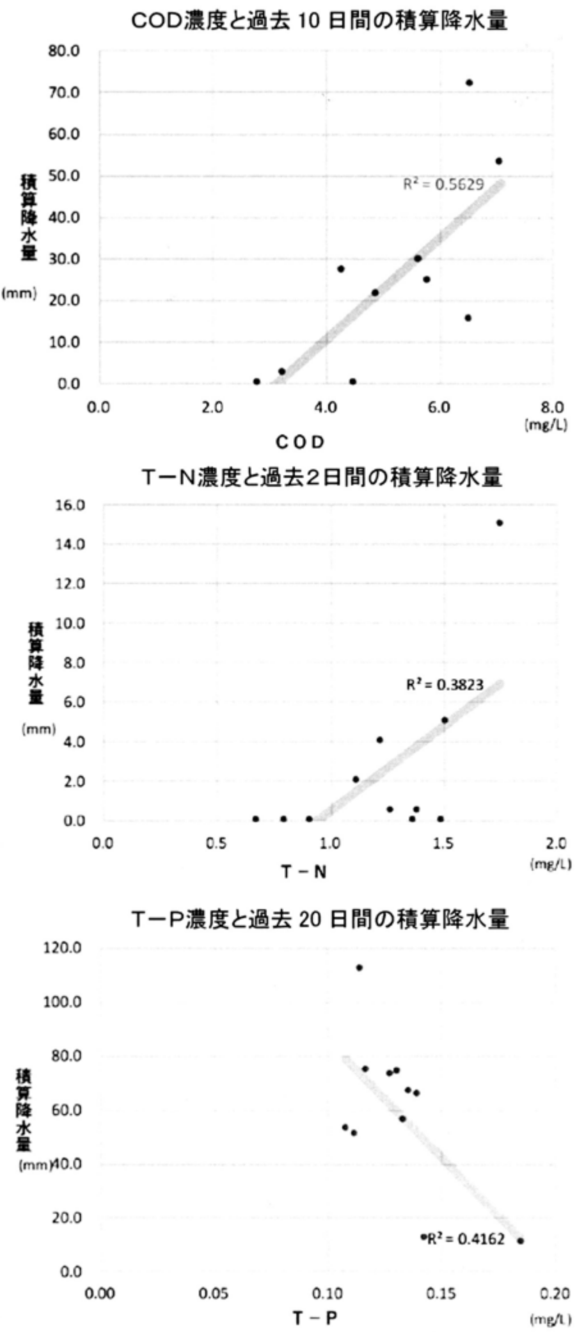


図１ 積算降水量と各水質項目との相関関係

4. 児島湖内の地点別の水質の経年変化と水環境への影響

4.1 研究方法

2013 年～2015 年に調査した児島湖内の水質調査データを用いて、児島湖内の各調査地点の特徴の把握と水質の経年変動を把握した。また、灌漑期（9 月）、非灌漑期（12 月）の季節毎の調査を実施した 8 地点について、灌漑期・非灌漑期別に児島湖内における地点毎の水質の変遷の把握を行った。

4.2 結果及び考察

図２に児島湖内の経年水質データの平均値を灌漑期・非灌漑期別に比較した結果を示す。ＣＯＤ濃度、Ｔ－Ｎ濃度、ＳＳ濃度、クロロフィル a 含量は灌漑期よりも非灌漑期において高い傾向を示した。灌漑期は高梁川をはじめとした河川からの農業用水の導入により、末端である児島湖の平均滞留時間は短いため、希釈の影響と内部生産の時間が抑えられていることにより、低い傾向を示すと考えられる。特にＴ－Ｎ濃度は灌漑期においては環境基準値の 1.0mg/L 未満となった地点が多く見られたことから、Ｔ－Ｎ濃度が児島湖内の多くの地点において内部生産の制限要因となっていると推察される。

一方でＴ－Ｐ濃度は灌漑期の方が高い傾向を示す地点が多かった。児島湖内や流域の用水路や河川底質からの溶出の影響、降水に伴う面源からの流入が要因として考えられる。また、地点毎の特徴として、笹ヶ瀬川河口である調査地点Ｂ１と倉敷川河口であるＤ１地点は年間を通してＴ－Ｐ濃度が高い傾向にあった。特に倉敷川水域は非灌漑期においてもＴ－Ｐ濃度が高く、供給源となっているため、水田地帯における水質汚濁要因について解明が必要である。また、児島湖内の各調査地点においては、平均滞留日数の長い非灌漑期におけるクロロフィル a 含量は高い値を示しており、冬期における湖水の透明度に影響を及ぼしていると推察される。

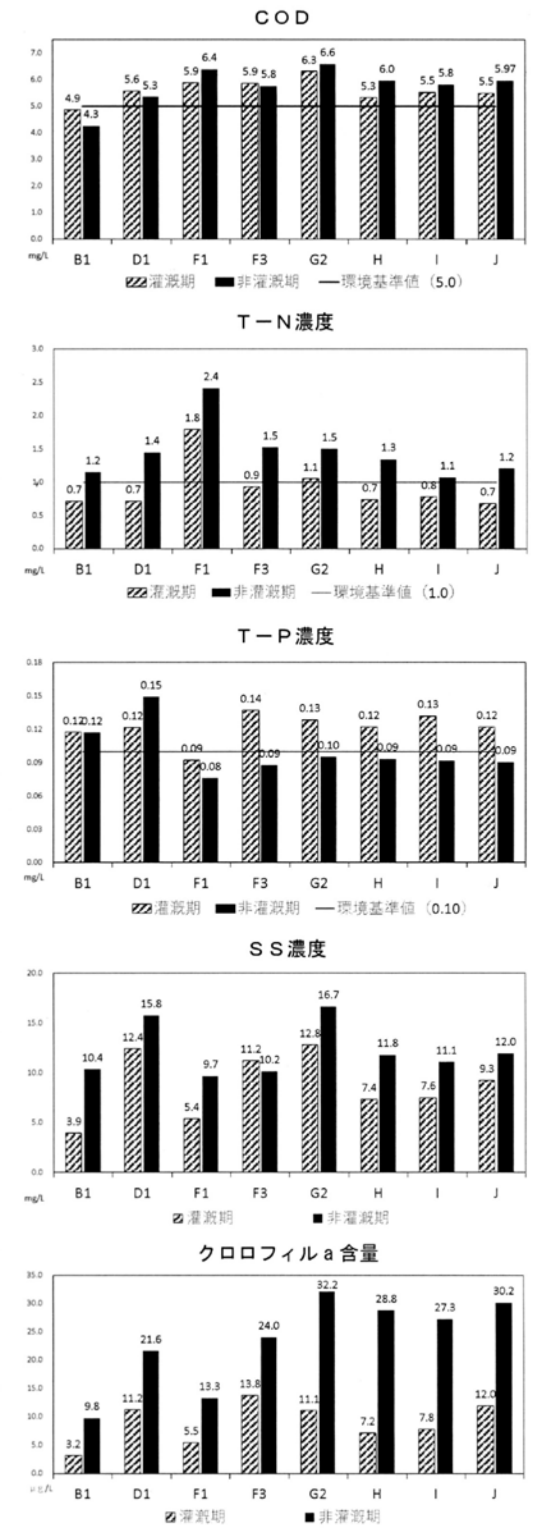


図２ 灌漑期・非灌漑期毎の水質変動

5. 児島湖流域における農業生産活動の現況調査

5.1 研究方法

これまでの解析結果から児島湖内の水質への影響が大きいと考えられた倉敷川流域の都六区、大曲並びに湖沼法に係る流出水対策地区に指定されている鴨川流域の北七区の３地区の農家を対象に 2016 年９月から 11 月にかけてアンケート調査を実施した。本アンケート調査は児島湖下流域に位置する３地区の農業生産活動に関する現況を把握するとともに、児島湖流域の水質改善に向けた今後の推進方策を検討することを課題とした。

5.2 結果及び考察

各調査地区のアンケート回収数は大曲が 54 部、都六区が 53 部、北七区が 57 部であり、３地区とも同程度の回収率であった。図３に回答者の年代を示す。60 代以上の割合は北七区 67%、大曲 87%、都六区 83%であり、特に大曲、都六区の両地区において高齢化の傾向にあった。また、図４に児島湖の水質問題への関心の実態を示したが、３地区とも 70%以上の農家が「関心がある」と回答し、児島湖の水質への一定の関心が認められた。

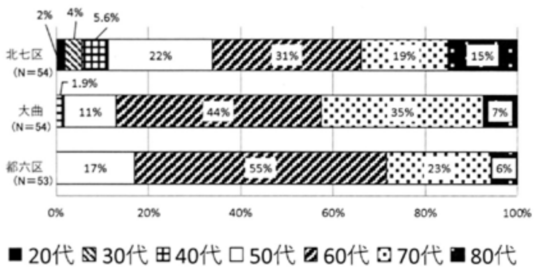


図3　回答者のプロフィール（年代）

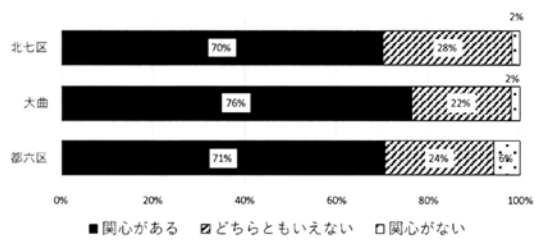


図4　児島湖の水質問題に関心がありますか

北七区は平成 19 年より流出水対策地区に指定されており、各種対策の一環として、土壌診断を経て従来の肥料よりもリンやカリウム含有量の少ないＬ字型肥料を用いる環境保全型農業の普及・定着に向けた水田排水対策が実施されている。Ｌ字型肥料の使用の有無を問うアンケート設問では北七区の回答者の 38%がＬ字型肥料を「使用している」と回答する一方で、「使用していない」を選択した 62%回答者のうち、「導入を前向きに検討している」と回答した割合は６％で、大半の 74%が「どちらともいえない」と回答している。都六区、大曲の２地区についてもＬ字型肥料に限らず、環境保全型の肥料を「使用している」と回答した割合はそれぞれ 29%、20%であった。また、使用していない回答者のうち各 32%、16%が「導入を前向きに検討している」と回答し、今後の導入について「どちらともいえない」を選択しているのは各 46%、84%であったことから、都六区においては環境保全型農業

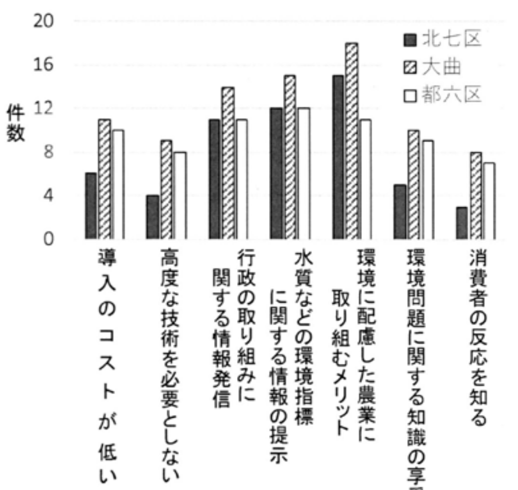


図5　児島湖流域全体に環境に配慮した農業を普及させるにあたり、重要と思われる項目

導入の意欲が高いと考えられる。図５に「どちらともいえない」を選択した回答者の「児島湖流域全体に環境に配慮した農業を普及させるにあたり、重要と思われる項目」を問いかけた質問の選択結果（複数回答）を示す。各地区で環境保全型農業を推進し、効果的なリン対策を実施するためには「どちらともいえない」を選択している回答者に対して、「環境に配慮した農業に取り組むメリット」、「水質などの環境指標に関する情報の提示」、「行政の取り組みに関する情報発信」といった取り組みによって推進を図る必要がある。

6 まとめ

北七区では従来からの４湛３落の間断灌漑が行われている一方で、都六区や大曲では水管理がパイプライン化によって各農家単位で実施されるようになり、水管理は各農家の裁量で実施されている。また、パイプライン化によって排水専用となった水路では年間を通して水量が少なくなり、流れが悪くなったとの意見がアンケートで多く寄せられた。用水がパイプラインされ、排水専用となった水路は流れが悪く、閉鎖的環境と類似した水環境となっていると考えられる。本研究では閉鎖性水域の溜池で浮葉植物ヒシの過繁茂の実態と発生に関わる環境要因が把握された。都市部と農村部の混住化地域に位置しており、富栄養化も著しい都六区や大曲などの児島湖周辺の水路はヒシの過繁茂の条件との類似性があるため今後注視していく必要がある。

また、本研究により降雨などの気象条件が児島湖流域の河川や水路の水質形成に影響を与えていることが把握された。児島湖内においても春期から夏期にかけてのゲリラ的な豪雨の影響を受け、水位変動を受けた低層ＤＯ濃度や透明度の変化が一因と思われるヒメガマ群落の消失など、気象条件の変化による問題が顕在化している。種々の対策の結果、近年は児島湖の水質は緩やかな改善傾向を示しているが、生物多様性の観点からは深刻な問題が顕在化しつつあり、これらの課題への対策が重要となると考える。

2.　謝辞

本研究に多大なるご支援を賜りました財団法人八雲環境科学振興財団に心より感謝申し上げます。

参考文献

１）岡山県　児島湖に係わる第７期湖沼水質保全計画（2017）
２）中嶋佳貴、沖陽子、門脇孝弘、山田貴都（2016）
児島湖流域における水質汚濁の現況の時期別並びに経年変化の解析．農業農村工学会全国大会講演要旨集 pp. 811-812.
３）門脇孝弘・沖陽子・中嶋佳貴・足立忠司（2008）主成分分析を用いた岡山県南部における水生雑草発生環境要因の解析　雑草研究 53(別) 日本雑草学会

ナス科野生種が有する青枯病抵抗性の解明と土壌病害克服技術の開発

岡山県農林水産総合センター生物科学研究所
向原隆文

はじめ

青枯病は、植物病原細菌 *Ralstonia solanacearum* によって引き起こされるナス科作物の最重要病害である。青枯病菌はナス科を中心に 50 科 200 種以上の植物を加害し、この中にはジャガイモ、トマト、トウガラシ、ナスなど多くの経済作物が含まれる（Hayward, 1991）。一般的なナス・トマトの食用品種は青枯病に大変弱く、抵抗性台木の利用が安定生産には必須である。日本産の青枯病菌には宿主域の異なる様々な菌群が存在し、ナス属植物に対する病原性の違いから５つの菌群（I～V）に分類されている（尾崎・木村, 1992）（表 1）。同一台木を圃場で連続使用すると、台木を発病させる青枯病菌が圃場で優位となり、台木が使用できなくなる場合がある。このため、我が国で栽培に用いられるナス台木は「ヒラナス（*Solanum integrifolium*）」→「トルバム・ビガー（*Solanum torvum*）」→「台太郎（*Solanum melongena*）」と変遷してきた。ヒラナスやトルバム・ビガーのようなナス近縁野生種は、ナス食用品種と比較して低温伸張性や根張り・草勢に優れるなど、青枯病抵抗性以外にも優れた栽培形質を有しており、ナス果実の生産性向上に大きく寄与してきたが、これらナス近縁野生種が有する青枯病抵抗性の特性はこれまで未知である。ナス・トマトの食用品種は糸状菌やウイルス病にも弱いため、これら病害にも強い複合抵抗性の台木が強く求められているが青枯病抵抗性の解析が進んでいないため、効果的な台木育種は現状では困難な状況にある。

表 1. 宿主範囲に基づく日本産青枯病菌の分類（尾崎・木村, 1992）

	菌群				
ナス属指標植物	I	II	III	IV	V
千両二号	+	+	+	+	+
ツノナス	-	+	+	+	-
ヒラナス	-	-	+	+	+
トルバム・ビガー	-	-	-	+	-

+は親和性（罹病性）、-は非親和性（抵抗性）の相互作用を示す。

多くのグラム陰性植物病原細菌で Hrp タイプ III 分泌系は植物感染に必須な役割を果たしている。Hrp 分泌装置は約 20 種類のタンパク質から構成されており、そこから伸びる Hrp 線毛の先端が植物の細胞壁を貫通してタンパク質性病原因子（エフェクターと総

称）を細胞内に注入する（図 1）。植物病原細菌は複数のエフェクターをセットで宿主細胞内に注入することで宿主の内部環境を変化させ、自身の増殖に適した環境を作り出していることが明らかになってきた（Dou and Zhou, 2012）。具体的には、病原菌がエフェクターを介して様々な手段で植物の病害抵抗性反応を抑制したり、植物内で効果的に増殖するために必要な栄養分を確保していることが示されている（Büttner, 2016）。

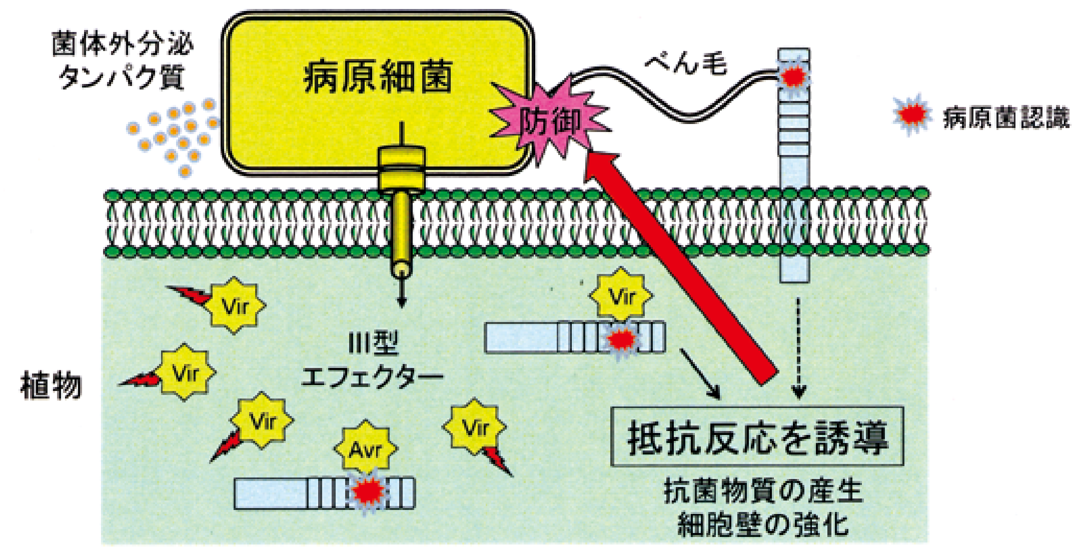


図 1. 青枯病菌と植物の Hrp タイプ III 分泌系を介した相互作用

エフェクターは二面的な性格を持っており、宿主植物では病害抵抗反応を抑制する病原因子（Vir）として働く一方、非宿主植物では抵抗性（*R*）遺伝子産物（R タンパク質）により認識されて抵抗性を誘導する非病原性因子（Avr）として働く（Alfano and Collmer, 2004）（図 1）。特定の菌群に対して強い病害抵抗性を発揮するナス近縁野生種は青枯病菌の Avr エフェクター認識を介して抵抗性を発揮している可能性が高い。ナス近縁野生種が認識する Avr エフェクターを明らかにすることができれば、これをツールに Avr エフェクターと対になる抵抗性（*R*）遺伝子の同定が可能となる。本研究では、ナス近縁野生種ヒラナス及びトルバム・ビガーが認識する Avr エフェクターを詳細に明らかにすることを目的に日本産青枯病菌を材料として解析を行った。

1．ナス近縁野生種と日本産青枯病菌の相互作用

近年になって、世界各地の青枯病菌株の系統解析が進展し、いくつかの指標遺伝子の塩基配列や生理学的な性質からいくつかの分類法（phylotype、biovar 及び sequevar）が提唱されている（Fegan and Prior、2005）。筆者らが使用している日本産青枯病菌 RS1000 株（II 群菌）は phylotype I biovar 4 sequevar 15 に属している（Mukaihara *et al*., 2010）。興

味深いことに日本産青枯病菌で phylotype I biovar 4 に分類される菌株は全て sequevar 15 に属している（データ示さず）。このことは、日本産の phylotype I biovar 4 菌株が遺伝学的にごく近縁であり、宿主域変化を解析しやすい材料であることを示唆する。そこで、本研究では日本産 phylotype I biovar 4 菌株を材料として、ヒラナス及びトルバム・ビガーが認識する Avr エフェクターを探索した。まず最初に、国内で分離された青枯病菌の中から、I 群菌 9 株、II 群菌 7 株、IV 群菌 11 株、V 群菌 5 株を選抜し、ヒラナス及びトルバム・ビガーの本葉に注入し、接種葉の応答を観察した（phylotype I biovar 4 に属する日本産菌株では III 群菌が単離されていないため、本研究では III 群菌はテストできなかった）。その結果、ヒラナスに病原性を示さない I 群菌及び II 群菌と病原性を示さない IV 群菌及び V 群菌のいずれにおいてもヒラナス接種葉に可視的な過敏感細胞死（HR）は観察されなかった（図 2 に結果の一部を示す）。一方、トルバム・ビガーに病原性を示さない I 群菌及び II 群菌ではトルバム・ビガー接種葉に明瞭な HR が観察された。また、トルバム・ビガーに病原性を示す IV 群菌では HR は観察されなかった。しかしながら、トルバム・ビガーに病原性を示さない V 群菌でも HR は観察されなかった。以上の結果から、ヒラナス及びトルバム・ビガーが有する青枯病抵抗性は単純に病原菌に対する HR の有無では説明できないことが明らかとなった。

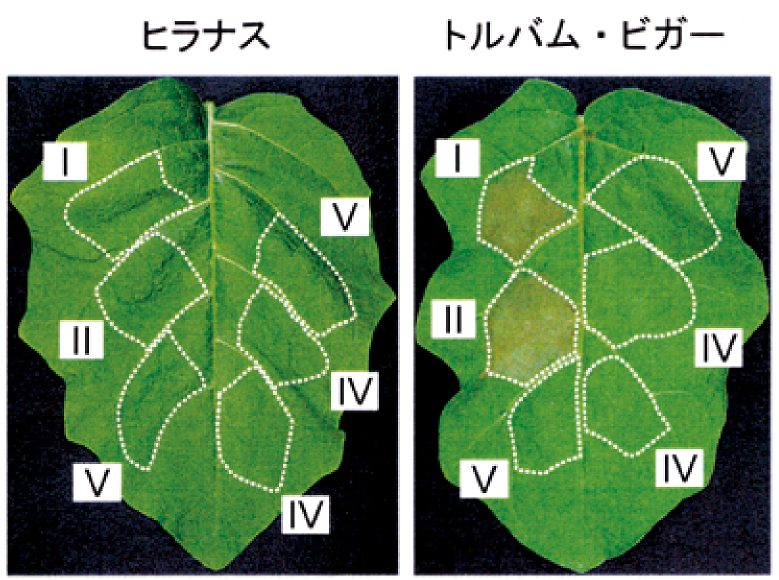


図 2. ナス近縁野生種と日本産青枯病菌の相互作用
I 群菌（I）、II 群菌（II）、IV 群菌（IV）及び V 群菌（V）を注入した接種葉の様子。写真は接種 24 時間後に撮影。I 群菌及び II 群菌を接種したトルバム・ビガー本葉では明瞭な過敏感細胞死（HR）が観察される。

2．青枯病菌の宿主域変化と相関するエフェクター遺伝子変異の同定

上記解析でヒラナスは非親和性（抵抗性）の関係にある I 群菌及び II 群菌に対して明瞭な HR を誘導しなかった（図 2）。しかしながら、I 群菌及び II 群菌に抵抗性のヒラナスと両菌群に感受性のナスとの種間交雑で得られた F1 雑種個体の全てが I 群菌及び II 群菌に抵抗性を示すという既報（尾崎ら、1988）は、ヒラナスが I 群菌及び II 群菌に対する優性の抵抗性遺伝子を持つことを強く示唆する。筆者らは青枯病菌 RS1002 株（II 群菌）が植物感染時に約 70 種類ものエフェクターを宿主細胞内に注入していることを明らかにしている（Mukaihara *et al*., 2010）。これらエフェクターのどれかがヒラナスに Avr エフェクターとして認識されるために II 群菌はヒラナスに感染できず、ヒラナスに病原性を示す IV 群菌及び V 群菌ではこの Avr エフェクターが変異している可能性が考えられた。これを検証するために、I 群菌、II 群菌、IV 群菌及び V 群菌から代表株を選び、PCR 法を用いて全エフェクター遺伝子の検出を行った。その結果、IV 群菌と V 群菌でのみ異常のあるエフェクター遺伝子（*ripP1*, *ripAX2*, *ripBE*, *ripP2_2*）が見いだされた（データ示さず）。そこで今回解析した 32 株の青枯病菌全てでこれら 4 遺伝子と *ripP1* 近傍の *ripAG* の分布を PCR 法で調べた（表 2）。興味深いことに、ヒラナスに病原性を示す IV 群菌及び V 群菌では *ripAX2* 遺伝子に共通して PCR 産物の増幅異常（増幅無しあるいはサイズ増加）が見られた。また、トルバム・ビガーに病原性を示す IV 群菌では *ripAX2*, *ripBE*, *ripP2_2* に加えて *ripP1* が PCR 法で検出できなかった。IV 群菌及び V 群菌から変異部位を含むと考えられるゲノム領域をクローニングし、遺伝子配列を決定した。その結果、V 群菌 5 株のうち 4 株は *ripAX2* 遺伝子の直前から未知配列に切り替わっていた（図 3）。残り 1 株では *ripAX2* 遺伝子のコード領域内に IS1420 が挿入されていた。一方、IV 群菌 11 株のうち 8 株では *ripP1*, *ripAX2*, *ripBE*, *ripP2_2* を含む約 70kb の大きな欠失がゲノムに生じていた。欠失パターンには 2 種類あり、1 つは *ripAG* 下流の約 190bp の同方向反復配列間で、もう一つは *ripAG* 下流の約 140bp の同方向反復配列間で生じていた。また、残り 3 菌株では *ripAG* 下流から未知配列に切り替わっていた。

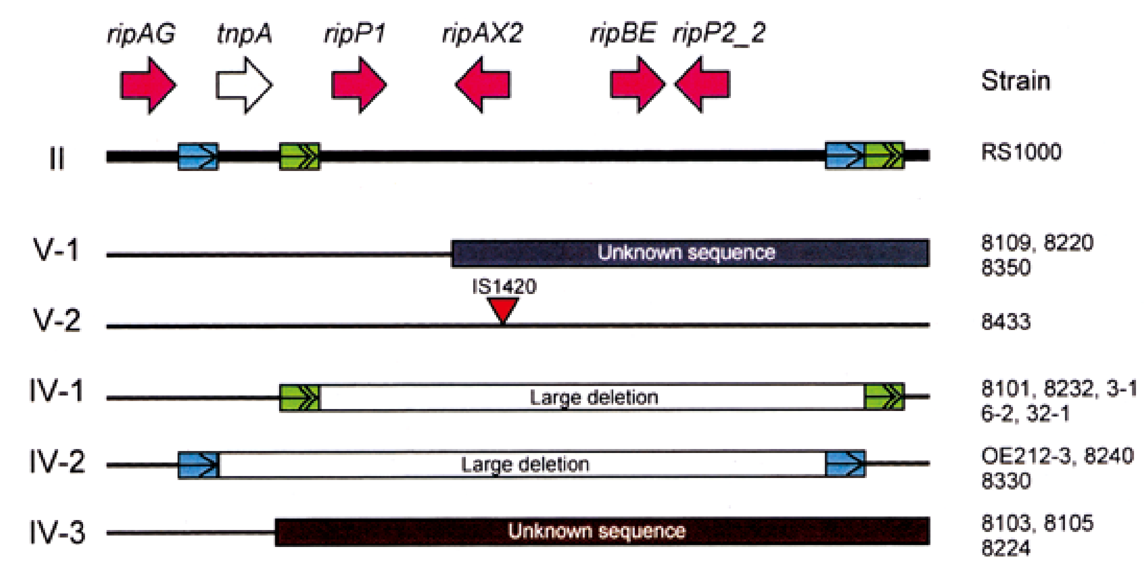


図 3. 青枯病 IV 群菌及び V 群菌の *ripP1-ripAX2* 遺伝子領域に見られるゲノム変異

表２．日本産青枯病菌群における *ripP1* と *ripAX2*、及びその近傍エフェクター遺伝子の分布

菌株	菌群	*Solanum integrifolium* 病原性	*Solanum torvum* 病原性	PCR によるエフェクター遺伝子の増幅				
				ripAG	*ripP1*	*ripAX2*	*ripBE*	*ripP2_2*
8107	I	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8201	I	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8202	I	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8208	I	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8231	I	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8234	I	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8238	I	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8276	I	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8304	I	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
RS1002	II	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8210	II	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8215	II	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8241	II	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
20-1	II	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
31-3	II	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
33-1	II	–	–	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
8109	V	+	–	Yes	Yes	ND	ND	ND
8220	V	+	–	Yes	Yes	ND	ND	ND
8350	V	+	–	Yes	Yes	ND	ND	ND
8433	V	+	–	Yes	Yes	IS1420	Yes	Yes
8568	V	+	–	Yes	Yes	ND	ND	ND
OE212-3	IV	+	+	Yes	ND	ND	ND	ND
8101	IV	+	+	Yes	ND	ND	ND	ND
8103	IV	+	+	Yes	ND	ND	ND	ND
8105	IV	+	+	Yes	ND	ND	ND	ND
8224	IV	+	+	Yes	ND	ND	ND	ND
8232	IV	+	+	Yes	ND	ND	ND	ND
8240	IV	+	+	Yes	ND	ND	ND	ND
8330	IV	+	+	Yes	ND	ND	ND	ND
3-1	IV	+	+	Yes	ND	ND	ND	ND
6-2	IV	+	+	Yes	ND	ND	ND	ND
32-1	IV	+	+	Yes	ND	ND	ND	ND

Yes, 予想される PCR 産物の増幅あり; ND, PCR 産物の増幅なし; IS1420, 遺伝子中に IS1420 の挿入

３．ヒラナスは RipAX2 を認識して青枯病抵抗性を発揮する

ヒラナスに病原性を示す IV 群菌と V 群菌の全菌株が *ripAX2* に変異を有するという事実は、RipAX2 がヒラナスに認識される宿主域制限因子（Avr エフェクター）であることを強く示唆する。これを検証するために、ヒラナスに病原性を示さない II 群菌の RS1002 株の *ripAX2* 遺伝子を欠失させたΔ*ripAX2* 変異株を作出した。Δ*ripAX2* 変異株をヒラナスに接種するとヒラナスが全て枯死した（図 4）。このことから、ヒラナスは RipAX2 エフェクターを認識して青枯病抵抗性を発揮していることが明らかとなった。ヒラナスによる RipAX2 の認識は明瞭な HR を伴わないが、病原菌を十分抑制できるレベルの抵抗反応が誘導されていると推察される。

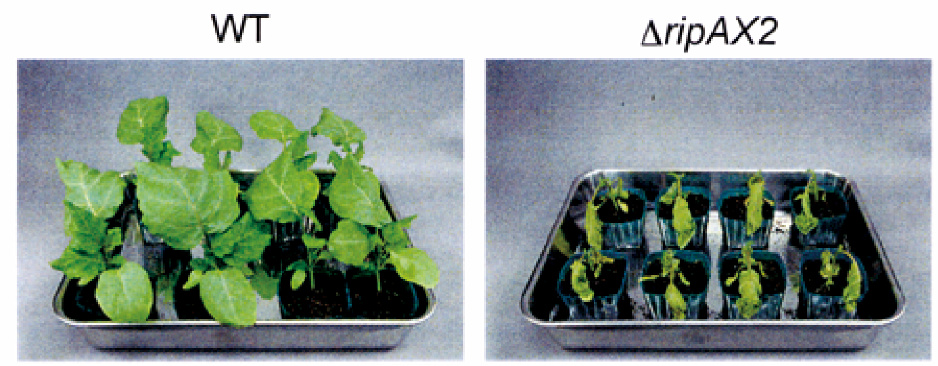


図 4．青枯病菌変異株のヒラナス病原性
親株の RS1002 株（WT）及びΔ*ripAX2* 変異株を接種したヒラナスの病徴。写真は接種 6 日後に撮影。

４．トルバム・ビガーは RipAX2 及び RipP1 を認識して青枯病抵抗性を発揮する

我々は以前の解析から青枯病菌の RipAX2 がトルバム・ビガーに強い HR を誘導することを報告している（Nahar *et al*., 2014）。*ripAX2* に変異を持つ V 群菌がトルバム・ビガーに病原性を示さないという結果は、RipAX2 以外にも別のエフェクターがトルバム・ビガーに認識されていることを示唆する。トルバム・ビガーに病原性を示す IV 群菌の全てで *ripAX2* に加えて *ripP1* が消失していることから、RipP1 の認識が強く示唆された。これを検証するため、V 群菌の 8220 株及び 8433 株に *ripP1* 変異をそれぞれ導入し、トルバム・ビガーに対する病原性を調べた。その結果、*ripP1* 変異の導入によって V 群菌がトルバム・ビガーに対する病原性を獲得することが明らかとなった（データ示さず）。RipP1 はペチュニア及びタバコで認識される Avr エフェクターであることが報告されている（Lavie *et al*., 2002; Poueymiro *et al*., 2009）。V 群菌を接種したトルバム・ビガー本葉の観察では、接種 24 時間後では HR は観察されないが、接種 48 時間後に接種部位に微弱な HR が観察された（データ示さず）。この微弱 HR が *ripP1* 変異の導入で消失することと及び RipP1 が青枯病菌の病原性に対して負の効果を持つことを考え合わせると、RipP1 はヒラナスに認識されるマイナーな Avr エフェクターであると考えられる。

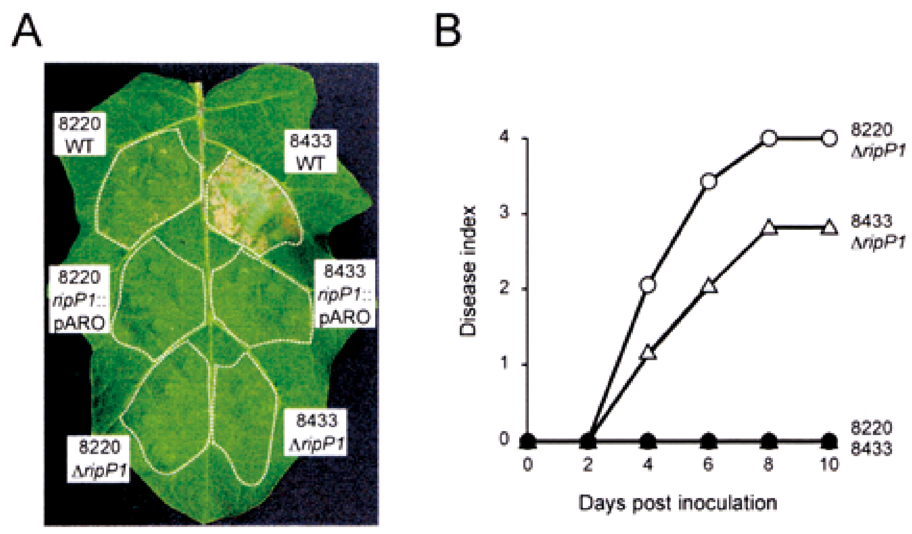


図5. V 群菌によるトルバム・ビガー本葉への微弱 HR 誘導と病原性 (A) V 群菌及びその *popP1* 変異株を接種したトルバム・ビガー本葉の微弱 HR。写真は接種 2 日後に撮影。(B) V 群菌 *ripP1* 変異株のトルバム・ビガーに対する病原性。

おわりに

本研究では、日本産青枯病菌のエフェクターレパートリーの比較解析から、ナス近縁野生種ヒラナス及びトルバム・ビガーが認識する Avr エフェクターの同定を行った。ヒラナスは青枯病菌の RipAX2 を認識して青枯病抵抗性を発揮していた（図4）。ヒラナスは非親和性の青枯病菌に顕著な HR を誘導しない（図 1）にもかかわらず、その抵抗性は優性の抵抗性（*R*）遺伝子に起因していることは大変興味深い。一方、非親和性青枯病菌に顕著な HR を誘導するトルバム・ビガーは HR を誘導する主要 Avr エフェクターとして RipAX2 を認識し、その青枯病抵抗性を高めるマイナーな Avr エフェクターとして RipP1 を認識していた。植物による複数エフェクターの認識はタバコの例（AvrA と RipP1 を認識）でも知られており（Poueymiro *et al*., 2009）、今回の研究結果と併せて、異なるタイプの抵抗性遺伝子を組み合わせて導入することで作物に強い青枯病抵抗性を付与できることが示された。一方、ナス科植物が有する青枯病抵抗性遺伝子はこれまで知見が無く、有用な抵抗性遺伝子に関する手掛かりが全く無かった。今回、RipAX2 がヒラナスとトルバム・ビガーに共通に認識される Avr エフェクターであることが明らかとなった。また、トルバム・ビガーは RipAX2 に加えて更に RipP1 も認識することで強い病害抵抗性を発揮していることも明らかとなった。ヒラナスはナスとの種間交雑が可能なため、交配により RipAX2 を認識する抵抗性遺伝子を絞り込むことができる。また、トルバム・ビガーとタバコは既にゲノム解読が終了し、ゲノムに保持される推定抵抗性（*R*）遺伝子の全容が明らかとなっている。今後は、各研究材料の特性を生かしてナス近縁野生種が有する青枯病抵抗性遺伝子の同定研究に取り組み、抵抗性育種に利用可能な有用遺伝子を手中にしたいと考えている。

謝辞

本研究に多大なるご支援を頂きました財団法人八雲環境科学財団に深く感謝申し上げます。

引用文献

Alfano, J. R. and Collmer, A. (2004) Annu. Rev. Phytopathol. 42: 385-414.
Büttner D. (2016) Microbiol. Rev. 40: 894-937.
Dou, D. and Zhou, J. M. (2012) Cell Host Microbe. 12: 484-95.
Fegan, M. and Prior, P. (2005). in Bacterial wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex, eds C. Allen, P. Prior, and A. C. Hayward (Saint Paul, MN: APS Press), 449–461.
Genin, S. and Denny, T. P. (2012) Annu. Rev. Phytopathol. 50: 67-89.
Hayward, A. C. (1991) Annu. Rev. Phytopathol. 29: 65-87.
Lavie, M., Shillington, E., Eguiluz, C., Grimsley, N. and Boucher, C. (2002) Mol. Plant-Microbe Interact. 15: 1058-1068.
Mukaihara, T., Tamura, N. and Iwabuchi, M. (2010) Mol. Plant-Microbe Interact. 23: 251-262.
Nahar, K., Matsumoto, I., Taguchi, F., Inagaki, Y., Yamamoto, M., Toyoda, K., Shiraishi, T., Ichinose, Y. and Mukaihara T. (2014) Mol. Plant Pathol. 15: 297-303.
尾崎克己・木村俊彦（1992）中国農試研報 10: 49-58.
尾崎克己・宮川久義・木村俊彦（1988）日本植物病理学会報 54: 106.
Poueymiro, M., Cunnac, S., Barberis, P., Deslandes, L., Peeters, N., Cazale-Noel, A. C., Boucher, C. and Genin, S. (2009) Mol. Plant-Microbe Interact. 22: 538-550.

金属無機塩と脂質膜からなるハイブリッドナノ触媒による環境低負荷型反応プロセスの開発

（岡山大学院環境生命） 島内 寿徳

【緒言】

バイオマスから有用化合物を得る過程では，高濃度の強塩基の添加が求められる．たとえば化粧品や薬剤分子の中間体として利用される不飽和アルデヒドをバイオマスから得るには，強塩基性物質による縮合反応が用いられる．しかし，縮合反応と同時に不均化反応が進行するため，目的物質の収率と選択性の低下が問題となっている．また，バイオ燃料の副産物として過剰供給状態になっているグリセロールの利用法として，乳酸への変換が望まれている．現在の手法では，強塩基性条件だけでなく，水熱反応(高温高圧)条件を必要とする場合もあるため，環境低負荷な反応条件の探索が進められている．

たとえば5-ヒドロキシメチルフルフラール(HMF)は，ポリエチレンテレフタラート(PET)の代替物質前駆体である2,5-フランジカルボン酸(FDCA)を与える．しかし，PtBi/C触媒(触媒a)などの既往の触媒を用いたHMF→FDCA変換反応では，(i) 高温・高圧な反応条件(130°C, 10気圧)，(ii) 有機溶媒の使用，(iii) 水溶液系反応ではNaOH使用のため中和反応が必要，などの欠点が挙げられている．これらの問題点を克服するために，申請者は図1に示す新規なハイブリッドナノ触媒(触媒b)を開発した．脂質２分子膜の閉鎖系小胞であるリポソーム(粒径100 nm)を触媒a (粒径300nm)と複合化したハイブリッド材料(粒径約350 nm)であり，cryo-TEM観察などにより，図1に示した構造である証拠を得ている(A-STEPでの知見；現在論文投稿中)．

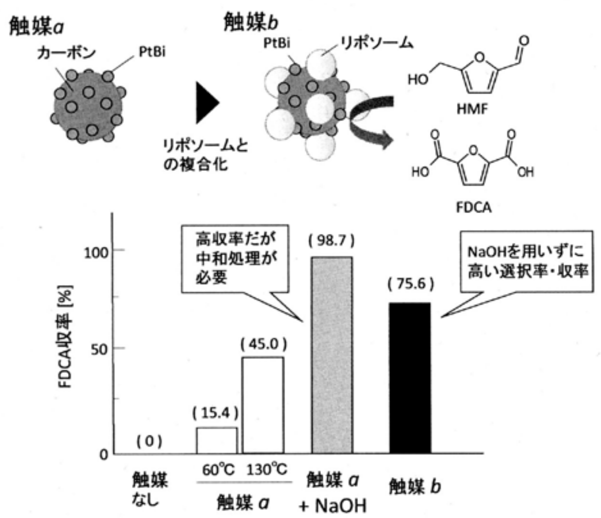


図1 PtBi/C触媒とハイブリッドナノ触媒の構造と反応特性の比較．

触媒aではFDCA収率が15.4 %であった(有機溶媒/130°Cでは45.0%)．触媒a に0.5 mol/LのNaOHを添加する既往の条件では高収率であった(98.7%, 60°C)．触媒bでは，非有機溶媒系(水系)において，低温かつNaOH非添加条件でFDCAの収率が75.6% (60°C)に達し，問題点(i)-(iii)を克服できた．NaOHによるHMFからのプロトン引抜きをリポソームが代わりに担うことが，反応条件の緩和機構に密接に関連することを示した．

このようなハイブリッド材料の設計手法の場合，金属無機塩と脂質組成の組み合わせにより，応用途が決まり，種々のバイオマス変換反応に適した触媒材料の組成選択が可能となる．たとえば図1においてPtBiの変わりにPdを用いると，HMFの還元反応によりバイオ燃料の代替物質である2,5-ジメチルフラン(DMF)を得ることができる．それゆえ，他のバイオマス変換反応についても，適切な組成選択により触媒特性のチューニングが可能であると考えている．HMFの末端化合物である不飽和アルデヒドや，バイオマスの中間生成物である乳酸についても同様の応用が期待される．

本研究では，不飽和アルデヒドや乳酸の変換反応への応用を目指すべく，種々の金属無機塩と脂質組成との組み合わせにより，図１に示すハイブリッドナノ触媒の調製が可能であるかを検討した．次に，不飽和アルデヒドの変換反応のモデル系として交差アルドール反応を試みた．また，既往の乳酸の高熱水和反応(T. Shimanouchi *et al.*, *Chemistry Letter*, **43,** 535-537 (2014))をモデル系として，本ハイブリッドナノ触媒の有効性について検討した．

【実験方法】

使用物質

脂質として 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DOPC), 1-palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (POPC), 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DPPC), 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DMPC), Sphyngomiyeline (Spm)を使用した．また，安価な界面活性剤として，Span系やTween系脂質を用いた．化学構造は図2を参照．

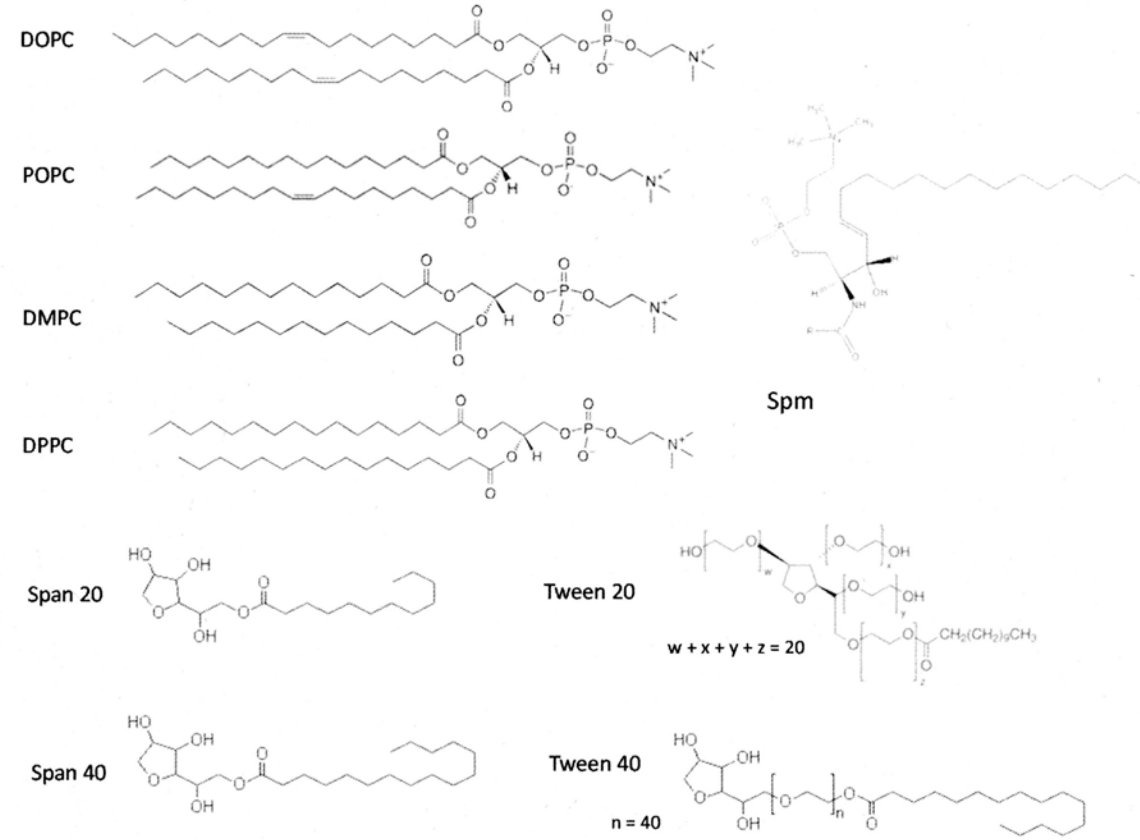


図2 使用した脂質の化学構造

リポソーム調整

調整法の概要図を図3に示す．リン脂質や界面活性剤を所定量測り取り，クロロホルムに溶解させた．それをナスフラスコに入れ，エバポレーターを用いてクロロホルムを蒸発させることで，ナスフラスコの壁面に脂質薄膜を得た．更にこれをデシケーターに入れ，減圧下で一晩乾燥させることによって，クロロホルムを完全に除去した．乾燥終了後，超純水あるいは重水を所定量加えて水和し，凍結融解法により多重層リポソーム(MLV)を得た．その後，得られたMLVをExtrusion法により，粒径100nmの一枚膜リポソーム(SUV)を得た．

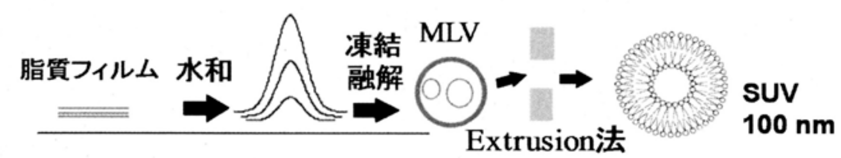


図3 リポソームの調製方法

交差アルドール反応

Heptanal, Benzaldehyde 各々5 mmolにリポソーム懸濁液(脂質濃度 0.1 mM, NaOH 500 mM)を10 ml添加し，ウォーターバス上で反応させた．反応後，HPLCを用いて生成物の濃度を定量した．

乳酸反応

0.0033 mol glycerol and 0.0125 mol sodium hydroxideが10 mlの水に溶解し，Pt/CあるいはPtBi/C (metal : 6.6 μmol)のような金属担持された触媒を添加した．混合物を，反応温度を60°Cにて反応させた．反応後，HPLCにより乳酸の濃度を定量した．

【結果および考察】

1．金属触媒/リポソームによるハイブリッドナノ触媒の調製

担体や金属触媒へのリポソームの複合化を確認するため，cryo-TEMおよびTEM観察を行った．DOPCリポソームのみの場合，図4 (a)に示すような小胞構造が見られた．粒径は100 nm前後のものが多く観察された．Cryo-TEM観察では，この構造を維持したまま，Al_2O_3担体の表面にリポソームが付着していることが確認された(図4 (b))．実際，リポソームに蛍光物質を封入した場合，担体表面に付着することによる蛍光物質の漏出はあまり認められなかった．この蛍光漏出実験からも，リポソーム膜構造がおおむね維持されていることが示唆される．TEM観察では，Al_2O_3担体の表面に同様にリポソームが密集している像が観察された．TEM観察の場合は溶媒が蒸発する過程でリポソームが固体界面に密集する傾向がある．この場合はリポソームが担体表面に吸着しているとは必ずしも断定できない．cryo-TEM像を踏まえると，リポソームはAl_2O_3担体の表面に何らかの相互作用で吸着し，複合体を形成していると考えてよい．このような複合体構造はDOPC/Nb_2O_5複合体(図4(d), (e))やDOPC/Pd/C複合体(図4(f), (g))においても見られた．

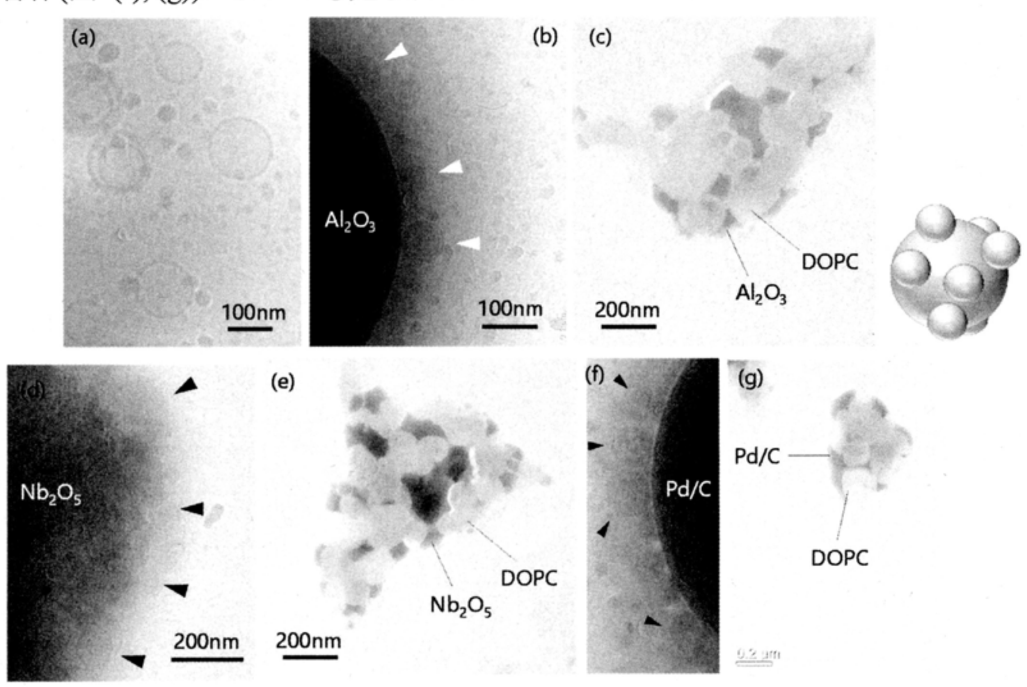


図4 (a) DOPCのcryo-TEM像，(b) DOPC/Al_2O_3複合体のcryo-TEM像，(c) (b)のTEM像． (d) DOPC/Nb_2O_5複合体のcryo-TEM像，(e) (d)のTEM像，(f) DOPC/Pd/Cのcryo-TEM像，(g) (f)のTEM像．図中の白矢印と黒矢印はDOPCリポソーム．

また，ハイブリッドナノ触媒調製に対する脂質の影響を検討した．POPC, DPPC, DMPC, POPAなどのリン脂質では図4で示すのと同様の構造が得られた．今後の応用のためには，安価な界面活性剤の利用が望ましい．そこで，Span20 / Tween20とSpan40 / Tween40を検討した．これらの界面活性剤がベシクルを形成するためのSpanとTweenの混合比を先行研究において明らかにしている．その混合比に基づいて同様の複合化を試みた結果，cryo-TEMにより複合体の像が確認され，金属無機塩の担体上においてベシクル膜構造が維持されていることが示された．

以上の結果より，図中のイラストのように，金属触媒や担体にリポソームが付着した形態の複合体が調製されていると推察される．

2．交差アルドール反応への応用

モデル反応として，図5(a)に示すヘプタナールとベンズアルデヒドの交差アルドール反応により，ジャスミンアルデヒドを主生成物として得る反応系を検討した．脂質膜は温度に応じた膜の相状態により，基質に対して特徴的な膜透過性を示す．その特徴に注目し，反応温度（30℃）において液晶相状態の脂質であるDOPC, DMPC, POPAを用いた．一般的には液晶相状態では基質に対して高い膜透過性を示す傾向だからである．一方，30℃においてゲル相状態であるDPPCとSpm(スフィンゴミエリン)を用いた．Spmはアシル鎖にアミド基を有するため，基質との相互作用の変化が期待できるからである．これらの脂質膜を利用することにより，図5(b)に示すように，PtBi/Cをベースとするハイブリッドナノ触媒の膜環境を利用して，NaOH条件の緩和も視野に入れた反応制御を試みた．

図5(c)にジャスミンアルデヒドの収率を示す．リポソーム添加により，生成物でジャスミンアルデヒドの収率が増大した．特にDPPCやSpmの添加系における収率が高かった．既往の報告[4]では，DPPCやSpmなどのリポソームは膜透過性が低い．それゆえ，反応に必要なOH^-の透過性が膜における反応の進行に関わっていると考えられる．反応基質ヘプタナールとベンズアルデヒドは疎水性基質である．特にヘプタナールは比較的長いアルキル鎖を持つため，脂質膜環境は有利であり，反応は膜内部から界面近傍で起きる方が有利であると考えられる．親水性の安息香酸ナトリウムを生成するCannizzaro反応は誘導されにくかった．また，完全にはNaOHの不要化には至らなかった．

以上の結果から，副反応を抑制しつつ目的物質の収率を高くするには，Spmのような膜透過性の低い脂質を反応分離場として用いることが有効であることが示唆された．

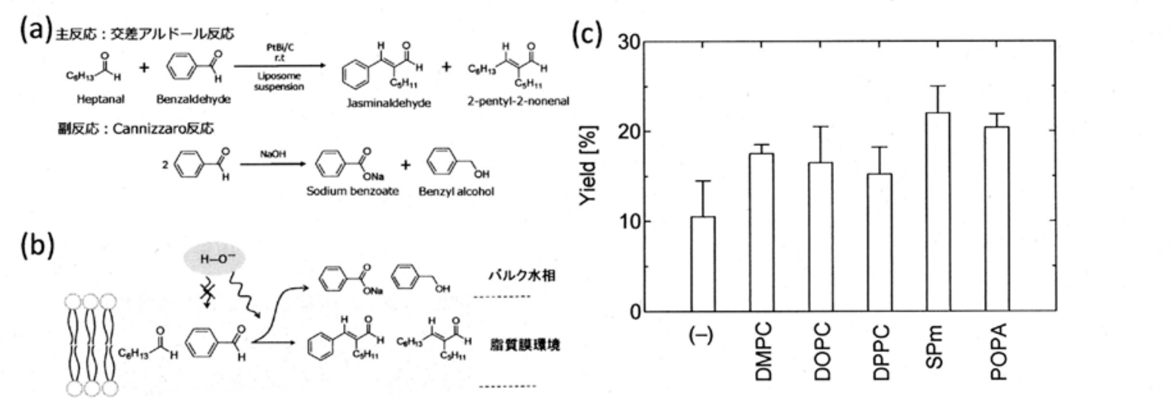


図5 (a) 交差アルドール反応の例．(b) 脂質膜環境を利用した反応の概念図．(c) 各種脂質組成のリポソームをPtBi/Cとのハイブリッド化に用いた場合のジャスミンアルデヒドの収率．脂質濃度0.1 mM，反応時間24 h，温度30℃．

3．乳酸反応への本材料の応用

300°Cにて90 min間反応させた場合，2%の乳酸の収率が得られ，NaOHを添加すると92%に上昇した．Pt/Cを添加した結果，NaOH非添加系では乳酸生成が確認されず，NaOH存在下でも収率は60%にまで減少した．HPLC分析により，グリセロールが過酸化によりギ酸に転換したため，乳酸の選択率が減少したと推定している．次にリポソームが反応に及ぼす影響を検証するために，反応温度を60°Cに下げて検証を行った．60°Cにおいて，リポソームの膜構造が維持されているためである．図6に示す通り，反応時間が長くなるにつれて乳酸の収率は上昇した．それに対応して乳酸の選択率も増加した．そこで，反応時間を24 hに固定した．

反応機構を^{1}H-NMRや^{2}H-NMRで検討した．300 °Cでギ酸の生成が確認されていることも踏まえると，アセトール経由の反応機構であることが示唆された．グリセロールからの乳酸転換に対するリポソーム添加効果を検討した．反応系内のリポソーム濃度を0.1 mmol/Lに設定し，金属触媒を含んだ反応系に加えた．DPPCリポソームとDOPCリポソームを反応系に添加したところ，収率はそれぞれ80%と86%に増加した．さらに，反応速度係数も対照系(7.9×10^{-4} min^{-1})よりもDOPCリポソーム添加系(1.0×10^{-3} min^{-1})の方が大きいことが分かった．

リポソーム添加によるPt/Cの電気化学的性質が変化しないことをサイクリックボルタモグラム計測により確認している．既往文献によれば，リポソームの水和水がプロトン移動に関与するため，一部の酸化反応の促進に寄与することが報告されている．そのため，反応促進にリポソームの水和水が関与しているかを確認する．分極度合が軽水よりも小さい重水(零点エネルギー，O-H：5.1 kcal/mol > O-D：3.7 kcal/mol)を反応溶媒に用いたところ，収率は3%まで大きく減少した(図6(b))．そして，反応速度も，$(k_{D2O}/k_{H2O})_{liposome} < (k_{D2O}/k_{H2O})_{control}$であった．重水置換による速度低下はリポソーム共存条件の方が大きい．大きく分極した水和水を多く有するリポソームが，反応をより促進することが示唆された．

最後に，NaOHの必要性を検討した．NaOH非添加系では乳酸は生成されなかった．Pt/Cよりも塩基性に富むPtBi/Cを用いたところ，NaOH非添加でも5%の収率を得た．リポソームの脂質濃度増加により，NaOH非添加条件において収率の向上が期待されたが，リポソームの脂質濃度を1.0 mmol/Lまで増加させても収率は10%程度に留まった(図6(c))．

以上のことから，高温高圧下でNaOHを伴うグリセロール酸化反応は92%であり，高収率の乳酸を得られる．しかし，NaOH非添加の場合は乳酸生成はほとんど期待できなかった．また，従来より温和な反応条件として，大気圧下/温度条件下/NaOH存在下では，Pt/Cのハイブリッドナノ触媒により，高温高圧条件時に匹敵する90%の高収率を得た．低温低圧にすることでグリセロールの過酸化のような副反応も抑えることができ，高温高圧状態時の水の塩基性度よりも，固体塩基性触媒とリポソームの共存による塩基性度の方が乳酸生成には適していることが示唆された．しかし，低温低圧条件時もNaOH非添加時は収率は大きく減少し，グリセロール酸化反応の進行は依然としてNaOHを必要とすることが確認された．

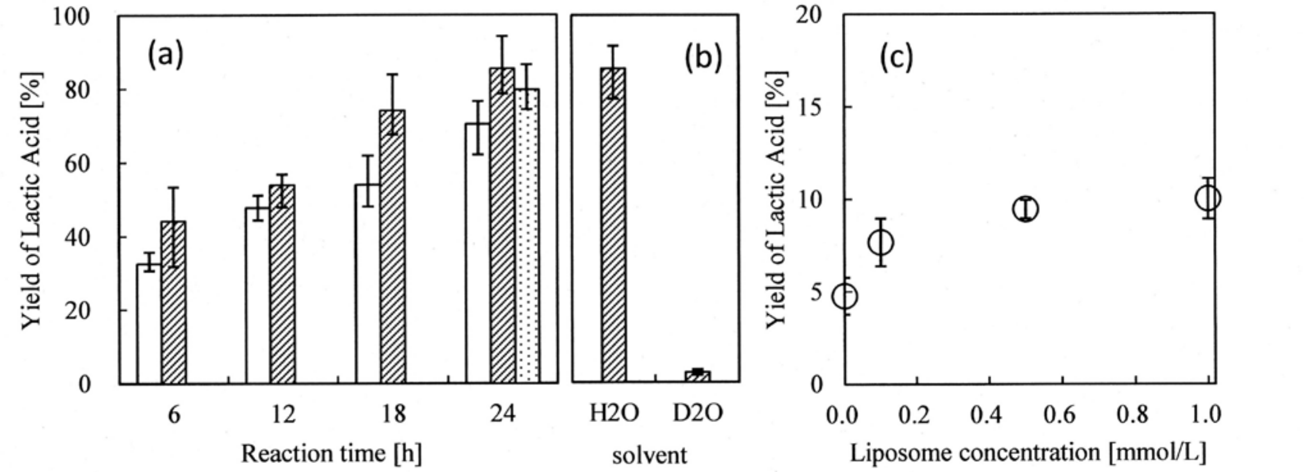


図6 (a)グリセリン酸化反応における乳酸収率の経時変化．(b)リポソームの溶媒同位体効果の比較．DOPCとDPPC (反応系内リポソーム濃度はいずれも0.1 mmol/L),グリセリン：0.0033 mol，NaOH：0.0125 mol，金属触媒Pt/C-DOPC，-DPPC，反応温度：60℃，(b)における反応時間：24 h (c) 乳酸収率の脂質濃度依存性．グリセリン0.0033 mol，金属触媒:PtBi/C-DOPC，反応温度：60℃，反応時間：24 h

【結言】

本研究課題において，以下の点を明らかにできた．

金属無機塩と脂質を組み合わせ，担体上に二分子膜の閉鎖系小胞構造を担持できることが分かった．電気化学的計測などから，本複合化に伴う，金属無機塩の触媒活性の低下は示唆されなかった．したがって，応用するべき反応に応じて，有効な金属触媒を選択し，反応分配場として有効な脂質膜を複合化すると良いことが示唆された．

交差アルドール反応とグリセリンからの乳酸への変換反応を事例研究として用いた結果，脂質膜を反応分離場として利用するには，反応基質の膜への分配特性に注目するべきであることが分かった．また，脂質膜に水和している水分子がプロトン移動を促進するため，反応条件（特に圧力と温度条件）の緩和が可能であることが示された．

また，今後の発展性についても言及する．

本ハイブリッドナノ触媒のチューニングの容易さが鍵になると考えている．金属無機塩や担体上では脂質膜構造はおおむね維持されており，金属触媒特性の劣化などは見られなかった．脂質膜による複合化の状況にも強く依存するかもしれないものの，応用対象に基づき，独立して触媒活性の視点から金属無機塩や担体を選択し，反応分離場の視点から脂質膜を選択すると良い．このような簡便な設計指針であるため，従来の反応条件を緩和できる余地が十分にあると期待している．

腸内細菌叢を指標とした野生シカの食性及び生態調査

岡山大学大学院環境生命科学研究科・西野直樹

1. 緒言

野生シカの国内生息数は約 250 万頭と推測されており、岡山県における推定生息数は 7.1 万頭である。駆除および狩猟目的で捕獲された個体数は、岡山県で平成 25 年度に 1 万頭を超えており、農林業被害を減らすには捕獲圧を一層高めることが必要である。シカは、コナラ林やアカマツ林に生息しており、アセビ、トベラ、ナギ等の特定種を除く、ほとんどの植物種を食べるとされている。採食する食物を柔軟に変える動物であり、生息密度が高い地域では森林の下層植生まで採食すると言われるが、収穫適期の農作物を好んで採食するなど、「山の実りが少ないと、野生動物が餌を求めて人里に近づく」といったステレオタイプな理解では説明できない食行動も数多く観察されている。また、降雪地域では冬期に融雪剤からミネラルを摂取するなど、山の実りに関わらず、不足する栄養素を求めて広範囲で移動するとも考えられている。シカ個体群を減らすことは農林業被害を軽減するために喫緊の課題であるが、その科学的根拠となる食性及び生態については、定期的かつ継続的にモニタリングして適性管理に繋げることが必要である。

岡山県美作市では、2013 年に獣肉（イノシシ、シカ）処理施設「地美恵の郷みまさか」を開設し、獣肉の解体処理から加工製品の製造・販売までを行うようになった。有害鳥獣を地域資源として活用するシステムとして全国的にも注目されており、狩猟期以外でも駆除対象の野生動物が施設に搬入される。美作市内をメッシュ化して捕獲地域を詳しく記録しており、解体前に消化管内容物や血液を採取することも可能である。我々は、2014 年度からこれらの野生シカ及び野生イノシシを対象とした調査研究を開始したが、これまでは狩猟解禁時（11 月）だけサンプルを採取していた。

本研究では、美作市で捕獲される野生シカから血液及び糞便を採取し、血漿成分及び腸内細菌叢の変動について 1 年間に亘る実態調査を行った。捕獲地域、捕獲時期、個体サイズ（体重）の情報と合わせ、野生シカの食性と行動生態の理解及び適正管理に向けた科学的情報の収集ならびに更新を試みた。

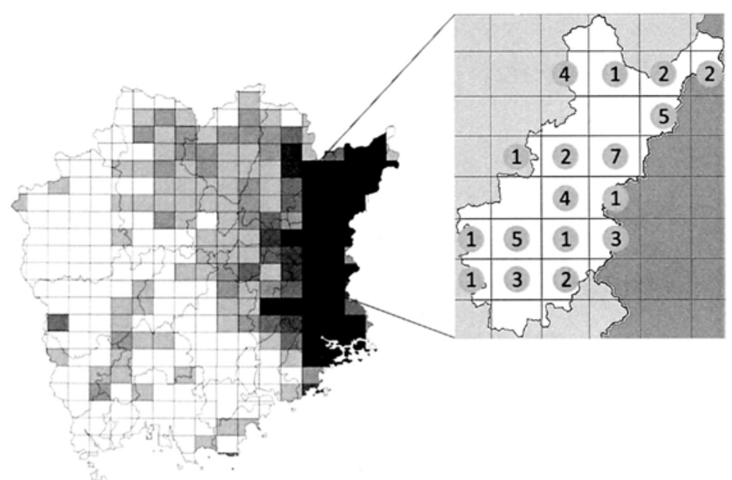


図 1. 岡山県における野生動物の生息密度と美作市のハンターマップ. 岡山県では濃色で示された東部及び北東部の生息密度が高い. 美作市のハンターマップは 27 メッシュから成っており、図中の数字は本研究でサンプルを得た個体数を示す.

2. 材料及び方法

2015 年 10 月から 2016 年 9 月の 1 年間、岡山県美作市の獣肉処理施設「地美恵の郷みまさか」を 1 回/月の頻度で訪問した。「地美恵の郷みまさか」は月曜日を休業日としており、捕獲個体の持ち込みは休業明けの火曜日に多い傾向がある。そこでサンプリングを基本的に各月の最終火曜日とし、おおよそ 8〜12 時の間に搬入された個体から血液と糞便を採取した。わなに掛かった動物の有無をハンターが確認するのは通常早朝であり、12 時を超えて捕獲個体が持ち込まれることはほとんどない。1 回の訪問で 5 頭の野生シカからサンプルを取ることを計画していたが、搬入される野生動物数は変動が大きく、1 日に 10 頭近く持ち込まれる日がある一方で、1 頭しか持ち込まれない日もあった。1 回の訪問でサンプルを取る個体数は 5 頭以下として調査を進めたため、1 年間で 60 個体からサンプルを取る計画に対し、実際に得られたサンプルは合計 45 頭（雄 29 頭、雌 19 頭）からであった。

血液は凝固防止剤（ヘパリン）入りの試験管に、糞便は滅菌試験管に直腸糞を採取した。いずれも採取後直ちに氷冷し、研究室に持ち帰って−30°C で保存した。血漿に含まれる尿素及び NEFA（遊離脂肪酸）濃度は和光純薬（株）の測定キットを用いて、Alb（アルブミン）、TCho（総コレステロール）、Ca 及び iP（無機リン）濃度は富士ドライケム 7000Z（富士フィルム（株））と専用のスライドキットを用いて測定した。糞便に含まれる細菌 DNA は、ジルコニアビーズで破砕した糞便サンプルを用いて QIAGEN の Stool Mini kit で抽出・精製した。

腸内（糞便）細菌叢は、qPCR（定量 PCR）と DGGE（変性剤濃度勾配ゲル電気泳動）で解析した。qPCR は Total bacteria、*Firmicutes*、*Bacteroidetes*、*Fibrobacter succinogenes* 及び *Faecalibacterium prausnitzii* について測定し、検量線の作成にはそれぞれ *Escherichia coli*、*Clostridium perfringens*、*Bacteroides fragilis*、*Fibrobacter succinogenes* 及び *F. prausnitzii* の 16S rRNA genes を含むプラスミド DNA を用いた。DGGE は 16S rRNA genes の V6–V8 領域を対象として行い、変性剤の濃度勾配は 35%–45% とした。得られた DGGE のバンドパターンは Image J（NIH, Bethesda, MD, USA）を用いてバイナリデータに変換し、Primer 7 with Permanova+ add-on software（Primer-E, Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, UK）を用いて主座標（PCo）分析を行った。血漿成分と qPCR の定量的なデータは季節を要因とする 1 元配置分散分析を行い、JMP（version 11; SAS Institute, Tokyo, Japan）及び Tukey の多重検定によって有意差の有無を検出した。

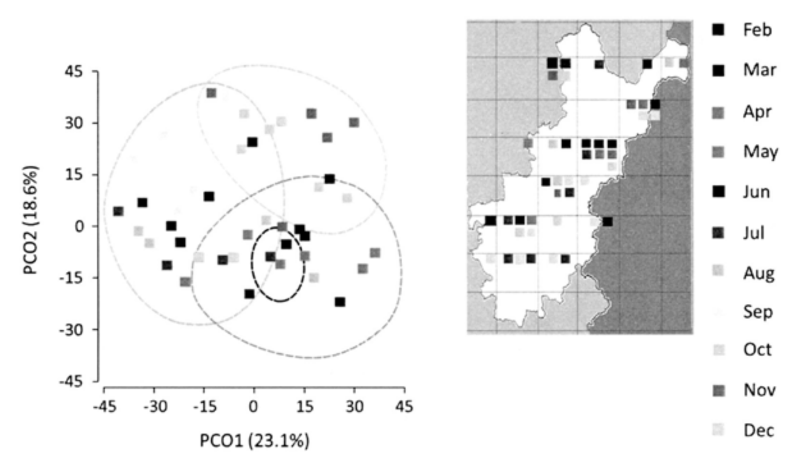


図 2. DGGE のバンドパターン（腸内細菌叢の多様性）をバイナリデータに変換して実施した主座標分析. 捕獲地域によるグループ化はされないが、捕獲季節によって腸内細菌叢はグループ化された.

3. 結果及び考察

1 年間で得た 45 頭（雄 29 頭、雌 19 頭）の捕獲地域を図 1 に示した。美作市（429 km^2）は市内を 27 メッシュから成るハンターマップで区分しているが、おおよそ市内全域と考えられる 16 メッシュからサンプルを得ることができた。平均体重は雄 46 kg、雌 32 kg と雄の方が 14 kg 重かったが、雄より大きい雌も存在した。また、図 1 ではメッシュごとの調査個体数に 1–7 頭の幅が見られるが、捕獲地域と体重、雌雄、季節の関連は認められなかった。

DGGE のバンドパターンを PCo 分析したところ、春（4～6 月）、夏（7～9 月）、秋（10～12 月）、冬（1～3 月）という捕獲季節によってグループ化される差違が認められた（図 2）。いくつかのバンドを切り出してクローニング、塩基配列測定、菌種同定を行ったが、ほとんどは uncultured bacterium と同定されたため、季節による違いがどのような細菌種によるものかを特定することはできなかった。捕獲地域による腸内細菌叢の違いはなく、雌雄及び体重との関連も認められなかった。

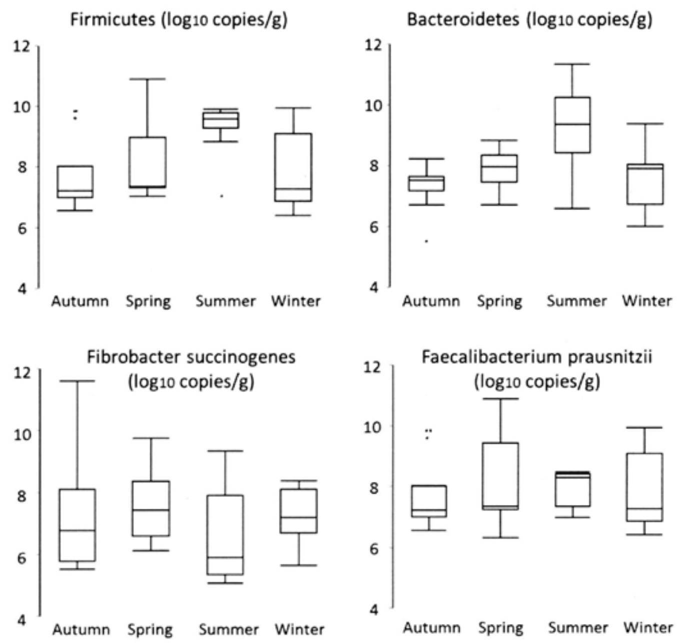


図 3．qPCR で測定した *Firmicutes*、*Bacteroidetes*、*Fibrobacter succinogenes*、*Faecalibacterium prasusnitzii* の推定菌数．Firmicutes と Bacteroidetes は夏の菌数が他の季節よりも多い．*F. succinogenes* は繊維分解菌、*F. prausnitzii* は抗炎症作用を示す有用菌として測定した．

qPCR で測定した全細菌数は $10^{11\text{–}12}$ copies/g で、捕獲季節による違いは認められなかった。一方、*Firmicutes* と *Bacteroidetes* は夏期に高値を示しており、DGGE で認められた細菌叢（多様性）だけでなく。腸内細菌の数にも季節変動があることが示された。一方、繊維分解菌の一種である *F. succinogenes* と有用菌とされる *F. prasusnitzii* 数に季節変動は見られず、野生シカにおける腸内細菌叢の変動は、摂食可能な植生が夏期に充実することを示していると考えられた。*Firmicutes* と *Baceroidetes* はいずれも腸内細菌を構成する主要な門であり、前者はグラム陽性の、後者はグラム陰性の大きな細菌グループと考えられている。*Firmicutes* と *Bacteroidetes* だけで生体調節機能を論じることは難しいが、肥満個体では *Firmicutes* の割合が高く、*Bacteroidetes* の割合が低いなどとしばしば言われる。本研究では *Firmicutes* と *Baceroidetes* がいずれも夏期に高い数値を示しており、体重とこれらの菌数との関係も認められなかった。

血漿中のアルブミン（Alb）及び尿素濃度はタンパク質の栄養状態を知るために測定したが、全個体の平均値±標準偏差はそれぞれ 3.56±0.61 mg/dL 及び 18.44±10.85 mg/dL であった。野生シカにおける正常値は不明であるが、Alb と尿素濃度の正常値は牛でそれぞれ 3.5–4.2 mg/dL 及び 7–20 mg/dL、人間でそれぞれ 3.8–5.3 mg/dL 及び 8–20 mg/dL とされる。本研究で調査した野生シカは、これらに比べると Alb 濃度が低く、尿素濃度が高い傾向にあった。すなわち、タンパク質の摂取量は生存に必要な最低量くらいであることが推察できる。

総コレステロールと NEFA 濃度は、エネルギーの充足度を知るうえで有用である。全個体の平均値はそれぞれ51.5±17.5 mg/dL及び0.93±0.55 mEq/Lであり、牛の正常値とされる90–240 mg/dL及び0.1–0.4 mEq/L、人間の正常値とされる 130–240 mg/dL 及び 0.1–0.9 mEq/L に比べると、総コレステロール濃度は低く、NEFA 濃度は逆に高いという結果を示した。牛の正常値との違いは 2 倍以上あり、野生シカは常に著しいエネルギー不足状態にあると考えられた。

Ca と iP 濃度は主要ミネラルの栄養状態を知るために測定した。個体の平均値はそれぞれ 8.83±2.04 mg/dL 及び 21.2±14.4 mg/dL であり、牛の正常値とされる 9–10 mg/dL 及び 4.5–5.5 mg/dL、人間の正常値とされる 8–10 mg/dL 及び 2.0–4.5 mg/dL に比べると、Ca 濃度は低く、iP 濃度は著しく高い値を示した。iP 濃度は牛の正常値より 5 倍程度も高かった理由ははっきりしないが、血漿の iP 濃度は創傷等によって高値となるため、野生シカは創傷が絶えないか、わなから逃れようとする際に創傷したことを示唆していると考えられる。なお、Ca 濃度は冬期サンプルが他季節のサンプルより有意に低い値を示した。野生シカが融雪剤（CaCl2）を舐めることは冬期にしばしば観察されるが、それらが今回の調査からも裏付けられる結果となった。冬期は Alb 濃度も低い傾向にあり、季節を問わず野生シカは栄養不足の状態にあるが、冬期はそれらがさらに厳しくなっているものと推察できる。

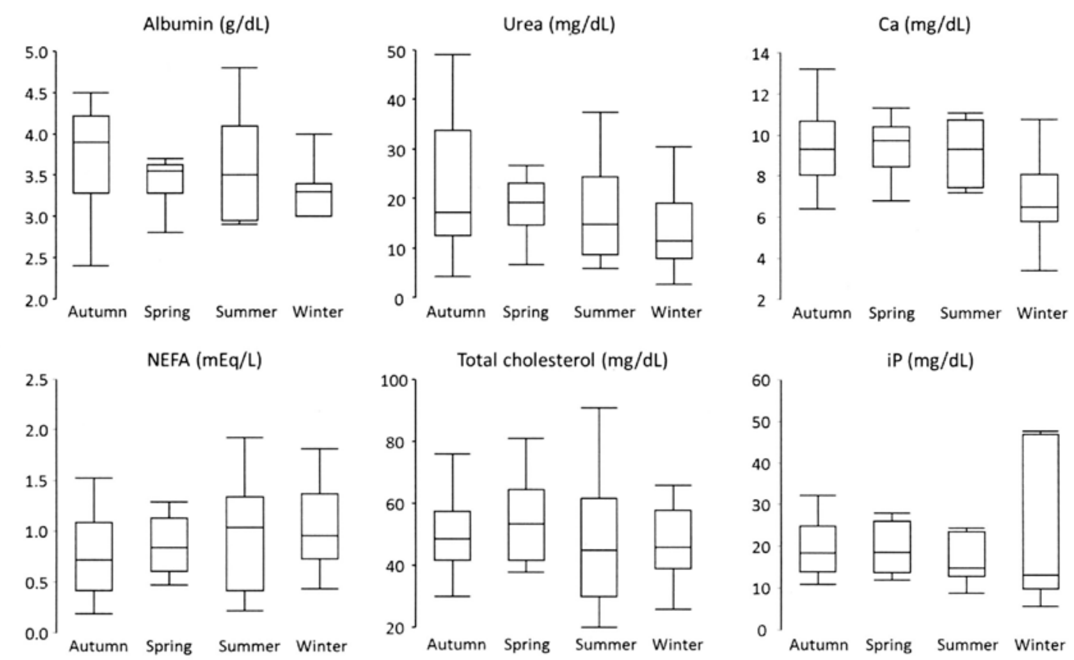


図 4．血漿アルブミン、尿素、Ca、NEFA（遊離脂肪酸）、総コレステロール及び iP（無機リン）濃度の季節変動．Ca 濃度のみ冬期のサンプルが他季節のサンプルより低値を示している．

本研究では捕獲時及び捕獲地域の植生を調べておらず、腸内細菌叢の季節変動がどのような要因によ

ってもたらされたのかは分からない。繊維分解菌の *F. succinogenes* が目立った季節変動を示さなかったことから、消化しやすいあるいはしにくい植物量が季節によって変化したことも考えにくい。DGGE で検出した細菌の菌種同定をさらに進め、季節によって特徴的に出現及び消失する腸内細菌叢の解明につなげたい。

血液成分の分析から明らかになったことは、野生シカは季節を問わず栄養不足ということである。2015年–2016 年度の美作市で、山の実りが少なかったという話は聞いていない。そのため、野生シカの個体数が多すぎるか、山の実りがまずまずあっても野生シカの維持・成長には不足していると推察される。このような状態であれば餌付けによって容易に捕獲できるというイメージになるが、実際は全く簡単でないことから、野生シカは常に高い警戒心をもって行動していると考えられる。冬期にミネラル剤で誘導するという可能性はあるが、数頭捕獲すれば警戒心は一層高めると予想されるため、効果はあっても一時的かもしれない。

産業ガスの複数分子同時検出が可能なウェアラブルセンサーの開発

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 神野伸一郎

1. はじめに

産業ガスは，半導体のみならず，太陽電池，光ファイバー，LED や液晶をはじめとした超微細な機械構造の製造プロセスで使用され，幅広い産業において重要な役割を担っており，その用途や種類の拡大に従い，安全管理の設置が法令で厳格に定められている．産業ガスのモニタリングでは，定置式のガスモニターが広く利用されている一方で，ポータブル式のガスモニターは，単成分のガスを検出する定電位電解方式が一般的であるため，複数のガス成分を同時に検出することはできない．従って多種多様なガスに応じて，測定感度や精度の高い検知･検出法が必要となることは勿論，事業所の設備増設や変更時にコストパフォーマンス良く柔軟に対応できる手法が求められている．

化学センサーは，分子やイオンの認識部と，発色や発光などの信号変換部を兼ね備えた分析法で，被分析物とセンサーとの化学反応に伴う光物性の変化を利用して，選択的に分析できる手法のことを指し，信号変換部の発色団には，様々な有機色素が用いられている．化学センサーは，高度な分析装置や専用器具を必要とする他のセンシング技術と比べて簡便な手法である上，有機材料を使用するため，コストパフォーマンスにも優れている．

一方，一般的な有機色素は，1 分子で 1 つの色しか出せないため，標的化合物の濃度は，単一波長の光強度の増減を分析することになる．例えば，ローダミン系色素を発色団とした化学センサーは，標的化合物と結合することで，無色から橙色を示す構造に変換するが，その量の変化は橙色の光強度で示すため得られる情報が強度に限定される．

上記を踏まえ本研究では，酸を加えることで，1 分子で構造と色が多段階に変化する有機色素の創出に挑み，ローダミン系色素が 2 分子縮合した分子構造を有するアミノベンゾピラノキサンテン系色素 (ABPX，図 1) を新たに合成し，本色素群の構造と光物性の関係を詳細に調査した．続いて，本色素群を発色団として，産業ガスに利用される酸性ガスを検知する化学センサーへの応用に向けた誘導体化研究を行った．

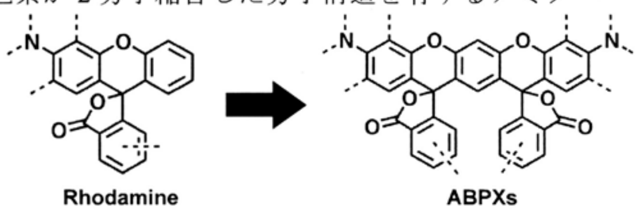


図 **1.** ABPXs の分子構造.

2. 実験方法

使用試薬および使用溶媒はいずれも試薬特級品を精製せずにそのまま使用した．カラムクロマトグラフィーには，シリカゲル 60 mesh70-230 (Merck)を使用した．薄層クロマトグラフィー(TLC)は，シリカゲル 60 F254 (Merck) を用い，検出には UV，ヨウ素およびリンモリブデン酸を検出試薬として用いた．LRMS は JEOL JMX-700 を用いて測定した．^{1}H-NMR および ^{13}C-NMR は Varian UNITY INOVA 600 spectrometer (600 MHz, 400 MHz)を用いた．NMR 測定溶媒は $CDCl_3$ を用いた．吸収スペクトルの測定は日本分光株式会社製の V-570 を用い，蛍光スペクトルの測定は株式会社日立ハイテクノロジーズ製の蛍光光度計 F-7100 を用い，セルは 1 cm の石英セルを用いた．

3. 結果と考察

3-1. 分子構造と光物性との関係

ABPX の分子構造と光物性の関連の解明を目的に，紫外域に吸収帯を有するスピロラクトン種 (ABPX-*N*Ethyl) を THF/アセトン混合溶媒中へ溶解させた後，トリフルオロ酢酸 (TFA) を添加した際の吸収スペクトルを測定した (図 2)．酸濃度の増加に伴い，328 nm の等吸収点を境にモノカチオン種 (ABPX-*N*Ethyl^{+})，441 nm の等吸収点を境にジカチオン種 (ABPX-*N*Ethyl^{2+}) の吸収帯が観察された．これらの吸収スペクトルの変化は，密度汎関数 (B3LYP/6-31G(d,p)) 法による計算結果と良い一致を示した．上記の結果より，ABPX は，酸濃度に応答して，1 分子で構造と色が 2 段階に変化する特徴をもつことがわかった．

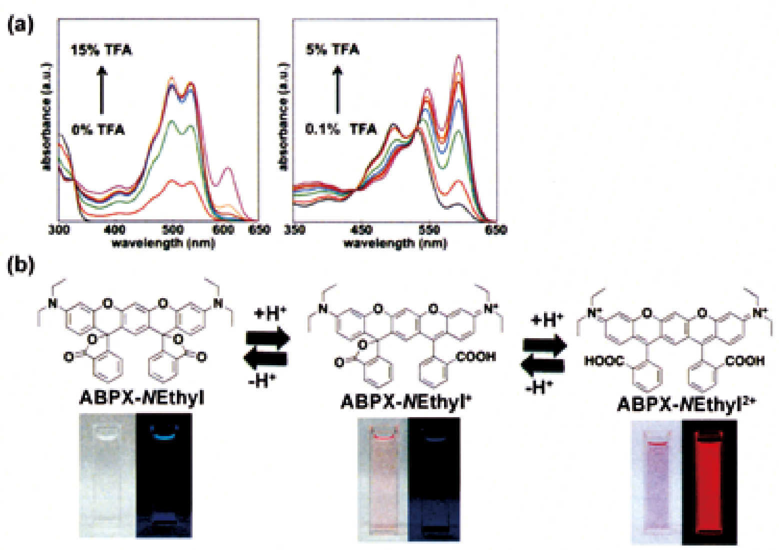
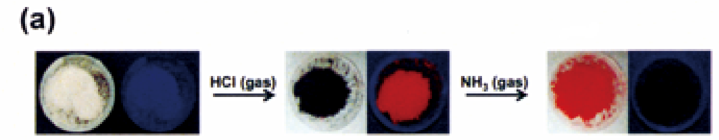


図 2. (a) TFA 濃度に対する ABPX-*N*Ethyl 体の吸収スペクトル変化．(b) ABPX-*N*Ethyl 体の分子構造と色の関係．

3-2. 発色と固体発光を用いた塩化水素とアンモニアガスの検知

無色で青色発光を有するスピロラクトン種の ABPX-*N*Ethyl の粉末に，塩化水素 (HCl) の蒸気を 10 分間噴霧した結果，深紫色に呈色し，赤色発光を示した．更に本粉末にアンモニア (NH_3) の蒸気を 10 分間噴霧したところ，橙色の発色で発光は消光した (図 3)．またアンモニア蒸気を噴霧した粉末に，アセトン蒸気を 10 分間噴霧すると，ピンク色に呈し，青色発光を有する粉末へと変化し，塩化水素 (HCl) の蒸気を 10 分間噴霧した結果，再び深紫色で，赤色発光を示した (図 4)．このようにスピロラクトン種の ABPX-*N*Ethyl は，溶液状態と同様に固体状態においても，酸性ガスと結合し，モノカチオン種とジカチオン種へ構造変換が起こった結果，発光波長と吸収波長が可逆的に変化することがわかった．



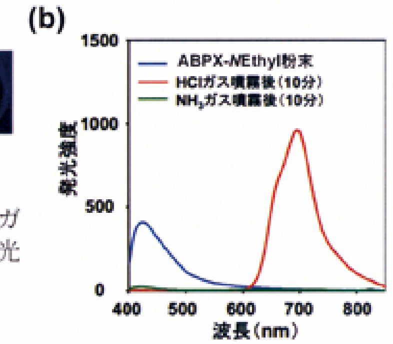
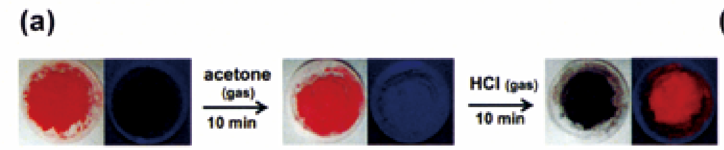


図 3. (a) スピロ環型の ABPX-*N*Ethyl の結晶に，塩化水素ガスと，アンモニアガスを噴霧した際の発色 (左)と固体発光 (右) 変化の様子．(b) 固体発光スペクトル．



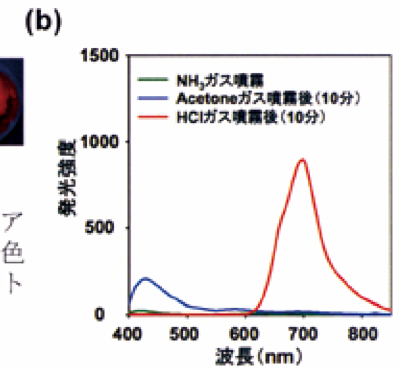


図 4. (a) アンモニアを噴霧した ABPX-*N*Ethyl の粉末に，アセトンガスと，塩化水素ガスを噴霧した際の粉末の発色 (左) と固体発光 (右) 変化の様子．(b) 固体発光スペクトル．

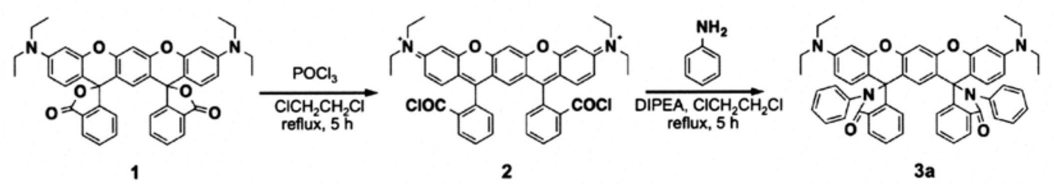
3-3. 反応選択性の向上に向けた誘導体化

これまでの研究において，ABPX は，酸性や塩基性ガス，有機溶剤ガスの吸脱着に応じてスピロラクトン種からイオン種へ可逆的に構造変換し，発色や固体発光が変化することを見いだした．一方，実用的なセンサーにおいて，ガスに対する反応選択性の向上は必須である．そこで半導体用特殊材料ガスとして利用される塩化水素，硫化水素，臭化水素，アンモニア，アミン類などの個々のガス成分を判別し，選択的にセンシングすることを目標とし，ABPX のスピロ環上の窒素原子の塩基性度に着目し，ガス分子の酸

性度や塩基性度の違いを判別できるように構造改変した ABPX 誘導体の合成を行った (図 4).

まず ABPX のスピロ環の窒素原子が，酸の授受に関与するとした推定した．そこで，窒素原子に隣接する部位に，電子受容能と電子供与能の異なる置換基を導入することで，その塩基性度を多様に変化させ，酸性度の違いで平衡種の構造変換と光物性の変化を制御できると考えた．上記を踏まえ，置換基の誘起効果が異なったアニリン誘導体をスピロ環部位に導入した ABPX-*N*Ethyl-anilides を新たにデザインした．

上記の作業仮説を検討するため，モデル化合物として，化合物 **3a** を合成した．ABPX-*N*Ethyl を出発原料とし，ジクロロエタン中で塩化ホスホリルを添加し，加熱還流反応を行った後，溶媒除去後，減圧により，塩化水素を取り除くことで，ABPX-*N*Ethyl の酸クロリド体 **2** を得た．続いて，**2** をジクロロエタンへ溶解し，ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) 存在下，ジクロロエタン中で加熱還流反応することで，目的の **3a** を 85%の収率で得た (Scheme 1).



Scheme 1. ABPX-*N*Ethyl-anilide の合成.

続いて，作業仮説の妥当性を調査するため，**3a** をクロロホルムに溶解させ，トリフルオロ酢酸 (TFA) を添加した直後の吸収スペクトルを測定し，同様の方法で合成した ABPX-*N*Ethyl-anilide-mCF$_3$ **3b** と比較した．クロロホルム中では，**3a** 並びに **3b** とも，TFA の添加に伴い，450 及び 550 nm 付近にモノカチオン種に帰属される双峰性の吸収帯が観察され，**3a** は **3b** と比べてプロトン濃度に依存して，モノカチオン種を生成していることが分かった (図 4). 上記の結果を踏まえ，**3a** は **3b** と比較し，窒素原子上の塩基性度が高まった結果，スピロ環が開環し，モノカチオン種に変換しやすい構造であることが推定された．これらの結果より，電子的な効果の異なる置換基を導入することは，窒素原子の塩基性度を変化させる上で有効な手段であることが示唆された．

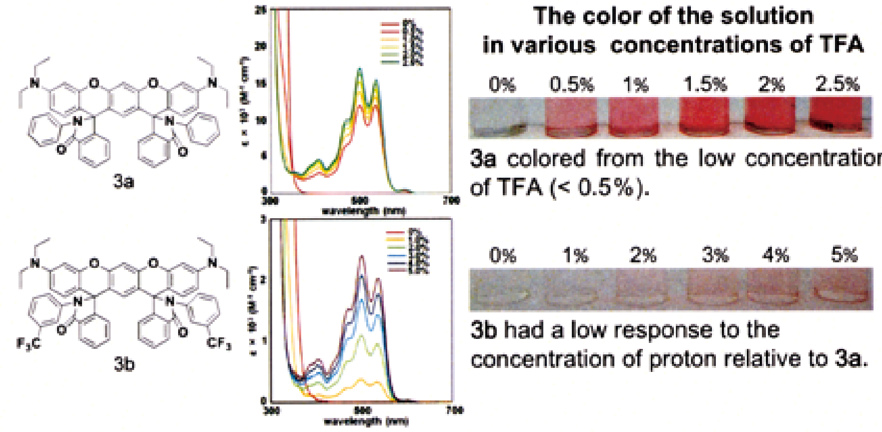


図 4. TFA 濃度に対する ABPX-*N*Ethyl-anilides 体 **3a, 3b** の吸収スペクトル変化と発色の様子.

誘導体化に加えて，添加する酸に対する ABPX-*N*Ethyl-anilides の構造変化を明らかにする際，ABPX-*N*Ethyl-anilides の酸性度を定量的に評価できる手法は必須となる．一方，難水溶性である有機色素の pKa の算出は，アルコールなどの有機溶媒と水の混合溶媒中で求める．また，弱塩基性の芳香族アミン類は滴定曲線の pH ジャンプが小さいため，精確な pKa の算出は難しい．そこで酢酸に溶解させた各種アニリン誘導体に，0.1 M 過塩素酸を滴下した非水滴定を行い，得られた滴定曲線から半中和点電位差(HNP)を算出した．続いて，Hammett の置換基定数(σ)と，非水溶媒中でのアニリンの窒素原子の HNP との相関を調べた．その結果，Hammett プロットが直線を示し，σ と HNP との間に高い相関 (r^2 = 0.925) を示した (図 5). 置換基定数が化合物の酸性度を評価する新たな電子的なパラメーターとして有用であることがわかった．

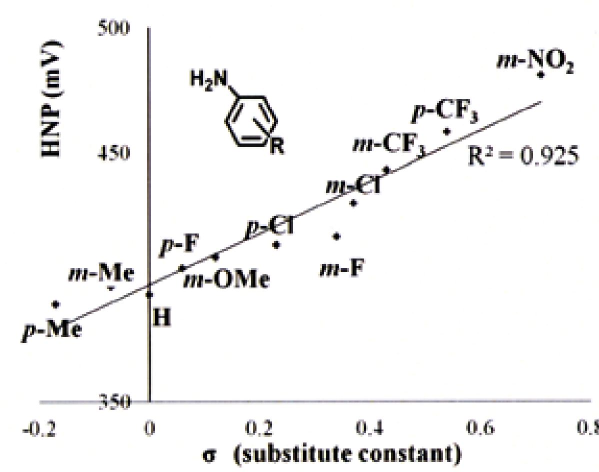


図 5. Hammett の置換基定数(σ)とアニリンの窒素原子の半中和点電位差 (HNP)との相関.

4. まとめ

1 分子で構造と色が多段階に変化する有機色素の創出を目指し，ローダミン系色素が 2 分子縮合した構造を有するアミノベンゾピラノキサンテン系 (ABPX) 色素を合成し，本色素群の溶液状態における分子構造と光物性の関係を調査した．その結果 ABPX は，酸の量に応じて，スピロラクトン種からモノカチオン種，並びにジカチオン種へと発色団の構造と色が 2 段階に変化する特徴を示すことを見いだした．また固体状態でも同様に，酸性や塩基性ガスと反応した結果，発色や固体発光が段階的に変化することがわかった．続いて，半導体用特殊材料ガスとして利用される複数の酸性ガスを同時に検知する目的で，化合物の誘導体化を行った結果，ABPX のスピロ環部位に電子的効果の異なる置換基を導入し窒素原子の塩基性度を変化させることは，ガス分子の酸性度や塩基性度の違いを判別できる上で有効な手段であることが示唆された．今後は酸性ガス分子の選択的なセンシングに加え，産業界からのニーズの高い一酸化炭素やアルデヒド類など複数のガス分子を検知可能なセンシング技術の開発に取り組み，当該技術の高度化，そしてウェアラブル化を達成したい．

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり，多大なるご支援を賜りました財団法人八雲環境科学振興財団に深く感謝申し上げます．

財団法人 八雲環境科学振興財団 平成 28 年度環境研究助成（一般研究）研究レポート

急激な寒暖差に曝露された人の気候ストレスのリアルタイム・モニタリング

大橋唯太
岡山理科大学生物地球学部

1. はじめに

冬季の寒波到来など、短い周期で起こる気象の急変が顕著になってきているように感じる。これは、秋の季節や内陸の地域でよくみられるような、1 日のなかで生じる大きな寒暖差も同様に当てはまる。短期間に起こる外気温の急激な変化は人体の自律神経活動を不安定化させ、心肺疾患の急性発症リスクを高めることが、医学的にもよく知られている。現在この自律神経バランスの状態は、測定した心拍間隔を周波数解析して把握することが技術的に可能である（中川 2016）。

寒暖差を経験した人の気候ストレスを、心拍変動のモニタリング測定から分析した研究は、これまで国内外でほとんどみられない。そこで本研究では、短時間に起こる気象の急変に対する人の自律神経バランスや血圧などの生理応答特性を数値的に明らかにする。また、本研究の成果から、気候ストレスに起因する心肺疾患リスクの対策となり得る予測手法なども、将来的には考案していきたい。

2. 研究方法

(1) 測定内容

観測フィールドとして、一日の寒暖差や日々の寒暖が大きな内陸盆地気候で知られる広島県庄原市と愛媛県大洲市を選んだ。これらの地域では、健康な被験者 6～9 名（20 歳代 7 名、30 歳代 1 名、40 歳代 1 名）の心拍数・自律神経活動・体表面温度・鼓膜温度の変化をそれぞれモニタリングした。またこのモニタリングの前後では、血圧も座位測定した（ただし被験者 3 名のみ）。広島県庄原市では 2016 年 10 月 15～17 日の 3 日間、最低気温に近い早朝 6 時 30 分から 7 時までと最高気温に近い日中 14 時から 14 時 30 分までの各 30 分間、屋外環境で座位測定を実施した。一方、愛媛県大洲市では 2016 年 11 月 8～10 日と 12 月 3～12 日に同様の測定をおこなった。一年のなかで秋がもっとも一日の寒暖差が大きくなる季節である。

いずれのときも気温・湿度・風速・黒球温度といった気象要素を被験者の近傍で常時測定し、これらの値から推算される体感温度の指標 UTCI（Universal Thermal Climate Index）を得た。この UTCI の数値は、実際の被験者申告（寒さレベルの数値）と比較した。これによって、気象観測のみから得られるストレス指標の妥当性や適用範囲を明らかにしていく。また直接測定したバイタル変動からは、身体の温度・血圧・自律神経活動・心拍数と気象変化の関係性を分析することで、気候ストレスに対する生理応答プロセスを考察する。

本研究で用いた測定機器や被験者の情報を**図 1** にまとめる。なお、自律神経活動は、測定した心拍変動の周波数解析によって得られる交感神経活動度（LF/HF）と副交感神経活動度（HF）の大きさ・バランスから評価される。

（2）体感温度 UTCI

UTCI は現在、世界で最も広く使われている体感温度指標で、人体熱収支・生理モデルから数理学的に算出される信頼性の高い指標である。国際生気象学会（International Society of Biometeorology）が

被験者情報

年代	参加人数
20歳代	7 (女3)
30歳代	1
40歳代	1

A	B	C	D	E	G	H	I	J
20 M	20 M	20 M	20 W	20 M	20 W	20 W	30 M	40 M

図１　本研究で用いた測定機器（人体側と気象側）と被験者の情報。右下の写真は、実際の屋外測定の様子。

中心となって開発し、地球上のさまざまな気候帯に適用できるように作成されている。UTCI を求めるたびに人体の数理モデルを解くのは非効率なため、広範囲の複数気象条件を入力して算出した UTCI の結果を多項式回帰モデルへ変換することで、ユーザー側の利便性が図られている。

UTCI の数値（単位は℃）からは温冷感ストレスのカテゴリーも示されており、以下のとおりとなる。

- UTCI ＞ 46℃ → 極度の熱ストレス
- 38℃ ＜ UTCI ≦ 46℃ → 非常に強い熱ストレス
- 32℃ ＜ UTCI ≦ 38℃ → 強い熱ストレス
- 26℃ ＜ UTCI ≦ 32℃ → 中程度の熱ストレス
- 9℃ ＜ UTCI ≦ 26℃ → 温冷感ストレスなし
- 0℃ ＜ UTCI ≦ 9℃ → 弱い寒冷ストレス
- -13℃ ＜ UTCI ≦ 0℃ → 中程度の寒冷ストレス
- -27℃ ＜ UTCI ≦ -13℃ → 強い寒冷ストレス
- -40℃ ＜ UTCI ≦ -27℃ → 非常に強い寒冷ストレス
- UTCI ≦ -40℃ → 極度の寒冷ストレス

UTCI の詳細については、web サイト http://www.utci.org で紹介されている。

3. 結果と考察

（１）気温と UTCI からみた寒暖差

早朝および日中の 30 分測定で得られた気温と UTCI の変化を、**図２**にまとめる。寒暖差については、前の早朝または日中に測定した値との差としてあらわしている。庄原盆地での測定は、10 月 15 日の早朝と

日中のあいだの寒暖差が最も大きく、気温で 18.4℃、体感温度 UTCI では 21.5℃にも達した。6 時間程度で 20℃も体感温度が急変するのは、かなりの身体ストレスになっていることが予想される。一方、大洲盆地での測定では、11 月 8 日日中と翌日 9 日早朝のあいだの寒暖差が、気温は 4.4℃に対して UTCI でみると 13℃に達し、気温と体感温度の違いが顕著であった。気温と UTCI ともに寒暖差が大きかったのは 11 月 10 日の早朝と日中のあいだで、それぞれ 6.5℃と 8.6℃であった。この結果を踏まえて、以降では被験者の生理変化を分析していく。

（２）温熱生理の応答 ―その１：皮膚温度と温冷感覚―

人体の気象ストレスを検知する最前部の温度受容器が、体表面を覆う皮膚である（西 2006）。UTCI と体表面温度（前後面平均）の 30 分平均値のあいだには、高い正の相関がいずれの被験者にも認められた。UTCI が低いときほど体表面温度も低く、体感温度が 20℃変化するあいだに体表面温度は 3～4℃の変化があらわれている（図省略）。一方、鼓膜温度は残念ながら欠測が多くなってしまい、十分な考察ができなかった。

この皮膚温変化のシグナルは脊髄・脳の中枢神経に伝達され、被験者の温冷感覚を生じさせると考えられる（彼末 2010）。**図３**には、その温冷感の被験者申告と実際の体表面温度との関係を示した。温冷感申告は、先述の UTCI のストレス・カテゴリーに対応させた数値で温冷感レベルを定義した。図からわかるように、体表面温度が低いときほど温冷感申告の寒さレベルも強くなっている。

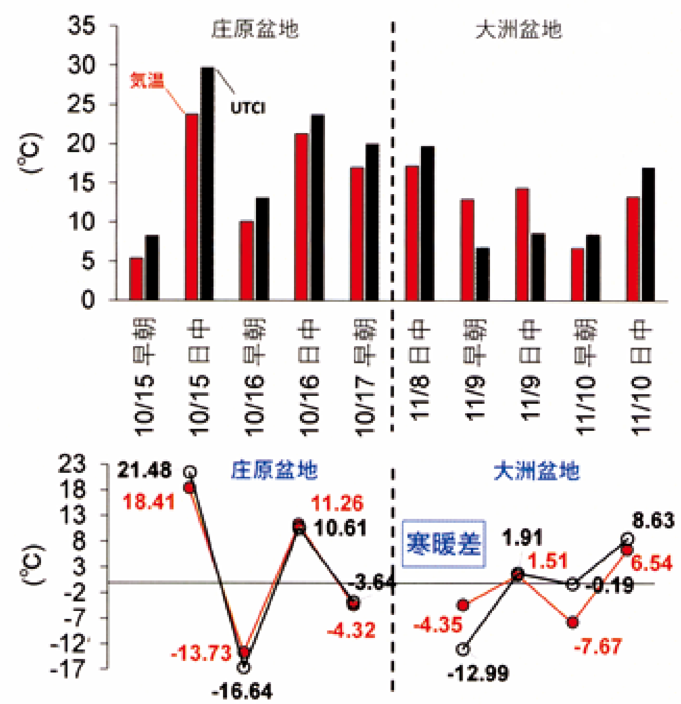


図２　庄原盆地と大洲盆地で測定された早朝および日中の気温と UTCI の変化（上段）。早朝と日中の気温差、UTCI 差（下段）。いずれも測定 30 分間の平均での結果をあらわしている。

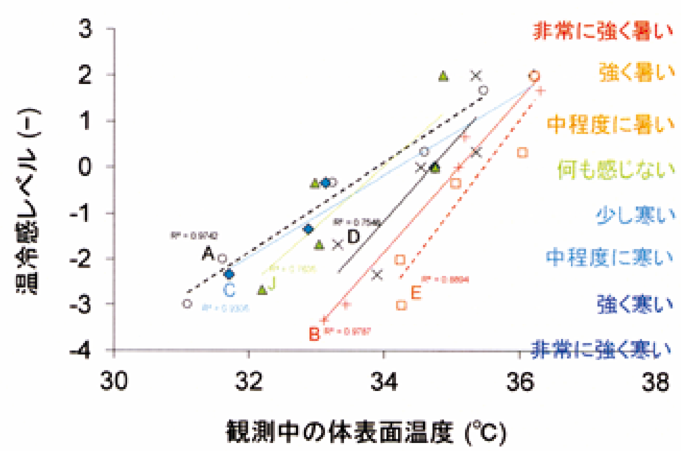


図３　被験者の温冷感レベルと体表面温度の関係。温冷感レベルは測定中３回の平均値、体表面温度は 30 分間の前後面の平均値をあらわしている。

（３）温熱生理の応答 －その２：寒暖差の血圧への影響－

皮膚温度の低下は末梢血管の収縮をもたらし、血圧を上昇させることにつながる。一般に血圧は、日中に上昇して夜間に低下するという概日リズムを有する(清水 2008)。大きな寒暖差が血圧の変化にどの程度影響したか、例として被験者Ｂの測定結果を**図４**に示す。ここでの血圧は、平均血圧「拡張期血圧＋(収縮期血圧−拡張期血圧)/3」を算出している。先述の概日リズムとは反対に、早朝に血圧が高く日中には低くなるという特徴がみられるが、特に寒暖差の大きかった 11 月 5 日はその血圧差が大きく、15〜25mmHg もあった。この早朝高血圧の現象は他の2名の被験者にもみられ、寒冷曝露の影響で体表部血管の収縮が顕著に起こっていたと考えられる。

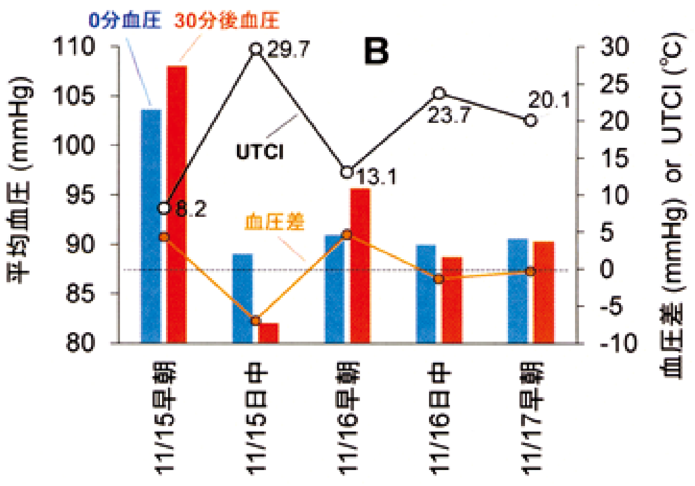


図４　被験者Ｂの平均血圧（棒）と UTCI（折れ線）の変化。血圧は開始時と 30 分後の値、その血圧差（30 分間の変化量）をあらわしている。

一方、測定開始時と 30 分後終了時の血圧変化にも、同様に人体への外乱作用が現れている。早朝時の測定では 30 分のあいだに血圧は上昇し、日中の測定では反対に血圧が低下する傾向が、3 名の被験者全員にみられた。特に収縮期血圧で顕著にあらわれていたことから、高齢者に多い収縮期高血圧の有症者は注意が必要な寒暖差であったといえる。

（４）温熱生理の応答 －その３：心拍数と自律神経活動－

心拍数も血圧と同様に、夜間と早朝に低値、日中に高値を示す概日リズムが存在する。心拍に強く関係する交感神経活動も日中に亢進し、早朝と夜間には抑制されるが、これと反対に副交感神経活動は日中に抑制、早朝と夜間に亢進するようなシーソー関係にあることが知られる(小山内・大石 2012)。

屋外における寒暖差の人体への影響をとらえるため、本研究では 30 分間の屋外測定の直後に室内でも 30 分間座位測定をおこなうことで、心拍変動の変化を調べた。早朝に測定した各被験者の心拍数(bpm)・交感神経活動度 LF/HF(ただし対数化)・副交感神経活動度 HF(対数化)の結果を**図５**にまとめた。いずれも、測定した 30 分間の平均値としている。UTCI が 8.2℃と最も低かった 10 月 15 日の平均心拍数が、多い傾向となっていた。さらにこの日に屋外で測定された心拍数は、被験者 6 名(うち 1 名欠測)のうち 3 名で室内よりも 8〜9mmHg 高値と、差が顕著であった。また UTCI の高い寒冷ストレスの小さな朝ほど、屋外と室内の心拍差が少なくなっていく傾向も興味深い結果である。これに対応するように交感神経活動も 10 月 15 日早朝の屋外で顕著に高い被験者が多く、その後の室内測定との差も大きい。一方、副交感神経は、交感神経とちょうど逆の特徴がみられている。以上の関係が多くの被験者で確認された結果から、早朝の時間帯に UTCI の低い寒冷環境に人が曝露されると、交感神経活動の亢進によって血圧の上昇とともに心拍数の増加も生じやすいことがいえる。

一方、日中の結果を比較すると(**図６**)、UTCI が 29.7℃と暑熱ストレスの高かった 10 月 15 日のほうが翌日 16 日よりも、平均心拍数の高い被験者が多くみられた。また、被験者 6 名中 4 名で、10 月 15 日において屋外の心拍増

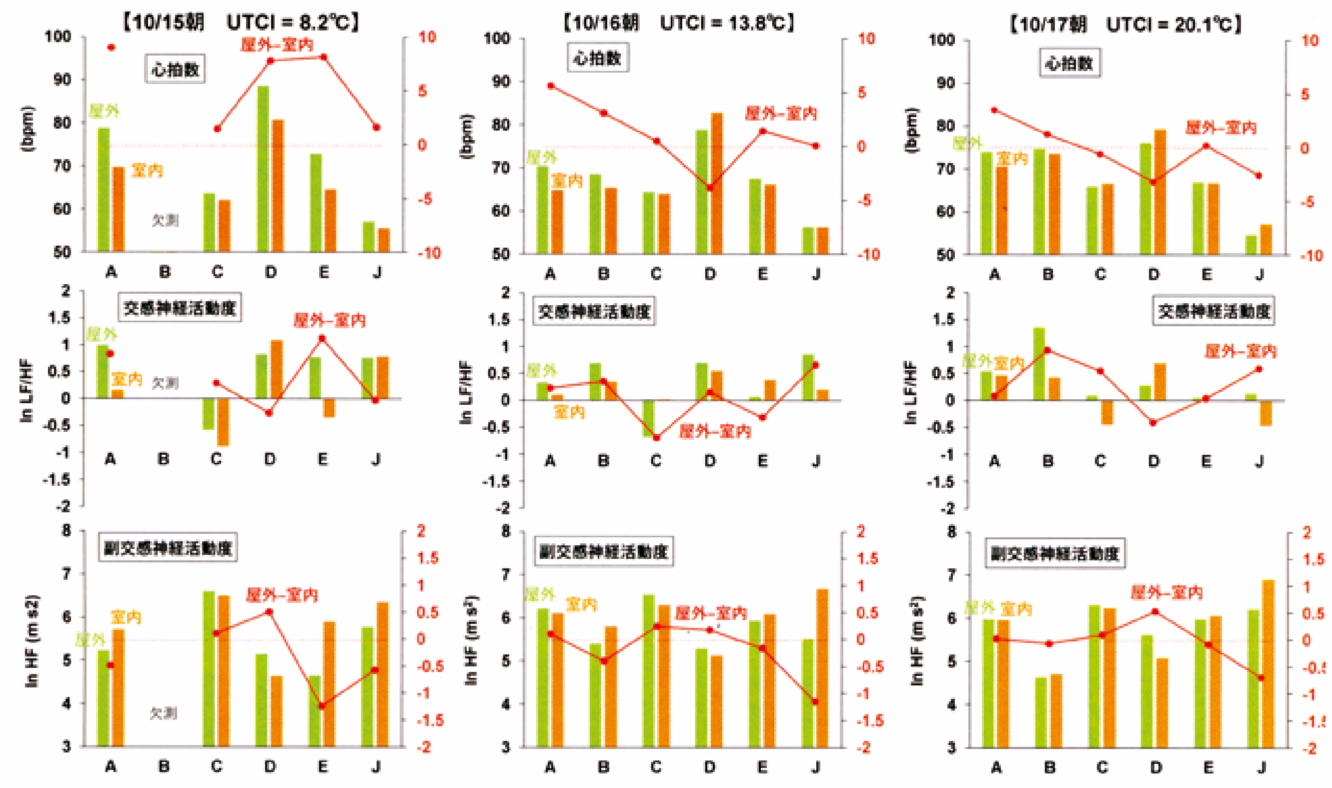


図５　早朝に屋外と室内で測定された各被験者の平均心拍数（上段）、交感神経活動度（ln LF/HF；中段）、(c) 副交感神経活動度（ln HF；下段）。折れ線は屋外測定値と室内測定値の差をあらわす。室内の測定は、屋外の測定が終了した約 30 分後に実施した。

加量が室内よりも多くなる特徴が認められた。交感神経活動も 15 日に、屋外のほうが室内よりも高く、副交感神経は逆の関係になる被験者のほうが多くみられたことから、日中の時間帯に UTCI の高い暑熱環境で交感神経の亢進による心拍数の増加が生じやすいといえる。しかし**図４**でも示されたように、血圧は早朝のときとは反対に 30 分間の屋外測定で低下したため、暑熱による熱放散を目的とした末梢血管拡張と皮膚血流量の増加が生じていたと考えられる。したがって心拍数の増加は、末梢血管抵抗の減少によって血圧が低下したことへの補償として働いた可能性が考えられる。

謝　辞

本研究の実施に多大なご支援をいただきました（財）八雲環境科学振興財団「平成 28 年度環境研究助成」に、心より感謝申し上げます。本研究の実施には、岡山理科大学研究倫理審査委員会による審査ならびに承認を得ました。本実験に参加していただきました被験者の方々に、心より感謝申し上げます。また、本研究の遂行にあたって、岡山理科大学生物地球学科の勝田匠氏、谷美佳氏、川並真人氏、並びにいであ株式会社の宮下良治氏並びに宮原啓氏に多大なご協力をいただきました。心より感謝申し上げます。

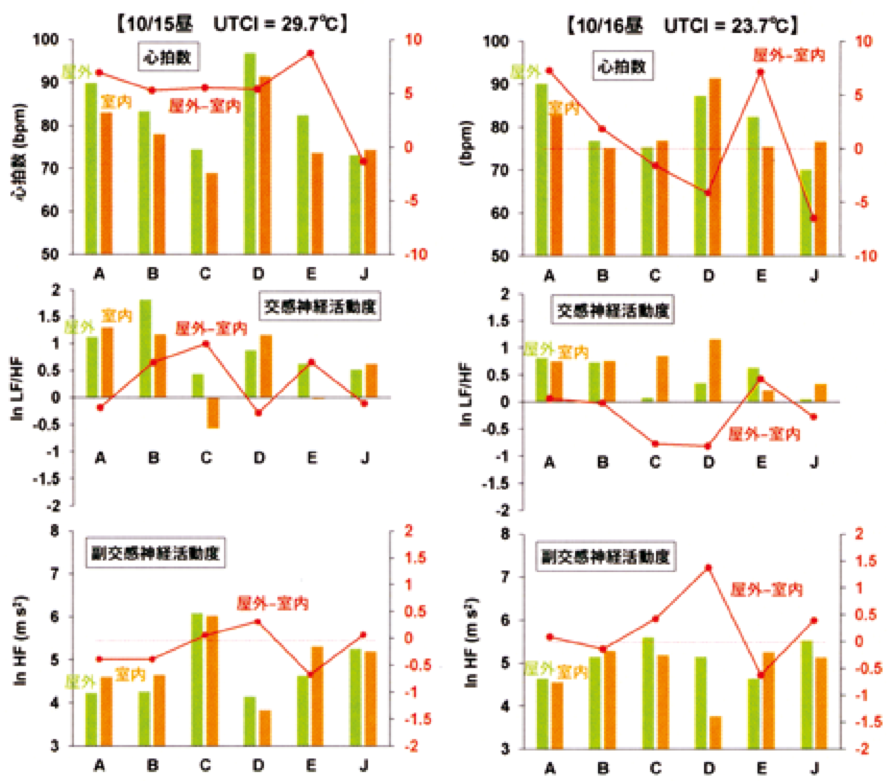


図６　図５と同じ。ただし日中の測定結果。

引 用 文 献

彼末一之，体温調節システム（第 1 章 II），体温 II－体温調節システムとその適応－，有限会社ナップ，14-24，2010

西安信，体温調節の仕組み（2.2 節），新版・快適な温熱環境のメカニズム－豊かな生活空間をめざして－，社団法人空気調和・衛生工学会，31-37，2006

中川千鶴，自律神経系指標の計測と解析（特集③人間工学のための計測手法），人間工学，52，6-12，2016

小山内弘和，大石健二，24 時間心拍変動と主観的健康観に関する研究，川口短大紀要，26，95-103，2012

清水徹男，24 時間の自律神経活動リズム，生体医工学，46-2，154-159，2008

平成 27 年度 研究集会助成報告

９．平成 27 度　研究集会助成報告

助成対象者	所　　属	集会名	ページ
珠　久　隆　行	岡山大学大学院環境生命科学研究科	第 51 回地盤工学研究発表会（岡山大会）	１２７

珠　久　隆　行

岡山大学大学院環境生命科学研究科

研究集会名称	第51回地盤工学研究発表会（岡山大会）
主催機関名	公益社団法人地盤工学会実行委員会
開催期間	平成28年9月11日、平成28年9月13日～平成28年9月16日
開催地	岡山

<内容>

9 月のはじめから毎週，台風が発生し，大会期間中にも日本列島に到来するのではと心配しておりましたが，実行委員の祈りが通じたのか，台風は西に進み，また雨の予報であったにも関わらず，大会期間中は天気にも恵まれました．このような好天の影響もあり，研究発表会やその他の行事も盛会なものとなりました。以下に本大会の行事についてご報告致します。

【見学会】岡山大会の見学会は，大会 2 日目（9 月 14 日）の午後に半日コース，大会 4 日目（9 月 16 日）に一日コースの 2 コースを実施しました。週初めの天気予報では，見学会開催日は曇時々雨という予報でしたが，両日とも雨は降らず，とくに一日コースのクルーザー乗船時には青空が広がるなど，天候には非常に恵まれました。また韓国から 2 名の方が，半日コースと一日コースの両方に参加され，国際色も漂わせた見学会となりました。

【市民向け行事】従来どおりの体験型イベントに加え，「スムーズな避難行動をとるために必要なこと」をテーマとした講演会・討論会を，一般の方が参加しやすい大会直前の日曜日（9 月 11 日）に開催しました。講演会には 120 名の市民の方にご参加いただき，活発な討論がなされました。

【特別講演会】これまで地盤工学会がどのように発展し，どのようなことを目指したのかについてお話いただくため，地盤工学会の中心として活躍されてきた先生方を講師とした特別講演会を企画しました。当日には定員 400 人の会場がいっぱいになるほどの参加者があり，盛況でした。

【技術展示】技術展示は，平成 28 年 9 月 13 日～15 日の 3 日間にわたって，岡山大学清水記念体育館において開催されました。今回の技術展示では 64 の出展者から 62 ブースの出展があり，地盤工学分野における新しい施工法，材料，調査法，試験法，設計法，解析法，防災・環境保全など優れた技術が紹介・意見交換する機会になりました。

平成 28 年度 研究集会助成報告

10. 平成28度　研究集会助成報告

助成対象者	所　属	集会名	ページ
堀　部　明　彦	岡山大学大学院自然科学研究科	第37回日本熱物性シンポジウム	１２９
小　野　俊　朗	岡山大学自然生命科学研究支援センター	日本放射線安全管理学会第15回学術大会	１３０
難　波　徳　郎	岡山大学大学院環境生命科学研究科	第55回セラミックス基礎科学討論会	１３１
冨　田　栄　二	岡山大学大学院自然科学研究科	第９回先進エンジンシステムのモデリングと診断に関する国際会議	１３２

堀 部 明 彦

岡山大学大学院自然科学研究科

研究集会名称	第37回日本熱物性シンポジウム
主催機関名	日本熱物性学会
開催期間	平成28年11月28日～平成28年11月30日
開催地	岡山

＜内容＞

第１日（１１月２８日）
　講演セッション（53件），機器・カタログ展示（7社）
第２日（１１月２９日）
　講演セッション（30件），機器・カタログ展示（7社），特別講演（2件），総会，懇親会（100名参加）
第３日（１１月３０日）
　講演セッション（25件），機器・カタログ展示（7社）

小 野 俊 朗

岡山大学自然生命科学研究支援センター

研究集会名称	日本放射線安全管理学会第15回学術大会
主催機関名	日本放射線安全管理学会
開催期間	平成28年11月30日～平成28年12月2日
開催地	岡山

＜内容＞

日本放射線安全管理学会第15回学術大会を次の通り開催した。
日時：平成28年11月30日～12月2日（3日間）
場所：岡山大学創立五十周年記念館　金光ホール、大中小会議室
内容
　大会長講演（一般公開）、特別講演2件（内1件は一般公開）、シンポジウム1件、企画セッション1件、外国人招待講演1件、外国人モーニングセミナー1件
　一般演題：口演（46件）及びポスター発表（54件）の発表があった。
　内容としては、環境放射線や環境汚染の測定と管理、放射線安全管理システム、放射性同位元素の安全取扱、核燃料物質や放射性廃棄物の安全取扱、放射能汚染や放射線被曝の事例及び安全対策、放射線教育、リスクコミュニケーション、廃棄物処理とクリアランス、放射線発生装置の安全管理、放射線の利用、放射線計測、社会啓発活動など
　その他、学会賞表彰と受賞講演を行った。

難 波 徳 郎

岡山大学大学院環境生命科学研究科

研究集会名称	第55回セラミックス基礎科学討論会
主催機関名	公益社団法人日本セラミックス協会 基礎科学部会
開催期間	平成29年1月12日～平成29年1月13日
開催地	岡山

＜内容＞

公益社団法人日本セラミックス協会基礎科学部会が主催して、上記の日程および会場にて、第55回セラミックス基礎科学討論会を開催した。討論会会場として6会場を使用し、2件の特定セッション（セラミックスのケミカルデザイン、元素戦略）、特別セッション（耐火物の基礎科学）、国際セッションおよび一般講演が行われた。4件の招待講演を含めて全体で203件の講演があり、国際セッションでは、World Young Fellow Meeting 2017として優秀な発表をした若手研究者が選考された。また、1月12日18:30よりホテルグランヴィア岡山にて、本討論会の懇親会が開催され、国際セッションでの受賞者4名の表彰式等が行われた。

冨 田 栄 二

岡山大学大学院自然科学研究科

研究集会名称	第9回先進エンジンシステムのモデリングと診断に関する国際会議
主催機関名	一般社団法人日本機械学会
開催期間	平成29年7月25日～平成29年7月28日
開催地	岡山

＜内容＞

第1日（7月25日）
　歓迎レセプション（後楽園）
第2日（7月26日）
　基調講演（飯田訓正教授（慶応義塾大学））
　講演セッション（31件）
　機器展示
第3日（7月27日）
　基調講演（ツネスタール教授（Lund大学）、人見光夫氏（マツダ(株)））
　講演セッション（22件）
　機器展示
　懇親会(ホテルグランヴィア岡山)
第4日（7月28日）
　講演セッション（45件）

平成 28 年度　その他の助成報告

11. 平成28年度　その他の助成報告

助成対象名称	内容	ページ
岡山市少年少女発明クラブ	希望するテーマごとにグループを作り、アイディアを出し合ったり試作したりしながら、最終的には各自の創意を加えて、個別の作品を作る。	１３４

h 28 年度八雲環境科学振興財団助成

班に分かれた活動

1　これまでの反省
これまでは一人で思いつた物を指導者や保護者か助手をしたり新しいアイディアを加えたりして完成させるか、最初から指導者が準備した物で工作手順を教わったりして作ることが多かった。

前者の場合は発明クラブらしい好ましい活動になっている。後者を否定するわけではないが子どもは指導者を頼りすぎるようになりやすい。これを子ども主体の方向に強く向かわせるために子ども自身が話し合ったり失敗したりする時間を多く確保することに思い至った。

なお、班に分かれた活動を開始した時点で 24 名である。

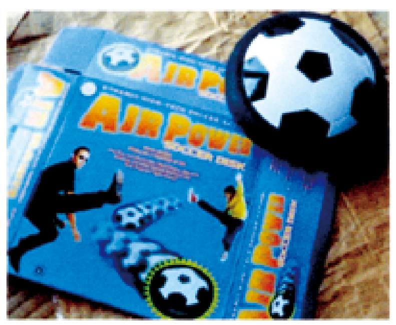
2　活動の態勢
子どもと大人が1対1で向き合う時間を少なくして、子ども同士が向き合う時間を多くするには、何をするか目標をはっきりさせた後は、大人は可能な限り後退することである。

すなわち、クラブの態勢から見て、4つの活動目標を指導者で説明し、子どもは4つのうちの1つを選んでグループを作る。最初は、選択できない子どもが出てきたが、2回目のクラブ日では、適当な班になっていた。

3　班の活動目標班
A 班　ホバークラフトが浮いている様子を観察し、力を合わせて大型を作る。
B 班　提示された完成を観察・話し合って部品を集め、真似をして一人一人が完成させる。
C 班　ニッケル水素電池の、充電器を分解して調べる。
D 班　身近な物を加工したり寄せ集めたりして便利なものに作り変える。
（カッコ内数字：最終的な班の人数）

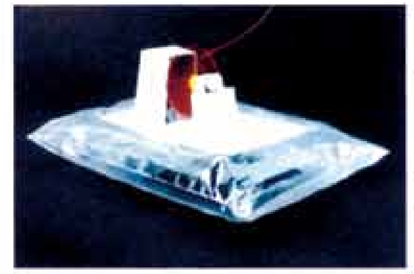
A 班　ホバークラフト（9）

第1回目　班作りとイメージづくり
最初、簡単にホバークラフトの歴史などにふれ、教材として市販されているおもちゃで遊んだ。



次に、厚紙にポリ袋でスカートを付け、水平にしてそっとおろすと空気をはらんで短時間滑走する実験や、CD の中央の穴にゴム風船をとりつけたものを使った実験で、空気に物が乗ることを感覚的にとらえさせた。そのあと、よくできた模型をユーチューブの映像で見せ、子供一人が乗れる模型作りを目標に定めた。子どもたちはとてもできないだろうと懐疑的であったが、1つ1つ実験しながら、知恵を出し合ってできることを積み重ねていくことにした。

第2回目　　試作1



子どもたちが持ってきた小型モーターとプロペラを使ってユーチューブに出ていたような模型を作り上げた。浮上実験は不成功。

第3回目　　試作2
前回より大きい羽根とモーターを取り付け試作した。力が足りないようなので、さらに強力ヘヤードライアーで試してみることになった。底板は厚さ 3 c m 縦 180CM 横 90CM の発砲スチロール板。イメージをつかむと、子どもは早い。底板の中央の穴にヘアードライヤーを差し込み、風を送ると少し浮き上がり、子どもたちのやる気が、がぜん、高まった。

第4回目　大型化
ある程度、見通しを持って試行ができるように、パスカルの原理の話や試作するホバークラフトの底の面積や支える力の試算などをした。

色々な送風機の案が出た中で、力強くて軽いヘアードライアーを4個使用して試すことにした。体重を支える強度を出すために発泡スチロールのパネルを4枚重ねて底板にした。形が見えてくると、作業の手順などのアイディアがどんどん出てくる。

第5回　製作
ヘヤードライアーの風量やスイッチ操作などを確かめ、底板の下に送り込むために画用紙で筒を作って取り付けた。

ホバークラフトにする台に4個の穴をあける作業はたいへんだった。ヘヤードライアーの筒を差し込む穴あけには子供が持ってきていた発泡スチロールカッターが役立った。自分たちで考え、決めてきたことが軌道に乗ったので、嬉々として取り組んでいる子供の様子を見て、スカートの取り付けも含めて保護者の方々も作業を応援した。

第６回　最終テスト

出来上がった台に４個のヘアードライヤーを取り付け、台にぬいぐるみを載せてから送風した。かたずをのんで見守る中、スカートが膨らんで、浮上成功。安全が確認できたところで、クラブ員の妹さんに乗ってもらった。大きい５年生でも軽く滑ったので大喜びだった。

B班　完成を観察・話し合って真似をして一人一人が完成させる。

材料の骨格はダイソーの窓用防犯ブザーで不足する部品はその都度購入する。

○活動を始める時点で、ダイソーの窓用防犯ブザーを一人１セットプレゼント。

○心がけたのは、クラブも後半ということで、指導者が作った完成品をゆっくり見せ、友たちと話したり動かしたりしながら作り方や手順を考えて作るようにさせた。

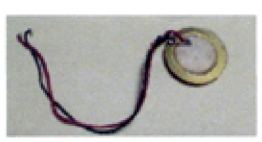
○作るものは、圧電ライト・リードスイッチモーター・ミニライト。

余裕があればいらいら棒。

一日目

「窓用防犯ブザーを分解して、目的の部品を取り出し、それぞれの性質を調べる。」

・精密ドライバーを使ってケースを開け、リードスイッチ・圧電素子を取り出す。

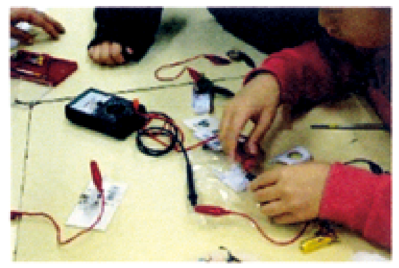


・リードスイッチとむぎ球と電池をつなぎ磁石を近づけて、リードスイッチがスイッチの役割りを果たしていることを確認する。

・圧電素子に LED をつないで素子を軽くたたくと LED が光ることを確認する。

・LED は 2V 以上でないと点灯しないこと、電流の流れる方向があることを知らせる。

・リードスイッチと圧電素子を取り外した残りは、昇圧装置になっていることをテスターで確認する。



以上のことを一日目の活動で行った。リードスイッチは、はんだごてではずしたり、ニッパーで切ってはずしたりと、それぞれ簡単にやっていたが、圧電素子をはずすときは、どうやっていいかわからなく、お互いに話しあったり、指導者に聞きに来たりとグループのよさが見られた。

二日目（7）

「圧電ライトを見せて、自分で製作する。」

・圧電素子と LED２個をつないで、ケースに入れるという作業なので、簡単にみんな製作することができた。

LED

・LED は別に購入。フィルムケースと錘のナットは指導者が持っていた。

LED をプラスマイナス反対に並列に接続しても光るという現象を見せて、圧電素子はプラスとマイナスを交互に発電していることに気づかせた。

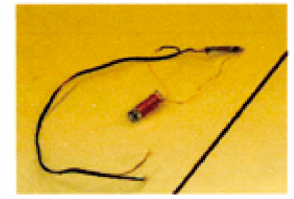
・LED の２つの色を変えると、交互の発電もよりわかりやすくなり、出来上がったあとも発電を楽しんでいた。

三日目

「リードスイッチモーターを見せて自分で製作」

・防犯ブザーの部品以外で、ボルトにエナメル線をまいて電磁石を作りリードスイッチ、電磁石、乾電池を

直列つなぎにして磁石を近づけ、リードスイッチが磁石でスイッチになることを確認。



・おもちゃの車輪に、電磁石を２個つけるとき、磁石の向きに気を付けることは指示。

・リードスイッチ・車輪・電磁石をどう箱に取り付けたらよいか、取り付ける位置が微妙。３者の働きを考えながら試行錯誤を経験していた。

・車輪、永久磁石、ビス、エナメル線、プラスチック小箱は、すべて別に購入したもので、寄せ集めをまとめる楽しさを味わってほしい。

四日目

「残った入れ物と昇圧装置の部分で作ったミニライトを見て製作」

・1.5V の電池をつないで圧電素子がつながっていた位置の電圧を計ると、やく 8V 近くになっていることを確認。このことを利用して、1.5V で LED を光らせるライトを作ることを知らせる。

・自分たちで完成形のミニライトをばらしながら、つなぎ方をみて製作することができた。

・意外と明るいのができたようで、喜んでいた。

五日目

「楽しめるものを作ろうということで、いらいら棒の製作」

・新しい防犯ブザーを使い、1.5V でブザーが鳴ることを確認。

・はんだごて・ドリルなどを使い上図のようなものを製作した。このころになると道具の

鳴ることを確認。

・はんだごて・ドリルなどを使い上図のようなものを製作した。このころになると道具の使い方など、とてもうまく使えるようになってきた。

・はりがねを、ぐにゃぐにゃに曲げたり、テープをまいて途中に休めるところを作ったりして、いろいろと工夫して楽しんでいた。

六日目

○発表　時間待ちの間、だれがどの部分を発表するか、まとまらなかった。指導者の願いは、今の子供たちは、できたものを使うことはよく慣れていてうまい。ただ、それを工夫してもっと違うものにするとか、こわれたら直して使うなどはなかなかできない。

販売している完成品の中に、いろいろ楽しめる部品が入っていることを、窓用防犯ブザーで気づかせ、中はどうなっているのかという思いが持てる子供、できあがっているものでも、工夫するとこんなものもできるという思いの持てる子供になってほしい。

百均は、今の子供たちにとって、とても身近な存在になっている。模型屋はなくなっても、ここに目をむければ、ブザーもモーターも LED もと、自分の小遣いで結構簡単に手に入る。これらを有効に使い、科学する子供に育ってほしいと願っている。

C班　「ダイソーＮｉ－ＭＨ専用ニッケル水素電池用充電器」を分解して調べる。

１日目

未知の物を分解するので、可能な限り外観を観察し、たぶん・・・・という感をはたらかせることと、慎重、かつ、大胆に取り組むことが大切であり、可能なら、分解➡組み立てが可能なような観察・分解ができれば大成功と伝えて、作業にかかる。

充電器一人１台とニッケル水素電池１つ、この時点

でプレゼントする。途中でどうしても元の形がわからなくなったら、新品と交換。と伝えた。

まず、分解する道具を決めさした。のこぎりやハンマーを求めた子どもはいない。物置から、精密ドライバーセットを持ってきて、ケースを止めている２本のビスを外した。ケースを合わせているらしい継ぎ目にドライバーを差し込みかけたがうまくいかない。この時点で５人の競争になった。

一人が隠しシールをはがすと、残り１本のビスの頭が出てきた。

あちこちつついていているうちにはんだ付けが切れたという子どもが出てきた。

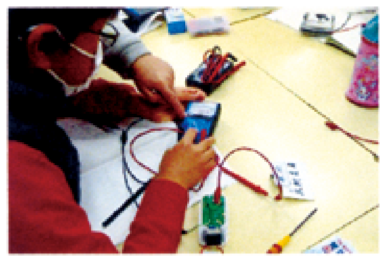
はんだ付けと基盤のつなぎ目は、ちぎれやすい。重い部品もあるので作業しにくい。トランスの２次側で離し、別に扱うように指導。ほかに、切れやすくもとに戻せない場所があるので、蓋側を慎重に扱うように言う。

この間、１次側も切れやすいことを実験した子どもがいた。耐熱チュウブの中を見たかったらしい。

基盤をスケッチして本日は終了。

2日目

ほかから、一人加わって、６人。



電気回路（電源部と負荷部が輪のようにつながっていることを基板で確認）。テスター（デジタルとアナログを併用したが、子どもはアナログを好んだ。なお、このときのために、いろいろなテスターを買いそろえていた。

充電器の導通を手あたり次第調べていたが、わからないのは、家庭の電源から電気を取り出して充電式電池に充電するのに、矢印の部分品のところで完全に切れているということ。

この時点で、矢印は「トランス」という部分品で電気の力を変えながらエネルギーを伝えていることを話しておけば、のちほどのトランスそのものの分解や交流と直流の違いの実験も簡単に理解きたであろうと悔やんでいる。

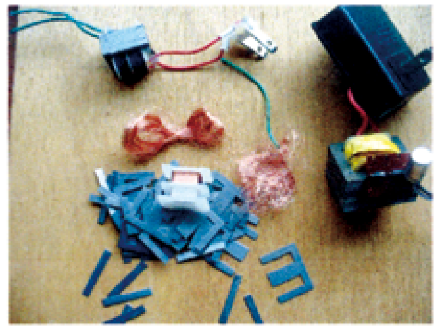
テスターを貸してほしいと申し出た子どもが３人。貸した。

3日目

教室に来ている電源のソケットの文字を読み取ったりテスター測定したりして、100ボルトと呼ばれる強さの電圧が来ていることを確認。二次側は４ボルトになっている。導通がなかったはずのトランスで、弱いながらも二次側に電気が来ていることを一瞬不思議に思った子供はあったが、ことばにはならなかった。

小型家電のパワーアダプターを開いたり新品の部品としてのトランスを見せたりした。

コイル状になったエナメル線がコアをくぐりぬけたような構造になっているので、手出してだしができない。ひねり回していると、１枚のコアが動いたのをきっかけに、分解できた。

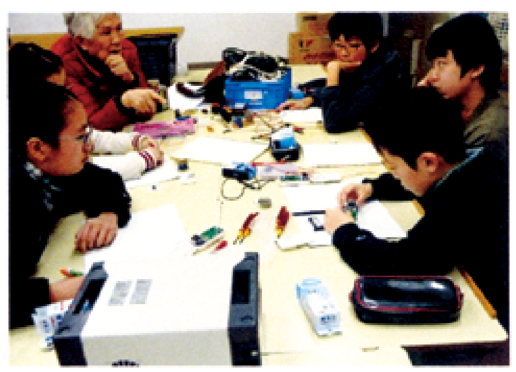


分解できたことに満足し、細いエナメル線があまりにも長いので長さを計ることはあきらめ、終了。

１次と２次との間に導通が無かったという大問題は消え失せていた。

4日目

トランスの１次と２次との間で導通がないこと以外でも、問題意識が有る・無いは別にしても、交流・直流は扱かっておきたい現象である。そこで、クラブで時々使っている電源装置（5A、0から15V程度まで可変。交流と直流の出力端子が別々についている。直流のリプルは多い。）を使って、「交流」と、「直流」は何を表しているか調べることにした。



LED、乾電池（3V）, 電源装置、100Vのままで半波整流+ナツメ電球、両派整流+ナツメ球で、点灯したりしなかったり、明るかったり暗かったりする現象を実験して、交流、直流を説明した。子どもは、わかろうと努力してくれたが、「限界です。」という顔をしていた。本日はこれで静かに終わり。

5日目

交流で点滅しているLEDやナツメ球を振ると、明かりが点滅して見える。廊下の隅の給湯室の闇を利用して比較実験した。子どもが詰めかけるので、指導者は遠慮したが、ナツメ球では、感電事故が起こらないような装置を提供した。子どもは自分で振らないと納得しないので、かなりの時間を要した。

残りの時間は、整流用ダイオード、1/2w抵抗、電解コンデンサーの解体をした。抵抗以外は、解体しにくいが、意外性がある。コンデンサーの知識があると、解体（分解）はさらに深まる予感がした。

6日目

４つの班がしたことを発表し合うことになっていたが、準備が遅れた班があり、ゆとりの時間が生まれた。そこで、５日間の疑問や、したこと、わからなかったことなど、自分たちで譲りあって発表してみよう。ということにした。

（子どもに押し付けたことになる）

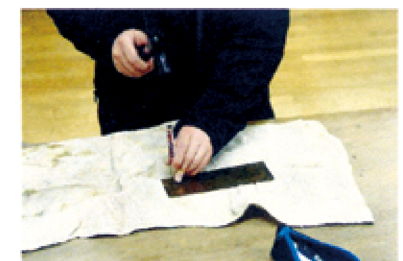
LEDの構造。極性がある。トランスの残骸。エナメル線は細く長い、交流でLEDは点滅している。ダイオーどの中、などを発表していたが、１次コイルと２次コイルの間に導通が無いことに触れた子どもはなかった。

D班 **身近な物を加工したり寄せ集めたりして便利なものに作り変える。発想と加工**

おそらく、４つの班のうち、この班の指導が一番難しかったと思う。

理由は、言葉と記憶が頼りで、具体物がないからだ。発想のメモと、作りたいもののイメージをみんなで具体体化した絵を書いたり、くっつけたておけば便利そうな物を付加してみんなで検討するぐらいである。ただ、躊躇しないで試作を始めると、アイディアが降って沸くようなこともある。おそらく発明の王道と思われるメモ書きから何か生まれないかと指導者を変えて実行したのが、この実践である。

上は、スプレー缶のガス抜きである。メモ書きだけでなく、物置のスプレー缶が後押ししたと思われる。ただ、穴を開けている金属製の道具は、どのように作ったのだろう。写真からはわからない。加工にそれなりの工夫が必要だったのではないか。



右はセターポンチで何か作ろうとしている。精密な金属加工らしく、目が離せない。

子どもの発表する内容を大人がどう支援するのが良いのか課題が多いように感じている。出来上がった物に値があるのか、製作の過程により価値を見出してやるのか？

右はプラスチックスの表面仕上げをしている場面で、やすりの種類や姿勢で指導者の気配りは多岐にわたる。

つくり始めると、安全への配慮が必要になり、少人数にしか対応できない。ものつくりの発明の本質という意味からも、課題の多い分野である。

助成実施要項

12. 助成実施要項

公益財団法人八雲環境科学振興財団　研究助成制度実施要項

（趣旨）

第１　この要項は、公益財団法人八雲環境科学振興財団定款（以下「定款」という。）第４条第１号に基づき、公益財団法人八雲環境科学振興財団（以下「財団」という。）が行う、環境科学に関する研究助成の実施について定めるものとする。

（研究助成の対象）

第２　財団が行う研究助成は、次に掲げる学術研究に助成するものとする。

一　自然科学又は社会科学若しくは人文科学の分野における環境問題に係わる基礎並びに応用研究で、研究者が１人で行うもの、又は研究者が２人以上のグループで同一の研究課題について共同で行うもの。

二　国の内外で、環境科学の学術的調査研究活動を行うもの。

（研究助成対象機関）

第３　財団の行う研究助成の対象者が所属する研究機関（以下「研究機関」という。）は、次に掲げるものをいう。

一　大学及び高等専門学校

二　県及び県の附属研究機関

三　民法第34条の規定により設立された学術的研究を行う法人

四　前号に掲げるもののほか、学術的研究を行う機関で、財団において適当と認めるもの。

（推薦者）

第４　研究助成金の交付の申請には次の各号による研究機関代表者の推薦を受けなければならない。

一　研究機関に所属する研究者が１人で研究を行う場合は、当該研究機関の代表者又は学部長

二　同一の大学で異なる学部の研究者２人以上が、同一の研究課題について共同して研究を行う場合は学長

三　前号に掲げる場合を除くほか、異なる研究機関に所属する研究者２人以上が同一の研究課題について共同して研究を行う場合は、各研究機関の代表者

（研究助成の種別）

第５　研究助成は、その助成対象により、次のとおり区分する。

一　一般研究

財団が例示する先駆的又は独創的で将来性のある研究課題を対象とする。

二　特定研究
財団が毎年提示する基本テーマに関する研究課題を対象とする。
三　学術調査研究
国の内外で行われる環境科学に関する学術調査研究で、当財団において適当と認めたものを対象とする。

（研究助成の期間）
第６　前項に規定する研究助成の期間は、原則として１年とする。

（助成研究の募集）
第７　研究助成金の交付を申請しようとする者は、別に定める様式の研究助成申請書を、財団に提出するものとする。

（助成研究の選考）
第８　研究助成金の交付は、定款第52条に定める選考委員会において選考し、理事会の議を経て決定する。

（選考基準）
第９　助成の対象となる研究は、次の基準により審査する。
一　研究目的に対する学術的・社会的要請が大きいこと
二　研究計画が十分に検討され研究目的の達成可能性が高いこと
三　独創性に優れ、新たな研究分野として広がる可能性が高いこと
四　政府及び企業等の補助、助成が得難い等、当財団が助成する必要性が高いこと

（助成経費）
第10　助成研究者には、別に定める助成経費を支給する。なお、研究助成金は、申請課題の研究以外の目的に使用することはできない。

（報告書の提出）
第11　研究助成金の交付を受けた者は、助成期間終了後６ヶ月以内に、別に定める様式の研究成果報告書を、財団に提出しなければならない。

（雑則）
第12　研究助成金の交付を受けた者が、国立学校設置法第２条第１項に規定する国立学校に勤務するときは、助成金の受入れは、奨学寄附金委任経理事務取扱規則（文部省令第14号、昭和39年４月23日）に基づき、処理するものとする。

附　則
この要項は、平成24年10月1日から施行する。

公益財団法人八雲環境科学振興財団　国際研究交流助成制度実施要項

（趣旨）
第１　この要項は、公益財団法人八雲環境科学振興財団定款（以下「定款」という。）第４条第２号に基づき、公益財団法人八雲環境科学振興財団（以下「財団」という。）が選出する国内外の研究者等を、国内外で開催される国際研究集会等に派遣又は招聘することを助成すること並びに国内外の研究者（又はグループ）が共同で研究を行うことを助成することの実施について定めるものとする。

（国際研究交流助成の対象）
第２　この要項で対象とする国際研究交流助成は、次の条件を満たすものとする。
一　下記に示す国際研究集会への国内研究者の派遣
イ　外国で開催される研究集会であること。
ロ　国際的に権威のある学会、学術団体又は学術研究機関等が主催するものであること。
二　下記に示す国内研究集会への海外研究者の招聘
イ　国内で開催される国際研究集会であること。
ロ　国際的に権威のある学会、学術団体又は学術研究機関等が主催するものであること。
三　下記に示す国際共同研究のための派遣及び招聘
イ　協定等に基づき、国内外の研究機関で一定期間組織的に研究（研究機関の代表者が認めたもの）することを目的とした、国内研究者の派遣又は国外研究者の招聘であること。
ロ　国際的な共同研究を目的とした、研究者の交流や情報資料交換のための、一時的な国内研究者の派遣又は国外研究者の招聘であり、財団において適当と認めるもの。

（研究助成対象機関）
第３　財団の行う助成の対象者が所属する研究機関（以下「研究機関」という。）は、次に掲げるものをいう。
一　大学及び高等専門学校
二　県及び県の附属研究機関
三　民法第34条の規定により設立された学術的研究を行う法人
四　前号に掲げるもののほか、学術的研究を行う機関で、財団において適当と認めるもの。

（推薦者）
第４　助成金の交付の申請には所属する研究機関代表者又は学部長の推薦を受けなければならない。

（助成対象研究者の募集）
第５　派遣又は招聘研究者の助成を希望する者は、別に定める助成申請書を所属機関の長を経て財団に提出するものとする。

（助成対象研究者の選考）
第６　派遣又は招聘研究者の助成選考は、定款第52条に定める選考委員会の議を経て理事会で決定する。

（選考基準）
第７　派遣又は招聘の助成は、対象研究者の以下の基準の充足状況により選考する。
一　優れた研究活動の実績があること。
二　国際研究集会においては、講演若しくは研究発表を行うこと又は座長になること等重要な役割を果たすこと。
三　国際研究交流における活動に必要な語学力を有すること。
四　国際研究集会への参加あるいは国際共同研究により、研究の著しい向上が期待されること。

（助成経費）
第８　派遣又は招聘研究者には、別に定める助成経費を支給する。

（報告書の提出）
第９　派遣研究者は又は招聘助成を受けた研究者は研究集会等終了後１ヶ月以内に、別に定める報告書を財団に提出しなければならない。

（雑則）
第10　助成金の交付を受けた者が、国立学校設置法第２条第１項に規定する国立学校に勤務するときは、助成金の受入れは、奨学寄附金委任経理事務取扱規則（文部省令第14号、昭和39年４月23日）に基づき、処理するものとする。

附　則
この要項は、平成24年10月1日から施行する。

公益財団法人八雲環境科学振興財団　研究集会助成制度実施要項

（趣旨）
第１　この要項は、公益財団法人八雲環境科学振興財団定款（以下「定款」という。）第４条第１号に基づき、岡山県内で開催される環境科学に関する研究集会、学術講演会、シンポジウム等（以下「研究集会」という。）に対し、公益財団法人八雲環境科学振興財団（以下「財団」という。）が行う助成の実施について定めるものとする。

（助成対象研究集会）
第２　財団が助成する研究集会は次のとおりとする。
一　学協会及びその支部が主催するもの
二　公知された懇話会、研究会等が主催するもの
三　財団が認める組織が主催するもの

（助成条件）
第３　研究集会への助成は、岡山県下の研究機関に常勤する研究者が世話人として申請するものでなければならない。
２　前項の研究機関は、次に掲げるものをいう。
一　大学及び高等専門学校
二　県及び県の附属研究機関
三　民法第34条の規定により設立された学術的研究を行う法人
四　前号に掲げるもののほか、学術的研究を行う機関で、財団において適当と認めるもの。

（推薦者）
第４　助成金の交付の申請には、所属する研究機関の代表者又は学部長等の推薦を受けなければならない。

（助成研究集会の募集）
第５　助成金の交付を申請しようとする者は、別に定める様式の研究集会助成申請書を財団に提出するものとする。

（助成の選考）
第６　研究集会助成の決定は、定款第52条に定める選考委員会において選考のうえ、理事会の議を経て決定する。

（選考基準）

第７　助成の対象となる研究集会は、次の基準により審査する。

一　明確に限定された研究主題であり、新しい知識又は概念の展開の可能性が大きいこと

二　研究法などの点で学術的価値が高いこと

三　岡山県において開催する意義が明らかであること

四　研究集会を開催するための組織と運営が明確であること

（財団名表示の義務）

第８　採択された研究集会は、刊行する印刷物等に共催、協賛、賛助等の冠を付し、財団名を記載しなければならない。

（助成額の基準）

第９　研究集会への助成額の交付基準は別に定める。

（報告書の提出）

第10　助成金の交付を受けた者は、研究集会が終了した後、１ヶ月以内に別に定める様式の報告書を財団に提出しなければならない。

（雑則）

第11　助成金の交付を受けた者が、国立学校設置法第２条第１項に規定する国立学校に勤務するときは、助成金の受入れは、奨学寄附金委任経理事務取扱規則（文部省令第14号、昭和39年４月23日）に基づき、処理するものとする。

（実施細則）

第12　この要項に定めるもののほか、必要な事項は別に定める。

附　則

この要項は、平成24年10月1日から施行する。

13. ご寄附のお願い

公益財団法人八雲環境科学振興財団は、平成 10 年に設立され、これまでに、省資源・リサイクル，環境計測，生態系保全をはじめ環境科学に関する多くの助成事業を行ってまいりました。今後、当財団の事業をより実りあるものにするため、広い分野の多くの方々に財団設立の主旨をご理解いただくとともに、ご指導・ご支援をいただくことが必要と考えております。

この寄附金は、事業目的の達成のために運用財産として使用させていただきます。

なお、当財団は、平成 24 年 10 月に公益財団法人として認定されており、このご寄附については、税制上の優遇措置を受けることができます。

また、岡山県下で開催される研究集会等につきまして、企業等から寄付を受ける場合、あるいは研究者個人またはグループを指定し、企業から寄付を受ける場合において、当財団が同意する場合は上記と同様に税制上の優遇措置を受けることができます。

上記の主旨をご理解いただき、ご寄付にご協力をお願い致します。

1.募集の内容及び特典

募集期間	随時
対　象	個人・法人
寄付金	個人１口　5,000 円、法人１口　10,000 円 特定指定寄付金（事務局までお問い合わせ下さい）
特　典	・財団が発行する研究レポート集、財団ニュースの配付 ・財団が主催する研究発表会、その他事業企画等のご案内 ・その他理事長が必要と認める資料の配付

2.税制上の優遇措置について

当財団は、公益財団法人の認定を受けております。当財団に対する寄付金には、税制上の優遇措置が適用されます。詳細は所轄の税務署又は税理士にお尋ねください。

個人寄付の場合	「所得控除」が受けられます。 （寄付金額-2,000 円）の金額が所得金額から控除されます。 控除額は所得金額の 40%が限度となります。
法人寄付の場合	通常の一般寄付金の損金算入限度額と別枠で、損金算入が認められます。

3.寄附金申込み手続き

寄附申込書をダウンロードのうえ、郵送にて当財団事務局宛に送付後、ご送金手続きをお願いいたします。　　当財団ホームページ　→　http://www.ej-hds.co.jp/zaidan/

4．お振込先

銀行名	三井住友銀行岡山支店
預金種類	普通預金
口座番号	6497055
口座名義	公益財団法人八雲環境科学振興財団 （フリガナ） コウエキザイダンホウジンヤクモカンキョウカガクシンコウザイダン

☆ご不明な点は事務局までお問い合わせ下さい。

公益財団法人　八雲環境科学振興財団

〒700-8617　岡山市北区津島京町 3-1-21　（株式会社エイト日本技術開発内）

TEL　:　086-252-7670

FAX　:　086-252-8918

e-mail　:　yakumo@ej-hds.co.jp

公益財団法人 八雲環境科学振興財団は、その年の自然環境の状況を残していきたいという思いから、毎年、発行する研究レポート集の表紙にその年の自然環境のイメージを画像で現しております。

今年、7月に福岡県と大分県を中心とする九州北部において記録的な豪雨が襲い、土砂崩れや増水などにより甚大な被害をもたらした。特に福岡県朝倉市付近の降水強度は激烈を極め、気象観測史上でも最大級の集中豪雨となった。

また、8月に入り、関東や東北など東日本の太平洋側を中心に雨の日が続いた。特に東京においては、降水連続日数が４０年ぶりの記録となる長雨となり、日照時間は観測開始以降、史上最短となった。

公益財団法人 八雲環境科学振興財団

研究レポート集　第 17 号

平成 29 年 10 月発行

発行　公益財団法人八雲環境科学振興財団
岡山市北区津島京町３丁目１－２１
（株エイト日本技術開発内）
TEL (086)252-7670

印刷　吉備サプライ有限会社
岡山市北区野田４丁目２－２０
TEL (086)805-2111

THE YAKUMO FOUNDATION FOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

telephone: 086-252-7670

facsimile: 086-252-8918

URL: http://www.ej-hds.co.jp/zaidan/

公益財団法人 八雲環境科学振興財団

〒700-8617 岡山市北区津島京町三丁目1番21号(株)エイト日本技術開発内