

研究レポート集 2021

Report

第 22 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23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	1
2. 財団の概要	2
3. 役員等名簿	3
4. 定款	4
5. 令和2年度事業実施状況	1 6
6. 年度別助成事業実施状況	1 9
7. 研究発表会実施状況	2 9
8. 令和元年度環境研究助成報告	3 3
9. 令和2年度環境研究助成報告	4 0
10. 令和元年度研究集会助成報告	1 1 6
11. 令和2年度研究集会助成報告	1 1 8
12. 令和2年度その他の助成報告	1 2 0
13. 助成実施要項	1 2 3
14. ご寄附のお願い	1 2 9

1. 巻頭言

1997年に京都で国際気候変動枠組み条約第三回締約国会議；いわゆるCOP3が開催され「京都議定書」が採択されました。この国際会議に先行してワーキングが結成され、気候温暖化が生物に与える影響を検討する部会に名を連ねることになってしまいました。特に気候変動に注目した研究を行っていたわけではありませんが、いろいろな湿原に定置観測点を設定し、植生の変化を長年追跡していたことに注目され、そのデータから気候変動の生物への影響を評価できないか、というのが招聘理由でした。

委員会では気候変動の実態とその理由、将来予測などが提示され、議論されたわけですがその根拠となる予測の基本理論は、本年ノーベル物理学賞を受賞した真鍋淑郎氏によるものであったと思います。二酸化炭素が温室効果をもたらすことに関しては、異論を唱える人はいないわけですが、二酸化炭素濃度の上昇に関しては、様々な観点からの異論もだされ、議論となる委員会でした。

現在の新生代第四紀氷河時代は、ほぼ10万年の周期で氷期と間氷期を繰り返してきました。氷期と間氷期では10度前後の気温の上昇と下降がありました。間氷期は1万年ほどであり、現在は直前の氷期が終わって1万2千年ほどたっていることから、そろそろ氷期が始まることが懸念されている環境の中での地球温暖化なのでした。

COP3の段階では、議長国である日本は、オピニオンリーダーでした。しかし、現状では大きく後れを取ってしまった感は否めません。東日本大震災と特に福島原発の影響が大きいのでしょう。被害からの復興が中心となり、気候変動への発展的な展開への姿勢に欠けたのかもしれない。

昔は石油資源の枯渇が懸念されていましたが、現在は脱炭素へと視点が変わりました。しかし実施しなければならない内容は、省エネなど共通することも多いように思われます。環境問題はネガティブに捉えられがちですが、解決には積極的に取り組む姿勢が大切です。太陽光発電の高効率化、急速充電が可能な大容量蓄電池などは喫緊のテーマです。今までも新しい技術が新しい社会を作り出してきました。脱炭素・エネルギーに関わる研究課題は無尽蔵といってよく、この分野における研究が未来を拓くと言えましょう。

国連気候変動枠組み条約批准国の会議は26回となり(COP26)、2021年10月の31日からイギリスで開催されます。これに先立ち、各国からは先進的な目標が宣言されつつあります。世界は脱炭素、再生可能エネルギーへと大きく舵を切りました。自動車のみならず、多くの物品が電気へと転換され、社会の変革は急速に進んでいくものと思われます。この激動を見事に乗り切って先頭に躍り出る、日本の科学技術力に期待します。

理事 波田 善 夫
(岡山理科大学名誉教授)

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	2億7,073万円(令和3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	(株)エイト日本技術開発 代表取締役社長
理 事	河野伊一郎	岡山大学名誉教授
	沖 陽子	岡山県立大学学長
	辻 英明	前岡山県立大学学長
	佐藤 豊信	岡山商科大学大学院経済学研究科教授
	波田 善夫	岡山理科大学名誉教授
	阿部 宏史	環太平洋大学副学長
	伊丹 文雄	E・Jホールディングス(株) 顧問
監 事	西田 秀史	弁護士
	松原 治郎	税理士
	小谷 浩治	E・Jホールディングス(株)理事
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
	西垣 誠	岡山大学名誉教授
	鳥越 良光	岡山商科大学名誉教授
	星野 卓二	岡山理科大学名誉教授
	神崎 浩	岡山大学学術研究院環境生命科学学域教授
	岩田 正晴	ロック地域計画事務所 代表
	谷本 俊夫	元E・Jホールディングス(株)取締役
	藤井 勉	E・Jホールディングス(株) 監査役
選考委員	稲井 寛	岡山県立大学情報工学部教授
	坂本 圭児	岡山大学学術研究院環境生命科学学域教授
	竹下 祐二	岡山大学学術研究院環境生命科学学域教授
	田村 隆	岡山大学学術研究院環境生命科学学域教授
	佐藤 丈晴	岡山理科大学生物地球学部准教授
	永井 泉治	E・Jホールディングス(株)取締役

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) 優秀な環境科学に関する研究者に対する表彰事業
- (9) 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でできる理事の3分の2以上の議決を経て、評議員会において、議決に加わることでできる評議員の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 1 1 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 4 8 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 1 2 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 1 3 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 1 4 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 1 5 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 1 7 9 条から第 1 9 5 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

ヘ 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つては、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つて、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 1 6 条 評議員は、評議員会を構成し、第 2 0 条に規定する事項を決議する。

(任 期)

第 1 7 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 1 4 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 1 8 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 1 9 条 評議員会は、すべての評議員をもって構成する。

(権 限)

第 2 0 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 2 3 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事業年度終了後3ヶ月以内に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、議決に加わることで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、役員的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勞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号に定める助成および第8号に定める表彰の対象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、その事項の変更に付き、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。

- 事務局には、必要の職員を置く。
- 重要な職員は、理事長が理事会の承認を得て任免する。
- 職員は有給とすることができる。
- 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。

- 定款
- 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
- 認定、許可、許可等及び登記に関する書類
- 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
- 財産目録
- 役員等の報酬等に関する規定
- 事業計画書及び収支予算書
- 事業報告書及び計算書類等
- 監査報告書
- 行政庁からの示達文書
- 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。

- 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。

- 配当の受領
- 無償新株式の受領
- 株主割当増資への応募
- 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

- 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。
- 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。
- 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。
- 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
- この定款は、平成29年3月1日一部改正。
- この定款は、令和 元年6月5日一部改正。

5. 令和2年度事業実施状況

令和元年度の助成事業は、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 11,677 千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。

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。	令和2年度募集テーマ A. 環境配慮型技術に関する研究 B. 生物多様性に関する研究（新テーマ） C. 防災・減災に関する研究
2. 助成金額と件数	
総 額 ・ ・ ・ ・ ・ 350 万円程度 1 件あたり助成額 ・ ・ 50 万円以内 助成件数 ・ ・ ・ ・ ・ 7 件程度	総 額 ・ ・ ・ ・ ・ 700 万円程度 1 件あたり助成額 ・ ・ 100 万円以内 助成件数 ・ ・ ・ ・ ・ 7 件程度
3. 助成対象となる期間	
令和3年3月31日まで	令和3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
ただし、特定研究部門助成対象者は指定様式にて提出
○令和3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
7. その他
○特定研究部門助成対象者の中から、最も優れた研究に対し、「八雲賞」を授与します。

II. 国際研究交流助成

1. 助成対象
令和2年6月1日から令和3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 ・ ・ ・ ・ ・ 100 万円程度
○1 件あたり助成金 ・ ・ 20 万円以内
○助成件数 ・ ・ ・ ・ ・ 5 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）：2件程度
令和2年10月1日から令和4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（予定）：1件程度
令和3年2月1日から令和4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 ・ ・ ・ ・ ・ 90 万円程度
○1 件あたり助成金 ・ ・ 30 万円以内
○助成件数 ・ ・ ・ ・ ・ 3 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。
- 令和元年度に助成対象者となった研究者（共同研究者を含む）は、令和2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。
- 申請書について、白黒コピーの申請書によって審査いたします。

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	令和2年 4月24日（金）（必着）	令和2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	1 4 件	1 2 件	6, 370 千円
国際研究交流助成事業	1 6 件	1 2 件	2, 350 千円
合 計	3 0 件	2 4 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	2 7 件	1 2 件	7, 200 千円
国際研究交流助成事業	1 0 件	7 件	1, 400 千円
研究集会助成事業	2 件	1 件	300 千円
合 計	3 9 件	2 0 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	2 8 件	1 3 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	3 9 件	1 8 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	4 2 件	1 2 件	6, 800 千円
国際研究交流助成事業	1 2 件	4 件	800 千円
研究集会助成事業	4 件	4 件	1, 200 千円
合 計	5 8 件	2 0 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	3 4 件	1 3 件	6, 860 千円
国際研究交流助成事業	1 0 件	5 件	1, 000 千円
研究集会助成事業	1 件	1 件	300 千円
合 計	4 5 件	1 9 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	3 7 件	1 4 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	4 6 件	1 9 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	2 5 件	1 4 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	2 9 件	1 7 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	3 4 件	1 3 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	4 4 件	1 8 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	2 6 件	1 3 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	3 3 件	1 6 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	3 9 件	1 2 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	4 5 件	1 7 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	2 9 件	1 1 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	3 8 件	1 8 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	2 8 件	1 2 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	3 5 件	1 8 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	1 9 件	1 0 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	2 3 件	1 5 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	2 0 件	1 0 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	2 9 件	1 7 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	2 8 件	1 4 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	3 1 件	1 7 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	1 1 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	3 3 件	1 4 件	9, 689 千円
研究集会助成事業	6 件	5 件	1, 500 千円
合 計	3 9 件	1 9 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	1 0 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

平成 29 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	3 5 件	1 2 件	8, 924 千円
国際研究交流助成事業	6 件	5 件	986 千円
研究集会助成事業	4 件	3 件	900 千円
合 計	4 5 件	2 0 件	10, 810 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	1 件
	岡山県農林水産総合センター	1 件
	岡山県立大学	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	4 件
	岡山理科大学	1 件
研究集会助成事業	岡山大学	1 件
	岡山理科大学	1 件
	岡山県立医大学	1 件

平成 30 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	4 2 件	9 件	6, 474 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	2 件	600 千円
合 計	4 6 件	1 3 件	7, 474 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	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

令和元年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	2 8 件	1 5 件	10, 297 千円
国際研究交流助成事業	4 件	3 件	566 千円
研究集会助成事業	1 件	1 件	300 千円
合 計	3 3 件	1 9 件	11, 164 千円

○所属機関別助成実

	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
	倉敷市立短期大学	1 件
	岡山県農林水産総合センター	1 件
	就実大学	1 件
	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

令和 2 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	2 1 件	1 4 件	10, 377 千円
国際研究交流助成事業	1 件	0 件	0 千円
研究集会助成事業	5 件	5 件	1, 300 千円
合 計	2 7 件	1 9 件	11, 677 千円

○所属機関別助成実

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	1 3 件
	岡山県立大学	1 件
研究集会助成事業	岡山大学	3 件
	川崎医科大学	1 件
	岡山理科大学	1 件

累計（平成 10 年度～令和 2 年度）

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	6 0 0 件	2 7 3 件	161, 954 千円
国際研究交流助成事業	1 4 8 件	9 8 件	19, 593 千円
研究集会助成事業	3 6 件	4 1 件	11, 780 千円
合 計	7 8 4 件	4 1 2 件	193, 327 千円

7. 研究発表会実施状況

平成 12 年度

開催日時	平成 1 2 年 9 月 2 9 日（金） 1 3 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 5 0 名

平成 13 年度

開催日時	平成 1 3 年 1 1 月 6 日（火） 1 3 時～
場 所	岡山ロイヤルホテル
発表者数	1 0 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 6 0 名

平成 14 年度

開催日時	平成 1 4 年 1 1 月 8 日（金） 1 3 時～
場 所	リーセントカルチャーホテル
発表者数	1 2 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 6 0 名

平成 15 年度

開催日時	平成 1 5 年 1 1 月 6 日（木） 1 3 時～
場 所	リーセントカルチャーホテル
発表者数	1 2 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 6 0 名

平成 16 年度

開催日時	平成 1 6 年 1 1 月 4 日（木） 1 3 時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	1 3 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 5 0 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 2 6 年 1 0 月 2 8 日（火） 1 3 時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	1 1 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 6 0 名

平成 27 年度

開催日時	平成 2 7 年 1 1 月 2 日（月） 1 3 時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	1 0 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 2 8 年 1 0 月 3 1 日（月） 1 0 時 3 0 分～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	1 5 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 2 9 年 1 1 月 1 日（水） 1 0 時 3 0 分～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	1 4 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 30 年度

開催日時	平成 3 0 年 1 1 月 1 日（木） 1 2 時 3 0 分～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	1 3 名
協 賛	株式会社エイト日本技術開発

令和元年度

開催日時	令和元年 1 1 月 5 日（火） 1 3 時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	1 0 名
協 賛	株式会社エイト日本技術開発

令和元年度 環境研究助成報告

8. 令和元年度 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
依馬 正	岡山大学大学院自然 科学研究科	無溶媒で常圧の二酸化炭素を用いる環境調和型 物質生産	3 4

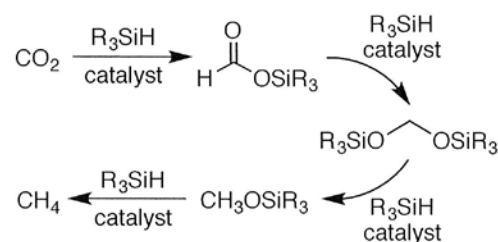
※所属は採択時

無溶媒で常圧の二酸化炭素を用いる環境調和型物質生産

(岡山大学大学院自然科学研究科応用化学専攻) 依馬 正

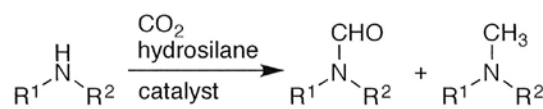
1. はじめに

二酸化炭素 (CO₂) は地球上に豊富に存在する再生可能な C1 炭素源として注目されている。CO₂ を還元しながら有用物質へ変換する方法の開発は、魅力的かつ挑戦的であるため活発に研究されている。Si-H 結合をもつヒドロシランは、空気や水に安定であると同時に適度な反応性を有する点で優れている。その特徴を利用した CO₂ の触媒的ヒドロシリル化反応が活発に研究されている。CO₂ のヒドロシリル化は、まずシリルホルメートを与え、ビスシリルアセタール、メトキシシラン、メタンへと段階的に進行し得る (Scheme 1)。触媒や反応条件に依存して生成物は異なる。これらは反応性中間体として有用である。



Scheme 1. CO₂ のヒドロシリル化反応.

例えば、アミンの存在下で CO₂ のヒドロシリル化反応を行うと、C-H 結合形成反応と C-N 結合形成反応が連続的にワンポットで進行して、*N*-置換ホルムアミドや *N*-メチルアミンが生成することが知られている (Scheme 2)。前者は CO₂ の 2 電子還元、後者は CO₂ の 6 電子還元した生成物に相当する。何が得られるかは触媒や反応条件によって決まる。



Scheme 2. アミンの *N*-官能基化反応.

N-置換ホルムアミドや *N*-メチルアミンは、有機溶媒、有機化合物のビルディングブロック、医薬品の合成中間体として有用性が高い。*N*-メチル化は、*N*-

ホルミル化に比べると反応条件が厳しく、環境負荷の大きな高温・高圧や遷移金属触媒を必要とする場合が多い。

これまで我々は、CO₂ の無溶媒触媒変換反応を中心に研究開発を進めてきた。[1-12] 最近になって、無溶媒条件における CO₂ のヒドロシリル化反応やアミンの *N*-ホルミル化反応に適した触媒として tetrabutylammonium acetate (TBAA, Bu₄N⁺AcO⁻) を見出した。さらにこの反応を加速させる目的で種々の添加剤をスクリーニングし、その過程で、添加剤として使用した BPh₃ のみを用いてコントロール実験を行ったところ、*N*-メチル化反応が常温・常圧でスムーズに進行することを発見した。これは、従来の報告例と比較して著しく温和な反応条件である。ここでは、BPh₃ を触媒として用いるアミンの *N*-メチル化反応と、TBAA を触媒として用いるアミンの *N*-ホルミル化反応を中心に詳しく報告する。

2. 結果と考察

2-1. BPh₃ 触媒 *N*-メチル化反応の最適化

無溶媒で CO₂ とヒドロシランを用いるアミンの *N*-メチル化反応の条件検討を行った (Table 1)。まず、BPh₃ と B(C₆F₅)₃ を比較した。B(C₆F₅)₃ は CH₃CN 中 140 °C、0.5 MPa で *N*-メチル化反応を触媒することが報告されている。検討の結果、30 °C で BPh₃ を用いたときに収率が最も高くなった (entries 1-5)。これらの結果は、B(C₆F₅)₃ が BPh₃ に比べてわずかに立体障害が大きいためであると考えられるが、ホウ素原子の Lewis 酸性性を考えると BPh₃ の方が B(C₆F₅)₃ より触媒活性が高いことは驚きである。次に、還元剤であるヒドロシランを比較した。PhSiH₃ 以外に 5 種類のヒドロシランを調査したが、どのヒドロシランを用いても反応は進行しなかった (entries 6-10)。反応時間を検討したところ、12 時間から 8 時間に短縮することで収率が向上した (entry 11)。反応時間を短くすることにより生成物の副反応 (後述) を抑制でき

たためと考えられる。最後に、溶媒を加えて反応を行い、無溶媒条件との比較を行った (entries 12-14)。調査したすべての溶媒で収率が低下したことから、BPh₃ は無溶媒で有効に *N*-メチル化できる触媒であることが示された。以上の結果より、entry 11 の条件を *N*-メチル化反応の最適条件とした。

Table 1. **1a** の *N*-メチル化反応.^a

$\text{Ph-NH-CH}_3 \xrightarrow[\text{no solvent}]{\text{CO}_2 (1\text{ atm}), \text{R}_3\text{SiH catalyst}} \text{Ph-N(CH}_3)_2$				
entry	R ₃ SiH	catalyst	T (°C)	yield (%) ^b
1	PhSiH ₃	BPh ₃	30	78
2	PhSiH ₃	BPh ₃	40	68
3	PhSiH ₃	B(C ₆ F ₅) ₃	30	0
4	PhSiH ₃	B(C ₆ F ₅) ₃	40	0
5	PhSiH ₃	B(C ₆ F ₅) ₃	80	9
6	Et ₃ SiH	BPh ₃	40	0
7	PhMe ₂ SiH	BPh ₃	40	0
8	Ph ₂ SiH ₂	BPh ₃	40	0
9	Ph ₃ SiH	BPh ₃	40	0
10	(EtO) ₃ SiH	BPh ₃	40	0
11 ^c	PhSiH ₃	BPh ₃	30	86
12 ^{c,d}	PhSiH ₃	BPh ₃	30	51 ^e
13 ^{c,f}	PhSiH ₃	BPh ₃	30	18
14 ^{c,g}	PhSiH ₃	BPh ₃	30	5

^a Reaction conditions: **1a** (55 μL, 0.50 mmol), silane (2.0 mmol), catalyst (5 mol% based on silane), CO₂ (1 atm), 12 h. ^b Determined by ¹H NMR using mesitylene as an internal standard. ^c 8 h. ^d THF (0.5 mL). ^e *N*-Methylformanilide was also formed in 30% yield. ^f CH₃CN (0.5 mL). ^g DMSO (0.5 mL).

2-2. *N*-メチル化反応の基質調査

無溶媒で BPh₃ を触媒として用いた *N*-メチル化反応の基質適用範囲を調査した (Table 2)。フッ素を有する **1b** では **1a** と同様の条件で *N*-メチル体が得られ

た。しかし、塩素または臭素を有する **1c** と **1d** では 30 °C では反応がうまく進行せず、40 °C まで上げることで *N*-メチル体が得られた。それ以外の電子求引性基を有する **1e** と **1f**, **1g** では、それぞれ高い収率で *N*-メチル体を得た。電子供与性基を有する **1h** と **1i** ではわずかに収率が低下し、それぞれ中程度となった。**1a** より立体障害の大きな **1j** では、収率が大きく低下した。より立体障害が大きい **1l** と **1m** では、*N*-メチル化反応は進行しなかった。脂肪族アミン **1k** の場合は、中程度の内標収率で目的物が得られた。

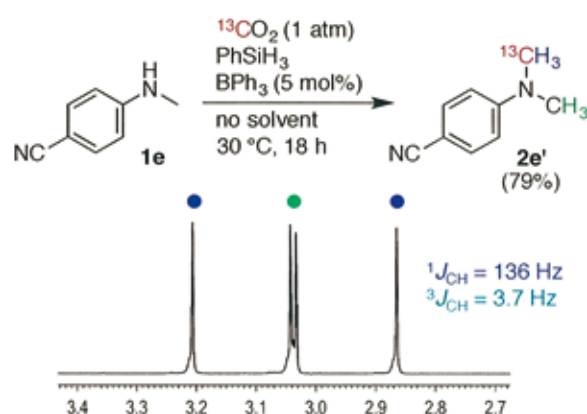
Table 2. 基質適用範囲の調査.^a

$\text{R}^1\text{-NH-R}^2 \xrightarrow[\text{no solvent}]{\text{CO}_2 (1\text{ atm}), \text{PhSiH}_3, \text{BPh}_3 (5\text{ mol}\%)} \text{R}^1\text{-N(CH}_3\text{)-R}^2$				
entry	1	R ¹	R ²	yield (%) ^b
1	1a	Ph	Me	57
2	1b	4-F-C ₆ H ₄	Me	90
3 ^c	1c	4-Cl-C ₆ H ₄	Me	80
4 ^c	1d	4-Br-C ₆ H ₄	Me	88
5	1e	4-CN-C ₆ H ₄	Me	81
6	1f	4-NO ₂ -C ₆ H ₄	Me	86
7 ^{c,d}	1g	4-CO ₂ Me-C ₆ H ₄	Me	95
8	1h	4-OMe-C ₆ H ₄	Me	65
9	1i	4-Me-C ₆ H ₄	Me	56
10	1j	Ph	Et	24
11 ^c	1k	CH ₂ Ph	Me	64 ^e
12	1l	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	0
13	1m	Ph	CH ₂ Ph	0

^a Reaction conditions: **1** (0.50 mmol), PhSiH₃ (250 μL, 2.0 mmol), BPh₃ (24.2 mg, 5 mol% based on PhSiH₃), CO₂ (1 atm), 30 °C, 8 h. ^b Isolated yield. ^c 40 °C. ^d 24 h. ^e Determined by ¹H NMR using mesitylene as an internal standard. *N*-Benzyl-*N*-methylformamide was also formed in 14%.

2-3. $^{13}\text{CO}_2$ を用いた **1e** の *N*-メチル化反応

^{13}C で標識された二酸化炭素 ($^{13}\text{CO}_2$) を用いて **1e** の *N*-メチル化反応を実施したところ、79%で *N*-メチル体 **2e'** を単離できた (Scheme 3)。**2e'** の ^1H NMR を測定したところ、 ^{13}C に直結している水素のシグナルが $^1J_{\text{CH}} = 136 \text{ Hz}$ のダブルットで現れた。 ^{13}C と遠隔カップリングしている水素は $^3J_{\text{CH}} = 3.7 \text{ Hz}$ のダブルットとなった。 ^{13}C NMR では **2e'** のメチル基に由来する強いシグナルが 40.1 ppm に見られた。**2e** と **2e'** の高分解能 EI マススペクトルを測定したところ、**2e** は 146.0841 (M^+)、**2e'** は 147.0880 (M^+) に親イオンピークが観測された。以上の実験により、二酸化炭素が *N*-メチル化反応の炭素源であることが実証された。

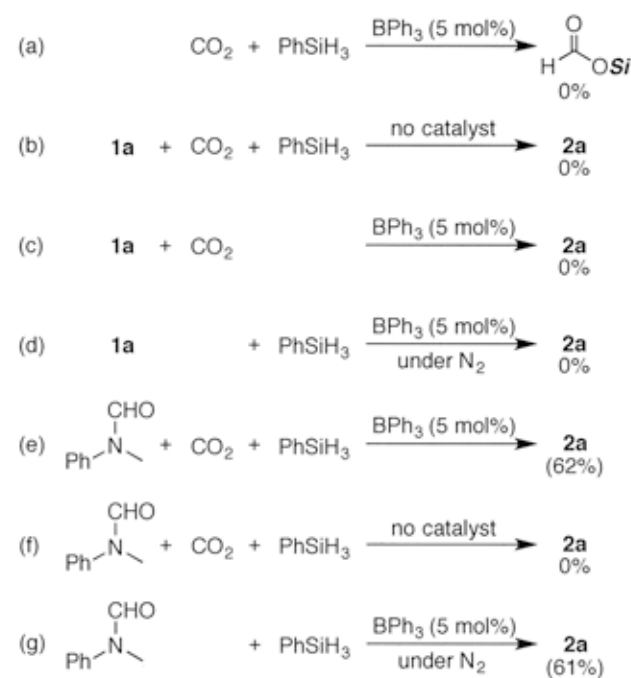


Scheme 3. $^{13}\text{CO}_2$ を用いる **1e** の *N*-メチル化反応。

2-4. コントロール実験

BPh_3 を触媒とした無溶媒 *N*-メチル化の反応機構を調査するためコントロール実験を行った。アミン **1a** なしで CO_2 のヒドロシリル化反応を行ったところ、シリルホルメートの形成は確認できなかった (Scheme 4a)。 BPh_3 あるいは PhSiH_3 あるいは CO_2 を用いないで反応を行ったところ、*N*-メチル体 **2a** は得られなかった (Scheme 4b–d)。従って、*N*-メチル化反応には、 BPh_3 、 PhSiH_3 、 CO_2 がそれぞれ必須である。*N*-メチル化反応の中間体を *N*-ホルミル体と仮定して、*N*-ホルミル体を基質として用いた。その結果、収率 62%で *N*-メチル体 **2a** が得られた (Scheme 4e)。 BPh_3 を除いてこの反応を行うと *N*-メチル体は得られなかった (Scheme 4f)。 CO_2 を除いてこの反応を行うと **2a** が収率 61%で得られた (Scheme 4g)。以上よ

り、*N*-ホルミル体を経由して *N*-メチル体が生成する経路が示唆された。



Scheme 4. コントロール実験。

2-5. CO_2 を用いたアニリンの二量化

1a の *N*-メチル化反応の条件検討の際に副生成物として、**1a** のパラ位でメチレン連結した二量体 **3a** が微量ながら生成していることを確認した。そこで、**3a** を目的物として二量化反応の条件検討を行った。常圧の CO_2 存在下、還元剤として PhSiH_3 を用いて反応を行った (Table 3)。 BPh_3 2.5 mol%では **3a** は得られなかった (entries 1, 2)。そこで、 BPh_3 を 5.0 mol%まで増やして温度検討を行った。40 °Cで最も収率が高くなり、80 °Cでは収率が低下した (entries 3–5)。 CO_2 を 2 MPa まで加圧して反応を行ったところ、収率は低下した (entry 6)。

1a からの合成では **3a** の収率向上は難しいと考え、**2a** を用いて検討を進めた。常圧の CO_2 存在下、 PhSiH_3 (2.0 mmol)、 BPh_3 (5.0 mol%) を用いて反応した (Table 3)。反応温度をスクリーニングした結果、40 °Cで最も収率良く **3a** が得られた (entries 7–12)。そこで、 BPh_3 を 10 mol%へ増やして反応を行ったところ、**3a** が内標収率 70% (単離収率 54%) で得られた (entry 13)。最後に、 BPh_3 を 15 mol%に増やして反応を行ったが、収率は変わらず 70%となった (entry 14)。

Table 3. アニリンのメチレン架橋化反応。^{a, b}

CO_2 (1 atm) PhSiH_3 BPh_3 no solvent 1a: R = H 2a: R = Me				
entry	1	BPh_3 (mol%)	T (°C)	yield (%) ^c
1 ^d	1a	2.5	40	trace
2	1a	2.5	40	trace
3	1a	5	30	22
4	1a	5	40	29
5	1a	5	80	trace
6 ^c	1a	5	40	17
7	2a	5	30	31
8	2a	5	35	44
9	2a	5	40	53
10	2a	5	45	41
11	2a	5	50	18
12	2a	5	60	10
13	2a	10	40	70 (54) ^f
14	2a	15	40	70

^a Method A: **1a** (55 μL , 0.50 mmol), PhSiH_3 (500 μL , 4.0 mmol), BPh_3 (loading % based on PhSiH_3), CO_2 (1 atm), 24 h. ^b Method B: **2a** (63 μL , 0.50 mmol), PhSiH_3 (250 μL , 2.0 mmol), BPh_3 (loading % based on PhSiH_3), CO_2 (1 atm), 24 h. ^c Determined by ^1H NMR using mesitylene as an internal standard. ^d 8 h. ^e CO_2 (2 MPa). ^f Isolated yield in parenthesis.

3-1. アミンの *N*-ホルミル化反応の最適化

無溶媒で CO_2 とヒドロシランを用いるアミンの *N*-ホルミル化反応を調査した。アミン **1a** (0.5 mmol)、触媒として TBAA (5 mol%)、還元剤として種々のヒドロシラン (2 mmol)を用いて反応を行った (Table 4)。その結果、30 °Cで PhSiH_3 を用いた時に最も高い転換率を与えた (entries 1–5)。触媒量を削減できるか検討した結果、1 mol%でもかなり反応することが分かった (entries 5–8)。polymethylhydrosiloxane (PMHS) はシリコン産業の廃棄物で安価に入手可能である。

PMHS (400 μL , Si–H: 6 mmol)を用いたとき、30 °C で反応が進行し、高い転換率が得られた (entries 9–10)。

Table 4. **1a** の *N*-ホルミル化反応。^a

CO_2 (1 atm) hydrosilane TBAA no solvent 1a				
entry	hydrosilane	temp. (°C)	TBAA (mol%)	yield (%) ^b
1	PhMe_2SiH	60	5	42
2	Ph_2MeSiH	60	5	64
3	Ph_3SiH	60	5	72
4	Ph_2SiH_2	30	5	56
5	PhSiH_3	30	5	82
6	PhSiH_3	30	3	90
7	PhSiH_3	30	2	83
8	PhSiH_3	30	1	74
9 ^c	PMHS	30	2.5	58
10 ^d	PMHS	30	2.5	82

^a Reaction conditions: **1a** (0.50 mmol), CO_2 (1 atm), hydrosilane (2.0 mmol), TBAA (loading % based on silane), 12 h. ^b Determined by ^1H NMR using mesitylene as an internal standard. ^c PMHS (270 μL , Si–H: 4 mmol). ^d PMHS (400 μL , Si–H: 6 mmol).

3-2. *N*-ホルミル化反応の基質調査

無溶媒で CO_2 と PhSiH_3 を用いるアミンの TBAA 触媒 *N*-ホルミル化反応の基質適用範囲を調査した (Table 5)。*N*-メチルアニリン誘導体は、電子求引性基や電子供与性基の存在に影響されことなく目的物へ変換された (entries 1–5)。窒素原子上のメチル基を大きな置換基にしていくと徐々に反応性が低下し (entries 6–8)、置換基がさらに大きくなると、反応性が劇的に低下した (entry 9)。脂肪族アミンでも適度な反応性を示した (entry 10)。*N,O*-dimethylhydroxylamine (**1k**)でもスムーズに反応して Weinreb ホルムアミドを与えた。二酸化炭素を化学原料として用いる Weinreb ホルムアミドの初めての合成例となった。

Table 5. 基質適用範囲の調査.^a

$\begin{array}{c} \text{R}^1\text{---}\text{N}(\text{H})\text{---}\text{R}^2 \\ \text{1} \end{array} \xrightarrow[\text{TBAA, no solvent}]{\text{CO}_2 (1 \text{ atm}), \text{hydrosilane}} \begin{array}{c} \text{CHO} \\ \\ \text{R}^1\text{---}\text{N}(\text{H})\text{---}\text{R}^2 \\ \text{2} \end{array}$				
entry	1	R ¹	R ²	yield (%) ^b
1	1a	Ph	Me	76
2	1b	4-Cl-C ₆ H ₄	Me	64
3	1c	4-Br-C ₆ H ₄	Me	64
4	1d	4-OMe-C ₆ H ₄	Me	64
5	1e	4-Me-C ₆ H ₄	Me	91
6	1f	Ph	Et	97
7	1g	Ph	<i>n</i> -Pr	74
8	1h	Ph	CH ₂ CH=CH ₂	58
9	1i	4-Me-C ₆ H ₄	4-Me-C ₆ H ₄	3
10	1j	PhCH ₂	Me	69
11	1k	Me	OMe	95 ^c

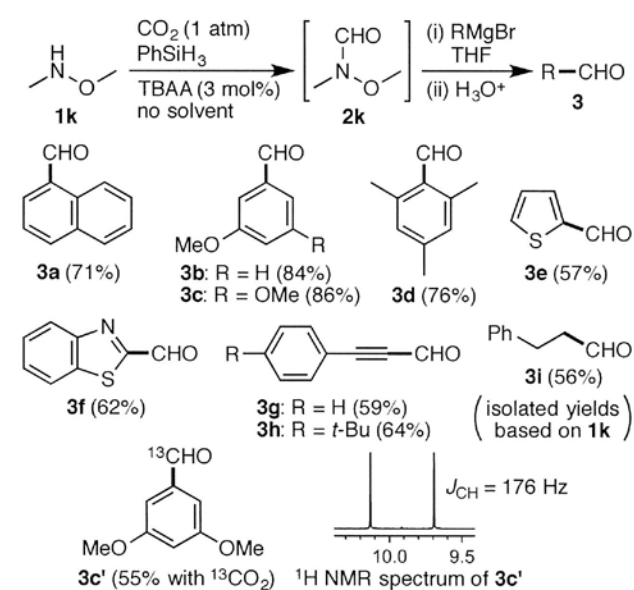
^a Reaction conditions: **1** (0.50 mmol), CO₂ (1 atm), PhSiH₃ (2.0 mmol), TBAA (5 mol% based on PhSiH₃), 30 °C, 12 h. ^b Isolated yield. ^c Reaction conditions: **1k** (2.0 mmol), CO₂ (1 atm), PhSiH₃ (2.0 mmol), TBAA (3 mol%), 0 °C, 1 h then 20 °C, 5 h. Yield determined by ¹H NMR using mesitylene as an internal standard.

3-3. ワンポットアルデヒド合成

無溶媒で Weinreb ホルムアミドを合成できることを利用して、そのままワンポットで Grignard 試薬を加えれば、アルデヒドを合成できるのではないかと考えた。アルデヒドは、適度な安定性と反応性を兼ね備えているため様々な反応に使える有用化合物である。二酸化炭素をアルデヒド基（ホルミル基）へ変換する技術は未開拓領域である。

実験結果を Scheme 5 に示す。芳香族アルデヒド、ヘテロ芳香族アルデヒド、プロピナール、脂肪族アルデヒドをワンポットで合成できた。¹³C で標識された二酸化炭素 (¹³CO₂) を用いることにより、導入されたホルミル基が二酸化炭素由来であることを証明した。シリルホルメートに Grignard 試薬を加えても

アルデヒドは得られなかったため、Weinreb ホルムアミドを経由する合成法は意義深い。

**Scheme 5.** ワンポットアルデヒド合成.

4. 結論

BPh₃ を触媒として用いることで、CO₂ を炭素源とするアミンの *N*-メチル化反応が常温・常圧で進行した。基質適用範囲を調査したところ、電子求引性基及び電子供与性基を有する *N*-メチルアニリン誘導体、脂肪族アミンは中程度以上の収率で *N*-メチル体へ変換された。しかし、立体障害が大きい基質や、アニリンとインドールでは反応が進行しなかった。コントロール実験によって、アミン、CO₂、PhSiH₃、BPh₃ はそれぞれ反応に必須であり、反応過程で *N*-ホルミル体を経由している可能性が示唆された。BPh₃ をより多く加えることでさらに反応が進行し、パラ位でメチレン連結した二量化体が得られた。

TBAA を触媒として CO₂ を炭素源とするアミンの *N*-ホルミル化反応が温和な条件で進行した。無溶媒で Weinreb ホルムアミドを合成できることを利用して、そのまま Grignard 試薬を加えてワンポットでアルデヒドを合成した。CO₂ を化学原料とする環境調和型有機合成を開拓できた。

5. 本研究助成の成果発表

- (1) Murata, T.; Hiyoshi, M.; Ratanasak, M.; Hasegawa, J.; Ema, T. *Chem. Commun.* **2020**, 56, 5783–5786.

6. 参考文献

- (1) Ema, T.; Miyazaki, Y.; Koyama, S.; Yano, Y.; Sakai, T. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 4489–4491.
- (2) Ema, T.; Miyazaki, Y.; Shimonishi, J.; Maeda, C.; Hasegawa, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 15270–15279.
- (3) Maeda, C.; Taniguchi, T.; Ogawa, K.; Ema, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 134–138.
- (4) Maeda, C.; Shimonishi, J.; Miyazaki, R.; Hasegawa, J.; Ema, T. *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 6556–6563.
- (5) Maeda, C.; Sasaki, S.; Ema, T. *ChemCatChem* **2017**, 9, 946–949.
- (6) Ema, T.; Yokoyama, M.; Watanabe, S.; Sasaki, S.; Ota, H.; Takaishi, K. *Org. Lett.* **2017**, 19, 4070–4073.
- (7) Maeda, C.; Sasaki, S.; Takaishi, K.; Ema, T. *Catal. Sci. Technol.* **2018**, 8, 4193–4198.
- (8) Maeda, C.; Ogawa, K.; Sadanaga, K.; Takaishi, K.; Ema, T. *Chem. Commun.* **2019**, 55, 1064–1067.
- (9) Takaishi, K.; Okuyama, T.; Kadosaki, S.; Uchiyama, M.; Ema, T. *Org. Lett.* **2019**, 21, 1397–1401.
- (10) Maeda, C.; Mitsuzane, M.; Ema, T. *Org. Lett.* **2019**, 21, 1853–1856.
- (11) Takaishi, K.; Nath, B. D.; Yamada, Y.; Kosugi, H.; Ema, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 58, 9984–9988.
- (12) Deng, J.; Ratanasak, M.; Sako, Y.; Tokuda, H.; Maeda, C.; Hasegawa, J.; Nozaki, K.; Ema, T. *Chem. Sci.* **2020**, 11, in press.

令和 2 年度 環境研究助成報告

9. 令和2年度 環境研究助成報告

界面構造制御による 超軽量・高強度カーボンナノチューブ紡績系の創成

岡山大学大学院自然科学研究科 井上 寛隆
岡山大学大学院自然科学研究科 林 靖彦
岡山大学大学院自然科学研究科 中川 智広

① 特定研究

助成対象者	所 属	研究テーマ	ページ
井上寛隆	岡山大学大学院自然科学研究科	界面構造制御による超軽量・高強度カーボンナノチューブ紡績系の創成	4 1
渡邊貴一	岡山大学大学院自然科学研究科	温室効果ガスの大幅削減を指向した環境低負荷な蓄熱マイクロカプセルの開発	4 7
武田 真	岡山大学資源植物科学研究科	土壌伝染性ウイルスで起こる「大麦縞萎縮病」に対するオオムギ抵抗性遺伝子の多様性解析	5 3
片山侑駿	岡山大学大学院自然科学研究科	ウナギの遡上多様性を制御する生理機構の解析～ ”青鰻” 形成のメカニズム	5 9
金尾忠芳	岡山大学大学院環境生命科学研究科	湖底の還元力を利用して富栄養化を防止する新規酵素電極の開発	6 3
加藤鎌司	岡山大学大学院環境生命科学研究科	環境配慮型マスクメロン品種の育成を可能にする種間雑種の作出と特性解析	7 3
向山 徹	岡山県立大学デザイン学部	環境配慮型技術の歴史的研究-旧閑谷学校のランドスケープを構成する水利技術について	7 7

② 一般研究

助成対象者	所 属	研究テーマ	ページ
吉田圭介	岡山大学大学院環境生命科学研究科	旭川下流部の感潮域におけるアユの好適な産卵場の検討	8 2
島内寿徳	岡山大学大学院環境生命科学研究科	環境低負荷な還元剤フリー金属ナノ粒子形成法とその応用	8 8
泉 実	岡山大学大学院環境生命科学研究科	吸引式ボルテックス濃縮法を用いた環境調和型有機合成反応の開発	9 4
寺東宏明	岡山大学自然生命科学研究支援センター	環境浄化技術としての水中放電プラズマの可能性	9 8
三村真紀子	岡山大学大学院自然科学研究科	希少種を含むイカリソウ属の系統分類学的研究	1 0 4
源田亜衣	岡山大学大学院自然科学研究科	サンゴ骨格中の U/Ca 比と $\delta^{13}\text{C}$ からみるロンボク海峡における人為起源 CO ₂ の影響の検討	1 1 0

※所属は採択時

1. はじめに

炭素繊維からなる織物を、エポキシ樹脂などの高分子材料によって固めた炭素繊維強化プラスチックの応用が広がっている。軽量性と高強度性を併せ持ち、飛行機や自動車のボディ、風力発電のブレードに適用されることで部材の軽量化と高耐久化に繋がりを、温室効果ガス排出量の削減、脱炭素社会の実現に寄与することができる[1]。

数ナノメートルの直径を持つ円筒状の炭素物質であるカーボンナノチューブ（Carbon nanotube: CNT）は、これまでに発見されている物質で最高水準の強度となる引張破断応力 80~100 GPa（炭素繊維: <7 GPa）を有することが実験的に実証されている[2]。このCNTを軸方向に無数に束ねた集合体であるCNT紡績糸は、ナノサイズのCNTの特徴を生かしたマクロスケールな線材となる。軽量かつ高強度であるという物理的な特徴に加え、将来的な低コスト化が見込める点も産業応用上の大きな利点となる。無数のCNTが垂直配向成長したCNTフォレストに対し、基板端に粘着テープ等を接触させ水平方向に引き出すのみというシンプルで低コストな製造プロセスでCNT連続繊維が作製される（乾式紡績法[3]）。また、CNTフォレスト自体は、熱エネルギー、再利用可能な基板、安価な産業ガス（メタン、エチレン、アセチレン、水素、アルゴン等）のみによって合成可能なため、総合的な作製プロセスの低コスト化が見込める。

ただし、現状報告されているCNT紡績糸の強度は、炭素繊維に劣る0.5~2 GPa程度の範囲のものがほとんどである。この事実、CNT紡績糸製造プロセスに関するさらなる技術開発が必要であることを示している。ここで、CNT紡績糸の強度発現要

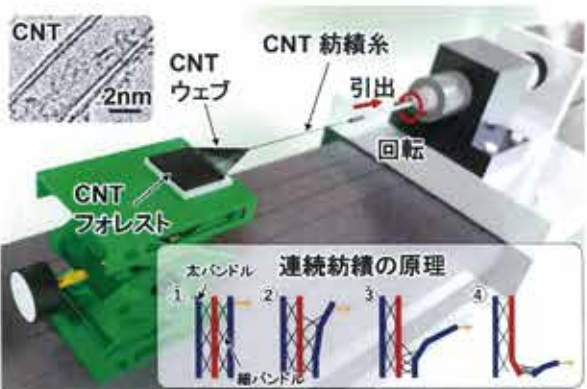


図 1 CNT の乾式紡績法

因は、「CNT単体の強度」と「CNT間の相互作用」の2つに大別される。

まず、CNT単体の強度に関して、理想的なCNTは非常に高い機械強度（~100 GPa）を有するが、現実的に合成されるCNTには多くの結晶欠陥が存在している。そのため、高強度化のためには合成後に施す欠陥修復プロセスの開発が必要となる。過去の報告では、昇降温に数十時間も必要な雰囲気加熱炉での加熱処理や、真空中での通電加熱、レーザー照射等の高コストなプロセスの報告に留まっており、産業的な利用には到底向かない[4, 5]。

次に、CNT間相互作用に関して、CNT紡績糸は有限長のCNTが無数に束ねられた集合体であるため、CNT間の界面構造を制御し強固な結合を形成することによって界面滑りを抑制することが重要となる。申請者等はこれまでの研究により、CNT紡績糸を短時間高温で加熱することでCNT表面に存在する非晶質炭素がグラフェン構造へと変化し、強度や電気伝導、熱伝導といった物理特性を向上させることを明らかにしてきた[6, 7]。

これらの現状を踏まえ、本研究では、産業利用可

能な低コストなプロセスによって、欠陥修復と CNT 間相互作用向上を実現する手法の開発を目指した。これまで真空中で数センチメートルずつの試料を通电加熱していたところを、大気圧下で連続的に通电加熱可能なセットアップを新規に構築した。本セットアップを使用し、通电加熱時の温度、張力、異種物質添加が CNT 紡績糸強度へ及ぼす影響について調査した。

2. 実験方法

乾式紡績可能な CNT フォレストは熱化学気相成長法によって合成した[8]。CNT の層構造と界面状態は、透過型電子顕微鏡 (Transmission electron microscope: TEM, JEM-2100F, 日本電子株式会社) を使用して観察した。本研究で使用した未処理の CNT は、層数が 2-7 層、チューブ径が 3.6-8.4 nm であった。

CNT 紡績糸への通电加熱は、図 2 のように 3 段階のプロセスに分けて実施した。まず、CNT フォレストを回転ステージに設置し、CNT ウェブの引き出し方向を中心軸とする回転を掛けながら、紡績糸巻取りモータに設置しているボビンに巻き取っていくことで連続的に長尺な CNT 紡績糸を作製する (図 2 (a), 「紡績工程」)。基板回転速度は 1000 rpm、紡績糸巻取り速度は 1000 mm/min に設定した。また、本プロセスにおいて、エタノールで湿らせたキムワイブ®上に CNT 紡績糸を滑らせることで、CNT バンドルの凝集、高密度化を促した。

次に、ボビンに巻き取った CNT 紡績糸を引き出し、150 mN の張力を掛けながら 500 mm/min の巻取速度で反対側のボビンに巻き取った (図 2 (b), 「テンショニング工程」)。張力はテンショニングロードの位置関係を調節し、ボビンに巻き取る直前の位置でテンションゲージ (TK50CN, 株式会社 中村製作所) を用いて張力を確認することで、規定の張力がかかるよう調整した。本プロセスによって、引張破断応力が 1.48 ± 0.07 GPa から 1.56 ± 0.01 GPa へ、ヤング率が 79.4 ± 5.49 GPa から 134.6 ± 1.27 GPa へと向上した。

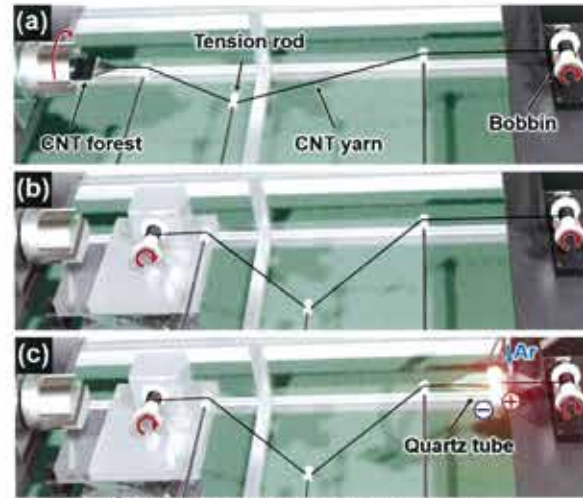


図 2 連続通电加熱セットアップ

最後に、石英管にアルゴンガスを 5 L/min で流しながら、石英管内に設置している 2 つのタングステン電極に CNT 紡績糸をスライドさせた。この際、電極に規定の電力を印加することで連続的な通电加熱を実現した (図 2 (c), 「通电加熱工程」)。加熱温度は、2 波長 (0.9 および 1.55 μm) の測定波長を用いる二色放射温度計 (IR-CZH, 株式会社 チノー) を用いて、各実験における設定温度 (1400 K から 3300 K) となるように印加電圧を調整した。電極間距離およびボビン巻取速度は、それぞれ 10 mm、10 mm/s と設定したため、CNT 紡績糸の各点に対する加熱時間は 1 s となる。CNT 紡績糸に掛かる張力は、テンショニング工程と同様にテンショニングロードの位置、および電極の角度を調整することで、規定の張力になるように設定した。

各処理を施した CNT 紡績糸の引張破断応力とヤング率は、引張試験機 (AGS-5NX, 株式会社 島津製作所) を用いて評価した。引張試験片は、ゲージ長 25 mm の紙製治具にシアノアクリレート系瞬間接着剤 (アロンアルファ, 東亜合成株式会社) を用いて CNT 紡績糸を固定し準備した。引張試験時の引張速度は 1 mm/min に固定し、1 条件につき少なくとも 3 サンプル評価した。

CNT 紡績糸の表面形態と直径は、走査型電子顕微鏡 (Scanning electron microscopy: SEM, JSM-6060LA, 日本電子株式会社) を用いて観察、評価

した。

ラマンスペクトルはラマン分光光度計 (NRS-4500NMDs, 日本分光株式会社) の 532 nm レーザーを用いて測定した。ラマンスペクトルから得られる G バンド (1590 cm^{-1}) と D バンド (1350 cm^{-1}) の強度比 I_G/I_D を、CNT 紡績糸の結晶性の指標とした。CNT バンドルの配向性は、X 線回折 (X-ray diffraction: XRD, SmartLab, 株式会社 リガク) 測定によって評価した。4 結晶モノクロメータにより単色化された高強度の X 線ビームを用いることで高分解能測定が可能となっている。 $2\theta_x$ を CNT の 002 格子面にあたる 25.36° に固定した状態で、 ϕ を $0-360^\circ$ までスキャンし測定した。サンプルは、アルミワッシャに CNT 紡績糸 100 本をカーボンテープで固定することで準備した。CNT 紡績糸の断面は、集束イオンビーム (Focus ion beam: FIB, JIB-4500, 日本電子株式会社) を用いて切断、研磨した後に、SEM を用いて観察した。

3. 実験結果・考察

図 2 に示す連続通电加熱プロセスにより長尺な CNT 紡績糸を加熱処理し、その強度特性を評価した。図 3 (a) に通电時の電力と温度の関係を示す。印加電圧、電力の増加に伴って発熱温度が向上している。図 3 (b) に加熱温度に対する I_G/I_D の変化を示す。 I_G/I_D は 2400 K を超えたあたりから向上し始め、3300 K での加熱では未処理 CNT 紡績糸の 50 倍程度にまで達した。また、通电時の張力条件を変化させても I_G/I_D には違いが見られなかった。

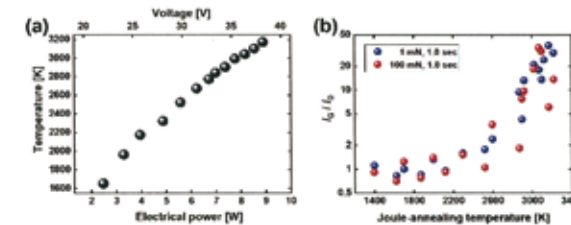


図 3 通电時の電力・温度・ I_G/I_D の関係

図 4 に I_G/I_D と引張破断応力、ヤング率の関係をそれぞれ示す。引張破断応力、ヤング率ともに I_G/I_D と正の相関があり、 I_G/I_D の向上に伴って機械

強度が向上している。最大値はそれぞれ 3.2 GPa、260 GPa まで達した。機械強度に関しては通电加熱時の張力条件によって大きく違いが現れており、未処理 (引張破断応力: 1.56 ± 0.01 GPa, ヤング率: 134.6 ± 1.27 GPa) からの変化率は、1 mN と比較し、100 mN は 2 倍以上効果的に高強度化していた。

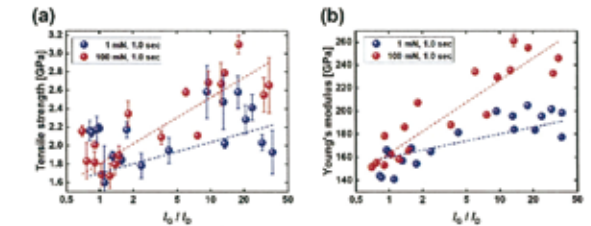


図 4 I_G/I_D と引張強度の関係

通电加熱後のバンドル構造変化を調査するため、CNT 紡績糸の表面、引張試験後の破断箇所、FIB で切断および研磨した断面を、SEM を用いて観察した結果を図 5 に示す。CNT 紡績糸の直径は、通电加熱により数 μm 程度減少していた。これは、CNT 紡績糸中に存在する一部のアモルファスカーパーン (a-C) や CNT の昇華、あるいは CNT バンドル間距離が縮まり高密度化したことが原因として考えられる。また、撚り角についてはほぼ違いが見られなかった。CNT 紡績糸中の一部の物質が除去されるなどして細径になる場合、表面撚り角も同時に浅くなるはずであるが、本実験で用いた CNT 紡績糸は作製時点で表面撚り角が小さくなるように条件設定されたため、表面撚り角に大きな違いが見られなかったと考えられる。

	Surface	Breakpoint	Cross-section	Density [g/cm ³]
Pristine				0.85
1 mN-3000 K				1.01
100 mN-3000 K				1.49

図 5 CNT 紡績糸の表面形態と密度

引張試験後の破断箇所は、紡績糸先端が Pristine では太く、通电加熱後では細くなっていた。この形

状より、Pristine では多くの CNT バンドルがほぼ同じ箇所で破断し（クリーンブレイク）、通電加熱後の CNT 紡績糸では一部の細い CNT バンドルが滑って引き抜けた状態となっていると考えられる。

Pristine のように同じ箇所で一斉に破断するという現象は、CNT バンドルの強度が弱く、紡績糸引張時にバンドルが破断してしまうために起こると予測される。個々の CNT バンドルが強固な場合、大部分のバンドルは破断せず、最も接続強度の弱いバンドルのみが滑って引き抜ける。したがって、高温での加熱によって CNT バンドルの強度が向上したため、図 5 のような破断形態の違いが見られたものと考えられる。

Pristine の CNT 紡績糸断面には、200 nm 程度の空隙が多数観察された。これらの小さな空隙は通電加熱後にはほとんど観察されなくなり、1 mN-3000 K のサンプルに 200-500 nm 程度の比較的大きなサイズの空隙が数箇所観察されたのみであった。この空隙の減少は嵩密度の変化にも表れており、Pristine と比較して 1 mN-3000 K では約 1.1 倍、100 mN-3000 K では約 1.7 倍まで高密度化していた。

CNT バンドルの配向性を評価するため、XRD 装置を用いて CNT の 002 格子面に対する ϕ スキャン測定を実施した。CNT の 002 格子面は、グラフェンシートの層間構造に対応することから、配向性によってピークの形状が変化する。 ϕ スキャン測定を実施し、90°、270°付近に現れるピークを Voigt 関数によってフィッティングし半値幅を算出した結果、Pristine の 18.7°から 100 mN-3000 K では 12.9°まで減少していた。ピークの半値幅が小さくシャープなほどバンドルの配向方向が揃っていることを示すことから、張力を伴う通電加熱によって CNT バンドルの配向性が向上していることが確認された。

張力を伴う通電加熱による嵩密度の向上および高配向化は、図 6 に示す一部の波状 CNT バンドルの引き伸ばしに関係していると考えられる。乾式紡績法により作製される CNT シートを SEM 観察すると、図 6 左図に示すような波状の形態を持っていることが確認できる。この状態で CNT 紡績糸の軸

方向に対して張力を負荷すると、一部のバンドルのみが張り詰めた状態で荷重負担することになる（図 6 中心図）。この状態で電圧を印加すると、バンドル長が短く電気抵抗が小さい引き伸ばされた状態の CNT バンドルに電流が集中する可能性があり、これによって張り詰めていたバンドルが耐電流密度を超える、あるいは耐熱温度を超えることで選択的に破断され、隣接する波状 CNT バンドルが引き伸ばされる。この結果、CNT 紡績糸の嵩密度と配向性が向上したと推測される（図 6 右図）。また、荷重負担のばらつきも解消され、より多くの CNT バンドルで引張強度を発現することができるようになると考えられる。

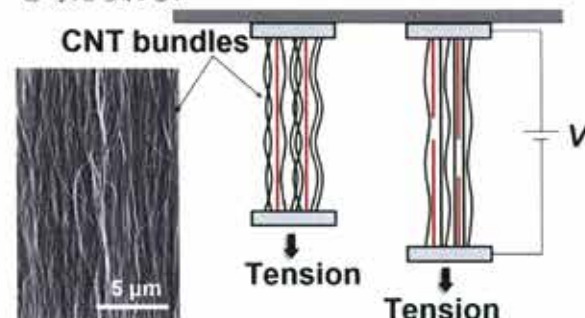


図 6 通電時のバンドル延伸現象

過去の報告において、CNT 紡績糸への張力を伴う通電加熱時に紡績糸のサンプル長が伸びることが示されており、さらにその変化量は印加電力および負荷張力の増加とともに大きくなることが分かっている[9]。この現象は、高張力条件において通電加熱することで部分的な短尺バンドルの破断、滑りが発生し、CNT 紡績糸が効果的に高密度化、高配向化されるという本研究の実験結果、考察をサポートするものとなる。

CNT バンドル界面の構造変化を確認するため、引張試験後の破断箇所先端を図 7 (a)に示すグリッド作製方法により準備し TEM 観察した。図 7 (b)に示す Pristine の CNT バンドルには、CNT が α -C に覆われている様子が確認できる。通電加熱後の 1 mN-3000 K（図 7 (c)）、100 mN-3000 K（図 7 (d)）の CNT バンドル表面には、 α -C のような粒状の物質が僅かに減少していることが確認された。さらに

通電加熱後には黄色枠で示す楕円状の物質が複数観察され、特に 100 mN-3000 K のサンプルには観察領域一面にわたって多くのフレーク状の物質が存在していた。通電加熱時の張力が、観察されたフレークの生成量増加に寄与していることが示唆される。

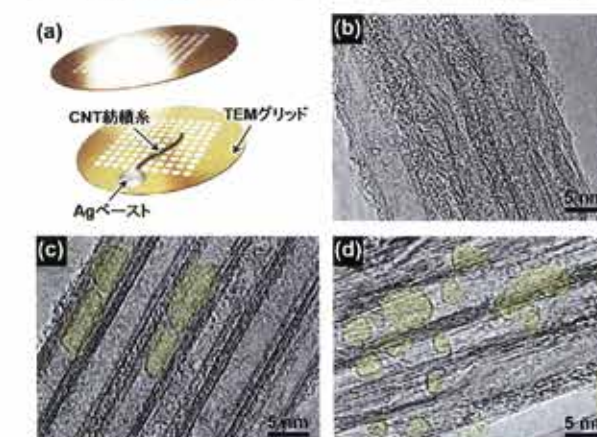


図 7 TEM 観察結果 (a) 観察試料準備、(b) Pristine、(c) 1 mN-3000 K、(d) 100 mN-3000 K

過去の文献にて、超高速時間分解電子線回折法による実験データと理論計算を組み合わせることで、CNT に囲まれた空間において、高温下で効果的に α -C からグラフェンへの相転移が促進されることが示されている[7]。本論文では、CNT に挟まれ熱振動方向が制限された空間において、 α -C と CNT との化学的相互作用が強められることで、グラフェン化が容易に起こる場となっている可能性があることが説明されている。つまり、張力を伴う通電加熱によって CNT バンドルの高密度化および高配向化が起こり、これによって α -C と CNT との化学的相互作用がさらに強められることでグラフェンへの相転移がより進行したと考えられる。

以上の実験結果から、 α -C が高強度化に影響している可能性が示された。さらなる高強度化を目指し、CNT 紡績糸を炭化水素源となる液体である流動パラフィンに溶液浸漬した後、通電加熱を施すプロセスを検証した（図 8）。合成時に偶発的に生成される α -C に加え、意図的に炭素源を付与した状態で加熱処理を施すことで多量のグラフェンを生成させることが目的となる。

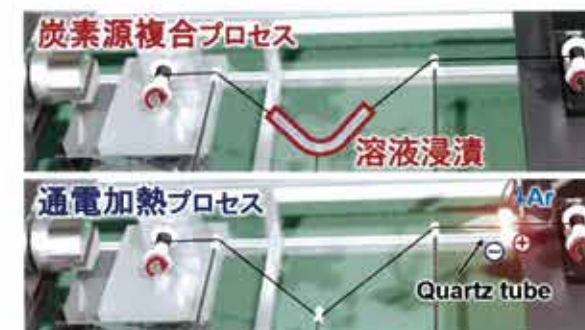


図 8 異種物質複合通電加熱

図 9 に、Pristine、パラフィン浸漬のみ、パラフィン浸漬後通電加熱（100 mN、3000 K）を施した CNT 紡績糸の引張破断応力とヤング率を示す。パラフィン浸漬のみでも 10~20%程度強度が向上している。これは、パラフィンが持つ CNT との濡れ性の良さによるものだと考えられる。パラフィンが CNT 紡績糸中に入り込み、CNT がパラフィンにコーティングされる。つまり CNT 間滑りが起こりやすい状態を作る。この状態で紡績糸にわずかに張力を加えることで、部分的に負荷が集中しているバンドル部分が滑り、紡績糸全体の配向性が向上することで全体的な荷重負担が均一化される。これにより、パラフィン浸漬のみでも強度が向上したと考えられる。

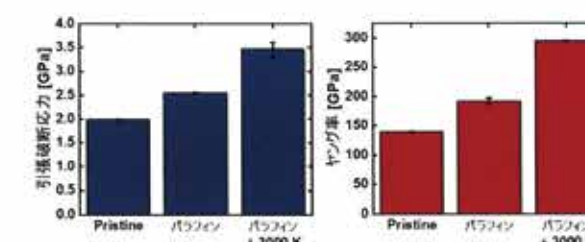


図 9 パラフィン複合 CNT 紡績糸における通電加熱前後の機械強度

さらに、このパラフィンが CNT に付着した状態で通電加熱を施すと Pristine の 2 倍近く高強度化し、最大破断応力 3.6 GPa、ヤング率 300 GPa を示した。パラフィンが構造変化したことによるグラフェン多量生成や、CNT 間結合などを予測しているが、現状はそれらを裏付けるデータは取れていない。今後の実験により本プロセスの原理を詳細に解

明し、さらなる高強度化に繋げるプロセス開発が必要となる。

本研究ではさらに、通電加熱による欠陥修復に加え、通常の加熱処理では修復しきれない大きなキンクの修復や、CNT 間の結合形成が引き起こされることを期待し、炭素の取り込みおよび再構成が可能な鉄を CNT 紡績糸中に微量添加し、この鉄が CNT 紡績糸の高強度化に寄与するかを調査した。

まず真空蒸着により CNT フォレスト上部に鉄を 10 nm 堆積させる。その CNT フォレストより引き出した紡績糸を、図 2 のセットアップ（電極間距離：10 mm）を用いて、アルゴン雰囲気下で張力を掛けながら連続的に通電加熱した。ここで、通電加熱条件は温度 2700 K、張力 300 MPa、加熱時間 1 秒に固定した。加熱前の CNT 紡績糸の引張破断強度は鉄触媒の有無に関わらずほぼ同値であったが、加熱後の強度は、鉄無しの CNT 紡績糸が 2.6 GPa、鉄添加 CNT 紡績糸が 3.4 GPa と優位な差を見せた。本実験に関しても、CNT の結晶性、CNT 間接合情報、バンドル形態など、さらなる解析が求められる。

4. まとめ

CNT 紡績糸に対する張力を伴う連続的な通電加熱セットアップを新規に構築し、この処理により引張破断応力（～3.6 GPa）とヤング率（～300 GPa）を大幅に向上させた。SEM 観察、XRD 測定、重量評価により、張力を伴う通電加熱が CNT 紡績糸の嵩密度と配向性を向上させることを明らかにした。また、張力を伴う通電加熱後に、CNT バンドルが多くのグラフェンフレイクによって覆われていることが TEM 観察により示された。多量なグラフェンフレイクの生成は、CNT 間あるいは CNT-グラフェン間のファンデルワールス力を強化し、CNT 紡績糸の高強度化に寄与する。本結果をもとに、さらなるグラフェン生成を目指した流動パラフィンへの事前浸漬では、浸漬のみで 20%程度、浸漬後通電加熱を施すことで 100%程度高強度化した（最大破断応力: 3.6 GPa、ヤング率: 300 GPa）。通電時の鉄微

粒子の触媒効果も見られ、今後の研究によってグラフェン生成量、CNT 間結合などに関する詳細な裏付けデータを取得し、詳細な原理を解明していく必要がある。

4. 参考文献

[1] G. D. Goh, Y. L. Yap, S. Agarwala, W. Y. Yeong, “Recent Progress in Additive Manufacturing of Fiber Reinforced Polymer Composite.” *Adv. Mater. Technol.* **4** (1), 1800271 (2018).
[2] Y. Bai, R. Zhang, X. Ye, Z. Zhu, H. Xie, B. Shen, D. Cai, B. Liu, C. Zhang, Z. Jia, S. Zhang, X. Li, F. Wei, “Carbon nanotube bundles with tensile strength over 80 GPa.” *Nat. Nanotechnol.* **13**, 589–595 (2018).
[3] K. Jiang, Q. Li, S. Fan, “Spinning continuous carbon nanotube yarns.” *Nature* **419**, 801 (2002).
[4] M. Scholz, Y. Hayashi, V. Khavrus, D. Chujo, H. Inoue, M. Hada, A. Leonhardt, B. Büchner, S. Hampel, “Resistance-heating of carbon nanotube yarns in different atmospheres.” *Carbon* **133**, 232–238 (2018).
[5] T. Kim, A. Hayashi, H. Nikawa, K. Shirasu, G. Yamamoto, T. Hashida, A. Hosono, H. Kawada, “Effect of graphitization on mechanical properties of untwisted carbon nanotube yarn and its strength development mechanism.” *Trans. JSME (in Japanese)* **84**, 860 (2018).
[6] M. Hada, T. Hasegawa, H. Inoue, M. Takagi, K. Omoto, D. Chujo, S. Iemoto, T. Kuroda, T. Morimoto, T. Hayashi, T. Iijima, T. Tokunaga, N. Ikeda, K. Fujimori, C. Itoh, T. Nishikawa, Y. Yamashita, T. Kiwa, S. Koshihara, S. Maeda, Y. Hayashi, “One-minute Joule Annealing Enhances the Thermoelectric Properties of Carbon Nanotube Yarns via the Formation of Graphene at the Interface.” *ACS Appl. Energy Mater.* **2** (10), 7700–7708 (2019).
[7] M. Hada, K. Makino, H. Inoue, T. Hasegawa, H. Masuda, H. Suzuki, K. Shirasu, T. Nakagawa, T. Seki, J. Matsuo, T. Nishikawa, Y. Yamashita, S. Koshihara, V. Stolojan, S. R. P. Silva, J. Fujita, Y. Hayashi, S. Maeda, M. Hase, “Phonon transport probed at carbon nanotube yarn/sheet boundaries by ultrafast structural dynamics.” *Carbon* **170**, 165–173 (2020).
[8] H. Inoue, M. Hada, T. Nakagawa, T. Marui, T. Nishikawa, Y. Yamashita, Y. Inoue, K. Takahashi, Y. Hayashi, “The critical role of the forest morphology for dry drawability of few-walled carbon nanotubes.” *Carbon* **158**, 662–671 (2020).
[9] Y. Song, J. Di, C. Zhang, J. Zhao, Y. Zhang, D. Hu, M. Li, Z. Zhang, H. Wei, Q. Li, “Millisecond tension-annealing for enhancing carbon nanotube fibers.” *Nanoscale* **11**, 13909–13916 (2019).

温室効果ガスの大幅削減を指向した

環境低負荷な蓄熱マイクロカプセルの開発

岡山大学学術研究院自然科学学域 研究准教授 渡邊 貴一

1. はじめに

「地球温暖化の防止」は人類共通の解決すべき課題である。日本では、2030 年度の温室効果ガス排出量を 26%削減するために「地球温暖化対策計画」を閣議決定し、特に温室効果ガスの約 4 割を占める電力の低減を進めている^[1]。一方で、近年「熱を直接蓄える」ことで、電力を低減する「蓄熱技術」が省エネ技術として注目されている。図 1 に示すように、蓄熱剤は氷-水の相変化と同様に、高温環境下で吸熱して液体となり、低温環境化では放熱して固体となることで、蓄熱剤周囲の温度を一定に保つ働きがある。これまで様々な蓄熱剤が開発されているが、高い蓄熱密度と繰り返し使用での耐久性、分子構造による温度調節機能（融点を自在に変えられる）の観点から、パラフィン系蓄熱剤が最も注目されている。

日本における温室効果ガス発生の主要因は、エアコンの使用電力である。近年では、エアコン電力低減のために上述のパラフィン蓄熱剤を住宅やオフィスに用途展開する検討がおこなわれている^[2]。その際、パラフィンそのものを建材に導入することは困難かつ、非効率なため、パラフィンを高分子膜で覆った材料（蓄熱マイクロカプセル）が使用される。蓄熱剤をマイクロカプセル化することによって、比表面積増大による熱交換率の増加とパラフィンの漏出防止が期待できる^[3]。これまで、その膜物質として、高強度な熱硬化性樹脂である Melamine-Formaldehyde (MF) 樹脂が利用されている。しかし、MF マイクロカプセルにはシックハウス症候群の原因物質である Formaldehyde が含まれているため、住宅メーカーからはその人体への有害性が懸念され、Formaldehyde を含まないマイクロカプセルの開発が急務となっている。また、MF マイクロカプセルの膜厚は、その機械的強度に大きく影響すると予想されるが、その制御方法についてはほとんど検討されていない。

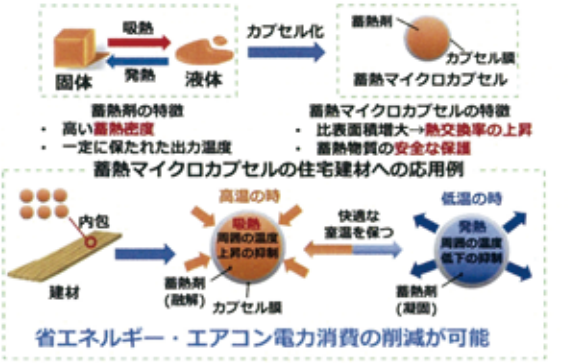


図 1 蓄熱マイクロカプセルの応用例

そのような背景から、本研究では、Formaldehyde を含まないメラミン樹脂を用いた蓄熱マイクロカプセルの開発およびその膜厚制御を目的とする。具体的には、Formaldehyde の代替として、Glyoxal に注目した。Glyoxal は最も単純な化学構造のジアルデヒドであり、人体への負荷も低い化学物質である^[4]。本実験では、まず、Melamine、Urea、Glyoxal、および 2,2'-Dimethoxyacetaldehyde (DME)を膜物質とした相分離法によるマイクロカプセル調製を試み、膜組成がマイクロカプセルの形成に与える影響を検討した。次に、マイクロカプセルの膜厚制御のために、重合時における水相の pH がマイクロカプセルの膜厚に与える影響を検討した。続いて、乳化法としてシラス多孔質ガラス (SPG) 膜を用いた乳化を本系に適用することで、マイクロカプセルの粒径単分散化を検討した。最後に、蓄熱材として Hexadecane または市販のパラフィン系蓄熱材 (Rubitherm RT25 HC) を内包したマイクロカプセルを作製し、示差走査熱量 (DSC) 測定によって、マイクロカプセルの蓄熱特性を評価した。

2. 実験方法

2.1 Glyoxal と DME モル比率がマイクロカプセル形成に及ぼす影響

膜物質として、Melamine と Urea のモル比率を 1 :

3、溶液のアミン基とアルデヒド基のモル比率を 1 : 1.25 に固定した条件において、架橋剤 Glyoxal とゲル化抑制剤 DME のモル比率がマイクロカプセル形成に及ぼす影響を検討した。上記の膜物質を pH 9.0、60 °C で 20 分攪拌することでプレポリマー溶液を調製した。調製したプレポリマー溶液に硝酸を加え、pH 4.6 に調整した後、4 時間攪拌した (図 2、3)。油相 Isopar G と水相 2.5 wt% Poly(ethylene-*alt*-maleic anhydride) [Poly(E-MA)]溶液 (pH 4.5)をホモジナイザー (7,000 rpm)で攪拌し、Oil-in-Water (O/W)エマルションを調製した。調製したエマルションにプレポリマー溶液を加え、60 °C、280 rpm 条件で 30 分攪拌した。反応後の溶液を 3 回以上デカンテーションすることで、マイクロカプセルと副生成物 (膜物質の凝集物)を分離した。マイクロカプセルの形状および膜厚を走査型電子顕微鏡(SEM)によって評価した。また、重量法によって、生成した凝集物の重量および内包された油の割合を定量した。

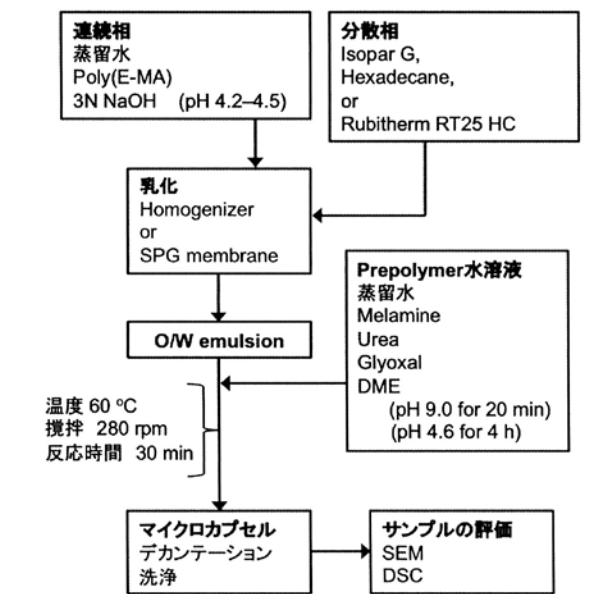


図 2 マイクロカプセルの調製スキーム

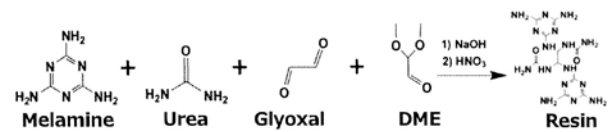


図 3 ホルムアルデヒドフリーメラミン樹脂

2.2 Melamine と Urea のモル比率がマイクロカプセル形成および膜厚に及ぼす影響

Glyoxal と DME のモル比率を 2 : 1 に固定し、Melamine と Urea のモル比率を調整することで反応系のアミン基とアルデヒド基のモル比率を変化させた。膜物質のプレポリマー溶液調製条件、エマルションの調製条件、マイクロカプセルの調製条件と凝集物の割合、内包された油の割合の評価は実験 2.1 と同様とした。

2.3 水相側の pH がマイクロカプセル形成および膜厚に及ぼす影響

Glyoxal と DME のモル比率を 2 : 1、Melamine と Urea のモル比率を 2 : 1、反応系のアミン基とアルデヒド基のモル比率を 2 : 1 に固定してプレポリマー溶液の調製をおこなった。2.5wt% Poly(E-MA)溶液の pH を 4.5、4.7、4.9、5.3 に調整し、それぞれの poly(E-MA)溶液を用いてエマルションを調製した。マイクロカプセルの調製条件と回収したマイクロカプセルに関する評価は実験 2.1 と同様とした。

2.4 SPG 膜乳化による単分散エマルションおよびマイクロカプセルの調製

実験 2.1 の乳化の際、分散相を SPG 膜乳化装置に充填し、細孔径 5 μm または 10 μm の SPG 膜に対してそれぞれ圧力 0.025 MPa、0.013 MPa で加圧し、O/W エマルションを調製した。その他の操作は上述と同様の条件でマイクロカプセル調製をおこなった。

2.5 ホルムアルデヒドフリーメラミンマイクロカプセルの蓄熱特性評価

マイクロカプセルに Hexadecane または Rubitherm RT 25 HC を内包し、DSC 測定をおこなった。昇温・降温速度: 1 °C/min, 降温の温度範囲: 40 °C – 0 °C, 昇温過程 0 °C – 40 °C にて各マイクロカプセルの蓄熱性能を評価した。同様に、内包物のみの DSC 測定もおこなった。

3. 実験結果および考察

3.1 Glyoxal と DME モル比率がマイクロカプセル形成に及ぼす影響

図 4 に異なる Glyoxal と DME のモル比率で調製されたマイクロカプセルの SEM 画像を示す。表 1 に各条件で加えた膜物質に対する凝集物の割合とマイクロカプセル化効率 (投入した油相全量に対してカプセル化された油量の割合)を示す。図 4 より、Glyoxal と DME のモル比率が 1 : 1 以外の条件で、マイクロカプセルの形成が確認された。一方で、Glyoxal と DME のモル比率が 3 : 1 または 4 : 1 の条件で調製されたマイクロカプセルの周りに多くの凝集物がみられた。表 1 より、Glyoxal と DME のモル比率が 2 : 1 の条件でのみ凝集物の割合が少なかった。以上の結果を次のように考察する。Glyoxal と DME のモル比率が 4 : 1 または 3 : 1 の場合は、高分子溶液に架橋剤である Glyoxal が多量に存在するため、高分子前駆体が油滴表面に吸着する前に前駆体同士の架橋が促進され、凝集物の量が増加する傾向を示した。一方、Glyoxal と DME のモル比率が 1 : 1 の場合は、Glyoxal 量が比較的少ないため、十分な膜形成が進行しなかったと考える。これらの結果から、良好にマイクロカプセル膜を形成する Glyoxal と DME モル比率は 2 : 1 だと結論づけた。しかし、表 1 より、Glyoxal と DME のモル比率が 2 : 1 の条件では、マイクロカプセル化効率は 10 %であった。この結果から、サンプルの一部でマイクロカプセルが得られているものの、多くのカプセルが調製過程で崩壊していることが推察された。そこで、次に、膜物性に大きく影響しうる Melamine と Urea の割合がマイクロカプセル形成および膜厚に与える影響について検討した。

表 1 Glyoxal と DME のモル比率が生成物の凝集物重量割合および油の内包率に与える影響

Glyoxal:DME (mol : mol)	4 : 1	3 : 1	2 : 1	1 : 1
凝集物 (wt%)	35	47	22	35
カプセル化効率 (wt%)	NA	NA	10	NA

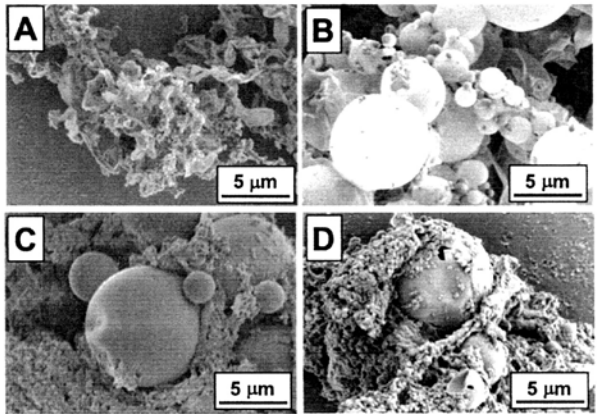


図 4 異なる Glyoxal/DME モル比率で調製されたホルムアルデヒドフリーメラミンマイクロカプセルの SEM 写真。Glyoxal : DME = (A) 1 : 1, (B) 2 : 1, (C) 3 : 1, (D) 4 : 1 at pH 4.5

3.2 Melamine と Urea のモル比率がマイクロカプセル形成および膜厚に及ぼす影響

図 5 に異なる Melamine と Urea のモル比率で調製されたマイクロカプセルの SEM 画像を示す。表 2 には、各条件で加えた膜物質に対する凝集物の割合とマイクロカプセル化効率、および膜厚を示す。図 5 より、いずれの条件でもマイクロカプセルの形成が確認された。しかし、Melamine と Urea のモル比率が 1 : 3、1 : 2、1 : 1 の条件で割れたマイクロカプセルが観察された。また、表 2 より、Melamine と Urea のモル比率が 2 : 1 の場合、最も高いマイクロカプセル化効率であった。以上の結果を次のように考察する。Melamine と Urea のモル比率が 1 : 3、1 : 2、1 : 1 の場合は、二次元構造の高分子を形成する Urea が三次元架橋構造の高分子を形成する Melamine より多く膜に存在するため、得られるマイクロカプセル膜の架橋密度が低くなる。その結果、マイクロカプセル調製過程におけるせん断や乾燥過程でカプセルが崩壊し、マイクロカプセル化効率の低下の原因になったと考えている。一方、Melamine と Urea のモル比率が 2 : 1 の場合、凝集物の割合が最も多かった。これは、この条件が他の条件と比較して、3 つのアミン基を持つ Melamine のモル数が多いことから、凝集物の形成速

度が速くなったためだと考えている。また、各条件間で調製されたマイクロカプセルの膜厚には大きな違いがなかった。この結果は、Melamine と Urea のモル比率は、膜厚ではなく、膜の強度にのみ影響を与えることを示唆している。以上の結果より、本実験範囲内でマイクロカプセル化効率が最大となる Melamine と Urea のモル比率は 2:1 と結論づけた。

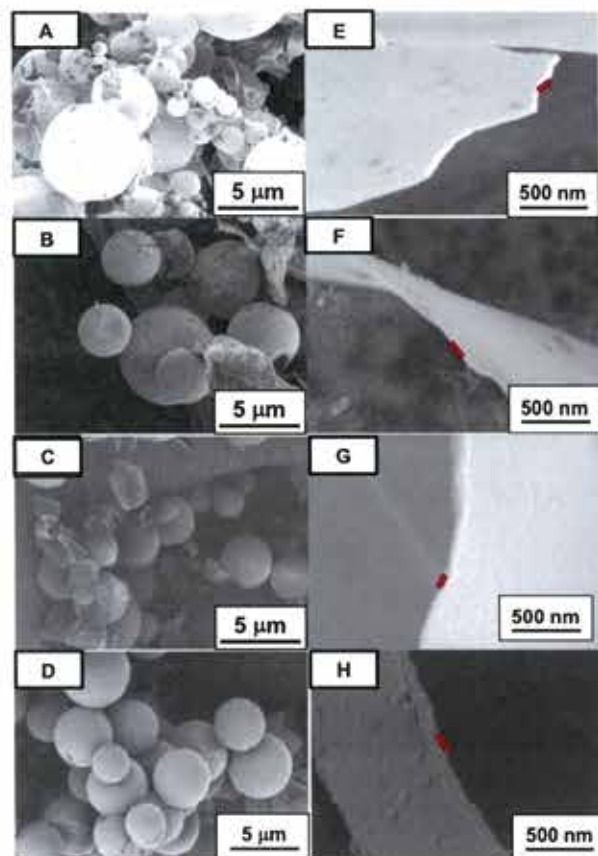


図 5 異なる Melamine/Urea モル比率で調製されたホルムアルデヒドフリーメラミンマイクロカプセルの SEM 写真 (左列：外観図、右列：断面図)。Melamine : Urea = (A, E) 1 : 3, (B, F) 1 : 2, (C, G) 1 : 1, (D, H) 2 : 1 at pH 4.5

表 2 Melamine と Urea のモル比率が生成物の膜厚、凝集物重量割合および油の内包率に与える影響

Melamine:Urea (mol : mol)	1 : 3	1 : 2	1 : 1	2 : 1
膜厚 (nm)	31	30	33	32
凝集物 (wt%)	22	52	39	70
カプセル化効率 (wt%)	8	NA	20	46

3.3 水相側の pH がマイクロカプセル形成および膜厚に及ぼす影響

本マイクロカプセル調製では、膜形成メカニズムを次のように考えている。まず、油滴表面または水相に存在する負に帯電した界面活性剤が、正に帯電した膜物質 (プレポリマー) と静電相互作用によって複合体を形成し、それが油滴表面に吸着する。その後、主として界面で重合が進行することによって、連続膜を形成する。この仮説を基に、本実験では、水相の pH がマイクロカプセル形成および膜厚に与える影響を検討した。本実験で使用している界面活性剤 Poly(E-MA) は、水相の pH が 4.5 から 5.2 に増加するにつれて、無水マレイン酸部位の加水分解と加水分解によって生じたカルボキシ基の解離量が増加する性質を有する。そのため、水相の pH 増加は、油滴表面および系中に含まれるカルボキシ基の解離量の増加と負電荷の増加をもたらすと考えた。

図 6 に異なる水相 pH 条件で調製されたマイクロカプセルの SEM 画像を示す。表 3 に各条件で加えた膜物質に対する凝集物の割合とマイクロカプセル化効率、膜厚を示す。図 6 より、いずれの pH 条件でも、マイクロカプセルが得られた。また、水相の pH が高くなるほど、マイクロカプセルの膜厚が増加した。加えて、表 3 より、水相側の pH が高くなるほど、凝集物の割合が低下し、マイクロカプセル化効率が増加した。以上の結果を次のように考察する。高 pH 条件になるほど Melamine の反応性が高くなるため、水中で高分子前駆体が成長して副生成微粒子を形成しやすくなる。また、pH が増加するほど、Poly(E-MA) に含まれるカルボシ基が解離され、油滴の表面が負の電荷を帯びることにより、Melamine と Poly(E-MA) が複合体を形成し、界面に吸着しやすくなる。膜物質の界面への吸着量の増加と膜物質の重合速度の増加によって、マイクロカプセル膜厚の増加と凝集物の割合の低下およびマイクロカプセル化効率が増加したと考えている。以上の結果より、水相の pH を微調整するという簡単な操作によって、マイクロカプセルの膜厚を制御できることが明らかとなった。

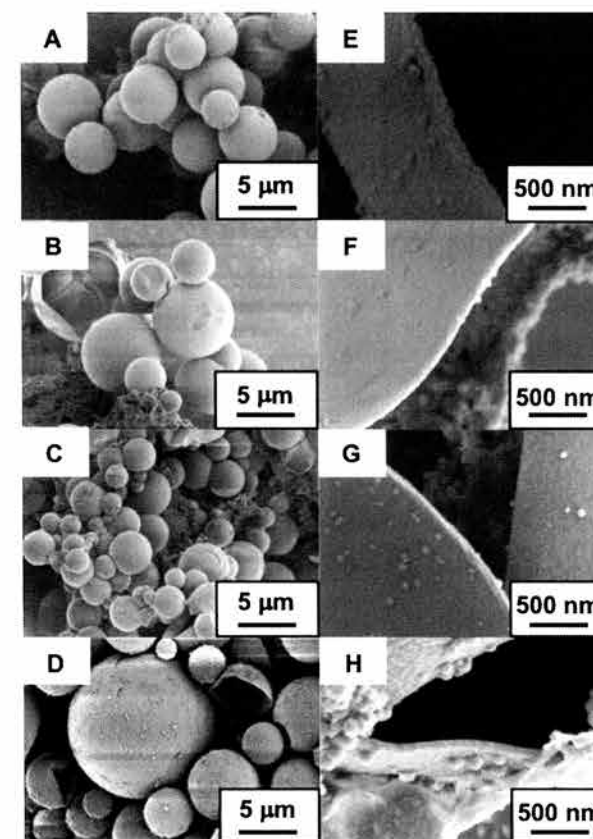


図 6 異なる水相 pH 条件で調製されたホルムアルデヒドフリーメラミンマイクロカプセルの SEM 写真 (左列：外観図、右列：断面図)。pH = (A, E) 4.5, (B, F) 4.7, (C, G) 4.9, (D, H) 5.3

表 3 水相の pH 条件が生成物の膜厚、凝集物重量割合および油の内包率に与える影響

水相の pH	4.5	4.7	4.9	5.3
膜厚 (nm)	32	36	44	89
凝集物 (wt%)	72	68	56	45
カプセル化効率 (wt%)	46	NA	53	66

3.4 SPG 膜乳化による単分散エマルションおよびマイクロカプセルの調製

これまでの結果より、本研究の目的としていたホルムアルデヒドフリーメラミンマイクロカプセルの調製とその膜厚制御技術の開発に成功した。しかし、これまでに調製されたマイクロカプセルは粒径分布が広く、変動係数 [CV 値 (=標準偏差/平均粒径)] は、30-50%であった。マイクロカプセルを工業的に応用

する際は、性能の均一化を図るために、粒径分布が狭いことが望まれる。そこで、本検討では、O/W エマルション調製時の乳化方法をこれまでおこなってきたホモジナイザーによる機械的乳化法から SPG 膜乳化法に変更することで、単分散なホルムリンフリーメラミンマイクロカプセル調製を試みた。

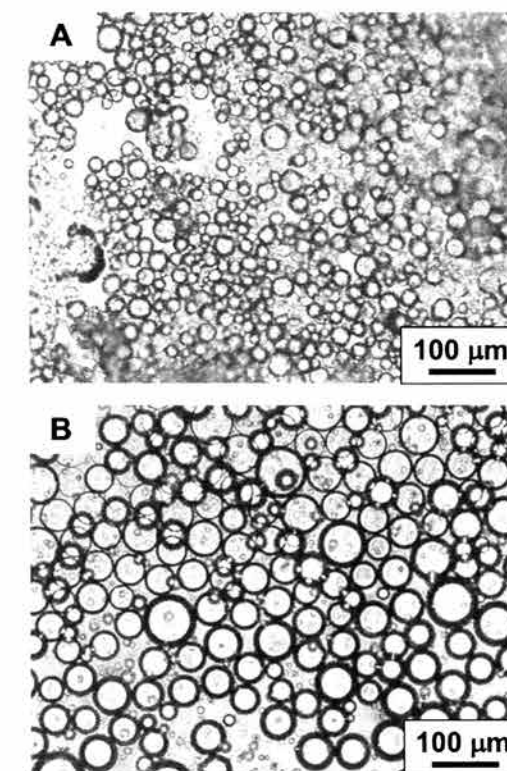


図 7 異なる乳化方法で調製された O/W エマルションの光学顕微鏡写真 (A: ホモジナイザー、B: 細孔径 10 μm の SPG 膜)。

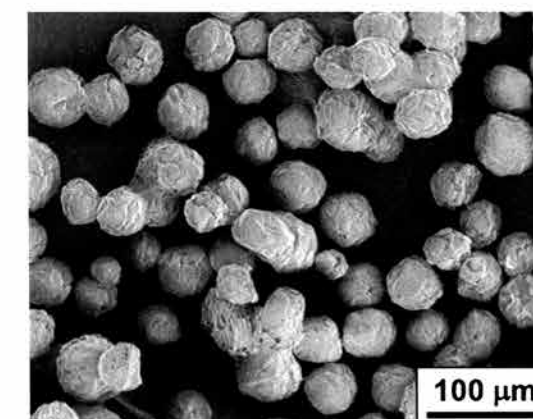


図 8 SPG 膜乳化法で調製されたホルムアルデヒドフリーメラミンマイクロカプセルの SEM 写真

図7にホモジナイザーとSPG膜乳化によって調製されたO/Wエマルジョンの光学顕微鏡写真を示す。ホモジナイザーで調製されたマイクロカプセルはCV値が30%を超えており、数 μm から60 μm 程度の様々な粒径の液滴が混在していた。一方で、細孔径10 μm のSPG膜を用いて乳化すると、CV値が12%、平均粒径が31 μm となり、比較的単分散性の高い液滴が得られた。図8には、SPG膜乳化法で得られたエマルジョンを用いて調製されたマイクロカプセルのSEM写真を示す。これまでのSEM写真と異なり、粒径が比較的単分散なマイクロカプセルが観察された。以上の結果より、本マイクロカプセル調製において、エマルジョン調製時の乳化方法としてSPG膜乳化法を適用することによって、単分散なホルムアルデヒドフリーメラミンマイクロカプセルが調製できることがわかった。

3.5 ホルムアルデヒドフリーメラミンマイクロカプセルの蓄熱特性評価

最後に、ホルムアルデヒドフリーメラミンマイクロカプセルに蓄熱材を内包して、その蓄熱特性を評価した。図9には、代表例として蓄熱材として市販のRubitherm RT25 HC (相変化温度: 25 $^{\circ}\text{C}$) およびそれを内包したマイクロカプセルのDSC測定結果、表4には、DSC測定から算出した凝固エンタルピー(ΔH_c)および融解エンタルピー(ΔH_m)をまとめた。

図9より、いずれのサンプルにおいても、30 $^{\circ}\text{C}$ 付近から冷却すると、23 $^{\circ}\text{C}$ 付近から10 $^{\circ}\text{C}$ にかけて蓄熱材の凝固に由来する2峰性の発熱ピークが検出された。過冷却はほとんどみられなかった。また、0 $^{\circ}\text{C}$ から昇温すると、10 $^{\circ}\text{C}$ 付近から25 $^{\circ}\text{C}$ にかけて蓄熱材の融解に由来する吸熱ピークが観測された。表4より、マイクロカプセルは蓄熱材単体よりもわずかに蓄熱量の低下がみられた。これは主として、膜厚分の重量に起因する蓄熱量の低下である。同様の手法で、マイクロカプセルにHexadecaneも内包でき、蓄熱特性を示すことも確認できた。以上の結果より、本研究で開発されたホルムアルデヒドフリーメラミン

マイクロカプセルは蓄熱材として機能することが示された。

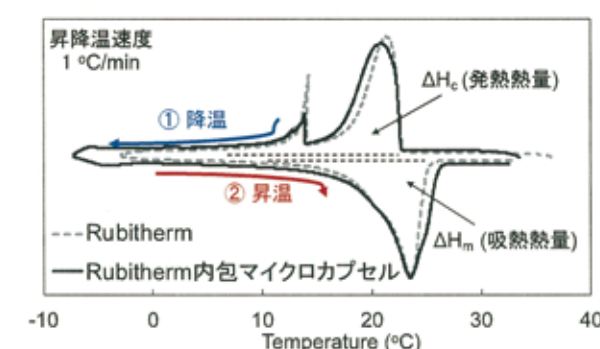


図9 Rubitherm RT25 HC および Rubitherm 内包マイクロカプセルのDSC測定結果

表4 Rubitherm RT25 HC および Rubitherm 内包マイクロカプセルの蓄熱特性

Sample	ΔH_c [J/g]	ΔH_m [J/g]
Rubitherm	191	195
Rubitherm 内包カプセル	168	183

4 おわりに

本研究で、Formaldehydeの代替としてGlyoxalを膜物質とした環境低負荷なホルムアルデヒドフリーメラミンマイクロカプセルの調製法を開発した。調製時の溶液pHを変えることによって、膜厚を制御できることもわかった。さらに、このマイクロカプセルに市販の蓄熱材を内包すると、優れた蓄熱特性を示すことも確認された。今後、本マイクロカプセルを建材やアパレル繊維に複合する技術を開発することによって、エアコンの使用電力の低減による温室効果ガス排出量の削減やQOLの向上に貢献できると考えている。

5 参考文献

- [1] 外務省 HP, <https://www.mofa.go.jp/>
- [2] 日本蓄熱蓄熱建材協会 HP, <https://jpcm.jp>
- [3] H. Zahir et al., *Appl. Energy* **240**, 793–817 (2019).
- [4] G. Leon et al., *RSC Adv.*, **7**, 18962 (2017).

土壌伝染性ウイルスで起こる「大麦縞萎縮病」に対するオオムギ抵抗性遺伝子の多様性解析

岡山大学 資源植物科学研究所 武田 真
岡山大学 資源植物科学研究所 白神美津穂

1. はじめに

オオムギは世界生産量が第4位の重要禾穀類で、醸造用、食用、および飼料に利用される。我が国では、ビール大麦は契約栽培されるが、適性タンパク質含量および低 β -グルカン含量などの厳しい品質要件を満たしたものだけが高価に買付けられる。そのため、農産物というより工業原料の扱いに近い。岡山県はビール大麦の生産量が全国第4位と多い。一方、食用大麦は水溶性食物繊維の β -グルカン含量が高い方が健康増進効果に優れ、もちオオムギを中心に麦ご飯としての消費が拡大している。ビール大麦と食用大麦では種子の品質要件が正反対であるため、両者は区別して育種され、専用の品種が作付けされる(図1)。

オオムギには縞萎縮病という、土壌中のBaYMV (Barley yellow mosaic virus)ウイルスが根から植物体に感染して地上部に移行し、葉が黄化し収穫量が激減する深刻な病気がある。このウイルス病は1940年に岡山県で最初に発見され、日本固有の風土病と思われていた。しかし、今やヨーロッパ諸国、韓国および中国に拡大しオオムギの重要病害となった。我が国を含む東アジア地域のオオムギ在来種は六条性



はがねむぎ イシュクシラズ ニューゴールド
図1. 用途の異なる皮性オオムギ品種の穂形態。左: はがねむぎ(六条)とイシュクシラズ(二条)は食用、ニューゴールドは(二条)は醸造用である。

で食用に栽培されてきたが、大麦縞萎縮病ウイルスと長い年月共存してきたためか、本病に対して多少の抵抗性を発揮する系統が多いとみられる。これに対し、日本のビール大麦(二条性)は、約150年前に欧米豪から醸造に好適な品種を導入して品種改良を開始したため育種の歴史が浅く、さらに限られた醸造品種間の近縁交配を行って品質重視で改良がすすめられたため遺伝的多様性に乏しい。1950年代より、国内のビール大麦産地で大麦縞萎縮病が大発生してビール大麦が本病に著しく罹病する問題が現実となり、国産ビール大麦の生産量が激減し、日本のビール大麦生産者や醸造会社が大危機に直面した。

大麦縞萎縮病は土壌伝染性のRNAウイルス(一本鎖プラス鎖RNA)が病原である。オオムギの根に寄生する*Polymyxa graminis*菌の媒介でこのウイルスはオオムギに感染する。本ウイルスの土壌燻蒸による農薬防除は環境負荷が大きく作業者の健康を損ねるため現実的でない。そのため、多様なオオムギ遺伝資源から大麦縞萎縮病抵抗性遺伝子を見出し、品種改良により抵抗性品種を育成することが、環境にやさしい最良の解決法である。これまでに有望な大麦縞萎縮病抵抗性遺伝子が3種類(*rym5*, *rym1* および *rym3*; *rym* は *resistance to yellow mosaic virus* の遺伝子略号)見出された。中国の在来種木石港3(六条)に由来する2種類の抵抗性遺伝子 *rym5* と *rym1* のうち、*rym5* が最初に育種利用された。しかし、*rym5* は大麦縞萎縮病ウイルスレースⅢ型には罹病し利用範囲が限られることが判明した。そこで、Ⅲ型に抵抗性の遺伝子源として食用オオムギ品種「はがねむぎ」の *rym3* 抵抗性遺伝子が注目された。近年の日本のビール大麦育種では *rym3* と *rym5* の抵抗性遺伝子が単独または同時に使用されることが多い。

同一の病害抵抗性遺伝子を保有する品種を大面積で連続使用すると、ウイルスが突然変異して、既存の抵抗性遺伝子が崩壊して罹病し、

甚大な被害を受ける危険性がある。日本の大麦縞萎縮病ウイルスレースには広域に分布するⅠ、ⅡおよびⅢ型に加え、新たな変異種であるⅣ型およびⅤ型が局所的に出現し病原性が強毒化する傾向にある。今後、感染性の強い変異種の分布域が拡大すれば、抵抗性育種で対応できない状況が懸念される。したがって大麦縞萎縮病の持続的な防除対策としては、多様な抵抗性遺伝子源を発掘し、抵抗性遺伝子を年ごとに更新して利用するなどして、圃場の本病ウイルス濃度を低く抑える方法によるのが望ましい。

本研究の目的は、国内外のオオムギ遺伝資源から、大麦縞萎縮病ウイルスの主要なレース(Ⅰ、ⅡおよびⅢ型)に抵抗性を示す *rym3* 遺伝子に注目して、*rym3* 周辺領域の DNA レベルの多型を調査し、*rym3* 領域ハプロタイプの遺伝的多様性を解明することである。オオムギ *rym3* の原因遺伝子は未だクローニングされていない。*rym3* 遺伝子が座乗するとみられる 5H 染色体基部領域の PCR マーカーを独自に開発しつつ、オオムギ 197 品種・系統のパネルに対してハプロタイプ解析した結果を報告する。ハプロタイプとは隣接する遺伝子の組合せ型のことである。

2. 材料と方法

2-1 *rym3* 近傍の多様性解析したオオムギ材料

はがねむぎ(六条・非醸造用)が保有する大麦縞萎縮病の *rym3* 抵抗性遺伝子(鶴飼・山下 1980)は、我が国の本病ウイルスレースⅠ～Ⅲに抵抗性を示す貴重な遺伝子である。はがねむぎは、三月と会津 6 号の交配から 1955 年に福島県で育成された(図 2.)。*rym3* 抵抗性遺伝子のルーツを解明する目的で、はがねむぎの祖先系統をオオムギ種子保存施設より幅広く収集した。

我が国のビール大麦育種では幅広いウイルスレースの大麦縞萎縮病に対抗するため、醸造品質の劣る食用品種 はがねむぎ(六条)の持つ *rym3* を抵抗性遺伝子の給源にし、ビール醸造品種(二条)と人工交配し *rym3* 抵抗性遺伝子の導入が試みられた。しかし、*rym3* 抵抗性遺伝子には醸造特性を劣悪にする遺伝子が密接に連鎖しているとみられ、抵抗性と良質を両立する系統の開発は困難を極めた。醸造用系統と多数回交配と選抜を繰り返し、*rym3* 抵抗性遺伝子に



図 2. はがねむぎの系譜(上段)。枠で囲った系統は *rym3* を保有すると本研究から推定された。下段に穂形態を示す。はがねむぎ、会津 6 号、岩手大麦 1 号および岩手穂揃 1 号が穂の詰まった密穂の系統である。

連鎖する醸造に向かない特性を断ち切る育種が長年かけて行われた。その成果として、優良ビール大麦品種 スカイゴールデン(2001 年登録、二条大麦農林 20 号)ならびに サチホゴールデン(2005 年登録、二条大麦農林 22 号)が栃木県で育成され、広く普及し、現在でも有力品種である。これら 2 ビール大麦品種への *rym3* 遺伝子の導入経路は独立であることは系譜から明らかである。大麦縞萎縮抵抗性と醸造不適な形質との連鎖を断ち切るビール大麦育種の過程を分子マーカーで検証するため、両ビール大麦品種の系譜上の祖先系統を幅広く収集した。

河田・五月女(1998)の遺伝学的解析から、*rym3* 抵抗性遺伝子座には *rym3* とは別に”効果の弱い *rym3* 対立遺伝子(アレル)”が日本在来系統のなかに存在することが示唆されている。そのため、食用六条大麦(はだか麦と皮麦を含む)の多様性を広くカバーするよう在来種と改良種を選定し、マーカー型を詳細に調査・比較し *rym3* アレルの存否を推定した。

さらに、食用オオムギ品種 竹林茨城 1 号の γ 線生体照射で誘発したとされる *rym3* を保有する EA52 変異体(鶴飼・山下 1980)も調査に含めた。

以上をまとめると、合計 197 のオオムギ品種・系統を本研究に供試した。醸造用オオムギ(皮性・二条)のみならず、食用のはだか麦(大部分は六条で、一部二条をふくむ)、食用六条大麦および食用皮麦(六条と二条を含む)が含まれる。

2-2 *rym3* 近傍の遺伝的多様性調査のための多型 PCR マーカーの開発とハプロタイプ解析

イシュクシラズ(*rym3* 保有)と ニシノチカラの交雑後単粒系統法で養成した F₁₁ 世代 221 系統からなる組換え自殖系統群(RILs)をもちいて汚染圃場での抵抗性・罹病性判定(河田、五月女ら未発表)と DNA マーカーによる遺伝子マッピングを行い、大麦縞萎縮病抵抗性遺伝子 *rym3* はオオムギ 5H 染色体長腕の動原体から 0.2 cM に位置づけられた(武田ら未発表)。オオムギの動原体近傍領域は遺伝的な組換えが抑制され、マップベースによる遺伝子単離が困難とされる。ゲノム解読が完了しているイネとの相同遺伝子の並びをホモロジー検索で調査したところ、

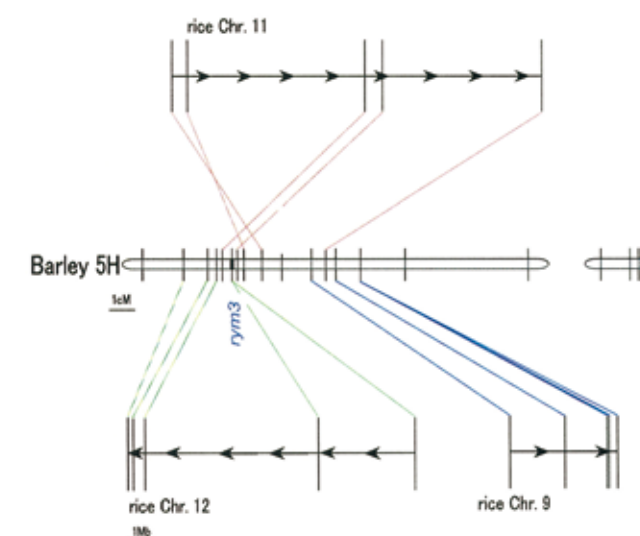


図 3. オオムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子 *rym3* の 5H 染色体上位置とイネ染色体との部分同祖関係。オオムギ 5H 染色体はイネ 11 番、12 番および 9 番染色体と対応するが、*rym3* の位置する 5H 染色体の基部領域はイネ 12 番染色体に対応するとみられた。

オオムギ *rym3* が座乗する 5H 染色体の基部領域は概ねイネ 12 番染色体に対応するとみられた(図 3.)。さらに、オオムギ品種 Morex(六条)の高品質のゲノム配列(Masher et al. 2017)が近年公開された。これらのゲノム情報を参考にし、多型マーカーを独自に開発した。データベースから *rym3* 候補領域に位置するオオムギ遺伝子を探し、それを特異的に増幅する PCR プライマーを設計し、*rym3* 保有の抵抗性品種 イシュクシラズと罹病性品種 ニシノチカラ間の塩基配列多型をダイレクトシーケンスにより探索した。配列多型が見つかった場合は、Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) などの PCR 産物を電気泳動するだけで簡易に多型を検出できる PCR マーカーに変換した。

このようにして開発した 5H 染色体基部の *rym3* 抵抗性遺伝子の近傍マーカーを利用して、オオムギ 197 品種・系統の *rym3* 領域ハプロタイプを分析して多様性解析を行った。

3. 結果

3-1. はがねむぎの *rym3* 遺伝子の多型マーカーの開発

本研究で *rym3* 候補領域には 35 種類の多型マーカー(M1～M35)を開発することができた。並行して実施している *rym3* の遺伝マッピングの結果を総合すると、*rym3* は M24～M27 の範囲に座乗する可能性が高いとみられる。

3-2. はがねむぎの *rym3* 遺伝子のルーツ

はがねむぎの系譜上系統の穂を図 2 に示す。ハプロタイプ調査から はがねむぎの *rym3* 遺伝子は 会津 6 号 に由来し、それは 岩手大麦 1 号、さらには 岩手穂揃 1 号 に由来したことが今回のマーカー調査で推測された。ただし、岩手大麦 1 号は取り寄せ先の異なる 5 系統を調査したが、内 2 系統が YMP-087(九沖)由来の A タイプが主流のハプロタイプであったが、残りの 3 系統は岡山大学保存の OJ608 に代表される B タイプアレルが大多数を占めるハプロタイプで、2 型に分かれた。同様のことは、岩手穂揃 1 号においてもみられた。*rym3* 抵抗性遺伝子の有力候補領域が全て A 型の抵抗性タイプは岡山大学保存の岩手穂揃 1 号(OJ136)においてみ

られた。ただし、剣吉1号と岩手大麦1号の交配から全マーカーがA型である会津6号のハプロタイプが出現したとは考えにくい。これは両親品種のマーカーM34とM35がともにB型であるためである。この矛盾は、系譜に誤りがあるか、穂揃から岩手穂揃1号が選抜された1916年当時においては、オオムギ系統が遺伝的に十分ホモ接合で固定しておらず、遺伝的分離により品種保存施設間で保管種子の遺伝子構成に違いが生じた、などの原因が考えられる。

3-3. 優良ビール大麦2品種への *rym3* の導入パターンの相違

我が国で最近の重要なビールオオムギ2品種、すなわち、スカイゴールデンとサチホゴールデンにははがねむぎ由来の *rym3* 抵抗性遺伝子が、独立の経路で導入されたことが系譜に示されている。本研究では、両品種の系譜上の祖先系統を *rym3* 近傍のDNAマーカーで多型解析した。図4にDNAマーカー検定の一例を示す。

その結果、スカイゴールデンに導入されたはがねむぎ由来の *rym3* 周辺の染色体断片サイズはサチホゴールデンに比較して大きいことが明らかになった。はがねむぎ由来の *rym3* 抵抗性遺伝子を含む染色体断片中(A型)に残された醸造好適系統由来の罹病性B型の染色体セグメント数はスカイゴールデンが3箇所に対し、サチホゴールデンは6箇所と多かった。サチホゴ

ールデンは *rym3* 候補領域に隣接する1カ所(M26)がB型である点が特徴的である。このようなサチホゴールデンの *rym3* 領域ハプロタイプは、圃場で稀な優良型の組換え個体を地道に選抜し、それらを集積した系統を養成する一方で、実験室での醸造特性データを併せ、総合的に判断を下した注意深い育種家によって選出されたと思われる。その結果、実需者の要望を満たす醸造好適品種が開発されたと推察する。

3-4. 他品種における *rym3* 領域ハプロタイプ

上記2品種よりも新しいビール大麦であるはるみやび(2013年登録)はしゅんれい(母)とスカイゴールデン(父)の交配組合せから福岡県において育成されたが、スカイゴールデンと同じ *rym3* 領域ハプロタイプを有する。同じく、栃木県のアスカゴールデン(2012年登録)の *rym3* 領域ハプロタイプはサチホゴールデンと同一であった。

一方、罹病性のビール大麦の *rym3* 領域ハプロタイプは2タイプに大別された。第一の型は、明治初期に英国より導入され本邦ビール大麦育種の起点となったゴールデンメロン、民間企業開発の優良醸造用品種はるな二条(1970年登録)、ふじ二条、ミサトゴールデンを含むタイプ(はるな二条型とまとめて呼称する)で、*rym3* 候補領域のなかに抵抗性型(A型)が2カ所と罹病型(BまたはC型)が2カ所混在している。第二の型は最初の国産ビール大麦である、ニューゴールデン(二条大麦農林1号、1965年登録)に代表されミホゴールデンも含むタイプで、*rym3* 候補領域は罹病型のBおよびC型で占められる(ニューゴールデン型と呼称する)。

食用二条大麦で *rym3* を持つとされる、はるか二条(2011年登録)は、スカイゴールデンよりもさらに大きなはがねむぎ由来の染色体セグメントを有していた。食用大麦では *rym3* 周辺の比較的大きな5H染色体長腕断片が在来六条種型(A型)であっても品質に問題はないとみられ、この点は高品質醸造ビール麦とは対比的で興味深い。

Kawada and Tsuru (1987)の交配実験から *rym3* 遺伝子の弱いアレルをもつとされた倍取は、はがねむぎと同じ *rym3* 領域ハプロタイプであ

った。食用はだか麦のなかには、はがねむぎ型と同じ *rym3* 領域ハプロタイプを持つものが4系統あった。

3-5. 人為誘発 *rym3* 変異体 EA52 のハプロタイプ解析

竹林茨城1号のγ線照射で誘発された *rym3* 抵抗性変異体 EA52 は *rym3* 領域ハプロタイプがはがねむぎと同じで全てA型である。しかし本変異体の原品種はB型罹病性のマーカーが35箇所中8箇所もあり、両者は遺伝構成上大きく異なる。この結果から、EA52 は竹林茨城1号から誘発された *rym3* 変異体ではないと結論される。

4. 考察

今回の5H染色体基部の大麦縞萎縮病抵抗性 *rym3* 周辺のハプロタイプ分析から、*rym3* 周辺の遺伝的多様性がオオムギ全体としてみると豊富であるが、最近育種されたビール大麦品種群では *rym3* 領域ハプロタイプが抵抗性の2タイプに収斂し多様性の低下する傾向がみられた。最近のビール大麦の多収良質育種が *rym3* 周辺の遺伝的多様性を低減させる方向に働いており、注意が必要である。

今回用いたオオムギ系統のウイルス検定圃場での *rym3* 罹病性・抵抗性判定が一部しか実施できておらず、今後の課題である。2020年早秋に栃木農試栃木分場のⅢ型ウイルス検定圃場に今回の研究で *rym3* 領域ハプロタイプ型が判明した系統の種子を播種したが、暖冬のため、縞萎縮病の発生が弱く、データが得られなかった。

大麦縞萎縮病抵抗性遺伝子の研究で最大のネックは、本ウイルスを人工接種によって感染させることが極めて困難なことである。これまで人工気象器内で栽培した幼苗やプロトプラストへの感染系などが検討されてきたが、再現性が低かった。そのため、罹病性品種を連作して土壌中の特定レースのBaYMV濃度を高めた検定圃場で反復を設けて系統栽培し、目視判定とともにウエスタンブロッティング法あるいはPCR法が検定に併用されてきた。人工接種が困難な一因として、*Polymyxa graminis* 菌がオオムギ根に傷害を作った傷口から大麦縞萎縮病ウイ

ルスが感染する、ウイルス-糸状菌-植物の3者が関与する複雑な感染経路があげられる。今後、*rym3* 抵抗性の原因遺伝子が単離された時、病原ウイルスの人工接種技術が説得力のある証拠を得るのに不可欠と予想される。

我が国のビール大麦育種は、醸造に好適の海外の二条品種を東アジアの大麦縞萎縮病に高度に抵抗性の在来六条系統と交配し、高品質は残しつつ本病抵抗性遺伝子を導入する方法でなされてきた。東アジアの在来六条品種は醸造には不向きである。仮に、BaYMV病抵抗性遺伝子に醸造に向かない形質が連鎖している場合、抵抗性遺伝子と一緒に不良形質が導入されやすく、高品質が要求されるビール大麦新品种の育成には困難が伴うことは容易に想像がつく。不良形質との連鎖の問題を解決するため、抵抗性親に醸造好適品種を複数回交配し、選抜を数世代にわたって丹念に繰り返し、抵抗性遺伝子を含む短い染色体断片のみを導入する長年の育種家の努力がなされたことが、DNAマーカーによる詳細な調査で実証された。

日本のビール大麦は限られた祖先品種に由来し歴史が浅い反面、品種の系譜に関するかなり正確な情報と系統種子が保管されており、オオムギ多様性の遺伝育種研究材料として貴重である。詳細な系統記録をもとにして、はがねむぎの持つ *rym3* 遺伝子が岩手穂揃1号に由来する可能性が高いことが推察された。はがねむぎの祖先系統のうち、会津6号より以前の系統は各種遺伝資源保存施設や研究者個人が維持している種子の分譲を受け、同名異系統を詳しく調査した。取り寄せ先によって *rym3* 領域ハプロタイプ型が大きく異なる場合があった。近代育種の黎明期の在来系統や育成系統には遺伝的な雑駁性があったと考えれば系統間の遺伝的バラツキは理解できる。

ドイツ連邦のオオムギジーンバンク(種子銀行)の2万2千点の保存系統中の約10%が重複している可能性が最近の次世代シーケンサー解析で指摘された(Milner et al. 2019)。しかし、遺伝資源には取り寄せ先が異なればわずかな遺伝子型の微妙な違いがあることはむしろ自然で、それが遺伝子単離の緻密な解析が必要な場面で有用なこともある。遺伝子保存資源施設内や施設間の品種の重複保存を無駄とみな

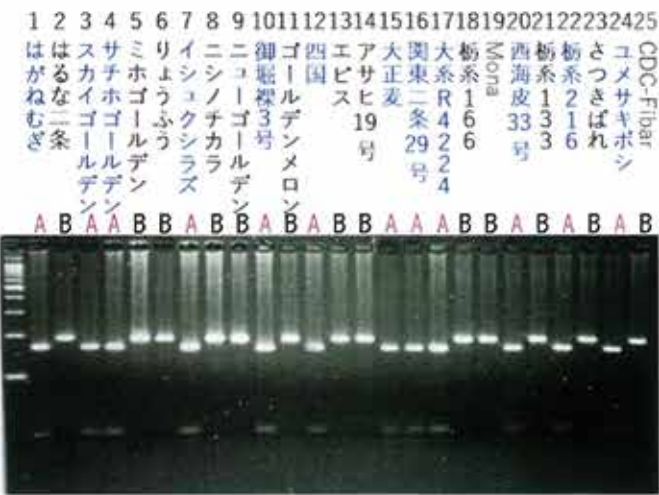


図4. オオムギ遺伝資源の *rym3* 近傍マーカー6による多型検定。レーン上に系統名を記す。A型(160 bp)が抵抗性型で、B型(189 bp)が罹病性型である。

し拙速に処分してしまうと、貴重な遺伝的多様性が消失しかねないので、注意すべきである。

rym3 遺伝子座のアレルとして期待された竹林茨城 1 号の EA52 変異体は今回のマーカー調査で、人為誘発抵抗性変異体ではないことが判明した。はがねむぎあるいはそれに類似の系統との他殖または種子混入で生じた抵抗性系統が誤認された可能性が高い。両系統の可視的な形態にわずかながら違いがあることから、この結果が支持される。

さらに、これまでの育種研究で *rym3* と同座の弱い抵抗性アレルが存在すると報告がある (Kawada and Tsuru 1987)。今回のマーカー検定の結果だけではこれらの弱い *rym3* アレルを持つとされる系統に特異的なハプロタイプパターンを見出すことはできなかった。東北地方以外の在来種である、倍取、赤神力などは、はがねむぎ と完全に同一の *rym3* 領域ハプロタイプ(全て抵抗性 A 型)であったため、はがねむぎ と同一起源の *rym3* 遺伝子の可能性が高い。今回開発した 35 マーカーで日本在来種は全体的に A 型が多く、この領域の遺伝的多様性が小さいとみられた。これは約 2 千年前の弥生時代に朝鮮半島や中国から日本にオオムギが伝来した際に限られた数の系統が導入されたことによる“創始者原理”を反映すると思われる。日本在来種の近縁系統を識別するには、アリル発掘 (allele mining) が求められる。

食用オオムギの はがねむぎは *rym3* 近傍に醸造特性を低下させる遺伝子を持つとみられる。しかし、サチホゴールでは *rym3* と醸造劣悪遺伝子の連鎖が断ち切れ、抵抗性かつ良質のハプロタイプが的確に選抜されビール醸造を制御しやすい好適品種となった。一方、スカイゴールデンでは連鎖した醸造不適特性が取り込まれデンプンやタンパク質の溶けが早く進み、特殊な銘柄のビール醸造に限定使用される。両品種間の具体的な醸造特性の違いを決める *rym3* 近傍の醸造遺伝子を特定し、その生化学機構を解明することが今後の重要課題である。

本研究において大麦縞萎縮病抵抗性遺伝子 *rym3* 周辺領域のハプロタイプの多様性によってオオムギ遺伝資源をタイプ分けできた。このことで、今後のビール大麦育種で交配親を戦略的に選定できると期待する。サチホゴールデン

を交配親とすれば醸造特性の高い系統が育成できる確率は高まるとみられるが、*rym3* 周辺の遺伝的な画一化が進行する危険性がある。そこで、*rym3* と他の *rym* 遺伝子を組合せあるいは輪番で計画的に使用することで、多様な抵抗性遺伝子を持続的に利用して本病を長期的視点で制御することが望ましい。ビール大麦耕作地の環境保全にも役立つと思われる。

5. 謝辞

本研究は、公益財団法人 八雲環境科学振興財団から多大なる支援を頂き、実施することができた。また、九州沖縄農業研究センター(河田尚之氏)、栃木県農業試験場麦類研究室(加藤常夫氏)およびナショナルバイオリソースプログラム(オオムギ岡山大学)より国内外の多彩なオオムギ系統の種子提供を受けた。五月女敏範博士(栃木県)および河田尚之氏には大麦縞萎縮病検定圃場での評価データを提供いただいた。ここに記して厚く御礼申しあげる。

6. 引用文献

Kawada, N. and Tsuru, M. (1987) Genetics and breeding of resistance to Barley Yellow Mosaic Virus. Barley Genetics V: 651-657.

河田尚之・五月女敏範 (1998) オオムギ縞萎縮病抵抗性準同質遺伝子系統の作出と病原ウイルス系統に対する反応. 栃木農試研報 47: 65-77.

Masher, M., Gundlach, H., Himmelbach, A., Beier, S., Twardziok, S.O., Wicker, T. et al. (2017) A chromosome conformation capture ordered sequence of the barley genome. Nature 544: 427-433.

鶴飼保雄・山下淳(1980) オオムギにおける縞萎縮病抵抗性の突然変異. 育種学雑誌 30: 125-130.

Milner, S.G., Jost, M., Taketa, S., Mazón, E.R., Himmelbach, A., Oppermann, M., Weise, S., Knüpffer, H., Basterrechea, M., König, P., Schüller, D., Sharma, R., Pasam, R.K., Rutten, T., Guo, G., Xu, D., Zhang, J., Herren, G., Müller, T., Krattinger, S.G., Keller, B., Jiang, Y., Gonzalez, M.Y., Zhao, Y., Habekuß, A., Färber, S., Ordon, F., Lange, M., Börner, A., Graner, A., Reif, J.C., Scholz, U., Mascher, M. and Stein, N. (2019) Genebank genomics highlights the diversity of a global barley collection. Nature Genetics 51: 319-326.

ウナギの遡上多様性を制御する生理機構の解析

～ “青鰻” 形成のメカニズム

岡山大学 片山 侑駿
岡山大学 濱田 麻友子

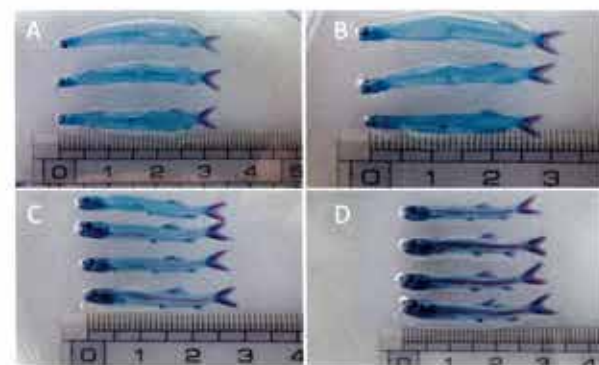
1. はじめに

岡山県の天然ウナギの一部は“アオウナギ（青鰻）”という独特の色味を帯びることが知られている。アオウナギの形成には、海水と淡水が混じり合う「汽水域」という環境が豊かであることの重要性が示されているが、稚魚（シラスウナギ）が児島湾（汽水域）に留まり成長するしくみはわかっていない。そこで本研究では、その「豊かな汽水環境がどのようにアオウナギを形成するか？」という問いを明らかにするため、塩分環境への適応や摂餌に関わるホルモンに着目して検討することを目的とし、研究を開始した。

2. 塩分環境とウナギ類稚魚・仔魚の行動生理

シラスウナギは黒潮にのって日本沿岸に到達したあと、多くの魚は各地の河川を遡上するが、一部は汽水域にどどまったり、再び海に出て定着することがわかってきた。そこで、海水産のシラスウナギを入手し、塩分嗜好性（淡水、汽水、海水の選択行動）を比較した。しかし、特定の塩分に対する嗜好性はみられなかった。これは、異なる発達段階のシラスウナギが混在したことによる k 可能性も考えられる。そこで、成長段階をコントロールするために、シラスウナギに変態する前のレプトセファルスを手入することを試みた。しかし、太平洋のはるか沖でサンプリングされるレプトセファルスは、入手が不可能であった。ちょうどそのころ、所属する牛窓臨海実験所の近辺で生態調査をしていたところ、種が不明なレプトセファルスやシラス様稚魚がサンプリングされた（図—1）。そこで飼育系を確立し、成長させたところカライワシ目のカライワシであることがわかった。ウナギもカライワシ目に属するため、ウナギの比較魚種/代替魚種としてカライワシを研究対象に加えることとした。これまで、カライワシは瀬戸内海での採集事例はほとんどなく、国内での入手の困難さからほとんど研究されていない。そこで、

カライワシの生物学的特徴を記載するための研究を開始した。



図—1 採集されたカライワシ
軟骨を青色で、硬骨を赤色で染色した。(A)レプトセファルス(B)変態初期(C)変態後期(D)シラス

2.1 カライワシ稚魚の形態学的特徴

まず、カライワシのレプトセファルス～シラス変態期の形態学的特徴を探るため、軟骨および硬骨の染色を行った。ウナギのレプトセファルスは変態期の脊椎において軟骨から硬骨への置換がおこるが、同様の現象がカライワシでも確認された（図—1）。興味深いことに、脊椎の硬骨への置換は尾部から始まり、変態後期に急速に頭部まで置換が進むことが明らかとなった。ウナギやカライワシのレプトセファルスは、浮遊遊泳を行うと考えられるが、変態にともない積極的な遊泳に変化する。脊椎の硬骨化は、遊泳能力を向上させるとともにカルシウム源として淡水適応にも重要な役割を担っているとも考えられ、どのような分子メカニズムで硬骨化が進行するのか、研究を進めている。特に、C型ナトリウム利尿ペプチド（CNP）は、魚類の淡水適応とともに哺乳類での骨代謝に関わることから、重要な分子の候補として遺伝学的解析を行っている。

た。この成果は魚類の「渴き」の解明につながり、国際誌に掲載された (Katayama et al. *International journal of molecular sciences*, 2020)。さらに、本研究によって CNP4b の合成に成功したので、現在これをウナギ脳内に投与し、飲水を含む浸透圧調節、摂餌行動や硬骨合成への作用を検討中である。

4. 環境汚染モニタリングへの展開

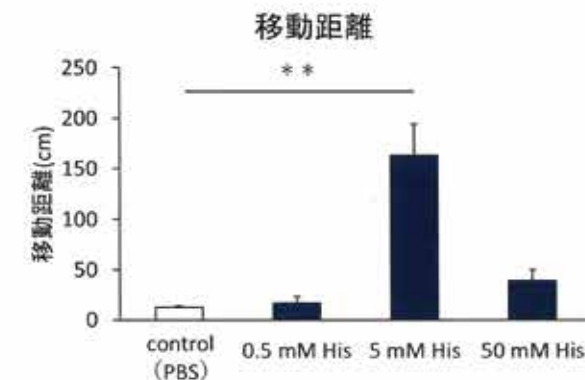
以上の研究によって汽水域という淡水と海水が入り混じる環境が、いかにしてウナギのホルモンや行動生理に影響するかが明らかになりつつある。しかし、汽水域は人間活動の影響を受けやすいことから、環境汚染のおそれに常にさらされ続けてきた。そこで、海洋中の汚染度を簡便に定量し、汽水域の保全を図ることはアオウナギだけでなく多くの希少な魚類を守っていく上で重要である。一方で、筆者らが所属する岡山大学牛窓臨海実験所では、所有船を用いて海洋汚染の環境調査を行っている。近年、マイクロプラスチックが海洋汚染源として懸念されているが (ナショナルジオグラフィック日本版特集『海に流れ出るプラスチック』、2018 年 6 月号)、生物に有害かどうかは不明である。マイクロプラスチックはその素材の違い、さらにマイクロプラスチックに吸着する残留性有機汚染物質の種類によっても有害性が異なることも予想される。先行研究では、残留性有機汚染物質の“環境ホルモン”としての影響が調べられているが、ホルモンを介した慢性効果であるため、効率的なバイオマーカーは未開発といえる。生体への有害性を評価するには、刺激に対して迅速に、かつ定量的に応答する評価系が不可欠である。そこで筆者らは、未だ明らかにされていない魚類のかゆみ・痛みを明らかにし、海洋汚染のバイオセンシングに応用できるのではないかと考えた。すなわち、海洋中の汚染物質に行動変化や発光で応答する「海洋汚染モニター魚」を開発することとした。最初に、広島県の汽水域で採取したトビハゼを用いてかゆみ候補物質 (有害物質) としてヒスタミンを背びれ基部に投与した。その結果、図—5 に示す「こすりつけ行動」が観察された。



図—5 トビハゼのこすりつけ行動

これにより、筆者らは魚類にも体性感覚 (かゆ

み等) があるのではないかと着想した。毒性評価のモデル魚として用いられてきたゼブラフィッシュにヒスタミン等の起痒物質を投与したところ、成魚の投与部位特異的のこすりつけや稚魚の突発的な遊泳を惹起した (図—6)。かゆみの分子・神経基盤を解明するため、透明なゼブラフィッシュの稚魚に蛍光イメージングを導入することで、かゆみの神経活動を全脳レベルで可視化→オミックス解析により客観的に定量することも計画している。



図—6 ゼブラフィッシュのかゆみ様行動

5. おわりに

以上の研究から、アオウナギが暮らす河口域でおこる生命現象、変態や河川侵入といった際の行動や形態、ホルモンの変化が明らかになりつつある。ウナギの浸透圧調節における下垂体の役割を示した筆者らの研究と併せて、ウナギ類の不思議な生態生理を明らかにできることが期待される。本研究の成果は、ウナギを対象とした研究グループに着目され、国立循環器病研究センターの海谷博士や東邦大学の塚田博士との共同研究に発展している (例: Katayama et al. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2020, Kaiya et al. 投稿準備中)。また、ウナギだけでなくカライワシを研究対象とすることで、ウナギ稚魚の変態メカニズムの特殊性と他種との共通性を明らかにすることができる。また、ウナギのレプトセファルス飼育は困難である一方、カライワシは一般的な設備で飼育できることから、実験モデルとして活用していくことも期待される。

さらに、トビハゼやゼブラフィッシュといったモデル動物を駆使した魚類の感覚に関する研究を行うことで、汽水域の環境モニタリングが簡便にできるようになれば、その保全を考慮した沿岸環境のあり方を提起でき、環境省の「ニホンウナギの生息地保全の考え方」等にも寄与する。

湖底の還元力を利用して富栄養化を防止する新規酵素電極の開発

岡山大学大学院環境生命科学研究科生物資源科学専攻 金尾忠芳

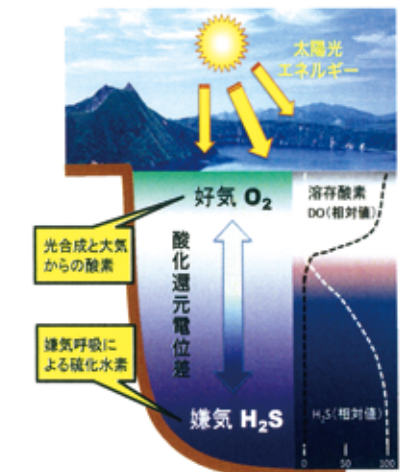
福井大学学術研究院工学系部門生物応用化学講座 里村武範

【緒 論】

日本国内には、大小様々な湖 (約 200 ヶ所) からダムおよび貯水池 (500 ヶ所以上) に至るまで、無数の湖沼が存在する。これらの湖沼において一定の深さを持つ水源では、日中、太陽光により水面付近は温められるのに対し、湖底付近は冷たく重い水が滞留する。この結果、水面付近と湖底で温度差が生じ、水は二層に分離することになる。水面付近の上層では、藻や植物プランクトンによる光合成、また大気に接していることから好気的な環境であり、魚をはじめ多くの水生生物を目にすることができる。一方、湖底付近の下層部では、落ち葉や水生生物の排泄物・死骸など有機物が堆積し、これらが微生物によって分解される際に溶存酸素が完全に消費されてしまうため、嫌気的な環境が形成される。この嫌気環境においても、硫酸還元菌など嫌気性微生物の活動によって有機物は分解され続け、そこに硫化水素が発生・蓄積して絶対嫌気的な環境が作られる。こうなると水面付近 (上層) と湖底 (下層) では温度差だけでなく、大気に触れている酸化的な上層と、絶対嫌気で還元的な下層となって電位差が生じる。【図1】さらにこの下層の還元力により、湖底の堆積物からリンのような栄養塩類の溶出が促進される。その結果、湖沼は富栄養化してアオコの発生などを誘発するため、カビ臭や魚介類の斃死 (へいし) など湖水の水質とその環境の著しい悪化を引き起こす⁽¹⁾。

本研究は、湖の水質と環境を著しく悪化させるアオコの発生の原因となる富栄養化が、湖底における還元力の蓄積によってもたらされることに着目し、これを根本的に解決するための技術開発を目指して行われた。ここでは、この上層と下層における酸化還元電位の差について、湖底の嫌気層と水面付近の好気層を電極で繋ぐことにより、湖底に蓄積した還元力を解消させることで富栄養化を防止しながら電力を得ることを考案した。しかし、単に湖底と水面を導線で繋いでも電流が生じることはない。つまり、酸化還元電位を解消するためには、物質の酸化還元を促進する触媒を持つ電極がなくてはならない。そして湖底に蓄積した還元力の実体は硫化水素であるため、その硫化水素から電子を奪う特別な触媒が必要不可欠となる。

硫化水素酸化還元酵素 (Sulfide: Quinone Oxidoreductase, SQR) は、真核生物、原核生物を問わず、広く生物界に分布している⁽²⁾。その働きは、硫化水素から還元力を得てエネルギーを生み出すものや、代謝によって生じた有毒な硫化水素の解毒として働くもの、あるいは有毒な重金属を硫化物として解毒するための硫化水素を生成する役割などが報告されている。硫黄酸化細菌という硫化水素 (H_2S) チオ硫酸 ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) などの還元型無機硫黄化合物を好んで食べる特殊な微生物が持つ SQR は、その細菌において硫化水素を消化する酵素の一つであると考えられることができる。したがって、本菌に存在する SQR は硫化水素を基質として電子を奪うことで酸化する反応を強く触媒する。この酵素 (SQR) を硫化水素から電子を奪う触媒として利用し、これを固定化した電極を作成することで、



【図1】湖の断面と電位差の形成

湖底に蓄積した還元力を電気エネルギーに変換して解消する。このように還元力を解消することができれば、富栄養化を防止する技術開発に繋がる。さらに電極のスケールアップにより、この電位差を利用した発電も可能となる。いわば湖水環境を巨大な燃料電池と見立てた、全く新しい環境発電システムを構築することが期待できる。

【電極に付与する酵素の選抜】

硫化水素酸化還元酵素 (SQR) は、硫化水素から電子を奪って無毒な硫黄粒子を生成する反応を触媒する。つまり SQR は、硫化水素が持つ還元力 (化学エネルギー) から電子を奪う (電気エネルギーに変換する) 酵素である。これを利用すれば、硫化水素から電子を奪い取る電極を開発することが期待できる。図 2 に、この負電極の概略図を示した。



図 2. SQR 負電極の概略図

また、本研究目的である湖底に沈めても利用可能な電極のための SQR の適合条件を以下に示した。

1. 硫化水素酸化反応をより強く触媒すること。
2. 安定性が高く失活しにくいこと。
3. 可能な限り単純な構造であること。
4. 大腸菌を用いた遺伝子組換え発現で大量に取得できること。
5. 酸性環境下に曝されても、安定性を保ち活性を保持できること。

これらの条件に適合する SQR をデータベースや文献により探索した結果、硫黄酸化細菌の一種である *Acidithiobacillus ferrooxidans* が保有する硫化水素酸化酵素 (Af-SQR) を酵素電極に使用することが最も適している可能性が高いと考えられた。Af-SQR は、単一サブユニットからなるホモダイマー (同一二量体) 構造を有しており、これは単一の遺伝子によってコードされていることを意味する⁽³⁾。*A. ferrooxidans* は極限環境微生物の一種、好酸性細菌に属しており、その酵素タンパク質は常温中性に生息する一般の細菌に由来するものよりも酸に対して比較的安定であることが多い。また、本菌の標準菌株は全ゲノム解析が終了しており、データベース上で遺伝子情報が入手できる利点がある。本研究目標を達成するため、まずは Af-SQR の大量獲得方法の開発に取り組んだ。

Af-SQR を持つ *A. ferrooxidans* は、植物と同じく炭酸同化反応によって二酸化炭素を取込んで増殖分裂する独立栄養生育であるため、通常の培養では生育が遅く、得られる菌体収量も僅かである。具体的には本菌に良い生育基質であるテトラチオン酸で室温において通気培養した場合、10 L (リットル) 1 週間で約 3 グラムの湿菌体を得られる。一方で従属栄養生育の大腸菌であれば、同じ 3 グラムの湿菌体を、ペプトン栄養培地 300 mL を 37°C で一晩振とう培養すれば得ることができる。このため、電極のための必要十分量の Af-SQR を元の *A. ferrooxidans* から得るのは至難の業であり、大腸菌などの従属栄養生物を宿主とした遺伝子組換え発現による酵素の獲得が必要不可欠である。まずは Af-SQR の大腸菌での遺伝子組換え発現による取得を目指した。

【電極に付与する酵素の獲得方法】

① Af-sqr 遺伝子のクローニングと組換え型酵素の獲得

Af-SQR をコードする遺伝子 (Af-sqr) を本菌のゲノムデータベースから特定した。プライマーオリゴヌクレオチドをデザインする。本菌を培養して抽出したゲノム DNA を鋳型として、これらのプライマーと共に PCR を行い、Af-sqr を特異的に増幅後、分離精製して発現ベクターの構築を行う。そして大腸菌を宿主とした本遺伝子の組換え発現によって大量取得を試みる。

② Af-sqr 組換え型酵素の簡便精製方法の確立

PCR により増幅させた Af-sqr 遺伝子には、その 3'-末端に連続するヒスチジンコドンが付与することによって、組換え型酵素にヒスチジンアフィニティタグを導入できる。これによって、Ni や Co などの金属カチオンに対する親和性カラムクロマトグラフィーによって容易に分離精製することが可能となる。

③ 組換え型 Af-Sqr の性質検討と酵素電極への適性評価

分離精製した組換え型 Af-Sqr に対して反応速度論的解析や生化学的な諸性質の検討を行い、本酵素が目的の酵素電極に利用するにあたっての問題点の有無など、その適性を評価する。

【電極に付与する酵素の獲得：結果と考察】

Af-sqr の組換え発現ベクターの構築

上述したように *A. ferrooxidans* の標準菌株の全ゲノム配列がすでに決定されていることから、SQR をコードした遺伝子を実験室のデータベースにおいて検索した結果、LOCUS name/ Accession number: AFE_1792 の I 型 SQR をコードしていると推定される遺伝子を同定することができた。これを特異的に増幅させるようにデザインしたプライマーと鋳型 DNA として本菌から抽出した染色体 DNA を用いて PCR を行った。この PCR 結果を以下に示す。

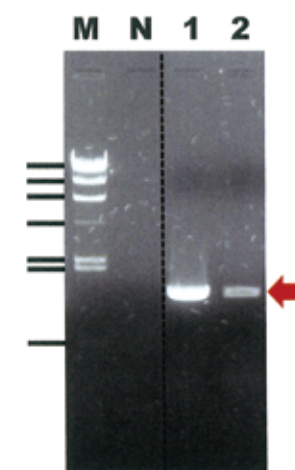


図 3. アガロースゲル電気泳動による PCR 結果。
Af-sqr 遺伝子の増幅確認。

A. ferrooxidans 染色体 DNA を鋳型として増幅した PCR 産物。
レーン 1: Af-sqr 遺伝子全長
レーン 2: 6xHis タグ導入 Af-sqr 遺伝子
レーン N: Negative control
レーン M: Size marker (λ /HindIII)
サイズは上から 23, 9.4, 6.6, 4.4, 2.3, 2.0, 0.56 (kbp)
増幅した DNA 断片は矢印で示した。

図 3 のレーン 1 において *A. ferrooxidans* ゲノム DNA から目的 Af-sqr 遺伝子の特異的増幅が確認できたため、これを抽出・精製したものを鋳型として再度 PCR することで、In-Fusion Cloning タグおよび 6xHis タグ配列を導入した。この PCR において特異的に増幅した DNA 断片をアガロースゲルから抽出・精製し、発現ベクター pET21a の発現部位に挿入した。さらにこの組換えプラスミド溶液で大腸菌 DH5 α 株を形質転換することで、図 4 に示す発現ベクターを獲得した。

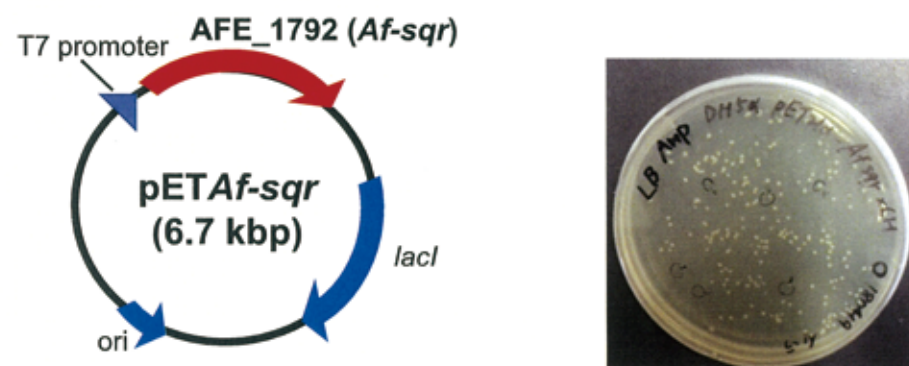


図4. 構築した Af-sqr 発現ベクター（左）と形質転換した大腸菌コロニー（右）

Af-sqr 遺伝子の大腸菌組換え発現による組換え型 Af-Sqr 酵素の獲得

構築した組換え発現ベクター pETAf-sqr で形質転換した大腸菌 BL21(DE3) 株を栄養培地にて 37°C で 8 時間培養し、IPTG による遺伝子発現誘導をさらに 8 時間行った。誘導前後の全菌体タンパク質およびコントロールベクター pET21a で形質転換した大腸菌を対照実験として、それぞれを SDS-PAGE に供した。結果を図5に示した。

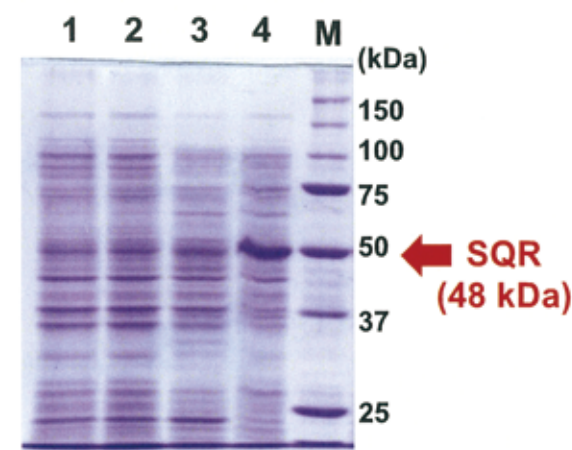


図5. Af-sqr 遺伝子の大腸菌組換え発現の SDS-PAGE による確認

レーン 1, 2 : *E. coli* BL21(DE3) pET21a の全菌体タンパク質 (対照実験)

レーン 3, 4 : *E. coli* BL21(DE3) pETAf-sqr の全菌体タンパク質

レーン 1, 3 : 誘導前全菌体タンパク質

レーン 2, 4 : 誘導後全菌体タンパク質

レーン M : 分子質量マーカー

レーン4において Af-Sqr に相当する分子質量 48 kDa (約 50 kDa) の太いタンパク質バンドが確認できた。また、レーン4の誘導後の大腸菌体を遠心分離によって回収し、リゾチームを含む溶液で処理することで、溶菌させた後 10,000×g, 10 分間遠心分離することによって、上清と沈殿に分画した。この上清からはキノン依存的な SQR 活性が検出された (活性の数値については精製した酵素を用いて測定したものを後述する)。一方で、これと同様の処理を行ったレーン2の大腸菌溶菌液の上清からは、SQR 活性は検出できなかった。これらの結果から、発現ベクター pETAf-sqr の大腸菌への導入により、活性型の Af-Sqr を遺伝子組換え発現によって獲得することができた。

方法で述べたように、発現ベクター pETAf-sqr の SQR 遺伝子の 3'-末端には連続したヒスチジンコドンを導入している (His-タグの導入) ことから、図5, レーン4で確認できた組換え型 Af-Sqr タンパク質の C-末端には His-タグが付与されている。したがって、本

組換え酵素をアフィニティカラムクロマトグラフィーによる精製を試みた。

本実験では His-タグアフィニティカラムとして、クロンテック社製 TALON(Cobalt) レジンをを用いて精製を行った⁽⁴⁾。結果を図6に示した。

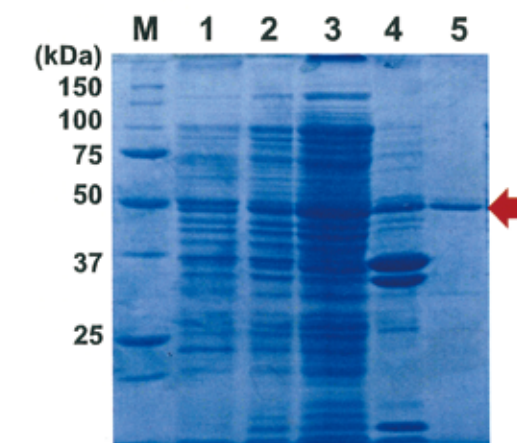


図6. 組換え Af-Sqr のアフィニティカラムによる精製を SDS-PAGE により確認

レーン 1, 2 : *E. coli* BL21(DE3) pETAf-sqr の全菌体タンパク質。1 が誘導前、2 が誘導後

レーン 3, 4 : *E. coli* BL21(DE3) pETAf-sqr の溶菌後の遠心分画。

上清 (レーン3) と沈殿 (レーン4)

レーン5 : レーン3のカラム溶出画分

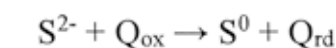
図6のレーン5において分子質量約 50kDa の Af-Sqr に相当するタンパク質バンドがほぼ1本となり、本酵素が電気泳動的に単一に観察された。このことから His-タグを付与することにより、アフィニティカラムクロマトグラフィーで簡便に精製することに成功した。

組換え型 Af-Sqr 酵素の活性および諸性質の検討

組換え型 Af-Sqr を TALON(Cobalt) レジンアフィニティカラムクロマトグラフィーによって簡便に精製できたことから、本酵素の活性測定と反応速度論的解析および生化学的な諸性質の検討を行った。

組換え型 Af-Sqr の活性測定と反応速度論的解析

Af-Sqr は以下の反応を触媒するため、基質のサルファイドイオンの減少量を定量する方法と、生成物である還元型キノン (ここでは Decylubiquinone: DUQ) の増加量を定量する方法の2通りの測定が可能である。



サルファイドの定量をメチレンブルー法で、酸化型キノンは 275 nm の吸光度の減少量を測定して DUQ の分子吸光係数を乗じることで定量した。

それぞれの結果を次の図7に示した。この結果、本酵素の比活性は、0.378 U·mg⁻¹ と算出された。なお、1 U は 1 分間に 1 μmol のキノンを還元する酵素量と定義した。

さらにサルファイドと DUQ に対する反応速度論的解析を行った。結果を図8に示した。

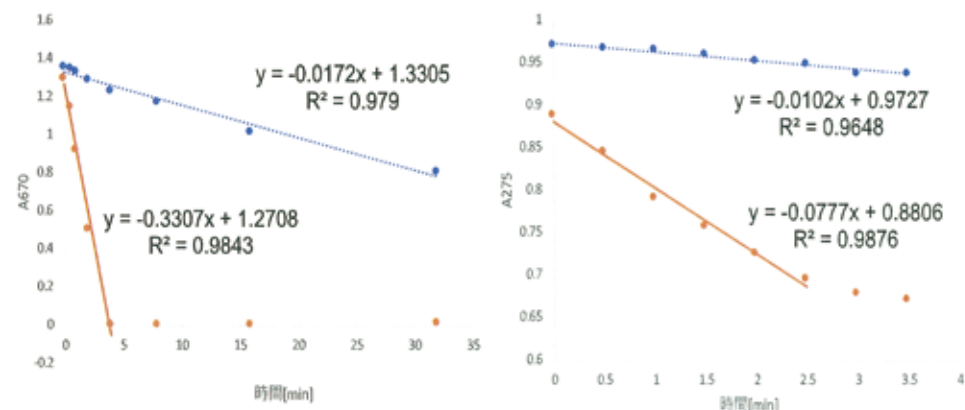


図7. 組換え型 Af-Sqr の活性測定。サルファイドの定量(左)と酸化型キノンの定量(右)
●: Af-Sqr を添加したもの, ●: 加熱失活した酵素タンパク質を添加 (コントロール)
両方の測定方法において、サルファイドの減少および酸化型キノンの明確な減少が検出できた。非酵素的な反応であるコントロールを差し引いた、これらの減少量を定量することで Af-Sqr の活性を算出した。

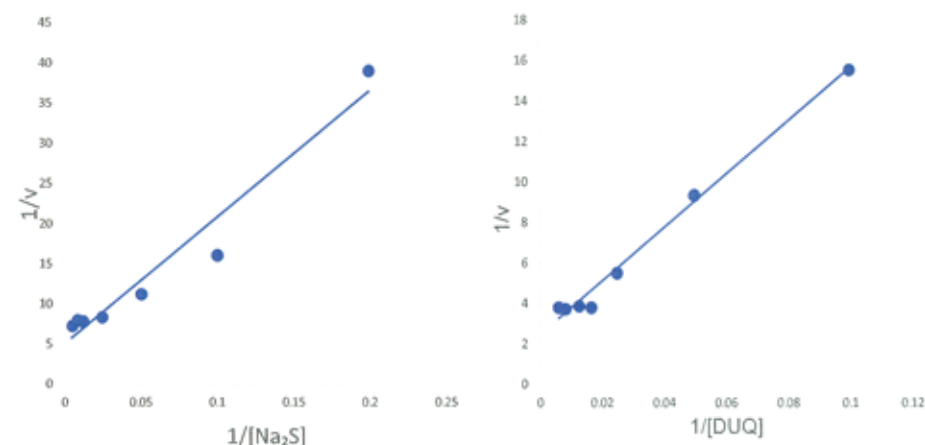


図8. 組換え型 Af-Sqr の反応速度論的解析。各基質に対する逆数プロット、サルファイド(左)と酸化型キノンの(右)
本酵素は逆数プロットが直線上に分布し、ミカエリス-メンテンの式に従う。それぞれの基質に対する K_m 値は、サルファイドが 31 μM , DUQ が 53 μM と算出された。

K_m 値とは、酵素の基質に対する親和性を表す指標であり、この数値が低いほど酵素に対する親和性が高い（より低濃度でも反応する）ことを意味している。DUQ に対する酵素の親和性は、他生物由来の SQR と比較しても大差なく、生理的な DUQ 濃度を反映したものであったのに対し、サルファイドに対する親和性は他の生物由来の SQR よりもやや高い値を示した。この理由については、サルファイドのシグナル伝達に關与する SQR の場合、細胞質内のごく低濃度のサルファイドに対して反応しなければならないので、高い親和性（低い K_m 値）が必要とされる。また、逆に高濃度のサルファイド条件下では阻害を受ける場合も少なくない。一方で Af-Sqr はエネルギー代謝としての生理的役割を持つため、より高濃度のサルファイドに対して機能を発揮するために、比較的 K_m 値が高くなったと推定される。湖底に蓄積されたサルファイドは、ミリモラー (mM) レベルの

高濃度に達する場合も想定されるため、高濃度サルファイド条件下でも機能を損なわない SQR が、本研究の目的酵素の特性として要求される。Af-Sqr は、20 mM の高サルファイド条件下でも最大活性を保ち、高濃度基質による阻害を受けることはなかった。このことから、Af-Sqr は湖底のサルファイドから電気を生み出す電極用の酵素に適した性質の1つを示した。

組換え型 Af-Sqr の生化学的諸性質 (pH の影響)

Af-Sqr の pH に対する影響を調べた。結果を以下に示した。

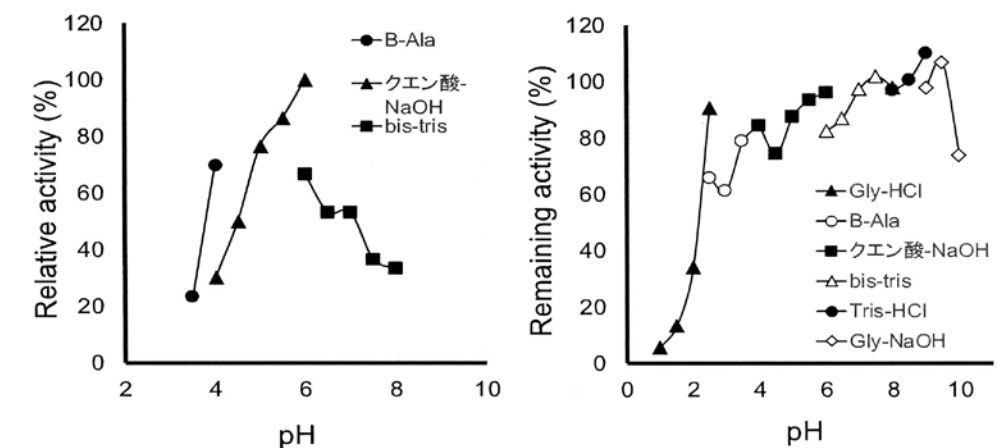


図9. 組換え型 Af-Sqr の pH に対する影響。反応最適 pH(左)と pH 安定性(右)
各 pH における本酵素の活性を測定した。最大値を 100%とした相対活性で表し、それぞれの pH に用いた緩衝液の種類はグラフ内に示した。pH 安定性については、本酵素の溶液を各 pH 緩衝液と混合し、氷上 (0°C) 60 分間曝した後、0.1M Bis-Tris 緩衝液 (pH6.5) で測定した。各 pH における残存活性を相対値 (%) で表した。

実験の結果、本酵素は pH 5~6 で最大活性を示し、pH 3.5~8.0 で活性を検出した。なお、これより酸性側ではサルファイドの定量性がなくなること、アルカリ性側ではキノンが非酵素的に還元されるために測定ができなかった。また、pH 安定性においては、pH 2~10 と非常に広範囲な pH に曝されても一定の活性を保持する、pH に対して高い安定性を示した。

以上のように反応最適 pH が弱酸性側にあること、広い pH 安定性を有することなどから、本酵素は目的酵素電極への応用に対して、かなり優れた特性を持っていることが示された。

ここまでの本研究をまとめると、まずは湖底の還元力の本体である硫化水素から電子を奪う酵素である SQR は広く生物種間において分布しているが、本研究目的に適した SQR は硫黄酸化細菌の一種 (*A. ferrooxidans*) に由来する Af-Sqr であることを見出した。そして、これをコードする遺伝子 (Af-sqr) を同定し、アフィニティタグの導入と大腸菌を宿主とした遺伝子組換え発現系を構築した。これによって、組換え型の Af-Sqr を必要十分量獲得し、かつ容易に精製した酵素として利用可能な系を構築することができ、本酵素の諸性質を検討した結果、推定したように目的にかなう性質を示した。

以上のことから、獲得できた組換え型 Af-Sqr を利用した酵素電極の作成を試みた。

【組換え型 Af-Sqr 酵素を素子とした電極の作成と電気化学的評価】

組換え型 Af-Sqr 酵素の電気化学的特性を明らかにするために、本酵素をグラッシーカーボン電極 (GCE) 上に修飾した電極を以下の方法で作成した (図 10)。また、本酵素と電極間の電子伝達効率の向上のため、本酵素を電極上に修飾する際には多層カーボンナノチューブ (MWCNT) とともに電極へ修飾した。MWCNT は高い伝導率と比表面積を有しているため、電極へ酵素を高密度に修飾することが可能になる。GCE (直径 6 mm) 上に 3 mg/ml になるように N-メチル-2-ピロリドン (NMP) で分散した MWCNT 分散液を 30 μ l 添加し GCE 上に MWCNT を修飾し、MWCNT/GCE を作成した。次に、精製した組換え型 Af-Sqr 酵素 (0.3 mg) を MWCNT/GCE に添加し乾燥し Af-Sqr/MWCNT/GCE を作成した。

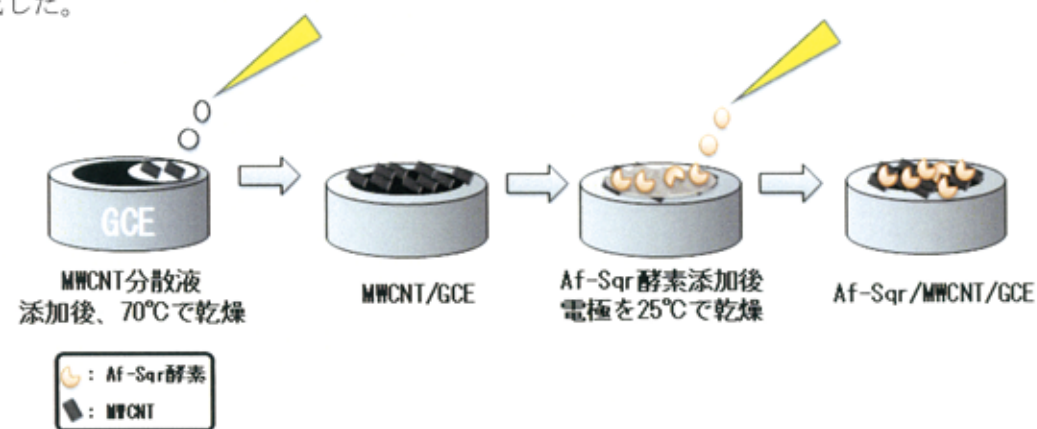


図10. Af-Sqr 酵素を素子とした電極の作成

作成した Af-Sqr/MWCNT/GCE を作用極、Ag/AgCl を参照極、白金ワイヤーを対極とした三電極方式でサイクリックボルタンメトリー (CV)、クロノアンペロメトリー (CA) 測定を行うことで Af-Sqr 酵素の電気化学的評価を行った。100 mM HEPES buffer (pH 7.0) を電解液として、Na₂S を添加することで測定を行った。また、本酵素のメディエーターとしてフェリシアン化カリウムを用いて測定した。CV の測定は、初期電位 -0.2 V、掃引幅 -0.2 V ~ +0.5 V、掃引速度 10 mV/s とした。

Af-Sqr/MWCNT/GCE では CV 測定により、0.3 V 付近にフェリシアン化カリウム由来の酸化還元ピークが確認でき、基質である Na₂S 存在下では、0.45V において 8 μ A の電流応答の上昇も確認できた (図 11)。

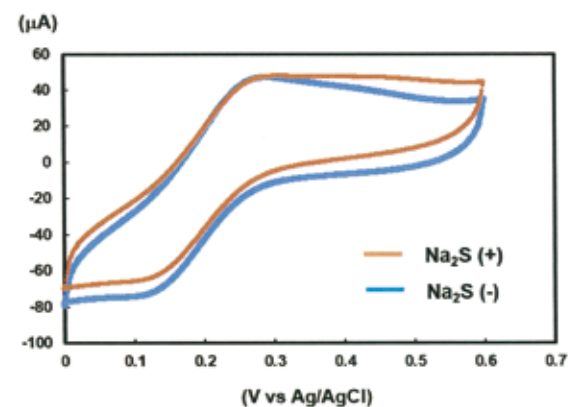


図 11. Af-Sqr/MWCNT/GCE における CV

また、+0.45 V (vs. Ag/AgCl) の一定電位を印加し Na₂S の濃度を 0, 40, 80, 120, 160, 200 μ M と逐次添加して CA 測定を行った結果、各濃度での電流値の増加が認められ、200 μ M の Na₂S において 11 μ A の電流応答の増大が確認できた (図 12)。

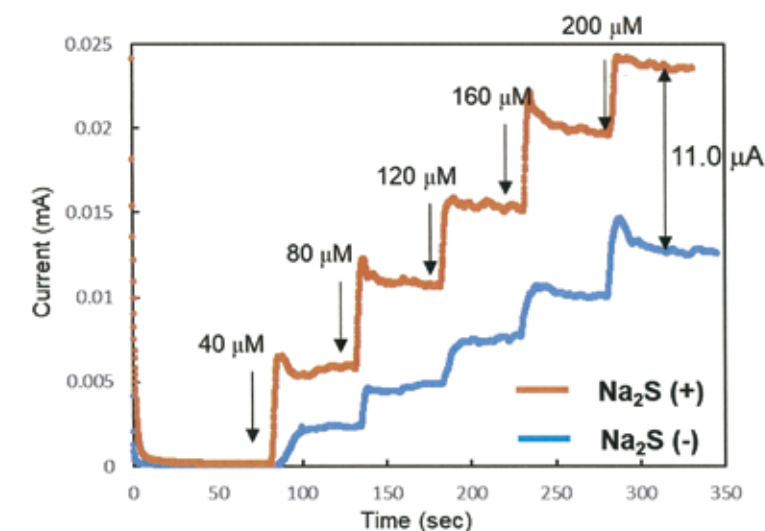


図 12. Af-Sqr/MWCNT/GCE における CA

このことから、Af-Sqr 酵素、MWCNT を修飾した電極にフェリシアン化カリウムをメディエーターとして用いることにより、硫化ナトリウムを酸化し、硫化ナトリウムの電子を電極へ伝達できることが明らかとなり、本酵素を素子としたアノードを構築することによって硫化水素を燃料とするバイオ電池を構築できることが示された (図 13)。

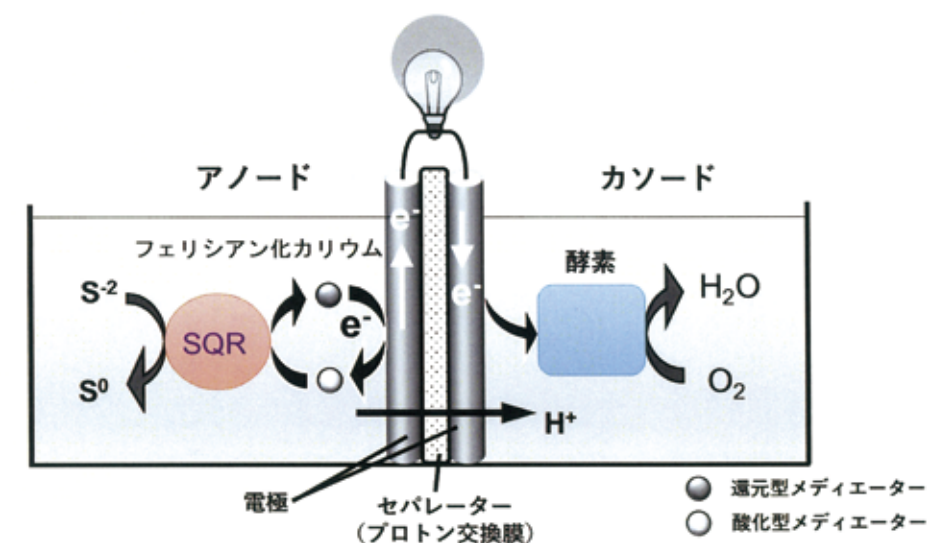


図 12. Af-Sqr 酵素を素子とした硫化水素電池の概略図

【まとめと今後の展望】

本研究課題において、湖底の還元力の本体である硫化水素から電子を奪う酵素、SQRを硫黄酸化細菌 *A. ferrooxidans* より遺伝子組換え発現による大量取得とアフィニティタグを利用した簡便精製のプロセスを構築することができた。さらに、優れた導電体である多層カーボンナノチューブ（MWCNT）に組換え型 Af-Sqr を修飾した酵素電極もプロトタイプとして初めて作成することができた。作成した電極では、硫化水素から電子を奪い電気エネルギーへと変換し、発電することを観察できた。

現時点ではその起電力が低いため、これを如何にして高めていくのかが今後の課題となる。このために、酵素の修飾密度を高めることや電極の大型化、あるいはメディエーターの最適化などを検討することが必要になる。またカソード側についても、現在は白金メッシュによる環境中の酸素の自発的酸化に依存しているが、ここにオキシダーゼなどの酸化酵素を修飾した酵素電極を取り入れることで、起電力の大幅な向上が期待できる。現在、このカソードに利用する超好熱菌由来の極めて安定であり高活性な酵素を、その触媒の候補として考案している⁽⁵⁾。

湖底に蓄積する還元力は、太陽の光エネルギーに由来し生物的に蓄積したものである。この還元力の蓄積は、湖底からリンを溶出し富栄養化の原因となる。したがって、リンの溶出が生じる前にこの還元力を電気エネルギーに変換して利用できれば、富栄養化による「アオコの発生」というマイナス要素から「発電」というプラスの要素に転じることができる。実用化を目指す上で、まずは湖底の還元力（硫化水素）が蓄積した箇所を探索できるセンサーとしての応用を考案している。富栄養化をもたらす湖底の還元力は、酸化剤の投入や空気を曝気することで対処されているが、広大な湖全体を処置するとなると莫大なコストを要するため非現実的である。そこで本研究成果を基に、これを探知するセンサーを開発すれば、還元力の蓄積した箇所を特定することができ、局所的にこれを解消する処置をとることが可能となる。したがって、高効率に富栄養化を抑制し、アオコの発生とその被害を回避できるようになる。最終的には電極を大型化し、湖底に蓄積した還元力を直接電力として利用することで、地産地消の新たな再生可能エネルギーとして開発・利用されることが期待できる。本研究は国連が推奨する SDGs（持続可能な開発目標）の観点からも極めて有意義である。

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、多大なるご支援を頂きました公益財団法人 八雲環境科学振興財団に深く感謝の意を申し上げます。

【参考文献】

- (1) 環境省ホームページ：水・土壌・地盤・海洋環境の保全、水環境関係
URL: <https://www.env.go.jp/water/mizu.html>
- (2) Brito JA. et al., Structural and functional insights into sulfide:quinone oxidoreductase., *Biochemistry*, 48 (24), 5613-5622, 2009
- (3) Cherney MM. et al., Crystal structure of sulfide:quinone oxidoreductase from *Acidithiobacillus ferrooxidans*: insights into sulfidotrophic respiration and detoxification., *J. Mol. Biol.*, 398 (2), 292-305, 2010
- (4) ヒスチジン融合タンパク質精製の切り札：TALON Resin, タカラバイオカタログ Bio View No.52, 19-20, URL: http://catalog.takara-bio.co.jp/PDFS/52_19-21.pdf
- (5) 好熱菌由来酸化還元酵素を電極用触媒としたバイオ電池の開発, 里村武範ら, 生化学 91 巻 572-576, 2019 年

環境配慮型マスクメロン品種の育成を可能にする種間雑種の作出と特性

解析

岡山大学学術研究院環境生命科学学域 加藤 鎌司

1. はじめに

メロン (*Cucumis melo*) はウリ科作物の中で最も多様性に富む作物として知られており、例えば果実の長さは数 cm (雑草メロン) から 1m 以上 (スネークメロン) と大きく異なる。果皮におけるネットの有無も品種によって異なり、ネットメロンはインド以西の地域に固有で、わが国を含む東アジアではノーネットのマクワ・シロウリだけが利用されていた。ネットメロンがわが国に導入されたのは明治時代以降のことであり、1925 年にイギリスから導入された "Earl's Favourite" という品種の改良が重ねられ、マスクメロンあるいはアールスメロンとして静岡県などで温室栽培されるようになった。

マスクメロンの特徴はマスク香といわれる香りと柔らかく (メルティング質) 甘い果肉であり、高級果物として流通・消費されている。ただし、"Earl's Favourite" が耐病虫性遺伝子をほとんど保有しないために、病虫害防除が不可欠であり、これまでは抵抗性遺伝子をもつ新品種の育成や新たな農業の開発・施用が行われてきた。重要病害の一つであるつる割病については、2 種類の抵抗性遺伝子 (*Fom-1*, *Fom-2*) と臭化メチル剤を用いた土壌殺菌により制御されてきたが、オゾンホールの原因物質として臭化メチル剤の使用・生産が中止となったために、抵抗性遺伝子の重要性が増している。このような状況において、つる割病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp.melonis) の変異型レース 1.2y が国内で出現し、本レースによる病害が国内の主要産地において問題となっている。前述の抵抗性遺伝子 (*Fom-1*, *Fom-2*) をもつ品種もすべて罹病してしまうため、レース 1.2y に対する抵抗性品種の育成が急務となっている。しかしながら、栽培メロンの中に完全な抵抗性を示す系統が見出されていないために、農業に依存せざるを得ず、環境への負荷を低減できていないのが現状である。

このような現状を打開する鍵はメロン近縁野生種である。キュウリ属 (*Cucumis* 属) の野生種は

多くがアフリカに自生しているが、各種の耐病虫性遺伝子を保有していることから、耐病虫性メロン品種を育成するための重要な遺伝資源と期待されている。しかしながら、メロンとの雑種作出が困難であるために、野生種を利用した品種改良は行われておらず、未利用の潜在的遺伝資源に留まっている。

以上のことから、メロンと *Cucumis* 属野生種との雑種作出技術を開発できれば、メロン育種に利用可能な遺伝資源を飛躍的に拡大することができ、各種の耐病虫性遺伝子を野生種から導入した環境配慮型マスクメロン品種の育成が可能になると考えられる。そこで、雑種作出の可能性が最も高いと考えられる野生種を特定するために *Cucumis* 属 18 種の葉緑体ゲノム配列を比較した結果、①世界の栽培メロンが 3 つの母系に分けられること (Tanaka et al., 2013), そして② *C. sagittatus* という野生種の葉緑体ゲノム配列がアフリカの栽培メロンとよく似ていること (長井ら, 2021), が明らかになった。そこで本研究では、*C. sagittatus* に注目し、わが国のマスクメロンの代表的品種である春系 3 号との間で種間雑種の作出を試みた。

2. 材料および方法

供試材料；わが国のマスクメロンの代表的品種である春系 3 号、および南アフリカ原産の *C. sagittatus* の 2 系統 (US 161, US 162)。

交配・未熟胚培養；*C. sagittatus* の雌花に春系 3 号の花粉を受粉した。結果率は良好で果実は正常に肥大したが、胚が途中で退化してしまうために発芽可能な種子を得ることはできなかった。そこで、受粉後 2 週間程度の未熟果実から種子を無菌的に摘出し、ホルモンフリーの寒天培地で培養し、60 日後にカルス形成数、発芽数を記録した。発芽した雑種個体を植木鉢に移植して順化させた。また、挿し木により雑種個体を維持・増殖して以下の解析に供試した。

雑種性の検定；得られた個体が雑種であること

を確認するために、ビニールハウス（14℃以上）で栽培し葉および果実の形質を測定した。加えて、葉から DNA を抽出し、PCR 法を利用したマーカー解析を行った。核ゲノムのマーカーとして CMCTT144 (SSR マーカー)、*CmPH* (果汁の pH 決定遺伝子)、*CmACS7* (雌花の性決定遺伝子) を用いた。細胞質ゲノムについては、母性遺伝する葉緑体ゲノムについては *Cmcp11* (dCAPS マーカー) を、また父性遺伝するミトコンドリアゲノムについては STS-UBC114、1F1R-1600-2 in (どちらも MtIREP マーカー (加藤, 2007)) を、それぞれ用いた。

染色体数の倍加；雑種植物に雌花（単性花）と雄花が形成されたが、雄花の花粉は不稔であった。そこで、雌花に春系 3 号の健全花粉を受粉したところ、順調に果実肥大したが未熟種子の中に胚を確認することはできなかった。そこで、染色体数を倍加して複 2 倍体を作成するために、コルヒチン処理を行った。処理後に展開した葉を採取して CyStain PI Absolute P キット (Sysmex) を用いて核遊離液を調整し、Gallios フローサイトメーター (Beckman) により細胞当たり DNA 量を測定し、倍数性を評価した。

3. 結果および考察

雑種個体の獲得；*C. sagittatus* の雌花 668 個に春系 3 号の花粉を受粉した結果、417 個において果実の肥大生長が観察された。着果率は 62.4% と高かった。他の野生種では春系 3 号の花粉を授粉しても着果しなかったことから（予備実験）、*C. sagittatus* がメロンに近縁なことが確認された。

ただし、未熟胚培養 60 日後におけるカルス形成数、発芽数（葉や茎が形成されたもの）はそれぞれ 646 個、37 個であり、果実あたりではそれぞれ 1.5 個、0.09 個と効率が極めて低いといえる。着果した果実当たり種子数が約 85 粒なので、種子当たりの効率はさらに低くなる。発芽個体のほとんどは茎葉形成したものの発根は誘導されなかったが、1 個体において IAA（インドール酢酸）



図－1 未熟胚培養により発芽・生長・発根した個体

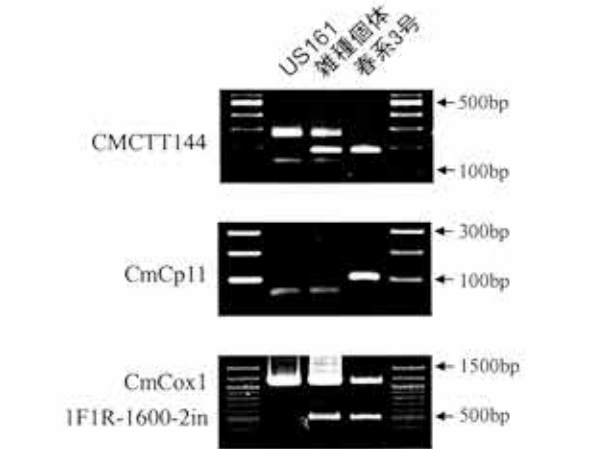
処理により発根が誘導された（図－1）。そこで本個体を鉢上げし、挿し木により増殖した。

雑種性の検定；十分に生長した雑種個体の個葉面積は春系 3 号の 1/10 程度と小さかったが（データ省略）、US 161 と比べると 4 倍と大きく（表－1）、両親の中間的な特徴を示した。葉色（葉緑素含量）の指標である SPAD 値、および果実サイズも両親の中間的な特徴を示した。

表－1 葉および果実の特性比較

形質	US 161	雑種個体	p
葉身			
長さ (cm)	2.6 ± 0.3	5.2 ± 0.6 **	
幅 (cm)	3.5 ± 0.3	6.6 ± 0.5 **	
面積 (cm ²)	7.8 ± 1.2	33.1 ± 6.2 **	
SPAD値	61.1 ± 0.9	43.4 ± 0.3 **	
果実			
長さ (cm)	2.8 ± 0.3	3.6 ± 0.2 **	
直径 (cm)	2.7 ± 0.2	3.8 ± 0.3 **	
重量 (g)	11.1 ± 2.7	25.2 ± 5.4 **	
平均値 ± 標準偏差, ** p < 0.01			

核ゲノムのマーカーを用いた PCR 解析の結果、SSR マーカーの CMCTT144 では春系 3 号と US 161 の増幅産物がそれぞれ約 190bp、約 280bp とサイズが異なり、雑種個体では両親系統の DNA 配列がどちらも増幅された（図－2）。*CmPH* では両親系統の DNA 増幅サイズがそれぞれ 92bp、80bp、*CmACS7* ではそれぞれ 398bp、326bp であるが、雑種個体では両親系統の DNA 配列がどちらも増幅された。この結果は、雑種個体の核内には両親系統の DNA 配列が共存すること、つまり雑種個体であることを示している。細胞質ゲノムのうち母性遺伝する葉緑体ゲノムの *Cmcp11* については、雑種個体は雌親の US 161 と同じ DNA



図－2 核ゲノム（上）、葉緑体ゲノム（中）、ミトコンドリアゲノム（下）のマーカーを用いた PCR 解析。両端の 2 レーンはサイズマーカー。

配列を保有し（図－2）、また父性遺伝するミトコンドリアゲノムの MtIREP マーカーである STS-UBC114、1F1R-1600-2 in については、どちらも雄親の春系 3 号と同じ DNA 配列が増幅された（図－2）。以上の結果より、未熟胚培養により得られた個体が *C. sagittatus* と春系 3 号の雑種であることが明らかになった。

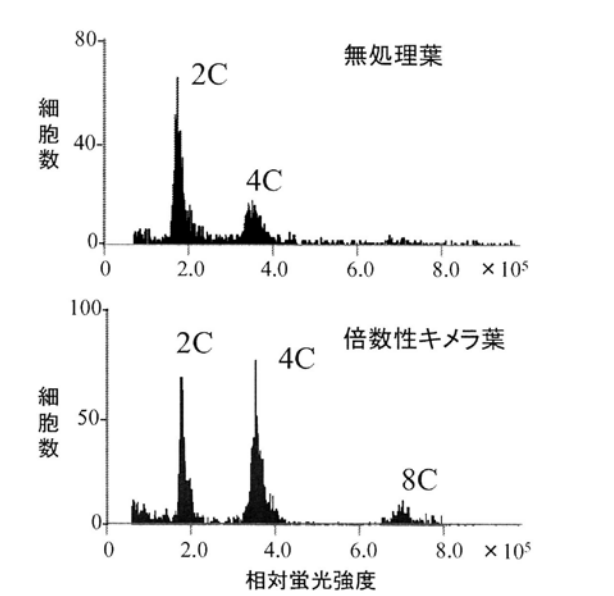
キュウリにおいては *C. hystrix* という野生種との間での雑種が作出されており、複 2 倍体化にも成功している (Chen et al., 2003)。これに対して、メロンでは成功例が報告されていないことから、本研究において初めて成功したと結論できる。また、これまでの研究により特定されていないメロンの祖先野生種について、アフリカ南部に分布する *C. sagittatus* が有力候補であることが強く示唆された。

雑種個体の稔性；雑種個体は単性花型で雌花と雄花が形成されたので自家受粉を行ったが結果したのは 51 花のうち 1 花だけであり、しかも成熟種子はなかった。そこで花粉を検鏡したところ、でんぷん粒で満たされた正常花粉はなく、ほとんどが不稔花粉であった。一方、春系 3 号の正常花粉を授粉した雌花は、88 花のうち 21 花で結果し、わずか 2 粒の硬化した種子があったが、胚は退化しており発芽しなかった。

染色体数の倍加；雑種個体の種子を獲得するには、染色体数を倍加して複 2 倍体にする必要があると考え、コルヒチン処理による倍加を試みた。

a) 頂芽浸漬処理；挿し木増殖した 25 個体を供試し、頂芽を含む先端部を 0.5% コルヒチン溶液に 2 時間浸漬した後に水洗した。処理後に新たに展開した葉を採取して DNA 量を調べた結果、無処理葉にはない 8C (8 倍性) 細胞が存在し、4C (4 倍性) 細胞の頻度も高い個体（図－3 下）を 6 個体見出すことができた（表－2）。ただし、いずれの個体も 2C (2 倍性) 細胞が混在するキメラであり、その後に展開した高位節の葉では倍加細胞が消滅していた。

b) 浸根処理；挿し木増殖した 57 個体を鉢から掘りあげ、根を水洗した後、0.05% コルヒチン溶液に 1～11 時間浸漬し水洗した。処理による障害として主茎の頂芽を含む先端部が枯死したので、処理後に出芽した脇芽の葉身を採取して DNA 量を調べた。その結果、6 時間以上の処理によりキメラ化すること、そして 7 時間以上の処理区では全てキメラ化することが明らかになった（表－2）。ただし、いずれのキメラ個体もその後に展開した高位節の葉では倍加細胞が消滅していた。



図－3 フローサイトメトリーにより解析した細胞当たり DNA 量の頻度分布

以上の結果より、コルヒチン処理により部分的に倍加したキメラ個体が誘導されることが明らかになったが、2 倍性細胞が混在しない複 2 倍体の作出には至らなかった。メロンにおける染色体数の倍加については、半数体の倍加（2 倍体化）に関する報告があり (Lotfi et al., 2003)、無菌培養条件でのコルヒチン処理により倍加できたが、本研究と同様に通常の植物に処理した場合には倍加個体を作成できなかったとされている。通常の植物の頂芽への処理では、葉芽や生長点を構成する細胞が対象となるが、これらは単細胞ではなく多細胞組織なので、染色体数が倍加されるのは一部の細胞だけであり、結果的に倍数性キメラになる。キメラ個体においては、半数性細胞と 2 倍性細胞、あるいは 2 倍性細胞と 4 倍性細胞の間で分裂・生長速度がまったく同じであれば両者が共存するが、差がある場合にはどちらかの倍数性に収敛してしまうと考えられている。本研究で作出した種間雑種では細胞間競争により 4 倍性細胞が消滅したも

表－2 コルヒチンの処理方法によって影響される 4 倍性細胞の出現頻度

処理時間 (h)	処理個体数	生存個体数	2倍体 (2C)	倍数性キメラ (2C/4C)	複2倍体 (4C)
頂芽浸漬処理					
2	25	22	16	6	0
浸根処理					
1～5	15	14	14	0	0
6	31	30	19	11	0
7～11	11	11	0	11	0

のと考えられる。従って、今後は、倍数性キメラ化を回避もしくは低減できる処理法の検討が必要である。

4. 結論及び今後の展望

マスクメロン産地の多くでは周年供給のために連作されることが多く、その結果として病原菌が発生しやすく、さらに新たな病原菌レース（変異型）も発生しており、農薬の使用が不可欠となっている。また、冬季には加温したハウスでの栽培が不可避であり、燃料代が農家経営を圧迫するだけでなく、二酸化炭素の発生源にもなっている。農薬や化石燃料の使用を抑制するには耐病虫性や低温耐性品種の育成が有効であるが、そのために利用できる遺伝資源が限られているのが現状である。そこで本研究において、メロン遺伝資源の革新的拡充をめざして、*Cucumis* 属野生種の *C. sagittatus* とマスクメロンの代表品種である春系 3 号との雑種作出を試みた。

種間雑種の作出はやはり簡単ではなく、多数の未熟胚を培養し、1 個体の雑種植物を獲得することができた。これまで多くの研究者がメロンと *Cucumis* 属野生種との雑種作出を試みてきたが成功したという報告がないことから、世界で初めて成功したと結論できる。また、この成功により、*C. sagittatus* がメロンの祖先野生種である可能性が示された。

ただし、コルヒチン処理による複 2 倍体作出には至らなかったため、雑種個体の種子増殖は今後の検討課題として残された。引き続き、コルヒチン処理法を検討して複 2 倍体を作成する必要がある。

その後、複 2 倍体と春系 3 号を交配した後代を作成し、春系 3 号の 12 対の染色体に加えて *C. sagittatus* の 1 対の染色体をもつ染色体添加系統を作成する予定である。理論的には 12 種類の染色体添加系統が得られるはずである。このような系統の利用により、耐病虫性育種や耐病虫性遺伝子などの解析が一気に進むものと期待している。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご支援をいただきました公益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。

引用文献

Chen, J, J Staub, Ch Qian, J Jiang, X Luo, and F Zhuang, Reproduction and cytogenetic

characterization of interspecific hybrids derived from *Cucumis hystrix* Chakr. x *Cucumis sativus* L. Theor Appl Genet 106: 688-695 (2003)

加藤鎌司. 他殖性野菜の品種識別. 平成 19 年度課題別研究会資料・ネギ属野菜の育種と栽培・品質に関する諸問題, p.24-31 (2007)

Lotfi M, AR Alan, MJ Henning, MM Jahn, and ED Earle. Production of haploid and doubled haploid plants of melon (*Cucumis melo* L) for use in breeding for multiple virus resistance. Plant Cell Rep. 21: 1121-1128 (2003)

長井朋美, 丸山 純, 田中克典, 嶋田玄太郎, Odirichi Nnennaya Imoh, 西田英隆, 加藤鎌司. 葉緑体ゲノムの配列変異解析が示すメロンの近縁野生種. 育種学研究. 23 (別 1) : 138 (2021)

Tanaka K, Y Akashi, K Fukunaga, T Yamamoto, Y Aierken, H Nishida, CL Long, H Yoshino, Y Sato, and K Kato. Diversification and genetic differentiation of cultivated melon inferred from sequence polymorphism in the chloroplast genome. Breed Sci. 63: 183-196 (2013)

環境配慮型技術の歴史的研究

ー旧閑谷学校のランドスケープを構成する水利技術についてー

岡山県立大学デザイン学部 向山 徹
広島工業大学環境学部 河田 智成
衛藤建築設計室 衛藤 翔平

1. はじめに

1. 1 研究の背景と目的

岡山県備前市に現存する閑谷学校は、寛文 10 年 (1670 年) に岡山藩主池田光正が庶民の子弟教育のために創設した学校の遺構であり、周囲の自然と融合した石堀や建築群として、谷あいの地形に沿って佇んでいる。蒲鉾型の石堀が特徴であるが、他にも領域を境界付ける石垣・石積・水路・吸い込み井戸など、雨水を様々な方式で導くための石組みが設えられ、静かな場所を形成している。



図 1 南側から石堀越しに講堂をみる

本研究の目的は、閑谷学校構内全体を自然の地形と水利の遺構としての石がつくる「雨の器」と捉え、器に染み渡る「水」の諸相がつながる「学びの場」形成の様相を明らかにすることである。普請奉行を務めた津田永忠が、岡山藩の新田開発や水利事業において研磨した水利技術がこの閑谷の地に「雨の器」という環境技術として凝縮され、今でも生きた「学びの場」を支えている。

この技術は、今後人類が直面する気候変動や、急速で巨大な情報化による社会環境の変化をしなやかに調和させるための社会基盤構築の前提となる「人と自然とのかかわりの所作」を我々に示すのではないかと考える。

本稿では、既往の実測資料及び現地調査（実測・写真撮影）により、現状地形及び地表面に現れて

いる石の遺構を 3 次元にモデリング、さらに今回実施の地盤調査・実測調査データを上記モデルに重ね合わせ、地形と石がつくる環境技術としての「雨の器」の断面構造モデリングとして可視化し、「学びの場」の領域形成のあり方を探る。

1. 2 既往研究と本研究の位置づけ

閑谷学校の水利技術としての遺構に関する基礎資料は、昭和 34 年から 37 年にかけて行われた岡山県教育委員会による保存修理に伴う調査¹、平成 12 年の同じく岡山県教育委員会による環境整備に伴う確認調査²および（公財）特別史跡旧閑谷学校顕彰保存会発刊『閑谷学校研究』に掲載の諸論考³による。いずれも地表面を介して遺構の上部構造と下部構造を知る手がかりとして極めて貴重な資料であるが、「学びの場」を支える地表面下の地盤構造と水利遺構との関係性を探るためには、さらに広範囲の地表面下の状況を捉える調査方法が求められる。

本研究では特別史跡の現状維持の原則から、上記調査資料に加え、地表面に手を加えない探査方法（高密度弾性波探査・地中レーダー探査）により、建築を含む構内の諸領域を支える地盤と地表面、その間に介在する暗渠等の水利遺構の関係を推測し、モデリングによって可視化することとした。さらに国土地理院の地形データを重ね合わせることで、周辺地形まで含めた「学びの場」の領域的広がりを可視化できると考えた。

2. 石と地形に沿った水の諸相

岡山県教育委員会による「特別史跡旧閑谷学校保存管理計画書」（以下「保存管理計画書」）に所蔵の地形測量図⁴、及び国土地理院の地形データをもとに、閑谷学校構内及び周辺の地形をモデリングした。次に現地調査を行い、建築基壇・水路・石堀・石積・石垣・吸い込み井戸等の石の遺構をできるだけ詳細にモデリングに反映した。



図2 「保存管理計画書」の地形測量図と国土地理院の地形データ統合し作成したCG



図3 南上空からの全景
自然地形に沿って外周の石塀が廻り、石塀によって囲われた構内に、造成のための切土部分の石積、盛り土部分の石積、建築基礎、それぞれに付随する水路が走る。講堂周辺と広庭の東端には吸込み井戸が点在する。



図4 旧学房跡及び(原)関谷学校資料館北西部の水門からの自然流水をいったんせき止めるための貯水槽。
そこから水路が伸びて南側の暗渠に導かれる



図5 沖地にかかる石橋を渡り、聖廟に至る南北の軸線。
斜面の自然流水と広庭に染み渡る水が、暗渠・吸込み井戸・石塀下の基礎石間を流れて沖地にいたる。何層ものフィルターを介して透明度の高い水が沖地に湛えられる



図6 領域を横断する水路。椿山から神社・聖廟方向を見る。斜面の水は東西に走る水路を東に流れて、椿山と神社の間の石塀の下を潜り抜けて、椿山東側の水路に至る。

3. 地盤調査

地表面下の水利を左右する岩盤等の形状の調査を行った。地上の石塀・石積を支える地表面下の岩盤の断面形状と地表面までの地質性状、くわえて、岩盤と地表面の間に存在が想定される暗渠・礫層を探索した。地表面下の地盤の断面構成については高密度弾性波探査、暗渠などの位置推定は、地中レーダー探査に寄っている。後者についての考察は、石の詳細な調査結果と共に、次の稿に譲ることとする。

3.1 弾性波探査

弾性波探査は、弾性波の伝播特性を利用して、地下構造を推定する物理探査技術である。一般に地盤の弾性波速度は、岩種や土質ごとに異なり、また風化や変質の程度あるいは含水状態等によっても異なった値を示す。よって弾性波速度構造を求めることにより、地盤の断面及び性状を推定することができる⁵⁾。

以下、9月に行った調査概念図および調査風景である。調査位置は以下の図8に示す。それぞれの箇所で、岩盤形状および切土・盛り土の箇所を推定することができた。

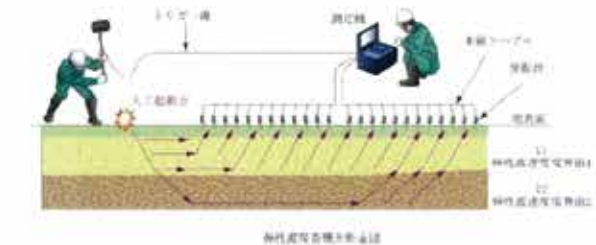


図7 高密度弾性波探査概念図



図8 高密度弾性波探査実施箇所



図9 高密度弾性波探査調査状況写真

3.2 弾性波探査で描かれた地盤構造

弾性波探査により、4か所の側線毎の断面図が得られた。(図10)は側線2の解析結果断面図である。右端に示された弾性波速度により赤から青までの色分けが設定されている。値が大きいほど固い地盤であることを示す。

以下調査報告書6に沿って地盤構成を概観する。弾性波速度1.2Km/s付近(黄色)はN値50以上の岩盤(流紋岩)出現測定線が想定されている。その上に積層する0.8Km/s~1.2Km/s(橙色)付近は礫を含んだ土(沖積層)、さらに0.3Km/s~0.8Km/s(赤色)は人工的な埋土(砂質土)と推定される。

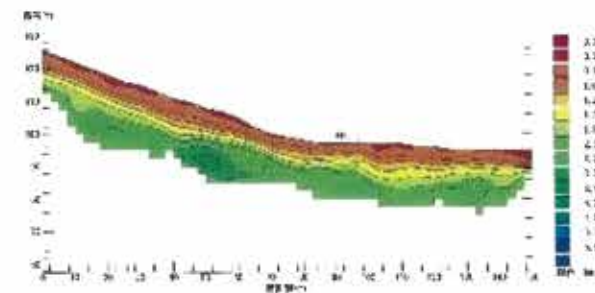


図10 側線2 解析結果断面図

目視によって明らかに礫を含む土(沖積層と思われる)が確認できる場所、および4か所の解析

結果断面図と地形図⁴⁾より、上記沖積層(橙色)が想定される地盤面を地表面のモデリングと重ね合わせたものが(図11)である。



図11 沖積層が想定される地盤面と地表面モデリングの重ね合わせ

この図より、およその切土部分と盛り土部分を推定ができる。火除山から西側に関しては、歴史的に度重なる建設が重ねられてきた経緯があるため、今回の地盤調査から除外し、目視による礫層の確認を経てモデリングに反映した。この合成モデリングを各側線断面で切断し、それぞれの側線が属する領域について、自然の地形に対して、いかなる所作を加えながらそれぞれの領域が形成されたのかを確認する。

4. 地盤構造から見た領域の形成

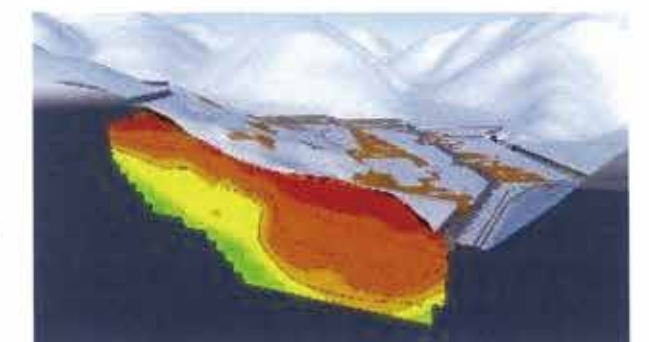


図12 側線1の地盤構造-火除山

側線1は、火除山の尾根を縦断する方向で北側石垣から南側の石塀をまたいで河川手前までを測定した。火除山は、学房等の西側の生活領域から東側の講堂が位置する学校領域を出火から防ぐため築かれた山である。橙色の層までが地山と考えられる。赤色の層の右側半分は人工的に盛り土されていると考えられる。岩盤(N値50以上)は黒の点線のラインとなっているが、風化が著しく進行した岩盤(強風化部:N値50未満)が上部の層を構成していると考えられ、前面の道路や対面する河川の対岸の岩盤レベルや周囲の地形状況を踏まえると、実際には赤の点線あたりが岩盤(黄色)

である可能性が高い。

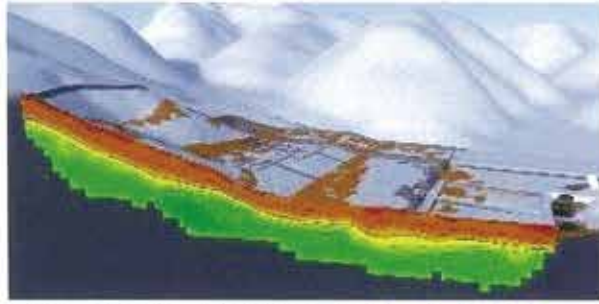


図 13 側線 2 の地盤構造—講堂・広庭・石垣・茶畑・沖地

側線 2 は、北側の石垣から南側の沖地の手前までの 150m におよぶ測定を行った。北側斜面は不陸のある沖積層の地山が 1m~2m の埋土によって滑らかに傾斜面を形成している。講堂が建てられている場所と同じレベルの広庭部分は切土であることが確認された。また石垣手前には 1m~3m 弱の埋土が確認できる。平成 12 年の確認調査で石垣下部に 150cm 以上の基礎が確認されているが、この基礎は沖積層の地山まで（今回の断面からはおよそ 2m ほど）掘り下げられていると推定できる。同様に南側の沖地の手前にも 0.5m~3m ほどの埋土が確認でき、ここに石積を設けて沖池を形成したことがわかる。

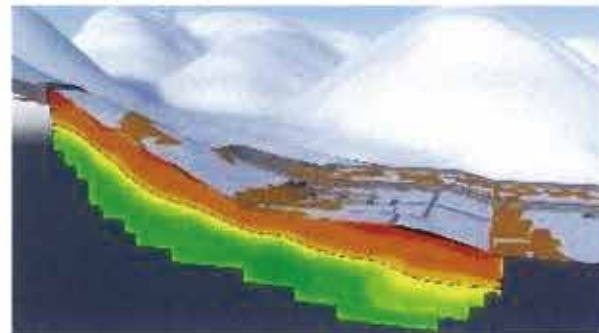


図 14 側線 3 の地盤構造—聖廟・神社・広庭手前の斜面

側線 3 は、北側の石垣から聖廟内を通り、広庭手前の斜面までの 80m を測定した。側線 2 と連続した斜面であるが、勾配が側線 2 よりも大きく、埋土の量は少なく地山が表土に近い部分が散見される。聖廟建設時に切土されたと思われる聖廟北西部には、地山が露出している。露出した地山は聖廟西側に廻りこみ、聖廟西側で表土の中に消えており、この地山に対して隣接する神社北側から延びる石垣が擦り付けられて消えている。また、神社は、自然の地形に沿って聖廟より 1m ほど低いレベルに建設されているが、両棟の北側の石垣

の上端レベルは連続して揃っている。したがって、神社北側斜面に築かれた石垣の高さは聖廟部分よりも 1m 高く、地山の露出はない。以上から、神社北側石垣は埋土で斜面と高さを合わせていると推測される。一方、聖廟・神社両棟の敷地の南側半分は、1m~2m ほどの埋土があり、広庭に向かう緩やかで平坦な斜面（前庭）が形成されている。

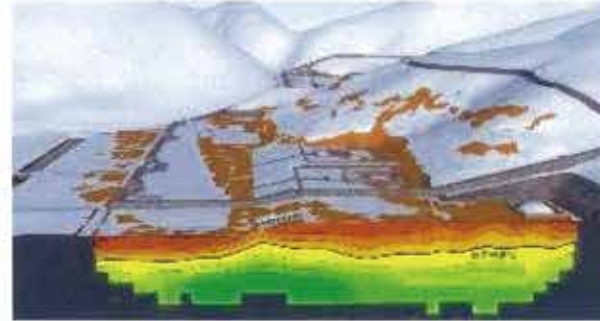


図 15 側線 4 の地盤構造—椿山・御納所

側線 4 は、御納所北側の 3 次曲面の 2 段階の石垣下端から、椿山南端の練堀までの 100m を測定した。全体としては、聖廟・神社の領域と同じレベルで、切土+埋め土の上段、埋め土の斜面、切土+埋め土の平地、という 3 段の地盤構成となっているのではと予想されたが、解析断面図では、地表面のほとんどが 0.8Km/s~1.2Km/s (橙色) となっている。

椿の木が豊富に植えられているが、根が地中深く入らずに、地上に浮き出ているところも散見されることから、椿の根による地盤の締固めが調査結果に反映された可能性も考慮する必要があるが、今後の検討課題である。

御納所は講堂・聖廟・神社と比較して、地山を深く切り、切土斜面を 2 段階の石積にして囲われた奥深い領域が形成されている。

5. まとめ

本稿では、閑谷学校における自然の地形と人為の構築物の関係について可視化を試みた。まず、3D モデリングによる環境技術としての石の遺構と地形及び水の流れを可視化し、さらに高密度弾性波探査という物理探査によって不可視の地盤構造を可視化した。この二つの可視化によって「学びの場」の領域形成のあり方を探った。

人が大地にすまうために、無限に広がる宇宙に対して、領域を限定する。周囲の環境を形成する固有の自然も境界としてあり、そこに人為的に据えられる物理的な境界もある。ここ閑谷には、1 億年以上前の地層の上に 1 万年前の地層が重ねられ、

さらに何百年の間に積層された地層が表土として存在する。この垂直方向の大地の時間の重なりに存在の意味を見出し、自然から人の手によって切り出された石による境界を、水平方向の囲い（広がり）として固有の場所が形成される。そこに自然の恵みの雨が落ち、土に浸透し石に沿って流れ込み渡る。その場所固有の水の諸相が各領域から周辺の自然までつながり、開かれた「学びの場」となる。そのような場を永続させる術の結晶が「雨の器」であり、その仕組みを明らかにするはじまりの作業として本稿をまとめた。今後はさらに詳細な調査を行い、地盤と石と水のつながりの実相を明らかにしてゆきたい。

注

- 『特別史跡並びに国宝及び重要文化財 閑谷學講堂外四棟保存修理（第一期）工事報告書』岡山県教委、1961 年、23 頁（D 基礎工事）、51 頁（第四節閑谷學講堂その他建物の特質）、写真 114（學内排水工法）。
『特別史跡並びに重要文化財「閑谷學聖廟、閑谷神社々殿及び石垣保存修理（第二期）工事報告書』岡山県教育委員会、1962 年、12~13 頁（(三) 閑谷學石垣）。14~15 頁（第五節修理前の破損状況）。写真 1（石垣）。
- 『特別史跡旧閑谷学校保存管理計画書』岡山県教育委員会、2010 年、164~174 頁。
- 『閑谷学校研究』(財)特別史跡旧閑谷学校顕彰保存会、第 7 号、71~74 頁（廣井弘「石垣に想う」）。同 13 号、61 頁~69 頁（竹内良雄「閑谷学校の意匠（三）」）。同 14 号、61 頁~68 頁（竹内良雄「閑谷学校の意匠（四）」）。同 16 号、45~52 頁（北脇義友「閑谷学校の石工技術について」）。
- 『特別史跡旧閑谷学校保存管理計画書』岡山県教育委員会、2010 年、215 頁。
- 『岡山閑谷学校地盤調査（高密度弾性波探査）報告書』(株)東京ソイルリサーチ、2020 年。
- 『岡山閑谷学校地盤調査（高密度弾性波探査）報告書』(株)東京ソイルリサーチ、2020 年。

図版出典

- 図 1 2020 年 9 月筆者撮影。
図 2~6 2020 年 10 月研究協力者作成。
図 7~10 『岡山閑谷学校地盤調査（高密度弾性波探査）報告書』(株)東京ソイルリサーチ、2020 年。
図 11~15 2020 年 11 月研究協力者作成。

※本研究は（公財）八雲環境科学振興財団 環境研究助成の助成を受けて実施いたしました。ここに記して感謝申し上げます。

旭川下流部の感潮域におけるアユの好適な産卵場の検討

岡山大学 大学院環境生命科学研究科

吉田 圭介

概要

近年、アユの漁獲量は全国的に減少傾向にあり、資源回復のために、仔魚放流、産卵場の保護や造成などが行われている。本研究で対象の旭川感潮域の兵団地区には産卵に適した瀬・淵の構造があり、元々自然産卵場が存在する。一方、産卵場を拡張する目的で2019年に産卵場を造成したが、産卵は確認されなかった。そこで、本研究ではこれまで検討されていない、河川感潮域でのアユの好適な産卵場環境を現地調査することとした。現地では、人工産卵場と自然産卵場の瀬において、1)水温、2)産卵床、3)水深、流速、4)塩分、溶存酸素、濁度の定点変化と縦断変化をそれぞれ調べた。その結果、下流側の人工産卵場では潮位変動や、塩水と貧酸素水塊の侵入の影響により、産卵に適した環境ではなかった。一方、対象域の中流の瀬では流量・潮位条件により環境の適否が左右されることが分かった。また、上流側の複数の瀬では、河床軟度（浮き石環境）の適否によって好適な産卵場は1つの瀬に限られた。

1. はじめに

アユは河川における重要な漁業対象種であるが、農林水産統計によるとアユの漁獲量は全国的に減少傾向にあり、資源量の減少が懸念される。それに伴い、多くの河川で仔魚放流、産卵場の保護、人工産卵場の造成などの増殖策が実施されているが、有効性が科学的に確認されている例は少ない¹⁾。本研究で対象とする旭川下流部（国管轄区間のうち8.0km～17.4km）では、申請者が2017年3月の航空レーザー測深（ALB）データと生息場物理環境評価法（PHABSIM）を用いてアユの産卵場の評価を行った結果、複数箇所産卵可能性を見出された（図-1）²⁾が、実際には河床粒度の適否や浮石環境の有無によって主要な産卵場は河口から約10km周辺の兵団地区に限定され、このことは現地の着卵礫調査や環境DNAの結果からも裏付けされた³⁾。

一方、2019年10月に岡山県水産研究所が主体となり、兵団地区の自然産卵場の下流400mの地点に人工産卵場を造成した（図-2、図-3）が、目視では産卵は確認されなかった。申請者はこの要因として兵団地区が河川感潮域にあり、産卵場造成事業の成否に潮汐が深く関与するものと推察した。

これまで水工水理学の分野では工学的な観点から河川流況や河床状態と、アユの生息・産卵場環境に関連

する一連の研究が行われてきた（例えば、鬼束ら⁴⁾）。しかし、それらの成果は河口からの塩水侵入の影響の無い河川区間での、一方向流が卓越する場や環境を対象としたものである。一方、本研究で対象とする旭川は潮止め堰が存在せず、河床勾配が小さな下流区間では瀬戸内海の潮の干満差の影響を大きく受ける。そのため、既往の知見に加えて、河川感潮区間におけるアユ産卵場に影響を与える諸条件、つまり、(1)感潮域特有の準周期的な水深や流速変化、(2)塩水の遡上に伴う、塩分、溶存酸素および濁度の変化、(3)河床粒度の平面分布について知見を得ることは河川工学的にも、また実際の産卵場造成の上でも有用と考えられる。また特に、旭川下流部では秋季の平常時の河川流量は上流のダムで制御できる可能性があるため、産卵場環境に与える流量の影響を把握することも重要と考えられる。そこで、本研究では旭川感潮区間にある兵団地区において、アユの好適な産卵場について、既往成果を踏まえつつ、現地調査に基づき検討することとした。



図-2 人工産卵場造成の作業風景（旭川・兵団地区、2019）

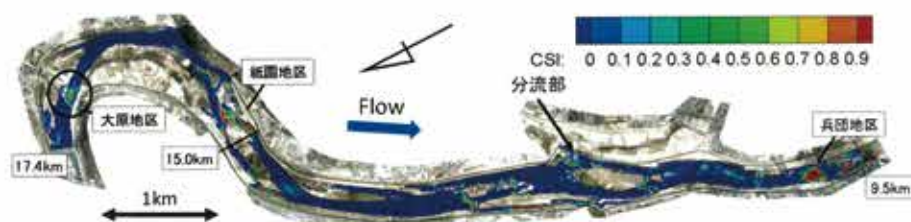


図-1 旭川下流部でのアユの産卵場の適正評価（平常時のPHABSIM解析結果、CSI=1.0が最適）²⁾

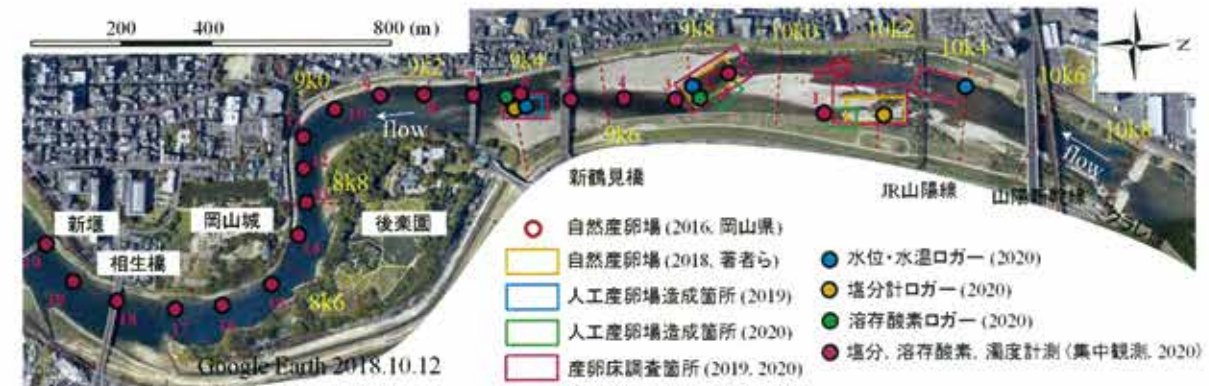


図-3 研究対象水域（旭川・兵団地区と周辺、"9k8"は河口から9.8kmの意味。背景は2018/10/12の干潮時の衛星画像）

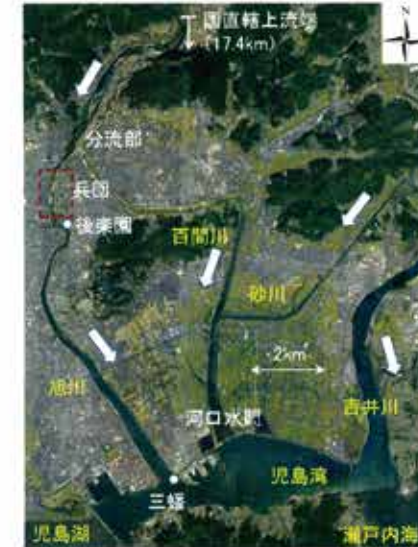


図-4 旭川下流域の概要(Google Earth)

2. 対象河道区間

研究対象の旭川は岡山県を縦断して瀬戸内海に注ぐ、幹川流路延長142kmの一級河川である。国管轄区間の上流端17.4kmより下流部に着目すると、10km周辺の兵団地区がアユの主要な産卵場となっている（図-3、図-4）。平常時、この地区の河川流況は上流の旭川ダム（河口から約40km）からの放流量と、児島湾の潮位に概ね支配される。旭川には潮止め堰は存在せず、また10.0kmより下流では河床勾配は1/1000～1/700程度と小さいため、児島湾の塩水は潮位変動に伴って概ね、後楽園周辺8.5kmから西川原CCTV設置点10.0kmまで遡上する。また、潮位変動に伴う水位変化は10.3kmにあるJR高架下まで及ぶ。兵団地区では干潮時において、調査箇所2、5は早瀬、4は平瀬、また3では早瀬と平瀬が存在する（後述の図-9参照）。また、8.8kmの後楽園周辺には瀬があり、兵団地区一帯でアユの産卵に適した瀬・淵構造が存在する。

兵団地区では岡山県水産研究所が主体となり、2019年10月23日と2020年10月8日にアユの人工産卵場が造成された（図-2、図-5）。2019年度は9.4kmの1箇所重機を投入し、大規模に浮き石河床を造成するとともに巨礫の除去や均し作業を行った。2020年度は9.8kmと10.1kmの計2箇所エンジンポンプを併用し



図-5 人工産卵場造成の作業風景(兵団地区、2020)

ながら人力で浮石河床を造成した。なお、2020年度の造成箇所は、2019年度の造成結果（産卵の未確認）と、2019年度に実施した流況や塩水遡上の部分的な調査結果を考慮して、川の上流側に設定された。2020年度の造成は、既に存在するアユの自然産卵場の周辺を対象としており、産卵場の面積を拡大する意図がある。

3. 現地調査の方法

本研究ではアユの産卵床の目視調査に加えて、産卵や孵化に影響を与える可能性がある河川の諸要素（水温、水理、水質、河床、地形）のうち、下記項目について次の方法で調査を行った。調査場所を図-3に、計測諸元などを表-1～表-4に整理して示し、また以下では部分的に2019年度の調査結果も併せて示す。

- (1) 水温、水位（表-1）：データロガーを河床に設置し、10分間隔で河川水温と水位を計測した。
- (2) 産卵床（図-9）：干潮時に現地踏査し、砂礫に付着した卵を目視で確認した。また砂礫寸法を計測した。
- (3) 水理特性（表-2）：概ね、干潮時の時間帯に産卵床調査箇所の複数地点で、標尺を用いて水深を、ポータブル流速計を用いて1点法で主流速を各々、計測した。なお、2020年は日没直後、2019年は日中に計測している。調査日は各年ともに11月中旬で、その際の河川流量は20～30 m³/s程度である。
- (4) 塩分、溶存酸素（定点計測、表-1）：データロガーを河床に設置し、10分間隔で電気伝導率と溶存酸素を計測した。その後、別に作成した電気伝導率との相関式を用いて、塩分(PSU)の値を求めた。
- (5) 塩分、溶存酸素、濁度（集中縦断計測、表-3）：小型ボートで河川縦断的に移動しながら、図-3に示す地点で携帯型の水質センサーを用いて河床から水面まで鉛直方向に10cm間隔で、塩分(PSU)、溶存酸素(mg/L)

表-1 現地計測の諸元 (定点ローガー計測, 図-3)

計測項目	計測器の名称	計測期間
水位(T.P., m)	OYO 社, S & DL mini	2020.10.2~
水温(°C)	Model-4800	2020.11.30
塩分(PSU)	Onset 社, 電気伝導率ローガー HOB0 24-002-C	2020.10.2~
溶存酸素(mg/L)	Onset 社, 溶存酸素(DO)ローガー-HOB0 U26-001	2020.10.2~
		2020.11.30

表-2 現地計測の諸元 (踏査による定点計測, 図-3)

計測項目	計測器の名称	計測期間
水深(m)	標尺	干潮時, 日没後(2020)
		干潮時, 日中(2019)
流速(m/s)	ケネック社, 電磁流速計 EV10	干潮時, 日没後(2020)
		干潮時, 日中(2019)

表-3 現地計測の諸元 (ボートによる集中観測, 図-3)

計測項目	計測器の名称	計測時期
塩分(PSU)	JFE アドバン	2020.10.2
溶存酸素(mg/L)	テック社,	2020.10.16
濁度(FTU)	Infity-ACTW	2020.10.30
		各日の満潮, 干潮

表-4 現地計測の諸元 (漁船による集中観測, 図-6)

計測項目	計測器の名称	計測時期
塩分(PSU)	JFE アドバン	2020.12.14
溶存酸素(mg/L)	テック社,	の満潮, 干潮
濁度(FTU)	Infity-ACTW	



図-6 水質の縦断計測地点 (地点1は河口より7.6km)

および濁度(FTU)を計測した。計測の各日で満潮と干潮時の計2回, 下流から上流に向かって計測し, 1回の計測所要時間は1.5時間程度であった。

(6) 塩分, 溶存酸素, 濁度 (集中縦断計測, 表-4): 漁船に乗り, 対象範囲より旭川下流の図-6に示す地点で, 先の(5)と同様の方法で水質を計測した。

(7) 河床軟度, 河床粒度: 産卵床調査箇所の代表地点において, 河床の浮き石状態の程度をシノという先端が尖った金属を用いて調べた³⁾。この道具に一定の加重をかけて河床に数回, 突き刺してその貫入深の平均値から河床の軟度を簡易に定量化した。また, 対象河床で1辺50cmの検査域を設け, 深さ10cmに含まれる

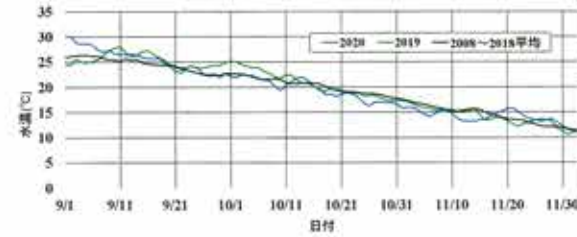


図-7 日中平均水温の日変化

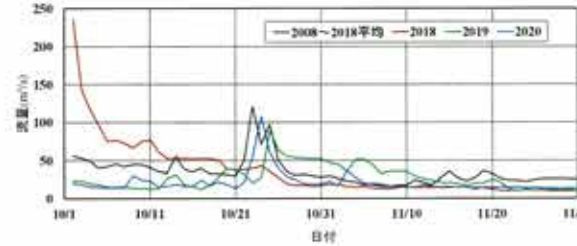


図-8 日平均流量の日変化

河床底質を採取し, ふるい分け試験から粒度を得た。

4. 調査結果と考察

4.1 流量と水温の日変化

図-7には対象期間の10.4km地点の水温の日変化を示した。参考として近年2年間と過去10年間の平均値を併示した。アユの産卵は水温が20°Cになると始まり, 15°Cくらいまでが適温と言われる。そのため, 兵団地区では10月中旬頃から11月中旬頃までが産卵に適した期間と言える。また, 図-8には対象期間の兵団地区の河川流量の日変化を示した。参考として, 近年2年間と過去10年間の平均値を併示した。産卵期の流量は概ね20m³/s~40m³/s程度である。10月には台風や前線の影響で流量は100m³/s程度に達することもあるが, これがアユの河川降下を早めるとも言われる。

4.2 産卵床の分布

図-9には2019年と2020年に実施した産卵床調査箇所と, 実際に目視で産着卵を面的に確認した河床の範囲を示した。2019年人工産卵場である調査箇所1ではいずれの年でも産着卵は確認されていない。自然産卵場を含む調査箇所2では人工産卵場の造成箇所以外でも, 産着卵が確認された。また, 自然産卵場を含む調査箇所3では2020年度の人工産卵場造成により産卵範囲が広がった可能性が示唆される。一方, 調査箇所4と5では産着卵は確認されなかった。なお, 図-9に示した日付以外も現地調査を行ったが, アユの産卵は確認されていない。また, 2020年の11/20の調査では卵に発眼が確認されており, 実際の産卵はこの1週間程度前と考えられる。

4.3 水理特性値

図-10には10/2~11/20における調査箇所4でのローガー水深と, 河川流量および河口潮位(三蟠)の時間変動を示した。図-11には同期間における各調査地点でのローガー水深と河口潮位の関係を示した。上流の調査箇所

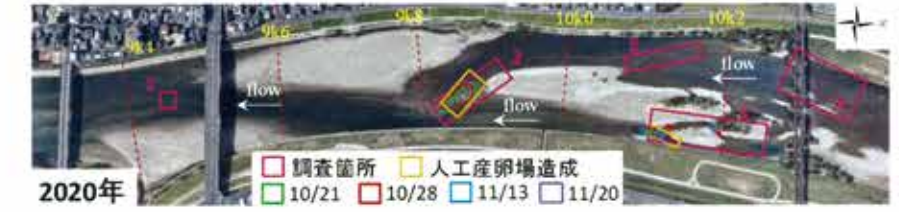
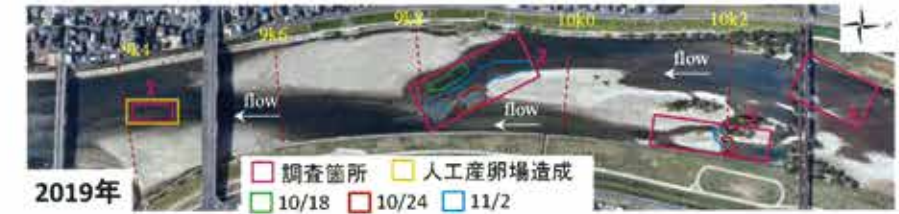


図-9 産卵床目視調査の対象箇所1~5と結果の概要 (日付は調査日。曲線で囲まれた範囲で産着卵を確認)

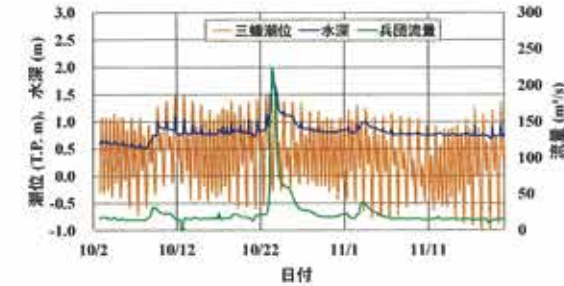


図-10 調査箇所4での水深と河川流量および河口潮位(三蟠, 図-4)の時間変動

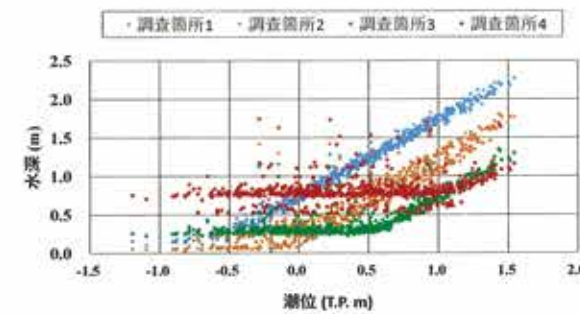


図-11 各調査箇所での水深と河口潮位の関係(2020)

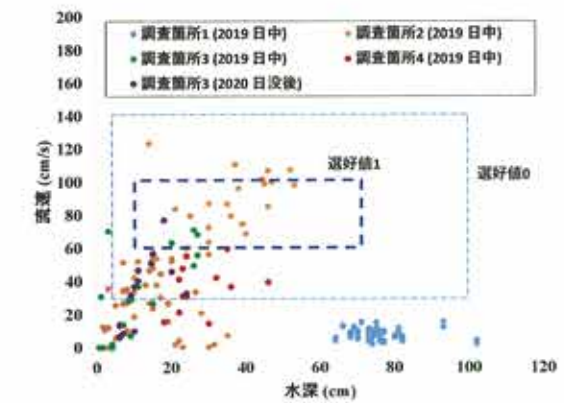


図-12 調査箇所での水深と流速の値 (現地調査)

所4では水位は流量変動と相関があり, 潮位がかなり高く流量が小さい場合にのみ潮位は水位に影響を与える。また, 下流側の箇所になるほど, 水深変動は潮位との相関が高くなり, 調査箇所1では概ね水位は潮位に

支配される。なお, 調査箇所2~4でデータにバラツキがみられる箇所は出水の影響を受け, 水深と潮位に相関がない状況を示している。

図-12には干潮時に調査箇所1~4で計測した水深と流速の値を示した(表-2)。図中には既往研究⁹⁾で提案されたアユの産卵場の物理環境に対する選好曲線を参考に, 選好値1と選好値0の範囲を示した。例えば, 選好値1は最も良好な条件を意味する。本研究で得られた結果から, 調査箇所1は全く適正な範囲に無い。また, その他の箇所は地点の半分程度が適正な範囲にあることがわかる。図-11の結果を踏まえると, 調査箇所3と4は概ね河川流量で流況が定まるため, 産卵に適した環境は整っていると言える。一方, 調査箇所2では潮位がその平均値より低い場合には産卵場として適しており, 調査箇所1は概ね適していない環境と考えられる。河川流量が少し増える場合には水深は正比例で増えるため, 適正傾向に変化はないものと思われる。

4.4 水質特性値 (塩分, 溶存酸素および濁度)

図-13には10/16の満潮時と干潮時に図-3に示す地点でボートを利用して計測した, 塩分と溶存酸素(DO)の縦断鉛直分布を示した。塩分は0~30PSU, 溶存酸素は0~10mg/Lの範囲で示した。なお, 同時期の瀬戸内海での塩分値は約30PSU, 旭川河口の表層水の塩分値は約20PSU, またこの時期の水温に対して, DOの飽和値は9mg/L程度である。図より, 塩分は弱混合型の流動形式で潮位変動に合わせて遡上と後退を行い, 塩水楔の先端以外では約20PSU程度の値を保っている。また, 楔先端は調査箇所2付近まで到達している。一方, 溶存酸素濃度の挙動は塩水の遡上と同期しており, 満潮時にはNo.15(後楽園)周辺の深水部の貧酸素水塊(< 5mg/L)が拡散しながら遡上し, 調査箇所1付近では5mg/L程度, 調査箇所2付近では8mg/L程度まで溶存酸素濃度を下げることがわかる。なお, 濁度に関しては図化していないが, 3~5度(FTU)程度の値であり, アユの産卵や生息にはほぼ影響のない範囲であった。

図-14には12/14の満潮時に図-6に示す地点で漁船を利用して計測した, 塩分と溶存酸素(DO)の縦断鉛直分

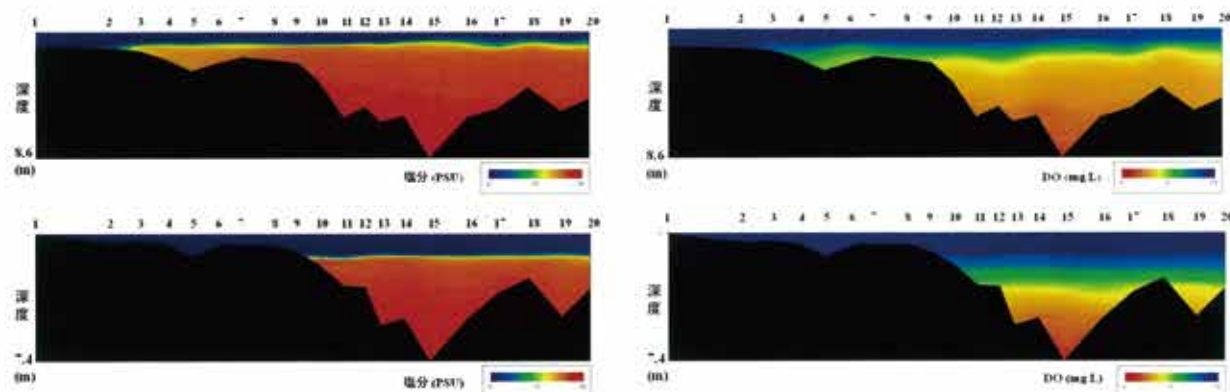


図-13 10/16の塩分(描画範囲:0~30)と溶存酸素(描画範囲:0~10)の縦断鉛直分布 (上:満潮,下:干潮,図-3参照)

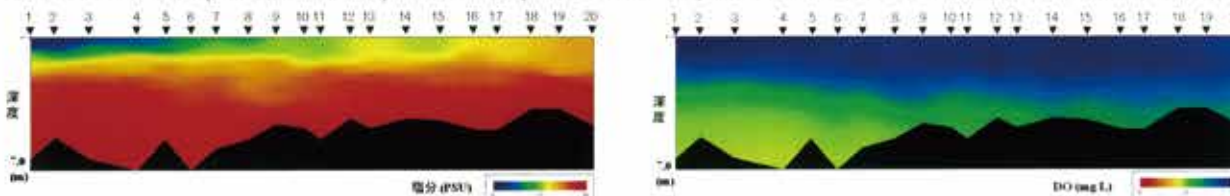


図-14 12/14の塩分(描画範囲:0~30)と溶存酸素(描画範囲:0~10)の縦断鉛直分布 (満潮時,図-6参照)

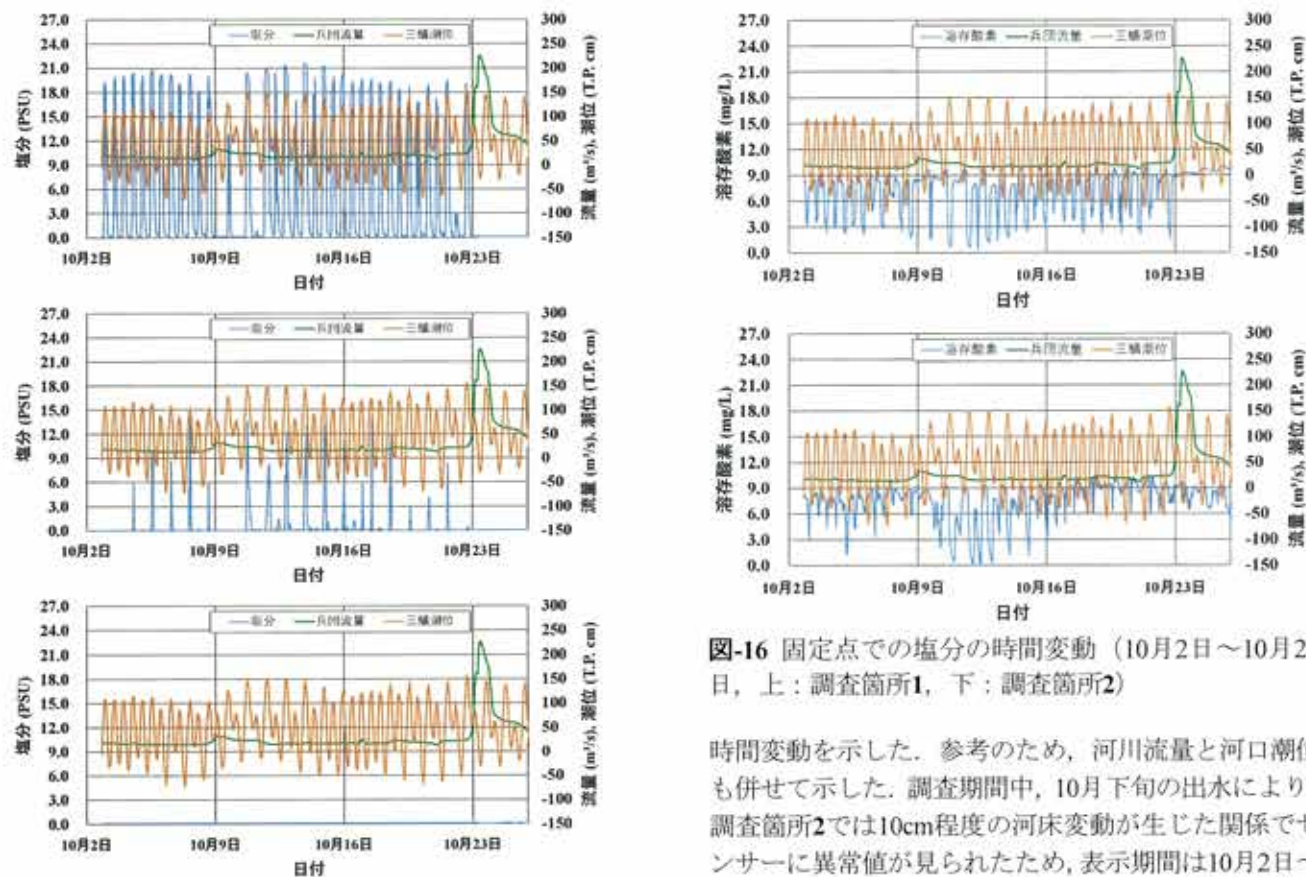


図-15 固定点での塩分の時間変動 (10月2日~10月25日, 上:調査箇所1, 中:調査箇所2, 下:調査箇所3)

布を示した。上流からの河川淡水は地点6付近より下流では無くなり、塩水と混合状態にある。また、貧酸素水塊は確認されない。なお、計測日12/14の夜、後楽園周辺の深水部で水質を計測したところ、貧酸素水塊は確認されなかった。そのため、旭川下流での貧酸素水塊は季節要因により形成される可能性が示唆される。

図-15には調査箇所1, 2, 3における固定点での塩分の

図-16 固定点での塩分の時間変動 (10月2日~10月25日, 上:調査箇所1, 下:調査箇所2)

時間変動を示した。参考のため、河川流量と河口潮位も併せて示した。調査期間中、10月下旬の出水により、調査箇所2では10cm程度の河床変動が生じた関係でセンサーに異常値が見られたため、表示期間は10月2日~10月25日に限定する。調査箇所1では出水期間を除いて、潮位と塩分は正の相関を示し、最高で21PSU程度の比較的高い値を示す。一方、調査箇所2では同様の正の相関が見られるが、流量が多いとピーク値は10PSU程度の大きさに留まる。また、調査箇所3では塩分の遡上は観察されない。つまり、上流になるほど塩分は低く、塩水フロントは調査箇所2と3あたりに存在して、潮位と河川流量のバランスによってその位置が前後するものと考えられる。

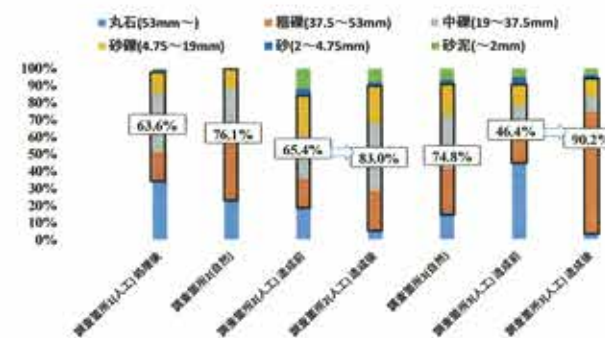


図-17 粒径分布(2020年度の調査結果)

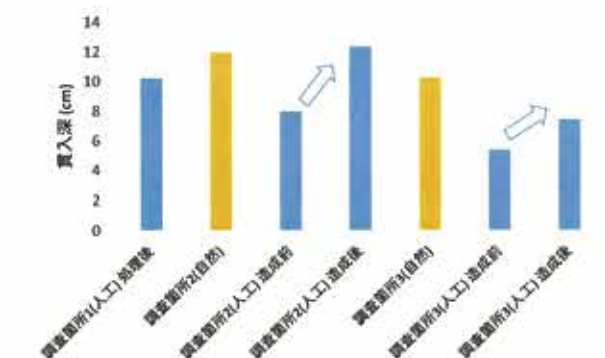


図-18 河床軟度(2020年度の調査結果)

図-16には溶存酸素に関して図-15と同様の図を示した。調査箇所1, 2では共に潮位と溶存酸素は負の相関を示し、流量によって飽和値程度まで上昇する。先の縦断観測の結果と併せて考えると、潮位による塩分の挙動と同様の現象が溶存酸素に対しても観察できたものと考えられる。

4.5 河床材料特性

図-17には各調査箇所での河床サンプルの粒度分布を示した。粒径階は既往研究³⁾に倣って分類した。黒枠で囲んだ成分はアユの産卵に適した砂礫(5~50mm)を示す⁴⁾。産卵調査時に卵が付着した礫の径は、概ねその程度であった。自然産卵場や人工産卵場(造成後や処理後)では、比較的、産卵に適した砂礫が多く占めることがわかる。

一方、図-18には各調査箇所での河床の貫入深を示した。人工産卵場(造成前)に比べて、自然産卵場や人工産卵場(造成後、処理後)では貫入深が大きくなり、相対的に河床軟度は好適な状況となることがわかる。また、これは現地踏査での定性的な結果(足を踏み入ると、ザクザクと音がする)と一致した。

5. まとめ

本研究では旭川の感潮区間にある兵団地区でのアユの産卵場の物理環境に与える潮汐の影響について現地調査を行った。得られた知見を以下に纏める。

(1) 水温の経年変化の調査結果から、産卵時期は概ね10月中旬から11月中旬頃と推定される。

(2) 2019年と2020年の結果から、本調査箇所5つのうち、最下流の調査箇所1(平瀬)と、上流の箇所4(平瀬)と5(早瀬)では産卵が確認されなかったが、箇所2(早瀬)と3(早瀬, 平瀬)で産卵が確認された。

(3) 調査が可能な干潮時の水深と流速に関する調査結果から、調査箇所2と3では流況は産卵に適した範囲にある⁵⁾が、調査箇所1は適正ではないと考えられる。

(4) 河床材料と河床軟度の調査結果から、調査箇所1よりも調査箇所2や3の方がより産卵に適した範囲にあった。

(5) 水質に関する調査結果から、調査箇所1は塩水侵入を頻繁に受け、また、秋季にはさらに下流の後楽園周辺の深場の貧酸素水塊が遡上する範囲にあった。一方、上流の調査箇所2ではその程度がかなり弱まり、調査箇所3ではほぼ河川淡水の流れであった。

以上の調査結果より、調査箇所1(2019年の人工産卵場造成箇所)では塩水遡上のため水質や水理特性がアユの産卵場として適しておらず、また河川流は停滞するため、河床材の細粒分が河床に沈殿する傾向にあり、このことも産卵場の適正を欠く原因と考えられた。一方、河川流量が平年並みの20~50m³/sにおいて調査箇所2より上流の調査箇所3の瀬では塩水遡上の影響をほぼ受けず、水理、水質、河床材の観点からアユの産卵に適した場が形成されており、人工産卵場造成はこの周辺で早瀬を拡張することが望ましいと提案できる。

調査では作業者の安全確保のため、全ての流況条件で計測はできない。そこで、今後は塩水遡上の数値解析を交え、流量や潮位条件を系統的に変化させ、適正な産卵場環境がどの範囲に存在するかを精査する考えである。

参考文献

- 1) 高橋勇夫：天然アユが育つ川，築地書館，2009。
- 2) 吉田ら：ALB 計測データを用いた流況解析に基づく旭川下流部におけるアユの産卵場の物理環境評価，土木学会論文集 B1(水工学)，74(5)，421-426，2018。
- 3) 吉田ら：環境 DNA 分析と物理環境調査による旭川下流部におけるアユの産卵可能性の検討，土木学会論文集 B1(水工学)，75(4)，529-534，2019。
- 4) 鬼東ら：アユの産卵および生息に適した水理環境に関する検討，水工学論文集，48，1549-1554，2005。
- 5) 福井ら：PHABSIM によるアユ産卵環境評価法の検証および改善策の提案，土木学会論文集 B1(水工学)，72(4)，1003-1008，2016。

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。また、河川の諸データを提供頂きました国土交通省岡山河川事務所に感謝いたします。

1. はじめに

金属ナノ粒子とは粒径が 100 nm 以下の金属の微粒子であり、様々な応用研究が展開されている。特に数 10 nm 以下のサイズになると量子サイズ効果が顕著になり、バルク金属とは異なる物理的・化学的特性を示す。こういった特徴を活かした特異な触媒効果が報告されるようになり、カーボン担体上に金属ナノ粒子を固定化した触媒材料も開発されている。環境調和型物質生産システムへの応用に向けて、水中分散状態の金属ナノ粒子や金属ナノ粒子を担持した触媒材料の調製法が精力的に研究されている。

水中分散状態の金属ナノ粒子の調製法として、物理的粉碎法が知られているが、低収率かつ粉碎過程での化学変性と粒径制御の困難さが問題である。一方、強力な還元剤や保護剤による化学還元法も報告されているが、環境負荷の問題がある。さらに、金属ナノ粒子の担体上への固定化においても高温高压反応条件を必要としており環境負荷が大きい。それゆえ、既存の調製法は環境科学的に改善を要する。

それに対して、**申請者らは還元剤フリー（還元剤を使用しない）金属ナノ粒子調製法を発見**してきた。「モデル生体膜上に導入した金属錯体を還元すれば、膜上に担持した金属ナノ粒子を得ることができるのでは？」と考えたからである。本方法は、既存の担持触媒調製に比べて温和な調製条件でモデル生体膜に金属ナノ粒子を担持でき、環境調和型物質生産プロセスへの応用も期待される。

こういった背景から、「還元剤フリー金属ナノ粒子形成現象」と「二次元相分離特性」を組み合わせることにより粒径制御を狙うと同時に、モデル生体膜を金属ナノ粒子の固定化担体・反応場として利用することを本研究の目的とした。この新規ハイブリッドナノ触媒は、モデル生体膜を反応場として利用する先行例 [1-3] や、H28 年度採択課題時のハイブリッドナノ触媒とは根本的に全く異なるアプローチである。さらに、有用アルデヒド合成 [1] などを検討し、触媒特性を評価する。

2. モデル生体膜上における金属ナノ粒子合成

2.1 金ナノ粒子(Au-NP)の場合

まず、中性のリン脂質 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DPPC)を用いて、粒径

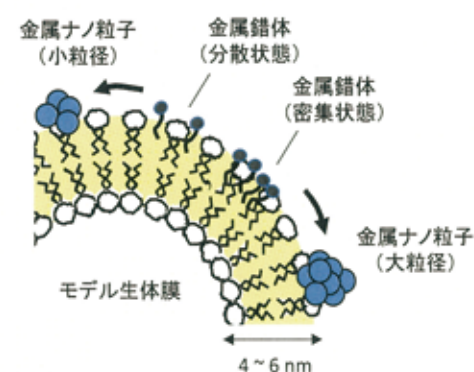


図 1 モデル生体膜上での金属ナノ粒子合成の概念図

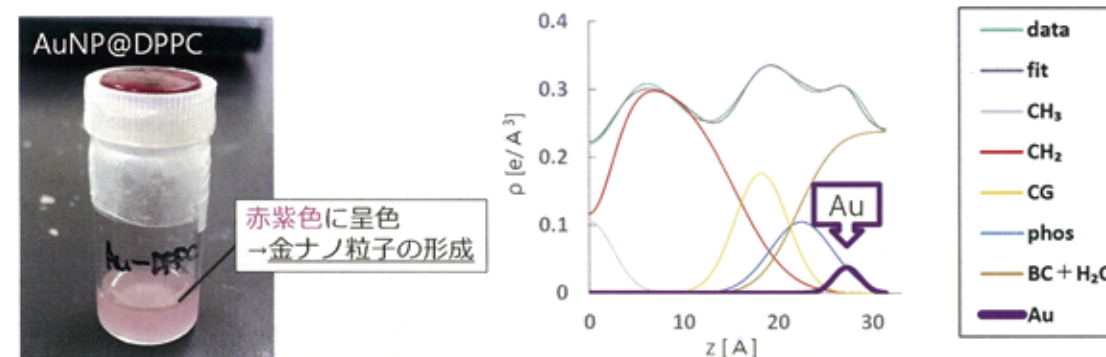


図 2 赤紫色に呈色した Au-NP@DPPC 図 3 Au-NP@DPPC の電子密度プロファイル

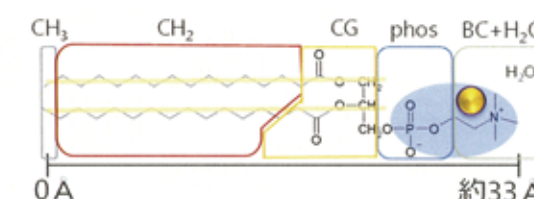


図 4 リン脂質 DPPC の分子構造と Au-NP の局在性の概念図

100 nm のリボソームを調製した。具体的には、テトラクロロ金(III)酸四水和物(AuCl₄)錯体を含む DPPC 薄膜をまず作成した。Au-NP の粒径が大きくならないように保護剤として polyvinyl pyrrolidone (PVP)を含む水溶液で水和して多重層リボソームを得た。粒径を 100 nm に調整するべく、凍結融解法とエクストルージョン法を用いた。Au-NP@DPPC が金ナノ粒子に特有の赤紫色に呈色していたことから、Au-NP が DPPC リボソーム上で形成されたことが分かった(図 2)。これは文献[2]で述べた通り、膜表面に吸着した AuCl₄ 錯体が脂質の回転運動や脂質膜全体の揺らぎによって還元し、金ナノ粒子へと変化したことが原因だと考えられる。

今回の助成金を得て、X 線光分光(XPS)やX線散乱(XRD)測定を行った。本助成金を得て文献[2]から進展した知見として、XRD 測定が挙げられる。XRD から得られる電子密度プロファイル(図 3)から分かるように、Au-NP はリボソームの親水基 リンの右側あたりに存在していることが分かった(図 4)。これは、実験に用いた金錯体のテトラクロロ金(III)酸四水和物が負電荷を持っていることから、親水基の正電荷を持つリン部分と静電相互にて膜表面に吸着したことが原因だと考えられる。

このように、Au-NP のモデル生体膜上における局在性を究明でき、XRD を用いた金属ナノ粒子形成機構の解明手段の確立に資すると期待される。

2.2 Sn ナノ粒子(Sn-NP)の場合

前節の方法を受けて、Sn-NP 合成について検討した。合成過程でモデル生体膜が崩壊していないかを Cryo-TEM 観察により検討した。モデル生体膜として、中性脂質として 1,2-

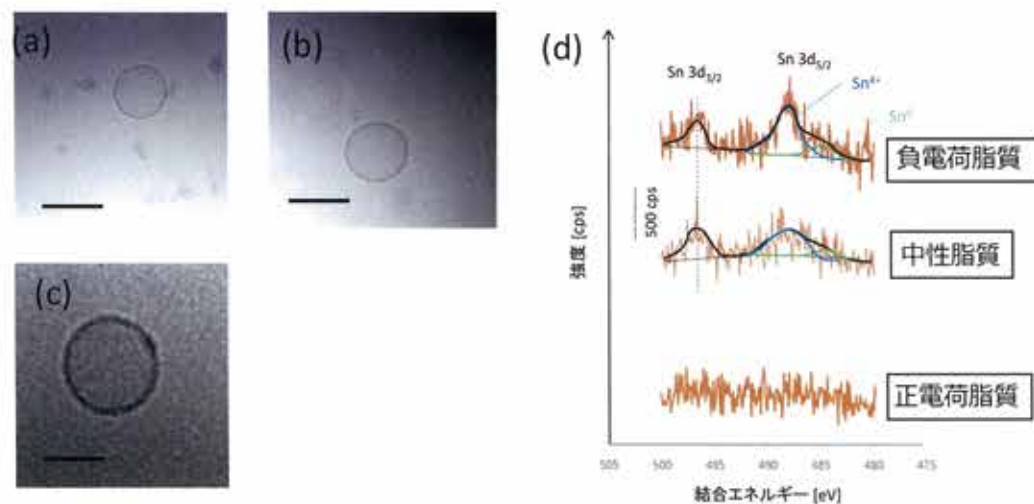


図5 Cryo-TEM 観察 (a) 中性脂質、(b)正電荷脂質、(c) 負電荷脂質、(d) XPS スペクトル

dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DOPC), 正電荷脂質として 1, 2-dioleoyl-3-trimethylammonium-propane (chloride salt) (DOTAP), ならびに負電荷脂質として sodium dioctylsulfosuccinate (AOT) と 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phospho-rac-(1-glycerol) sodium salt (DOPG)を用い, 粒径 100 nm のベシクルを調製した. Sn-NP の前駆体として, tin(II) 2-ethylhexanoate (Sn(Oct)₂)を上述の脂質に混合して薄膜を形成した. 2.1 節と同様, 粒径 100 nm のベシクルを得た後, 保護剤 PVP を添加し, 次に還元剤 NaBH₄ を添加して Sn-NP 合成を開始した. この方法は既存の方法[5]をベシクル共存条件で行ったものである.

図 5(a)~(c)に示す通り, いずれの電荷の脂質においても, ベシクルの崩壊はみられなかった. つまり, Sn-NP 合成過程においてベシクルは安定であることが分かった.

次に, Sn-NP における電子状態を確認すべく, XPS 測定を行った. 図 5(d)に XPS スペクトルを示す. 正電荷脂質 DOTAP のときはピークが見られなかったが, 中性脂質 DOPC と負電荷脂質 DOPG において, 497 eV で Sn の 3d_{3/2} 軌道, 488 eV で Sn の 3d_{5/2} 軌道の結合エネルギーに相当するピークが観測された. これは 0 価と 4 価の Sn が存在することを示唆している. Zhao らは, 4 価の Sn の検知は Sn-NP 表面の部分的酸化による SnO₂ 形成に起因すると報告している[6]. それゆえ, 形成された Sn-NP は部分酸化されていることが確認された.

次に表面ゼータ電位変化を調べた. その結果を表 1 に示す. 対照系としてベシクルのみのゼータ電位も示した. Sn-NP のみのゼータ電位は -19.1 mV であり, 既往の報告 (-25.17 mV) [7] と合致する. Sn-NP 形成が確認された中性脂質と負電荷脂質のベシクルにおいて, Sn-NP が

表 1 表面ゼータ電位

脂質		ゼータ電位 [mV]	
		Sn なし	Sn 還元反応後
	なし		-19.1
中性脂質	DPPC	-9.2	-14.6
負電荷脂質	AOT	-50.2	-56.2
	DOPG	-47.6	-52.1
正電荷脂質	DOTAP	40.3	39.9

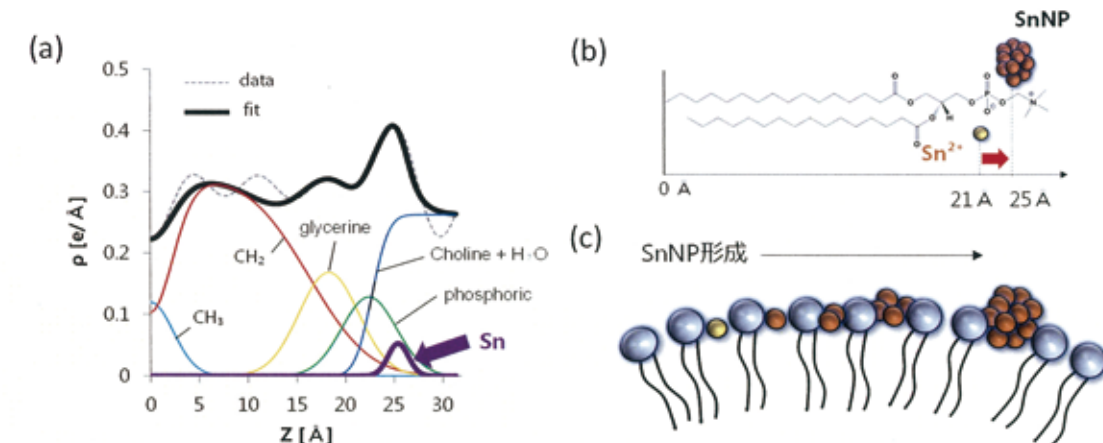


図 6 (a) 中性脂質膜(DPPC)の電子密度分布 (b) Sn-NP と脂質分子, (c) モデル生体膜上での Sn-NP 形成過程の概念図.

ない場合よりも Sn-NP 形成後のゼータ電位は負に 5mV ほどシフトした. これは Sn-NP が負のゼータ電位を示していることと符合する. 一方, 正電荷脂質におけるゼータ電位の差は 0.4 eV であり, 大きな電位変化は見られなかった. これは XPS の結果と合致する.

次に, 形成した Sn-NP の局在性を議論するため, 電子密度プロファイル調べた. ベシクルの場合の電子密度プロファイルと比較すれば, Sn の電子が余剰電子として現れるため, 局在位置を割り出せることを利用する. その結果を図 6(a)に示す. 縦軸は原子集団の存在確率, 横軸は疎水基からの末端からの距離を表している. この図において約 25 Å に余剰電子が現れた. 一方, 還元前の Sn²⁺は約 21 Å のところに局在していると見積もった(data not shown). このことから, 還元反応により Sn がベシクル膜外水相側に 4 Å 程度押し出されると推定した(図 6(b,c)). Sn-NP 形成過程において, 脂質膜は, 脂質分子の回転 Brown 運動, 並進拡散, あるいは脂質膜全体のたわみなどのダイナミクスを示す. このダイナミクスを利用して, エントロピー的に有利になるように Sn-NP を脂質膜外部に押し出しながら形成したと考えられる. このメカニズムの場合, 正電荷脂質 DOTAP ベシクルでは負電荷の官能基がないため, 初期において Sn²⁺がベシクル膜に配向されない. そのため, 正電荷ベシクル膜環境上で Sn-NP 合成が進行しないと思われる.

このように, Au-NP 合成の検討の際に有効性を確認できた XRD による解析法は, Sn-NP の場合にも有効であることが示唆された. 特に Sn-NP 合成過程において, エントロピーが有利となるように膜表面に押し出されるように Sn-NP が成長することが示唆された(図 6(c)).

2. 3 他の金属種の場合

前節と同様に, PtCl₄ をベシクル膜に配向させて還元剤を添加すると, Pt-NP の形成が確認された(data not shown). 一方, TiO₂ の場合は合成が進行しなかった. 使用した Ti 錯体がベシクル膜に配向しにくかったことが原因と考えられ, 錯体の選択などに検討の余地がある.

3. 反応プロセスへの応用

Au-NP を担持させた DPPC ベシクルを Au-NP@DPPC と書くこととする。本材料が触媒として作用するかどうかの基礎的検討を進めた。ジャスミンアルデヒドを目的物質として、ベンジルアルコール→ベンズアルデヒド（酸化反応）とヘプタナール+ベンズアルデヒド→ジャスミンアルデヒドなど（縮合反応）を組み合わせたタンデム反応を検討した。タンデム反応にする理由は、目標であるジャスミンアルデヒドの収率低下の原因であるカニッツァロ反応（ベンズアルデヒド→安息香酸）を抑制するためである。図7の反応式のように、ヘプタナールとベンジルアルコールを 30℃ / NaOH 共存下で反応させると、ベンジルアルコールの酸化によるベンズアルデヒドの生成を経て、ヘプタナールとの反応によりジャスミンアルデヒド(J-CHO)が生成する。その際、そこで、ヘプタナールとベンジルアルコール混合溶液に Au-NP@DPPC やカーボン担持ビスマス化白金触媒(PtBi/C) を添加し、本反応を進行具合を調べた。

図7に結果を示す。PtBi/C 非添加条件では Au-NP@DPPC, Au-NP, DPPC の有無によらず J-CHO の収率はともに 0%の値を示した。このことから、Au-NP そのものにはベンジルアルコール酸化の触媒作用がないことが予想された。この予想は別途確認し実証された。次に、PtBi/C 存在下で Au-NP@DPPC を添加した際、16.3%の収率を得た。Au-NP@DPPC 自身は本反応に対する触媒活性がないことを踏まえると、Au-NP@DPPC は PtBi/C の助触媒として作用すると考えることが出来る。そこで、助触媒として作用する条件を調べるべく、Au-NP 単独、Au-NP と DPPC ベシクルを混合した系(Au-NP + DPPC)において収率を調べた結果、いずれも Au-NP@DPPC の場合よりも低下した(5.4%および 5.7%)。これらのことから、Au-NP が DPPC ベシクル膜上に存在する場合のみ助触媒的に作用することが示唆された。

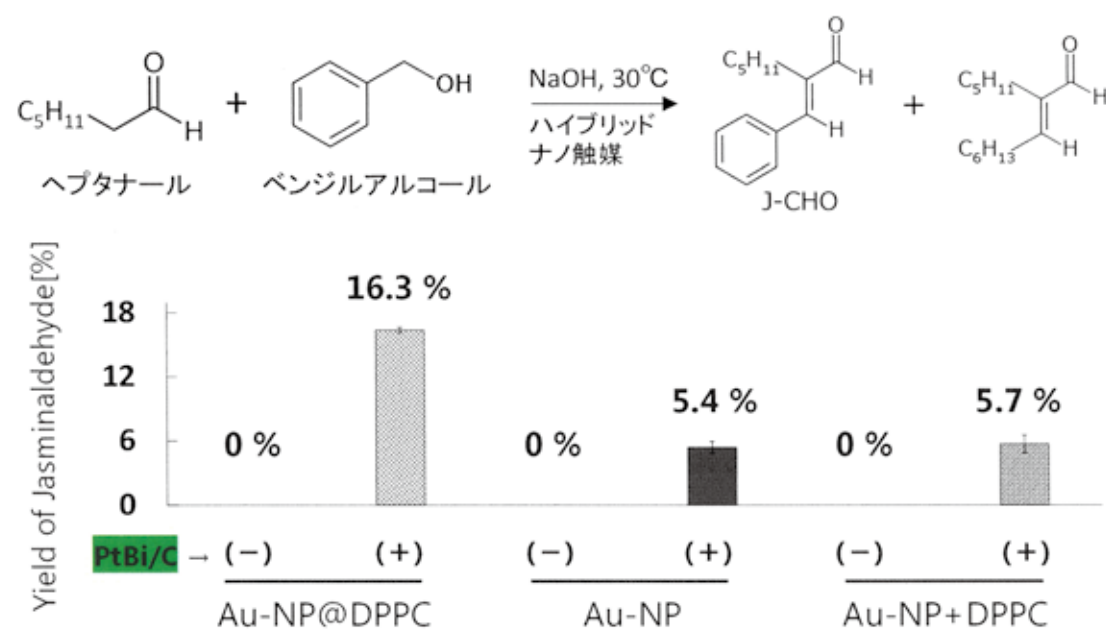


図7 Au-NP@DPPC および PtBi/C 触媒の併用成績。反応基質/リポソーム= 5000, 反応基質/Pt = 100, 反応温度 30℃, NaOH 0.3 mol/L, (n=2~)

4. 結言

今回の研究を通して、モデル生体膜上での金属ナノ粒子合成が可能であることが示された。さらに、本助成金により、XRD 測定から金属ナノ粒子のベシクル膜における局在性の変化を明らかにする手法を確立し、Au と Sn のナノ粒子合成で有効性を示せた。同じ手法が Pt にも適用可能であることが示された。ここで得たハイブリッドナノ触媒（ベシクル膜上で還元して得た金属ナノ粒子をそのままベシクル膜上に担持した複合材料のこと）は、不飽和アルデヒド合成に一定の助触媒作用を示すことが分かった。今後、PtBi/C をベシクル膜上に担持するべく、PtBi のナノ粒子の合成を目指す。PtBi と Au を同一ベシクル膜上に担持することでベシクル膜上をタンデム反応場として利用してゆきたい。

5. 参考文献

- 1) Toshinori Shimanouchi, Yuki Kitagawa, Yukitaka Kimura, Application of liposome membrane as the reaction field: A case study using the Horner-Wadsworth-Emmons reaction, *J. Biosci. Bioeng.*, 128, 198-202 (2019)
- 2) 島内寿徳, 藤定禎将, 福岡早紀, 木村幸敬, 金属ナノ粒子形成を目指した脂質膜上での化学還元法の開発, *ケミカルエンジニアリング*, 64 (8), 546-551 (2019)
- 3) Toshinori Shimanouchi, Saki Fukuma, Yukitaka Kimura, Molecular Conversion based on Dynamics of Membranes, *Membrane*, 41, 244-249 (2016)
- 4) Toshinori Shimanouchi, Shouhei Ueno, Kazuki Shidahara, Yukitaka Kimura, Rapid Conversion of Glycerol to Lactic Acid under Alkaline Hydrothermal Condition, by Using Continuous Flow Reaction System, *Chemistry Letter*, Vol.43, No.4, 535-537 (2014)
- 5) J. F. Zhu *et al.*, *Green Chem*, 16, 2664-2669 (2014)
- 6) X. Zhao *et al.*, *Inorg. Chem. Front*, 6, 473-476 (2019)
- 7) D.K. Naser, A.K. Abbas, K.L. Aadim, *Iraqi J. Sci*, 61, 2570-2581 (2020)

吸引式ボルテックス濃縮法を用いた環境調和型有機合成反応の開発

岡山大学学術研究院環境生命科学学域 泉 実

はじめに

水は自然環境において最もありふれたものであるが、一般に有機合成反応においてはその有用性は低いとされてきた。有機合成反応における溶媒として水の汎用性が低いのは、多くの有機化合物が水に溶け難いため、反応が進行しないこと、そして反応性の高い試薬が水によって容易に分解するからである。しかしながら、我々ヒトも含め、多くの生体内においては酵素により有機化合物の合成・分解が行われていることから、水中での有機反応が進行することを我々はすでに知っている。

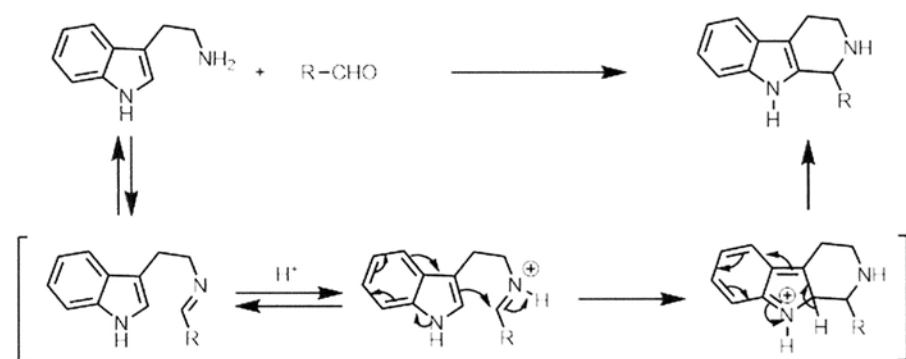
グリーンケミストリーは、化学物質の原料選択や合成・廃棄といった過程全体において、有害物質の使用や環境中への排出量を減らすことで、環境への負荷を低減させようとする考え方や実現のための技術のことである。本研究では、1998年に提唱された「グリーンケミストリー」における基本的な考え方である12ヶ条の中に含まれる、「より安全な溶媒と反応条件を使用する」ということの達成を目指している。

少しでも環境に負荷をかけないという点では有機溶媒の使用量は減らすべきであり、本研究では「水は有機溶媒に代わる環境調和型の溶媒」と考え、有機化学反応における環境負荷の低減に取り組むことを目的に研究を行った。有機溶媒の代わりに水を用いることによって水が汚染される事も考えるべきであるが、その解決法としては微生物による分解を視野に入れており、本申請が採択された際には微生物による分解を共同研究としてまた改めて申請を行いたい。

本研究では、その均一系をどのようにすれば作ることができるかを考え、その方法として「吸引式ボルテックス濃縮法」を採用することとした。「吸引式ボルテックス濃縮」が試料溶液の濃縮や乾燥に用いられている例は数多く存在しているが、有機化学反応に用いる例は私の調べた限りでは、本申請以外には他に無い。

背景

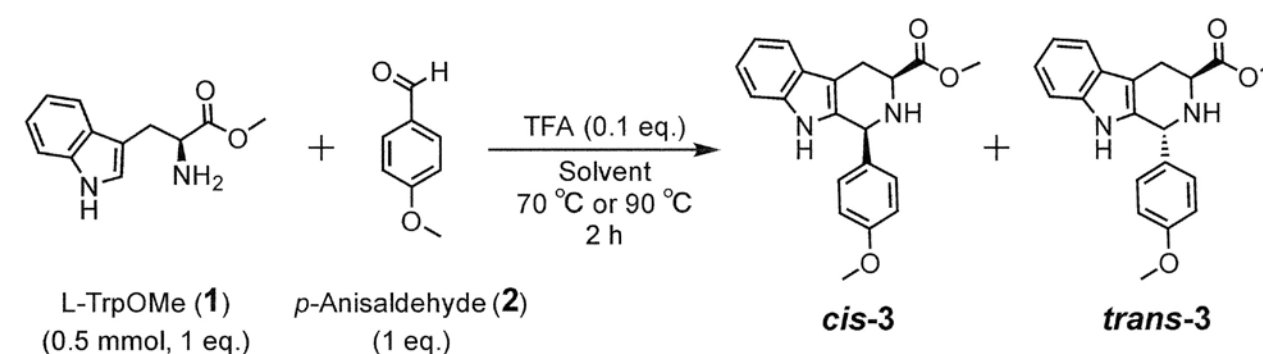
Pictet-Spengler 反応はフェネチルアミンにアルデヒドまたはケトンを作用させて、イミンを形成し、酸性条件下テトラヒドロイソキノリン骨格を構築する反応である。出発物質にインドール環を持つトリプタミンなどを用いるとテトラヒドロ-β-カルボリン骨格を構築することが出来る (Scheme 1)。Pictet-Spengler 反応は炭素骨格を構築しつつ新たな不斉 (キラリティー) を構築する炭素-炭素結合反応であり、不斉中心を有する光学活性化合物の有用な供給源となる。また、天然に存在している多くの生理活性物質がインドール骨格やキノリン骨格などの複素環を有していることから、Pictet-Spengler 反応は創薬研究において有用な反応であるといえる。しかし報告された合成方法の多くは、反応を行う際に有機溶媒などの環境への負荷が大きい物質が必要だという問題点がある。そのため、環境に優しい合成方法の開発する必要がある。



Scheme 1. Pictet-Spengler 反応

目的・方法

有機溶媒と水を混ぜ合わせた溶媒と反応の基質を混合させた溶液では、疎水効果によって有機溶媒と基質は凝集して水中に分散する。そのため、この混合溶液を吸引式ボルテックス濃縮法によって攪拌することで、有機溶媒中の基質の濃度と反応性は高くなると考えられる。本研究では、有機反応による環境への負荷の低減を目的として、Pictet-Spengler 反応に用いる有機溶媒の量を減らし、減らした有機溶媒の代わりに水を加えた反応の検討を行った。文献検索を行った結果、時を同じくして韓国のグループによりトリプタミンを基質として用いた水中での Pictet-Spengler 反応が報告されたが、基質としてトリプタミンを用いた場合についてのみであり、まだまだ検討の余地があった。そこで本研究では、基質として水への溶解性がさらに低い L-TrpOMe (1) と環境への負荷を低減するためにより低濃度の酸触媒を用いて、反応の検討を行うこととした。反応における基質のアミンとして化合物 1、アルデヒドとして *p*-アニスアルデヒド (2) を使用し、TFA を酸触媒とした条件で、DMF、アセトニトリル、トルエン、水を溶媒として、化合物 3 を主生成物とする Pictet-Spengler 反応を検討した。検討方法として、溶媒は「有機溶媒のみ」と「水のみ」、「有機溶媒と水 = 1 : 1」の条件の溶媒を使用し、70 °C もしくは 90 °C で 2 時間加熱して、Pictet-Spengler 反応を行い、それぞれの条件での生成物 3 の収率や *cis* 体と *trans* 体の割合を比較した。



Scheme 1. モデル反応として検討した Pictet-Spengler 反応

結果

まず溶媒として、「有機溶媒のみ」「水のみ」の溶液を用いて、Pictet-Spengler 反応を行った。それぞれの反応条件における反応生成物を TLC で確認したところ、Figure 1 に示すスポットが確認された。溶媒が「水のみ」で反応を行った際には TLC 上で反応生成物 3 のスポットは *cis* 体のスポットが確認され、「有機溶媒のみ」を用いた条件下では、反応生成物 3 の *cis* 体と *trans* 体、副生成物のスポットが確認された。90 °C・DMF (Figure 1 Entry 6, Table 1 Entry 7) の条件では、生成物 3 のスポットとは違う別のスポットが確認できるため、他の副生成物が主生成物として合成されていると考えられる。

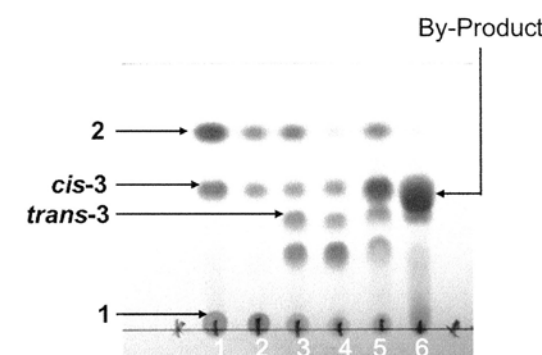


Figure 1. Pictet-Spengler 反応における TLC (展開溶媒 Hex : AcOEt = 1 : 1)

¹H-NMR を用いてそれぞれの条件下での収率と *cis* 体と *trans* 体の異性体比を求めた。その結果を Table 1 に示す。

Table 1. Pictet-Spengler 反応の結果

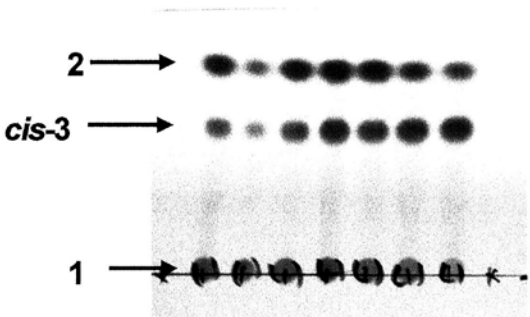
Entry	Solvent	Temp. (°C)	Time (h)	Yield (%) ^{a)}	Ratio (<i>cis</i> : <i>trans</i>) ^{a)}
1	H ₂ O	70	2	40	91 : 9
2	H ₂ O	90	2	43	92 : 8
3	CH ₃ CN	70	2	23	34 : 66
4	トルエン	70	2	n.d. ^{b)}	n.d. ^{b)}
5	トルエン	90	2	80	51 : 49
6	DMF	70	2	55	65 : 35
7	DMF	90	2	n.d. ^{b)}	n.d. ^{b)}

a) calculated by ¹H-NMR b) n.d. = not detected

70 °C・トルエン (Entry 4) の条件では、基質である L-TrpOMe がトルエンに溶けなかったため、反応が進行しなかった。また、90 °C・DMF (Entry 7) の条件では、先ほどの TLC で確認した副生成物が NMR 上でも確認され、化合物 **3** のピークを確認できなかったため、収率等は求められなかった。収率は 90 °C・トルエン (Entry 5) の条件で最も高い収率が得られ、水のみを用いて反応を行った時よりも収率が高くなった。*cis* 体と *trans* 体の割合に関しては、加熱して反応を行っているため、熱力学的に *cis* 体よりも安定である *trans* 体が合成されるはずである。有機溶媒を用いた反応では *trans* 体の合成が確認できたが、水を溶媒とした場合ではほとんど合成されず *cis* 体の割合が多くなった。

次に、有機溶媒 と水を 1 : 1 で混合した混合溶液を用いて、Pictet-Spengler 反応を行った。それぞれの反応条件における反応生成物を TLC で確認した結果を Figure 2 に示した。この時、有機溶媒 : 水 = 1 : 1 の混合溶液を用いた全ての反応条件において、反応生成物に含まれる生成物 **3** のスポットは *cis* 体のスポットしか確認されなかった。

Figure 2. 混合溶媒を用いた Pictet-Spengler 反応における TLC (展開溶媒 Hex : AcOEt = 1:1)



続いて、¹H-NMR を用いて、それぞれの条件下での収率と *cis* 体と *trans* 体の比を求めた。その結果を Table 2 に示した。収率は 70°C・CH₃CN (Entry 1) の条件で最も高い収率が得られた。*cis* 体と *trans* 体の比は「有機溶媒 : 水 = 1 : 1」の溶媒を用いた全ての反応条件において、反応生成物に含まれる生成物 **3** の *cis* 体の割合が多くなった。

Table 2. 混合溶媒を用いた Pictet-Spengler 反応の結果

Entry	Solvent	Temp. (°C)	Time (h)	Yield (%) ^{a)}	Ratio (<i>cis</i> : <i>trans</i>) ^{a)}
1	CH ₃ CN	70	2	63	86 : 14
2	Toluene	70	2	37	86 : 14
3	Toluene	90	2	32	79 : 21
4	DMF	70	2	45	85 : 15
5	DMF	90	2	41	87 : 13

a) calculated by ¹H-NMR

総括

有機溶媒と水を混ぜ合わせた溶媒と反応の基質を混合させた溶液では、疎水効果によって有機溶媒と基質は凝集して水中に分散するため、有機溶媒中の基質の濃度と反応性は高くなると考えた。本研究では、有機反応による環境への負荷の低減を目的として、モデル反応として Pictet-Spengler 反応を用い、その反応に用いる有機溶媒の量を減らし、減らした有機溶媒の代わりに水を加えた反応の検討を行った。

溶媒が「有機溶媒のみ」「水のみ」「有機溶媒と水 = 1 : 1」のそれぞれの条件下で、Pictet-Spengler 反応の検討を行った。その結果、生成物 **3** の *cis* 体と *trans* 体の割合は「有機溶媒のみ」の反応で得られた生成物比べて、「有機溶媒と水 = 1 : 1」の反応で得られた生成物の方が *cis* 体の割合が高くなった。今後は Pictet-Spengler 反応に用いる有機溶媒の使用量をより減らし、水の割合をより高くした反応条件の検討を行うことで環境への負荷を低減し、持続可能な開発目標 (SDGs) 「12 つくる責任 つかう責任」などの達成に貢献できると考えている。

謝辞

本研究は、岡山大学農学部において加藤 恵太 氏の卒業論文研究の一環として行われたものです。核磁気共鳴装置 (NMR) の代理測定をして頂きました岡山大学自然生命科学研究支援センター設備・技術サポート推進室の光岡 優 氏に御礼申し上げます。最後となりましたが、本研究を行うにあたり研究助成して頂きました公益財団法人 八雲環境科学振興財団に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Pictet. A., Spengler. T., *Ber.*, 1911, 44, 2030-2036.
- 2) Whaley. W. M., Govindachari. T. R., *Org. React.*, 1951, 6, 74-150
- 3) Byeon, H.J., Jung, K.H., Moon, G.S. et al., *Sci. Rep.*, 2020, 10, 1057
- 4) A. Saito, J. Numaguchi, Y. Hanzawa, *Tetrahedron Lett.*, 2007, 48, 835-839
- 5) M. Desroses, et al., *Tetrahedron Lett.*, 2013, 54, 3554-3557

氏名：寺東宏明

研究テーマ：環境浄化技術としての水中放電プラズマの可能性

イントロダクション

人類は古来より様々な活動によって廃水を排出してきたことから、廃水管理は社会生活や産業生活において必要な手段の一つである。廃水は、環境汚染の原因となり、直接的な病気や感染症などの健康被害を引き起こす。現代社会では、下水道の普及により感染症を防ぐことができるようになってきたが、その一方で、産業活動の活発化に伴い、大量の産業廃水が発生することも問題となっている。製造業、農業、鉱業、輸送、食品加工など、産業廃水の発生源は多岐にわたるが、これらの廃水に対して、物理的、化学的、生物学的な洗浄方法が開発・構築されてきた。これらの洗浄方法の中で、プラズマ技術は有用な廃水対策の 1 つであり、この手法の中でも、パルス放電プラズマは水の浄化に最も適していると考えられ、私たちは以前からこの可能性を検討してきた (Kudo et al., 2015a; 2015b)。私たちはパルス放電プラズマを生成するモデル装置を製作し、その除菌能力を評価するために、大腸菌細胞に対する実験を行った。処理された大腸菌は処理時間中に死滅し、その染色体には酸化的な DNA 損傷が生じていた。この DNA 損傷には、酸化的なピリミジンやプリンに対する特異的な DNA グリコシラーゼによって検出される酸化的な塩基損傷が含まれていた。また、プラズマによる活性酸素種 (ROS) の発生についても調べた。

以上の研究によりプラズマによる殺菌の可能性が示されたが、この研究では対象として大腸菌のみを扱っている。そこで、本研究ではこのプラズマ滅菌法を応用・一般化するために、モデルパルス放電プラズマ発生装置を用いて *Bacillus subtilis* (枯草菌)、*Deinococcus radiodurans* (放射線耐性細菌)、*Shizosaccharomyces pombe* (分裂酵母) の殺菌効果を評価した。枯草菌はグラム陽性の最も一般的な細菌の一つであり、私たちの普段の生活環境では、どこでも見られる一般種である。*D. radiodurans* は、放射線滅菌したにもかかわらず、腐った缶詰肉から発見された放射線抵抗性細菌である。放射線抵抗性細菌の殺菌は、最も強力な殺菌手段である電離放射線を使用することができず非常に困難であることから、今回の研究で良い結果が得られれば、放射線抵抗性細菌の混入を避けるための追加の手順が得られることになる。分裂酵母は、今回の研究で唯一の真核生物のサンプルである。この種を含む酵母も一般に生物学的汚染の主要な原因となっているため、真核生物の汚染に対する滅菌のモデルとなっている。さらに、*B. subtilis* と *S. pombe* は休眠のために胞子を作ることができる。胞子形態は、胞子を持つそれぞれの種の植物細胞の形態よりも、様々な殺菌因子に対して高い抵抗力を示す。以上、本研究では従来の方法では殺菌が困難な微生物種に対するプラズマの有効性を検討した。

材料と方法

材料

E. coli K12 株は実験室のストックを用いた。*B. subtilis* subsp. *subtilis* 1465T 株は、Japan Collection Microorganisms から入手した。*D. radiodurans* KR1 株は、斉藤毅博士 (京都大学) から譲渡された。こ *S. pombe* HT02 株は、池田正五博士 (岡山理科大学) から供与頂いた。大腸菌用の培地は、トリプトン (Difco) 10 g/L、酵母エキス (Difco) 5 g/L、塩化ナトリウム (NaCl) 10 g/L (和光純薬) からなる LB 培地 (pH7.0) を使用した。枯草菌の培地は、トリプトン 10g/L、ビーフエキス 10g/L (Difco 社)、NaCl 5g/L を含む #22 培地 (pH7.0) を用いた。*D. radiodurans* 細胞は TSA 培地 (栄研化学、日本) で培養した。*S. pombe* 細胞は、酵母エキス 5g/L、グルコース 30g/L を含む YE 培地 (pH6.0) で培養した。プレート培養にはそれぞれの培地に 1.5%(w/v) の寒天を加えたものを用いた。リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) は 0.01M のリン酸塩 0.138M の NaCl、2.7M の塩化カリウム (pH7.4) を含むもので、和光純薬から購入した。SeaPlaque GTG agarose (Cambrex) は、プラグゲル調製用の低温融解アガロースゲルである。パルスフィールドゲル用アガロース (Bio-Rad) は、静電場ゲル電気泳動 (SFGE) に使用した。特に記載のない限り、その他の化学物質や酵素はすべて和光純薬から入手した。

パルス状放電プラズマの細胞処理

キャビテーションによるパルス放電プラズマを発生させる装置は、プラズマリアクター、放電発生用電源、2L の水容器と水ポンプからなる水循環装置で構成されている (図 1)。被験微生物の細胞は、前述した適切な培地で OD600 が 0.3 になるまで振とう (200rpm) しながら培養した。大腸菌は 37°C で、その他の微生物は 30°C で培養した。培養した細胞を収穫した後、PBS で 2 回洗浄し、同じ溶液に再懸濁した。この細胞を 2L の蒸留水に 10^6 コロニー形成単位 [CFU]/立方センチメートルになるように懸濁した。この細胞懸濁液を 4.6mL/min の流速で 2 分間循環させ、細胞を十分に混合させてからプラズマ処理を開

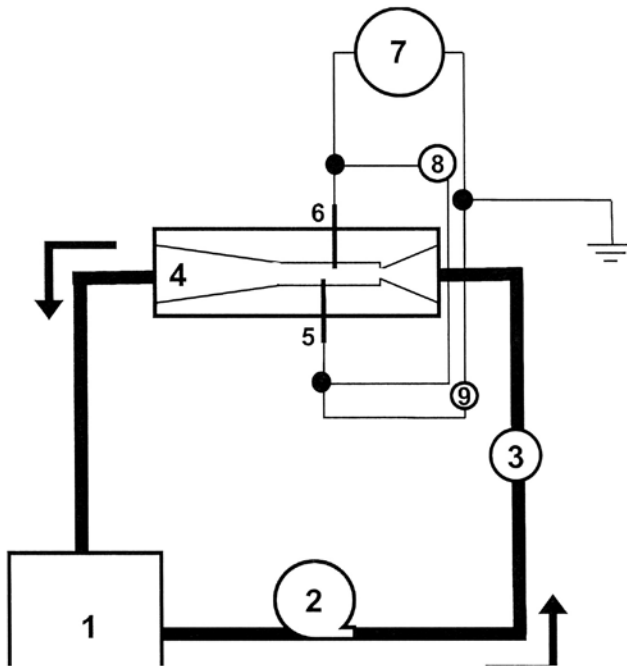


図 1. キャビテーションパルス放電発生装置の模式図。装置は、2L の処理水を入れる水容器 (1)、水ポンプ (2)、流量計 (3)、キャビテーションを発生させるノズルを備えたプラズマリアクター (4)、接地電極 (5)、高電圧電極 (6)、電源 (7)、高電圧プローブ (8)、電流プローブ (9) で構成される。

始した。その後、懸濁液を 20L/min の流速で循環させ、90 秒までプラズマ処理を行った。処理した細胞は 0、30、60、90 秒後にサンプリングし、後述の分析を行った。このプラズマ装置と実験条件の詳細については既述の通りである (Kudo et al., 2015a; 2015b)。

細胞生存率解析

プラズマ処理を行った細胞を PBS で適切に希釈した。その後、細胞懸濁液をそれぞれの寒天プレート培地に接種した。プレートは液体培養と同じように適切な温度で、コロニーの成長に適した期間で培養し、コロニーの生存率を評価した。

DNA 損傷解析

プラズマ処理細胞の染色体 DNA 損傷は SFGE によって分析した。処理した細胞 (10^7 CFU/mL) 10cm^3 を遠心分離 ($3000\times g$, 10 分間, 4°C) により回収し、細胞ペレットを $25\mu\text{L}$ の PBS に再懸濁、3 倍容の溶融低温融解ゲルに混合した。溶融したゲルをゲル成形装置で成形し、氷上で 30 分間冷却して固めた。このプラグを 1%(w/v)サルコシル, 50mM Tris-HCl(pH8.0)、25mM エチレンジアミン四酢酸(EDTA)からなる溶解バッファー2mL 中で 50°C 、16 時間培養した。*S. pombe* 細胞については、PBS 中の $2\mu\text{g/mL}$ ザイモリアーゼによる一晩の前処理を 25°C で行った。その後、10mM Tris-HCl (pH8.0) と 1mM EDTA を含む 10mL の TE 緩衝液でプラグを洗浄した。洗浄したプラグを 1% (w/v) アガロースゲル (長さ 18cm×幅 12cm×厚さ 1cm) に挿入し TBE 緩衝液 (89mM トリス、89mM ホウ酸、2mM EDTA) 中で 17mA の定電流を流して 20 時間電気泳動した。泳動ゲルはエチジウムブロマイドで染色し、UV トランスイルミネーターを備えたカメラシステムで撮影した。撮影した画像は米国国立衛生研究所の ImageJ ソフトウェアで解析した。染色体 DNA の損傷は、ゲル画像で観察された無傷の DNA バンドと損傷した DNA バンドの割合の蛍光強度で推定した。

細胞形態の調査

プラズマ処理した細胞を 2.25%(v/v)のグルタルアルデヒドで一晩固定した。固定した細胞を 50%から 99%(v/v)のエタノールに順次浸して脱水した。脱水した細胞を tert-butanol に浸した後、凍結乾燥させた。乾燥させた細胞を非導電性の両面テープで金属ベースに貼り付けた後、スパッタリング装置 (IB-3、エイコーエンジニアリング) を用いて金をコーティングした。コーティングされた試料は、走査型電子顕微鏡 (JSM-6510、日本電子) で観察した。

結果

本研究では、まず、プラズマ処理に対する細胞の感受性を観察した。プラズマ処理した細胞は、処理時間に応じて生存率の低下が見られた (図 2)。しかし、本研究で用いた 4 種類

の微生物細胞は、その生存率の低下の仕方によって 2 つのグループに分けられた。一つは大腸菌や放射線耐性菌である *D. radiodurans* を含むプラズマ感受性グループであり、一方、プラズマに耐性のあるグループには、枯草菌や分裂酵母などが含まれた。興味深いのは、放射線耐性菌が大腸菌とほぼ同程度、あるいはそれ以上の感受性を持っていたことである。なぜなら、放射線抵抗性細菌は一般的に電離放射線などの様々なダメージ要因に強いからと考えられたからである。この結果は、今回のプラズマ技術が放射性物質耐性菌の殺菌方法として有効であることを示唆している。一方、興味深いのは、枯草菌と分裂酵母は、それぞれ真正細菌と真核生物であるにもかかわらず、プラズマに対して耐性を示したことである。この 2 つの種は孢子を形成するという共通点をもっている。

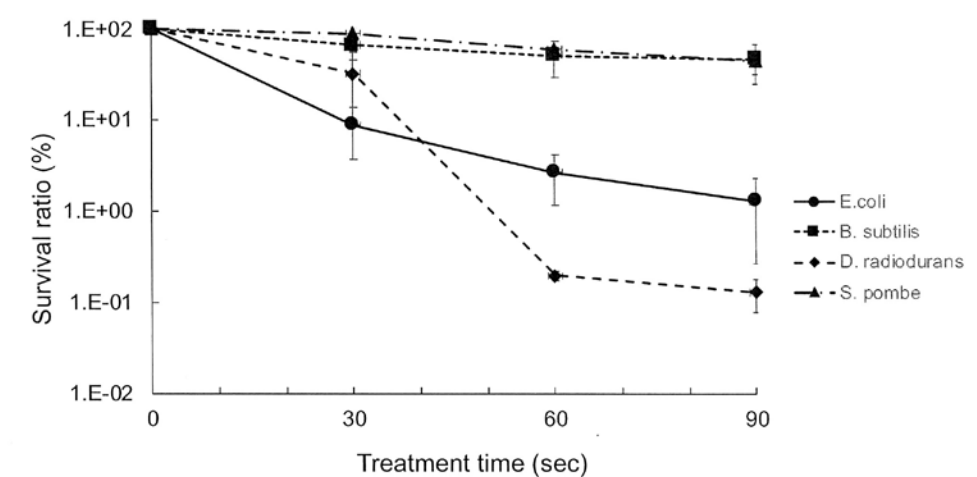


図 2. 微生物のパルス放電プラズマに対する細胞生存率。プロットは、大腸菌 (●)、枯草菌 (■)、*D. radiodurans* (◆)、*S. pombe* (▲)。それぞれのデータは、少なくとも 3 回の個別実験の平均値と標準偏差で表した。

次に、プラズマ処理した細胞の染色体 DNA の損傷を観察することで、プラズマによる細胞死のメカニズムを調べた。プラズマ処理した細胞をアガロースゲル電気泳動にかけ、染色体 DNA の二本鎖切断 (DSB) の量を分析した。感受性の高い大腸菌と放射線抵抗性細菌の細胞は、いずれも 90 秒までのプラズマ処理で DSB の生成が見られた (図 3)。この電気泳動法では、DSB によって生じた染色体 DNA 断片は、プラグゲルの位置から溶出したバンド (Intact) と移動したバンド (Damaged) として検出される。SFGE では、溶出したバンドの移動度は分子量を反映しないため、パルスフィールドゲル電気泳動法による平均分子量から DSB の数を推定することはできないが、DNA 損傷の程度は発生した DSB の比率に比例する。溶出したバンドの濃度から推定される DNA 損傷の度合いは、両感受性菌ともに処理時間に依存して増加した (図 3)。大腸菌と放射線抵抗性細菌の結果を比較すると、後者の方が DNA 損傷の量が多いように見えるが、これは、感受性の結果 (図 2) と一致している。これらの結果は、この DNA 損傷がプラズマによって引き起こされたことを示してい

る。一方、プラズマに抵抗性を示した枯草菌や分裂酵母では、DSB の発生が見られなかった (data not shown)。このことは、プラズマによる殺菌機構が DNA 損傷に由来することを示唆しており、我々のこれまでの知見 (Kudo et al, 2015a; 2015b) と一致している。

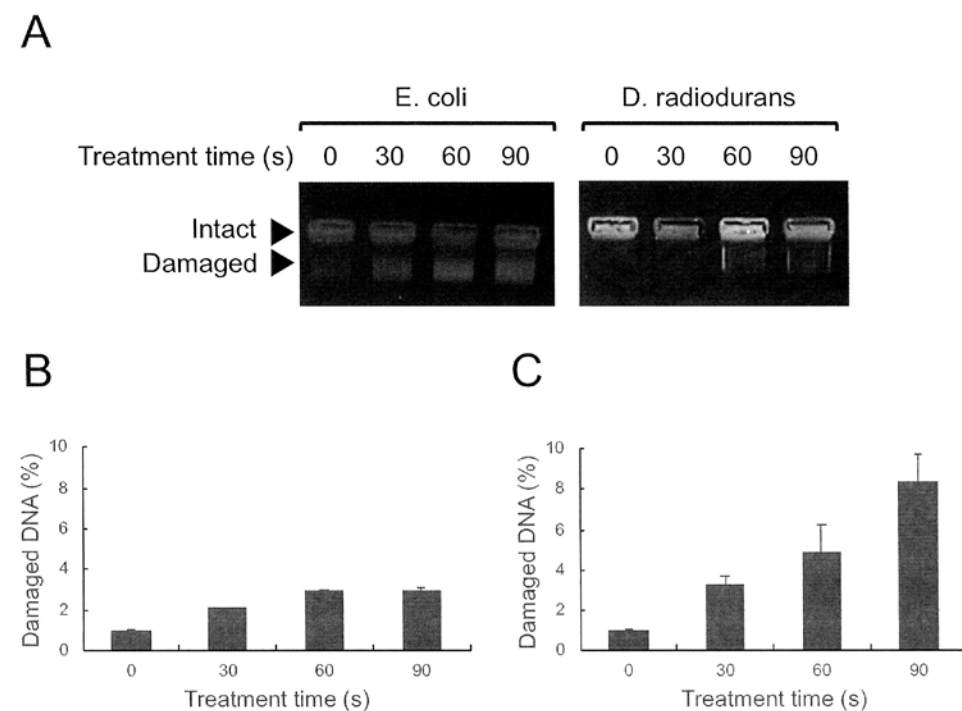


図 3. プラズマで処理した微生物のアガロースゲル電気泳動による DNA 損傷解析。A) プラズマで処理した大腸菌と *D. radiodurans* の細胞の典型的なゲル像である。B) プラズマで処理した大腸菌の細胞内の損傷 DNA の相対的な収率。C) プラズマで処理した *D. radiodurans* の細胞における損傷した DNA の相対的な収率。B および C のデータは、少なくとも 2 回の実験の平均値に標準偏差を加えたもの。

以上の結果から、大腸菌や放射線抵抗性細菌はプラズマに感受性があり、染色体 DNA 損傷が細胞障害因子である可能性が示唆された。この仮説では、DNA 損傷が他の細胞の損傷を介しているのか、それとも電離放射線の損傷のように細胞膜を飛び越えて細胞内の DNA に直接損傷を与えているのか、という問題が残っている。そこで、処理した細胞の形態を走査型電子顕微鏡で調べることにした。その結果、枯草菌や分裂酵母では、変形した細胞像を観察することができなかった (data not shown)。一方、感受性が高く、DNA 損傷が見られた大腸菌や *D. radiodurans* では、一部の傷ついた細胞像が観察されたが、ほとんどの細胞は無傷のままであった (図 4)。これらの結果は、プラズマが電離放射線と同様に細胞内の DNA を直接損傷する可能性を示唆している。

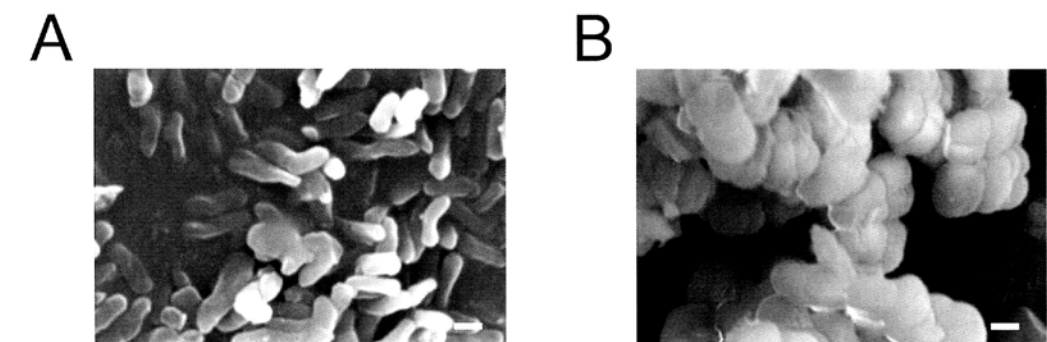


FIG.4. 大腸菌 (A) と *D. radiodurans* (B) をプラズマで 90 秒間処理したときの細胞形態を走査型電子顕微鏡で観察した。矢印は、両種とも多数の無傷の細胞に囲まれた少数の損傷細胞を示す。*B. subtilis* と *S. pombe* の細胞は、今回の研究では特定の損傷細胞が見られなかったため、画像を示していない。図中の横棒は 1 μ m スケールを示す。

参考文献

- Kudo K., Ito H., Ihara S., and Terato H. (2015a) Quantitative analysis of oxidative DNA damage induced by high-voltage pulsed discharge with cavitation. J. Electrostat., 73, 131-139.
- Kudo K., Ito H., Ihara S., and Terato H. (2015b) Oxidative DNA damage caused by pulsed discharge with cavitation on the bactericidal function. J. Phys. D: Appl. Phys., 48, 365401.

希少種を含むイカリソウ属の系統分類学的研究

岡山大学学術研究院自然科学学域

三村真紀子

1. はじめに

激動する地球環境において、急激に個体数を減少させる生物を認知し、減少要因を特定することは、生物多様性の価値の理解と利用、そしてその保全を考える上で不可欠である。しかし、その作業は容易ではないときがある。理由のひとつは、分類学的知見が集積されておらず、種の認知が難しいことである。例えば高知や大分の限られた沿岸部に自生する希少種シオミイカリソウは、形態的な情報に基づいて蛇紋岩地に自生するヒメイカリソウの亜種とされ、レッドデータ候補から外された。しかし、シオミイカリソウは海に面した沿岸部に自生し、ヒメイカリソウだけでなく他のイカリソウ属の多くとも明らかに異なる生態学的ニッチを持つため、希少性は高い。ふたつめの理由は、形態的な分化は必ずしも明らかでないことである。生物多様性は動的なものであり、種は隔離や交配を繰り返して新しく分化していく(Mimura et al. 2014, Mimura and Suga 2020)。地球の環境変動と共に、種の境界は絶え間なく変化しており、新しく分化した系統グループは、気象や地質への適応など形質的な特徴を遂げるものの、形態的には分化を認めにくいことがある。このような背景から、種を同定し、その個体数の増減の調査及び要因を特定することは、特に希少な種においては容易な作業ではない。この問題を解決するには、形態的な情報だけではなく、分子的な分類の整理が必要になる。

そこで、本研究では、分類的な困難さが複数の植物園・博物館で共有されているメギ科イカリソウ属を対象に、国内に分布する種の分類学的同定を試みた。イカリソウ属に分類されている種は、様々な名称が付けられ、形態的特徴から雑種起源が提唱されている種も多いが、そのいずれも分子データを用いた検証がされていない。国内に自生し、様々な気象・地質に異所的に分布するイカリソウ属を対象に標本データをまとめ、形態情報・分子情報から系統関係と形態的特性を整理することを目的とした。

2. 生育地の確認

系統関係の把握には、採集位置情報が明らかなサンプルが必要である。日本に自生するイカリソウ属の分布を把握するために、標本データベースを検索した。データベースは、GBIF(Global Biodiversity Information Facility)を用いた。イカリソウ属のうち国内で収集され、種同定されており、且つ緯度経度情報のある標本のみを抽出した。位置情報から地図を確認し、住宅地や博物館など明らかに自生地ではない採集地情報を持つ標本を除去し、最終

的に合計 682 標本リストを得た(図 1)。東海から東日本には、イカリソウ、キバナイカリソウ、トキワイカリソウの 3 種が分布していた。中国・四国・九州には、変種などを含む合計 6 種類が確認された。採集地情報を持つヒゴイカリソウ、シオミイカリソウなどは、変種・亜種としての登録がなかった。

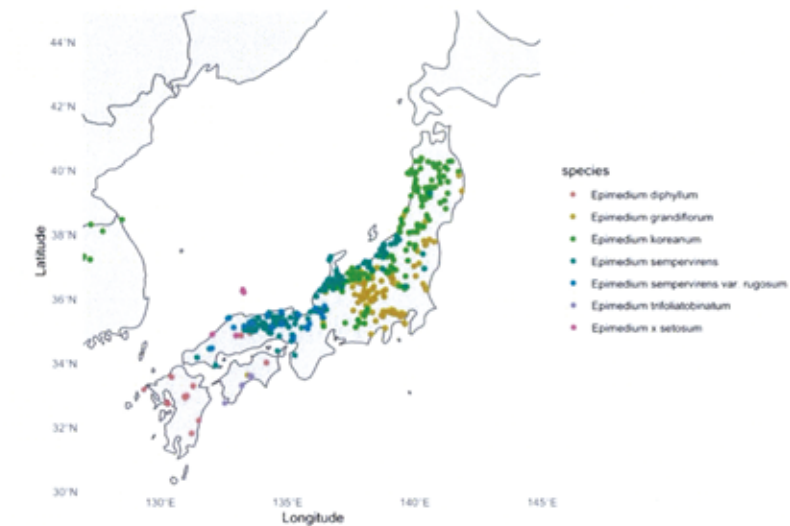


図 1. GBIF 標本データによる位置情報。6 種の情報が確認できた。

3. 自生確認とサンプリング

自生地の確認と系統解析用のサンプリングを兼ねて、中四国地域および九州地域サンプルの収集を行った(図 2)。中四国から、トキワイカリソウ 4 地点・オオバイカイカリソウ 8 地点・バイカイカイソウ 3 地点・サイコクイカイソウ 2 地点・ヒメイカリソウ 10 地点・ヤチマタイカリソウ(イカリソウ) 3 地点・シオミイカリソウ 1 地点を採集した。九州からは、シオミイカイソウ 2 地点、ヒゴイカイソウ 1 地点を採集した。多くが GBIF に標本データがないが、地域の博物館・植物園が分布状況を把握していた。さらに、外群として、国外に自生するホソバイカリソウを岡山市立半田山植物園から譲渡いただいた。採集には、高知県立牧野植物園、九州オープンユニバーシティ、岡山市立半田山植物園の協力を得た。全ての採集は、現地から株分けした株を岡山大学内で栽培維持しているか、葉だけサンプリングできたものに関しては、研究室に戻り次第冷凍保存した。これらの採集は、2020 年から 2021 年初夏にかけて行った。

自生が確認された現地サイトにおいて形態調査を行った。花色はトキワイカリソウで薄紫から紫、ほかは白色であった。花蜜が貯まる距の有無は、バイカイカリソウでなく、ほかは距をもつ花が主流であった。しかし、オオバイカイカリソウは、集団によって距の有無や長さが異なっていた。葉茎は、トキワイカリソウ、ヤチマタイカリソウ(イカリソウ)で 3 回 3 出、バイカイカリソウが 2 回 2 出、ヒメイカリソウが 2 出して 3 出が大半であったが、

集団内には類する多型が存在した。オオバイカイカリソウの葉茎の多型はとくに顕著で、トキワイカリソウとバイカイカリソウの交雑起源種であるという仮説を支持した。一方、シオミイカリソウの高知集団が2出して3出、九州集団が2回2出でほとんど固定しており、集団内の多型がみられなかった。今後、より詳細な形態解析を行なっていく。



図2. 標本情報などをもとに現地にて確認できたイカリソウ属の一部。生育環境だけでなく、花色・距の有無・葉茎など形態的にも異なる。

4. 分子系統樹の作成

2020 年秋までに回収できたサンプルを対象に分子系統樹を作成した。合計 33 サンプルから DNA を抽出した。生葉あるいは冷凍した葉を液体窒素ですりつぶし、DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) で抽出した。葉緑体 DNA である atpB-rbcL 遺伝子間領域、trnH-psbA 遺伝子間領域を PCR で増幅した。また、核ゲノムである ITS 領域も同様に増幅した。増幅に用いたプライマーは、atpB-rbcL (Shinozaki et al. 1986)、trnH-psbA 遺伝子間領域 (Sang et al. 1997)、ITS 領域 (Stanford et al. 2000) から配列情報を得た。得られた増幅産物は、精製した後サイクルシーケンス反応を行い、ABI Genomic Analyzer 3500 で配列情報を解析した。すべてのデータは波形精度と波形の目視から配列を再確認した後、MAFFT (Katoh et al. 2017) を用いてアライメントした。得られた塩基数は、atpB-rbcL 領域で 675bp、trnH-psbA 遺伝子間領域で 506bp、ITS 領域で 720bp で、合計 1901bp 出会った。葉緑体遺伝子領域である rbcL 領域も同様に増幅し配列データを得たが、対象としたサンプル間でほとんど変異がなく、本解析からは除いた。

得られた 3 領域の配列を結合し、最尤法系統樹を RaxML (Stamatakis 2014) を用いて作成した。3 領域は独立した突然変異率を持つと仮定し、それぞれの領域において置換モデルのモデル選択を行った。その結果、atpB-rbcL 領域と trnH-psbA 遺伝子間領域では HKY モデ

ル、ITS 領域では JC モデルが選択された。3 領域の変異は、それぞれの領域で選ばれた最適モデルに従って起こると仮定し、最尤法系統樹を作成した。系統樹のノードの信頼度は 100 回のブートストラップ法によって検証した。

ブートストラップ値 50% 以下のノードを却下した系統樹によると、対象としたイカリソウ属 (トキワイカリソウ・オオバイカイカリソウ・バイカイカリソウ・シオミイカリソウ・サイコクイカリソウ・ホソバノイカリソウ) は 3 系統グループに分類された (図 3)。これらの系統グループは、種の分類を反映せず、個々の種は単系統を示さなかった。これは、今回解析した遺伝子領域では分類できるだけの十分な変異を含まず系統樹の解像度が低かったことが考えられる。

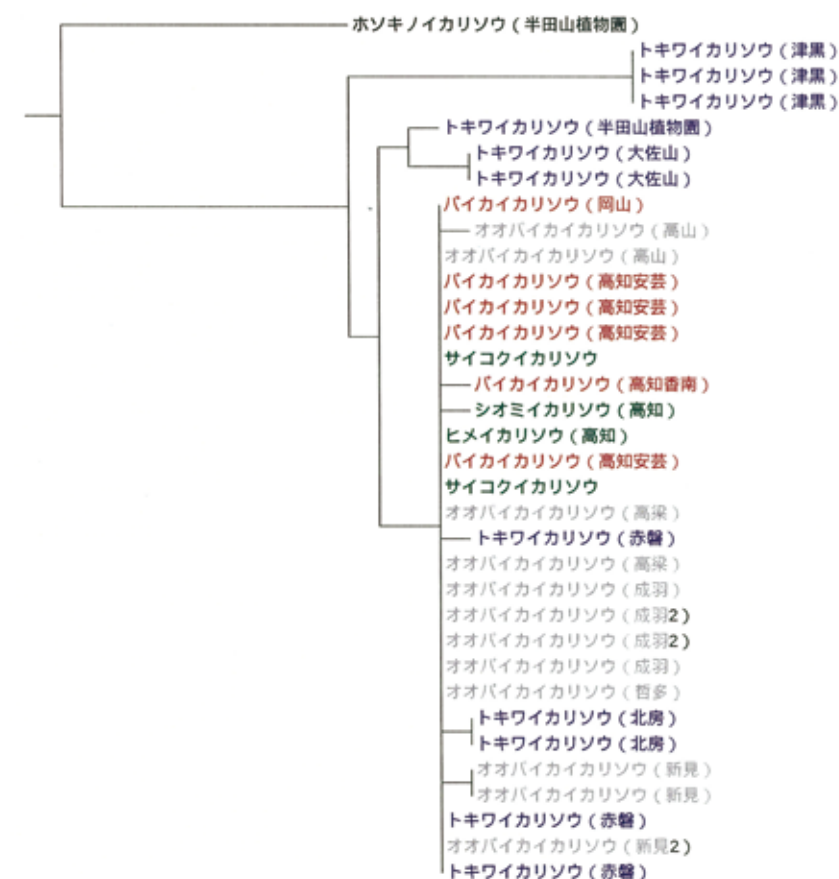


図3. イカリソウ属7種の葉緑体 DNA および ITS 領域に基づく 33 系統の 50% 多数決合意樹 (50% majority-rule consensus tree)。2020 年秋までに収集できた集団を用いて解析した。

3 系統グループのうち 2 グループはトキワイカリソウのみによって構成され、これらは津黒高原付近、大佐山など県北から採取された系統だったのに対し、他のイカリソウと同グループに属した系統は、新見市 (三尾寺付近) や赤磐市の県中および県南から採集された系統で

あった。地理的にはオオバイカイカリソウと分布域が接触しており、歴史的背景を共有しているか交雑の可能性などが考えられた。系統樹上からは、トキワイカリソウ以外の種で明瞭な種の分岐は見られず、イカリソウ属が明確な種の境界を持たない複合体として地域ごとの変異を保有している可能性が考えられる。しかし、今回対象とした日本に自生するイカリソウ属は属内でも比較的近縁な関係にあることが推定されるため(Zhang et al. 2007)、今回解析した遺伝子領域では、分類に十分な情報が得られていない。今後、種数と変異情報を増やして再解析する必要がある。

5. 総合考察と今後の展望

本支援によって、国内で多様化しているイカリソウ属 *Macroceras* 節の自生地を尋ね、解析に必要な株や葉サンプルを収集することができた。日本に自生するイカリソウ属は、集団間、集団内において、花色・距の有無・葉茎タイプ・常緑/落葉など形質に多型が見られた。

特にヒメイカリソウと同一と分類された希少種シオミイカリソウは、標本情報はほとんどなかったが、本研究において複数の自生地を確認することができた。シオミイカリソウは、海水のしぶきが届く沿岸域に自生しており、その分布は、海を隔てて、高知県、大分県、宮崎県の一部にのみ点在していた。形態的にはヒメイカリソウの葉茎は 2 出して 3 出が多いものの、種内・集団内に複数の葉茎タイプの多型が見られたのに対し、シオミイカリソウでは、高知県の集団が 2 出して 3 出、宮崎県と大分県の集団が 2 回 2 出にほぼ固定されていた。形態的な多様性からヒメイカイソウからシオミイカリソウが分岐した可能性も示唆されるが、本研究で作成した分子系統樹では変異数が少なく、近縁種間の系統的關係性を明らかにできなかった。イカリソウ属の系統関係を調べた先行研究でも、*Macroceras* 節に属する種を取り扱ったものは少なく、多くの種の系統関係は不明である(Zhang et al. 2007)。ヒメイカリソウやオオバイカイカリソウは、バイカイカリソウなどを親種とする交雑起源種と考えられており(鈴木 1990; Horie et al. 2012)、これらの系譜を明らかにするためには、多数の遺伝子領域からの情報を統合する必要がある。近年では、ゲノム情報の少ない種でも多数の遺伝子領域を解析する手法が開発されており(e.g. Suyama and Matsuki 2015)、今後は、これらの方法を用いてイカリソウ属の系統関係とその歴史的背景を明らかにしていく。さらに、地質や塩ストレス耐性を検証することで、生態学的な種分化を明らかにし、異なる環境に分化する近縁種の特性と希少性を検証していく。

6. 謝辞

本研究を行うにあたり支援を賜りました財団法人八雲環境科学振興財団に、深く感謝いたします。また、試料採集および標本情報収集にご協力いただきました岡山市立半田山植物園、高知県立牧野植物園、倉敷市立自然史博物館に、深く感謝の意を表します。

7. 参考文献

- Horie, S., K. Suzuki, and M. Maki. 2012. Quantitative morphological analysis of populations in a hybrid zone of *Epimedium diphyllum* and *E. sempervirens* var. *rugosum* (Berberidaceae). *Plant Ecology and Evolution* 145:88–95.
- Jukes, T. H. and Cantor, C. R. (1969), *Evolution of protein molecules* in Munro, R. E., ed, *Mammalian Protein Metabolism*, Academic Press, New York, pp. 21–132.
- Katoh, K., J. Rozewicki, and K. D. Yamada. 2017. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics* 20:1160–1166.
- Mimura, M., M. Mishima, M. Lascoux, and T. Yahara. 2014. Range shift and introgression of the rear and leading populations in two ecologically distinct *Rubus* species. *BMC evolutionary biology* 2014:209.
- Mimura, M., and M. Suga. 2020. Ambiguous species boundaries: Hybridization and morphological variation in two closely related *Rubus* species along altitudinal gradients. *Ecology and Evolution* 10:7476–7486.
- Sang, T., D. J. Crawford, and T. F. Stuessy. 1997. Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany* 84:1120–1136.
- Shinozaki, K., M. Ohme, M. Tanaka, T. Wakasugi, N. Hayashida, T. Matsubayashi, N. Zaita, J. Chunwongse, J. Obokata, K. Yamaguchi - Shinozaki, C. Ohto, K. Torazawa, B. Y. Meng, M. Sugita, H. Deno, T. Kamogashira, K. Yamada, J. Kusuda, F. Takaiwa, A. Kato, N. Tohdoh, H. Shimada, and M. Sugiura. 1986. The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression. *The EMBO Journal* 5:2043–2049.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30:1312–1313.
- Stanford, A. M., R. Harden, and C. R. Parks. 2000. Phylogeny and biogeography of *Juglans* (Juglandaceae) based on *matK* and ITS sequence data. *American Journal of Botany* 87:872–882.
- Suyama, Y., and Y. Matsuki. 2015. MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform. *Scientific Reports* 5:16963.
- 鈴木和雄 1990.「日本のイカリソウ 起源と種分化」八坂書籍
- Zhang, M.-L., C. H. Uhink, and J. W. Kadereit. 2007. Phylogeny and Biogeography of *Epimedium/Vancouveria* (Berberidaceae): Western North American - East Asian Disjunctions, the Origin of European Mountain Plant Taxa, and East Asian Species Diversity. *Systematic Botany* 32:81–92.

サンゴ骨格中の U/Ca 比と $\delta^{13}\text{C}$ からみるロンボク海峡における人為起源 CO_2 の影響の検討

源田亜衣¹, 井上麻夕里¹, Ali Arman², 鈴木淳³, 池原実⁴

¹岡山大学大学院自然科学研究科, ²インドネシア原子力庁, ³産業技術総合研究所地質情報研究部門, ⁴高知大学海洋コア総合研究センター

【はじめに】

産業革命以降、化石燃料の消費が増加し、これに伴い大気中の二酸化炭素 (CO_2) 濃度が上昇している。このような人為起源の CO_2 は、温室効果ガスとして地球温暖化の一因となっているが、その一部は海洋へと吸収されており、海洋環境にも深刻な影響を与えている。 CO_2 が海水に溶け込むと、水と反応し水素イオンが生成される。この水素イオンの増加は海水の pH の低下、すなわち酸性化を招き、海洋酸性化問題として近年注目されている。海洋酸性化は炭酸塩鉱物の殻や骨格を有するサンゴや貝類などの海洋生物の正常な成長に負の影響を及ぼすことが懸念されている。例えば、異なる pH 条件下におけるサンゴの飼育実験から、低 pH 条件下では骨格中の多孔性が増し、骨格が脆弱になることが指摘されている [Tambutte et al., 2015]。また、サンゴの成長の初期段階を対象とした研究では、pH の低下は受精や幼生の定着、成長に負の影響を与えることが報告されている [Albright et al., 2010]。産業革命以降、海水の pH はすでに 0.1 低下していると言われており、海洋の pH 観測は海水温などの他の海洋情報に比べると少なく、記録の蓄積が乏しいのが現状である。

過去の海洋環境を復元する一つの手法として、熱帯～亜熱帯域ではサンゴ骨格がよく利用されている。サンゴ骨格は炭酸カルシウム (CaCO_3) から成り、周囲の環境の変化に応じて同位体比や元素の濃度比が変化する。例えば、骨格中のストロンチウム・カルシウム比 (Sr/Ca 比) には温度依存性があることから、古海水温計としてよく利

用されている。また、サンゴ骨格を用いる利点として、数十年～数百年の記録を月単位の高時間分解能で復元できることが挙げられる。

そこで本研究では、ロンボク海峡に面するバリ島近辺の海洋表層における人為起源 CO_2 の影響を検討するため、サンゴ骨格中のウラン・カルシウム比 (U/Ca 比) と炭素同位体比 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$: $\delta^{13}\text{C}$) の分析を行なった。サンゴ骨格中の U/Ca 比は先述した Sr/Ca 比同様に温度依存性が報告されており、温度計としての有用性が検討されてきたが [e.g., Min et al., 1995]、最近の研究から、pH にも依存することが報告されている [Inoue et al., 2011; Raddatz et al., 2014]。つまり、U/Ca 比は温度と pH の両者の影響を受けているが、本研究では、海水温にのみ依存する Sr/Ca 比の測定を別途行っており、これらを組み合わせることで U/Ca 比から定性的な pH の変動の復元を試みる。また骨格中の $\delta^{13}\text{C}$ は、 ^{13}C スース効果と呼ばれる人為起源 CO_2 の増加によって生じる現象を反映していることが報告されており [e.g., Nozaki et al., 1978]、人為起源 CO_2 の影響を検討する指標の一つとして利用できると考える。また、本研究の先行研究として、同環境研究助成のもと、インドネシア・セリブ諸島から採取されたサンゴ骨格中の U/Ca 比の分析を行っており、定性的な pH 変動は 1970 年代後半から 1990 年代にかけて pH が低くなっており、骨格中の $\delta^{13}\text{C}$ から ^{13}C スース効果が確認されている。そこで本研究では、ロンボク海峡表層における人為起源 CO_2 の影響を検討するだけでなく、先行研究の結果と合わせることでイン

ドネシア多島海内の異なる 2 地点における人為起源 CO_2 による影響の比較・検討も行う。

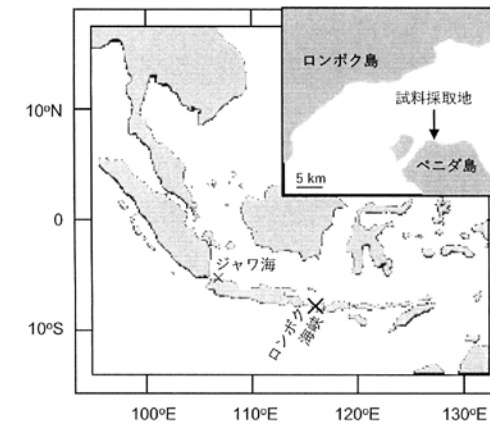


図 1 インドネシアの地図
黒い×印で示す場所が本研究のサンゴ試料が採取されたロンボク海峡を、赤い×印は先行研究で扱ったサンゴ試料が採取されたセリブ諸島を示す。

【試料と分析】

試料には 2012 年にバリ島南東から採取された塊状ハマサンゴ (*Porites* sp.) の骨格コアを用いた (図 1)。バリ島はロンボク海峡に面しており、この海峡は太平洋とインド洋を結ぶインドネシア通過流の主要な流路の一つである。この通過流は太平洋やインド洋の気候変動とも密接に関わっていることから通過流域の表層環境の復元は、気候変動を理解する上でも重要である。採取されたコアは板状に切り出され、その後、成長軸に沿って 0.4 mm 間隔で粉末試料を採取した (図 2)。採取した粉末試料のうち本研究の化学分析には、成長軸に沿って 1.6 mm 毎に試料を選択した。

U/Ca 比の測定には、岡山大学所有の誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS, Agilent 7700) を利用した。測定用試料は、内標準 (Sc, Bs) を添加した 2%硝酸 10 mL にサンゴ骨格の粉末試料 $100 \pm 10 \mu\text{g}$ を溶かした溶液試料を準備した。また標準物質として、産業技術総合研究所 (AIST) 地質総合研究センターの炭酸塩標準物質 (JCp-1) を用い、測定試料と同様に処理を行った。ICP-MS

による U/Ca 比測定の相対標準偏差は 1.3%だった。

$\delta^{13}\text{C}$ の測定には、高知大学海洋コア総合研究センター (KCC) および、AIST が所有する安定同位体質量分析計 (IsoPrime) を使用した。標準物質として KCC では国際原子力機関の IAEA603 を、AIST では米国国立標準技術研究所の NBS19 を使用した。 $\delta^{13}\text{C}$ の分析精度は、 $\pm 0.07\text{‰}$ (KCC, $n=122$)、 $\pm 0.06\text{‰}$ (AIST, $n=6$) だった。



図 2 骨格断面の X 線写真
色の濃淡は密度の違いを表している。黄色の線はサンゴの成長軸を示しており、この軸にそって粉末試料の採取を行っている。

【結果・考察】

③ U/Ca 比の温度依存性

本研究では、1962 年から 2012 年までおよそ 50 年間の記録を得ることができた。骨格中の U/Ca

比は海水温に依存していることが報告されている。そこで、バリ島のサンゴ骨格と周囲の海水温との関係を調べるため、サンプル採取値周辺の海水温データ（Integrated Global Ocean Services System: 115.5°E, 8.5°S）を用いて以下のような関係式を得た（ $r = -0.45$, $p < 0.001$ ）；

$U/Ca (\mu\text{mol/mol}) = -0.024 * SST(^{\circ}\text{C}) + 1.630$

太平洋で行われている複数の先行研究から、これまでに報告されている U/Ca 比の温度依存性は、 $-0.03 \sim -0.05 \mu\text{mol/mol/}^{\circ}\text{C}$ である [Min et al., 1995; Sinclair et al., 1998; Fallon et al., 1999; Quinn and Sampson, 2002; Ourbak et al., 2006]。本研究で見積もられた温度依存性は先行研究と比較し小さいが、本研究と同様にインドネシアのサンゴ骨格を用いた先行研究から、U/Ca 比の温度依存性は、 $-0.03 \mu\text{mol/mol/}^{\circ}\text{C}$ であり、太平洋の先行研究に比べ温度への感度が比較的小さいようである。本研究では、上述の式を用いて U/Ca 比を温度変換した。

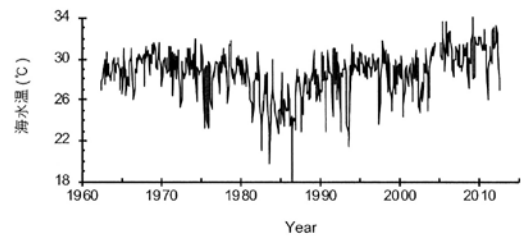


図3 U/Ca 比（黒）及び Sr/Ca 比（青）から復元した海水温変動

本研究では、同試料から U/Ca 比と同様に温度依存性を持つ Sr/Ca 比の測定を行い、別途海水温の復元を行なっている。U/Ca 比および Sr/Ca 比から復元した海水温の変動は経年～数十年周期で概ね類似している（図3）。両者の変動で異なる点は、1997年に発生したエルニーニョとインド洋ダイポールの間に、Sr/Ca 比が非常に大きな海水温の低下を示したのに対し U/Ca 比

はそれほど大きな変動は示さなかったこと、そして2005年以降、U/Ca 比から復元した海水温の方が Sr/Ca 比から復元したものよりも平均的に高い温度を示すことである。

α 定性的な pH 変動の復元

近年の研究から、サンゴ骨格中の U/Ca 比は海水温だけでなく、pH にも依存することが報告されている [Inoue et al., 2011; Raddatz et al., 2014]。例えば、Inoue et al. (2011)では、温度条件を一定とし、異なる pH 環境下で *Acropora digitifera* の飼育を行い、骨格中の U/C 比の pH 依存性（ $-0.21 \mu\text{mol/mol}$ per pH unit）を報告している。しかし本研究のように温度も変動するフィールドでは、上述の先行研究で報告されている pH 依存性を利用して U/Ca 比から定量的な pH の復元を行うことができない。そこで本研究では、同試料から分析された温度にのみ依存する Sr/Ca 比を利用し、U/Ca 比から温度成分を取り除くことで、定性的な pH 変動の復元を試みた（図4上）。定性的な pH の計算には、まず初めにデータを揃えるため、それぞれのデータを標準化した。標準化の計算式は以下の通りである；

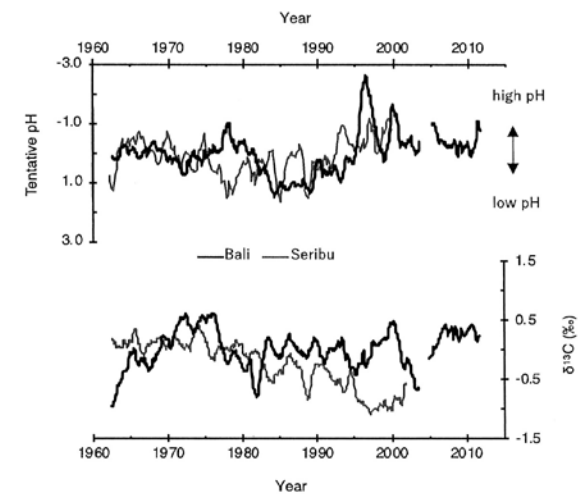
$$z = \frac{x_i - \mu}{\sigma}$$

ここで、 x_i はある時点の U/Ca 比（Sr/Ca 比）のデータ、 μ は U/Ca 比（Sr/Ca 比）の平均値、 σ は U/Ca 比（Sr/Ca 比）の標準偏差である。データを標準化したのち、海水温にのみ依存する Sr/Ca 比の標準化データを温度成分と考え、U/Ca 比の標準化データから差し引くことで定性的な pH 変動の復元を行なった。

本研究の結果から、1980年代初頭から徐々に pH が低くなる方へシフトしており、1990年代半ばまで継続していることが示されている。1990年代後半に大きな変動が見られるが、これはエルニ

ーニョとインド洋ダイポールが発生した時に一致する。この時、Sr/Ca 比の温度計では1年以上に渡り海水温が平年よりも低い状態が記録されていたが、U/Ca 比の温度計ではそのような傾向は見られなかった。50年を通して Sr/Ca 比と U/Ca 比の温度計は概ね類似した変動を示しているが、この時だけは両者の記録に非常に大きな差が生じており、その要因については未だ分かっていない。また先行研究で分析したセリブ諸島のサンゴ記録から、復元した定性的な pH 変動は1970年代後半から pH が低下し、1990年代にかけて1970年代以前のレベルまで上昇していることが分かっている。バリ島とセリブ諸島のサンゴ記録から、pH が低下し始める時期は異なるが、pH が低下した後いずれも1990年代には再び上昇する傾向が見られ、また1970年代以前において pH の変動がほぼ一定であることも類似している。

図4 （上）U/Ca 比と Sr/Ca 比から復元した定性的な pH の12ヶ月移動平均（tentative pH）と（下）サンゴ



骨格中の $\delta^{13}\text{C}$ の12ヶ月移動平均。いずれの図でもバリ島から採取されたサンゴ記録を黒、セリブ諸島から採取されたサンゴ記録を赤で示す。

α $\delta^{13}\text{C}$ の長期変動

骨格中の $\delta^{13}\text{C}$ の長期変動には、 ^{13}C スース効果と呼ばれる化石燃料の燃焼などに由来する人為

起源 CO_2 の増加に関係する現象を反映していることが報告されている [e.g., Nozaki et al., 1978; Swart et al., 2010]。バリ島のサンゴ記録から、1962-2012年のおよそ50年間を通した同位体比の低下あるいは増加傾向はみられない（図4下）。先行研究で行ったセリブ諸島のサンゴ記録からは、1931-2002年までに同位体比が徐々に低下する傾向が見られており、これは ^{13}C スース効果を反映したものであると考えられた。セリブ諸島と同様の傾向は、バリ島のサンゴ記録には確認できないことから、 ^{13}C スース効果を記録していない。1970年代後半に一度、同位体比が低下している様子が確認できるが、これは ^{13}C スース効果に関連するものではなく、骨格の成長速度の変化によるものだと考える。サンゴ骨格断面の X 線写真から、同位体比の低下が見られた箇所に対応する部分では密度バンドの幅が大きくなっている、すなわち成長速度が大きくなっていることがわかった。骨格中の $\delta^{13}\text{C}$ は速度論的同位体効果の影響を受けることが知られており、成長速度が大きいほど骨格中の $\delta^{13}\text{C}$ は軽い同位体に富む [McConnaughey, 1989]。

α 人為起源 CO_2 の影響

Kartadikaria et al. (2014) では、インドネシア多島海の船舶データをもとに、大気-海洋間の CO_2 のやりとりについて計算を行なっている。その結果ロンボク海峡内では、南部において大気よりも海洋表層の二酸化炭素分圧が低い、すなわち大気から海洋へ CO_2 が取り込まれる CO_2 シンクであることがわかった。ロンボク海峡内の北部～中央部にかけては、海洋から大気へ CO_2 が放出される CO_2 ソースとも CO_2 シンクとも区別がつかない。一方、セリブ諸島周辺では CO_2 ソースであることが示されており、これらの結果からセリブ諸島よりもロンボク海峡の方が人為起源 CO_2 の影響

が大きい可能性が示唆される。先行研究で分析したセリブ諸島のサンゴ記録では、定性的な pH が 1970 年代後半から低下しており、それと同時期に $\delta^{13}\text{C}$ の低下が加速していることから人為起源 CO_2 の影響により酸性化が進行したと考えている。一方、人為起源 CO_2 の影響が大きいと思われるバリ島のサンゴ記録では、 ^{13}C スース効果は見られなかったが、定性的な pH は 1980 年代初頭から低下している。海洋表層の pH の変動は海洋酸性化だけでなく、気候変動とも関連している。例えば、オーストラリアのフリンダーズ・リーフでは、サンゴ骨格を用いた pH 復元の研究から、pH の変動と太平洋十年規模振動に関連があることが報告されている[Pelejero et al., 2005]。ロンボク海峡内では季節によって表層の流れが変化する。北半球の冬季には海峡内表層に北向きの流れが生じ、インド洋側から海峡内に水が流入する[Chong et al., 2000]。海洋表層の pH は、インドネシア多島海内よりもインド洋の方が高く [Putri et al., 2014]、インド洋水の流入はロンボク海峡表層の pH にも影響を与える可能性がある。また、このような表層流の変化にはエルニーニョ/南方振動も関係していることが報告されていることから[Susanto et al., 2007]、ロンボク海峡表層の pH 変動は局所的な酸性化だけでなく、気候変動とも関連していることが示唆される。本研究で示された 1980-1990 年代の pH の低下が人為起源 CO_2 による酸性化によるものなのか、あるいは気候変動に関連するものであるかについては今後さらに検討していく必要がある。

今後の課題

本研究で行なっている pH 復元は、分析手法が簡便であるが、定量的な復元ができていない。この手法でどの程度正確に pH が復元できているのか検証する必要もあるため、今後は pH を定量的

に復元可能なホウ素同位体比の分析を行い、本研究で行なった手法の信頼性について検証を進める。

【謝辞】

本研究を進めるにあたり、ご支援をいただいた八雲環境科学振興財団に深く御礼を申し上げます。

【参考文献】

- Albright, R., Mason, B., Miller, M., Langdon, C. (2010) Ocean acidification compromises recruitment success of the threatened Caribbean coral *Acropora palmata*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 107, 20400-20404.
- Chong, J.C., Sprintall, J., Hautala, S., Morawitz, W.L., Bray, N.A., Pandoe, W. (2000) Shallow throughflow variability in the outflow straits of Indonesia. Geophysical Research Letters 27, 125-128.
- Correge, T. (2006) Sea surface temperature and salinity reconstruction from coral geochemical tracers. Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology 232, 408-428.
- Fallon, S.J., McCulloch, M.T., van Woessik, R., Sinclair, D.J. (1999) Corals at their latitudinal limits: laser ablation trace element systematics in *Porites* from Shirigai Bay, Japan. Earth and Planetary Science Letters 172, 221-238.
- Inoue, M., Suwa, R., Suzuki, A., Sakai, K., Kawahata, H. (2011) Effects of seawater pH on growth and skeletal U/Ca ratios of *Acropora digitifera* coral polyps. Geophysical Research Letters 38, 4.
- Kartadikaria, A.R., Watanabe, A., Nadaoka, K., Adi,

- N.S., Prayitno, H.B., Soemorumekso, S., Muchtar, M., Triyulianti, I., Setiawan, A., Suratno, S., Khasanah, E.N. (2015) CO_2 sink/source characteristics in the tropical Indonesian seas. Journal of Geophysical Research-Oceans 120, 7842-7856.
- McConnaughey, T. (1989) ^{13}C and ^{18}O isotopic disequilibrium in biological carbonates.1. Patterns. Geochimica Et Cosmochimica Acta 53, 151-162.
- Min, G.R., Edwards, R.L., Taylor, F.W., Recy, J., Gallup, C.D., Beck, J.W. (1995) Annual cycles of U/Ca in coral skeletons and U/Ca thermometry. Geochimica Et Cosmochimica Acta 59, 2025-2042.
- Nozaki, Y., Rye, D.M., Turekian, K.K., Dodge, R.E. (1978) 200-year record of ^{13}C and ^{14}C variations in a Bermuda coral. Geophysical Research Letters 5, 825-828.
- Ourbak, T., Correge, T., Malaize, B., Le Cornec, F., Charlier, K., Peypouquet, J.P. (2006) A high-resolution investigation of temperature, salinity, and upwelling activity proxies in corals. Geochemistry Geophysics Geosystems 7, 13.
- Pelejero, C., Calvo, E., McCulloch, M.T., Marshall, J.F., Gagan, M.K., Lough, J.M., Opdyke, B.N. (2005) Preindustrial to modern interdecadal variability in coral reef pH. Science 309, 2204-2207.
- Putri, M.R., Setiawan, A., Safitri, M. (2014) Variation of Ocean pH in the Indonesia Waters 5th International Conference on Mathematics and Natural Sciences (ICMNS). Amer Inst Physics, Inst Teknologi Bandung, Bandung, INDONESIA.
- Quinn, T.M., Sampson, D.E. (2002) A multiproxy approach to reconstructing sea surface conditions using coral skeleton geochemistry. Paleoceanography 17, 11.
- Raddatz, J., Ruggeberg, A., Flogel, S., Hathorne, E.C., Liebetrau, V., Eisenhauer, A., Dullo, W.C.

- (2014) The influence of seawater pH on U/Ca ratios in the scleractinian cold-water coral *Lophelia pertusa*. Biogeosciences 11, 1863-1871.
- Sinclair, D.J., Kinsley, L.P.J., McCulloch, M.T. (1998) High resolution analysis of trace elements in corals by laser ablation ICP-MS. Geochimica Et Cosmochimica Acta 62, 1889-1901.
- Susanto, R.D., Gordon, A.L., Sprintall, J. (2007) Observations and proxies of the surface layer throughflow in Lombok Strait. Journal of Geophysical Research-Oceans 112, 11.
- Swart, P.K., Greer, L., Rosenheim, B.E., Moses, C.S., Waite, A.J., Winter, A., Dodge, R.E., Helmle, K. (2010) The ^{13}C Suess effect in scleractinian corals mirror changes in the anthropogenic CO_2 inventory of the surface oceans. Geophysical Research Letters 37, 5.
- Tambutte, E., Venn, A.A., Holcomb, M., Segonds, N., Techer, N., Zoccola, D., Allemand, D., Tambutte, S. (2015) Morphological plasticity of the coral skeleton under CO_2 -driven seawater acidification. Nature Communications 6, 9.

令和元年度 研究集会助成報告

10. 令和元年度 研究集会助成報告



助成対象者	所 属	集会名	ページ
山崎慎一	岡山大学大学院環境生命科学研究科	第35回中国四国地区高分子若手研究会	117

※所属は採択時

山 崎 慎 一

岡山大学大学院環境生命科学研究科

研 究 集 会 名 称 第35回中国四国地区高分子若手研究会
主 催 機 関 名 日本化学会中国四国支部
開 催 期 間 2020年11月5日～2020年11月6日
開 催 地 オンライン開催

<内容>

令和2年11月5日(木)～6日(金)の二日間にわたって、Webex meetingsをメインプラットフォームにしてオンライン研究集会として、中国四国地区の高分子若手研究者に広く参加を呼びかけ、講演(招待講演1件:産業技術総合研究所・中山先生および依頼講演1件:岡山大学・森先生)と研究発表(口頭7件、ポスター57件)を設け、高分子科学に関する最新の研究成果について討論を行った。

参加人数(総計149名)の内訳は以下の通りである。

- ・一般参加者(大学)23名、(企業)5名
- ・学生参加者121名
- ・高分子学会または日本化学会会員数63名

また、参加者の主たる所属は以下の通りである。

- ・岡山大、山口大、徳島大、広島大、愛媛大、鳥取大、高知大、香川大

優秀発表に対し、口頭発表1件、ポスター発表6件に高分子学会中国四国支部長賞を授与した。

次回の開催地として、徳島(世話役:徳島大)を決定し散会した。

令和 2 年度 研究集会助成報告

11. 令和 2 年度 研究集会助成報告



助成対象者	所 属	集会名	ページ
宮竹貴久	岡山大学大学院環境生命科学研究科	環境 DNA の衝撃：生き物たちの過去・現在・未来を解き明かす	1 1 9

※所属は採択時

宮 竹 貴 久

岡山大学学術研究院環境生命科学学域

研 究 集 会 名 称	公開講演会「環境 DNA の衝撃：生き物たちの過去・現在・未来を解き明かす」
主 催 機 関 名	日本生態学会・環境 DNA 学会
開 催 期 間	2021 年 3 月 21 日
開 催 地	オンライン開催

<内容>

日本生態学会第 24 回公開講演会（環境 DNA 学会との共同開催）

生物多様性の保全や持続可能な生物資源の利用は人類にとっての喫緊の課題です。そのためには何よりもまず、生物の効果的な保全や管理が必要であり、最も基本的で重要な情報は、生物の生息分布域や個体数、生物量です。つまり、生物が「いつ」「どこに」「どれだけ」いるのかを迅速に把握することです。このような、簡単なようで難解な問題を一挙に解決できるポテンシャルをもつ革新的技術が「環境 DNA」です。環境 DNA とは、湖沼や河川などに生息する生物から脱落した組織片や糞等に由来する DNA のことであり、この DNA 情報を読み解くことで、実際の捕獲を必要とせず、対象とする生物や分類群の生息状況を簡便に推定できます。この講演会では、環境 DNA という最新の技術を用いることで、これまで多大な時間的・作業的労力が必要であった生物モニタリング調査を、迅速かつ簡易に実施された最新の研究事例等を紹介しします。そして、一般市民や地方行政等が環境 DNA 情報を活用することで、特に地域の自然や希少生物の保全への利用が期待できることを紹介するとともに、環境 DNA 技術を広く社会に普及する機会としたいと考えています。講演会タイトル：「環境 DNA の衝撃：生き物たちの過去・現在・未来を解き明かす」日時：2021 年 3 月 21 日（日）14:30～17:00

次のサイトを添付資料とします。<https://esj.ne.jp/meeting/68/public.html>

令和2年度 その他の助成報告

12. 令和2年度 その他の助成報告

2020年度八雲環境科学振興財団助成

機械の自動制御を目指した製作活動

岡山市少年少女発明クラブ

助成対象名称	内容	ページ
岡山市少年少女発明クラブ 上田 達伸	機械の自動制御を目指した製作活動	121

1 はじめに

本クラブの目的である発明工夫の活動の中で、今年度は自由発想を重要視した機械の自動制御を利用した課題解決の方法を学ばせることを予定したが、新型コロナのため、年度当初から活動できず、ホームページによる課題提供からスタートした。

当初予定していた活動は後半にグループ活動でアイデアを練り、製作をすることにしていたが、コロナ禍のため、グループ活動はできず、大幅な内容変更をすることとなった。

各自がアイデアを練った発明品の製作に時間をかけ、助成を受けた機材を活用した活動を紹介する。

【発明製作の手順】

- ①昨年度の先輩の発明品などを参考に知る
- ②生活の中で不便なこと、あると便利な物を考える
- ③いくつも、アイデアを絵にしてい
- ④アイデア、作り方のポイント、材料などについての指導者からの助言を参考に
- ⑤材料を調達し、部品を製作、組み立てる
- ⑥使用してみて、改善点を探し、改良する
- ⑦説明書（応募用紙）を作成する

2 事前活動

牛乳パックを1cm幅に切って四角なかごに編むことで正確に作ることを練習しながら、いろいろな材料が使えることを知った。



今回は同じ牛乳パックを使ってサイコロづくりをした。組み合わせ方で模様が変わるのを確認した。



3 材料集め

クラブで保有しているいろいろな材料、部品を床に広げ、自由に探して試してみる時間をとった。最終作品に関係ない物でも試していた。

特に電気部品、モーターやギアボックス、磁石などに興味を持って試していた



4 部品製作

まずは土台となるものを製作するために、木材を探して、角材や板材をのこぎりで切り出す。バンドソーや糸のこ盤など機械を使ったり、材料が動かないように万力を使用したり、いろいろな工具の使い方を教わりながら製作した。細かい寸法の調整にはベルトサンダーに付属しているディスクサンダーが活躍した。



バンドソーで切断



ベルトサンダーで研磨



ディスクサンダーを活用

慣れてくると機械の使い方も工夫して、同じ長さに切るために数本の材料をまとめて切断する人もあった。



まとめて切断

5 組み立て

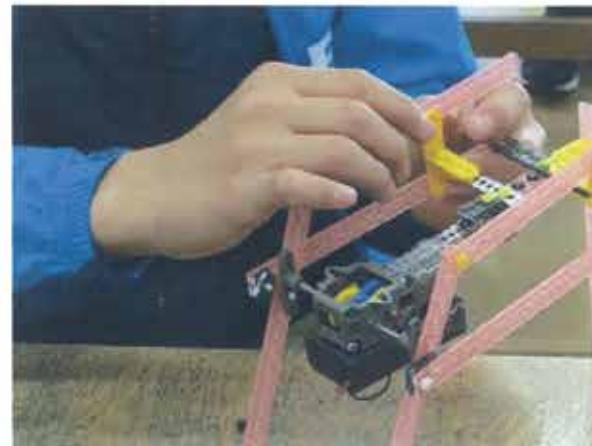
組み立ては接着剤だけでやろうとすることが多いが、しっかり止めるためには釘やビス・ナットを使用することを教えた。下穴開けを電気ドリルで開けさせたが、すぐに刃先を自分で取り替えて使うようになった。



電気ドリルによる下穴開け

6 歩くおもちゃ

個別の製作になったが、見本を見せた上で、なるべく早く歩くおもちゃを作らせてみた。見本のとおりに作ろうとしていた一人を除くと全員が足を長くしたり、回転する腕を長くしてみたりするなどいろいろと工夫していた。



7 まとめ

コロナ禍のため、今年度は少ない日数で個別の製作となったが、試行錯誤しやすいように、工作機械を多用して、部品の加工に時間がかからず、寸法が正確に製作できた。

来年度は、各自が考える発明品の中にプログラミングも取り入れ、より高度な発明品ができることを期待している。

助成実施要項

13. 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。

14. 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	通常的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

新型コロナウイルス感染症が終息しないまま、私たちは 2021 年を迎え、ワクチン接種を進めながらも新しい生活様式が定着しつつある。

このような日常の中、2 月の福島県沖地震、7 月の熱海市の土石流、8 月の九州地方等での河川氾濫による被害の発生などが私たちの生活を脅かしている。

地球温暖化による世界的な気候変動に対し、私たちは具体的な行動を起こし、対策を講じていく必要があるであろう。

公益財団法人 八雲環境科学振興財団
研究レポート集 第 22 号

令和 3 年 11 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 吉備サプライ株式会社
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