

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

TECHNO NEWS

〈生研機構〉

ブレインテクノニュース

第93号

SEPTEMBER 15, 2002



農林グリーン1号機



製品メタノール燃料

ガス化メタノールプロセス製造検証機の誕生



原料イタリアンライグラス

長崎総合科学大学 人間環境学部
独立行政法人 農業技術研究機構

畜産草地研究所

坂井正康
中川 仁

目 次

総 説

- メタン発酵法によるバイオマスエネルギーの生産に関する研究の現況 1
野池達也 (東北大学大学院工学研究科)

国内情報

- 草や木を原料としたメタノール燃料合成技術の開発と検証機
「農林グリーン1号機」の誕生 5
坂井正康¹⁾・中川 仁²⁾ (1)長崎総合科学大学人間環境学部,
2)独立行政法人農業技術研究機構畜産草地研究所)
超臨界メタノール処理による木質系バイオマスの液化技術 9
坂 志朗・南 英治 (京都大学大学院エネルギー科学研究科)
In vitro重複受精系の開発による花粉管誘導機構の解明とその背景 13
黒岩常祥 (東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻)
体外成熟卵子への顕微授精による子豚の誕生 18
菊地和弘¹⁾・中井美智子^{1, 2)}・柏崎直巳²⁾ (1)独立行政法人 農業生物資源研究所
遺伝資源研究グループ, 2)麻布大学獣医学部動物応用科学科)
メダカの性決定遺伝子の発見 22
長濱嘉孝 (岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所生殖研究部門)

地域の先端研究

- 産業廃棄物を利用した環境循環型非塩素系凍結防止剤に関する研究開発 26
花松憲光 (青森県産業技術開発センター)

文献情報

- クローン牛におけるX染色体不活性化の異常パターン 31
F. Xue et al. (Nature Genetics, 31, 216-220, 2002)
抄訳: 下司雅也 (独立行政法人 農業技術研究機構畜産草地研究所)
アトピー性疾患予防におけるプロバイオティクスの効果 32
M. Kalliomaki et al. (The LANCET, 357, April 7, 2001)
抄訳: 西村新吾 (カルピス株式会社 基盤技術研究所)
除草剤耐性ナタネの花粉は3 kmも飛ぶ 33
M. A. Rieger et al. (Science, 28, 2386-2388, 2002)
抄訳: 岩井純夫 (鹿児島大学 農学部)
トウモロコシSEMAPHORE1は*knox*遺伝子とオーキシン極性輸送を制御する 34
M. J. Scanlon et al. (Development, 129, 2663-2673, 2002)
抄訳: 丸尾嘉宏 (東京大学大学院 農学生命科学研究科)
魚油をベースとした構造脂質の酸化特性に対する乳化剤の影響 35
L. B. Fomuso et al. (J. Agric. Food Chem., 50, 2957-2961, 2002)
抄訳: 室田一貴 (マルハ株式会社 中央研究所)

海外便り

- 大規模専業農家を高度に支援する作物生産機械の通信・制御技術の開発
—米国カーネギーメロン大学での1年間— 36
村上則幸 (独立行政法人 農業技術研究機構 北海道農業研究センター)

生研機構からのご案内 39

- 新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業における平成14年度採択課題
新事業創出研究開発事業(地域型)における平成14年度採択課題
融資制度のご案内

表紙写真説明

ガス化メタノールプロセス製造検証機「農林グリーン1号機」の誕生: 草木の種を問わず、全量を原料として部分燃焼により合成ガスを発生させ、このガスからメタノール燃料を合成する技術が開発され、このほどプロセス検証機が誕生した。本技術の開発経緯、バイオメタノールの意義等については、本誌の国内情報5~8頁をご覧ください。

◀総説▶

メタン発酵法によるバイオマスエネルギーの 生産に関する研究の現況

東北大学大学院 工学研究科教授
野池達也

メタン発酵法がバイオマスからのエネルギー回収の面において他の如何なる処理プロセスにも優る利点を有することは、地球環境時代といわれる今日、重要な意義がある。本稿では、廃棄物からのエネルギー回収が可能であり、資源循環型社会システムの一翼を担うと思われるメタン発酵法の今日的意義および技術開発の動向について論じるとともに、葛巻バイオガスコージェネレーションシステムの開発に関する研究内容について紹介する。

1. 地球環境保全におけるメタン発酵法の意義

近年、地球環境問題がクローズアップされ、地球環境にやさしい廃棄物処理技術の開発が緊急に要請されている。

メタン発酵法がバイオマスからのエネルギー回収の面において他の如何なる処理プロセスにも優る利点を有することは、地球環境時代といわれる今日、重要な意義があると言える。廃棄物中に蓄積した有機物をメタンとして回収し、エネルギー化することにより電力ひいては化石燃料の節減につながり、温暖化原因物質たるCO₂の削減をもたらすことになる。さらに、大容量の消化槽はクッションタンクの役割も有し、維持管理を担当する人達が余裕をもって日常の業務に当たることができる。また、消化汚泥はコンポスト化され易く、ウィルス・病原性細菌に対する疫学的安全性の面で優れている。また、消化汚泥は極度に減量化されているのでこの段階での焼却は小規模の施設で十分である。

メタン発酵法は、廃棄物中の生物分解可能なバイオマスから、バイオガスの形でエネルギー回収することが可能であると共に、消化汚泥は全く安定化された有機物であり、適切な貯蔵条件（水分を除かれるか、酸性土壌として）の下では、少なくとも数10年の非常に

NOIKE Tatsuya

〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉06

緩慢な回転率を有している。それゆえ、CO₂を海底の珊瑚礁として固定するように、適切な土地の利用によって、バイオ廃棄物のメタン発酵の最終生成物を効果的に不活性なCO₂の形態にすることが可能である。CO₂の炭素を捕捉し、深井戸あるいは深海に埋没する化学的方法が、高費用の点のみならず、環境に高い負荷を課するという事実を鑑みて、最終的に不活性の有機性炭素を生成するメタン発酵法の方が、地球環境保全の見地から大きな意義を有している。

本稿では、廃棄物からのエネルギー回収が可能であり、資源循環型社会システムの一翼を担うと期待されるメタン発酵法の今日的意義および技術開発の動向について論じたい。

2. わが国におけるメタン発酵法の現状

西欧諸国における下水処理場のメタン発酵法の採択率は約50%であるが、わが国では、下水汚泥処理におけるメタン発酵法の採択率は1997年度末で26.4%と諸外国と比べてあまりにも低い実情である。これは、近年、汚泥処理施設を有せず、大規模下水処理場に脱水ケーキを運搬して集約処理を行う小規模下水処理場の数が増加したことによるのであるが、エネルギー回収を行わずに脱水・焼却処分を行っている処理場が多い。し尿処理施設に関しては、かつてメタン発酵法を一次処理

とする処理場が大部分であったが、今日新設される処理場は、そのほとんどが生物学的硝化脱窒素法による高負荷方式のものとなり、メタン発酵方式のし尿処理施設は全施設の18%にすぎない。

一方、工場排水処理へのメタン発酵の適用については、1997年にわが国で行われた第8回IAWQ嫌気性消化に関する国際会議(AD-97)に先だって行われた調査によれば、1986年~1995年の10年間に、水処理会社19社によって建設された。嫌気性処理施設の内訳は、UASBリアクター93基、嫌気性固定床リアクター36基であり、UASBリアクターの採用が増加している。

厚生省(当時)によって提唱された「汚泥再生処理センター」への適用に向け、生ごみ、食品廃棄物およびし尿処理汚泥などを受け入れるための混合メタン発酵(co-methane fermentation)による高負荷・高効率化に向けた開発が、企業グループによって展開され、2001年度までに国内で11カ所のプラントが建設あるいは事業に着手され、その多くはすでに稼働している。

1999年度に公布された「家畜排せつ物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律」により、これまで行われてきた野積み、素掘りといった不適切な管理が許されなくなり、そのため畜産廃棄物にメタン発酵法を適用し、メタンガスを回収しエネルギー化するプロセスが、京都府八木町、北海道別海町水沼牧場、北海道湧別町、江別市酪農学園大学、江別市町村牧場、岩手県藤沢町橋本ファーム等ですでに開始されている。

2000年度においては、「循環型社会形成推進基本法」および「食品循環資源の再生利用等の促進に関する法律」(食品リサイクル法)が制定され、循環型社会を目指すわが国において、有機性廃棄物の処理方法としてのメタン発酵法は、生ごみ、食品廃棄物、畜産廃棄物、農産廃棄物等の有機性循環資源の処理に対して、ますますその役割の重要性が認識されつつある。

3. メタン発酵の技術開発の現況

(1) 生物系(バイオ)廃棄物の混合メタン発酵

従来メタン発酵は、下水汚泥、し尿、有機性工場廃棄物等のそれぞれの対象物に対して、単独の処理方法として用いられてきた。しかし、これからの生ごみ、畜産廃棄物、産業・農業廃棄物等のバイオ廃棄物処理に当たっては、持続可能な廃棄物処理の総合的システムとして、各種バイオ廃棄物を混合してメタン発酵を行う混合メタン発酵(co-methane fermentation)プロセスによって行われるべきであり、近年、ヨーロッパ諸国において始められた。2. 項で述べた「汚泥再生センター」構想に関して、各企業が共同でわが国の有機性廃棄物の実状に即したパイロットプラント実験を行い、すでに実施設が建設され、操業が開始されている。また、C/N比、アンモニア性窒素の影響等の混合メタン発酵プロセスの操作条件に関する研究も熱心に行われている。

(2) 脱水汚泥の集約メタン発酵システムおよび乾式メタン発酵

当研究室の研究では、35℃の中温において固形物濃度11%までは安定的なメタン発酵が可能である。それゆえ、汚泥処理施設を有しない小規模下水処理場で発生する脱水汚泥ケーキをトラック輸送し、大規模下水処理場のメタン発酵槽において高濃度メタン発酵を行う脱水汚泥の集約メタン発酵システムは、十分に実現可能なプロセスとして提案され得る。

また、固形物濃度15%~40%の汚泥や有機性廃棄物に対する乾式メタン発酵法がKurita Drancoプロセスとして開発された。すでにヨーロッパでは数カ所実績があるが、本法では脱水ろ液の処理の必要性の低いことは、メタン発酵法の実施にあたって特に優れた利点であると言える。

(3) 脱窒素機能を備えたメタン発酵システムの開発

メタン発酵法は、タンパク質の分解に伴って生成するアンモニア性窒素が、脱離液あるいは消化汚泥の脱水ろ液中に高濃度に残存することが本法の難点である。当研究室では、メタン発酵槽から排出される脱離液中のアンモニア性窒素を硝化した後に、図1に示すように酸発酵槽に返送し、メタン生成と並行して脱窒素機能を備えたメタン発酵プロセスの開発に取り組み、メタン発酵法はメタン生成機能に加えて、脱窒素機能も有することを明確に把握した。

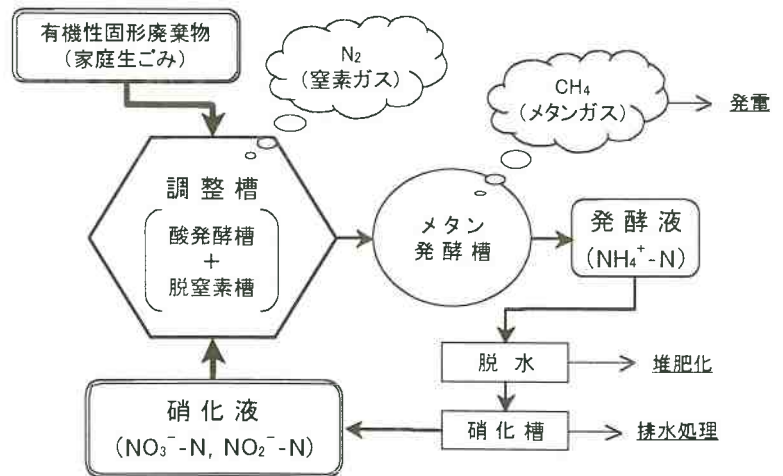


図1 メタン発酵システムへの窒素除去機能の導入

(4) 水素・メタン発酵プロセス

水素はクリーンなエネルギーであり、次世代の有力なエネルギー源の一つとして期待されている。特に水素生成能の高い微生物を用いた有機性廃棄物からの水素生産は、環境浄化だけでなく水素というクリーンな有価資源の回収にも貢献できることから、特に注目している生物学的プロセスであると言える。

図2は水素発酵を行う細菌として、偏性嫌気性細菌では*Clostridium butyricum*や*Clostridium beijerinckii*、通性嫌気性細菌では*Enterobacter aerogenes*等多種類の水素発酵細菌による水素発酵槽と揮発性脂肪酸・アルコール類等の水素発酵代謝物に対するメタン発酵槽を組み合わせた水素・メタン発酵プロセスを示している。水素発酵槽からの生成ガスは水素分離膜により、水素ガスが分離さ

れ、メタン発酵槽からの生成ガスは、改質器を通じて水素に変換される。

2002年度から、NEDOによるメタン・水素発酵に国家プロジェクトがスタートし、大いに期待されている。また、国の内外においても、本研究課題に関する多くの研究が行われている。

4. 葛巻バイオガス高度利用コジェネレーションシステムの開発

筆者らは、生物系特定産業技術研究推進機構新事業創出型研究開発事業（地域型）に、上記の課題名のコンソーシアムとして参画し、2001年～2005年度の研究期間における研究に着手した。図3に本コンソーシアムの研究組織および研究内容について示す。近年の

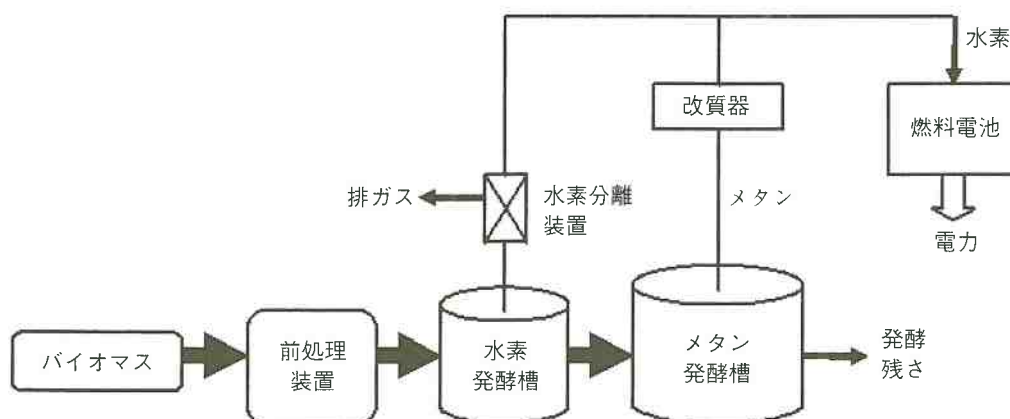


図2 水素・メタン 発酵プロセス

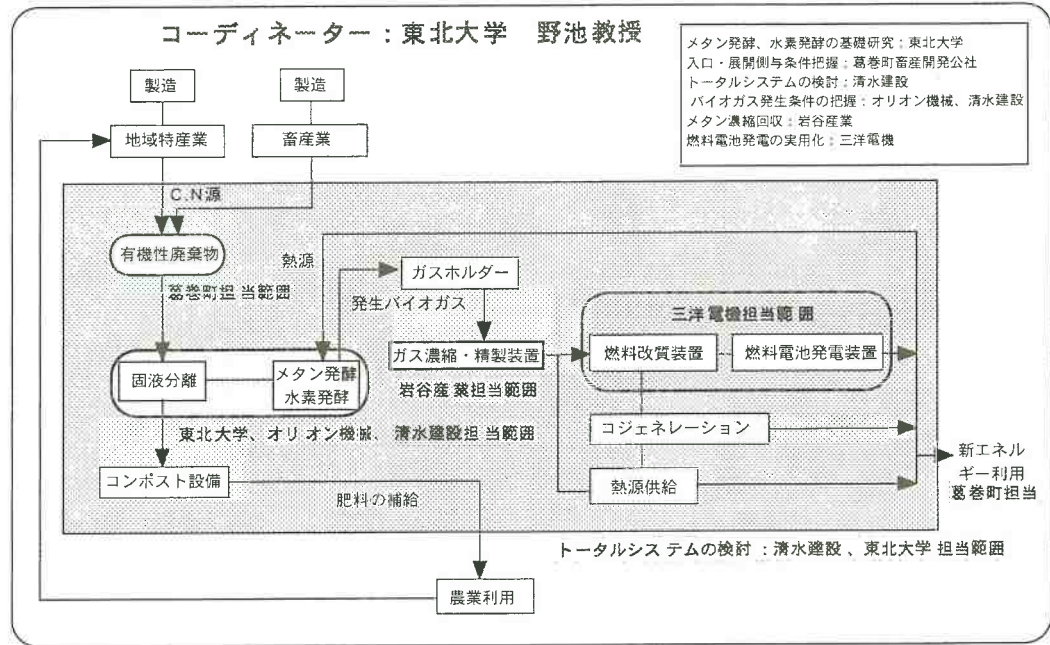


図3 葛巻バイオガス高度利用コジェネレーションシステムの開発

環境保全意識の高まりから、家畜のふん尿、食品廃棄物等の有機性廃棄物の処理に対する要求が厳しくなっており、本研究では、これらの有機性廃棄物を利用したメタンあるいは水素発酵技術より得られるバイオガスを回収・濃縮精製後、燃料電池等による高効率コジェネレーションシステムとして最大限に有効利用することにより、地域社会に新エネルギーを供給することを目指すものである。本事業は岩手県葛巻町での地域コンソーシアムを基本として計画しており、特に葛巻町地域の条件に合ったトータルシステムの確立を図ろうとするものである。

有機系廃棄物より生成されるメタンあるいは水素ガスによって、新エネルギーが安定供給できることが実証されれば、エコエネルギーとして大きな評価を得ることが出来る。さらに小型家庭用燃料電池（固体高分子型燃料電池）が製品化されれば、一般家庭や各種事業所などで利用される可能性が大きい。バイオガスの高効率の有効利用を中心とする本事業の研究成果が、対象としている岩手県葛巻町のみならず、家畜が濃密に飼育されている

全国の地域においても広く採用されていくものとなり得ることを目標とするものである。

5. 設置

本年度は、葛巻町に本研究のパイロットプラントが設置される予定である。

6. おわりに

資源循環型社会に対応した有機性廃棄物処理技術として、メタン発酵法は、わが国だけでなく世界的にもクローズアップされるようになった。2002年9月18～21日にドイツのミュンヘンで第3回IWA有機固形廃棄物の嫌気性消化（メタン発酵）に関する国際会議が開催される。有機性廃棄物は焼却すれば、CO₂および巨大な熱量を大気中に放出するだけであるが、メタン発酵させることによって動力なしでバイオガスが得られる。廃棄物処理に対する考え方を換え、メタン発酵施設を新しい社会基盤施設として位置づけていただけるよう行政当局に切にお願いしたい。

◀国内情報▶

草や木を原料としたメタノール燃料合成技術の 開発と検証機「農林グリーン1号機」の誕生

¹長崎総合科学大学 人間環境学部, ²独立行政法人 農業技術研究機構畜産草地研究所
坂井正康¹・中川仁²

草木を原料として部分燃焼によって合成ガスを発生させ、このガスからメタノール燃料を合成する技術を開発できた。この製法では草木の種を問わず、全量を原料とすることができ、高い収率が期待できる。農林水産省の研究開発の一貫として、本年4月、本技術のプロセス検証機「農林グリーン1号機」が誕生した。

1. はじめに

化石燃料が近代社会づくりの原動力になってきたことは間違いないが、その大量消費によって環境破壊を引き起こし、地球温暖化と言う大問題を人類に突き付けている。一方、化石燃料の枯渇も予測され、このうち総エネルギー消費量の40%を占めている石油は10～20年後に供給不足の危機が訪れると予想されている。

環境・エネルギー・経済の同時解決の難しさをトリレンマと表現する人がいるが、少なくとも経済の少々の犠牲で環境とエネルギーは同時に解決できる。鍵は化石燃料に代替できる再生可能エネルギーの開発と普及である。我が国の再生可能エネルギー開発は新エネルギー政策として推進して来たが、EU（ヨーロッパ連合）や米国に大きく遅れている。その要因は生産性バイオマス（草や木を育てた資源）のエネルギー化が進んでいないことにある。地球温暖化対応の尖鋭国であるEUは京都議定書のCO₂排出量8%削減の約束を上廻る10%を目指している。この方策の骨子は再生可能エネルギーの大幅導入であるが、主役はバイオマスで、このうちの2/3を占める。

我が国も本年3月に政令改正によってバイオマスが新エネルギーとして位置づけられ、

SAKAI Masayasu, NAKAGAWA Hitoshi

〒851-0193 長崎市網場町530

〒320-2793 栃木県西那須野町千本松768

6月には「バイオマス・ニッポン総合戦略策定プロジェクト」が発足し、バイオマスの本格的なエネルギー展開が急ピッチで進められようとしている。

この折、農林水産省として進めてきたバイオメタノール製法技術開発は本年4月にプロセス検証実験装置「農林グリーン1号機」が始動した。我が国新エネルギー開発の一翼を担うものとして期待される。

2. 技術開発の経緯

バイオマスを原料とした液体燃料製法の開発を手掛けたのは、二酸化炭素（CO₂）による地球温暖化が国際的な問題として取り上げられた頃である。当時、ブラジルでは既に、サトウキビの糖質からつくるエタノールを自動車用燃料としていたが、これは食料が原料であるという抵抗感があった。それでは、これに変わる生産性の高いバイオ液体燃料の製法を開発すべきとの考えで研究に着手した。平成3年に基礎研究を開始し、平成5年にはスイートソルガムの葉・茎を原料として1kg/hの実験装置によってメタノールの合成に成功した。当時の日本農業新聞でかなり大きな紙面を使って報道されたが、反響はなく、輸入メタノールが安価であったことから、日の目を見ることはなかった。

しかし、筆者の一人は農村の活性化を将来の国内エネルギー生産に置くべしとの熱意を燃やし、機会あるごとにこの技術を世に送る

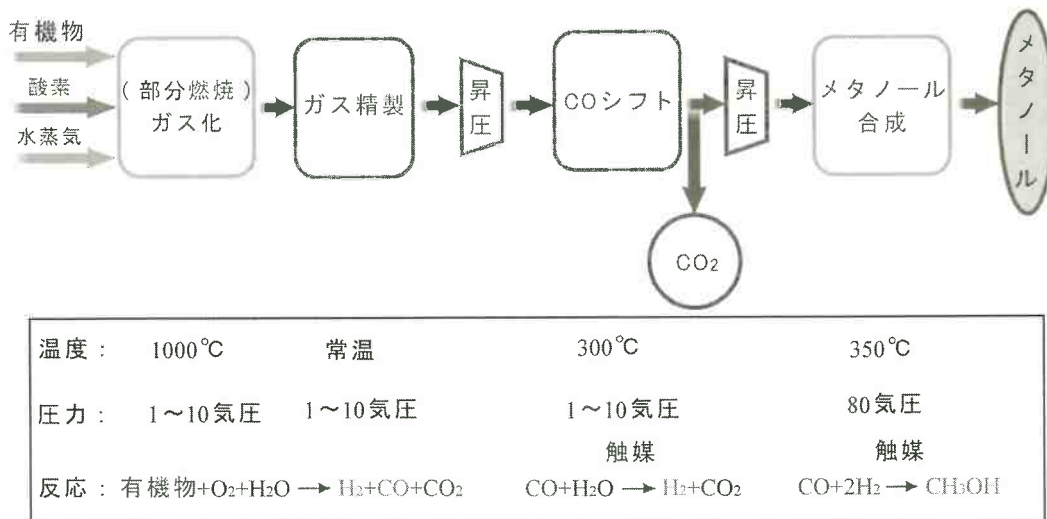


図1 バイオマスからのガス化メタノール製法

ことに注力して行ったことが、本年4月に完成したガス化メタノール燃料合成プロセス実証実験装置240kg/日の「農林グリーン1号機」誕生につながった。

この間、平成8年に三菱重工業㈱では本技術の開発に自社研究として本格的に取り組み、50kg/日の実験装置を製作設置し、技術開発に再挑戦することになった。この実験装置による農水省の委託研究で5種類の草木を原料としたバイオメタノール燃料化に見通しを得ている。

3. バイオメタノール燃料製法

いま、求められているエネルギーは化石燃料を代替できるもの、なかでも石油に代わり得る液体燃料が望まれるが、この一つの方法として、バイオマスのガス化メタノール合成法がある。この方法であればバイオマスの種類に関係なく原料となり得るし、メタノールは大半の機種に石油代替燃料として利用できる。例えば、メタノール自動車、燃料電池、ボイラ、水素燃料化、ガスタービンなどへの利用実績がある。さらに、DME（ジメチルエーテル）、MTBE（ガソリン添加剤）などへの転換も可能である。

このガス化メタノール合成法は、これまでも数多くの実験がなされ、バイオマスのガス

化までは工業規模まで展開されたが、メタノールを合成するところまでは行き着いていない。理由はバイオマスの発熱量が低いため、メタノール合成に必要な高発熱量を持った原料となる合成ガスが得られなかったためである。

このガス化メタノール合成法の原理を示すと図1のようになる。

原料はバイオマスに限らず、炭素(C)、水素(H)、酸素(O)の組成をもつ可燃性の有機物であれば何であってよい。酸素(O)と水蒸気(H₂O)をガス化剤として、有機物の一部(約30%)を燃焼させると、熱分解によって残りの有機物が水素(H₂)と一酸化炭素(CO)にガス化する。このH₂とCOがメタノール合成原料ガスとなる。このガスを精製後、COの一部をH₂Oと反応させH₂に転換させて、H₂/CO≒2の比にした後に80気圧に加圧し、銅・亜鉛系触媒によってメタノール(CH₃OH)を合成する。このプロセスにおいて、ガス精製以降は既存の技術であるから、この技術のポイントはガス化である。

高効率の合成ガスを得るために、ガス化炉は噴流床方式として、原料を約1mm以下に微粉碎し、O₂とH₂Oの混合気による部分酸化によって800℃～1000℃に制御する。この方式によって、タール・すすの発生を抑えた高カロリーの合成ガスを得ることに成功した。

4. プロセス検証機「農林グリーン1号機」

この度、完成したバイオメタノール製造プロセス検証機は「農林グリーン1号機」と名付けられた（表紙参照）。バイオマスから、水素、一酸化炭素を主成分とするガスを製造し、精製した合成ガスを連続的にメタノールに変換する試験装置である。この「農林グリーン1号機」の構造は大きくガス化炉とガス精製系およびメタノール合成系に分けることができる。また、原料は乾燥して微粉末にする。通常、直径0.5mm以下が好ましいが、1～2mm程度の大きさまで効率的なガス化が可能な技術も開発されている。

この検証機は、農林水産省のプロジェクト「21世紀を目指した農山漁村におけるエコシステム創出に関する技術開発（通称エコシステムプロジェクト）」の中の課題「C1化学変換等によるバイオマスの新燃料化技術」で製作されたものであり、筆者の1人がそのチームリーダーを勤めている。農林グリーン1号機は1日に240kgのバイオマスを処理し、連続的にメタノール合成が可能な装置として世界でも最初の実用規模に近づいた試作機である。

この製法の特徴は、原料としてバイオマス

の種別を問わないこと、高い収率で液体燃料が得られることである。

予備実験から予想される各種バイオマスのメタノール収率を図2に示した。

5. バイオメタノール燃料の意義

生産されるバイオマス燃料の意義を整理すると次のようになる。

- 太陽エネルギーを蓄えた再生可能エネルギーである。
- バイオマスは生長させて利用する限りにおいて、自然界を乱すことはない。
- バイオマスは、毎年1000億tが生まれ、また大気に戻っている。これは、世界の消費エネルギーの約10倍に相当する豊富な賦存量である。
- バイオマスを燃料化して、化石燃料消費を削減することがCO₂排出削減の最良策である。
- アルコール燃料は、ほとんどの石油系熱機関に利用できる。特に自動車用燃料としてのメタノールとエタノールは、すでに、実用化されている。用途は広く、次世代を担う石油代替燃料と言える。
- メタノール燃焼では、その排気ガス性状からクリーン燃料とされている。

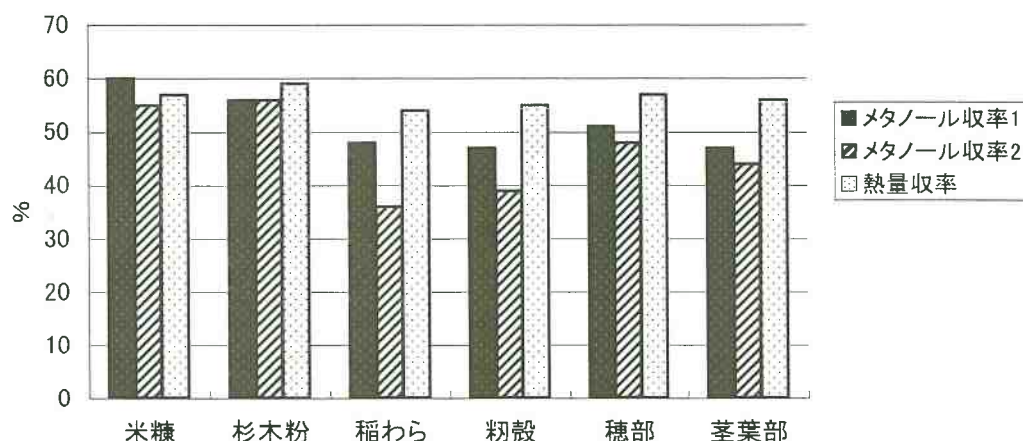


図2 各種バイオマスのメタノール収率とエネルギー収率

メタノール収率1：灰分を除いた乾物重に対する合成メタノール重量割合

メタノール収率2：全乾物重に対する合成メタノール重量割合

熱量収率：バイオマスの発熱量に対する合成メタノールの発熱量の割合

6. おわりに

本年3月、政令改正によって、バイオマスが新エネルギーの仲間入りをした。再生可能エネルギー開発分野でEU・米国に遅れているが、その主因であるバイオマスのエネルギー展開に我が国も道を開いたのである。バイオマスをエネルギーとして産業化し、農村活性化と同時に地球温暖化、化石燃料枯渇対策として本技術が世に出ることを切望している。

実用機完成までには生成ガス精製、各部の耐久性、経済性等の開発事項を残しているが、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の大型プロジェクトとして、商用機完成を目指している。

最後に「バイオマス・アルコール燃料の自然無限循環図」を図3に贈り、本稿を結びたい。

なお、ガス化合成とバイオマスに関する詳細は参考文献²⁾を参照いただくと幸である。

文 献

- 1) 坂井正康 (1998), バイオマスが拓く21世紀エネルギー, 森北出版
- 2) 速水昭彦 監修, 坂井正康・中川仁著 (2002), 21世紀をになうバイオマス新液体燃料, 化学日報社

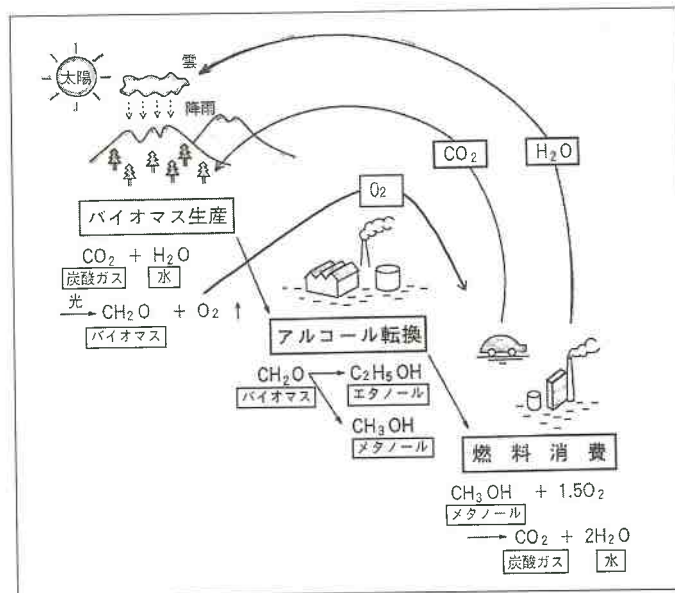


図3 バイオマス・アルコール燃料の自然界無限循環

◀国内情報▶

超臨界メタノール処理による 木質系バイオマスの液化技術

京都大学 大学院エネルギー科学研究科 エネルギー社会・環境科学専攻
坂 志 朗 ・ 南 英 治

固体バイオマスはかさ高く輸送しにくい。これが燃料としての普及を妨げる一因であった。そこで当研究室では、超臨界メタノールを使った木質系バイオマスの液化を検討し、30分程度で液体状態にすることに成功した。メタノールもバイオマスから製造すれば、化石燃料に頼らない100%バイオマスの液体燃料となる。本稿では、液化技術のプロセス、反応機構などを述べ、バイオ燃料としてのポテンシャル、今後の展望などについて解説する。

1. はじめに

20世紀における我々の社会は、資源・エネルギーに大きく依存する大量生産、大量消費、大量廃棄の使い捨て消費社会であった。しかし、化石資源の枯渇や環境破壊が地球規模で顕著となり、今や我々のライフスタイルを根本から見直さざるを得ない状況に至っている。このような現状のもと、クリーンかつ再生産可能な循環型資源“バイオマス”の有用ケミカルス及びエネルギー源への化学変換が、21世紀における重要な研究課題として注目されている。そこで本稿では、超臨界メタノールを用いた木質系バイオマスの液化技術について近年得られた成果を紹介する。

2. 超臨界流体バイオマス分解装置

物質は温度と圧力条件により、気体、液体、固体で存在するが、臨界点を超えると超臨界状態となり、気体分子と同等の大きな分子運動エネルギーと液体に匹敵する高い密度を兼ね備えた高活性な流体となる。また、メタノールの誘電率は臨界点（臨界温度239℃、臨界圧力8.09MPa）では7程度まで低下し¹⁾、非極性の有機物質や無機ガスもよく溶解するようになる。一方、超臨界状態では温度、圧力の増加と共にイオン積が増大し、高温の加

溶媒分解場が得られる。このように、超臨界メタノールでは、水と同様、化学反応の重要なパラメータである誘電率やイオン積を温度、圧力によって大幅に制御できる。

当研究室では、バッチ型²⁾及び流通型超臨界流体バイオマス変換装置を開発し、超臨界流体処理によるバイオマス資源の化学変換を検討している。図1に流通型装置の概略を示す。この装置では、スラリーは沈殿防止のため高圧循環ポンプにより常時攪拌されている。スラリーは注入器で所定の圧力に加圧された後、反応管（長さ：7 m、材質：ハステロイ-C276）に供給され、あらかじめ超臨界状態に加熱・加圧した溶媒と混合させることで、瞬時にスラリーを超臨界状態下に曝す。超臨界処理後、冷却水によって外部冷却する。この装置では500℃以下での処理が可能であり、反応管内の圧力は背圧弁により1～50 MPaの間で制御され、温度と共にモニターされている。

3. 超臨界メタノールによる木質系 バイオマスの分解

木材の細胞壁はセルロース、ヘミセルロース、リグニンといった主要化学成分で構成されており、細胞壁構築の役割からそれぞれ骨格成分、緩衝成分、充填固化成成分といわれている。針葉樹材と広葉樹材では多少異なるが、およそ、セルロース40～50%、ヘミセルロー

SAKA Shiro, MINAMI Eiji

〒606-8501 京都市左京区吉田本町

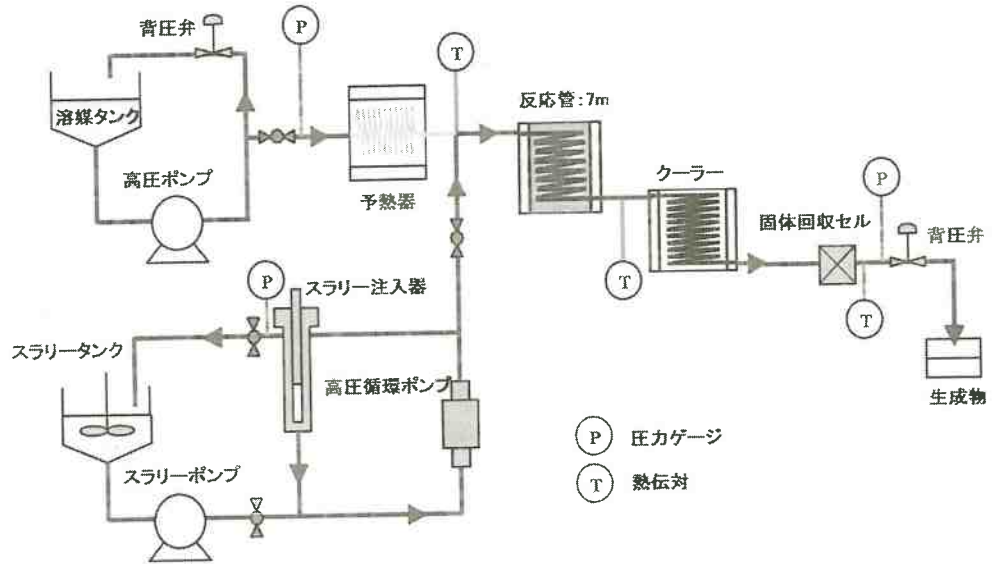


図1 流通型超臨界流体バイオマス分解装置

ス25~30%, リグニン20~30%と, これら主要成分が木材の95%程度を占め, 残りは有機溶媒で抽出可能な抽出成分や無機成分といった副成分からなる。以下, バッチ型装置²⁾を用いた木質系バイオマスの化学変換について述べる。

図2には350℃, 43MPaの条件でスギ木粉(針葉樹材)を超臨界メタノール処理したときのメタノール不溶残渣量を示すが³⁾, この条件ではリグニン, ヘミセルロース及びセルロースが効果的にメタノールに可溶化し, 処理時間30分で90%以上の木粉がメタノールに可溶化した。リグニンについては, 反応初期(3分以内)の段階で速やかに可溶化しているが, 処理時間5分以降では, 木材ベースで

3% (リグニンベースで10%) 程度のリグニンが可溶化せずに残存した。一方, メタノール可溶部中には, セルロース由来の分解生成物として, メチル- α , β -D-グルコシド, レボグルコサン, フルフラール及び5-ヒドロキシメチルフルフラールなどが確認された。また, リグニン由来の生成物として, コニフェリルアルコールおよびその γ -メチルエーテルが確認され, 処理時間を長くすると, これらの他, グアイアコールなどのフェノール類が生成した。

図3には, アビセル(微結晶セルロース)を用いた検討で明らかとなったセルロースの分解経路を示すが⁴⁾, セルロースは加溶媒分解によりセロトリオース, セロビオース, さらにはグルコース単位にまで低分子化し, それぞれのメチル化物となる。ここで, グルコースのメチル化物, メチル- β -D-グルコシドはアノマー化により一部メチル- α -D-グルコシドになり, 相互に安定化している。これらは超臨界メタノール中でのかご効果により比較的安定に存在するが, 処理時間を長くすると熱分解によりレボグルコサンなどへと低分子化する。

一方, リグニンは, フェニルプロパン類の脱水素重合による, 多種多様の炭素-炭素結合(縮合型結合)やエーテル結合から成っており複雑である。そこで, その分解挙動を検

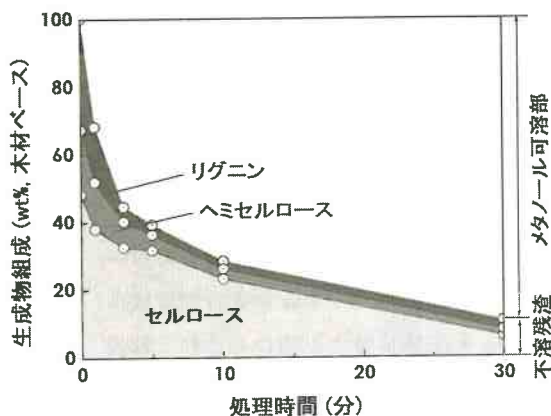


図2 スギ木粉の超臨界メタノール処理(350℃, 43MPa)によるメタノール可溶部と不溶残渣量の変化³⁾

討するため、縮合型（5-5及び β -1型結合等）およびエーテル型結合（ β -O-4及び α -O-4型結合等）を有する2量体リグニンモデル化合物を用いた検討を行った^{5, 6)}。その結果、5-5型モデル化合物は超臨界メタノール中で安定であった。また β -1型モデル化合物は、 γ 位の脱離によりスチルベン誘導体を生成するが、 β -1結合の解裂は起こらなかった。一方、 β -O-4型及び α -O-4型化合物の場合、いずれも超臨界メタノール中で速やかにエーテル結合が解裂し、グアイアコール等のモノマー化合物が生成した。以上の結果から、超臨界メタノール中におけるリグニンの分解は主にエーテル結合の解裂により進行し、縮合型結合は安定であると考えられる。これらの知見を基に、図2の結果を見ると、反応初期の急激なりグニン量の減少はエーテル結合の解裂によるものであり、処理時間5分以降での残りリグニンは縮合型構造に富んだものであると推定できる。

4. メタノール可溶部の液体燃料としての可能性⁷⁾

図1の流通型装置を用いて、350℃、40MPaの条件にてベイスギ木粉の超臨界メタノール処理を行い、バイオマス濃度10wt%のメタノール可溶部（燃料1）を得た。一方、モデル燃料として、グアイアコール濃度30wt%（燃料2）及びグアイアコール10wt%+フルフラール10wt%+メチル- α -D-グルコシド5wt%（燃料3）のメタノール溶液を調製した。これら燃料1～燃料3の着火特性を、定容燃焼装置を用いて調べた結果を図4に示す⁷⁾。燃料1は純粋メタノールよりも着火遅れが短縮された。燃料1をディーゼル軽油とほぼ同等のセタン価（CN=56）を持つ n -ヘプタンおよび非常に低いセタン価（CN~10）を持つ i -オクタンと比較すると、雰囲気温度が1100K（827℃）以上では n -ヘプタンよりも着火遅れが短い、1000K（727℃）付近では i -オクタンに近いという結果を得た。一方、燃料2の場合でも同様に着火遅れの改善

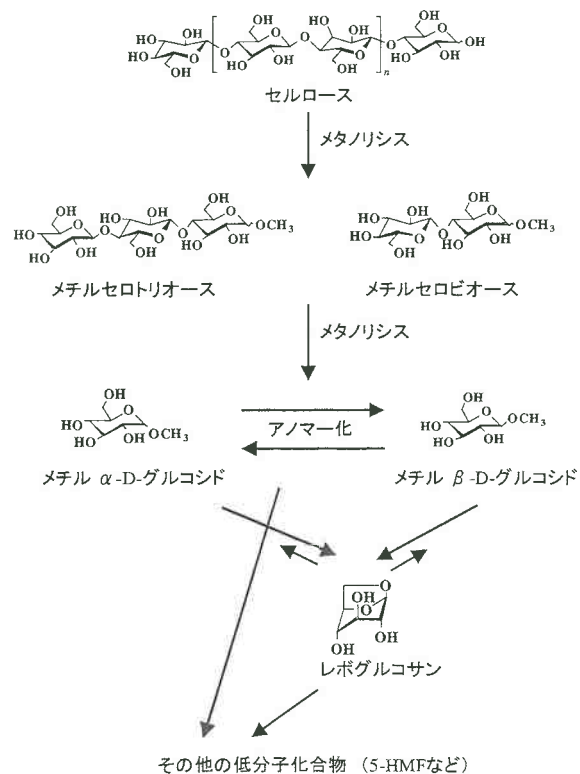


図3 超臨界メタノール処理によるセルロースの分解反応機構⁴⁾

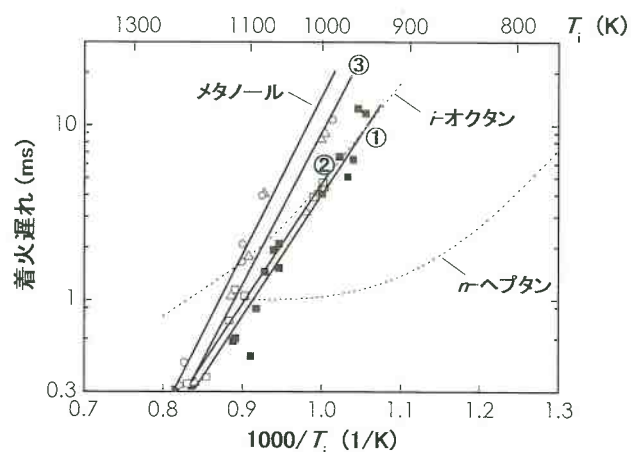


図4 メタノール可溶部及び各種モデル燃料の着火遅れ⁷⁾

- (燃料1)：メタノール可溶部（ベイスギ；10wt%）
- (燃料2)：グアイアコールのメタノール溶液（30wt%）
- △ (燃料3)：グアイアコール、フルフラール及びメチル- α -D-グルコシドのメタノール溶液（それぞれ10、10、5wt%）
- ：メタノール

が確認されたが、燃料3の場合ではメタノールとほぼ同等の着火遅れであった。従って、メタノール可溶部の着火遅れの改善はリグニン由来生成物に起因するものと示唆される。結局、濃度10wt%のメタノール可溶部ではディーゼル燃料としては着火遅れが大きすぎ

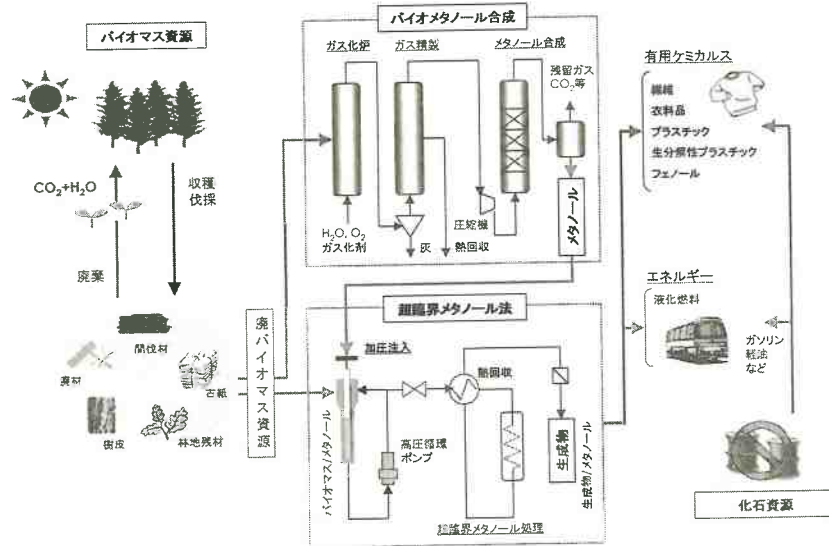


図5 バイオマス資源からのバイオメタノールを用いた超臨界処理による液体燃料や有用ケミカルスの創製⁹⁾

るが、これはメタノールの着火特性が強く反映されたものである。従って、リグニン由来生成物が高濃度のメタノール可溶部が得られれば、着火特性が*n*-ヘプタン（軽油相当燃料）に近づくものと期待できる。

5. おわりに

バイオマス資源からのメタノール合成には、 H_2O と O_2 の混合ガスをガス化剤とした噴流床方式による熱分解がある。これにより得られた H_2 とCOからバイオメタノールが生産できる⁸⁾。このバイオメタノールを用いてバイオマスを超臨界処理すると、上述の如く、そのほとんどが液化され、100%バイオマスベースの液体が得られる。木質バイオマスは古くから燃料として用いられてきたが、かさ高く取り扱いにくいことから、液体の石油や気体の天然ガスが燃料として多用されてきた。しかし、この100%バイオマスベースのメタノール溶液は、固体のバイオマスと違い、これだけで燃料としての価値がある。さらに、メタノールに可溶化した成分は、メチル α 、 β -D-グルコシドや、リグニン由来成分であるフェノール類などからなっており、それらを分離・回収することで、これまで化石資源から得ていた多くの有用なケミカルスを得ることができる。図5にはその概念図を示す⁹⁾。

このような可能性を秘めた超臨界流体技術は、21世紀の科学を切り拓く注目すべき技術の一つであり、今後、エネルギーおよび資源問題の解決に向けて、バイオマス研究のみならず多くの分野で利用され、成果を生むものと期待されている。

文 献

- 1) Franck, E.U., Deul, R. (1978), *Faraday Disc. of the Chem. Soc.*, 66, 191-198
- 2) 坂志朗 (2000), 技術予測シリーズ, 第2巻, 33-42, 日本ビジネスレポート(株), 東京
- 3) Minami, E., Saka, S., *J. Wood Sci.*, in press
- 4) Ishikawa, Y., Saka, S. (2001), *Cellulose*, 8, 189-195
- 5) Tsujino, J. et al, *Wood Sci. Technol.*, in press
- 6) Minami, E. et al, *J. Wood Sci.*, in press
- 7) Shioji, M. et al (2002), *Proceedings of Kyoto Univ. Int. Sym. on Post-Petrofuels in the 21st Century*, Montreal, Sept. 3-4, p.321
- 8) 坂井正康 (1998), バイオマスが拓く21世紀エネルギー, 48-57, 森北出版, 東京
- 9) 坂志朗 (2001), 週刊農林, 第1784号, 11

◀国内情報▶

In vitro重複受精系の開発による 花粉管誘導機構の解明とその背景

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻
黒岩 常 祥

長い間、重複受精について研究をおこなった結果、胚嚢が裸出しているトレニア (*Torenia fournieri*) を使うことを思いついた。トレニアで胚珠と花粉管の同時培養によるin vitroでの重複受精に成功し、重複受精の発見100年目にしてついに受精の瞬間をとらえた。更に、受精に必須な物質が花柱に存在すること、花粉管を誘導する物質が助細胞で合成され珠孔端から放出されていることなどが明らかとなった。

1. はじめに

被子植物は重複受精によって増殖している。この受精現象はほぼ100年前(1898年)にロシアの植物学者ナワシン (Sergius Gavrilowitsch Nawaschin) によってマルタユリで発見された。その後、重複受精というユニークな受精様式はほとんどすべての被子植物にみられることが明らかとなり、その仕組み解明に向けた基礎的及び応用的な研究は、一時盛んにおこなわれたが、大きな成果が得られないままであった。どうして重複受精の研究は、動物の受精のように進展しなかったのでしょうか。その第一の理由は、卵細胞が胚珠の内外珠皮の幾重にも重なった細胞層に覆われており、受精の瞬間を観察したり、受精卵を単離して生化学的に解析をすることができなかったからである。第二の理由としては、これはわれわれの実験から明瞭になったことであるが、重複受精の各過程の進行が予想以上に早く、数秒から数分の単位でおこなわれていたことがあげられる。しかしながら、それでもなお、どのようにして二つの精細胞は卵細胞や中央細胞と受精するのか、受精にともなってどのような変化が生じるのか、その現場を微細構造の変化として捉えたいとの要求は強く、われわれのグループも30年余りにわたって主に電子顕微鏡を使ってキ

KUROIWA Tsuneyoshi

〒113-0033 文京区本郷7-3-1

ク科のクレピス (*Crepis capillaris*) やゼラニウム (*Pelargonium zonale*) の重複受精の過程を超微形態学的に解析してきた。その結果、受精前の卵細胞は胚発生に備えて膨大な量のミトコンドリアや色素体(オルガネラ)を貯めこんでおり、これらのオルガネラは受精というシグナルによってはじめて巨大なオルガネラが分裂を繰り返して生まれることが明らかとなった¹⁻⁴⁾。一方、私の研究テーマのもう一つはオルガネラの分裂・増殖、遺伝の分子機構である。生研機構のプロジェクトとして葉緑体の分裂・増殖機構の解明を進め、分裂装置による分裂・増殖の分子機構が解けてきた⁵⁻⁸⁾。また生殖細胞を通してどのようにオルガネラが細胞質遺伝をするかということも研究のテーマである。これらの解明にあたって、受精前後における配偶子やそのオルガネラの挙動をとらえる事が重要な課題となった。しかし高等植物では、前述のように珠皮組織の奥深くにおいておこなわれているという難題があり、その解決が前提となった。1) 高等植物の受精、2) 細胞質遺伝、3) オルガネラの増殖などの分子機構の解析の突破口を開くためには、どうしても重複受精の体外受精系の確立が重要であった⁹⁻¹²⁾。

2. トレニアの重複受精研究への道

1) 重複受精過程における精細胞と卵細胞の挙動に関する形態学的研究

重複受精の過程は、一般的には胚珠を固定しパラフィン切片にして解析されてきたが、電子顕微鏡を使って受精時における細胞小器官の挙動を解析した例はほとんどない。このため、花柱が短く、精細胞が凝縮し螺旋形となり卵細胞と区別が容易なキク科の植物のクレピスを研究材料として選んだ。朝10時から正確に5-10分間隔で柱頭に受粉させ、精細胞が卵細胞に達すると予測される30分後を目安に、胚珠を固定し、光・電顕用の樹脂に包埋する。これを超薄連続切片にして透過型電子顕微鏡で観察する。胚珠の表層から中央の卵細胞まで約100ミクロンある。切片は0.07ミクロンであるから、約1200枚切って漸く卵に到達する。この単純な作業の繰り返しだがこれが非常に難しい。一枚でも通り越してしまうと、もうその時間での受精過程が観察できない。長年かけて、漸く、受精過程における精細胞の挙動が分ってきた。クレピスでは①受精後花粉管が胚嚢へ到達する前に2個の助細胞のうち一方が崩壊を開始する。②花粉管は崩壊をはじめた助細胞に侵入しその中で精細胞を放出する。③放出された精細胞は卵と中央細胞の間を進み、卵核と中心核に一番近い場所でそれぞれの細胞に入る。④精核は凝縮したひも状のまま、カリオガミーをおこなう。⑤精核のクロマチンが卵核の中で次第にゆるみ始めると、精核の核小体が発現する。等の過程が明らかとなった¹⁾。

2) 受精の刺激による劇的なオルガネラの分裂・増殖

また受精の過程におけるオルガネラとオルガネラDNAの変動をとらえるためテクノピット・DAPI法を開発し、ゼラニウムで観察した。卵細胞の成熟とともに、ミトコンドリアと色素体のDNA量は数千倍にも増大し、それとともにオルガネラも巨大化した。この巨大化したオルガネラは、受精の刺激によってDNA合成や体積の増加を伴わない分裂をくり返し、初期胚の各細胞へ分配された。このため受精卵内は沢山のオルガネラで満たされた。この過程はオルガネラの分裂・増殖を

解析するのに重要な系と考えられた²⁻⁴⁾。

3) 細胞質遺伝の機構

約600種類の高等植物の生殖細胞におけるオルガネラDNAの挙動を解析し、細胞質遺伝が、オルガネラDNAの挙動で決まることを明らかにした。これまでの遺伝学的な解析から、細胞質遺伝は主に母性遺伝と両性遺伝に分けられている。DAPI蛍光顕微鏡観察とDNA抗体による免疫電子顕微鏡法で生殖細胞、精細胞、そして卵細胞内のオルガネラDNAの挙動を解析した結果、母性遺伝をする植物では、精細胞内でのオルガネラDNAは分解され消失しているが、両性遺伝をする植物では精細胞内においてオルガネラのDNAは減少しているが存在していることが明らかとなった。更に詳しく解析してみると、四つの型があることが明らかとなった。ミトコンドリアも色素体も母性遺伝型、ミトコンドリアは母性だが色素体は両性遺伝型、ミトコンドリアは両性だが色素体は母性遺伝型、ミトコンドリアも色素体も両性遺伝型である。これらオルガネラが受精時にどのように挙動し、それぞれの遺伝を遂行するかの分子機構はこれまでの受精系で解析することは難しかった。

以上のような諸現象を更に詳細に解析するために、生化学的手法の導入が必要となった。そのためには受精を人為的にコントロールできる体外重複受精系の開発が必須となった。そこで、材料探しからはじまった。ランの仲間は珠皮が薄く、受精後の精細胞の挙動が解析できそうだったので、最初はネジバナで解析した。しかし、重複受精が起こらないこと、受精が年に数回しか行なえないことから、ネジバナで研究を続けることを断念した。一方文献検索でトレニアの胚嚢の先端が胚珠から飛び出ていることを知ったが、これを使った重複受精の解析はほとんどなかった。そこで、まず受粉後のin vivoでの重複受精の進行の解析からはじめ、胚珠と花粉管が同時に培養できるsemi-in vitro重複受精系の開発へと研究を進めた。

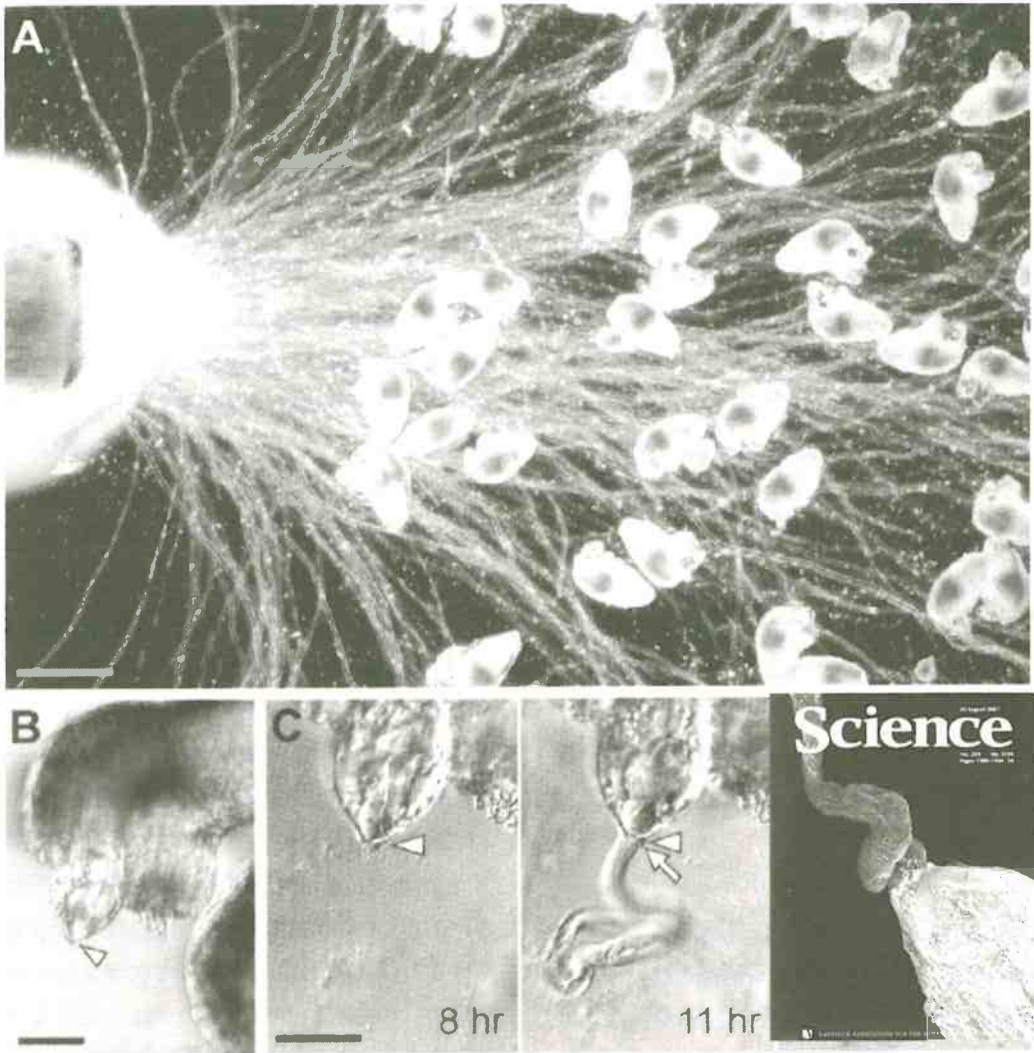


図1 花粉管の裸出胚嚢への誘導

A. 柱頭と胚珠を同時培養開始後8時間の低倍率顕微鏡像。B. 突出している胚嚢(矢頭)。C. Bの視野の8時間経った胚嚢。Cの右写真はBの11時間経った胚嚢。花粉管が珠孔端に刺さっている。更に右は、サイエンスの表紙になった花粉管が珠孔端に入っている走査型電子顕微鏡像(文献12)。

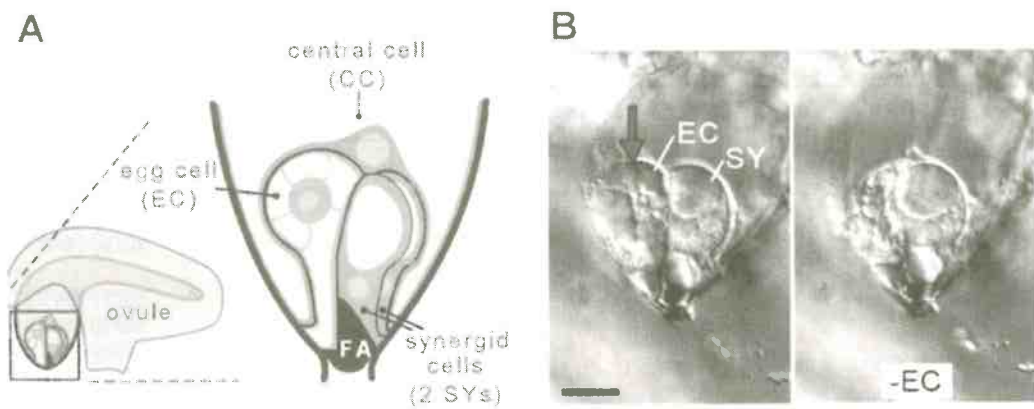


図2 胚珠と胚嚢内の各細胞

A. 胚珠(ovule)から出ている胚嚢内の卵細胞(EC)、助細胞(2 Sy)、中心細胞(CC)。B. 卵細胞にレーザーを照射して破壊した(-EC)(文献12)。

3. トレニアのin vivoでの重複受精過程の観察

受粉後、子房を解剖しDAPIで染色し核の挙動を観察するとともに、生きた裸出胚囊における受精過程の進行状況を確認した。受粉後5分で花粉は発芽し、4時間で花粉管内の雄原細胞の約90%は分裂し2つの精細胞となった。8.6時間すると花粉管の先端は胚囊内のFA装置を経て助細胞に達した。クレピスなどに比べると長い時間を要する。7-8分すると、一つの精細胞は卵細胞と、もう一つの精細胞は数分遅れて、中央細胞と受精した。受精後6時間して中央細胞の分裂が起きた。卵細胞は12時間以降に最初の分裂をおこなう⁹⁾。

4. トレニアのin vivoでの重複受精の実験とそこから生まれた新たな問題

in vitroでの受精過程の観察を踏まえ、semi-in vitroの重複受精系の開発を行った。胚囊と花粉管の培養条件が大きく異なるため、胚囊が生きて受精活性を保ち、同時に花粉管が成長し受精する能力を持つ培養系の開発をおこなった。通常のニッチの培地ではほ

とんど花粉管は伸長しなかったが、ホウ酸などを多くすると僅かに受精した。また花粉管を一度花柱を通過させることによって、培養24時間後に約4%-8%が受精するようになった¹⁰⁾。つまり花粉管が受精するためには、花柱を通過し何らかの刺激もしくは修飾を受ける必要があることが明らかとなった。次に受精率をあげるために培地の改良を試みた。培地に15%のポリエチレングリコールを加えたところ、受精率が約35%に上昇した。高頻度に受精がおこなわれるようになったことで、予め狙った花粉管の胚囊への進入を生きたまま観察できるようになった。驚いたことに、花粉管が助細胞に達してから助細胞が破壊されるまで僅か0.6秒であった¹¹⁾。またDNAを生体染色することによって花粉管の内容物の放出時における二つの精細胞の挙動も明らかとなった。

花粉管は明らかに裸出胚囊の珠孔端に向かって進む。しかし、胚珠を台座から切り離すときに偶然に胚囊や胚囊内の細胞が破壊されると、花粉管の誘導率が著しく変化することが分った。胚囊の細胞がすべて破壊され死んだもの、中心細胞が残るものでは、花粉管は誘導されなかった。しかし、助細胞と卵細胞が残ったものでは僅かな花粉管の誘導が見られた。この結果、花粉管は助細胞か卵細胞が

表1 胚囊内の卵細胞 (EC)、中央細胞 (CC)、助細胞 (SY) をレーザーで破壊した後の花粉管の誘導率を示した表
他の細胞がすべて破壊されても助細胞が1個あれば花粉管は誘導された (文献12)。

Type of embryo sac	Existence of each cell				Frequency of attraction (%)
	EC	CC	SY	SY	
Complete	+	+	+	+	48/49 (98%)
Complete, with killed ovular cells	+	+	+	+	30/30 (100%)
One cell killed	-	+	+	+	35/37 (94%)
	+	-	+	+	10/10 (100%)
	+	+	-	+	35/49 (71%)
Two cells killed	-	-	+	+	13/14 (93%)
	-	+	-	+	11/18 (61%)
	+	-	-	+	10/14 (71%)
	+	+	-	-	0/77 (0%)
Three cells killed	-	-	-	+	5/8 (63%)
	+	-	-	-	0/20 (0%)
	-	+	-	-	0/18 (0%)
All four cells killed	-	-	-	-	0/79 (0%)

生きながら放出する物質に誘導されることが示唆された¹⁰⁾。古くからカルシウムの関与が示唆されていたため、種々の実験で解析したが、誘導物質はカルシウムと異なっていた。次に花粉管の誘導物質は卵細胞と助細胞どちらの細胞で合成されるのであろうかを確かめた。

受精前における胚嚢内の二つの助細胞、卵細胞、中央細胞をターゲットにし、パルム社の光ピンセット装置に装着された紫外線レーザーで各細胞を破壊し、花粉管の誘導率を調べた。その結果、受精直前の助細胞を破壊した時のみ、花粉管誘導の著しい低下がみられた。また助細胞を残した時のみ花粉管の誘導が見られた。このことから助細胞が花粉管を誘導する物質を珠孔端から放出していることが確実となった¹²⁾。助細胞は他の細胞に比べて大量のERとリボソームを含んでいたことから、受精に先だって選択的に受精誘導物質が放出されていることが考えられた。また、生研機構のプロジェクトで購入して頂いた走査型電子顕微鏡で、重複受精の瞬間の像を、世界ではじめてとらえることに成功した¹²⁾。

5. 今後の課題

体外受精系が確立されたことによってこれまでできなかった様々な研究が可能となった。オルガネラの分裂増殖や遺伝の分子機構、生殖細胞を使った遺伝子導入技術の開発、それから重複受精をはじめとする初期胚形成の機構の解析である。また、なによりも体外受精系を開発を通じて明らかとなった、花粉管の受精能を高める花柱内に存在する物質、そ

して助細胞から流れ出ている花粉管誘導物質の分離解析など多くの課題がある。

謝 辞

本研究は、生研機構基礎研究推進事業において推進されているものである。

文 献

- 1) Kuroiwa, H. (1989), Bot. Mag. Tokyo, 102, 9-24
- 2) Kuroiwa, H. et al (1992) Protoplasma 168, 184-188
- 3) Kuroiwa, H. et al (1996) Protoplasma 192, 235-244
- 4) Kuroiwa, H. et al (2002) Sex Plant Rep 15, 1-12
- 5) Kuroiwa, H. et al (2002) Planta 215, 185-190
- 6) Miyagishima, S. et al (2001) Plant Cell 13, 2257-2268
- 7) Miyagishima, S. et al (2001) Plant Cell 13, 707-721
- 8) Kobayashi, T. et al (2002) Plant Cell 14, 1579-1589
- 9) Higashiyama, T. et al (1997) Planta 203, 101-110
- 10) Higashiyama, T. et al (1998) Plant Cell 10, 2019-2031
- 11) Higashiyama, T. et al (2000) Plant Physiol. 122, 11-13
- 12) Higashiyama, T. et al (2001) Science 293, 1480-1483

◀国内情報▶

体外成熟卵子への顕微授精による子豚の誕生

¹独立行政法人 農業生物資源研究所遺伝資源研究グループ

²麻布大学獣医学部動物応用科学科

菊地 和弘¹・中井 美智子^{1,2}・柏崎 直巳²

運動性が劣り受精能力の失われた精子を受精させ出産を可能にする技術として、顕微授精が考案されている。希少動物の繁殖・増殖やヒトの不妊治療で利用されている。ブタの精子は個体により耐凍性が異なり、凍結融解後に運動性が喪失し受精卵子が得られない場合が多い。ブタでの顕微授精は、体内成熟卵子(排卵卵子)を利用した場合の成功例があり、今回の体外成熟卵子での成功例と合わせて、ブタ希少品種の保全ならびに関連する技術開発に貢献することが期待される。

1. なぜ、顕微授精？ なぜ、体外成熟卵子？

農業生物資源研究所のジーンバンク事業では、動物遺伝資源の保存の一環として家畜・家禽の精子を凍結保存している。一般的に、凍結・融解した精子の受精能には個体差があって、中には運動性を全く示さず人工授精や体外受精を行っても受精・受胎しないものが存在する。この違いは「耐凍性」と呼ばれ、凍結時の細胞膜の傷害や含まれる脂質の変性の程度が、精子の由来する個体によって異なるためと考えられているが、詳しいことは判っていない。いずれにせよ、耐凍性の違いが遺伝資源の保存・利用の面で問題となっており、その傾向はブタでは特に顕著である。したがって、運動性が劣り受精能力の失われた精子を用いて受精を成立させ、かつ妊娠・出産を可能とする技術は、希少動物や品種すなわち遺伝資源の保存・利用に必要なものである。受精を人為的に成立させる「顕微授精」はそれを可能にする方法である。ジーンバンクで保存している精子の品質(受精能力)が申し分ないことにこしたことはない。いっぽうで、顕微授精が確実に成功するという前提があれば、品質が少しくらい劣って

KIKUCHI Kazuhiro¹, NAKAI Michiko^{1,2},
KASHIWAZAKI Naomi²

¹〒305-8602 つくば市観音台2-1-2

²〒194-0013 相模原市淵野辺1-17-71

ても、多少安心感がある。

体外成熟卵子を用いた顕微授精は、すでに一部の家畜やヒトで妊娠・出産の成功例が報告されているが、豚での成功例は安定した受精・受胎の結果が得られる体内成熟卵子を用いた場合に限られていた^{1,2)}。体外成熟卵子とは、屠畜や斃死した雌の卵巣の卵胞から未成熟卵子を取り出し、体外で培養すると受精・発生能をもつ成熟卵子が得られるが、これが体外成熟卵子であり、体内成熟卵子(排卵卵子)と区別される。ブタでは、体外成熟卵子は1卵巣あたり平均30個ほど得られるが、体内成熟卵子は1排卵1卵巣あたり7個前後であり、精子を注入することのできる「器」の数を増やすことができる。また、体外成熟卵子は培養に手がかかり体内成熟卵子にくらべて受精・発生能が低いとされているものの、体内成熟卵子の採取に必須となる卵子供給用豚の準備、発情調査や高価なホルモン剤投与の必要がなく、コスト・労力の面で優れている。私たちは、体外成熟卵子の有用性を重要視し、それらを用いた顕微授精による豚の妊娠・出産を可能とする技術の開発に取り組んだ。

2. 顕微授精とは？

顕微授精とは、顕微鏡下で卵子あるいは精子を顕微操作し、受精を人為的に成立させるあるいは効率化させる技術である。広い意味

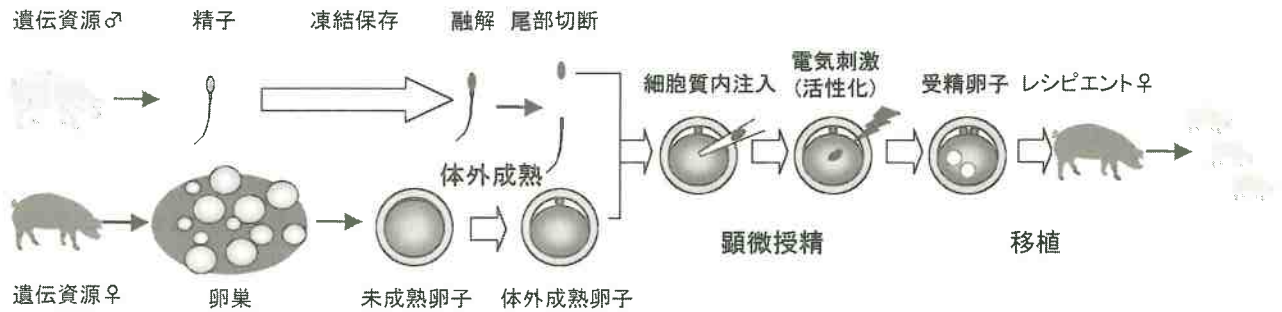


図1 ブタの顕微受精 (ICSI) 法

卵巣より未成熟卵子を取り出し、体外成熟を行い体外成熟卵子を得た。凍結融解した精子を超音波処理し尾部を除去し、精子頭部のみを卵子の細胞質内に注入した。電気刺激後、ICSI胚を発情を同期化させたレシピエント雌豚に移植した。

では次の3手法が含まれる。1) 細胞質内精子注入法 (ICSI; intra-cytoplasmic sperm injection 卵子細胞質に直接精子を注入する方法)、2) 透明帯下精子注入法 (SUZI; subzonal insemination 透明帯と卵子の隙間に精子を注入する方法) ならびに 3) 透明帯部分切開法 (PZD; partial zona dissection 透明帯の一部を切開し精子を侵入しやすくする方法)。この中で、狭義の顕微受精として認識させているのは細胞質内精子注入法であり、ICSIという略語も一般的になってきている。残りの二つの方法は受精そのもの (卵子細胞膜と精子細胞膜の融合) は精子に頼ることになり、この部分は人為的には制御できない。

ICSIでは、注入される精子は運動性の有無さらには生死に関わらない。また、注入するのも精子頭部だけでもよいとされている。今回私たちが行ったのもICSIである。ICSIの具体的な手法を示す (図1)。ICSIを成功させるためのポイントは、1) 良質な (体外) 成熟卵子の準備、2) 注入する精子の処理、3) 注入法、4) 顕微受精卵子の活性化処理なら

びに 5) 活性化卵子の体外培養である。1)、5) については、低酸素分圧下で体外成熟培養を行い、活性化処理後ただちにレシピエント雌豚に移植することで効率的な胚発生が期待できる⁹⁻¹¹⁾。4) については適度な強さの直流電気刺激を加えることで卵子の活性化が誘起できる¹²⁾。また、3) についてはピエゾ素子を応用したマイクロインジェクター (プライムテック社) が効果的であることが、他動物種でも確立されている¹³⁾。今回は、2) の条件、すなわち、注入する精子の処理がどのようにICSI胚の発生に影響を及ぼすかを検討したので報告したい。レシピエント雌豚 (胚を移植される雌豚) の準備についても、ホルモン剤の投与により性周期を移植する胚の発生ステージに同期化させて行われることから、成功を左右する重要な因子である。今回は詳細については省略する。

3. 先体は邪魔にならないか?

通常精子の頭部には先体という構造物が存

— 3 μm



図2 ブタ精子

超音波処理により矢印の部分で頭部 (左側) と尾部 (右側) に切断できる。頭部のグレーの濃い部分が先体である。イオノフォア処理により先体の除去が可能である。トリプルステインによる。

在する(図2)。先体内部には、透明帯貫通に必要な種々の酵素が含まれる。受精の際に精子は必ず透明帯を貫通しなければならない。先体膜に「ゆるみ」が生じ酵素が浸出し透明帯を溶解させながら、鞭毛運動により推進力を得て透明帯を貫通する。透明帯を貫通した精子の頭部は、先体膜を完全に失い細胞膜が露出する。これと卵子細胞膜が融合することで配偶子の合体すなわち受精が始まる。しかし、ICSIの際は、精子はこの先体が付着した状態で細胞質に注入されることがほとんどであった。したがって、受精でおこるはずの膜融合がおこらないという可能性が考えられる。このことが、その後の精子核タンパクの置換・精子頭部の膨化ならびに前核形成・雌雄前核の融合といった一連の受精現象の進展に影響を及ぼし、さらには胚発生が進展しないという可能性が考えられる。

そこで、人為的に先体膜を除去した精子を注入し、ICSIの際に先体膜の存在が障壁になるかどうかを検討することにした。先体膜除去にはカルシウムイオノフォア(Ca-I)を用いた。10 μ M 2時間処理により有意に先体膜が失われることが判明した。そこで、ブタの凍結融解精巣上体精子を処理し(Ca-I区)あるいは処理せず(対照区)にICSIを行い、1)胚への発生能(6日間の体外培養後、胚盤胞への発生率ならびにその細胞数)、さらに2)子豚への発生能(ICSI後直ちにレシピエント雌豚に移植した)を調べた。結果は、1)対照区、Ca-I区の胚盤胞率はそれぞれ3.2%、



図3 顕微受精(ICSI)胚の移植により得られた子豚。帝王切開により出産した。出産後1時間。

6.7%で、細胞数はそれぞれ23.6個、27.5個であり、両者の間には有意差は認められなかった。2)レシピエント豚の卵管へ外科的に55~150個ずつ移植した場合、Ca-I区では3頭に移植したが妊娠は確認されなかった。対照区では4頭に移植し2頭の妊娠が確認された。そのうち1頭が妊娠を維持し、移植後117日目に帝王切開により3頭の正常な子ブタ(♂1頭 1.3kg, ♀2頭 1.4ならびに1.5kg)が得られた(図3)。これらの結果より、ブタ精子をCa-Iで感作させることにより効果的に先体を除去できたが、この処置精子をICSIに用いても、その後の胚盤胞への体外発生および移植後の子豚への体内発生に利点が認められなかった。すなわちICSI後の先体膜は卵子細胞質内で影響を及ぼさないことが示唆された。一方で、先体の内側に存在する精子細胞膜がICSIによる受精の成立に影響を与えていることも考えられる。いずれにせよ、ブタ体外成熟卵子由来ICSI胚はレシピエント豚への移植により個体へ発生する能力を有することが明らかとなった。

4. 今後の展開

顕微授精技術は、運動性が劣り受精能力の失われた精子と、屠畜材料からも省力・低コストで容易に得られる体外成熟卵子の組み合わせによって、繁殖を可能とするもので、次のような応用が期待される。1)凍結保存精子のほか液状保存精子においても、受精能力の劣る希少動物・希少品種の精子の利用が可能となる、2)複雑な操作を必要としない簡便な精子の保存法や凍結乾燥法など新たな精子の保存法が期待できる、さらに3)精子を介した形質転換動物(外来遺伝子を導入することにより、遺伝的に改変された動物)の効率的な作製が可能となる。2)に関しては、精子の凍結作業は、様々な機器、複雑な操作と厳密な温度管理さらには長時間作業が要求されるという現状があり、例えば単に冷凍するという操作だけならば、精液採取の現場でも熟練作業者が不在でも凍結が可能となる。

また、マウスでは凍結乾燥精子のICSIにより産子が得られており⁸⁾、他動物への応用が期待される。3) に関しては、現在行われている主な手法は前核注入法である。この手法は、受精直後の前核内にDNAを直接注入する方法であるが、形質転換動物の作製効率は極めて低い。DNA懸濁液中に精子をさらしたりあるいは精巢内にDNAを注入しDNAを精子にまとりつかせた状態で体外受精を行って、形質転換動物を作出する方法が考案され効率がよいと報告されている^{9, 10)}。この方法とICSIを組み合わせることで¹¹⁾、さらには体外成熟卵子を利用することで、より効率的な形質転換動物の作製方法の確立が期待されている。

5. おわりに

ICSI技術は、前述したようなテクノロジーへの貢献のほか、発生生物学への多大な貢献が期待できる。受精現象の解明には、これまでは精子が受精するのをひたすら待つしか方法がなかった。しかし、ICSI技術により必要時に精子の注入が可能となりその数も制御可能となった。当然、精子と卵子の相互関係についての研究が進むであろう。テクノロジーの発展を望むか、知識欲を満たすか、研究者

は選択することになる。

文 献

- 1) Martin, M.J. (2000) *Biol. Reprod.* 63, 109-112.
- 2) Kolbe, T. and Holtz, W. (2000) *Anim. Reprod. Sci.* 64, 97-101.
- 3) Kikuchi, K. et al (1999) *Biol. Reprod.* 60, 336-340.
- 4) Kashiwazaki, N. et al (2001) *J. Reprod. Dev.* 47, 303-310.
- 5) Kikuchi, K. et al (2002) *Biol. Reprod.* 66, 1033-1041.
- 6) Kikuchi, K. et al (1995) *J. Reprod. Fertil.* 105, 325-330.
- 7) Kimura, Y and Yanagimachi, R. (1995) *Biol. Reprod.* 52, 709-720.
- 8) Wakayama, T. and Yanagimachi, R. (1998) *Nat. Biotechnol.* 6, 639-41.
- 9) Smith, K.R. (1999) *Anim. Biotechnol.* 10, 1-13.
- 10) Wall, R.J. (2002) *Theriogenology* 57, 189-201.
- 11) Perry, A.C. et al (1999) *Science* 284, 1180-1183.

◀国内情報▶

メダカの性決定遺伝子の発見

岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所・生殖研究部門

長 濱 嘉 孝

ヒトの性決定遺伝子がSRYと同定されて以来、すでに十年以上が経つが、哺乳類以外の脊椎動物の性決定遺伝子は見つかっていなかった。最近、我々は近交系が確立されているメダカの利点を生かし、ポジショナルクローニングにより性決定遺伝子DMYを発見した。DMYはXY胚の性分化期生殖腺の体細胞に強く発現する。野生メダカ集団に、DMYを持つ雌が見つかったが、このような個体のDMYは機能が破壊されているか、発現量が著しく低かった¹⁾。

1. はじめに

多くの脊椎動物において、雌雄差を決める最初のシグナルは性決定遺伝子である。紆余曲折を経て、この遺伝子がヒトで最初に同定されたのが1990年のことである²⁾。ヒトの性決定遺伝子SRYの発見は、脊椎動物の性決定遺伝子の探索に関する研究を強く活性化することとなり、いろいろな動物を用いて活発な研究がなされた。直ぐに、マウスでの共通性(Sry)が確認されたが、哺乳類以外の脊椎動物では、SRY/Sryのホモログは見つかることなく現在に至った。性決定遺伝子がこれらの生物で突き止めることができなかつたのには理由がある。例えば、XY方式で性が遺伝的に決まる場合には、性決定遺伝子が存在するY染色体領域をできるだけ狭めてから、ポジショナルクローニングにより求める遺伝子を同定するという方法がもっとも効率的である。ヒトのSRYもこのようなアプローチを駆使することによって発見された。ところが、ヒトやマウスなど、ごく一部の哺乳類を除いてはこのような戦略により性決定遺伝子を同定するのは非常に難しい。メダカ(*Oryzias latipes*)は、それができる数少ない脊椎動物の一つである。メダカでは、すでに近交系がいくつか確立されており、それらの間の遺伝的差異を上手く利用することで性

NAGAHAMA Yoshitaka

〒444-8585 岡崎市明大寺町字西郷中38番地

決定遺伝子を含むY染色体領域を限定することができる。

2. 性決定遺伝子のポジショナルクローニング

博士研究員の松田勝博士を中心として、我々がメダカの性決定遺伝子の探索についての研究を本格化したのは1999年のことである。この頃までに、新潟大学の酒泉満教授の研究グループが、性に連鎖したいくつかのDNAマーカーをすでに単離していた。我々はまず、慶応大学の清水信義教授及び浅川修一博士の協力を得て、メダカの良質なBACゲノムライブラリーを構築した。次に、このBACライブラリーとDNAマーカーを使って、Y染色体の性決定領域を530kbまでに狭めることに成功した(図1)。また、この領域が4つのBACクローンでカバーされることもわかった。ショットガンシーケンス法によりBACクローン全体の約80%の塩基配列を決めることができたので、その領域にある遺伝子をコンピュータープログラムに予測させたところ、52個の遺伝子があることがわかった。丁度その頃、Y染色体をもつにもかかわらず表現型が雌である突然変異体が見つかった。この個体では、530kbのうち230kbを欠いていた。この部分には、27個の遺伝子が存在した。すなわち候補遺伝子を半分に絞り込むことができたわけである。次に、これら

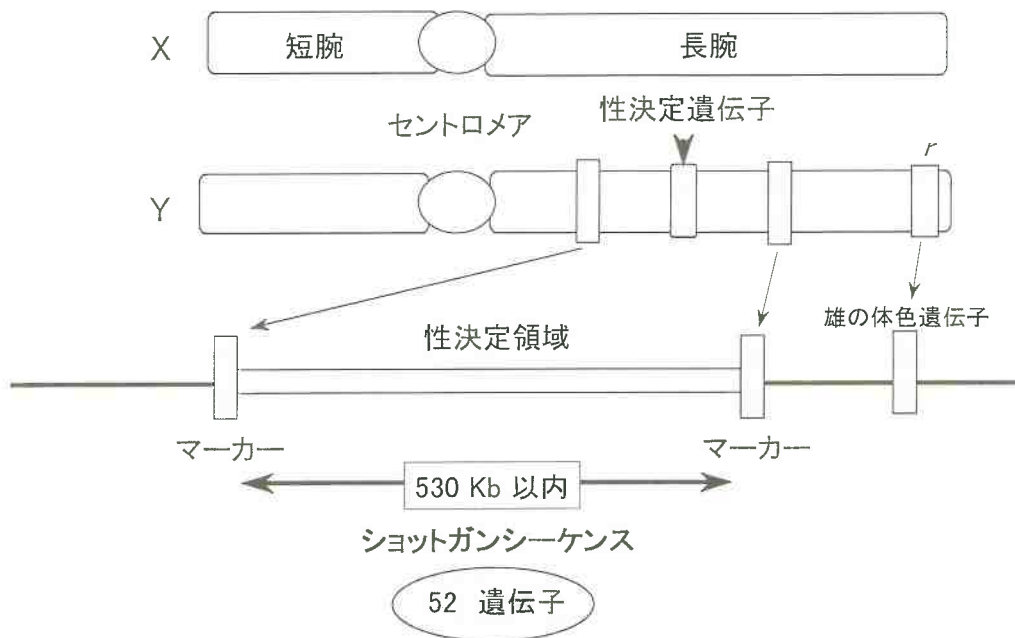


図1 メダカの性染色体上における性決定領域

27個の遺伝子の一つずつについて性分化期における発現をRT-PCRで調べた結果、3つの遺伝子だけがこの時期に発現することがわかった。さらに、これら3つのうち、雄特異的に発現するのは一つの遺伝子のみであった。早速、この遺伝子の塩基配列をもう一度詳細に調べてみたところ、ショウジョウバエのdoublesexと線虫のmab-3に共通のDMドメインを持っていたのである。そこで、この遺伝子をDMY (DM-domain gene on the Y chromosome) と呼ぶことにした (図2)。

3. 性決定遺伝子DMYの発現と機能

メダカ胚におけるDMYの発現部位を、研究室の小林亨助手が in situ hybridization法で詳しく調べた結果、この遺伝子は性分化期の精巣に特異的に発現していて、その部位は

生殖細胞を取り囲む体細胞 (将来のセトリ細胞) であることがわかった。同時に、いろいろな組織における発現を調べたが、精巣以外でははっきりとした反応が認められなかった。哺乳類でも、SRYが発現するのは性分化期の精巣のセトリ細胞である。このように、DMYが示すいろいろな特徴は、この遺伝子がメダカの性決定遺伝子であることを強く支持するものであった。しかし、DMYがメダカの性決定遺伝子であることの決定的な証拠は、DMYについてloss of functionとgain of functionの実験を行うことによって得られる。前者はノックアウト個体を作製してその表現型を解析することであり、また後者はトランスジェニック個体を作製して過剰発現の影響を調べることである。マウスの性決定遺伝子は、この過剰発現の実験によって証明された。Sry遺伝子を導入されたXX個

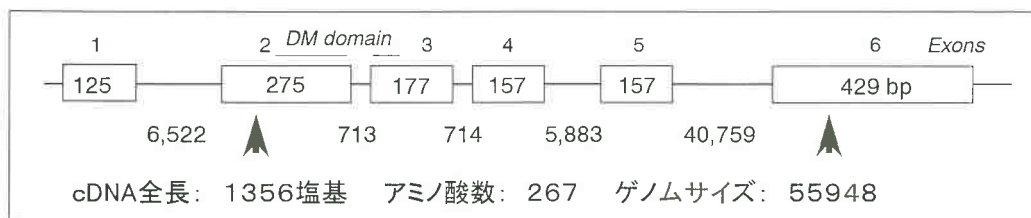


図2 メダカの性決定遺伝子DMYの構造

体が精巣を持つ雄に性転換したのである³⁾。我々も現在、トランスジェニックによるDMYの過剰発現実験を進めているので、近い将来に結論が出る筈である。一方、loss of functionによる証明に関しては、まだノックアウトの実験系がマウス以外では立ち上がっていないので直ぐには確かめることはできない。この問題を克服するためのもっとも有効な手段は、野生メダカ集団の中にDMY機能が欠失した突然変異体を探すことである。幸運にも、酒泉教授らはそのようなメダカを2尾見つけ出した。どちらの個体も、DMYを持っていないが、表現型は雌で、生殖腺も一見して正常な卵巣を持っていた。早速、これらのメダカが持つDMYの配列を詳しく調べると、その一つは、エクソン1に1塩基の欠失があり、そのためにフレームシフトが起こり、DMYの機能が破壊されていた。また残りの個体でも、原因は不明なものの、DMYの発現量が正常な雄に比べると著しく少量であった。このような自然突然変異体の解析を通して、DMYは精巣の形成には必要で、それがなければ卵巣を形成して雌の表現型を示すようになることがわかったのである。こうして、DMYはメダカの性決定遺伝子として

同定された。DMYはSRY/Sryに次いで脊椎動物で発見された2番目の性決定遺伝子である。

DMYは、ヒトを含む多くの脊椎動物で見ついているDMRT1遺伝子に構造が非常に似ている。ところが、メダカではDMRT1は常染色体にある(リンケージグループ9)。ティラピア(*Oreochromis niloticus*)の性分化時における発現解析から、DMRT1は精巣の分化・形成に重要な働きをすることが明らかになっている(図3)。我々は現在、メダカでもDMRT1遺伝子の発現を調べていて、これまでに、DMYがDMRT1に先立って発現することがわかった。この発現パターンは、2つの良く似た遺伝子がお互いに関連し合いつつ、精巣の分化と形成、維持に段階的に作用することを示唆しているようできわめて興味深い。

では、卵巣の分化はどのようにして起こるのであろうか。ティラピアを用いて我々は、エストロゲン/エストロゲン受容体系が卵巣の分化、形成には不可欠であることを証明した(図3)。DMYが働かない場合には、性ステロイド合成系がONとなり、エストロゲンの合成が起こるのかもしれない。このようなDMYと性ホルモンとの関係についても、信州大学の柴田直樹博士との共同研究を進めている。

4. 今後の展望

メダカのDMYは哺乳類以外の脊椎動物ではじめて突き止められた性決定遺伝子である。哺乳類(ヒト等)に続いて、魚類(メダカ)の性決定遺伝子が明らかになったことは、生物学的に深い意味を持つ。哺乳類の性決定遺伝子が発見されて以来、活発な研究がなされてきたのにもかかわらず、未だにSRY/Sryの作用機構は明らかになっていない。最近までに、多くの遺伝子や制御因子が生殖腺の性分化との関わりで見つまっている。しかし、それらを繋いで一つの性分化の分子カスケードとして説明できるようになる

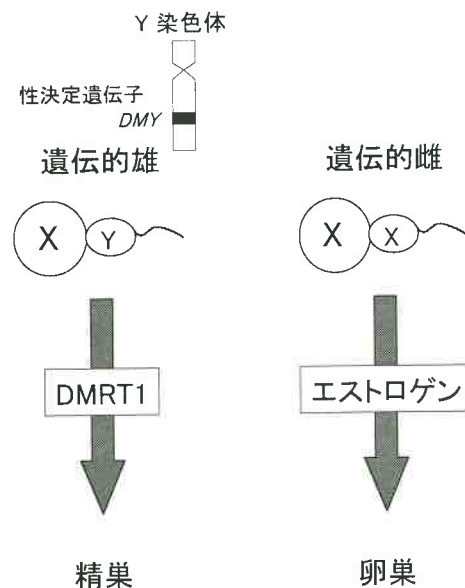


図3 魚類における性決定と生殖腺の性分化機構
メダカとティラピアで得られた結果をもとに作成

までにはまだまだ年月がかかりそうである。DMYを通して、我々がそのような研究に少しでも貢献できればと願っている。

DMYが新しく見つかったことで、脊椎動物における性決定遺伝子あるいはY染色体の進化の問題についての議論が加速されることになるだろう。今回、ヒトとメダカの性決定遺伝子はまったく異なることが判明した。しかし、両者がY染色体にあり、精巣分化を起す機能を持つという点ではいずれも共通である。種を超えたDMYの普遍性が気になるところであるが、数種のメダカのDMYを系統解析した結果からは、その存在はメダカ種に限定される可能性が高いと考えられる。では、個々の動物の性決定遺伝子はそれぞれ異なるのだろうか。この問題に答える有力な手立ての一つは、第3の性決定遺伝子を見つけることである。我々もそのことに強い興味を抱いて研究を進めている。またその一方で、性決定遺伝子が種によって異なっても、その下流に作動するメカニズムは種間を超えて広く保存されていることもありうる。性分化制御に関わると考えられる遺伝子あるいは因子がいろいろな動物間で共通性が高いこと、さらには鳥類以下の脊椎動物でエストロゲンが卵巣分化に不可欠であることが実験的

に確かめられていることなどはそのことを示唆する例である。

また、ここでは詳しく触れなかったが、DMYの発見は応用研究への貢献も期待されている。例えば、DMYをプローブとすることで性の判別が可能となる。近年大きな社会的問題となっている内分泌かく乱化学物質の問題にも貢献が期待される。魚類や両生類、爬虫類或いは鳥類のような野生動物で内分泌かく乱化学物質による雌性化現象による雌雄のバランスの乱れが懸念されている。このような自然界における環境要因による自然界における性の乱れの原因を正確に突き止めるためには、性判別を可能にする遺伝的マーカーが必要である。その意味でも、今回発見されたメダカのDMYは、そのような目的にかなった野生動物でははじめての遺伝子である。

文 献

- 1) Matsuda et al. (2002). *Nature*, 417, 559-563.
- 2) Sinclair et al. (1990). *Nature*, 346, 240-244.
- 3) Koopman et al. (1991). *Nature*, 351, 117-121.

◀地域の先端研究▶

産業廃棄物を利用した環境循環型 非塩素系凍結防止剤に関する研究開発

青森県産業技術開発センターメカトロニクス開発部
花 松 憲 光

青森県はリンゴ及びホタテ貝の主要産地で、それらの加工時に搾り粕が約3万トン/年、貝殻が約5万トン/年排出され、産業廃棄物の処理対策に苦慮している。一方、寒冷・積雪地帯における塩素系凍結防止剤の使用による環境問題が懸念されている。本報告は産業廃棄物であるホタテ貝殻及びリンゴ搾り粕を原料とした酢酸カルシウム製造技術を開発し、環境に優しい非塩素系凍結防止剤としての実用化を目指した取り組みについて紹介する。

1. はじめに

青森県のむつ湾岸域は、ホタテ貝の養殖、直販、加工品の産地を形成し、生産量は約9万トン/年で国内第二位を維持し、地域経済に大きな恩恵をもたらしている。しかし、約5万トン/年ものホタテ貝殻が産業廃棄物として排出されている。また、青森県は日本一のリンゴの生産地で、生産量は概ね45万トンである。リンゴ果汁飲料の製造も盛んで、地域産業の活性化の一翼を担っている。リンゴ果実を加工するときに排出されるリンゴ搾り粕が約3万トン/年に増加し、その処理に苦慮している。

このような地域の基幹産業から大量に排出される産業廃棄物は、最終処分場の確保が困難で、環境問題を惹起している。その結果、地域経済の発展をも抑制しかねない現況にあつて、これら産業廃棄物の減量化を図ることが緊急課題となっている。

一方、寒冷・積雪地帯では道路の凍結防止対策として、塩化ナトリウム等の塩素系の凍結防止剤を散布している。脱スパイクタイヤ以降散布量が増加し、約50万トン/年が散布され、舗装道路、車両や橋梁等の劣化促進、及び道路周辺の塩濃度の上昇による植物への影響等の塩害による環境破壊が懸念されている^{1) 2)}。1991年にアメリカにおける塩害によ

HANAMATSU Kenkoh

〒030-0113 青森市第二問屋町4-11-6

る道路等の修復費用及び腐食による自動車の修理費用として塩素系凍結防止剤1トン当たり800ドルの費用が発生すると報告されている⁶⁾。日本においても塩素系凍結防止剤の使用によって、年間約500億円程度の維持費が発生していると推察することができる。このため、塩素系に代替する低価格で環境に優しい非塩素系凍結防止剤の開発が急務となっている。

このような背景下において、本研究は世界中が切望している環境に優しい凍結防止剤(酢酸カルシウム系)の製造技術を開発するものであり、未利用な産業副産物(リンゴの搾り粕、ホタテ貝殻)を原料にすることで製造経費の軽減と商品の低価格化を狙う。さらに製造システムは設計段階から、環境対策を考慮して、ゼロ・エミッションを目指したものを計画している。これらは産業廃棄物処理と凍結防止剤の環境問題を同時に解決できるものである。

本報告は産業廃棄物の再利用と環境に優しい凍結防止剤の研究について、その研究体制、研究課題と分担機関及びこれまでの成果を今後の計画と併せて紹介するものである。

2. 研究体制

本プロジェクトは産学官のコラボレーションによって推進するもので、研究部門と事務部門、研究推進委員会から構成される。研究

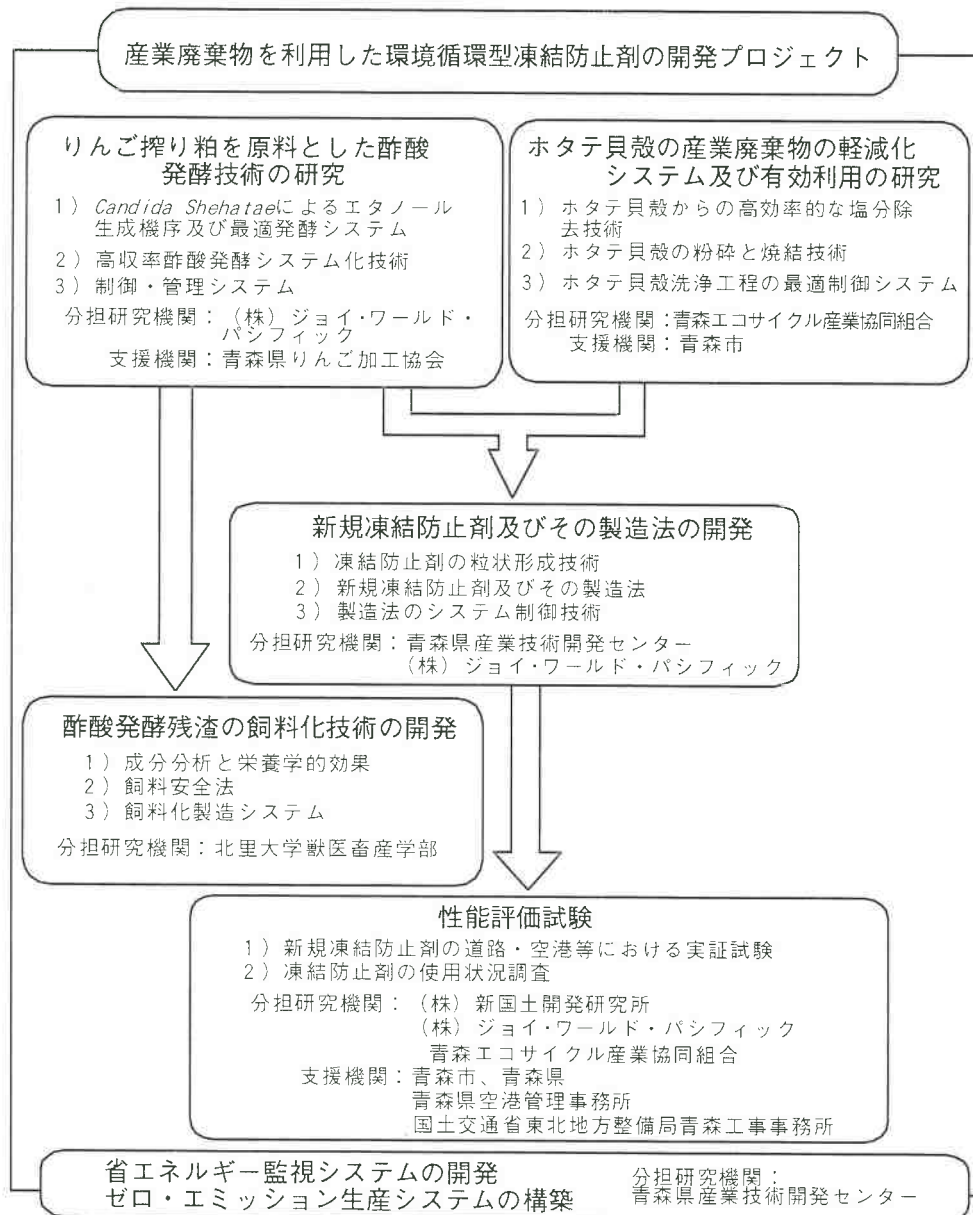


図1 研究開発課題，分担機関及び支援機関のスキーム

部門の総括研究代表者である筆者を中心に、副総括研究者には民間企業人を登用し、産学官のコンソーシアムを形成して実施するものである。

3. 研究機関と分担課題

本研究開発は、大別して5つの研究内容によって構成されている。その研究開発課題、分担機関及び支援機関のスキームを図1に示した。

4. リンゴ搾り粕を原料とした酢酸発酵システム

環境に優しいとされている非塩素系凍結防止剤は、高価格なために国立公園内の道路、橋梁や空港等の一部の限られた地域でのみ使用されている。非塩素系凍結防止剤、とりわけ酢酸カルシウム・マグネシウム (CMA) が高価な理由としては、酢酸の製造費用が高価なためである。本研究開発の目的の一つは、酢酸カルシウム系の凍結防止剤の主原材料である酢酸を、リンゴジュースの製造工程で排

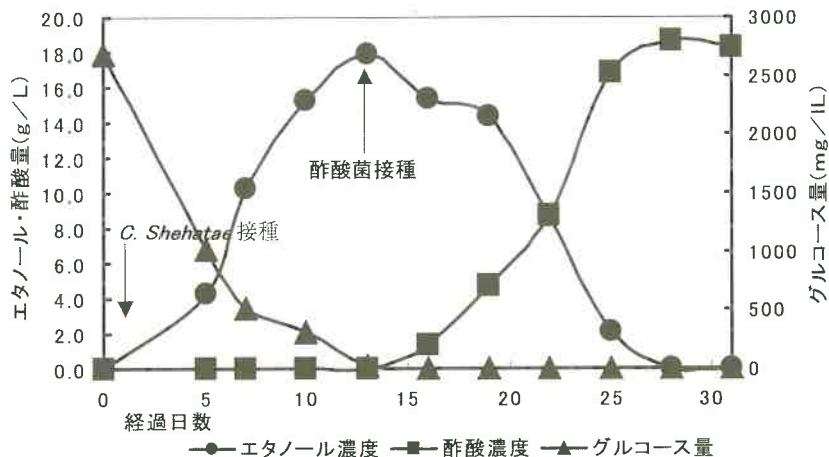
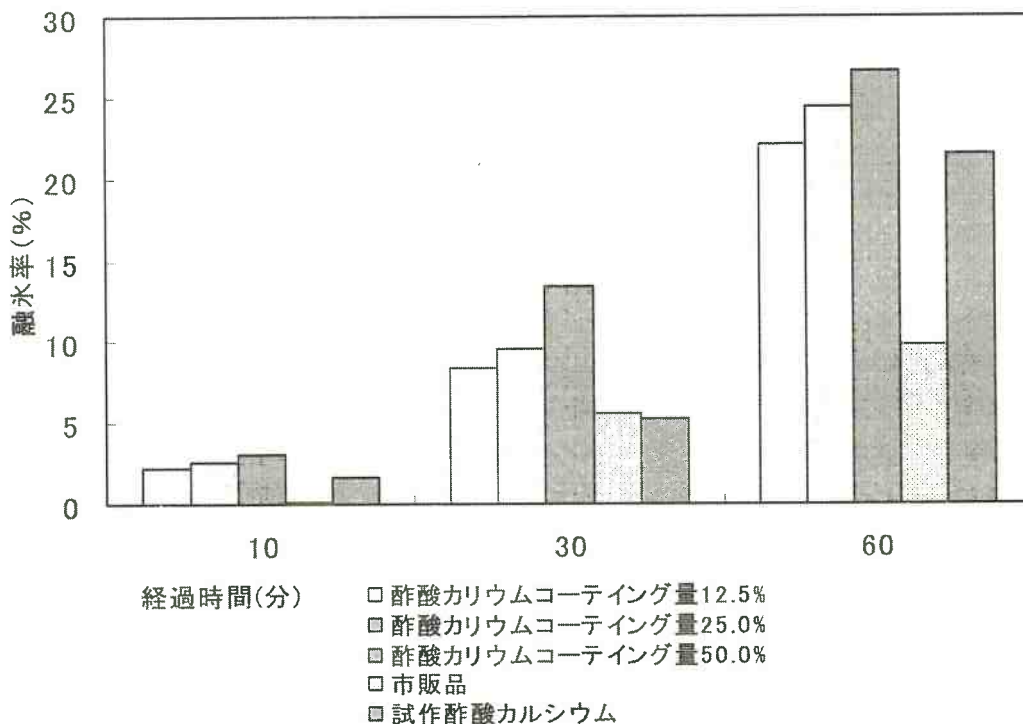


図2 リンゴ搾り粕から酢酸の生成量

出されるリンゴ搾り粕から製造することである。リンゴ搾り粕の主な組成成分は、水分78.5%、タンパク質0.9%、脂質1.2%、糖質9.6%、灰分0.4%、食物繊維9.4%で構成されている。このようなエネルギー源の少ないリンゴ搾り粕から酢酸を製造するには、酢酸発酵に重要な工程であるエタノール発酵を効率的に行わなければならない。これまでにリンゴ搾り粕の前処理方法や酵素処理の検討、エタ

ノール発酵菌の探索と作出及び発酵温度、時間やpHの検討、並びに酢酸発酵方法の検討等を行った。その結果、エタノール発酵菌として、*Candia shehatae* (*C. shehatae*) を用いることがリンゴの搾り粕からエタノールを効率的に生成できることを明らかにした⁷⁾。また、*C. shehatae*の発酵能を高めるために、紫外線照射による変異操作によって、5%エタノール耐性の*C. shehatae* (YHO503株) を



方法: -10°C冷凍恒温室でシャーレに20mlの氷を作製し、各1gを散布し経時的に水分量を計測

図3 酢酸カリウムをコーティングした凍結防止剤の融氷効果

作出し、特許庁に寄託した。リンゴ搾り粕の酢酸発酵は、リンゴ搾り粕を加熱後、繊維素分解酵素処理し、*C. shehatae* (YHO503株)を接種し、25℃で15~18日間培養した。その後、酢酸発酵を行うために酢酸菌の菌量を 1×10^4 になるように接種し、エアレーションしながら25℃で15~18日間培養した。この工程によって、リンゴ搾り粕100gから5.43gの酢酸を生成できた³⁾。グルコース量、エタノール量及び酢酸の生成量の推移を図2に示す。

5. ホタテ貝殻の脱塩、粉碎及び焼結技術

ホタテ貝殻の主要成分は炭酸カルシウムであるが、少量の塩分(NaCl)と有機物も含んでいる。特に塩分の含有は、本研究開発の目的である非塩素系凍結防止剤を得ることを第一義的に考えれば問題である。ホタテ貝殻から塩分を効率的に除去しなければならない。また、ホタテ貝殻(炭酸カルシウム)を酸化カルシウムにするときに必要なホタテ貝殻の粉碎と焼結技術等について検討した。その結果、回転式水洗装置を用いて塩分除去した貝殻を破砕機で粉碎し、回転焼結装置で800℃、2.5時間の処理を施し、酢酸カルシウムの原料となる酸化カルシウムを得ることができた。現在は、焼結炉の耐久性や効率性などの詳細部分を検討しているところである。

6. 新規酢酸カルシウム系凍結防止剤

凍結防止剤は用途別に粒剤と液体状の二種類がある。本研究開発では粒剤タイプの凍結防止剤に関する製造法について検討した。一般に、酢酸カルシウムは潮解性が低く、-7℃以上で凍結防止効果を示し、速効性には適さないとされている。この欠点を解決するために、酢酸カルシウムを心材に、酢酸カリウムなど環境に配慮した凍結防止物質を被覆(コーティング)して、即効性と持続性を任意に制御できる新規凍結防止剤を製造して基

礎的な検討を行った。それらの主な成績を述べると、酢酸とホタテ貝殻を微粉末にして、焼結して酸化カルシウムを得て、それに40%酢酸を噴霧する方法によって、安定した粒状の凍結防止効果が認められる酢酸カルシウムを得ることができた。また、酢酸カルシウムの粒剤を心材として、酢酸カリウムをコーティングした凍結防止剤¹⁾は酢酸カリウムのコーティング濃度による速効性等の凍結防止や融水効果が認められた(図3)。コーティング剤として酢酸カリウムの他に尿素等を用いても同様の融水効果を示した。さらに、それらを効率良くコーティングするために心材との中間に糖類等のバインダーを用いて、良好な凍結防止効果を得ている。すなわち、コーティング方法を制御することによって、任意の即効性や緩慢性を有する非塩素系凍結防止剤が製造可能であると考えている。

7. 凍結防止剤の製造システム設計と実証試験計画

リンゴ搾り粕とホタテ貝殻を原料とした酢酸カルシウム系の凍結防止剤を高効率的に製造することを実証する製造システムを設計した⁵⁾。その概略を図4に示した。製造システムは4つの工程で構成される。リンゴ搾り粕から酢酸を製造する①酢酸製造工程、ホタテ貝殻から酸化カルシウムを製造する②カルシウム製造工程、得られた酢酸とカルシウムを反応させ、酢酸カルシウムの粒剤又は酢酸カリウムをコーティングした粒剤を製造する③凍結防止剤製造工程、さらにリンゴ搾り粕の酢酸発酵後の残渣を家畜の飼料化するための④飼料製造工程である。凍結防止剤の製造能力は約100トン/年間を想定している。さらに本製造システムは、事業化するためのビジネスプラン作成に資する目的の実験でもあり、製造プロセスに関連する各種データを入手するための種々なセンサや計測装置を付加している。これらはゼロ・エミッション型の生産システムを目指して設計段階から考慮したものである。

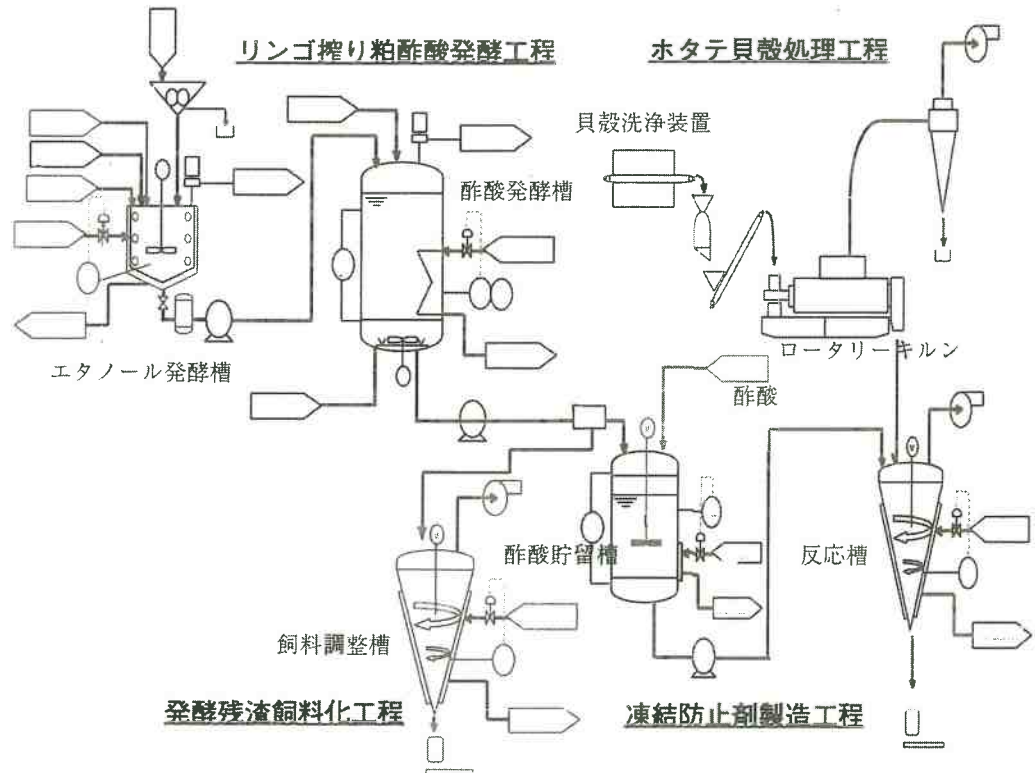


図4 凍結防止剤の製造システム想定図

本製造システムで製造した酢酸カルシウムや、酢酸カリウムをコーティングした酢酸カルシウムを野外で散布し、融雪効果の実証試験を実施すると共に、道路やその周辺植物などの環境に対する影響を調査する計画である。

減量化と塩害による環境問題を一挙に解決できるものと期待されている。本プロジェクトは経済産業省の「平成14年度地域新生コンソーシアム研究開発事業」に採択され、これから鋭意、実用化に向けた研究開発を遂行する所存である。

8. おわりに

本稿は、青森県の基幹産業から大量に排出されるホタテ貝殻、リンゴ搾り粕という二つの産業廃棄物の有効利用と、従来の塩素系凍結防止剤による塩害等の環境問題を改善するために、産業廃棄物を原料とする新しい非塩素系凍結防止剤の製造技術の研究開発であり、量産に向けた製造システムを実証するものである。同時に、産学官のコラボレーションを構築してビジネスモデルとしての事業化を試みるものでもある。これまでの研究開発の基礎的検討を概略したが、この研究開発の進展によって農林水産物由来の産業廃棄物の

文献

- 1) 遠藤裕丈ら (1999), 開発土木研究所月報, 21-31
- 2) 堺孝司 (1995), 北海道開発局開発土木研究所講演会特集号, VOL. 8th, 20-35
- 3) 特許出願中, 特願2002-129279, (2002)
- 4) 特許出願中, 特願2002-129281, (2002)
- 5) 特許出願中, 特願2002-129280, (2002)
- 6) Vitaliano, D.F. (1991) Rensselaer Polytechnic Institute, Economics Department, Troy, New York
- 7) 山口信哉ら (2001), 未来を開くグローバルテクノロジー, 164-167

◀文献情報▶

クローン牛におけるX染色体不活性化の異常パターン

Aberrant patterns of X chromosome inactivation in bovine clones

Fei Xue¹, X. Cindy Tian¹, Fuliang Du¹, Chikara Kubota^{1,2}, Maneesh Taneja¹, Andras Dinnyes¹, Yunping Dai¹, Howard Levine³, Lygia V. Pereira¹, and Xiangzhong Yang¹

¹University of Connecticut, USA, ²Kagoshima Prefectural Cattle Breeding and Development Institute, Japan, ³Tufts University School of Veterinary Medicine, USA, ⁴Universidade de São Paulo, Brazil

Nature Genetics, 31, 216-220 (2002)

哺乳動物のメスの細胞には2本のX染色体がある。メスの接合子(受精卵)のX染色体は2本とも働いているが、正常な状態では胚の発生に伴い2本のうち1本のX染色体上の遺伝子が働かなくなる(X染色体の不活性化)。一方、雌の体細胞クローン胚においては、1本の活性X染色体と1本の不活性X染色体をドナー細胞核から受け取ることとなる。これまで、クローンマウスにおいては、X染色体の不活性化パターンは正常であることが報告されているが、他の動物種においては検討されていない。そこで著者らは、X染色体上のモノアミンオキシダーゼ・タイプA(MAOA)遺伝子を含む10個の遺伝子の発現様式について、13才のホルスタイン種メス牛の体細胞を用いたクローン子牛10頭および生存クローン牛の繊維芽細胞由来105日齢クローン胎子を用いて調べた。妊娠期間を満了して出生した子牛のうち、卵丘細胞由来クローンでは6頭中2頭、皮膚繊維芽細胞由来クローンでは4頭全頭が出生後24時間以内に呼吸器疾患で死亡した。自然繁殖の子牛および死亡クローン5頭中3頭で、脳、腎臓、心臓、肝臓および脾臓においてMAOAおよびXist遺伝子の発現が認められた。また、他の8種類の遺伝子発現を調べたところ、自然繁殖子

牛においては全頭で全ての遺伝子発現が認められたが、死亡クローン牛の多くの組織においては少なくとも2個の遺伝子がまったく働いていなかった。さらに、胎盤のMAOAについて検討したところ、自然繁殖個体の胎盤においては母側のMAOAが発現しており、父側由来X染色体が選択的に不活性化されていた。一方、生存クローン4頭ではランダムにX染色体の片方の遺伝子のみが働いていたが、死亡クローンでは両方のX染色体の遺伝子が働いていた。

本論文において、体細胞クローン作出の際にDNAのメチル化に異常が起こり、X染色体からの遺伝子発現が正常に行われないうこと、また、この異常の程度により種々の時期に流産・死産がおこる可能性が示された。X染色体不活性化の異常パターンだけで全てを説明できるわけではないが、クローン牛の生産効率をあげるためには、今後、遺伝子発現の正常性を確保する研究をさらに進める必要性が明らかとなった。

(抄訳：下司雅也, GESHI Masaya, 独立行政法人農業技術研究機構畜産草地研究所)

◀文献情報▶

アトピー性疾患予防における
プロバイオティクスの効果

Probiotics in primary prevention of atopic disease : a randomised placebo-controlled trial

Marko Kalliomaki, Seppo Salminen, Heikki Arvilommi, Pentti Kero, Pertti Koskinen, Erika Isolauri

The LANCET. Vol357. April 7, 2001

先進国において、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息といったアレルギーの急増が社会的な問題となっている。13-14歳のフィンランド人11607人を対象とした幼少期の喘息やアレルギーの国際的な調査によると、10-20%の子供に喘息、15-23%の子供に鼻炎、15-19%の子供にアトピー性湿疹の兆候が見られたという報告もある。

筆者らは、本研究を通じて腸内フローラを形成する特有の微生物がアトピー性疾患予防において重要な役割を担っている可能性があるとして提案している：つまり、腸内フローラを形成する特有の微生物が (1)Th1型の免疫応答を引き起こし、(2)TGF β の産生を促し、(3)IgA産生を促すことで抗アレルギー効果を促進する可能性がある。それゆえに、腸内フローラは胎児や新生児の普遍的にTh2免疫側に傾いた免疫システムを改善する可能性がある。生後まもなく腸管内で微生物と抗原との直面が起こり、生存できる菌体が宿主として腸内フローラを形成する。その結果、共生している腸内細菌が、消化管に参与するリンパ組織の発達に大きな影響を及ぼす可能性があるとして考察している。

プロバイオティクスとは、人間に有用な作用をもたらす微生物のことをいい、例えば *Lactobacillus rhamnosus* (*Lactobacillus* GG) は幼少期の子供にとって安全で、アレルギー性鼻炎や食物アレルギーを抑える効果を持っていることが示唆されている。アトピー性疾

患防止におけるダブル盲験において、筆者等は *Lactobacillus* GGとプラセボを父親、母親それぞれの一親等以内の親族に、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、アレルギー性喘息の患者が一人以上いる妊婦約150人に出産前4週間から出産後6ヶ月投与し、どのような傾向が出るのかを調査した。2歳の年齢でアトピー性皮膚炎であると診断された子供は46/132 (35%)であった。喘息と診断された子供は6人、アレルギー性鼻炎と診断された子供は1人であった。プロバイオティック群におけるアトピー性皮膚炎の発生頻度は、プラセボ群の半分であった (15/64[23%] vs 31/68[46%])。

以上の結果から、腸内フローラがアレルギー発生の予防に重要な役割を担っている可能性が示唆された。今後、更なる検討により乳酸菌のアレルギー改善のメカニズム解明が行われることを期待する。

(抄訳：西村新吾, NISHIMURA Shingo, カルピス(株)基盤技術研究所)

◀文献情報▶

除草剤耐性ナタネの花粉は
3 kmも飛ぶ。

Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial Canola fields.

Mary A. Rieger, Michael Lamond, Christopher Preston, Stephen B. Powels, Richard T. Roush.

Science 28, 2386-2388 (2002)

遺伝子組換え植物について、近頃はGM (genetically modified) 作物と言うらしいが、賛否両論何かとかまびすしい。言うまでもなく、論点は二つ。一つは食品として安全性についてであり、もう一つは、GM作物の遺伝子が雑草や同種の植物に伝搬流入する恐れについてである。前者については、薬物あるいは食品添加物の安全性テストの研究蓄積を生かすことがある程度可能であろうが、後者については、小規模な所謂実験室規模のデータしかなく実際のフィールドにそれが適用できるのかという疑問が常につきまとっていた。

除草剤耐性作物の処女地であるオーストラリアに、2000年、除草剤クロロスルフルロン耐性 (GMではなく突然変異により作出したもの) のナタネが始めて作付けされた。かねてからこの問題に興味のあった植物生殖生態学者のメリー・ロジャーは、これを絶好の機会と捕らえ、ニューサウスウェル、ヴィクトリア、サウスオーストラリアの3州 (この3州でオーストラリアのナタネ生産の半分を占め、環境も非常に多岐にわたる) にまたがる、調査地点63箇所の大調査を敢行した。調査個体、実に4800万。また、耐性ナタネ栽培ならびに調査圃場面積は25-100haと極めて広いことにも留意していただきたい。

除草剤耐性遺伝子はわずか1世代を経るだけで、調査地点の63%にもひろがり、耐性ナタネの出現率は最高0.197%、殆どの圃場で0.03%以下である。この耐性の出現は花粉の飛来によるものばかりではなく突然変異による新たな耐性ナタネの出現も考慮にいれねば

ならないが、著者らの以前に実験によればその出現頻度はわずか 10^{-6} レベルであり、この値は飛来によるものと考えてよい。驚くべきことは、栽培圃場より3 km先の地点で耐性個体が出現していることである。従来の実験室規模のデータではたかだか2-300mしか花粉が飛ばないとされていたのである。また、従来、圃場の端の個体は中央部より遺伝子流入頻度が高いとされていたが、今回の結果では大差はなく、常識の危うさを物語っている。これらの調査結果を基に著者らは以下のように述べている。まず、一端GM作物が導入されれば、GMフリーの同種作物を生産することは事実上不可能になること。次に、遺伝子流入率は低く、欧州およびオーストラリアの規制値1%以下をクリアすることはむしろかしくないとしている。

ここからは、筆者の感想である。この論文の数値は一人歩きし、様々な立場の論者が様々な場面で自説を補強するデータとして使うに違いない。だが、この数値を全て場合に当てはめることは危険である。受粉様式は個々の作物によって異なるからである。ここに使われたナタネは他殖もする自殖性作物 (ある品種での自殖率70%) で花粉寿命も2週間と長い虫媒および風媒花であるが、自殖率が高く花粉の寿命短い (20分) 風媒花のイネではこの値はもっと小さくなるであろう。キャベツ、ダイコンなどはナタネと同等の花粉寿命、花粉伝播様式をとるが他殖性作物であるので、遺伝子流入頻度はもっと高くなる可能性がある。また、これはわずか2世代目の結果であり、何世代も栽培した後では遺伝子流入頻度は複利計算で増加することになりはしないか、規制値よりはるかに小さいと安心できるのであろうか。

(抄訳: 岩井純夫, IWAI Sumio, 鹿児島大学農学部)

◀文献情報▶

トウモロコシ SEMAPHORE1 は *knox* 遺伝子とオーキシン極性輸送を制御する。

SEMAPHORE1 functions during the regulation of ancestrally duplicated *knox* genes and polar auxin transport in maize

Michael J. Scanlon, David C. Henderson and Brad Bernstein

Botany Department, University of Georgia, Athens, GA 30602, USA

Development 129, 2663-2673 (2002)

semaphore1 (*sem1*) のアレルをもつ *sem1-R* 変異体は Mutator-transposon バックグラウンドのトウモロコシのスクリーニングから得られ、トウモロコシ B/A translocation を用いた解析により、この変異は第 9 染色体の短腕に存在することが明らかとなった。

sem1 変異体の胚は発生が遅れ、播種しても発芽しない致死のものがある。栄養生長以降では、野生型と比べ出葉枚数に変化はないが節間が短くなる表現型を示し、葉身の中央脈に沿って通常よりも遠位に複数の葉舌を分化する個体が存在した。葉身と葉鞘の境界は乱れ、この境界近くの葉縁では葉鞘が増殖してできた突起状の構造ができた。また葉鞘の維管束にも異常が見られた。根においても異常が見られ、主根、不定根ともに数が少なく短くなっており、特に側根で顕著であった。加えて *sem1* 変異体の雄穂は不稔となるなど、*sem1* 変異体は多面的な表現型を示す。

植物のホメオボックス遺伝子である *class1 knox* (*knotted1*-like homeobox) 遺伝子は、多くの植物の発生過程、すなわち細胞運命の決定、側生器官のイニシエーションや頂端分裂組織 (shoot apical meristem: SAM) の維持に影響を与えると考えられている。筆者らは KNOX 抗体を用い、*sem1* 変異体の芽生えおよび胚での KNOX タンパク質の蓄積する場所を調べた。その結果 *sem1* の芽生えでは、

野生型同様に P0 (Plastochron 0)-P3 の新しい葉原基に KNOX タンパク質が蓄積していなかったのに対して、P4-P5 以降の古い葉では KNOX が異所的に蓄積していた。このことから、葉の発生初期には *SEMI* 遺伝子以外の遺伝子群が働き、*SEMI* 遺伝子は後のステージで機能することが示唆された。胚に関しては、胚盤や葉原基については野生型同様な KNOX タンパク質の蓄積が見られたのに対し、胚乳では異所的な蓄積が見られた。

RT-PCR 法を用いた解析の結果、*sem1* 変異体の芽生えや若い葉では、少なくとも 2 つの *class1 knox* 遺伝子 *gnarley1* と *rough sheath1* が異所的に発現していることがわかった。

更に、胚軸におけるオーキシン (IAA) の極性輸送量の測定から、*sem1* 変異体では求基的な極性輸送に明らかな欠陥があることがわかった。トウモロコシやコムギ、シロイヌナズナにおいて、オーキシンの極性輸送異常が節間伸長や側根形成、維管束の分化に影響を与える例が知られており、筆者らは上述した *sem1* の多面的な異常もオーキシンの極性輸送の異常によって引き起こされる可能性があることを提起している。

なお、オーキシンの極性輸送に異常があり、かつ KNOX が異所的に発現する変異体としてトウモロコシの *rough sheath 2* (*rg2*) が既に報告されている。*rs2* 変異体では *class1 knox* 遺伝子の *KNOTTED1* が異所的に発現するなど、*sem1* 変異体とは *knox* 遺伝子の発現パターンに違いがあることや、*sem1 rs2* 二重変異体が相加的な表現型を示したことから、*SEMI* 遺伝子は *RS2* とは別の新しい経路で働く遺伝子であることが示唆される。

knox 遺伝子の異所的な発現と、オーキシンやジベレリン等の植物ホルモンの負の制御が同時に見られる例が、上述の *rs2* のほか、タバコやシロイヌナズナでも報告されており、*SEMI* 遺伝子がこれらの解明に寄与することがのぞまれる。

(抄訳：丸尾嘉宏, MARUO Yoshihiro, 東京大学大学院 農学生命科学研究科)

◀文献情報▶

魚油をベースとした構造脂質の酸化特性に対する乳化剤の影響

Effect of Emulsifier on Oxidation Properties of Fish Oil-Based Structured Lipid Emulsions

Lydia B. Fomuso, Milena Corredig and Casimir C. Akoh

Department of Food Science and Technology, Food Science Building, The University of Georgia, Athens, Georgia 30602-7610

J. Agric. Food Chem., 50, 2957-2961 (2002)

近年、人々の健康志向が高まる中、魚の摂取が体に良いという認識が広まりつつある。魚油は高含量のDHA、EPAを含んでおり、これらの脂肪酸は必須脂肪酸として生体内で重要な役割を果たしている。DHAは脳や網膜内に多く存在し、特に幼児期においてはDHAが欠乏した場合、視力の発達などに悪影響を及ぼすことが報告されている。また、EPAの摂取は冠動脈疾患、免疫不全等、様々な疾病に対し良い影響を与えられている。現在、魚油をより効率良く摂取する方法について様々な研究が進んでおり、魚油では主にトリグリセリドのsn-2位に存在するDHA、EPAの結合位置をより吸収されやすいsn-1,3位に変えた構造脂質化もその1つである。

しかし、DHA、EPAは酸化されやすいという欠点があり、構造脂質化によってさらに酸化されやすくなるという報告もある。酸化された魚油は悪臭を放ち、摂取すると生体に悪影響を及ぼすため、酸化防止は魚油の有効利用を考える上で重要な問題となる。

Lydiaらは、ニシン油を酵素処理して作製した構造脂質をTween20、ショ糖脂肪酸エステル、モノ/ジアシルグリセロール、乳性タンパク単離物、レシチンなどの乳化剤(0.25%または1%)を使用して、高圧ホモジナイザーにより10mMリン酸緩衝液(pH7.0)

中で乳化させたものを作製し、乳化液としての安定性や酸化安定性等を検討した。その結果、レシチン以外の乳化剤を使用した乳化液は4℃保存下で試験期間の48日間を通して安定であり、DHA、EPAの含量比は全ての乳化液で変化しなかった。一次酸化の指標である過酸化物質濃度はTween20を用いた場合が、二次酸化の指標であるチオバルビツール酸反応物濃度は、レシチンを用いた場合が他の乳化剤のものに比べて低値を示した。また、乳化剤濃度は、乳性タンパク単離物をのぞいて、高濃度で加えた方がより高い酸化安定性を示した。

この報告は乳化剤の種類や量を検討することで、魚油の酸化安定性をより高めることができる可能性を示している。今後研究が進むことで、魚油の活用領域がさらに拡大されることが期待される。

(抄訳：室田一貴, MUROTA Itsuki, マルハ(株)中央研究所)

◀海外便り▶

大規模専業農家を高度に支援する 作物生産機械の通信・制御技術の開発 —米国カーネギーメロン大学での1年間—

独立行政法人 北海道農業研究センター
村上 則 幸

1. はじめに

私は科学技術庁（現文部科学省）の長期在外研究員として2000年9月より1年間、米国ペンシルバニア州ピッツバーグ市にあるカーネギーメロン大学ロボット工学研究所での在外研究の機会に恵まれた。ピッツバーグ市はかつての鉄鋼の街の面影はほとんどなく、ハイテクや医療の街へ大きく変貌を遂げている。その中心になっているのが、ピッツバーグ大学とカーネギーメロン大学（略してCMU）である。CMUの名は20世紀初頭の鉄鋼王Andrew Carnegieによって科学と芸術の融合を理念に設立されたカーネギー工科大学と金融一族として名高いメロン家の基金により設立されたメロン研究所が一つになったことに由来しており、私の在学中に創立100年の節目を迎えた。心理学、計算機科学や産業経営大学院が全米でも高い評価を受けており、特に計算機科学部はある雑誌の大学ランキングで2001年にはMITやスタンフォード大を抑えて全米トップにランクされている。私の所属していたロボット工学研究所（Robotics Institute）もその計算機科学部の研究所の一つである。

CMUの校風は、研究を単にアイデアで

MURAKAMI Noriyuki

〒062-8555 札幌市豊平区羊ヶ丘1

終わらせず、実際の問題を解くことや、動くシステムを作り上げることを重視している点である。ロボット工学研究所の研究気質もその延長にあり、総勢250人ほどの陣容で、実際の生産現場等で役立つことを意識した農業、工業、医療や宇宙等のありとあらゆる分野のロボット研究が精力的に行われていた。



図1 試作した小型飛行船（Blimp）

2. 指導教官と研究について

私の指導教官の金出武雄先生は20年ほど前に米国に渡り10年以上ロボット工学研究所の所長の職に就かれていた方で、私の在職中に所長の座は退かれたものの、CMUの教授と

日本の産業総合研究所デジタルヒューマンラボのラボ長を兼任されており日米の往復で多忙な日々を送られている。所長といっても管理職といった感じではなく、私をはじめ多くの学生を直接指導されていた。多忙なため、ミーティングは通常土曜日に行っていたが、緊急に話し合いが必要な場合には、平日の真夜中や日曜に開かれることもあり、いつ休息を取られているのか判らないくらいの仕事ぶりであった。

私は金出先生の指導の下、博士課程のインド人学生と一緒に小型飛行船（blimp）のビジョンによる自律飛行の研究に取り組んだ。この研究では直径75cmほどの小型飛行船に搭載したカメラの画像から自己の位置や姿勢

を計算して、その情報を基にプロペラを制御して自律飛行できるシステムの開発を目的としている。飛行船を画像等の地上の情報収集に役立つのが将来の目標である。飛行船は風の影響を受けやすく、また搭載できる重量の制約は大きいものの、ヘリコプター等の飛行機械に比べ墜落などによる損失の心配も少なく、安全である。また安価なので複数の飛行船を利用したシステムも考えやすい。

システム実現のために、制御対象である飛行船はできるだけ軽量、簡素にすることが望ましく、そのために通信を使って情報処理をすべて外部のコンピュータに任せてしまうことが得策であると考えられる。

この研究の中で、私は制御システムの担当となり、飛行船を外部のコンピュータで操作できるシステムをラジコンを改造して試作するとともに、飛行船の運動方程式や空気抵抗係数、慣性モーメント等のパラメータを基に、飛行船に適する制御方法の開発を目指した。

初めは飛行船に搭載したカメラで撮影した画像を使った制御を検討していたが、画像に含まれる任意の部位をカメラが動いても追いつける手法 (future tracking) の性能が思わしくなかったため、飛行船にいくつか目印を取り付けて外部のカメラでその位置を認識し、目印の位置関係から飛行船の位置と姿勢を推定して制御する方法に切り替えた。

まずは室内で飛行船を糸で固定してヨー角のみの1自由度としてPD制御を試みた。その結果、シミュレーションと実験で一致した良好な実験結果を得られたので、前、後進を加えて2自由度に増やし、2次元平面での飛行へ手法の拡張を試みた。しかし、試作したシステムは図1に示すように左右各1基と上下用1基の計3基のプロペラを持ち、直接動かせるのはヨー角と前、後進及び上下動である。これは自動車と同じ非線形のシステムであり、滑らかに任意の目標位置に近づけることができない。具体的に自動車を例に説明すると、自動車は直接横方向には進めないため縦列駐車等で向きを変えずに横方向に移動させたい場合には何度か切り返して徐々に寄せ



図2 ロボット工学研究所の周辺

後方にみえるのがピッツバーグ大学のCathedral of Learning (学問の大聖堂)。教室のある建物としては西半球で最も高い(高さ162m、42階建て)。

るしかなく、滑らかに動くことができないのをイメージすると分り易い。

そこで、時間関数を用いて縦列駐車のように前後方向位置とヨー角をそれぞれ交互に制御して徐々に目標位置に近づけることを試みたが、風の影響から目標位置に整定させることはできなかった。そのため、システムの擬似線形化による前後方向位置とヨー角の同時制御方法を検討してシミュレーションを行った。残念ながら実験の前に帰国の途につかなければなかったが、帰国後まもなく自律飛行に成功したとの知らせを受けた。現在、この仕事は日本人研究者が引き継ぎ、より大型な飛行船の自律飛行に取り組んでいる。彼はこの非線形制御のスペシャリストであり今後の研究の進展が期待される。私はこの研究の中で通信、画像処理や制御について多くの技術を習得し、いくつかの新しい知見も得ることができたので、今後これら手法を農業機械の遠隔制御の研究のなかで発展させていく所存である。

3. 研究環境と研究評価システム

ロボット工学研究所で実施されている研究の多くはプロジェクト研究で、ポストドク等を含めたスタッフと博士課程の学生により推進されている。プロジェクトには計算機科学等の工学系の専門家ばかりでなく、必要ならば社会科学や芸術等の他分野の専門家が加わることもある。通常、研究グループでまとまっている訳ではなく、各人のオフィスの場所はばらばらであるが、特に問題ではないようである。私自身も共同研究者とオフィスは別であったが、不便さは感じなかった。

学生は年2回の学生評価会議で評価される。会議では評価が一人の指導教官にまかされるのでは不公平であるとの考えから、学生一人一人をスタッフ全員で評価する。指導教官一人に評価が委ねられることの多い日本の大学とは異なるシステムである。この会議でよい評価を受けられなければ警告が与えられ、次回までに改善されなければ辞めさせられることもあるという。かなり厳しい印象を受けるが、向いていないのであれば早くほかの道に進めてあげた方が本人のためというアメリカ的な考え方が根底にあるらしい。5年以上博士課程に在籍している学生も多く、指導教官にもよるが学位の取得は厳しそうである。

スタッフについても、tenureと呼ばれる終身雇用の権利を得るまでには競争を勝ち抜かなければならない。その厳しさから「Publish or Perish」(出版か死か)、「Demo

or Die」(デモか死か)と言われているそうである。もし順調に業績をあげることができれば任期付き契約を数回更新して終身雇用の資格を得ることができる。しかし、終身雇用の資格が得られそうもない場合、他の大学や企業に移る人も多いと聞く。

4. おわりに

今回の在外研究は私にとってかけがえのない経験となった。活力のある研究環境の中で、世界中の研究者から刺激を受けた。また、多くの日本の大学や企業の方々とは知り合う機会にも恵まれた。彼らには仕事ばかりでなく生活の立ち上げ等でもお世話になり、非常に感謝している。このような機会を与えてくださった、農水省関係者や旧科技厅の方々には衷心より感謝申し上げる。

余談になるが、帰国後も思い出される言葉がある。ノーベル経済学賞受賞者で計算機科学のノーベル賞といわれるチューリング賞の受賞者でもあり、さらに心理学で大統領メダルをも獲得したCMUの天才科学者 故 Herbert A. Simon教授の「その問題はあなたが解いてくれるのを待っている。」である。この言葉が頭に浮かび、食の安全の確保や環境との調和等の日本農業のかかえる問題も我々農業関係者の手によって解決されるのを待っているのではないかと考える時、それに挑戦する意欲が沸いてくる。

生研機構からのご案内

新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業

新技術開発部基礎研究課

「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」では、農林水産物の高付加価値化や新需要の開拓、農林水産業・食品産業等の生産性の飛躍的向上、地球規模での食料・環境問題の解決等に資することを目的として、生物の持つ多様な機能の高度利用を促進する基礎研究を推進しています。

本年度の研究課題募集においては、研究者の対象年齢を制限しない「一般型」について166課題、39歳以下の若手研究者を対象にした「若手研究者支援型」について140課題、計306課題の応募が寄せられました。これらの提案課題について、当機構に設置した選考・評価委員会において厳正な審査を行い、下記の13課題（「一般型」8課題、「若手研究者支援型」5課題）を採択することに決定しました。

「一般型」

花芽分化誘導における光周性過程から統御過程への新規な遺伝子ネットワークの解明 〈①〉

- 米田 好文 (東京大学大学院理学系研究科)
- 井澤 毅 (独立行政法人 農業生物資源研究所)
- 小野 道之 (筑波大学生物科学系)
- 阿部 光知 (京都大学大学院理学研究科)

ゲノム情報の活用による生活習慣病予防機能を強化した食品素材の創出 〈②〉

- 吉川 正明 (京都大学大学院農学研究科)
- 石本 政男 (独立行政法人 農業技術研究機構 近畿中国四国農業研究センター)

受精卵と核移植卵の相同性：クローン個体作出への応用 〈①〉

- 角田 幸雄 (近畿大学農学部)
- 徳永 智之 (独立行政法人 農業生物資源研究所)

植物細胞の増殖と分化を制御する分子的ネットワーク 〈①〉

- 町田 泰則 (名古屋大学大学院理学研究科)

生殖細胞のインプリント機構の解明と単為発生動物の開発 〈①〉

- 河野 友宏 (東京農業大学応用生物科学部)

生物毒素素材を利用した疾患モデル動物作製とその応用に関する先導的研究 〈③〉

- 河野 憲二 (奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センター)
- 米川 博通 (財団法人 東京都医学研究機構 東京都臨床医学総合研究所)
- 正木 春彦 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

耐病性植物育種の分子基盤研究 〈①〉

- 大橋 祐子 (独立行政法人 農業生物資源研究所)

動物ウイルスによる宿主細胞制圧機構の解明 〈⑥〉

○甲斐 知恵子 (東京大学医科学研究所)

「若手研究者支援型」

イルカ型ソナーをモデルとした次世代魚群探知技術の研究 〈⑤〉

○赤松 友成 (独立行政法人 水産総合研究センター 水産工学研究所)

家禽の光周性と排卵・放卵周期の分子機構の解明 〈①〉

○吉村 崇 (名古屋大学大学院生命農学研究科)

健康長寿社会に向けた食品開発のための食品物性・感性科学的研究 〈②〉

○神山 かおる (独立行政法人 食品総合研究所)

タンパク質分解制御因子による細胞伸長制御及び開花時期決定の分子制御メカニズムの解明とその応用 〈①〉

○清末 知宏 (香川大学遺伝子実験施設)

ナノ加工技術を利用した膜タンパク質のナノバイオロジー 〈⑥〉

○野地 博行 (東京大学生産技術研究所)

注) 1. 〈 〉内は次の研究分野を示す。

- | | |
|------------------------|-------------------|
| ①：生物機能解明・生産力向上分野 | ②：高機能・高品質食品分野 |
| ③：生物系素材分野 | ④：生物機能利用による環境改善分野 |
| ⑤：工学・環境学的手法による生物機能向上分野 | ⑥：共通基盤に関する研究分野 |

2. 氏名の○印については研究代表者，その他の者は研究分担者。

3. 採択課題の並びは研究課題名の五十音順である。

(問い合わせ先)

新技術開発部基礎研究課 (担当：渡辺，高瀬) TEL：03-3459-6569 FAX：03-3459-6594

URL：<http://www.tokyo.brain.go.jp/>

新事業創出研究開発事業 (地域型)

新技術開発部技術開発課

新事業創出研究開発事業では，平成13年度から，特に地域特性を活かした研究分野を対象に，民間企業を主体とした地域研究共同体 (地域コンソーシアム) を形成し，地域における新事業，新雇用の創出につながる研究開発を推進しています。

平成14年度においては，学識経験者から成る選考委員会による厳正な審査の結果，49の地域コンソーシアムの応募 (参加機関延べ255) の中から次の4つの地域コンソーシアム (参加機関延べ21) を採択することとしました。

北海道の農畜産加工副産物を原料とした糖脂質セレブロシド発酵生産技術の開発

(技術コーディネーター) 大西 正男：帯広畜産大学畜産学部
 (地域コンソーシアム参加機関) 小田 有二：独立行政法人 農業技術研究機構 北海道農業研究センター
 帯広畜産大学畜産学部
 日本甜菜製糖株式会社
 よつ葉乳業株式会社
 独立行政法人 農業技術研究機構 北海道農業研究センター
 日本製粉株式会社

農水産物の脂溶性機能成分CDラップを用いた新規食品の開発

(技術コーディネーター) 三輪 章志：石川県農業総合研究センター
 (地域コンソーシアム参加機関) 石川県農業総合研究センター
 岩手大学農学部
 株式会社 横浜国際バイオ研究所
 株式会社 スギヨ
 株式会社 柴舟小出

天敵の行動制御による中山間地（京都府美山町）における減農薬害虫防除技術の開発

(技術コーディネーター) 高林 純示：京都大学生態学研究センター
 (地域コンソーシアム参加機関) 京都大学生態学研究センター
 独立行政法人 農業技術研究機構 中央農業総合研究センター
 株式会社 四国総合研究所
 独立行政法人 農業技術研究機構 九州沖縄農業研究センター
 独立行政法人 農業技術研究機構 近畿中国四国農業研究センター
 曾田香料株式会社

チオレドキシンを応用した機能性食品の開発

(技術コーディネーター) 淀井 淳司：京都大学ウイルス研究所
 (地域コンソーシアム参加機関) 京都大学ウイルス研究所
 京都大学大学院農学研究科
 オリエンタル酵母工業株式会社
 レドックス・バイオサイエンス株式会社
 株式会社 ロック・フィールド

(問い合わせ先)

新技術開発部技術開発課 (担当：村井, 石橋) TEL：03-3459-6567 FAX：03-3459-6577

URL：http://www.tokyo.brain.go.jp/

融資制度のご案内

新技術開発部融資課

制度の概要

融資対象である試験研究の成功度を5段階評価し、成功度が低くなった場合には貸付利率を低減する一般融資制度と、貸付元本を減免する特別融資制度があります。

融資対象者

民間企業、農林漁業団体、公益法人。ただし特別融資は資本金10億円未満の研究開発型企業。

対象試験研究

生物系特定産業技術に関する応用研究段階または事業化に結びつく可能性の高い試験研究で、試験研究期間は5年以内です。

融資限度額

研究期間中の各年度ごとに、対象試験研究費の7割を限度としてご融資いたします。

貸付対象経費

試験研究に必要な施設設備費・試験ほ場造成費・物品費・材料費・労務費・外注費など。

貸付条件

(1) 貸付方法

試験研究終了までの間、支出済み経費に対して貸付

(2) 基準利率

貸付時点の財政融資資金貸付金利に相当する率（平成14年9月現在1.3%）

(3) 償還期間・方法

試験研究終了後10年以内。原則として元金均等年2回分割償還

(4) 負担金

貸付金の試験研究期間中の利息相当額を、低減後の利率または減免後の元本で算出し、「負担金」として試験研究終了後に分割償還

(5) 担保・保証人

原則として必要

(6) 売上納付金契約

試験研究の成果を事業化した場合、その売上高の一定割合を納付していただきます。（特別融資制度のみ）

本資金のメリット

- ◎ 研究開発のリスク軽減のために、試験研究の成功度合いに応じて、利率を低減（低減率は最大100%）、または元本を減免（減免率は最大50%）します。

一般融資の場合：適用利率＝基準利率×成功度（1, 0.75, 0.5, 0.25, 0のいずれかの数値）

特別融資の場合：返済元本＝貸付金額の1/2＋貸付金額の1/2×成功度

- ◎ 最長15年の長期・低利（固定制）の資金です。
- ◎ 研究によって得られた特許権等、研究成果はすべて融資先企業に帰属します。

平成14年度募集を開始しています。詳細は窓口にお気軽にお問合わせ下さい。

生研機構 融資課 〒105-0001 東京都港区虎ノ門3-18-19 虎ノ門マリンビル10F

TEL 03-3459-6565 FAX 03-3459-6566 E-mail yushi@tokyo.brain.go.jp

編集後記

◆ブレインテクノニュース第93号をお届けします。

本号の総説では、野池達也氏（東北大学大学院）に、各方面から注目されているメタン発酵によるバイオマスエネルギーの生産に関する研究の現況を紹介していただいた。関連した国内情報として、坂井正康氏（長崎総合科学大学）・中川 仁氏（独立行政法人 農業技術研究機構 畜産草地研究所）らの草木を原料としたメタノール燃料合成技術の開発研究、坂 志朗氏・南 英治氏（京都大学大学院）らの超臨界メタノール処理による木質系バイオマスの液化技術を紹介していただいた。本号の表紙には、前記坂井正康氏・中川 仁氏らの研究成果のひとつであるガス化メタノールプロセス製造検証機「農林グリーン1号機」の写真を、両氏のご厚意により提供していただいた。

◆そのほかの国内情報として、黒岩常祥氏（東京大学大学院）のIn vitro重複受精系の開発による花粉管誘導機構の解明とその背景、菊地和弘氏・中井美智子氏（独立行政法人 農業生物資源研究所）・柏崎直巳氏（麻布大学）らによる体外成熟卵子への顕微授精による子豚の誕生、長濱嘉孝氏（岡

崎国立共同研究機構 基盤生物学研究所）のメダカの性決定遺伝子の発見を紹介していただいた。

地域の先端研究としては、花松憲光氏（青森県産業技術開発センター）に、リンゴ搾り粕やホタテ貝殻等の産業廃棄物を利用した環境循環型非塩素系凍結防止剤の開発実用化を紹介していただいた。

◆海外便りとしては、村上則幸氏（独立行政法人農業技術研究機構 北海道農業研究センター）の米国カーネギーメロン大学における大規模専業農家を高度に支援する作物生産機械の通信・制御技術の開発を、また文献情報では下司雅也氏（独立行政法人農業技術研究機構畜産草地研究所）、西村新吾氏（カルピス株式会社 基盤技術研究所）、岩井純夫氏（鹿児島大学農学部）、丸尾嘉宏氏（東京大学大学院 農学生命科学研究科）、室田一貴氏（マルハ株式会社 中央研究所）にそれぞれご紹介いただいた。

◆お忙しい中をご執筆下さった研究者各位に、深甚の謝意を申し上げます。

次号の総説では、椎茸の産地、品種の的確な判別法の研究を紹介して頂く予定です。ご期待下さい。 (畠山記)

本誌著作物の複写利用等について

本誌掲載の論文・記事の複写・転載等を希望される方は、執筆者ならびに生物系特定産業技術研究推進機構（生研機構）の許諾を得て行って下さい。

ブレインテクノニュース（第93号）

平成14年9月15日発行

編集兼発行者 堤 英 隆

発 行 所 生物系特定産業技術研究推進機構（生研機構）

〒105-0001 東京都港区虎ノ門3丁目18番19号 虎ノ門マリビル10F

TEL. 03-3459-6565 FAX. 03-3459-6566

e-mail kikaku@tokyo.brain.go.jp

URL <http://www.tokyo.brain.go.jp/>

©Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, 2002

BRAINテクノフォーラム
「動物ゲノム研究の成果と展開」
開催のお知らせ

主催：生物系特定産業技術研究推進機構、(社)畜産技術協会
後援：農林水産省（予定）
協賛：(社)農林水産先端技術産業振興センター（STAFF）
日時：平成14年10月4日（金） 13：00～17：00
場所：虎ノ門パストラル 新館5階ミモザの間（東京都港区虎ノ門4-1-1）

講演内容及び講師： (同時通訳付き)

- 1) 「精子形成異常により無精子症を発症するラット自然突然変異遺伝子 as の解明」
野口 純子 (独立行政法人農業生物資源研究所 基盤研究部門遺伝資源研究グループ生殖質保全研究チーム主任研究官)
- 2) 「褐毛和種牛における軟骨異形成性矮小体軀症の原因遺伝子同定とDNA診断法の確立について」
竹田 晴子 ((社)畜産技術協会動物遺伝研究所研究員)
- 3) 「ホルスタイン種における遺伝性横隔膜筋症の原因遺伝子の同定」
杉本 真由美 (独立行政法人家畜改良センター生産技術専門役)
- 4) 「ヒツジ繁殖性形質のゲノム解析：Genetic Analysis of Ovine Reproductive Traits」
Sue Galloway (ニュージーランド・AgResearch研究員)
- 5) 「米国農務省家畜ゲノム研究の現状と今後の展開について：Current Status and Future Perspective of USDA-ARS Livestock Genomics Research」
Steven Kappes (米国・農務省肉畜研究センター所長)

総合司会：国枝 哲夫（岡山大学大学院自然科学研究科教授）

参加費：無 料

お申し込み方法：FAX、e-mailまたは郵送にてお名前、勤務先、所属、住所、お電話番号をお知らせください。準備の都合上、お申込み・キャンセルは9月27日（金）までをお願いいたします。なお、お申し込みは定員になり次第締め切らせていただきますので、予めご了承ください。

お申し込み先：〒105-0001

東京都港区虎ノ門3-18-19 虎ノ門マリビル10階
生研機構 企画部 企画第1課（西元、岡本）
TEL：03-3459-6565 FAX：03-3459-6566
e-mail：kikaku@tokyo.brain.go.jp