

岐阜県生物産業技術研究所年報

平成16年度
(第7号)

岐阜県生物産業技術研究所

Gifu Prefectural Institute for Bio-Industrial Technology

ホームページのURL

<http://www.cc.rd.pref.gifu.jp/bio/>

あ い さ つ

生物産業技術研究所は平成10年4月に、蚕糸研究所からバイオテクノロジーを主体とした研究所として衣替えし、本年度で7年が経過しました。この間、多くの方々からのご助言・ご指導・ご協力並びにご鞭撻を賜り、この紙面をお借りして深く感謝を申し上げる次第です。

さて、岐阜県では、平成14年3月に「活力とゆとりある質の高い生活の実現と地域産業の活性化、新産業創出・育成」を基本方向とした「岐阜県科学技術基本戦略」を策定しました。当研究所におきましても、植物・昆虫・微生物といった生物を素材として、バイオテクノロジーの技術を駆使して県民や県政に役立つ実用的な応用研究を目指してきました。これらの研究から生まれた成果については、県内の企業等へ技術移転するための共同研究等、実用化へ向けての取り組みも行っているところです。

本年度の成果としては、実用段階に至っているものとして、トマト黄化葉巻病ウイルス簡易診断法の普及センター等への研修実施等があります。また、実用化に間近なものとして、微生物農薬の商品化へ向けた県内企業との共同研究を始め、植物による重金属汚染除去方法やオカラの腐敗抑制技術の開発等があります。この外にも多くの課題で研究が進展し、関係学会等にも積極的に発表してまいりました。

これら成果の概要を本年報に取り纏めましたので、ご高覧のうえ、ご批判やご意見を賜れば幸いです。

今後とも、現場のニーズを把握して実用的な出口に向かって、大学ならびに産業界等との連携を十分図りながら最先端の研究を進めてまいり所存です。一層のご協力、ご支援を重ねてお願い申し上げ発刊の挨拶とします。

平成17年3月

岐阜県生物産業技術研究所長
平 正 博

目 次

あいさつ

I	研究成果の概要	-----	1
1	先端育種分野	-----	1
2	昆虫機能分野	-----	6
3	微生物機能分野	-----	9
4	蚕糸技術分野	-----	1 5
II	特許・研究発表等リスト	-----	1 9
1	特許出願	-----	2 0
2	国際学会発表	-----	2 0
3	国内学会発表	-----	2 0
4	他誌掲載論文	-----	2 1
III	連携大学院方式による教育研究協力	-----	2 2
IV	主要事業	-----	2 3
1	客員研究員招聘事業	-----	2 3
2	研究成果発表会等	-----	2 4
3	蚕糸技術指導事業	-----	2 5
V	沿革	-----	2 6
VI	運営概要	-----	2 6
1	土地及び建物	-----	2 6
2	組織及び職員数	-----	2 7
3	職員一覧及び分掌事務	-----	2 7
4	予算の概要	-----	2 9
5	主要備品一覧	-----	3 0
6	年間主要行事表	-----	3 1
VII	土地・建物の概要・位置（地図）	-----	3 3

I 研究成果の概要

1 先端育種研究部

研究課題名：生物機能を利用した環境汚染物質の浄化・再資源化技術の開発
(植物による鉛汚染土壌浄化と鉛汚染の拡散防止)

予算区分：重点研究(試行)

担当研究部：先端育種分野担当

担当者：本田宗央

研究期間：平成16年度～平成17年度(2年目)

協力・分担関係：岐阜大学、中部電力(株)、多治見市、(財)東海技術センター

1. 研究目的

2001年2月に多治見市総合射撃場において、射撃場から流出する沢水の敷地境界で0.014mg/lの鉛が検出され、鉛汚染の存在が明らかとなった(写真)。多治見市は2001年10月に総合射撃場環境対策検討委員会を設置し、その答申により①緊急雇用対策による鉛散弾の回収 ②土壌汚染対策法の趣旨に従う形での対象区域の適切な管理を行っている。しかしながら、従来技術である不溶化処理、土壌洗浄、熱処理、掘削除去や封じ込めなどは、薬剤の土壌注入や掘削により土壌が攪乱されるためだけでなく、重機やプラント等を必要とする大掛かりな対策であるためコストが高く市町村レベルでその対策を行うことは困難である。一方、新たな浄化技術として注目されている植物による土壌汚染の修復(ファイトレメディエーション)は、土木・化学的手法による対策に比較してコストや適用の容易さなどに優れ、資産価値が低いサイトや重機などを使用した浄化が困難なサイトに有効な対策である。しかし、現状では土木・化学的手法による対策に比べ絶対的な浄化能力に劣るため、新技術による浄化期間の短縮(加速化)や適用可能条件の拡大が望まれている。そこで、植物による土壌浄化は不向きとされた高濃度鉛汚染土壌に、植物吸収、根圏濾過及び水分制御の機能を利用したファイトレメディエーションを適用することで、基礎的知見を獲得し、さらに技術の改良とその効果について検討を行ったので報告する。



2. 研究方法

1) 重金属集積植物の選抜

2mmのふるいにより鉛弾を取り除いた鉛汚染土壌(鉛含有量5300mg/kg(1N-HCl抽出)、鉛溶出量0.27mg/l)を1/5000aワグネルポットに投入し、植物の生育試験を行った。施肥は、化成肥料(チッソ、リン、カリウム)を200mg/kgとなるように混合し、一般的な栽培管理を行った。収穫した植物は、70℃にて乾燥させたのち粉碎し、乾式灰化した。分解液は、フレイム式原子吸光装置により鉛濃度を測定した。

2) 重金属集積植物による鉛吸収(現地試験)

多治見総合射撃場跡地のスキート場にコンテナを設置し、各コンテナには鉛弾を除去した鉛汚染土壌を詰めて現地実証試験圃場として整備した。圃場のコンテナは耐水ベニアで16区画に分割し、コンテナL200cm×W200cm×H100cm)、試験区の底には排水ドレンを設けて定期的に浸出水のサンプリングをおこなった。圃場は、摂食による被害を避けるため防鳥ネットで覆った。供試植物は、前述のポット試験の結果、文献等の報告や現地の気象条件などを検討し供試した。キレート剤は、収穫の1週間前にEDDS 3Naを水で希釈し、土壌質量(作土50cm)に対して0.16%となるように添加した。植物の地上部を収穫し70℃にて乾燥させたのち、粉碎、乾式灰化することにより原子吸光法の検液を得た。分解液はフレイム式原子吸光装置により鉛濃度を測定し、鉛含有量と鉛収奪量を求めた。

3) 植物による鉛汚染の拡散抑制(現地試験)

植物による鉛汚染の拡散防止効果を検証するために、植生なし、トウモロコシとソバのコンテナに、表層から10cm、30cm、50cmに土壌水分計(TDR)を設置し、体積含水率の推移を測定した。また、各コンテナ下部からの排水量と現地の降雨量についても計測し、排水抑制と排水濾過効果を検討した。

3. 成果の概要

1) 重金属集積植物の選抜

ソバが鉛高集積性を示した。以下、クローバー、トウモロコシ、ケナフなどが、鉛含有量が大きくファイトレメディエーションへの適用が可能であると思われた(図1)。

2) 重金属集積植物による鉛吸収(現地試験)

栽培前期の植物(春播き)では、鉛含有量及び鉛収奪量ともソバが最も多く、次いでバイオマスが大きいスーダングラスやギニアグラスが優れていた。また、栽培後期の植物(秋播き)では、シロカラシ、ライムギやファセリアの鉛収奪量が優れていた(図2)。

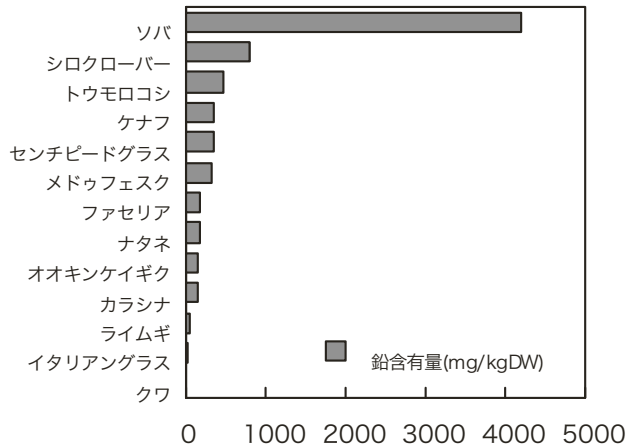


図1 植物の鉛含有量(ポット)(mg/kgDW)

3) 植物による鉛汚染の拡散抑制(現地試験)

圃場容水量は、深いほど高くなっている傾向にあったが(植生なし)、植生のある区ではG.L. -30cmとG.L. -50cmの値が近接し、根圏での水分吸収が影響していると思われた(図3)。また、植生のある区は降雨による体積含水率の変化が植生なし区に比べて穏やかで、無降雨期間では根圏からの水分吸収による値の低下が認められた。多降雨では植生なし区の体積含水率の変化が、G.L. -10cmからG.L. -30cm、G.L. -50cmの順に大きくなっていくが、植生がある区では、G.L. -30cmが早い段階から大きな変化を示していた。この現象は、弱降雨では認められないことから、短時間に多くの降雨があった場合は根に沿って水が排水される水みち効果が起こっていると推測される。

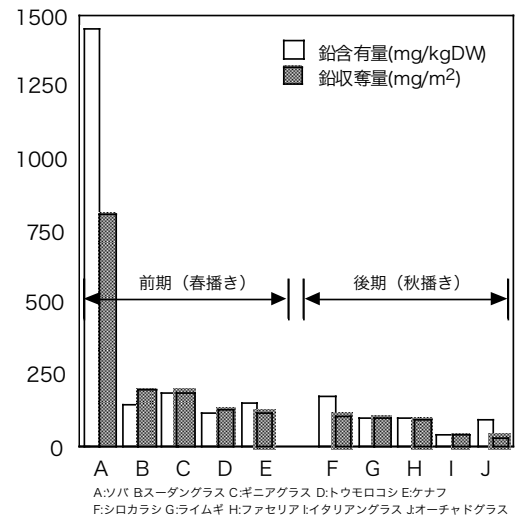


図2 植物の鉛含有量と収奪量

4. 今後の計画

多岐にわたるファイトレメディエーション機能を整理し、管理型の鉛汚染対策技術として実用化を図る。

5. 成果の発表・活用等

- ・平成16年度日本土壌肥科学会(2004)
- ・The 7th Osaka-Seoul Symposium on Environmental Issues Proceeds, pp103-108, (2004)
- ・「植物機能を利用した射撃場鉛汚染土壌の原位置浄化と拡散防止」地下水技術45(8), pp33-43, 2003
- ・「ファイトレメディエーションの現地実証試験」地下水技術47(5), pp29-35, 2005
- ・特願2003-178573「土壌からの重金属流出の推定方法及び推定プログラム」
- ・特願2004-264601「重金属類含有土壌の浄化方法」

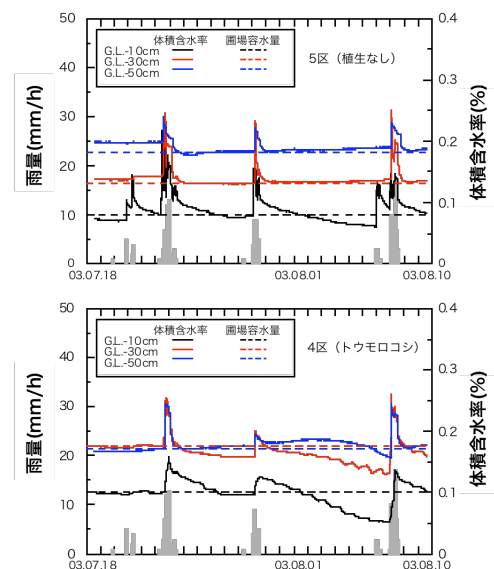


図3 植物の有無による土壌水分の変化

研究課題名：トリクロロエチレン分解機能を付与した形質転換植物の作出

予算区分：県単

担当研究室：先端育種研究部

担当者：岡 隆史

研究期間：平成16年度～18年度（1年目）

協力：東京大学、地球環境産業技術研究機構

1. 研究目的

近年、トリクロロエチレン（以下 TCE と省略する）をはじめ揮発性有機塩素化合物が、全国の地下水から検出されている。岐阜県においても各地で検出されており、その発癌性が問題となっている。これら汚染物質の浄化技術には大がかりな装置が必要であったり、またコストも高いという欠点を持つものが多い。そのためより安価で労力のかからない、しかもより効果的な分解・除去技術の開発が強く求められている。

メタン酸化菌が産生する可溶性メタンモノオキシゲナーゼ（以下 sMMO と略す）は、TCE を分解する働きを持つ。この sMMO 遺伝子を植物に導入することで、環境中の TCE を浄化する機能を持った形質転換植物の作出を試みる。

2. 研究方法

sMMO 遺伝子（全長約 5.3kbp）は5つのシストロンで構成される、いわゆるポリシストロニック構造である（図 1）。この様なポリシストロニック構造の遺伝子は、植物など、真核細胞の核中では適正に発現されない。そこで我々はこの様なポリシストロニック構造の遺伝子を植物細胞内にて適正に発現させることのできる葉緑体に、この sMMO オペロンを導入しようと試みた。

1) 導入遺伝子の作製

メタン酸化菌 M 株（東京大学 矢木教授より分譲）から抽出したゲノム DNA を鋳型として、sMMO オペロンの 5'、3'末端にそれぞれ制限酵素 *AseI*、*AcII* の認識部位を付加したものをプライマーとして PCR を行った。そして TA クローニングにより、得られた PCR 産物（図 1a）を pCR-XL-TOPO ベクター（invitrogen）に挿入し、そのシークエンスの確認を行った。

また、メタン酸化菌由来の sMMO オペロンが植物葉緑体中で正常に発現するかどうかモニターするため、その一部である *mmoB* 遺伝子を上記と同様の方法で作製した。（図 1b）。

2) 葉緑体導入ベクターへの sMMO 遺伝子の挿入

葉緑体 DNA への外来遺伝子の導入に用いるシャトルベクター（（財）地球環境産業技術研究機構（RITE）植物分子生理研究室 富澤先生より分譲）のクローニングサイトに、上記（1）で作成した、sMMO 遺伝子全長及び、*mmoB* 遺伝子を組み込んだ。

3) タバコ葉緑体ゲノムへの導入

上記（2）で作製したベクターを、パーティクルガン（Bio-Rad 社:PDS-1000/He）を用いて、タバコ本葉に撃ち込んだ。その後、葉を抗生物質を含む培地上に置床し選抜を行った。

4) 形質転換個体の確認

抗生物質を含む培地上にて再分化した植物個体の葉から DNA を抽出する。それを鋳型として PCR を行い、目的遺伝子の導入の有無を確認した。

5) タバコ葉緑体ゲノム中での *mmoB* 遺伝子の発現モニター

mmoB 遺伝子を導入した形質転換植物体の本葉からタンパク質を抽出した。その抽出物を用い、*mmoB* 遺伝子の発現産物（コンポーネント B）の抗体を用いた、ウェスタンブロッティングを行った。

3. 成果の概要

1) *smmo* 遺伝子、および *mmoB* 遺伝子のタバコへの導入

まず *mmoB* 遺伝子のみを導入したものは、9 個体が再分化した。その葉から DNA を抽出し PCR を行ったところ、そのうちの 6 個体に *mmoB* 遺伝子の導入を確認した（図 2）。導入処理したのはタバコ本葉断片約 2000 個体のため、その導入効率は 0.3% となった。

従来、パーティクルガンを用いたタバコ葉緑体ゲノムへの外来遺伝子の導入効率は、約 1% と言われている。上記の結果は、その約 30% の低い効率であった。導入効率の低下については、導入する遺伝子の長さ、植物体の状態、遺伝子導入条件などが考えられる。しかしながら、*mmoB* 遺伝子は約 0.8kbp であるため、その長さが原因とは考えられない。

次に *smmo* 遺伝子全長を導入したものについては、現在までに 6 個体が再分化した。そのうちの 3 個体について PCR を行ったところ、そのいずれにも *smmo* 遺伝子の導入は認められなかった（図 3）。ただし Lane4 の個体については、*smmo* 遺伝子の前部に付随して導入した抗生物質耐性遺伝子のみが認められた。

その原因については、二つの理由が考察される。一つは、葉緑体ゲノムへの導入時に何らかの問題が生じて *smmo* 遺伝子が導入されなかった、という理由。もう一つは、いったん導入された *smmo* 遺伝子が、その後何らかの理由により欠失した、という理由である。

低効率ながら導入の成功した *mmoB* 遺伝子の場合と比較すると、*smmo* 遺伝子は全長約 5.3kbp と約 7 倍の長さとなる。その長さが *smmo* 遺伝子全長の導入効率の低さ、及び *smmo* 遺伝子の欠失の原因であると考えられる。

2) *mmoB* 遺伝子のタバコ葉緑体内での発現

葉緑体ゲノムへの *mmoB* 遺伝子の導入を確認した 5 個体について、その発現をウェスタンブロッティングによってモニターした (図 4)。その結果、5 個体いずれにも *mmoB* の発現タンパク質 (コンポーネント B) を確認した。

この結果から、メタン酸化菌由来の遺伝子コードを持つ *smmo* 遺伝子が、植物葉緑体中でも正常に発現することが示唆された。

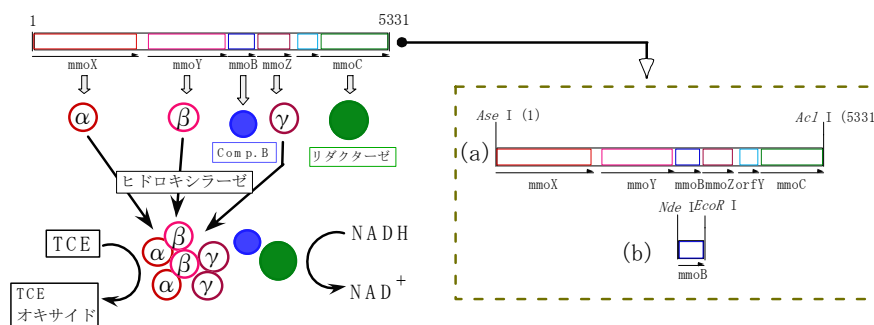


図1、メタン酸化細菌 *Methylocystis* sp. M株の可溶性メタンモノオキシゲナーゼ (sMMO)
(a) (b): 作製した sMMO 遺伝子のコンストラクト

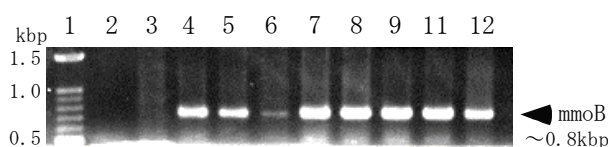


図2、PCRによる *mmoB* 遺伝子導入の確認
Lane1: 分子量マーカー (100bp DNA Ladder)
Lane2~11: 再分化タバコ個体抽出物
Lane12: Positive control

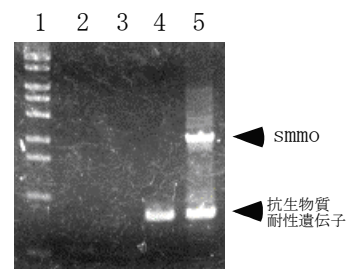


図3、PCRによる *smmo* 遺伝子導入の確認
Lane1: 分子量マーカー (λ -Eco. T14I digest)
Lane2~4: 再分化タバコ個体抽出物
Lane5: Positive control

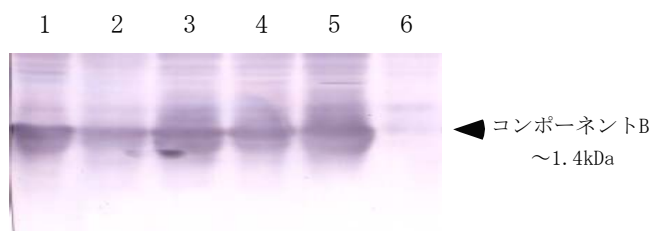


図4、ウェスタンブロッティングによる *mmoB* 遺伝子の発現確認

Lane1~5: 形質転換タバコ抽出物
Lane6: 非形質転換タバコ抽出物 (Negative control)

4. 今後の計画

sMMO オペロンを正常にタバコに導入し、その TCE 分解活性の有無を確認する。
タバコ組織内での TCE 分解活性をモニターする方法を開発する。

5. 成果の発表、活用等

環境バイオテクノロジー学会第 22 回シンポジウム (2004)

2 昆虫機能研究部

研究課題名：環境ホルモン物質を簡便・迅速に検出するバイオセンサーの開発

予算区分：県単

研究期間：平成16年度～17年度（1年目）

担当研究室：昆虫機能分野担当

担当者：足立 良富

協力・分担関係：保健環境研究所、東京工業大学

1. 研究目的

健康的で安心のある暮らしが望まれる近年、食品や水、住宅など生活の安全性に対する関心が高まっており、生活や産業活動により河川や大気などへ排出される多くの化学物質を監視することが重要となっている。中でも環境ホルモンと呼ばれる物質群は、生物体内の調節機構である内分泌系の働きを攪乱するため、生態系への影響が問題視されている。これら環境ホルモン物質が体内に入ると、内分泌系を誤操作し、特に成長や生殖に悪影響を及ぼす恐れがあるため、環境中の環境ホルモン物質を監視する必要がある。

従来、環境ホルモン物質の検出には高感度な分析機器を使用した化学分析や抗体を使用した簡易な免疫学的分析が用いられているが、分析時間や費用等の欠点があった。そこで本研究では、生体内のホルモン物質の働きが受容体タンパク質との結合から始まることに注目し、受容体タンパク質を高感度なバイオセンサー分子として用いて、水環境中から環境ホルモン物質を検出するセンサーの開発研究を行っている。

2. 研究方法

1) センサータンパク質をコードする遺伝子のクローニング

ヒトエストロゲン受容体 α 型遺伝子の塩基配列データに基づいて、リガンド結合部位（hER-LBD）コード領域の両末端に相補的なプライマーを設計した。ヒト乳ガン細胞由来トータル RNA を鋳型としてオリゴdTプライマーを用いた逆転写反応により first strand DNA を合成し、PCR による hER-LBD コード領域の増幅を試みた。得られた PCR 産物を TA クローニング法によりプラスミドベクターに挿入し、塩基配列を解析した。

2) hER-LBD タンパク質発現系の構築

プライマー内に設計した制限酵素サイトを利用して hER-LBD コード領域を切り出し、pET ベクターに組み込んだ。pET ベクターには発現産物の C 末端にヒスチジンタグを付加するよう設計されたものを用いた。得られた発現用ベクター pET-HER-LBD を初めにクローニング用宿主の NovaBlue 株に導入し、塩基配列を確認した後、発現用宿主に導入した。

3) hER-LBD タンパク質の生産と精製

37℃下で適当濁度まで振とう培養した pET-HER-LBD 導入株に、IPTG を最終濃度 1mM となるよう培養液に添加し、タンパク質の発現を誘導した。遠心操作により集菌し、精製用緩衝液を加え、リゾチーム処理および超音波処理により破碎した。細胞破碎液を 15000rpm の遠心操作により、不溶成分と可溶成分に分離した。精製にはニッケル結合樹脂を充填したカラムを用い、ヒスチジンタグとの親和力を介して可溶成分中の hER-LBD タンパク質をトラップし、適した溶出液で回収した。

4) hER-LBD の検出

精製各段階の画分を SDS-PAGE により分離し、クーマシー染色した。またウエスタンブロットし、抗ヒスチジンタグモノクローナル抗体により検出した。

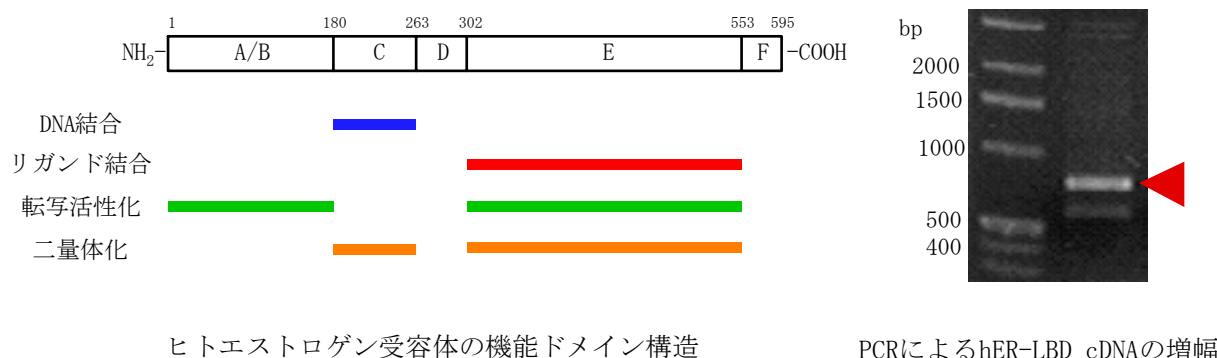
3. 成果の概要

1) センサータンパク質遺伝子のクローニングと発現系の構築

hER-LBD コード領域の末端に相補的なプライマーペアを用いた PCR により、予測された約 800 塩基対の PCR 産物が得られたので、これをクローニングし、塩基配列を解析した。既知の hER-LBD コード領域と比較した結果、同一の配列を示し、hER-LBD をコードする 783 塩基対の cDNA 断片が得られたことを確認した。

制限酵素処理により hER-LBD cDNA を挿入したベクター pET-HER-LBD を NovaBlue 株に導入し、塩

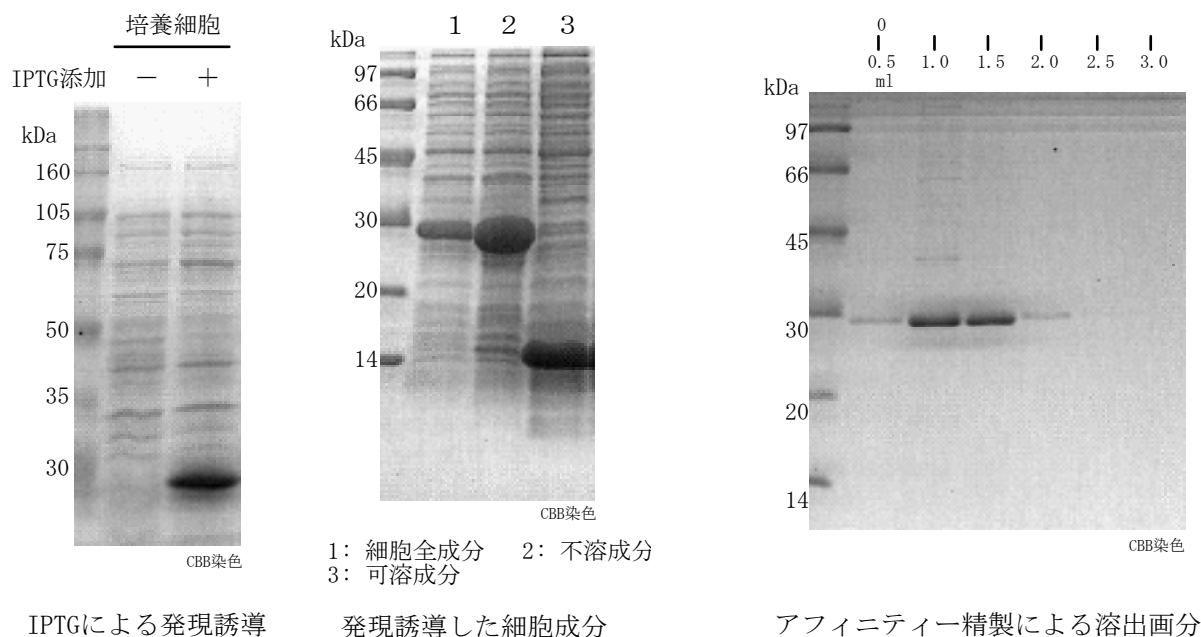
基配列を解析した結果、hER-LBD タンパク質とC末端に付加されるヒスチジンタグのアミノ酸配列 277 残基の読み枠が正しいことを確認した。次に塩基配列を確認した pET-HER-LBD を発現用宿主 BL21 (DE3) 株に導入し、9 クローンを得た。



2) センサータンパク質の生産と精製

pET-HER-LBD 導入株によるタンパク質発現を行い、IPTG 添加もしくは無添加によるの細胞成分および培養液を SDS-PAGE 解析により比較したところ、IPTG を添加した細胞成分に約 30kDa の位置に大量のタンパク質の増加が見られた。hER-LBD タンパク質は約 32kDa と推測されるため、IPTG の添加により大量に発現し細胞内に蓄積しているタンパク質は hER-LBD と考えられる。

ニッケルカラムを用いたアフィニティー精製を行った結果、hER-LBD タンパク質は大部分が不溶成分に含まれていたが、一部は可溶性タンパク質として精製することができた。



4. 今後の研究の計画

作成したセンサータンパク質 hER-LBD の活性を確認し、水晶発振子マイクロバランス法と組み合わせた検出システムの構築を目指す。

3 微生物機能研究部

研究課題名 : 生物機能を利用した環境汚染物質の浄化・再資源化技術の開発
微生物機能を利用した環境汚染物質の浄化

予算区分 : 重点 (試行)

担当研究室 : 微生物機能分野担当 担当者: 吉村明浩

研究期間 : 平成 16 年度～平成 17 年度 (1 年目)

協力・分担関係: 東京大学、保健環境研究所

1. 研究目的

近年、有機塩素化合物による土壌、地下水汚染は広い範囲に及ぶことが明らかとなり、本県においても地下水汚染に関する報告が増加している。汚染環境を修復する手法の一つとして、バイオレメディエーション技術がある。バイオレメディエーション技術とは微生物やその機能を活用して汚染物質を除去するものであり、有機塩素化合物による広域的な低濃度の汚染浄化に有効な方法として注目されている。これまでに有機塩素化合物の一つトリクロロエチレンを分解する微生物の一つとしてメタン資化性菌 *Methylocystis* sp. M が見出され、本菌は菌体内で産生する酵素、可溶性メタンモノオキシゲナーゼ (sMMO) によりトリクロロエチレンをトリクロロエチレンオキシドへと変換し、さらに炭酸ガスにまで分解することが明らかにされている。我々はこのトリクロロエチレン分解の引き金となる sMMO に注目し、本酵素の汚染環境の浄化への活用を目指して sMMO を安定に供給するための生産技術を検討している。本研究では、sMMO を構成する 5 つのコンポーネントを個々に発現、精製し、酵素活性を検討した。

2. 研究方法

1) sMMO コンポーネントの発現

Methylocystis sp. M からゲノム DNA を調製し、sMMO 遺伝子を得た。sMMO を構成するコンポーネントをコードする遺伝子を個別にプラスミドに導入し、このプラスミドで大腸菌を形質転換した。得られた 5 種の大腸菌はそれぞれ Lennox L 培地中で培養し、イソプロピル β -D-チオガラクトピラノシドで目的タンパク質の発現を誘導した。培養液を遠心分離して、菌体を回収し、 -20°C で凍結した。

2) sMMO コンポーネントの精製

グルタチオン S-トランスフェラーゼ融合型タンパク質として発現させた α および β サブユニット (それぞれ GST- α および GST- β) は、グルタチオン-Sepharose 4B (アマシャム) を用いてバッチ法で精製した。

単独で発現させた γ サブユニット、コンポーネント B およびレダクターゼは、Q-Sepharose HP (アマシャム) カラム、硫酸分画および Sephacryl S200 (アマシャム) カラムで順次処理して精製した。

3) レダクターゼ活性の測定

活性染色によりポリアクリルアミドゲル上のレダクターゼを検出した。レダクターゼ (10 μg) を未変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動に供し、ゲル上のタンパク質を NADH 存在下にニトロブルーテトラゾリウムと反応させた。

酵素活性は 2,6-dichloroindophenol を基質に用いて測定した。リン酸緩衝液 (0.15 mmol, pH7.0) 中、NADH (1.5 μmol) 存在下で 2,6-dichloroindophenol (0.15 μmol) とレダクターゼ (13 nmol) を反応させ、反応液の 600 nm の吸光度を測定した。レダクターゼの 1 unit は、室温下で 1 分間に 1 μmol の基質を還元する酵素量と定義した。

4) トリクロロエチレン分解活性の測定

sMMO コンポーネントを混和してプレインキュベートした後、終濃度 0.1 ppm のトリクロロエチレンを加えて 28°C で 24 時間反応させた。ここに塩酸を加えて反応を停止し、ガスクロマトグラフでトリクロロエチレン残存量を測定した。

3. 成果の概要

1) sMMO コンポーネントの調製

sMMO は α 、 β 、 γ の3つのサブユニットから成るヒドロキシラーゼ、コンポーネントBと呼ばれる活性調節タンパク質およびNADH 依存性レダクターゼが構成するマルチコンポーネント酵素である。これまでに大腸菌を宿主として各コンポーネントを単独で発現させる系を構築したところ、 γ サブユニット、コンポーネントBおよびヒドロキシラーゼは可溶性画分に回収されたが、 α および β サブユニットはほとんどが封入体に取り込まれた。 α および β サブユニットはグルタチオン S-トランスフェラーゼ融合型タンパク質とすることで、可溶性画分に得られた。GST- α およびGST- β はアフィニティー精製により、単独発現させたコンポーネントは3段階の精製により図1のようにそれぞれ精製された。これらの精製タンパク質を用いて、以下の実験を実施した。

2) レダクターゼ活性の測定

精製した組換え型レダクターゼの酵素活性を確認した。活性染色によりゲル上のタンパク質に還元活性が認められ、このタンパク質の移動度はクーマシーブリリアントブルー染色で検出されたレダクターゼの移動度と一致していたことから、このレダクターゼが活性を保持することが確認された(図2)。また、2,6-dichloroindophenol を基質として酵素活性を測定したところ、組換え型レダクターゼの活性 (specific activity = 14.5 unit/mg) は *Methylocystis* sp. M から精製されたレダクターゼ (specific activity = 14.9 unit/mg) と同等であった。

3) トリクロロエチレン分解活性の測定

組換え型 sMMO コンポーネントを混合して、この複合体のトリクロロエチレン分解活性を測定した。sMMO コンポーネントを含む反応系では、トリクロロエチレンの減少が認められた(図3)。

4. 今後の計画

- 1) sMMO 複合体によるプロピレン酸化活性の確認
- 2) 模擬汚染水の浄化方法の検討

5. 成果の発表・活用等

平成16年度日本農芸化学会大会 (2005)

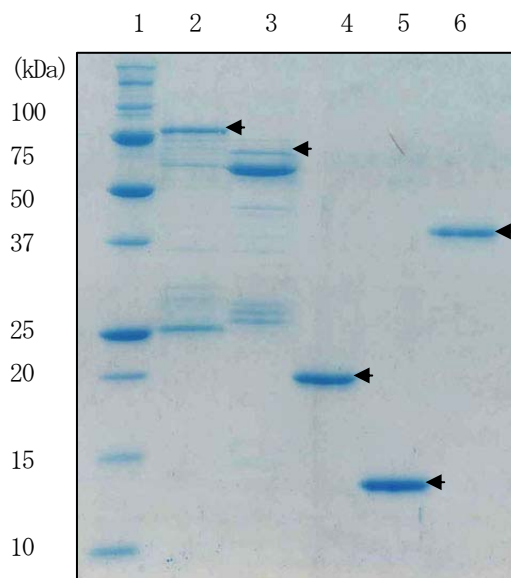


図1. sMMO コンポーネントのSDS-PAGE 解析. 矢印は目的タンパク質を示す. レーン: 1, 分子量マーカー; 2, GST- α ; 3, GST- β ; 4, γ サブユニット; 5, コンポーネントB; 6, レダクターゼ



図2. レダクターゼの未変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動解析. クーマシーブリリアントブルー染色 (CBB-G), 活性染色 (NADH/NBT).

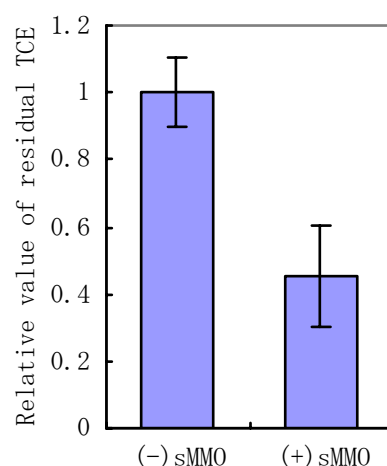


図3. トリクロロエチレンを sMMO コンポーネント混合液と反応させた時の残存量. sMMO 非添加 [(-) sMMO], sMMO 添加 [(+) sMMO].

研究課題名：生石灰を用いたオカラ腐敗抑制技術の開発

予算区分：県単

担当研究室：微生物機能研究分野担当 担当者：横山 慎一郎、葛口 剛

研究期間：平成16年度～18年度（1年目）

協力・分担関係：

1. 研究目的

オカラは豆乳の製造過程で生じる食品産業廃棄物であるが、様々な有用成分を多く保持しており、その有効利用が望まれる。しかし一番の問題は腐敗が早く貯蔵が困難なことにあり、強い悪臭と共に衛生上も問題とされる。それゆえ現在豆腐製造現場では、高額な設備投資を行って装置を導入し、生じたオカラを速やかに焼却するか、廃棄物処理業者に依託して処理しているが、豆腐製造業者の多くは零細企業であり、こうした処理費用が大きな負担となっている。従って簡便、安価、且つ有効利用出来るよう長期間保存可能なオカラ処理法の開発が望まれている。これまでにいくつかのオカラ処理法が考案されているが、広く普及するには至っていない。我々は生石灰によるオカラ処理に普及化の可能性を見出し、詳細な検討を行った結果、少量の生石灰を添加することにより長期間オカラの腐敗が抑制されることを明らかにした。

2. 研究方法

生石灰（酸化カルシウム純度 98.0%）は乳鉢で粉末にしたものを用いた。オカラ（水分含量 75%程度）は県下の豆腐製造会社より供与されたものを用いた。オカラに 0.5%（w/w）となるよう生石灰を添加し、よく混合した後 30℃ でインキュベートした。インキュベート後最大 30 日目まで経時的にオカラ検体を採取した。

分析 1 時間前にオカラ検体の入った容器を密閉し、これより蓄積された気相を採取し、定法に従い炎光光度検出器付ガスクロマトグラフィーにて揮発性有機硫黄化合物の検出を、検知管にてアンモニアの検出を行った。

一定量のオカラ検体を生理食塩水に懸濁した後 pH を測定した。また同検体を生理食塩水にて適宜希釈後トリプト・ソイ寒天培地に塗抹培養し、得られたコロニーを腐敗菌群数として計測した。

3. 成果の概要

1) 結果

インキュベート1週間後のオカラの状態について、無添加および1%添加では水分を含みべたついた状態や、粘り気、褐変など明らかな変質が認められた（図1、A、B）。一方2、3 および 5%添加では採取直後のフレッシュな状態を維持し、且つパウダー状のサラサラな性質を有していた（図1、C-E）。

生石灰無添加の場合、インキュベート開始翌日より不快な臭気を感じられ、3 日目に降にはメチルメルカプタン（MM）および二硫化ジメチル（DMDS）が検出された（図2、中、右）。1%添加では3 日目より臭気を感じられ、6 日目に降にはMM およびDMDS が検出された。2%添加では揮発性有機硫黄化合物は検出されないものの14 日目より僅かに不快な臭気を感じられた。一方3 および 5%添加では試験期間中、アンモニア以外の不快な臭気は認められなかった。いずれの検体においてもアンモニアが検出されたが、2、3 および 5%生石灰添加ではインキュベート初期に、無添加および1%添加では10 日目に高い発生量を示した（図2、左）。

オカラの pH は生石灰無添加ではインキュベート開始翌日に、1%添加では3 日目に、2%添加では10 日目には腐敗細菌の増殖に適した 8.7 程度に変化した（図3、左）。一方3%添加では1 週間目まで、5%添加では2 週間後も高値（各々 pH11.5、12.3）を維持した。

生石灰無添加時では、インキュベート開始翌日から急激な菌の増殖がみられた（図 3、右）。1%添加では3日目より、2%添加では10日目より菌の増殖が認められた。一方3および5%添加では30日目においても処理前以下の菌数を維持していた。

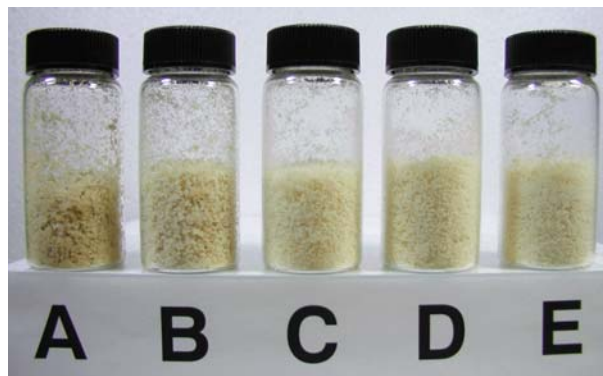


図1. インキュベート1週間後の生石灰添加オカラの状態。

生石灰添加量は各々、A:0%、B:1%、C:2%、D:3%、E:5%。

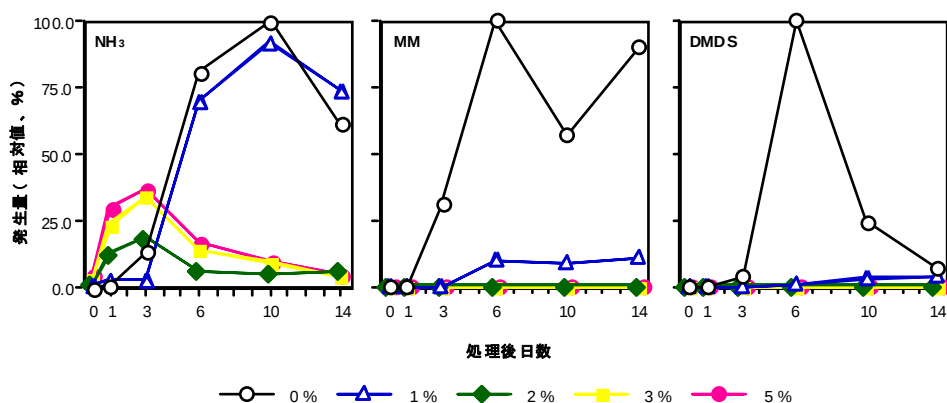


図2. 生石灰オカラにおける経日的なアンモニアおよび揮発性有機硫黄化合物発生量の変動。

表示は本検討における最大発生量を 100%とした時の相対値。アンモニア、メチルメルカプタン (MM)、二硫化ジメチル(DMS)の検出限度は各々0.2、0.05、0.025 ppm。

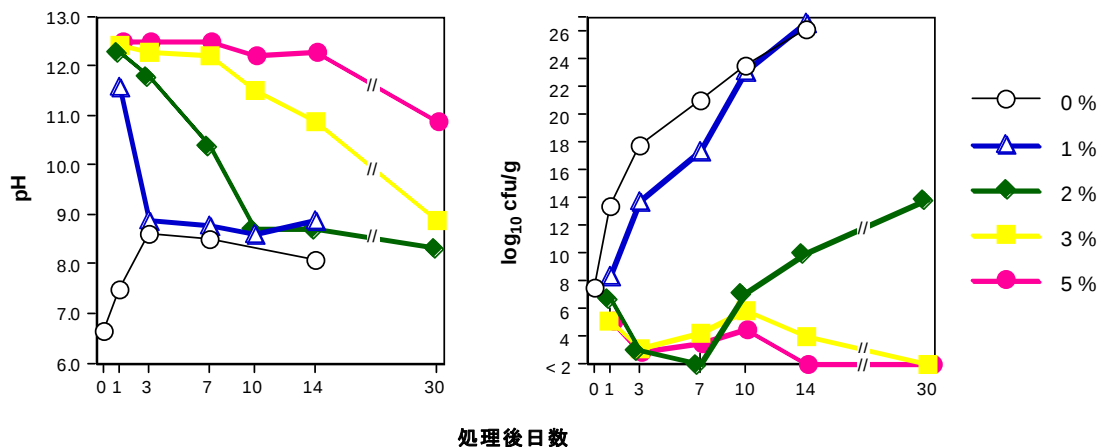


図3. 生石灰オカラの経日的な pH および腐敗菌群数.

腐敗菌群数の検出限度は 1.0×10^2 cfu/g. n = 3.

2) 考察

上記の成績から、少量の生石灰添加（生オカラ重量に対し 2-5%）により、オカラの腐敗が長期間抑制可能であることが明かとなった。今回確立した技術によるオカラ処理の利点は以下の通り。

- ・焼却装置や乾燥機のような高額で特別な設備を要しない。
- ・微生物や装置の維持管理などの煩雑な技術を要しない。
- ・低いランニングコスト。特に岐阜県は日本有数の石灰生産地であり安価な供給が可能である。
- ・長期間（1-2 週間、場合によっては 1 ヶ月間）腐敗を抑えオカラの品質を維持出来る。
- ・本技術で処理されたオカラは肥料、飼料はもとより、食品あるいは有用物質生産原料となりうる。

以上、簡便、安価、且つ有効利用出来るよう保存可能なオカラ処理法として極めて実用的な技術であり、今後の普及が期待される。

3) 謝辞

臭気の評価にあたり御指導、御協力賜りました畜産研究所養豚研究部梶川正勝主任専門研究員、並びに保健環境研究所環境科学部高原康光主任専門研究員に深謝致します。

4. 今後の計画

本技術で処理されたオカラの有効利用を促進するため、肥料あるいは飼料としての有用性について検討する。

5. 成果の発表・活用等

日本農芸化学会 2005 年度大会（札幌）にてポスター発表。

4 蚕糸技術分野

研究課題名：絹蚕桑類未利用資源を活用した生活・環境関連基材等の開発と用途開発（2）
 予算区分：県単
 研究期間：平16年～18年
 担当研究室：蚕糸技術分野 担当者：安田勝年
 協力・分担関係：岐阜県製品技術研究所（美濃分室）、（株）ハビックス、（株）田幸

1 研究目的

今まで養蚕廃棄物として捨てられていた桑木質類の未利用資源を有効利用手段として、高温、高圧蒸気を使用した蒸煮・爆砕法による桑条及び桑木質からの効率的な粗繊維及びパルプ繊維や糖グルコース、脂質抽出成分の抽出技術を確認するとともに、それらの素材を活用した生活関連のインテリア用の和紙、不織布シート、建築ボードなど資源循環型の環境に配慮した生活・環境基材の研究開発を行う。

2 研究の方法

（2）桑樹からの桑じん皮、木質等の効率的な分離抽出技術の確立

・蒸煮・爆砕法及びアルカリ薬品との併用による桑じん皮、木質等の効率的なパルプ繊維化について調査した。処理条件は、以下のとおりである。

桑じん皮繊維の蒸煮・爆砕処理によるパルプ化条件

試験区 (I～IV)	桑条部種類 サンプル量	蒸煮・爆砕処理（薬品有無） 処理時間及び温度	煮熟薬剤・濃度 処理時間	漂白剤・濃度 処理時間及び温度
桑じん皮繊維の蒸煮・爆砕処理温度別パルプ化条件（爆砕Ⅰ区）				
No1b	黒皮100g	30分190～200℃ 無	60分 NaOH15%	96時間NaClO3 15% 冷水
No2b	白皮100g	30分190～200℃ 無	60分 NaOH15%	96時間NaClO3 15% 冷水
No3b	白皮100g	30分150～160℃ 無	60分 NaOH15%	96時間NaClO3 15% 冷水
No4b	黒皮100g	30分 170～180℃ NaCO320%（対照）	60分 NaOH15%	96時間NaClO3 15% 冷水
桑じん皮繊維の蒸煮・爆砕処理温度150度と処理時間別パルプ化の条件（爆砕Ⅱ区）				
No5b	白皮100g	60分150℃ NaCO320%	—	24時間NaClO3 15% 冷水
No6	白皮100g	60分150℃ NaCO320%	—	24時間NaClO3 15% 冷水
No7b	白皮100g	30分150℃ NaCO320%	—	24時間NaClO3 15% 冷水
No8	白皮100g	30分150℃ 無	60分 NaOH15%	24時間NaClO3 15% 冷水
加性ソーダ処理による桑じん皮繊維のパルプ化条件（従来法Ⅲ区）				
No9b	黒皮100g	—	120分 NaOH20%	24時間NaClO3 15% 冷水
No10b	白皮100g	—	120分NaOH20%	24時間NaClO3 15% 冷水
No11b	白皮100g	—	120分NaOH15%	24時間NaClO3 15% 冷水
桑木質繊維の蒸煮・爆砕処理によるパルプ化条件（爆砕Ⅳ区）				
No12b	木質100g	60分200～210℃NaCO320%	60分NaOH15%	24時間NaClO3 15% 加温
No13b	木質100g	60分200～210℃NaCO320%	60分NaOH15%	24時間NaClO3 15% 冷水

*黒皮区は、桑じん皮の表面が黒色で、白皮区はその黒い色素の部分を除いた桑枝サンプルを使用した。

*薬剤使用量は桑じん皮繊維量に対する重量％、

加工処理方法は、以下のとおりである。

- ・爆砕Ⅰ区は薬剤を使わず高温処理後の桑韌皮繊維（黒皮2種類、白皮2種類）の煮熟方法について検討した。液比1対9、水酸化ナトリウムの量は当初投入原料（韌皮繊維）比にして15～20%、1時間煮熟後24時間放置、漂白条件は、次亜塩素酸の量は、当初投入原料比にして100%（但し有効塩素量10%水溶液）液比1対7、96時間放置した。爆砕Ⅱ区は処理温度一定にして薬剤の効果 従来法Ⅲ区は、蒸煮・桑和紙抄紙方法は、ビーターマシン（b）機によりパルプ繊維をほぐした後、乾燥時の米坪量40g/m²になるように原料を用意し、ミキサーで30秒間離解した後、角型タッピシートマシンで試験抄紙を行った。
- ・桑じん皮及び木質パルプ繊維を使った和紙試作とその物性評価をした。

3 成果の概要

- ・桑じん皮と木質等の効率的な分離処理方法として 炭酸ソーダ2%液中で桑枝状をボイルした後、叩くことで簡単にじん皮を剥離することができ、薬品使わない無処理では、じん皮を剥離するのに多くの作業時間を要した。一方、桑条木質を使ったパルプ繊維の抽出では、桑条じん皮に比べて リグニンの固着力が強く、爆砕法でも容易に破碎されず、事前に、木質部のチップ化と薬品処理 の併用が必要と思われた。
- ・蒸煮・爆砕法によって抽出した桑条じん皮パルプ繊維を使って和紙を試作したところ、従来の薬品処理（NaOH）で抽出したパルプ繊維の和紙に比べて紙強度に大きな差なかった。
- ・爆砕処理した試験区の抄紙後の和紙白度は、従来法の処理に比べてやや劣る結果となったが、白さの順位は、爆砕Ⅰ区：No.4 > No.2 > No.3>No.1 で、爆砕Ⅱ区は、No.10 > No.5 No.7 No.6 No.8（5～8区同等）となった。図1、図2
- ・紙の表面強度では、爆砕処理温度が高くなるにつれて低下した。また、爆砕処理時間が短いほど紙強度は向上した。一方、従来の加性ソーダ煮熟処理に比べて、炭酸ソーダによる煮熟処理の方が、やや強度が増した。なお、蒸煮・爆砕処理した桑木質繊維パルプは、過度の高温処理の影響により、紙強度は劣った。そして、桑じん皮のタッピ抄紙の歩留りは、従来の加性ソーダ煮熟処理に比べて、炭酸ソーダによる煮熟処理の方がやや向上した。表1、表2、表3、表4

研究課題名：G I F Uシルク新技術指導
予算区分：県単
研究期間：平成16年度（平成9～長期）
担当研究室：蚕糸技術分野 担当者：安田 勝年
協力・分担関係：藍千工房、G I F Uシルククラフト協議会々員

1 研究目的

県下における地域特産絹製品の創出のため、試験研究成果等の普及並びに技術指導・支援・情報などを養蚕婦人、G I F Uシルククラフト協議会会員、企業らに提供することで、地域産業の育成に寄与する。

2 研究方法

1) 気象調査 60年度以降の岐阜気象台調査速報及び桑発芽・伸長調査の実施

2) 春蚕期に系統保存蚕品種として大造、小石丸、黄玉、笹繭、p c y、p c g並びに晩秋蚕期に黄玉、p c yを飼育した。飼育方法は全齡桑育、上族は、回転族及び万年族とした。調査方法は、蚕桑技術協力・指定試験とりまとめ様式に準じて調査した。

3) コウ柳水耕栽培

野外での天蚕の掃立（山付け）方法は、水切りネットに天蚕卵を入れて催育し、ふ化した蟻蚕をネットごとコウ柳の枝にのせて稚蚕飼育を行った。飼育方法は、稚蚕期にガラス室内で蚕児数を多くした密度飼（1～2齡）、壮蚕期にはクヌギにカヤ状ネットを被せてその中で飼育した。一方、野外でも同様に稚蚕期はコウ柳で飼育し、壮蚕期もクヌギで飼育試験を行った。また、低コストの天蚕飼育として、軽い漁網ネットを使ってクヌギ木の小枝に直に被せた中での飼育方法も検討した。採卵は、屋外パイプハウス内のクヌギ木に日干しネット（穴の口径3ミリ）を吊して、羽化した蝶を入れて交尾させて採卵した。

4) 各種飼料木の切り枝を使って水挿しによる天蚕幼虫の摂食調査の実施した。

5) シルク製品加工開発として、特殊生糸（太繊度加撚糸300デニール、網状生糸）を使って、G I F Uシルククラフト協議会の会員や機織り工房と共同研究をおこなった。

3 成果の概要

1) 春期の発芽状況は、4月上～中旬頃の気温はやや低めに推移したが、下旬頃には高温で雨多くなって、脱包も平年並みとなった。また、その後の気温が高めに推移したので、桑の伸長は、八十八夜までに7.5開葉、新梢長15.6cmの伸びであった。

2) シルク特産品開発を目的とした素材確保と系統保存のための飼育成績は良好であった。（表2）

3) コウ柳の水耕栽培による早期天蚕飼育の可能性については、梅雨時の蚕病を避けるため、クヌギ木より1ヶ月も芽吹きが早いコウ柳を利用した天蚕の飼育方法で、ふ化した天蚕をコウ柳に山付けした後、稚蚕期1～3齡はコウ柳で飼育し、壮蚕期4～5齡はクヌギ木で飼育管理する方法を検討し、梅雨時までに天蚕繭を収穫する飼育方法として、ガラス温室で早期にコウ柳の水耕栽培による天蚕飼育の可能性について調査した。飼育方法としては、発砲スチロール製の水耕マットの穴（幅40×長さ60cm、穴数63）に休眠中のコウ柳枝を30cm程に切断し、枝の周囲をロツクウールで包んで水挿し（3月8日1マット20本の挿し木）を行い、コウ柳の葉が繁茂した時点で、孵化した天蚕を4月13日に山付けした。

その結果、野外に比べて、ガラス温室で栽培したコウ柳新梢の生育は良く4月15日時点で、ガラス温室では新梢長25cm、開葉数10、野外では新梢長13cm、開葉数6であった。また、山付け後の（4月13日）天蚕の飼育経過観察では、ガラス温室の場合4月17日に2齡入り、4月25日に3齡入りとなり、成育の良好な一部の天蚕では、5月4日の時点で4齡入りする個体も現れた。一方、5月4日の時点で、野外のコウ柳で飼育した天蚕では、ガラス温室で飼育した場合に比べて、5日から6日程度の成育の遅れ（3齡初期）が観察された。また、発砲スチロール製の水耕マット上の水挿しコウ柳による5齡期までの飼育では、天蚕の生長の重みで水没による遺失蚕や水分の多い軟質な葉による要因と思われるような蚕病の発生が観察された。以上のような観察結果から、早期に天蚕を山付けして飼育することで、梅雨時までに継代保存用の天蚕繭を収穫する見通しをたてることが可能となった。

4) 各種水挿し切り枝飼料木による天蚕幼虫の摂食調査では、クヌギ木の葉の方が他のコナラ、ミズナラ、アベマキの葉に比べて好んで摂食したため1齡中の生育不良は少なく、むしろ葉質の乾燥要因により一部の天蚕幼虫において2齡中での遺失蚕（死亡蚕含む）の発生が観察された。

5) 製品試作では、太繊度（仮撚超太繊度生糸300デニール）生糸、網状生糸300デニールの撚糸回数200回/mの双糸とした織り糸で試織した。精練は先練りで、パパイン酵素処理とした。試作品は、女性用ショール、ストールで、特長ある織り組織のカラミ織り、よろけ織りで仕立てた。試作製品は、伸縮性に優れて、首肌に密着して保温性があり、着心地は良好であった。

6) 講師を招いたG I F Uシルク技術研修会を1回実施し、養蚕婦人、G I F Uシルククラフト会員、企業関係者ら延べ50人程度に対して、特殊生糸（色繭生糸、天蚕糸）の色素があせない工夫のタンパク分解酵素の精練方法やインド藍染液を使用したハンカチ、スカーフなどの草木染指導をおこなった。

7) 受託研究の実施

機織り工房藍千と2005ハイブリット絹展の出品物として、特殊生糸の織り糸を使ったカラミ織り、よろけ織りショール、ストールの試作研究を実施した。

4 具体的成果

表1 桑の春期発芽・発育調査（過去30年間）（一ノ瀬）

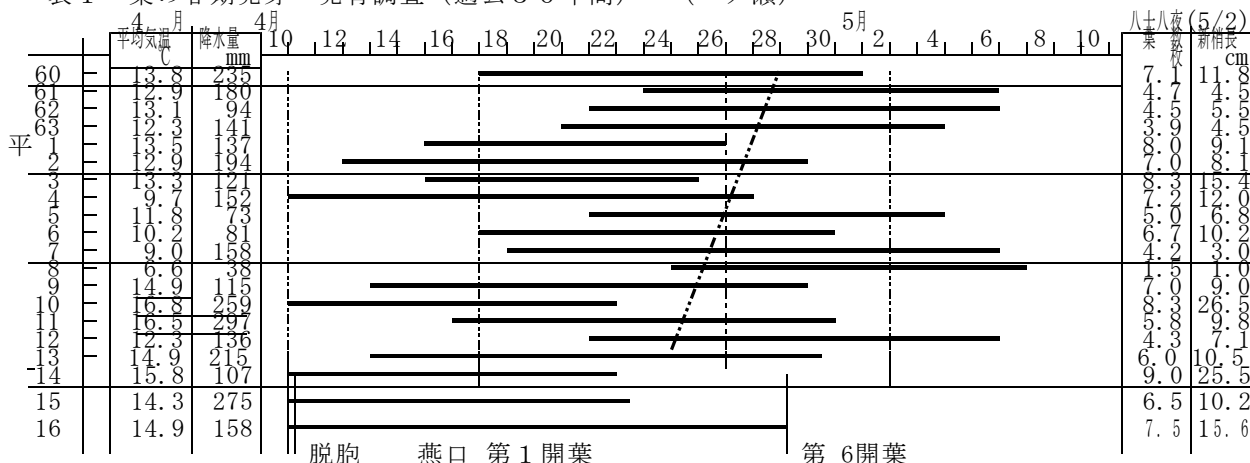


表2 飼育経過及び繭質調査成績

掃立月日	蚕品種	飼育経過日数			化蛹歩合 %	1万頭 取繭量kg	1 リットル L粒数	単繭数 g	繭層重 g	繭層歩合 %
		1~3齢	4~5齢	全 齢						
5.4	大 造	13.0	14.5	27.5	91.0	7.9	165	0.87	0.103	11.83
5.4	小石丸	13.5	15.0	28.5	85.0	11.5	125	1.35	0.167	12.37
5.6	黄 玉	14.0	16.5	30.5	90.0	17.6	69	1.95	0.415	21.28
5.6	笹 繭	14.0	16.5	30.5	90.0	17.4	70	1.93	0.420	21.76
5.6	pcy	14.0	17.0	31.0	90.0	16.7	78	1.85	0.397	21.45
5.6	pcg	14.0	16.5	30.5	90.0	17.2	75	1.91	0.415	21.72
8.8	黄 玉	12.5	15.0	27.5	78.6	12.6	84	1.61	0.363	22.54
8.8	pcy	12.0	15.0	27.0	89.5	13.2	95	1.48	0.316	21.35

表3 コウ柳水耕栽培の生育成績

日別	4/1	4/6	4/9	4/15	4/29
栽培条件	新梢長 開葉数	新梢長 開葉数	新梢長 開葉数	新梢長 開葉数	新梢長 開葉数
ガラス温室	4~5cm 4枚	15cm 6枚	20cm 8枚	25cm 10枚	35~40cm 35~40枚
野外	3	2	6	13	6

表4 コウ柳水耕栽培上の生育経過成績

日 別	4/13	4/17	4/25	5/4	5/6
水耕山付100頭		2齢入	3齢入	4齢入	クヌギ放虫55頭
日 別	4/13	4/20	4/28	5/4	5/6
野外山付65頭		2齢入	3齢入	3齢中期	クヌギ放虫52頭

表5 天蚕飼育経過日数及び減蚕数

掃立月日	飼育条件	天蚕卵の山付数(頭)	飼料木	全齢経過日数	平均営繭頭数	営繭率%	単繭重g(大小 平均)	繭層重g(大小 平均)	繭層歩合(平均)
4月13日	水耕上とかや状ネット	100	コウ柳クヌギ	63~65	33	33.0	9.5 7.6 8.47	0.83 0.63 0.77	9.2
"	野外のかや状ネット	65	コウ柳クヌギ	70~75	27	41.5	9.3 7.8 8.29	0.95 0.76 0.79	9.6
5月下旬	パ・イフハウス内	50	クヌギ	60~65	32	64.0	10.6 7.7 8.67	1.1 0.86 0.75	9.7
6月中旬	"	50	クヌギ	60~65	24	48.0	11.1 7.2 8.31	1.1 0.75 0.57	9.6

表6 天蚕の各種飼料木(小枝)の水挿し試験の生育成績(山付日:8月10日、調査日8月17日)

飼料木の種類	クヌギ	コナラ	ミズナラ	アヤマキ
山付数	20頭	20頭	20頭	20頭
生存数	2齢入り12頭	1齢中1頭	2齢入り1頭	0頭
死亡数	他1齢中8頭	他死亡19頭	1齢中2頭他死亡17頭	全て死亡

- 4 今後の問題点
- 5 結果の発表、活用等
平成16年度日本野
蚕会大会の学術講演
会にて発表

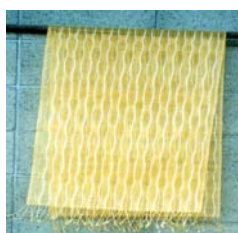


図1 女性用ショール、織り組織: たてよろけ織



図2 女性用ストール、織り組織: カラミ織



織り組織: カラミ織

Ⅱ 特許・研究発表等リスト

II 特許・研究発表等リスト

1 特許出願

- 1) 本田宗央・田村英生・佐藤健
重金属含有土壌の浄化方法
特願2004-264601 (2004年9月19日)
- 2) 神谷克巳・祖父江勇気・小林迪弘
ウイルス包埋体の製造方法
特願2004-278891 (2004年9月27日)
- 3) 葛口剛・横山慎一郎
エクオールの検査方法及びエクオール産生菌の検査方法
特願2005-55058 (2005年2月28日)
- 4) 神山恵理奈・吉村明浩・長澤透・吉田豊和
アミド化合物の分解方法及びニトリル化合物の分解方法
特願2005-82205 (2005年3月22日)

2 国際学会発表

3 国内学会発表

- 1) 岡隆史・奥村暁・吉村明浩・本田宗央・富澤健一・矢木修身
葉緑体DNAへの遺伝子導入技術を利用した、可溶性メタンモノオキシゲナーゼ (sMMO) の産生
第22回環境バイオテクノロジー学会シンポジウム (2004年7月、東京大学)
- 2) 本田宗央・田村英生・坂井崇・日比野陽子・小島淳一・佐藤健
植物による鉛汚染土壌の浄化
日本土壌肥料学会福岡大会 (2004年9月、九州大学)
- 3) 吉村明浩・本田宗央・岡隆史・矢木修身
可溶性メタンモノオキシゲナーゼコンポーネントの発現
2005年度日本農芸化学学会大会 (2005年3月、札幌コンベンションセンター)
- 4) 葛口剛・横山慎一郎
薄層クロマトグラフィーによるEquolの簡便かつ迅速な検出
2005年度日本農芸化学学会大会 (2005年3月、札幌コンベンションセンター)
- 5) 神山恵理奈・吉村明浩・本田宗央・太田義夫・吉田豊和・長澤透
アセトニトリル分解菌による廃液の再資源化
2005年度日本農芸化学学会大会 (2005年3月、札幌コンベンションセンター)
- 6) 横山慎一郎・葛口剛
生石灰によるオカラの腐敗抑制
2005年度日本農芸化学学会大会 (2005年3月、札幌コンベンションセンター)

- 7) 安田勝年
繭糸入り生分解性不織布の多用途利用
平成16年度繊維学会年次大会(2004年6月、江戸川区総合区民ホール)
 - 8) 安田勝年
コウ柳の水耕栽培による早期天蚕飼育の可能性
第10回日本野蚕学会大会(2004年6月、コラッセふくしま)
 - 9) 安田勝年
野蚕シルクタンパクの機能性評価
第10回日本野蚕学会(2004年6月、コラッセふくしま)
 - 10) 安田勝年
繭糸入り生分解性不織布の多用途利用
第60回日本蚕糸学会中部支部研究発表会(2004年11月、スパティオ小淵沢)
 - 11) 安田勝年
エレクトロスピンニング法による絹フィブロインと合成高分子混合液からなるナノ繊維の作成
日本蚕糸学会中部支部研究発表会(2004年11月、スパティオ小淵沢)
 - 12) 安田勝年
蒸煮爆砕法による絹着色粒子加工について
第52回日本シルク学会研究発表会(2004年12月、蚕糸科学研究所)
- 4 他誌掲載論文
- 1) Takeo Katami, Akio Yasuhara and Takayuki Shibamoto
The Role of Metal in Dioxin Formation from Combustion of Newspapers and Polyvinyl Chloride in an Incinerator.
Chemosphere, 58, 891-896 (2005).
 - 2) Takeo Katami, Akio Yasuhara and Takayuki Shibamoto
A Role of Alkaline Elements in Formation of PCDDs, PCDFs, and Coplanar PCBs During Combustion of Various Paper Samples.
Journal of Environmental Sciences & Health, Part A, 40, 991-1001 (2005).
 - 3) Katsumi Kamiya, Jiang Zhu, Masanori Murata, Barbara A. Lavina-Coali, Motoko Ikeda, Michihiro Kobayashi and Satoshi Kawamura
Cloning and comparative characterization of three distinct nucleolyhedroviruses isolated from the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) in Japan.
Biological Control, 31, 38-48 (2004)

Ⅲ 連携大学院方式による教育研究協力

1 経緯

平成13年3月1日付けで、東京農業大学（学長 進士五十八）と岐阜県（知事 梶原 拓）との間で「東京農業大学大学院生物産業学研究科と岐阜県生物産業技術研究所の連携大学院方式による教育研究協力に関する協定」が締結された。

また、東京農業大学大学院生物産業学研究科（委員長 桑原 連）と岐阜県生物産業技術研究所（所長 武藤正義）との間で「東京農業大学大学院生物産業学研究科と岐阜県生物産業技術研究所の連携大学院方式による教育研究協力に関する協定書に関する覚書」の確認が行われ、提携が平成13年4月1日から実施された。

2 教育研究交流内容

① 共同研究

課題名「食品産業廃棄物のバイオマス変換のための有用微生物酵素とその応用技術開発」を東京農業大学大学院と岐阜県生物産業技術研究所が連携して研究した。

② 生物産業技術研究所研究員の派遣

平成16年9月29日～10月1日、生物産業技術研究所研究員（2名）が東京農業大学大学院生物産業学研究科を訪問し、共同研究等に関する協議及び指導を受けた。

③ 岐阜県生物産業技術研究所への客員研究員派遣を依頼

平成17年2月23日～24日、東京農業大学生物産業学研究科の富塚 登教授、中川智行講師を客員研究員として招聘し、共同研究に関する指導を受けた。

3 連携大学院教育連絡協議会について

平成16年度は連携大学院教育連絡協議会は開催せず、岐阜県生物産業技術研究所からの客員教授派遣時と東京農業大学からの客員研究員受入時に研究運営連絡調整を行った。

Ⅳ 主要事業

1 客員研究員招聘事業

(1) 岡本 齋夫 客員研究員

日本植物防疫協会研究所 岡本齋夫所長を客員研究員として招聘し、昆虫機能分野の招聘事業を実施した。

○対象課題名 「ぎふクリーン農業」を支える生物農薬の開発と実用化研究

○開催日 平成16年9月6日～7日

○内容等 微生物農薬の安全性試験や天敵微生物の野外防除効果試験の評価法について指導を受けた。

(2) 加藤 弘 客員研究員

(独)農業生物資源研究所 加藤弘上席研究員を客員研究員として招聘し、蚕糸技術分野の招聘事業を実施した。

○開催日 平成16年11月30日

(3) 古澤 宏幸 客員研究員

東京工業大学大学院古澤宏幸助手を客員研究員として招聘し、昆虫機能分野の招聘事業を実施した。

○対象課題名 環境ホルモン物質を簡易・迅速に検出するバイオセンサーの開発

○開催日 平成16年12月17日

○内容等 水晶発振子マイクロバランス法を用いた生体分子間相互作用の評価について指導を受けた。

(4) 富塚 登 客員研究員、中川智行 客員研究員

東京農業大学大学院生物産業学研究科の富塚登教授、中川智行講師を客員研究員として招聘し、教育・研究協議を行い、指導を受けた。

○開催日 平成17年3月23日～24日

○内容等 オカラに少量の生石灰を添加することで腐敗が抑制できれば、オカラの集荷が容易となり、大量に利用することが可能になるすばらしいことであるが、その後、肥料、飼料への利用が有効であるとの助言を受けた。

(5) 樋口 亜紺 客員研究員

成蹊大学工学部 樋口亜紺教授を客員研究員として招聘し、組織培養法に関する講演を行った。

○開催日 平成17年3月2日

○内容等 成蹊大学工学部応用化学科バイオ医療工学研究室樋口亜紺教授とシルクタンパク質基材を利用した生体親和性に関する研究（肝細胞培養による調査）を実施している。そこで将来を睨んだ再生医療技術の知見を得るため講演会を開催した。

2 研究成果発表会等

○ 研究成果発表会

- (1) 開催期日：平成17年3月4日（金）
- (2) 場 所：みのかも文化の森「緑のホール」
- (3) 参 加 者：54名
- (4) 発表内容：

- ① 植物による鉛汚染土壌浄化と鉛汚染の拡散防止

専門研究員 本田 宗央

植物による汚染土壌の浄化と汚染の拡散防止の効果について、鉛汚染土壌を対象とした実証試験から得られたデータをもとに分かりやすく解説した。

- ② トリクロロエチレン分解機能を付与した形質転換植物の作出

主任研究員 岡 隆史

微生物由来の可溶性メタンモノオキシゲナーゼ遺伝子を植物葉緑体ゲノムに導入し、環境汚染物質を浄化する機能を持った有用植物の開発を試みた。

- ③ トリクロロエチレン分解酵素の生産技術の開発

研究員 吉村 明浩

有機塩素化合物による土壌・地下水汚染の浄化技術の開発をめざし、トリクロロエチレンの分解に働く酵素である可溶性メタンモノオキシゲナーゼを簡便かつ安価に生産する技術について検討した。

- ④ 新規有用形質を有するシクラメンの作出技術の開発

研究員 広瀬貴士

シクラメン育種の効率化を図ると同時に交配育種では困難な品種を作出するため、シクラメンにおける形質転換技術を検討した。

- ⑤ 細胞内受容体を用いて環境ホルモン物質を検出するバイオセンサーの開発

主任研究員 足立 良富

環境ホルモン物質の検出に生物機能を利用したバイオセンサー技術の開発をめざして、センサー分子となる細胞内受容体タンパク質の大量生産・精製を行った。

- ⑥ 生石灰を用いたオカラ腐敗抑制技術の開発

主任研究員 横山 慎一郎

簡便・安価で有効利用でき、長期保存可能なオカラ処理方法を検討した結果、オカラに生石灰を少量添加することで、オカラの腐敗を長期間抑制する技術を開発した。

- ⑦ 蒸煮・爆砕法による着色絹粒子、油性物質含有絹粒子加工技術の開発

主任専門研究員 安田 勝年

絹綿材料を色材や油性物と共に高温高圧の蒸気を用いて蒸煮・爆砕処理を行い、一瞬にして着色絹粒子、油性物質含有絹粒子を作り出す加工技術を開発した。

○ バイオインダストリー研究会

(1) 第8回研究会

開 催 日	平成16年 7月 6日（火）
テ ー マ	「農林系廃棄物の微生物による有効利用」
話題提供者	主任研究員 横山 慎一郎
参 加 者	当所職員 3名、企業関係者 4名

(2) 第9回研究会

開 催 日	平成16年 9月14日（火）
テ ー マ	「酵素～機能の解析から産業への利用～」
話題提供者	研究員 吉村 明浩
参 加 者	当所職員 2名、企業関係者 8名

(3) 第10回研究会

開催日 平成16年11月 5日(金)
テーマ 「ポリフェノールの発癌予防」
話題提供者 赤尾 幸博 岐阜県国祭バイオ研究所 遺伝子診断研究部長
兼健康有用物質研究部長
参加者 当所職員 5名、企業関係者 6名

3 蚕糸技術指導事業

GIFUシルク指導事業活動として下記の事業を実施した。

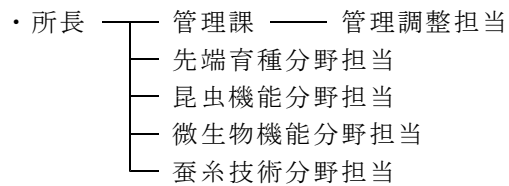
(1) GIFUシルク技術研修会の開催

GIFUシルククラフト協会、市町村、普及センター、蚕糸団体等を中心に、シルクによる地域振興活動等を行っているグループ並びに関係企業を対象に講演会を開催した。

ア 開催期日 平成16年11月30日
イ 場 所 生物産業技術研究所 シルク加工室及び研修室
ウ 講 師 (独)農業生物資源研究所 加藤 弘 上席研究員
エ 講演課題 古典から現代までの染色、機織り技法について

V 沿 革

当研究所は、平成10年4月1日行政組織の改正により、総務課、先端育種分野、昆虫機能分野、微生物機能分野、蚕糸技術分野の1課4分野の担当制で発足し、平成12年4月1日総務課を管理課に改めた。



- ・ 平成11年 2月11日 本館実験室改修整備完成
- ・ 平成11年 3月11日 隔離温室完成、給排水・電源工事完成
- ・ 平成13年 3月22日 第2次閉鎖系温室完成
- ・ 平成15年 3月28日 旧蚕糸研究所寄宿舍解体
- ・ 平成16年 8月11日 旧蚕糸研究所ボイラー室煙突解体
- ・ 平成16年10月 6日 本館屋上高架水槽架台撤去
- ・ 平成17年 1月 8日 本所公共下水道使用開始

(平成16年4月1日現在)

VI 運営概要

1 土地及び建物

(1) 土 地

区 分	面 積 m ²	備 考
美濃加茂市蜂屋町	83,972.13	生物産業技術研究所敷地
可児市広見	6,004.80	旧蚕糸研究所検定課敷地
合 計	89,976.93	

(2) 建 物

区 分		延 面 積 m ²	備 考
生物産業技術研究所	本 館	1,324.80	鉄筋コンクリート造 4階建
	隔離温室	113.50	鉄骨造・ガラス温室 平家建2棟
	昆虫飼育実験室	169.09	鉄筋コンクリートブロック造 平家建
	研究蚕室	472.80	鉄筋コンクリートブロック造 2階建
	付属建物	2,114.39	24施設
小 計		4,194.58	
旧蚕糸研究所検定課建物		2,749.04	
合 計		6,943.62	

2 組織及び職員数

区 分	技術吏員	事務吏員	補助員	用務員	農業技手	専門職	計
所 長 等	2						2
管 理 課		2	1	1			4
先端育種分野担当	5						5
昆虫機能分野担当	4						4
微生物機能分野担当	5						5
蚕糸技術担当	1				3	1	5
合 計	17	2	1	1	3	1	25

3 職員一覧及び分掌事務

職 名		氏 名	主 な 担 当 事 務
所 長		平 正博	所内総括
主任部長研究員		高橋 稔明	所内研究総括
管 理 課	管 理 課 長	中村 三郎	課内総括 出納員 人事 服務
	課 長 補 佐	川地 光雄	予算 決算 歳出 物品財産管理 庁舎管理
	主 任 補 助 員	伊藤 早苗	給与 旅費 賃金 収入事務 歳出
	主 任 用 務 員	中村 宮子	文書収発 所内用務 清掃 環境整備
先 端 育 種 分 野	主任専門研究員	沢野 定憲	担当チーフ
	専 門 研 究 員	本田 宗央	生物的環境修復、微生物・植物機能を利用した環境修復の研究開発
	主 任 研 究 員	岡 隆史	形質転換植物による生物的環境修復の研究開発
	主 任 研 究 員	村元 靖典	植物ウィルス病の迅速診断技術の開発
	研 究 員	広瀬 貴士	新形質シクラメン作出技術の開発

昆虫機能分野	主任専門研究員	形見 武男	担当チーフ、バイオテクノロジーの研究開発
	主任研究員	神谷 克巳	昆虫天敵ウィルスの利用技術の研究開発
	主任研究員	鈴木 郁子	育児休業中
	主任研究員	足立 良富	昆虫による有用物質の生産・利用技術の研究開発
微生物機能分野	専門研究員	白木 豊	担当チーフ、微生物・遺伝子機能の解明と応用利用技術の研究開発
	主任研究員	葛口 剛	有用微生物酵素とその応用技術開発
	主任研究員	横山慎一郎	有用微生物酵素とその応用技術開発
	主任研究員	神山恵理奈	シベリア永久凍土地帯土壌中の有用微生物の探索と利用、微生物機能を利用した再資源化技術の研究
	研究員	吉村 明浩	微生物機能を利用した環境修復の研究
蚕糸技術分野	主任専門研究員	安田 勝年	担当チーフ、絹蚕桑類未利用資源を活用した生活環境素材の開発、G I F Uシルク新技術
	農業班長	大矢 貢	圃場管理、調査研究補助
	主任農業技手	川島 進	
	農業技手	須田 英雄	
	業務専門職	河村 忠彦	

4 予算の概要（当初予算）

（１） 総 括 （単位：千円）

① 生物産業技術研究所費

ア 歳 入	・ 農業費納付金	15
	・ 一般財源	27,191
	計	27,206
イ 歳 出	・ 運営費	19,506
	・ 県単試験調査費	6,670
	・ 桑園維持管理費	1,030
	計	27,206

② 科学技術振興費

・ 先取り型研究開発推進費（試行課題）	11,642
・ 試験研究機関施設整備費（下水道切替工事）	13,500
計	25,142

（２） 試験調査研究費内訳

① 県単試験調査費

ア 絹蚕桑類未利用資源を活用した生活・環境基材等の開発と用途開発	1,114
イ 食品産業廃棄物のバイオマス変換のための有用微生物酵素とその応用技術開発	1,597
ウ トマト黄化葉巻病等重要植物ウイルス病の迅速診断技術の開発	2,236
エ 葉緑体DNAへの外来遺伝子導入技術等を用いた有用植物の開発	1,229
オ G I F Uシルク新技術指導、廃棄物処理費	494

② 先取り型研究開発推進費（試行課題）

ア 生物機能を利用した環境汚染物質の浄化・再資源化技術の開発	4,410
イ 「ぎふクリーン農業」を支える生物農薬の開発と実用化研究	4,349
ウ 環境ホルモン物質を簡易・迅速に検出するバイオセンサーの開発	2,883

機 器 名	メーカー・型式	仕 様
ルミイメージャー	ロッシュ	1280×1024=131万画素 16×16μm 16bit
超高速遠心機	ベックマン Optima L-70K	最高回転数70,000rpm インバランス許容差±mI
DNAシーケンサ	ハークンエルマー Genetic	AanalyzerABIPRISM310-11SPキャピラリー電気泳動
高速液体クロマトグラフ	島津製作所 LC-VP	測定波長190~700 ノイズレベル±0.5×10 ⁻⁵ ABU
蛍光分光光度計	島津製作所 RF-5300PC	精度±1.5nm 測定範囲220~750 スキャン5000nm/秒
マイクロプレート用光度計	大日本製薬 マルチスキャンMS	8チャンネルマルチフォトメーターによる垂直測光方式 波長範囲400~750nm
遺伝子増幅装置	ハークンエルマー 9700	温度制御4~99.9℃ 精度±0.25℃ 均一性±0.5℃
〃	宝酒造 TP3000	温度制御-5~99.9℃ 均一性±0.5℃
遠心式濃縮機	サハント DNA110	チューブ架数1.5ml×24or48 温度制御43℃, 60℃
高速冷却遠心機	久保田製作所モデル6900	最高回転数22,000rpm 最大処理量1,500ml
冷却多本架遠心機	日立 CF8DL	最高回転数8,000rpm チューブ等架数50ml×16
冷却微量高速遠心機	日立 CF15D2	最高回転数15,000rpm
高速冷却遠心機	日立 HIMAC CR 21G	最高回転数21,000rpm
凍結乾燥機	東京理化 FD-1 145280	トラップ 冷却温度-45℃
ロータリーエバポレーター	柴田科学 R-134-VW-3	高沸点型 ウォーターバス室温+5~180℃ タイヤフラム式
冷凍保管庫	サンヨー MDF-192	冷却性能-85℃ 有効容積86L マイコン制御
インキュベーター	サンヨー MIR-553	冷却性能-10~50℃ 有効容積406L
CO2インキュベーター	サンヨー MC0-34AI MC0100	冷却性能5~50℃ 有効容積164L×2
人工気象器	NK LH200-RDS	暗室型 温度範囲5~50℃
〃	NK LH200-RD	開放型 温度範囲5~50℃
〃	サンヨー MLR-350H	強制循環式 有効容量 294ℓ
恒温振とう培養器	サンヨー MIR-220R	温度範囲5~60℃ 旋回速度20~400rpm
製氷器	サンヨー SIM-F124	フレークアイス型 製氷110kg/日
UVモニター	アト AC-5200	測定波長245nm, 280nm
ハイブリタ イゼーションオーブン	タイテック HB	室温+5℃~75℃
イオン交換蒸留器	アトバンテック GS-500	0.5L/h 0.7~1.0L/min
逆浸透膜式蒸留器	アトバンテック GSR-200	1.8L/h 0.5~1.5L/min
データ解析コンピュータシステム	Apple	Mac G3
〃	NEC	Mate NX PC-MA45D
遺伝子蛍光画像解析処理装置	アイシコスモス研究所EU-1150 II	ランプ 8W×10本 主波長312nm 画素数41万画素
生物顕微鏡	オリンパス BX-50-34	ジューテントップ型3眼鏡筒 10, 20, 40, 100倍ズーム
〃	ニコン E6TUW-21-1	広視野3眼鏡筒 10, 20, 40, 100倍ズーム
〃	ニコン E6F-21-1	明視野3眼鏡筒 10, 20, 40, 100倍ズーム
システム倒立顕微鏡	ニコン TE300-1	ジューテントップ型3眼鏡筒 10, 20倍ズーム
〃	オリンパス IX70-11PH	ジューテントップ型3眼鏡筒 10, 20倍ズーム
実体顕微鏡	オリンパス SZX9-3112	広視野3眼鏡筒 10倍ズーム対物作動距離87.5mm
〃	ニコン SMZ-U-1	ビデオ撮影システム付
溶液分離器	セリシン凝縮装置	開口2000×奥行800×高さ1000mm 蒸気圧力 2kg/cm ²
Milli-Q-Synthesis	日本ミリポア	比抵抗値18Ω・cm以上の超純水を1.0L/minの効率で製造
エレクトロポレーション	バイオラット社	電気パルスによる細胞膜穿孔法、電圧50~250V
蛍光マイクロライザ 測定装置	大日本製薬 DVサーモバイオ	フルオロスキャン
恒温振とう培養器	タイテック 二段振とう式	BR300LF
グロースチャンバー	三洋電機製	MLR-350H
等電点電気泳動装置	アマシャムバイオサイエンス I P G p h o	設定可能温度範囲: 18~25℃
パーティクルガン装置	バイオラッド社 PDS-1000/He	ヘリウムシステム
中圧クロマトグラフ	アマシャムバイオサイエンスAKTA prime	フラクションコレクター、モニター付
ポータブル分光光度計	バイオラッド社	測定波長200nm~800nm, 再現性±0.005AU

6 年間主要行事表

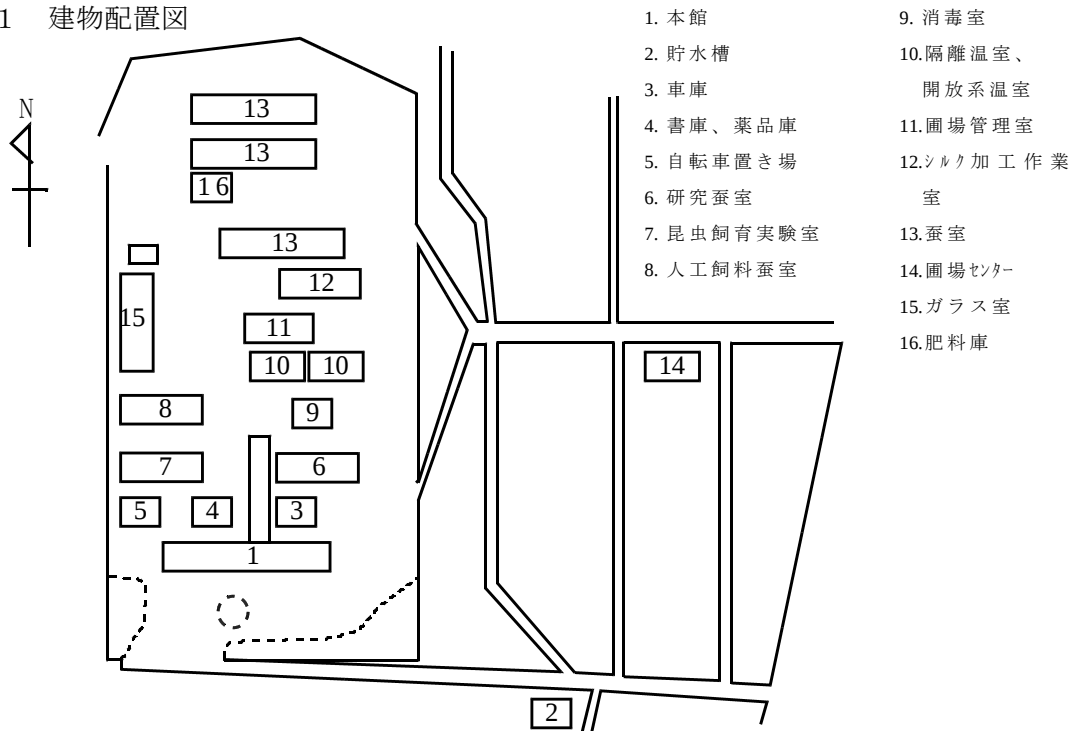
(掲載基準は、泊を伴う又は遠隔地への出張、本所主催の事業等とする)

4 / 1 4	共同研究打合せ	横浜市
4 / 2 6	生物機能活用の環境負荷低減技術打合せ	つくば市
5 / 1 0 ~ 2 1	共同研究のための技術研修	横浜市
5 / 2 5 ・ 2 6	生物機能活用環境負荷低減技術開発会議	つくば市
6 / 9 ・ 1 0	平成16年度繊維学会年次大会	都内
6 / 2 4 ・ 2 5	トマト黄化葉巻病生態研究成果発表会	熊本市
6 / 2 5 ・ 2 6	第10回日本野蚕学会	福島市
7 / 5 ・ 6	第22回環境バイオテクノロジー学会	都内
7 / 6	バイオインダストリー研究会	本所
7 / 1 4	平成16年野茶試課題別研究会	つくば市
7 / 2 2 ・ 2 3	2004シルクサマーセミナー	岡谷市
7 / 2 9 ・ 3 0	天蚕飼育技術指導	白川村
7 / 3 0	研究打合せ	横浜市
8 / 3 ~ 5	第29回組織細胞化学講習会	甲府市
8 / 4 ・ 5	天蚕飼育技術指導	白川村
8 / 5	受託研究打合せ	徳島市
8 / 1 0 ・ 1 1	MA Tベクター研究会	秋田市
8 / 2 4 ・ 2 5	組換え作物栽培実験指針情報者会議	つくば市
9 / 3	生物農薬シンポジウム	都内
9 / 7 ・ 8	昆虫機能研究利用国際シンポジウム	つくば市
9 / 1 3 ~ 1 6	日本土壌肥料学会	福岡市
9 / 1 4	バイオインダストリー研究会	本所
9 / 2 1 ~ 2 3	日本生物工学会大会	名古屋市
9 / 29 ~ 10 / 1	連携大学院 共同研究打合せ	網走市
1 0 / 7	関東東海北陸農業研究推進会議	都内
1 0 / 8	未来のバイオ技術勉強会	都内
1 0 / 1 4 ・ 1 5	東海地区農業関係場所長会議	浜松市
1 0 / 2 1 ~ 2 3	第6回昆虫病理研究会シンポジウム	富士吉田市
1 1 / 2	受託研究協議	京都市
1 1 / 5	バイオインダストリー研究会	本所
1 1 / 1 1	公開シンポジウム	都内
1 1 / 3 0	G I F Uシルク技術研修会	本所
1 1 / 1 1 ・ 1 2	日本蚕糸学会中部支部研究発表会	山梨県小淵沢町
1 1 / 1 9	全国蚕糸関係試験研究運営協議会役員会	都内
1 1 / 2 5 ・ 2 6	生物農薬及び組織培養の先端技術の調査	吉野川市
1 2 / 3	日本シルク学会研究発表会	都内
1 2 / 8 ~ 1 0	タバコへのSMMO遺伝子導入調査	京都府木津町
1 2 / 9 ・ 1 0	第27回日本分子生物学会	神戸市
1 2 / 1 0	大阪・ソウル環境問題シンポジウム	大阪市
1 2 / 1 5 ・ 1 6	新農薬実用化試験成績検討会	都内
1 / 2 1	植物バイテク講演会	つくば市
2 / 1 ・ 3	関東東海北陸農試研推進会議	つくば市
2 / 3	蚕糸・昆虫機能研究全国連絡会議	つくば市
2 / 9 ~ 1 1	バイオセンサーの開発に関する調査	横浜市
2 / 1 5	共同研究打合せ	横浜市
2 / 2 4	共同研究打合せ	都内
3 / 4	研究成果発表会	本所

3 / 9	微生物農薬の安全性試験に関する調査	都内
3 / 9 ・ 1 0	プロジェクト研究平成 1 6 年度推進会議	つくば市
3 / 2 8	微生物農薬の打合せ	牛久市
3 / 2 8 ～ 3 0	日本農芸化学会	札幌市
3 / 2 9 ～ 3 1	植物病理学会	静岡市

Ⅶ 土地・建物の概要・位置

1 建物配置図



2 本館配置図

