

第15号

衣笠纖維研究所報告

2011

財団法人 衣笠会

〒603-8326 京都市北区北野下白梅町29

2012年3月発行

目 次

重点研究

蚕卵の長期保護に関する研究

古澤壽治・藤井 博・高濱(一田)昌利・今村利勝・・・・・・1

外部連携研究

エビガラスズメ緑色幼虫の真皮細胞に存在するタンパク質凝集成分 X の性質

白井孝治・島田拓郎・福島壽斗・木口憲爾・・・・・・3

宇宙環境下におけるカイコ卵遺伝子の発現解析

長岡純治・・・・・・7

塩溶液法による繭の貯蔵と繰糸に関する研究

高濱(一田)昌利・高橋重三・・・・・・11

教育支援事業

ホコリの観察と調査

四宮未代菜・辛島沙耶加・加賀浩子・・・・・・13

活動ノート

「シルクサミット 2011 in 桐生」からの情報発信

高橋重三・・・・・・20

衣笠会「繊維学術賞」の報告 ・・・・・・・・・・・・・・・・23

平成 23 年度 (財) 衣笠会繊維研究所活動状況 ・・・・・・・・・・・・25

1. 学術論文の発表、各種学会での口頭発表など
2. 講演活動
3. 学術講演会の開催

蚕卵の長期保護に関する研究

古澤壽治¹・藤井 博¹・高濱(一田)昌利²・今村利勝³

¹財団法人 衣笠会 〒603-8326 京都市北区北野下白梅町 29、²京都工芸繊維大学生物資源フィールド科学教育研究センター 〒616-8354 京都市右京区嵯峨一本木町 1、³無菌養蚕システム研究所 〒616-8354 京都市伏見区久我森ノ宮町 10-102

1. 研究背景と目的

日本には 1,000 を超える品種系統が保存されているが、これらの継代は毎年 1 回の飼育によって行われている。これに代わって、液体窒素などによる精子や卵巣の凍結保存が期待され、その面での研究が行われている。すなわち、卵巣 (Kusuda *et al.*, 1985) や精子 (Takemura *et al.*, 2000) を凍結保存する方法が確立し、人工的に受精する方法も見通しがついている (竹村・持田, 2008)。

一方、卵期の休眠と保護温度との関連を調査する過程で、0°C が休眠期間を延長させ、少なくとも 2 年間保護出来ることが明らかとなっている (Furusawa *et al.*, 1982; 1992)。しかし、全ての品種にこの結果が適用できるとは限らない。保護温度との関連から、受精卵を凍結することも試みられたが、凍結の際に卵殻が破壊されるなど、難点が多い。

そこで、食品分野で開発された CAS (Cells Alive System) で蚕卵を凍結保存できるか否かについて検討した。

2. 材料および方法

京都工芸繊維大学・生物資源フィールド科学教育研究センターで採取した交雑種蚕卵 (平成 22 年 11 月採取) を約 1 ヶ月 25°C で保護した。この卵を株式会社 アピーで卓上型研究用 CAS プログラムフリーザーで凍結した後、約 3 ヶ月間 5°C で、さらに 2 週間室温で保護した。そして、胚の生存について、卵を解剖することによって胚の形態を観察することで判定した。

3. 研究成果と展望

卵の概観を観察すると、凍結保存後、直ちに 25°C~30°C で 3 ヶ月保護した卵 (図 1 A) では卵内部から水分が蒸散したためか、卵殻が壊んだものが多くった。しかし、5°C で保護した卵



図1 凍結保存卵の外観.A: 解凍後 25°C～30°Cで3ヶ月保護した卵、B: 解凍後 5°Cで3ヶ月保護した卵

では、卵殻がしっかりと形を保ち、しうる液膜細胞の破壊もみられなかった（図1B）。そこで、卵を解剖したところ、凍結後の解凍直後では卵黄細胞の形は観察されたにも拘わらず、3ヶ月後には卵黄細胞は破壊され、胚を観察することはできなかった。

以上のことから、今回のように初期胚の形態が行われた後ではなく、受精直後の凍結処理をすること、および解凍直後の温度処理方法について検討することで糸口を見出したい。

4. 引用文献

- Furusawa, T., Shikata, M and Yamashita, O. (1982) Temperature dependent sorbitol utilization in diapause eggs of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Comp. Physiol. 147, 21-26.
- Furusawa, T., Yaginuma, T. and Yamashita, O. (1992) Temperature induced metabolic shifts in diapause and non-diapause eggs of the silkworm, *Bombyx mori*. Zool. Jb. Physiol. 96, 169-180.
- Kusuda, J., Noguchi, T., Onimaru, K. and Yamashita, O. (1985) Maturation and hatching of eggs from silkworm ovaries preserved in liquid nitrogen. J. Insect Physiol. 31, 963-967.
- Takemura, Y., Kanda, T. and Horie, Y. (2000) Artificial insemination using cryopreserved sperm in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Insect Physiol. 46, 491-497.
- 竹村洋子・持田裕司 (2008) カイコ遺伝資源の凍結保存法 -カイコの生殖巣凍結保存技術の現状と応用の可能性-. 蚕糸・昆虫バイオテック 77, 9-16.

エビガラスズメ綠色幼虫の真皮細胞に存在する タンパク質凝集成分 X の性質

白井孝治・島田拓郎・福島壽斗・木口憲爾

信州大学繊維学部 生物資源・環境科学課程

〒386-8567 長野県上田市常田 3-15-1

1. 研究背景と目的

エビガラスズメ幼虫の基本体色は緑色である。この体色はビルベルジンを結合した (AcINS) と、ルテインを結合した真皮細胞カロチノイド結合タンパク質 (eCBP) が真皮細胞に蓄積するためである。しかし、著者らはこれまでの研究から、これらのタンパク質が共に分泌シグナルを有する分泌タンパク質であることを明らかにしている。また真皮細胞から分泌顆粒を精製し、内容物中に AcINS と eCBP が特異的かつ高濃度で蓄積されていることも証明してきた (白井ら, 2010)。これら分泌タンパク質が真皮細胞中に蓄積するには何らかの特別な機構が必須である。一般に分泌タンパク質は細胞内に留まることは出来ず、合成後、速やかに細胞外へ放出される。従って、AcINS と eCBP が真皮細胞内に蓄積されるには特別な機構が必須である。この特別な分泌経路は一般に「調節性分泌経路」と呼ばれ、全細胞が有する「構成性分泌経路」と異なり、ペプチドホルモンを分泌する一部の細胞などに認められる特別な経路である(Taupenot et al., 2003)。調節性分泌は多細胞生物が個体としての統合機能を発揮するための根幹をなす機構であるが、その分子基盤は十分に解明されていない。特に昆虫を含む無脊椎動物では、ほとんど研究されていない。

上述のように、エビガラスズメ幼虫の真皮細胞において、AcINS は分泌顆粒に特異的に選別・蓄積される。そこで、顆粒内容物中に AcINS を顆粒へと選択的に輸送する機構が存在すると考えのもと、その内容物を分析した。その結果、幼虫真皮細胞の分泌顆粒内に AcINS を凝集させる能力を有する新規の低分子成分 X を発見した。

分泌顆粒内への調節性分泌タンパク質を輸送する機構として“グラニン凝集説”が知られている。クロモグラニン A (CgA) は酸性可溶性タンパク質でトランス・ゴルジ・ネットワーク (TGN) 内の環境下、すなわち弱酸性高カルシウムイオン条件化において自己凝集する性質がある。グラニン凝集説では CgA の TGN 内での自己凝集過程に、積み荷である調節性分泌タンパク質が巻き込まれ、結果的に選別されると考えられている(Tooze et al., 2001)。しかし、本来速やかに分泌される、構成性分泌タンパク質の中にも、CgA の凝集に巻き込まれる成分もあるなど(Dannies, 1999)、グラニン凝集説のみでは選別機構を完全には説明できず、現在も論争が続いている(Cool and Loh, 1998; Hosaka et al., 2005; Irminger et al., 1997)。

詳細は不明であるが、上述の成分 X は凝集沈殿の形成など CgA と類似する点はあるものの、5,000 Da 以下の低分子と考えられることなど、幾つかの性質が明らかに異なる。そこで本研究では、新規凝集成分 X の性質、特に凝集特性について追究した。

2. 材料および方法

2.1 エビガラスズメの飼育

エビガラスズメは当研究室で継代飼育している個体群から実験に用いた。カイコ人工餌料 (L4M) にサツマイモ葉の乾燥粉末を加え、人工飼料育した。飼育条件は 25°C、16L-8D であった。

2.2 凝集成分 X の粗精製

まず、エビガラスズメ緑色幼虫真皮細胞から分泌顆粒をショ糖密度勾配遠心法 (0-8M) で単離した。エビガラスズメ緑色幼虫 (5 齢 day 3) の真皮細胞を実験に用いた。回収した真皮細胞を冷却しながら十分に摩碎した後、遠心処理、粗濾過などを繰り返して分泌顆粒を粗精製した。粗精製した分泌顆粒に超純水を加え顆粒を懸濁後、超音波処理により顆粒を破碎した。破碎後、遠心処理を行い得られた上清を回収した。さらに内容物画分を限外ろ過し、通過画分 (MW=10,000 以下) を凝集実験に用いるサンプル (成分 X 分画) とした。

2.3 成分 X の凝集特性の検討

成分 X の凝集特性を検討した。一つの実験では同じロットの粗精製標品を用いて実験を行い、標品の量や精製度の違いなど調製の影響を出来る限り除外した。凝集実験は、凝集成分 X サンプルを、80mM CaCl₂、0.2 M HEPES 緩衝液 (pH 7.4)、最後に AcINS 精製標品を等量混合し沈殿形成させた。溶液を混合後、室温で 30 分静置した後、遠心して沈殿を観察した。また沈殿を再度懸濁した後、吸光度を測定し、沈殿の量を濁度として評価した。さらに各沈殿を回収し、SDS-PAGE により成分を分離した。その後、抗 AcINS 抗体を用いたイムノプロット法で沈殿中の AcINS 量 (相対量) を簡易的に比較した。

なお、成分 X の凝集能 (凝集活性) は次式で求めた。凝集活性 (%) = {(A-B) / A} × 100.
(A:コントロールの吸光度、B : 試料の吸光度)

以上を標準実験として、成分 X の量、カルシウムイオン濃度、pH、凝集に用いるイオン種などを変え、その凝集活性の変化を調査した。またウシ血清アルブミン(BSA)を用い、成分 X 凝集への AcINS の巻き込みの特異性を検討した。

3. 研究成果と展望

3.1 成分 X の凝集条件の検討

凝集成分 X の性質について調査する目的で、幾つかの実験を行った。まず、成分 X 量を変化させた場合の凝集沈殿活性を調査した。その結果、凝集活性は成分 X の増加量に比例する訳ではなく、ある量以上加えても、むしろ沈殿活性は減少した。すなわち成分 X の凝集活性は一定の比の場合に最大となる典型的な凝集沈殿形成の様式をとることが明らかになった。次に Ca²⁺ 濃度を変化させた場合の影響を調査した。その結果、沈殿量は Ca²⁺ 濃度の増加に伴い増大した。すなわち、成分 X は多くの Ca²⁺ と結合することでタンパク質を凝集・沈殿させると考えられる。

この多くの Ca^{2+} と結合（反応？）する点は CgA の性質と共通する(Gorr et al., 1989; Yoo and Albanesi, 1990)。

凝集の至適 pH を調査した。その結果、弱アルカリの実験区における凝集活性が最大となった。沈殿形成の至適 pH が アルカリ側と言う点は、CgA と大きく異なる(Yoo and Lewis, 1996)。特に細胞内での分泌タンパク質選別の場であるトランス・ゴルジ・ネットワーク (TGN) が弱酸性と考えられるため、成分 X の選別に関する役割という点で疑問が残る結果と言える。

成分 X は Ca^{2+} 以外の金属イオンでも、 Pb^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cu^{2+} を用いても凝集活性が認められた。CgA に関してはこれまで Ca^{2+} 以外で凝集実験の報告が見当らないため比較は出来ないが、今後、成分 X の凝集メカニズムを考察する貴重な知見となることを期待したい。

また、それぞれの実験において、沈殿形成量と共沈殿した AcINS 量を比較したところ、形成された沈殿量とそれに巻き込まれ共沈殿した AcINS 量はほぼ相関することが確認された。

3.2 凝集沈殿への AcINS の巻き込みの特異性

凝集に AcINS が優先して巻き込まれるのか、他の成分が存在するとどのように変化するのかを調べるために、BSA 存在下において凝集沈殿を形成させ、沈殿に巻き込まれた AcINS 量を調べた。その結果、添加した BSA 量の増大に伴い、沈殿中の AcINS 量は減少した。しかし、AcINS 量の減少は対 BSA モル比の増大より緩やかなため、ある程度の親和性が示唆される。本実験は成分 X の単離後、再度検討する必要がある。

本研究では、凝集成分 X の凝集特性を調査した。その結果、凝集成分 X はアルカリ性の溶液中でカルシウムに加え亜鉛、アルミニウム、銅の存在下で凝集沈殿を形成すること、凝集に伴う AcINS の巻き込みが必ずしも特異的でないことが明らかになった。また、凝集にはそれぞれの成分について最適の比があることがわかった。

4. 引用論文

- Cool, D.R. and Loh, Y.P. (1998) Carboxypeptidase E is a sorting receptor for prohormones: binding and kinetic studies. *Mol. Cell Endocrinol.* 139, 7-13.
- Dannies, P.S. (1999) Protein hormone storage in secretory granules: mechanisms for concentration and sorting. *Endocr. Rev.* 20, 3-21.
- Gorr, S.U., Shioi, J. and Cohn, D.V. (1989) Interaction of calcium with porcine adrenal chromogranin A (secretory protein-I) and chromogranin B (secretogranin I). *Am. J. Physiol.* 257, E247-254.
- Hosaka, M., Watanabe, T., Sakai, Y., Kato, T. and Takeuchi, T. (2005) Interaction between secretogranin III and carboxypeptidase E facilitates prohormone sorting within secretory granules. *J. Cell Sci.* 118, 4785-4795.
- Irminger, J.C., Verchere, C.B., Meyer, K. and Halban, P.A. (1997) Proinsulin targeting to the regulated pathway is not impaired in carboxypeptidase E-deficient Cpefat/Cpefat mice. *J. Biol. Chem.* 272, 27532-27534.

白井孝治・福島壽斗・島田拓郎・木口憲爾 (2010) エビガラスズメ綠色幼虫の真皮細胞に存在するタンパク質凝集成分 X について. 繊維研究所研究報告 14, 9-15.

Taupenot, L., Harper, K.L. and O'Connor, D.T. (2003) The chromogranin-secretogranin family. N. Engl. J. Med. 348, 1134-1149.

Tooze, S.A., Martens, G.J. and Huttner, W.B. (2001) Secretory granule biogenesis: rafting to the SNARE. Trends Cell Biol. 11, 116-122.

Yoo, S.H. and Albanesi, J.P. (1990) Ca^{2+} -induced conformational change and aggregation of chromogranin A. J. Biol. Chem. 265, 14414-14421.

Yoo, S.H. and Lewis, M.S. (1996) Effects of pH and Ca^{2+} on heterodimer and heterotetramer formation by chromogranin A and chromogranin B. J. Biol. Chem. 271, 17041-17046.

5. 発表論文

(学会・研究会などでの口頭発表)

Shirai K.: The molecular mechanisms of the body color expression in the sweet potato hornworm, *Agrius convolvuli*, Soochow University (China). 平成 23 年 9 月 22 日

宇宙環境下におけるカイコ卵遺伝子の発現解析

長岡 純治

京都工芸繊維大学大学院 工芸科学研究科 応用生物学部門

〒606-8585 京都市左京区松ヶ崎御所海道町

1. 研究背景と目的

地球上で生活している我々を含む生物は、人工的に発せられた放射線や自然界から放出される放射線にさらされながら生活をしている。これらの放射線は、被曝量によっては、その生命活動に著しい生物に対する影響があり、今まで、さまざまな実験や疫学的検討により評価が進んでいく。これに対して、宇宙空間上での宇宙放射線の生物に対する被曝影響に関しては、宇宙空間にヒトが出て行くような時代になったのにもかかわらず、その情報は限られている。この最大の原因は、地球上の生物影響をもつ放射線の多くがガンマ線のような電磁波であるのに対して、宇宙放射線は、陽子線、 α 線、Feなどの重粒子などの粒子線からなり、生物に対する影響は、地球上での知見から一概に見積ることができない点にある。

これらの問題を解決するには、宇宙放射線を正確に測定し、その測定モニタリング環境下での生物反応を精査する必要がある。本研究では、2009年に91日間、受動積算型宇宙放射線計測器(PADLES)により宇宙放射線が正確にモニターされている条件下で、国際宇宙ステーション「きぼう」に搭載されたカイコ卵を用い、この卵で発現している遺伝子の発現変化を探ることで、宇宙環境下、特に、宇宙放射線による遺伝子発現影響を探すこととした。

2. 材料および方法

2.1 供試個体

供試カイコは、国際宇宙ステーション「きぼう」利用科学実験テーマ、「カイコ生体反応による長期宇宙放射線曝露の総合的評価」(研究代表者；古澤壽治) (Furusawa et al., 2009; 古澤ら, 2009) で調製されたものを利用した。すなわち、黒縞系統と小石丸系統を掛け合わせた第1世代の休眠状態にある卵を用いた。休眠状態を維持するために4°Cで保存された卵は、2009年8月11日にJAXA筑波宇宙センターよりNASAケネディー宇宙センターへと移動させ、8月29日にスペースシャトルDiscovery(STS-128)にて宇宙へと打ち上げた。そして、9月4日より国際宇宙ステーション内の冷蔵庫(2°C)に移動させた。続いて、休眠覚醒ならびに胚発生の進行を促すために11月17日から23日まで20°Cに移した。この際、宇宙環境中でIGを作り出すために、CBEFローターにカイコ卵を取り付け、人工的なIG環境で実験を行い、終了後、直ちに-95°C

で冷蔵し、そのままの状態で地球に 11 月 27 日に帰還した。このようにして調製されたカイコ卵を以降、ISS-1G/20°C 区と呼ぶ。これに対して、地球上で、全く同ースケジュールで、温度間の移動をさせ、凍結保存した卵を、地上対照区 (GC 区) とした。また、ISS で 11 月 23 日の実験終了まで一貫して宇宙軌道上の重力環境、2°C 下で保存し、凍結したサンプルを ISS-μG/2°C 区とした。本実験では、以上、3 実験区の発現解析を行った。

2.2 全 RNA, cDNA の調製

冷蔵保存されたカイコ卵より NucleoSpin® RNA II extraction kit (Machery-Nagel) を用いて全 RNA を調製した。この RNA から CellAmp® Whole Transcriptome Amplification Kit (Real Time) Ver. 2 (TakaraBio) により cDNA を合成した。

2.3 遺伝子発現解析

解析した遺伝子は、細胞の増殖制御に関連すると考えられる p53, translationaly controlled tumor protein (Tctp/p 23), DNA 修復や RNAi に関する Dmc1, R₂D₂, Dicer 2, Loqu, 热ショックタンパク質 hsp 20 (small Hsp 群) (Sakano et al., 2006; Li et al., 2009), hsp 40, hsp 70, hsp 90 (Manjunatha et al., 2010), sorbitol dehydrogenase (SDH) であり、データベース上に登録された配列情報に基づき、プライマーを作製した。内部標準遺伝子として、Actin A3 を用いた。前項で合成した cDNA、上記プライマー、SYBR® Premix Ex Taq II (TakaraBio)を Thermal Cycler Dice Real Time System II (TaKaRa) を使用し、機械に添付されたソフトにより相対的な定量 PCR 解析 (qPCR) により遺伝子発現解析を行った。

p53 相同遺伝子は RT-PCR により、孵化直後の幼虫 cDNA から単離し、GenBank accession No. AB550909 に登録した。

3. 研究成果と展望

3.1 サンプルおよび cDNA の品質

ランダムに 3 実験区からそれぞれ約 30 個ずつカイコ卵を選び出し、上述の方法に従い、1 粒ごとに cDNA を合成し、これを鑄型としてアクチン遺伝子の增幅を行った。その結果、3 実験区ともに約 75% のサンプルからアクチン遺伝子の增幅がほとんど認められなかった。一方、3 実験区の卵からの孵化個体数は、約 25% であった。このことから、アクチン遺伝子が増幅されないサンプルは、胚発生の過程で致死状態にあり、以降の遺伝子発現解析には有効なサンプルではないと判断した。また、アクチン遺伝子の增幅が認められた cDNA からは、発現量の多いことが予想される Hsp90 と少ないことが予想される p53 が検出出来たことから、カイコ卵 1 粒から極端なバイアスがかかってなく、かつ qPCR 解析が可能な cDNA が作製できており、以降の発現解析には有効であると判断した。

3.2 遺伝子発現解析

Dmc1, R₂D₂, Dicer 2, Loqu, SDH の発現はすべての実験区において、本実験条件下では、その発現を見出すことはできなかった。P 53, Tctp, Hsp 90, Hsp 70, Hsp 40 の発現は、ISS-1G/20°C 区と GC 区の間で大きな違いは認められなかった。一方、small Hsp 群の発現量は、GC 区よりも

ISS-1G/20°C 区の方が 10^3 - 10^4 低く押さえられていることを見出した。しかし、ISS- μ G/2°C 区の発現量は、GC 区と大きな差が認められなかった。

3.3 考察および展望

本実験では、カイコ卵 1 粒ごとの遺伝子発現解析が行えるようになり、1 粒、すなわち一個体ごとの解析結果を、統計的解析により集団（実験区）間の差異として処理することが可能となった。一般的に、生物は同一環境に対して生物自身の生理状態の影響を受け、一様に同一の強度で反応しないから、集団全体をまとめ、比較するよりもより詳細な解析が行える。このことを踏まえて、各実験区での調査した遺伝子の個体別発現には揺らぎが検出されたものの、GC 区に比較して、ISS-1G/20°C 区で small Hsp 群遺伝子の発現は著しく抑制されていることが本研究では明らかにすることことができた。ISS- μ G/2°C 区が GC 区と大きな差が認められないことから、この変化は、休眠打破による胚発生の再開と反転までの胚発生が宇宙環境で行われてことに起因するものと予想され、同時に、今回の ISS-1G/20°C 区は精密には胚発生を地球環境とは異なるが 1G 環境下で進行させているので、その主たる原因として、宇宙放射線の影響が疑われる。本実験で用いられた卵の被爆した宇宙放射線量は PADLES のデータから予想することができる、地球環境下でも、本実験に用いた卵が経験した宇宙放射線環境を構築し、再現実験による本推測の検証を試みることが可能だと考えられる。

small Hsp 群を含む Hsp はストレス応答タンパク質として知られ、多くの真核生物に共通して存在しているが、その機能は多岐に及び、詳細にはよく判っていないのが現状である。今回、small Hsp 群遺伝子の発現量のみが大きく変化したことを、昆虫遺伝発生学の立場で解釈するなら、休眠打破以降の胚発生過程での様々な内因性・外因性ストレスを特異的に制御する重要なタンパク質である可能性を予想させる。すなわち、今回のような宇宙環境下での生物発生研究が、今まで地球環境下で気づかなかつた発生重要因子を解明する手がかりを提供する可能性を明らかにした。今後、small Hsp 群以外に GC 区と ISS-1G/20°C 区の間で発現状態の異なる遺伝子の探索を行うことは、カイコの胚発生期において重要な役割をもつ新規遺伝子（タンパク質）の解明に繋がることが期待される。

4. 引用論文

- Furusawa, T., Nojima, K., Ichida, M., Nagaoka, S., Sugimura, Y., Suzuki, E., Sumida, M., Suzuki, H., Simazu, T., Omori, K., Ishioka, N., Fujii, H. and Nagaoka, S. (2009) Introduction to the proposed space experiments aboard the ISS using the silkworm, *Bombyx mori*. *Biol. Sci. Space* 23, 61-69
古澤壽治・角田素行・一田昌利・長岡純治・杉村順夫・藤井 博・野島久美恵・長岡俊治・石岡憲昭・大森克徳・嶋津 徹・鈴木ひろみ (2009) 国際宇宙ステーションへの“黒縞”系統卵の搭載、虫たちが語る生物学の未来. 衣笠会. p. 81.
- Li, Z-W., Li, X., Yu, Q-Y., Xiang, A-H., Kishino, H. and Zhang, Z. (2009) The small heat shock protein (sHSP) genes in the silkworm, *Bombyx mori*, and comparative analysis with other insect sHSP genes. *BMC Evolutionary Biology* 9, Article No.215.
- Manjunatha, H. B., Rajesh, R. K. and Aparna, H. S. (2010) Silkworm thermal biology: A review of heat

shock response, heat shock proteins and heat acclimation in the domesticated silkworm, *Bombyx mori*.
J. Insect Sci. 10, Article No. 204.

Sakano, D., Li, B., Xia, Q., Yamamoto, K., Hiroshi, F. and Aso, Y. (2006) Genes encoding small heat
shock proteins of the silkworm *Bombyx mori*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 70, 2443-2450.

5. 発表論文

(学会・研究会などの口頭発表)

古澤壽治・一田昌利・長岡純治・杉村順夫・藤井 博・大森克徳・野島久美恵・永松愛子・鈴木
ひろみ・鳩津 徹・長岡俊治・石岡憲昭：カイコ生体反応による長期宇宙放射線被曝の総合的
評価. 国際宇宙ステーション「きぼう」利用科学実験テーマ成果報告会. 日本教育会館（東
京）. 平成 23 年 12 月 9 日.

塩溶液法による繭の貯蔵と織糸に関する研究

高濱(一田)昌利¹・高橋重三²

¹京都工芸繊維大学生物資源フィールド科学教育研究センター 〒616-8354 京都市右京区嵯峨一木本町1、²財団法人 衣笠会 〒603-8326 京都市北区北野下白梅町29

1. 研究目的と背景

繭から生糸を生産する方法として、古くから「乾繭の織糸方法」が用いられている。この方法では、繭の加熱乾燥(殺蛹と乾燥)と、さらに織糸に先立って、蒸気または熱湯で処理する煮繭工程、ついで織糸工程でも温湯を必要とし、多量の熱量が必要である。これらの工程ではタンパク質の熱変性の可能性が考えられる。

以前から「生繭織糸法」により、繭の乾燥工程を経ることなく織糸する方法があるが、この方法においても、高温の热水で処理しなければ織糸は不可能であり、かなりの熱量を要する。

古くから、生繭を固体の塩と混ぜ、密閉容器に入れ貯蔵し、殺蛹した後織糸する「塩蔵法」が報告されている(布目, 1975)(関根, 2006)。塩蔵法で織糸するには約50°Cの温湯が必要であり、熱量は比較的少量であるが織糸機構(繭から糸が織糸できる理由、機構)を科学的に解明することは難しい。

著者らは、省エネルギーかつ環境にやさしく、繭本来の特性を維持した生糸生産法の作出を目的として研究した結果、塩化ナトリウムの溶液(濃度飽和)中に、約30~40°Cで約30日以上貯蔵することにより室温の水で容易に織糸が可能になる事を見出し、この方法を「塩溶液法」と名付けた。本報告では、本法による織糸結果について報告する。

2. 材料および方法

供試蚕品種は、独立行政法人農業生物資源研究所から卵の分譲を受けた日9・0×中9・0(通称ありあけ)を全齢桑葉飼育し、得られた繭を織糸原料とした。繭は収繭後実験開始まで生繭の状態で、5°Cの冷蔵庫に保管した。

座織り織糸機は、変速可能なモーターで駆動し、回転接続器、集緒器、ケンネルより掛け装置、トラバースを経て巻き取った。巻取り枠は、プラスチック製部品を用いた。巻取り速度は90m/minとし、定粒織糸(7粒付け)を行った。織糸後、揚げ返し機(枠周150cm)を用いてかせ糸にした後、水洗、遠心脱水風乾し試料とした。織糸および揚げ返し中、生糸は乾燥しないようスプレーで水を噴霧した。これは、緊張した状態で固定しないようにするためにある。織糸は以下の3法を用いた。生繭織糸法、塩蔵法、塩溶液法と織糸である。

製作した生糸は、纖度の測定、練減率の測定を行った。

生糸の力学的性質の測定は、京都市産業技術研究所繊維技術センターに依頼して JIS L1013 8.5.1 に準拠して測定した。

3. 研究成果と展望

塩溶液法による織糸結果（繭の状態について）は以下の通りであった。

実験開始まで°C冷蔵庫に保管し、塩溶液（濃度飽和）に、30°C50 日間貯蔵した後取り出し、表面に付着している液体を濾紙で取り除いた後の重量は、1.25 g(約 1ml)増加していた。この繭を切り開いてみた結果、繭層部分に液体は浸入しているが、それより内部「繭腔内」に液体は 1 滴程度しか浸入していないことが分かった。次に、試作織糸機を用い、織糸浴温度 10°Cで織糸した。なお、塩溶液が繭層部分に浸入することが分かったが、さらに内部に浸入しない理由としては、正常な繭では繭層がほぼ均質と考えられ、塩溶液中では周囲から等しい圧力を受け、内部の空気が抜けないものと考えれば、塩溶液が内部に浸入しない現象も理解できる。塩溶液が内部に浸入しないことは、織糸時に繭糸に掛かる張力が少なくなる利点がある。また、30 粒の繭がほぼ内層まで織糸できることが分かり、実用化できる可能性があると考えられる。死に籠り繭は、塩溶液が内部まで浸入し、塩溶液が茶色に着色する原因となるので、選繭には注意が必要である。

次に、貯蔵および織糸条件についてみると、塩溶液法で生繭を塩溶液中 40°Cで貯蔵した場合、30 粒中「ずる繭」となり織糸不可能の繭が、71 日で 3 粒、80 日で 5 粒生じたので貯蔵温度および期間が織糸に影響するものと考えられた。30°C貯蔵時には 102 日後においても、このような現象は見られなかった。一方、引張り強さについては、生繭織糸法により作製した生糸の強さは、他の方法で作製したものより、やや大である。また、生繭織糸法生糸では切断点で一斉に切断する。この結果から、生繭織糸法生糸は 1 本の束として切れていることが考えられた。その理由は各繭糸セリシンの膠着によるものと考えられる。これに対し、塩溶液法生糸では切断点から段階的に切れる。この結果から、塩溶液法生糸は抱合性が悪いことを示し、膠着していないと考えられた。塩溶液法生糸の強伸度曲線は重要な意義があるものと考えられる。塩蔵法生糸では試験力 (N) にも大きな差が、また切断時の状態にも塩溶液法生糸の場合とも異なり、何本かは一緒にあって切断することも考えられる。

各生糸の顕微鏡観察を行った結果、生繭織糸法生糸は織糸過程で膠着し束になっていた。塩溶液法ではセリシンの膠化は起こらず、織糸過程で繭糸間の膠着がないものと考えられる。塩蔵法ではほぼ分繭していたが、接着している部分も認められた。練減率についてみると、塩溶液に 50 日から 100 日間貯蔵した繭の間に大きな差が見られないことから、セリシンは 30°Cでは塩溶液中で溶解しないと考えられた。

4. 引用論文

布目順朗 (1975) 養蚕の起源と古代絹. pp. 303-309, 雄山閣. 東京.

関根理恵 (2006) 繭保存方法に関する古典技法とその糸品質について. 日本シルク学会誌 15, 23-30.

5. 発表論文

(雑誌論文)

一田(高濱)昌利・高橋重三 (2011) 塩溶液法による繭の貯蔵と繰糸に関する研究. 蚕糸・昆虫バイオテック 80 (印刷中)

(学会・研究会などの口頭発表)

一田(高濱)昌利・高橋重三: 無乾燥・無蒸煮・無加湿織糸法. 第 17 回日本野蚕学会講演会.
京都工芸繊維大学 (京都). 平成 23 年 9 月 16 日.

教育支援事業

ホコリの観察と調査

四宮未代菜・辛島沙耶加・加賀浩子

京都精華女子高等学校

〒606-8305 京都市左京区吉田河原町 5-1

研究成果の概要

毎日自然に発生するホコリについて、ホコリはどこからやってきているのか、どのような構造でどのような性質であるのか、ホコリについてのさまざまなことを調べるために研究をはじめた。その結果、ホコリの主な成分は髪の毛などの繊維質であること。また、ホコリは水に溶かすと弱酸性の性質があり、その性質は、髪の毛以外の細かな粒子の部分から引き起こされることが推測された。また、繊維質の多いホコリの有効利用として、フィルター化して、掃除道具としての利用する方法なども模索した。

1. 研究背景と目的

学校では毎日掃除が行われる。しかし毎日、掃除を行ってもまた翌日にはホコリが発生する。自然に発生するホコリは、一体どこからやってきているのか。また、部員がほぼ全員ホコリアレルギーであるが、それはホコリのどのような性質によるものなのか。このような疑問を解決しようと、ホコリを調べることにした。また、ホコリを集めた結果、本来なら捨てるホコリを何とか再利用できないか、その方法の模索にも取り組んだ。まだ研究過程であるが、途中経過として報告する。

2. 材料および方法

2.1 材料および器具

床のホコリの採取：一般的なT字型ほうき

pH測定：純水（簡易純粋製造機）、50mLビーカー、簡易型pH測定器

培養：植物用活力剤（サカタのタネ）30mL×3本、寒天3本（乾燥した状態で1本一約5g）、

試験管60本、500mL三角フラスコ、圧力鍋6.0L、2個（実験前の滅菌用、実験後の滅菌用）、ホッティングスター、水道水、70%エタノール（器具、実験台の殺菌用）

2.2 ホコリの採取

学校館内のさまざまな箇所からホコリを集めた（図1）。

2.3 ホコリの観察

肉眼観察に加え、双眼実態顕微鏡（100倍）で観察した。

2.4 ホコリのpH測定

純水20mLに、約1cm³ずつ混ぜ、pHを測定した。

2.5 ホコリに棲息する微生物の培養

簡易培地（植物栽培用エキスを寒天に混ぜた物）にホコリを置き、微生物を培養した。

2.6 ホコリの利用法の模索

顕微鏡観察したところ繊維状のものが多かったため、フィルター化できないかを試みた。ホコリに水を染み込ませて、平面にしてから蒸発皿において焼いた。これを掃除道具として使えないかを試した。



図1 ホコリを採る様子

3. 研究成果と展望

3.1 ホコリの形態観察

ホコリの収集場所：学校館内（廊下、教室の床、教室の棚上、扉、パティオルーム床）、一般家庭（エアコン、掃除機A、掃除機B）

観察結果

顕微鏡で観察したところ、髪の毛がほとんどの体積を占めていた。また、髪の毛のまわりにたくさんの粒子（砂状のもの）があった。以下に、顕微鏡観察結果と、実物、水に溶かした様子の写真をまとめることとする。

（廊下）



顕微鏡（×100）



実物



純水に懸濁

(教室の床)

教室も廊下も、髪の毛がほとんどであった。また、紙や服の繊維なども落ちていた。



顕微鏡 ($\times 100$)

純水に懸濁

(扉)

理科室の後ろの扉の通気部分から採取したホコリ。ふわふわしていた。水に溶かそうとしてもなかなか溶けなかった。



(パティスリールームの床)
ミックス



顕微鏡 ($\times 100$)

純水に懸濁

髪の毛など



グラニュー糖
グラニュー糖



顕微鏡 ($\times 100$)
(エアコン)
ほかのホコリに比べて細かくさらさら。量が少ないうえに取りにくい



顕微鏡 ($\times 100$)
(掃除機)
掃除機 B では、猫の爪や毛、ご飯カスがあった。ほかのホコリに比べ裂きにくい（ピンセットでは無理なので手で裂いた）。



掃除機 A、顕微鏡 ($\times 100$) 掃除機 A、顕微鏡 ($\times 100$) 掃除機 B、顕微鏡 ($\times 100$)

3.2 ホコリの pH 測定

それぞれのサンプルについて pH を測定したところ採取箇所によって pH が異なることがわかった。同じサンプルでも測定した日によって pH の変動があることがわかった。ただし、もとの純水が 2 日目に異様に下がり、純水も変動したがなぜ純水の pH が変化をするのかはまだ不明であるので、注意しながらデータを見る必要がある。

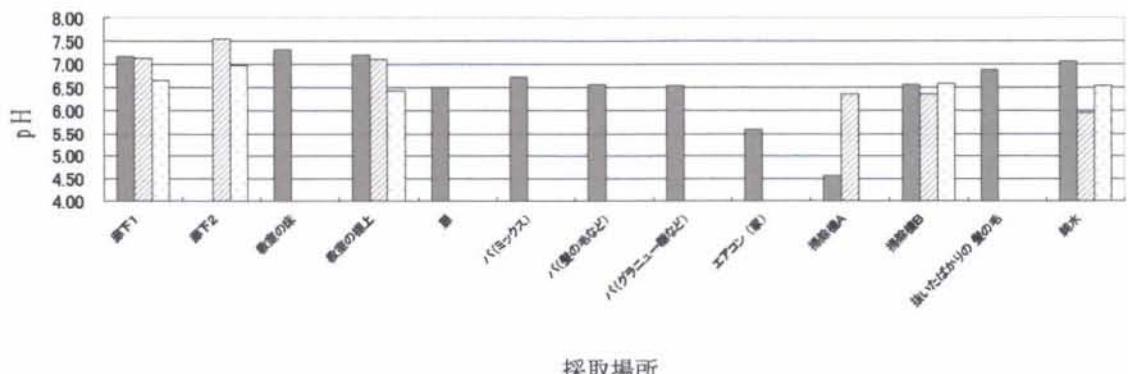


図 2 各場所で採取したホコリの pH 値

例えば、掃除機 A と掃除機 B の日変動を測定した(図 3)。1 日目では、純水 pH 7.05 に対して掃除機 A は pH 4.56、掃除機 B は pH 6.56 となり、どちらも明らかに酸性傾向を示した。しかし、2 日目では、純水 pH 5.95 に対して掃除機 A は pH 6.36、掃除機 B は pH 6.58 になり、わずかではあるがアルカリ性への変動傾向を示した。1 日目と 2 日目の間でホコリの中でなんらかの変化があった可能性が示唆される。pH が変化をする条件や原因は何か、今後調べていきたい。一方、廊下から採取したホコリの pH の変動の幅は小さかった。廊下のホコリは比較的髪

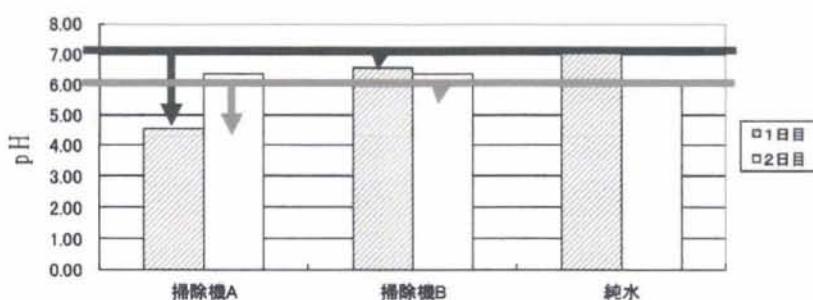


図 3 掃除機から採取したホコリの pH 値変動

の毛の占める割合が多かった。廊下のホコリに髪の毛が多い理由として、人がよく通る場所であることに加え、本校は女子校であるため絡まりやすい長い髪の毛が沢山落ちるということと、棚の上などに比べて大きな物が自然と低い箇所にたまるということがあげられる。そこで、髪の毛だけで測ったところ、pH は 6.86 だった。pH 6.86 は比較的 pH 7.00 に近いため、廊下のホコリの pH に影響を与えないと考えられる。ホコリの大半は髪の毛であったが、pH に影響を与えなかつ

たため、髪の毛以外の物が pH に影響を与えていると推測される。

3.3 ホコリから微生物の検出

ホコリ粒子の部分に pH 変動の理由があると推測されたため、微生物棲息による汚染が原因しているのかかもしれないと考え、ホコリを培地に植えた。カビが生えたもの、バクテリアのコロニーのようなものが見えたものが多々検出された。今後、詳しくしらべていきたい。

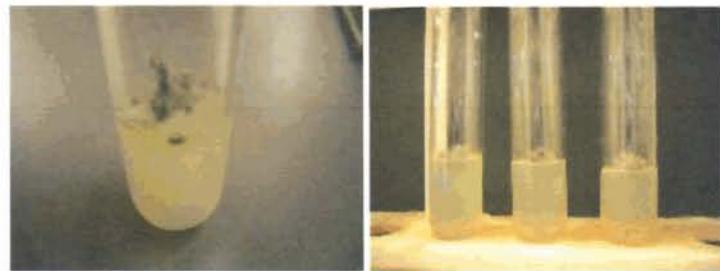


図 4 ホコリを培地に植えた様子（左：拡大、右：全体）

3.4 ホコリ利用の探索

図 5 のように、ホコリを平面状に成形した。これを用いて、川の水をろ過するなどできないかと考えているが、ろ過中にはぐれてしまった。ホコリの解離を防止し、マットやフィルター化する手段を検討する必要がある。また、コンクリートに混入方法し、コンクリート強度を向上することも考えられており、今後の検討課題である。



図 5 ホコリをマット化した様子（左：もとのホコリ、中央：水を加えたところ、右：蒸発皿で加熱し水分を飛ばしている様子）

ホコリの形状観察、pH 測定、微生物汚染、利用探索、すべてにおいてまだまだ考える余地や検討が必要で部分もある。今後、さらにサンプルを集めて測定を繰り返し、別の季節にもサンプルを採取して経時的な変化を調べたい。また、培養した微生物についても、その正体を調べる必要がある。利用方法についても、実際に使えるように試行錯誤したいと考える。

3.5 教育的効果と波及性

本研究に取り組んだ生徒は自然科学部に在籍しているが、この研究に取り組むまでは、1～2

日で終わる実験しか経験がなく、何日もかけて1つのことに取り組んだのは初めてであった。また、研究の対象にした「ホコリ」は彼女たちの得意なネットで調べても、彼女たちの知りたい情報はほとんど出てこなかった。彼女たちにとって、答えのわからないものへの探求は、まさに暗中模索の状態であった。

手探しではじめた観察実験から、「普段目にしているのに、こんなにしっかり見るのは初めてだった」、「知っていたつもりなのに、わからなくなってしまった」そんな思いが少しずつ、心に芽生えていくのが、強く感じられた。また、研究過程で驚いたのは、生徒の理解力である。本校は女子校であり、全体的に数値が苦手な生徒が多く、半年前には「pH」の意味すらわかつていなかった生徒が多くいた。その生徒が、測定中に「先生、この値、おかしいですよね？」と言いました。

「1回目に測ったときには、酸性寄りだったのに、2回目測定では純水の方が酸性に近い数値なのに、中性寄りになっています。」と言った。この言葉を聞いたときには、本当に驚かされた。この時期には、それまで自主的に動くことができなかつた生徒たちが、顕微鏡の設定やpHメータの補正を行うようになった。また、先輩が後輩に指示する姿、後輩が先輩に質問する姿が見られた。これまで、簡単で楽しい実験だけを共有する仲間だったのが、一つの目標に向かって努力できるようになった。これらのこととは大きな教育的成果である。

慣れないコンピューターを前に、文書の中に図を貼りつけたり、エクセルを使ったりして、一生懸命実験結果をまとめたことも、彼女たちにとってはとても大変な作業であったに違いない。この研究を通して、科学的な学習ができただけでなく、先輩と後輩がつながり、お互いに協力する姿勢が育成できたことは大きな教育的波及効果と言える。

4. 参考論文

- Osa, A. (1992) 微生物学辞典, 技報堂出版株式会社.
スタニエ, R.Y. (2004) 微生物学 入門編, 初版第28刷, (株)培風館.

「シルクサミット 2011 in 桐生」からの情報発信

高橋重三

(財) 衣笠会

はじめに

2011年11月10, 11日に表記の会が、群馬県桐生市にある(財)桐生地域地場産業振興センターで開催された。主催は(独)農業生物資源研究所、市立岡谷蚕糸博物館に加えて、(財)大日本蚕糸会、桐生市・桐生市教育委員会が参画し、さらに後援として群馬大学をはじめ多くの団体の支援により開催された。本会の目的は「蚕やシルクに関心がある人が集まり、意見交換、情報交流、技術交流を図り、シルクの用途拡大およびシルク文化の創造などに寄与すること」であり、学会とは異なり、産官学の広い分野の方々の集まりで、至極気楽な会である。私は今回で7回参加している。特に「2008 in 福島」での開催に参加し、多くの所を見学していたので、2011年3月の東日本大震災は特に心が痛みます。

1. 基調講演

大日本蚕糸会会頭 高木賢氏が「蚕糸・絹業の現状と今後の展望」という表題で講演された。概要は次のようである。「蚕糸・絹業提携事業」の目的は、安い物の大量販売というモデルから脱却し、個性的な価値で勝負する、少量高品質の物づくりである。そのために川上、川下の技の結集が必要となる。そしてそれぞれの段階で生き残れるように努力することである。これまで、政府は繭代を補填するという方法で支援してきたが、これを改め平成19年度補正予算で35億円を準備し、3年間支援金を出す期間に自立できるようにするという方法である。現在58グループができている。平成19、20年度に形成した6グループは23年度末で3年の期限が来るので、成果については調査中とのことである。養蚕農家から小売店までが集まり、1グループを作るので、グループ内における合意形成が最も重要なポイントであることが強調された。58グループはそれぞれ特徴を持っており、今後は純国産絹マークと提携グループとは基本的に一致するようになることが強調された。なお、今後の課題としては合意書の着実な実行と純国産絹製品の販売促進であると結ばれた。筆者はこの計画について最初から関心を持っており、最も懸念していたことは、会頭も指摘されている「グループ内の合意」であると考えている。どの程度自立出来るか非常に興味がある。

絹織維産業は合織産業とは、原料の作成において非常に異なる。かつて浜村先生の著書「心のすなおなる者」(昭和37年 p.114)に、目下の急務は人工飼料で早く繭を作らせることで、夢だけは何十万町歩の桑畠をなくして、年中工場で繭を作らせて養蚕と製糸を一体化して蚕糸業の革命を起こすことと書いている。製糸工場の革命も起こるかもしれない。浜村先生の夢が実現するかもしれない。

2. 学術講演

(独) 農業生物資源研・昆虫科学研究領域の特任上級研究員である田村俊樹氏による「遺伝子組み換えカイコとその産業利用」と題した講演があった。同氏らのグループは平成12年世界に先駆けて遺伝子組み換えカイコの作成に成功した(高林:蚕糸・昆虫バイオテック79, 33-36)。

3. 活動事例報告

- (1) カイコ飼育による幼児教育の事例報告: 社会福祉法人 峰悠会おおぞら保育園での「カイコの飼育体験」の報告があった。同園の教育目標は「心身ともに健やかで、たくましく、人間性豊かな子供を育てる」(自然環境と人間環境を融合した創造力豊な幼児教育)であり、その一環としてカイコの飼育体験を取り入れた。カイコの卵の色の変化から始まり、カイコの大きさの変化、カイコの死に遭遇したり、さらに繭を鍋に入れ蛹を殺したりと、生と死に直面したりと複雑な感情を見せる子供も少なくなかった。カイコの命に感謝しながら、座縛り、機織りを体験し初期の教育目的をはたすことが出来たことの報告があった。
- (2) 天蚕飼育の事例報告: 37年勤めた会社を退職し「天蚕の緑のダイヤモンド」の夢を追い続けた1人の男性の物語りであった。「西に西陣、東の桐生」と呼ばれ1300年の歴史を持つ織物の街桐生で、独自の天蚕繭天蚕糸を生み出すことができるよう精進し、天蚕飼育に邁進したい決意が語られた。

4. 見学会

「芸術と先端技術」というコースに参加した。群馬県繊維工業試験所→イズハラ産業株式会社→朝倉染布株式会社を見学した。その内の1ヶ所を紹介する。

イズハラ産業(株)は昭和8年創業の織物会社であるが、現在は高級ジャガード織物製造を中心としており、伝統と最先端のコラボレーションの会社である。織物の段階でフリル布とベース布を同時に織り上げ、安定した美しいフリル成形する製造法の特許に基づき「FRITY」というブランド名で売り出している。コンピューターを使ってスカートの組織を入力する作業など独特な技術を使い、高速ジャガード織機を動かし、高速で物作りをする点などは従来の織物工場ではなく、至極明るい感じの工場であった。企業は独自の物を開発し、特許に基づいた物作りが基本であることを痛感させられた。

おわりに

「シルクサミット」に参加して、次のようなことを考えた。

- (1) 大日本蚕糸会 高木会頭の講演で言及された「グループ内の合意」が成功の鍵と思われ、ぜひ成功を祈ります。
- (2) かつて、京都室町の問屋が設立した(財)法人の研究所で研究をしたことがある、その時「絹繊維産業の根本的改革」が必要であることを痛感した。シルクサミットに参加するたびに、上の言葉を思い出しながら、温故知新とは、正しい歴史認識に基づいて将来を考えることと心得ながら、参加し見学した。
- (3) 「伝統産業法」(昭和49年制定)によると、伝統的工芸品の1つの条件として、「伝統的技術または技法によって製造されるもの」とある。各地を見学しながら「伝統と先進科学・技術と

の調和」をどうするかなど考えさせられた。「絹織維産業の将来に微力でも貢献できたら」と考えている。

(4) 前にも書きましたが再度書きます。2008年8月13日の朝日新聞の社説でも「蚕糸・絹業提携事業」が取り上げられ、「見直しが遅すぎて事態を深刻にしてしまったことが悔やまれる。新制度のもとで支援期間中に経営体質を強め、その後も消費者に評価される製品を作り続けてもらいたい。絹は日本人の衣生活や文化と深く結びついている。関連する事業者は、この機会を逃さず、世界最高の養蚕技術と生きた産業文化を守ってほしい」と書いてあり、強く印象に残っています。

(5) 著者等は生繭を塩溶液に貯蔵すると、常温の水で容易に繰糸することが出来ることを見出し、蚕糸学会で学術論文として近く会誌に掲載されます。本法で得られた生糸は煮繭工程を経ていないので、セリシンは膠着していません。従って繭糸が集束しているのみであるので柔らかい。目下生糸の性質と加工に関して検討中であります。アドバイスが頂けたら幸いです。

衣笠会「繊維学術賞」の報告

「財団法人 衣笠会繊維学術賞等表彰規定」に基づき、平成 23 年度繊維学術賞の受賞候補者として、選考委員による審査結果から間宮寛之氏の研究課題「カイコ体内へ取り込まれるクワ蛋白質に関する研究」が推薦され、理事会において当該研究課題を受賞研究として承認された。なお、授与式は平成 24 年 3 月 31 日(土)に挙行され、記念楯ならびに副賞が授与された。なお、今年度に創設された繊維教育賞については、該当者がなく見送られた。

受賞者：間宮寛之（新田ゼラチン株式会社）

受賞対象研究：カイコ体内へ取り込まれるクワ蛋白質に関する研究

1. 研究内容の概要

カイコは餌であるクワ葉から活性を保持したウレアーゼを吐糸直前の 5 齢終期に取り込むことにより、体液中に分泌された窒素老廃物の尿素を分解して絹糸の材料を得ていることが既に報告されている。この結果は、カイコがウレアーゼ以外の活性を保持したタンパク質を特異的に取り込むことで、何らかの代謝に関与しているものが存在している可能性が考えられる。

そこで、カイコにクワ葉の全抽出タンパク質をビオチンで標識して与えたところ、5 齢初期から体液中に 4 種の約 29kDa 蛋白質 ($pI=5.71, 5.93, 6.20, 6.57$) と 3 種の約 32kDa 蛋白質 ($pI=6.02, 6.32, 6.70$) が取り込まれていることが新たにわかった。さらにこれらタンパク質は 5 齢幼虫の初期、中期以降で取り込まれる量が変化しており、初期の 1~2 日目は主に約 29kDa、中期の 3 日目以降は主に約 32kDa が取り込まれることがわかった。これらタンパク質を同定するため、まずはカイコ体液より各種カラムクロマトグラフィーを組み合わせて精製、濃縮して二次元電気泳動で分離した。次にクワ葉の全抽出タンパク質のプロテオームマップを作成して比較し、明瞭に単一スポットに分離したタンパク質を選定、MALDI-TOF MS を用いて PMF 解析したところ、少なくとも 32kDa、 $pI=6.32$ のタンパク質はスルフォトランスフェラーゼの一種であることが示唆された。

カイコがクワ葉からケルセチンを取り込み、繭を保護するために絹糸と共に排出することは既に報告されている。今回確認したスルフォトランスフェラーゼは、フラボノールの 3 位に硫酸イオンを転移する機能を有すると推測される。カイコがクワ由来の有毒物質や体内の代謝で生じた硫酸イオンを、クワ葉から取り込んだスルフォトランスフェラーゼとケルセチンを利用して排出するという、「クワ葉由来物質をカイコ代謝に組み込んだ効率的な解毒システム」を構築している可能性が示唆される。他の取り込まれるタンパク質についても、取り込まれる時期によってその量が異なることから、カイコ体内で繭作りと蛹への変態に向けて時々刻々と変化する代謝環境に対応して、クワ葉タンパク質が特異的に取り込まれているものと推測される。

カイコがクワ葉の酵素を取り込み、体内でその酵素を介した代謝系が働くということは、カイコにとってクワは単なる栄養源ではなく、生存に必要な機能をクワから得ることに成功したことになる。カイコの急激な成長は、進化過程でこの「カイコとクワの相互関係」の仕組みを獲得して、

カイコ生存戦略が確立したと考えられる。

2. 研究業績

(学会での口頭発表)

1. 間宮寛之, 倉橋 仁, 長岡純治, 北島佐紀人, 杉村順夫, 平山 力 (2005) クワ葉タンパク質のカイコ幼虫体液への取り込み. 日本蚕糸学会九州支部 61 回・関西支部 71 回合同研究発表会講演要旨集 p.27.
 2. 間宮寛之, 倉橋 仁, 長岡純治, 北島佐紀人, 杉村順夫, 平山 力 (2006) カイコ幼虫体内へ取り込まれるクワ葉タンパク質の精製. 日本蚕糸学会第 76 回大会講演要旨集 p. 63.
 3. 間宮寛之, 長岡純治, 杉村順夫, 平山 力 (2007) カイコ体液から検出されるクワ葉タンパク質. 日本蚕糸学会第 77 回大会講演要旨集 p. 86.
 4. 中山美緒, 間宮寛之, 長岡純治, 杉村順夫 (2007) クワ種子発芽時におけるウレアーゼ活性に関する遺伝子の発現. 日本蚕糸学会第 63 回関西支部・第 73 回九州支部合同大会講演要旨集 p. 33.
 5. 中山美緒, 間宮寛之, 長岡純治, 杉村順夫 (2007) クワ種子発芽時におけるウレアーゼ活性の発現. 日本蚕糸学会第 77 回大会講演要旨集 p. 87.
 6. 大西祐作, 間宮寛之, 長岡純治, 杉村順夫 (2008) カイコ中腸組織からのウレアーゼ結合タンパク質の分離. 日本蚕糸学会第 78 回大会講演要旨集 p. 78.
 7. 大西祐作, 間宮寛之, 長岡純治, 杉村順夫 (2008) カイコ幼虫体内へ取り込まれるクワ葉タンパク質の同定. 日本蚕糸学会第 64 回九州支部・第 74 回関西支部合同大会講演要旨集 p. 30.
- (書籍：共著)
1. 間宮寛之, 杉村順夫 (2009) クワ蛋白質を利用したカイコの生存戦略. 虫たちが語る生物の未来. (財) 衣笠会. pp.10-13.

平成 23 年度 (財) 衣笠会纖維研究所活動状況

1. 学術論文の発表、各種学会での口頭発表など（下線部は財団理事、評議員）

1) 原著論文

Ando, N., Wang, H., Shirai, K., Kiguchi, K., Kanzaki, R. Central projections of the wing afferents in the hawkmoth, *Agrius convolvuli*. *J. Insect Physiol.* 57, 1518-1536 (2011)

加藤靖夫 カイコ体液中の β-ラクタマーゼに関する研究。衣笠纖研報 14, 32-41 (2010)

Takechi, T., Maekawa, Z., Sugimura, Y. Use of sericin as an ingredient of salad dressing. *Food Sci. Technol. Res.* 17, 493-497 (2011)

Morooka, N., Nagata, S., Shirai, K., Kiguchi, K., Nagasawa, H. Identification and characterization of a feeding-modulating peptide, hemolymph major anionic peptide (HemaP) from the sweetpotato hornworm, *Agrius convolvuli*. *FEBS J.* 279, 168-179 (2011)

Nishimura, A., Katayama, H., Kawahara, Y., Sugimura, Y. Characterization of kenaf phloem fibers in relation to stem growth. *Industrial Crops & Products* 37, 547-552 (2012)

2) 総 説

白井孝治：エビガラスズメのシルク合成の謎を追って。蚕糸昆虫バイオテック 80, 111-114 (2011)

3) 口頭発表

一田(高濱)昌利・高橋重三：無乾燥・無蒸煮・無加温繰糸法。第 17 回日本野蚕学会講演要旨集 p.11. 京都工芸纖維大学 (京都)。平成 23 年 9 月 17 日

一田(高濱)昌利：野蚕繭糸セリシン部の抗酸化能と紫外線防御効果。第 17 回日本野蚕学会講演要旨集 p.15. 京都工芸纖維大学 (京都)。平成 23 年 9 月 18 日

Shirai K. : The molecular mechanisms of the body color expression in the sweet potato hornworm, *Agrius convolvuli*. Soochow University (China) 平成 23 年 9 月 22 日

人見 翼・白井孝治・森脇 洋：カイコ卵浸漬法を利用した環境汚染物質の生態影響調査。日本陸水学会甲信越支部会第 37 回研究発表会。シャトーテル一本杉 (新潟)。平成 23 年 11 月 26 日。

西村明絵・杉村順夫：ケナフの纖維細胞と韌皮纖維の特性。熱帯農業研究

4 (別号 1) p. 111-112. 日本熱帯農業学会 109 回講演会。明治大学農学部 (東京)。平成 23 年 3 月 29 日。

古澤壽治・一田昌利・長岡純治・杉村順夫・藤井 博・大森克徳・野島久美恵・永松愛子・鈴木ひろみ・嶋津 徹・長岡俊治・石岡憲昭：カイコ生体反応による長期宇宙放射線被曝の総合的評価。国際宇宙ステーション「きぼう」利用科学実験テーマ成果報告会。日本教育会館 (東京)。平成 23 年 12 月 9 日。

4) ポスター展示発表

白井孝治・深本花菜・木口憲爾・舟山知夫・横田裕一郎・坂下哲哉・小林泰彦：カイコ初期発生卵を用いた昆虫細胞への低線量重イオン照射の影響解析、第6回高崎量子応用研究シンポジウム、高崎シティギャラリー（群馬）、平成23年10月13日

5) 研究会、講演会等への出席

藤井直樹：京都府国登録有形文化財所有者総会、KKR「くに社」（京都）、平成23年6月11日。

藤井直樹：京都府文化財所有者等連絡協議会、清水寺大講堂（京都）、平成23年7月25日。

藤井直樹：京都府文化財所有者等連絡協議会、伏見大社（京都）、平成23年11月25日。

藤井直樹：京都府文化財保護推進会議、北野天満宮（京都）、平成24年2月13日。

2. 講演活動

白井孝治

1) 演題：生物の環境応答：昆虫の体色多形性

日時：平成23年10月21日

主催者名：信州大学繊維学部

場所および対象者：信州大学繊維学部（長野） 須坂高校 1、2年生

講演内容：昆虫を題材に生物の環境応答について概説した。昆虫の体色多形性の発現機構とそのメカニズムについて説明し、現在大学でどのような研究が行われているのかその概要を理解させた。

高濱（一田）昌利

1) 演題：カイコのお話

日時：平成23年6月10日、平成23年6月14日、平成23年6月1日

場所及び対象者：京都工芸繊維大学、京都市立唐橋小学校生98名、京都市立室町小学
校生35名、京都科学読み物の会員（幼児、小学生、保護者）24名。

講演内容：総合学習授業の一環として小学生に桑、カイコ、シルクの簡単な基礎知識の
お話をした。具体的には養蚕の歴史、カイコの内部構造、繭の色々、桑の色々、シル
クの構造と機能性など。

2) 演題：シルク

日時：平成23年7月8日

主催者：京都市工業技術センター

場所および対象者：京都工芸繊維大学、西陣関係者10名

講演内容：西陣織にかかる関係者に対し、繭糸から絹糸までの製造工程、シルクの構
造、シルクの性状、シルクの機能性、新しく見つかった機能性とそれぞれの有用性、
今後の展望等について解説した。

3) 演題：クリ・カイコ・シルクの話

日時：平成23年8月26日

主催者：京都組みひもの会

場所および対象者：京都工芸繊維大学、京都組みひもの会会員 15 名

講演内容：組みひものにかかる関係者に対し、繭糸から絹糸までの製造工程、シルクの構造、シルクの性状、シルクの機能性、新しく見つかった機能性とそれぞれの有用性、今後の展望、桑の基礎知識、カイコの基礎知識等について解説した。

4) 演題：東南アジア、特にラオスの養蚕について

日時：平成 23 年 9 月 9 日

主催者：JETRO

場所及び対象者：JETRO 関係者およびラオス視察団約 20 名

講演内容：東南アジアにおける養蚕の問題点を指摘し、それぞれの解決策を解説した。具体的には核多角体病および微粒子病の病徵と防除対策、飼育時における飼育環境と繭質への影響、飼育密度の問題点などである。

5) 演題：蚕にかかる話

日時：平成 23 年 10 月 8 日

場所及び対象者：城星学園高校 1 年生 約 100 名

講演内容：理科教育の一環として生物としてのカイコおよびその社会的貢献を中心に解説した。とくに、カイコの生物学的観点に重点を置いて話した。

古澤壽治

1) 演題：第 2 回よくわかる「きぼう」利用成果ミニシンポジウム～宇宙放射線と生命の関わりを知ろう～：カイコの卵は宇宙放射線の番人になるか？

日時：平成 23 年 9 月 28 日、18 時～20 時

主催：宇宙航空研究開発機構

場所及び対象者：学士会館 210 号室 一般約 200 名

講演内容：蚕卵を 3 カ月、国際宇宙ステーション「きぼう」に搭載することにより宇宙放射線と微小重力が蚕の胚発育や突然変異発生に及ぼす影響について検討したが、特に突然変異発生に関する内容を発表した。

3. 学術講演会の開催

1) 春季講演会

横出 洋二 氏（京都府立丹後郷土資料館）

演題：相楽木綿の歴史と特徴

日時：平成 23 年 6 月 25 日 15 時～16 時

場所：衣笠会館 2F 会議室

講演要旨：相楽木綿は、明治時代初期から昭和 10 年代にかけて、現在の京都府木津川市相楽地区を中心に生産された手織り木綿である。相楽郡は、奈良に隣接した影響で、江戸時代初期より奈良の特産品であった奈良晒の生産が盛んで、木津や奈良の晒問屋を通じて京都・江戸に出荷され富裕な武士や町人に愛用された。生地は地元の織屋の依頼で、

農家の女性が貸織りし、晒屋が晒し作業をして仕上げた。しかし、明治時代に武士がいなくなったなどの影響で奈良晒の需要が少なくなり、織屋の多くは麻蚊帳の生産へと転換した。しかし相楽村の織屋は、幕末から需要が伸びた紺を特徴とする大和木綿の影響か、木綿織物の方に転換した。原料糸の購入、柄デザイン、整経は織屋が行い、紺屋で藍染した後、相楽村や周辺農家の女性の貸織りで製織した。紺を特徴とする相楽村の木綿はいつしか「相楽木綿」と呼ばれ、南山城をはじめ、奈良、京都、滋賀、大阪などに流通し庶民の着物として愛用された。本講演では、相楽木綿の地域史的背景や織物の特徴および現在活動している相楽木綿の会の伝承活動についての解説・説明があった。

2) 秋季講演会

高橋 重三 氏（財団法人 衣笠会）

演題：環境に優しい繭の練糸法の開発—塩溶液法による繭の練糸に関する研究—

日時：平成23年10月22日 15時30分～16時30分

場所：衣笠会館2F会議室

講演要旨：講演者らによって開発された「塩溶液法による練糸」についての話題提供があった。当該生産プロセスは省エネルギーで且つ環境に優しく、繭糸本来の特性を保持した生糸が得られ、従来の「生繭練糸法」や「塩蔵法」で生産された生糸とほぼ遜色のない力学的特性を有していた。この結果から、生産プロセスにおける低環境負荷の新しい練糸法を提案すると共に、今後今後の技術的課題について言及した。