

アイスプラントのホウ素含有量と土壤中の塩化ナトリウム濃度との関係

飯田 悠介 神崎 亮志 平松 拓海 吉岡 稜太郎

兵庫県立神戸高等学校総合理学科2年

アイスプラント (*Mesembryanthemum crystallinum*) は、過剰な塩化ナトリウムの土地でもナトリウムを分離し、葉や茎にあるブラッダー細胞にためられるため、生育することができる。また同時にホウ素過剰耐性も持つのだが、その理由についてはまだ先行実験でも解明されていない。そこで今回私たちは、アイスプラントは過剰なホウ素を塩化ナトリウムと同様にブラッダー細胞にためることでホウ素過剰耐性を獲得している、という仮説を立てた。土壤中の塩化ナトリウム濃度が高いとブラッダー細胞の大きさは大きくなり、より多くの塩化ナトリウムをためることができると知られている。本研究では、アイスプラントに与える塩化ナトリウムの量を変えることでブラッダー細胞の大きさを変化させ、植物体内のホウ素の量の大小を調べることで仮説を立証しようとした。その結果、ホウ素が過剰にある土壌では、塩化ナトリウムを与えたアイスプラントの方がより多くのホウ素をとりこむことがわかった。

1. はじめに

1-1 研究背景と目的

ホウ素は植物の生育に必須の元素であるが、過剰に存在すると毒になりうる。世界中で、特に乾燥した地域では過剰なホウ素による植物の生育阻害が多く見られる。また、海水にもホウ素は多く含まれているため、津波にさらされた被災地では土壌中から塩化ナトリウムだけでなくホウ素も除去する必要があるが、日本でもこれは解決せねばならない問題である。アイスプラントはナミブ砂漠が原産の植物であり、前述の通り耐塩性、ホウ素過剰耐性をもつ。しかしなぜホウ素過剰耐性をもっているのか、どのような環境下でよりホウ素を蓄えられるのかなどに

ついて掘り下げられた研究はない。

そのため私達は土壤中の塩化ナトリウム濃度とアイスプラントが体内に蓄えるホウ素の量がどのような関係を持つのか調べた。



図1.ブラッダー細胞 図2.アイスプラント

1-2 実験で用いたアイスプラントと土壌

アイスプラント (*Mesembryanthemum crystallinum*) はハマミズナ科の植物である。実験では武蔵野種苗園のアイスプラントの

種とアイリスオーヤマの培養土（花 野菜用の培養土）を使用した。

1-3 仮説

私たちはアイスプラントが塩化ナトリウムと同様にホウ素をブラッダー細胞にためているのではないかと考えた。そのため塩化ナトリウムを与えると体内により多くのホウ素をためるといふ仮説を立てた。

2. 予備実験

2-1 目的と方法

本実験を行うにあたりアイスプラントがどの程度の塩化ナトリウム濃度まで生育できるのか、また塩化ナトリウムを与えた時のブラッダー細胞の大きさの違いを調べた。種を1号ポットにまき毎日本水を与え5週間育てた後、プランターに移し一つのプランターあたり0g、20g、40gの塩化ナトリウムを塩化ナトリウム水溶液として与え、順にグループa,b,cとし、アイスプラントの生育を2週間観察した。

なお1つのプランターで3つのアイスプラントを生育させた。アイスプラントのブラッダー細胞は半楕円体とみなし、体積を算出した。

2-2 結果

グループa,bは一つも枯れることなく無事生育したが、グループcは全て1週間で枯れてしまった。アイスプラントのブラッダー細胞の長径と短径を掛けた値の大きさの平均がグループaで0.1312m²となり、グループ2で0.1423m²となり、それほど大きな差異は見られなかった。しかしブラッダー細胞の高さがグループaが226 μ mなのに対し、グループbが316 μ mでありグループbの方が有意に高いことが分かった。これらの

結果から、1つのプランターに与える塩化ナトリウムの量が20gのときは、少なくともアイスプラントは問題なく生育でき、ブラッダー細胞の体積は大きくなると判断した。そのため本実験でアイスプラントには0gか20gの塩化ナトリウムを与えることとした。

	グループa	グループb
面積(m ²)	0.1312	0.1423
高さ(μ m)	226	316
体積(m ³)	0.0395	0.0600

3. 本実験

3-1 方法

アイスプラントを1号プランターで10月10日から育て始め、11月14日に大きいプランターに移し替えた。予備実験と同様に1つのプランター内に3つのアイスプラントを入れて育てた。その後馴化期間を約2週間経て11月30日から12月26日までプランター内のホウ素と塩化ナトリウム量を調節し収穫した。収穫したアイスプラントはインキュベーターを用いて65°Cで乾燥させ、クルクミン法をによって植物個体内のホウ素量を測定した。クルクミン法を用いるにあたり乾燥させたアイスプラントは全て使用し、蒸発乾固後エタノールを25ml加え吸光度を測定した。育てる際アイスプラントを4グループにわけ、1つのプランターに与える塩化ナトリウム、ホウ酸の量はそれぞれ0g 17mg、20g 17mg、0g 45mg、20g 45mgとし、500mlの水に溶かし水溶液にして与えた。これらを順にグループ1,2,3,4とする。プランターには土を2.8kg入れ、水溶液をなるべく均一になるように与えた。土に吸収されずにプランターの下

から出た 水溶液は保存し、翌日にふたたびかけて下から出てこなくなるまでこれを



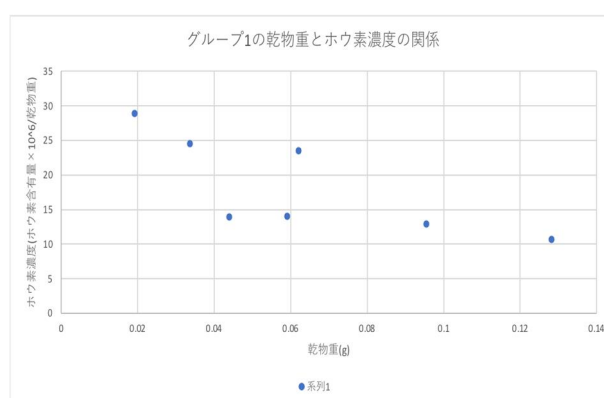
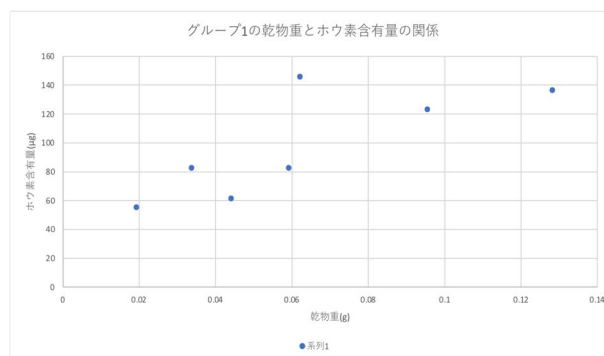
繰り返し、土壌中の塩化ナトリウム、ホウ素の物質量がかわらないようにした。

クルクミン法の様子

3-2 結果

表よりホウ酸を 17mg 与えたものの間には塩化ナトリウムを与えたことによる個体内のホウ素量、ホウ素濃度にあまり差は見られなかったがホウ素を 45mg 与えたものの間には塩化ナトリウムを与えたことによることによる差が有意に見られた。また、アイスプラントの乾物重の重さとホウ素含有量との相関係数を調べたところ正の相関係数が見られた一方で乾物重とホウ素濃度との相関関係を調べたところ、強い負の相関関係がみられた。

	17-0	17-20	45-0	45-20
植物体の重量 (g)	0.0594	0.0638	0.0574	0.0556
B 重量 (μ g)	98	95.4	74.57	121.78
B 重量における標準偏差	33.84	31.42	28.74	30.25
B 濃度	19.65	19.5	15.21	24.64
B 濃度における標準偏差	7.54	12.26	6.57	7.98



3-3 考察

グループ 3 と 4 ではホウ素含有量、濃度に大きな差があったことからアイスプラントはホウ素が過剰な土地では塩化ナトリウムが与えられることでより多くのホウ素を体内に取りこみ蓄えるような機構を持つと考えられる。また、グループ 3 のほうがグループ 1 体内のホウ素含有量、濃度が少なかったが生育に悪影響がなにも見られなかったことからホウ素が過剰な土地ではホウ素を体内にためこまないよう排出するような機構ももつのではないかと考えられる。アイスプラントが原産のナミブ砂漠は土壌中のホウ素濃度、塩化ナトリウム濃度が非常に高い地域である。そのためアイスプラントはブラッター細胞がまだ発達していないころはホウ素を体外に排出し、十分に成長してブラッター細胞が大きくなると、

そこにホウ素をためるといような独自の機構を発達させ、そのような厳しい環境で生息してきた可能性があると考えている。

4. 今後の展望

より多くのアイスプラントを様々なホウ素濃度と塩化ナトリウム濃度で生育させることでアイスプラントのホウ素過剰耐性の特性についての理解は深まるだろう。また、ブラッダー細胞内にホウ素が存在しているか調べることができれば、それが耐性を持つ理由の解明につながるかもしれない。また、今回の研究では培養土の成分が及ぼす植物への影響を無視しているので、今後、水耕栽培で研究することも必要である。

5. 最後に

アイスプラントのホウ素過剰耐性やブラッダー細胞の新たな可能性についての知見を広げることは、世界の砂漠化、食糧不足の解決に繋がらう。しかし今回の研究だけではまだまだ分からなかったことが多い。そのため引き続きこのテーマで探究を続ける必要がある。

6. 謝辞

私たちが今回の研究にするにあたって、ご支援、ご協力して下さった神戸高校の先生方、サイエンスアドバイザーの方々、帝京科学大学の渡邊浩一郎様、その他研究に携わって下さった方々にこの場をお借りして感謝申し上げます。

7. 参考文献

〔1〕 渡邊浩一郎, and 三國恭輔. "高塩濃度下におけるアイスプラントの生育とホウ素濃度に及ぼす培養液ホウ素濃度の影響." 帝京科学大学紀要 17 (2021): 91-96.

〔2〕 和田堅護, et al. "NaCl 施用がキノアのブラッダー細胞の数と大きさに及ぼす影響." 日本作物学会関東支部会報. 日本作物学会関東支部, 2021.

〔3〕 JA 京都 いきいき菜園生活 アイスプラントの栽培について

〔4〕 Leave a Nest アイスプラントの塩味は生命力の証

〔5〕 宮本正俊. "クルクミン-シュウ酸試薬によるホウ素の発色 微量ホウ素の吸光定量法の研究 (第 1 報)." 分析化学 11.6 (1962): 635-640.

〔6〕 財団法人日本土壌協会「土壌機能モニタリング調査のための土壌、水質及び植物体分析法」(平成 13 年 3 月) p.261-262 (III 作物対分析法 9 ホウ素)

〔7〕 藤原徹, et al. "生物におけるホウ素の輸送と機能: 植物を中心に." 植物の生長調節 37.2 (2002): 99-109.

カイコに流す電流の大きさと記憶定着度の関係

松下 颯馬 堀口 龍希 宮重 太一 山本 大智
兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年

先行研究によりカイコ (*Bombyx mori*) に電流と酢酸エチルを結びつける記憶をさせると、変態後にもその記憶を保持することが示されている。我々は電流の大きさと変態後の記憶定着度の関係を調査する研究を行った。二者間に正の相関があった場合、その結果は変態前後の記憶の維持がニューロンの保持によってもたらされているという可能性を示唆するものとなる。

1. はじめに

完全変態昆虫は変態の前後で姿や生活様式が大きく変わるが、変態後にも幼体の頃の記憶を保持しているものもいると示されている。

カイコもその一種であり、幼体の時に酢酸エチルの匂いと電流の刺激を紐づけすると、成体になったときも酢酸エチルに対し忌避反応を示すことが明らかになっている^[1]。昆虫に対するこの現象は、幼体時のニューロンの一部が蛹の期間を経ても残っていることによるものと推測されている^[2]。

2. 目的

我々は、カイコに与える刺激の大きさと記憶定着度に関係があるのかを調査するために研究を行う。

カイコが電流の大きさの違いを認識できるならば、それはカイコの持つ電流を認識するニューロンが電流の大きさについて異なる閾値を持つと言い換えられる。その場合、電流が大きいほど活動電位を生じるニューロンの数が増加し、それに従い化学物質の伝達に関わるシナプスの数も増加する。よって化学物質を受容する受容体の数も増加する。

カイコに与える刺激の大きさと記憶定着度に正の相関があれば、変態前に記憶の形成に関わるシナプス結合の数と変態後に保持されるシナプス結合の数にも正の相関があることとなる。

ショウジョウバエの変態前後における記憶の維持が、シナプス結合の保持によってもたらされているということは既に報告されている^[3]。今回カイコについて、変態前に記憶の形成に関わるシナプス結合の数と変態後に保持されるシナプス結合の数に正の相関があれば、それはカイコにおいても変態前後で記憶に関わるシナプス結合が保持されることを示唆することとなる。

3. 飼育方法

カイコの卵をシャーレに入れ、それを大きなシャーレに湿らせたトイレトペーパーとともに入れた。その状態で温度 25 °C、湿度 80% に保ち明るい場所に放置した。卵が孵化して 3 齢までの期間は同じ環境で飼育した。4 齢以降は、飼育箱を変更して飼育した。

予備実験では、市販の小物入れを 4 齢以降の飼育箱とした (図 1)。毎日餌やりとともにケース内の糞の除去も行った。カイコが 5 齢になった時にはキッチンペーパーを敷き蛹化時に出す尿の処理をした。蛹化後は、飼育箱内に付着している繭や糞を取り除き、清潔にした状態で成体のカイコを飼育した。

この飼育方法では、①糞の除去作業においてカイコを出し洗浄する過程で手間がかかったこと、②カイコが 5 齢になると糞の量が増え、一日ごとの洗浄では衛生環境を保つことが困難になったこと、という課題があったため、本実験では飼育箱を改良した (図 2)。



図 1 予備実験における飼育箱



図 2 本実験における飼育箱

糞が装置の底にたまり衛生環境が悪化することを防ぐために、糞を落下させる構造を考案した。図2のように糞は落下するがカイコは落下しないような目の大きさの網を用意することで、①と②どちらの課題も達成することができた。落下させた糞は、下に用意した箱に集め処分した。

また、本実験は冬季に行ったため、人工気象機を使用して飼育環境を整えた。

予備実験ではカイコをナンバリングし、本実験では区別する4グループで飼育箱を分けた。この一連のサイクルは約30日間である。個体が死亡したときは装置から取り出し、その装置は洗浄して清潔な環境を保った。

4. 予備実験

4.1. 概要

予備実験は、以下の3点を明らかにすることを目的に行う。

- ①カイコの抵抗はどの程度であるのか。
- ②カイコはどの程度の電流に耐えられるのか。
- ③カイコは電流の大きさの違いを認識できるのか。

①と②のねらいは、①抵抗の個体差の程度を把握すること、②本実験における適正な電流の範囲を明らかにすることである。

4.2. 方法

- ①個体ごとの抵抗を、テスタを用いて測定する。
- ②5歳の幼体33頭を、3頭ずつ11組のグループに分類する。
- ③各個体に、グループごとに決まった大きさの電流を流し、その反応を観察する。



図3 予備実験の様子

カイコの1節と7節に電極と接続したアルミホイルを巻くことで、電流を流した。これは、電極とカイコの接する面積の差をなくすために考案した方法である。また1節には負極の電極を、7節には正極の電極を接続したアルミホイルを巻いた。

グループごとの電流は、カイコの抵抗が非常に大きかったため電圧により管理した(4.3参照)。電圧は0.00V-20.0Vの範囲で、2.00Vずつ変化させた。電流を流す時間は10sとし、一連の操作を5日間行

った。

4.3. 結果

- ①抵抗はテスタがエラーを起こすほど大きく、計測できなかった。
- ②20.0Vの電圧によって生じる電流にもカイコは耐えることができた。
- ③大きい電流が流れるほど、より激しい反応を示した。

使用したテスタは、最大で20MΩの抵抗を計測できるものであった。しかしカイコの抵抗は非常に大きく計測することはできず、抵抗の個体差は無視できるほどのものであるとみなした。そのため本研究では、異なるカイコに同じ大きさの電圧をかけたときに流れる電流の大きさは同じであると扱う。

反応の違いは、8.00V以下の電圧によって生じる電流には少し身を揺らす程度の反応であるが、大きい電圧をかけた際は身を大きく揺らしたり逆に硬直させたりしたこと、12.0V以上の電圧によって生じる電流では嘔吐したことより、明らかであった。

5. 本実験

5.1. 仮説

予備実験を踏まえて、カイコに流す電流が大きいほど記憶定着度は大きくなるという仮説を立て、実験を行った。

5.2. 方法

- ①5歳の幼体40頭を、10頭ずつ4組のグループに分類する。
- ②カイコを、酢酸エチル10.0μLを含ませた脱脂綿とともに200mLビーカーに入れて、酢酸エチルを認識させる。
- ③各個体に、グループごとに決まった大きさの電流を流す。
- ④羽化した成体を酢酸エチル10.0μLを含ませた脱脂綿とともに200mLビーカーに入れて観察し、忌避反応の有無を確認する。

②において酢酸エチルを認識させる時間、③において電流を流す時間、④において忌避反応の確認をする時間は、それぞれ60s、10s、60sとする。

グループごとの電流の大きさは、0.00V-15.0Vの範囲で、5.00Vずつ変化させた電圧によって生じる電流である。

②と③の操作は、11月20日から2日間行った。

なお、脚や頭部の震え、腹部の膨張・収縮などの通常では見られないような行動を忌避反応とした。



図4 忌避反応の有無の確認

5.3. 結果

結果は以下ようになった。

表1 忌避反応の有無

電圧(V)	番号	12/6	12/7	12/8	12/9	12/10	12/11	12/16	12/17	12/18	12/19	12/20
0.00	1	×	×	×	×	○	○	×	死亡			
	2				×	×	×	○	×	死亡		
	3							○	×	×	×	×
5.00	11	×	×	×	×	×	×	×	×	死亡		
	12							×	×	○	×	○
10.0	21		×	×	○	○	○	死亡				
	22			○	○	○	×	○	×	×	×	死亡
	23			×	×	×	×	×	×	×	×	×
	24				×	×	○	×	×	死亡		
	25						×	×	×	○	×	×
15.0	31		×	×	×	×	○	×	×	×	×	×
	32				○	○	○	○	×	○	×	×

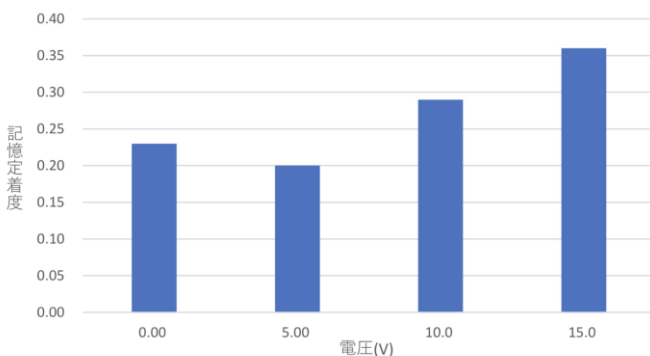


図5 電圧と記憶定着度の関係

表において忌避反応を示したものは○、示さなかったものは×として表した。

記憶定着度は、個体ごとの忌避反応を示した割合を算出し、グループごとにその平均値を求めるとして評価した。

カイコの数に40頭に満たないのは、繭を作らなかった個体が1頭、繭を作り蛹化に失敗した個体が3頭、繭からの羽化に失敗した個体が21頭いたことと、酢酸エチルを認識させる操作に不十分があった3頭のデータを除外したことが原因である。

5.4. 考察

5.00V-15.0Vの範囲において、電流が大きいほどカイコの記憶定着度が大きくなる結果となった。

予備実験により、カイコは0.00V-20.0Vの電圧をかけたことによって生じる電流の範囲内において、電流の大きさの違いを認識できるということが分かった。このことは目的で述べた通り、カイコの持つ電流を認識するニューロンは、その範囲内の電流の大きさについて異なる閾値を持つことを示す。したがってカイコは、受けた電流が大きいほど、その刺激を伝達する化学物質を受容する受容体の数も増加する。

また本研究の結果により、その受容体の数は変態後に逆転したり同じ程度になったりすることはないと示されている。

今回の結果は、変態前後で記憶形成に関わる細胞のシナプス結合が維持されることがカイコについても言えると判断する材料になりうるだろう。

6. 展望

本研究は電流が大きいほど記憶定着度が大きいと結論づけた。しかし半数以上の個体の死亡によるデータ数の欠如や体長などの個体差の激しさなどにより、得られたデータは信頼度が高いとは言えないだろう。またカイコをビーカーに入れる時などに全てのカイコを同じように扱うことは、我々の技能不足により叶わなかった。

今後の実験では飼育環境を改善したり人為的に繭を開けて羽化を助けたりすることでより多くの個体を用意し、より厳密な条件下で実験を行うことで正確なデータを得たい。

また、本研究の結果は、ニューロンによって変態を通じた記憶の保持が行われているという説を支持するものとなった。今後の実験では、この説をより強固なものにするべく、刺激の種類などを変えるなどにより、より多様な結果を得たい。

7. 謝辞

今回の研究を遂行するにあたって本校教諭の方々、本校サイエンスアドバイザーの方々には、多大な支

援と助言を賜りました。中でも本校教諭の片山貴夫先生には、休日や遅い時間にまで及ぶ私たちの研究に付き合ってくれた上、知識の足りない私たちに適切な助言をしてくださいました。ここに深謝の意を表します。

8. 参考文献

[1]カイコガの変態後の記憶の残留について

https://seika.ssh.kobe-hs.org/media/common/KadaiKenkyuu/seibutu/2019/2019_課研-カイコ班-論文.pdf (2024/01/29 現在)

[2]Retention of Memory through Metamorphosis:
Can a Moth Remember What It Learned As a
Caterpillar?

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0001736> (2024/01/29 現在)

[3]ショウジョウバエの記憶中枢キノコ体における
変態に伴う神経回路網再構築の解析

<https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-PROJECT-12640668/> (2024/01/29 現在)

家庭系食品廃棄物を使用した静電気防止噴射液の作成

兵庫県立神戸高等学校 2 年 9 組 高橋佳暖 住田有依香 萩原啓 山地梨心 LIUXIMAN

Abstract

市販の静電気防止噴射液の原料には合成界面活性剤が使われている。本研究は、野菜に含まれる天然界面活性剤（サポニン，レシチン）を原料とする環境にやさしい静電気防止噴射液の作成を目的とする。十種類の野菜におけるサポニン・レシチンの含有量を測定し，上位四種類を噴射液の原料として静電気防止力を測定したところ，なすが静電気防止に最も効果があることが示唆された。また，噴射液の濃度と布への着色の関係性を考察し，噴射液の最良の作成手順を明らかにした。

背景

界面活性剤は静電気の発生及び帯電を抑える効果があり，静電気防止噴射液の原料として使われている[1]。また，現在市販の静電気防止噴射液には合成の界面活性剤が用いられている。界面活性剤には陰イオン性，陽イオン性，両イオン性，非イオン性の四種類があるが，陰イオンと陽イオンはそのほとんどが合成界面活性剤であり，両イオンと非イオンは天然界面活性剤がほとんどである[2]。これら二種類の界面活性剤の構造は同じであることから，合成界面活性剤の代わりに天然界面活性剤を用いても同様に効果のある静電気防止噴射液を作成できるのではないかと考えた。また，野菜にはサポニンやレシチンなどの天然界面活性剤が含まれていると言われている[2]。このことから，本研究では野菜の廃棄部分を使用して，家庭で作成可能な環境やヒトの皮膚に悪影響を与えない静電気防止噴射液の開発を目的とする。また，本研究では天然界面活性剤であるサポニンとレシチンに着目した。向井らは，茶種子に

おいてのサポニン定量法を確立した[3]。Guoらは，エタノール抽出とオーブンドライと二種類の 방법으로花のレシチンを抽出した[4]。Patilらは，大豆からレシチンを抽出する方法を確立した[5]。本研究では，それらを参考し，エタノール抽出を用いてサポニンとレシチンの定量を行った。

方法

1. 野菜の非可食部に含まれるサポニンとレシチンの定量

はじめに予備実験として，非可食部¹が多く廃棄率の高い野菜であった人参，大根，キャベツ，レタス，きゅうり，かぼちゃ，なす，ブロッコリー，ピーマン，じゃがいもの十種類の野菜に含まれるサポニンとレシチンを以下の方法で抽出し検量した。

野菜の非可食部を 1 mm 四方にし刻み，それぞれ混ぜて 1 g 量りとした。そこに 40 g のエタノール (99.5%) を加え，20°C で 20 分超音波洗浄機にかけた。その後チューブに移し 4000 r/min で 1 分遠心分離し，上澄を抽出液とした。抽出液をそれぞれ二つにわけ，

¹ ・人参:皮 (0.8 mm) ，ヘタ側 (5 mm) ，先端 (3 mm) ・大根:皮 (0.8 mm) ，ヘタ側 (15 mm) ，先端 (10 mm) ・キャベツ，レタス: 外皮一枚，芯 ・きゅうり: 上下 (3 mm) ・かぼちゃ: 種，綿 ・なす: ガク及びそれを取り除いて残ったヘタ ・ブロッコリー: 枝分かれ部分で切り落とした際の中心部分 ・ピーマン: ヘタ，種，綿 ・じゃがいも: 皮 (1.2 mm)

一方は波長 490 nm でサポニンの吸光度測定（測定試料の配合比：抽出液 400 μ L, 5% フェノール溶液 1 mL, 硫酸 2 mL）, もう一方は波長 600 nm でレシチンの吸光度測定（測定試料の抽出液：3 mL, モリブデン酸・硫酸アンモニウム水溶液 500 μ L, ヒドロキノン水溶液 200 μ L, 亜硫酸水溶液 200 μ L）を行った。2 静電気防止力の測定

(i) 市販の静電気防止噴射液の実際の効果の確認

四種類の野菜を用いた噴射液ごとの効果の比較の前に、実験方法の正確性を確認するため、市販の静電気防止噴射液²の効果の検証を以下のように行った。

まず、8 cm×3 cm に裁断した 100%ポリエステル布に、10 cm 離れた位置から水と市販の噴射液をそれぞれ噴射した。その後放置して乾かし、エボナイト棒で 20 秒擦ったのち、表面電位測定器³で布表面の電位を測定し比較した。それぞれ 5 分乾かしたものと 10 分乾かしたもので実験を行い、静電気の発生の有無を比較した。

(ii) 各野菜の静電気防止効果の比較

1 で選定した四種類の野菜を用いて噴射液を作成し、(i) で確立した方法に則ってそれぞれの噴射液の静電気防止効果の測定を以下のように行った。

野菜の非可食部を 1 mm 四方に刻み、それぞれ混ぜて各野菜 5 g 測りとった。それを 60 mL の水と共にビーカーに入れ、火にかけて沸騰後 3 分間煮込んだ。ビーカーから野菜を取り除き、残った液体を集め、(i) で用いたものと同じボトルに入れたものを噴射液とした。それらを (i) と同じ手順で噴射し、20 分放置して乾燥させた後、30 秒間エボナイト棒で擦り、表面電位測定器で表面電位の最高値を計測した。これを各野菜八回ずつ行っ

た。

(iii) 抽出液の濃度変化に伴う静電気防止効果の比較

(ii) の結果に基づき、静電気防止噴射液の作成に適した野菜を選定したが、噴射液の濃度を大きくすることでさらに効果が高まることが予想した。

そこで、最も静電気防止効果が高かった野菜を用いて、濃度を変えた五種類の噴射液を (ii) と同様に作成し、五回ずつ実験した。作成した濃度は、試料：水 = (2:1), (4:1), (6:1), (8:1), (10:1) の五種類である。その後それぞれの濃度における静電気防止効果を調べた。

(iv) 抽出液の濃度変化に伴う布への着色の比較

(iii) から、濃度が大きくなるにつれて静電気防止効果が高くなるという結果を得たが、濃度を高くすると布への着色がみられた。そこで、(iii) で着色の影響がみられなかった濃度が小さい試料を除き、新たに五つの濃度で着色の比較を行った。作成した噴射液の濃度は、試料：水 = (1:3), (1:2), (1:1), (2:1), (3:1) の五種類である。

上記の五つの濃度の噴射液を 2 cm×3 cm に裁断したコットン布に噴射した際の着色の様子を比較した。

結果

1 野菜の非可食部に含まれるサポニンとレシチンの定量

サポニンの吸光度測定結果を表 1 に示し、レシチンの吸光度測定結果を表 2 に示す。

順位	試料	吸光度 (ABS)	順位	試料	吸光度 (ABS)
①	なす1/100	0.289	⑥	レタス	0.236
②	大根	0.852	⑦	きゅうり	0.481
③	じゃがいも	0.661	⑧	ブロッコリー	0.446
④	ピーマン	0.599	⑨	カボチャ	0.339
⑤	人参	0.521	⑩	キャベツ	0.49

² 使用した静電気防止噴射液：株式会社大創産業「静電気ガードミスト“携帯に便利なスリムタイプ”-衣類のバチバチやホコリを防ぐ-

³ 使用した静電気測定器：静電気測定器 FMX-004

順位	試料	吸光度 (ABS)	順位	試料	吸光度 (ABS)
①	レタス1/10	0.101	⑥	人参	0.195
②	大根1/10	0.081	⑦	キャベツ	0.187
③	きゅうり1/10	0.1	⑧	ブロッコリー	0.082
④	なす	0.684	⑨	カボチャ	0.163
⑤	ピーマン	0.328	⑩	じゃがいも	0.073

(表 1: 十種類の野菜におけるサポニンの吸光度)

(表 2: 十種類の野菜におけるレシチンの吸光度)

表 1 から、レタス、大根、きゅうり、なす、ピーマンの順番に吸光度が高いため、この順でサポニンの含有量が高いと考えられる。

同様に、表 2 から、なす、大根、じゃがいも、ピーマン、人参の順番で吸光度が高いため、この順でレシチンの含有量が高いと考えられる。

これらの結果から、サポニンの含有量が大きいレタス、レシチンの含有量が大きいじゃがいも、どちらも多く含んでいたなす、大根の四種類を本実験の対象とすることにした。

2 静電気防止力の測定

(i) 市販の静電気防止噴射液の効果の確認

水を噴射した布は5分乾燥のもので1.5 kV、10分乾燥のもので6.7 kVとかなり大きな静電気が発生したが、静電気防止噴射液を噴射した布はどちらもほぼ静電気が発生しなかった。このことから、界面活性剤を使用した静電気防止噴射液は有効であることと、確立した実験方法の正確性が確認できた。

(ii) 四種類の野菜での静電気防止効果の比較

なす、じゃがいも、レタス、大根の測定結果と平均を表 3 に示す。

	1	2	3	4	5	6	7	8	平均
なす	1	0.9	0.6	1.7	0.8	1.2	1	0.5	0.9625
じゃがいも	0.9	1.5	1	2.4	3.1	1.7	2.3	2	1.8625
レタス	2.3	3	2.1	6.3	1.6	3.5	5.5	3.5	3.475
大根	3.4	4	3.4	4.5	4	4.1	3.3	3.8	3.8125

(表 3: 四種類の野菜の表面電位値)

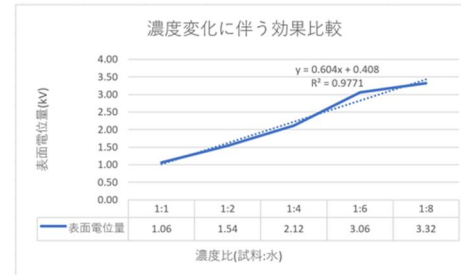
表 3 より、なすから作成した噴射液を使用した布の表面電位の最高値の平均値が最も低かった。このことから、なすが静電気防止噴射液の材料として最も適していることがわ

かった。

(iii) 抽出液の濃度変化に伴う静電気防止効果の比較

なすの五段階の濃度ごとの測定結果と平均を表 4 に示す。

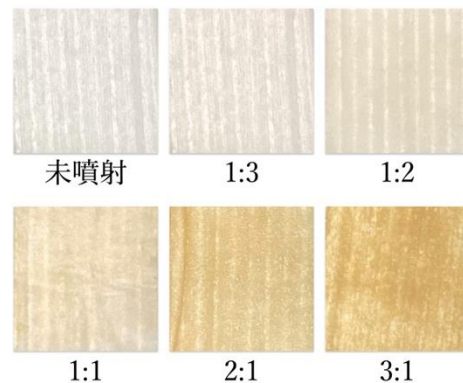
濃度が大きくなるにつれ、より高い静電気防止効果が見られた。



(表 4)

(iv) 抽出液の濃度変化に伴う布への着色の比較

布への着色の度合いを図 1 に示す。



(図 1) (試料: 水)

実験の結果、試料と水の比が 1:2 を超えたあたりからコットンへの着色が顕著にみられた。しかし今回は噴射液を一部分に四回ほど噴射したため、実際に使用する際よりも濃く着色が見られたと思われる。また、衣服の素材や色などによっても着色の程度が変わると考えられる。そのため、実際に使用する際はそれらに配慮して使用するのが好ましい。

考察

本研究では、それぞれ一種類の野菜から噴射液を作成したが、何種類かの野菜を混ぜて噴射液を作成することで静電気防止効果向上

につながると考える。また、今回サポニンの含有量を測定した全ての野菜のうち、最も含有量が高いとされたレタス、またサポニン、レシチン共に含有量が高いとされた大根は本実験で十分な静電気防止効果が確認できなかった。このことから、予備実験に不備があり、測定が正確でなかった可能性があるかと推測できる。本研究で吸光度の値が高く出ていない野菜の静電気防止効果を確認、正確性を検証する必要があると考えられる。

また、本研究では家庭での再現性を高めるために噴射液作成の際に試料と水を混ぜた。しかしサポニンとレシチンはどちらもエタノールに溶けやすいことが先行研究によって示されている。本研究でもサポニンとレシチンはエタノール抽出によって含有量を測定した。そのため、噴射液作成の際に試料とエタノールを混ぜることでより多くの界面活性剤が溶け出すと考えられ、更なる効果が期待できる。

今回の実験では、廃棄物から噴射液を作成したが、実際は野菜の可食部分にもサポニン、レシチンが含まれているため、可食部を用いて静電気防止噴射液を作成することも可能である。さらに、腐敗等で廃棄される野菜も同様に静電気防止噴射液に使うことができれば、さらなる実用性が見込める。しかし、野菜の損傷、腐敗によりサポニンとレシチンの含有量に変化があるのかは未明であるため、今後調査していきたい。

なお、本研究は、花粉症対策に有効と考えられる。静電気が衣服表面で発生することにより衣類に付着した花粉が花粉症の症状を引き起こすということがわかっている。現在販売されている花粉付着防止噴射液は、衣服表面での静電気発生を防止することで花粉の付着することを防止している。そのため、今回本研究で作成した静電気防止噴射液は、こうした場面でも実用的だと考えられる。

結論

本研究では、野菜の非可食部を使用した、家庭で作成可能な静電気防止噴射液を開発することを目的とした。十種類の野菜から、二種類の天然界面活性剤(サポニン、レシチン)を定量し、それらを多く含む野菜を選出し、噴射液を作成した。それらの静電気防止効果を測定した結果、なすの非可食部から作成した静電気防止噴射液に最も効果が見られた。その後、なすと水の配合比を変更し、衣服への着色と静電気防止力を考慮し、最良の作成手順を確立した。今後、他の野菜の静電気防止効果をj確認する予定である。また、噴射液を作成する際の原料の変更、抽出溶媒をエタノールに変更するなど試す予定である。

謝辞

本研究での実験のあり方など細部にわたるご指導をいただいた向江先生、サイエンスアドバイザーの皆様に感謝します。

参考文献

- [1] 近藤行成, 「界面活性剤の種類とはたらき」 (2023/6/5)
- [2] 山本隆・桂郁夫・角田清治, 「界面活性剤の帯電防止に関する考察」 (1964/4/10)
- [3] 向井俊博・堀江秀樹・後藤哲久, 「茶種子サポニンの簡易定量法」 (2023/5/16)
- [4] Bi et al. (2021) Paris saponin H inhibits the proliferation of glioma cells through the A1 and A3 adenosine receptor-mediated pathway (2023/7/24)
- [5] Guo et al. (2022) Lecithin extraction optimisation and synthesis in *Hemerocallis citrina* Baroni. 2023/6/12
- [6] Patil et al. (2010) Extraction and purification of phosphatidylcholine from soybean lecithin 2023/6/12
- [7] Ishiguro et al. (1984) Considerations on the Analytical Methods of Lecithin in Food Preparations 2023/6/5

色素増感型光触媒

～可視光下での利用における有機物分解反応の促進～

高橋宗詩 井上友梨香 上野瑞季 大滝美紅 澤田知沙 天後陽斗
兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年

酸化チタンは紫外光下では有機物を分解するが、可視光ではほとんど分解を行わないことが知られている。そこで我々は、可視光での有機物分解を可能にするために酸化チタンに色素を吸着させて可視光吸収を可能にした。それを用いて、メチレンブルーを有機物として実験を行った結果、可視光照射時にも有機物分解が行われたことが分かった。

1. はじめに

光触媒とは

光触媒とは光のエネルギーによって化学反応を促進する物質全体を指す。本研究では、産業的に用いられている光触媒である酸化チタン(TiO_2)を使用する。 TiO_2 の作用は、まず TiO_2 に光が当たり、電子が励起(エネルギーの高い状態)され、この電子が他の分子に結合してこれを還元し、電子が励起された跡の正電荷を持った「穴」(正孔)が分子から電子を奪って酸化する過程である。 TiO_2 の特徴は励起電子の持つ還元力よりも、正孔の持つ非常に強い酸化力にある。有機物は最終的には、二酸化炭素と水に酸化される。

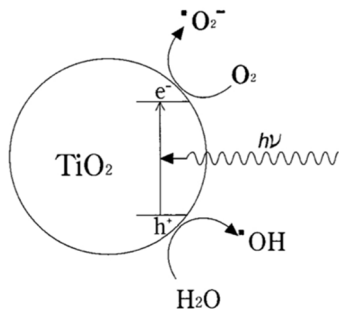


図1: TiO_2 型光触媒の有機物分解の仕組み

色素増感型太陽電池とは

TiO_2 のナノ多孔膜を光電極として用いた太陽電池のこと。この多孔膜の表面には色素が吸着しており、この色素が TiO_2 の光吸収の領域を紫外のみから紫外と可視の領域に拡大する(この作用を色素増感と呼ぶ)。色素増感の原理はカラー写真の原理と類似しているが(参考文献[8])、カラー写真とは違い、色素が光を吸収した後に色素を元に戻す機構を持つため何度でも使えるという利点がある。本実験では色素増感作用

を活用し、 TiO_2 型光触媒を可視光下で利用可能にしようと試みている。

2. 研究目的

色素増感型太陽電池の原理を利用して、 TiO_2 型光触媒の可視光での有機物分解能を上げる。また、LED電球を使用した室内で最も分解反応が促進される最適な色素を見つける。

3. 仮説

TiO_2 に色素を吸着させることによって可視領域下で有機物分解が可能になる。また、白色LEDの光波長である400~650 nmの波長を吸収する、赤~黄色の色素を吸着させた時に分解反応がより盛んになる。

4. 予備実験

4.1 TiO_2 をペースト状にし、膜を作成し表面積などの条件を揃える。

4.2 0.001%のメチレンブルー溶液を有機物として用い、 TiO_2 膜をメチレンブルー溶液の中に入れて紫外光下、可視光下、暗室の各条件下で3日間放置し、メチレンブルーの吸光度の変化から光触媒作用を調べる。

(光の照射には、紫外線照射器と市販のLEDライトを使用)吸光度の測定は、吸光度計で664 nmの固定波長測定で行う(参考文献[9])。

4.3 TiO_2 ペーストを作成する際にアセチルアセトンを使用すると、混ぜた後のペーストが上澄み液との2層に分離せずにまとまる、と記載があったため(参考文献[4])、アセチルアセトンを使用してみる。

TiO₂膜作成方法

- (1)TiO₂ペーストを作成する。粉末状の TiO₂3 g、ph3 の硝酸 1 滴、純水 5 g、ポリエチレングリコール 1 g を乳鉢に入れて 30 分混ぜる。
- (2)スライドガラスに TiO₂ペーストを塗布する。
スライドガラスの両端に等間隔でテープを貼り、ガラス棒で TiO₂ペーストを厚さと面積が一定になるようスライドガラス上に引き伸ばす。
- (3) (2)で作成したものを乾燥させた後、450°Cに設定した電気炉で 30 分間焼き付ける。

結果

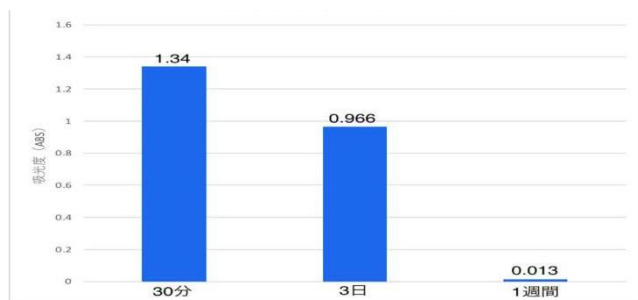


図2：紫外線照射時のメチレンブルー吸光度の変化

1)吸光度は、664 nm の固定波長測定。ブランクは純水。

試料	暗所	UV	LED
TiO ₂ なし(メチレンブルーのみ)	1.471	1.478	1.328
TiO ₂ あり 1	1.096	0.331	0.821
TiO ₂ あり 2	1.061	0.037	0.815
TiO ₂ あり 3	1.116	0.182	0.914

表1：吸光度測定の結果

1)条件を加えて、再度実験を行った。

4.2 作成した TiO₂膜に有機物分解能があることが分かった。紫外線照射時間とメチレンブルー吸光度の変化より照射時間が長いと、より分解されることがわかる。

4.3 混ぜた後のペーストはまとまったが、焼き付け後のペーストがひび割れるようになったため、以後の実験では使用を断念した。



図3:アセチルアセトンなし



図4:アセチルアセトンあり

5. 本実験

色素をペーストに吸着させられるか調べる。

色素付きの TiO₂膜で予備実験 4.2 と同じ工程を行い、色素の有無による分解能の差を比較する。

5.1 グラム染色溶液を使用した実験

グラム染色溶液を吸着させる方法を 2 通り試す。

色素吸着方法 a

- (1)ビクトリアブルーと粉末状の TiO₂15 g をビーカーに入れる。
- (2)30°Cに設定したスターラーで 2 時間振とうする。
- (3)濾過し粉末を回収した後、乾燥させる。
- (4)乾燥後の色素付き TiO₂を使用して TiO₂膜を作成する。

色素吸着方法 b

- (1)焼き付け後の TiO₂膜を入れたシャーレに色素 5 ml をそれぞれ入れて、3 日間浸しておく。
- (2)その後、シャーレから出して乾燥させる。

結果

方法 a:乾燥させた時点でほとんど色が失われていた。焼き付けると色素なしの TiO₂と目視で差を識別できない。



図5:焼き付け前

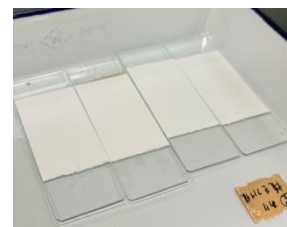


図6:焼き付け後

方法 b:色素水溶液から取り出してメチレンブルーに浸すと、色素が溶出してしまった。

→疎水性の色素を使用する必要がある。



図7:色素染色後の TiO₂膜



図8:メチレンブルーに浸した TiO₂膜

吸光度測定一評価

色素を吸着させた TiO₂膜が可視光(LED)を吸収するか調べる。

可視光照射前と照射後でメチレンブルーの吸光度を測定する。

結果

試料	吸光度(664 nm) ※相対値
0.001%メチレンブルー	1.986
フクシン付きTiO ₂	0.882
ピクトリアブルー付きTiO ₂	0.706
色素なしTiO ₂	1.437
メチレンブルーのみ	1.858

表2 :吸光度測定結果

考察

色素付きでない TiO₂膜の吸光度が色素付き TiO₂膜の吸光度よりも大きかったことから、色素を吸着させることによって可視光下での有機物の分解能が上がったと考えられる。

また、どのような色素であれ光が当たると成分が分解されて褪色してしまうので、今後は染色後の TiO₂膜を光の当たらない環境下で管理することとする。

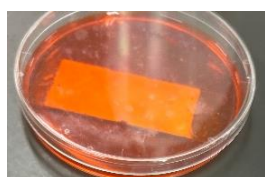


図9:溶出したオレンジII

5.2 疎水性の色素を使用した実験

使用する色素：

油絵具（黒、オレンジ、青），オレンジII

結果

オレンジII：メチレンブルーに入れた時点で色素が液中に完全に溶出してしまったため、吸光度測定を行わなかった。

油絵具：可視光照射後にブランクを純水とし、664 nmの吸光度を測定した。

試料	吸光度(664 nm) ※相対値
0.001%メチレンブルー	1.986
オレンジ(LED照射)	0.432
オレンジ(LED照射なし)	0.552
青(LED照射)	0.380
青(LED照射なし)	0.243
黒(LED照射)	0.286
黒(LED照射なし)	0.248

表3:吸光度測定結果

考察

可視光を照射していないものも吸光度が下がっていたことから、予備実験より、暗所で反応しないと分かっている色素無し TiO₂を除いた、油絵の具とメチレンブルーの間で何らかの反応が起こっていると考えられる。今回は油絵の具の酸化作用(参考文献[10])がメチレンブルーを還元し、吸光度が下がったと考えた。また、油絵の具は顔料であるため、TiO₂に吸着するとは考えにくく、反応機構次第だが有用性は低い。

5.3 アゾ染料を使用した実験

5.2 でオレンジII粉末をエタノールで溶かした溶液に浸して染色した TiO₂膜をメチレンブルーに入れた際、表面に付着していた色素粉末が剥がれてしまった。そこで、アゾ染料の合成の工程で直接 TiO₂膜を染色すればアゾ染料が剥がれないと考えたため、TiO₂膜上でジアゾカップリング反応を起こして染色する方法を試す。

実験方法

自作したアゾ染料、2種類のグラム染色液で染色した TiO₂膜をそれぞれ UV、LED、暗室の3つの条件で3日間照射し吸光度を調べる。

使用した色素：アゾ染料、フクシン、ピクトリアブルー

※アゾ染料はアセトンに溶かして使用。

アゾ染料作成方法

塩化ベンゼンジアゾニウム、ナトリウムフェノキッドを反応させ、TiO₂ペースト上に p-フェニルアゾフェノールを合成する。

- (1)アニリン 0.6 ml を塩酸 12 ml(2 mol/L)に溶かし、氷水に浸す。
- (2)0.6 g の亜硝酸ナトリウムを蒸留水 12 ml に溶かし、氷水で冷却する。
- (3)(1)の水溶液に(2)の亜硝酸ナトリウムを少しずつ加える。
- (4)0.6 g の 2-ナフトールを 2 mol/L の水酸化ナトリウム水溶液 12 ml に溶かす。
- (5)(4)の水溶液と(3)の水溶液を混ぜる。

結果

試料	暗所	UV	LED
TiO ₂ なし(メチレンブルーのみ)	1.471	1.478	1.328
TiO ₂ あり 1	1.096	0.331	0.821
TiO ₂ あり 2	1.061	0.037	0.815
TiO ₂ あり 3	1.116	0.182	0.914
アゾ染料 1	1.065	0.269	0.557
アゾ染料 2	1.31	0.378	0.639
アゾ染料 3	1.312	0.324	0.439
ビクトリアブルー 1	1.307	0.273	1.108
ビクトリアブルー 2	1.268	0.263	0.95
フクシン 1	1.042	0.855	1.088
フクシン 2	1.124	0.216	0.807

表 4:吸光度測定結果

- 1) 吸光度は 664 nm の固定波長測定、ブランクは純水。
- 2) メチレンブルー、TiO₂ありの数値は予備実験のものを再掲。

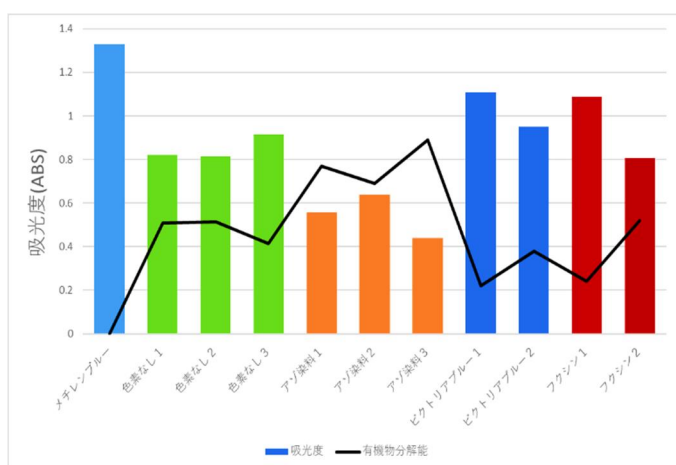


図 10:可視光照射時の吸光度変化の比較

考察

色素無し TiO₂膜を 3 日間可視光に当てた後のメチレンブルーの吸光度に対し、アゾ染料付き TiO₂膜の吸光度が低いことから、色素を付けたことにより可視光下での光触媒作用が促進されたといえる。また、紫外線下においては色素無し TiO₂膜の吸光度に対し、アゾ染料付き TiO₂膜の吸光度がやや高かったことから、紫外光下においては色素が何らかの原因で光触媒作用を妨げていると考えられる。具体的には、色素により TiO₂膜表面に届く紫外光の量が減る、もしくは色素も紫外光に反応するが TiO₂膜よりも紫外光への応答が弱い、などが挙げられる。

6. おわりに

研究目的の一つである、可視光下での TiO₂の有機物分解は、疎水性の色素を吸着させることで可能になったといえる。また、我々が行った実験方法では疎水

性の色素が最適であるといえるが、親水性の色素を使用したとしても水中に溶出しないよう加工を施すことが出来れば、さらに幅広い色素の種類を使用できると考えられる。

今後の展望として色素の種類だけでなく色の種類を変えて実験し、全ての要素を総合した上で最も分解能の上がる色素を調べる。また、水に浸した場合でも剥がれない TiO₂膜の作成を目標とする。

7. 謝辞

研究を進めるにあたり指導をしてくださった本校教諭の方々、本校サイエンスアドバイザーの方々、そして、実験に使用した油絵具を提供して頂いた美術部の方々に深く感謝を申し上げます。

参考文献

- [1]谷 忠昭,酸化チタンによる感光性色素の吸着と酸化チタン光電効果の色素増感の機構の考察,1972
- [2]大谷 文章, 古南 博光, はじめての電気化学計測—基礎とノウハウ(5)触媒反応と評価
- [3]藤嶋 昭. "光励起された酸化チタン表面 光触媒反応の新しい流れ." 応用物理 64.8 (1995): 803-807.[4]
- [4]色素増感太陽電池の光電極のための TiO₂ペーストの調整 - 三重県, <https://www.pref.mie.lg.jp/common/content/000171812.pdf>, (2024/01/30 現在)
- [5]松本 洋介, 2022, 新課程版 スクエア 最新図説科学, 第一学習社
- [6]渡辺 紀子, 2008, 各種酸化チタン光触媒のメチレンブルー分解性におよぼす光源の影響, 人間環境学会「紀要」, 第 10 号, p63-76
- [7]山下典男.「光触媒酸化チタン (マスクメロン型) の繊維への応用」.SEN'I GAKKAISHI(繊維と工業) Vol.58,No9.2002
- [8]Peccell.「色素増感太陽電池の仕組み」(2024/01/30 現在)
- [9]日本産業規格の簡易閲覧.JISK8897:2012 メチレンブルー (試薬) (2024/01/30 現在)
- [10]ホルベイン画材.色材の解剖学①油絵具の乾燥 (2024/01/30 現在)

離岸堤の開口部に津波が集中した現象の検証

兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年
森嶋理人 松尾幸太朗 田中遥夏 藤林紫苑 濱野晃吉

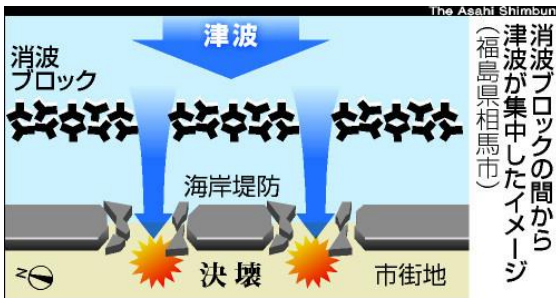
近年、著しい海岸線の浸食への対策として消波ブロックを離岸堤として設置することが多くなっている。しかし、離岸堤は海岸付近の水質悪化を防ぐ等の理由で隙間を開けて設置する必要がある。東日本大震災の際に福島県相馬市でその隙間が津波を増長し堤防が決壊したという記事を読みその現象が実際に起こりうるのか検証した。そのような現象は起こっておらず堤防が老朽化していたことにより決壊したと私たちは仮説を立てて実験を行った。当時の状況を水槽を用いた物理実験や流体解析ソフトを用いたコンピュータ上の実験で離岸堤を設置した時としていない時で対照実験を行い離岸堤が波の威力に影響を与えるのか調べた。実験の結果、仮説の通りその現象は自然に起こりうるものではないと分かった

3.

仮

1. 研究動機

2011年3月に朝日デジタル新聞に掲載された「消波ブロック津波には逆効果 切れ目に集中、堤防決壊」の記事では本来護岸の目的で設置されている消波ブロックが原因で津波の影響が強まったなどの記述があった。しかし有効な対策や原因の究明が記述されていなかった。また、記述された内容やイメージのイラストに疑問をもった。そこで、現象は実際に起こりうるのか。また、現象の発生の条件を検証しようと考えた。



長野剛 「消波ブロック、津波には逆効果切れ目に集中、堤防決壊」

(最終閲覧日：2024年1月29日)

(図1)

<https://www.asahi.com/special/10005/TKY201103300106.html>

2. 研究目的と方法

水槽で津波を起こし、離岸堤の模型を設置した実験と設置していない実験で津波の威力を比較する対照実験を行うことで、離岸堤が津波に与える影響を調べる。

説

今回我々は離岸堤によって津波が集中し堤防が決壊することは起こらないと考えた。なぜなら、離岸堤から堤防までの距離はおよそ70mあり、もし開口部地点では津波に集中が起こったとしても、そこから堤防にたどり着くまでに7秒程度の時間を要し、その間に離岸堤の影響はほとんどないものとなると考えたためである。そのため私たちは堤防が決壊した原因は離岸堤の開口部ではなく、ただ堤防に津波への十分な耐久性がなかっただけであると考えた。もし離岸堤がなかった場合にも津波によって少なくとも一部は決壊していたと予想される。

4. 先行研究

東日本大震災で被災した福島県相馬市を現地調査した柴山知也教授の調査書⁽²⁾によると、沖の少し離れたところにある離岸堤の開口部に津波が集中し、決壊した海岸の堤防のうち、離岸堤の開口部に面した部分のみが決壊したことから離岸堤の開口部が津波の勢いを増幅させた可能性があることが述べられていた。

5. 予備実験

本実験を行う上で、実際に発生した津波と水槽で再現する津波で相似測が成立するような、水槽で再現する津波の速度を求めたのち、それが実際に再現可能で

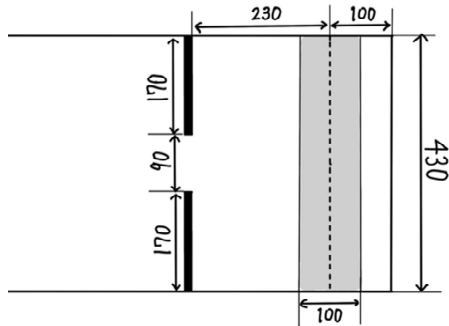
あるかを水槽実験において検証するために、水槽に入れる水の水位差を調整し、速さとの相関関係を調べた。

5.1 実験方法

(図2)

・作成した模型

実際の地形では長さ 100m, 開口幅 30m の離岸堤が並んでいたため、開口部を中心に 50m ずつ離岸堤を切り取った全長 130m の形を模して実験装置を組んだ。



・求めたい速度

離岸堤部分の水深を 5m 程度、津波の速度を 34km/s と推定した。水槽の横幅は 43cm だったため、フルードの相似測を用いて、0.54m/s の津波を起こすことを目的とした。

・津波の速さの測定方法

水槽における堤防の位置を中心とする幅 10cm の黒色の帯を敷いておき、津波が通過する様子をカメラで撮影した。10cm の黒色の領域を通過するのにかかった時間から、津波の速さを計算する。

・津波の起こし方

水槽では、仕切りを取り付けたダム部分に水を貯め、それを開放することで堰き止めた水を一気に流すダムブレイク法で津波を起こした。水槽に水面の高さ 5cm の水を入れ、それと水位差がつくようにダム部分にさらに水を貯めた。水位差は 2.5cm, 5cm, 7.5cm, 10cm, 12.5cm, 15cm, 17.5cm に設定した。

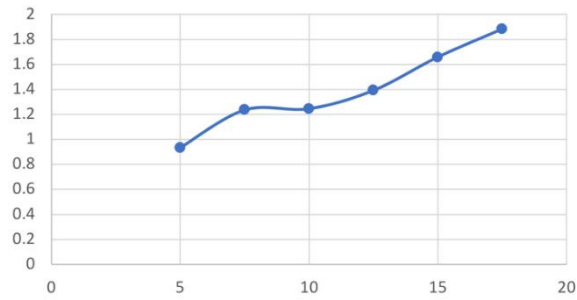
5.2 結果

実験の結果、各水位差ごとの速度は表 1, グラフ 1 のようになった。水位差 2.5cm では発生した波が小さく測定が困難だったため断念した。

水位差(cm)	5	7.5	10	12.5	15	17.5
速度(m/s)	0.93	1.24	1.25	1.39	1.66	1.88

サンプル数が少なく誤差も見られたが、水位差と速さの間には明らかな正の相関が見られた。

6.1 実験方法



(グラフ 1)

本実験では、予備実験で得たデータを元に津波を起こし、離岸堤の模型を設置した時としていない時で対照実験を行い、開口部の津波の速さと高さを測定した。離岸堤の高さは越流がおこっていたのか不明なため越流が起こる離岸堤としない離岸堤の二つを用意した。越流が起こる離岸堤は高さ 3cm, 起こらない離岸堤は波よりも十分高い高さのものを用意した。水面の高さを 2cm, 水位差を 5cm にして実験を行なった。想定している津波は高さ約 6、7m 程度で東日本大震災の際に起こった津波と同程度のものである。

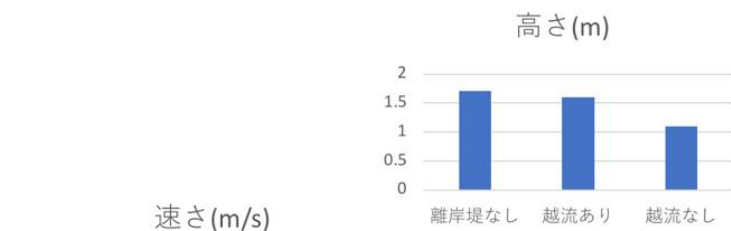
6.2 実験結果

結果は表 2 の通りである。この結果は縮小した津波の速さと高さである。

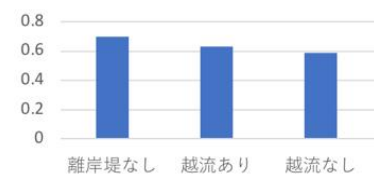
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	平均
速さ(m/s)	離岸堤なし	0.66	0.65	0.76	0.70	0.72	0.70
	越流あり	0.66	0.58	0.76	0.63	0.63	0.63
	越流なし	0.58	0.61	0.62	0.57	0.57	0.59
高さ(cm)	離岸堤なし	1.6	1.6	1.7	1.6	1.7	1.7
	越流あり	1.4	1.6	1.5	1.6	1.9	1.6
	越流なし	1.1	1.1	0.9	1.2	1.1	1.1

(表 2)

これらの速さと高さのそれぞれの平均を出したものがグラフ 2 とグラフ 3 である。



(グラフ 3)



(グラフ 2)

6.3 波圧測定

波圧の計算には、谷本式⁽³⁾を利用した

$$\eta^* = 3.0a_I$$

$$p_I = 3.0\rho_0ga_I$$

η^* : 静水面上の波圧作用高さ (m)

p_I : 静水面における波圧強度 (kN/m²)

a_I : 入射津波の静水面上の高さ (振幅) (m)

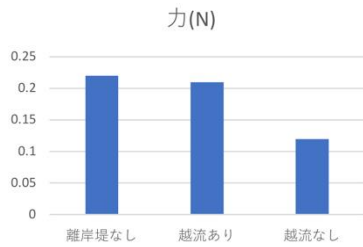
ρ_0g : 海水の単位体積重量 (kN/m³)

本研究では $\rho_0g = 10.09$ とした。

堤防の中央部の横幅 1cm に与える力を求めた。計算の結果は表 3, グラフ 4 のとおりである。

	波力(N)
離岸堤なし	0.22
越流あり	0.21
越流なし	0.12

(表 3)



(グラフ 4)

7. 考察

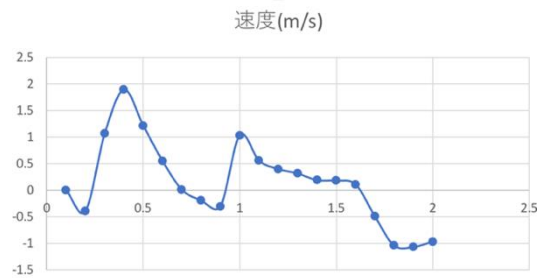
今回の実験では離岸堤があることにより波が強まるような現象は観測できなかつた。この現象が見られなかつた理由はこの現象がそもそも起こりえないものであるという可能性と私たちが行った実験が不十分であったという可能性が考えられる。実験の妥当性を確認するために流体解析ソフトを用いて新たに実験を行った。

8.1 本実験 2

OpenFOAM とは ESI グループよりリリースされている流体解析のためのオープンソースソフトウェアである。OpenFOAM はいくつかのソルバおよびツール群で構成されており、ユーザーが解きたい問題に応じて適当な機能を備えたソルバを標準ソルバの中から選択し、使用する。本研究は Volume of fluid (VOF) 法を用い二相流を対象とした interFoam ソルバを用いた。interFoam ソルバの妥当性と実用性は先行研究⁽⁴⁾より確認できる。本実験 2 の目的は物理実験の正確性を OpenFOAM を用いて示すこととする。具体的には OpenFOAM 上で本実験 1 と同様の条件つまり、通常時の水位を 2cm、水位差を 5 cm にして越流が起こる離岸堤を設置して実験を行った。その際、本実験 1 で速度を測定した点の速度を 0.1 秒ごとに計算した。水を流した瞬間を 0s とし 2.0s まで計測を行った。

8.2 結果

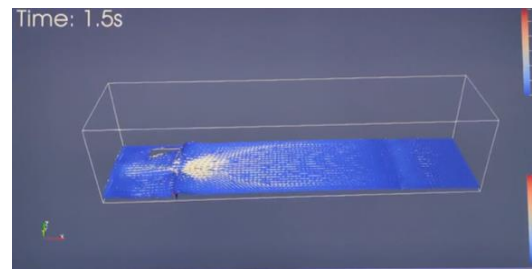
結果はグラフ 5 のようになった。



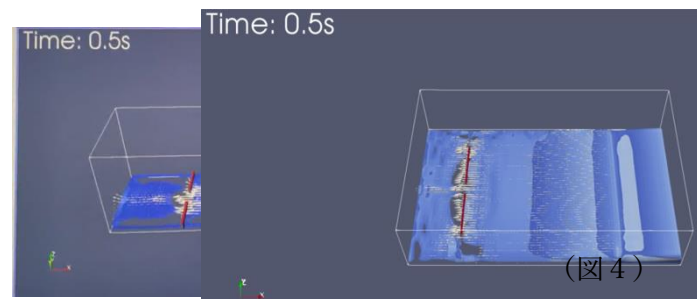
(グラフ 5)

速度が正の値になったり負の値になったりしている理由は波が水槽の奥側の壁ではねかえっているからだと考えられる。本実験 2 で速度を測定したのは 1.1s のときであった。本実験 2 で得られた速度は 0.630m/s、OpenFOAM で得られた速度は 0.557m/s であり速度に大きな違いは見られなかつたため本実験 2 の正確性は確認することができた。

次に、波の速度を可視化して波が集中しているか確認するために速度をベクトルにした。波が離岸堤にあつた 1.5s の瞬間が図 3 である。この図を見ると波が離岸堤の影響を受けて集中しているようにみえる。



(図 3)



(図 4)

しかし、図 3 のみでは波が離岸堤がない場合と比較して強まったとはいえない。また図 4 を見ればわかるように波が離岸堤にたどりつく前でも水槽の中心部と端の部分では速度に差が生じてしまっている。これは波と壁との間に摩擦が生じたことによるものと思われる。この速度の差を解決するために私たちはさらに実験を行うことにした。

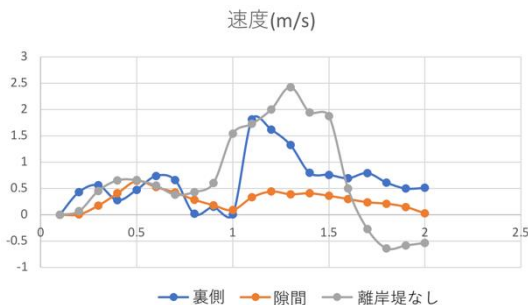
9.1 本実験 3

今回の実験では先ほど行った実験の課題であった

水槽と水との摩擦が津波に影響を与えない大きさの水槽を用いて OpenFOAM 上で実験を行った。具体的には、横幅のみを三倍にした水槽を用意し、越流が起こりうる離岸堤を設置した時していない時の速度やを比較した。測定した点は本実験 2 で測定した水槽の中心部の他に離岸堤の裏側にあたる点を用意した。なお、通常時の水位を 2 cm、水位差を 5 cm に設定した。

9.2 結果

結果はグラフ 6 のようになった。



津波が離岸堤に当たったのは 1.1s の時で水槽の壁に当たったのは 1.5s の時なのでこの実験での津波の速度とは 1.1s~1.5s の間の速度と定義する。

9.3 考察

図 5 は津波の速度を速度ベクトルにして表したものである。図 5 を見れば分かるように、本実験 2 の課題であった離岸堤に当たる前に摩擦により津波の速度に差が出るという現象は解決された。そのためこの実験は妥当性をもっていられる。グラフ 6 より離岸堤がない時の方がある時よりも津波の速度は速い。このことから離岸堤は津波を集中させることはないということがわかった。

10. 結論

柴山知也教授の調査書で述べられていたような、離岸堤の開口部に津波が集中し堤防が決壊するような結果は得られなかった。

11. 最後に (課題、展望)

今回私たちの研究では一般的な地形でこの現象が起こり得ないものだということがわかった。よって、離岸堤の開口部による津波の威力の増幅については

危惧する必要はないといえるだろう。しかし、離岸堤によって形成されたトンボロなどの地形が関与している可能性があるため今後は相馬市の地形などの条件も考慮して研究を進めたい。

12. 謝辞

本研究にあたり指導、管理して下さった、神戸高校の先生方、サイエンスアドバイザーの方々、その他私たちの実験にご協力頂いたの方々、この場を借りてお礼申し上げます。

参考文献

- (1)長野剛 - 朝日新聞デジタル:消波ブロック、津波には逆効果 切れ目に集中、堤防決壊
<https://www.asahi.com/special/10005/TKY201103300106.html>
- (2)柴山知也, 松丸亮, 高木泰士, 三上貴仁 - 土木学会論文集:2011年東北地方太平洋沖地震による津波災害の宮城県以南における現地調査
- (3)谷本勝利, 鶴谷広一, 中野晋 - 第31回海講論文集:1983年日本海中部地震津波による津波力と埋立護岸の被災原因の検討
- (4)松浦翔, 森真寛, 坂谷太基, 川崎浩治:OpenFOAMを用いたダムブレイク解析とその精度検証

地衣成分ウスニン酸によるトマトかいよう病菌への抗菌効果

兵庫県立神戸高等学校総合理学科 2 年

酒井大輔 前田恭子 泊実怜 岩切敬志 山岸稜弥

<要旨>

地衣類が生産する化学成分ウスニン酸がトマトのかいよう病菌に対して抗菌効果もつか、そして身近にある地衣類からその成分を抽出し抗菌効果が確認できるかを調べた。純粋なウスニン酸には顕著な抗菌効果がみられた一方で、地衣類自体の抗菌効果は確認できず、抽出した地衣類の成分が含むウスニン酸の量もわずかであった。これは、地衣類から地衣成分の抽出をする際の不純物が影響していると思われるため、今後改善する必要がある。

<はじめに>

菌類と藻類の共生体である地衣類は、地衣成分と呼ばれる二次代謝産物を生産する。地衣成分の一つであるウスニン酸は、結核菌などのグラム陽性細菌に対して抗菌力を持つことが明らかになっている。地衣類はその抗菌性から、古くは傷薬として用いられてきたが、ウスニン酸を経口で多量摂取すると肝臓や心臓へ毒性が及ぶ可能性が指摘されたため、現在人間に対してのウスニン酸の有効な利用法はない。そこで、人間の病気ではなく植物の病気に対して地衣成分ウスニン酸の抗菌性を利用しようと考えた。対象にする菌はトマトにかいよう病を引き起こす *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* (以下かいよう病菌) というグラム陽性菌である。

本研究は、ウスニン酸がこのトマトのかいよう病菌に対して持つ抗菌性を評価すること、また、身近に生えている地衣類からウスニン酸を抽出して用いることで、人々がより身近にウスニン酸の抗菌性を利用できるようにすることを目的とする。

<実験 1 >

ウスニン酸がかいよう病菌に対してどの程度の抗菌力を持つのかを調べるため、純度 98% のウスニン酸 (富士フィルム) を様々な温度や濃度の条件下で用いて、ディスク拡散法による薬剤感受性試験を行った。

以下に実験手順を示す。

1. ウスニン酸 0.05 g を電子天秤で量り、酢酸エチル 5.4 mL とエタノール 10 mL を混合した溶媒に溶かした。
以降の操作はクリーンベンチ内で行った。
2. 培養していたかいよう病菌のコロニーをループでとりマイクロチューブに移し、滅菌水を 0.20 mL 加えた。
3. ボルテックスミキサーで十分に菌と滅菌水を混合したのち、マイクロピペットでマイクロチューブ内の溶液を 0.20 mL 吸い取りスプレッターで培地にまんべんなく広げた。
4. 1. で作成した溶液とウスニン酸を含まない溶媒のみの液にそれぞれペーパーディスクを浸し、3) で作成した培地に 2 枚ずつ置いた。
5. 4. の培地をビニルテープで密閉して、27 °C に保たれたインキュベーター内で 48 時間培養し、発生した阻止円の大きさを計測した。

以下に示すのが実験 1 の結果である。

表 1 ウスニン酸濃度 0.650g/L での阻止円の大きさ

温度 (°C)	阻止円の直径 (mm)
27	>60.0
37	>57.0

表 2 温度 27℃における阻止円の大きさ

ウスニン酸の濃度(g/L)	阻止円の直径(mm)
0.000(溶媒のみ)	24.0
0.217	33.0
0.325	37.5
0.434	45.0
0.650	>60.0

<実験 1 考察>

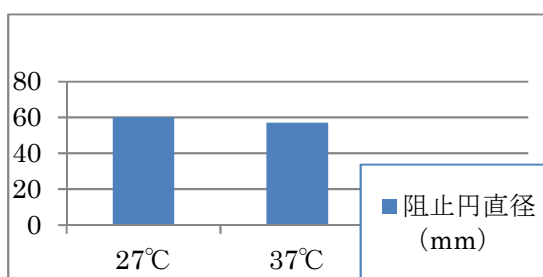


図 1 表 1 をグラフ化したもの

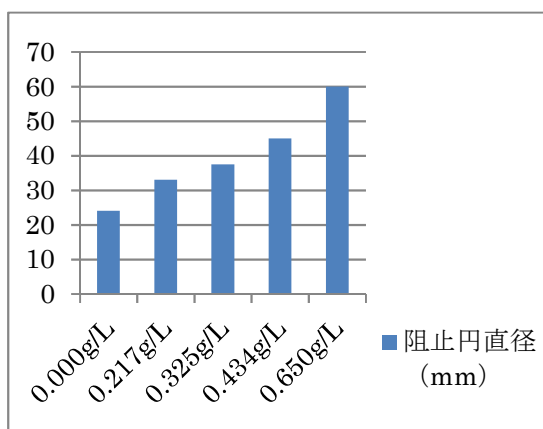


図 2 表 2 をグラフ化したもの

図 1 より、温度 27℃においての阻止円は 37℃に比べ大きい阻止円が出ていること、図 2 より、ウスニン酸の濃度が大きくなるに従って阻止円直径が大きくなっていることが分かる。よって、ウスニン酸濃度 0.65g/L、温度 27℃において、最も効率よくウスニン酸の抗菌効果が発揮されると考えられる。

<実験 2>

神戸高校付近の桜並木と大阪府箕面公園において地衣類 7 個体を採取し、その地衣体を含むウスニン酸を定量するため吸光度測定を行った。純度 98 %のウスニン酸と、地衣体からアセトンで抽出した成分を以下 1.で作成した溶液にそれぞれ溶かし、操作を加えて呈色後、溶液の吸光スペクトルを測定した。

以下に実験手順（操作）を示す。

1. 硫酸と水を 3:1 の割合で混ぜ、少量のパラジメチルアミノベンズアルデヒドを加えた溶液 2.0 mL を用意した。
2. 1. の溶液にウスニン酸 0.05 g を溶かし、赤色に呈色した。
3. 2. の溶液を 85 °C の水浴で 5 分間加熱し、赤褐色に変色した。
4. 3. の溶液に純度 98 %のエタノールを加え、青色に変色した。
5. 吸光光度計を用いて、4. の溶液の吸光スペクトルと波長 670 nm における吸光度を測定した。

以下に示すのがウスニン酸及び地衣体の溶液の吸光スペクトルである。

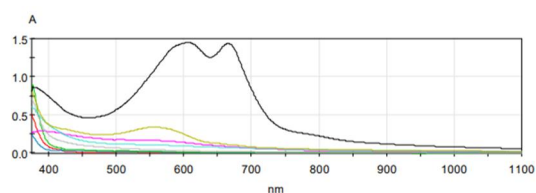


図 3 ウスニン酸及び地衣体の吸光スペクトル

波長 670 nm において高い値の吸光度を示している線がウスニン酸溶液の吸光スペクトル、その他の線が各地衣成分の溶液の吸光スペクトルである。両者の吸光スペクトルの波形は大きく異なった。

また、ウスニン酸の溶液は波長 670 nm で

吸光度のピークを示す。事前に溶液の波長 670 nm における吸光度とその溶液に含まれるウスニン酸の量が比例することを確認した。そこで、ウスニン酸と各地衣成分について、波長 670 nm における吸光度を測定し、地衣体に含まれるウスニン酸の濃度を計算した。結果は以下の通りである。

表 3 波長 670 nm における吸光度

サンプル名	吸光度(A)	濃度(mg/L)
ウスニン酸溶液	1.421	71.43
地衣成分 1 溶液	0.006	0.57
地衣成分 2 溶液	0.003	0.29
地衣成分 3 溶液	0.003	0.29
地衣成分 4 溶液	0.080	4.00
地衣成分 5 溶液	0.068	3.43
地衣成分 6 溶液	0.108	5.43
地衣成分 7 溶液	0.015	0.79

<実験 2 考察>

地衣成分 1~5,7 の溶液の吸光スペクトルの波形はウスニン酸溶液と大きく異なっただけ、抽出した地衣成分のピーク波長 760 nm における吸光度はウスニン酸溶液に対し約 100 倍小さかったため、地衣成分 1~5,7 にはウスニン酸はほとんど含まれていないと分かる。

地衣成分 6 については、他の成分よりも大きな値の吸光度が出たが、ウスニン酸溶液と比較すると依然として約 10 倍小さい。

我々は地衣成分 1~7 をアセトンで抽出し、析出した結晶を地衣成分として用いて測定を行っていた。しかしこの方法では、不純物（地衣体）が多く含まれ、測定すべきであった地衣成分がわずかに含まれていなかった可能性がある。この後<今後の展望>の章に示すような、より高精度な方法で抽出した地衣成

分を十分な量用いて測定を行えば、この実験の結果は変わる可能性がある。よって、地衣成分にウスニン酸が含まれている可能性は排除できない。

<実験 3>

実験 3 で地衣成分 1~7 にはウスニン酸が少量しか含まれていなかったものの、ウスニン酸以外の化学成分が抗菌性を持つ可能性が十分にある。そこで、その抗菌効果を調べるため、実験 2 で抽出した地衣成分 1~7 のうち、地衣成分 3,4,6 を用いて実験 1 と同様の手法で薬剤耐性試験を行った。実験 1 で、ウスニン酸濃度 0.65g/L、温度 27℃においてウスニン酸の抗菌性がよく発揮されることが分かったため、地衣成分もこの条件下で実験を行った。以下に測定した実験結果を示す。

表 4 地衣成分濃度 0.065g/L,温度 27℃における各地衣成分が形成した阻止円の大きさ

サンプル名	阻止円の長径(mm)
ウスニン酸	>40
地衣成分 3	23
地衣成分 4	21
地衣成分 6	22
溶媒のみ	24

<実験 4 考察>

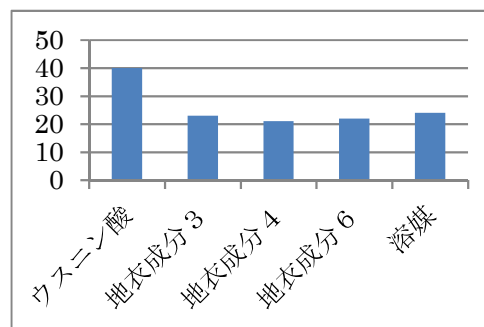


図 3 表 4 をグラフ化したもの

実験3では、地衣成分3,4,6が形成した阻止円は、溶媒のみが形成した阻止円より小さいか、ほぼ同じくらいの大きさであった。そして、それらの阻止円はウスニン酸溶液に比べて2倍近く小さかったことから、地衣成分3,4,6はかいよう病菌に対して有効な抗菌効果を有するということはできない。

しかし、この阻止円実験で用いた地衣成分は、実験2で用いたものと同じであったため、地衣成分を少量しか含んでいなかった可能性が高い。抽出した純度の高い地衣成分を十分に使えば、地衣成分の持つ抗菌性が発揮されていた可能性がある。よって、地衣成分がかいよう病菌に対して抗菌性を持たないと断じることはできない。

<考察>

実験1~3を通して、ウスニン酸のかいよう病菌に対する有効な抗菌性は確認できた一方で、地衣成分の有効性は明らかにならなかった。しかし、実験2,3において地衣成分の抽出方法に大きく改善すべき点があったために、地衣成分の有効性は否定できない。

<今後の展望>

上記で述べたように、実験2と実験3において、地衣成分の抽出方法には不純物が多いという課題が残った。そこで、新たに高精度な抽出方法を発案した。それを以下に記す。

1. 採取した地衣体から、泥や樹皮などをピンセットで取り除き、その後地衣体をすり鉢で粉状にすりつぶす。
2. 1.の粉をアセトンに溶かすと、地衣体に含まれていた地衣成分は溶けだす。
3. 3.のアセトン溶液をろ過する。アセトンに溶けていた地衣成分はろ紙を通り、ろ

紙を通らない地衣体は取り除かれる。

4. 4.のアセトン溶液を蒸発皿に入れてドラフトの中で放置する。溶媒であるアセトンは数時間で蒸発し、溶質として溶けていた地衣成分だけが残る。

5. 残った地衣成分をカミソリで削り取る。

以上の手順に従えば、高純度な地衣成分を手に入れられることがわかった。今後、上記の方法で抽出した地衣成分を用いて実験2,3をやり直し、より精度の高い結果を目指す。

地衣類の効果的な利用法が模索されている中、今回の研究でトマトかいよう病への大きな抗菌効果が認められたことは大きな一歩だと言える。このウスニン酸や地衣類の抗菌性に関する実験を基礎として、さらなる後続の研究が続くことを期待する。

参考文献

- (1) 千葉県立中央博物館ホームページ「地衣成分」
2024年1月閲覧
 - (2) 地衣成分の抗菌作用に関する研究(第二報) 1948, 薬学雑誌 vol.68, 柴田承二, 三浦義彰, 杉村久子, 豊泉遊里
 - (3) ウスニン酸のラット心臓に及ぼす影響 2011, 横山友祐
 - (4) トマトかいよう病の診断法と防除対策 北海道立花・野菜技術センター, 小松勉
 - (5) 富士フィルム和光純薬株式会社が試薬として販売
2024年1月時点
 - (6) 農林水産省「薬剤感受性試験の実施方法について」
2024年1月閲覧
 - (7) 地衣類の抽出成分・ウスニン酸とその利用 1980, 井上哲男, 慶田雅洋
- 遅くまで実験に付き合ってくれた、神戸高校化学・生物の先生方に感謝します。

子音模型の開発と声道模型を用いた発声機構の作成

鈴木嵩人 番場大誠 赤堀魁星 柳澤昭宏

兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年

近年、機械音声の精度はAI技術によって向上し、録音した複数の人間の音声が発音が自然になるように合成する技術のほか、人間の声帯や喉の形状を計算し声を生成するような技術も登場している。しかし機械音声は未だ違和感を伴う。そこで物理的に人間の声帯や喉の形状を再現することでより自然な人間な声を再現することが可能だと考える。本研究では、そうした物理的な人間の声の再現を試みた。そして研究の結果、数種類のひらがなを発音させることに成功した。

1. はじめに

1.1 背景と目的

物理的に母音の発声を再現するものとして上智大学の荒井教授が開発した声道模型がある。この5種類の声道模型は「a」「i」「u」「e」「o」のそれぞれの母音を発声するときの声道の形状を模している。そして、声帯で発生する音である喉頭原音を模して作られた音を、各声道模型に通すことで、原音をその声道模型に対応した母音へと変化させることができる。私達は、子音を発音させる子音模型を作り、声道模型の先端部分に取り付けることで、喉頭原音を模した音から、子音と母音を含んだひらがなへと変化させ発音させることが可能であると考えた。子音を決定する要因として、唇、舌、息など、複数の要因があると考え様々な素材を用いてこれらの要因を再現する子音模型を開発した。

1.2 声道模型の正確性の確認

本研究において、声道模型は荒井教授が配布する3Dデータを3Dプリンターで出力したもの(図1)を使用し、喉頭原音を模した音には荒井教授から頂いた音声データを使用し、声道模型の下部から同じ大きさのスピーカー(図2)で再生する。そこで、各声道模型が正確に母音を発音するかどうかの確認を行い、5つの母音のうちどの母音を本研究に用いるかを決定した。



図1 出力した声道模型

「u」「e」「o」の声道模型に関して、模型の形状が原因で3Dプリンターでの出力の際に補助剤が内部に形成されたため正常な声道模型の形を再現することができず、正確な発音が確認できなかった。

また、声道模型による「a」の音を原音としてスピーカーから流し、その上に「a」の声道模型を置いたところ、より正確な「a」の音が確認できた。これは、喉頭原音を声道模型に2回通すことによって、「a」特有のフォルマント周波数の音がより増幅されたためであると考えられる。つまりこの正確な「a」の音は、既存の声道模型を縦に2つ連結させたような模型により実際に再現可能であると考え、以下、子音を再現する際の原音としてこの音を用いることができると考えた。また、同じ行の子音を発音させるための要因は、ほとんど等しいものであると推測されることから、1種類の子音を再現できた場合、その行のひらがな5つの発声を再現できたとみなすこととした。また、本実験の手順と同じように、「あ」の音でアンケート調査を行ったところ、下の図の通り25人中18人が「あ」に聞こえるという結果を得られた。



1.3 子音選定と評価基準について

子音は以下の種類がある。

調音位置	両唇音		歯音		歯茎音		口蓋音		声門音
調音方法	無声	有声	無声	有声	無声	有声	無声	有声	無声
破裂音	p	b			t	d	k	g	
摩擦音			s	z					h
鼻音		m				n			
流音		w							
弾音						r			

これらの子音のうち、音を構成する要素としては、

- ・唇
- ・舌
- ・息

などが挙げられる。

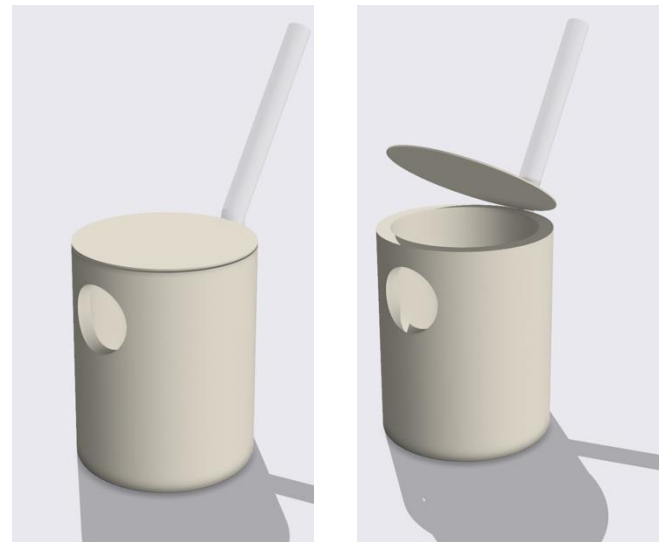
ここで「w」の音について注目すると、唇の開閉のみによって発音されており、模型の先端に開閉機構を取り付けるだけで簡単に発音させることができそうであると考えた。また「わ」の音は、日本語を話す中でも使用する頻度が高いことから、「わ」の音の発声から取りかかろうと考えた。

評価には、主観的な観点からのものと客観的に観点からのものが必要であると考え、アンケートと音声入力機能による判定を用いた。アンケートでは、無作為に選んだ25人に「あ」の声道模型を用い再現した子音の音声を聞いてもらい、どの子音にを回答してもらうことにした。

2. 実験「w」

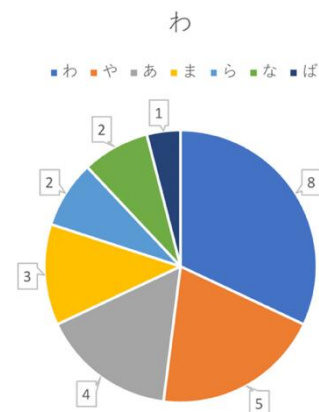
2.1 実験方法

「わ」を口で発音するとき唇を開閉することで音を出していることがわかる。そこで、唇を模した開閉機構をつくり、母音の発音と同時に開閉させることで「わ」の音を発音させる。開閉機構の素材には唇の質感に近い素材が必要だと考えシリコンを用いた。当初は手で開閉を行っていたが再現性と汎用性に乏しいと考えた。そこで、ストローを用いて、空気を送り込むことで開閉させることにした。空気を送り込む方法は多々あり、手で空気を送り込むのに比べて応用が効き、再現性が高いと考えたためである。



2.2 結果・考察

声道模型の先端に作成した開閉機構を装着・開閉し母音「a」を発音させたところアンケートの結果として、下の図の通り、25人中8人が「わ」と聞こえると答えた。これは、半数以上の人々が「わ」であると理解できていないため、「わ」の音になっているとは言えない。しかし、このアンケート調査は、実験で発音させた音をスマートフォンで録音し、その音を参加者が聞き、評価してもらっている。録音した音と、実験の音を聞き比べると、実験の音の方がより「わ」と認識しやすいことがわかる。つまり、スマートフォンのマイクの特性によって音が変わってしまっていると考えられる。



次に、「ま」の発声について考えてみる。「わ」は口を少し開いた状態から完全に開いた状態まで開閉させることで発音しており、「ま」の音は口を完全に密閉した状態から完全に開いた状態まで開閉させることで発音していると考えられる。つまり、「わ」と同じような簡易的な機構で「ま」を作ることができるのではないかと考えた。そこで次の実験を行った。

3. 実験「m」

3.1 実験方法

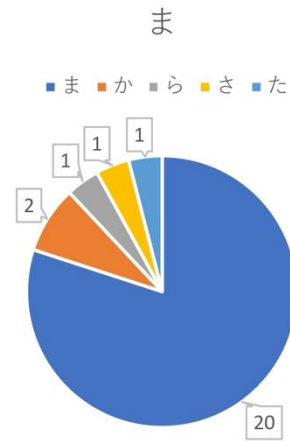
2.2で得られた考察をもとに、密閉した状態から完全に開いた状態まで開閉させる機構を再現した。だがこの機構で発音させたところ、「ま」の音にはならず、「わ」の音になった。そのような結果になった原因として「ま」を発音するには鼻濁音を必要としているからだと考えた。発音する前に「n」の子音を発音させることが必要だとわかった。そこで鼻濁音は鼻の2つの穴から音が通り抜けることで発音すると考え、わずかに隙間の空いたものを声道模型の上に被せ、開閉させることで「ま」になるのではないかと考えた。



3.2 結果・考察

声道模型の先端に作成した開閉機構を装着・開閉し発音させるのだが、一部から全体に徐々に広がっていくように機構を開けると、「わ」のような音になってしまうことが実験を繰り返すことで分かった。よって、「ま」と認識できるような音を出すためには、作成した開閉する機構を一気に真上に引き上げ、音が通る道を急激に広げることが必要なのではないかと考察した。しかし、人の手で機構を動かす精度には限界があるため、現時点では、確実に「ま」に聞こえる音を出せておらず、「わ」に聞こえたり、「ま」に聞こえたりと完成にはまだまだ改善が必要な状況である。

アンケート調査の結果は、右の図の通りであるが、25人中20人が「ま」と認識できるという結果になった。この調査は、何度も実験を繰り返した中で特に「ま」と認識しやすい音を用いて行った。今後改良をすることで安定してそのような音を出すことができるようにするのが目標であるが、達成できる可能性は十分に高いと思う。機構の穴の大きさや、声道模型との密着の程度などを調節していきたい。



4. 実験「s」

4.1 実験方法

物理的に再現可能であるかを調べるために、別々に録音した摩擦音「s」とあの音をデータ上で合成したところ、「s」と「a」の音が少しでも重なったり、離れたるときには聞こえず、丁度良いタイミングの時のみでしか「さ」に聞こえないとがわかった。なので模型で再現する際も、タイミングを合わせることが必要である。機械的にそれぞれの音を発生させることができないので人力でタイミングを合わせるのにとっても苦労したが、何度か実験を重ね、「さ」のように聞こえる音を発音させることができた。今回の実験では摩擦音として、ストローの中に空気を送ることで、その時に発生する音を利用した。まず初めに利用したストローは市販の一般的太さのストローだが、人が「さ」と発音する時にでる摩擦音に比べると低い摩擦音が出た。そのため、私たちはストローの先を潰して空気の通り道を細くすることでより実際の声に近い摩擦音を作ることができた。



4.1 結果・考察

アンケートの結果として25人中21人が「さ」と聞こえると答えた。今回の調査した音の中では最も認識される割合が大きかった。ストローに空気を送り込む時間や、送る空気の強さ、そしてストローの出口の細さなどをさらに細かく調節できるようになれば、より良い「さ」を作ることができると考えている。

また、「は」は「さ」と同様に無声音かつ摩擦音であるため再現可能なのではないかと考えた。人は「は」を発声する際、大きく口を開けることから、大きな穴に空気を通すことで「h」の音を作り、「さ」と同様の方法で「は」を再現出来ると考えた。



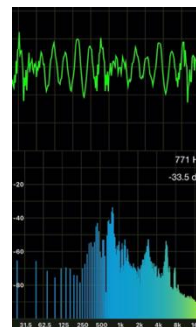
5. 考察・課題

本研究では「わ」「ま」「さ」について、一定数の人が認識できる程度にひらがなを発生させることに成功した。もちろんまだまだ完璧な発声ができているとは言えない。より人の声に似た音を出すためには、これまでの考察で述べてきたように、様々な子音を出す要因となっている機構について、少しずつ調節し、最適な状態を探していく必要がある。

現在、スペクトラムアナライザを用いて波形や周波数分布を調べ、人間の声との比較によってどれほど正確に発生できているかを分析している。「わ」では、振幅が徐々に大きくなっていくという点で波形に共通点があり、それが「わ」と聞こえる要因になっているのではないかと考えている。このようにデータの面から共通点、類似点を探していき、さらに人の声への理解を深めていきたい。

私たちの目標は、ひらがなを、人間が発声するのと同じ方法で物理的に発生させることである。そしてそのひらがなを誰もが認識できるようにすることだ。現時点での私たちの課題は、一つ一つのひらがなを、正確にそして断続的に出すことができていない点であ

る。まず正確に発生するためには、可能な限り人の手で行う作業を減らしていくことが必要だと考えている。例えば「さ」では、摩擦音と母音を適切なタイミングで出力しなければならないが、二つをそれぞれ人力で行うとずれが出てしまう。なので機械的な動作を増やしていくことで発声の精度を上げられると考えている。また、現時点でひらがなを認識しにくい要因として、母音を断続的に出力できていないことが挙げられるので、一文字ずつを細かく発声できるようにしていくことも課題である。



スペクトラムアナライザ

6. 参考文献

- ・ 上智大学荒井教授
(<https://splab.net/apd/ja/g500/>)
(http://www13169uj.sakura.ne.jp/Vocal_Tract_Model/index-j.htm)
- ・ 電気通信大学
(<http://www.takagi.inf.uec.ac.jp/swr/pdf/studentbook2.pdf>)

7. 謝辞

本研究の遂行にあたり、神戸高校浮田裕教諭には終始適切なご指導を賜りました。ここに深謝の意を表します。

サイエンスアドバイザーの皆様には、本研究の遂行にあたり、多大なご助言を頂きました。感謝申し上げます。

上智大学荒井教授には、実験器具を提供頂き、そして、適切なお助言を賜りました。厚くお礼申し上げます。

本研究の遂行にあたり、快く実験に参加頂いた皆様に、感謝いたします。

最後に、神戸高校の先生方には、本研究の遂行にあたり多大なご助言ご協力頂きました。ここに誠意の意を表します。

ワモンゴキブリにおける数値の視覚的認識と短期記憶

古川仁翔

兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年

無脊椎動物が数を理解する能力を持っていることが近年明らかになった。この研究では、昆虫の中で脳の研究に適したワモンゴキブリを用いてその能力を確認することを試みた。ワモンゴキブリは DMTS 課題を用いて Y 字迷路の入口と選択肢のパターンを一致させるように学習させられた。その結果、はじめの数回の試行で正しい選択をする割合が減少し、その割合と正しい選択をする割合との間に統計的に有意な差がみられた。またその後の試行では、回数を重ねるごとに正しい選択をする割合が大きくなりつつあることが分かった。現時点では数値的能力を確認する段階には入っていないが、それを確認するための手法が確立しつつある。なお、この研究はゴキブリに DMTS 課題を適用する初の試みであり、ゴキブリの記憶や行動に関する研究に役立つことが期待できる。

1. 背景と目的

人間以外の脊椎動物が数を理解する能力（以下、数値的能力という）を持っていることは古くから確認されていた⁽¹⁾が、近年の研究でミツバチの数値的能力が確認された⁽²⁾ことにより、無脊椎動物においても数値的能力があることが明らかになった。そのため無脊椎動物において数値的能力を扱う神経基盤に関する研究はまだ少ない。

ワモンゴキブリは脳の研究に適した昆虫の一つであり、これまでに数多くの研究で利用されてきた。また様々な研究によって、ワモンゴキブリが周りの景色を認識・記憶する能力、視覚的情報を基にした空間把握能力を持っていることがわかっている。⁽³⁻¹⁰⁾

そこで、それらの能力を利用することでワモンゴキブリの数値的能力を確認できると考えた。ここではワモンゴキブリの数値的能力を確認することで、節足動物の数値的能力の神経基盤に関する研究の礎となることを目的とする。

2. 予備実験

実験には Y 字迷路を使用するが、これまでにゴキブリに Y 字迷路または T 字迷路が適用された例は少なく⁽¹¹⁾、本研究に使用できる有効な手段が確立されていない。そこで本研究に適した Y 字迷路を新たに考える必要があった。

2.1 予備実験 I 罰と報酬による条件付けの確認

砂糖水を好み、食塩水を嫌うワモンゴキブリの特性⁽¹²⁾を利用する。ミツバチの実験と同様に、それぞれを報酬と罰として、報酬はゴキブリが迷路を進むための動機づけになるのかを確認した。

I 方法

Y 字迷路の左右の選択肢のうち、一方には報酬として 10% 砂糖水を、もう一方には罰として 20% 食塩水を染み込ませた脱脂綿をそれぞれ配置した。その迷路の入口に 1 匹のゴキブリを放ち、その後の行動を観察した。その操作を一匹につき

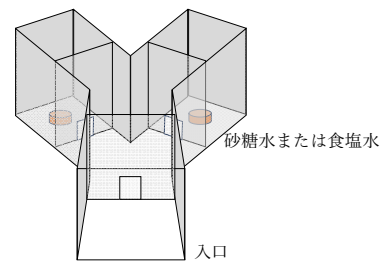


図1 予備実験 I で使用した Y 字迷路の模式図

数回行った。なお、砂糖水と食塩水の配置は各試行でランダムに決められた。また、砂糖水を得る意欲を高めるためにゴキブリには実験の一週間前から餌と水を与えなかった。^(11, 12)

I 結果

1 回目の試行では、迷路内をよく動き回るものとその場で留まるものに分かれた。前者は途中の食塩水の摂取の有無にかかわらず最終的に砂糖水を摂取したが、2 回目以降の試行ではその場に留まることが多かった。

I 考察

ゴキブリは常に砂糖水を得る動機を持ち続けられるとは限らないことが分かる。そのため迷路を進むための動機付けとして、砂糖水が有効であるとは言えない。

2.2 予備実験 II ストレスの回避による動機付けの確認

先行研究により、ワモンゴキブリは熱い床を避けることが分かっている⁽¹³⁾。そこで、熱い床を避けることが迷路を進む動機になるのかを確認した。^(3-5, 15, 16)

II 方法

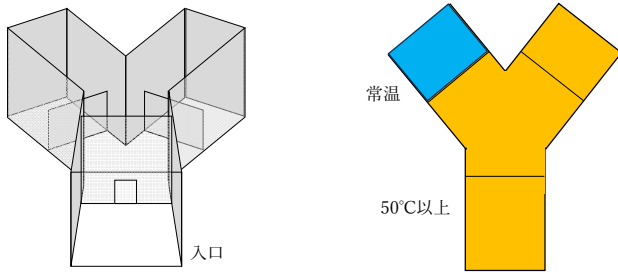


図2 予備実験IIで使用したY字迷路の模式図(左)と平面図(右)

Y字迷路を、左右の選択肢のうちの片一方の床のみが常温でそれ以外のすべての部分の床が約50°Cかそれ以上になるように、ホットプレートの上に置いた。その実験装置の入口に1匹のゴキブリを放ち、その後の行動を観察した。その操作を一匹につき数回行った。なお、左右どちらが常温になるのかは、各試行でランダムに決められた。また、選択肢の部分以外の壁にはゴキブリが登ることを防ぐためにワセリンを塗った。

II 結果

すべてのゴキブリが入口に放たれて2, 3秒後に激しく動き回りはじめた。登れる壁が選択肢の壁のみであるため、ゴキブリはその壁を登るしかなかった。常温の方を登った場合はその壁を乗り越えて常温の床に留まった。熱い方を登った場合は壁の上に留まるか、壁を伝って常温の方に行こうとした。登れる壁を見つけられず常に熱い床の上にいる個体は、2, 3分後に足が動かなくなり転倒した。

II 考察

床を熱くすることはどのゴキブリにも迷路内を動き回らせ、熱くない床を求めさせる有効な手段であると言える。そのため熱い床はゴキブリが迷路を進むための動機づけになると考えられる。また、ゴキブリは長時間熱い床の上に居続けると弱ってしまうため、1回の試行に制限時間を設けると繰り返して実験を行える可能性がある。

3. 実験

ゴキブリの数値的能力を確認するにあたって、以下の通りに実験を進める。なお、ここでの数値的能力はサブタイジング(subitizing)を指すことにする。サブタイジングとは、少量の物体の個数を瞬時に正確に認識する能力のことである。(16)

3.1 使用した個体

実験には、脚や触角の欠けていない成虫のオスのワモンゴキブリ(*Periplaneta americana*)を使用した。全ての個体を、約25°C、12/12時間の明暗サイクル、水と餌(ネ

ズミ用固形飼料)が常に自由に摂取できる環境下で飼育した。明期の光源には、多量の紫外線を含む光と熱を放射するライトを使用した。また、実験は暗期に行った。(4, etc.)

3.2 実験手法

ミツバチの数値的能力等に関する研究(2, 17, 18, etc.)でも使用された、Y字迷路でのDMTS課題(delayed matching-to-sample task: 遅延見本合わせ課題)(19)を用いてオペラント条件付けを行った。これはY字迷路内において、左右の選択肢に表示された2つの視覚情報(選択パターン)のうち、入口に表示された視覚情報(サンプルパターン)と特徴が一致した方に実験対象の個体が進むように学習させるというものである。この実験はそのルールを学習させる訓練段階と、そのルールを新たな別のパターンに応用できるかを見るテスト段階に分かれている。ここでは、訓練段階では数値と関係のないパターンを用いてゴキブリにそのルールを学習させる。次にテスト段階で数値を表すパターンを用いて同様に実験を行う。テストで学習したルールに基づいた行動ができていないかを見ることで、数値的能力を確認する。

3.3 実験装置

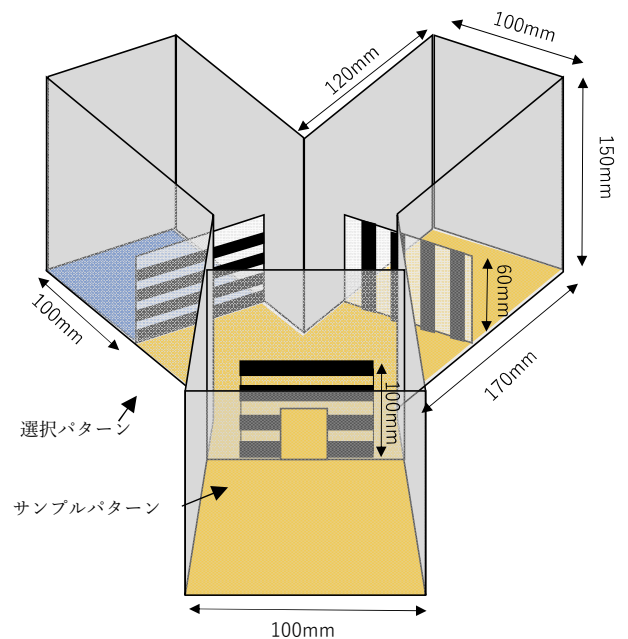


図3 実験に使用したY字迷路の模式図

実験にはY字迷路を使用した。これまでにゴキブリでDMTS課題が試された例はなく、新たにY字迷路をゴキブリ用に改造する必要があった。予備実験の結果を基に、図のようにY字迷路を作成した。

Y字迷路はポリプロピレンの板を組み合わせて作成し



図4 実際に使用した迷路

た。入口と選択をする部屋の間の壁にはサンプルパターンが、選択をする部屋とその奥の部屋の間の壁には選択パターンが表示されている。選択パターンは左右で異なり、片方はサンプルパターンと同じ特徴を持つものである。サンプルパターンが表示された壁の下部には穴が開いており、ゴキブリはそこを自由に通り抜けることができる。選択パターンが表示された壁は高さが低くなっており、ゴキブリはそこを乗り越えることで奥の部屋に進むことができる。また、選択パターンが表示された壁以外のすべての壁にはワセリンが塗られており、ゴキブリはそこを登ることはできない。Y字迷路を、左右の選択パターンのうちサンプルパターンと一致した方の部屋の床のみが常温でそれ以外のすべての部分の床が約 50°C 以上になるように、ホットプレートの上に置いた。

3.4 訓練

訓練では、迷路内において2つの選択パターンのうち、サンプルパターンと一致している方に進むことをゴキブリに学習させた。

方法

1匹のゴキブリを迷路の入口に放ち、常温の部分にたどり着いたら2分以上放置する。この操作を、十分に繰り返す。また、1回の試行でゴキブリが常温の床にたどり着くまでの制限時間は3分とし、それを過ぎた個体は迷路から取り除かれた。なお、訓練では図4のように縦縞と横縞のパターンを使用した⁽³⁻⁵⁾。左右の選択パターンの配置は各試行でランダムに決められ、5回の試行ごとにサンプルパターンは入れ替わった。また各試行間に、フェロモン等による影響を排除するためにエタノールを使って床と壁を洗浄した。

3.5 テスト

訓練段階において、一致した方に進む割合が70%に達したと判断できれば、数値的能力を見るためにテストを行う。テストでは、図のような数値を表すパターンを使用して訓練と同様に試行を繰り返し、一致した方を選ぶ割合を見る。要素の配置や面積などの違いによる影響を

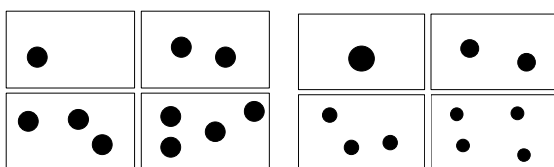


図5 テストで使用するパターン（一例）

左は全ての要素の大きさが同じで、右は面積の合計が同じにしてある。

なくするために様々なパターンを用いてテストを行う^(2, 20, etc.)。

3.6 分析

ゴキブリが初めに選んだ選択パターンを、その試行におけるゴキブリの選択として扱った。ゴキブリが景色を認識できることは先行研究により明らかになっているため、帰無仮説を「ゴキブリはパターンを基に選択肢を選んでいる（一致した方に進む割合とそうでない方に進む割合は等しい）」、対立仮説を「ゴキブリはパターンを基に一致した選択肢を選んでいる（一致した方に進む割合はそうでない方に進む割合よりも大きい）」として、結果について片側の二項検定を用いて仮説検定を行った。

4. 結果

ゴキブリ 5 匹を用いて 12 回ずつ訓練を行った。（テストは 1/29 時点では行えていない。）結果は以下のとおりである。

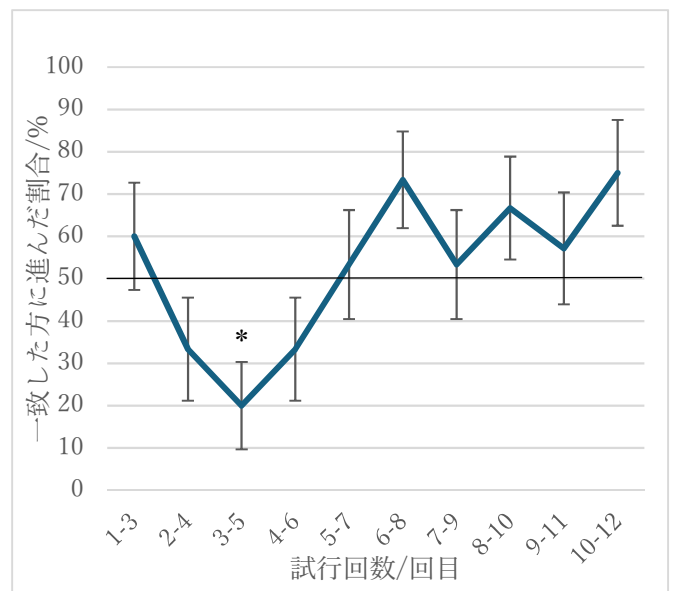


図6 試行回数に伴う一致した方に進んだ割合の推移

グラフの試行回数の一つ分は、3 回分の試行回数の移動平均を表している。また、エラーバーは各試行における標準誤差を表している。“*”は、後述の両側の二項検定において $p < 0.05$ となったことを意味している。

どの試行においても、一致した方に進む割合が統計的に有意に高いとは言えなかった（ $p = 0.059$: 6~8 回目、 $p = 0.073$: 10~12 回目）。

5. 考察

行うことのできた実験からは、ゴキブリが一致した方に行く割合が有意に大きいとは言えず、帰無仮説「ゴキブリはパターンを基に選択肢を選んでいる」を棄却することはできなかった。

しかし 3~5 回目の試行に関して、割合がかなり小さいことがグラフからわかる。ここで、帰無仮説はそのまま、対立仮説を「ゴキブリはパターンを基に選択肢を選んで（一致した方に進む割合とそうでない方に進む割合は等しくない）」として、両側の二項検定を用いて再評価をした。その結果、3~5 回目の試行において二つの割合に有意な差がみられた ($p=0.035$)。そのため、帰無仮説「ゴキブリはパターンを基に選択肢を選んでいない」は棄却され、対立仮説「ゴキブリはパターンを基に選択肢を選んでいる」が採用される。

両側の二項検定によって得られた結果から、ゴキブリははじめの数回の試行のみでサンプルパターンと選択パターンについて何らかの関連性を学習した可能性が考えられる。

ゴキブリが二つのパターンの関連を学習したと仮定すると、はじめの数回の試行で一致した方に進む割合が減少した原因として、ゴキブリが常温の部分にたどり着いた後に受けた何らかの刺激が、常温の部分に留まることよりも避けたいものであった可能性が考えられる。しかしその後の試行ではその割合が低くなったままではないため、その考えは否定されるだろう。よってここでこの原因を結論付けるのは困難である。

また、現時点で行えた実験からは、試行回数を増やした場合の結果が得られていない。そのため、途中から一致

した方に進む割合が上がりつつあることが学習の効果によるものなのかはわからない。

6. 結論・展望

現時点ではゴキブリの数値的能力を確認する段階には入っておらず、当初の目的を達成できていない。まずは一匹当たりの訓練の試行回数を増やし、ゴキブリがルールを学習できるのかどうかを明らかにする必要がある。そして、はじめの数回の試行で一致した方に進む割合が減少した原因を検討する必要がある。

この研究はゴキブリに DMTS 課題を適用する初めての試みであり、ゴキブリの記憶や行動に関する研究の新たな手法の確立に一步近づいた。これを基にこの分野の研究がより発展することを願う。

7. 謝辞

実験に使用したワモンゴキブリはアース製薬株式会社様から分譲させていただきました。有吉立様をはじめとするアース製薬株式会社の方々に、深くお礼を申し上げます。

ゴキブリを飼育する際に使用したライトは、爬虫類専門店の Hachural-life 様から譲っていただきました。錦織健児様、生田穂乃花様に深くお礼を申し上げます。

本研究の指導にあたって、サイエンスアドバイザーの皆様、本校の先生方に深く感謝の意を表します。また、実験を手伝ってくれたクラスメイトにも感謝します。

8. 参考文献

- (1) Nieder A., The evolutionary history of brains for numbers, Trends Cogn. Sci 2021 25, 608-621.
- (2) Gross, Hans J., et al. Number-based visual generalisation in the honeybee, PLoS One 2009, 4.1: e4263.
- (3) 水波誠, 昆虫の場所記憶, 電子科学研究 1993, 1: 94-95.
- (4) Brown, S., N. Strausfeld. The effect of age on a visual learning task in the American cockroach, Learning and Memory, 2009 16:210-223
- (5) Broder, Evan D., et al, The Effect of Caffeine on Short-Term Spatial Learning in *Periplaneta americana*, Vanderbilt Undergraduate Research Journal 2010.
- (6) Kwon, H. W., Learning and memory in the American cockroach, *Periplaneta americana*: New behavioral paradigms for associative learning, The university of Arizona 2002.
- (7) Kwon, H. W., et al, Spatial learning in the restrained American cockroach *Periplaneta americana*. Journal of experimental biology 2004, 207.2: 377-383.
- (8) Pomaville, et al, Multiple representations of space by the cockroach, *Periplaneta americana*, Frontiers in Psychology 2018, 9: 1312.
- (9) Honkanen, Anna, et al, Cockroach optomotor responses below single photon level, Journal of Experimental Biology 2014, 217.23: 4262-4268.
- (10) Honkanen, Anna, et al, The role of ocelli in cockroach optomotor performance, Journal of Comparative Physiology A 2018, 204: 231-243
- (11) Arican, Cansu, et al, Cockroaches show individuality in learning and memory during classical and operant conditioning, Frontiers in Physiology 2020, 10: 1539.
- (12) Sakura, M., et al, Olfactory learning and memory in the cockroach *Periplaneta americana*, Zoological Science 2001, 18.1: 21-28.
- (13) Maliszewska, J., et al, Altered heat nociception in cockroach *Periplaneta americana* L. exposed to capsaicin, PLoS One 2018, 13.3: e0194109.
- (14) Barnes, C.A., Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat, Journal of comparative and physiological psychology 1979, 93.1:74.
- (15) Morris, Richard GM, et al, Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions, Nature 1982, 297.5868: 681-683.
- (16) Davis, H., et al. Numerical competence in animals: Definitional issues, current evidence, and a new research agenda, Behavioral and Brain Sciences 1988, 11.4: 561-579.
- (17) Zhang, Shaowu, et al, Visual working memory in decision making by honey bees, Proceedings of the National Academy of Sciences 2005, 102.14: 5250-5255
- (18) Howard, Scarlett R., et al, Symbolic representation of numerosity by honeybees (*Apis mellifera*): matching characters to small quantities, Proceedings of the Royal Society B 2019, 286.1904: 20190238.
- (19) Blough, D.S., Delayed matching in the pigeon, Journal of the experimental analysis of behavior 1959, 2.2: 151.
- (20) Beran, M.J., et al, Rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) enumerate large and small sequentially presented sets of items using analog numerical representations, Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes 2007, 33.1: 42-54.
- (21) Heimonen, Kyösti, et al, Large functional variability in cockroach photoreceptors: optimization to how light levels, Journal of Neuroscience 2006, 26.52: 13454-13462
- (22) Nishino, Hiroshi, et al, Visual and olfactory input segregation in the mushroom body calyces in a basal neopteran, the American cockroach, Arthropod structure & development 2012, 41.1: 3-16
- (23) 荒木久美子, 山本経之, ラットのオペラント行動を用いての知的機能の検索法, 日本薬理学雑誌 2004, 124.1: 3-9.
- (24) デヴィッド・ジョージ・ゴードン, ゴキブリ大全, 青土社, 1999.

紫外線の波長の違いによって Hsp の生産量に違いが生じるか

前場雄晴 赤木孝輔 岡野和子 竹本逞 松尾瑠桜 宮下透

兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年

要旨

細胞の恒常性を保つタンパク質はヒートショックプロテインまたは分子シャペロン(以降 Hsp と記載する)と呼ばれるタンパク質であり、熱・紫外線・低酸素状態など様々なストレスに応答して増加する。紫外線の波長によって Hsp の生産量に違いが生じると仮説を立て大腸菌を用いて実験を行った。電気泳動を用いて Hsp の観測を試みたが十分な結果が得られなかった。次に Hsp によるストレス耐性に着目し、Hsp のはたらきを間接的に観測する実験を行った。その結果、Hsp の熱と紫外線への応答、さらに紫外線の波長による応答程度の違いが確認された。

はじめに

生物の体では様々な働きを持つタンパク質が重要な役割を果たしている。しかし、細胞がストレスを受けタンパク質の変性・凝縮等が起こると、体に悪影響を及ぼす。その際増産されるのが Hsp であり、Hsp によって細胞の恒常性は保たれている。Hsp はその名のとおり熱によって増産されるタンパク質として発見された。一方で熱以外のストレスを受けた際にも増産されることが先行研究によって確認されている。

先行研究

Hsp は熱ショック応答によって増産することが確認されている。またシアノバクテリア・哺乳類細胞について熱・紫外線を付与すると Hsp70 (分子量 70000 程度の Hsp) の誘導や活性化の強化についての相関がある。加えて、大腸菌の groEL (バクテリアの Hsp) 及び紫外線抵抗の向上に繋がる Dnak(大腸菌の Hsp70) 遺伝子も紫外線照射によって誘導される。紫外線の照射後の分裂周期と存在時間に関して記載があるため、我々の研究ではそれらを目安として実験時間を調整した。

研究目的

光ストレス(とりわけ紫外線)に関しては不明点が多い。要因であるタンパク質の凝集に着目し、我々は Dnak を目的タンパク質として、実験 1 では電気泳動による計量、実験 2 では大腸菌のストレス応答を調べた。

実験 1

(1) 実験目的

実験 1 では分光光度計を用いて大腸菌に紫外線を当て、その波長の違いによってどの程度 Hsp の増産量の

差が生まれるのかについて調べることを目標として見据えている。そのためにまず、大腸菌の Hsp70 が分光光度計の紫外線に応答していることを確認する。我々はタンパク質の電気泳動である SDS-PAGE という手法を用いて実験を行った。

(2) 電気泳動とは

電気泳動とは、電荷を持った物質を電場のもとの移動させる現象のことである。物質の大きさによって移動速度が異なるため、試料中の物質の大きさの分布がわかる。

(3) 実験方法

1 日目：大腸菌にストレスを与える・凍結破砕

1、大腸菌を液体培地で培養(振とう機で 37℃)

2、大腸菌に異なる条件のストレスを与える

*各サンプルの大腸菌濃度は揃える

3、ストレスを与えた大腸菌を破砕

① 5 分間液体窒素で冷却

② 凍結した大腸菌をすり潰す

③ すり潰した大腸菌を密封容器に入れ冷凍保存

*1、2 時点の液体培地の一部を固体培地に移し、大腸菌の濃度を測定しておく

2 日目：電気泳動

1、大腸菌のタンパク質濃度を調整

2、調整液を調製

3、電気泳動

4、染色

5、バンドの観察

(4) 結果 (①~④は実験 1 を 4 回行ったことを示す)

① 紫外線を与えたものと、ストレスを与えなかったもの間で相違は見られなかった。

- ② 実験失敗（ゲルの不調）
- ③ 実験失敗（ゲルの不調）
- ④ 熱、紫外線を与えたものとストレスを与えていないもの間で相違は見られなかった

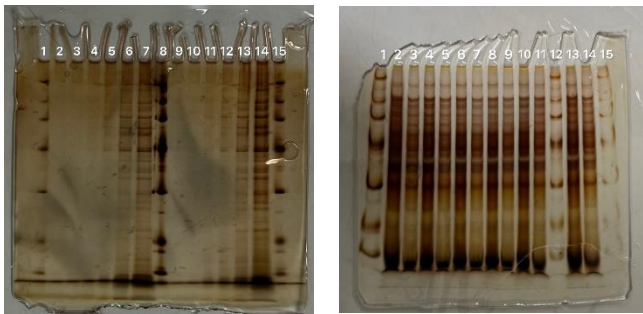


写真1:実験1①で使用したゲル 写真2:実験1④で使用したゲル

(5) 考察

①から Hsp が十分に増産されていないと考え、要因として分光光度計のストレスの強度不足や Hsp が転写・翻訳される前に電気泳動を行なった可能性を考慮し、②以降の実験を行なった。しかし Hsp が観察されなかったことから、Hsp は十分に増産されていたが目視で確認できなかったと考えた。

(6) 展望

我々は電気泳動では Hsp の違いを目視で確認することはできないと結論づけ、ウェスタンブロット法は設備的・金銭的に難しいため、他の実験方法を考えることにした。

実験 2

(1)実験目的

実験 1 の失敗を受けて、細胞に含まれる Hsp を間接的に確認することを目指した。Hsp には、熱・紫外線等のストレスを受けた後しばらくは細胞に存在し、その間に細胞はそれらストレスへの耐性を獲得するという特徴がある。この特徴を用いて、Hsp の存在とそれによる効果を大腸菌の生存率を観察することで間接的に計測する実験を行った。

1 度熱・紫外線を受けた大腸菌は Hsp のはたらきによりストレス耐性がつくので、2 度目のストレスを受けた際、1 度もストレスを受けていない大腸菌に比べて Hsp の増加率が高くなることが予想される。

(2)実験方法

実験準備として、37 °C のインキュベーターを用いて液体培地内で大腸菌を培養する。

操作 1、大腸菌を含んだ液体培地を各 1 mL とりマイクロチューブまたは分光光度計用のセルに入

れる

操作 2、作成したサンプルにストレス(熱・紫外線等)を 20 分間与える

操作 3、20 分間 37 °C の環境に静置する

操作 4、それら全てに 20 分間熱を与える

* 操作 1~4 時点の液体培地の一部を固体培地に移し、大腸菌数を測定しておく

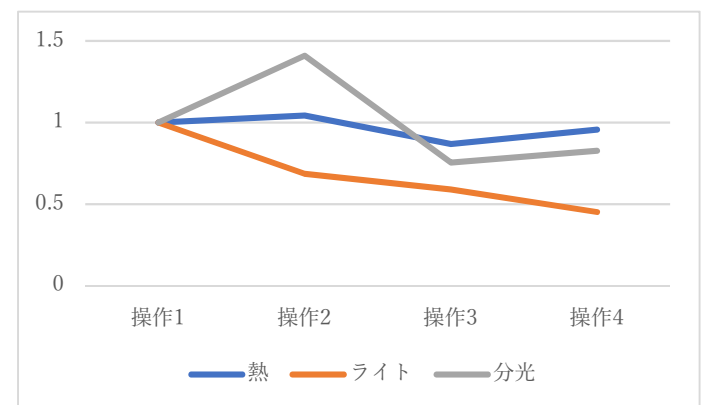
(3)実験 2 -1

(ア)与えたストレス一覧

サンプル名	操作 2	操作 4
なし	37 °C のインキュベーター内で静置	43 °C のインキュベーター内で静置
熱	43 °C のインキュベーター内で静置	同上
分光光度計	分光光度計で波長 254 nm の紫外線を照射	同上
ライト	ライトを用いて 365 nm, 550 nm, 435 nm などの波長が混在する紫外線を照射	同上

表 1: 実験 2-1 で使用したストレス

(イ)結果



グラフ 1: 「なし」での大腸菌数に対する各サンプルの大腸菌数の比率

(ウ)考察

サンプル「ライト」の増加率が「なし」を下回っているが、原因が不明である。固体培地に採取する際の

攪拌の程度が違ったことが原因であると考えられる。

(4)実験 2-2

(ア)与えたストレス

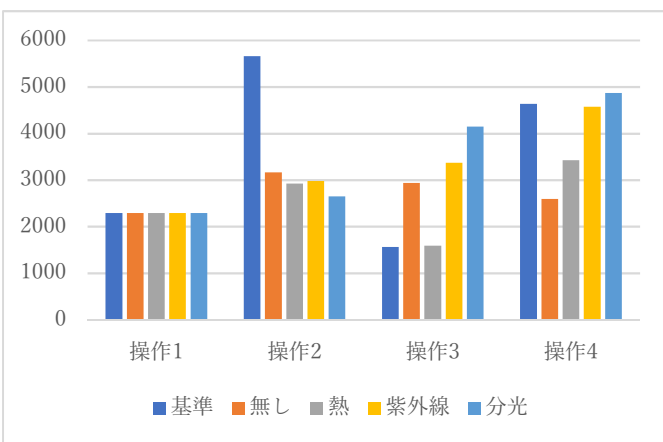
操作 4 で与える熱を 45 °C にあげた。どちらの操作でもストレスを与えないサンプル「基準」を作成した。

サンプル名	操作 2	操作 4
基準	37 °C のインキュベーター内で静置	37 °C のインキュベーター内で静置
なし	同上	45 °C のインキュベーター内で静置
熱	43 °C のインキュベーター内で静置	同上
分光光度計	波長 254 nm の紫外線を照射	同上
ライト	365 nm, 550 nm, 435 nm などの波長が混在する紫外線を照射	同上

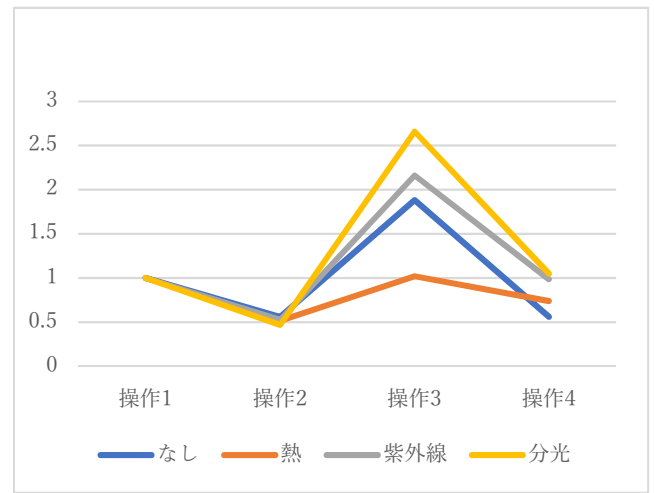
表 2 実験 2-2 で使用したストレス

(イ)結果

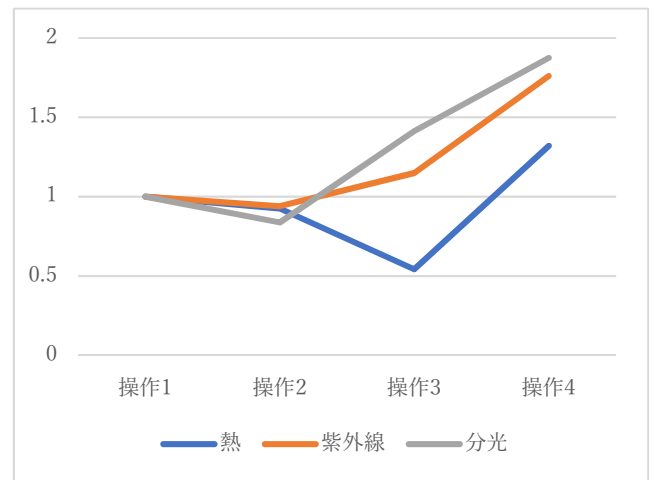
操作 3、4 の間でサンプル「なし」「分光光度計」では大きく減少している一方で「紫外線」の減少率はそれより小さく、「熱」の減少率はさらに緩やかである。操作 3、4 間でサンプル「なし」に比べ「熱」「紫外線」「分光光度計」の順に増加率が高い。



グラフ 2: 各サンプル 0.50 μl 当たり的大腸菌数



グラフ 3: 「基準」での大腸菌数に対する各サンプルの大腸菌数の比率



グラフ 4: 「なし」での大腸菌数に対する各サンプルの大腸菌数の比率

(ウ)考察

操作 4 で与える熱を 45 °C に引き上げたことで、操作 4 でのサンプル「なし」の減少率が大きくなり、操作 2 でのストレス応答の影響がはっきり現れたと考えられる。

以上の実験により、この実験手法で熱、そして紫外線照射によるストレスに Hsp が応答していることを確認できるとわかった。次に、操作 2 において異なる単一波長の紫外線を照射し、波長の違いによる Hsp のはたらきをみる。

(5)実験 2-3

(ア)与えたストレス

操作 3 で 20 分間攪拌を行った。異なった波長 1 つ 1 つに対して、操作 2 でストレスを与えないサンプルを作成した。

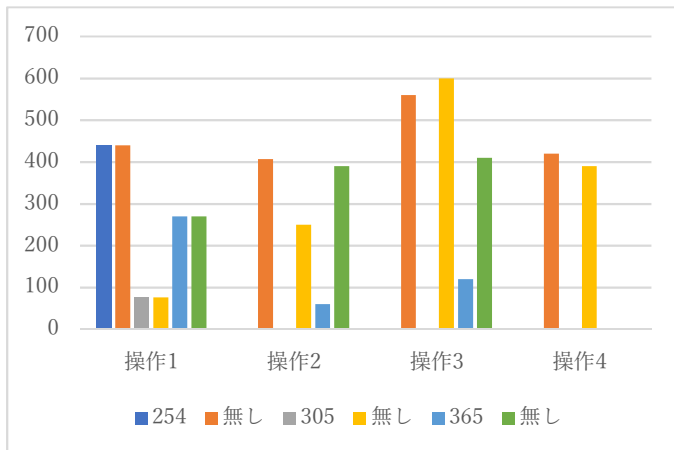
サンプル名	操作 2	操作 4

なし	37 °Cのインキュベーター内で静置	45 °Cのインキュベーター内で静置
254nm	イルミネーターで紫外線を照射	同上
302nm	イルミネーターで紫外線を照射	同上
365nm	イルミネーターで紫外線を照射	同上

表3 実験 2-3 で使用したストレス

(イ)結果

サンプル「254 nm」「302 nm」では操作 2 以降大腸菌が観察できなかった。「365 nm」は操作 4 で観察できなくなった。



グラフ5：各サンプル 0.50 μl 当たりの大腸菌数

(ウ)考察

サンプル「254 nm」と「302 nm」内の大腸菌は操作 2 の紫外線で死滅したと考えられる。また、「365 nm」は操作 4 の熱によって大腸菌が死滅したと考えられる。

考察

実験 2-1,2-2 において、操作 2 で熱を与えたサンプルと紫外線を与えたサンプルで、何も与えていないサンプルよりも操作 4 の後の増加率の増大もしくは減少率の緩和が観察できたことにより、この実験では Hsp のはたらきを間接的に確認できたと考えられる。また、実験 2-3 において 254 nm, 302 nm を照射した大腸菌が死滅したのに対して、365 nm のものは操作 4 まで死滅しなかったことから、302 nm から 365 nm の間に、大腸菌に対して強いストレスとしてはたらき、Hsp の生産量や活性を最も増加させる波長があると考えられる。今後は、実験 2-3 で 302 nm から 365 nm の間にあると考察された Hsp

の生産量や活性を増加させる波長を特定したい。操作 2 での死滅を防ぐために紫外線を照射する時間を 20 分より短くする、操作 4 で菌が死滅することがないように、温度を下げる等の方策をとり、再度実験を行う。また実験 1 を改良するなどして実験 2 で Hsp を最も多く増産することが確認された波長において Hsp が増産されていることを直接的に観察しようと考えている。課題としては照射する紫外線の光量を揃えることがあげられる。

謝辞

本実験を始めるにあたって、仲本準様には必要なアドバイスをご教授いただきました。また本校教諭である藤友和子先生には遅い時間まで我々の研究にご指導いただきましたこと、深く感謝申し上げます。サイエンスアドバイザーの皆様をはじめとして、たくさんの方々にご指導いただきました。ご協力いただいた皆様、本当にありがとうございました。

参考文献一覧

- 水島徹 講談社「Hsp と分子シャペロン」2012
- 仲本準 コロナ社「分子シャペロン-タンパク質に生涯寄り添い介助するタンパク質-」2019
- Kandace J.Williams, Bryan E.Landgraf, Narda L. Whiting, et al. "Correlation between the Induction of Heat Shock Protein 70 and Enhanced Viral Reactivation in Mammalian Cells Treated with Ultraviolet Light and Heat Shock" 1989
- 大西武雄 "環境ストレスによる遺伝子発現誘導" 1993
- 山本和生 "紫外線による DNA 損傷の光回復" 1985
- HELENE S.SMITH AND ARTHUR B.PARDEE "Accumulation of a Protein Required for Division During the Cell Cycle of Escherichia coli" 1970
- Jeevan Jyot. Amit Ghosh "Induction of heat shock response in Vibrio cholera" 1995
- Ferruccio Ritossa "Discovery of the heat shock response" 1996
- JUDYHEILIGKRUEGERAND GRAHAMC.WALKER "groEL and dnaK genes of Escherichia coliare induced by UV irradiation and nalidixic acid in an htpR+-dependent fashion" 1984
- 小椋光 "大腸菌の熱ショック応答-分子シャペロン DnaK と FtsH プロテアーゼによる制御" 1999
- 大塚健三 林康司 山根光雄 服部浩朋 "温熱耐性の生物学的および生化学的基礎" 1992
- 加藤 晴香 伊藤 浩人 寺下 岳利 由井 嵩朗 "高等学校の実験環境における大腸菌由来ヒートショックプロテイン(HSP)の検出" 2017