

第5号

纖維研究所研究報告

2001

財団法人衣笠会発行
THE KINUGASA-KAI FOUNDATION

Published
by
KINUGASA TEXTILE RESEARCH INSTITUTE
KYOTO, JAPAN

目次

人工飼料育蚕絹の衛生機能特性 第1報 試料の特性	/1
川口浩, 西村太良, 弓削 治	
絹／綿二層交織布の力学特性、風合いおよび洗濯耐久性に関する研究	/4
米田 守宏, 山崎 隆	
カイコ消化液の二本鎖 RNA 分解酵素の特性	/12
古澤寿治, 杉村順夫, 古野哲生, 東郷雅子, 石原良二 時実 睦, 有松祐治, 小谷英治, 林 幸之	
バキュロウイルスを用いたニューカスル病ウイルス (NDV) の 防御抗原タンパクの作製	/25
森 肇, 深野木信一, 古沢寿治, 松本公平, 林 幸之	
【講座】抗菌防臭加工・制菌加工	/36
弓削 治, 岡本 次郎	
平成 13 年度活動報告	/43

人工飼料育蚕絹の衛生機能特性 第1報 試料の特性

川口 浩*, 西村太良**, 弓削 治***,

Hygienic Properties of Silk reared with Artificial Part 1 Characteristics of Specimen

KAWAGUCHI Hiroshi*, NISHIMURA Taro** and YUGE Osamu***,

*Seian College of Art and Design, 1 Choshi Nagaokakyo, 617-0844, Japan

**Faculty of Textile Science, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki Sakyo-ku Kyoto, 606-8585, Japan

***Kinugasa Textile Research Institute, The Kinugasa-kai Foundation, 29 Kitano Shimo-Hakubai-cho
Kita-ku, Kyoto, 603-8326, Japan

1. はじめに

従来、蚕児は桑葉を飼料として生育するが、三十数年にも及ぶ研究成果が実り、昨今では桑葉に代わる人工飼料の開発とこれによる養蚕技術の応用が蚕絹生産の革新化として注目されている。周知のように、蚕児は桑葉中のたん白を蚕体中で絹たん白に生合成するが、そのアミノ酸組成とこれが起因となる絹の性状は、生物生産による潜在的な不均整性によって特徴づけられ、流動的なことが知られている。しかし、人工飼料育による蚕絹は、周年生産が可能であるとともに、素材組成および性状の均一化も期待され、このことはたん白素材の適用範囲を広げる研究材料として好ましいと推考される。

既に、人工飼料育蚕絹に係る組成および性状の特性については数件の報告^{1),2)}がある。しかし、蚕絹が人体の皮膚とほぼ同質のたん白組成から成ることから、人体の皮膚とのメディカルな衛生材料としての適用性が考えられる。なお、人工飼料育においては、無菌環境中での飼育であるため、人体に装着する材料としてはとりわけクリーンであることが多大なメリットであろう。

本研究は、人工飼料育蚕絹と従来の桑葉育蚕絹の衛生的な機能特性について対比検討し、実用化に向けた基礎資料を得ることを目的とした。

2. 試料および実験方法

2.1 人工飼料育蚕絹と桑葉育蚕絹

2種類の原料生糸である人工飼料育蚕絹および桑葉育蚕絹は、それぞれ無菌飼育法と通常飼育法によって得た蚕繭を同一繰製方法によって求めた生糸である。また、同一諸元による織物設計によって製織し、同一処方による精練によって求めた「錦紗ちりめん」様の後練絹織物を実験に供した。なお、これらは京都府織物指導所の協力によって提供されたものであり、原料糸および製織条件の諸元は表1に示す。

2.2 衛生的基本物性試験

(1) 厚さ

厚さ測定器を用い、加圧量 240gf/cm²のもとで厚さ (mm) を求めた。

(2) 重さ

試料を濃硫酸処理法によるデシケータ中で正量に調整し、重さ (gf/m²) を求めた。

(3) 空隙率

絹糸密度 1.33g/cm³として、重さとの関係から空隙率 (%) を算出した。

(4) 保温性

KES サーボラボ 2型保温性試験機 (精密迅速熱物性測定装置) を用い、熱源板温度 30℃、環境温度 20℃、風速 12cm/s の条件下で保温率 (%) を求めた。

(5) 通気性

通気性は JIS L1096. 6. 27. 1A 法により、フラジール型通気度試験機を用いて通気度

($\text{cm}^3/\text{cm}^2/\text{s}$) を求めた。

(6) 透湿性

透湿性は JIS I.099A 法塩化カルシウム法 (A-1 法) により、 40°C 、90%R.H. の環境条件で1時間後と2時間後の変化量から透湿度 ($\text{gf}/\text{cm}^2/\text{hr}$) を算出した。

(7) 吸水性

ラローズ法吸水測定装置を用い、試料の直径6cm、測定環境 20°C 、65%R.H. のもとで吸水率 (%) を求めた。

(8) 基本的風合い値および総合風合い値 (H·V, T·H·V)

KES-FB システムを用い、基本的力学特性値ま

たはそれに関連する物理的特性値より、婦人用外衣薄地の基本的風合い値 (KOSHI, HARI, SHINAYAKASA, FUKURAMI, SHARI, KISHIMI) を KN-201-LDY 式により求めた。また、婦人用外衣薄地の基本的風合い値 (KOSHI, NUMERI, FUKURAMI) を KN-203-LDY (SUMMER) 式によって算出し、基本的風合い値を求めた。さらに基本的風合い値から KN-302-SUMMER 式を用いて総合風合い値 (T·H·V) を算出した。

上記の基本的風合い値、総合風合い値の数量化については、京都府織物指導所の研究報告²⁾ を引用した。

表1 試料の原料糸および製織条件の諸元

		人工飼料育蚕絹	桑葉育蚕絹
飼育蚕品種		錦秋×鐘和	
養蚕条件		全令人工飼料育	稚蚕期(1~3令)人工飼料育 壮蚕期(4~5令)桑葉育
供試人工飼料		KIT32 (日光商事) (オカラ含有)	シルクメイト (日本農産工業)
繭糸織度 (単繊維の織度)		1.91~2.86d(0.95~1.43d)	2.26~2.81d(1.13~1.41d)
フィラメント (単繊維) 数		18~26 本	18~24 本
繰製時粒付数		9~13 粒	9~12 粒
繰製生糸織度		28 中	
織糸織度	たて糸	生糸 28 中×3 本	
	よこ糸	生糸 28 中×6 本	
織糸 (よこ糸) の捻, 配列		S·Z2300T/m, 2 越	
織密度	たて糸	60.8 本/cm	
	よこ糸	28.7 本/cm	
織組織		平織	
練減率		24.68%	26.64%
公称織物名		錦紗様ちりめん	

3 実験結果および考察

衛生的基本物性

表2に衛生的基本物性の結果を示す。周知のように、絹は、繊維が繊細で適度の比重を示し、強度が大きくて伸度もあり、かつ曲げ抵抗が大きいため、衣料用をはじめとして各種の用途に応じて広く用いられ、概して好ましい素材である。従来、医療用布帛には綿素材が多用されているが、絹の機能特性は保健衛生的には綿素材と匹敵して高く評価できると推考される。

表2 衛生的基本物性

	人工飼料育蚕絹	桑葉育蚕絹
厚さ (mm)	0.34	0.31
重さ (gf/m^2)	112	116
空隙率 (%)	70.4	69.7
保温性 (%)	4.2	2.5
通気性 ($\text{cm}^3/\text{cm}^2/\text{s}$)	68.1	64.4
透湿性 ($\text{gf}/\text{cm}^2/\text{hr}$)	0.41	0.55
吸水性 (%)	110	138

傷口の当て布や包帯など、これらを直接皮膚に装着する場合、肌触りの良否や保健上の衛生材料としての適否は、素材のもつ機能特性と関係が深い。それは、人体（皮膚）—布帛—環境の各系が相互に関連をもって成り立っている。その主要因は、発汗、不感蒸泄がおよぼす湿潤感、温冷感に起因する水分・熱のトランスポート特性が支配している。そして、包帯の場合では、皮膚との伸びによる締め付けによる圧迫感や、皮膚と布帛との風合い上の表面接触感と接触による温冷感などが考えられる。つまり、医療用布帛の適性は、衣服の着装による快適性の如何と整合性があると見なすことができる。

絹素材の衛生的基本物性については、人工飼料育蚕絹の布帛は桑葉育蚕絹のそれに比べて、単位面積当たりの重さが小さくかつ厚さは僅差ではあるが肉厚の傾向がある。これは、空隙率がやや多いためにパルキ一性に富み、そのために含気量が多いことが誘因となって保温性に優れている。この傾向は、衛生機能としての適用性は直接的関係が少ないが、生糸の構成繊維の細繊維化が起因して、糸間の空隙が大きくかつ織物中の空隙が大きい組織となり、官能的に柔軟でふくよかな肌触りが求められる。触感による官能的風合い評価でも、SHINAYAKASAに優れ、NUMERI、FUKURAMIがあつて、総合風合い値でも有意差が認められて好ましい風合いが求められる。

衣服における快適環境は、31～33℃、40～60%RHの範囲といわれている³⁾。通気性の大きいことは空気の移動の大きいことを意味するが、布帛表面の湿度が高くて裏面の湿度が低い

場合はこの湿度の拡散能力が大きいことを意味している。湿度の透湿性は、湿度勾配と直角方向のみではなくて、織物の全面でこれが支配される。絹素材は親水性が潜在し、かつ、吸湿・放湿の速度が抜群に優れていることから、総合的に全面拡散が進む結果が求められ、したがっていわゆる「蒸れ感」が少ないことがうかがえる。つまり、絹素材の親水特性が着装による不快感からの開放を助長する優位性があるといえる。実験結果からは、人工飼料育蚕絹の布帛と桑葉育蚕絹のそれとの間で僅差が認められたが、両者間の対比関係は明らかな傾向は認められない。しかし、絹素材の親水性が通気性、透湿性、吸水性の相互関係を通して密接であり、これは医療用として保健・衛生的に優位であることを検証した。

なお、人体は皮膚から絶えず汗、皮脂などを分泌するが、着装した布帛がこれらを吸着して皮膚を清潔に保つことは欠かせない。絹素材は吸湿・吸水性に富む親水特性があり、しかも油成分の吸着性が優れていることから、衛生機能特性として有益である。

参考文献

- 1) 浜村ほか：研究報告，No. 28，p. 38，京都府織物指導所（1994）
- 2) 浜村ほか：研究報告，No. 29，p. 28，京都府織物指導所（1995）
- 3) 原田ほか：繊維機械学会誌，Vol. 35，p350，（1982）

絹/綿二層交織布の力学特性、風合いおよび洗濯耐久性に関する研究

米田 守宏*, 前芝 三恵子*, 山崎 隆**

1. 緒言

絹はそのすぐれた感触、光沢の美しさ、すぐれた生体適合性など、衣料用繊維としての数多くのすぐれた特性をもっており、高い付加価値を付与できる繊維素材である。また、絹は天然由来のタンパク質からなる繊維であり、本質的に環境に対する負荷が小さく、環境にやさしい素材であるため、エコロジ的な観点からも注目されている。しかし、近年、とくに日本において絹の生産量は減少する傾向にあり[1]、このような減少傾向に歯止めをかけようとする取り組みがアパレル、テキスタイル業界の各方面において行われている。筆者らも、絹の新しい用途を開発することにより、絹の生産量増大に対する刺激を得ようとする目的で絹および絹関連加工製品に関する研究を行ってきたが、ここで紹介する絹/綿二層交織布も、そのような試みのひとつである[2]。

絹/綿二層交織布(S/C布)は朱子織りと交織を併用することにより、表が絹ほぼ100%、裏が綿ほぼ100%の二層一体化構造をもたせた布である。本研究では、S/C布の用途開発のための基礎資料を得る目的で、はじめにS/C布の構造、基本力学特性および風合いについて、絹100%の綾織り布と比較検討した。つぎに、S/C布が日常的な用途に使用可能かどうかを調べるため、繰り返し洗濯による基本力学特性、風合いの変化および寸法安定性について、絹、綿、ポリエステルからなる平織り布と比較検討した[4,5]。

2. 絹/綿二層交織布の構造、基本力学特性および風合い

2.1. 方法および試料

絹/綿二層交織布(S/C布)の構造を調

べるため、布の表面、裏面および断面を、実体顕微鏡を用いて写真撮影した。布の基本力学特性を KES・FB システムを用いて測定した。測定項目は、引張り、剪断、曲げ、圧縮および表面特性(表面粗さ、摩擦)である。基本風合い値の算出は、S/C布の厚さおよび想定される用途を考慮に入れて、婦人薄手ドレス地用の KN-201LDY 式を用いて行った[3]。比較対照用の試料として、布構造が比較的近似した絹の綾織り布1種(SA布)を用いて同様の測定を行った。表1にS/C布とSA布の布構造および糸構造の詳細を示す。S/C布とSA布は糸の太さおよび織り密度において近似している。

2.2. 絹/綿二層交織布の布構造

図1に、S/C布の組織図、組み合わせ図、断面図(経糸方向および緯糸方向)を示す。図の白い部分が絹糸、黒い部分が綿糸を示している。S/C布の特徴は、組織としては朱子織りを採用し、絹糸と綿糸を交織することにより、二層一体化構造をもたせたことである。S/C布の組織は2飛5枚朱子であり、組織図のみを見れば、理論的には表が絹80%、裏が綿80%となるが、製織工程において緯糸方向に「幅寄せ」が行われていることにより、実際には表面に出る絹糸の割合が多くなっている。

図2にS/C布の顕微鏡写真を示す。左が表、右が裏の表面写真で、中はそれぞれを拡大したものである。写真より、表はほとんど絹100%であり、裏はところどころ交錯点で絹が出ているため、綿の割合は90%ぐらいになっている。これらは、前述した「幅寄せ」による効果であると考えられる。一番下にそれぞれの断面写真を示す。左が経糸方向に切断したもの、右が緯糸方向に切断したものである。経糸方向の断面写真では、表面側において絹糸が長い距離にわたって浮いていることがわかる。

連絡先:* 奈良女子大学生生活環境学部, 〒630-8506 奈良市北魚屋西町, E-mail: yoneda@cc.nara-wu.ac.jp,

**財団法人衣笠会繊維研究所, 603-8326 京都市北区北野下白梅町 29, E-mail:zai-kinugasakai@nifty.com, Tel:075-461-5949, Fax: 075-463-6679

2.3. 絹／綿二層交織布の基本力学特性および風合い

表2に、KES-FBシステムを用いて測定したS/C布とSA布の基本力学特性(表面関連特性は除く)を示す。S/C布の引っ張り特性は、SA布と比べると伸びやすく(EMTが大きい)、ヒステリシスが增加する(RTが小さい)傾向にある。これは、いずれも綿という紡績糸が入ったことによる影響であると考えられる。とくにヒステリシスの増加は、綿が短繊維であることから、糸内に多数の糸端が存在することにより、単位体積あたりの繊維-繊維間の接触点数(接触点密度)が多くなり、結果として繊維-繊維間摩擦の成分が増加したことによるものと推測される。

剪断特性については、S/C布はSA布に比べると、剪断剛性Gは小さくなり、剪断ヒステリシス2HG,2HG5も減少している。これは、組織が朱子織りであることによる効果であると考えられる。すなわち、朱子織りは平織り布および綾織り布と比較すると、単位面積あたりの経糸-緯糸の交錯点が少なく、力学的な拘束が全体として小さいことから、交錯点において交差角が変化がしやすく、かつ糸-糸間摩擦も小さくなるためであると推測される。

曲げ特性については、S/C布とSA布ではほとんど変化がない。また、圧縮特性(WC)については、いずれの試料布も厚さが薄いことから絶対値が小さくなっている。したがって、これら特性の全体的な性能への寄与は小さいと考えられるため、とくに言及しない。

表3に、S/C布とSA布の表面特性の測定結果を示す。絹が表側の場合をS/C、綿が表側の場合をC/Sと表記する。表に示された結果より、表面特性においては布表裏の違い、および、表面、裏面それぞれにおける経糸方向および緯糸方向の異方性が顕著に現れていることがわかる。とくに、MIU,MMD,SMDとも、S/Cの場合は緯糸方向に、C/Sの場合は経糸方向に、SA布と比較した場合における大きな変化が現れている。図3に、経糸方向の摩擦および表面粗さの測定結果を示す。グラフの形状およびその特性値(MIU,MMD,SMD)の大きさから、S/C布表面は、SA布(絹100%)とほぼ同じ特性を持っていることがわかる。

以上の力学特性をもとに風合い値を計算した結果を、表4および図4に示す。計算に用いた式は婦人薄手ドレス地用KN-201-LDY式で

ある[3]。S/C布は表面が絹の場合と綿の場合で表面特性が異なるため、風合い値もそれぞれの場合に分けて計算している。S/C布の場合、SAと比べてSHARIだけは大きく増加しているが、これは紡績糸が入ったためであると考えられる。KOSHI, HARI, FUKURAMI, KISHIMIは、綿糸が入ったことによる大きな変化は見られず、絹100%であるSA布とほぼ同等の値である。SHINAYAKASAは、いずれの試料布とも同程度の小さな値をもつこと、すなわち、「しなやかさ」に欠けていることがわかる。以上より、S/C布とくにその表面関連特性および風合いは、絹100%の布とほぼ同等の値をもっていることが結論できる。

3. 繰り返し洗濯による絹／綿二層交織布の力学特性および風合いの変化

3.1 方法および試料

表5に測定に用いた試料の詳細を示す。洗濯耐久性の実験においては、S/C布に対する比較対照用の試料として、絹、綿、ポリエステル平織り布を用いた。

繰り返し洗濯は以下のような条件で行った。家庭での日常的な洗濯をシミュレートするため、洗剤は市販の酵素入り洗剤を用いた。水温は、とくにお湯を使わない室温状態での水温(15-17℃)、洗濯時間は7分で行った。使用した洗濯機は二層式洗濯機、洗剤濃度は1g/l、浴比は1:100、すすぎはオーバーフロー方式、干し方は陰干し、アイロンは適温で当て布をして行った。この洗濯方法で、20回の洗濯を行い、各試料布の性質・性能の変化を調べた。

測定項目は、基本力学特性・基本風合い・通気抵抗・収縮率・表面写真観察である。力学特性の測定はKES-FBシステムを使用し、基本風合い値の算出は婦人薄手ドレス地用のKN-201-LDY式を用いた。通気抵抗はKES-F-8AP通気度試験機を用いて測定した。収縮率の評価は、JIS-L-1042に準じて行った。実体顕微鏡を用いて、布表面の写真撮影を行った。

測定の手順として、力学特性・基本風合いの測定は、洗濯前および1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20回の洗濯後に行った。通気抵抗・収縮率は毎回、表面写真観察は、洗濯前および3, 5, 10, 15, 20回の洗濯後に行った。

3.2 洗濯前後における力学特性および風合いの変化

図5は、洗濯前後の力学特性の変化と基本風合いの変化を、婦人薄手ドレス地のチャート紙にプロットしたものである。左側がS/C布、右側が絹布で、○が洗濯前、△が20回洗濯後を表す。S/C布は、洗濯前後で力学特性の圧縮、表面特性に少し変化が見られること以外には変化が少なく、風合いの面からみても、性能が安定していることがわかる。これに対して絹布は、力学特性のうち、とくに曲げ、剪断特性が大きく増加しており、洗濯によって布の「かたさ」が増加する方向に変化しているといえる。結果として、関連する風合い値においても大きな変化が見られる。すなわち、KOSHI, IIARIは大きくなり、SHARI, FUKURAMI, SHINAYAKASA, KISHIMIは小さくなっている。

風合いの時間変化について、より詳しく見るために、横軸に洗濯回数を取り、風合いの変化を比較したものを図6に示す。上がS/C布、下が絹布である。図より、S/C布は洗濯による風合いの変化が少ない。これに対して、絹布は初期段階において風合いが大きく変化しており、回数が増えるほど変化はゆるやかになっている。これより、本来持っていた絹特有の風合いが損なわれていることがわかる。とくに、SHINAYAKASAの減少、HARIの増加が顕著である。以上より、S/C布は絹布に比べて、繰り返し洗濯による風合いの変化が少なく、性能安定性がよいことがわかる。

図7に、比較のために測定した綿、ポリエステル布の洗濯回数対風合いの関係を示す。上が絹布、下がポリエステル布である。木綿布は洗濯による変化が小さく、最初の風合いが保たれていることがわかる。前述したS/C布の風合いの低下が小さいことは、木綿成分の寄与によるものと考えられる。また、ポリエステル布についても、同様に洗濯による風合いの変化はあまり見られず、初期性能が安定していることがわかる。

3.3 収縮率および通気抵抗の変化

実用的には、布の寸法安定性が重要な性質であるため、収縮率についても検討した。評点間の長さは15cmで行った。結果を図8に示す。上がS/C布と絹布、下が木綿布、ポリエステル布の結果である。縦軸は収縮率、横軸は洗濯

回数を示し、各布の経糸方向を1、緯糸方向を2で表している。

まず、S/C布の収縮率に注目してみると、経糸方向は3回目までに収縮していることをのぞいて安定しており、緯糸方向もほぼ安定していることがわかる。これに対して絹布は、洗濯回数が増すごとに大きく伸縮し、とくに経糸方向の伸びが大きいことがわかる。下の木綿布、ポリエステル布の結果は、それぞれ寸法安定性がよいことを表している。以上より、S/C布は、洗濯による寸法変化はあまり見られず、木綿布、ポリエステル布のように寸法安定性がよいことがわかる。

図9に通気抵抗対洗濯回数の結果(全試料)を示す。絹布の通気抵抗は、洗濯回数による変化が激しいが、洗濯回数が10回以上になると通気抵抗が大きくなる方向に変化している。これは、洗濯により絹布の繊維集合構造が密になる方向に変化していることを示す。この事実は、3.2で述べたように、絹布が洗濯により「かたく」なる方向に変化していることを説明している。S/C布を含めて他の試料布の通気抵抗は、洗濯回数に対してほとんど変化していない。これは、その他の試料布の繊維集合構造が洗濯に対して安定であることを示している。以上より、通気抵抗の測定結果から、S/C布は、構造安定性において不利な朱子織りであるにもかかわらず、平織りである絹布に比べて、洗濯による繊維集合構造の変化が小さいことが確認できた。このことは、前述したような、S/C布が洗濯に対して風合い安定性がよいこと、および、寸法安定性がよいことを説明している。さらに、このような効果は木綿の形態安定性によるものと考えられる。

4. 結論

絹/綿二層交織布(S/C布)の力学特性、風合い、および、洗濯耐久性について検討した結果、以下のような結果が得られた。

- 1) S/C布は、絹の風合いのよさと綿の形態安定性を備えている。
- 2) S/C布は、繰り返し洗濯による風合いの低下が少なく、寸法安定性がよい。

このように、朱子織り、および、絹/綿の交織という、従来から存在する既知の技術を利用することにより、洗濯耐久性に欠け、寸法安定性が悪いという絹布の欠点をおぎない、絹の風合いを備えつつ洗濯耐久性にもすぐれた布

を開発することができた。開発されたS/C布自体は、以上のような特性を生かすことにより、いままで絹が使用されなかったような日常的な用途(たとえば高付加価値を備えた介護用品への応用等)に応用が拡大することが期待される。また、朱子織りと交織技術の併用により二層一体化構造布を実現するという方法は、絹と綿以外の繊維素材の組み合わせにも応用が可能である。新しい繊維素材の組み合わせを見出すことにより、新規な高機能性織布の開発を可能とするための方法論が得られたということも、本開発研究における重要な成果であると考えられる。

文献

- [1] 山崎隆：「おりもの」, Vol.44, No.3, pp.2-11, 西陣織物研究会, 京都染色試験場(2000)
- [2] 米田, 山崎：絹／綿二層交織布の洗濯による力学特性および風合いの変化, 平成12年度日本繊維製品消費科学会年次大会(市川)(2000)
- [3] 川端季雄：風合い評価の標準化と解析(第2版), 風合い計量と規格化委員会, 日本繊維機械学会(1980)

表1 S/C布とSA布の糸および布の詳細

(a) S/C布とSA布の糸の詳細

試料	経糸		緯糸	
	素材	番手	素材	番手
S/C	生糸	28d/3本 (84d)	綿糸	80番双糸 (133d)
SA	生糸	80d	生糸	80d

(b) S/C布とSA布の布構造の詳細

試料	織密度 warp	(1/cm) weft	厚さ* (mm)	平面重量 (mg/cm ²)	組織
S/C	74	31	0.435	11.5	5枚朱子
SA	90	40	0.290	25.6	綾織1/2

*at pressure 0.5gf/cm²

表2 S/C布とSA布の基本力学特性

グループ	パラメータ	SA	S/C	単位
引張り	LT	0.739	0.607	
	WT	4.75	6.50	gf.cm/cm ²
	RT	72.1	43.8	%
	EMT	2.63	4.30	%
曲げ	B	0.055	0.057	gf.cm ² /cm
	2HB	0.041	0.039	gf.cm/cm
剪断	G	1.230	0.376	g.cm/deg
	2HG	1.05	0.77	g/cm
	2HG5	4.00	1.79	g/cm
圧縮	LC	0.292	0.215	
	WC	0.084	0.121	gf.cm/cm ²
	RC	71.0	62.8	%
厚さ	T	0.290	0.435	mm
重さ	W	25.6	11.5	mg/cm ²

表3 S/C布とSA布の表面特性

Sample		MIU	MMD	SMD
SA	warp	0.120	0.0053	0.89
	weft	0.132	0.0066	1.00
	mean	0.126	0.0060	0.95
S/C	warp	0.152	0.0062	1.02
	weft	0.226	0.0271	3.10
	mean	0.189	0.0167	2.06
C/S	warp	0.170	0.0301	3.44
	weft	0.159	0.0090	1.20
	mean	0.165	0.0196	2.32
unit		n.d.	n.d.	μm

表4 S/C布とSA布の基本風合い値

HV	SA	S/C	C/S
KOSHI	6.947	6.763	6.843
HARI	9.018	7.878	7.899
SHINAYAKASA	2.638	2.650	2.532
FUKURAMI	6.639	5.392	4.863
SHARI	0.965	4.783	5.221
KISHIMI	4.865	4.756	4.616

表5 洗濯耐久性の比較対照用試料の詳細
絹, 綿, ポリエステル平織り布

試料	番手 (tex)		織密度 (1/cm)		厚さ* (mm)	平面重量 (mg/cm ²)
	warp	weft	warp	weft		
Silk	8.5	8.5	50	41	0.34	7.94
Cotton	16	16	55	28	0.51	12.7
Polyester	5.5	8	32	29	0.09	5.21

*at pressure 0.5gf/cm²

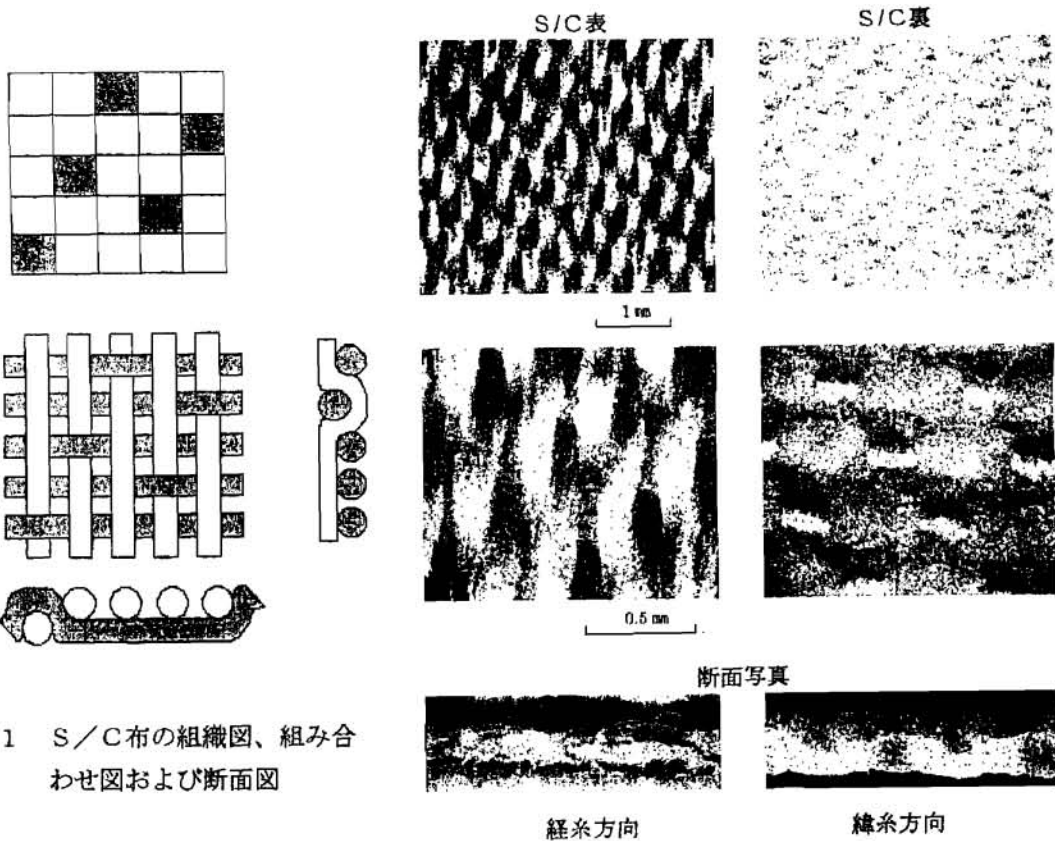


図1 S/C布の組織図、組み合わせ図および断面図



図2 S/C布の表面写真と断面写真

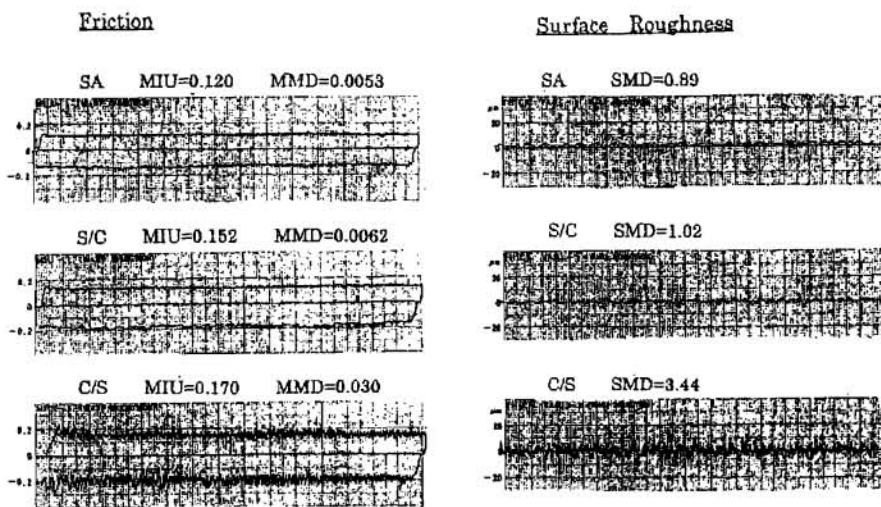


図3 S/C布とSA布の表面摩擦曲線、表面粗さ曲線

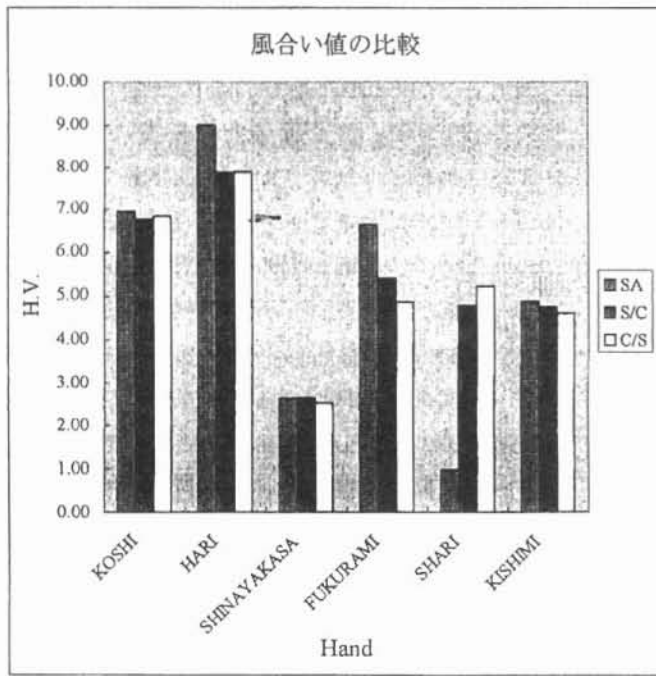


図4 S/C布とSA布の風合い値の比較

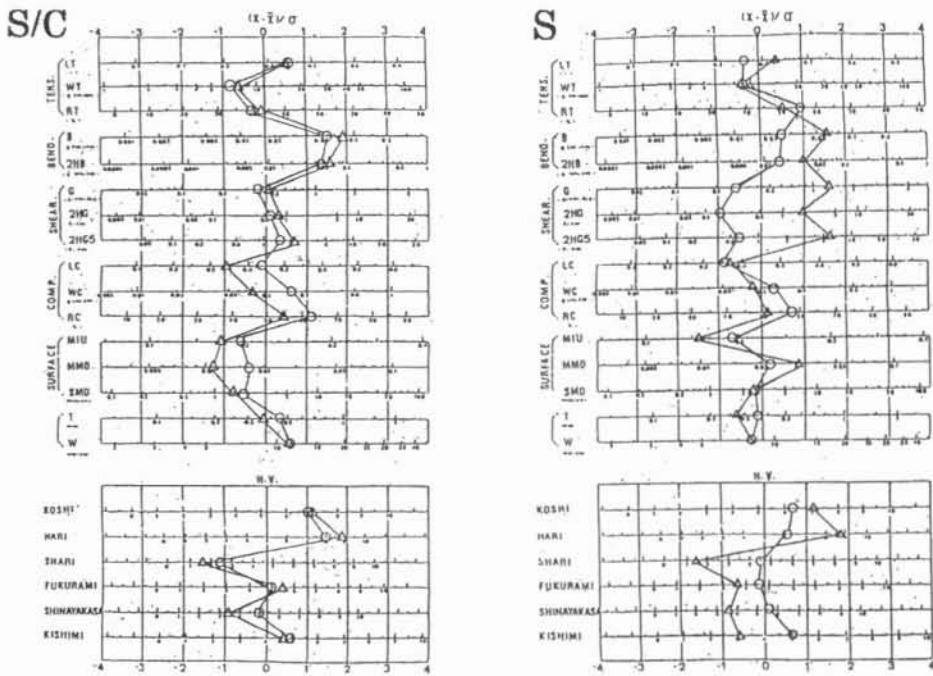


図5 洗濯前後の力学特性値と風合い値の比較

○—洗濯前
△—洗濯後(20回)

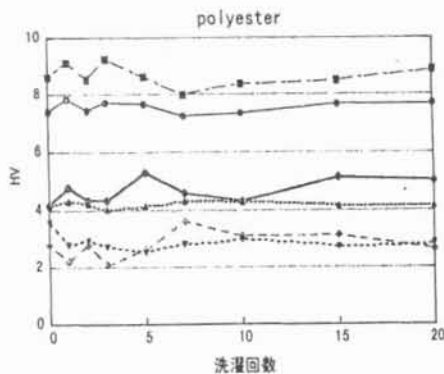
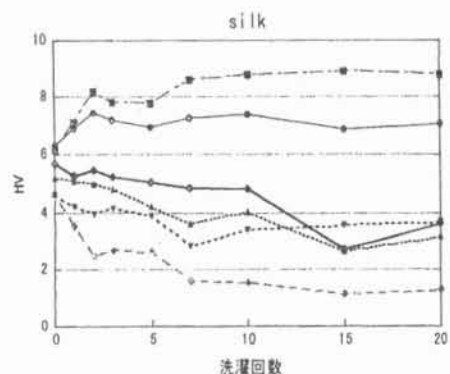
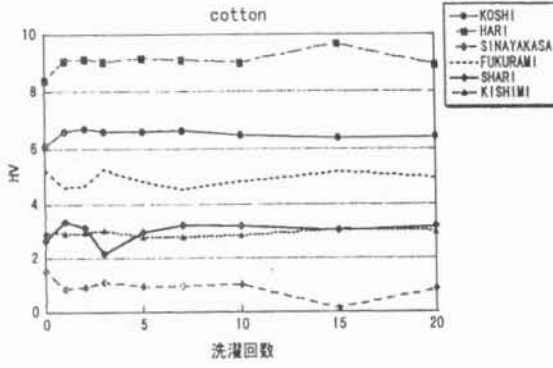
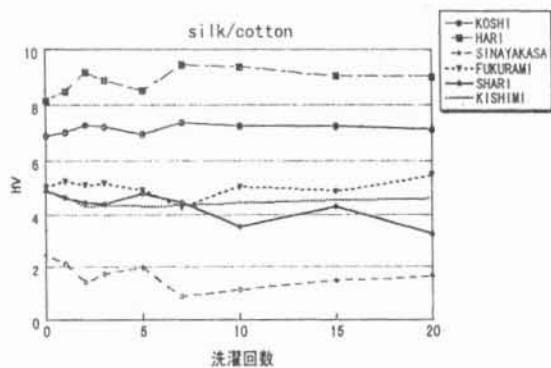


図6 風合い値対洗濯回数
(上: S/C, 下: Silk)

図7 風合い値対洗濯回数
(上: Cotton, 下: Polyester)

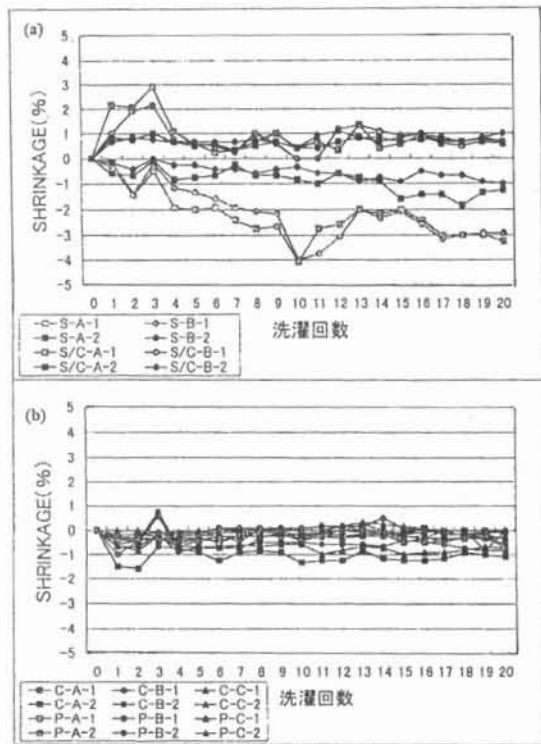


図8 収縮率対洗濯回数
(a) S/C, Silk (b) Cotton, Polyester

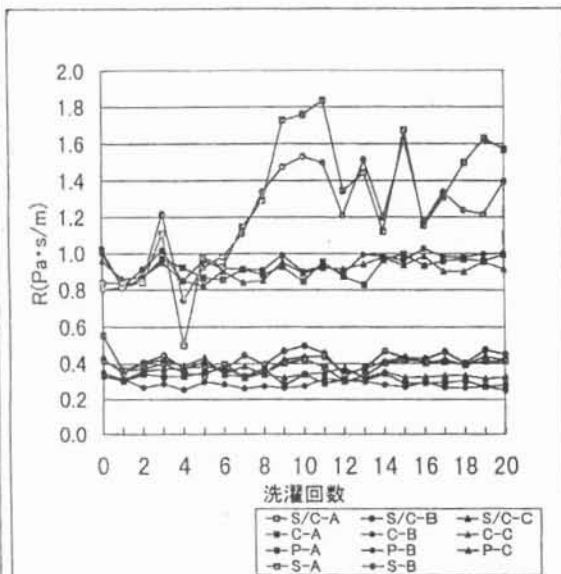


図9 通気抵抗対洗濯回数

カイコ消化液の二本鎖 RNA 分解酵素の特性

古澤寿治・杉村順夫・古野哲生・東郷雅子・石原良二・時実 睦・有松祐治・
小谷英治・林 幸之

Purification and Properties of double-stranded RNase of the Digestive Juice of the silkworm,
Bombyx mori.

By

Toshiharu FURUSAWA*, Yukio SUGIMURA*, Tetsuo FURUNO*, Masako TOGOH
, Ryoji ISHIHARA, Makoto TOKIZANE*, Yuji ARIMATSU*,
Eiji KOTANI* and Yoshiyuki HAYASHI**

*Faculty of Textile Science, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki Sakyo-ku, Kyoto,
606-8585, Japan

**Kinugasa Textile Research Institute, The Kinugasa-kai Foundation, 29 Kitano
Shimo-Hakubai-cho, Kita-ku, Kyoto 603-8326, Japan

A nuclease with specificity for double-stranded RNA (dsRNase) has been found in the midgut of the silkworm, *Bombyx mori*. The enzyme was purified from the digestive juice of the 5th-instar larvae using gel-filtration and affinity column chromatography. The molecular weight of the enzyme was estimated as 41kDa on the gel-filtration method and detected as a single band with the same molecular weight on SDS-PAGE analysis. It degraded a natural double-stranded RNA (dsRNA) such as cytoplasmic polyhedrosis virus (CPV) genome, and a synthetic dsRNAs of Poly(I)·Poly(C) and a synthetic single-stranded of Poly(I) and Poly(C). Besides these dsRNAs, it digested Poly(A·U), Poly(A), Poly(U), but showed weak degradation against Poly(A)·Poly(U), Poly(C)·Poly(G), Poly(G) and a natural RNA from calf thymus. The optimum pH range for the reactions is from more than 7. The purified enzyme showed no requirement of Mg²⁺ to degrade CPV-dsRNA, but an absolute requirement for divalent cations, including Mg²⁺ and Ca²⁺ to degrade a synthetic Poly(I) and Poly(C). This enzyme reaction was suppressed by Co²⁺, Zn²⁺ and Mn²⁺. These results suggest that *Bombyx* dsRNase cleave specifically a natural dsRNA of CPV.

昆虫のヌクレアーゼには、アルカリ性ヌクレアーゼ、酸性 RNase、酸性 Dnase などが存在する。これらの酵素は、昆虫の成長・発育、特に組織・器官の機能と核酸合成・分解

連絡先：京都工芸繊維大学繊維学部、606-8585 京都市左京区松ヶ崎、E-mail:toshif@ipc.kit.ac.jp, Tel:075-724-7768

財団法人衣笠会繊維研究所、603-8326 京都市北区北野下白梅町 29、E-mail:JDH@nifty.ne.jp, Tel:075-461-5949

との関連から研究されてきた。

カイコでは、酸性ヌクレアーゼが後部絹糸腺 (Koga *et al.*, 1967) や脂肪組織 (Koga and Akune, 1972) に存在し、幼虫各齢の脱皮時期に活性増加がみられ、蛹期の絹糸腺崩壊に関わるという。中腸組織の消化液や皮膜には、一本鎖 RNA と DNA の両者を分解する Mg^{2+} 依存性のアルカリ性ヌクレアーゼが存在し、中腸皮膜でのヌクレアーゼは消化液ヌクレアーゼのプロ酵素であると推察されている (Mukai, 1965、船隈ら、1977a)。さらに、蛹にも sugar-non-specific なヌクレアーゼが存在する (Himeno *et al.*, 1968)。さらに、幼虫の中腸組織に、細胞質多角体病ウイルスのゲノムである二本鎖 RNA や Poly (I)・Poly(C) を分解する二本鎖 RNA 分解酵素 (dsRNase) 活性が検出できる (Furusawa *et al.*, 1993)。

二本鎖 RNA 分解酵素 (RNase III) は、牛胸腺 (Ohtsuki *et al.*, 1977)、 *Escherichia coli* (Robertson, 1968; Young and Steitz, 1978; Gotoh *et al.*, 1974; Dunn and Studier, 1973)、ニワトリの胚 (Hall and Crouch, 1977) で見いだされており、リボゾーム RNA の前駆物質、45S RNA のプロセッシングに関与している。そして、この酵素は二本鎖 RNA 内の特定の部位を切断し、塩基対 A・U 5' 末端を産生する (Edy *et al.*, 1976)。

そこで、カイコの中腸組織での dsRNase の機能を明らかにするため、消化液から dsRNase を精製し、その酵素学的性質について検討した。

材料および方法

1. 幼虫の消化液と中腸皮膜の採取

桑葉育した交雑品種 (春嶺 x 鐘月) の 5 齢 4 日目の幼虫にスライダックを用いて約 70-80V の電気刺激を与え、吐液させた。採取した消化液を 3,000rpm、20 分間遠心することによって不要物を沈殿させ、さらに 10,000rpm、30 分間遠心し、上澄み液を回収した後、 $-80^{\circ}C$ に保存した。

2. 二本鎖 RNA 分解酵素の精製

1) 硫酸アンモニウムによる分画

消化液に等量の 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) で希釈した後、硫酸アンモニウムを加え、0~40%、40~80%、60~80% 硫酸分画を得た。硫酸分画の際、生じた沈殿を 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) に懸濁し、この懸濁液を透析することによって脱塩した。

2) イオン交換クロマトグラフィー

硫酸分画によって得た 0-40% 硫酸分画 (4.8mg/ml)、40-60% 硫酸分画 (1.8mg/ml) を、50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) で平衡化した CM-Sephadex ($\phi 2.5 \times 4$ cm) に各々 4.8ml 重層した。その後、40ml の緩衝液で素通り分画を溶出させ、0.1M、0.2M、0.3M、0.4M NaCl を含む 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) をそれぞれ 30ml ずつ段階的に流入し、溶出液を 3ml ずつ分取した。

3) 等電点ゲル電気泳動

CM-Sepharose による分画後、活性画分 0.3ml を 1.4% アクリルアミドゲル溶液 1.3ml と混合し、pH 8-10.5 の勾配を持つ 7% アクリルアミドゲルで泳動した。電極液には、陽極側に 0.2 M 酢酸、陰極側には 0.2 M エチレンジアミンを用い、冷蔵庫内で最初は 30 分毎に 200V まで上げた後、約 12 時間泳動させた。泳動後のゲルを 5mm 毎に切断し、300 μ l の 10 mM リン酸緩衝液(pH 7.0)で溶出し、活性検定用の酵素試料とした。

4) ゲルろ過クロマトグラフィー (Sephadex G-75, Superdex 75)

硫安分画によって得た 60%飽和硫安分画を Sephadex G-75, Superdex 75 (Pharmacia 製)に充填し、0.5 M NaCl, 0.1% CHAPS, 1 mM PMSF を含む 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) で溶出した。

4) アフィニティークロマトグラフィー (Poly(I)・Poly(C)-agarose)

ゲルろ過クロマトグラフィー (Superdex 75) の活性画分を回収し、1 mM PMSF を含む 50 mM リン酸緩衝液 (pH 6.2) 中で透析した。透析後の溶液を 80%(v/v)アセトンで濃縮した。吸着用の緩衝液として先と同じ緩衝液を用い、溶出用緩衝液には、1 mM PMSF, 0.1% CHAPS, 1 M KCl を含む 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.5) を用いた。

5) SDS-ポリアクリルアミドゲル (SDS-PAGE)

各カラムで得られた活性画分の蛋白質パターンをみるため、12.5% SDS-PAGE を用い、20mA で 3 時間泳動した。泳動終了後、CBB 染色あるいは銀染色法(2D-銀染色試薬・II「第1」、第1化学薬品社製)によって蛋白バンドを検出した。

分子量の決定には、フォスホリラーゼ b (分子量 97,400)、ウシ血清アルブミン(分子量 66,267)、アルドラーゼ(分子量 42,400)、カルボニックアンヒドラーゼ(分子量 30,000)、トリプシンインヒビター(分子量 20,100)、 α -リゾチーム(分子量 14,400)を用いた。

3. 核酸分解活性測定

1) 吸光度による方法

反応緩衝液には、0.1 M NaCl と 1 mM $MgCl_2$ を含む 0.1 M グリシン-KOH 緩衝液 (pH 10) を用い、基質である Poly(I)・Poly(C) (Sigma 製) または牛胸腺 DNA (Pharmacia 製) を 50 μ g/ml とするよう溶解した。そして、硫安分画、ゲルろ過クロマトグラフィー-やアフィニティークロマトグラフィー-からの活性分画溶液 5 μ l と反応緩衝液 495 μ l を混合し、37°C で 30 分間反応させた。反応液 500 μ l に対して等量の 12% 過塩素酸、20 mM 酢酸ランタンを加え、40 分間氷上で冷却した後、遠心 (15,000rpm, 20 分間, 4°C) し、上澄み液に含まれる酸可溶の核酸分解産物を波長 260nm で測定した。酵素活性は、酵素液 1 μ l を含む上記の反応液 1ml で 30 分間に $O.D._{260nm} = 1.0$ を与える吸光度を 1 酵素単位 (1 unit) とした。

2) アガロ-スゲル電気泳動による活性検出

8 mM $MgCl_2$ を含む 0.1 M グリシン緩衝液 (pH 10) に基質 Poly(I)・Poly(C) または牛 DNA、酵母一本鎖 RNA (Sigma 製) を 0.5 mg/ml になるよう溶解し、反応緩衝液として用

いた。この反応緩衝液 4 μ l と酵素液 6 μ l を、37 $^{\circ}$ C、3 時間反応させた。反応後、1/5 容の gel loading 溶液 (0.25% プロモフェノールブルー、40% 蔗糖、30% グリセロール、1 mM EDTA を含む 10 mM Tris-HCl 緩衝液) を混合し、1.5% アガロースゲル電気泳動によって基質の分解程度を泳動像から検出した。なお、泳動用緩衝液には TAE 緩衝液を用い、100V で約 20 分間、室温で泳動した。

4. 消化液プロテアーゼ活性測定

CM-Sepharose イオン交換クロマトグラフィー溶出画分、あるいは等電点ゲル電気泳動により分離された溶出液を酵素液とし、0.2% カゼインを含む反応緩衝液 (10 mM グリシン-KOH 緩衝液, pH 10, 1 mM $MgCl_2$, 0.1 M NaCl) 中で、37 $^{\circ}$ C、30 分間反応させた。反応を停止させるため、10% トリクロロ酢酸 500 μ l を加え、40 分間氷冷した。その後、遠心 (15,000rpm, 20 分間, 4 $^{\circ}$ C) し、波長 280nm で吸光度を測定した。

5. タンパク質濃度測定

標準タンパク質として牛血清アルブミンを用いて作成した検量線により試料中のタンパク質を Lowry ら (1951) の方法により定量した。

実験結果

1. 二本鎖 RNA 分解酵素の精製

5 令 4 日のカイコ消化液を硫酸分画し、0~40%、40~60%、60~80% 硫酸分画による沈殿を得た。そして各分画における dsRNase 活性、DNase 活性及び ssRNase 活性を検討したところ、dsRNase 活性は 0~40% および 40~60% 硫酸分画で検出された。

次に 0~40% 及び 40~60% 硫酸分画沈殿を CM-Sepharose に重層し、樹脂に吸着しない素通り分画を溶出した後 0.1M、0.2M、0.3M および 0.4M NaCl で段階的に溶出した。そしてこれら分画のカゼイン分解活性、dsRNase、DNase 及び ssRNase 活性について検討した (図 1)。

その結果、カゼイン分解活性は 0.2M、0.3M と 0.4M NaCl によって溶出された。dsRNase 活性は、0.2M と 0.3M NaCl によって、DNase と ssRNase は 0.3M NaCl によって溶出された。このことは、カゼイン分解酵素と同じ溶出位置にヌクレアーゼが溶出されるか、あるいは、プロテアーゼ活性およびヌクレアーゼ (dsRNase、DNase、ssRNase) 活性をもつ一つの酵素が存在することを示している。また、40~60% 硫酸沈殿部分を上記と同じ条件で分画した場合にも同様の結果を得た。

そこで、ヌクレアーゼとプロテアーゼを分離することが可能か否かについて、等電点電気泳動法を用いて検討した。このため、0~40% 硫酸分画を CM-Sepharose に重層し 0.3M NaCl 溶出分画を pH8~10.5 の等電点ゲル電気泳動をした。図 2 は、pH8~10.5 におけるカゼイン分解活性、dsRNase、DNase 及び ssRNase 活性を示している。プロテアーゼ活性は pH10 以上で検出されたのに反し、ヌクレアーゼ活性は pH8 附近に活性がみられた。

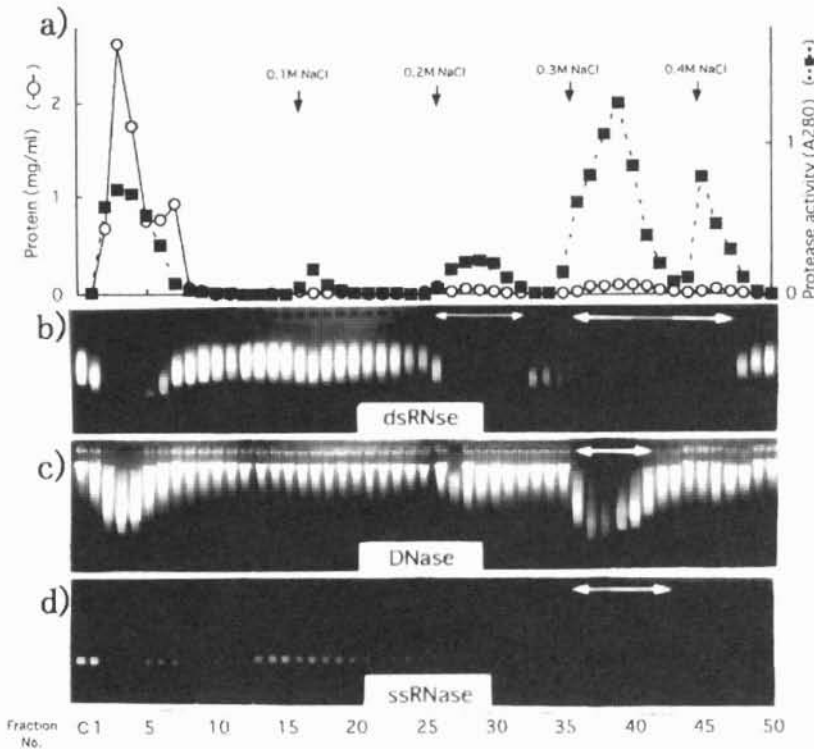


図1. CM-Ssparose カラムによる 0-40%硫酸沈澱の分画と各分画のプロテアーゼ、二本鎖 RNA 分解酵素 (dsRNase), DNA 分解酵素 (DNase) と一本鎖 RNA 分解酵素 (ssRNase) の活性. 消化液の 0-40% 硫酸沈澱を 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) に溶解し, 4.8 ml (4.8mg 蛋白/ml)を上記と同じ緩衝液で平衡化した CM-Ssparose (φ2.5x4cm) に重層した. 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) 40ml で非吸着蛋白質を溶出した後, 0.1M, 0.2M, 0.3M, 0.4M NaCl を含む緩衝液それぞれ 30ml を用い, 段階的に溶出し, 3 ml ずつ分画し, 蛋白含量 (●) およびプロテアーゼ活性 (■) を測定した (最上段の図). さらに, 溶出液を二本鎖 RNA, および一本鎖 RNA と反応させ, 反応生成物をアガロース電気泳動で分析した (白矢印は基質が分解されていることを示している).

また, 図示していないが dsRNase 活性と DNase 活性はわずかに等電点が異なる場合もみられた. この様な結果は, ヌクレアーゼとプロテアーゼ, dsRNase と DNase を分離できることを示唆している.

そこで, これらの結果から以下の点を考慮し, dsRNase の精製度を高めた. すなわち, 1) dsRNase が高塩基性の蛋白質であることから, 中性の緩衝液中では強いプラスの電荷を持つため, イオン交換クロマトグラフィー以外の担体で, しかも吸着性に影響を与えない分離法を用いる. 2) 等電点ゲル電気泳動の結果から dsRNase とプロテアーゼは分離で

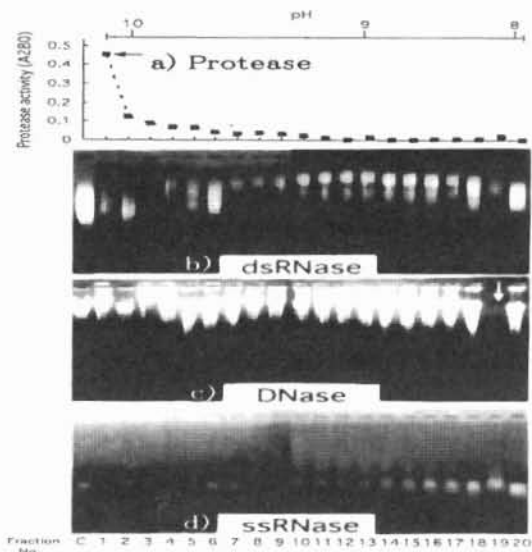


図 2. 0-40% 硫酸沈澱画分の等電点電位泳動によるプロテアーゼと核酸分解酵素の分離. 0-40% 硫酸沈澱画分を図1と同じ方法で画し、pH 8-10.5のpH 勾配を持つ等電点電気泳動を行った。泳動後、ゲルを5mm 毎に裁断し、10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) で溶出し、各々のゲル断片に含まれるプロテアーゼ (a), dsRNase (b) および ssRNase (d) 活性を測定した。矢印は活性ある分画を示す。

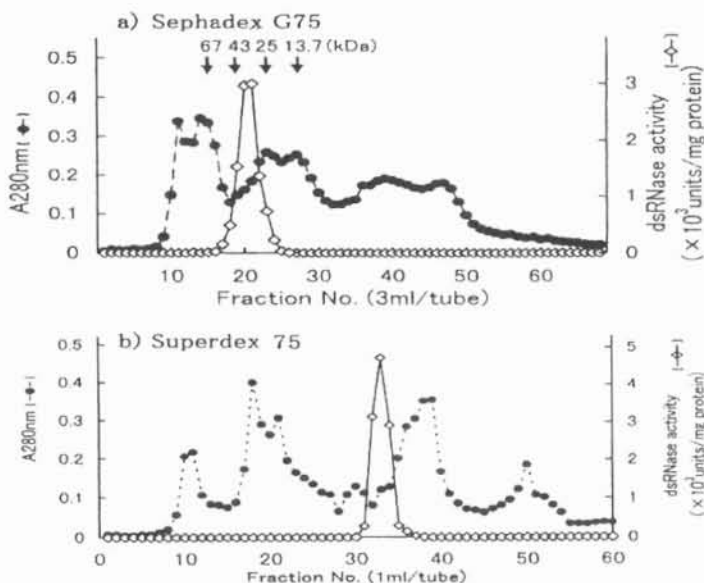


図 3. 消化液の 60% 硫酸飽和沈澱画分の Sephadex G75 および Superdex75 によるクロマトグラムと各溶出液の dsRNase 活性 a) Sephadex G75: 消化液の 60% 飽和画分沈澱を 4 ml (4.8 mg/ml) を 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0)-0.5 M NaCl-0.1% CHAPS で平衡化した Sephadex G75 カラム (φ16mm x 600mm) に重層した。上記の緩衝液を、カラムポイド容積である 18ml で溶出した後、3 ml ずつ分取し dsRNase 活性を測定、b) Superdex 75: 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0)-0.5 M NaCl-0.1% CHAPS-1 mM PMSF で平衡化したカラムに a) と同じ試料を重層した。溶出液には上記と同じ緩衝液を用い、ポイド容積である 40 ml で溶出した後、1 ml ずつ分取した。分子量マーカーとして BSA (M.W. 67K), Ovalbumin (M.W. 43K), Chymotrypsinogen (M.W. 25k), RNase A (M.W. 13.7K) を用いた。

きるが、本方法では多くの蛋白質を重層できないため、ゲル濾過クロマトグラフィーを用いる。3) 消化液中のプロテアーゼを抑制するため、初期段階から PMSF を加えた緩衝液を用いる。ただし、1 mM PMSF は dsRNase 活性には影響を与えない。4) 0~40%、40~60% 硫酸分画のいずれにおいても dsRNase 活性がみられることから、硫酸分画による消化液の蛋白質の濃縮手法として、以後 60% 硫酸分画を用いることにした。

これらの理由から、1mM PMSF を含む 50mM リン酸緩衝液を用いて 60% 飽和硫酸分画をゲル濾過クロマトグラフィー (Sephadex G-75) によって分画した (図 3)。その結果、試験管番号 20、21 番に dsRNase 活性のピークがみられ、比活性は、約 3000units/mg protein であった。また、分子量マーカーの溶出位置より dsRNase の分子量を求めたところ、39~42KDa と推定できた。

また、精製度を上げるため、Superdex75 を充填担体として、ゲル濾過クロマトグラフィーを行ったところ、dsRNase 活性のピークは単一で認められ、比活性は約 4700units/mg protein となり、Sephadex G-75 を用いた場合に比べ、比活性は高かった。また、dsRNase 分画を SDS-PAGE で分析したところ、依然として多数のバンドが検出された。

さらに、dsRNase の純度を上げるため、アフィニティークロマトグラフィーである Poly(I)・Poly(C)-agarose を担体として用いた。また、吸着用緩衝液として 50mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.2)-1mM PMSF、溶出用緩衝液として 50mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.5)-CHAPS、1mM PMSF、1M KCl を用い、分画した (図 4)。

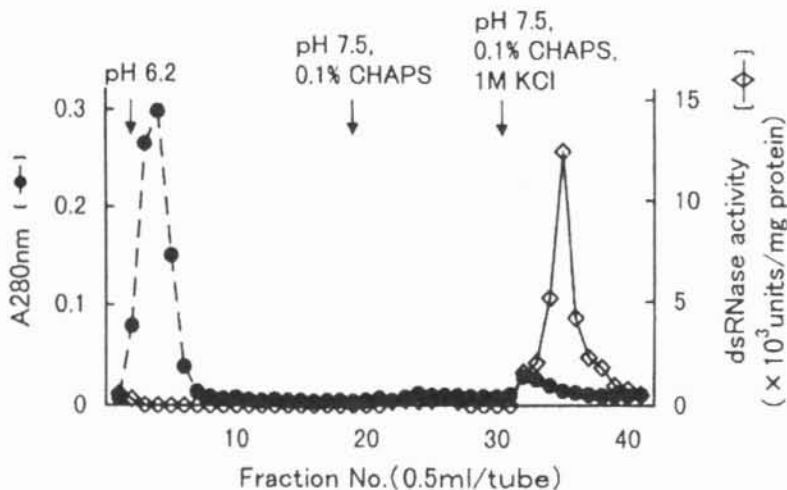


図 4. Poly(I)・Poly(C)-アガロースによる dsRNase のアフィニティークロマトグラフィー。ゲル濾過クロマトグラフィー (Superdex 75) (図 3) の dsRNase 活性画分を回収し、50 mM リン酸緩衝液 (pH 6.2)・1 mM PMSF 内で透析した。透析後の溶液を 80%(v/v) アセトンで濃縮し、上記の緩衝液で可溶化して Poly(I)・Poly(C) カラム (容積 1 ml: φ 6.4 x 31mm) に吸着させた。溶出する際の緩衝液には 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5)・1 mM PMSF・0.1% CHAPS・1 M KCl を用いた。●; 280nm における吸光度、◇; dsRNase 活性

その結果、吸着用緩衝液で溶出すると、No.8 まではタンパク質のピークがみられ、その後は痕跡程度であった。しかし、溶出用緩衝液に変更 (No.30 より) 溶出すると No.35 に dsRNase 活性がみられ、その比活性は 12,459units/mg 蛋白であった。

図 5 には、Superdex75 における dsRNase 分画(A)、Poly(I)・Poly(C)-agarose クロマトグラフィーにおける素通り分画(B)及び dsRNase 分画(C)のそれぞれを SDS-PAGE で分析した。その結果、A では 41KDa に 1 本、30KDa 附近に 3 本、B では 41KDa に濃い 1

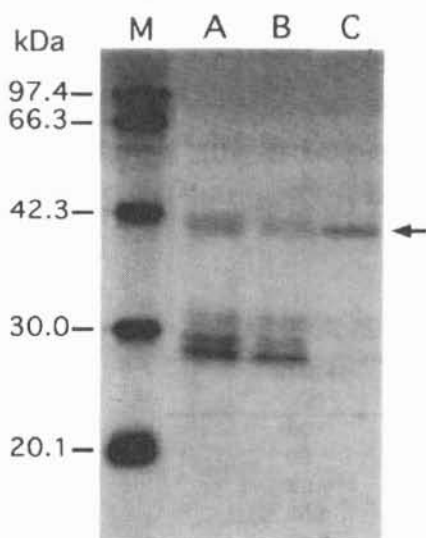


図 5. Poly(I)・Poly(C)-agarose アフィニティークロマトグラフィーによる溶出画分の SDS-PAGE パターン。Superdex 75 による dsRNase 活性画分 (A) を Poly(I)・Poly(C)カラムに重層し、素通り分画 (B) と dsRNase 分画 (C) を SDS-12.5%PAGE で泳動させ、銀染色させた。M: 分子量マーカー、Phosphorylase b(M.W.:97.4K), Bovine serum albumin(M.W. 66.3K), Aldolase (M.W. 42.4K), Carbonic anhydrase(M.W. 30K), Trypsin inhibitor(M.W. 20.1K), α -lysozyme(M.W. 14.4K)。

表 1. カイコ消化液からの dsRNase の精製結果

画分	全蛋白質量 (mg)	全活性 (U*)	比活性 (U/mg protein)	収量 (%)	精製率 (- fold)
消化液 (25.6ml)	93.5	15,131	162	100	1
60% 飽和硫酸画分	23.1	10,125	439	24.7	2.71
ゲル濾過クロマトグラフィー	4.23	8,100	1,915	4.53	11.8
アフィニティークロマトグラフィー	0.0107	133.5	12,459	0.011	76.9

消化液を硫酸画分し、得られた 60% 飽和硫酸画分をゲル濾過クロマトグラフィー (Superdex 75) により分離した。溶出緩衝液には、50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) - 0.5 M NaCl, 0.1% CHAPS, 1 mM PMSF を用いた。Superdex 75 での活性画分を回収して、50 mM リン酸緩衝液 (pH 6.2), 1 mM PMSF で透析した。透析後の溶液を 80% アセトンで濃縮し、同緩衝液で可溶化させたものをアフィニティークロマトグラフィーの供試試料とした。吸着用の緩衝液として 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) - 1 M KCl, 0.1% CHAPS, 1 mM PMSF を用いた。Poly(I)・Poly(C)を基質とし、「材料と方法」に記載のとおり、二本鎖 RNA 分解活性を測定し、比活性を 1 酵素単位 (1 U)、すなわち、酵素液 1 μ l を含む反応液 1 ml 中で 30 分間に O.D.260nm=1 を与える酵素活性として表示した。

本のバンドと 30KDa に 3 本、C では 41KDa に 1 本のバンドがみられ、30KDa には A と B ではみられたバンドが検出されなかった。すなわち、dsRNase 活性分画は 1 本のバンドとして検出され、分子量は 41KDa であった。前述した通り、SephadexG-75 による分子量も 41KDa であったことから、dsRNase は単量体であることが判明した。

表 1 は、dsRNase の精製度を示した。消化液 (25.6ml、蛋白質量 93.5mg) から硫酸分画、Superdex75、ゲル濾過クロマトグラフィー、さらに、Poly(I)・Poly(C)-agarose アフィニティクロマトグラフィーを経て約 77 倍に濃縮された。

2. 二本鎖 RNA 分解酵素の特性

精製 dsRNase による dsRNA:Poly(I)・Poly(C), Poly(A)・Poly(U), Poly(C)・Poly(G); ssRNA:Poly(I), Poly(C), Poly(A), Poly(U), Poly(G), Poly(A・U); DNA:牛胸腺 DNA の分解活性を検討した (表 2)。

表 2 dsRNase 精製画分の基質特異性

基質	比活性 (units/mg protein)	分解率 (%)
Poly(I)・Poly(C)	5486	100
Poly(C)・Poly(G)	2743	50
Poly(A)・Poly(U)	1524	28
Poly(A)	14019	256
Poly(C)	10324	188
Poly(G)	762	14
Poly(I)	11010	201
Poly(U)	19086	348
Poly(A・U)	8076	147
DNA	457	8

0.1 M NaCl と 1 mM MgCl₂ を含む 0.1 M グリシン-KOH 緩衝液 (pH 10) に核酸基質を 50 μg/ml になるよう溶解した反応緩衝液と dsRNase 精製画分を 37℃ で 30 分間反応させた。分解率は、Poly(I)・Poly(C) の比活性を 100% としてそれぞれの比活性を相対値で示した。

その結果、Poly(I)・Poly(C) が分解されるのに加え、Poly(I), Poly(C), Poly(A), Poly(U), Poly(A・U) も分解された。これらの分解程度を Poly(I)・Poly(C) と比較すると、Poly(I) と Poly(C) に対しては 2 倍、Poly(A) では 2.5 倍、Poly(U) に対しては 3.5 倍、Poly(A・U) にたいしては 1.5 倍であった。それに対して、Poly(A)・Poly(U), Poly(C)・Poly(G), Poly(G) に対しては 1/3, 1/2, 1/7 と弱い分解活性を示し、牛胸腺に対してはわずかな分解程度であった。

dsRNase 精製画分を用いて、細胞質多角体病ウイルスの二本鎖 RNA (CPV-dsRNA)、酵母由来の一本鎖 RNA (ssRNA)、ウシ胸腺 DNA 及び Poly(I)・Poly(C) に対する dsRNase に対する分析活性について検討した (図 6)。すなわち、dsRNase が Poly(I)・Poly(C) に対して活性を示す酵素濃度を 3 段階 (精製画分を 12, 24 及び 72 倍に希釈し、それぞれ 6 μl を用いた) を用い、また、8mM Mg²⁺ を添加した区と無添加の区を設け、dsRNase が

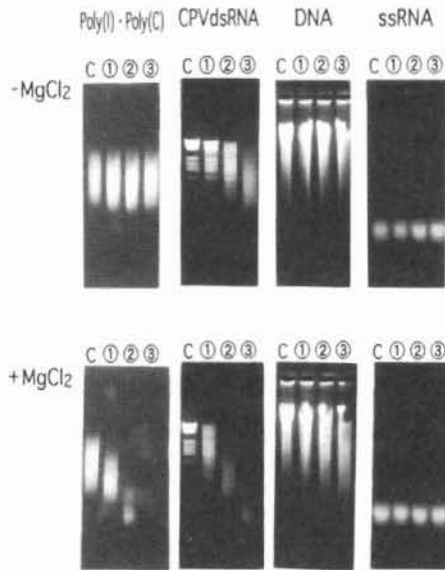


図6. DsRNase 精製画分の基質特異性

アフィニティークロマトグラフィー (図4) より得られた dsRNase 精製画分を 12①, 24②, 72 倍③に希釈し、それぞれを 6 μ l 酵素液として用いた。この酵素液と、基質を 50 μ g/ml になるように加えた 0.1 M グリシン-KOH(pH 10)-8 mM MgCl₂ 6 μ l と反応 (37 $^{\circ}$ C, 30 分間) させ、アガロース電気泳動により反応生成物の分解程度をみた。上図: MgCl₂ 無添加, 下図: MgCl₂ 添加, C: 酵素液の代わりに蒸留水を用いた対照区

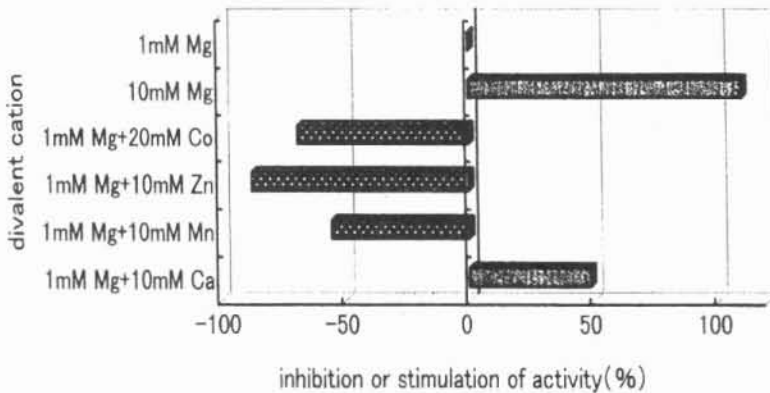


図7. DsRNase の精製画分を用いて、1 mM MgCl₂ と 0.1 M NaCl を含む 0.1 M グリシン-KOH 緩衝液 (pH 10) に Poly(I)·Poly(C) を 50 μ g/ml になるように溶解し、さらに各濃度の MgCl₂, MnCl₂, CaCl₂, ZnCl₂, CoCl₂ を添加して、37 $^{\circ}$ C で 30 分間反応させた。1mM MgCl₂ を対照区とし増大率を+の相対値で示し、減少率を-の相対値で示した

Poly(I)·Poly(C)以外の核酸に対し、どの程度の分解を示すかについてアガロースゲル電気泳動により検討した。その結果、酵母 RNA、ウシ胸腺 DNA に対してはほとんど分解活性を示さず、二本鎖 RNA である CPV-dsRNA 及び Poly(I)·Poly(C) に対してのみ活性を示した。また、Poly(I)·Poly(C) が Mg²⁺ 無添加の場合分解されないのに対し、CPV-dsRNA は分解された。

DsRNase 精製画分を用いて、2価金属イオンによる影響を調べた。その結果、10 mM $MgCl_2^{2+}$ で110%、10 mM Ca^{2+} で48%の活性上昇がみられ、10 mM Mn^{2+} で55%、10 mM Zn^{2+} で88%、20 mM Co^{2+} で69%の活性抑制がみられた(図7)。

考 察

本論文では、蚕の消化液に含まれる二本鎖 RNA 分解酵素(dsRNase)をイオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィーとアフィニティークロマトグラフィーを用いて精製した。その結果、dsRNaseは分子量41kDaの単量体酵素で、最適pHが11付近にあり、等電点は約8.5であった。また、二価イオンに対するdsRNase活性の影響を調べたところ、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Co^{2+} により活性阻害を示し、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} によって活性促進が認められた。

dsRNaseと同じように、アルカリ側に等電点を持つ酵素としてRNase A(E.C. 3.1.27.5)(分子量13kDa, 等電点9.6)があるが最適pHは7.5である。また、アルカリ側に最適pHを示す酵素には牛胸腺のEndoribonuclease H(EC. 3.1.26.4)(分子量70-90kDa, 最適pH8付近)やRNase III(EC. 3.1.26.3)と相同性の高い酵素として精製された*Schizosaccharomyces pombe* Pac I(分子量45.5kDa, 最適pH8.5)(Rotondo, G. *et al.*, 1996)、さらに*Staphylococcus aureus*が産生する塩基非特異的細胞外ヌクレアーゼ(分子量17kDa, 最適pH9-10)があげられる。これらの酵素とカイコのdsRNaseの二価イオン要求性をみると、RNase IIIやEndoribonuclease Hは、 Mg^{2+} によって分解が促進される点ではdsRNaseと共通しているが、 Co^{2+} 、 Mn^{2+} によって分解を促進するに對し、dsRNaseでは分解が抑制された。

一方、カイコの中腸組織の消化液や皮膜には、一本鎖RNAとDNAの両者を分解する Mg^{2+} 依存性のアルカリ性ヌクレアーゼ(Mukai, 1965, 船隈ら, 1977)が存在する。そして、消化液ヌクレアーゼSWは分子量22,000で塩基や糖の種類に対する特異性がなく、DNAとssRNAをエンド的に切断し、至適pH10.3、 Mg^{2+} 濃度が1mMで活性化される(Mukai, 1965, 1972; 向井, 1976)。船隈ら(1977)は中腸組織に Mg^{2+} 要求性のDNaseとssRNase活性を持つ至適pH9.5、分子量85,000のヌクレアーゼが存在し、その作用機構や免疫学的な関連から、中腸皮膜でのヌクレアーゼは消化液ヌクレアーゼのプロ酵素であると推察している。さらに、蛹にもsugar-non-specificなヌクレアーゼが存在し、幼虫期のアルカリ性ヌクレアーゼとは若干性状を異にしている(Himeno *et al.*, 1968)。以上のように、dsRNaseは分子量や二価イオン要求性から他の二本鎖RNA分解酵素やカイコの Mg^{2+} 依存性のアルカリ性ヌクレアーゼとは異なるものである。

dsRNaseの合成基質に対する分解活性をみると、本酵素は二本鎖構造のみならず、核酸の塩基の種類も認識している。すなわち、Poly(C)・Poly(G)、Poly(G)に対する活性が低い

ことからグアニンに作用しにくいこと、また合成二本鎖 Poly(A)・Poly(U)に対する分解は低いに対し、Poly(A)および Poly(U)に対し分解活性を示す。このようなことから、本酵素は、核酸が一本鎖であるか二本鎖であるかを認識することによって分解の程度の違いを示すのであろう。さらに、酵母 RNA、牛胸腺 DNA に対して dsRNase はほとんど分解活性を示さず、CPVdsRNA および Poly(I)・Poly(C)が分解された。また、Mg²⁺無添加の場合には Poly(I)・Poly(C)は分解されないのに対し、CPV-dsRNA は分解され、添加した場合にはいずれの核酸も分解された。このようなことから、本酵素は二本鎖 RNA に対して分解活性を示す塩基認識型のリボヌクレアーゼであると考えられる。

一方、*E. coli*から二本鎖 RNA 分解酵素 (RNase III) は精製されており、最適 pH 7.6 で Mg²⁺ 要求性、Co²⁺、Mn²⁺によって活性が促進され、分子量は 45~55kDa である (Robertson *et al.*, 1968)。また、RNase III と同性的の高い酵素として *Schistosaccharomyces Pombe* Pac I も精製されており、最適 pH 8.5 で Mg²⁺ 要求性、Co²⁺、Mn²⁺によって活性が促進される分子量が 45.5kDa である (Rotondo and Frendewey 1996)。これらの酵素は、アミノ酸 C 末端に二本鎖 RNA 結合領域 (dsRBD) を持つことが知られている。例えば、RNaseIII では、アミノ酸配列の N 末端から 150 残基に触媒ドメインを持ち、C 末端から 70 残基の部分に二本鎖 RNA 認識ドメインを持つ (Kharrat, A. *et al.*, 1995)。カイコの dsRNase も二本鎖 RNA 認識部位と結合領域を持つか否かについて、アミノ酸配列の面から検討している。

文 献

- Dunn, J. J. and Studier, F.W. (1973): T7 early RNAs and *Esherichia coli* ribosomal RNAs are cut from large precursor RNAs in vivo by ribonuclease III. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 70, 3296-3300.
- Edy, V.G., Szekely, M. and Dreyer, C. (1976): Action of nucleases on double-stranded RNA. *Eur. J. Biochem.*, 61, 563-572.
- 船隈 透、林 勝哉、向井純一郎 (1977): 家蚕幼虫中腸型ヌクレアーゼの消化液ヌクレアーゼの転換、農化、51、359-369。
- Furusawa, T., Takayama, E., Ishihara, R. and Hayashi, Y. (1993): Double-stranded ribonuclease activity in the digestive juice and midgut of the silkworm, *Bombyx mori*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 104, 795-801.
- Gotoh, S., Nikolaev, H. and Battaner, E. (1974): *Esherichia coli* RNase III cleaves HeLa nuclear RNA. *Biochem. Biophysic. Res. Commun.*, 59, 972-978.
- Kharrat, A., Macias, M.J., Gibson, T.J., Nilges, M. and Pastore, A. (1995): Structure of the dsRNA binding domain of *E. coli* RNase III. *The EMBO J.*, 14, 3572-3584.
- Koga, K., Mukai, J. and Akune, S. (1967): Purification and properties of acid ribonuclease from

- posterior silk glands of silkworm, *J. Insect Physiol.*, 13, 1885-1894.
- Kotani, E., Niwa, T., Tokizane, M., Suga, K., Sugimura, Y., Oda, K., Mori, H. and Furusawa, T. (1999): Cloning and sequence of a cDNA for a highly basic protease from the digestive juice of the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Mol. Biol.*, 8(2), 1-6 (2000).
- Hall, S.H. and Crouch, R.J. (1977): Isolation and characterization of two enzymatic activities from chick embryos which degrade double-stranded RNA. *J. Biol. Chem.*, 252, 4092-4097.
- Himeno, M., Morishima, I., Sakai, F. and Onodera, K. (1968): Purification and properties of sugar-non-specific nuclease in pupa of silkworm, *Bombyx mori* Linne. *Biochem. Biophys. Acta.*, 167, 575-581.
- Hall, S.H. and Crouch, R.J. (1977): Isolation and characterization of two enzymatic activities from chick embryos which degrade double-stranded RNA. *J. Biol. Chem.*, 252, 4092-4097.
- Himeno, M., Morishima, I., Sakai, F. and Onodera, K. (1968): Purification and properties of sugar-non-specific nuclease in pupa of silkworm, *Bombyx mori* Linne. *Biochem. Biophys. Acta.*, 167, 575-581.
- Lalioti, V.S., Sideris, D.C. and Fragoulis, E.G. (1992): Further characterization of a poly(U), poly(C) ribonuclease from the insect, *Ceratitis capitata*. *Insect Biochem. and Res. Commun.*, 21, 562-567.
- Mukai, J. (1965): An endonuclease from silkworm: purification and mode of action. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 21, 562-567.
- Mukai, J. (1972): Silkworm nuclease - its nature and promise. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, 17, 21-29.
- 向井純一郎 (1976): カイコのヌクレアーゼ (ヌクレアーゼ SW)、生化学実験講座 2 核酸の化学・核酸分解酵素と一次構造 (編/日本生化学会)、pp. 149-151, 東京化学同人、東京
- Ohtsuki, K., Groner, Y. and Hurwitz, J. (1977): Isolation and purification of double-stranded ribonuclease from calf thymus. *J. Biol. Chem.*, 252, 483-491.
- Robertson, H.D., Webster, R.E. and Zinder, N.D. (1968): Purification and properties of ribonuclease III from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 243, 82-91.
- Rotondo, G. and Frendewey, D. (1996): Purification and characterization of the Pac I ribonuclease of *Schizosaccharomyces pombe*. *Nucleic Acids Res.*, 24(12), 2377-2386.
- Young, R.A. and Steitz, J.A. (1978): Complementary sequences 1700 nucleotides apart from a ribonuclease cleavage site in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 75, 3593-3597.

バキュロウイルスを用いたニューカッスル病ウイルス
(NDV) の防御抗原タンパクの作製

森 肇^{*}、深野木信一^{**}、古沢寿治^{*}、松本公平^{**}、
林 幸之^{***}

**NDV subunit vaccine prepared by baculovirus
expression vector**

Hajime MORI^{*}, Shin-ichi FUKANOKI^{},**
Toshiharu FURUSAWA^{*}, Kohei MATSUMOTO^{},**
Yoshiyuki HAYASHI^{*}**

^{}Faculty of Textile Science, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki,
Sakyo-ku, Kyoto 606-8585, Japan*

*^{**}Aburahi Laboratories, Shionogi & Co., Ltd. 1405 Gotanda, Koka-cho, Koka-
gun, Shiga 520-3423, Japan*

*^{***}Kinugasa Textile Research Institute, The Kinugasa-kai Foundation, 29
Kitano Shimo-Hakubai-cho, Kita-ku 603-8326, Japan*

1. まえがき¹

ニューカッスル病は、NDV によって起こる鳥類の最も恐るべき伝染病の一つで、ニワトリ、七面鳥などに本病が発生して多大な経済的被害を与えることが少なくない¹⁾。²⁾ 病原ウイルスは *Paramyxoviridae* の *Paramyxovirus* 属に属し、NP, P, L, M タンパクと Fusion (以下 F と略す)、HN 糖タンパクの 6 種で構成されている。NP タンパクは RNA に結合しヌクレオカプシドを形成、P と L タンパクは転写活性複合体の構

^{*}連絡先：京都工芸繊維大学繊維学部、606-8585 京都市左京区松ヶ崎、E-mail: hmori@ipc.kit.ac.jp、Tel & Fax: 075-724-7776

成分、M タンパクはウイルス粒子形成に際して糖タンパクとヌクレオカプシドの橋渡しをする働きがある。一方、糖タンパクである HN タンパクは赤血球凝集能とノイラミダーゼの両活性を担い、F タンパクはウイルス被膜と細胞膜間に融合を起しウイルスの侵入に関与する働きがある。そのため、HN と F タンパクが感染防御と密接な関係がある。

遺伝子組換技術を用いて目的の生産物を得るには、遺伝子発現効率の良いベクターを利用することが重要である。バキュロウイルスベクター系は、ハスモンヨトウ類を宿主とする AcNPV とカイコを宿主とする BmNPV を用いた系が確立されている³⁻⁶⁾。これらのウイルスは感染後期に多角体と呼ばれるウイルス封入体を感染細胞の核内に形成し、多角体中に多数のウイルス粒子を包埋する。この多角体はポリヘドリンというタンパクが結晶化したもので、このポリヘドリンのプロモーターは強力であるため外来タンパクを高レベルに発現させることができる。また、異種タンパクを発現させても細胞内プロテアーゼによる分解を受けにくく、さらに昆虫も真核細胞であることから高等動物に近いタンパクの修飾が期待できる。AcNPV は、宿主域が広く、細胞からの遺伝子産物の精製といった細胞培養系では優れているが、宿主がハスモンヨトウ類のため昆虫を用いた大量生産にむかない。また BmNPV は、人工飼育が容易であるカイコが宿主のため昆虫からの遺伝子産物の大量生産が可能である。この AcNPV と BmNPV との両方の形質を持った HyNPV が遺伝子組換え技術により作製されており、HyNPV を用いた外来遺伝子のカイコでの発現系が確立されている⁴⁾。そこで、HyNPV を用いカイコ蛹で NDV の HN タンパクの調製を試み、これを抗原としてサブユニットワクチンの製剤化を検討した。

2. 材料および方法

1) ウイルスと培養細胞

HyNPV と組換えバキュロウイルスの増殖には、10% fetal calf serum を含む TC-100 培地に培養した *Spodoptera frugiperda* 由来の IPLB-SF-21AE(Sf) 細胞を用いた。

2) トランスファーベクターの構築

弱毒株 NDV-D26 株のゲノム cDNA がクローニングされたプラスミド pN287 を *Xba*I と *Sac*I で消化し、HN タンパクをコードする cDNA を切り出した。この cDNA の両末端を平滑化し、トランスファーベクター pAcYM1 の *Sma*I サイトにクローニングし、組み換えトランスファーベクター pAcHN を作製した。

3) 組換えウイルスの作製

トランスファーベクター pAcHN の DNA 25 μ g と HyNPV の DNA 1 μ g を Cell Pfect Transfection Kit (Pharmacia) を用いたりポフェクチン法により、共に Sf 細胞に取り込ませ、トランスフェクションした。その後、27°C で 5 日間培養後、培養液を回収し、ブランク鈍化の際のウイルス接種液とした。Sf 細胞 (1.6×10^6 cells/dish) にシャーレあたり約 100 個のブランクが形成されるように希釈したウイルス接種液を 0.2 ml 接種した。1% 低融点ゲルを 2 ml 重層し固めた後、培養液を 1 ml さらに重層した。27°C で、4、5 日間培養後、光学顕微鏡でブランクを観察し、多角体を形成していないブランクを選択した。このブランクをパスツールピペットにて寒天ごと回収し培養液中に浮遊させた。さらに、これを接種液としてブランク鈍化を繰返すことにより、HN タンパク質の cDNA を組み込んだ組換えウイルス HyNPV-HN を得た。

4) カイコ蛹での HN タンパクの発現

カイコ蛹に 3) で作製した HyNPV-HN あるいは HyNPV を 1 頭あたり 50 μ L (1×10^7 PFU/ml) ずつ接種し、25°C で 7 日間飼育した。その後、カイコ蛹に対し 2 倍量のリン酸緩衝液を加え、ホモジナイザーで懸濁し乳剤とした。HyNPV-HN から調製された乳剤をワクチンの抗原原液とした。

5) ウエスタンブロッティングによる評価

12.5% 分離ゲルを用いた sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide ゲルにより、HyNPV-HN および HyNPV を接種したカイコ蛹の乳剤を、それぞれ電気泳動した。また、転写用緩衝液の A 液 (0.3M Tris, 20% MeOH) と B 液 (0.25 M Tris, 20% MeOH) に浸した 2 枚のろ紙を順に重ね、その上に C 液 (0.25 M Tris, 20% MeOH) に浸した

ニトロセルロースフィルターを載せた。その後、分離ゲルを重ね、セミドライ式転写装置に装着し転写（54 mA、90 分）した。タンパクが転写されたフィルターは、D 液（20 mM Tris-HCl、500 mM NaCl、3%ゼラチン（pH 7.4））に浸して 1 時間振とうした後、E 液（20 mM Tris-HCl、500 mM NaCl、3%ゼラチン、0.05%、Tween 20（pH 7.4））で洗浄した。0.1%NDV D26 株感染血清を含む F 液に浸して一夜振とうした。フィルターを E 液で洗浄した後、0.033% peroxidase-conjugated goat anti-chicken IgG（Bethyl 製）を含む F 液（20 mM Tris-HCl、500 mM NaCl、1%ゼラチン、0.05%、Tween 20（pH 7.4））に浸し、1 時間振とうした。その後、Konica immunostaining HRP kit にて発色させた。

6) 製剤で用いた材料

抗原はカイコ蛹から調製した HN タンパク (HyNPV-HN-infected antigen) を用い、オイルは Crystol 52[®]とスクワレンを、さらに界面活性剤はモノオレイン酸ジグリセリルとポリソルベート 80 を用い、以下の処方 (Table 1) で二段階乳化法を行った。WOW-HN1, WOW-HN2 および WOW-HN3 は、それぞれ 30, 6 および 3%の HyNPV-HN-infected antigen を配合した製剤とした。調製した製剤については、粘度、平均粒子径を測定したが、それぞれ 40 mPa・s 以下、約 5 μm となった。

Table 1 Composition of W/O/W emulsion vaccine containing HN protein

Internal aqueous phase (ml)	
HN protein + PBS	30.0
Oil phase (ml)	
Liquid paraffin	25.0
Squalene	10.0
Diglyceryl monooleate	5.0
External aqueous phase (ml)	
Polysorbate 80	2.0
PBS	28.0

7) ニワトリを用いた *in vivo* 評価

製剤を SPF 由来のニワトリ (28~35 日齢) の右脚の下腿部筋肉内に 0.5 mL 投与した。製剤投与後、4 週目に NDV Sato 株 ($10^{5.0}$ ELD₅₀ /羽) を筋肉内投与することにより、NDV で攻撃した。その後、ニワトリを 14 日間観察し、生死を確認した。生存率を感染防御率 (protection (%)) とした。また、投与部位の炎症反応は 4 段階で評価した。対照製剤として、HN タンパクを配合した W/O 型エマルジョン (WO-HN、組成 HyNPV-HN-infected antigen/セスキオレイン酸ソルビタン/ポリソルベート 80/Crystol 52[®] (30:4.5:0.5:65)) および HyNPV 感染させたカイコ蛹を配合した W/O/W エマルジョン (WOW-N、組成 HyNPV-infected antigen/Crystol 52[®]/スクワレン/モノオレイン酸ジグリセリル/ポリソルベート 80/リン酸緩衝液 (30:25:10:5:2:28)) を調製し使用した。

3. 結果および考察

1) HN タンパクの調製

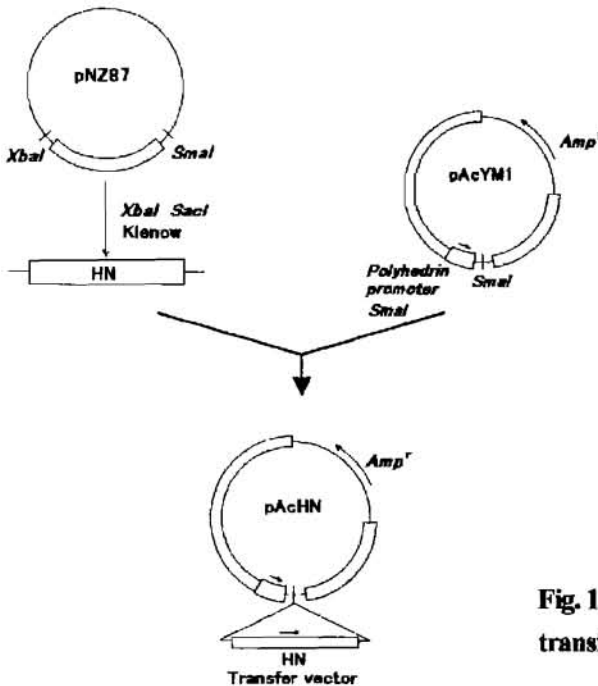


Fig. 1 Construction of baculovirus transfer vector pAcHN

HN タンパクの ORF を含むトランスファーベクター-pAcHN は、Fig. 1 に示す通り構築し、この pAcHN と HyNPV の DNA を共に Sf 細胞にトランスフェクションした。その後、ブランク鈍化を繰返すことにより、HN タンパクの大量発現が期待できる組換え体、すなわちリコンビナントバキュロウイルス HyNPV-HN を構築した。

この HyNPV-HN をカイコ蛹に接種し 7 日間飼育し、カイコ蛹をホモジナイザーで磨砕し NDV HN タンパクを得た。

2) カイコで発現した HN タンパクの解析

カイコ蛹から作製した乳剤が、NDV の HN タンパクを作製しているか否かを SDS-PAGE、ウエスタンブロッティングで調べた。実験は、HyNPV-HN または HyNPV を感染させた細胞を用いた。その結果、HyNPV 感染系では、分子量 33,000 にポリヘドリンのバンドを認めた。一方、HyNPV-HN 感染系では、71,000 にバンドを認めた。さらに、ニワトリの抗 NDV 血清を用いてブロッティング解析をしたところ発色したため、約 71 kDa のバンドが HN タンパクであることを認めた (Fig. 2)。

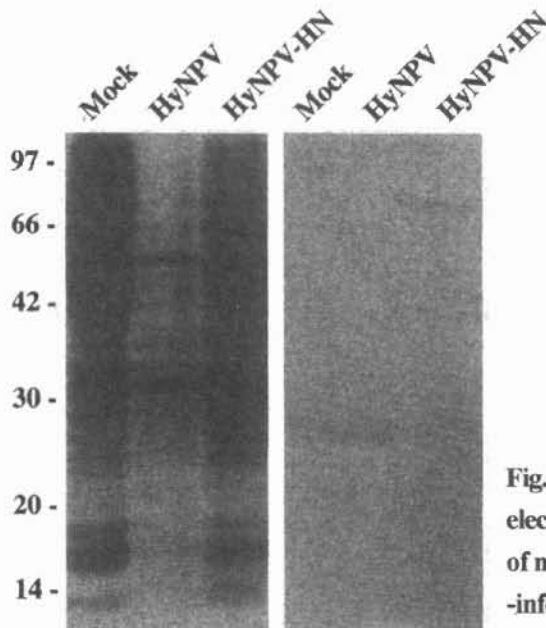


Fig. 2 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis and western blotting analysis of mock-, HyNPV- and HyNPV-HN-infected cell

NDV などのウイルス粒子自体が血球凝集素をもつものでは、特定の動物の赤血球上に存在するレセプターと結合して凝集を示す（赤血球凝集反応、以下 HA と略す）。そのため、カイコ蛹から調製した NDV の HN も HA を示すはずであると考え、HN タンパクを 2 倍段階希釈し 0.5% 鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球の凝集性を調べた。その結果、HyNPV-HN を感染させたカイコ蛹の乳剤は凝集を示し、その効果は原液の 128 倍希釈液まで認めた (Table 2)。なお、HN 遺伝子を持たない HyNPV を感染させた場合には 4 倍以下であった。このように凝集反応を示したことから、調製した乳剤の濃度調節が容易にできることが示された。同様な手法で感染防御効果のある NDV の F タンパクはバキュロウイルス系で調製されていたが、F タンパクの場合は容易に抗原性を有するタンパクの濃度を調節することができなかった。HN タンパクは凝集反応を示したことから、ワクチン中に配合する抗原量の調節も容易にできることが明らかとなった。

Table 2 Haemagglutination titer of HyNPV-HN- and HyNPV-infected pupae suspensions

	Haemagglutination titer									
	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
HyNPV-HN	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
HyNPV	+	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ : positive response, - : negative response

3) NDV サブユニットワクチンの製剤化

次に、スクアレンとモノオレイン酸ジグリセリルを組合せた処方 WOW-15 (抗原/Crystol 52[®]/スクワレン/モノオレイン酸ジグリセリル/ポリソルベート 80/リン酸緩衝液 (30:25:10:5:2:28)) を、W/O/W 型エマルジョンの最適処方として、この組成を用いてバキュロウイルスペクター系にて調製した HN タンパクを組み入れたワクチンが、安全かつ免疫持続効果を有するサブユニットワクチンになり得るかを評価した。

カイコ蛹から調製された HN タンパクを抗原とした W/O/W 型オイルアジュバントワクチンを Table 1 に示した最適処方により調製した。処方 WOW-HN1, WOW-HN2 および WOW-HN3 の抗原量は、それぞれ処方中に 30.0, 6.0 および 3.0% とした。

調製した製剤をニワトリに投与後の NDV に対する防御反応を調べたところ、抗原量 30.0 および 6.0% において、完全に防御 (protection 100%) した (Table 3) ⁷⁾。

Table 3 Responses of chicken to NDV challenge exposure after administration of W/O/W and W/O emulsion vaccines containing HN protein

Vaccine No. ^{a)}	Pupae inoculum	Antigen Content (%)	Challenge-exposure response	
			Mortality ^{b)}	Protection (%)
WOW-HN1	HyNPV-HN	30.0	0/5	100
WOW-HN2	HyNPV-HN	6.0	0/5	100
WOW-HN3	HyNPV-HN	3.0	1/5	80
WO-HN	HyNPV-HN	30.0	0/5	100
WOW-N	HyNPV	30.0	5/5	0
None			5/5	0

^{a)} Each treatment group consisted of 5 chickens.

^{b)} Data are expressed as dead/total

4) HN タンパク配合 W/O/W 型オイルアジュバントワクチンの接種反応

このように、HN タンパクを配合した W/O/W 型エマルションは、NDV に対して防御反応を示したが、次に、この製剤のニワトリに対する安全性を調べた。剤形として、W/O/W 型と W/O 型を比較し、投与後 6 週目の接種部位の反応を観察した (Table 4)。その結果、W/O/W 型エマルションでは炎症反応がほとんど観察されなかった。投与後 6 週という比較的短期間に、オイル様の接種反応が消失していることがわかった ⁷⁾。

このことから、カイコ蛹から調製した HN タンパクを用いた W/O/W 型エマルション

は、安全でかつ免疫効果も十分であることが明らかとなった。

一方、同様の方法で NDV の F タンパクを調製し、W/O 型エマルジョンのワクチンを調製した場合、非常に強い接種反応が見られた (Table 4)。

Table 4 Comparison of main histopathological changes at the site of injection in chickens after intramuscular administration of W/O/W and W/O emulsion vaccines containing HN protein

Vaccine No. ^{a)}	Pupae Inoculum	Severe changes induced at six weeks after vaccination				
		Opaque cyst formation ^{b)}				
WOW-HN1	HyNPV-HN	0,	0,	0,	1,	0
WO-HN	HyNPV-HN	1,	2,	2,	2,	1

^{a)} Each treatment group consisted of 5 chickens.

^{b)} Recorded between the limits of 0 for no reaction and 3 for a strong reaction.

0 = no change, 1 = slight change, 2 = moderate change,

3 = severe change

ところで、カイコの蛹から乳剤を調製したが、抗原性を示すタンパク量がどの程度含まれているか容易に設定することができなかった。しかし、HN タンパクの場合、前述したように赤血球の凝集反応があるため、容易に濃度調節が可能である。こうした点からも、バキュロウイルスベクターとカイコ蛹を用いた HN タンパクの生産系は利用しやすいことがわかった。

さらに、カイコ蛹 1 頭 (約 1 g, 1 頭 5~6 円) から抗原液は約 3 ml 調製できるため、カイコ蛹 2 頭からワクチン 100 ml が調製可能となる。一方、旧来型ワクチンの抗原液は鶏胚から調製され、発育卵 1 個 (約 60 円) から、約 100 ml のワクチンが調製される。このことから、カイコ蛹を用いたサブユニットワクチンは安価に製造できることも示された。

4. 結論

NDV のサブユニットワクチンを構築するため、バキュロウイルスベクター発現系を用いカイコ蛹から調製した HN タンパクを抗原液に使用し、W/O/W 型オイルアジュバントワクチンを調製した。そのワクチンをニワトリに投与後の感染防御反応を調べたところ、高い効果のあることが認められた。また、安全性にも問題のないことが認められた。以上のことから、1) 抗原タンパクは、バキュロウイルスベクター系を利用したカイコ蛹で作製し、2) 処方組成は、抗原/Crystol 52[®]/スクワレン/モノオレイン酸ジグリセリル/ポリソルベート 80/リン酸緩衝液 (30:25:10:5:2:28) とした W/O/W 型エマルジョンである有用性の高いサブユニットオイルアジュバントワクチンを構築することができた。

References

- 1) Alexander, D.J., Manvell, R.J., Banks, J., Collins, M.S., Parsons, G., Cox, B., Frost, K.M., Speidel, E.C., Ashman, S., Aldous, E.W. Experimental assessment of the pathogenicity of the Newcastle disease viruses from outbreaks in Great Britain in 1997 for chickens and turkeys, and protection afforded by vaccination. *Avian Pathol.* 28, 501-511 (1999).
- 2) Sato, H., Oh-hira, M., Ishida, N., Imamura, Y., Hattori, S., Kawakita, M. Molecular cloning and nucleotide sequence of P, M and F gene of Newcastle disease virus avirulent strain D26. *Virus Research*, 7, 241-255 (1987).
- 3) Matsuura, Y., Miyamoto, M., Sato, T., Morita, C., Yasui, K. Characterization of Japanese encephalitis virus envelope protein expressed by recombinant baculoviruses. *Virology*, 173, 674-682 (1989).
- 4) Mori, H., Nakazawa, H., Shirai, N., Shibata, N., Sumida, M., Matsubara, F. Foreign gene expression by a baculovirus vector with an expanded host range. *J. Gen. Virol.*, 73, 1877-1880 (1992).
- 5) Mori, H., Ito, R., Nakazawa, H., N., Sumida, M., Matsubara, F., Minobe, Y. Expression of bombyx mori cytoplasmic polyhedrosis virus polyhedrin in insect cells

by using a baculovirus expression vector, and its assembly into polyhedra. *J. Gen. Virol.*, 74, 99-102 (1993).

- 6) Maeda, S., Kawai, T., Obinata, M., Fujiwara, H., Horiuchi, T., Saeki, Y., Sato, Y., Furusawa, M. Production of human α -interferon in silkworm using a baculovirus vector. *Nature*, 315, 592-594 (1985).
- 7) Fukanoki, S., Iwakura, T., Iwaki, S., Matsumoto, K., Takeda, R., Ikeda, K., Shi Z., Mori, H. Safety and efficacy of water-in-oil-in-water emulsion vaccines containing Newcastle disease virus haemagglutinin-neuraminidase glycoprotein. *Avian Pathol.*, 30, 509-516 (2001).

【講座】

抗菌防臭加工・制菌加工

弓削 治*、岡本 次郎**

1. はじめに¹⁾

最近の健康的な人間生活環境作りの要請に応え、衣生活においても快適性を追求し、健康的な衣生活を求めるための研究開発が行われるようになった。その一環として、繊維製品に付着繁殖して、好ましくない影響をおよぼす微生物類を取り除くために、抗菌防臭加工を施した製品が市場に出現してきた。このような加工は、一般的に衛生加工と呼ばれ、過去に二度ばかり発表されていたが、安全性や耐久性にやや難点があった。この特徴は、安全性や耐久性が大幅に改善され、「抗菌防臭加工」と名称が統一されたことであろう。

この抗菌防臭とあい前後して、繊維に芳香や消臭を付与することが行われ、一方で、カビやホコリを抑えるとともにダニの生息を排除する防塵・防ダニ加工が注目を浴びている。いずれも、快適かつ健康な生活環境を目指したものである。

2. 微生物の付着によって生じる障害²⁾

微生物は、地球上のあらゆるところに存在し、われわれの摂取する食物の中に利用され、われわれの世界を浄化し、人間をも含めたすべての動物の体の中であって、生命の鍵を握っている。このように、微生物とのかかわり合いの中で人間は生活し、微生物の恩恵を受ける反面、体内に微生物が侵入して健康障害をもたらしたり、時には命をも脅かすこともある。

被服として着られたり、あるいは家具や装飾の目的のために、使用されるところの織物は、できる限り微生物のいないことが大切であるが、病院や同様な場所において使用される被服類は、病原菌の媒介物とならないこと、特に毛布・シーツ・手術用のほう帯などは、できる限り微生物が付着し

ないということが、さらに大切なこととなってくる。最近、特に問題となっている院内感染の防止にも繊維製品の制菌加工が注目を集めている。

日常着用する被服について考えてみると、近年合成繊維の急速な進歩とその利用の拡大に伴って、しかもこれら合成繊維の多くは吸湿性が低いために、汗を吸収することが少なく、汗がそのまま皮膚に付着して、皮膚に微生物の繁殖を容易にする結果を招いている。一般に汗は水・食塩・尿素を含み発生初期にはpH3.8~6.4の酸性であるが、バクテリア的作用によって尿素が分解され、多量のアンモニアが発生する結果pHが急激に上昇することがみとめられ、これが臭気発生の原因となると考えられている。汗の付着した皮膚は、その温度と湿度とが微生物の繁殖に好適であり、また汗の付着した肌着類、靴下などは微生物が繁殖して腐敗、醗酵現象を起こしやすく、乳児のおしめは尿素を多量に含む汚物によって汚され、微生物の繁殖する好適な素地である。窒素分を含む汚物が付着した場所に微生物が繁殖して、アンモニアなどを生成し、これが悪臭を発散すると同時に皮膚を刺激して炎症を誘発する。これら微生物による障害から、使用者あるいは着用者を護り、繊維材料自身を保護するために望ましくない微生物類を殺滅する物質などで、被服材料を処理することが広く行なわれるようになった。このための仕上加工処理として、抗菌防臭加工、制菌加工が発表されたのである。

3. 抗菌防臭加工の歩み¹⁾

現在でいう抗菌が、繊維に行われたのは、約4,000年前にエジプト人がミイラを包む布を保護するために薬用植物を用いて、微

*財団法人衣笠会繊維研究所, 603-8326 京都市北区北野白梅町 29, E-mail: zai-kinugasakai@nifty.com, Tel:075-461-5949, Fax: 075-463-6679

**大阪市立大学

生物から布の腐食を防いだのが最初のものである。

第二次世界大戦の頃、ドイツ軍が軍服に第4アンモニウム系の抗菌剤をしみこませたところ、無処理の軍服を着用した兵士よりも戦傷後の二次感染が減少したという報告があり、これが衛生加工と称する実用化への始めである。

わが国では、1955年頃から、サニタイズ加工と称する衛生加工が取り上げられ、その効果のほどが検討されはじめた。まだ定着するまでには至らなかったが、その真新しさが注目された。衛生加工の形成期は1960年代の頃である。この期間の前半は主として、衛生効果が追求された。当時の薬剤は有機金属化合物が多く、たとえば有機水銀化合物、有機スズ化合物、有機銅化合物、有機亜鉛化合物であり、その他キノン系化合物、含硫有機化合物などであった。これらの薬剤を繊維製品に処理する場合、その付着量はきわめて少量であるにもかかわらず、その効果はみるべきものがあつた。

形成期の後半は、ホルマリン問題の時期に当たり、衛生加工剤の人体への安全性が問題となった。この頃、経済企画庁の委託を受けた、主婦連合会などがこの問題を調査しはじめてから、社会的に論議されはじめた。とくに有機金属化合物などは、人体の細胞や組織に有害な作用があり、これら化合物で処理された繊維製品は、付着濃度によっては皮膚障害として、かぶれや炎症などを起こすことになる。

1973年「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」が立法化され、現在では使用中止となり安全性が保証されるようになった。したがって最近の抗菌剤は珪酸塩系や燐酸塩系などの無機系抗菌剤、フェノール系、カルボン塩系、ピグアナイド系、ハロゲン系や界面活性剤など有機系抗菌剤そして天然物由来の抗菌防臭等の機能剤など、すべての点で安全性が十分に調査されたものが開発、発表されている。表1に抗菌加工製品の一例を示した³⁾。

表1 抗菌加工製品の一例

分野	製品
繊維	靴下、肌着、下着、タオル、ふきん、傷当て材、白衣、寝具、カーテンなど
家電	洗濯機、掃除機、冷蔵庫、食器洗浄乾燥機、電気ジャーボット、空気洗浄機、炊飯器、電話機、シェーバー、カセットテープなど
建材	床材、クロス（壁紙）、タイル、アルミ建材、塗装剤など
住宅設備機器	電気洗浄便座、浄水器など
キッチン用品	スポンジ、包丁、まな板、水切り袋、フィルム包材、流し三角コーナー、野菜洗い用ブラシ、ゴミかご、弁当箱など
バス・トイレ用品	湯上がりバスマット、トイレケース付きブラシ、トイレ用コーナーボット、ボトル（シャンプー等）など
生活用品	歯ブラシ、カミソリ、ヘアーカラー、靴（中敷）、油取り紙、マスク、抗菌スプレー、アクセサリー（18金合金）など
文具	ボールペン、シャープペン、鉛筆、消しゴム、フロッピーディスクなど
玩具	ぬいぐるみなど
自動車	ステアリング、シフトノブ、空気清浄機、内装など
その他	砂場用抗菌砂、キャッシュカード、棺など

4. 加工効果試験法⁴⁾

繊維製品の抗菌性試験方法 JIS L 1902 (1990) が制定された。その適用範囲、用語の定義と用いる試験菌を示す。

(1) 適用範囲

この規格は、抗菌防臭加工を施した繊維製品の抗菌性を、ハローの有無によって定性する試験方法について規定する。

(2) 用語の定義

この規格で用いる主な用語の定義は、次の通りとする。

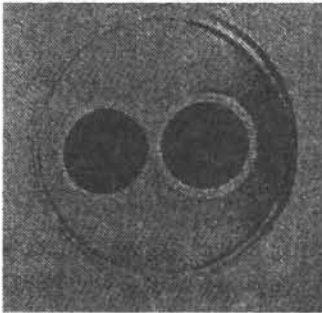
- ① 抗菌防臭加工：繊維上の菌の増殖を抑制し、防臭加工を目的とする加工。
- ② ハロー：繊維製品に加工された抗菌防臭加工薬剤が、平板寒天培地中に拡散し、培養後に細菌の増殖が阻害された試料の周囲の透明な部分。阻止帯。
- ③ 抗菌性：細菌の増殖を阻害したり、死滅させる性質。

(3) 試験に用いる細菌

試験に用いる細菌の種類は、次の通りとし、それぞれの細菌について試験を行う。

- ① *Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌)
- ② *Klebsiella pneumoniae* (肺炎かん(桿)菌)

■ハローテスト試験結果判定写真

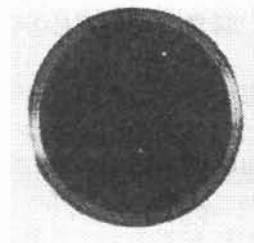


定量試験については、菌数測定法とシェーク法の2方法で評価していたが、JISに規定するためには、統一試験法を確立する必要が生じた。この試験法は1994年に統一試験方法マニュアルを完成させ1998年JIS L 1902に先の定性試験に加えて定量する試験方法が規定された。

■菌数測定法試験結果判定写真



初期



加工布



未加工布

5. 加工製品の安全性⁵⁾

安全性については、特に注意が払われており、人間の直接的・間接的影響について安全性の諸規則を規定し、万全を期している。

1) 有害物質を含有しないこと

化審法（化学物質の審査および製造等の規則に関する法律）、同施行令、有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律などに抵触する化学物質、並びに繊維製品衛生加工協議会が有害と認めた化学物質を含有しないこと。（加工剤が対象）

2) 以下の毒性審査データにつき基準を満たすこと。

〔一次試験（必須）〕

- ① LD50 値：経口経路で投与した時、ラットやマウス等の試験用小動物の50%死亡を引き起こすと期待される統計学的に得られた被験物質の1回投与値。（加工剤が対象）
- ② 変異原性試験：ある物質が生物の遺伝子DNAに作用して、選択的に化学反応を起こしたり、その分子構造の一部を変えたりする性質—変異原性があるかどうか

を調べるものである。短期間に被験物質の遺伝毒性・がん原性を予測することを目的としている。(加工剤が対象)

- ③皮膚刺激試験：試料を皮膚に貼付し試料との接触による皮膚の炎症変化の発生程度を調べる。(閉鎖式貼付試験又は河合法による)(製品が対象)

〔二次試験〕

管理委員会が必要と認めた場合は、抗菌防臭加工剤における二次試験として、亜急性毒性、慢性毒性、小核試験、発ガン性試験、抗原性試験を追加試験。

(いずれも加工剤が対象)

3) 乳幼児用品の除外

生後 24 ヶ月以下の乳幼児用品については、政令や行政指導で禁止されているホルマリン加工、難燃加工などに準じて、自主的に SEK マーク対象品から除外している。

6. 顕微鏡観察による貼布試験判定(河合法)⁶⁾

化学薬剤などを用いて、繊維製品に仕上加工を行った場合の加工布の人体皮膚におよぼす影響を調べるものである。現今、繊維関係業界や化粧品業界で広く行われているものに、顕微鏡観察による河合法(レプリカ法)がある。この特徴は、パッチテスト(貼布試験)による皮膚反応の観察で肉眼視できない極微的な表皮の変化を捕らえ

て判定を行う点にある。被験者の選択、顕微鏡判定基準などは過去の追跡調査あるいは実際に皮膚障害を生じた製品について試験検査を行った結果に基づいて、判定基準が作られた。

テストの概要、判定基準は次の通りである。すなわち 20 名の被験者(健常者)について、上腕内側部に検体および対照を貼付し、その上をガーゼで覆って固定する。24 時間放置後、貼布片を除去し 30 分後皮膚反応を肉眼的に観察する。被験者全員反応が陰性であった(異常のない)場合、さらにスンプ法を応用した顕微鏡観察によって判定する。すなわち、貼布した検体および対照部位の表皮レプリカ標本を作成する。そのレプリカ標本について、顕微鏡により、表皮の形態学的変化を観察し判定する。判定は、皮丘円形化(A 刺激)、陥凹皮溝(B 刺激)、角質層膜状剥離・皮溝皮丘の形くずれ・皮丘内のしわ多し(C 刺激)、肉眼判定(D 刺激)を判定する。以上の判定結果で、肉眼判定(D 刺激)において、20 例中 1 例でも(+)以上の反応を認めた場合は陰性とする。A 刺激は軽微な刺激においても反応するため判定から除外する。B 刺激は、反応度の記号(-)を重点とし、コントロール刺激数との差が 0 か 0 以下であれば陰性、1~2 であれば準陰性、3 であれば準陽性、4 か 4 以上であれば陽性と判定する。C 刺激は 20 例中 1 例以上(+)の反応を認めた場合は陽性となる。判定基準を表 2 に示した。

表 2 顕微鏡観察による貼布試験判定基準

判定方法	顕 微 鏡 判 定				肉眼判定		
表皮の形態学的変化	円形皮丘	陥 凹 皮 溝			不整皮丘皮溝 膜状鱗屑 皺裂皮丘	紅班 浮腫 丘疹	
刺激ランク	A 刺激	B 刺 激			C 刺激	D 刺激	
判定基準	—	(試験体刺激指数)-(コントロール刺激指数)				1 例以上	1 例以上
		≤0	1~2	3	≥4		
判定評価	—	陰性	準陰性	準陽性	陽性	陽 性	陽 性

(河合法による)

7. 抗菌防臭加工と制菌加工⁵⁾

抗菌防臭加工に加えて、新しく制菌加工

も取り入れられた。表 3 にその比較を示した。

表 3. 抗菌防臭加工と制菌加工との比較一覧表

	抗菌防臭加工		制菌加工(MICROBIAL CONTROL)	
	表示加工	抗菌防臭加工	一般用途	特定用途
名称	旧名：繊維製品衛生加工協議会			
	新名：繊維製品新機能評価協議会			
目的	英文名称：JAFET(Japanese Association for the Functional Evaluation of Textiles)		愛称：SEK (Sen'i Evaluation Kino)	
	繊維製品全般において人体からの汗、脂、垢等を栄養資源臭気を防止する効果を訴求する加工		生活環境(リビング、ライフ)、ケア環境(ヘルス、メディカル)向上のため、繊維状の菌の増殖を抑制する効果を訴求する加工	
用語	(注意) 繊維状の効果を訴求する加工であり、人体の疾病の治療、予防を訴求してはならない			
	表示加工	抗菌防臭加工	制菌加工	
対象商品	付記用語		(繊維上の菌の増殖を抑制します。)	
	(注意)		表示用語と付記用語は一体である	
マーク	繊維製品全般		一般家庭にて使用する繊維製	医療機関並びにそれに準ずる施設にて使用する繊維製品
			(注意) 薬事法に該当する製品は除外(手術衣、予防衣)	
評価方法	デザイン	SEK	SEK	
	色	青色(DICカラー66)又は白黒	橙色(DICカラー121)	赤色(DICカラー156)
評価菌株	(注意) マーク表示規定による			
	統一試験法(定量法)		ハロー法 JIS L1902 (定性法)	
評価基準値	ハロー法 JIS L1902 (定性法)		(注意) JISL1902を制定し、統一試験法を定量法として追求する。1998年9月21日官報告示。	
	(注意) JISL1902を制定し、統一試験法を定量法として追求する。1998年9月21日官報告示。		ハロー法は品質管理に適用	
耐久性	Staphylococcus aureus ATCC 6538P		●MRSA IID1677	
			● Staphylococcus aureus ATCC 6538P ● Klebsiella pneumoniae ATCC 4352 ○ Escherichia coli IFO 3301 ○ Pseudomonas aeruginosa IFO 3080 ●の菌は必須菌 ○の菌はオプション菌	
安全性	統一試験法で静菌活性値で2.2以上		統一試験法で下記基準値とする。 C≤A 但し C≠0 C<A 但し C≠0 A：無加工布の接種直後の菌数 B：無加工布の18時間培養語の菌数 C：制菌加工布の18時間培養語の菌数	
	(注意) 「統一試験法と基準値設定の根拠」についてはJAFET通信第1号参照			
安全性	洗濯法	JIS LO217 103号	厚生省令第13号に準拠	
	回数	製品中分類毎により設定(0~10回)	製品毎に設定(0~50回)	
安全性	洗剤	JAFET標準洗剤	JAFET標準配合洗剤	
	抗菌剤	急性経口LD50値：1,000mg/kg以上	皮膚刺激性試験：うさぎ一次皮膚過敏症で弱刺激	
安全性		変異原生試験：陰性	皮膚感作性試験：陰性	
			細胞毒性試験：IC50と皮膚刺激性試験により判断	
	製品	レプリカ法又は閉鎖式貼布試験		
	(注意)	皮膚刺激性試験、皮膚感作性試験、細胞毒性試験が公定書許可の場合は文献引用可		

大和科学工業(株)など作成協力

8. 抗菌加工製品に関する消費者意識

通商産業省生活産業局編の「抗菌加工製品ガイドライン」が1999年5月にだされた。生活産業局長が“はじめに”に述べている1部を引用してみる。

「昨今、我が国の消費者は、経済状況の成熟や急速な高齢化、生活スタイルの多様化を反映して、「安全」や「衛生」について新たな付加価値を持つ商品を求めています。例えば、形態安定、抗菌・防臭機能など従来製品への付加的機能の付与による高付加価値化が見られます。しかし、本来、高付加価値製品の開発は、個々の企業の製品開発戦略ベースとすることから、製品分野によっては、当該機能の定義、効果の評価基準が事業者ごとに不統一であったり、使用に際しての安全性に関する情報が不十分であったりして、消費者にとって、適切な選択が実現され難いとの指摘があります。このような状況の下、通商産業省生活産業局においては、生活関連新機能加工製品の中

でも、近年、特に市場規模が拡大している「抗菌加工製品」について、関係者に求められる自主的取組みに向けた基本的かつ共通的な事項を指針（ガイドライン）の形で取りまとめることとしました。一以下略」。

ガイドラインの中に、消費者の抗菌加工製品に対する現状意識を把握するため、全国の15歳から59歳の650人に対してアンケート調査を行っている。

その1部を紹介する。

- 1) 消費者ニーズと抗菌加工の必要性
抗菌加工の製品の購入意識
 - ①抗菌加工が望ましい製品のみ買いたい 83.3%
 - ②是非買いたい 10.0%
 - ③買いたくない 6.7%
- 2) 提供すべき情報内容
期待すべき情報提供内容（表4参照）
- 3) 抗菌加工製品の表示のあり方
期待する情報提供のあり方（表5参照）

表4. 期待する情報提供内容

順位	期待する情報提供内容	割合
1	抗菌効果の内容（殺菌、抗菌、細菌等）	81.8%
2	抗菌効果の持続性	76.0%
3	抗菌加工の有無	67.8%
4	抗菌加工製品の人体への安全性	66.4%
5	抗菌加工製品の取扱方法（掃除の必要性等）	55.3%
6	抗菌加工されている部位（箇所）	45.8%
7	抗菌効果の強さ	45.1%
8	抗菌の対象となる菌の種類	40.9%
9	使用している抗菌剤/抗菌材の名称や種類	34.7%
10	抗菌加工製品の使用環境条件（温度・湿度）	26.2%
11	抗菌の効果・安全性に関する試験方法、試験結果	24.7%

表5. 期待する情報提供のあり方

順位	内 容	割合
1	マーク等の表示方法基準を統一設定	71.8%
2	取扱説明書に抗菌に関する詳細な情報を掲載	51.8%
3	製品カタログ、チラシ等に抗菌に関する詳細な情報を記載	48.2%
4	抗菌加工製品の効果についてテレビ等で紹介・解説する	32.0%
5	抗菌加工製品の情報について問い合わせ意見する機関を設置	24.9%
6	購入時に抗菌に関する説明が聞けるようにしてほしい	11.3%

4) 抗菌という言葉の接触経路

上位から「テレビ」が86.1%、製品自身の表示(文字、マーク等)が64.6%、雑誌が54.7%と続く。

5) 購入経験のある抗菌加工製品

いままでにいずれかの「抗菌加工製品」を購入したことのある割合は89.1%と、非常に高い結果となった。

各製品群では、上位から「繊維製品」が71.8%、「キッチン用品」が59.3%、「見のまわり品」が42.2%と続く結果となった。

6) 効果の持続性評価

長い間効いていたが25.2%、徐々に効かなくなったが41.2%、すぐに効かなくなったが5.1%、わからないが28.6%となった。

9.おわりに

抗菌防臭加工に加えて新しく制菌加工が発表された。

これらの効果、耐久性、安全性などの統一評価基準の設定と、これに適合する加工開発や商品化の向上に向けて努力が払われてきた。これらが相まって、繊細で好感度の選別眼を持つ生活者(消費者)に、安心して使用できる製品が生活の中に広まってきたのである。

引用文献

- 1) 弓削治(編):「抗菌のすべて」、繊維社(1997)
- 2) 弓削治:「被服衛生学」、朝倉書店(1969)
- 3) 通商産業省生活産業局(編):「抗菌加工製品ガイドライン」、大蔵省印刷局(1999)
- 4) 弓削治:「抗菌防臭加工とその安全性」、家政学雑誌、50、1099-1105(1999)
- 5) 繊維学会(編):「繊維便覧」丸善、634-637(1994)

平成13年度講演活動報告

『演題』 昆虫の Cypovirus について

農学博士 林 幸之

日時・場所 平成13年1月26日 草津市勤労会館
対象者 滋賀県植物病理学研究者
講演要旨 昆虫の細胞質多角体ゲノムの発見とその構造(二本鎖RNA)およびウイルス生産工場(Viropiasm)の分離について報告した。

『演題』 人工飼料無菌飼育による日本の周年養蚕

農学博士 松原 藤好

日時・場所 平成13年4月01日および4月10日 韓国ソウル大学・済州大学
対象者 平成13年度韓国蚕糸学会特別講演 済州大学教官および学生
講演要旨 日本では採用されなかった人工飼料無菌飼育による一年を通じた新しい養蚕法について紹介し、桑育及び人工飼料を稚蚕期に導入した養蚕法と新しい周年無菌養蚕法を比較し、この方法で世界で最も安くて安定した省力養蚕法であり、しかも高品質のシルクが計画的に生産が可能であることを紹介した。

『演題』 無菌飼育による周年蚕糸生産

農学博士 松原 藤好

日時・場所 平成13年8月18日 東京都千代田区百人町
対象者 研究員・技術員
講演要旨 人工飼料組成、混合、練合、滅菌法など無菌飼育のための人工飼料の開発と無菌飼育法を論じ、全齢25日2回および3回給飼法による1年を通じた無菌飼育法について講演し、生産した繭の品質とその利用法について講義した。

『演題』 最先端科学技術を目指した50年

農学博士 松原 藤好

日時・場所 平成13年9月30日 熊本県本渡市ホール
対象者 本渡北小学校卒業生
講演要旨 昭和31年3月16日卒業以来、平成13年までの間の大学での研究目標と内容と成果とその利用などについて講演した。

『演題』 周年養蚕による伝統産業の活性化と新産業の創出

農学博士 松原 藤好

日時・場所 平成14年1月30日 アピカルイン京都
対象者 無菌生物ノートバイオロジー学会特別講演
講演要旨 1年を通して新しい我々が開発した日本の新しい養蚕について述べ、それが伝統の絹産業の活性化とシルク以外の食品、化粧品、医薬品など広い分野の新しい産業を創出がげきることについて講演した。

『演題』 ホームページ利用の現状と課題

工学博士 西村 太良

日時・場所 平成13年2月5日 横浜国立大学
対象者 ホームページ研究会
講演要旨 京都工芸繊維大学地域共同研究センターの現状と課題について講演した。

『演題』 企業と大学のかかわり

工学博士 西村 太良

日時・場所 平成13年11月28日 京都市染色試験場
対象者 西陣織物研究会例会
講演要旨 国立大学の共同研究制度を中心に企業と大学とのかかわりについて講演した。

『演題』 繊維素材（天然繊維・化学繊維）

工学博士 山崎 隆

日時・場所 平成13年7月5・6日 京都市染色試験場
対象者 京都市中小企業技術者研修西陣織コース
講演要旨 天然繊維、化学繊維の構造と性質、並びに用途について説明した。

『演題』 セリシンの抽出及び性質と応用

工学博士 山崎 隆

日時・場所 平成13年12月18日 京都府中郡大宮町 丹後織物工業組合新規部
対象者 組合の研究所と工場職員と京都府織物・材料金属センター職員
講演要旨 セリシン抽出法によるセリシン分子量の変化及び繊維製品、化粧品分野への
応用並びに新製品開発について講演した。

『演題』 カイコ非休眠卵の長期保護

農学博士 古沢 寿治

日時・場所 平成13年12月12日 タイ マハサラカム大学理学部
対象者 教官および学生
講演要旨 タイ国では非休眠性の品種が飼育されていることを背景に演者がこれまで研
究してきた非休眠卵での生化学的知見を基にして熱帯地域養蚕体系について
講演した。

『演題』 資源生物と環境

農学博士 古沢 寿治

日時・場所 平成13年12月9日 京都工芸繊維大学繊維学部附属農場
対象者 一般市民
講演要旨 附属農場において自然環境系における物質生産体系の構築を目指しているが、
これまでの農業及び工業が地球生態系に与えてきた功罪について講演した。

『演題』 Modification of glycosylation pathway for glycosylated
protein in the silkworm

農学博士 森 肇

日時・場所 平成13年10月22・23日 つくば国際会議場
対象者 昆虫工場国際シンポジウム
講演要旨 カイコの遺伝子組み換え技術により、カイコへの外来遺伝子の導入を行った。
特に哺乳類の糖タンパク質でみられる複合型糖鎖の付加を目的としたカイコ
の遺伝子組み換えについて講演した。

『演 題』 カイコから絹糸まで

農学博士 一田 昌利

日時・場所
対象者
講演要旨

平成13年8月4日 京都工芸繊維大学繊維学部附属農場
小林豊子きもの学院組紐講座受講者
カイコの歴史と人間との関わり、カイコの不思議、シルクの作られ方等を講演した。

『演 題』 受験講座 ムシ達の21世紀

農学博士 一田 昌利

日時・場所
対象者
講演要旨

平成13年8月5日 京都工芸繊維大学繊維学部附属農場
科学教育協議会第48回全国研究大会参加者
絹糸虫類の飼育法、様々な実験方法を紹介するとともに、ムシ達人類の21世紀における関わりを概説した。

『演 題』 シルクの今昔を科学するーこれからのシルクを考える

農学博士 一田 昌利

日時・場所
対象者
講演要旨

平成13年11月11日 帝塚山大学短期大学部
日本蚕糸学会関西支部会
シルクのブランド化、古くて新しいシルク作りなど、今後のシルク産業の方向性を中心とした講演を行った。

『演 題』 これまでの蚕・これからの蚕

農学博士 一田 昌利

日時・場所
対象者
講演要旨

平成13年11月29日 奈良県民文化会館
NPO法人 ATAC・MATE奈良発足記念会
これまでの蚕の歴史とこれからの蚕の発展の可能性について講演した。

『演 題』 新しいシルク素材

農学博士 一田 昌利

日時・場所
対象者
講演要旨

平成13年12月17日 ブライトンホテル
丹下 信 株式会社30周年記念講演
新しいシルク素材としての野蚕糸、特にクワコシルクを中心とした今後について講演した。

『演題』 作物害虫駆除の新戦略

農学博士 松本 継男

日時・場所
対象者
講演要旨

平成13年10月2日 中国 河北農業大学
教官および大学院生

昆虫病原微生物を概説し、昆虫に特異な疾病の存在とその感染様式を紹介した。そしてその病原微生物を用いての作物害虫の駆除と食物生産の増強を図る理念を述べ、今日的課題について議論した。

大学院学生および学部学生を中心に約60名、さらに15名の植物保護系教官と河北省研究所研究員の参加があった。

尚、本講演の一部は、日本学術振興会（日中共同研究）の支援を得た。

『演題』 北インドにおける養蚕開発事業について

農学博士 大槻 良樹

日時・場所
対象者
講演要旨

平成13年6月15日
国際蚕糸専門家協会会員 蚕糸会館会議室

インド北東のマニプール州とマディヤプラディシュ州では、州政府が1998年から日本の海外経済協力基金（現在は日本輸出入銀行と合併して国際銀行に改組）による円借款を利用して養蚕開発事業を実施している。この事業は自分の土地と定収入が無い人々に公共の土地を提供し、繭と生糸の生産・販売によって彼らの生活の向上と安定を促すことが目的で、家蚕と野蚕の両分野を対象に実施されている。

演者はこの事業に家蚕の専門家として参画し、飼育技術の指導を担当した。事業開始から3年間に、5人の農民に供与された3haの土地に新しい桑品種栽培法・桑園管理法を導入した高生産性の桑園を造成した。また、桑園に隣接して1回の飼育規模が蚕種量で10箱の壮蚕飼育棟を建てた。更に、優れた二化性交雑種を導入して、稚蚕共同飼育と条桑による壮蚕共同飼育を組合せた試験飼育を行った。その結果、農民5人で1年間に5～6回飼育し、繭1,000Kgの生産が可能なが実証された。この事業は今後7年間継続され、農民5人が単位の生産拠点数を増やす計画である。

発行 2002年3月15日

発行所 財団法人 衣笠会

〒603-8326

京都市北区北野下白梅町29

TEL. 075-461-5949

FAX. 075-463-6679

印刷 為国印刷株式会社

TEL. 075-462-7889