ISSN 0916-2674
CODEN: TDGHFG

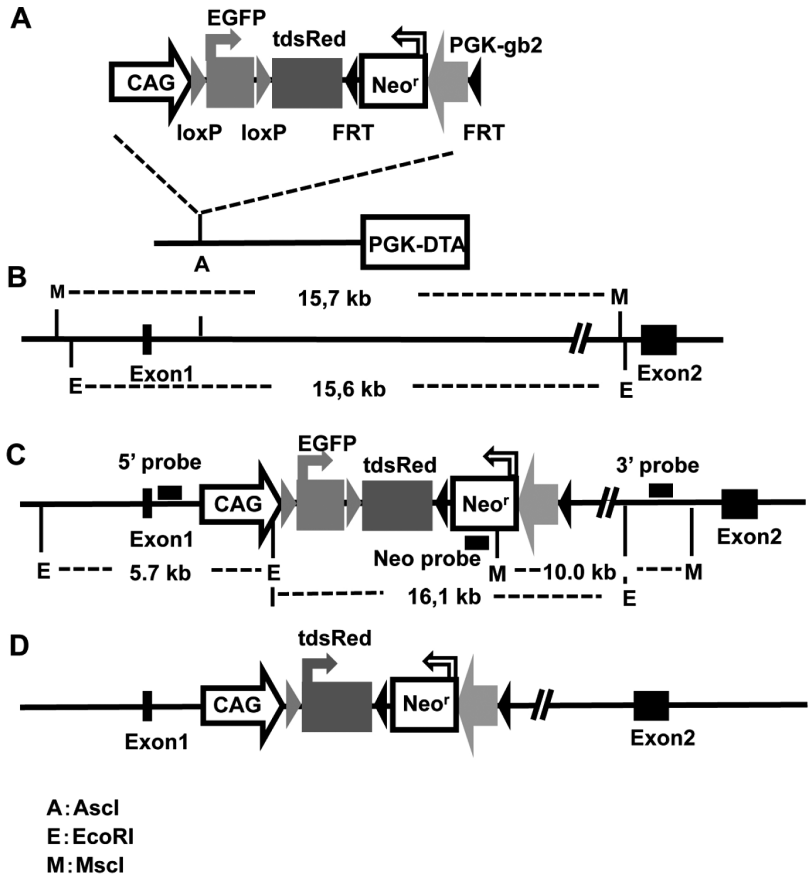
# 筑波大学
# 技術報告

## No. 36

TECHNICAL REPORT, UNIVERSITY OF TSUKUBA

2016

第15回筑波大学技術職員技術発表会報告集
http://www.tech.tsukuba.ac.jp/2015/



『筑波大学技術報告』No.36の発刊によせて

本学では、技術職員の業績や活躍を広く学内外に紹介すること等を目的として、『筑波大学技術報告』を長年継続して発刊してきており、本年度はNo.36が発刊される運びとなりました。

本報告書は「第15回筑波大学技術職員技術発表会」(平成28年3月9日開催)における発表論文等及び技術職員からの投稿論文により構成されております。これは、教育・研究支援活動に携わる多忙な日常業務の中で、本学の技術職員が創意工夫をこらした、長時間にわたる研鑽や努力の成果報告です。

本発表会は、技術職員の全学的な活動の一環として定着し、準備段階において、技術発表会への積極的な参加・発表の奨励・啓発や学外者の参加を呼びかける広報活動等、今後のあり方の議論を含めて、技術発表会の開催や運営に関して大きな努力が払われてきています。本報告書をご覧いただけるとお分かりの通り今回は『研究』にやや偏った印象があります。技術職員の日々の業績や活躍を広く紹介するという趣旨から考えると、『教育』や『社会貢献』など幅広く活動されている実態がわかるようになると良いかなと思います。

技術職員の職務は実験科学等の教育・研究支援活動のみならず、教材の作成、教育・研究機器の設置・維持管理、資料の整理、さらにIT関連技術等の広い範囲に拡がってきています。技術職員制度の将来設計と職場環境等改善に向けて、平成20年から検討が行われています。新たな技術職員組織体制の在り方について検討するために全学的に設置された「技術職員等の在り方検討タスクフォース」の第Ⅰ期では、全学的な研究基盤整備要因についての整備方針が打ち出され、環境安全管理、研究機器、情報の3分野について、全学的に管理し継承すべき技術（職員）として位置付けました。同第Ⅱ期では研究力向上のための技術職員の活用や残すべき技術の整理を課題として取り組みました。少子化、グローバル化、研究力強化など大学を取り巻く様々な課題の中で、また、大学全体の人件費の動向も見極めながら、将来設計を進めなければなりません。

本報告書の刊行により、本学技術職員の業績を広く学内外に紹介し、各方面より忌憚のない御意見や、御指導、御助言、激励等を頂くことができればと願っています。技術職員の育成と技術力を一層向上させるために、各方面の御支援をよろしくお願い致します。

平成 28 年 3 月　筑波大学　副学長・理事(研究担当)　三明康郎

# 目　次

## 技術報告

# 第15回筑波大学技術職員
# 技術発表会報告集

**開催日：2016 年 3 月 9 日**
**会場：筑波大学総合研究棟Ｂ 公開講義室**

筑波大学技術職員技術発表会公式ウエブサイト
http://www.tech.tsukuba.ac.jp/2015/

# 農林技術センターを活用した
# 附属病院精神神経科デイケア、
# リワークプログラムの企画推進

大宮　秀昭[a)]、松本　安広[a)]、羽田　舞子[b)]、新沼舘卓弥[b)]、小原　梨那[b)]、
石川　正憲[c)]、松﨑　朝樹[c)]、瀬古澤由彦[d)]、林　久喜[d)]
[a)] 筑波大学農林技術センター、[b)] 筑波大学附属病院、[c)] 筑波大学医学医療系、[d)] 筑波大学生命環境系
〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1

## 概要

うつ病を中心に復職支援を専門に行うリワークデイケアの実施施設や利用者の数は年々増加してきている。プログラム内容の多くはデスクワーク作業が中心であり、復職率、復職継続率が思うように上昇できていないのが現状である。

そこでプログラムの一つに農作業を取り入れ、「農業デイケアプログラム」として筑波大学附属病院と農林技術センターが共同で開始した。実施内容は、施設内で周年実施できる葉菜類の水耕栽培を基幹作業とすると共に、播種・定植から収穫までの一連の農作業や単発の作業を組み合わせた実施プログラムを作成し実施した。

葉菜類の水耕栽培では、播種する野菜を参加者間で相談して選定し、播種から収穫までの作業を技術職員の指導が無くとも実施できるようになった。また、参加者間の話し合いによる作業分担もできるようになった。参加者の入れ替わりがあった場合には、参加者同士で作業を教え合うこともできるようになってきており、本活動の導入と共にデイケアの実績が高まってきている。

キーワード:作業療法、農業デイケアプログラム、葉菜類水耕栽培、リワークデイケア

## １．はじめに

精神障害者の社会生活機能の回復を目的とした精神科デイケアの歴史は古く、半世紀以上に及んでいる。そのなかでもうつ病を中心に復職支援を専門に行うリワークデイケアは、10 年程前より国内でも行われるようになってきており、実施施設および利用者の数は年々増加してきている。内容としては文化系や運動系のレクレーションの他、作業系のプログラムが行われている。作業系プログラムではデスクワーク等の作業が多く行われているが、デスクワーク自体が休職原因となっている可能性もあり、疲労感、体力への不安、自信のなさなどから、復職率および復職後の継続率が思うように改善できていないのが現状である。

このような現状から筑波大学附属病院は、職場への再復帰を目指すリワークデイケアのプログラムの一つとして、農作業を取り入れることを提案し、農林技術センターではこれを受けて、年間を通じて様々な農作業を実施できるプログラムを開発し、実施した。

農業デイケアプログラムでは、土や作物に触れることで気分転換を図るとともに、農作業を通じて爽快感、達成感、自信の回復を図り、共同作業の中でコミュニケーション能力も高め、体力の向上と仕事復帰への自信を高めることにより、職場復帰が促進されることを目指した。

## ２．内容

2013 年 5 月に附属病院担当医師から農林技術センター教員にリワークデイケアのプログラムとして農作業を取り入れることができないかどうかの相談があった。これを受けて、農林技術センターではプログラムの開発、運営、推進を担うメンバーを選出し、附属病院の運営条件を聞きながら、農林技術センターで実施できる作業内容などについて数回の打合せを行った。打合せを通じて患者に対する理解も深まり、農作業実施上の安全性も確保できることが確認されたことから、2013 年 10 月から農業デイケアプログラムを開始した。プログラムには作業療法士および看護師が必ず付き添い、週 2 回、1 回 2 時間程度の農作業を農林技術センターで実施することとし、実際の技術指導は農林技術センター技術職員が行うこととした。通常で 8 名、最大で 15 名の患者が 1 回に受講し、2015 年 11 月 30 日までに延べ 193 回実施し、1,550 名が参加した。

年度別では、2013 年度（10～3 月）44 回、359 名、2014 年度 91 回、769 名、2015 年度（4～11 月）58 回、422 名の患者を受け入れている（表 1）。

実施内容は、実施月の前月に農林技術センターの各生産技術班（作物、園芸、畜産、農業機械、筑波実験林）に実施依頼を出し、各生産技術班から実施可能な内容および日時の提出を受け、事務局でこれを調整し、月ごとの実施プログラムを策定した。また毎月 1 回、大学附属病院の医師、作業療法士および看護師と農林技術センター担当者でスタッフミーティングを行い、実施内容や実施上の問題点、要望などの検討を行いながらプログラムの見直しを逐次行っている。

表 1. 農業デイケアプログラム参加者数

| 年度 | 延べ参加者数(名) | 実施回数(回) | 受講者数(名/1回) |
|---|---|---|---|
| 2013 | 359 | 44 | 8.2 |
| 2014 | 769 | 91 | 8.5 |
| 2015 | 422 | 58 | 7.3 |
| 計 | 1550 | 193 | 8.0 |

プログラムの実施日時が予め決まっており、また、屋外の作業は天候の影響を受け実施できないこともあることから、施設内で周年実施できる葉菜類の水耕栽培を基幹作業とし、不意に屋外作業が中止となっても作業ができるようにした。一方、播種・定植から収穫までの一連の作業を体験することで、作物を育てる難しさと育てる喜び、並びに自分で作り上げた達成感を得てもらうことを活動の中心に置いた内容を各生産技術班で構築できるように調整した。園芸班では、野菜関係ではダイコン、ナスの播種・定植から収穫まで、果樹関係では、ナシの人工授粉から収穫、キウイフルーツの摘蕾から収穫までの作業を実施した。作物班では、畑作ではコムギの播種から刈取り、調製、製粉までの作業とうどん作り、水稲では播種から刈取り、脱穀、籾摺りまでの作業と米の試食を実施した。筑波実験林では、キノコの植菌から収穫までの作業を実施した（表 2）。

表 2. プログラム内容（中心となる作業）

| 関係部門 | 実施内容 | |
|---|---|---|
| 園芸 | 露地野菜 | ダイコン：播種～収穫 |
| | | ナス：播種・鉢上げ・定植～収穫 |
| | | ハクサイ：定植～収穫 |
| | 施設野菜 | 葉菜類の水耕栽培：播種、定植、収穫 |
| | 果樹類 | ナシ：人工授粉～収穫 |
| | | キウイフルーツ：摘蕾～収穫 |
| 作物 | 畑作 | コムギ：播種～刈取り、調製、製粉、うどん作り |
| | 水田 | 水稲：播種～刈取り、脱穀、籾摺り、試食 |
| 筑波実験林 | キノコ | 植菌～収穫 |

これら一連の作業を実施するプログラムに加えて、補完的で単発的な作業として次のような多様な分野・内容を実施した。園芸班では、露地圃場の除草や温室周囲の芝刈り、ブドウの袋掛け、花木園整理など、作物班では、サツマイモの収穫・調製、赤米の選別と試食、農業機械班では管理機を用いた除草作業、畜産班では牛舎内掃除や乳牛のブラッシング、筑波実験林では生垣の刈込み、薪割りなどである（表 3）。

表 3. プログラム内容（その他、単発的な作業）

| 関係部門 | 実施内容 | |
|---|---|---|
| 園芸 | 露地野菜 | 手取り除草 |
| | 施設野菜 | トマト・ミニトマト：収穫・撤去 |
| | 果樹類 | ブドウ：袋掛け、収穫、剪定 |
| | | カキ：脱渋処理 |
| | | ブルーベリー：収穫 |
| | 花木園 | 手取り除草 |
| | 環境整備 | 調製室・温室周囲芝刈り |
| 作物 | 畑作 | サツマイモ：収穫・調製 |
| | 水田 | 赤米：選別・試食 |
| 筑波実験林 | 生垣刈込み | ドウダン、シモツケ |
| | その他 | 薪割り |
| 畜産 | 乳牛 | 牛舎内掃除、稲藁運搬 |
| | | 乳牛のブラッシング |
| 農業機械 | 管理機 | 使用方法 |

生産した作物は作業者が持ち帰って自分で生産したものを食べて成果を確認できるようにし、家族や友人に生産物を分け与えられるようにした。生産や調製作業に係わったミズナなどの葉菜類やダイコンは農林技術センター産農産物として販売した。また、コムギでは自ら栽培・収穫・調製したものを製粉し、うどんに加工して食べ、米では栽培に係わったコシヒカリを含む多様な米品種の食べ比べを実施した。

葉菜類の水耕栽培では、栽培使用養液槽（1.3m × 22m）6 レーンのうち、農業デイケアプログラム専用養液槽を、2013 年度は 1 レーン、2014 年度は 3 レーン、2015 年度は 2 レーン設定して、播種から収穫まで、年間約 30 作を実施した（図 1）。これに加え農林技術センターが生産する販売用の 2 レーンの栽培作業にも係わって作業している。なお、参加者の労働負荷の面から、温室内気温が 40 度以上になる夏季は栽培作業を行わないことにした。

図 1. 栽培使用養液槽

活動を始めた頃は参加者同士の会話が少なかったものの、参加者自身が播種した種が芽吹き、定植し、大きく生長するにつれて、作物を育てる難しさや楽しさを知る一方、作業にも慣れてきて、作業のやり方を教え合ったり、作業中に話しをしたりしながら活動できるようになった。また、播種する野菜を参加者間で相談して選定し、播種から収穫までの作業を技術職員の指導が無くとも計画立案して実施できるようにもなった。参加者個々が作業の種類による得意、不得意も分かるようになるに伴い、参加者間の話し合いによって作業分担もできるようになった。

調製作業は判断する内容が含まれるため難易度の高い作業であるが、参加回数を増すごとにこれらの難しい作業も徐々にできるようになってきている。また、参加者の入れ替わりがあった場合であっても、作業手順や作業のこつを教え合い、参加者だけで円滑に栽培作業を進めることができるようになってきている（図 2）。

図 2. 葉菜類の水耕栽培（定植作業）

## ３．その他

開始当初は、作業時の体調不良、怪我などに対するマニュアルがなかったことから、病院スタッフに依頼し、「外出時対応マニュアル」が作成され、作業中の安全性にも対応できるようにした。しかし、参加者によっては、自身の判断で休憩を取ることが難しいことから、状況に応じて技術職員や病院スタッフが判断し、適度な休憩を取り入れるようにしている。

また、平成 27 年度から農業デイケアプログラムの参加者が生産に携わった野菜については、本プログラム参加者が生産に関わったことを示す専用シールを貼附すると共に、ポスターを掲示して販売することにした。この掲示をみることで、より強い達成感、満足感が得られる効果を期待できると考えた。なお、専用シールおよびポスターは参加者自らが制作したものである（図 3、図 4）。更に、2015 年 10 月 27 日（火）にイオンモールつくばで行われた販売イベントでは、スタッフの一員として 4 名が販売に参加した。

病院スタッフからは本プログラム開始当初から参加者が自ら作付けを計画して栽培を行う圃場区画がほしいとの要望が出されていた。そこで 2015 年度から 1a 程度の区画を貸し付け、6 月にはエダマメ、ピーマンを、9 月からはニンジン、ホウレンソウを減農薬で栽培した。

今後は病院スタッフと共同で本プログラムの治療効果の検証を行うと共に、更なるプログラムの改良を実施していきたい。


図 3. デイケア農産物販売専用シール


図 4. デイケア参加者が制作したポスター

## ４．謝辞

農業デイケアプログラムの実施にあたり個別技術の指導をいただいた農林技術センター技術室の秋葉よしえ、伊藤睦、伊藤百世、岡田一男、軽部潔、斎藤明、酒井一雄、佐藤美穂、菅原慶子、比企弘、本間毅、松岡瑞樹、山田秀雄、山本倫成、横山和人、吉田勝弘、米川和範の皆様に深く感謝申し上げます。

# Planning and Promotion of Return to Work Program at Day Care Center, Department of Psychiatry, Tsukuba University Hospital, Supported by Agricultural and Forestry Research Center

Hideaki Omiya[a)], Yasuhiro Matsumoto[a)], Maiko Haneda[b)], Takuya Shinnumadate[b)], Rina Obara[b)], Masanori Ishikawa[c)], Tomoki Matsuzaki[c)], Yoshihiko Sekozawa[d)] and Hisayoshi Hayashi[d)]

[a)] Agricultural and Forestry Research Center, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Ibaraki, 305-8577 Japan
[b)] University of Tsukuba Hospital, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Ibaraki, 305-8576 Japan
[c)] Faculty of Medicine, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Ibaraki, 305-8575 Japan
[d)] Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Ibaraki, 305-8577 Japan

**Abstract** The number of facilities and users of the return to work (RTW) day- care center which provide Hypochondria sufferers with program for reemployment are increasing every year. However, contents in the most of programs are concentrated on desk work resulting in lower RTW rate or shorter working period after RTW than expected. In order to improve RTW day car program. Tsukuba university hospital and Agricultural and Forestry Research Center developed a new day-care program containing farm work. The key content in this program is hydroponics of leafy vegetables. This program also contains not only series of cultivation process such as sowing, transplanting, and harvest in consecutive order, but also many other individual programs. Participants acquired skills for selecting seeds for cultivation, sowing harvest by communicating within group. In addition, participants achieved their ability to educate newcomers. These results proved that a new program was very useful and achieved objectives of RTW day-care program as well.

***Keywords:*** Occupational therapy, Hydroponics, Leafy vegetables, Agricultural day care program, Return to work day care

# サクラソウ園芸品種の保存と普及活動

吉田　勝弘[a)]、伊藤　百世[a)]、水田　大輝[b)]、大澤　良[b)]
[a)]筑波大学農林技術センター技術室、[b)]筑波大学生命環境系
[a)]〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1
[b)]〒305-8572 茨城県つくば市天王台1-1-1

## 概要

農林技術センターでは、2000 年当初からサクラソウ園芸品種の収集と保存に力を入れてきた。現在、その数は 320 品種を超え、国内有数のサクラソウ園芸品種コレクションの保全機関となっている。しかし、一箇所での保存は天災や病害虫などの影響により収集した園芸品種が失われてしまう危険性を常にはらんでいる。そこで、貴重なサクラソウコレクションの保存・維持の安全性確保のため市民の協力を基盤とする里親制度を立ち上げ、市民と共に保存活動を行っている。また、毎年、さくらそう展を国立科学博物館筑波実験植物園と共催し、保有するサクラソウ園芸品種を一般に公開して、その価値を伝えている。

**キーワード:** サクラソウ園芸品種、遺伝資源保全、大学、市民

## １．はじめに

サクラソウの園芸品種の歴史は古く、江戸時代に多くの品種が作り出された。享保年間に出版された「地錦抄附録」には花弁表裏の色が異なる花や絞り咲きの花など 8 種類の変わり花が掲載されている。さらに、天保年間に出版された「櫻草作傳法」では鑑賞方法にも独自の作法が紹介され、日本の園芸文化を考察する上でもサクラソウ園芸品種の存在は重要である。しかし、このような古典園芸植物は、戦争など時代の情勢による影響から大きな損失を受けたり、栽培の難しい品種がいつの間にか消失するようなケースが多く、歴史的資産の保全ということだけではなく将来的の遺伝資源として、可能な限り現存の品種を安定的に保存することが望ましい。

## ２．園芸品種の保存

### 2.1 保存と収集

サクラソウ園芸品種のコレクション数は、開学当時の 1980 年代では 30 品種、その後 1990 年代には 93 品種に増加した。2004 年には埼玉県より 221 品種を譲渡されたことで 314 品種となり、国内有数となった。さらに、2006 年には国立民族博物館より 81 品種導入した。その後、異名や記載されたラベルの間違いなどを整理し、現有品種数は 320 品種となった。その後も静岡県の加茂花菖蒲園や埼玉県花と緑の振興センターなどから導入しており、花の形質を確認し品種の同定後に保存品種数に加える予定である。

現在、当センターでは 1 品種 4 鉢で栽培しており、1280 鉢を超えるサクラソウ園芸品種を管理している。

### 2.2 栽培

当センターにおけるサクラソウの栽培暦を図 1 に示した。1 月に用土(小粒の赤玉土 : 鹿沼土 : 腐葉土＝ 3 : 3 : 4、中粒のマグァンプ K((株)ハイポネクスジャパン) 1 g/L)やプラスチック鉢(4.5 号鉢)、ラベルなどを準備し、2 月に芽分け･植付けを行う。芽分けでは、一鉢に複数株が入った鉢土を崩して 1 株ごとに分け、各株に形成された全ての芽を折り分ける(図 2 上)。植付けは、その後の管理をしやすくするために大小 2 種類の専用カップを使って用土の量を揃えている。芽の向きは、植付ける 3 芽全ての向きが合わないように一方方向に統一して芽の深さ 3 cm 程度に覆土する。さらに、増し土をするためのウォータースペース(灌水の際に水が溜まる場所)を多めに確保する(図 2 下)。開花が終わる 6 月から地上部が枯死する 8 月までは、増し土や除草、枯葉取りなどの作業を行う。なお、増し土はサクラソウ特有の作業で地上へ飛び出した芽を覆土する作業である。

### 2.3 品種維持の問題点と対策

サクラソウ品種には花色・花形・咲き方が極めて類似した品種があり、同定が難しい。320 品種ものサクラソウを一箇所で集中して栽培する際、ラベル落ちと植付け時の混植、こぼれた種子の発芽や切れた根による繁殖に注意を払う必要がある。また、芽分け･植付け作業は 2 月に集中するため人員とその作業スペースの確保も難しい。

これら問題の対策として、以下のことに注意をして作業を行っている。①導入した品種は、花を確認してから当センターのコレクションに加えている。②鉢ごとに通常の挿しラベルと鉢底ラベルの 2 つを付け、風や鉢の倒伏等で挿しラベルが無くなった場合でも鉢底ラベルで品種の確認ができるようにしている。③芽分け・植付け時には作業者同士の間隔をあけて作業し、複数の品種を扱う中で次の品種をやる時は残った芽や根、古い土などが無い状態にしてから次の作業を始めることで混植を防いでいる。④花が終わったら結実しないよう直ちに摘花をしている。

サクラソウの花は個体によって変異を起こすことがある。そのため、正確な品種保存をするためには、花が咲き揃った 5 月に花の形質確認を行い、花の変異が確認されたら、直ちに移植を行い廃棄している。

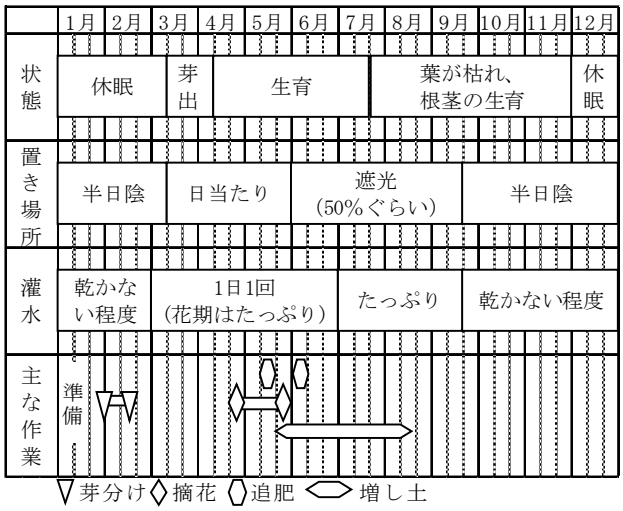



図 1. 農林技術センターにおけるサクラソウ栽培暦

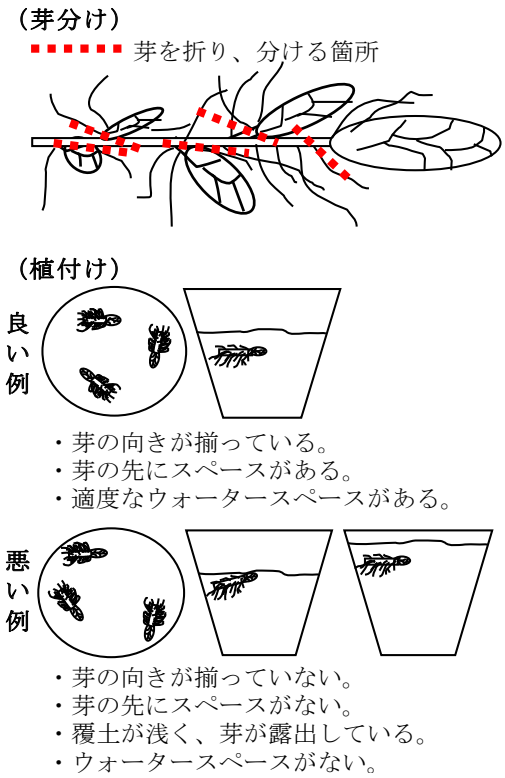



図 2. サクラソウの地下茎と新芽の植付け方

## 3. 普及活動

### 3.1 里親制度

2005 年 2 月に、筑波大学と NPO 法人つくばアーバンガーデニング(TUG)が共同で「さくらそう里親の会」を立ち上げた。この制度は、大学が維持・管理しているサクラソウを市民と共に保存し、損失リスクを低減するものとして結成された(図 3)。つまり、大学(当センター)での保存個体をメインコレクション、市民の保存個体をサブコレクションとして、何らかの問題で大学のサクラソウ園芸品種が枯死した場合、市民が保存しているサブコレクションを大学へ戻してもらうことで、大学のメインコレクションの維持を図るものである。

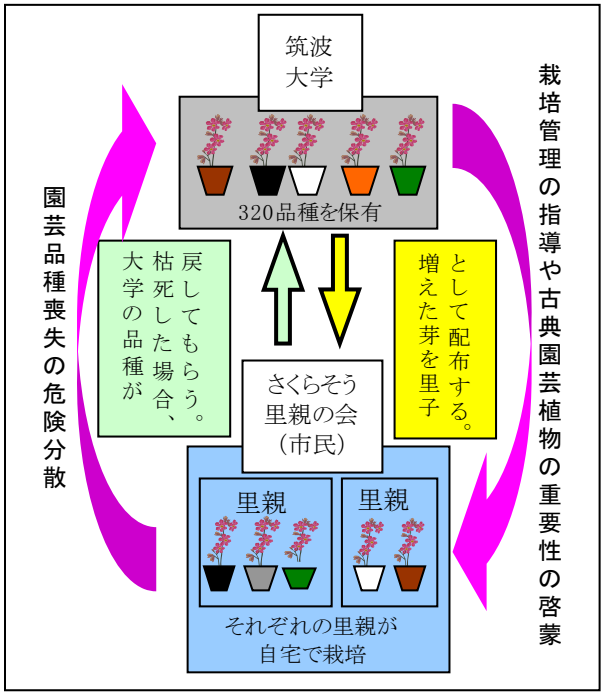



図 3. 大学と市民による里親制度

2005 年の里親制度発足時には、10 名の里親に 20 品種の里子が登録され、その後、里親と里子品種数は増加し、2015 年には 95 名の里親と 263 品種の里子が登録された(図 4)。里親は、芽分け作業時に里子として 2 品種を登録してその場で植付けし、自宅で栽培する。その後、栽培経験の長さにより 1～2 品種の里子が追加される。また、里親は、1 年に 1 回の頻度で生育状況の報告を行い、毎年 2 月に行われる芽分け・植付け作業に参加する。

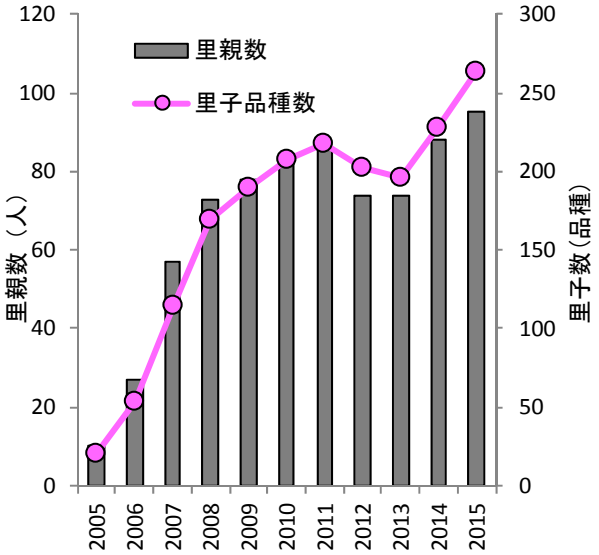



図 4. 里親数と里子数の推移

### 3.2　里親による芽分け・植付け作業

里親制度発足時、筑波大学の教職員と生物生産システム学実習を履修している学生、蔬菜花卉学研究室および植物育種学研究室の学生、市民、TUG メンバーによる芽分け・植付け作業が始まった。2005 年の初回は 1 日間で行われ教職員 5 名、学生 13 名、TUG 4 名と里親 10 名の合計 32 名で実施された。2015 年は 2 日間行われ、参加した教職員、学生、市民を合わせて、のべ 83 名となり初回の 2.6 倍の人数が芽分け・植付け作業に参加した(図 5)。この作業では、市民の方が自己流にならないように技術職員が毎年、芽分け・植付け方のポイントや間違いやすい点を指導している。

図 5. 里親との芽分け作業

### 3.3 さくらそう展

2006 年より、毎年 4 月に(独)国立科学博物館筑波実験植物園において「さくらそう展」を開催している。この「さくらそう展」では、筑波大学におけるサクラソウ研究で明らかになった最新の知見の紹介や当センターが栽培しているサクラソウ園芸品種と里親が自宅で育てた里子品種を展示している。また、里親はボランティアとして、植物園の来訪者にサクラソウの栽培方法や里親制度の説明を行っている。このような展示の機会を作り、取り組みの説明を通して里親となった市民のサクラソウ園芸品種の保全への取り組みに対するモチベーションと品種保存の責任感を維持する効果がある(図 6)。

図 6. 大学の保存品種と里子品種の展示

この「さくらそう展」では、江戸時代からの伝統的鑑賞法である「桜草花壇」を当センターが復元し、公開展示している。「桜草花壇」では、サクラソウの花色・花形・咲き方等で並べ方の様式(作法)が決められており、その様子を実際に鑑賞してもらうことで日本人独特の花に対する美意識についても紹介している(図 7)。

図 7. 伝統的鑑賞法である「桜草花壇」

## ４．今後の取り組み

今後は、全品種を里子品種として登録できるように里親の拡充と 1 人当たりの里子品種数を増やす計画をしている。また、芽分け・植付け作業の参加者が約 80 名と多いため栽培の未経験者を指導できる里親リーダーの育成を行いたいと考えている。さらに、より詳細なサクラソウの生長特性に関する情報を得るため開花特性などフェノロジー調査を行い、新たな形質をもったサクラソウの作出を目的として園芸品種の育種(交配親)利用についても検討していく予定である。

# Conservation and advertisement activity of *Primula sieboldii* cultivars

Katsuhiro Yoshida[a)], Momoyo Ito[a)], Daiki Mizuta[b)], Ryo Ohsawa[b)]
[a)] Technical Service Office for Agricultural and Forestry Research Center, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8577 Japan
[b)] Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8572 Japan

In the Agricultural and Forestry Research Center, we have collected and conserved *Primula sieboldii* cultivars from 2000s. At present, we collected more than 320 cultivars, which represent one of the largest Japanese collections. However, there is a possibility of cultivars loss by natural disaster, disease and pest, when all of them are cultivated in one same place. Therefore, we launched a cooperative genetic resources bank for conservation and maintenance of valuable *Primula sieboldii* cultivars. This cooperative conservation activity is performed by our research center and citizens. In addition, a " Primrose exhibition " is held every year by our research center and Tsukuba Botanical Garden to show *Primula sieboldii* cultivars to the general public. In these occasions, visitors can get informations about various *Primula sieboldii* cultivar's values.

***Keywords:*** Citizens, Genetic resources conservation, *Primula sieboldii* cultivar, University.

# 八ヶ岳演習林「恵みの森」一般開放に向けた取組み

井波　明宏[a)]、杉山　昌典[a)]、篠原　満[b)]、永井　真理[b)]

[a)] 筑波大学農林技術センター技術室(八ヶ岳演習林)、[b)] 筑波大学生命環境エリア支援室(八ヶ岳演習林)

〒384-1305 長野県南佐久郡南牧村野辺山462-4

## 概要

「恵みの森」は、2015 年 10 月 10 日から一般開放しました。初日は一般開放の式典と地元の野辺山にある 3 機関(国立天文台野辺山、信州大学農学部野辺山ステーション、筑波大学八ヶ岳演習林)で第 2 回の地元感謝デーのイベントを開催しました。「恵みの森」では (1)安全に森林管理を経験できる実習の場、(2)生物の保全やそれにかわかる調査・研究、(3)地域に開放し、気軽に散策できる場、(4)自前で管理できる林として、改めて当敷地内の利活用を見直しました。

**キーワード：**恵みの森、一般開放

## １．はじめに

図 1.「恵みの森」正門

筑波大学「恵みの森」は、長野県の八ヶ岳・川上演習林[1]内の 3 つある管理地のうちのひとつで、管理事務の拠点となる旧八ヶ岳演習林 5 林班と呼ばれた面積 14ha の敷地です(図 1)。国立天文台野辺山、信州大学農学部野辺山ステーションの 2 研究機関が隣接し、比較的に交通の便も良い場所です。

しかし、それとは裏腹に閉ざされた環境との印象を地元周辺に与えていたようです。これはカラマツ・ストローブマツの防風林が高さ 20m を超えるまで成長し敷地周辺を囲っていたこともあります。開設当時より学生実習、調査・研究、それらの拠点として活動してきたものの、いまひとつその存在は薄いとのようでした。

八ヶ岳・川上演習林の森林管理計画(2006-2015)において、当敷地は通常管理と施設利用以外に管理方針や利活用について明確に示していませんでした。

これらを踏まえて、藤岡(現)八ヶ岳・川上演習林長が 2013 年 4 月の八ヶ岳班内の月例打ち合わせの際に八ヶ岳演習林 5 林班についての将来構想の素案を提示し、「恵みの森」構想としてスタートさせました。

そして「恵みの森」として 2015 年 10 月 10 日より一般開放しました。また、昨年が第 1 回目で今年(本学が当番校)が 2 回目となる隣接 2 研究機関と協働の地元向けイベント、地元感謝デーを一般開放初日の式典と併せ、午後の部として催しました。

## ２．「恵みの森」の設計概要

キーワードは広葉樹若齢林、薪炭林、一般開放、住民参加です。敷地の利活用を大胆に改め、八ヶ岳・川上演習林の他の 2 管理地との差別化を図りました。目標、ポイントして(1)伐採や新植等を安全に経験できる実習の場や、(2)かく乱依存型生物の保全や研究の場として活用するとともに、(3)きのこや山菜が採れて気楽に散歩できる森として地域に開放し、(4)将来にわたって直営管理できる林とすることです。

## ３．管理方針

### 3.1 ゾーニング

森林管理計画(2006-2015)に明記された既存管理区分を変更し、「恵みの森」として、改に敷地を 1)薪炭林・若齢林ゾーン、2)見本林・保存林ゾーン、3)森の食のゾーン、4)防風林ゾーン、5)草花ゾーン、6)湿生植物ゾーンにゾーニングしました(図 2)。


図 2.「恵みの森」三つ折りパンフレット（内面）

[a)] E-mail: yatsuen@nourin.tsukuba.ac.jp Tel: 0267-98-2412.

[1] http://www.nourin.tsukuba.ac.jp/~forest/

## 3.2 一般開放までの準備

[防風林の伐採]

防風林については、2011 年度より部分的な伐採を細々と委託で行ってきました。急速に進んだのは 2013 年度後半から 2014 年度前半で、周囲防風林は敷地北側(現見本林・保存林ゾーン)を除き一斉に伐採されました（約 6ha）。

[縦断遊歩道と歩行者用南門の新設]

恵みの森の南側に歩行者用の南門を新設(図 3)し、正門から南門までの遊歩道を整備しました（全長約 670m）。これにより、JR 野辺山駅から国立天文台野辺山までの近道となり、恵みの森を気軽に通っていただけるようになりました。恵みの森遊歩道は一部防風林伐採の残材をチップにして敷きました。

[来客用駐車場の整備]

旧宿舎跡地を恵みの森の来客用駐車場として整備しました。

[案内看板等の設置]

正門、南門、駐車場に一般開放案内看板を、また各ゾーンに説明板を設置しました。

図 3.「恵みの森」南門と案内看板等

## 3.3 一般開放式典

10 月 10 日、準備不足等の不安をよそに予定通り恵みの森を一般開放しました。一般開放初日は 11 : 00 よりオープニングセレモニーを行いました。日頃お世話になっている地元の南牧村、川上村、天文台、信州大学、南佐久南部森林組合の方々をお招きしました(13 名)。また、この日のために大学から吉川理事・副学長をはじめ関係役職者の方においでいただきました(4 名)。図 4 はテープカット終了後の記念撮影です。

図 4. 記念撮影

## 3.4 第 2 回地元感謝デー

10 月 10 日 13 : 30 からは地元感謝デーとして、4 カ所のスポットを巡る森林・樹木ラリーを恵みの森の紹介もかね催しました。樹木当てクイズ、火おこし体験、顕微鏡ミクロ観察等を実施しました。16 : 30 からからは、3 研究機関の 3 演者による講演会と質問会を南牧村公共施設内にて実施しました。一般 76 名の参加があり、概ね好評でした。図 5 は感謝デー開催のお知らせのための A4 チラシで、新聞折り込みチラシとして地元新聞配達店、地元関係機関に配布しました。


図 5. 地元感謝デーのチラシ

## 4. 恵みの森の今後と課題

- 2016 年度より活動できる地域住民からなる森づくりサポーター(ボランティア)を募集します。
- 現段階では各ゾーンの機能をほとんど発揮できていません。樹木の生育に時間を要する等の課題もありますが、名ばかりとならないように努めます。
- 急速に進めた伐採は、以前の環境を一変させました。以前の環境を調査・研究の対象に考えていた研究者等も少なからずいたと考えます。そこで、その方々のためにも、恵みの森になって良かったと思っていただける森づくりをしなくてはいけないと考えています。

## 謝辞

恵みの森の立役者は八ヶ岳・川上演習林長の藤岡正博准教授です。著者らは八ヶ岳・川上演習林のスタッフとして共に活動しました。ここに謹んでご指導ご鞭撻を戴き感謝申し上げます。さらに、一般開放に際し、戒能農林技術センター長、津村演習林総括、筑波実験林スタッフ、井川演習林スタッフ、筑波大学学生等、多くの方々にご支援とご協力を戴きました。この場をお借りしてお礼を申し上げます。大変ありがとうございました。

# Activities to the general opening of “ Megumi no mori ” at the Yatsugatake Forest

Akihiro Inami[a)], Masanori Sugiyama[a)], Mitsuru Shinohara[b)], Mari Nagai[b)]

[a)] Technical Service Office for Agricultural and Forestry Research Center, Yatsugatake Forest, University of Tsukuba, 462-4 Nobeyama, Minamimaki, Minamisakugun, Nagano, 384-1305 Japan
[b)] Academic Service Office for the Life and Environmental Sciences Area, Yatsugatake Forest, University of Tsukuba, 462-4 Nobeyama, Minamimaki, Minamisakugun, Nagano, 384-1305 Japan

***Keywords:*** Megumi no mori, General opening

# 奨励研究のすすめ

## ― 教育的・社会的貢献と自己研鑽 ―

伊藤　伸一

筑波大学数理物質科学等技術室

〒305-8573 茨城県つくば市天王台 1-1-1

## 概要

独立行政法人日本学術振興会が、国立大学や高等専門学校、あるいは小、中、高等学校等に勤務する職員等が行う研究を奨励している制度がある。いわゆる科学研究費（科研費）・奨励研究である。本報告では、その概要、応募申請から採択、研究および成果の公表、そして今後の展望について述べる。

**キーワード：**科研費、奨励研究、日本学術振興会

## １．はじめに

科研費・奨励研究は、小学校・中学校・高等学校・中等教育学校・特別支援学校・幼稚園・専修学校の教員、教育委員会の所管に属する教育・研究機関の職員、企業の職員又はこれら以外の者で科学研究を行っている者（大学等の研究機関の常勤の研究者等を除く。）が一人で行う研究で、大学等の研究機関で行われないような教育的・社会的意義を有する研究（商品・役務の開発・販売等を直接の目的とする研究（市場動向調査を含む。）及び業として行う受託研究を除く。）を助成し、奨励することを目的とするものである[1]。本学では、過去に何人もの教室系技術職員が応募し、採択されてきた。それらの詳しい内容については、公表されているので課題番号で検索することができる[2-20]。業務に関連するかまたは、それぞれの技術職員の専門分野における研究が行われている。本報告では、筆者の経験をもとに、応募申請から採択、研究の実施とその後の成果発表までを例を挙げて報告するとともに、今後若い人たちへ参考となる事柄について述べる。

## ２．応募申請から採択まで

前節で述べたように、奨励研究は技術職員等が一人で行う研究で、教育的・社会的意義を有する研究が奨励されている。ここが重要である。業務（本学の）に関連していることであれば、教育的・社会的に意義はあると考えるが、申請書類の書き方によってうまく審査員へ伝えることが重要である。研究のテーマは最も重要で、何を明らかにするかといったことが簡潔に書かれていなければならない。

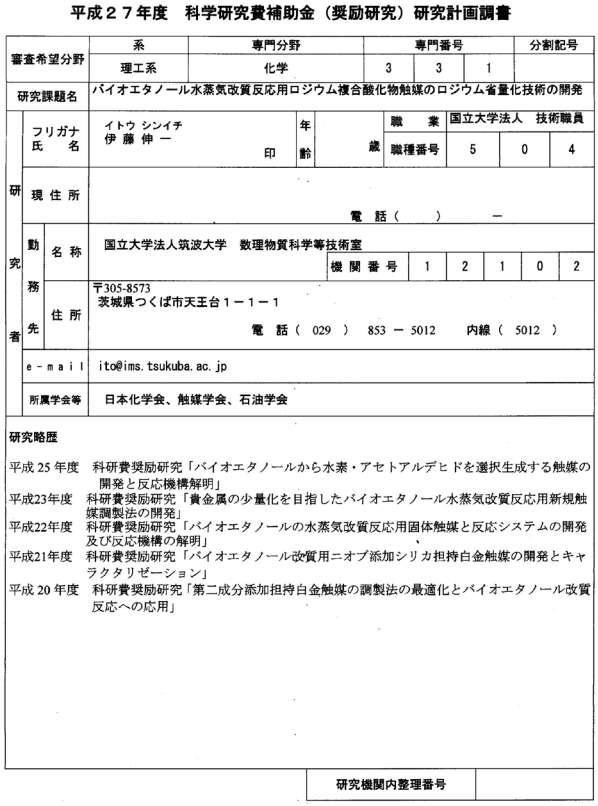
奨励研究は単年度で行われるもので、申請はその前年度の 11 月頃に行う。応募書類は次の 3 種類である。

１．科研費補助金（奨励研究）研究計画調書
２．科研費補助金（奨励研究）応募カード
３．科研費助成事業（科研費補助金）（奨励研究）に係る応募等の諸手続及び管理の委任状

なお、上記の書類は大学等の機関において研究を行う場合のものであり、個人で行う場合は異なる。

図 1 に科研費補助金（奨励研究）研究計画調書の例を示した。研究計画調書は 4 ページでそれぞれのページに必要事項を記入する。図1は1ページ目で、上から審査希望分野、研究課題名（40 字以内）、研究者氏名、職業、職種、現住所、勤務先、メールアドレス、所属学会等、研究略歴となっている。筆者の場合審査希望分野は、理工系、化学分野で専門番号は 331 である。勤務先については、機関番号が与えられており、別表から読み取り記入した。所属学会等は、なければ記入しない。研究略歴については、これまでの活動や科研費等の実績があれば記入する。

図 2 は研究計画調書の 2 ページ目で、研究目的・計画・方法を記入するもので、これから行おうとする研究の意義を理解してもらうための最も重要な箇所であり、じっくり考えて記入する必要がある。科研費の審査員はその分野の専門家であるが、全く同じテーマで研究している方であれば、多少出来の悪文章でもある程度理解してもらえるだろうが、それ



平成２７年度　科学研究費補助金（奨励研究）研究計画調書

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 審査希望分野 | 系 | 専門分野 | 専門番号 | | | 分割記号 | | |
| | 理工系 | 化学 | 3 | 3 | 1 | | | |
| 研究課題名 | バイオエタノール水蒸気改質反応用ロジウム複合酸化物触媒のロジウム省量化技術の開発 | | | | | | | |
| 研究者 | フリガナ<br>氏　名 | イトウ シンイチ<br>伊 藤 伸 一　印 | 年齢 | 歳 | 職　業 | 国立大学法人　技術職員 | | |
| | | | | | 職種番号 | 5 | 0 | 4 |
| | 現 住 所 | 電　話（　　）　－ | | | | | | |
| | 勤務先 名称 | 国立大学法人筑波大学　数理物質科学等技術室 | | | 機 関 番 号 | 1 | 2 | 1 | 0 | 2 |
| | 勤務先 住所 | 〒305-8573<br>茨城県つくば市天王台１－１－１<br>電　話（ 029 ） 853 － 5012　内線（ 5012 ） | | | | | | |
| | e－mail | ito@ims.tsukuba.ac.jp | | | | | | |
| | 所属学会等 | 日本化学会、触媒学会、石油学会 | | | | | | |

研究略歴

平成 25 年度　科研費奨励研究「バイオエタノールから水素・アセトアルデヒドを選択生成する触媒の開発と反応機構解明」
平成23年度　科研費奨励研究「貴金属の少量化を目指したバイオエタノール水蒸気改質反応用新規触媒調製法の開発」
平成22年度　科研費奨励研究「バイオエタノールの水蒸気改質反応用固体触媒と反応システムの開発及び反応機構の解明」
平成21年度　科研費奨励研究「バイオエタノール改質用ニオブ添加シリカ担持白金触媒の開発とキャラクタリゼーション」
平成 20 年度　科研費奨励研究「第二成分添加担持白金触媒の調製法の最適化とバイオエタノール改質反応への応用」

| | |
|---|---|
| 研究機関内整理番号 | |

（注）１．作成に当たっては、「奨励研究　研究計画調書作成・記入要領」を参照してください。
２．「研究機関内整理番号」は、委任を受け入れた研究機関の担当者が記入してください。

-1-

図 1　研究計画調書の 1 ページ目

**研究目的・計画・方法**

本欄には、本研究種目の目的（大学等の研究機関で行われないような教育的・社会的意義を有する研究）に留意し、どのような背景（本研究を応募するに当たり、普段に思った経緯等）、問題意識で、研究期間（1年）で何をどこまで明らかにしようとしているのか、本研究の特色及び予想される結果と意義が分かるように研究目的を具体的に記述するとともに、下記の点に留意し、その目的を達成するための研究計画・方法を簡明に記述してください。記述に当たっては、公募要領8頁を参考にしてください。

① 研究計画を遂行するにあたって、相手方の同意・協力を必要とする研究、個人情報の取り扱いの配慮を必要とする研究、生命倫理・安全対策に対する配慮を必要とする研究など法令等に基づく手続きが必要な研究が含まれている場合に、どのような対策と措置を講じるのか記述してください。
　例えば、個人情報を伴うアンケート調査・インタビュー調査、提供を受けた試料の使用、ヒト遺伝子解析研究、組換えＤＮＡ実験、動物実験など、勤務先等内外の倫理委員会等における承認手続きが必要となる調査・研究・実験などが対象となります。
　なお、該当しない場合には、その旨記述してください。
② これまでに本研究計画に関連する研究を行っている場合には、その過程（成果を含む）や準備状況等についても記述してください。
③ 研究を実施する場所や設備等は確保されているのか（あるいはその必要はないのか）など、本研究計画を遂行するための研究環境についても記述してください。
④ 研究計画・方法に照らし、研究経費の妥当性・必要性・積算根拠について記述し、各費目（設備備品費、旅費、人件費・謝金）が全体の研究経費の５０％を超える場合及びその他の費目で、特に大きな割合を占める経費がある場合には、当該経費の必要性（内訳等）を記述してください。
⑤ 企業の職員については、業として行う研究との相違点についても記述してください。

**【社会的背景】**

地球温暖化の原因物質の一つであり世界的に見てもっとも排出量の多い二酸化炭素の環境への排出を抑制するため、あるいは石油資源の枯渇による代替資源の必要性から、再生可能資源であるバイオマスやバイオエタノールの有効利用が注目されている。バイオエタノールは、植物由来の糖質を発酵させて作られ、その利用がより一層推進されると考えられる。これまでに申請者が行ってきた担持貴金属触媒によるバイオエタノールの水蒸気改質反応の研究で、担持白金触媒にニオブ酸化物などを添加することで、その両者の相互作用により、触媒活性の増大と、水素およびアセトアルデヒドが選択的に生成することがわかった。水素は燃料電池の燃料として、アセトアルデヒドは化学工業品の原料になることから、この研究の社会的意義は大きい。

**【これまでの経緯と本研究の目的】**

これまでに申請者は、シリカ担体（二酸化ケイ素粉末）やアルミナ担体（酸化アルミニウム粉末）に白金を2 wt%担持し、ニオブやバナジウムなどの酸化物を第二成分として添加した触媒を用いて、エタノールの水蒸気改質反応を行ってきた。その結果、白金だけを担持した触媒に比べて、ニオブやバナジウムの酸化物を添加した触媒は、エタノール転化率が200℃という比較的低い温度にもかかわらず30%から80%へ約3倍も顕著に増加し、水素とアセトアルデヒドが選択的に生成することがわかった。これらの成果については、特許登録、日本化学会年会や国際会議、触媒学会討論会、専門誌に発表してきた（3頁、1、3-8を参照）。予備的な実験で、担持白金触媒に変えて担持ロジウム触媒（どちらも第二成分は添加していない）を用いた場合、同様な結果が得られたため、本研究では白金に比べて酸化ニオブや酸化バナジウムとより強い相互作用を示すロジウムを担持した触媒に焦点をあてて研究を進める。シリカに担持したロジウムは、第二成分としてニオブやバナジウムを添加し空気中で高温焼成すると複合酸化物（$RhNbO_4$, $RhVO_4$）を生成する。この複合酸化物は200℃以上の水素還元処理で分解し、ロジウムともう一方の酸化物に分解するが、このとき双方が強く相互作用することがわかっている（3頁、2を参照）。これを利用してエタノールの（水蒸気）改質反応を行い、水素・アセトアルデヒドの選択的生成を目指す。ロジウムは白金族元素の中では比較的高価であることからロジウムの省量化として、ロジウムに化学的性質が近いとされる周期律表のロジウムと同じ縦の列にあるコバルトや、コバルトに近い鉄、ニッケル等をロジウムの代替として一定割合含有し、なおかつニオブ酸化物あるいはバナジウム酸化物を添加したロジウム－遷移金属複合酸化物触媒を開発し、低コストで高活性、高選択性触媒の開発研究を進める。

**【研究計画】**

本研究について、上記注意事項の①の、第三者あるいは倫理委員会等に承諾を得るものには該当しない。研究は触媒調製を始めの一月で行う。シリカ担体にロジウムを担持し、コバルトまたは鉄またはニッケルを添加し、さらにニオブまたはバナジウムを一定割合添加した6種類の触媒を調製し反応実験を行う。その中で活性および選択性の高い触媒について、ロジウム担持量を減らし各元素の割合を変えた触媒を8種類調製し反応実験を行う。触媒のキャラクタリゼーションとして、X線回折測定（ロジウム微粒子の分散度測定）及びガス吸着量測定（ロジウムと添加金属の酸化物との相互作用の確認）を行う。特にガス吸着量測定については、吸着ガスの種類を変えるなどで反応の活性点がロジウムにあるのか、もう一方の酸化物にあるのか、あるいはその境界表面にあるのかを検討する。また、透過型電子顕微鏡による微細構造の観察も検討する。成果の公表は、触媒学会・触媒討論会あるいは日本化学会年会等で発表する。また、国際的な専門誌である Catalysis Communications または Catalysis Letters への投稿を検討する。

**【研究環境と研究経費について】**

実験のための場所と反応装置は、これまでにも申請者が使用してきており、いつでも実験・研究を開始できる。また、触媒のキャラクタリゼーションとしてX線回折測定、ガス吸着量測定を行うがこれらの装置の使用も許可されており問題ない。次の消耗品は購入する必要がある。反応液を反応器に供給するマイクロシリンジ、触媒調製のためのロジウム塩、ニオブやバナジウムなどの一般試薬類と反応物であるエタノール、触媒反応を行うための石英製反応器、ガス配管用継手（実験ごとに交換するテフロンフェルール等）、ガスクロマトグラフ分析のためのキャリヤガスとしてアルゴンガス、ヘリウムガス、分析用カラム充填剤（Porapak Q、モレキュラーシーブ）と記録用紙、微細構造観察のための電子顕微鏡観察用消耗品としてマイクログリッド等、研究用ノート（一月に一冊で12冊）が必要である。金額については、市販の理化学機器カタログを参照し算出した。

- 2 -

図 2　研究計画調書の 2 ページ目

**最近発表した主要な研究成果**

本欄には、これまでに発表した論文、著書、産業財産権、招待講演等主要なものを選定し、現在から順に発表年次を過去にさかのぼり記入してください。なお、学術誌へ投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限ります。

**発表論文名・著者名　等**

例えば発表論文の場合、論文名、著者名、掲載誌名、査読の有無、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）について記入してください。（以上の各項目が記載されていれば、項目の順序を入れ替えても可。）

1. 伊藤伸一、“ニオブ添加担持白金触媒によるエタノールの水蒸気改質反応”、日本化学会第94春季年会、講演番号：2PA-010（平成26年3月28日）。
2. 伊藤伸一、“【解説】担持貴金属触媒における強い金属・酸化物相互作用　－SMSIからSMOIへの展開と今後の研究動向－”、触媒、査読あり、54巻1号、（2012）52-57。
3. 伊藤伸一、“金属酸化物添加担持白金触媒によるエタノールの水蒸気改質反応　－反応装置の製作と触媒活性試験結果－”、筑波大学技術報告、査読なし、No.31、（2011）1-7。
4. **Shin-ichi Ito**, Hisanori Tanaka, Shuichi Koso, Kimio Kunimori, Yoshinao Nakagawa, Keiichi Tomishige, “Steam reforming of ethanol over metal-oxide-promoted Pt/$SiO_2$ catalysts: Effects of strong metal-oxide interaction (SMOI), Pacifichem 2010（環太平洋国際化学会議2010）, Poster session, ALTE 478, Dec 19, 2010, Hawaii convention center.
5. **Shin-ichi Ito**, Keiichi Tomishige, “Steam reforming of ethanol over metal-oxide-promoted Pt/$SiO_2$ catalysts: Effects of strong metal-oxide interaction (SMOI)”, *Catalysis Communications*, Vol. **12**, (2010) 157-160.（査読あり）
6. 伊藤伸一、高祖修一、田中久教、中川善直、冨重圭一、“酸化ニオブ添加Pt/$SiO_2$触媒によるエタノールの水蒸気改質反応　－SMOIの効果とニオブ添加量依存性－”、第105回触媒討論会（2010春、京都）ポスター発表、平成22年3月24日、講演番号1P03。
7. 伊藤伸一、田中久教、冨重圭一、“Nb添加Pt/$SiO_2$触媒によるエタノールの水蒸気改質反応　－強い金属・酸化物相互作用の効果－”、第104回触媒討論会（2009秋、宮崎）口頭発表、平成21年9月29日、講演番号3E20。
8. 伊藤伸一、冨重圭一、国森公夫、“酸化物添加$SiO_2$担持Pt触媒によるエタノールの水蒸気改質反応”、日本化学会第89春季年会、平成21年3月28日、講演番号2PB-028。

**特許**：伊藤伸一、冨重圭一、“酸化物添加担持白金触媒の製造方法および酸化物添加担持白金触媒”、出願番号：特願2009-193736、特許出願日：平成21年8月25日、特許登録日：平成26年9月26日、特許番号：第5618315号。他1件。

| 研究推薦者・指導者氏名 | 職業・学位 | 推薦理由又は研究指導方法 |
|---|---|---|
| | | |

（注）研究推薦者又は指導者が複数いる場合は、点線で区切って記入してください。

- 3 -

図 3　研究計画調書の 3 ページ目

| 研究経費 | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 研究経費合計 | 802千円 | | | |
| 使用内訳 | | | | |
| 設備備品費 | 消耗品費 | 旅費 | 人件費・謝金 | その他 |
| 0千円 | 701千円 | 65千円 | 0千円 | 36千円 |

（金額単位：千円）

| 設備備品費の明細 | | 消耗品費の明細 | |
|---|---|---|---|
| 品名・仕様（数量×単価） | 金額 | 品名 | 金額 |
| なし | 0 | マイクロシリンジ（4本） | 48 |
| | | 塩化ロジウム三水和物 6g | 204 |
| | | 硝酸ロジウム 10%溶液 5g | 106 |
| | | エタノールその他の一般試薬 | 20 |
| | | 高圧ガス（アルゴン、ヘリウム） | 35 |
| | | ガス配管用継ぎ手（テフロンフェルール等消耗品） | 116 |
| | | ガスクロマトグラフ消耗品（カラム充填剤、記録紙） | 85 |
| | | 反応用石英反応管 | 20 |
| | | 電子顕微鏡観察用消耗品（マイクログリッド等） | 50 |
| | | 研究用ノート（12冊） | 17 |
| 計 | 0 | 計 | 701 |

| 旅費の明細 | | 人件費・謝金の明細 | | その他の明細 | |
|---|---|---|---|---|---|
| 事項 | 金額 | 事項 | 金額 | 事項 | 金額 |
| 第116回触媒討論会参加旅費（三重大学、平成27年9月16日～9月18日）、3泊4日 | 57 | なし | 0 | 触媒討論会参加費（2回分） | 16 |
| 第117回触媒討論会参加旅費（東京都内または近県2日、日帰り） | 8 | | | ポスター印刷費 | 20 |
| 計 | 65 | 計 | 0 | 計 | 36 |

（注）「研究経費合計」欄、「使用内訳」の各欄は千円単位で記入してください。

- 4 -

図 4　研究計画調書の 4 ページ目

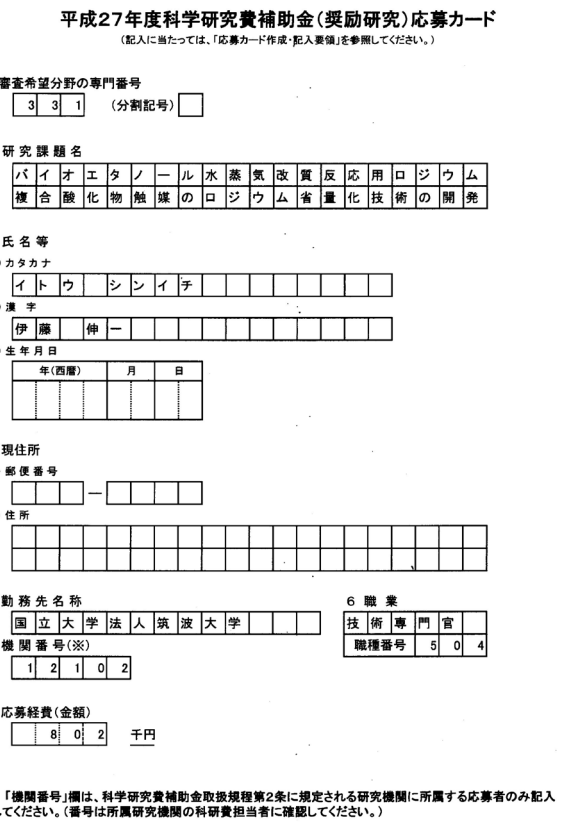
なりに努力を強要するものになるから、途中で匙をなげられるかもしれない。常に読み手のことを考えてわかりやすく、簡潔に述べる必要がある。また、上部に注意書きがあり、よく読み込んで齟齬のないように記入する。平成 27 年度の奨励研究に応募した際には、ここでは「社会的背景」、「これまでの研究の経緯と本研究の目的」、「研究計画」、「研究環境と研究経費について」の 4 つの項目を記入した。社会的背景では、奨励研究の意義の一つである社会的な利点を説明する必要がある。どのようなことが問題としてあり、それをどう解決していくかということである。同様のテーマを継続して研究してきている場合には、「これまでの研究の経緯と本研究の目的」の中で述べればよいが、全く初めてのテーマであれば、「社会的背景」と一つにまとめて説明しても良い。筆者の場合、「社会的背景」では、地球温暖化物質である二酸化炭素の排出抑制と、石油資源の枯渇対策として、再生可能な資源としてバイオエタノールが注目されている中で、これを原料に水蒸気改質反応を行い工業的に重要な水素とアセトアルデヒドを高効率、選択的に生成する触媒の開発が社会的意義としてあることを説明した。筆者が奨励研究に応募し、採択されたのは、2008 年度が初めであったので、「これまでの経緯と本研究の目的」では、関連のある触媒研究について述べた。3 つ目の項目の「研究計画」は、具体的にどのような実験なり、調査なりをいつまでに行うか記入した。これに関連して、「研究環境と研究経費について」では、どこで実験を行うか、そのための設備・消耗品等、

研究を進める上で必要なものについて記入した。ここで重要なことは、研究を行う場所が確保されているかどうかということと、研究を行う上で調査を行う場合、第三者の個人情報の保護などの対策がとられていることが必要となる。この点については、あらかじめ、周囲の了解を得ておくほうが良い。

図 3 には研究計画調書の 3 ページ目を示した。このページの前半では、申請時の最近の成果発表について記入する。技術報告などでの発表も成果の一つとして示すとよい。後半では、この申請する奨励研究について、指導してくださる教員等がいれば、その方の氏名、職名、推薦理由または指導方法を記入する。先程、奨励研究は一人で行うものということを述べたが、指導してくださる方がいる場合は、記入したほうが良い。特に初めて奨励研究を行う場合は、その方が良い。また、いない場合でも助言を得られる方を探しておき、その旨記入しておくと良い。

図 4 は研究経費一覧で、奨励研究を実施するために必要な経費を算出し、記入する。筆者の場合、今回は 30 万円を超えるような備品の申請はしなかった。消耗品類、情報収集と成果発表のための学会への出張旅費、その他として学会の参加費と発表用ポスター制作費である。学会での発表は、研究を初めてすぐには難しいが、あらかじめ経験があり、成果が期待できるものであれば、申請しておくと良い。それぞれの金額についてはカタログ等で調べておき、計算ミスのないよう注意する。

図 5 は応募カードで、研究分野の専門番号、研究課題名、氏名、住所、勤務先、職業、応募経費を記入する。



平成27年度科学研究費補助金（奨励研究）応募カード

（記入に当たっては、「応募カード作成・記入要領」を参照してください。）

1 審査希望分野の専門番号
3 3 1 （分割記号）

2 研究課題名
バイオエタノール水蒸気改質反応用ロジウム
複合酸化物触媒のロジウム省量化技術の開発

3 氏名等
(1) カタカナ
イトウ シンイチ
(2) 漢字
伊藤 伸一
(3) 生年月日
年（西暦） 月 日

4 現住所
(1) 郵便番号
(2) 住所

5 勤務先名称
国立大学法人筑波大学
機関番号（※）
1 2 1 0 2

6 職業
技術専門官
職種番号 5 0 4

7 応募経費（金額）
8 0 2 千円

※「機関番号」欄は、科学研究費補助金取扱規程第2条に規定される研究機関に所属する応募者のみ記入してください。（番号は所属研究機関の科研費担当者に確認してください。）

図 5　応募カード

研究課題名は 40 字以内と決められているので、研究内容とよく一致してわかりやすく記入する必要がある。また、濁点などのついた文字は、一文字としてカウントされる。一番下の欄は、応募経費（金額）で研究計画調書の 4 ページ目に示した合計金額を記入する。

応募申請は、11 月頃であるが、採択が可となれば、実施年度の 4 月初めに連絡がある。この時、認められる補助金の額が示される。それに合わせて交付申請書を定められた期日までに提出する。図 6 と図 7 に交付申請書を示した。図 6 は 1 ページ目で、研究代表者の勤務先・住所・連絡先、自宅住所・連絡先、氏名を記載する。研究課題名と補助金の使途予定内訳を記入する。内訳は物品費、旅費、人件費・謝金、その他で合計額は認められた補助金額となるようにする。応募申請の際よりも、認められる補助金額が少なくなる場合があるが、そこは工夫して対応する。図 7 は交付申請書の 2 ページ目で、研究の目的と研究実施計画を応募申請と同様に記入する。

なお、採択されなかった場合は 4 月下旬頃にその旨連絡があるが、その理由と、同じ審査希望分野の採択されなかった他の申請と比較してどの程度のレベルにあるかという情報についても示されるので、次回の参考になる。筆者の経験では、申請した課題が奨励研究の目的（教育的・社会的意義）と合致しているかどうかということと、申請する経費の内訳（備品・消耗品等のバランス）などが可否を決めるポイントとなるのだろうと考えている。

様式 A−32−1

平成27年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）交付申請書

独立行政法人
日本学術振興会理事長 殿

平成 27 年 4 月 6 日

研究代表者の勤務先住所・連絡先及び名称：〒 305 − 8577 茨城県つくば市天王台1−1−1 電話番号 ( ) − 勤務先名称 筑波大学

研究代表者の自宅住所・連絡先：〒 − 電話番号 ( ) − メールアドレス

フリガナ イトウ シンイチ

研究代表者の氏名 伊藤 伸一 印

次のとおり研究を実施したいので、科学研究費助成事業（科学研究費補助金）（奨励研究）の交付を申請します。
なお、交付された補助金は、補助条件に従い適正に使用します。

研究課題名：バイオエタノール水蒸気改質反応用ロジウム複合酸化物触媒のロジウム省量化技術の開発

補助金額（マイナス応）

| 合計 | 費目別内訳 | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 物品費 | 旅費 | 人件費・謝金 | その他 |
| 400,000 円 | 316,000 円 | 58,000 円 | 0 円 | 26,000 円 |

補助金の使途予定内訳

| 支出費目 | 品名・仕様等 | 数量 | 単価(円) | 金額(円) |
|---|---|---|---|---|
| 物品費 | マイクロシリンジ | 2 | 11,000 | 22,000 |
| | 塩化ロジウム三水和物 1 g | 2 | 34,000 | 68,000 |
| | 硝酸ロジウム9%溶液 5 mL | 2 | 57,000 | 114,000 |
| | エタノール等一般試薬類 | 1 | 20,000 | 20,000 |
| | 高圧ガスおよびガス配管継手 | 1 | 53,000 | 53,000 |
| | ビーカー等ガラス器具、るつぼ | 1 | 10,000 | 10,000 |
| | ガスクロマトグラフ消耗品 | 1 | 29,000 | 29,000 |
| 旅費 | 第116回触媒討論会参加旅費（三重大学） | | | 50,000 |
| | 第117回触媒討論会参加旅費（東京近郊） | | | 8,000 |
| 人件費・謝金 | | | | |
| その他 | 触媒討論会参加費 | | | 16,000 |
| | ポスター印刷費 | | | 10,000 |

研究種目：奨励研究　課題番号：15H00294

経費管理担当者・部局・職・氏名　部局・職　氏名

(1)

図 6　補助金交付申請書の 1 ページ目

研究の目的

エタノールの水蒸気改質反応により水素とアセトアルデヒドを選択的に生成するロジウム系触媒のロジウム使用量を省量化するための触媒調製技術を開発する。これまでに申請者が行ってきた担持貴金属触媒によるバイオエタノールの水蒸気改質反応の研究で、担持白金触媒にニオブ酸化物などを添加することで、その両者の相互作用により、触媒活性の増大と、水素およびアセトアルデヒドが選択的に生成することがわかった。水素は燃料電池の燃料として、アセトアルデヒドは化学工業品の原料になることから、この研究の社会的意義は大きい。これまでに申請者は、シリカ担体（二酸化ケイ素粉末）やアルミナ担体（酸化アルミニウム粉末）に白金を2wt%担持し、ニオブやバナジウムなどの酸化物を第二成分として添加した触媒を用いて、エタノールの水蒸気改質反応を行ってきた。その結果、白金だけを担持した触媒に比べて、ニオブやバナジウムの酸化物を添加した触媒は、エタノールの転化率が200℃という比較的低い温度にもかかわらず30%から80%へ約3倍も顕著に増加し、水素とアセトアルデヒドが選択的に生成することがわかった。予備的な実験で、担持白金触媒に変えて担持ロジウム触媒（どちらも第二成分は添加していない）を用いた場合、同様な結果が得られたため、本研究では白金に比べて酸化ニオブや酸化バナジウムとより強い相互作用を示すロジウムを担持した触媒に焦点をあてて研究を進める。シリカに担持したロジウムは、第二成分としてニオブやバナジウムを添加し空気中で高温焼成すると複合酸化物（$RhNbO_4$, $RhVO_4$）を生成する。この複合酸化物は200℃以上の水素還元処理で分解し、ロジウムともう一方の酸化物に分解するが、このとき双方が強く相互作用することがわかっている。これを利用してエタノールの（水蒸気）改質反応を行い、水素・アセトアルデヒドの選択的生成を目指す。ロジウムは白金族元素の中では比較的高価であることからロジウムの省量化として、ロジウムに化学的性質が近いとされる周期表のロジウムと同じ縦の列にあるコバルトや、コバルトに近い鉄、ニッケル等をロジウムの代替として一定割合含有し、なおかつニオブ酸化物あるいはバナジウム酸化物を添加したロジウム－遷移金属複合酸化物触媒を開発し、低コストで高活性、高選択性触媒の開発研究を進める。

研究実施計画

研究は触媒調製を始めの一月で行う。シリカ担体にロジウムを担持し、コバルトまたは鉄またはニッケルを添加し、さらにニオブまたはバナジウムを一定割合添加した6種類の触媒を調製し反応実験を行う。その中で活性および選択性の高い触媒について、ロジウム担持量を減らし各元素の割合を変えた触媒を8種類調製し反応実験を行う。反応実験は、エタノールと水で反応液を調製するが、組成はバイオエタノール（発酵によって生成する）と同等の濃度に調製する。マイクロシリンジとポンプを使用して一定速度で触媒層へ供給し、反応生成物をガスクロマトグラフで検出、定量し、触媒の活性ならびに生成物選択性を評価する。触媒のキャラクタリゼーションとして、X線回折測定（ロジウムと微粒子の分散度測定）及びガス吸着量測定（ロジウムと添加金属の酸化物との相互作用の確認）を行う。特にガス吸着量測定については、吸着ガスの種類を変えるなどで反応の活性点がロジウムにあるのか、もう一方の酸化物にあるのか、あるいはその境界表面にあるのかを検討する。また、透過型電子顕微鏡による微細構造の観察も検討する。成果の公表は、触媒学会・触媒討論会あるいは日本化学会年会等で発表する。また、国際的な専門誌である Catalysis Communications または Catalysis Letters への投稿を検討する。また、筑波大学技術職員技術発表会での発表および筑波大学発行の「技術報告」への発表を行う。

（2）

図 7　補助金交付申請書の 2 ページ目

様式 C－33

平成２５年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 1 2 1 0 2
（該当者のみ）

2. (a)研究機関名　国立大学法人　筑波大学
(b)勤務先の名称

3. 研究種目名　奨励研究

4. 研究期間　平成２５年度

5. 課題番号 2 5 9 1 5 0 0 5

6. 研究課題名　バイオエタノールから水素・アセトアルデヒドを選択生成する触媒の開発と反応機構解明

7. 研究代表者

| 研究代表者名 | 所属部局名 | 職名／職業 |
|---|---|---|
| イトウ　シンイチ<br>伊藤　伸一 | 数理物質科学等技術室 | 技術専門官 |

8. 研究実績の概要

下欄には、本年度に行った研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600 字～800 字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でﾃﾞｰﾀﾍﾞｰｽ化するため、図、ｸﾞﾗﾌ等は記載しないこと。

石油資源の枯渇による代替資源の必要性や、地球温暖化の原因となる二酸化炭素の排出抑制が求められている背景から、バイオエタノールから水素・アセトアルデヒドを選択的に生成する触媒の開発と反応機構解明を目的として研究を行った。

これまで、シリカ（二酸化ケイ素）を担体として白金を担持した触媒に遷移金属の酸化物を添加することで、エタノールの水蒸気改質反応の活性に顕著な効果を見出している。今回アルミナ（三酸化二アルミニウム）を担体として白金を担持し、ニオブ酸化物を添加した触媒を用いてエタノールの水蒸気改質反応を行った。アルミナを担体に用いた理由は、白金の高分散化を目的としてより効率の良い触媒反応を目指した。その結果、アルミナに白金だけを担持した触媒に比べて、ニオブ酸化物を添加することで、エタノールの転化率が向上することがわかった。生成物の選択性については大きな違いは見られなかった。一方、比較のためにニオブ酸化物に白金を担持した触媒を用いた結果、エタノールの転化率が向上するとともに、生成物の選択性に顕著な違いが見られた。それは、生成物として水素とアセトアルデヒドが主に生成し、当初の研究目的を達成するものであった。実験の結果、白金とニオブ酸化物が強く相互作用しており、エタノールの脱水素反応が促進され、なおかつその生成物であるアセトアルデヒドのメタンや一酸化炭素への分解が抑制されていることがわかった。

今回得られた結果については期待以上のものがあり、日本化学会の春季年会において発表した（平成26年3月28日、名古屋大学）。

※　成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4 判縦長横書 1 枚)を添付すること。

9. キーワード

(1)強い金属と担体との相互作用（SMSI）(2)強い金属と酸化物の相互作用（SMOI）(3)水素製造

（裏面に続く）

図 8　研究実績報告書の 1 ページ目

## ３．研究の実施とその成果の公表

### 3.1 研究の実施

採択の可否がわかるのは 4 月初旬である。採択の内定が出たならば、研究経費の交付申請書類を提出し研究を始めることができる。あらかじめ、提出した計画に沿って進める。筆者の場合、はじめの一月で触媒調製を行い、その後、反応試験および触媒のキャラクタリゼーション（化学的・物理的特性を明らかにすること）を行う計画であった。実際には諸般の事情でやや遅れたが、6 月中にはほぼ計画通り実験が軌道に乗った。特に大学が夏季休業中は稼ぎ時である。なるべく時間を上手く使い、業務に支障がないよう進めた。9 月には、触媒学会・触媒討論会が開催された。参加することを検討したが、関連する発表がほとんどなかったため、次回以降の討論会への参加と成果を公表することにした。

### 3.2 成果の公表

公的資金である以上、当然のことながら成果を公表し社会へ還元しなければならない。その方法については、学会発表、論文発表、国際会議、新聞、雑誌などもあるが本学の技術職員にとってありがたいのが毎年 3 月に開催される技術発表会である。また、全国的に国立大学の技術職員により行われている技術研究会もその手段の一つである。本学の技術発表会について言えば、発表当日に口頭またはポスター

10. 研究発表（平成２５年度の研究成果）

〔雑誌論文〕　計（　）件　うち査読付論文 計（　）件

| 著者名 | 論文標題 |
|---|---|
| | |

| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

| 著者名 | 論文標題 |
|---|---|
| | |

| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

| 著者名 | 論文標題 |
|---|---|
| | |

| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

〔学会発表〕　計（ 1 ）件　うち招待講演 計（ 0 ）件

| 発表者名 | 発表標題 |
|---|---|
| 伊藤伸一 | ニオブ添加担持白金触媒によるエタノールの水蒸気改質反応 |

| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
|---|---|---|
| 日本化学会第94春季年会 | 平成26年3月28日 | 名古屋大学東山キャンパス |

〔図書〕　計（　）件

| 著者名 | 出版社 |
|---|---|
| | |

| 書名 | 発行年 | 総ページ数 |
|---|---|---|
| | | |

11. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計（　）件

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 出願年月日 | 国内・外国の別 |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | |

〔取得〕 計（　）件

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 取得年月日 | 国内・外国の別 |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | |

12. 備考

※　研究代表者、所属研究機関または勤務先が作成した研究内容又は研究成果に関するｗｅｂページがある場合は、ＵＲＬを記載すること。

日本化学会第 94 春季年会ホームページ：http://www.csj.jp/nenkai/94haru/index.html
（講演番号 2PA-010）

図 9　研究実績報告書の 2 ページ目

で行われるとともに、報告書が発行され、全国の国立大学図書館、国会図書館等に寄贈されている。また、近年ではインターネットによる公表も行われている。研究内容によって、どの場で発表するのが適切か検討して発表するとよい。さらに、これまでにない顕著な成果が得られたならば、特許申請も可能である。この場合、職務発明となるかどうかの審査を学内の審査委員会に提出し判断を仰ぐことになる。筆者の場合には、2008 年に行った奨励研究の成果を特許申請し、取得することができた[21]。なお、特許申請については、公表から 6 ヶ月を経過すると新規なものとはみなされず、特許申請ができなくなる。また、公表後直ちに特許申請する場合でも、学会などで発表する場合には、その発表証明書を学会から取得しておく必要がある。

平成 27 年度の奨励研究については、学会発表での発表を計画中である。その内容については、機会を見て紹介したい。

なお、発表に関しては必ず、奨励研究によって得られた成果であることを明記しなければならない。その文言についてはあらかじめ定められた書式による。

通常、奨励研究は単年度で行われ、その後、奨励研究実施の翌年度の初めに研究実績報告書（図 8, 9）および研究成果発表報告書（図 10）を提出する。研究実績報告書では、1 ページ目に研究実績の概要を、2 ページ目には実際に発表した雑誌論文、学会発表、図書、特許出願等について記述する。技術研究会や技術発表会における発表も記述する。

様式Ｃ－３７

平成 26 年 4 月 3 日

平成２５年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）（奨励研究）
による研究成果発表報告書

フリガナ
1．研究代表者氏名（(a)所属研究機関・部局・職／(b)勤務先名称・職業）：
伊藤伸一（いとうしんいち）（国立大学法人筑波大学・数理物質科学等技術室・技術専門官）

2．研究課題名（課題番号）：バイオエタノールから水素・アセトアルデヒドを選択生成する触媒の開発と反応機構解明（ 25915005 ）

3．研究発表

〔雑誌論文〕 計（ ）件　うち査読付論文 計（ ）件

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 |
| | | | | |

〔学会発表〕 計（ 1 ）件　うち招待講演 計（ 0 ）件

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---|---|---|
| 伊藤伸一 | ニオブ添加担持白金触媒によるエタノールの水蒸気改質反応 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 日本化学会第94春季年会 | 平成26年3月28日 | 名古屋大学東山キャンパス |

〔図書〕 計（ ）件

| 著者名 | 出版社 | |
|---|---|---|
| | | |
| 書名 | 発行年 | 総ページ数 |
| | | |

4．研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計（ ）件

| 産業財産権の名称 | 発明者名 | 権利者名 | 産業財産権の種類、番号 | 出願年月日 | 国内・外国の別 |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | |

〔取得〕 計（ ）件

| 産業財産権の名称 | 発明者名 | 権利者名 | 産業財産権の種類、番号 | 取得年月日 | 国内・外国の別 |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | |

| 機関番号（該当者のみ） |
|---|
| 1 2 1 0 2 |

図 10　研究成果発表報告書

研究成果発表報告書では、実績報告書に記載した発表について、同様に記載する。

## ４．今後の展望

奨励研究は、教育的・社会的意義のあるもので広く世間に役立つことが求められている。その成果はまた同時に、同じ分野で業務を担当している他の技術職員にとっても、役に立てられるものであろう。奨励研究の実施はその技術職員にとって励みとなり、成長に資するものでもある。かつて北関東国立大学等教室系技術職員研修（化学・茨城大学で実施）において、当時の理工学部長か人事部長かは定かでなくなってしまったが、その方の訓示は今も記憶に残っている。それは、「日々研鑽」である。研修は毎年一回、化学、情報、電気、機械などの専門分野を順番に行われていたが、訓示では毎日が技術職員にとって研修であるということであった。このことにとても感銘を受けた。今でも時々思い起こしている。教室系技術職員の場合、一つの専門分野でも、実際の業務は様々な技術を用いる必要があり、日頃から自己研鑽をしておくことが望まれると筆者は考えている。そういった意味でも、奨励研究に取り組むことは、重要である。本報告により、これまで奨励研究に興味を持たれなかった方にとって、敷居が低くなり、少しでも多くの技術職員が参加することができれば、社会にとってもまた、本学にとっても得られるものは多く、それはまた、筆者の喜びでもある。最後に、奨励研究などの研究成果を検索するためのインターネットのサイトを紹介しておく。それは、「日本の研究．com」である[22]。研究者名や課題名などのキーワードを入力することで検索することができるので、役立ててほしい。

## ５．おわりに

奨励研究はそれ自体、一人で行うことが前提となっているが、実際にはまわりの多くの方々の協力があってこそ、成し遂げられるものである。今回の奨励研究の実施にあたり、ご理解とご指導を賜りました筑波大学数理物質系、中村潤児教授、喜多英治教授（数理物質科学等技術室室長）、近藤剛弘准教授ほか教員各位に感謝申し上げます。諸手続きについて、特に申請書類の執筆について多大なご支援をいただきました本学数理物質エリア支援室の事務担当者各位にこの場を借りて感謝申し上げます。

参考文献

[1] 独立行政法人日本学術振興会ホームページおよび奨励研究ホームページ ; https://www.jsps.go.jp/index.html; https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/11_shourei/index.htht
[2] 科研費助成事業データベース：https://kaken.nii.ac.jp/
[3] 松山英治、科研費・奨励研究：光コム・ビート変調光照射ＳＴＭによるヘテロダインＳＴＳと量子電磁波分光、物理学分野、研究課題番号：26914006.
[4] 杉山昌典、科研費・奨励研究：ヤマネ・ヒメネズミ・小型鳥類の巣箱利用における巣穴の径と向きの関係、生物学Ⅱ（動物）分野、研究課題番号：26924006.
[5] 松岡瑞樹、科研費・奨励研究：低段密植栽培技術を用いたトマトの低コスト多収栽培のマニュアル化、農学・水産学分野、研究課題番号：26925018.

[6] 伊藤伸一、科研費・奨励研究：バイオエタノールから水素･アセトアルデヒドを選択生成する触媒の開発と反応機構解明、化学分野、研究課題番号：25915005.
[7] 井波明宏、科研費・奨励研究：乾燥化する中間湿原の植生動態の把握、生物学Ⅰ（植物）分野、研究課題番号：25923005.
[8] 田所千明、科研費・奨励研究：柔軟性を持つ漆の開発、農学・水産学分野、研究課題番号：24925013.
[9] 林剛人丸、科研費・奨励研究：工学と芸術の学際的研究による飛行する映像芸術の開発、工学Ⅴ（その他工学）分野、研究課題番号：23922011.
[10] 菅原慶子、科研費・奨励研究：有機質肥料の継続施用が水稲の生育と品質ならびに食味に及ぼす影響の生理学的解析、農学・水産学分野、研究課題番号：23925018.
[11] 中村貴子、科研費・奨励研究：DRD2 および ANKK1 周辺遺伝子のアルコール依存症との関連と人種間の遺伝子頻度、基礎医学分野、研究課題番号：22930025.
[12] 秋山佳代、科研費・奨励研究：単一アミノ酸反復配列欠失マウスの脳内神経伝達物質系の解析、生物学Ⅱ（動物）分野、研究課題番号：20918008.
[13] 伊藤百世、科研費・奨励研究：持続可能な開発のための農学教育(Ag-ESD)に関する調査研究、農学・水産学分野、研究課題番号：20925009.
[14] 本間毅、科研費・奨励研究：農業用トラクタヒッチ点位置制御による牽引車両の追従性向上の検討、農学・水産学分野、研究課題番号：20925027.
[15] 木澤祥恵、科研費・奨励研究：多様な環境で生育する食品微生物を培養･観察する実験方法についての検討、生活科学分野、研究課題番号：20934009.
[16] 柏木保人、科研費・奨励研究：金属粉によるセレン酸の常温化学還元反応速度の解析とセレン酸含有廃液処理装置の開発、化学分野、研究課題番号：19913004.
[17] 大谷理、科研費・奨励研究：自然エネルギーを利用した無線 LAN アンテナを用いた災害時情報伝達の研究、工学Ⅴ（その他工学）分野、研究課題番号：19921003.
[18] 横山和人、科研費・奨励研究：ソバの耕種的雑草防除機作に関する研究、農学・水産学分野、研究課題番号：18922028.
[19] 安達よしえ、科研費・奨励研究：乳牛の餌槽に侵入する野鳥の実態調査とその防除に関する試み、農学・水産学分野、研究課題番号：17922002.
[20] 山内勝晴、科研費・奨励研究：USB で制御する学生実験用音響伝達特性測定のためのバーチャル測定器の開発、工学Ⅱ（電気・電子・情報系）分野、研究課題番号：17918041.
[21] 特許番号：第 5618315 号、「エタノールの水蒸気改質用の酸化物添加担持白金触媒の製造方法およびエタノールの水蒸気改質用酸化物添加担持白金触媒」
[22] 日本の研究.com：https://research-er.jp/

# The recommendation to do educational and/or technical research by means of Grants in Aid (Kakenhi) for Japanese educators or engineers

Shin-ichi Ito

Graduate School of Pure and Applied Sciences, Technical Service Office for Pure and Applied Sciences,
University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8573 Japan

This is an opinion for the recommendation to do an encouragement research for Japanese educators or engineers. Japanese educators or engineers can propose the Grants in Aid (Kakenhi) for educational research and/or technical research. In this report, how to apply it were described for Japanese educators or engineers.

***Keywords:*** Grants in aid, Kakenhi, encouragement research, JSPS (Japan society for the promotion of science).

# ソフトウェアとハードウェア性能比較実験装置の開発

小野　雅晃
筑波大学システム情報工学等技術室
〒305-8573 茨城県つくば市天王台1-1-1

## 概要

近年、高性能なプロセッサに FPGA(Field Programmable Gate Array)が付属している Xilinx 社の Zynq や Altera 社の SoC FPGA などの SoC(System On a Chip)が作られるようになってきた。これらの SoC では、ARM プロセッサと FPGA が内部の AXI バスで密に結合され、プロセッサで行われる処理の一部を比較的簡単にハードウェア(FPGA)にオフロードすることができる。

本研究では、この特徴を利用して、Xilinx 社の Zynq を使用した学生実験用のソフトウェアとハードウェア性能比較実験装置（以下、実験装置とする）を開発した。

**キーワード：** Zynq、FPGA

## １．はじめに

本研究では、ソフトウェアとハードウェアの協調設計に関する学生の理解を深めるための実験装置を製作した。実験装置は、Xilinx 社の Zynq チップを搭載した ZYBO ボード 2 台と、FPGA のツールを搭載する超小型のパーソナルコンピュータを 1 つの箱に入れてコンパクトな形状とした。

Zynq チップは、Xilinx 社の ARM プロセッサと FPGA が 1 つの SoC として 1 チップに集積されている。この特徴から種々の機能を ARM プロセッサで動作するソフトウェアとして実装することも、FPGA で動作するハードウェアとして実装することも容易に行うことができる。

ZYBO ボードには、CMOS カメラを搭載して画像処理のための画像を取得できるようにした。その 2 台の ZYBO ボードの間を高速な HDMI ポートで接続した。そのため、実験装置 2 台で並列処理を行うことができる。なお、超小型のパーソナルコンピュータを全体制御用として設置し、実験の制御を行わせる。

実験装置で、画像のフィルタ処理を 1.～5.の条件で実行した時の実行時間を測定し、比較検討を行うことができた。

1. 最適化オプション無し、または複数のレベルの最適化オプションを付加した状態でコンパイルした時に、複数の異なる実装のラプラシアンフィルタ処理ソフトウェアを ARM プロセッサのみで実行した場合
2. 最適化オプション無し、または複数のレベルの最適化オプションを付加した状態で、ARM プロセッサ＋ SIMD(Single Instruction Multiple Data)エンジン NEON を使用するようにコンパイルした複数の実装のラプラシアンフィルタ処理ソフトウェアを実行した場合
3. OpenMP を使用して、1.と 2.を実行した場合
4. ソースコードを Vivado HLS でハードウェア(FPGA)にオフロードした場合（AXI バスのマスタアクセスを使用した）
5. HDL(Hardware Description Language)でハードウェア(FPGA)に画像フィルタを実装した場合

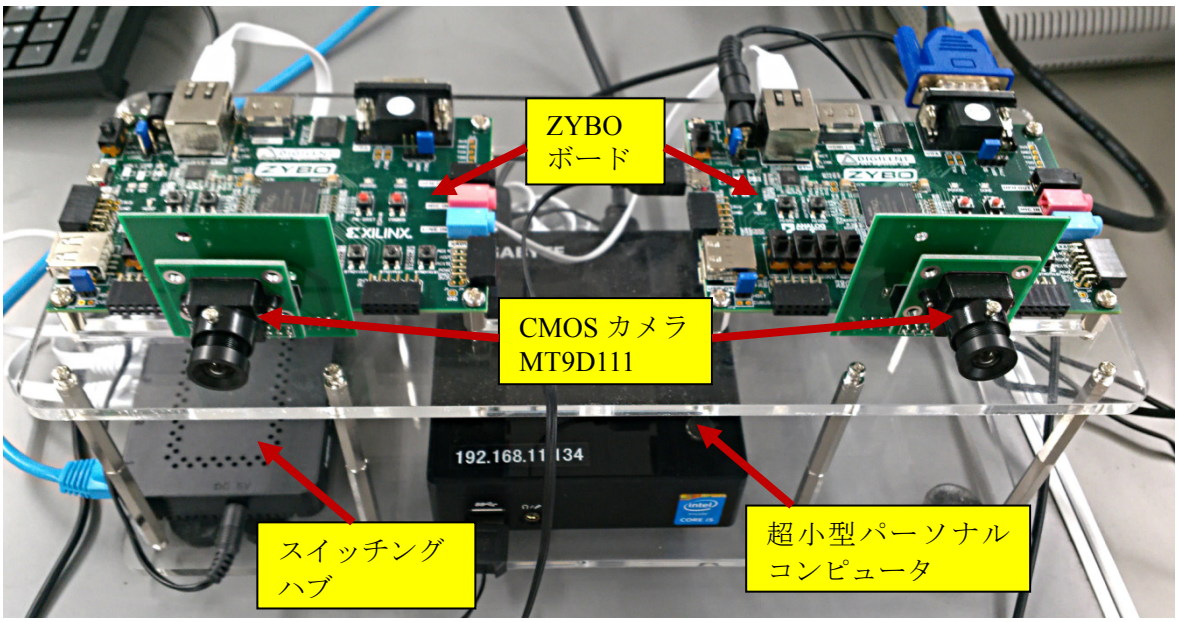



図 1.　ソフトウェアとハードウェアの性能比較実験装置

## ２．実験装置

実験装置を図 1 に示す。実験装置は CMOS カメラの MT9D111 を Pmod コネクタに搭載した ZYBO ボードが 2 台、超小型パーソナルコンピュータを 1 台、スイッチングハブを 1 台搭載している。2 台の ZYBO ボードのカメラを使用して、ステレオカメラの機能を持つように考慮されている。実験装置のベースプレートは 5mm のアクリル板で、レーザー加工機を使用して加工を行った。レーザー加工機を使用しているので、自由な加工が可能である。その利点を活かして、ZYBO ボードの取り付け穴は長円形に造作したので、ZYBO ボードをスライドさせて CMOS カメラのステレオカメラの間隔を変更することができる。MT9D111 の最大解像度は 1600 ピクセル× 1200 ラインで、その場合のフレームレートは 15fps(frame per second)である。MT9D111 は、現状では 800 ピクセル× 600 ラインの 15fps で動作している。MT9D111 はインターフェース基板に搭載されて、ZYBO の Pmod コネクタの内の 2 個に取り付けられている。その様子を図 2 に示す。

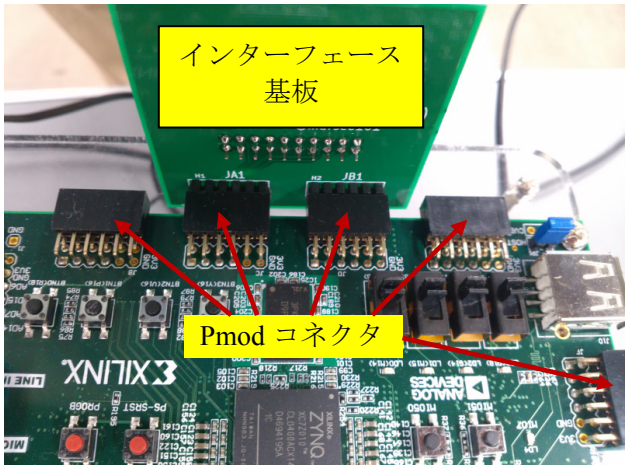



図 2. ZYBO ボードの Pmod コネクタとインターフェース基板を介した CMOS カメラの取り付け

超小型パーソナルコンピュータは、intel Core i5 プロセッサが搭載され、8GB のメモリ、256GB の SSD (Solid State Drive)が搭載されている。超小型パーソナルコンピュータには、Ubuntu14.04 がインストールされている。その上に HDL を記述することで FPGA 部分のハードウェアを生成する Xilinx 社の Vivado ツールや C、C++、SystemC 言語から HDL を生成することができる Vivado HLS、Vivado が生成したハードウェアに応じたソフトウェアを作製することができる SDK(Software Development Kit) などをインストールしてある。これらによって、USB ケーブルで接続された ZYBO ボードの FPGA のコンフィギュレーションを実行することや、ARM プロセッサのソフトウェアのデバックを行うことができる。

更に、実験装置内にスイッチングハブを装備して、ZYBO 2 台の LAN と超小型パーソナルコンピュータの LAN を外部ネットワークに接続した。

## ３．ラプラシアンフィルタ処理

実験装置の ZYBO ボードで実行する画像処理として、ラプラシアンフィルタ処理を選択した。ラプラシアンフィルタ処理は、画像のエッジを検出する画像フィルタの 1 種で、画像のピクセルの縦横のピクセルを 3x3、5x5 のブロック単位で演算を行い、真ん中の画像の値とする。3x3、5x5 のラプラシアンフィルタの画像に掛ける係数を図 3 に示す。

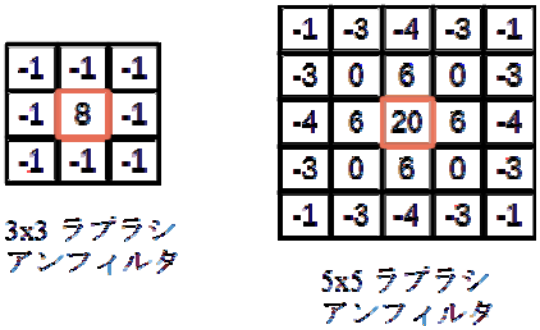



図 3. 各ラプラシアンフィルタの係数

図 3 の 3x3、5x5 のラプラシアンフィルタの係数は画像の輝度の値に掛ける係数を示し、中央の赤い四角はラプラシアンフィルタ処理後に演算結果が入るピクセルを示している。例えば、3x3 ラプラシアンフィルタで演算を行うすべてのピクセル値が 10 だったとする。その場合は式 1 に示すようにラプラシアンフィルタ処理後の値は 0 となる。

$$10\times(-1)+10\times(-1)+10\times(-1)+10\times(-1)+10\times 8+10\times(-1)+10\times(-1)+10\times(-1)=0 \cdots \text{（式 1）}$$

今回は 3x3 のラプラシアンフィルタを採用した。画面全体に対するラプラシアンフィルタ処理を説明する。最初に左上の画面のピクセルを 3x3 の係数で 1 回演算し、中央のピクセルの値とする。1 ピクセル右にずらしてからもう一度 3x3 の係数で演算すると最初のピクセルの左隣のピクセルの値が計算できる。それを左端まで演算を行う。次は、左上から 1 ライン下にずらし、3x3 の係数で演算を行う。後は順次演算を行い、右下端まで処理を行うと、1 画面分のラプラシアンフィルタ処理が終了する。その様子を図 4 に示す。

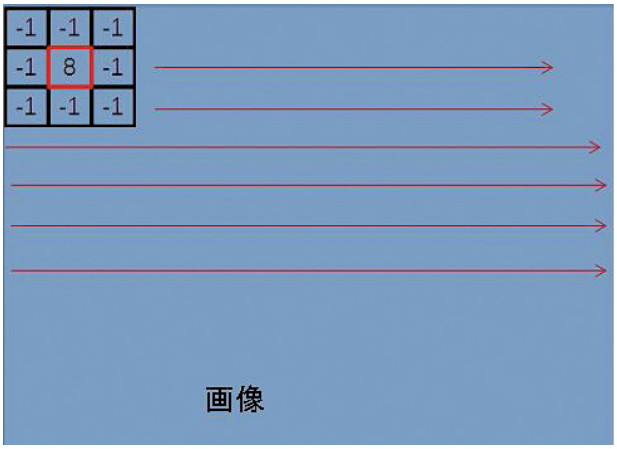



図 4. 1 画面分のラプラシアンフィルタ処理

図 5.　ラプラシアンフィルタ処理前の画像

図 6.　ラプラシアンフィルタ処理後の画像

ラプラシアンフィルタ処理は、Zynq チップの ARM プロセッサのソフトウェアで処理することもできるが、Zynq チップの FPGA 部分を使用したハードウェアとして実行することもできる。ラプラシアンフィルタ処理前の画像を図 5 に示し、ラプラシアンフィルタ処理後の画像を図 6 に示す [1]。

## 4．ZYNQ チップの構造

Zynq チップ [2] は ARM プロセッサと FPGA 部分が 1 チップに統合された IC(Integrated Circuit)である。ARM プロセッサが搭載されている領域は PS(Processing System)と呼ばれていて、2 個の ARM プロセッサと IO 周辺デバイスが搭載されている。PS に搭載されているデバイスを示す。

- 2 個の ARM プロセッサ（最大 1GHz 動作）
- 2 個の NEON SIMD(Single Instruction Multiple Data)エンジン（ARM プロセッサに付属）
- 2 個の 32KB Instruction L1 Cache、32KB Data L1 Cache（ARM プロセッサに付属）
- 512KB L2 Cache
- DDR(Double Data Rate)2, DDR3, DDR3L, LPDDR(Low Power Double Data Rate)2 コントローラ
- 2 個の USB(Universal Serial Bus)
- 2 個の Gigabit Ethernet
- 2 個の SD(Secure Digital), SDIO(Secure Digital Input Output)
- GPIO(General Purpose Input Output)
- 2 個の CAN(Controller Area Network)
- 2 個の I2C(Inter-Integrated Circuit)
- 2 個の SPI（Serial Peripheral Interface）

上記に示す様に、多くのデバイスが PS に搭載されて、ARM プロセッサから使用することができる。Zynq チップのブロック図を図 7 に示す。

PS と PL(Programmable Logic, FPGA 搭載部)は AXI バスで接続されている。PS と PL 間の接続ポートを示す。

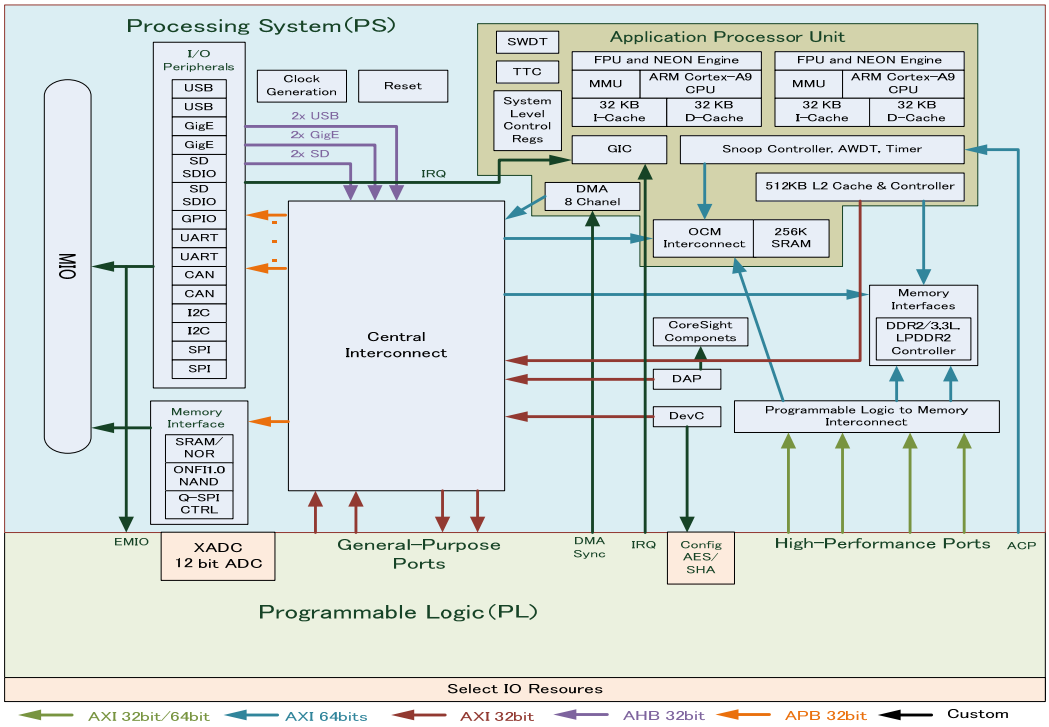



図 7.　Zynq チップのブロック図

- 4 ポートの AXI_HP ポート（図 7 では High-Performance Ports）
- 各 2 ポートの AXI_GP マスタ＆スレーブ・ポート（図 7 では General-Purpose Ports）
- 1 ポートの AXI_ACP ポート（図 7 では ACP）

AXI_HP ポートは高速のスレーブ・ポートで、動作周波数が 200MHz、64 ビット幅のデータバスの場合の性能は最大 1.6GB/s となる。AXI_GP ポートは PL に作った IP のレジスタの設定などの性能が比較的要求されない用途に使用する事ができる。AXI_ACP ポートは ARM プロセッサのキャッシュを対象に Read/Write することができるので、ARM プロセッサと PL 間のデータの Read/Write 時のレイテンシが短くなる。

## ５．ラプラシアンフィルタの実装方法

CMOS カメラで撮影された画像（撮影画像）は、Zynq チップの PL 部分に実装されたカメラ・コントローラの DMA(Direct Memory Access)で、DDR3 SDRAM の所定の領域に転送される。

ビットマップ・ディスプレイ・コントローラはカメラ画像領域の画像データか、またはラプラシアンフィルタ処理領域の画像データを読み出して、ディスプレイに表示する。

ラプラシアンフィルタ処理を行う際には、ソフトウェアまたはハードウェアが、カメラ画像領域から画像データを読み出して、ラプラシアンフィルタ処理を行い、結果をラプラシアンフィルタ処理領域に書き込む。ソフトウェアがラプラシアンフィルタ処理を行う際には、ARM プロセッサがラプラシアンフィルタ処理を行い、ハードウェアが行う場合は PL 部に実装されたラプラシアンフィルタ IP がラプラシアンフィルタ処理を行う。ラプラシアンフィルタ IP は、DDR3 SDRAM のカメラ画像領域から画像データを AXI4 Master Read を使用して DMA アクセスにより、読み出してラプラシアンフィルタ処理を行う。そのラプラシアンフィルタ処理結果は AXI4 Master Write を使用して DMA アクセスにより、DDR3 SDRAM のラプラシアンフィルタ処理領域に書き込まれる。その様子を図 8 に示す。

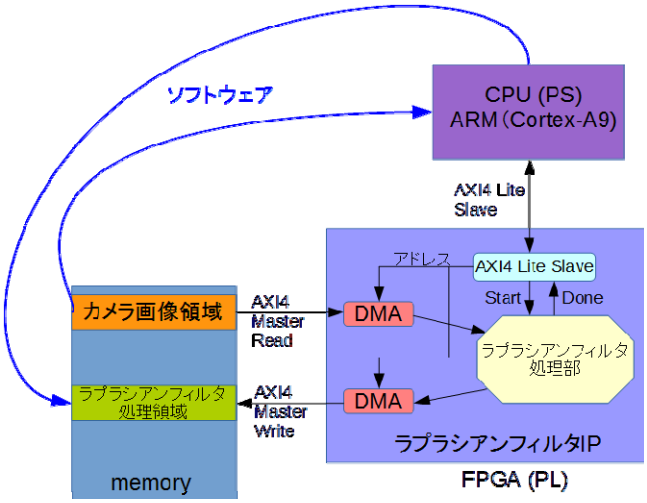



図 8. ソフトウェア、ハードウェアによるラプラシアンフィルタ処理の実装方法

ハードウェアの性能比較対象としては、C や C++、SystemC 言語から HDL(Hardware Description Language)に変換する高位合成ツールの Vivado HLS を用いた場合と HDL を用いて直接ラプラシアンフィルタ処理を書いた場合についての性能比較を行った。Vivado HLS を使用した場合には、C や C++言語によるソースコードの書き方やディレクトリと呼ばれる指示子によって性能が変化するので、4 種類の異なる実装による性能比較を行った。

ソフトウェアの性能比較対象としては、Vivado HLS で使用したソースコードとほぼ同一の 4 種類のソフトウェア（laplacian_filter1~laplacian_filter4[3]）を用意してその性能を比較した。なお、Vivado HLS ではディレクティブを付加して性能を向上させているが、ソフトウェアには無関係であるためディレクティブは削除した。また、ARM プロセッサだけで無く、図 7 に示した SIMD(Single Instruction Multiple Data)の NEON エンジンを使用する条件でも 4 種類のソフトウェアについて実験を行った。通常の ARM プロセッサは 1 個のみを使用してラプラシアンフィルタ処理を実行するが、搭載されている 2 個の ARM プロセッサを同時に使用する OpenMP を使った時の性能も確認した。OpenMP を使用した場合には、4 種類のソフトウェアでは処理画像が不完全だったので、今まで使用していた 4 種類の実装を小変更した 4 種類(laplacian_filter5 ~ laplacian_filter8[3])も使用した。その変更内容は、従来のラプラシアンフィルタの実装では画像の周辺 1 ピクセルの値を 0 にしていたが、この実装のソースコードでは条件分岐が増えてしまう。そこで画像の左上と左端の 2 ピクセルを 0 にすることにした。これにより、ソースコードの条件分岐が減って OpenMP が 3 種類の実装では、正しく動作するようになった。しかし、最後の実装(laplacian_filter8)では処理画像が不完全だった。ソースコードの実装に違いによるラプラシアンフィルタ出力の違いを図 9 に示す。

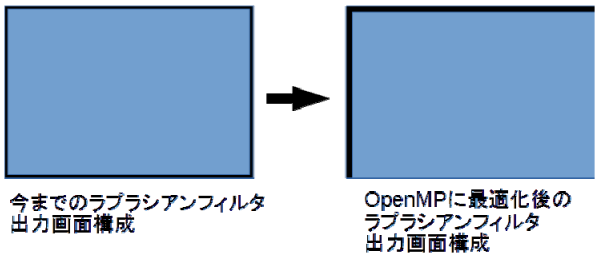



図 9. OpenMP への最適化によるラプラシアンフィルタの実装の違い

図 9 で、黒く示した部分が 0 に固定した部分で、青く示した部分がラプラシアンフィルタ処理出力の部分である。

ラプラシアンフィルタ処理のハードウェア実装とソフトウェア実装では、ほぼ同一のソースコードを使用しているため、実行時間の差を容易に比較することができる。

表 1.　gcc 4.6 でコンパイルしたラプラシアンフィルタの各実装の最適化オプションの違いによる処理時間

| | −O無し (ms) | -O1 (ms) | -O2 (ms) | -O3 (ms) | -Os (ms) | -Ofast (ms) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| laplacian_filter1 | 448.0 | 130.0 | 130.0 | 127.0 | 136.0 | 127.0 |
| laplacian_filter2 | 328.0 | 99.5 | 86.4 | 85.1 | 96.3 | 82.1 |
| laplacian_filter3 | 279.0 | 94.2 | 83.6 | 82.7 | 91.6 | 82.8 |
| laplacian_filter4 | 228.0 | 123.0 | 92.8 | 93.3 | 114.0 | 92.7 |

## 6．実験項目

「5. ラプラシアンフィルタの実装方法」に記した方法でソフトウェア、ハードウェアの性能比較を行った。4 種類のソースコードはそれぞれ laplacian_filter1、laplacian_filter2、laplacian_filter3、laplacian_filter4 とする。それぞれのソースコードについての説明を次に述べる。

- laplacian_filter1
  - ソフトウェアとして作製した C ソースコードを使用した
  - 画像を 1 ピクセル読んで、ラプラシアンフィルタ処理し、1 ピクセルごとに書く
- laplacian_filter2
  - memcpy()を使用して画像データをまとめて読み書きした（memcpy()の使用により Vivado HLS ではバースト転送が行われる）
- laplacian_filter3
  - laplacian_filter2 の割り算をステートマシンに変更した（Vivado HLS では PIPELINE ディレクティブを挿入した）
- laplacian_filter4
  - memcpy()の使用やソースコードを Vivado HLS に最適化した（Vivado HLS では最適なディレクティブを追加して高速化を図った）

laplacian_filter1 ~ laplacian_filter4 を図 9 に示す通り、画像の左上と左端の 2 ピクセルを 0 にする様に改造したソフトウェアがそれぞれ laplacian_fiter5 ~ laplacian_filter8 に対応する。

なお、ZYBO 基板の ARM プロセッサ Cortex-A9、動作周波数 650MHz で動作する Ubuntu 14.04 LTS 上でソフトウェア及びハードウェアの実行を行った。時間計測は Linux の gettimeofday システムコールで行った。

### 6.1 コンパイラに gcc 4.6 を使用した場合

最初に gcc 4.6 でコンパイルした場合の最適化オプションによるラプラシアンフィルタ処理時間を表 1 に示す [4]。

表 1 を最適化オプションごとに棒グラフにした図を図 10 に示す。図 10 の縦軸はラプラシアンフィルタの処理時間 ms 単位、横軸は最適化オプションごとのラプラシアンフィルタの実装の違いに

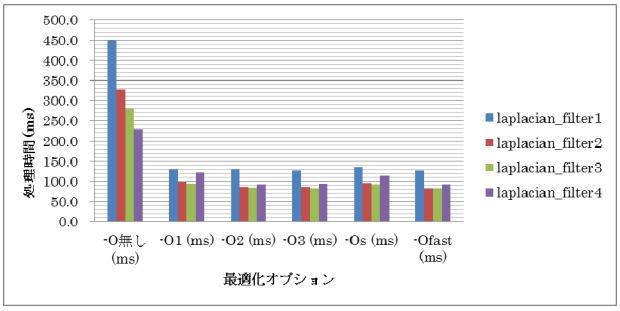



図 10.　gcc 4.6 でコンパイルしたラプラシアンフィルタの各実装の最適化オプションの違いによる処理時間のグラフ

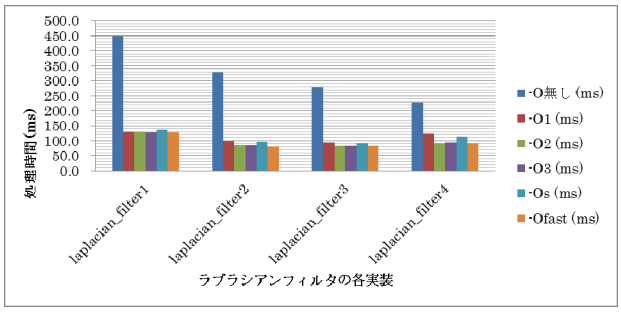



図 11.　gcc 4.6 でコンパイルしたラプラシアンフィルタの各実装の違いによる処理時間のグラフ

よる性能差を表す。図 10 を見ると gcc の最適化オプション無しでは、laplacian_filter1 ~ laplacian_filter4 までで直線的に処理時間が減っているのがわかる。また表 1 からも最適化オプション無しと最適化オプション有りとでは、処理時間に差があるのがわかる。

図 11 はラプラシアンフィルタの実装ごとの最適化オプションによる性能の差をラプラシアンフィルタの実装ごとに並べたグラフである。各実装共に、最適化オプション無しの処理時間が長いことがわかった。最速の処理時間としては、laplacian_filter2 の最適化オプション-O2 の場合の 82.1 ms が最速だった。

次に、同じ gcc 4.6 を使用して、ARM プロセッサの SIMD エンジンの NEON を使用してラプラシアンフィルタ処理を演算した結果を表 2 に示す [4]。

gcc のオートベクタライズ機能を使用してコンパイルし NEON 用のコードを出力した。gcc のオートベクタライズのオプションは-mcpu=cortex-a9

表 2.　gcc 4.6 のオートベクタライズ機能によって NEON エンジンを使用した場合のラプラシアンフィルタの処理時間

| | NEON −O無し (ms) | NEON -O1 (ms) | NEON -O2 (ms) | NEON -O3 (ms) | NEON -Os (ms) | NEON -Ofast (ms) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| laplacian_filter1 | 447.0 | 131.0 | 132.0 | 137.0 | 138.0 | 137.0 |
| laplacian_filter2 | 313.0 | 95.0 | 78.3 | 83.4 | 92.2 | 83.0 |
| laplacian_filter3 | 278.0 | 94.4 | 77.7 | 83.4 | 92.0 | 84.2 |
| laplacian_filter4 | 229.0 | 123.0 | 96.4 | 96.3 | 118.0 | 96.2 |

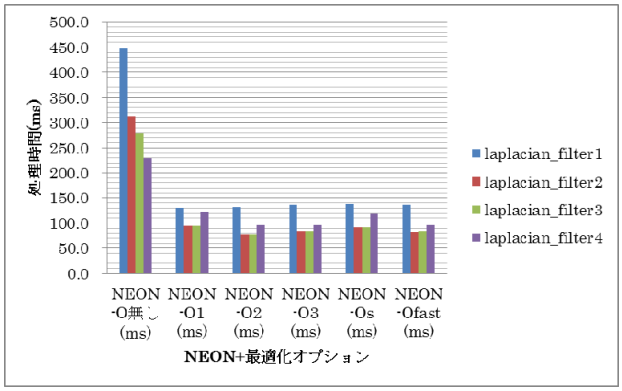



図 12. gcc 4.6 オートベクタライズ機能によって NEON エンジンを使用した場合の各実装の最適化オプションの違いによる処理時間のグラフ

-mfpu=neon -ftree-vectorize -ffast-math -mvectorize-with-neon-quad を使用した。但し、コンパイル時の最適化オプションやラプラシアンフィルタの実装によっては、NEON 用のコードが出力されない時がある。表 2 で赤い字によって示された処理時間が、NEON のコードが出力された条件の場合を示す。NEON を使用した場合も gcc の最適化オプションを入れたほうが速いことがわかる。最適化オプションによる処理時間の違いをラプラシアンフィルタの実装ごとにグラフにした図を図 12 に示す。図 10 と図 12 は同じ傾向を示した。gcc 4.6 のオートベクタライズ機能を使用してラプラシアンフィルタ処理をコンパイルした時の最速の値は、

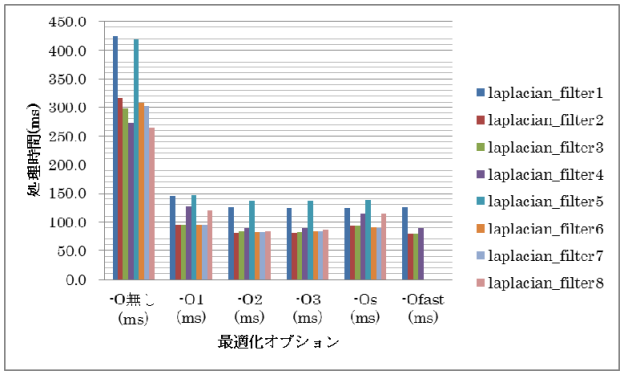



図 13. gcc 4.8 でコンパイルしたラプラシアンフィルタの各実装の最適化オプションの違いによる処理時間のグラフ

laplacian_fiter3 の最適化オプション-O3 の時の 77.7 ms だった。NEON を使用しない場合に比べて NEON を使用した場合のほうが最速の処理時間がより短くなった。

## 6.2 コンパイラに gcc 4.8 を使用した場合

gcc 4.8 の場合のラプラシアンフィルタの gcc 最適化オプションと NEON 使用の場合のラプラシアンフィルタ処理時間を表 3、表 4 に示す [5]。gcc 4.8 を使用した場合は laplacian_filter5 ~ laplacian_filter8 も処理時間を測定して表に追加した。ラプラシアンフィルタの各実装における最適化オプションの違いによる処理時間のグラフを図 13 に示す。

表 3. gcc 4.8 でコンパイルしたラプラシアンフィルタの各実装の最適化オプションの違いによる処理時間

| | −O無し (ms) | -O1 (ms) | -O2 (ms) | -O3 (ms) | -Os (ms) | -Ofast (ms) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| laplacian_filter1 | 425.0 | 145.0 | 126.0 | 125.0 | 125.0 | 126.0 |
| laplacian_filter2 | 316.0 | 95.0 | 80.9 | 80.8 | 94.0 | 80.2 |
| laplacian_filter3 | 299.0 | 95.3 | 84.4 | 82.2 | 94.4 | 80.2 |
| laplacian_filter4 | 273.0 | 127.0 | 88.9 | 88.6 | 114.0 | 88.9 |
| laplacian_filter5 | 420.0 | 148.0 | 137.0 | 137.0 | 139.0 | |
| laplacian_filter6 | 308.0 | 95.2 | 82.7 | 83.5 | 89.9 | |
| laplacian_filter7 | 303.0 | 95.7 | 83.2 | 83.5 | 89.3 | |
| laplacian_filter8 | 265.0 | 119.0 | 84.2 | 87.1 | 114.0 | |

表 4. gcc 4.8 のオートベクタライズ機能によって NEON エンジンを使用した場合のラプラシアンフィルタの処理時間

| | NEON −O無し (ms) | NEON -O1 (ms) | NEON -O2 (ms) | NEON -O3 (ms) | NEON -Os (ms) | NEON -Ofast (ms) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| laplacian_filter1 | 425.0 | 145.0 | 133.0 | 143.0 | 128.0 | 141.0 |
| laplacian_filter2 | 315.0 | 94.2 | 75.1 | 75.3 | 94.4 | 76.3 |
| laplacian_filter3 | 299.0 | 95.2 | 74.9 | 74.4 | 94.1 | 74.6 |
| laplacian_filter4 | 273.0 | 127.0 | 88.9 | 88.9 | 122.0 | 89.4 |
| laplacian_filter5 | 420.0 | 147.0 | 131.0 | 132.0 | 143.0 | |
| laplacian_filter6 | 309.0 | 95.3 | 79.8 | 81.1 | 88.9 | |
| laplacian_filter7 | 303.0 | 94.8 | 80.5 | 81.9 | 90.7 | |
| laplacian_filter8 | 265.0 | 119.0 | 87.7 | 86.9 | 116.0 | |

表 5. llvm 3.4、clang 3.4 でコンパイルしたラプラシアンフィルタの各実装の最適化オプションの違いによる処理時間

| | −O無し (ms) | -O1 (ms) | -O2 (ms) | -O3 (ms) | -Os (ms) | -Ofast (ms) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| laplacian_filter1 | 304.0 | 148.0 | 137.0 | 133.0 | 134.0 | 133.0 |
| laplacian_filter2 | 238.0 | 109.0 | 99.0 | 101.0 | 103.0 | 101.0 |
| laplacian_filter3 | 221.0 | 106.0 | 95.5 | 97.7 | 105.0 | 97.6 |
| laplacian_filter4 | 241.0 | 121.0 | 94.7 | 95.0 | 94.9 | 94.9 |

表 6.　llvm 3.4、clang 3.4 のオートベクタライズ機能によって NEON エンジンを使用した場合のラプラシアンフィルタの処理時間

| | NEON −O無し (ms) | NEON -O1 (ms) | NEON -O2 (ms) | NEON -O3 (ms) | NEON -Os (ms) | NEON -Ofast (ms) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| laplacian_filter1 | 300.0 | 143.0 | 134.0 | 134.0 | 133.0 | 133.0 |
| laplacian_filter2 | 232.0 | 102.0 | 86.8 | 88.3 | 87.9 | 88.6 |
| laplacian_filter3 | 219.0 | 102.0 | 89.7 | 90.8 | 88.4 | 91.0 |
| laplacian_filter4 | 230.0 | 115.0 | 92.4 | 92.4 | 93.4 | 93.2 |

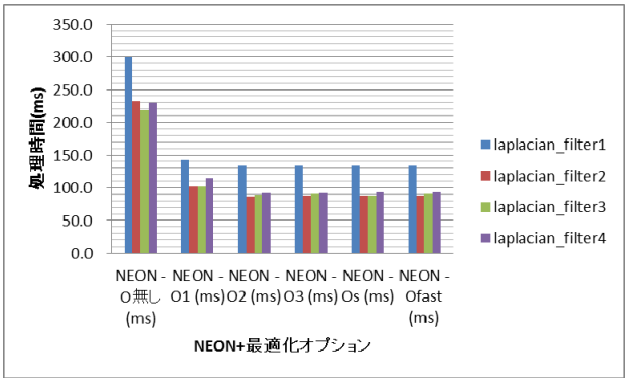



図 14.　llvm 3.4、clang 3.4 オートベクタライズ機能によって NEON エンジンを使用した場合の最適化オプションによる処理時間のグラフ

laplacian_filter1 と laplacian_filter5 は多少実装が異なるだけなので、ほとんど同じ傾向を示す。laplacian_filter2 と laplacian_filter6 もその他も同様である。gcc 4.6 と gcc 4.8 のラプラシアンフィルタの処理時間を比較すると、一長一短であることがわかった。最短の処理時間は、gcc 4.8 の場合の laplacian_filter3 の NEON を使用した-O3 の場合で、74.4 ms だった。

## 6.3 コンパイラに llvm 3.4, clang 3.4 を使用した場合

llvm 3.4, clan 3.4 を使用してコンパイルした場合の最適化オプションと NEON 使用の場合のラプラシアンフィルタ処理時間を表 5、表 6 に示す [4]。NEON を使用する場合のオートベクタライズのオプションは、-mcpu=cortex-a9 -mfpu=neon -mfloat-abi=hard を使用し、そこに最適化オプションを追加している。また、gcc でコンパイルした場合と同様に、オートベクタライズのオプションを使用してコンパイルしても、NEON を使用するコードを出力するとは限らない。表 6 の NEON を使用するコードが含まれている実行コードの処理時間を赤い字で表示した。llvm 3.4、clang 3.4 オートベクタライズ機能によって NEON エンジンを使用した場合の最適化オプションによる処理時間のグラフを図 14 に示す。図 14 を見ると、最適化オプション無しの場合は、gcc でコンパイルしたよりも laplacian_filter2 ~ laplacian_fiter4 の処理時間の差が少ないことがわかった。gcc 4.6、gcc 4.8 に比べて llvm 3.4、clang 3.4 ではラプラシアンフィルタの処理時間が長くかかる傾向があることがわかった。

## 6.4 OpenMP を用いて 2 つの CPU コアを使用した場合

gcc 4.8 において OpenMP を使用するためのオプション- fopenmp をコンパイル・オプションとして追加した場合の最適化オプションによるラプラシアンフィルタ処理時間を表 7 に示す [5]。gcc 4.8 において OpenMP を使いながら、更に、NEON エンジンを使用した時の最適化オプションによるラプラシアンフィルタ処理時間を表 8 に示す [5]。なお、処理時間の赤字は NEON エンジンを使用するコードが出力されていたことを示す。ラプラシアンフィルタ処理結果は、laplacian_fiter1 ~ laplacian_filter4、laplacian_filter8 で表示結果にバグがあった。最短の処理時間は laplacian_filter8 の最適化オプション -O3 の場合の 72.5 ms だった。これは、ソフトウェア実装最速のラプラシアンフィルタ処理時間である。

表 7.　gcc 4.8 において OpenMP を使用した場合の最適化オプションによる処理時間

| | −O無し (ms) | -O1 (ms) | -O2 (ms) | -O3 (ms) | -Os (ms) |
|---|---|---|---|---|---|
| laplacian_filter1 | 209.0 | 117.0 | 105.0 | 101.0 | 211.0 |
| laplacian_filter2 | 236.0 | 107.0 | 94.4 | 93.9 | 144.0 |
| laplacian_filter3 | 224.0 | 100.0 | 87.0 | 87.0 | 94.1 |
| laplacian_filter4 | 167.0 | 90.0 | 74.4 | 76.8 | 90.0 |
| laplacian_filter5 | 231.0 | 111.0 | 95.2 | 95.3 | 203.0 |
| laplacian_filter6 | 204.0 | 95.4 | 80.9 | 81.6 | 111.0 |
| laplacian_filter7 | 204.0 | 94.2 | 80.9 | 81.9 | 111.0 |
| laplacian_filter8 | 182.0 | 93.9 | 74.3 | 72.5 | 88.6 |

表 8.　gcc 4.8 において OpenMP を使いながら、NEON エンジンを使用した時の最適化オプションによる処理時間

| | NEON −O無し (ms) | NEON -O1 (ms) | NEON -O2 (ms) | NEON -O3 (ms) | NEON -Os (ms) |
|---|---|---|---|---|---|
| laplacian_filter1 | 210.0 | 117.0 | 99.9 | 103.0 | 210.0 |
| laplacian_filter2 | 234.0 | 107.0 | 94.6 | 95.7 | 144.0 |
| laplacian_filter3 | 228.0 | 99.4 | 85.6 | 90.4 | 95.0 |
| laplacian_filter4 | 173.0 | 89.4 | 76.8 | 73.6 | 90.0 |
| laplacian_filter5 | 213.0 | 109.0 | 96.1 | 96.5 | 209.0 |
| laplacian_filter6 | 190.0 | 92.3 | 80.2 | 79.6 | 110.0 |
| laplacian_filter7 | 190.0 | 92.5 | 80.5 | 79.8 | 111.0 |
| laplacian_filter8 | 172.0 | 89.0 | 73.0 | 72.8 | 89.5 |

表 9.　Vivado HLS を用いてラプラシアンフィルタ処理をハードウェア化した時の処理時間

| 実装 | 最速のソフトウェアの処理時間(ms) | | ハードウェアの処理時間(ms) | | SW/HW |
|---|---|---|---|---|---|
| (ソフトウェア実装) | SW | 条件 | HW | 条件 | |
| laplacian_filter1 (laplacian_fiter5) | 95.2 | OpenMP -O3 | 509 | PIPELINE無し | 0.19 |
| laplacian_filter2 | 74.9 | NEON -O3 | 80 | PIPELINE無し、memcpy() | 0.94 |
| laplacian_filter3 | 74.4 | NEON -O3 | 60 | PIPELINE有り、memcpy()、割り算無し | 1.24 |
| laplacian_filter4 (laplacian_filter8) | 72.5 | OpenMP -O3 | 15.3 | PIPELINE有り、memcpy()、割り算無し、高速化技法多数 | 4.74 |

## 6.5 Vivado HLS を用いてハードウェア化した場合

ソフトウェアでのラプラシアンフィルタの実装と殆ど同一の C ソースコードを Vivado HLS を使用して高位合成によりハードウェアにした時のラプラシアンフィルタ処理時間を表 9 に示す [1][6][7]。ソフトウェア処理時間はそれぞれの実装で最速の処理時間を表示したが、ソフトウェアで OpenMP を使用した場合は laplacian_filter1 ~ laplacian_filter4 の代替として laplacian_filter5 ~ laplacian_filter8 を使用した。Vivado HLS でハードウェア化した実装はバス・インターフェースに AXI4 Master を使用し、条件に書いてある通りにディレクティブを追加して最適化してある。最速は、Vivado HLS でハードウェア化した laplacian_filter4 の 15.3 ms だった。このハードウェア実装とソフトウェア実装のラプラシアンフィルタ処理時間の倍率は 4.74 倍で、高位合成によりハードウェア化した方がソフトウェアよりも性能が向上した。但し、laplacian_fitler1 では、ハードウェア実装とソフトウェア実装との処理時間の倍率は 0.19 倍で、ソフトウェアの方が高速だった。よって、ソフトウェアとハードウェアの性能は C ソースコードの実装に依存することが分かった。具体的に性能を向上させるためのノウハウを下記に示す。

- memcpy()を使用して、まとまったデータ単位を一度に転送すると AXI4 Master インターフェースのバースト転送を使用することができて性能が向上する。
- 適当な for()ループに PIPELINE ディレクティブを付加するとパイプラインが実装されてスループットが向上する。但し大きな範囲に適用するとツールの計算も膨大となり、待ち時間も大きくなる。またリソースも消費してしまうので、注意が必要である。
- 割り算はレイテンシが大きいのでなるべく使用しないこと。
- 高い性能を必要とする場合は、合成後のハードウェアを推測しながら、最適な C ソースコードの構成を考慮し、適切なディレクティブを追加することが必要である。

## 6.6 HDL を用いてハードウェア化した場合

最後に、Verilog HDL (Verilog Hardware Description Language) を用いてハードウェア化した場合のラプラシアンフィルタ処理時間について述べる。通常、ハードウェアでラプラシアンフィルタを構成する場合は、カメラからのストリーム・データを逐次的にラプラシアンフィルタ処理をすることが一般的である。その実装では、DDR3 SDRAM をフレームバッファとして使用しないので、メモリ帯域に余裕ができるのがメリットである。ハードウェアでラプラシアンフィルタを構成する場合の一般的なブロック図を図 15 に示す。

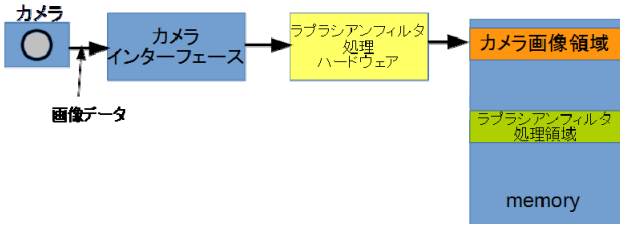



図 15. ハードウェアでラプラシアンフィルタを構成する場合の一般的なブロック図

今回の Verilog HDL による実装では、ソフトウェアの実装に合わせるためにわざと DDR3 SDRAM のカメラ画像領域から読み込んで、ラプラシアンフィルタ処理後にラプラシアンフィルタ処理領域に書き込んでいる（図 8 参照）。Verilog HDL を使用したラプラシアンフィルタ処理時間は 10.1 ms[8] で、全体を通して最速だった。

これは、C 言語に比べて低レベルな言語である Verilog HDL で完全なパイプラインを書くことができたためである。図 8 において、memory のカメラ画像領域から読み込んだカメラ・データが揃った時点で、すぐにラプラシアンフィルタ処理を開始している。ラプラシアンフィルタ処理は、1 クロックごとに 1 ピクセルの処理を完了できる。よって、カメラ画像領域からの読み込みが 1 ライン分終了した時点で、ラプラシアンフィルタ処理は終了している。ラプラシアンフィルタ処理されたデータは、直ちにラプラシアンフィルタ処理領域に書き出すことができる。

メモリ帯域に余裕があれば、カメラ・データの読み込みとラプラシアンフィルタ処理後のメモリへの書き出しが同時にできるので、更に性能向上が可能である。

## 7. まとめ

Xilinx 社の Zynq を使用した学生実験用のソフトウェアとハードウェア性能比較実験装置を作製した。ラプラシアンフィルタ処理について、最適化レベルの異なるソフトウェア実装、NEON エンジンを使用したソフトウェア実装、OpenMP を使用したソフトウェア実装、Vivado HLS で C ソースコードをハードウェア化した実装、HDL でのハードウェア

実装で性能を比較することができた。その結果として次に示す事がわかった。

- Vivado HLS でハードウェア化して性能が良い C ソースコードは、一般的にソフトウェアでも性能が良い。
- gcc のオートベクタライズ機能を使用して NEON を使用すると性能が向上することが多い。
- gcc の OpenMP 自動並列化オプションを使用すると性能が向上する場合が多いが、バグが出ないように C ソースコードの構造を考慮する必要がある。

## 8. 謝辞

Vivado HLS の最適化された C ソースコードを提供して下さった株式会社イメージ･テック 植田友幸様に深く感謝致します。様々な面で、ご支援を頂いた筑波大学システム情報系の和田耕一教授に深く感謝いたします。今回の実験装置の製作について科研費奨励研究 (15H00371)のご支援を頂きました。感謝致します。

## 参考文献

[1] 小野 雅晃, C-6「Xilinx 社の FPGA における高位合成ツール Vivado HLS の効果と性能」発表資料, Design Solution Forum 2015, 2015/10/02, http://dsforum.jp/2015/timetable_soft.html#c6
[2] Zynq-7000 All Programmable SoC テクニカル リファレンス マニュアル(UG585), Ver.1.10, 2015/02/23, http://japan.xilinx.com/support/documentation/user_guides/j_ug585-Zynq-7000-TRM.pdf
[3] GitHub, marsee101/laplacian_filters, https://github.com/marsee101/laplacian_filters
[4] 小野 雅晃, gcc と clang で -Ofast 最適化オプションを付けた場合の実行速度, FPGA の部屋, 2015/07/14, http://marsee101.blog19.fc2.com/blog-entry-3199.html
[5] 小野 雅晃, 新しいラプラシアンフィルタのソフトウェア実装, FPGA の部屋, 2015/07/20, http://marsee101.blog19.fc2.com/blog-entry-3203.html
[6] 小野 雅晃, ラプラシアンフィルタのソフトウェアとハードウェアの速度の比較 2, FPGA の部屋, 2015/07/01, http://marsee101.blog19.fc2.com/blog-entry-3189.html
[7] 小野 雅晃, Vivado HLS 2014.4 で合成したラプラシアンフィルタ IP の高速化 14（性能が最大になる設定を探る 7、まとめ）, FPGA の部屋, 2051/04/15, http://marsee101.blog19.fc2.com/blog-entry-3120.html
[8] 小野 雅晃, ZYBO に HDL で書いたラプラシアンフィルタを実装する 9（制御ソフトウェアを作製して実機確認）, FPGA の部屋, 2015/11/09, http://marsee101.blog19.fc2.com/blog-entry-3304.html

# Development of experiment device for comparing software and hardware performance

Masaaki Ono

Technical Service Office for Systems and Information Engineering, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8573 Japan

***Keywords: neural network; Zynq, FPGA;***

# 農林技術センターで生産された生乳を活用した公開講座の開催

秋葉　よしえ[a)]、山本　倫成[a)]、比企　弘[a)]、本間　秀弥[b)]、田島　淳史[c)]

[a)]筑波大学農林技術センター技術室、[b)]元筑波大学農林学系、[c)]筑波大学生命環境系、
〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1

## 概要

筑波大学農林技術センター(本センター)では、家畜生産に関する試験研究、教育活動を行うことを目的として乳牛を飼育し生乳を生産している。その中で、生乳を利用した自家製チーズ作りの製造方法を普及することを目的として 10 年間に亘り筑波大学公開講座「自家製チーズ作りを楽しむ」を開催してきたので報告する。

キーワード：生乳　公開講座　自家製　チーズ

## １．はじめに

農林技術センターでは、生物資源生産学に関する学生実習や、全学を対象とした総合科目、大学院のインターンシップ科目、附属坂戸高校生を対象にした実習、教員免許状更新講習など幅広い実習教育活動を行っている[1]。また、地域交流・普及活動の推進を図り近隣地域と連携し本センターの持つ人的・物的資源を総合的に活用して、食、緑、環境などについて広く社会・地域と交流し技術普及するための企画・立案・支援業務を行っている[2]。その中で、畜産生産技術班では、家畜生産に関する試験研究、教育活動を行うことを目的として、ホルスタイン種を飼育管理し生乳を生産している。

本センターは教育普及活動に力を入れているが、畜産生産技術班は中央酪農会議が認定する酪農教育ファームの認証を受け、科学技術週間には「食と緑の体験教室-ウシとニワトリの秘密」や、教員免許状更新講習として「食べ物を作る動物たち」を行っているその中で、本センターで生産された生乳を活用する取り組みとして一般向け公開講座「自家製チーズ作りを楽しむ」を開講している。

公開講座「自家製チーズ作りを楽しむ」は、毎年 2～3 回実施しており土曜日と日曜日の 2 日間にわたって実施され、一日目には熟成タイプのゴーダ風チーズ(図 1)を、二日目には、非熟成タイプのモッツァレラ・チーズ(図 2)を作成している。一回の講座あたりの募集人数は施設の制約から 16 名であるが、応募者数は例年募集人数を大幅に上回っており、筑波大学公開講座の中でも人気の高い講座である。

本講座はほぼ十年間にわたり毎年 2～3 回実施しており、これまでに計 25 回開催され、受講者数は延べ 381 名にのぼる。非熟成タイプのモッツァレラ・チーズは、製造した当日に持ち帰って頂いているが、熟成タイプのゴーダ風チーズは、本センターで 2 ヶ月間熟成した後、受講生に受け取りに来て頂いている。

図 1　ゴーダ風チーズ

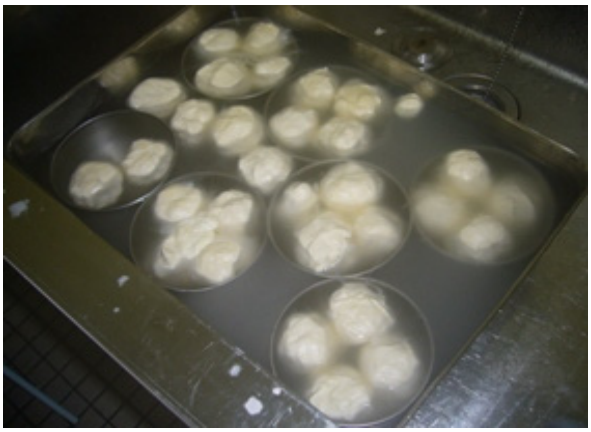


図 2　モッツァレラチーズ

## ２．アンケート結果

2009～2015 年に実施した公開講座の受講生 214 名(男性 72 名、女性 142 名)に対して、講座終了後アンケートを実施した。アンケートの質問内容は、①受講した動機、②受講した後の感想、③今後、この講座に期待することの 3 項目であった。

なお、アンケートの内容は、すべて記述式自由回答とした。集計結果は以下のとおりであった

①受講した動機: もともとチーズに関心があったが全体の約 70 %、手作り、自家製ということに関心があるが全体の約 30 %であった。

②受講した後の感想:楽しくできた、面白かった、為になったが全体の約 50 %、自宅でもチャレンジしたい、今後趣味として楽しみたいが全体の約 30 %、講師の説明が、分かりやすい、面白いが全体の約 24 %であった。

[a)] E-mail: adachi.yoshie.ga@un.tsukuba.ac.jp

③この講座への期待：継続してほしいが全体の約 40 %、他の種類のチーズも作成してみたいが全体の約 20 %、フォローアップ講座をたちあげてほしいが全体の約 15 %であった。

## ３．まとめ

本講座が、アンケートで質問した 3 項目全てにおいて高い評価を得た理由として以下の二点の特徴が挙げられる。

第一の特徴は、講座の開催当日の朝搾乳されたばかりの新鮮な生乳がチーズになるまでの全てのステップを実際に体験できることであり、このことが受講生をひきつけるポイントになっていると考えられる。第二の特徴は、担当講師が実際の製造工程に沿って、各々の工程の意味、道具の使用目的、食品の役割等についてユーモアを交えて丁寧に分かりやすく説明を加えることであり、チーズ製造の歴史背景や理論を学びながらチーズ作り体得できることが挙げられる。

本講座は、諸般の事情から惜しまれつつも今年で閉講する。来年以降も、別の形で引き続き今以上にわかりやすい講座を開講できるよう努力していきたい。

## 謝辞

本公開講座を開講するにあたり、長年に亘りお世話になった筑波大学教育推進部社会連携課（社会連携担当）の皆様に厚く御礼申し上げます。

参考文献
[1] 農林技術センターセンター案内（2012）2-4. http://www.nourin.tsukuba.ac.jp/pdf/info2012-2.pdf
[2] 農林技術センター活動報告書第 15 号 (2015) 16-17.

# The extension course using fresh milk produced at Agricultural and Forestry research Center, University of Tsukuba

Yoshie Akiba[a)], Tomonari Yamamoto[a)], Hiroshi Hiki[a)], Hideya Homma[b)], Atsushi Tajima [c)]

[a)] Agricultural and Forestry Research Center, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8577 Japan
[b)] Institute of Agriculture and Forestry, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8577 Japan
[c)] Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8577 Japan

***Keywords:*** Fresh milk, Extension course, Homemade cheese

# Cre/loxP遺伝子組換えにより緑色から赤色蛍光に変換する ROSA26 Cre レポーターマウスの開発

長谷川　賀一
筑波大学医学系技術室（生命科学動物資源センター）
〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1

## 概要

Rosa26 遺伝子を相同組換えする目的でターゲティングベクターを作製し、C57BL/6N 由来の相同組換え ES 細胞を作製した。この ES 細胞より R26GRR マウスを作製し解析を行った。作製されたマウスは偏在的に緑色蛍光を発現し、Cre ドライバーマウスと交配をかけた $F_1$ マウスにおいては部位特異的な赤色蛍光を発現することを見出した [1]。

キーワード： CAC promoter , Cre-repoter mouse , EGFP , Rosa26 , tdsRed

## １．はじめに

Cre/loxP システムを利用したコンディショナルな gene-targeting は Cre ドライバーマウスによる Cre 酵素の発現に依存する。このことから、Cre ドライバーマウスにおいて loxP を切除することによって時間的・空間的にどのように制御されているかを知ることは極めて重要である。Cre ドライバーマウスの評価のため広く使用されている Cre レポーターマウスが ROSA26 レポーターマウスである [2]。このマウスは ubiquitous に外来性遺伝子発現を許す ROSA26 遺伝子座内に、転写を STOP させる配列を Floxed し、その下流に lacZ レポーター遺伝子をノックインしたマウスである。このマウスでは Cre リコンビナーゼが発現する組織においてのみ Cre/loxP リコンビネーションが生じ、レポーター遺伝子発現を介して、Cre ドライバーマウスを評価することが可能となる。近年では live imaging や fate mapping study のため lacZ の代わりに EGFP などの蛍光タンパクに置き換えられた ROSA26 レポーターマウスも数多く開発されている。しかしながら、現在までの Cre レポーターマウスでは、レポーター遺伝子のシグナルが生じていない組織において、本当に Cre 酵素の発現が無いためなのか、それとも、レポーター遺伝子のプロモーター活性が無いためなのかを評価することはできない。そこで、Cre/loxP システムを介した研究をサポートするツールのひとつとして、レポーター遺伝子のプロモーター活性を蛍光タンパクにてモニター可能であり、Cre/loxP リコンビネーションを異なる蛍光タンパクにより検出可能な新規の Cre レポーターマウスを開発することとした。

## ２．方法

### 2.1 Rosa26 Green red Reporter (R26GRR) Mice の作製

CAG プロモーターと tdsRed 遺伝子の間に loxP 配列で挟んだ EGFP 遺伝子を配置し、Rosa26 5’ arm-CAG/EGFP-tdsRed-Rosa26 3’ arm のターゲティング・ベクターを構築した。このターゲティング・ベクターを C57BL/6N 由来の ES 細胞の Rosa26 遺伝子座へ相同組み換え方法により導入した(Fig.1)。キメラマウス作製には相同組み換えが確認された ES 細胞を用いた。複数のキメラマウスが作製され、そのうちの 1 ラインにおいてレポーター遺伝子である CAG/EGFP-tdsRed が生殖系列に移行することを確認した。

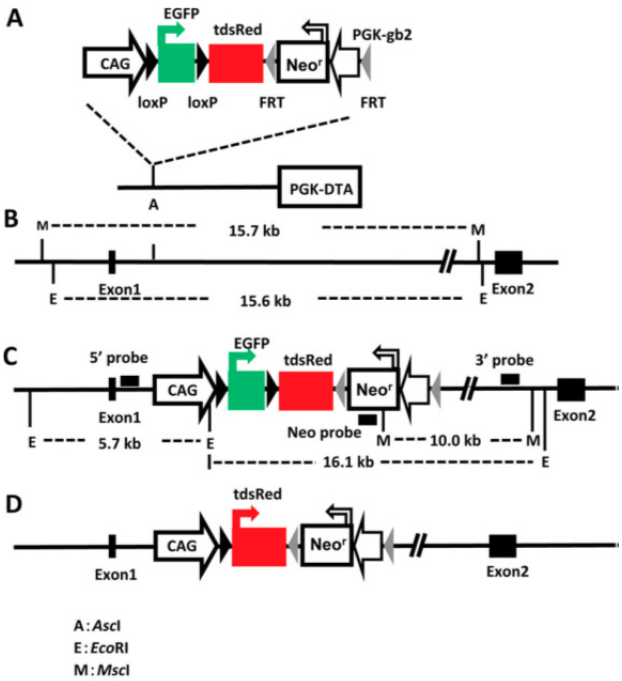



Fig.1 Generation of the *ROSA26* locus with insertion of a novel Cre reporter.

### 2.2 動物

全ての実験は筑波大学動物実験委員会の承認のもと実施した。Cre レポーターマウスを産出するために、相同組換えが確認された ES 細胞を用いてキメラマウスを作製した。キメラマウスの雄と C57BL/6N の雌を交配し、対立遺伝子が生殖系列へ伝達されていることを確認した。Ayu1-Cre マウス、

Tie2-Cre マウス、Ins1-Cre マウスとそれぞれ交配した。マウスは明周期 14 時間、暗周期 10 時間、温度 23.5 ± 2.5 ℃、湿度 52.5 ± 12.5 %の環境で飼育された。

### 2.3 蛍光実体顕微鏡

新生仔における蛍光イメージングでは、マウスを安楽死させた後、新生仔を解剖し、蛍光実体顕微鏡を用いて検討を行った。

### 2.4 組織学的解析

使用したマウスは、深麻酔後、PBS 灌流で安楽死させ、4% パラホルムアルデヒド(PFA)を用いて灌流を行った。各組織は固定後、蛍光顕微鏡を用いて蛍光の発現を確認した。その後、sucrose 溶液を用いて平衡化し、Tissue-Tek OCT に包埋した。凍結組織片は 10 μ m の厚さで切片化した。

## ３．結果

### 3.1 R26GRR マウスの産生

変異導入した ROSA26 対立遺伝子の特性を調べるために、標的とした ES 細胞の蛍光イメージングを行った(Fig.2)。標的とした ES 細胞を観察したところ、2 つのコロニーにおいて EGFP の発現を示す緑色蛍光がみられた(Fig.2A,2B)。エレクトロポレーション法によって CAG-Cre 遺伝子を R26GRR ES 細胞に導入し、セレクションなしで 72 時間後に細胞の蛍光を確認したところ、多数の緑色蛍光の細胞と少数の赤色蛍光の細胞がみられた(Fig.2E,2F)。さらに赤色蛍光を示した細胞は N 末端に FLAG がタグ付けされており、FLAG にタグ付けされたペプチド結合に対して Alexa647 でラベルされた抗体に対して検出された(Fig.2D)。

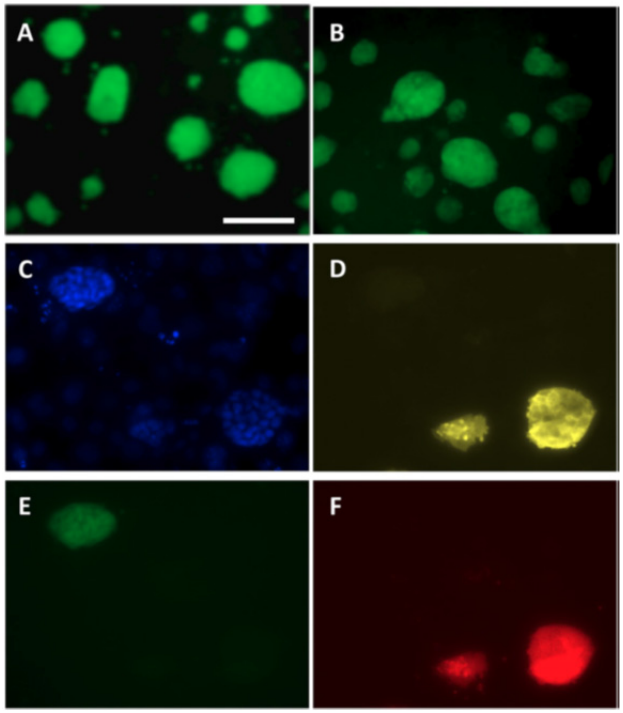



Fig.2 Fluorescence of ES cells targeted with the R26GRR vector.

### 3.2 R26GRR、R26RR 新生仔における EGFP、tdsRed の発現

次に、*ROSA26*$^{CAG\text{-}EGFP/tdsRed}$ 対立遺伝子が持続的に発現しているかどうかを調べるためにマウスの新生仔を用いて検討を行った(Fig.3)。wild type、R26GRR、R26RR マウスの新生仔についてそれぞれ蛍光顕微鏡下で観察を行ったところ、wild type マウスの新生仔では蛍光は確認されず(Fig.3A-C)、R26GRR マウスの新生仔では全身性に緑色蛍光のみを示し(Fig.3D-F)、R26RR マウスの新生仔では全身性に赤色蛍光のみを示した(Fig.3G-I)。

### 3.3 R26GRR、R26RR 成体マウスの臓器における EGFP、tdsRed の発現

R26GRR マウスと R26RR マウスについて、それぞれ麻酔下で PBS 灌流、4% PFA 灌流を行った後、脳、心臓、肺、腎臓、肝臓の解剖を行い、臓器における蛍光の発現を検討したところ、R26GRR マウスにおいては緑色蛍光を示したが、赤色蛍光は示さなかった。また R26RR マウスにおいては赤色蛍光を示したが、緑色蛍光は示さなかった(Fig.4)。さらに、脳(新皮質、歯状回、小脳)、心臓、肺、腎臓、肝臓について、凍結組織切片を作製し蛍光の発現を検討したところ同様の結果を示した(Fig.5)。これらの結果は、ROSA26 遺伝子座の CAG プロモーターは最初のレポーター遺伝子を恒常的に活性化することができるが、第 2 のレポーター遺伝子は R26GRR マウスにおいて Cre を切除するまで、マウスに偏在する有核細胞のほとんどを活性化できないことを示している。以上より R26GRR マウスは C57BL/6N を遺伝的背景に持つレポーターマウスとして有益なものであると言える。

次に、EGFP が切除された後の Cre レポーターマウスに偏在する細胞において、第 2 のレポーターである tdsRed が活性化するかどうかを検証した。Ayu1-Cre トランスジェニックマウスは生殖系を含む多数の臓器において Cre リコンビナーゼを発現する [3]。そこで、R26GRR の雌マウスと Ayu1-Cre の雄マウスを交配し、R26GRR/Ayu1-Cre $F_1$ マウスを得た。ヘテロの R26RR 新生仔は強い赤色蛍光を示したが緑色蛍光は示さなかった(Fig.3I,3H)。これらの結果は、tdsRed は Cre を媒介して EGFP を除去することによって作製した R26RR マウスにおいて、CAG プロモーターによって恒常的に活性化されていることが明らかとなった。

### 3.4 R26GRR マウスにおける組織特異的な tdsRed の活性化

赤色のレポーターである tdsRed が Cre/loxP 組換え後、R26GRR マウスにおいて特定の器官に組織特異的であるかどうかを検討した。マウスインスリン 1(*Ins1*)プロモーターはマウス膵臓ランゲルハンス島 β 細胞における外来性の遺伝子として良く用いられる [4]。tdsRed の膵島特異的な発光を検討するために、R26GRR マウスを Ins1-Cre マウスと交配し R26GRR/Ins1-Cre $F_1$ 子孫を得た。膵島は明瞭に強い赤色蛍光に標識されていたが、他の膵臓の組織は緑色蛍光に標識されていた。膵島特異的な赤色蛍光

が見られたことから、膵臓β細胞において Cre/loxP による組換えが起こっていることが示唆された。

さらに R26GRR マウスを用いて、内皮細胞系列に特異的な Cre/loxP リコンビネーションについても検討した。チロシンキナーゼレセプターの制御領域にある *Tek(Tie2)*遺伝子は血管内皮細胞特異的に遺伝子発現することが知られている[5]。Tie2-Cre マウスは Tie プロモーター/エンハンサーの制御下で Cre リコンビナーゼを発現し、胚発生期や成体で内皮細胞に均一な発現を示す[6]。tdsRed の発光が血管内皮系列特異的であるか検討するために、R26GRR マウスと Tie2-Cre マウスを交配し R26GRR/Tie2-Cre $F_1$ マウスを作製した。胎生 9.5 日の R26GRR/Tie2-Cre $F_1$ 個体において赤色蛍光を伴った血管形成がはっきりと観察され、組織特異的に Cre/loxP リコンビネーションが起こっていることが示唆された(Fig.7)。まとめると、Cre の組織特異的な発現は R26GRR マウスを用いることによって蛍光タンパクの色に基づいて識別できる。

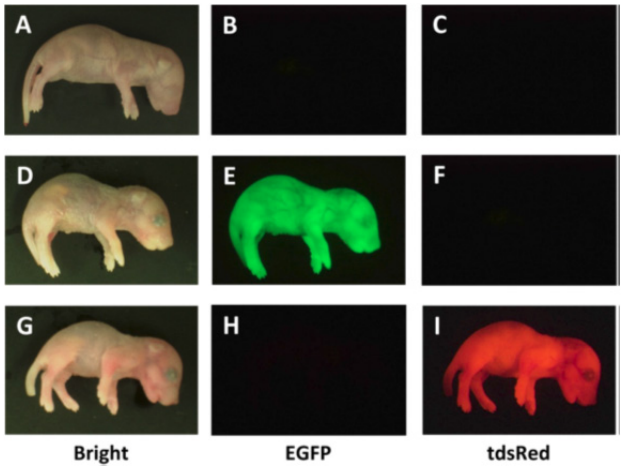



Fig.3 EGFP and tdsRed expression in R26GRR and R26RR neonates.

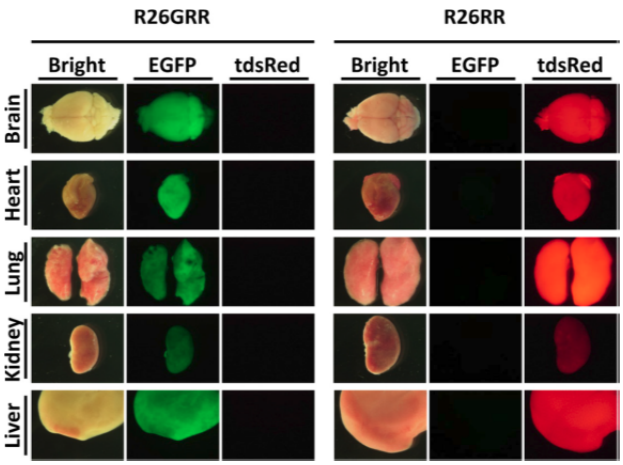



Fig.4 EGFP and tdsRed expression in the organs of R26GRR and R26RR adults.

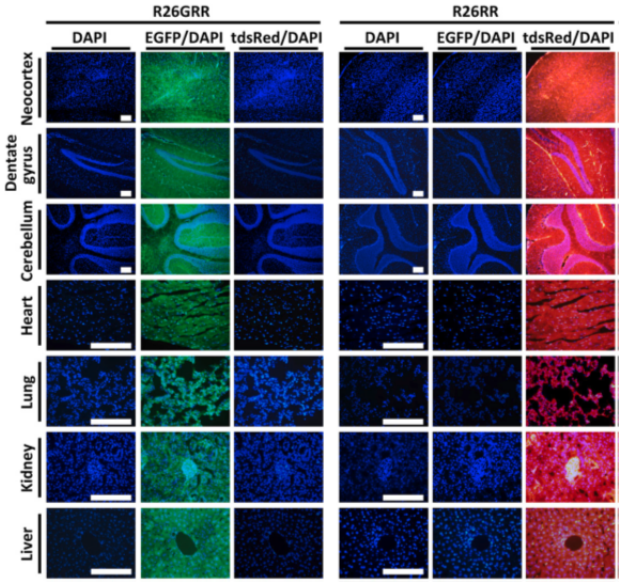



Fig.5 EGFP and tdsRed expression in tissues of R26GRR and R26RR adults.

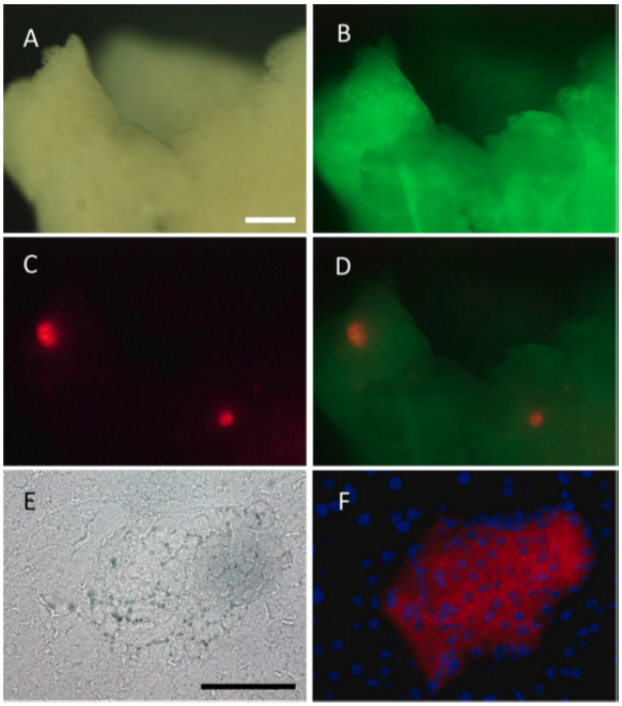



Fig.6 Double-color imaging of EGFP and tdsRed fluorescence in the pancreas of R26GRR/Ins1-Cre $F_1$ mice at the adult stage.

## 4．考察

マウスにおける遺伝子機能はノックアウトマウスの表現型の研究から決定されてきた。さらにコンディショナルノックアウトマウスを用いた手法はマウスの時空間分析のための強力な方法となりうる。近年では 9000 以上のコンディショナルな対立遺伝子を用いたマウスが C57BL/6N 由来の ES 細胞から組織的に樹立されたとの報告もある[7]。それゆえに C57BL/6N ラインを用いた Cre ドライバーマウスや Cre レポーターマウスの開発は生物学的にも基礎医学的にも重要になってきている。そこで我々は、リコンビネーションが起こっていない細胞では

緑色蛍光を発し、Cre リコンビナーゼが起こった細胞では赤色蛍光を発する R26GRR マウスを作製しその特性を明らかにした。R26GRR は遍在性に緑色蛍光を発現させ、赤色蛍光は発現しなかった。一方、Cre 酵素により EGFP を除去した R26RR マウスにおいても遍在性に赤色蛍光を発現し、レポーター遺伝子プロモーターが Cre リコンビネーション前後で変わりなく遍在性にレポーター遺伝子発現を機能させることが示唆された。さらに R26GRR/Tie2-Cre $F_1$ マウスにおいて血管内皮特異的赤色蛍光、また R26GRR/Ins1-Cre $F_1$ マウスにおいて膵島特異的な赤色蛍光が観察され、組織特異的な Cre リコンビナーゼが検出された。これらの結果は R26GRR マウスが新規の Cre レポーターマウスとして有用であること、Cre/loxP リコンビネーションにより緑色から赤色蛍光変換する C57BL/6N 遺伝的背景をもつ細胞の有用な供給源であることが示された。

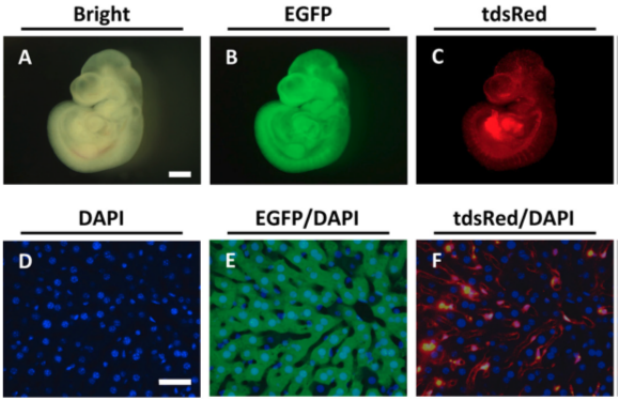


Fig.7 Double-color imaging of EGFP and tdsRed fluorescence in R26GRR/Tie2-Cre $F_1$ mice.

## 謝辞

本研究においてご指導とご鞭撻を受け賜りました筑波大学人間総合科学研究科の八神健一教授、杉山文博准教授、水野聖哉助教に感謝申し上げます。また、ご協力いただいた実験動物研究室の皆様、生命科学動物資源センターの皆様にも感謝申し上げます。

参考文献

[1] Hasegawa, Y., Daitoku, Y., Sekiguchi, K., Tanimoto, Y., Mizuno-Iijima, S., Mizuno, S., Kajiwara, N., Ema, M., Miwa, Y., Mekada, K., Yoshiki, A., Takahashi, S., Sugiyama, F., and Yagami, K. 2013. Novel ROSA26 Cre-reporter knock-in C57BL/6N mice exhibiting green emission before and red emission after Cre-mediated recombination. Exp.Anim.62.: 295 – 304.

[2] Soriano, P. 1999. Generalized lacZ expression with the ROSA26 Cre reporter strain. Nat. Genet.21: 70 – 71.

[3] Niwa, H., Araki, K., Kimura, S., Taniguchi, S., Wakasugi, S., and Yamamura, K. 1993. An efficient gene-trap method using poly A trap vectors and characterization of gene-trap events. *J Biochem* 113: 343 – 349.

[4] Sekiguchi, Y., Owada, J., Oishi, H., Katsumata, T., Ikeda, K.,Kudo, T., and Takahashi, S. 2012. Noninvasive monitoring of b-cell mass and fetal b-cell genesis in mice using bioluminescence imaging. *Exp Anim* 61: 445 – 451.

[5] Schlaeger, T.M., Qin, Y., Fujiwara, Y., Magram, J., and Sato,T.N. 1995. Vascular endothelial cell lineage-specific promoterin transgenic mice. *Development* 121: 1089 – 1098.

[6] Kisanuki, Y.Y., Hammer, R.E., Miyazaki, J., Williams, S.C., Richardson, J.A., and Yanagisawa, M. 2001. Tie2-Cre transgenic mice: a new model for endothelial cell-lineage analysis in vivo. *Dev Biol* 230: 230 – 242.

[7] Skarnes, W. C., Rosen, B., West, A. P., Koutsourakis, M., Bushell, W., Iyer, V., Mujica, A. O., Thomas, M., Harrow, J., Cox, T., Jackson, D., Severi, J., Biggs, P., Fu, J., Nefedov, M., de Jong, P. J., Stewart, A.F., and Bradley, A. 2011. A conditional knockout resource for the genome-wide study of mouse gene function. *Nature* 474: 337 – 342.

# Novel ROSA26 Cre-reporter Knock-in C57BL/6N Mice Exhibiting Green Emission before and Red Emission after Cre-mediated Recombination

Yoshikazu Hasegawa

Technical Service Office for Medical Science, Laboratory Animal Resource Center,
University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8575 Japan

***Keywords:*** CAG promoter, Cre-reporter mouse, EGFP, Rosa26, tdsRed

# フローサイトメトリーによる健常人赤血球・網赤血球におけるトランスフェリン受容体(CD71)の分析および PNH 型幼若網血球検出への応用

佐藤　晶子
筑波大学医学系技術室
〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1

## 概要

細胞表面抗原の分析には、フローサイトメトリーによる測定が広く用いられている。

健常人末梢血液を用いて、赤血球および網赤血球のトランスフェリン受容体(transferrin receptor, TfR)(CD71)の発現について、フローサイトメトリーによる 2 カラー分析をした。健常人の CD71 陽性率(mean ± SD)は、赤血球 0.19 ± 0.11%、網赤血球 14.9 ± 6.2 %であった(n=30)。

また、トランスフェリン受容体(CD71)陽性赤血球は、末梢血液中に放出されて間もない幼若網赤血球である。この幼若網赤血球を用いて、発作性夜間ヘモグロビン尿症(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH )でみられる PNH 型血球の検出についてフローサイトメトリーによる 3 カラー分析を考案した(TfR -RBC 測定法, CD55+CD59/CD71/CD45)。

この TfR -RBC 測定法は、微量な PNH 型血球を定量的に検出することができ、また、PNH型血球の判定結果が、赤血球陰性/顆粒球陽性と乖離した症例において、陽性判定となり、赤血球系においても異常クローンの増加を検証することができた。

幼若網赤血球による TfR-RBC 測定法は、PNH 型赤血球の産生状態を図れる高感度な分析方法であると思われた。

キーワード：トランスフェリン受容体(CD71)、補体制御膜蛋白(CD55, CD59)、発作性夜間ヘモグロビン尿症、再生不良性貧血

## １．はじめに

細胞表面抗原の一つであるCD71は、血液中の主要な鉄イオン結合蛋白であるトランスフェリンの受容体(transferrin receptor, TfR)であり、鉄を大量に代謝する必要のある細胞に高発現をしている。骨髄中の赤芽球は、高い CD71 発現を有し、活性化された血球系細胞全般にも CD71 発現を認める[1]。その他、赤芽球が脱核して間もない末梢血液中の網赤血球にも CD71 を発現しているものがあり、網赤血球の中でも、より骨髄から末梢血液へ放出されて間もない幼若網赤血球(CD71陽性赤血球)[2]である。

通常、網赤血球と赤血球の識別には、網赤血球の RNA 量が赤血球に比較し高いことを利用して、RNA 染色による方法が用いられている[3]。今回、この方法を用いてフローサイトメトリーによる 2 カラー測定を行い、健常人を対象に、赤血球(red blood cells, RBC)および網赤血球におけるトランスフェリン受容体(CD71)の発現率について分析を行った。

また、発作性夜間ヘモグロビン尿症(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH)は、グリコシルホスファチジルイノシトール(glycosylphosphatidylinositol, GPI)の生合成に異常があり、そのため、GPI アンカーを介して細胞膜に結合している GPI アンカー型膜蛋白は、生成されても細胞膜上に発現することができず、血液細胞は、様々な GPI アンカー型膜蛋白の低下や欠損の異常をきたすことが報告されている[4]。

赤血球膜蛋白には、自己補体活性から防衛する補体制御膜蛋白があり、主な働きの CD55 や CD59 は、GPI アンカー型膜蛋白に属するため、この CD55 や CD59 の欠損や低下に起因して、補体による感受性が高くなり、PNH 型赤血球は、体内循環中に発作的・慢性的に血管内溶血を起こす病態が知られている。

この PNH 型血球は、PNH 疾患に認められるだけでなく、再生不良性貧血(aplastic anemia, AA)や骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndrome, MDS)においても、わずかな増加が認められる症例があり[5][6][7]、また、健常人にも高感度測定により極々微量ではあるが PNH 型血球が検出されている [5][7]。

今回、CD55 と CD59 のカクテル抗体を用いて、幼若網赤血球(CD71陽性赤血球)における PNH 型血球検出のフローサイトメトリー分析を考案し(TfR -RBC 測定法)、健常人における補体制御膜蛋白欠損 PNH 型血球($CD55^-$ $CD59^-$)の保有率について分析をした。

近年、筑波大学血液内科では、PNH 型血球検出に高感度の金沢大学測定法[5]を導入した。それに呼応して、この TfR-RBC 測定法の改良を行ったので、合わせて報告をする。

## ２．トランスフェリン受容体(CD71)陽性赤血球および網赤血球の分析

### 2.1 対象および目的

健常人 30 名を対象に、EDTA 採血末梢血液を用いて、トランスフェリン受容体(CD71)の赤血球および網赤血球の発現率について分析をする。

また、網赤血球の識別には、 CD4K530 試薬を用いて核酸染色をして、成熟赤血球と区別した。

なお、この健常人 30 名の血算値の平均(mean ± SD)は、赤血球数 4.58 ± 0.46 × $10^{12}$ /l、Hgb 14.1 ± 1.5 g/dl、Ht 40.7 ± 3.8 %、網赤血球数 1.3 ± 0.4 %、白血球数 5.6 ± 1.0 × $10^9$ /l、血小板数 25.2 ± 4.8 × $10^{10}$ /l であった。

## 2.2 試薬

・抗ヒト CD71-RPE 標識抗体(Beckman coulter)
・陰性コントロール：RPE 標識マウス$IgG_1$ (Beckman coulter)
・CD4K530 試薬(Cell-Dyn4000System,ダイナボット)
・ステイニングメディウム(SM)：phosphate buffered saline pH 7.2 (PBS,日水製薬), 0.1 %bovine serum albumin (シグマ), 0.1 %$NaN_3$

## 2.3 測定方法 RNA/ CD71[2]

1、小試験管に末梢血液を入れ、SM で 1 回遠心洗浄し、1 × $10^8$/ml 赤血球浮遊液に調整する。
2、この赤血球浮遊液 50μl に、CD71-RPE 標識抗体5μl を加えて、室温、暗所で 30 分間反応させる。
3、SM を加え 1 回遠心洗浄し、上清を除き、赤血球を軽く混和しておく。
4、CD4K530 試薬 300μl を加えて 15 秒後に、FACSort(BD Biosciences)で測定する。
5、Cell Quest Pro ソフトウェアを用いて解析し CD71 の陽性率を算出した。
解析は、図 1 の通り、赤血球は、前方散乱光(forward scatter, FSC)と側方散乱光(side scatter, SSC)のサイトグラムから、赤血球分画(R1 ゲート)を選別する。網赤血球分画は、CD4K530 試薬に反応した高い FL1 蛍光強度(FL1, BP 530/30 nm）をもつ血球(R2 ゲート)を選択して解析した。また、赤血球中に混在している白血球は、CD4K530 試薬の反応で、網赤血球よりも FL1 の蛍光強度が高く、R2 ゲートやR3 ゲートを用いることにより除外した。
トランスフェリン受容体(CD71)陽性(R3 ゲート)は、アイソタイプコントロールを用いて CD71 蛍光強度(FL2, BP 585/42 nm)の cut-off 値を定め、陽性率を算出した。

## 2.4 測定結果

健常人30名の末梢血液を用いて、トランスフェリン受容体(CD71)の発現率について分析をした。
健常人のCD71 陽性率(mean ± SD)は、赤血球 0.19 ± 0.11 %であり、網赤血球では 14.9 ± 6.2 %であった(n=30)。

# ３．幼若網赤血球による PNH 型血球検出 (TfR-RBC 測定法)

## 3.1 対象および目的

健常人 30 名を対象に、EDTA 採血末梢血液を用いて、幼若網赤血球(CD71 陽性赤血球)における補体制御膜蛋白欠損 PNH 型血球($CD55^-$ $CD59^-$ )の保有率について分析をする。
なお、この健常人における従来法の PNH 型血球測定は、赤血球($CD55^-CD59^-$ $CD235a^+$)平均値は 0.002 %、その内 0.001 %未満 8 名、陽性判定基準の 0.005 %以上は 0 名、顆粒球($CD55^-$ $CD59^-$ $CD13^+$)平均値は 0.0003 %、その内 0.001 %未満 24 名、陽性判定基準の 0.003 %以上は 0 名であった(n=30)。

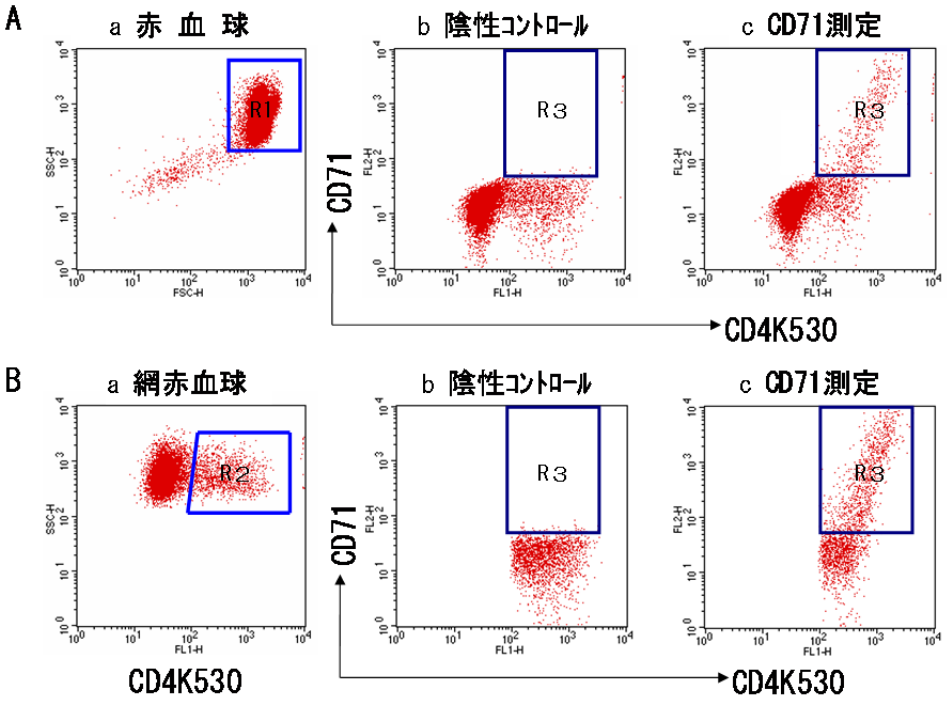



図 1. トランスフェリン受容体(CD71)のフローサイトメトリーによる 2 カラー測定（RNA/CD71）

A. 赤血球測定 a. FSC/SSC b. CD4K530/RPE-control $IgG_1$ c. CD4K530/RPE-CD71
B. 網赤血球測定 a. CD4K530/SSC b. CD4K530/PE-control $IgG_1$ c. CD4K530/RPE-CD71
赤血球ゲート(R1), 網赤血球ゲート(R2), CD71 陽性ゲート(R3)
(S.Sato. Int Lab Hem. 32 (2010) e137-e143. )

## 3.2 試薬

・抗ヒト CD55-FITC 標識抗体(Beckman coulter)
・抗ヒト CD59-FITC 標識抗体(BD Phamingen)
・抗ヒト CD71-RPE 標識抗体(Beckman coulter)
・抗ヒト CD45-RPE Cy5 標識抗体(Dako)
・陰性コントロール：FITC 標識マウス $IgG_1$ (Beckman coulter)、FITC 標識マウス $IgG_{2a}$ (BD Phamingen)
・ステイニングメディウム(SM)：phosphate buffered saline pH 7.2 (PBS,日水製薬), 0.1 %bovine serum albumin (シグマ), 0.1 %$NaN_3$

## 3.3 測定方法 CD55+CD59/CD71/CD45

1、小試験管に末梢血液を入れ、SM で 1 回遠心洗浄し、5 × $10^8$/ml 赤血球浮遊液に調整する。
2、この赤血球浮遊液 50μl にCD55-FITC 標識抗体 10μl、CD59-FITC 標識抗体 5μl、CD71-RPE 標識抗体 3μl、CD45-RPE Cy5 標識抗体 2.5μl を加えて、室温、暗所で 30 分間反応させる。
3、SM を加えて 1 回遠心洗浄し、上清を除き、SM に浮遊させ、FACSort(BD Biosciences)で 3 カラー測定を行った。
4、Cell Quest Pro ソフトウェアを用いて解析しPNH型血球($CD55^-CD59^-$)の比率を算出した。

解析は、図 2の通り、赤血球は、FSC と SSC のサイトグラムから、赤血球分画(R1 ゲート) を選別し、また、混在している白血球は、FL3 蛍光強度(FL3, LP 650 nm)が高蛍光を示すため、R2 ゲートを用いることにより除外をした。
FL2 蛍光強度（FL2, BP 585/42 nm）の高い蛍光をもつ CD71 陽性赤血球(R3 ゲート)を、幼若網赤血球として解析した。
補体制御膜蛋白欠損($CD55^-$ $CD59^-$)血球については、陰性コントロールを用いて、FITC 蛍光強度(FL1, BP 530 /30 nm)の cut-off 値を定め、PNH 型血球比率を算出した。

## 3.4 測定結果

健常人 30 名の末梢血を用いて、幼若網赤血球(CD71陽性赤血球)における補体制御膜蛋白欠損PNH型血球($CD55^-CD59^-$)の保有率を分析した。
健常人の幼若網赤血球における PNH 型血球は、0.001 %未満 16 名、0.001 ～ 0.004 % 6名、0.005 ～ 0.009 % 8名となり、平均値 0.0026 %、最大値 0.009 %であった。
また、この TfR-RBC 測定における陽性判定の基準は、PNH型血球が 0.010 %以上検出された場合と推定した。

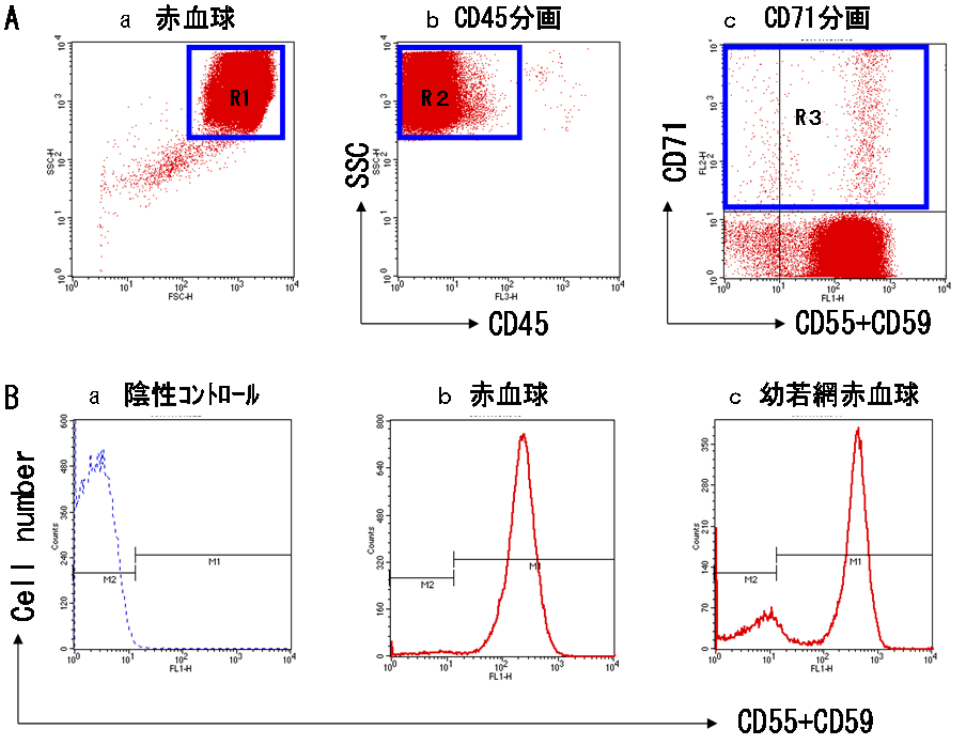



図 2. 幼若網赤血球(トランスフェリン受容体(CD71)陽性赤血球)による PNH 型血球($CD55^-CD59^-$)検出のフローサイトメトリーによる 3 カラー測定（CD55+CD59/CD71/CD45）
A. a. FSC/SSC b. RPE Cy5-CD45/SSC (R1) c. FITC-CD55+CD59 /RPE-CD71 (R1+R2)
B. a. FITC-control $IgG_1$+$IgG_{2a}$ (R1+R2) b. FITC-CD55+CD59 (R1+R2) c. FITC-CD55+ CD59 (R1+R2+R3)
赤血球ゲート(R1), 白血球除去ゲート(R2), CD71 陽性ゲート(R3)

## ４．TfR-RBC 測定法の改良
## (幼若網赤血球による PNH 型血球検出)

### 4.1 目的

本研究室では、PNH 型血球の検出方法に、金沢大学の高感度測定法[5]を導入した。それに伴い今までの TfR-RBC 測定法における血液サンプルの調整方法や抗体量による蛍光強度等の再検討を行う。

測定機器は、FACSCanto Ⅱ(BD Biosciences)に変更した。

なお、この金沢大学高感度法を用いた健常人の PNH 型血球測定は、赤血球($CD55^-$ $CD59^-$ $CD235a^+$)の平均値は 0.001 %、その内 0.001 %未満 14 名、陽性判定基準の 0.005 %以上は 0 名、顆粒球($FLAER^-$ $CD11b^+$ $7AAD^-$)の平均値は 0.0003 %、その内 0.001 %未満 20 名、陽性判定基準の 0.003 %以上は 0 名であった(n=25)。

### 4.2 試薬

・抗ヒト CD55-FITC 標識抗体(Beckman coulter)
・抗ヒト CD59-FITC 標識抗体(BD Phamingen)
・抗ヒト CD71-RPE 標識抗体(Beckman coulter)
・抗ヒト CD45-RPE Cy5 標識抗体(Dako)
・陰性コントロール： FITC 標識マウス $IgG_1$ (Beckman coulter)、FITC 標識マウス $IgG_{2a}$ (BD Phamingen)
・ステイニングメディウム(SM)：phosphate buffered saline pH 7.2 (PBS,日水製薬), 1.0 %fetal bovine serum, 0.1 %$NaN_3$

### 4.3 改良 TfR-RBC 測定法
### CD55+CD59/CD71/CD45

1、小試験管に、末梢血液を入れ遠心する。上清を除き、残りの赤血球層を混和し、その 50μl を SM 2ml に浮遊させ赤血球浮遊液とする。
2、この赤血球浮遊液 100μl に、CD55-FITC 標識抗体 5μl、CD59-FITC 標識抗体 5μl、CD71-RPE 標識抗体 3μl、CD45-RPE Cy5 標識抗体 2.5μl を加えて、4 ℃、25 分間反応させる。
3、SM を加えて 1 回遠心洗浄し、上清を除き、SM 600μl に浮遊させ、FACSCanto Ⅱ (BD Biosciences)で 3 カラー測定を行う。
4、FACSDiva ソフトウェアを用いて解析し、 PNH 型血球($CD55^-$ $CD59^-$)の比率を算出した。
解析は、図 2と同様であり、赤血球は、FSC と SSC のサイトグラムから、赤血球分画(R1 ゲート) を選別し、また、混在している白血球は、FL3 蛍光強度(FL3, LP 650 nm)が高蛍光を示すため、R2 ゲートを用いることにより除外をした。FL2 蛍光強度（FL2, BP 585/42 nm）の高い蛍光をもつ CD71 陽性赤血球(R3 ゲート)を幼若網赤血球として解析した。
補体制御膜蛋白欠損($CD55^-$ $CD59^-$)血球については、アイソタイプコントロールを用いて、FITC 蛍光強度 (FL1, BP 530 /30 nm)の cut-off 値を定め、PNH 型血球比率を算出した。

## ５．PNH 型血球検出法による比較

### 5.1 対象および目的

PNH 型血球の保有率について、全血法による赤血球測定と顆粒球による測定の判定結果が乖離した 3 症例(AA)を対象とした。

この症例の末梢血液を用いて TfR-RBC 測定法による幼若網赤血球分画の測定を行い、3 方法による判定結果を比較検討する。

### 5.2 判定基準

PNH 型血球測定における判定基準は、従来通り PNH型血球が、赤血球は 0.005 %以上、顆粒球は 0.003 %以上保有している場合を陽性と判定した。幼若網赤血球を用いた TfR-RBC 測定法は、PNH型血球が 0.010 %以上を陽性と判定した。

### 5.3 抗体

・幼若網赤血球測定　CD55+CD59/CD71/CD45 (症例 1, 2, 3)
　抗ヒト CD55-FITC 標識抗体(Beckman coulter)
　抗ヒト CD59-FITC 標識抗体(BD Phamingen)
　抗ヒト CD71-RPE 標識抗体(Beckman coulter)
　抗ヒト CD45-RPE Cy5 標識抗体(Dako)
　陰性コントロール： FITC 標識マウス $IgG_1$ (Beckman coulter)、FITC 標識マウス $IgG_{2a}$ (BD Phamingen)
・赤血球測定　CD55+CD59/CD235a　(症例 1, 2)
　抗ヒト CD55-FITC 標識抗体(Beckman coulter)
　抗ヒト CD59-FITC 標識抗体(BD Phamingen)
　抗ヒト CD235a-RPE 標識抗体(DAKO)
　陰性コントロール： FITC 標識マウス $IgG_1$ (Beckman coulter)、FITC 標識マウス $IgG_{2a}$ (BD Phamingen)
・赤血球測定　CD55+CD59/CD235a　(症例 3)
　抗ヒト CD55-FITC 標識抗体(BD Phamingen)
　抗ヒト CD59-FITC 標識抗体(BD Phamingen)
　抗ヒト CD235a-RPE 標識抗体(DAKO)
　陰性コントロール： FITC 標識マウス $IgG_{2a}$ (BD Phamingen)
・好中球測定　CD55+CD59/CD13　(症例 1, 2)
　抗ヒト CD55-FITC 標識抗体(Beckman coulter)
　抗ヒト CD59-FITC 標識抗体(BD Phamingen)
　抗ヒト CD13-RPE 標識抗体(DAKO)
　陰性コントロール： FITC 標識マウス $IgG_1$ (Beckman coulter)、FITC 標識マウス $IgG_{2a}$ (BD Phamingen)
・好中球測定　FLAER/CD11b/7AAD　(症例 3)
　FLAER-Alexa fluor488 標識試薬(Cedarlane)
　抗ヒト CD11b-RPE 標識抗体(BD Phamingen)
　7AAD 試薬(BD Phamingen)

### 5.4 結果

症例 1 のPNH 型血球分析は、赤血球は陰性判定(0.003 %)、顆粒球は陽性判定(0.026 %)であり、幼若網赤血球は陽性判定(0.035 %)であった。

症例 2 の PNH 型血球分析は、赤血球は陰性判定(0.004 %)、顆粒球は陽性判定(0.045 %)であり、幼若網赤血球は陽性判定 0.056 %)であった。

症例 3 の PNH 型血球分析は、赤血球は陰性判定(0.002 %)、顆粒球は陽性判定( 0.071 %)であり、幼若網赤血球は陽性判定(0.027 %)であった。

## ６．考察

健常人の末梢血液では、赤血球寿命は約 120 日間と言われ、赤血球は、絶えず崩壊(古い赤血球の脾臓等による処理)と新生赤血球の供給(骨髄による造血)によって恒常性が維持されている[4]。

一般的な全血法による PNH 型赤血球検出では、正常赤血球(120 日寿命)に対して、PNH 型血球は、体内循環中の溶血(寿命短縮)や輸血などの影響を受け低く計測されてしまう問題点がある [2][6][7][10]。

以前我々は、PNH 症例のフローサイトメトリー分析の網赤血球分画と赤血球分画の PNH 型血球比率の差から、PNH 型赤血球の平均寿命の推定を行った。この平均寿命は、症例ごとに異なり、また、同一症例でも変動があり、約 10 日～45 日と推定され、寿命の短縮が認められた[8][9]。

また、同症例[8]において、溶血の指標とされる血清 LD 値は、PNH 型血球数と短縮された平均赤血球寿命の値( = PNH 型赤血球数/μl ×(120 日－平均赤血球寿命の日数))と高い正の相関を示していた(データ示さず)。

今回、健常人による測定では、幼若網赤血球(CD71 陽性赤血球)は、全血中で平均 0.19 %と微量であったが、この幼若網赤血球は、骨髄から末梢血液中に放出されて間もない血球のため、溶血等による影響が少ないものと考え、幼若網赤血球を用いたPNH 型赤血球検出のフローサイトメトリーによる 3 カラー分析を考案した(TfR-RBC 測定法)。

また、PNH 疾患で認められる PNH 型血球は、AA や MDS の骨髄不全症候群の一部で、わずかな増加を認める症例があり、免疫抑制療法の効果や無病生存率等との関連性等で PNH 型血球を検出し、その保有率が重要視されるようになってきている。しかし、そのPNH 型血球の測定値は、PNH 疾患よりもかなり低く、高感度な測定方法が求められる。以前は、GPI アンカー型膜蛋白の CD55 や CD59 などの単独抗体による測定であったが[2][10][11]、今回は、CD55 と CD59 のカクテル抗体を用いて、たとえば 0.003 %や 0.005 %のような微小な血球の検出ができるように精度を高めた。

今回、「赤血球陰性判定・顆粒球陽性判定」と乖離した症例において、TfR-RBC 測定法を行い、微量な PNH クローンを検出することができ、また、今回の検討で陽性判定の基準値を設定したことにより、白血球判定結果と同様に、赤血球系においても異常クローンの陽性判定を検証することができた。

これらのことにより、この幼若網赤血球による TfR-RBC 方法は、微量な PNH 型血球の産生状態を図ることができる優れた分析方法であると思われた。

## ７．まとめ

1、健常人末梢血におけるトランスフェリン受容体(CD71)の発現についてフローサイトメトリーによる 2 カラー分析を行った。赤血球の CD71 陽性率は、0.19 ± 0.11 %、網赤血球の CD71 陽性率は、14.9 ± 6.2 %であった(n=30)。

表 1. PNH 型血球検出の乖離症例における赤血球・顆粒球・幼若網赤血球測定の比較

| | 赤血球 | 顆粒球 | 幼若網赤血球 |
|---|---|---|---|
| 症例 1 | （－）<br>0.003% | （＋）<br>0.026% | （＋）<br>0.035% |
| 症例 2 | （－）<br>0.004% | （＋）<br>0.045% | （＋）<br>0.056% |
| 症例 3 | （－）<br>0.002% | （＋）<br>0.071% | （＋）<br>0.027% |

2、幼若網赤血球(CD71陽性赤血球)における補体制御膜蛋白欠損（$CD55^{-}CD59^{-}$）の PNH 型血球の検出について、フローサイトメトリーによる 3 カラー分析を考案した(TfR-RBC 測定法, CD55+CD59/CD71/CD45)。

また、この TrF-RBC 測定の陽性判定基準は、PNH 型血球が0.010 %以上と推定した。

3、PNH 型血球の判定結果が、全血法による赤血球測定(陰性)、顆粒球測定(陽性)と乖離した 3 症例(AA)について、TfR-RBC 測定法で PNH クローンの検出を行った。幼若網赤血球(CD71陽性赤血球)分析では、全例ともわずかな増加が検出され、陽性判定であった。この3症例は、赤血球系においても顆粒球測定と同様に異常クローンの増加が検証された。

## 謝辞

本報告の作成にあたり、筑波大学医学医療系 二宮治彦教授、千葉 滋教授、小原 直准教授をはじめ、ご指導を賜りました血液内科の皆様に深く感謝申し上げます。

## 参考文献

[1] 右田俊介ら, CD71, CD 抗原ハンドブック 別冊医学のあゆみ, 医歯薬出版株式会社 (1999) 387-390.
[2] S.Sato et al, Enhanced expression of CD71, transferrin receptor, on immature reticulocytes in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Int Jnl Lab Hem. 32 (2010) e137-e143.
[3] 佐藤晶子ら, 網赤血球検出のための蛍光試薬の比較検討, 筑波大学技術報告 28 (2008) 58-61.
[4] 佐藤晶子ら, 赤血球膜蛋白異常の検出法としてのフローサイトメトリー：発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH)の病態解析の基礎と応用, 日本膜学会誌 32(2007)147-154.
[5] Sugimori C et al, Minor population of CD55-CD59- blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia, Blood 107 (2006)1308-1314.
[6] 佐藤晶子ら, 微量 PNH 型血球を保有する症例の病態解析－トランスフェリン CD71 陽性赤血球分析の有用性, 日本サイトメトリー学会機関誌 25(suppl.) (2015) 43.

[7] 佐藤晶子ら，トランスフェリン受容体(CD71)を用いたフローサイトメトリー測定による骨髄不全症候群の PNH 赤血球産生率の推定，日本検査血液学会雑誌 13(2012) s111.
[8] 佐藤晶子ら，網赤血球ゲーティングフローサイトメトリーによる PNH 赤血球平均寿命の推定，日本検査血液学会雑誌 8(2007) s58
[9] H.Ninomiya et al, Shortened lifespan paroxysmal nocturnal haemoglobinuria-affected RBC estimated from differences in ration of CD59-negative populations between reticulocytes and whole RBC, Int Jnl Lab Hem. 29 (2007) 1-6.
[10] Shoko Sato et al, Reticulocyte-gated flow cytometric analysis of red blood cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Lab Hem. 12 (2006) 82-85.
[11] 佐藤晶子，ヒト赤血球および白血球の補体制御膜蛋白発現のフローサイトメトリーによる検討，筑波大学技術報告 24 (2004) 10-14.

# Flow cytometric analysis of transferrin receptor (CD71) expression on healthy human red blood cells and reticulocytes, and detection of PNH type immature reticulocytes

Shoko Sato

Technical Service Office for Medical Sciences, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8575 Japan

Two-color flow cytometric analysis was carried out on transferrin receptor (TfR,CD71) expression on healthy human red blood cells (RBC) and reticulocytes. The CD71-positive rate in RBC was 0.19±0.11%, and the CD71 positive rate in reticulocytes was 14.9±6.2% (n=30).

Moreover, in order to detect PNH type cells ($CD55^-$ $CD59^-$), three-color flow cytometric analysis using CD71-positive RBC (immature reticulocytes) was designed (TfR-RBC measurement method, CD55+CD59/ CD71/CD45).

In three aplastic anemia patients studied, RBC measurement (CD55+CD59/CD235a) could not detected PNH type cells, but this TfR-RBC measurement could detect slight increases in PNH type immature reticulocytes. This result was agreed with obtained by granulocytes measurement.

This TfR-RBC measurement method is considered to have high sensitivity detection of PNH type cells.

***Keywords:*** Transferrin receptor (CD71), Complement-regulatory membrane proteins (CD55,CD59), Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH), Aplastic anemia (AA)

# 組織標本作製室の紹介—検体試料の取り扱いについて

菊川　浩子
筑波大学医学系技術室(組織標本作製室)
〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1

## 概要

2012 年、第 12 回技術発表会で「組織標本作製室の紹介」を発表、組織標本作製室における固定・脱水・薄切・染色の説明と設備・利用状況の報告を行った。今回は、これから組織標本作製室を利用する人に、良好な組織標本を得てもらえるような検体試料の取り扱い方のヒントと、組織標本作製室への申し込み方法を紹介する。

キーワード：組織標本作製

## １．はじめに

組織標本作製室は、1977 年（昭和 52 年）に筑波大学医学系の研究用組織標本作製のために作られ、教官・学生を支援している。現在は医学系以外の部門からも標本作製の依頼があり、昨年度(2014.4.1～2015.3.31)は、766 件の利用申し込みがあった。また、2014 年 1 月からはヒト以外の動物組織、細胞のみ取り扱うようになった。

組織標本作製室に標本作製を依頼する際は、固定処理後の試料を持ち込むことになっている。そのため、試料の採取、固定液の選択、切り出しは研究者が行うことになる。組織標本作製室へ検体試料を持ち込む前に試料が既に乾燥していたり、変形をおこしたりしていては、良好な組織標本が作製できず、目的が達せられないことになる。そのため、日頃の受け付け業務中に気づいた“利用者に注意してほしいヒント”を報告することにした。

## ２．検体試料の取り扱い

組織標本作製室へ持ち込まれる検体試料の種類は、利用者によって様々である。しかし、どのような検体試料であっても、何を、どの向き、どんな形で薄切片とするのか考慮した上で採取されることが、良好な組織標本につながる。

### 2.1 採取

組織を採取中、採取後に乾燥させてしまうと、ひどい場合、ひび割れ、薄切困難や染色の色調の変化を引き起こす場合がある。そのため、採取する時は生理的食塩水や固定液などをそばに用意しておき、採取した組織をその中に入れて組織を乾燥させないよう注意すると良い。

### 2.2 固定処理

採取した検体試料は、自己融解や乾燥を防ぐため、速やかに固定液に浸漬することが求められる。

固定液の選択は研究目的により研究者自身が決定する。組織標本作製室に持ち込まれる試料は、10 ％中性緩衝ホルマリン（全体の約 58 ％）か、4 ％パラホルムアルデヒド（全体の約 22 ％）で固定処理されていることが多い。その他、低刺激性のホルマリン代替品やブアン固定液もみかける。

固定処理中に使用する容器に特に指定はないが、薬液に耐えうるもの、また、組織に対し十分大きいものを選択する。固定前の組織は柔らかいので多少容器の口が小さくても入れられるが、固定が完了すると組織は容器内で硬化して、最悪、容器から取り出せないことになる。

固定開始後、しばらくすると組織から出た水分により固定液濃度は薄まり、固定力が低下する。そのためそのままにしてしまうと、固定不良・組織の腐敗をおこす可能性がある。それらを防ぐため、静置しなければならない場合を除き、十分な量の固定液を用い、振盪したり、かき混ぜたり、組織表面が常に新しい固定液と接するようにするとよい。

固定液中に組織が沈み、容器の底や側面と密着してしまうことがあるが、接着面には固定液が届かないため固定不良になる。これを防ぐためには、放置せずときどき振盪するとよい。

また固定液に浮く組織の場合、液面より上の部分は固定液と接しておらず、固定不良、さらには組織の乾燥を招く。そのため金属製のかごやメッシュの袋を利用するなどして、完全に固定液中に沈むような工夫が必要である。脱脂綿等をかぶせ、乾燥を防ぐ方法もあるが、脱脂綿と接している部分は固定液の循環が悪いので、やはりときどき振盪してやる必要がある。

固定液は少しずつ蒸発するので、液量減少による乾燥にも注意が必要となる。

### 2.3 切り出し

不要な組織を取り除く切り出し（トリミング）を行うと、固定液が目的の組織に早く浸潤することになるため、良好な固定結果を得ることができる。

切り出しは、どんな薄切片を作製するのか、向き・形・大きさを考え、組織を損なわないように注意深く行う。固定中の組織の変形や、後の薄切時の荒削り（面出し）による組織表面の損失を考慮し、目的の組織、細胞の中心より離したところを切り出さなければならない。

固定による組織の変形が始まった後に切り出しを行うと、固定中の組織のねじれ・反り返りなどの変形を抑えられる。但し、切り出しせず完全に固定による変形が終わるのを待っていては、組織内部に固定液が行き渡らず、固定不良を招く恐れもあるので、タイミングを見計らって切り出しし、固定を進める。しかし、固定による変形がなくなった組織片でも、それ以降の脱水・脱脂・パラフィンに包埋する過程で再び変形の可能性があると言われている。

変形が著しい組織の場合は、コルク板に貼り付けたり、メッシュの袋や包埋用カセットに入れたりして変形を抑えることもできる。

組織のタテヨコの大きさは、スライドグラスに余裕をもって収まるように切り出す。標準的なスライドグラスの大きさは、26 x 76 mm であるが、組織標本作製室で使用しているものは、片側に試料名など記入するためのスリが 15 mm あり、その部分に試料を載せることはできない。更に大きな標本が必要な場合、52 x 76 mm のスライドグラスが用意されているので、これに収まる大きさまでは対応可能である。

組織の厚さは固定液の浸潤を考え、5mm 以下にすると良い。

切り出しにはナイフ・メス・ミクロトーム用替刃などが利用される。切るときは「引き切り」で一気に切るようにすると良い。刃を動かさず上から押し付けるように切ると組織の挫滅を招き、また、何度も前後に刃を動かしながら切ると、固定後、脱水され、パラフィンが透徹していく過程で組織にひびが入ることがあるので避けた方が良い。ハサミは切り口が挫滅するので細小な組織の切り出しには適切ではない。

## ３．標本作製依頼の申し込み

組織標本作製室は、現在(H27 年 12 月)医学系棟耐震改修工事のため、医学エリア内の病棟 E301 にある。今後移動することが予想されるので、利用の際は組織標本作製室のホームページ[1]などで確認してほしい。

組織標本作製室に検体試料を持ち込むタイミングは、利用者による固定処理と切り出し作業が終わってからである。受付窓口で、所定の申込書に、申込者氏名・連絡先・作製費用の請求先・染色の種類・枚数・厚さなどを記入する。申込書は受付窓口、またはホームページ[1]からダウンロードにより入手する。

申込時に利用者と、切り出し面・包埋する方向・薄切面などについて打ち合わせている。この場合、組織標本作製室で検体試料がどう取り扱われるか、何ができるかを利用者に知ってもらうと、スムースに打ち合わせが進むことがあるので、少しではあるが次に報告する。

### 3.1 包埋・パラフィンブロック作製

検体試料をパラフィンブロックにするためには、エタノール、キシレン、パラフィンの順に組織内に薬液を浸潤させることが必要である。

標本作製室では、自動脱水包埋装置（サクラファインテック）を利用している。自動脱水包埋装置には複数の利用者の申し込み分をまとめて投入するので、それぞれの検体試料が判別できるよう、名前を付けてメッシュの袋、金属かごなどに移し替えている。その作業中に検体試料が固定不足であることが分かれば固定を追加し、不要な組織部分があれば後の包埋、薄切作業が容易に行えるように切り出し除去している。

パラフィンブロックには、一つの組織片だけでなく、複数個をまとめて包埋することもできる。包埋する組織の角度や方向に専門知識が必要な場合は、申込者の立ち合いや申込者自身に包埋をお願いすることがある。

昨年度、ブロック作製数は 6842 個。うち、薄切しないブロック作製のみの依頼は 35 件 399 個であった。

### 4.3 薄切・染色

手動の滑走式ミクロトーム（ヤマト）を用いパラフィンブロックを薄切し、申込書に記入指定された厚さの薄切片を作製している。薄切するパラフィンブロックは、他施設で作製されたものも受け付けている。

薄切片の厚さは、2μm から十数μm までの指定が多く、染色の種類・利用目的（組織の観察、DNA 抽出、マイクロダイセクションなど）によって決定される。

薄切片が小さい場合、スライドグラス 1 枚に連続した、または不連続な複数枚の薄切片をのせる要望にも対応している。

組織標本作製室が準備しているスライドグラスには、薄切片の剥離脱落防止処理された MAS コートスライドグラス（マツナミ）・ MAS-GP コートスライドグラス（マツナミ）、コーティング剤が塗装されていないスターフロストスライドグラス（ムトー）がある。また、利用者自身が準備したスライドグラスや容器を用いて標本作製する事も可能である。

染色は主に HE、PAS、MT などの組織染色を行っている。染色後は封入剤(オイキットまたはグリセロールゼラチン)を使用し、カバーガラスをかけている。

免疫組織化学染色(免疫染色)は行っていないが、利用者自身で免疫染色するための未染色薄切片を乗せたスライドグラスを作製している。

昨年度、染色・未染色を合わせたスライド作製枚数は 26,890 枚であった。

## まとめ

固定液の選択・切り出しは、顕微鏡標本を作製するための第一歩であり、それらは標本が出来上がる最後まで影響を与えると言われており、非常に重要な操作である。

この度の報告が、より良い標本作製の一助になることができれば幸いである。

## 謝辞

組織標本作製室の世話人教員の野口雅之教授、技術専門職員の福中康子様には、この度の発表を快くご承諾下さり、厚く感謝を申し上げます。

参考文献

[1] 日本病理学会編　病理技術マニュアル 3　病理組織標本作製技術　上巻　切出しから薄切まで　医歯薬出版

[2] 第 12 回筑波大学技術職員技術発表会報告集「組織標本作製室の紹介」

[1] http://www.md.tsukuba.ac.jp/local/light-microscope/（筑波大学医学部内のみ閲覧可能）

# Introduction to the Tissue Sample Preparation Room: Sample handling

Hiroko Kikukawa

Technical Service Office for Medical Science, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki: 305-8575 Japan

***Keywords:*** tissue specimen

# 赤外線センサーカメラによる長野県上田市菅平高原の哺乳類相と鳥類相調査

佐藤　美幸、正木　大祐

筑波大学生命環境科学等技術室（菅平高原実験センター）

〒386-2204 長野県上田市菅平高原 1278-294

## 概要

近年、赤外線センサーカメラを活用した野外生物の生態調査が盛んに行われている。そこで、長野県上田市菅平高原において、赤外線センサーカメラを用いた哺乳類相と鳥類相調査を行った。筑波大学菅平高原実験センター内に設置した 9 台の赤外線センサーカメラで、10 種類の哺乳類と 3 種類の鳥類が撮影された。また、ニホンジカが撮影され、菅平高原への侵入が明らかになった。

**キーワード:** 赤外線センサーカメラ、*Cervus nippon*、ニホンジカ、哺乳類相、鳥類相、

## １．はじめに

菅平高原は、本州のほぼ中央、長野県上田市の東北部に位置する。上信越国立公園の南西部にあたり、四阿山(2,333 m)、根子岳(2,207 m)の南西斜面を占め、南北 7 km、東西 10 km にまたがる一大高原である[1]。

筑波大学菅平高原実験センター(以下、センター)は、菅平高原の中央部、標高約 1,300 m に位置する。約 35 ha の野外フィールドを有しており、アカマツ林、アカマツ・ミズナラ林、ミズナラ林、渓畔林、ススキ草原、および樹木園が存在している(図 1)[2]。

これまで、センターでは、哺乳類と鳥類相の定性的、定量的調査は行われてこなかった。また、近年、ニホンジカが生態系に与える影響が、日本各地で問題となっている。しかし、菅平高原へのニホンジカの侵入調査は行われていない。そこで本研究では、センター内におけるニホンジカの生息状況と、哺乳類相、および鳥類相を明らかにするため、赤外線センサーカメラを設置した。

## ２．方法

赤外線センサーカメラは、TREL 10J(GISupply 社）を使用した。センター敷地内の、アカマツ林・ミズナラ林・渓畔林に 7 台を設置した(図 1A)。また、センターでは、2014 年度に樹冠観測タワーを設置した。このタワーの最上部と中間部の二箇所にも赤外線センサーカメラをそれぞれ 1 台ずつ設置した(図 1B)。センサーカメラは、2015 年 8 月 18 日に設置し、2015 年 11 月 5 日に回収した。

## ３．結果

### 3.1 撮影された哺乳類と鳥類

センター内に設置した 9 台の赤外線センサーカメラのうち、7 台に哺乳類及び鳥類が撮影された(図 2～14)。撮影された種は、キツネ(*Vulpes vulpes*)、タヌキ(*Nyctereutes procyonoides*)、テン(*Martes melampus*)、ハクビシン(*Paguma larvata*)、ノネコ(*Felis catus*)、イノシシ(*Sus scrofa*)、ニホンジカ(*Cervus nippon*)、カモシカ(*Capricornis crispus*)、ニホンリス(*Sciurus lis*)、ヤマネ(*Glirulus japonicus*)、オオルリ(*Cyanoptila cyanomelana*)、ヒガラ(*Parus ater*)、シジュウカラ（*Parus major*）の、哺乳類 10 種と鳥類 3 種であった。

撮影枚数は合計 8,552 枚(図 1 設置地点①： 16 枚、②： 1 枚、③： 6,496 枚、④： 942 枚、⑤： 534 枚、⑥： 28 枚、⑦： 509 枚、⑧： 11 枚、⑨： 15 枚)であった。そのうち、83 枚で 10 種の哺乳類と 3 種の鳥類が撮影された(図 1 設置地点 ①： 9 枚、②： 0 枚、③： 7 枚、④： 0 枚、⑤： 35 枚、⑥： 9 枚、⑦： 13 枚、⑧： 1 枚、⑨： 9 枚)。

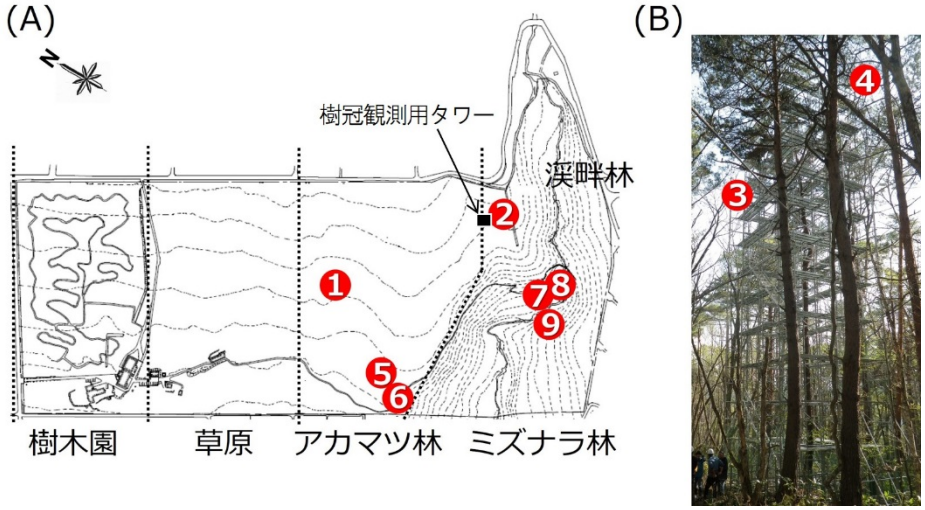



図 1．赤外線センサーカメラ TREL 10J（GISupply 社）設置地点
筑波大学菅平高原実験センター概略図（A）と樹冠観測用タワー（B）。
● は、赤外線センサーカメラ設置地点を表す。

なお、観察道周辺に設置した赤外線センサーカメラには、実習参加者やセンター利用者などが多く撮影されたため、ヒトが写っているものは除外した。また、②は実習利用者が多く調査に不適切であったため任意停止、③と⑧は電池切れによって、途中で撮影を中断した。

## 3.2 ニホンジカ

3 地点に設置した赤外線センサーカメラにおいて、ニホンジカが撮影された。撮影されたニホンジカはいずれも 1 頭で行動していた。

現在、センター内の植生等について、ニホンジカによる大きな影響は見られない。

## 3.3 林間タワーを利用した鳥類相調査

樹冠観測用タワー最上部のカメラでは、942 枚が撮影された。しかし哺乳類や鳥類は撮影されなかった。中間部に設置したカメラには 3 種の鳥類と 1 種の哺乳類が撮影されたが、撮影枚数の合計は 6,496 枚で回収前に電池切れとなった。

どちらのカメラでも、日中に連続して複数枚の写真が撮影されていた。これは、陽射しで暖められた植物に赤外線センサーが反応したものと考えられた。

図 2. キツネ

図 3. タヌキ

図 4. テン

図 5. ハクビシン

図 6. ノネコ

図 7. イノシシ

図 8. ニホンジカ

図 9. カモシカ

図 10. ニホンリス

図 11. ヤマネ

図 12. オオルリ

図 13. ヒガラ

図 14. シジュウカラ

## 4. 考察

センター Web [1]上に公開されている菅平生物多様性・生態系データベースでは、31 種(過去に棲息していた種を含む)の哺乳類が記載されているが、本調査で撮影された哺乳類は 10 種にとどまった。より多くの哺乳類の生息を確認するためには、赤外線センサーカメラの設置地点再検討や、調査の継続が必要と考えられる。特に、本調査では、ノネズミ類をはじめとする小型哺乳類は撮影されなかった。このことは、今回の設置条件では、赤外線センサーカメラによるノネズミ類などの小型哺乳類や、飛翔または滑空する動物の撮影は難しいことが示唆された。

また、林冠タワーに設置した 2 台のカメラでは、日中に連続して複数枚の写真が撮影されていた。これは、陽射しで暖められた植物に赤外線センサーが反応したものと考えられた。これは、同様のカメラを利用した調査ではよく起こることである。林冠タワー自体や、樹木の樹冠部は風によって大きく揺れる。このことが、センサーの反応を増加させたと考えられ、赤外線センサーカメラの林冠タワー上での利用は適さないことが示唆された。

本調査において、菅平高原内でのニホンジカの生息が確認された。センターの敷地内では、多くの実習や調査が行われており良好な環境を保つ必要がある。今後、ニホンジカの生息数が増加すれば、センター内の植生等に影響が出てくる可能性も考えられ、継続した調査の必要性が示唆された。

## 謝辞

本調査の実施および本稿のとりまとめにあたり、ご指導・ご助言をいただきました筑波大学生命環境系高木悦郎特任助教に厚く感謝し、深くお礼申し上げます。

参考文献

[1] 安藤裕, 菅平高原誌, 真田町教育委員会(1990).
[2] 正木大祐,金井隆治, 長岡講二, 佐藤美幸, 勝山麻里子, リターフォールトラップを使用した長期調査, 筑波大学技術報告, 35(2015) 35-38.

[1] http://www.sugadaira.tsukuba.ac.jp/

# Mammalian and avian fauna surveyed by infrared digital trail camera in Sugadaira highland, Ueda City, Nagano Prefecture, Japan

Miyuki Sato, Daisuke Masaki

Technical Service Office for Life and Environmental Sciences, Sugadaira Montane Research Center,
University of Tsukuba,
1278-294 Sugadaira Kogen, Ueda, Nagano 386-2204, Japan

Recently, numerous ecological surveys in fields have been conducted using inexpensive and high-performance infrared digital trail cameras. We set nine infrared digital trail cameras at the Japanese red pine forest, the red pine and broad-leaved mixed forest, deciduous broad-leaved forest, and riparian forest in the Sugadaira Montane Research Center, University of Tsukuba. Ten mammalian and 3 avian species were taken by the cameras. Sika deer, *Cervus nippon*, were also taken, indicating the invasion of sika deer into the Sugadaira highland.

***Keywords:*** *Cervus nippon*, infrared digital trail camera, mammalian, avifauna, sika deer

# 技術報告

# Ｔ型ユニオンを使ったガスサンプリングポート

伊藤 伸一

筑波大学数理物質科学等技術室

〒305-8573 茨城県つくば市天王台 1-1-1

## 概要

実験により生成したガスをガスクロマトグラフにより分析するため、ガスラインの途中にT型ユニオンを挿入し、そこからガスをサンプリングする方法を紹介する。

**キーワード：**ガス採取、ガス分析、ガスクロマトグラフ、水上置換法

## １．はじめに

理工系の研究室・実験室における様々な実験を進める上で、いくつかの簡単で、早く、安く自作できる仕掛けがある。最先端の実験では、実験装置が市販されていないし、かっちりとした実験をするためにはそれなりの装置を作る必要があるが、初めて行う実験は、はたしてそれが期待通りの結果となるかどうかわからない。そのような実験のために、高い費用と時間をかけて実験装置を作ることは無駄なこともある。取り急ぎ、手早く感触をつかむには早くて、費用があまりかからず、簡単に作れる仕掛けができればよいと筆者は常日頃考えている。それである程度の結果が得られれば、実験の規模を拡大すればよいのである。研究の現場では、教員の指導のもと､大学院生や卒研生が日々努力している｡しかし、彼らだけでは、経験的にも時間的にも限界があり、そこはやはり技術職員の真骨頂を発揮すべきである。教員あるいは院生・学生から相談や要望があった時に、すぐに対応できれば大学の競争力につながる。筆者は、これまでにかかわってきた職務の中で製作した実験装置等について報告してきた[1-8]。今回は、シンプルで応用ができる仕掛けについて紹介する。化学反応により生成したガスをガスクロマトグラフ等で分析するためにガスを採取するガスサンプリングの方法である。

## ２．仕掛けの概要と仕組み

実験装置のラインにT型ユニオンを組み込んだ、サンプリングポートの配置をFig. 1に示した。反応ガスを固体触媒が置かれた反応器に流し、反応によって生成した反応生成物はラインを通って Vent.へ流れ、すなわち排気される。T型ユニオンの枝の部分は、そのままであれば反応生成物が空気中に漏れ出すので、ゴム栓を袋ナットで締め付けて密閉している。このゴム栓の中央にガス用の注射器の針を差込み、反応生成物を一定量抜き取り、それをガスクロマトグラフのインジェクションポートへ打ち込み、分析することができる。今回の報告では、ガスラインに外径 1/8 インチのステンレスパイプを使用したので、T型ユニオンも 1/8 インチパイプ用を用いた。その様子を Fig. 2 に示した。

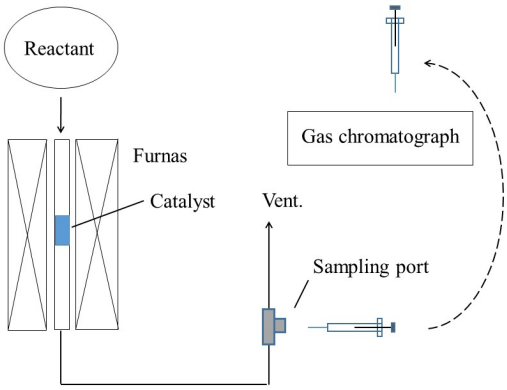



Fig. 1　Sampling port on the gas line.

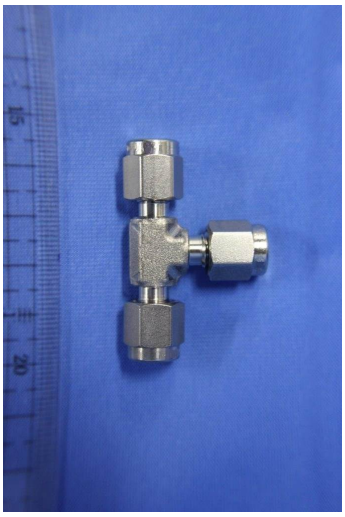


Fig. 2　T-type union.

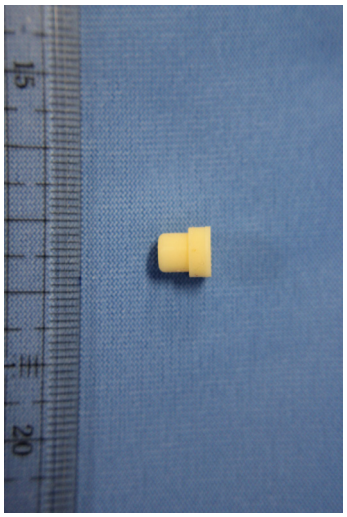


Fig. 3　Septum for gas chromatograph.

あらかじめお断りしておくことは、このような使用方法は当然ながらT型ユニオンのメーカーでは考えていない。設置の仕方が悪ければ、反応生成ガスが漏れ出ることになる。毒性ガスを扱う場合は、実験中は常にガス検知器を使用して漏れ出していないことを確認しながら実験を行う。この仕掛け自体をドラフトチャンバー内に設置すればなお良い。

ゴム栓として用いるものは、Fig. 3に示したようなガスクロマトグラフ用のセプタムである。柔らかいシリコンゴムであれば、直径 6 mmの丸棒を必要な長さに切って使っても良いが、ガスクロマトグラフ用が使いやすい。また、サンプリングを繰り返すと、ゴムに穴が開き、流通ガスが漏れ出しやすくなるので、注意する。T型ユニオンの本体内部は、すり鉢状になっていて、奥にゆくほど内径が小さくなっている。すると、袋ナットを締めたときに、セプタムが曲がってしまい密着しないことがある。したがって、Fig. 4 に示したようにセプタムの角を斜めにカットしておくと良い。このセプタムを、T型ユニオンの一か所（側管）の袋ナットに取り付けた様子をFig.5に示した。あとは、ナットをT型ユニオンに締め付ければよい。ここはスパナ等を用いずに指締めでよい。

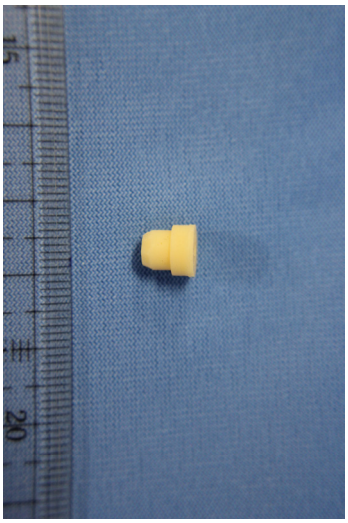


Fig. 4　After the cutting of the septum.

Fig. 5　Setting of the septum into the nut.

## ３．実際の装着とサンプリング

実際に実験装置にサンプリングポートを装着し、ガス用シリンジを用いてサンプリングしている様子を Fig. 6 に示した。ガス用シリンジの針は、折れやすいのでサンプリング時には、写真のように針の中央部分を左手の指で支える。両手を使うので、サンプリングポートは装置の支柱に固定してある。実験上、サンプリングは 1.0 cc のガスを採取したが、シリンジ内（特に針の部分）を共洗い（0.5 cc で 2 回）してからサンプリングした。

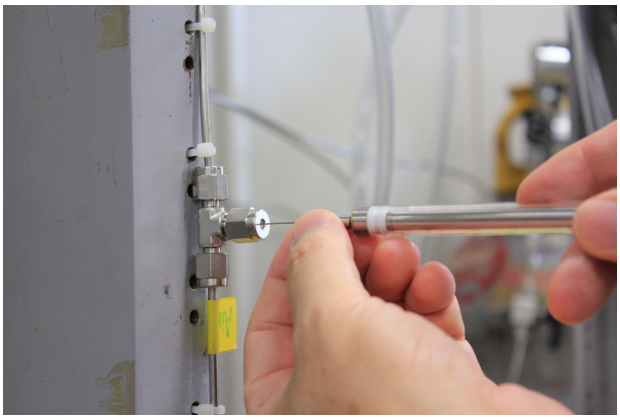
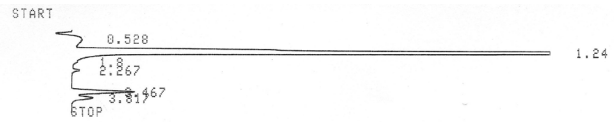


Fig. 6　Sampling of gas using a gas tight syringe.

## ４．ガスサンプリング時の空気の漏れ込み

サンプリングポートから、ガス用シリンジを用いてガスを1.0 ccサンプリングし、ガスクロマトグラフで分析した結果をFig. 7に示した。1.8分と2.267分の所に極めて小さなピークがあるが、これはサンプリング時の空気の漏れ込による酸素と窒素である。窒素についてそのモル感度から計算すると、サンプリングした1.0 cc中に 0.0001 ccの漏れ込みである。空気の漏れ込を完全になくすことは難しいが、この程度であれば、分析において差支えない。（サンプリングしたガスは、99%以上がガスクロマトグラフのキャリやガスと同じで、ここではピークとして現れていない。）




CHROMATOPAC　C-R6A　　FILE　2
SAMPLE NO　0　　METHOD　41
REPORT NO　4195

| PKNO | TIME | AREA | MK | IDNO | CONC | NAME |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0.528 | 596 | | | 1.7591 | |
| 2 | 1.24 | 31139 | SV | | 91.87 | |
| 3 | 1.8 | 16 | T | | 0.0466 | |
| 4 | 2.267 | 136 | T | | 0.4018 | |
| 5 | 3.467 | 1459 | T | | 4.3047 | |
| 6 | 3.817 | 548 | TV | | 1.6179 | |
| TOTAL | | 33894 | | | 100 | |

Fig. 7　A chromatogram of gas analysis.

## ５．気体発生反応等への応用

今回紹介しているガスのサンプリング方法の応用例として、溶液中で起こる気体発生反応によるガスの水上置換法による収集を行った際に、その組成分析を行った様子を示した（Fig. 8）。とてもシンプルであるが、精度よく分析でき、この仕掛けによる実験結果は、ある研究の一角を担う結果としてさっそく国際的なジャーナルへ投稿された。

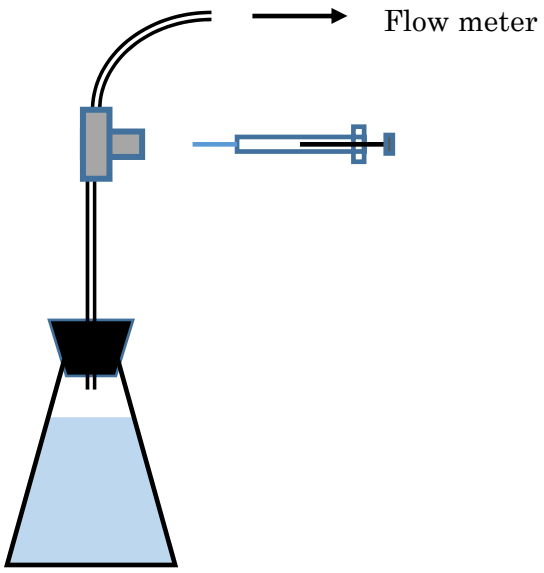



Fig. 8　Gas sampling of gaseous evolution reaction.

## ６．ハイテクを生み出すスキル

今回製作した仕掛けは、先に述べたように早くて、費用がかからず、簡単に作れるものである。実際に、教員から相談があり、アイディアを考え（と言っても、全く新規なものではなく、記憶にあるいくつかの選択肢から選んだだけであるが）、それを製作し、実験結果が得られるまでにかかった時間は、およそ一週間であった。費用は研究室にあったものを使ったのでほとんどかかっていない。新規に購入しても、数千円程度である。今回紹介した方法で、実際に得られた結果が最先端の成果として報告されていることは先に述べた。日本は最先端の技術立国として世界的に認められている。そして、その実現体であるハイテクを生み出すもととなり、支えているのは一人ひとりの技術者の技量・スキルである。今回発表した方法は、どちらかといえばローテクになる。しかし、ここで注意しておきたいことは、ハイテクに対してローテクと言う言葉を使っているが、けっして価値の低いものと言っているわけではなく、別次元のものと考えている。それは、自動化されコンピュータ制御されたものとは異なり、人の手によるもの、技術あるいは技能である。それらがなくては成り立たないのである。国立大学が本当の国際的な競争力を付けていこうとするならば、技術（あるいは技能）を教員、研究者あるいは学生の要求に応じて迅速、正確、安価に提供できる技術職員の存在が欠かせないと筆者は考えている。もちろん、技術職員一人ひとりが日々研鑽し、その技術あるいは技能を高めていく必要がある。

## ７．謝辞

本報告を行うにあたり、日頃からご指導・ご鞭撻をいただいております筑波大学数理物質系の中村潤児教授および近藤剛弘准教授に感謝申し上げます。

## 参考文献

[1] 伊藤伸一、「担持白金触媒のプロパン酸化活性における金属粒径依存性」、筑波大学技術報告、No. 4 (1984) pp 137-142.
[2] 伊藤伸一、「多目的反応装置の試作」、筑波大学技術報告、No. 6 (1986) pp 51-56.
[3] 伊藤伸一、「高周波放電プラズマを利用した触媒反応装置の試作」、筑波大学技術報告、No. 9 (1989) pp 7-12.
[4] 伊藤伸一、「赤外発光測定用分子線真空反応装置の試作」、筑波大学技術報告、No. 10 (1990) pp 9-15.
[5] 伊藤伸一、「水蒸気改質反応用気化器付き触媒反応管の試作」、筑波大学技術報告、No. 21 (2001) pp 19-25.
[6] 伊藤伸一、「担持貴金属触媒の低温（180 K）からの昇温還元法（TPR）」、筑波大学技術報告、No. 29 (2009) pp 20-23.
[7] 伊藤伸一、「金属酸化物添加担持白金触媒によるエタノールの水蒸気改質反応 － 反応装置の製作と触媒活性試験結果 －」、筑波大学技術報告、No. 31 (2011) pp 1-7.
[8] 伊藤伸一、「超硬質ガラス製高真空吸着測定・昇温脱離(TPD)測定装置の製作」、筑波大学技術報告、No. 33 (2013) pp 14-21.

# Gas sampling port using a T-type union

Shin-ichi Ito
Graduate School of Pure and Applied Sciences, Technical Service Office for Pure and Applied Sciences,
University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8573 Japan

This is a repot for a gas sampling port using a T-type union. To analyse a gas composition which was produced from a chemical reaction, a sampling port using a T-type union was put into a gas line.

***Keywords:*** Gas sampling, gas analysis, gas chromatograph, gas replacement method.

筑波大学技術報告　No.36
第15回筑波大学技術職員技術発表会報告集

平成28年3月　発行

編　集　　筑波大学技術職員技術発表会実行委員会編集小委員会

発　行　　国立大学法人筑波大学研究推進部研究企画課
〒305-8577　茨城県つくば市天王台　1-1-1
TEL　029-853-2923

## 第15回筑波大学技術職員技術発表会

主　　催　　筑波大学全学技術委員会
委　員　長　　三明　康郎　筑波大学副学長・理事（研究担当）
企画・運営　　第15回筑波大学技術職員技術発表会実行委員会

［農林技術センター技術室］
比企　弘（実行委員長）
伊藤　睦

［研究基盤総合センター技術室］
田島　義一（実行副委員長）

［医学系技術室］
枝川　弥生（実行副委員長）
新里　寿美子

［数理物質科学等技術室］
松山　英治
飯田　郁雄

［システム情報工学等技術室］
中山　勝
高野　昭子

［生命環境科学等技術室］
竹川　雅実
白井　靖子

［プラズマ研究センター］
遠藤　洋一

［ｸﾞﾛｰﾊﾞﾙｺﾐｭﾆｹｰｼｮﾝ教育ｾﾝﾀｰ外国語教育部門（CEGLOC）（教育推進部教育推進課）］
野田　恵美子

［附属学校教育局学校支援課（附属坂戸高等学校）］
加島　倫