

CERI NEWS

No.78 2014 October

CONTENTS

●巻頭言

生物遺伝子情報を環境評価に利用する

早稲田大学 先進理工学部 教授 竹山 春子

●業務紹介

L-column2メタルフリーカラムの開発

超純水中及びマトリックス中の極微量成分分析

～金属成分等の微量成分測定～

●技術情報

ポリマーの劣化耐候性試験手法と評価方法

Tox-Omicsプロジェクト

～生体内の遺伝子発現プロファイルに基づく毒性評価に向けて～

●本機構の活動から

第19回化学物質評価研究機構研究発表会開催報告

JASIS 2014 出展

CERI賞表彰報告

- ・日本分析化学会先端分析技術賞/CERI評価技術賞
- ・日本ゴム協会CERI若手奨励賞及び最優秀発表論文賞
- ・日本環境毒性学会CERI学会賞

受賞報告

●お知らせ

平成26年度CERI寄付講座

平成27年度CERI公募型研究助成の募集

●編集後記

生物遺伝子情報を環境評価に利用する

早稲田大学 先進理工学部 教授
竹山 春子



遺伝子情報解析技術の飛躍的な進歩は、ゲノム配列や遺伝子発現の網羅的な解析を短時間で安価なものにしてきました。多くの生体情報がビックデータとして蓄積される中、生体内で起こる様々な反応の分子生物学的理解が進んでいます。発生生物学や様々な疾病、再生医学分野にかかわる細胞内の遺伝子動態やヒト以外の生物、微生物における遺伝子解析も行われており、未知なる生命の謎解きが精力的に進められています。また、様々な遺伝子の役割が少しずつ明らかになると、遺伝子情報を基にした病気の予測・予防の研究も進んできます。

私たちを取り囲む環境には様々な化学物質が存在し、それらが直接的、もしくは製品の形で私たちに接しています。CERIが研究開発を行った化学物質の発がん性予測も遺伝子発現を基礎とした手法論であり、マーカーとなる遺伝子発現により評価をしています。このように、遺伝子を介した生体反応評価手法は、様々な環境の評価にも用いられています。例えば、環境の変動をそこに生息している微生物応答で評価する方法では、遺伝子情報を基に解析する研究が盛んに進められています。その中で、多くの研究者が「メタゲノム」解析を用いています。これは、その場にいる微生物のゲノムを微生物の分離・培養を経ることなく、直接的に抽出（抽出されたゲノム DNA をメタゲノムと呼びます）して解析するアプローチです。様々な環境に生息する微生物の 99% 以上が培養できない難培養性微生物であることが知られており、それらへのアクセス手法としてここ 10 年で大きく展開されてきています。

「環境」とは様々であり、ヒトの体も多くの環境を提示しています。例えば、腸内環境もその一つです。そこには、多数の微生物がおり、ヒトの健康に大きな影響を及ぼしていることが知られています。最近の研究から、ヒトの神経疾患や発がんにもかかわっていることが示唆されています。このような微生物に影響を及ぼす因子として、ヒトの食・生活スタイル等が挙げられますが、まだまだ多くの因子が見出されており、研究が盛んに進められています。一方、日本にとって重要な自然環境でもあり、様々な資源を提供する場でもある海洋を見てみると、海水中やホヤ、サンゴ、カイメン等の海洋無脊椎動物、魚などの脊椎動物体内にも微生物が環境との相互関係を保ちながら生息しています。これら微生物を環境変動のパラメーターとして解析する研究も進んでいます。指標となるのは、微生物叢変動だけでなくメタゲノム、メタトランスクリプトーム（遺伝子発現解析）解析によって見出すことができる環境変動に応答して特徴的に見出される遺伝子です。具体的には、サンゴ礁の保全を目的としたサンゴ共生微生物の環境に対応した変動を遺伝子情報を基にして解析する研究が進められています。

このように、化学物質も含めて多様な環境変動因子に応答する生物の遺伝子情報を上手く利用することによって、リスク評価やリスク予測につなげる研究が活発化しており、その成果に大きな期待が寄せられています。

業務紹介

L-column2 メタルフリーカラムの開発

東京事業所クロマト技術部 坂牧 寛

1. はじめに

シリカゲル系逆相カラムは、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）に汎用されています。近年、微量分析の必要性が増加する中、より高分離能なカラムが求められています。本機構ではそのニーズに対応すべく、2007 年から、酸性物質、塩基性物質、更に配位性化合物まで幅広い物質の分析に対応でき、耐久性の高い世界でトップクラスの高性能カラム **L-column2** シリーズを開発し、ユーザーの皆様から高い評価を得ています。一方、液体クロマトグラフィー / 質量分析法（LC/MS）による生体試料の微量分析が広く行われるようになりました。しかし、ペプチドや低分子のリン酸化化合物の分析では、配管やバルブなどの金属材料と相互作用し、それらのピークが大きくテーリングします。一般的に、カラムは充填剤とステンレス製のクロマトグラフィー管、フィルターなどから構成されています（以下ステンレスカラム）が、これらとも相互作用し、ピークテーリングの原因となっています。

そこで、試料との相互作用が起こりにくいメタルフリーカラムハードウェア（以下メタルフリーカラム）を開発し、これと低吸着な **L-column2** シリーズを組み合わせることで、既存のステンレスカラムよりも非常に高性能な **L-column2** メタルフリーカラム（図1 及び図2）を開発しました。



図1 メタルフリーカラムの外観

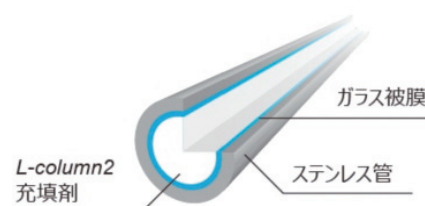


図2 内部構造のイメージ図

2. メタルフリーカラムの特長

2.1 SN比の向上

通常のスステンレスカラムと新開発のメタルフリーカラムに **L-column2 ODS, 5 μm** を高圧充填したカラムを使用してリン酸化ペプチドをLC/MS/MS分析し、ピーク強度及びSN比を求めました。メタルフリーカラムはステンレスカラムより、ピーク強度で2.5倍、SN比は5倍に向上しました。これはステンレス製のクロマトグラフィー管やフィルターへの試料の吸着がメタルフリーカラムでは抑制されたと考えられました。また、ノイズが減少していることもSN比の向上に寄与しています（図3）。

2.2 キャリーオーバーの低減

キャリーオーバーとは前に注入した分析試料がその次の分析に溶出する現象で、オートサンプラーやカラムなどが原因で発生するといわれています。ここでは1pmolのリン酸化ペプチドを注入し、グラジエント溶出させ、その次の分析でブランク溶液（0.1% 硝酸）を注入したときのキャリーオーバーを求めました（図3下）。メタルフリーカラムはこのペプチドのキャリーオーバーを1/3に低減させました。キャリーオーバーはカラムだけではなく、オートサンプラーやそれ以降の全流路が関与していると考えられることからカラムだけのキャリーオーバーが完全になくなったとは判断できませんが、大きく低減することができました。

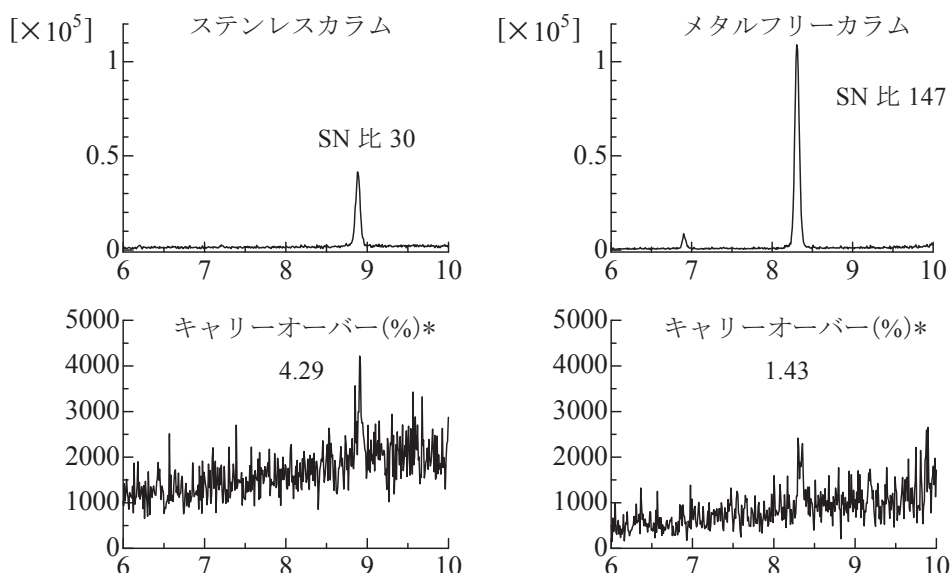


図3 リン酸化ペプチドのLC/MS/MS分析のクロマトグラムによるカラム比較

(上) リン酸化ペプチド、(下) ブランク溶液

* キャリーオーバー (%) = (ブランクのピーク面積 / ペプチドのピーク面積) $\times$ 100

【分析条件】

カラム：ステンレスカラム (2.1 $\times$ 150mm) メタルフリーカラム (2.0 $\times$ 150mm)

充填剤：L-column2 ODS, 5 μ m

移動相：A: ギ酸 / CH₃CN (1/1000), B: ギ酸 / H₂O (1/1000); A/B, 5/95-50/50 (0-15min)

流速：0.2mL/min、温度：40°C、検出：ESI-MS(+)、注入量：1 μ L

試料：リン酸化ペプチド (1pmol/ μ L) DLDVIPGRFDRRV-pS-VAEE)

ブランク溶液 (0.1% ギ酸)

3. おわりに

今回、開発した **L-column2** メタルフリーカラムはペプチドやヌクレオチドなどのリン酸化化合物だけではなく多くの化合物の分析で有効です。ご興味をお持ちの方は是非お問い合わせください。また、多くのユーザーの皆様から高い評価をいただいております **L-column2** シリーズは、今回ご紹介した **L-column2** メタルフリーカラム以外にも **L-column2 C8**, 3 μ m と **L-column2 C6-Phenyl**, 3 μ m も同時に販売を開始いたしました。本機構では、これからもユーザーの皆様のご要望に応えるよう、クロマトグラフィーカラムの開発を行ってまいります。

超純水中及びマトリックス中の極微量成分分析 ～金属成分等の微量成分測定～

東京事業所化学標準部 石原 光夫、山澤 賢

1. はじめに

半導体分野、医薬医療分野、環境分野など様々な分野で高度化、多様化が進む近年において、工業製品等の性能向上のために、極微量の不純物分析は欠かせず、化学分析への要求は、日々、低濃度化しているといえます。本機構 化学標準部（以下、「当部」という。）でも、計量法における指定校正機関としての技術を生かし、海水などの高塩濃度のマトリックス中や超純水中などの金属成分等の極微量成分測定に取り組んでいます。さらに、前処理を含む一連の測定操作についての不確かさを評価し、測定結果に付与することで、測定結果の信頼性を高め、ご依頼者様に満足いただけるよう努めています。

2. 極微量成分分析への対応

当部において、金属成分等の極微量成分分析には、誘導結合プラズマ質量分析装置（以下、ICP-MS）を採用しています。ICP-MSは、高温のアルゴンプラズマをイオン源として、多くの無機元素をイオン化し、インターフェイス及びイオンレンズを通過したイオンを質量分析計によりその質量ごとの強度を測定するもので、その構成図を以下に示します。

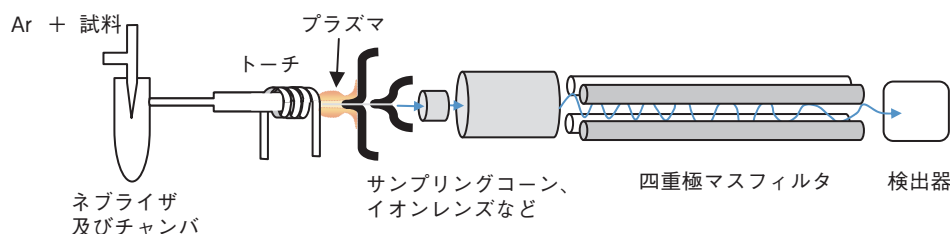


図 ICP-MS の構成

極微量成分分析にICP-MSを採用した理由は、高感度かつpptからppmオーダーの範囲まで測定可能であり、多元素を一斉に測定でき、比較的測定時間が短く、更に溶液化できれば多種多様の試料を測定可能であるという特徴によるものです。また、当部では、新たに最新鋭の装置（Agilent Technologies 製 Agilent7900x）を導入し、従来よりも更なる極微量成分分析を実現しています。

ICP-MSは、低濃度を高感度で分析するがゆえに、装置自体、試薬及び試料の汚染、試薬中の不純物としての目的成分の含有、使用器具や保存容器等からの溶出など、これまでには問題とならなかったような要因による汚染が、測定に対して深刻な妨害になることがあります。当部は、計量法における指定校正機関として培ってきた経験やノウハウを生かし、これらの問題に対処し、極微量成分分析を実施いたします。また、ICP-MS特有の問題として、ArOなどの分子イオンによるスペクトル干渉やマトリックスの影響による測定への妨害があります。測定機器の日々の進化によりスペクトル干渉への対応が進んでおりますが、マトリックスによる影響は、分析者による前処理等で軽減する必要があります。当部では、各種目的成分に対しての固相抽出による前処理を検討し、極微量成分分析を実現しています。

3. 極微量成分分析のための前処理の検討

海水などの高塩濃度マトリックス中の微量成分の測定では、高塩濃度マトリックスを除去するための前処理が必要不可欠となります。当部では、固相抽出カートリッジを用いた前処理によりマトリックスを除去し、各元素の測定条件を検討しています。各元素を精確に測定するための条件検討はもとより、前処理に用いる数種類の試薬等の不純物としての目的成分の含有は、各元素により様々であり、極微量成分分析の実現を可能とするためには、前処理条件は、非常に重要な検討項目となります。

現在、数種類の元素について、対応が可能であり、これまでセリウム、コバルト、銅などにおいて、極微量成分分析のご依頼を頂き、実施してまいりました。また、カドミウム、インジウム、モリブデンなどにも対応が可能です。その他の成分について、お客様のニーズに合わせ極微量成分分析を実施いたします。

4. 不確かさ評価への対応

測定結果は、常に同じ値が得られるわけではなく、ばらつきがあると考えられるため、その測定結果の信頼性を評価する指標が必要となります。その指標として広く用いられている考え方に、不確かさがあります。不確かさの要因は、測定結果のばらつきの要因となるもの全てが対象となります。主なものとして、前処理に起因する不確かさ、標準物質の濃度の不確かさ、検量線から得られる濃度の不確かさ、測定に起因する不確かさなどがあります。不確かさ評価は複雑になりがちで、適切な不確かさ評価が難しい場合があります。特に前処理に起因する不確かさについては、前処理自体が煩雑なため、それに伴い不確かさ評

価も煩雑になり、前処理の不確かさ評価を避けるケースを散見することがありました。当部は、これまで計量法における指定校正機関として不確かさ評価に取り組んできており、前処理に起因する不確かさも含めた一連の測定結果に対する不確かさ評価を行い、測定結果の信頼性を確保いたします。

5. おわりに

計量法における指定校正機関として培った標準物質の調製技術及び測定技術により、濃度の精確な標準物質、測定結果の信頼性を確保する不確かさ、低濃度の分析などのお客様のご要望にお応えいたします。お気軽にお問合せください。

技術情報

ポリマーの劣化耐候性試験手法と評価方法

専務理事・高分子技術センター長 大武 義人

1. はじめに

高分子材料は成形加工が容易かつ、軽量であるといった利点から、鉄や木材の代替材料として用いられているが、屋外など特に過酷な条件下で使用する場合、自然環境暴露下で、材料が時間の経過とともに耐久性が低下していく経年劣化現象が起こる。その劣化に対する抵抗性を「耐候性」と定義している。耐候性は、材料の評価、選定、寿命を予測するうえで重要な評価試験方法の一つであるため、古くから実施されている。

劣化に寄与する因子は複数存在し、主な因子は太陽光の紫外線によるもので、他に赤外線、昼夜の温度差による熱、降雨等による水分、大気中のオゾン等などが挙げられる。これらの因子が複雑に絡み合うことにより劣化が促進化される。特に劣化進行は太陽光に露出している部位に集中し、変色、亀裂の発生、光沢の消失、強度低下、チョーキングなどが劣化現象として挙げられる。このような現象を短時間で検証するため、太陽光を再現した人工光源による促進耐候性試験機が使用される。しかし、太陽光と同一の波長を有する人工光源はなく、種々の太陽光に近似させた人工光源を劣化状況に合わせて用いられているが、それぞれに利点と欠点がある。

本稿では、そのⅠとして、特に規格化されている促進耐候性試験機を中心に、それらの特徴（長所と短所）と評価方法、そして、そのⅡとして“暴露後の評価方法”について記したい。光と熱の複合劣化についても記す。

2. 促進耐候性試験機

2.1 オープンフレームサンシャインカーボンアーク

銅を表面に蒸着したカーボン棒を上下に取り付け、カーボンのロッド間に一定の電流を流し、アーク放電により生じる光を利用する。光源の周りに取り付けられたガラス性フィルタは屋外暴露用と屋内暴露用に大別される。従来からの国内の建築、自動車、塗料業界で数多く採用されている経緯から、バックデータも豊富で、JIS規格にも数多く規定されている。例えば、「プラスチック建築材料の促進暴露試験方法」(JIS A 1415)、「自動車部品の耐候性試験方法」(JIS D 0205)「塗料」(JIS K 5600-7)が挙げられる。分光分布は300～350nmの範囲では太陽光と近似しているが、太陽光に含まれない255nmからの短波長領域の

紫外線を透過し、更に長波長の領域でも分光分布が太陽光と大きく異なる。波長分布を図1 (a) に示す。

2.2 キセノンアークランプ

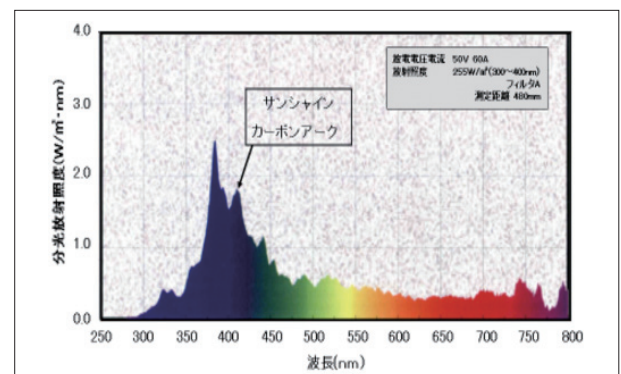
石英製の発光管に封入したキセノンガスを放電させ、励起状態から基底状態に戻る際に生じる発光を利用する。光源の周りに取り付けられた内部フィルタと外部フィルタの組み合わせで、短波長領域の紫外線をカットし、太陽光の分光分布を再現する。主に屋外暴露用と屋内暴露用に大別される。300～400nmの分光分布が太陽光の分光分布と極めて近似している。波長分布を図1 (b) に示す。また、放射照度を制御できることから、促進性を更に加速させ、短時間で材料評価が可能である。そのため、ISO・JIS等の促進耐候性試験に多く採用されている。

2.3 紫外線カーボンアークランプ

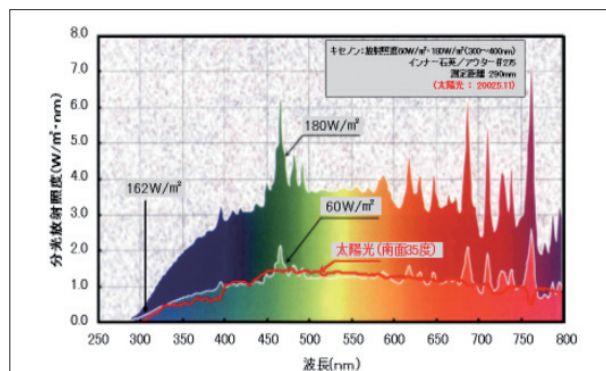
有芯と無芯のカーボン棒を上下に取り付け、一定の電流を流し、アーク放電により生じる光を利用する。光源の周りに取り付けられたガラスグローブにより透過した光は、紫外部の388nm付近に強い分光分布を持つ。波長分布を図1 (c) に示す。繊維、建築物や自動車の内装材に関する試験が多く、劣化によって生じる発色団（カルボニル等）を評価する試験が一般的である。しかし、350nm以下の紫外線に分光分布がないため、短波長領域に吸収をもつ材料の評価には適さない。

2.4 紫外線蛍光灯

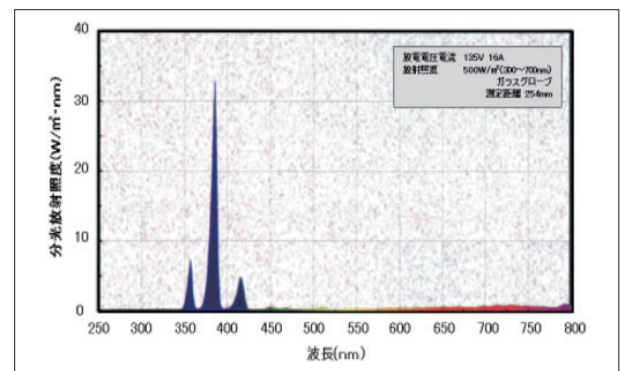
石英製の発光管に封入したガスを放電させ、励起状態から基底状態に戻る際に生じる発光が蛍光体を発光させ、その光を利用する。太陽光



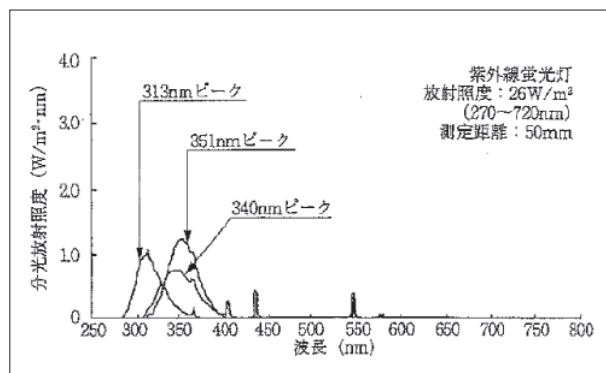
(a) サンシャインカーボンアークの分光放射照度分布



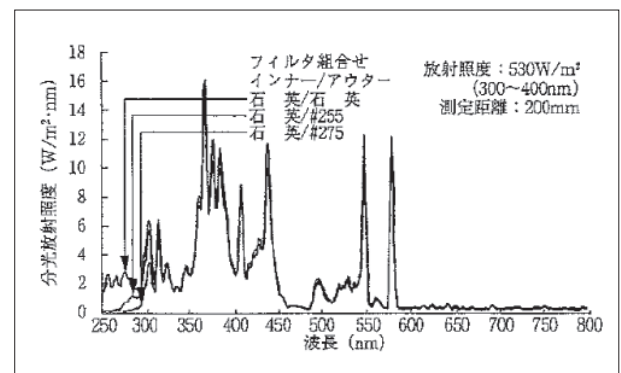
(b) 7.5kw キセノンランプと太陽光の分光放射照度分布



(c) 紫外線カーボンアークの分光放射照度分布



(d) 紫外線蛍光灯の分光放射照度分布



(e) 3kW メタリングランプの分光放射照度分布

図1 各種光源の波長分布

全体を再現するのではなく、太陽光のうち劣化に影響する紫外線のみを再現する。よって、紫外線の短波長領域のみに分光分布を持つ。313nm、340nm、351nm にピーク波長を持つ3種類のランプが使用されている。中でも、340nm ランプは太陽光に近似した分光分布を持つ。波長分布を図1(d)に示す。

2.5 メタルハライドランプ

石英製の発光管に水銀及びハロゲン化合物を放電させ、励起状態から基底状態に戻る際に生じる発光が発光体を発光させ、その光を利用する。キセノンアークランプに比べ、紫外部に強大な放射照度を持つ。波長分布を図1(e)に示す。従来の試験機と比べ、促進性が極めて高いことから、試験時間の短縮化が図れ、評価の迅速化が期待できる。しかし、メーカーにより光源、フィルタ、照度計の仕様が異なっているため、試験方法は現時点で標準化に至っていないが、屋外暴露との相性の研究も進められ、超促進耐候性試験機として需要は高まっている手法である。

3. 試験条件

材料の使用状況や、試験規格の規定により、促進暴露試験の条件設定を行うことが重要である。耐候性試験に関する主な規格を表1に示す。屋外と屋内の違いによるフィルタの選択、試験温度、水分負荷

表1 耐候性試験に用いられる主な規格

使用用途	光源	試験規格
プラスチック	キセノンアークランプ	ISO 4892-2:2006・JIS K 7350-2:2008
	サンシャインカーボンアーク	ISO 4892-4:2004・JIS K 7350-4:2008
	紫外線蛍光ランプ	ISO 4892-3:2006・JIS K 7350-3:2008
塗料	キセノンアークランプ	ISO 11341:2004・JIS K 5600-7-7:2008 ASTM D 6695:2001
	サンシャインカーボンアーク	ASTM D 822:2006・ASTM D 3361:2001
	紫外線アークランプ	ASTM D 5031:2001
	紫外線蛍光ランプ	ISO 11507:1998・JIS K 5600-7-8:1999 ASTM D 4587:2001
建築	キセノンアークランプ	ISO 11431:2002・JIS A 1415:1999 JIS A 1439:2004
	サンシャインカーボンアーク	JIS A 1415:1999
	紫外線アークランプ	JIS A 1415:1999
	紫外線蛍光ランプ	JIS A 1415:1999
繊維	キセノンアークランプ	ISO 105:1994・JIS L 0891:2007 JIS L 0843:2006
	サンシャインカーボンアーク	JIS L 0891:2007
	紫外線アークランプ	JIS L 0842:2004
ゴム	キセノンアークランプ	ISO 4665:2005・JIS K 6266:2007
	サンシャインカーボンアーク	ISO 4665:2005・JIS K 6266:2007 JIS K 6404-17:1999 JIS K 6404-18:1999・ASTM D 750:2000
	紫外線アークランプ	JIS K 6404-17:1999 JIS K 6404-18:1999
	紫外線蛍光ランプ	ISO 4665:2005・JIS K 6266:2007
自動車	キセノンアークランプ	JIS D 0202:1998・JIS D 0205:1987
	サンシャインカーボンアーク	JIS D 0205:1987・JIS D 0202:1988 JIS D 4604:2006・JIS D 5500:1995
	紫外線アークランプ	JIS D 0202:1988・JIS D 0205:1987
	紫外線蛍光ランプ	JIS D 0202:1988・JIS D 0205:1987

ISO：国際標準化機構規格

JIS：日本工業規格

ASTM：米国材料試験協会規格

の有無を選択する。

3.1 試験時間（照射時間）

屋外暴露と耐候性試験機との促進性は一律ではなく、試験時間の選定は非常に難しい。主な理由として、材料の性質や評価項目により耐久性評価が大きく異なること、更には日照量などの気象条件により地域差から全ての材料の指標となる試験時間は存在しない。耐候性が既知の材料と比較して、促進性を検証し、材料の評価や寿命を推定する方法が望ましい。比較材料がない場合、一般的に紫外線の受光量から、試験時間を推定する方法が用いられる。太陽光の波長分布を表3に示す。全国平均年間日射量を4500MJ/m²（JIS D 0205による）とした場合、劣化に寄与する紫外線領域（300～400nm）の放射量は、306MJ/m²となる。

各々の光源について、屋外暴露1年間に相当する試験時間を表4に示す。ただし、材料の劣化に影響を及ぼす熱、水分などの因子を一切考慮してないため、屋外暴露を正確に再現した促進時間でないことに留意されたい。

3.2 試験温度（照射中の周囲の温度）

試験片ホルダに取り付けられた試験片は、色や形状が異なることから、光源から受ける熱の吸収量が異なり、温度は一律ではない。そこで、試験片と同様の位置にある黒色塗装板の温度を基準とすることが多い。試験温度は63±3℃が一般であるが、高温の83±3℃で試験を行う場合もある。

表2 試験条件の選定

使用条件	サイクル条件	温度条件
屋外	降雨サイクル 18分降雨 120分照射中 12分降雨 60分照射中 など	使用温度が高い ブラックパネル温度 83℃ など
	暗黒サイクル 12時間照射・12時間照射なし など	使用温度が高い ブラックパネル温度 63℃ など
	結露サイクル	
屋内	照射のみ	使用温度が高い ブラックパネル温度 83℃ など
	暗黒サイクル 12時間照射・12時間照射なし など	使用温度が高い ブラックパネル温度 63℃ など
	結露サイクル	

表3 太陽光の波長分布

波長 (nm)	分布 (%)	放射照度 (W/m ²)
300～320	0.4	4
320～400	6.4	70
400～800	55.4	604
800～2450	37.8	412
300～2450	100.0	1090

表4 日射量から算出した屋外暴露1年間に相当すると考えられる照射時間

光源	放射照度 (W/m ²)	試験時間 (時間)
サンシャインカーボンアーク	78	1080
キセノンアークランプ	60	1420
	180	470
メタルハライドランプ	530	160

注) 劣化に寄与する紫外線領域（300nm～400nm）で算出

熱、水分などの因子を一切考慮してないため、実年数を反映したものではない

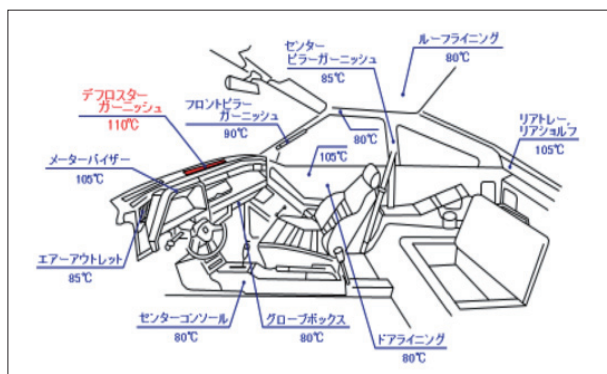


図2 内装各部位の最高表面温度

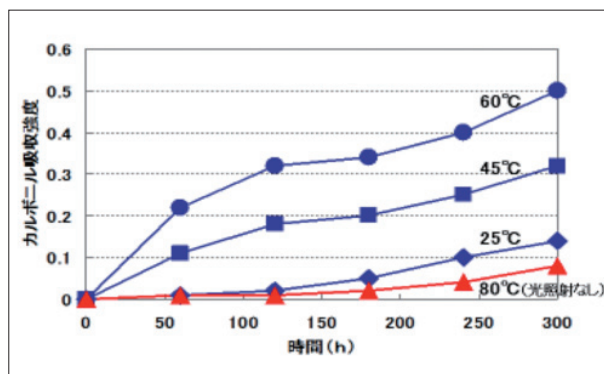


図3 PPの光と熱の劣化に及ぼす相乗効果
カルボニル吸収強度の変化

黒色塗装板の温度を制御する方法は2種類ある。一つ目は黒色塗装板の表面に温度センサを取り付けたBPT (Black Panel Thermometer) であり、国内で従来から使用されている。二つ目は、黒色塗装板の裏面のステンレス板と断熱剤の間に温度センサを取り付けたBST (Black Standard Thermometer) である。BSTはBPTと比べ、熱の変化に対し温度の高低差が少ないという利点がある。近年、国内でもBSTの採用が増えている。

一例として、図2に自動車内の各部位の温度を示す。最高温度フロント部分のデフロスターガーニッシュで110℃にも達する。

図3に自動車の内装材で最も多用されるポリプロピレン (PP) の光照射のみの劣化と高温下での光照射時の劣化をFT-IR (フーリエ変換赤外分光分析) で得られる 1720cm^{-1} のカルボニル基の出現量を劣化インジケータに示した。光照射のみでは劣化の進行はほとんど認められないものの加温されることによって劣化は著しく加速される相乗効果が得られる。すなわち、もし自動車内装材の寿命試験を行う場合には、光照射のみでなく温度も必要となり、そのような条件設定によって自然条件下に近似した暴露結果から得られる。

3.3 降雨リサイクル条件

屋外では、雨、雪、霜、結露といった気候条件により、材料が水分の影響を受け、加水分解等の化学反応により劣化を引き起こすことがある。そこで、人工的に蒸留水又は脱イオン水 (誘電率 $5\mu\text{S}/\text{cm}$ 以下: JIS K 7350 規定) をスプレーノズルから直接試験片に噴霧する方法がとられる。噴霧水の水質が悪いと、特にシリカなどの固形分が試料の表面に残り、色差や光沢度の測定に影響を及ぼす。よって、水質の管理も重要である。本機構では試験の再現性を高める為、水質も一定条件下で行えるよう純水を用いている。噴霧時間は、120分照射中18分水噴霧が一般的であるが、自動車関連の規格では60分照射中12分水噴霧させる方法もある。また、試験片の表面に結露させる方法もある。照射時の試験湿度は $50\pm 5\%$ が一般的である。

4. 試験方法

4.1 試験片の取り付け

試験片を試験片ホルダ (縦 $150\text{mm} \times$ 横 70mm) に取り付ける前に、暴露後に引張試験など強度測定を行う場合はあらかじめ試験片の寸法を測定しておく。また、試験片を識別するため、暴露面の裏面の一部に印をつけることが一般的である。評価試験を行う部分に印をつけてはいけない。色差測定及び外観変化を行う場合、未処理の試験片を用意しておくことが望ましい。若しくは、各試験片の一部を光を遮断する材料で覆い、未暴露の部分として比較してもよい。試験片の厚さは $1\text{mm} \sim 2\text{mm}$ 程度であるが、製品形状若しくは製品から切り出し加工して試験を行う場合、試験片の厚さが厚いと規定の位置に

比べ、光源との距離が短くなるため、強い光が当たることになる。試験片は、応力がかからないようにして、試験片ホルダ枠に均一に取り付ける。試験片ホルダは酸化をおこさないなど試験結果に影響を及ぼさない材料、例えばステンレス鋼やアルミニウムなどを使用する。

4.2 暴露中

ランプ及びフィルタは定期管理し、必要に応じて交換を行う。カーボン交換の際には、燃えたカーボンのチェックを行う。もし、カーボンの長さが不均一、又は先端の形状が斜めの場合は、カーボンが適切に取り付けられていない証拠である。カーボンホルダーの損傷等の可能性が考えられる。フィルタは、定期的に研磨性のない布等で清掃するか、汚れがひどい場合は洗浄を行い、2000 時間又は著しい変色が生じた場合、交換する。同時に照度計、温度計、水質の管理も重要である。

5. まとめ

以上、耐候性試験について記したが、本機構では、あらゆる耐候性試験に対応できる体制にある。本稿で紹介した規格外試験でも充分対応できるものと考えている。ぜひ御一報ください。

Tox-Omics プロジェクト ～生体内の遺伝子発現プロファイルに基づく毒性評価に向けて～

安全性評価技術研究所 赤堀 有美

1. はじめに

通常、化学物質のヒト健康影響に関する有害性を評価するためには複数の試験を実施する必要があります。そのために、多大な時間、試験コストがかかるだけでなく、多くの実験動物も必要となります。例えば、単一の毒性試験から複数の毒性エンドポイントに関する情報を取得することはできないでしょうか？

本機構では、Tox-Omics プロジェクト（平成 23～27 年度）¹⁾として、単一の毒性試験、具体的にはラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験（OECD TG407）で得られる臓器などのサンプルの遺伝子発現プロファイルを解析することで化学物質による複数の毒性を高精度に検出／予測する方法の開発を進めています（図1）。毒性エンドポイントとしては、

化学物質による毒性影響を受けやすく、また、化学物質による発がん頻度が最も高い肝臓及び腎臓に対する毒性及び発がん性を対象とするとともに、一般的に評価が難しいエンドポイントである神経毒性を対象としています。

Tox-Omics プロジェクトでは、これまでに遺伝子発現プロファイルの解析を行う上で不可欠な基礎検討を実施していますので、その結果等についてご紹介します。

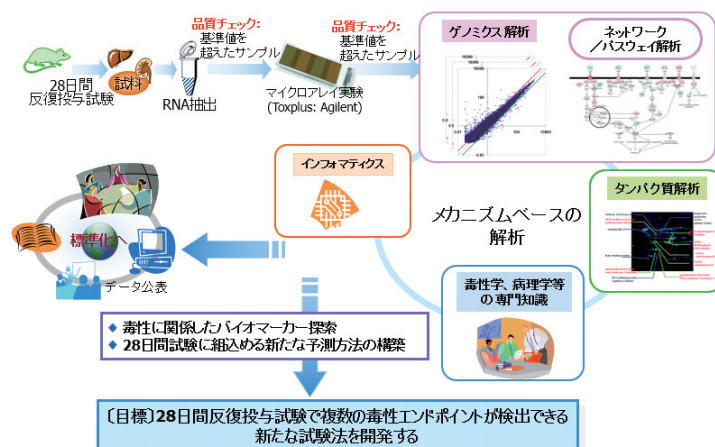


図1 Tox-Omics プロジェクトの開発コンセプト

1) 経済産業省の委託事業石油製品需給適正化調査等（石油精製物質等の新たな化学物質規制に必要な国際先導的有害性試験法の開発） 研究開発項目①「反復投与毒性試験と遺伝子発現変動による発がん性等発現可能性情報の取得手法の開発（以下、Tox-Omics プロジェクト）」

2. 採材方法から適切な臓器保存までのプロトコルの構築

遺伝子発現プロファイルを取得する標準的なプロトコルがない脳（神経毒性を評価するため）及び腎臓について、遺伝子発現プロファイル解析に必要な total RNA を高品質かつ十分量を確保した状態で抽出できる、採材方法から適切な臓器保存プロトコルを構築しました。

2.1 脳の採材方法から臓器保存までのプロトコル

本来は未固定での処理が理想的ですが、脳のような軟組織の場合、目的とする部位を適切に採材するために固定化する必要がありました。そこで、脳については、メタカーン固定液（組成；メタノール：クロロホルム：酢酸＝6：3：1）及びアセトン固定法での比較を行った結果として、メタカーン固定法でアセトン固定法より高品質な total RNA の取得ができることを確認し、プロトコルを構築しました⁽¹⁾。

2.2 腎臓の採材方法から臓器保存までのプロトコル

論文等では腎臓全体でのアレイ解析の報告が多いですが、機能の異なる組織の集合体である腎臓の場合、ある程度機能の分かれる部位ごとに遺伝子発現変動プロファイルを取得すべきと考え、Tox-Omics プロジェクトでは皮質、髓質外帯、髓質内帯、乳頭の4つの部位別と腎臓全体での遺伝子発現プロファイルを得るプロトコルを構築しました（図2）。実際、部位間で有意な差があったプローブ数は35,373であり、4部位のいずれかで発現しているプローブ数42,255の84%でした。このような部位間の違いは、腎臓全体で見た場合、マスクされてしまい、有用なマーカーが得られない、あるいは適切なメカニズム解析が行えない可能性があります⁽²⁾。しかし、試験法を確立し、標準化する上で、部位別のデータ取得は高コストとなりルーチン化の妨げとなるため、Tox-Omics プロジェクトでは、取得した部位別のデータを解析することで、腎臓全体の遺伝子プロファイルから適切に毒性を検出、予測できる手法について現在検討を進めています。



図2 腎臓の部位別の採材

3. 動物試験で用いる麻酔法が遺伝子発現プロファイルに与える影響

動物試験で使用する麻酔法が遺伝子発現プロファイルの解析に与える影響として麻酔効果の個体間差に基づく遺伝子発現プロファイルのばらつきや遺伝子発現プロファイルそのものへの影響が考えられたため、CO₂/O₂ 混合麻酔と近年使用が広がっているイソフルラン麻酔による遺伝子プロファイルの違いを検討し、麻酔法による影響を調べました。その結果、いずれの麻酔法も、個体間差に与える影響は同程度であることがわかりました。また、肝臓、腎臓及び脳において麻酔法による影響を受ける遺伝子は検出プローブ全体の0.6%程度と比較的に少ないことがわかりました。ただし、これらの麻酔の種類によって影響を受ける遺伝子については、最終的なバイオマーカー探索等では除外することとしました。なお、Tox-Omics プロジェクトでは本機構で蓄積してきたデータと整合させるためにCO₂/O₂ 混合麻酔を使用することとしています。

4. 遺伝子発現プロファイルに基づく予測又は検出法の検出法の開発について

本機構では、肝臓の発がん性についてはトレーニングデータセット（システム構築に使用したデータセット）に対しては94%（68物質中64物質中）の一致率を示すCARCINOscreen®と名づけた予測システムを既に構築しており⁽³⁾、Tox-Omics プロジェクトにおいては外部データ（システム構築に使

用していないデータセット) による検証を実施しています。これまでに Tox-Omics プロジェクトで取得した 22 物質のデータによる外部検証で 90% 以上の一致率を示しています。腎臓の発がん性については、Tox-Omics で取得したデータからプロトタイプのシステムの構築を行っています。神経毒性並びに、肝臓及び腎臓の毒性については、毒性学者と密接に連携しつつ、表現型に関連性のあるバイオマーカーを同定し、毒性の同定方法について開発を進めています。

5. 今後の展望

Tox-Omics プロジェクトでは上記のような基礎検討をベースに高品質の遺伝子発現プロファイルを取得し、単一の動物試験から肝臓及び腎臓の毒性及び発がん性等を検出、予測できるシステムを開発するために、キーとなる遺伝子の探索を進めるとともに、そのメカニズムを明らかにするための遺伝子ネットワーク解析等の作業を進めています。このシステムが開発されると、単一の試験で複数の毒性エンドポイントの情報が得られることから、動物試験の削減が期待され、試験コスト、開発時間の削減につながるものと考えています。

本機構では、このような基礎検討を基に、様々な生体サンプルについて高品質なマイクロアレイデータを取得するとともに、多様な要望にお応えするための膨大なアレイデータから遺伝子ネットワーク解析等を実施することで生物学的意味づけ等を行っています。

6. 引用文献

- (1) Akane H, Saito F, Yamanaka H, Shiraki A, Imatanaka N, Akahori Y, Morita R, Mitsumori K, Shibutani M. (2013) Methacarn as a whole brain fixative for gene and protein expression analyses of specific brain regions in rats. J Toxicol Sci. 38 (3), 431-443.
- (2) Tamura K, Ono A, Miyagishima T, Nagao T, Urushidani T. (2006) Comparison of gene expression profiles among papilla, medulla and cortex in rat kidney. J Toxicol Sci. 31 (5), 449-469.
- (3) Matsumoto H, Saito F, Takeyoshi M. (2014) CARCINOscreen®: New short term prediction method for hepatocarcinogenicity of chemicals based on hepatic transcript profiling in rats. J. Toxicol. Sci. 39 (5), In press.

本機構の活動から

第 19 回化学物質評価研究機構研究発表会開催報告

平成 26 年 6 月 6 日、第 19 回化学物質評価研究機構研究発表会を経団連会館において開催しました。

発表会は、本機構理事長細川幹夫の挨拶で始まり、基調講演として経済産業省化学物質管理課長 三木健様に「化学物質管理政策の現状と課題」という題目でご講演いただきました。

その後、本機構職員による研究発表を 3 題、昨年度 CERI 公募型研究助成の研究成果発表を 2 題、最後に、本機構の各部門の技術報告 7 題を発表しました。



発表会に引き続き行われた懇親会では、日頃のご質問等にお答えできる場を設け、発表会の限られた時間で討議できなかった内容や本機構の業務に関連した話題について熱心な議論が交わされました。今後も皆様にとりまして有意義な研究発表会にしたいと考えております。

JASIS 2014 出展

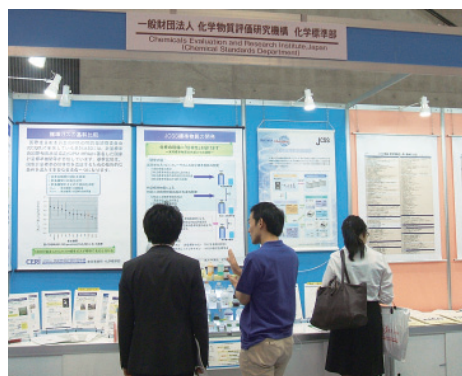
一般社団法人日本分析機器工業会（JAIMA）、一般社団法人日本科学機器協会（JSIA）主催の合同展「JASIS 2014」（旧分析展／科学機器展）が、9月3日から5日までの3日間、幕張メッセ国際展示場で開催されました。

本機構から、化学標準部が「研究機関コーナー」で標準物質に関連する研究内容等について、クロマト技術部が「一般展示コーナー」で新製品を含む本機構のカラム製品全般について、それぞれの展示ブースにて紹介を行いました。

また、同時開催のJAIMAセミナーで、化学標準部の山澤賢が「これであなたも専門家－不確かさ編」の中で「化学分析における不確かさ評価－考え方と手法－」について発表しました。

さらに、クロマト技術部は、併催された新技術説明会において、「逆相HPLCの分析法開発に役立つノウハウとトラブルシューティングの解説」という演題でセミナーを行い、長年のカラム事業で培ってきたノウハウなどを紹介しました。

今回の出展では、多くの方々に本機構を知っていただくよい機会になりました。この場をお借りして、各セミナーへの聴講及び本機構ブースにお立ち寄りいただきました方々に心からお礼申し上げます。



展示ブース



新技術説明会

CERI 賞表彰報告

本機構の研究表彰事業である公益社団法人日本分析化学会の先端分析技術賞／CERI 評価技術賞、一般社団法人日本ゴム協会の CERI 若手奨励賞及び最優秀発表論文賞、日本環境毒性学会の CERI 学会賞の 2014 年度受賞者は次のとおりです。

第7回先端分析技術賞／CERI 評価技術賞（2014 年 9 月）

受賞者：垣内 隆（pH 計測科学ラボラトリー）

研究名称：「イオン液体塩橋の発明と pH 計測および単独イオン活量の精密計測への応用」

第7回 CERI 若手奨励賞（2014 年 5 月）

受賞者：山本 勝宏（名古屋工業大学）

研究名称：「微小角入射小角 X 線散乱法によるソフトマテリアル薄膜の相分離構造解析と相分離構造配向化制御」

第14回 CERI 最優秀発表論文賞（2014年5月）

受賞者：飯島 圭祐（東京工業大学大学院） ほか

研究名称：「架橋した架橋剤を用いるビニルポリマーへのロタキサン架橋の導入」

第15回 CERI 最優秀発表論文賞（2014年12月表彰予定）

受賞者：徳満 勝久（滋賀県立大学） ほか

研究名称：「ポリシラン添加によるPPの各種物性改質技術に関する研究」

第1回 CERI 学会賞（2014年9月）

受賞者：加茂 将史（独立行政法人産業技術総合研究所）

研究名称：「金属の生態毒性予測モデルと生態リスク評価に関する研究」

受賞報告

平成26年9月10日、11日に富山国際会議場で開催された「第20回日本環境毒性学会研究発表会」において、久留米事業所の田辺愛子職員が「若手研究奨励賞」を受賞しました。

題 目 PAMPA を用いた化学物質の生物濃縮性予測

研究内容

化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）では、水に溶解した化学物質のエラを介した直接取り込みに着目した bioconcentration factor (BCF) によりその生物濃縮性を評価しています。また、1-オクタノール／水分配係数(K_{OW})と BCF の相関を利用し、より簡便に値が得られる K_{OW} による生物濃縮性のスクリーニング評価も行われています。しかしながら、実際には K_{OW} と BCF の相関が成り立たない化学物質も存在し、その理由の1つとして化学物質の分子サイズの影響が指摘されています。

本研究では、リン脂質を保持させた人工脂質膜を用いて化学物質の生体膜透過性を測定する手法である parallel artificial membrane permeability assay (PAMPA) を用いて、立体的にかさ高い *tert*-ブチル基や類似の官能基を有する複数の化学物質について人工脂質膜／水分配係数 (P_M) を測定し、分子サイズが大きく K_{OW} と BCF の相関性が低い化学物質であっても P_M と BCF の間に良好な相関が得られたことを報告しました。



お知らせ

平成26年度 CERI 寄付講座

☆ 九州大学

本機構では、九州大学大学院工学研究院応用化学部門のご協力のもと、「先端材料化学 ～設計、構造、物性から機能化まで～」として、平成24度から CERI 寄付講座を開講しています。

前期・後期あわせて14週に渡る本講座では、九州大学大学院工学研究院応用化学部門・先導物質化

学研究所の教授を中心に、有機化学、無機化学、高分子化学等の材料創製や環境・材料分析等について解説し、最先端材料の基礎的な知識と技術について学んでいただける内容となっています。

後期の本講座が11月1日(土)から開講いたします。興味のある方は是非この機会にご受講ください。

なお、カリキュラム等の詳細は、九州大学大学院工学研究院応用科学部のホームページ (<http://www.cstf.kyushu-u.ac.jp/>) 又は本機構ホームページでご覧になれます。

平成 27 年度 CERI 公募型研究助成の募集

本機構では、平成 27 年度 CERI 公募型研究助成のテーマを以下の要領で募集いたします。

1. 研究助成の趣旨

化学物質の評価・管理技術の発展に資する研究を、大学又は公的研究機関の若手研究者から募集し、研究費の一部を助成します。

2. 対象分野

下記の分野の研究を対象とします。

- ①ゴム、プラスチック等の高分子材料の評価技術
- ②環境分析、モニタリング技術
- ③標準物質の開発、評価技術
- ④化学物質の有害性評価、暴露評価及びリスク評価技術
- ⑤その他、化学物質の評価、管理に関連する技術

3. 応募資格

3.1 研究者

原則として、40歳以下(平成27年4月1日時点)で、日本国内の大学又は公的研究機関に所属する研究者とします。

3.2 研究テーマ

申請する研究者が独自に行う研究であり、他の機関からの委託研究や助成を受けている研究等と重複するものは対象外となります。

4. 研究期間

原則として契約日から平成28年3月31日まで

5. 助成金額

1件当たり100万円以内

6. 助成対象費用

助成の対象となる費用は、研究の直接経費とし、研究実施者の人件費及び設備費は原則として対象外とします。

7. 応募期間

平成26年12月1日～平成27年1月31日(必着)

8. 応募方法

詳細は、近日中に本機構ホームページに掲載します。

9. お問い合わせ、応募書類提出先

〒112-0004

東京都文京区後楽 1-4-25 日教販ビル7階

一般財団法人化学物質評価研究機構

企画部企画課 担当：渡邊

Tel. 03-5804-6132 Fax. 03-5804-6139

各事業所連絡先

●東京事業所

Tel : 0480-37-2601 Fax : 0480-37-2521
(高分子、環境、標準、クロマト、評価研)

●名古屋事業所

Tel : 052-761-1185 Fax : 052-762-6055

●大阪事業所

Tel : 06-6744-2022 Fax : 06-6744-2052

●化学物質安全センター

Tel : 03-5804-6134 Fax : 03-5804-6140

●久留米事業所

Tel : 0942-34-1500 Fax : 0942-39-6804

●日田事業所

Tel : 0973-24-7211 Fax : 0973-23-9800

●安全性評価技術研究所

Tel : 03-5804-6135 Fax : 03-5804-6139

編集後記

空が高く感じられる季節になってまいりました。

CERI NEWS 第78号をお届けします。巻頭言は「生物遺伝子情報を環境評価に利用する」について、早稲田大学 先進理工学部 教授竹山春子様から頂戴いたしました。誠にありがとうございました。

また、「JASIS2014」(旧 分析展/科学機器展)本機構ブースには多くの方にご来場いただき、ありがとうございました。今後も展示会などへの出展を考えておりますので、一層のご指導、ご支援を賜りますようお願い申し上げます。(企画部 赤木 秀人)

<http://www.cerij.or.jp>

CERI NEWS

発行日 平成26年10月

編集発行 一般財団法人化学物質評価研究機構 企画部

〒112-0004 東京都文京区後楽 1-4-25 日教販ビル7F

Tel:03-5804-6132 Fax:03-5804-6139 E-mail : cerinews@ceri.jp