ガス状のホルムアルデヒドにシロイヌナズナなどの小植物体を 曝露させるためのシステムの作成

久保 森¹・杉村暢大¹・中桐紘治¹・秋田 求^{1,2}・泉井 桂^{1,2}

¹ 近畿大学生物理工学部 649–6493 和歌山県紀の川市西三谷 930

² 近畿大学先端技術総合研究所 642–0017 和歌山県海南市南赤坂 14–1

Construction of a system to expose tiny plants, such as *Arabidopsis thaliana*, to gaseous formaldehyde

Shigeru KUBO¹, Chotai SUGIMURA¹, Koji NAKAGIRI², Motomu AKITA^{1,2} and Katsura IZUI^{1,2}

¹School of Biology-Oriented Science and Technology, Kinki University,
930 Nishimitani, Kinokawa, Wakayama 649-6493

²Institute of Advanced Technology, Kinki University, 14-1 Minamiakasaka, Kainan, Wakayama 642-0017

Abstract

Formaldehyde (HCHO) is a major industrial chemical, and is a common environmental pollutant that can cause multiple chemical sensitivity and sick building syndrome. Previously, by introducing the genes for HCHO fixation from a methylotrophic bacterium into plants, we succeeded in conferring an augmented ability to assimilate HCHO onto the transformed plants. To test the feasibility of this strategy for phytoremediation, more quantitative data concerning absorption and tolerance are required. Here, we report the construction of a small system to expose plants to defined concentrations of HCHO under controlled humidity. Details of the flow-diagram and functional units of the system are described, and specifications of the control of HCHO concentration and humidity are provided. The effects of HCHO exposure on the wild-type and the *Arabidopsis thaliana* transformant were examined preliminarily using this system. Exposure to 1–2 ppm HCHO for 2 days caused visible changes on the surface of the leaves, and exposure to 14–16 ppm for 4 days caused browning and withering of the leaves. No differences were observed in the HCHO tolerance between both plants under exposure conditions used.

Keywords: exposure system, formaldehyde, genetic engineering, phytoremediation, sick building syndrome

緒 言

ホルムアルデヒド (HCHO) は工業的に大量に生産され、

主に合成樹脂や接着剤などの合成原料として使用されている。以前は HCHO が消毒剤・防腐剤などとして広く使用されてきたが、1980 年頃からその毒性が認識されて以来、消毒剤などとして直接使用される機会は減少してきた。しかしながら、家庭用の建材や家具などに使われる合成樹脂や接着剤などから室内環境中に徐放された低濃度の HCHO に住人が接触する機会は、我が国では 1995 年ころまでは逆に増大する傾向にあった。HCHO がシックハウス症候群の主要な原因物質であることが見出されて以来、HCHO は代表的な環

2014 年 8 月 13 日受付

2015 年 5 月 20 日受理

Corresponding author: Motomu Akita

(akita@waka.kindai.ac.jp)

境汚染物質の一つとして注目されるようになった。HCHO は、生体に対しては強い毒性を示し、発がん性をもつことも示されている¹⁾。WHO のガイドライン²⁾では、通常的生活環境としての室内の空気中の限度濃度は 0.08 ppm (v/v) 以下、HCHO を業務として取り扱う室内の限度濃度は 1 ~ 2 ppm と定められている。我が国では 2001 年の厚生省と建設省のガイドラインによって、建材の作成工程に HCHO を使用することが禁止されて以来、シックハウス症候群の発症頻度は顕著に抑制されるようになったが、未だ完全に解決されるには至っていない。

室内に拡散される低濃度の HCHO を持続的かつ安価に除去する方法の一つとして観葉植物の利用が発案され、実際、ある種のシダ (Boston fur) やポトスなどの鉢植えが比較的高い HCHO 吸収能を示すことが Wolverton³⁾ によって見出された。しかし、その後の研究によって、この吸収が、植物の葉の働きによるのではなく、主として葉の表面や地中の細菌によることが示された⁴⁾。我々は、一群のメチロトロフ細菌が HCHO をいわゆるリブローズモノリン酸経路⁵⁾の働きによって同化して炭素源とすることに注目し、この経路の酵素 (ヘキスロース 6-リン酸合成酵素およびヘキスロース 6-リン酸イソメラーゼ) を植物の葉緑体において発現させ、植物に HCHO の同化能を付与することを行ってきた⁶⁻⁸⁾。タバコおよびシロイヌナズナにこれらの酵素の遺伝子を導入すると、得られた形質転換体は培養容器内において野生株より高い HCHO の同化能を示し、かつ HCHO に対するより高い耐性を示した⁷⁾。したがって、この原理を室内観葉植物などに応用すれば、環境浄化に役立つ可能性が示唆された^{9,10)}。

得られた組換え植物が実際に室内空気の浄化に役立つか否かを判定するためには、植物の許容量や生理学的変化を含む、より定量的な基礎的データが必要である。すなわち、シロイヌナズナのようなモデル植物を用いて (1) 種々の濃度の HCHO が及ぼす影響を調べ、(2) 野生型と組換え植物の HCHO 吸収能力と吸収速度などを定量的に調べなければならない。(1) のためには、植物を長時間一定の湿度 (以下 RH と略) 条件下で一定の濃度の HCHO に曝露するための装置が必要である。これまでに (1) の研究として、寒天培地などに所定の濃度の HCHO を加えて根から HCHO を吸収させて調べた例 (例えば Chen et al.⁷⁾, Wang et al.¹¹⁾) や、少量の HCHO 水溶液 (37 % の市販のホルマリン) をマイクロチューブに分注しこれを閉鎖系の曝露チャンバー内に設置して HCHO を自然拡散させた例 (例えば Chen et al.⁷⁾, Park et al.¹²⁾) などがある。これら簡易な閉鎖系では、チャンバー内の RH は植物の活発な蒸散のために、短時間に 90 % 以上に達して通常の実環境からはずれてしまうこと、また高湿度では葉の表面への水の凝結が容易となり、そ

の水に捕捉された HCHO によって新たに生じる作用なども無視できなくなることなどが予想されるので、生育条件に近い条件下でデータを得るためには RH を 50-70 % に保つことが好ましいと考えられる。いっぽう、湿度環境も制御されたチャンバーを用いた測定例 (例えば Kondo et al.^{13,14)} や Xu et al.¹⁵⁾) も報告されている。これらのうち、例えば Kondo et al. による 2 報^{13,14)} では、大型 (120 L) の曝露チャンバーを使用し、チャンバー内のガス濃度は、ガスを一定時間サンプリングしたのちに化学的に定量する方法がとられている。Xu et al.¹⁵⁾ による例では、曝露チャンバー (75 L) の入口と出口に HCHO 濃度計を取り付け、出入り口での濃度の差から HCHO の吸収量をリアルタイムで求めている。しかし、いずれの報告でも、植物による HCHO の吸収・同化によって到達し得る HCHO の下限濃度が求められていないなど情報に限りがある。

これに対し我々は、暴露装置を小型化し、かつ上記の (2) の測定を迅速かつ簡便に行うために、曝露チャンバー内の気体を循環させて閉鎖系とし、系内の HCHO 濃度をリアルタイムでモニターすることを計画している。本論文では、その最初の研究として、一定の RH で一定の濃度の HCHO を含む空気を安定的に供給する装置の構築とその性能について報告し、実際にシロイヌナズナの野生型および上記の組換え体を HCHO 曝露した際の可視的影響を比較した結果を報告する。さらに、上記 (2) に必要なデバイスのシステムへの組み込みについて提案する。

材料および方法

HCHO 曝露装置を設置した室内の環境

曝露装置を設置した実験室は、空調機により夏季は 22 °C、冬季は 24 °C に維持した。室内空気は換気扇の連続運転により常時新鮮空気を建屋の廊下から供給し、建屋外へ排出した。なお、測定中の室内の HCHO 濃度のモニターには、ポータブルホルムアルデヒド濃度測定器 (ホルムアルデメータ htV, JMS) を用いた。

HCHO 曝露装置

Fig. 1A は機能ユニットの構成図を示し、図中の矢印は曝露ガスの流れの方向を示す。Fig. 1B にはその全容を示す。まず主要な構成要素について説明する。一本破線で囲まれた Air Control Unit (特注品、形式 ADN1-MIX, ADTEC CORPORATION) は一定の湿度に調整した空気を供給するためのユニットであり、⑥の HCHO generator としては、U 字ガラス管 (管径 $\phi = 18$ mm, 管長 = 150 mm, アズワン) にパラホルムアルデヒド 5 g (ナカライテスク) を充填し、恒温水槽中で 25 °C に加温して用いた。固体のパラホルムアルデヒ

Fig. 1 System for exposing plants to HCHO. Fig. 1A and 1B shows the flow diagram of the system and photographs of the system, respectively. The circled numbers indicate the following: ① Silica-gel column, ② chemical absorption and active carbon column, ③ mass-flow controller, ④ humidification water tank, ⑤ mass-flow sensor, ⑥ formaldehyde generator, ⑦ gas mixing tank, ⑧ temperature and humidity meter, ⑨ exposure chamber, ⑩ formaldehyde meter, ⑪ anti-corrosive-gas mass flow controller, ⑫ formaldehyde chemical absorption column. The boxed A in Fig. 1A indicates the dehumidifier which can be installed when the rates of formaldehyde absorption by plants are measured in a closed chamber system (see text).

ドから遊離される HCHO の気相中での平衡濃度は 25℃ 以上ではほぼ一定になるとされている¹⁶⁾。二重破線で囲まれた Gas flow path switching device (特注品, ADTEC

CORPORATION) は、ガスの混合⑦、ガスの温度と RH のモニタリング⑧およびガスの流路の切り替えを行うユニットである。⑨は供試植物を HCHO に曝露するためのチャンバーで

ある。チャンパーとしては、ポリカーボネート樹脂製の丸型デシケーターの本体部分（直径 14.5 cm, 容積 7 L）をアクリル樹脂製の板で蓋をして用いた。⑩はチャンパー内の HCHO 濃度の測定器で、Interscan 製のホルムアルデヒド測定器 Model 4160 である。この測定器の用いている HCHO 測定原理は電気化学式定電位電解法に基づく。測定器は毎分 1.0 L のガスを内蔵ポンプによって吸引・吐出しながら連続的に HCHO 濃度を測定するもので、これによってチャンパー内のガスの攪拌も行った。

次に本装置によって供試植物に HCHO を含む一定湿度の空気を曝露し、そののちこの空気を排気するまでの気体の流れについて説明する。まず空気を①のシリカゲル充填カラムおよび②の化学吸着剤および活性炭充填カラムを通過させることにより、乾燥および不純物の除去をおこない、Pump と③の Mass-flow sensor によって一定流速で装置内へ送り込む。Float flow meter で任意の割合で空気を分流し、一方はそのまま、他方は④の Humidification water tank に導入して加湿する。加湿空気と乾燥空気を合流させたのち、Flow adjustment valve によって分流し、一方はそのまま、他方は⑤の Mass-flow sensor で流量を調節したのち、⑥の formaldehyde generator を通過させて HCHO を加える。両者を⑦の Gas mixing tank（容量 0.5 L）において混合し、さらにもう一つの同容量の⑦を通して混合する。混合ガスの温度と RH は、⑧の Temperature and humidity meter によって、HCHO 濃度は⑩の Formaldehyde meter によって、各々

モニターし、それらのデータを見ながら、所期の組成になるように、手動で各ガス成分の混合量を調節する。混合ガスは試料植物を設置した曝露チャンパー⑨に導入する。チャンパーから出た混合ガスは、Anti-corrosive-gas mass flow controller とポンプによって所定の量送り出される。これを排気する前に、⑫ Formaldehyde chemical absorption column（Purafil SP と Purakol の 1:1 混合物, Purasil）を通過させて HCHO をトラップした。なお、③、⑤および⑩の Mass flow controller のメーカー、形式、仕様はそれぞれ、アズビル、MPC9500, F.S. 500 mL min⁻¹ ± 2 %; コフロク, 3810S, F.S. 500 mL min⁻¹ ± 2 %; およびコフロク, 8300, F.S. 500 mL min⁻¹ ± 1.5 % である。

植物試料

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* Col-0) の野生株 (WT) および WT に HCHO の同化代謝系を導入した形質転換株 (AB)⁷⁾ を用いた。無菌的に寒天培地上で種子を発芽させ、2-3 週齢（第 8 葉形成期）に達した個体を直径 5 cm のビニルポットに鉢上げした。鉢上げに用いた土壌は、パーミキュライト 2 容とパーライト 1 容の混合物であり、1/1000 に希釈したハイポネックス (N-P-K = 6-10-5) 溶液を十分吸水させて使用した。2-3 日に一度底面給水を行い、施肥は上記と同じハイポネックス溶液を週に一度水の代わりに与えることによった。鉢上げ以降は人工気象器内にて 7-8 週齢（葉数 20-25 枚）まで育成した。花成を遅らせて葉の数を多くするために、短日条件（明期 10 時間、暗期 14 時間）と

Fig. 2 Performance test of the constructed system. Three pots of wild-type (WT) *Arabidopsis thaliana* and its transformant (AB) were placed together in the chamber for HCHO exposure for 150 min. The HCHO concentration and humidity (RH) were manually controlled to keep them within a range of 1-2 ppm (A) or 14-16 ppm (B) for HCHO, and RH within 50-55 %. The temperature of the room was set at 22 °C (for summer seasons) and 24 °C (for winter seasons) for experiments A and B, respectively. Experiments were repeated more than three times and the representative data are shown.

Fig. 3 Effect of HCHO at low concentration (1–2 ppm) on the wild-type (WT) and the transformant (AB) *Arabidopsis thaliana* at 22 °C. (A) Overview of the exposure chamber containing six pots of plants. (B) The WT after exposure for 48 hours. (C) AB after exposure for 48 hours. (D) and (E) Leaf surfaces of the WT deformed after 48-hours exposure. (F) Leaf surface of the WT with bleached patches that appeared after 5 days from the end of the 48 hours exposure. (G) The WT after exposure for 5 days. (H) AB after exposure for 5 days. Leaves circled with a red dotted line in (G) and (H) indicate damage after 5-days of exposure.

し、蛍光灯照明下 ($70 \sim 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)、温度は 22°C とした。

植物体の HCHO への曝露

植物体 (WT 株と AB 株) は、7–8 週齢のものを、それぞれ 3 個体合計 6 個体を一緒に曝露チャンバー内に設置し、HCHO 曝露前のプレ順化を 2 日間おこなった。光源としては蛍光灯を用い、チャンバーの真上から照射した。光合成有効光量子束密度は約 $70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。24 °C または 22 °C にて、RH を 50 ~ 55 % に調整した空気を毎分 500 mL

供給してプレ順化とした。この後に底面給水を行った後、HCHO 曝露を開始した。曝露条件は、上記の空気に HCHO の気体を混合し、その濃度を 1 ~ 2 ppm (低濃度) または 14 ~ 16 ppm (高濃度) に調整した気体を用いた以外はすべて同じとした。曝露時間の詳細は、Fig. 2, Fig. 3 および Fig. 4 に記載した。なお、チャンバーでのホルムアルデヒド含有ガスの曝露中にかん水は行っていないが、予備試験でこの期間かん水を行わなくても生育には影響がないことは確認済みである。

Fig. 4 Effect of HCHO at high concentration (14–16 ppm) on the wild-type (WT) and the transformant (AB) *Arabidopsis thaliana* at 24 °C. In (A) to (D), each of the plants above and below the red dotted line are WT and AB, respectively. (A) Before exposure. (B) and (C) after exposure for 3 and 4 days, respectively. (D) Plants exposed to HCHO (sample (C)) were further grown under ambient air conditions for 5 days under constant light.

結果および考察

HCHO 曝露装置の性能試験

植物材料を曝露チャンバーに設置し、HCHOを加えた空気を曝露チャンバーに供給し、一定時間所定のHCHO濃度および所定の湿度に手動で保つことができるかどうかを調べた。Fig. 2Aおよび2BはRHを50～55%に保ちながら、HCHO濃度をそれぞれ1～2 ppm（低濃度）および14～16 ppm（高濃度）に150分間維持したときのデータを示す。実験は3回以上行い、そのうちの代表的なデータを示した。150分間におけるHCHOおよびRHの変動は、低濃度HCHOの条件下では各々1.00～1.30 ppm（平均濃度1.05 ppm）および52～54%（平均RH 53%）、また高濃度HCHOの条件下では各々13.5～14.9 ppm（平均濃度14.0 ppm）および51～52%（平均RH 52%）であった。なお、Fig. 2Aと2Bで温度が異なっているのは、実験の時期が異なったことによる

（夏季22℃、冬季24℃）。低濃度のHCHOへの曝露実験においては、開始からほぼ一定のガス環境に達するまで約30分間は手動によって湿度とHCHO濃度の調整を頻繁に行う必要があったが、これはチャンバーの開閉と植物との接触開始による環境の急変のためと推測された。それ以降変動幅は小さくなり、比較的容易に手動で一定の環境を維持することができた。

曝露時間を4.5時間に延長して装置を稼働したときにも、低HCHO濃度条件ではHCHO濃度を1.10～1.30 ppm（平均濃度1.27 ppm）、RHを49～55%（平均50%）に維持し、高HCHO濃度条件ではHCHO濃度を13.8～14.4 ppm（平均14.1 ppm）、RHを51～52%（平均RH 52%）に維持することができた（データは省略）。

供試植物への曝露時間を4日間に延長し、HCHO濃度を14～16 ppmに設定した場合は、HCHO濃度とRHの手動による調節を日に2回行ったが、このときのHCHO濃度は14.2～16.3 ppm（平均15.2 ppm）、RHは45～58%（平

均 50 %) で変動幅がやや大きくなった (データは省略)。

以上の実験から、本システムが所期の性能を有することが示された。

HCHO 曝露がシロイヌナズナの野生型および組換え体に及ぼす影響

この装置を用いて、1 ~ 2 ppm (低濃度) または 14 ~ 16 ppm (高濃度) の HCHO への曝露が、シロイヌナズナの WT および AB⁷⁾ に及ぼす影響について予備試験的に観察した。それぞれの条件での結果を Fig. 3 および Fig. 4 に示す。

Fig. 3A は WT および AB を 3 個体ずつ一緒にチャンバー内に設置した様子を示す。Fig. 3B と 3C は連続光照射下で 48 時間曝露した後の WT および AB の個体をそれぞれ示す。この曝露によって植物体に顕著な変化は見られなかったが、両個体ともに一部の葉においては、表面の滑らかさがわずかに失われて、多数の細かな起伏を生じたり (Fig. 3D)、葉の辺縁部が垂れ下がったものや、直径 1 ~ 2 mm 程度の薄い白斑が現れたりしたものもあった (Fig. 3E)。48 時間の曝露のち、チャンバーから取り出し、同一室内において連続光下で 1 週間維持したところ、両株ともすでに生じていた白斑がさらに拡大し明瞭になった (Fig. 3F)。

Fig. 3G と 3H は、それぞれ WT と AB を 5 日間低濃度の HCHO に曝露したのちの様子を示す。WT および AB ともに、すべての葉で、辺縁部が垂れ下がるか波打つ傾向がみられた。一部の葉においては、赤い点線で囲んで示したように斑状の白色化がみられた。このように変化した葉の割合が AB と WT とで明瞭に異なっているかどうかについては今後解析を行う必要がある。両株とも斑紋を生じた葉も枯死することはない。植物体からはその後新しい葉も生じ、花茎も形成され結実した (データは省略)。このように比較的低濃度 (1 ~ 2 ppm) の HCHO への曝露でも 48 時間以上に及ぶと可視的な傷害がおこることが明らかになった。

次に WT および AB を 3 個体ずつ連続光照射下で高濃度の HCHO に長時間曝露したときの影響を調べた (Fig. 4)。両株とも 2 日間の曝露では顕著な変化は認められなかったが、3 日後には比較的小さく若い葉において、顕著な褐変がみられ、4 日後には、茎頂を含む先端の一部分以外の葉は薄緑色がかった褐色となった。このように WT と AB 両方に同様の変化がみられ感受性の明確な違いは見られなかった。両株とも傷害を受けた葉は枯死したが植物体自体の死滅にはいたらず、その後茎頂から正常な花茎が生じ (Fig. 4D) 結実した。

シロイヌナズナのガス状 HCHO に対する感受性

われわれの以前の研究では、シロイヌナズナの芽生えを容器内で寒天培地上に生育させた場合、WT は寒天培地中の HCHO 濃度が 4 mM (すなわち 120 ppm) でも耐性を示し

8 mM では生育不能であったのに対して AB では 8 mM でも耐性を示した。この場合、HCHO は根から吸収され、AB では葉で発現している HCHO の同化経路によって無害化されていると考えられた⁷⁾。これに対して、今回初めて、十分成長したシロイヌナズナを一定の既知の濃度のガス状の HCHO に曝露したところ、1 ~ 2 ppm の HCHO に対しても、48 時間の曝露で、WT 株および AB 株ともに一部の葉の表面に傷害がみられ、シロイヌナズナがガス状の HCHO に対して水溶液状の HCHO よりも高い感受性をもつことが示唆された。これは HCHO が強く水合するため、水溶液状ではその遊離状態の HCHO 濃度が極めて低くなるためと説明できるかもしれない。したがって、WT と AB の間で HCHO 耐性に差が出るのは気相における濃度がさらに低い場合である可能性がある。また、過去の水溶液状の HCHO を与えた実験と本実験とでは用いた植物個体の生長期が異なるため、そのことによる影響も考慮しなければならない。

本曝露装置の有用性

湿度を一定に保ちながら一定の濃度のガス状 HCHO を供給するシステムの作成は、HCHO が植物に及ぼす影響を明らかにし、植物の HCHO 浄化能を定量的に調べるうえで必要である。シロイヌナズナのような小型の植物用に小型の曝露チャンバーを設計する場合、チャンバー内ガス濃度等の変動が大きくなりやすいと予想されるため、HCHO を一定時間トラップして測定する方法 (例えば Kondo et al.^{13,14)}) は採用できず、リアルタイムに HCHO 濃度を測定し迅速かつ正確に調整することが求められる。本論文に使用したシステムは暴露条件を自動的に維持できるものではないが、迅速な調整を可能にするための特徴を持たせた。たとえば、空気を加湿するとき、乾燥空気をバブルさせる水の温度でそれを制御することが行われているが、本研究で行われたように、バイパスしてきた乾燥空気と混合する方法が迅速な制御に必要と思われる。また、本研究では、固体のパラホルムアルデヒドからの HCHO の昇華がある温度以上では一定の分圧になるという保利らの知見 (例えば Hori et al.¹⁶⁾) と示唆に基づいて、より簡便で安全なシステムを構築した。

我々は、現在、植物が低濃度 (1 ~ 2 ppm) および高濃度 (14 ~ 16 ppm) の HCHO に曝露されたときの応答をトランスクリプトーム解析によって明らかにすることを目指しており、本装置をこの解析に利用している。

今後の改良点

供試植物の HCHO 吸収速度をリアルタイムで測定するためには、曝露チャンバー内のガスの流路を閉鎖系としてガスを循環させて、ガス中の HCHO 濃度をモニターすることが必要である。この場合に提案されるガス流路を Fig. 1A には二重破線で囲まれた領域内に点線で示した。くわえて、植物による

蒸散活動のために、曝露チャンバー内の *RH* が急速に上昇すると予想される。実際に本曝露チャンバーで測定したところ、曝露チャンバー内の *RH* は 20–30 分で 90 % 以上となった。したがって、*RH* を 50–60 % に維持しつつ測定するためには、HCHO を除去せず水分のみを除去するためのデバイスが必要となる (Fig. 1A における A)。このようなデバイスを開発することにより、植物に対する HCHO の影響に関する基礎的知見を集積することが今後必要である。

摘 要

ホルムアルデヒド (HCHO) は重要な産業用化学物質であるが、大気や室内の環境汚染物質でもあり、化学物質過敏症やシックハウス症候群の原因物質の一つとされている。われわれは、先に、HCHO を固定して同化する酵素群の遺伝子をメチロトロフ細菌から取得し、これを導入することによって、植物に HCHO の同化能を付与することに成功した。この方法を観葉植物などに適用して環境浄化 (ファイトレメディエーション) に役立てることができるかどうかを検討するためには、遺伝子導入によって付与された HCHO の吸収能や HCHO への耐性について、より定量的なデータが必要とされる。本論文においては、一定の湿度を保ちながら、種々の濃度のガス状 HCHO に植物を曝露するためのシステムの作成とその性能について報告した。予備試験的に、このシステムを用いてシロイヌナズナの野生型および上記の形質転換体を HCHO に曝露したときの可視的影響を観察した。両植物体ともに、1 ~ 2 ppm にて 48 時間の曝露では葉に可視的な傷害がみられ、14 ~ 16 ppm で 4 日間の曝露では成葉が全面的に褐変した。しかし曝露後通常大気中で栽培をつけると茎頂から成長が再開され死滅はしていなかった。

謝 辞

本装置の構築にあたって、ADTEC CORPORATION 社 (神奈川) の鈴木アトム氏に曝露装置の主要部分の作成について多大のご協力をいただき、JMS 社 (東京) の東出和聡氏には HCHO の計測機器について有益なお教をいただいた。有限会社アキツ計測の正木美登史氏にサンプル空気除湿装置の作成について多大のご協力をいただいた。また、金沢星稜大学の大藪多志教授と産業医科大学の保利一教授および石田尾徹講師には、HCHO 曝露装置や設備を見学させていただき有益な助言をいただいた。HCHO への曝露による ROS 発生については東京理科大学・朽津和幸教授のご指導をいただいた。本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金、基盤研究 (B) 19380186 (代表者 泉

井桂) による支援を受けた。

参 考 文 献

- 1) 中西準子, 鈴木一寿. ホルムアルデヒド (詳細リスク評価書シリーズ 17). NEDO 技術開発機構, 産総研化学物質リスク管理研究センター共編, 丸善, 東京. 1–200. 2009.
- 2) Kaden DA, Mandin C, Nielsen GD, Wolkoff P. Formaldehyde. In: WHO guidelines for indoor air quality: selected pollutants, WHO, Geneva. 103–156. 2011.
- 3) Wolverton BC. How to grow fresh air. Penguin Books, New York. 1–144. 1997.
- 4) Wolverton BC, Wolverton JD. Plants and soil microorganisms – Removal of formaldehyde, xylene, and ammonia from the indoor environment. J. Miss. Acad. Sci. 38: 11–15. 1993.
- 5) Kato N, Yurimoto H, Thauer RK. The physiological role of the ribulose monophosphate pathway in bacteria and archaea. Biosci. Biotech. Bioch. 70: 10–21. 2006.
- 6) Sawada A, Oyabu T, Chen LM, Li KZ, Hirai N, Yurimoto H, Orita I, Sakai Y, Kato N, Izui K. Purification capability of tobacco transformed with enzymes from a methylophilic bacterium for formaldehyde. Int. J. Phytoremediat. 9: 487–496. 2007. Erratum in: Int. J. Phytoremediat. 10:598. 2008.
- 7) Chen LM, Yurimoto H, Li KZ, Orita I, Akita M, Kato N, Sakai Y, Izui K. Assimilation of formaldehyde in transgenic plants due to the introduction of the bacterial ribulose monophosphate pathway genes. Biosci. Biotech. Bioch. 74: 627–635. 2010.
- 8) Song Z, Orita I, Yin F, Yurimoto H, Kato N, Sakai Y, Izui K, Li K, Chen LM. Overexpression of an HPS/PHI fusion enzyme from *Mycobacterium gastri* in chloroplasts of geranium enhances its ability to assimilate and phytoremediate formaldehyde. Biotechnol. Lett. 32: 1541–1548. 2010.
- 9) 泉井桂, 陳麗梅, 加藤暢夫, 阪井康能, 由里本博也. ホルムアルデヒドに対する耐性を植物に付与する方法. 環境中のホルムアルデヒドを植物に吸収させる方法. 特許第 4487071 号, 2010 年 4 月 9 日.
- 10) Izui K, Chen LM, Kato N, Sakai Y, Yurimoto H. Method to confer formaldehyde-resistance to a plant, and a method to have a plant absorb environmental formaldehyde. United States Patent. Patent No.: US 7,973,222 B1. Date of Patent Jul. 5, 2011.
- 11) Wang SS, Song ZB, Sun Z, Zhang J, Mei Y, Nian H-J, Li KZ, Chen LM. Effect of formaldehyde stress on physiological characteristics and gene expression associated with photosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. Plant Mol. Biol. Rep. 30: 1291–1302. 2012.

- 12) Park MA, Seo JH, Park JS, Kwon M. Proteomic identification of toxic volatile organic compound-responsive proteins in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Rep. 28: 1603–1614. 2009.
- 13) Kondo T, Hasegawa K, Uchida R, Onishi M, Mizukami A., Omasa K. Absorption of formaldehyde by oleander (*Nerium indicum*). Environ. Sci. Technol. 29: 2901–2903. 1995.
- 14) Kondo T, Hasegawa K, Uchida R, Onishi M, Mizukami A, Omasa K. Absorption of atmospheric formaldehyde by deciduous broad-leaved, evergreen broad-leaved, and coniferous tree species. B. Chem. Soc. Japan. 69: 3673–3679. 1996.
- 15) Xu Z, Wang L, Hou H. Formaldehyde removal by potted plant-soil systems. J. Hazard. Mater. 192: 314–318. 2011.
- 16) Hori H, Arashidani K. Basic characteristics of a formaldehyde gas generator using solid paraformaldehyde. J. Univ. Occup. Environ. Health 19: 123–131. 1997.