

平成 27 年度～平成 31 年度
文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

医療技術の革新に貢献する
バイオ機能材料開発の研究拠点形成
(事業番号：S1511019L)

平成 27 年度 研究成果報告書

平成 28 年 6 月

研究代表者 小池 あゆみ
(神奈川工科大学)

文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
『医療技術の革新に貢献するバイオ機能材料開発の研究拠点形成』
平成 27 年度 研究成果報告書

目 次

1. 研究成果報告

テーマ 1：バイオ機能材料の開発とその有効性検証

- ①タンパク質性ナノカプセルを用いた細胞内局所送達・・・・・・・・・・・・・1
－薬物の時空間的制御を可能にする **DDS** 技術の開発－
(神奈川工科大学 応用バイオ科学科) 小池あゆみ
- ②配向性を付与した酵素の固定化とマイクロフローを組み合わせた
センシングシステムの開発とその特性評価・・・・・・・・・・・・・3
(神奈川工科大学 応用バイオ科学科) 飯田 泰広
- ③In vivo における細胞内局所送達輸送体の有効性の検証・・・・・・・・・・・・・5
(神奈川工科大学 栄養生命科学科) 清瀬 千佳子
- ④医療系材料に対するナノ粒子処理による抗菌加工法の開発・・・・・・・・・・・・・7
(神奈川工科大学 栄養生命科学科) 澤井 淳
- ⑤光線力学療法 (PDT) への展開応用を目指したフラーレン誘導体の構造と活性評価・・・・9
(神奈川工科大学 応用化学科) 高村 岳樹

テーマ 2：情報メディアによるバイオ機能材料開発の高度化

- ①高臨場感仮想空間での標的分子の設計システムの研究・・・・・・・・・・・・・11
－設計支援ユーザインタフェースの構築－
(神奈川工科大学 情報ネットワーク・コミュニケーション学科) 上平 員丈
- ②分子設計への仮想空間技術応用－標的分子の設計支援・・・・・・・・・・・・・13
(神奈川工科大学 情報ネットワーク・コミュニケーション学科) 井上 哲理
- ③細胞核及びがん細胞領域の検出処理の検討・・・・・・・・・・・・・15
(神奈川工科大学 電気電子情報工学科) 武尾 英哉, 安倍 和弥
- ④血液の流れを粒子法で数値計算する試み・・・・・・・・・・・・・17
(神奈川工科大学 情報メディア学科) 服部 元史

2. 研究成果報告会資料

報告会概要と外部評価委員からの総評・・・・・・・・・・・・・・・・・・20

報告会発表スライド

プロジェクト全体とテーマ1の説明、H27年度研究成果報告・・・・・・・・・・21
(神奈川工科大学 応用バイオ科学科) 小池あゆみ

H27年度研究成果報告 (神奈川工科大学 応用バイオ科学科) 飯田 泰広・・・・27

H27年度研究成果報告 (神奈川工科大学 応用化学科) 高村 岳樹・・・・30

テーマ2の説明、H27年度研究成果報告・・・・・・・・・・・・・・・・・・34
(神奈川工科大学 情報ネットワーク・コミュニケーション学科) 上平 員丈

H27年度研究成果報告 (神奈川工科大学 情報メディア学科) 服部 元史・・・・38

タンパク質性ナノカプセルを用いた細胞内局所送達 -薬物の時空間的制御を可能にする DDS 技術の開発-

小池 あゆみ

神奈川工科大学応用バイオ科学科教授

1. 背景と目的

薬物の薬理効果は、特定の標的部位に薬物分子が結合し、作用することによって発現される。薬理効果を十分に発揮するためには、必要な量を望みの時間に標的部位に送達すること（時間的・空間的制御）が重要である。しかし、薬物自身にそれらの性質を持たせることは難しく、多くの場合、脂質や高分子を用いたキャリアーに放出制御性や標的指向性を付与する手法が試みられている。たとえば、リポソーム表面に抗体を結合させたイムノリポソームは期待される技術であるが、リポソームのサイズコントロールや抗体結合効率、立体構造障害の回避などが問題点である。

大腸菌のシャペロニン（GroEL/GroES）は、細胞内に存在する膜タンパクを除く約 2500 種の可溶性タンパク質の 10～15% のフォールディング助けるタンパク質である。GroEL は、57kD のサブユニット 7 つからなるリングが 2 つ重なった 14 量体構造をしており、リング内部にはそれぞれ直径約 5nm の空洞がある（図 1）。ATP 加水分解を伴う構造変化によって、GroES を蓋のように結合し、閉鎖された空洞内に変性ポリペプチドを閉じ込めて、凝集を防ぎながらフォールディングさせ、ATP 加水分解が終了すると、内包物と GroES を解離する^[1]。GroEL の ATP 加水分解に関わるアミノ酸である Asp52 および Asp398 を Ala に置換した GroEL (D52A/D398A) 変異体は、空洞内に基質タンパク質を閉じ込めた反応中間体の半減期が 6 日であった（最長で 12 日程度）^[2,3]。ATP 加水分解時間はシャペロニンカプセルの開閉を制御するタイマーとして機能するため、望みの時間で加水分解が終わる変異体を用意し、基質タンパク質の代わりに薬物を内包できれば、タンパク質性ナノカプセルとして薬物担体、生物応答デバイスなどへ応用できる可能性があると考えられた。シャペロニンを薬物担体とする DDS（ドラッグデリバリーシステム、薬物送達法）技術の開発のため、平成 27 年度は、GroEL (D52A/D398A) 変異体に内包した薬物を細胞内局所送達することを検討した。

2. 研究方法

2.1 核移行シグナル付加型シャペロニン複合体

シャペロニン複合体に核移行シグナル配列を付加するために、GroES の N 末端に A h R（Aryl

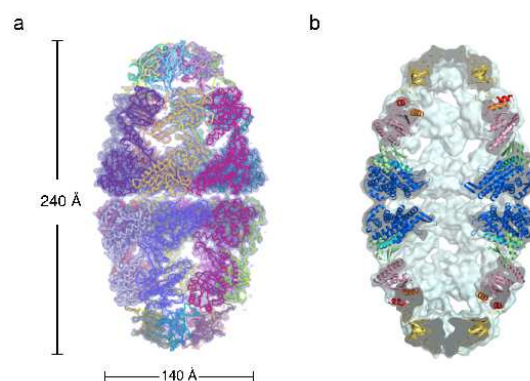


図 1 シャペロニン複合体の構造

Hydrocarbon Receptor) のアミノ酸残基 12 番目から 38 番目に位置するシグナル配列（RKRRKPVQKTVKPIPAEGIKSNPSKRH）を融合して発現させるためのベクター pETGroES-NAS を構築した。pETGroES-NAS で形質転換した大腸菌 BL21 (DE3) を培養し、超音波破碎した可溶性画分から Butyl-Toyopearl M650、SP-Toyopearl M650（共に TOSOH）を用いて核移行シグナル融合 GroES（GroES-NAS）を精製した。GroEL (D52A/D398A) と GroES-NAS を 1 mM ATP 存在下で混合し、透過型電子顕微鏡（TEM）JEM1400Plus（日本電子）で観察した。

2.2 哺乳類細胞へのシャペロニン複合体導入

被内包物を包含させたシャペロニン複合体を用いた哺乳類細胞への導入試験を行うことで、核移行シグナル付加型シャペロニン複合体の細胞内局所送達性を検証した。GroES-NAS および野生型 GroES（GroES-WT）を Cy3 で蛍光標識し、GroEL (D52A/D398A) を Cy5 で蛍光標識した後、遊離の蛍光色素を NAP5 カラム（GE Healthcare）を用いて除去した。Cy5-GroEL (D52A/D398A) と精製 GFP タンパク質を混合し、60 °C で 15 分加熱した後、1 mM ATP と GroES-NAS または GroES-WT を混合し、複合体を形成した。作製したシャペロニン複合体は 0.22 μm メンブレンフィルターで濾過滅菌し、MEM 培地と共に φ 6 cm ディッシュに播種した CHL 細胞（チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞）に添加した（GroEL 換算で終濃度 0.05 μM）。その後、37 °C、5 % CO₂ 条件にて培養し、

蛍光共焦点顕微鏡 FL1000 (OLYMPUS) を用いて細胞の経時変化を観察した。

3. 結果および考察

GroES の N 末端に A h R の核移行シグナル配列を融合した GroES-NAS を ATP 存在下で GroEL (D52A/D398A) と混合し TEM 観察した結果、GroEL (D52A/D398A)/GroES-WT/ATP 複合体と同様に弾丸型 (GroEL/1GroES) およびフットボール型 (GroEL/2GroES) 複合体の形成を確認できたことから、N 末端のシグナル配列は複合体形成の立体障害とならないことが明らかとなった。

次に、Cy5-GroEL (D52A/D398A)、Cy3-GroES-NAS または Cy3-GroES-WT、内包物 (GFP) で構成したシャペロニン複合体を CHL 細胞に添加したところ、GroES-WT を含むシャペロニン複合体を添加して培養した場合では、GFP (緑色)、GroEL (白色)、および GroES (赤色) を示す各蛍光シグナルが細胞質内で観察された (図 2 A)。シャペロニン複合体が膜透過ペプチド融合などの特別な操作をしなくても細胞膜を通過することは予想外であったが、この結果から、細胞内に導入したい物質 (ドラッグ) を GroEL/GroES 複合体に内包できれば、化学的な連結 (架橋) を必要とせずに細胞内取り込みが促進できることが示唆された。さらに、GroES-NAS を含むシャペロニン複合体を添加して培養した場合では、GFP (緑色)、GroEL (白色)、および GroES (赤色) を示す各蛍光シグナルが細胞質内で観察され、さらに、薄黄色のシグナル (Cy3, GFP、および Cy5 の蛍光が、同じ地点で三重に重複したシグナル) が核内において検出された (図 2 B)。特に 48 時間以降では、核内での薄黄色シグナルが多数観察された。詳細な観察結果から、12~24 時間で細胞質に到達し、36~48 時間で核内に到達していると認められた。48 時間経過時の蛍光顕微鏡観察において、0.1 μ m スライス間隔にて 100 枚の断面を撮影し、三次元スタック断面像を作成した (図 3)。薄黄色のシグナルが核内において多数検出されていることから、核内でシャペロニン複合体が被内包物である GFP を保持していることが三次元立体画像中においても確認された。

細胞内局所移行シグナルは他にも多く知られており、それらを融合した GroES を用意することで核以外にも局所送達できる可能性は高い。また、ATP 加水分解時間を望みの時間に調整した GroEL 変異体と組み合わせることで、放出開始時間の制御の可能性もあり、シャペロニン複合体は放出制御性や標的指向性を遺伝子工学的手法で比較的容易に付与できるタンパク質性ナノカプセルと

いえる。

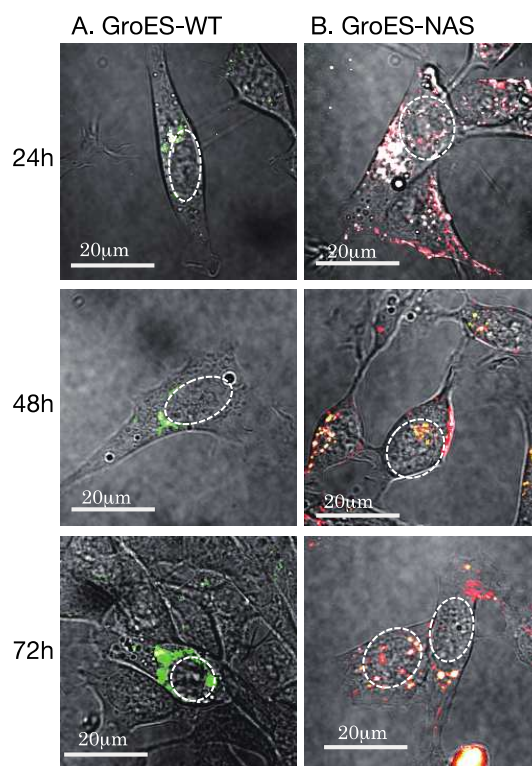


図 2 CHL 細胞へのシャペロニン複合体導入

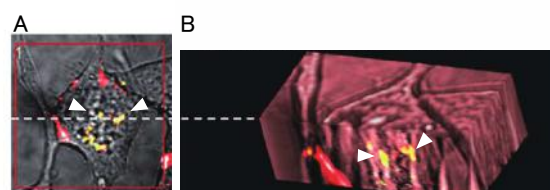


図 3 蛍光顕微鏡の三次元スタック断面画像 (A) 蛍光顕微鏡観察画像。(B) 正面斜視からのスタック断面画像。図中、(B)における断層面は(A)における白破線部での横断面を示す。

4. 参考文献

- [1] 小池あゆみ, 田口英樹, “GroEL/GroES”, *in* キーワード: 蛋白質の一生, 編集・遠藤斗志也、小椋光、永田和宏、森 和俊、田口 英樹、吉田 賢右, pp. 1054-1055, 共立出版, 2008.
- [2] Koike-Takeshita A, Mitsuoka K, Taguchi H, “Asp52 in combination with Asp398 plays a critical role in ATP hydrolysis of chaperonin GroEL”, *J. Biol. Chem.*, 289 (43), pp. 30005-30011, 2014.
- [3] Koike-Takeshita A, Arakawa T, Taguchi H, Shimamura T, “Crystal structure of a symmetric football-shaped GroEL_GroES2 complex determined at 3.8 Å reveals rearrangement between two GroEL rings”, *J. Mol. Biol.*, 426 (21), pp. 3634-3641, 2014.

配向性を付与した酵素の固定化とマイクロフローを組み合わせたセンシングシステムの開発とその特性評価

飯田泰広

神奈川工科大学応用バイオ科学科教授

1. 背景と目的

バイオセンサは、クロマトグラフィーを主とした対象を分離後に測定する手法とは異なり、識別素子とする生体分子の特性により混合物を分けることなく検出できるため、小型化集積化が可能である。現在、血糖値センサが主となっているが、簡易計測が可能であるため、医療機関から離れてのセルフチェックやウェアラブルなセンサ構築が容易であり、血糖値モニタリング以外にも、医療分野や食品、スポーツ分野など様々なフィールドでの応用が期待できる。

バイオセンサはフローシステムと組み合わせて用いる連続分析型の手法とポータブルな装置と組み合わせたディスポーザブル型の手法の2つが用いられている。連続分析型では、識別素子として用いる酵素や受容体、抗体などの生体分子の感度や精度、安定性が重要である。一方、チップ化してディスポーザブルに使用しているタイプでは、前出のシステム同様感度が重要であることに加え、生体素子の安定性といった問題からは解放されているが、本来必要となる検量線といった概念がないため、Lot 間でのばらつきの無さや長期安定性が求められることになる。これらのことを考えると、バイオセンサにとって重要なことは、感度、精度、安定性ということになる。

本研究においては、組換え酵素を用いることにより、配向性を持たせて識別部位をそろえ感度の向上を目的とすることと、シャペロニンと合わせて安定性を持たせることを目的としており、本年度は、アルツハイマー病のキー酵素と考えられている β -secretase をモデル酵素として選定し、配向性を持たせた固定化とその特性評価に取り組んだ。

2. 研究方法

配向性を有する固定化を行うために、 β -secretase と streptavidin を融合させたタンパク質をデザインし、当該融合タンパク質を大腸菌で産生することとした。 β -secretase 配列はかずさ DNA 研究所 (Gene ID: KIEE1947) から、streptavidin は *Streptomyces avidinli* より、それぞれ PCR により配列を増幅してクローニングした。クローニングしたそれぞれの遺伝子は、In-fusion クローニング法によって pCold II ベクター上にサブクローニングした。構築したベクターは、DNA シークエンサ

ーによって配列解析を行い、形質転換、発現誘導、破碎処理により目的タンパク質を抽出した。粗抽出液は、Ni-NTA による His タグを用いたアフィニティークロマトグラフィーによって精製を行った。得られた融合タンパク質は、Au プレート上に 2-aminoethanethiol を用いてアミノ基を導入後、EZ-Link Sulfo-NHS-LC-Biotin を用いてビオチンを導入、Au プレート上に SAM を形成させ、そのビオチンと融合タンパク質の streptavidin を結合させることによって配向性を持たせた固定化を行った。また、常法として、Au プレート上に同様にアミノ化した後、グルタルアルデヒド法により配向性を考慮しない固定化を行い、表面の状態を SPM により評価した。また、Au プレート上に固定化した酵素と、CPG (controlled pore glass) 上に固定化した酵素をフローシステムに組み込み (Fig.1)、酵素活性の評価を行った。なお、酵素活性評価は β -secretase 認識配列を有する FRET 基質を用いて酵素活性の評価を行った。また、既存阻害剤である、KMI429 の阻害能評価を構築したシステムを用いて行い、固定化しない溶液としての酵素と比較することにより、当該法による活性評価が適切にできているかの検討を行った。

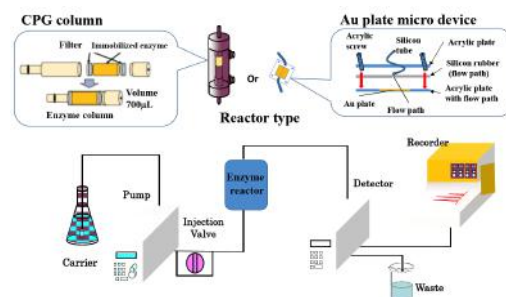


Fig.1 Schematic diagram of FIA system using in this study

3. 結果および考察

クローニングした β -secretase と streptavidin の配列をシークエンサーで確認した結果、データベースと100%一致しており、また、融合タンパク質が構築できていることを確認した。当該融合タンパク質と、streptavidin を用いない配向性を考慮しない通常の固定化法によってAuプレートに固定化した酵素の状態を比較した結果をFig.2に示す。配向性を持たせた場合、分子の高さが約25 nmになることが計算により見積もられているが、本実

験でも高さがそろったほぼ均一の表面を観察することができた。一方、配向性を与えなかった場合は、不均一であることが示された。次に、当該融合タンパク質を用いて固定化を行い、フローシステムに組み込んで計測した。その、それぞれの固定化酵素リアクタによって得られた応答曲線をFig. 3に示した。既存法であるCPGを用いた活性評価では、ピークが上昇し始めてから、ベースラインに戻るまでの時間が約7 min程度であるのに対して、Au プレート上への固定化法では、約1 min 30 secであり、ベースラインの確認を考慮すると、同一時間内において約10倍のサンプルを評価することが可能となった。また、注入の用量は既

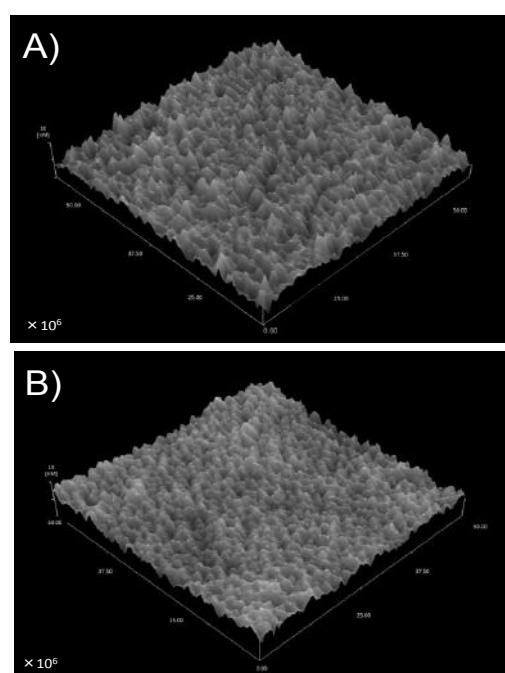


Fig. 2 Evaluation of the surface of orientational controlled immobilized enzyme and w/o the control. sSurface of Au plate of immobilized enzyme; A) without control the orientation, B) control the orientation.

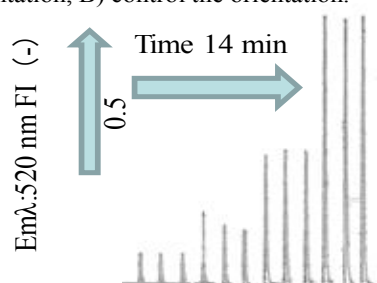


Fig. 3. Response curve of β -secretase immobilized by biotin-streptavidin method on Au plate. Injection volume is 5 μ L and flow rate is 500 μ L/min.

存法では20 μ Lであるのに対し、Auプレートを用いたデバイスでは5 μ L でFig.3のような良好なピークを得ることができた。また、当該システムを用いて作製した検量性をFig.4に示す。システムの検出限界は18.75 nMであり、感度良く計測することが示された。システムのレスポンスが酵素活性によるものであることを確認するため、既存阻害剤である、KMI429の阻害特性を評価した結果をFig.5に示す。阻害剤濃度に応じて阻害活性が向上することが示された。更に、固定化した系で Lineweaver-Burk plotから K_i 値を評価した結果、固定化を行わない本来の K_i 値とほぼ同じ値であることを確認することができた。以上の結果から、配向性を有する酵素の固定化および迅速・高感度のセンシングシステムを構築できたことが示され、今後、シャペロニンと組み合わせた長期安定性の評価等に取り組むたいと考えている。

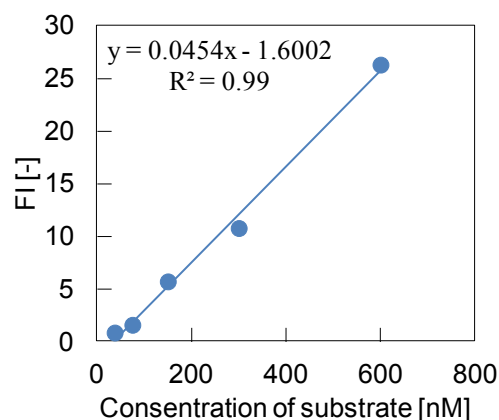


Fig.4 Calibration curve of β -secretase

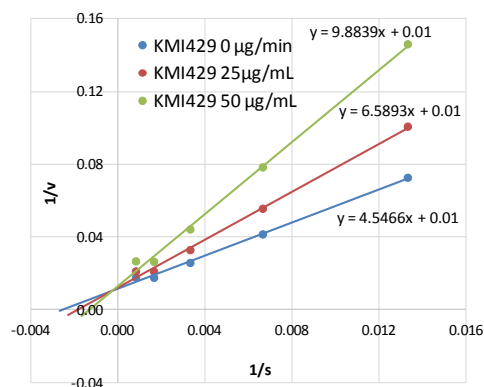


Fig.5 Lineweaver-Burk analyses of effect of KMI429 on the β -secretase activity

4. 参考文献

- [1] Y. Iida, "Flow injection analysis of β -secretase activity by using of immobilized recombinant fusion β -secretase and application of the system for the inhibitor" PACIFICHEM 2015, Honolulu, Hawaii, USA, 2015.

In vivo における細胞内局所送達輸送体の有効性の検証

清瀬 千佳子

神奈川工科大学栄養生命科学科教授

1. 背景と目的

日本人の健康増進への技術革新は重要な課題の一つである。その中でバイオ機能材料の開発は今後のバイオメディカル産業の発展には欠かせない。特に、ナノバイオテクノロジーとバイオインフォマティクスの連携することで革新的な医用技術を生み出す事が期待できる。本事業は医療技術の革新に貢献するバイオ機能材料開発を目的として、新たなバイオ機能材料の開発と医療基盤技術を創出したいと考えている。

日本人の死亡原因で最も多いのは「がん」であり、男性では肺がん、胃がん、女性では大腸がんや胃がん、また女性特有な乳がんや子宮がんでの死亡率が年々増加してきている。それゆえ、がんに対する新たな医薬品の開発や治療技術の確立が益々期待されている。がん治療応用が期待される物質には磁性ナノ粒子や、直接 DNA の断片化が期待できる 8-methoxypsoralen などがあるが、その中で、天然物であるビタミン E 同族体にも発がん抑制効果が報告されている。

ビタミン E は脂溶性ビタミンの一種で、天然にはクロマン環に飽和型の側鎖が結合したトコフェロール類と不飽和型の側鎖が結合したトコトリエノール類が存在する。さらに、クロマン環のメチル基の位置と数の違いにより、 α -、 β -、 γ -、 δ -の 4 種類があり、合計 8 種類が存在する。最近、トコトリエノール類が発がん抑制効果など、がんとの関係が検討され、報告されつつある。例えば、ヒト胃腺ガン細胞である SGC-7901 細胞に γ -トコトリエノールを添加すると細胞周期の G(0)/G(1) 期を時間依存的に阻止し、さらに、caspase-3 の活性化を誘導する事が報告されている¹⁾。また、乳がん細胞においても、そのマーカーである CD133/CD44 の発現を抑制すると言われている²⁾。さらに、 δ -トコトリエノールは、HepG2 細胞において、他のトコトリエノール類よりも抗増殖効果が高く、アポトーシスを誘導し、S 期の阻止を引き起こすと報告されている³⁾。このように天然物であり、なおかつ、発がん抑制作用の報告があり、さらに、その安全性の面からも迅速な実用化が必要である。

ビタミン E は経口摂取すると、脂質と同様に小腸上皮細胞より吸収され、リポタンパク質輸送にて各組織に運搬される。肝臓に取り込まれたビタミン E は α -トコフェロール輸送タンパク質

(α -TTP)⁴⁾によって識別され、 α -トコフェロールを優先的に膜間輸送し、最終的には VLDL に組み込ませる。トコトリエノールなどの α -トコフェロール以外のビタミン E 同族体は肝臓内で一時うっ滞し、その後代謝されると推察されている。従って、 γ -トコトリエノールや δ -トコトリエノールは肝臓以外の組織に到達する量が少なく、細胞内の濃度もほとんど検出できない。それゆえ、先程記述したように、発がん抑制効果が期待できても経口投与では、ターゲットとなる組織に一定以上の濃度のトコトリエノールを取り込ませる事が出来ない。それゆえ、特別な輸送システムが必要となる。そこで、このような生理活性物質を輸送するバイオ機能素材を開発する事で、細胞内局所送達が行えればがん治療に画期的な効果をもたらす事が期待できる。そこで、まず、細胞送達輸送の本体の候補として、フラレンとタンパク質性ナノカプセルとして期待できるシャペロニンの 2 つを選択し、まず予備実験として、マウスの体内に投与する事にした。

2. 研究方法

今回行った予備実験は分担研究者の高村岳樹教授と共に行ったものである。

ICR 雌マウス 10 匹を 1 週間予備飼育し実験を行った。マウスは静脈投与の 5 匹と腹腔内投与の 5 匹にわけた。静脈投与、腹腔内投与ともコントロールとして溶媒のみを投与（それぞれ 1 匹ずつ）し、残りの 4 匹はフラレンのみ、シャペロニンのみ、フラレン+シャペロニン（シャペロニンの濃度を 2 種類）それぞれ投与した。なお、フラレンはすべて 10mg/kgBW であった。投与が 24 時間観察を行った。

3. 結果および今後の予定

静脈投与では、フラレンのみ投与したマウス、フラレン+シャペロンを投与したマウス（シャペロニンの 2 濃度とも）は 24 時間生存していた。しかし、シャペロニン(1.24 μ M を 0.29mL 投与)のみ投与したマウスは即死だった。一方、腹腔内投与ではすべてのマウスが 24 時間生存していた。

以上の結果より、フラレンは静脈投与および腹腔内投与とも輸送体として利用できる可能性が示唆された。シャペロニンに関しては、フラレンとの混合物の場合、マウスが生存していた事

からフラレーンとの混合物だと利用できる可能性が示唆された。しかし、なぜフラレーンとの混合物だと生存できたのかについては現時点ではわからない。2つの物質がどのような形態で血液中に存在するのか検討する必要があるだろう。

次の検討としては、マウス体内におけるフラレーンの経時的変化を見る予定である。静脈投与の場合、代謝回転がかなり速い事が推察されるため、まずは次に述べる方法で実験を行いたい。

ICR 雌マウス 36 匹を 1 群 6 匹とし、投与前、投与 30 分、1 時間、2 時間、6 時間、24 時間後にそれぞれ採血を行う予定である。なお、静脈投与量は 10mg/kg BW の予定である。採血後解剖し、血液、肝臓、肺、腎臓、子宮、卵巣を摘出し、各組織中のフラレーンの定量を行う予定である。また、同様にフラレーン+シヤペロンの投与、さらにはそれぞれの腹腔内投与の検討も行いたいと考えている。

4. 参考文献

- 1) Sun W, Xu W, Liu H, Wang Q, Zhou J, Dong F and Chen B. gamma-Tocotrienol induces mitochondria-mediated apoptosis in human gastric adenocarcinoma SGC-7901 cell. *J Nutr. Biochem.*, 20, 276-284 2009.
- 2) Samant GV, Wali VB and Sylvester PW. Anti-proliferative effects of gamma-tocotrienol on mammary tumour cells are associated with suppression of cell cycle progression. *Cell Prolif.* 43, 77-83, 2010
- 3) Wada S, Satomi Y, Murakoshi M, Noguchi N, Yoshikawa T and Nishino H. Tumor suppressive effects of tocotorienol in vivo and in vitro. *Cancer Lett.*, 229, 181-191, 2005.
- 4) Hosomi A, Arita M, Sato Y, Kiyose C, Ueda T, Igarashi O, Arai H and Inoue K. Affinity for α -tocopherol transfer protein as a determinant of the biological activities of vitamin E analogs. *FEBS Lett.* 409, 105-108, 1997.

医療系材料に対するナノ粒子処理による抗菌加工法の開発

澤井 淳

神奈川工科大学 栄養生命科学科 教授

1. 背景と目的

高齢化社会の進行は、「免疫的弱者の増加」も意味する。その様な社会においては、抗菌加工処理は必須の技術であり、医療材料においても、これは同様である。医療分野における材料は、金属、セラミックス、高分子材料と多岐に渡るが、今日高分子材料で最も臨床応用されているものは、天然ゴム、ウレタン、およびシリコーンゴムである。

特にシリコーン材料は器具・容器、水回りやパッキン等での利用に加え、その高い生体適合性を生かし、医療器具（カテーテル等）、形成外科分野（人工乳房、ティッシュエクспанダー等）、創傷治癒分野（人工皮膚）、さらに DDS への応用が幅広く行われている[1-3]。DDS の分野では、シリコーンの気体透過性および薬剤透過性も重要な機能を担っている[1]。しかしシリコーン材料は、その高い生体適合性ゆえに、表面は微生物が繁殖しやすく、バイオフィルムを形成し、感染症の一因ともなる。そのため、高い抗微生物活性を有し、かつ抗菌剤の溶出の危険性がなく、優れた抗菌持続性を有するシリコーン材料の開発が求められている。

本研究では、抗微生物活性を有する銀をヨウ化銀(AgI)として、簡便な含浸処理によりシリコーン膜に形成させ、抗微生物活性とその持続性、および膜透過性の維持が期待できる抗菌性シリコーン素材の開発を目的とした。

2. 研究方法

2.1 Ag 処理シリコーン膜の調製

シリコーン膜（50×50 mm, ASONE）を異なる濃度の I₂-KI 溶液（I₂: 0.030~0.15 M, KI: 3.3 M）に浸漬後、AgNO₃ 溶液（0.25~1.0 M）に浸漬し、Ag 処理シリコーン膜を調製した。

調製した Ag 処理シリコーン膜を、ダンベルカッターで定型に切り取り試験片（平行部長さ：3.7 mm）とした。引張速度 100 mm/min で一軸延伸し、応力-ひずみ曲線を作成し、初期勾配よりヤング率 *E* を求め、膜の力学的強度を評価した。

Ag 処理したシリコーン膜の表面観察は、走査電子顕微鏡（SEM: 株式会社日立ハイテクノロジーズ, SU 9000）により行った。

また、調製した Ag 処理シリコーン膜の耐久性は、ストマッカー処理（60 s）を繰り返した後、2.2 の方法で抗菌活性を評価した。

2.2 抗菌活性評価

Staphylococcus aureus NBRC13276 を供試菌として用いた。JIS Z 2801[4]に準じて、抗菌活性値(*R*)を求めた。標準寒天培地に調製した Ag 処理シリコーン膜を置いた。膜上に普通ブイヨン培地で調製した菌液（10⁶ CFU/mL）を 0.1 mL 分注し、その上に消毒した PE フィルム（40 × 40 mm）を被せた。培養後（37℃、24 h）、ストマッカー処理（60 s）した。希釈し、標準寒天培地で培養後、コロニー数をカウントした。抗菌活性値は、以下の式で求めた。

$$R = \log(B/A) - \log(C/A) = \log(B/C)$$

R : 抗菌活性値

A : 無加工試験片の接種直後の生菌数 (CFU)

B : 無加工試験片の 24 h 後の生菌数 (CFU)

C : 抗菌加工試験片の 24 h 後の生菌数 (CFU)

2.3 透過速度測定

モデル透過物質としてペンタクロロフェノール（PCP）を使用した。この物質のシリコーン膜に対する透過特性は、既往の研究[5]で測定済みである。調製した Ag 処理シリコーン膜を測定用モジュールに挟み、供給側に 0.04 mM の PCP 水溶液（pH 2）、回収側に 20 mM 水酸化ナトリウムを入れ、スターラーで攪拌した。一定時間毎にサンプリングし、HPLC で供給液及び回収液中の PCP 濃度を測定し、透過速度を算出した。

3. 結果および考察

Table 1 にシリコーン膜への AgNO₃ および KI-I₂ の浸漬処理濃度が *S. aureus* に対する抗菌活性値に及ぼす影響を示す。抗菌活性値は 2 以上で有効と判定される。I₂ 濃度が高くなるにつれて抗菌活性値は上昇し、0.15 M で *S. aureus* は検出限界以下（<10² CFU）となった。よって KI-I₂ は 0.15 M-I₂ を以後の調製条件とした。AgNO₃ 濃度を変えても抗菌活性値は >6.0 以上であり、シリコーン膜への I₂ の含浸量が抗菌活性を決定することが分かった。

Table 1 AgNO₃ および KI-I₂ の処理濃度の影響

I ₂ [M]	AgNO ₃ [M]	24h後の生菌数 [CFU/サンプル]	抗菌活性値 [-]
0.15	1.0	N.D	>6.0
0.12		2.5×10 ²	5.6
0.080		1.35×10 ³	4.9
0.030		5.19×10 ⁴	1.3

0.15	0.75	N.D	>6.0
	0.50	N.D	>6.0
	0.25	N.D	>6.0

(コントロール 9.85×10 ⁷ CFU/サンプル)			

(コントロール 9.85×10⁷ CFU/サンプル)**Table 2** AgNO₃ および KI-I₂ の処理時間の影響

KI-I ₂ [h]	AgNO ₃ [h]	24h後の生菌数 [CFU/サンプル]	抗菌活性値 [-]
12	24	N.D	>6.0
6		N.D	>6.0
3		5.50×10 ²	4.9
2		2.72×10 ⁶	1.3
1		2.65×10 ⁷	0.26

24	12	N.D	>6.0
	6	1.33×10 ⁴	2.6
	3	6.80×10 ⁵	1.8
	2	4.70×10 ⁵	2.0
	1	4.60×10 ⁵	2.0

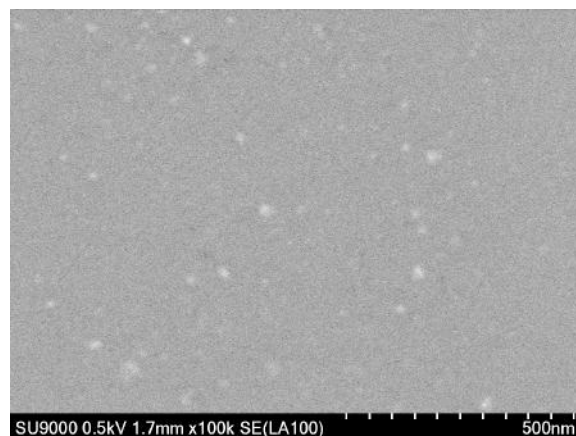
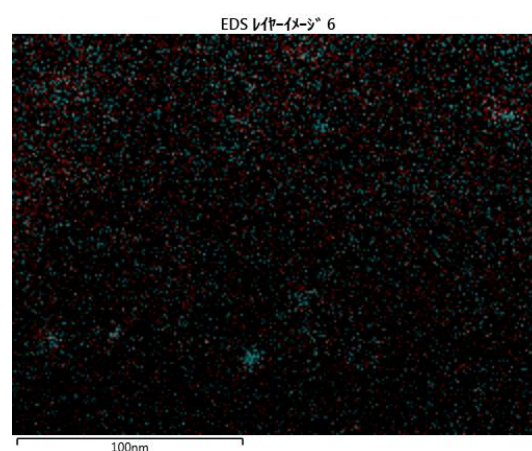
(コントロール 4.80×10⁷ CFU/サンプル)

Table 2 に AgNO₃ 及び KI-I₂ の処理時間の抗菌活性値に及ぼす影響を示す。I₂ 処理時間を変化させた所、6 h で検出限界以下 (<10² CFU) となった。次に AgNO₃ 処理時間を変化させた所 12 h で検出限界以下 (<10² CFU) となった。以上の結果より、より短時間で簡便な製膜条件を見出す事ができた。

ヨウ素への浸漬処理がシリコン膜の力学的強度に影響がないかどうか、引張実験によりヤング率を求め検討した。Ag 処理シリコン膜と未処理膜でヤング率の値に変化は全く認められなかった。ヨウ素浸漬処理によるシリコン膜の力学的強度の低下はなかった。また、機械的なストレスに対する抗菌持続性をストマッカー処理により検討した。Ag 処理シリコン膜を 10 回連続してストマッカー処理 (60 s×10) を行った。ストマッカー後でも、膜の抗菌活性値は低下せず、高い活性を維持していた。

Fig. 1 に Ag 処理シリコン膜の SEM 画像を示す。シリコン表面上に数 10 nm の粒子がアイランド状に形成していることが分かる。EDX 観察により元素分析をしたところ、粒子の部分では Ag (青) と I (赤) が確認することができ、AgI のナノ粒子がシリコン表面上に形成し、抗菌活性を発揮していると考えられた。

また、分離膜として性能を評価した。Ag 処理シリコン膜に対する PCP の総括透過速度係数 (K_{OL}) の値は $(1.8 \pm 0.1) \times 10^{-5}$ m/s であった。一方、未処理膜の K_{OL} は $(1.5 \pm 0.2) \times 10^{-5}$ m/s であり、約 20% の低下に止まり、透過・拡散膜として十分な能力を保持していた。

**Fig. 1** Ag 処理シリコン膜の SEM 画像**Fig. 2** Ag 処理シリコン膜の EDX 画像

以上の結果より、本研究で作製した Ag 処理シリコン膜はその表面にナノスケールの AgI 結晶を形成し、高い抗微生物活性と持続性、さらに十分な透過・拡散能を併せ持つシリコン材料であることが示唆された。

4. 参考文献

- [1] Mashak, A., Azam, R., "Silicone polymers in controlled drug delivery systems: a review", Iran Polym. J., 18, pp. 279-295 (2009).
- [2] Shit, S.C., Pathik, S., "A review on silicone rubber", National Academy Science Letters, 36, pp. 355-365 (2013).
- [3] Goveas, R., Puttipisitchet, O., Shrestha, B., Thaworanunta, S., Srithavaj, M. T., "Silicone nasal prosthesis retained by an intranasal stent: A clinical report", The Journal of Prosthetic Dentistry, 108, pp. 129-132 (2012).
- [4] JIS Z 2801: 抗菌加工製品・抗菌性試験方法.
- [5] Sawai, J., Sahara, K., Minami, T., Kikuchi, M., "Recovery of pentachlorophenol from aqueous solution via silicone rubber membrane", Adv. Chem. Eng. Sci., 2, pp. 372-378 (2012).

光線力学療法（PDT）への展開応用を目指したフラーレン誘導体の構造と活性評価

高村 岳樹

神奈川工科大学応用化学科教授

1. 背景と目的

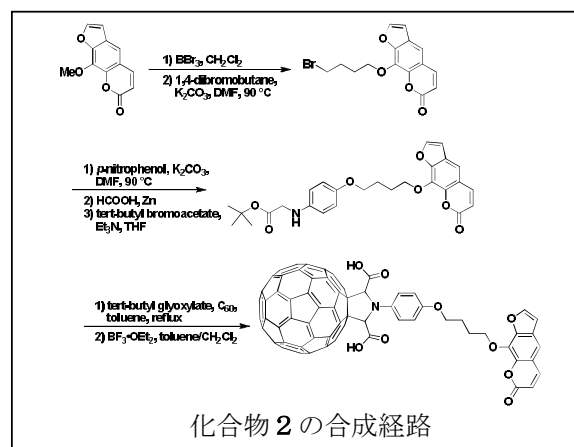
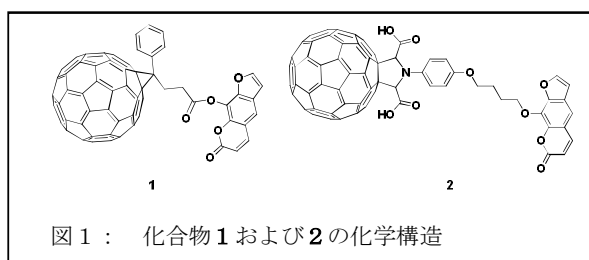
フラーレンやカーボンナノチューブは光による増感作用を利用した薬理作用や、それ自身の薬物輸送担体として着目されている。しかしながら、それ自身は生理的条件下では溶解せず、生体内の局所伝達は極めて困難である。そのため、水溶性を確保しつつ、薬理作用を示す新規炭素ナノマテリアルを提案することが本研究の目的である。本研究では、とくに、フラーレンに「DNA に共有結合できる化合物」を結合させ、DNA の近傍にフラーレンを配置させたのちに、光増感作用を施し DNA を高効率で切断させ、標的細胞を死滅させることを狙っている。

またフラーレン等のナノ構造物質の局所輸送を可能とするタンパク質性ナノカプセルであるシャペロニン変異体を用いた合成したフラーレンのシャペロニンカプセルへ内包化と核への局所送達を検討する。タンパク質を用いたナノマテリアル輸送はこれまでに報告例はなく、今後、病巣などへの局所伝達実現に向け、新たな内包薬剤の開発、生体（細胞、個体）におけるカプセルの動態（局在、内包物の放出）を明らかにすることを目的とする。

2. 研究方法

本研究では、まずフラーレンに DNA 結合性化合物であるソラレンを結合した化合物 1 の合成

をおこなった。本化合物 1 は、光照射下において活性酸素の発生が確認されたが、同様の条件下で光照射時においても 0.2 μM の濃度では細胞障害性が確認されなかった。これは化合物自身の水溶性が低いことに起因することが推定されたため、水溶性の官能基を有した化合物 2 について合成を行い、活性酸素の発生能力、細胞障害性について検討を行った。



3. 結果および考察

化合物 2 の合成は以下のように行った。まずメトキシソラレンを脱メチル化後、プロモブタンを用いて、ソラレンからアルキル鎖を伸張り、得られたソラレン-プロモブタン誘導体とニトロフェノールを炭酸カリウム存在下で反応させた。得られた化合物のニトロ基を亜鉛を用いて還元後、グリシン誘導体とカップリングさせた。この化合物を定法によりフラーレンと反応させ目的とする化合物を得た。この反応の全収率は % であった。得られた化合物については MS および NMR で構造の確認を行った。

化合物 2 の光照射下における一重項酸素の発

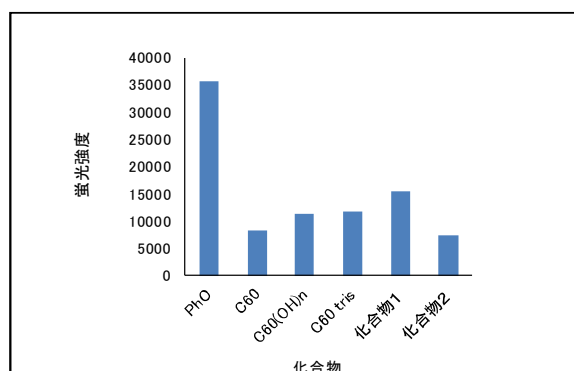


図 3 種々のフラーレン誘導体の一重項酸素発生能力の比較

PhO: フェナレノン (陽性対象)、C60: フラーレン、C60(OH)n: 水酸化フラーレン、C60tris: フラレントリスカルボン酸

生を、一重項酸素検出試薬である Singlet Oxygen Sensor Green (SOSG)を用いて、他のフラレーン化合物と比較して、その発生量の比較を行った。図3に示すように、今回合成した化合物2は一重項酸素の発生量が他のフラレーン化合物と比較して、低いことがわかった。フラレーンからの活性酸素発生は、フラレーン自身の構造に由来するものであり、今回合成した化合物と他のフラレーン誘導体のフラレーン部位による差異はほぼないことを考えると、化合物2中のフェノール基の存在による一重項酸素の吸収も考慮に入れる必要がある。

得られた化合物2についてさらに、培養細胞を用いた毒性試験を行った。使用した細胞は貧食作用を有するハムスター肺由来細胞の CHL/IU である。化合物を 100 µg/ml の濃度まで細胞に処理し、細胞播種後すぐに可視光照射(20 J/cm²)を行い、24 時間培養後、生細胞測定試薬を用いて生細胞数の比色定量を行った。その結果、化合物2は光非照射下においても、細胞毒性を示し、さらに光照射により、100 µg/ml の濃度においては、非照射時にくらべて約 30%程度、細胞をより死滅させることが明らかとなった。非照射時における細胞障害性については、そのメカニズムは不明である。本化合物の細胞への取り込み等について、今後検討

speciation analysis of copper in river water: observation of soluble anionic copper-ligand complexes *Limnology*. 17, pp. 117-125, 2016

- [3] 高村岳樹、環境汚染物質による DNA 損傷の新たな検出法の開発、日本環境変異原学会第 44 回大会 (福岡 2015)
- [4] 益谷美都子、Rafiqul Islam、藤森浩彰、佐々木由香、小泉史明、井上謙吾、松野研司、石川吉伸、高村岳樹、大川原正、がん治療の分子標的候補としての PARG の検討 第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学会大会 合同大会 (2015 神戸)
- [5] 高村 岳樹、小笠原楓、益谷 美都子、DNA 損傷マーカーとしてのリボシルアデノシンの検出、日本薬学会第 136 年会 (2016 横浜)
- [6] 橋本亜紀子、高村岳樹、ソラレン結合型水溶性フラレーンの合成と *in vitro* における評価 日本化学会 第 96 春季年会 (2016 京都)
- [7] 山中岳寛、高村岳樹、デオキシグアノシンの酸化損傷を検出する蛍光-消光プローブの合成と評価 日本化学会 第 96 春季年会 (2016 京都)

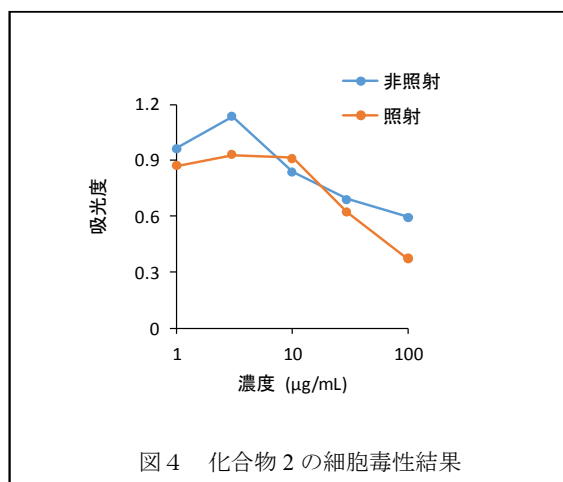


図4 化合物2の細胞毒性結果

していく必要がある。

またいくつかの、他のフラレーン誘導体については現在合成検討中である。

4. 参考文献

- [1] Misaki K, Takamura-Enya T, Ogawa H, Takamori K, Yanagida M., Tumour-promoting activity of polycyclic aromatic hydrocarbons and their oxygenated or nitrated derivatives. *Mutagenesis*, 31, 2, pp. 205-13, 2016.
- [2] Takamura-Enya T, Tokutake M., Novel

高臨場感仮想空間での標的分子の設計システムの研究 -設計支援ユーザインタフェースの構築-

上平 員丈

神奈川工科大学情報ネットワーク・コミュニケーション学科教授

1. 背景と目的

標的分子の設計などにおいて分子シミュレーションは有効な手段として期待されるが、シミュレーションツールに関する専門的知識や熟練が必要で、一般の研究者が簡単に利用できるツールには至っていない。本研究では、だれでも簡単に利用できるシミュレーションツールの実現を目的とし、薬物分子の設計においてシミュレーション結果を 3D-CG とバーチャルリアリティ(VR)技術を用いて 3 次元的に可視化できる設計支援ユーザインタフェースを検討する。特に、没入型の 3D ディスプレイを用い、さらに分子などの表示対象に直接触れながら操作が可能なインタラクティブ性を備えることにより、直感的な理解や操作を可能にするユーザインタフェースの実現を目指す。本事業の初年度となる平成 27 年度は、ユーザインタラクションに関する課題をまとめることを年度目標とした。

2. 研究方法

直感的操作を可能とする分子設計システムの実現をユーザインタラクションの観点から検討し、実現に向けた主な課題を抽出した。まず、分子シミュレーションに適用可能な VR システムについて候補となりうるシステム形態と VR コンテンツの提示形態を決定した。VR システムとしてキーとなるのは 3D 表示装置であり、本研究では高い現実感が得られる没入型ディスプレイとヘッドマウントディスプレイ (HMD) を使用する。図 1 に本研究で使用する没入型ディスプレイを示す。また、表 1 には同装置の主な仕様を示す。図 1 および表 1 に示すように本装置は 1 辺 250cm の大型スクリーン 4 面 (1 面は床に配置) がユーザを取り囲むように配置されており、ユーザの視野全体に 3D 映像が提示される。このため、ユーザは仮想対象とともに自身が 3D 映像空間に存在するような感覚が得られ、この結果、仮想対象と直接的なインタラクションが可能になり、分子設計に応用すれば直感的な設計の可能性が期待される。

一方、HMD はゴーグル形状の 3D 表示デバイスであり、広視野での 3D 映像を提示できる。HMD はユーザの周囲の実際の風景を完全に遮断し、表示デバイスが表示する映像のみをユーザに

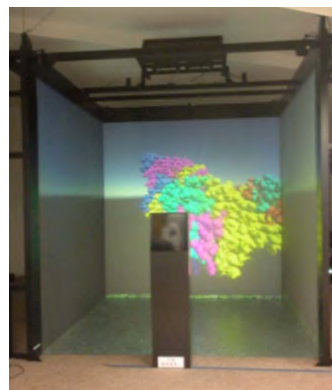


図 1 本研究で使用する没入型ディスプレイ

表 1 没入型ディスプレイの主な諸元

表示方式	背面投射方式
3D 方式	偏光メガネ方式
スクリーンサイズ	250cm x 250cm
解像度	1400 x 1050 画素

提示するタイプと、半透明のミラーを使用して、実際の風景に表示映像を重ねて提示するシースルータイプがある。本研究では両方のタイプについてユーザインタラクションを評価する。

3D 仮想対象とのインタラクションの方法として、本研究では 3 つの方法を取り上げる。第 1 の方法では、ユーザが自分の手、または手に持った治具を使って直接仮想対象を操作する。第 2 の方法ビデオシースルー型の HMD を対象とする方法であり、ユーザが自分の手、または手に持った治具を使って操作するが、ユーザが見るのはカメラで撮像された自分の手または治具である。第 3 の方法では 3D マウスにより仮想対象を操作する。

本研究では、上記の表示形態とインタラクションについて、操作の簡便さ、わかり易さなどを中心としたユーザビリティを評価する。

3. 主な検討課題

ユーザインタフェースの観点から以下の課題を抽出するとともに、それぞれの課題に対して研究の方向性を示した。

3.1. 自然なインタラクション

3D 表示された仮想対象とユーザが自分の手などで直接インタラクションを行う場合、自然なイ

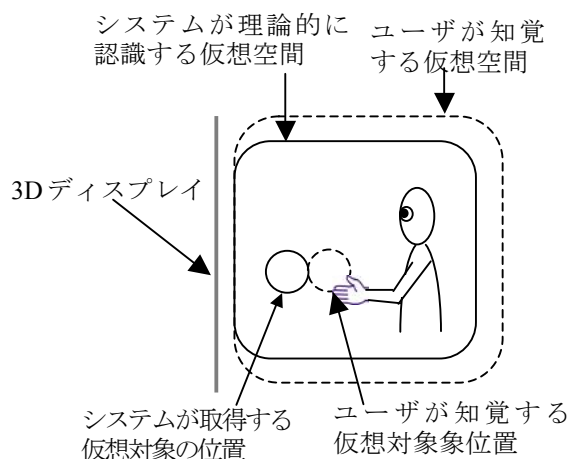


図2 仮想対象の奥行き位置に関する不一致

インタラクションのためにはユーザの手が対象に触れると同時に対象が反応する必要がある。しかし、従来の3D表示技術では図2に示すようにシステムが両眼視差から理論的に取得する対象の奥行き位置と、ユーザが知覚する奥行き位置は一致せず、このことが自然なインタラクションの阻害要因となっていた。すなわち、例えば、ユーザは手が対象に触れたと見えるのに対象が反応しなかったり、あるいは逆に手が対象に到達する前に対象が反応したりして自然な操作を困難にしている。我々はこれまでにユーザの手の挙動からユーザの対象に対する視知覚位置を推定し、この問題の解決法を提案した[1]-[3]。本研究では、上記視知覚位置推定法について、没入型3Dディスプレイへの適用を検討し、仮想対象との自然なインタラクションを試みる。

3.2. シースルー表示による影響

シースルータイプのHMDを使用する場合、実際の風景に仮想対象が重なって表示されるので、例えば手の後方に存在し、現実の世界では見えないはずの対象が、手に重なるように表示される。このようなケースでは前方の実物体（この場合はユーザ自身の手）が仮想対象の奥行き知覚に影響を与えるため自然なインタラクションを阻害する恐れがある。

本研究では、実物体の位置情報をリアルタイムで取得し、仮想対象が実物体の後方に存在する場合はオクルージョンとなる領域の表示を行わないようにし、現実に近い視覚情報を提示することにより自然なインタラクションの実現を目指す。

3.3. 自由視点、座標共有複数表示

立体構造を様々な角度から観察することが必要であり、また、複数のユーザでディスカッションに利用することが想定される。ユーザが一人の場合

合は、位置センサによりユーザの視点を検出して視点に応じた3D映像生成して提示すればよい。一方、ユーザが複数の場合は、表示対象の3次元位置を共通座標系で定め、その共通座標系に基づいてそれぞれの視点に応じた3D映像をリアルタイムで生成し提示する必要がある膨大な計算パワーが必要となる。本研究ではリアルタイム性や複数人で仮想対象にインタラクションを行う場合のユーザビリティを評価し実用的なシステム構築を目指す。

3.4. 指標の3Dマッピング

分子設計で用いられる各種指標を3次元空間にマッピングし設計を支援する表示技術確立する。

4. まとめ

本研究では、没入型ディスプレイを用いて、分子モデルをライフサイズで表示して、標的分子の設計を直感的に行えるシステムの実現を目標とし、そのために必要なユーザインタラクション技術について研究を行う。プロジェクト初年度の平成27年度は、ユーザインタラクションに関する課題と研究の方向性をまとめた。平成28年度以降に各々の課題ごとに研究を展開する。

5. 参考文献

- [1] Masahiro Suzuki, Minoru Yokono, and Kazutake Uehira, "New Technique for Prediction of Visually Perceived Location of Virtual Object in Mixed/Augmented Reality Using Observer's Action", Proceedings of 11th IEEE International Symposium on Multimedia, pp. 418-424, 2009.
- [2] Kazutake Uehira, Minoru Yokono, and Masahiro Suzuki, "Prediction of Visually Perceived Depth of Virtual Objects from Observer's Actions Using Approximation Obtained by Gaussian Function", Proceedings of International Conference on Artificially Reality and Teleexistence, pp. 189-192, 2010.
- [3] Masahiro Suzuki and Kazutake Uehira, "New technique of obtaining visually perceived positions of 3-D images using movements of users' bodies", Displays, Vol. 42, pp. 19-24, 2016
- [4] 鈴木雅洋, 上平員丈, "ビームスプリッタの透過と反射とを用いた複合現実感における奥行き知覚", 電子情報通信学会技術研究報告, Vol.107, No.242, pp. 63-66, 2007.

分子設計への仮想空間技術応用 -標的分子の設計支援-

井上 哲理

神奈川工科大学 情報ネットワーク・コミュニケーション学科 教授

1. 背景と目的

コンピュータ・シミュレーション、画像認識技術、可視化技術などの情報メディア技術は、コンピュータ技術の発展に伴い、近年大いに進歩している。そして、さまざまな分野へと応用研究も広がりを見せている。本研究は、可視化技術のひとつである仮想空間表現をバイオ機能材料の創出に応用することをめざした研究である。

近年の仮想空間表現のひとつに、広い視野に映像を表示して仮想空間に入り込んだ感覚を高める没入型表現がある。没入型表現は、マルチスクリーン型立体ディスプレイや広視野ヘッドマウントディスプレイ（HMD）を用いて、3次元コンピュータグラフィックス（3DCG）を表示することで実現が可能である。没入型表現により、仮想空間への臨場感が増して、対象の3DCGモデルに対するリアル感が向上することが期待されている[1][2]。

本研究では、このような高臨場感表示が可能な没入型映像ディスプレイを用いて、分子モデルをライフサイズ（人間サイズ）で表示して、標的分子の設計を直感的に行えるシステムの開発を目的としている。そのための分子モデルの表現方法やデータ変換、3次元CG処理の高速化ならびにデータ共有について研究を行う。

本事業の初年度となる平成27年度は、既存のシステムやソフトウェアを用いて、没入型立体映像システムに分子モデルを表示することを実施して、分子モデルのCG表現、表示速度に関する課題をまとめることを目標とした。

2. 研究方法

高分子の立体構造表示では、例えばProtein Data Bank（たんぱく質構造データバンク）[3]に登録されている生体高分子の立体構造データを閲覧するJmol[4]やDiscovery Studio(BIOVIA社製)[5]などのソフトウェアがある。これらを使うことで、パソコン画面上でデータの3DCGをみることができる。本研究では、これを発展させて高臨場感立体映像として表示させることを目指している。

本年度は没入型立体映像システムに高分子の立体構造3Dモデルを表示することを実施して、

分子モデルの3DCG表現、表示速度に関する課題をまとめることを目標とした。

高分子の3次元モデルデータがすでにあるとした場合、表示までの流れは図1のようになる。まず、分子モデルデータベースから表示する分子の3次元構造データを読み出す。このデータを仮想空間構築・表示プログラムで扱えるように3次元データ変換を行う。そして、仮想空間プログラム上で空間に配置したのち、各種ディスプレイに表示する。表示されたモデルは、ユーザ操作により回転や拡大・縮小などを行える。

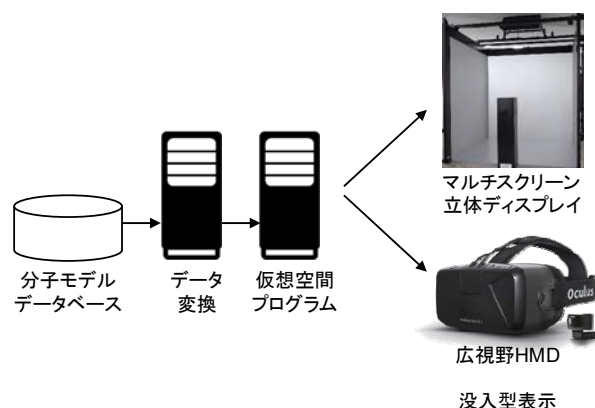


図1 分子3Dモデル表示の流れ

今年度は、これらの処理の流れや表示における課題を既存のソフトウェア、ディスプレイ装置を用いて調べた。表示用の分子モデルデータは、Protein Data Bankから適当なたんぱく質の3D構造データをダウンロードした。この3Dデータは独自形式であり、このままでは仮想空間ソフトウェアで扱えない。そこで、Discovery Studio Visualizer および3dsMax (Autodesk社製)を用いてFBX形式の3Dデータに変換した。仮想空間ソフトウェアとしてはUnity3D (Unity Technology)を用いた。分子モデル読込んだ後、仮想空間上に配置して表示設定等を行った。表示ディスプレイにはマルチスクリーン型立体ディスプレイ（本学設備）ならびに広視野HMD (Oculus VR社製Oculus Rift DK2)を用いた。なお、表示された分子モデルの回転、移動をゲームパッドから行えるようプログラムした。

マルチスクリーン型立体ディスプレイに表示した様子を図2に示す。いくつかのたんぱく質構

造データで表示を試みた。また、Discovery Studio Visualizer で原子やたんぱく質の CG 表現を変更したものも試した。いずれの表示でも十分な立体感が得られる表示が可能であった。

3. 検討課題

分子モデルの 3DCG 表現や没入型表示での処理速度、臨場感の観点から課題を抽出して、それぞれの課題に対して研究の方向性を検討した。

3.1. データ形式・変換

分子の立体構造データについて、表示までに今回の処理の中で 2 回のデータ変換を実施した。モデル数が多いと変換処理に時間がかかる。高速表示の観点でのデータ形式について検討が必要である。また、データ変換中に色情報などが欠落することがあった。原因を調べるとともに、モデルの色付けは分子設計の観点で検討をする。

3.2. 表示速度

今回用いた分子モデルデータでは表示の大幅な遅延はなかった。しかし、図 2-(d)のように分子モデル数が多くなるほど、回転・拡大縮小などの処理に遅れもみられた。同じ分子でも図 2-(f)のようなモデル数が少ない表現であれば速度は問題なかった。モデルの表現など、分子設計面と表示速度面から検討を続ける必要がある。

3.3. 立体表示

立体感のある表示が行えたが、3 次元構造の理解に役立つのかは未確認である。テーマ 1 の研究者による評価を実施する必要がある。また、モデ

ル操作については、色付けの変更、モデルの部分的表示・非表示機能などを加えて、構造理解への助けとすることも試みる。

4. まとめ

本研究は、没入型空間表示技術にて分子モデルをライフサイズで表示して、標的分子の理解や設計に寄与するシステムの実現を目標とするものである。平成 27 年度は、分子モデルの CG データ表現と表示の課題および研究の方向性をまとめた。没入型ディスプレイへの高分子 3D モデルの表示実験ではデータ変換、表示速度などに課題が見られた。次年度以降では、これらの課題を解決していきながら、テーマ 1 の研究者と協働しながらシステムの構築をめざしていく予定である。

5. 参考文献・Web サイトなど

- [1] Tetsuri Inoue and Takashi Shibata : " Evaluation of Visual Fatigue and Sense of Presence for CAVE-like multi-projection display, " Proc. 19th Triennial Congress of the IEA (Intl. Ergonomics Association) (IEA2015, Melbourne, Australia) , ONLINE Proceeding, pp.1-7 (2015)
- [2] Takashi Shibata and Tetsuri Inoue, " Sense of Height and Virtual Body in Head-Mounted Display Environments, " Proc. IDW ' 15 (International Display Workshops 2015), pp.804-807 (2015)
- [3] RCSB Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/>
- [4] Jmol - an open-source Java viewer for chemical structures in 3D: <http://jmol.sourceforge.net/>
- [5] Discovery Studio Visualizer: <http://accelrys.co.jp/>



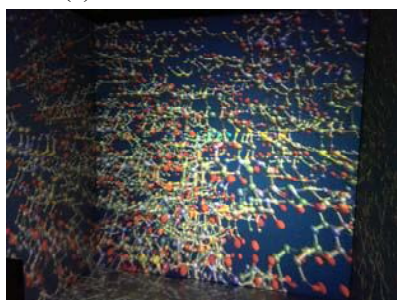
(a) PDB-2v01 のモデル



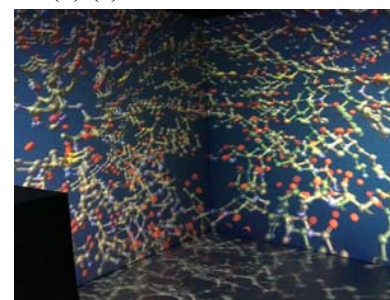
(b) (a)を近くで見た場合



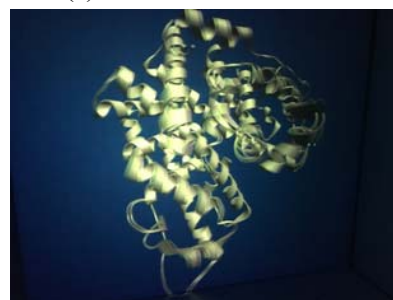
(c) PDB-1bna のモデル



(d) PDB-4zn7 のモデル



(e) (d)を近傍表示



(f) (d)の別モデル表現

図 2 今年度実施した分子 3D モデルの没入型空間表示の例

細胞核及びがん細胞領域の検出処理の検討

武尾 英哉, 安倍 和弥

神奈川工科大学 工学部 電気電子情報工学科

1. 目的

体内の病変に直接薬剤を届けるドラッグデリバリーシステム. その誘導支援としてカプセルの追跡システムの開発を行う. 薬剤カプセルに X 線を吸収する素材を付与し, X 線 CT を用いカプセルのリアルタイム動的画像解析を行う. 体内においてカプセルや薬剤がどのように動くかを解析することで誘導管理を行う.

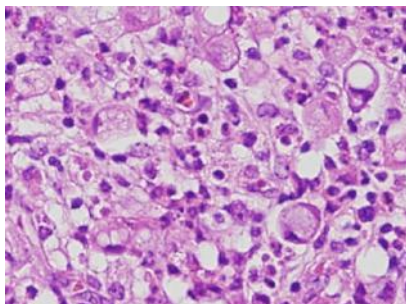
まずプレスタディとして, コンピュータ支援画像診断 (CAD) 技術を用いて, 抗がん剤を投与したがん細胞を顕微鏡画像レベルで画像解析を行い, 経時的变化から薬効などを判定するシステムの研究を行う.

2. 基礎研究

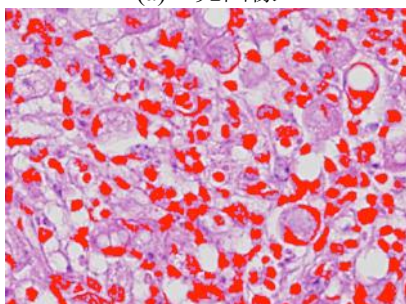
初年度は細胞の抽出処理の開発を主に行い, 細胞画像への理解度の向上とがん細胞検出処理の基礎技術の検討に主眼を置いて研究を行った.

2.1 細胞核の抽出処理 [1][2]

がん細胞の検出処理の開発にあたり, 前段として細胞核の抽出処理の開発を行う. 細胞核を抽出することにより画像内の細胞数の計測することや核の形状に特徴を持つがん細胞の判別などが可能となる (図 1, 図 2).

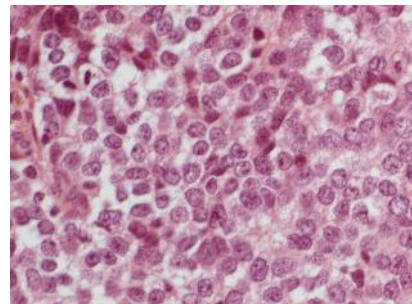


(a) 元画像

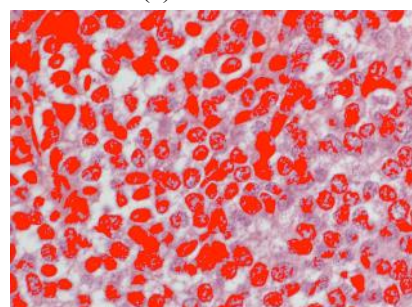


(b) 核の抽出画像

図 1 細胞核の抽出結果



(a) 元画像

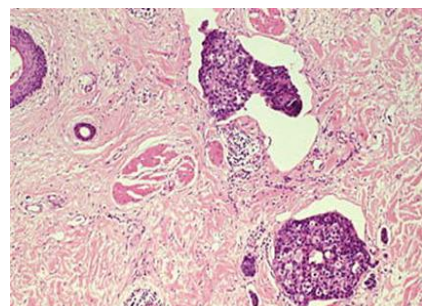


(b) 核の抽出画像

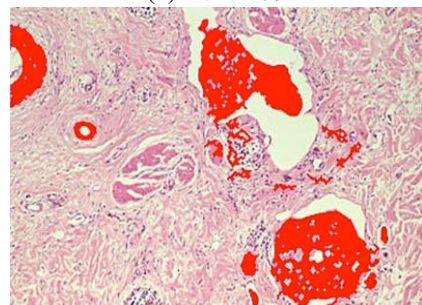
図 2 細胞核の抽出結果

2.2 がん細胞の抽出処理

がん細胞は形状が不安定である点に着目し, 形状特徴よりがん細胞の抽出を行う (図 3). 参照した症例では撮影倍率等が不明であったが, 面積のピクセル数での定量化ができるようになった.



(a) 元画像



(b) がん領域の計測結果画像

図 3 がん領域の抽出結果

3. 今後の課題・予定

3.1 経時変化を見越した位置合わせ手法の検討

現状では経時変化を追ったサンプルが入手できていないが、画像の位置合わせ手法として複数個所に ROI(Region of Interest)を設定し、対象画素の一致度（近似度）を基に位置合わせを行う手法の検討を行っている。薬効などの評価を行う際にがん領域を数値化する際に重要となる。

3.2 細胞の境界線の検出処理による個々の細胞の検出

細胞一つ一つを分離し抽出を行うために細胞間の境界線の抽出を行う。境界線を抽出することにより細胞の形状を基にした特徴抽出が可能となる。直線や曲線、T 字、十字などのマスクを作成し境界線を抽出、細線化などを行うことにより細胞 1 つ 1 つの領域抽出を行うことを検討している。さきに開発した核抽出処理を応用し、細胞の形状や辺縁、内部の画素特徴などから細胞の培養の進行度やがん化した細胞の有無、進行度などを定量化しての判断を可能とすることが期待できる。

図 4 が培養した細胞の画像である。画像から境界線検出を行って画像内の細胞の個数などの計測、撮影時の倍率などから細胞の大きさ、時系列を追うことにより成長度など複数の情報を求められるシステムの開発を検討している。



図 4 培養画像を用いた細胞の境界抽出の検討

3.3 様々なパターンのがん症例での検証

現在はがんの存在しない培養の細胞画像と少数の症例画像しかないため、様々な形状のがんの症例画像を用いて処理アルゴリズムの検証及び改良を行っていく必要がある。

3.4 ユーザインターフェイス(UI)の作成

細胞抽出アルゴリズムを構築し、細胞核やがん領域の抽出が可能となった。今後は使用者の要望も踏まえ、システムとして使いやすい UI の作成を行っていく。

3.5 動的画像解析に対する基礎研究

本プロジェクトの主軸となるカプセルの追従システムの基礎研究として X 線画像の動的解析手法の基礎研究を行う。X 線透視画像の動的解析自体は既に行われているものもあり、小型カプセルの追従という本目的においても有効性が期待できる。

4. まとめ・画像データの収集

4.1 まとめ

現状では細胞核の抽出及び一定程度大きい範囲であるがん領域の抽出が出来ているところである。また、細胞の境界線の検出による細胞の個別抽出処理の検討を行っている。

カプセルの追従システムについては、カプセルの大きさや撮影方法を確認の上、最適な方法を検討する必要がある。

4.2 画像データの収集

現在行っている細胞系の抽出処理の開発、及びカプセル追従システムの開発双方のために画像データの収集が必要である。現状の開発ではインターネット上からダウンロードした画像[3]で開発を行っているため限界がある。また、経時変化を追跡する処理の開発も検討しており、継続的に細胞の培養を追った画像データも必要である。今後、バイオ班にこれら画像データの提供を依頼するとともに、それらの画像変化の意味なども教えて頂くなどの協力をもとに画像解析を進めていきたい。

参考文献

- [1] 堂之前義文，武尾英哉，”細胞培養画像の画質改善の試み”，2010 年度映像情報メディア学会年次大会，10031，16-10，2010
- [2] 加藤竜司，清田泰次郎，備瀬竜馬，”培養中の幹細胞品質評価：画像を用いた評価技術とその貢献”，生物工学会誌 92(9)，pp495-499，2014
- [3] “病理内視鏡医の育つまで”，
<http://blog.livedoor.jp/colorectan/>

血液の流れを粒子法で数値計算する試み

服部 元史
神奈川工科大学 情報メディア学科

1 はじめに

液体の流れを数値計算でシミュレーションする (数値流体力学) にあたり、空間領域を格子 mesh で離散化する差分法・有限体積法・有限要素法などの手法が歴史的に先行して開発されている。血液の流れを格子法 (差分法・有限体積法・有限要素法) で数値計算しようとする、生物が動いたり姿勢を変えたりして血管が平行移動・姿勢変化するたびに血管 (弾性体) に対しても血液 (液体) に対しても格子を生成し直す煩雑さが生じる。

数値流体力学において空間領域を粒子 particle で離散化する粒子法は、血管 (弾性体) や血液 (液体) をいったん粒子で空間離散化しておけば、血管が平行移動しても姿勢変化しても同じ空間離散化で数値計算を遂行できる。

そこで本研究では粒子法 Moving Particle Simulation [1] で血液の流れを数値計算する事を試みる。

2 粒子の運動で流れを記述する

液体領域を粒子で空間離散化する粒子法 MPS では、液体の運動を記述する Navier-Stokes 方程式に Lagrange 記述を用いる事に成り、時間と共に変化する空間偏微分作用素を有する偏微分方程式として定式化する。この Lagrange 記述の Navier-Stokes 偏微分方程式の近似解を数値計算するにあたり、個々の流体粒子の動きとして液体の運動 (流れ) を記述する。

2次元平面での流れ ($\mathbb{R}^2$ の流れ) や 3次元空間 ($\mathbb{R}^3$ の流れ) での流れを表わすべく、空間次元 $\text{Dim} = 2, 3$ に対する Euclid 空間 $\mathbb{R}^{\text{Dim}}$ での流れを以下のように記述する。

時刻 s に位置 $x \in \mathbb{R}^{\text{Dim}}$ に居た粒子が、時刻 $t = s + \Delta s$ に位置 $z \in \mathbb{R}^{\text{Dim}}$ に到達している事を、 $z = r(t/s, x)$ と記載する。

時刻 s に位置 x に居ながら時刻 $t = s + \Delta s$ には位置 $z = r(t/s, x)$ に到達している粒子が、時刻 t と位置 z で有している速度を $v(t/s, x) \in \mathbb{R}^{\text{Dim}}$ で表わし、加速度を $a(t/s, x) \in \mathbb{R}^{\text{Dim}}$ で表わし、圧力を $p(t/s, x) \in \mathbb{R}$ で表わし、質量密度を $\rho(t/s, x)$ で表わすものとする。

3 Navier-Stokes 流体運動方程式

時刻 s に位置 x に居た粒子が、時刻 $t = s + \Delta s$ に位置 z に到達している事に鑑みて、Lagrange 記述の Navier-Stokes 偏微分方程式

$$z = r(t/s, x) \quad (1)$$

$$\frac{D r(t/s, x)}{Dt} = v(t/s, x) \quad (2)$$

$$\frac{D v(t/s, x)}{Dt} = a(t/s, x) \quad (3)$$

$$\rho_0 a(t/s, x) = \quad (4)$$

$$\mu \Delta_z v(t/s, x) - \frac{\partial p(t/s, x)}{\partial z} + \rho_0 c_{\text{gravity}}$$

と質量保存則による連続の式

$$0 = \frac{D \rho(t/s, x)}{Dt} + \rho(t/s, x) \frac{\partial}{\partial z} \cdot v(t/s, x) \quad (5)$$

で流れをモデル化する。

液体の流れを考察しているので、非圧縮性 $\rho(t/s, x) = \rho_0$ を仮定する。

4 粒子で空間を離散化する

時刻 s において位置 x に居た液体粒子が、時刻 τ における位置 y を経て、時刻 t には位置 z に到達している粒子の移動は

$$z - x = \int_{\tau=0}^{\tau=t} v(\tau/s, x) d\tau \quad (6)$$

で表わされる。

このように時間と共に変化して行く空間偏微分作用素を数値計算するべく、粒子法 Moving Particle Simulation (MPS) では、空間差分 (液体粒子達を計算点とする差分) によって Navier-Stokes 偏微分方程式の粘性項や圧力勾配項を扱って行く。

Numbers 個の粒子達 $x_1, x_2, \dots, x_{\text{Numbers}}$ によって時刻 s における液体領域を空間離散化する。これによって、時刻 τ における粒子達の配置 $y_1, y_2, \dots, y_{\text{Numbers}}$ が時刻 τ における液体領域を空間離散化する。同じく時刻 s における粒子達の配置 $z_1, z_2, \dots, z_{\text{Numbers}}$ が時刻 t における液体領域を空間離散化する。

液体粒子が移動する式 (6) を考慮して、

$$z_i - x_i = \int_{\tau=0}^{\tau=t} v_i(\tau) d\tau \quad (7)$$

for $i = 1, 2, \dots, \text{Numbers}$

を得る。但し $v_i(\tau) = v(\tau/s, x_i)$ とおいた。

時刻 $\tau \in [s, t]$ における粒子達の配置 $y_1, y_2, \dots, y_{\text{Numbers}}$ を計算点とする空間差分によって空間偏微分を置き換える事により、Navier-Stokes 偏微

分方程式は

$$z_i = r(t/s, x_i) \quad (8)$$

$$\frac{D r(t/s, x_i)}{Dt} = v_i(t) \quad (9)$$

$$\frac{D v_i(t)}{Dt} = a_i(t) \quad (10)$$

$$\rho_0 a_i(t) = \mu \Delta_{z_i} v_i(t) - \frac{\partial p_i(t)}{\partial z_i} + \rho_0 c_{\text{gravity}} \quad (11)$$

と空間離散化される。

5 時間について離散化する

流体の変形運動 (流れ) は流体を構成する各粒子の運動であるので、粒子の位置 z , 速度 v , 圧力 p を各離散時刻で計算するスキームを構成する。そのために、時刻 s までに計算値が求まっている位置 z , 速度 v , 圧力 p に基づいて、次の時刻 $t = s + \Delta s$ での位置 z , 速度 v , 圧力 p の値を計算する方法を確立する。

このように離散時刻における物理量の値を計算する事になるので、連続時間での物理量と区別するために、粒子の加速度を A で表わし、速度 V で表わし、位置を Z で表わし、圧力を P で表わす。連続時間での物理量の変数がアルファベットの小文字で表示されていたのに対し、離散時刻での物理量をそれらに対する大文字のアルファベットで表示する。

圧力 Poisson 偏微分方程式を解いて圧力 $P_i(t)$ を求める Step と、その $P_i(t)$ に基づいて速度 $V_i(t)$ と位置 $P_i(t)$ を計算する Step と、2 つの Step を交互に時間発展 Scheme を進めて行く。

6 圧力を求解する偏微分方程式

時刻 t における加速度 $A_i(t)$ を

$$A_i(t) = A_{(\text{tmp})i}(t) + A_{(\text{mdfy})i}(t) \quad (12)$$

と分解して、式 (11) から得られる加速度 $A_i(t)$ に関する式を

$$\rho_0 A_{(\text{tmp})i}(t) = \mu \Delta_{X_i} V(s) + \rho_0 c_{\text{gravity}} \quad (13)$$

$$\rho_0 A_{(\text{mdfy})i}(t) = - \frac{\partial P_i(s)}{\partial Y_i} \quad (14)$$

のように分解する。時刻 t における粒子の仮の位置 $Z_{(\text{tmp})i}$ を Y_i と考えて

$$\rho_0 A_{(\text{mdfy})i}(t) = - \frac{\partial P_i(t)}{\partial Z_{(\text{tmp})i}} \quad (15)$$

を得るから

$$(-1) \frac{\partial P_i(t)}{\partial Z_{(\text{tmp})i}} = \rho_0 A_{(\text{mdfy})i}(t) \quad (16)$$

$$= \rho_0 \frac{V_i(t) - V_{(\text{tmp})i}(t)}{\Delta s} \quad (17)$$

と成る。両辺に $\partial/\partial Z_{(\text{tmp})i}$ を施して、つまり両辺の divergence を考えて

$$(-1) \Delta_{Z_{(\text{tmp})i}} P_i(t) \quad (18)$$

$$= \frac{\rho_0}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z_{(\text{tmp})i}} \cdot V_i(t) - \frac{\rho_0}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z_{(\text{tmp})i}} \cdot V_{(\text{tmp})i}(t)$$

を得る。

一方で、質量保存による連続の式

$$0 = \frac{D \rho_i(\tau)}{D\tau} + \rho_i(\tau) \frac{\partial}{\partial y_i} \cdot v_i(\tau) \quad (19)$$

を時間について離散化して

$$0 = \frac{\rho_0 - \rho_i(\tau)}{\Delta\tau} + \rho_i(\tau) \frac{\partial}{\partial y_i} \cdot V_i(\tau) \quad (20)$$

を得る。

仮の粒子配置で非圧縮が破られている状態を、次の時刻の粒子配置で非圧縮に戻す事へ、質量保存による連続の式を適用した

$$0 = \frac{\rho_0 - \rho_{(\text{tmp})i}(t)}{\Delta s} + \rho_0 \frac{\partial}{\partial Z_{(\text{tmp})i}} \cdot V_i(t) \quad (21)$$

という近似式に基づいて

$$\rho_0 \frac{\partial}{\partial Z_{(\text{tmp})i}} \cdot V_{(\text{tmp})i}(t) = (-1) \frac{\rho_0 - \rho_{(\text{tmp})i}(t)}{\Delta s} \quad (22)$$

を得る。

これを式 (18) に代入して

$$\begin{aligned} & \Delta_{Z_{(\text{tmp})i}} P_i(t) \\ &= \frac{\rho_0 - \rho_{(\text{tmp})i}(t)}{(\Delta s)^2} + \frac{\rho_0}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z_{(\text{tmp})i}} \cdot V_{(\text{tmp})i}(t) \end{aligned} \quad (23)$$

という Poisson 偏微分方程式を得る。この偏微分方程式を求解して圧力 $P_i(t)$ を得る。

この $P_i(t)$ から $V_i(t)$ や $Z_i(t)$ を順に求める事ができる。

7 おわりに

越塚らによって提案されていた圧力 Poisson 偏微分方程式 [1] に補正項を加えると数値的に安定して計算できる事は Masayuki & Takayuki Masunaga らによって経験的に指摘されていたが、式 (23) のように理論的にも導出できた。

参考文献

- [1] 越塚誠一著, "粒子法", 日本計算工学会編, 計算力学レクチャー シリーズ 5, 丸善株式会社, (2005)
- [2] Masayuki Tanaka & Takayuki Masunaga, "Stabilization and smoothing of pressure in MPS method by Quasi-Compressibility", Journal of Computational Physics archive Volume 229 Issue 11, June, 2010 Pages 4279-4290 (2010)

平成 27 年度～平成 31 年度
文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

医療技術の革新に貢献する
バイオ機能材料開発の研究拠点形成
(事業番号：S1511019L)

平成 27 年度 研究成果報会 資料

平成 28 年 6 月 22 日

平成 27 年度 研究成果報告会

日時：平成 28 年 6 月 22 日（水） 16:00～18:00

場所：K1 号館 7 階 705 セミナー室

スケジュール：＊（１）～（５）の資料は p. ～に掲載

（１）プロジェクト全体とテーマ 1 の説明、H27 年度研究成果報告

小池 あゆみ (16:00-16:25)

（２）H27 年度研究成果報告

飯田 泰広 (16:25-16:40)

（３）H27 年度研究成果報告

高村 岳樹 (16:40-17:00)

（４）テーマ 2 の説明、H27 年度研究成果報告

上平 員丈 (17:00-17:20)

（５）H27 年度研究成果報告

服部 元史 (17:20-17:40)

（６）総評 外部評価委員

(17:40-18:00)

地方独立行政法人 神奈川県立病院機構

神奈川県立がんセンター臨床研究所 所長

小林 寿光 先生

公益財団法人 神奈川科学技術アカデミー

イノベーションセンター地域連携コーディネーター 熊澤 利昭 先生

<総評>

小林 寿光 先生

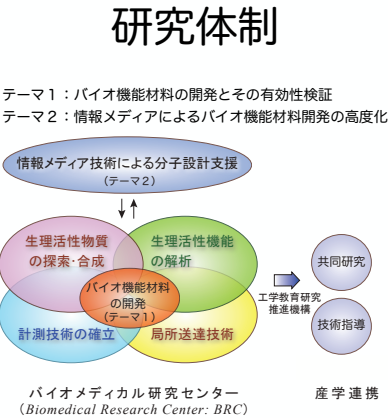
- どのような戦略で本プロジェクトを進めて行くのか、明確にしてほしい。本来、水と油のようなテーマ 1 とテーマ 2 であるが、1 つの総合したゴールを設定し、2 つのテーマが同じベクトルを持って、進む必要がある。
- その中で「大学」が、どのようにこの「戦略」に関与していくかということは非常に重要であり、コーディネーターを置き、コミットしていく必要がある。
- さらに、本プロジェクトの内容を発信するとともに、特許を申請することも重要で、維持費がかかるが、シーズを上手く見つけ、サステイナブルに組織が存続できるような支援の充実も期待する。

熊澤 利昭 先生

- 本プロジェクトを進める上で、ゴールを明確にし、そこまでのロードマップを作成する必要がある。そして現在の到達点がどこなのか示せるようにしてほしい。
- テーマ 1 とテーマ 2 を結びつけるのは非常に面白い試みであるが、テーマ 2 の出口は見えづらい部分もあり、テーマ 1 と連携を密にしてどのように活用してゆくのか、示せるようにしてもらいたい。

文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（H27～）
「医療技術の革新に貢献する
バイオ機能材料開発の研究拠点形成」

研究代表者
応用バイオ科学部応用バイオ科学科 小池 あゆみ



テーマ1 バイオ機能材料の開発とその有効性検証

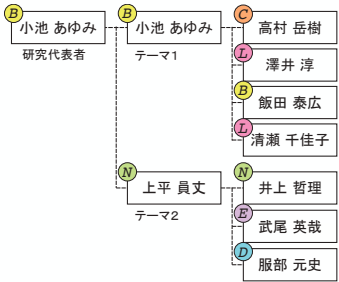
所属・職	研究者名	研究プロジェクトにおける研究課題	研究課題の成果が研究プロジェクトに果たす役割
応用バイオ科学部・教授	小池 あゆみ	タンパク質性カプセルの修飾と細胞送達	多機能タンパク質性ナノカプセルの作製と評価
応用バイオ科学部・教授	澤井 淳	無機ナノ材料の生理活性および動態解析	無機ナノ粒子の細胞導入と解析技術の確立
応用バイオ科学部・教授	清瀬 千佳子	マウス体内での薬物代謝解析	動物実験による薬物挙動
応用バイオ科学部・教授	飯田 泰広	FLAを用いた酵素活性評価法の構築と天然化合物のスクリーニング	薬理活性物質の探索と迅速評価法確立
工学部・教授	高村 岳樹	多機能性炭素ナノマテリアルの合成とその生理活性	新規抗がん剤開発と評価

プロジェクトの目的

バイオチップ、バイオセンシング、疾患診断技術、ドラッグデリバリーシステム(DDS)、ナノ医療など、ナノバイオテクノロジーによるバイオメディカルの発展上でカギとなる**バイオ機能材料の実現**を目標とし、同材料開発に必要なプラットフォーム技術の確立をめざす。また、本学の強みである情報系と生命系が協働して、**体内での輸送担体の挙動シミュレーションによる薬物効果の予測や画像解析に基づく診断・評価**などの技術開発を進め、**情報技術にサポートされた薬剤設計手法**を実現し、汎用性の高い新規薬剤開発の研究基盤構築をめざす。(申請書より抜粋)

プロジェクトメンバー

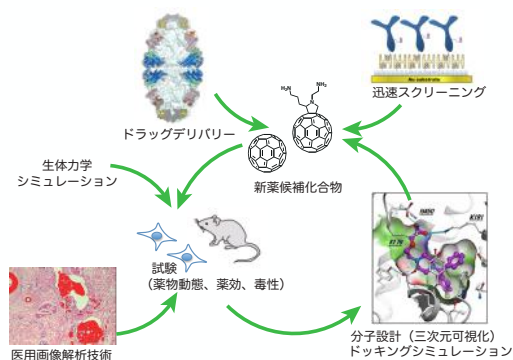
テーマ1：バイオ機能材料の開発とその有効性検証
テーマ2：情報メディアによるバイオ機能材料開発の高度化



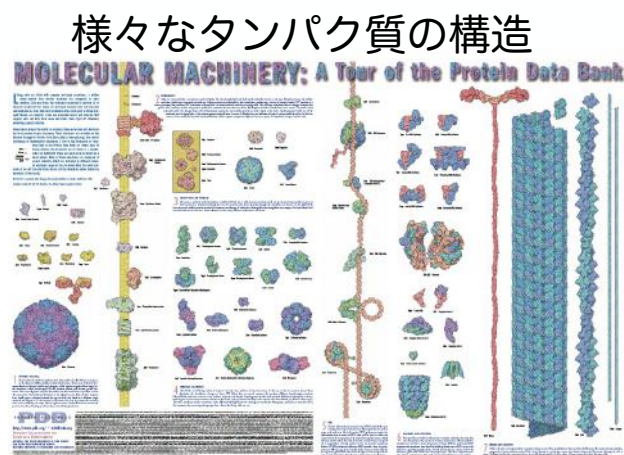
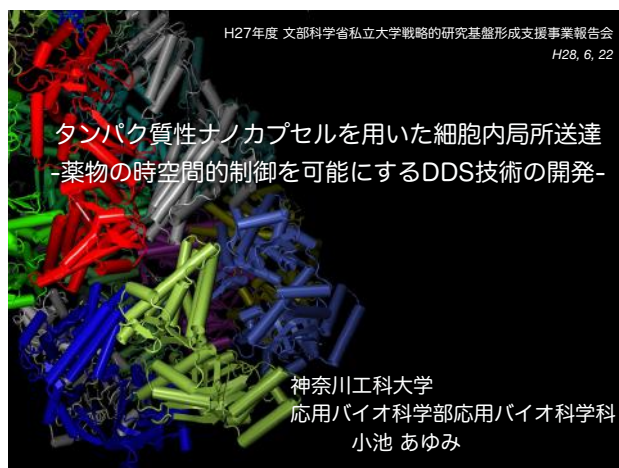
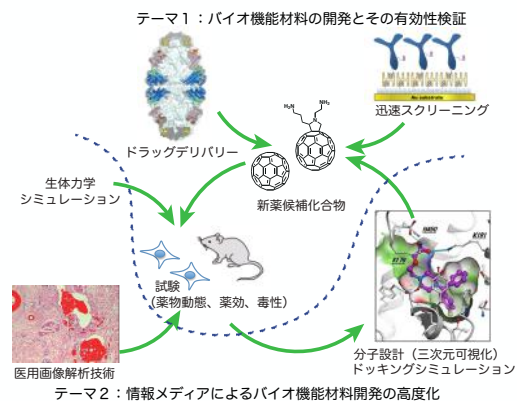
テーマ2 情報メディアによるバイオ機能材料開発の高度化

所属・職	研究者名	研究プロジェクトにおける研究課題	研究課題の成果が研究プロジェクトに果たす役割
工学部・教授	武尾 英哉	医用画像の処理と診断支援	体内のカプセル・薬物動態解析支援
情報学部・教授	服部 元史	数値流体力学に基づく生体力学シミュレーション	血管内ナノ粒子の流動解析
情報学部・教授	上平 員文	ナノ構造の3次元可視化	設計支援ユーザーインタフェースの作成
情報学部・教授	井上 哲理	分子設計への仮想空間技術応用	標的分子の設計支援

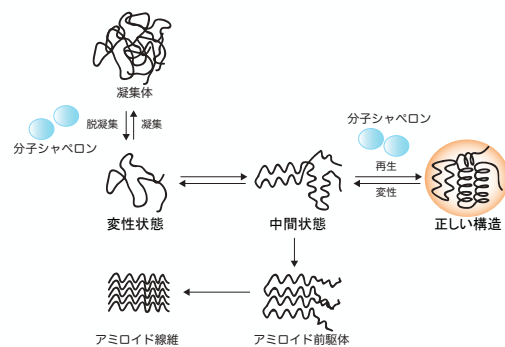
研究チームの構成



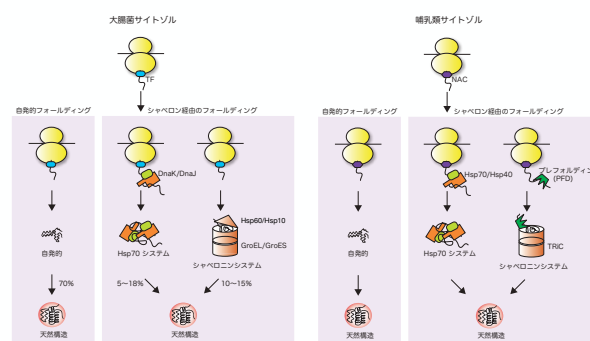
研究チームの構成



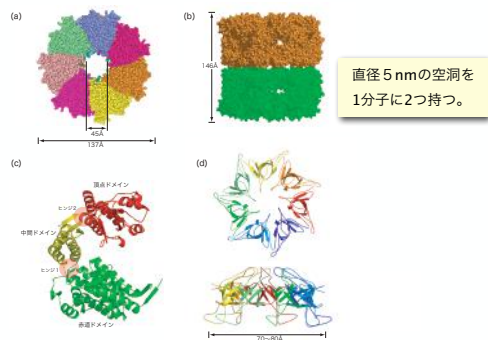
タンパク質フォールディングと凝集



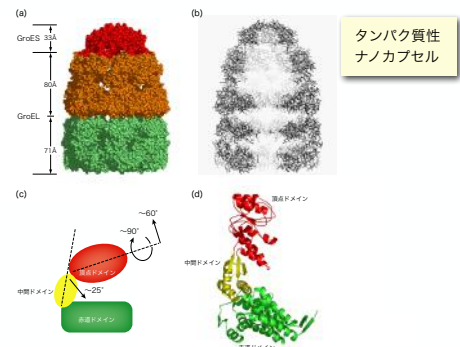
新生ポリペプチドの フォールディング経路のモデル



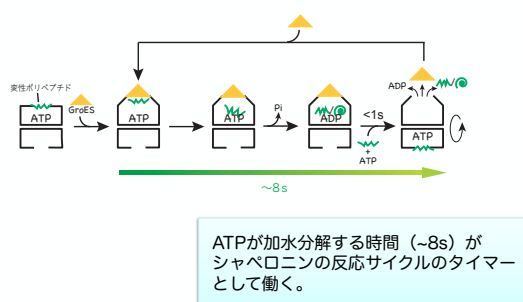
シャペロニンGroELとGroESの構造



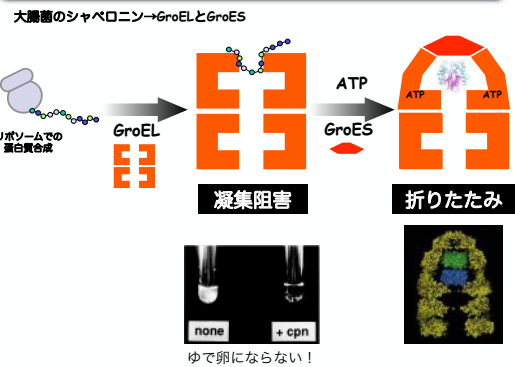
シャペロニン複合体の構造



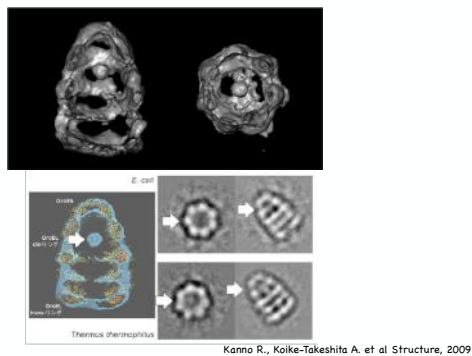
シャペロニンの作用機構モデル



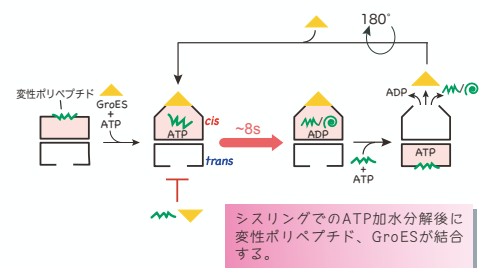
シャペロニンは空洞の中で蛋白質を折りたたむ



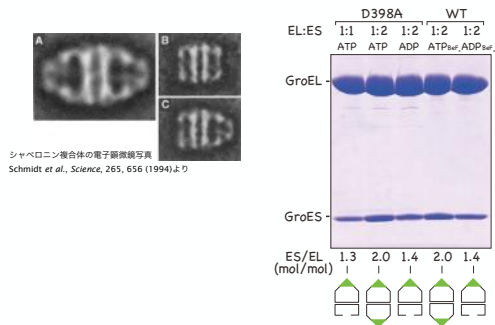
変性タンパク質を内包した シャペロニンの構造解析



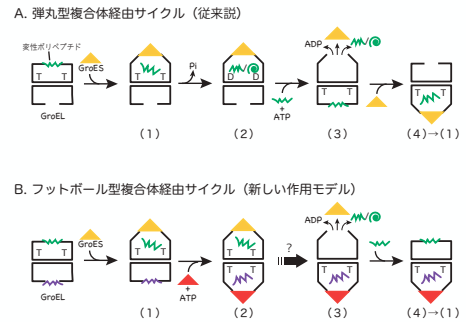
シャペロニンの反応機構モデル



フットボール型中間体の存在

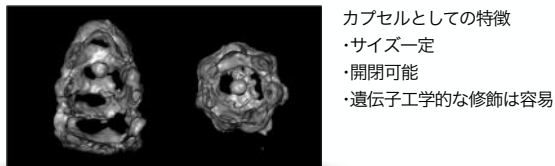


新しいシャペロニン反応機構モデル

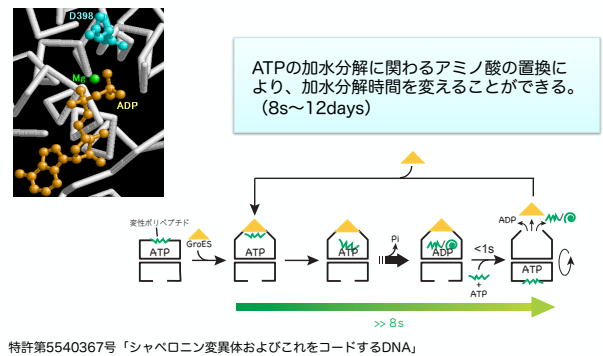


生命の仕組みの活用：

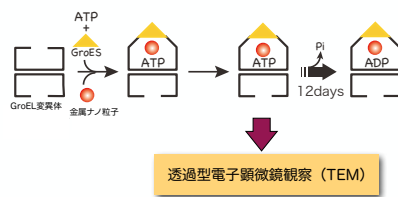
開閉を制御可能なタンパク質性ナノカプセルの
Drug Delivery Systemへの応用



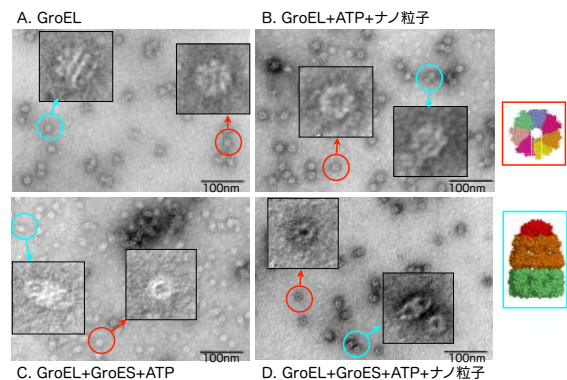
サイクル時間を変えたシャペロニン変異体



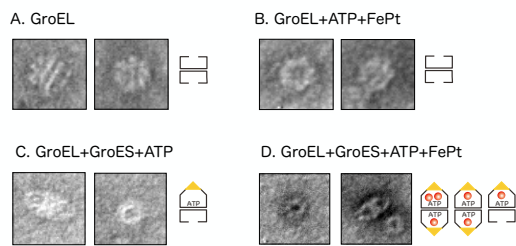
シャペロニンはタンパク質以外にも閉じ込める ～金属ナノ粒子の内包～



金属ナノ粒子のGroELへの内包

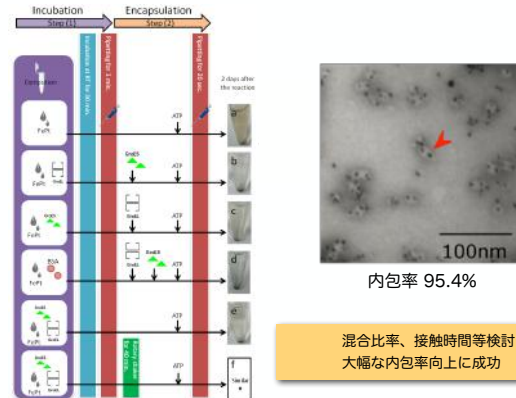


金属ナノ粒子のGroELへの内包

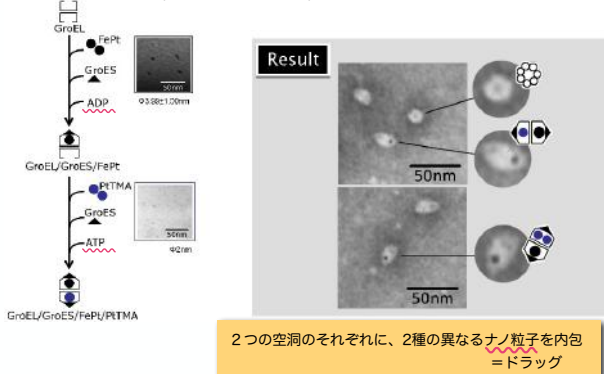


GroEL/GroESの空洞内に磁性粒子が内包された

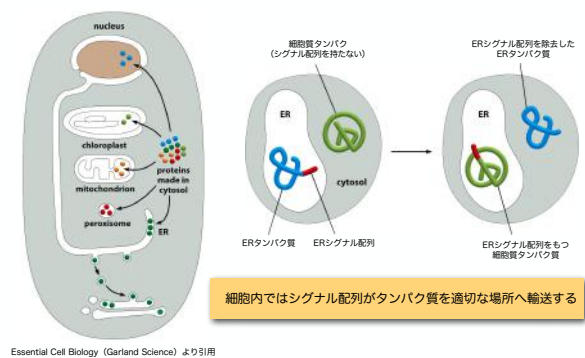
内包率の向上



2種のナノ粒子の内包



GroELカプセルの局所輸送 (DDS)



GroELカプセルの局所輸送 (DDS)

◆ 核移行シグナル配列を利用した局所送達

シグナル配列の種類	シグナル配列の例
核への導入	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-
核からの輸送	-Ala-Lys-Ala-Gly-Arg-
ミトコンドリアへの導入	*H ₂ Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
色素体への導入	*H ₂ Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
ペルオキシソームへの導入	*H ₂ Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
小胞体への導入	*H ₂ Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
小胞体への送達	*H ₂ Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-



核輸送シグナル融合GroES

AhR.Sigal* (12-38aa) MGRKRRKPVQKTVKPIAEGLKSNPSKRH

GroES
pET GroES-NAS

BL21(DE3)形質転換

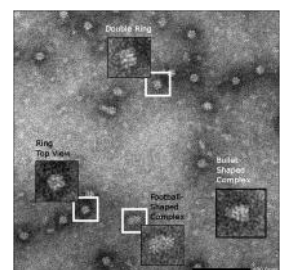
IPTG誘導発現

疎水性クロマトグラフィー

Butyl TOYOPEARL 650 M

陽イオン交換クロマトグラフィー

SP-TOYOPEARL 650 M

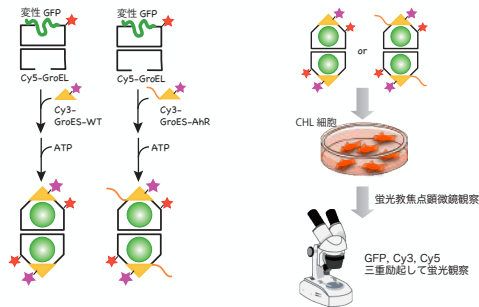


* Z. Song and R. S. Pollenz, Mol. Pharmacol. (2003); 63, 597.

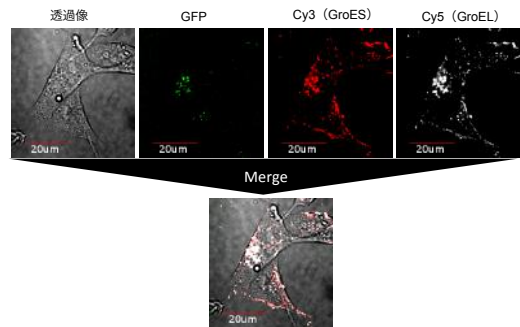
GroELカプセルの核輸送

蛍光ラベルした GroEL 複合体の調製

細胞導入と動態観察

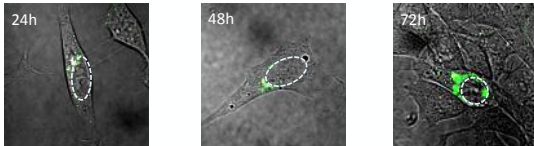


GroELカプセルの核輸送

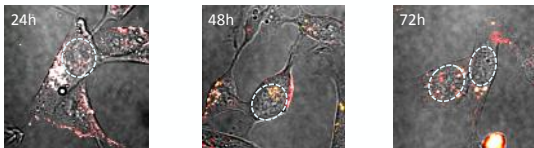


核へのカプセル送達

Cy5標識GroEL 52,398A/ Cy3標識GroES-WT/GFP/ATP

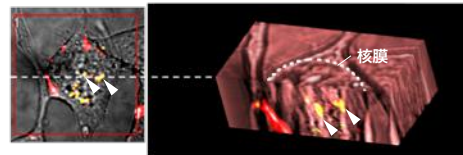


Cy5標識GroEL 52,398A/Cy3標識GroES-AhR/GFP/ATP

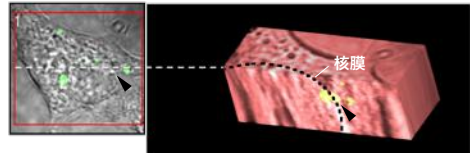


核へのカプセル送達

Cy5標識GroEL/Cy3標識GroES-AhR/GFP/ATP



Cy5標識GroEL/Cy3標識GroES-WT/GFP/ATP



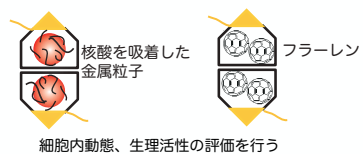
関連特許出願

- 特許第5540367号
「シャペロニン変異体およびこれをコードするDNA」
出願人：学校法人幾徳学園 神奈川工科大学
発明者：小池あゆみ、田口英樹
- 特願2012-70329
「シャペロニン複合体及びその製造方法」
出願人：学校法人幾徳学園 神奈川工科大学
発明者：小池あゆみ、山本修、依田ひろみ
- 特願2014-082093
「ナノ粒子-GroEL蛋白質複合体及びその製造方法」
出願人：トヨタ自動車(株)、(株)豊田中央研究所、学校法人 幾徳学園
発明者：星野 文彦、今枝 孝夫、西田 愛、小池 あゆみ
- 特願2015-100586
「変異型シャペロニン複合体及び薬物送達システム用ナノカプセル」
出願人：学校法人幾徳学園 神奈川工科大学
発明者：小池あゆみ、高村岳樹、依田ひろみ
- PCT/JP2016/063939
「変異型シャペロニン複合体を利用した細胞内への局所的薬物送達システム用ナノカプセル」
出願人：学校法人幾徳学園 神奈川工科大学
発明者：小池あゆみ、高村岳樹、依田ひろみ

H27年度成果

1. シャペロニンカプセルに金属ナノ粒子（ドラッグ）を高効率で内包させた。
2. 2つの空間に異なる金属ナノ粒子（ドラッグ）を内包できた。
3. 核輸送シグナル融合GroESで形成したシャペロニンカプセルをCHL細胞に添加し、内包物のGFPと共に核送達されたことを確認した。

今後の予定



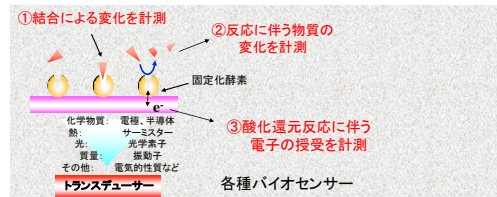
文部科学省
私立大学戦略的研究基盤形成支援事業報告

テーマ1：
医療技術の革新に貢献する
バイオ機能材料開発の研究拠点形成

「配向性を付与した酵素の固定化とマイクロフローを組み合わせたセンシングシステムの開発とその特性評価」

神奈川工科大学
応用バイオ科学科
飯田泰広

バイオセンサー：
・生体素子を用いた計測法
・混合物中の対象を直接計測
・小型化、簡便、迅速な計測



固定化膜	トランスデューサー	測定対象
酵素膜	O ₂ 、H ₂ O ₂ 、pH電極、炭酸ガス電極、アンモニアガス電極、サーミスタ、O ₂ 光ファイバー	グルコース、尿酸、コレステロール、脂質、質化糖、アミノ酸類、グルタミン酸、尿素、クレアチニン、BOD、ATP、アルコール類、乳酸、酢酸、ヒスタミン、ビタミン類、その他生理活性物質
抗原あるいは抗体膜	表面プラズモン共振デバイス、蛍光、UV/Vis吸光度計、ルミネッセンス(フォトカウンタ)	
微生物膜		

医療技術の革新に貢献するバイオ機能材料開発

- ①バイオセンサの構築

 - ・感度（配向性）
 - ・安定性

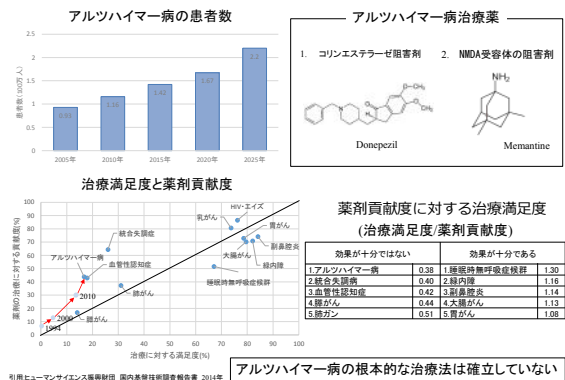
②バイオセンサの応用

 - ・医療診断用センサ
 - ・薬剤開発（薬剤評価）

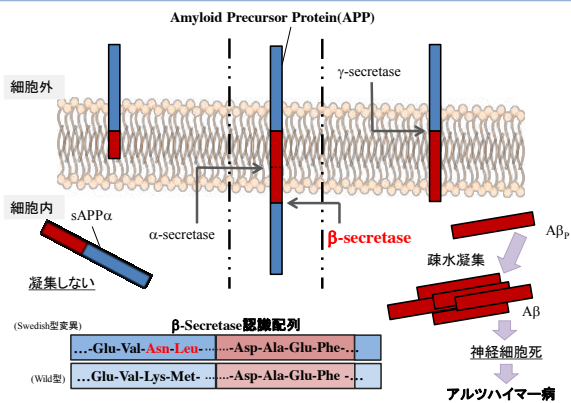
27年度の報告内容

- 1) センサの高感度化のための配向性を有した酵素の固定化（β-セクレターゼ）
- 2) マイクロフローシステムの開発
- 3) β-セクレターゼ阻害能の評価
- 4) β-セクレターゼ活性評価用新規基質の開発

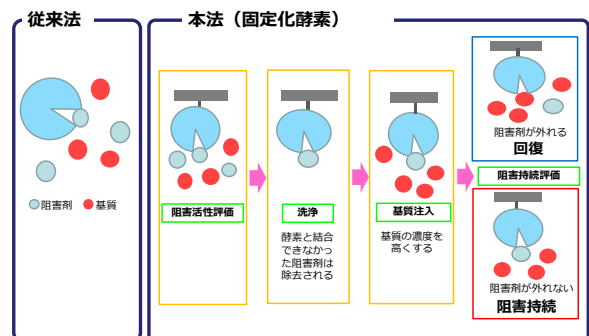
アルツハイマー病の現状



アミロイド仮説



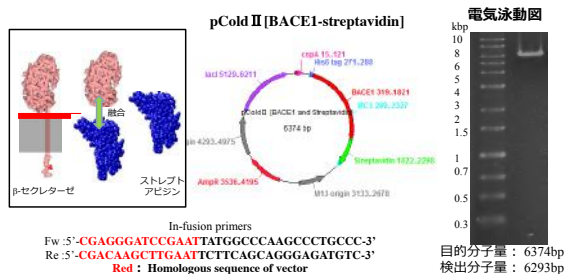
固定化酵素を用いた持続性阻害活性評価



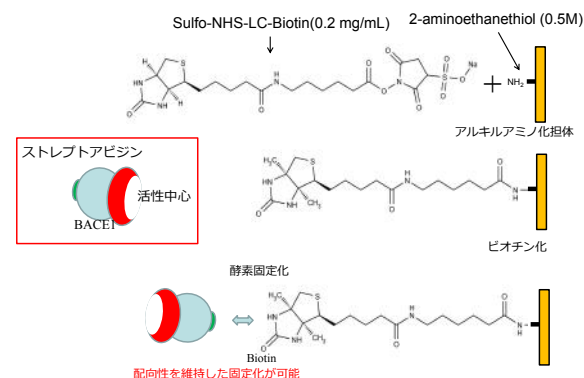
配向性を有する固定化酵素のための発現ベクターの構築

Experiment

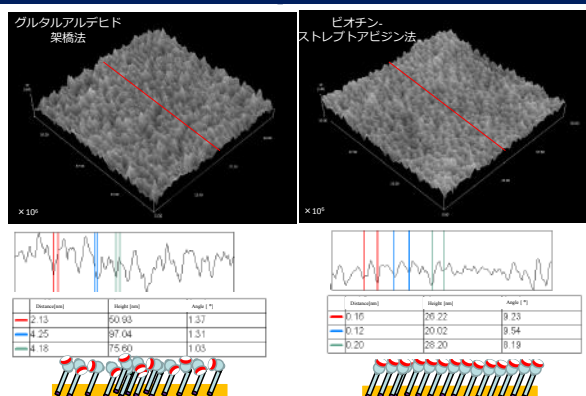
- PCRによってBACE1およびストレプトアビジン遺伝子を増幅
- In-fusion法によってpCold IIベクター上にサブクローニング
- E. coli* JM109株に形質転換
- アルカリブレイク法によってベクター抽出
- 制限酵素 (Hind III) 処理後、1.5%アガロースゲル電気泳動によってサイズの評価



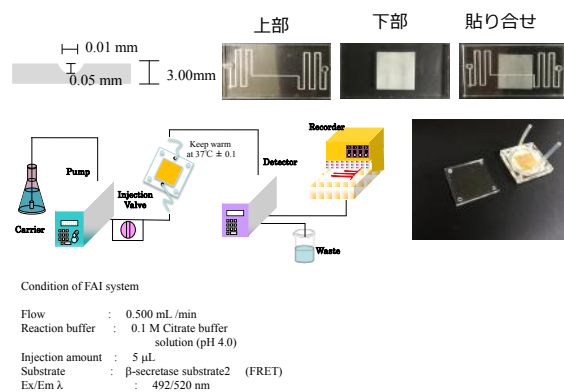
固定化方法 (ビオチン-ストレプトアビジン法)



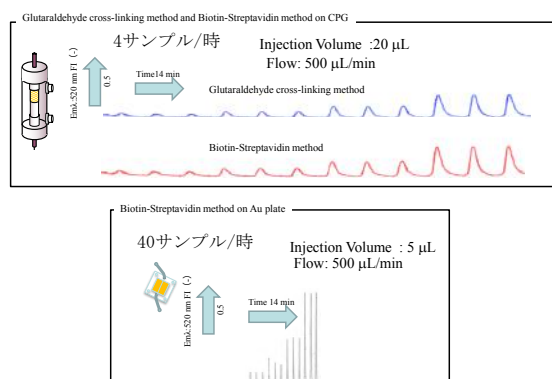
固定化状態の確認 (SPM)



マイクロデバイスの作成とフローシステムへの導入

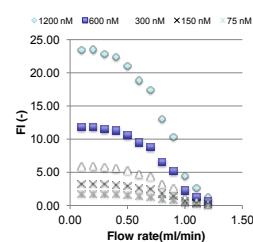


応答曲線

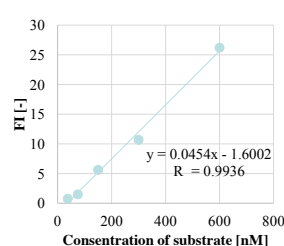


固定化 β -セクレターゼの活性評価

流速と検出感度



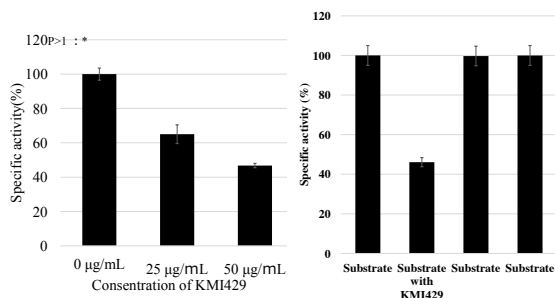
検量線



KMI429

The chemical structure of KMI429 is shown. It features a central chain of amide bonds connecting various functional groups. On the left, there is a pyrazole ring system linked via an amide bond to a chiral center. This is followed by another amide bond to a benzamide moiety. The chain continues through several more amide linkages, ending with a substituted phenyl ring that has both a carboxylic acid and a hydroxyl group.

Chemical Formula: $C_{34}H_{44}N_{10}O_{10}$
Molecular Weight : 752.77

[illegible]

Novel FRET substrate for β -secretase (ECFP- β SRS-EYFP)

Excitation 436 nm

Emission 476 nm

10 nm

Excitation 516 nm

Emission 529 nm

Ser Glu Val Asn Leu Asp Ala Glu Phe Arg

Recognition sequence of β -secretase (β SRS)

pCold I (-ECFP or EYFP) in DH5α
or
pCold I -ECFP-bSRS-EYFP in DH5α

↓ Induced expression
↓ microscopy

Fluorescence image

↓ Purify by His-Trap
↓ Measure by fluorophotometer

Fluorescence spectrum

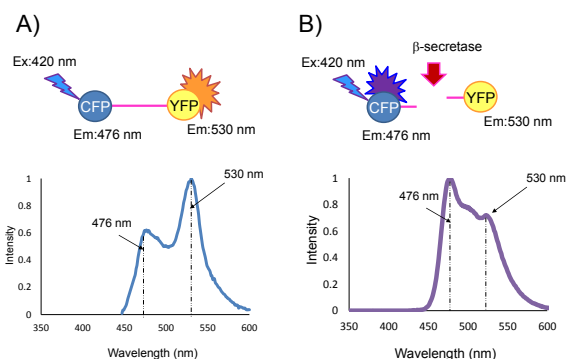
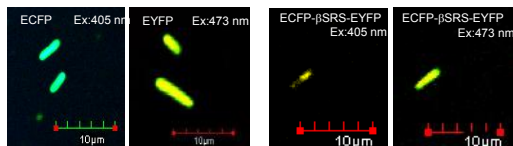
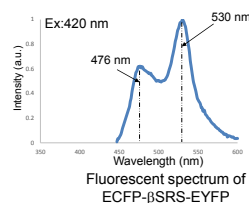


Fig.6 Fluorescent spectrum of ECFP- β SRS-EYFP

substrate concentration (μM)	Substrate+BACE1 (Intensity)	Substrate (Intensity)
0.5	~53	~1
1.0	~65	~1
2.0	~78	~1
4.0	~96	~1

① バイオセンサの構築

- ・ 感度 (配向性)
- ・ 安定性

- ・医療診断用センサ
- ・薬剤開発（薬剤評

医療

- 直読結果センサー
- 透過マーカー
- 抗体検出
- 検分前など
- (遺伝子治療)

食品

- 糖類、アミノ酸類、
- 乳糖、ビタミン類など
- (遺伝子検査関連食品)

環境

- BODセンサーなど
- 環境汚染物質の分析
- (検分・検査)

その他

- セロタイプ(個人用読器・
- DNA検査、毒物・有害物質の
- 検出など)
- (バイオ電池実用、産業界調査
- など)

産業

- ペロキシダーゼを利用するセンサ
- 血糖値センサ
- 乳糖センサ
- 尿酸センサ
- ビタミンセンサ
- ヒスタミンセンサ
- 中性脂肪センサ など

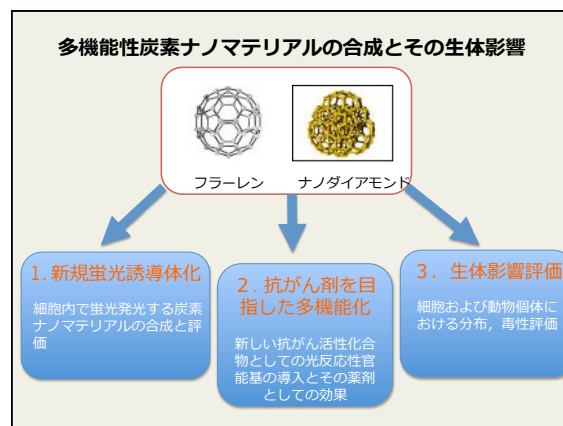
吸光度(A490)

反応時間

安定性の向上

PDT（光線力学療法）への展開応用を目指したフラーレン誘導体の構造と活性評価

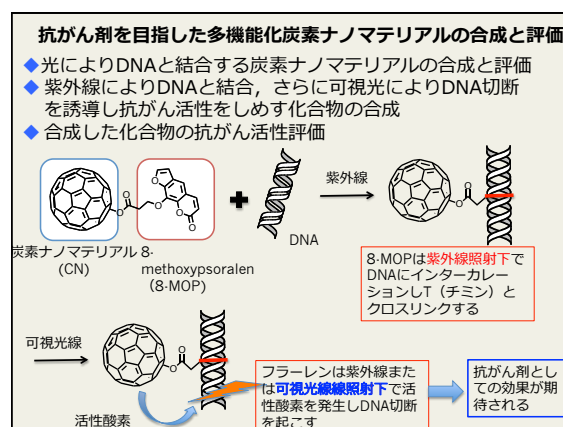
神奈川工科大学
応用化学科
教授 高村 岳 樹



背景 -光線力学療法とは-

- 患者に負担の少ないがんの治療法
- 正常組織の温存が可能

➡ 利用拡大が期待される治療法



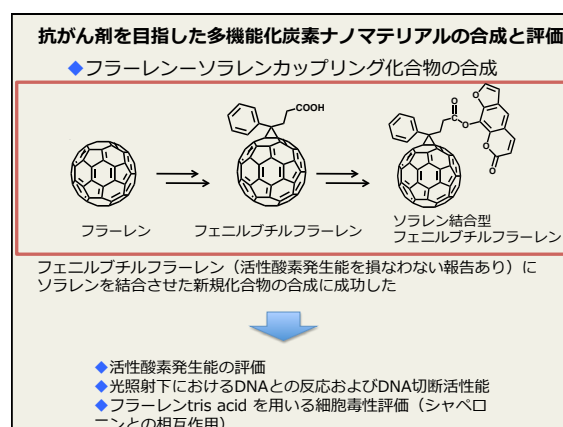
ソラレン結合型フラーレンに期待される働き

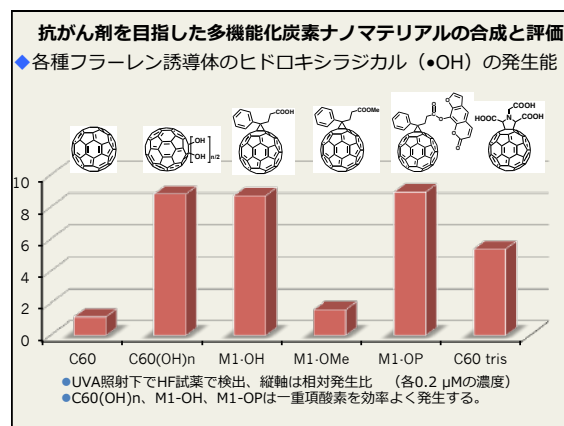
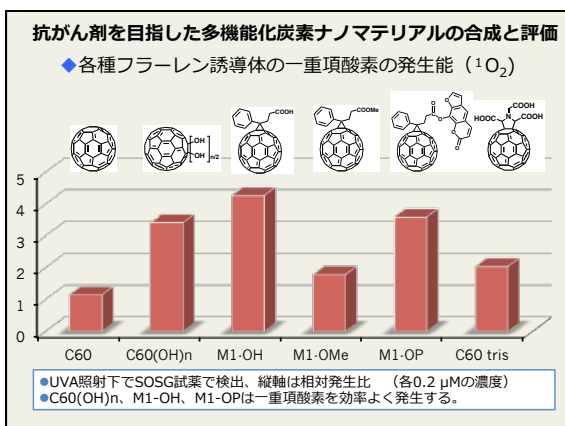
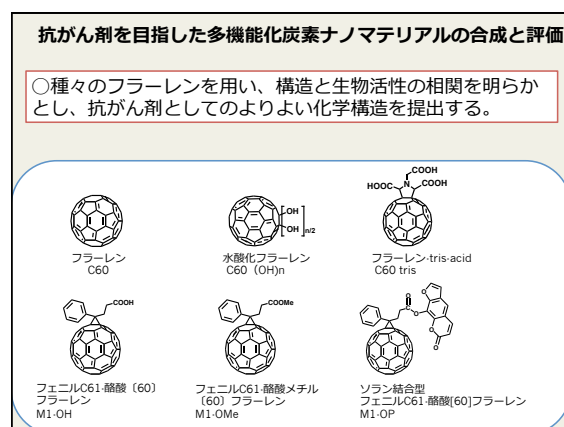
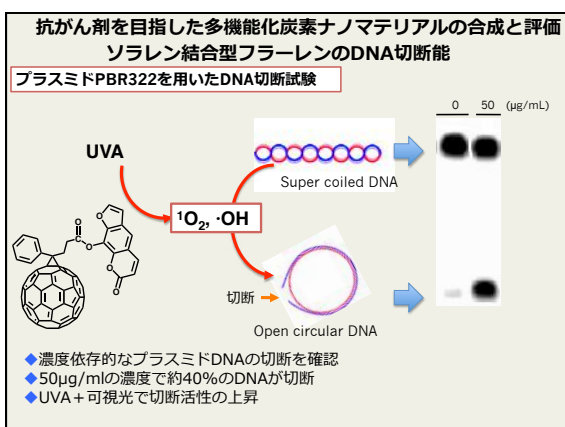
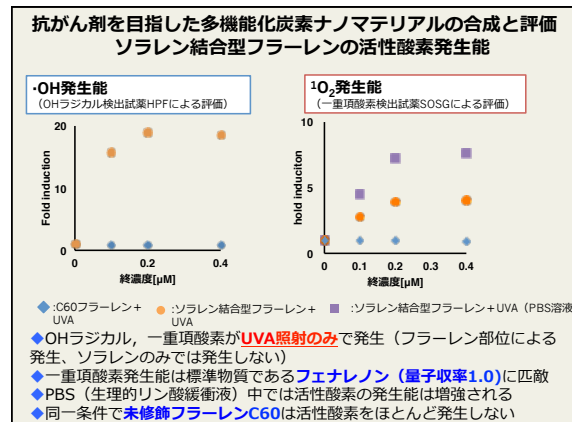
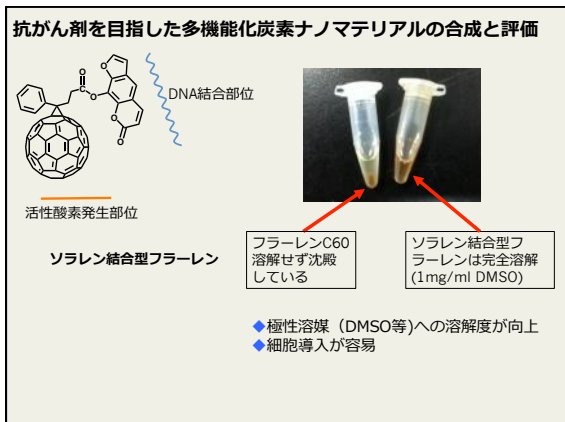
Fullerene
ROS product activity
DNA cleaving activity
Cell cytotoxicity
under UVA irradiation

Psoralen (DNA anchor)
Crosslink with DNA
under UVA irradiation

高効率なDNA損傷

➡ **新規光線力学療法剤として期待される**

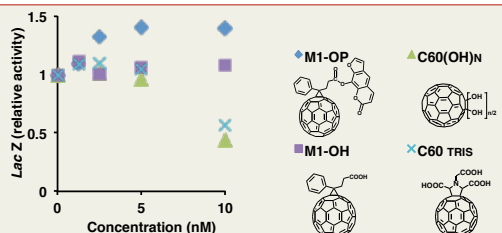




抗がん剤を目指した多機能化炭素ナノマテリアルの合成と評価

◆バクテリアを用いた遺伝子損傷試験

実際に細胞内でDNA損傷が起きるかをUMU試験を用いて検査→(遺伝子損傷が生じることによるLacZ活性を測定)



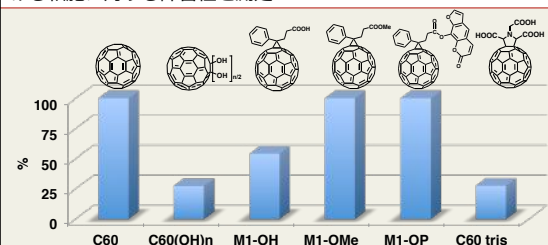
活性酸素 ($^1\text{O}_2$, $\bullet\text{OH}$) を算出するフラレンのうち

- ソラレン結合型フェニルブチルフラレンはDNA損傷性を示す (LacZの上昇)。
- C60(OH)_n、フラレンtris-acidは細胞毒性が強く現れる (LacZの減少←おそらく細胞膜の損傷による)

抗がん剤を目指した多機能化炭素ナノマテリアルの合成と評価

◆ハムスター肺由来細胞(CHO/IU)を用いた細胞増殖阻害試験

各種フラレン誘導体のCHO/IU細胞における紫外線照射下における細胞に対する障害性を測定



活性酸素 ($^1\text{O}_2$, $\bullet\text{OH}$) を算出するフラレンが細胞傷害性を示した (各0.2 μMの濃度)。ただし

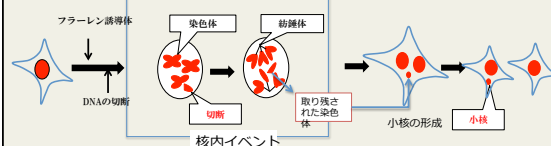
- ソラレン結合型フェニルブチルフラレンは in vivo で細胞傷害性を示さなかった

抗がん剤を目指した多機能化炭素ナノマテリアルの合成と評価

活性酸素発生能力	—	○	○	—	○	○
DNA損傷性	—	—	—	—	○	—
細胞傷害性 (バクテリア)	—	○	—	—	—	○
細胞傷害性 (哺乳類細胞)	—	○	○	—	—	○

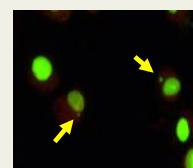
- 水溶性官能基(OH, COOH)を有しているフラレンは、容易に活性酸素を発生し、in vivo の細胞傷害性が高い。

多機能化炭素ナノマテリアルを用いた小核試験の概要



◆実験のポイント

- 活性酸素をフラレンから発生させるためUVAの照射
- 小核を有する細胞の数のUVA強度による変化を計測

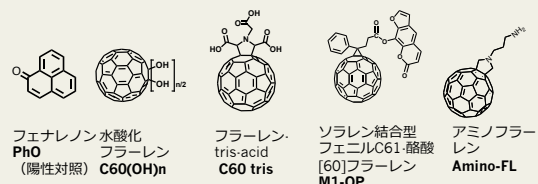


実際に観測される小核の様子
核をアクリジンオレンジで染色してある

抗がん剤を目指した多機能化炭素ナノマテリアルの合成と評価

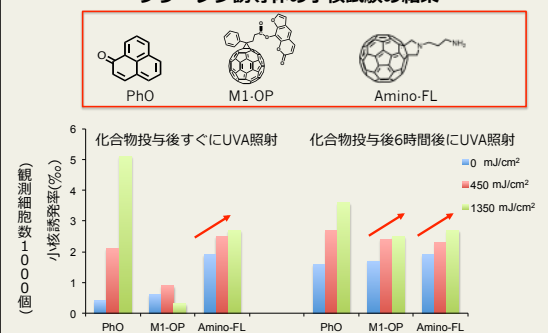
○種々のフラレンのDNAの損傷は哺乳類細胞で認められるのか？

◆以下の化合物の細胞系を用いたDNA損傷能の評価試験



フェナレン水酸化
PhO
(陽性対照)
C60(OH)_n
フラレン
tris-acid
C60 tris
ソラレン結合型
フェニルC61-酸
[60]フラレン
M1-OP
アミノフラ
レン
Amino-FL

フラレン誘導体の小核試験の結果

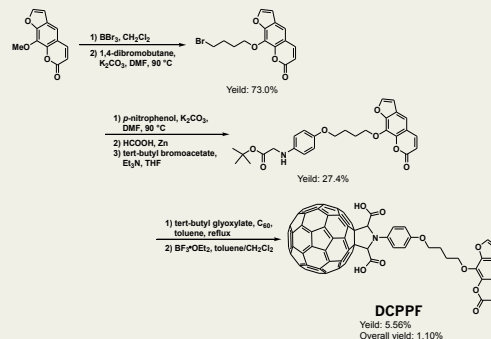


- M1-OPは細胞投与後1.2時間後のUVA照射で照射量依存的に小核を誘発した。
- 今回、新たに合成したアミノフラレンは投与直後から小核の誘発が観測された

抗がん剤を目指した多機能化炭素ナノマテリアルの合成と評価

	水酸化フ ラーレン	C60 tris	M1-OP	Amino-FL
				
細胞傷害性 (哺乳類細胞)			—	—
DNA損傷性 (哺乳類細胞)	—	—		

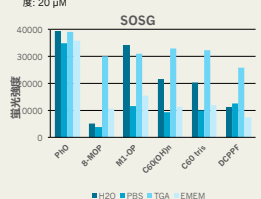
ソラレン結合型水溶性フラーレンの合成



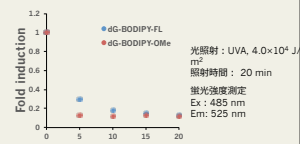
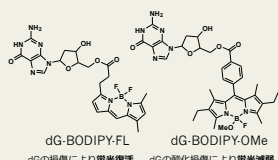
活性酸素発生能の検討

Solvent	Detection reagent
Pure water	APF(Aminophenyl fluorescein, •OH)
PBS solution	HPF(Hydroxyphenyl fluorescein, •OH)
TGA medium	SOSG(Singlet oxygen sensor green, ¹ O ₂)
E-MEM	BES-So(O ₂ • ⁻)

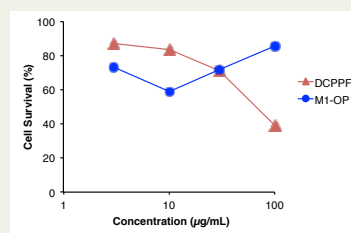
光照射: UVA, $4.0 \times 10^4 \text{ J/m}^2$ 照射時間: 20 min 終濃度: $30 \mu\text{M}$



塩基損傷試験



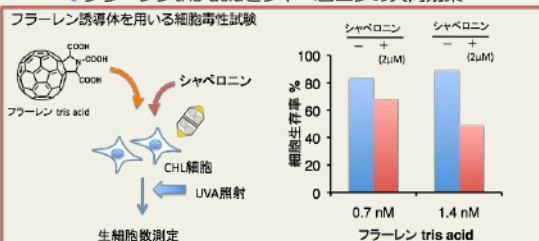
細胞損傷性試験



UVA 1J/cm²
A549細胞

抗がん剤を目指した多機能化炭素ナノマテリアルの合成と評価

◆フラーレンtris acidとシャペロニンの共同効果



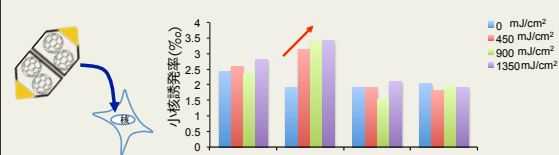
1. フラレンtris acid は**シャペロニン存在下で細胞毒性を増強する**
⇒ シャペロニンは細胞内取り込みを容易にさせている可能性
⇒ 抗がん作用活性がある可能性
2. 未修飾フラレンC60ではシャペロニンの効果は小さい
⇒ シャペロニンとフラレンの相互作用には**官能基の存在が必要**

新規ドラッグデリバリーシステム

◆ 核移行シグナル配列を利用した局所送達



◆ 核移行シグナル配列を利用したフラーレンの核内輸送とDNA損傷活性



医療技術の革新に貢献するバイオ機能材料開発の研究拠点形成

テーマ2 情報メディアによるバイオ機能材料開発の高度化

工学部 電気電子情報工学科	武尾 英哉
情報学部 情報メディア学科	服部 元史
情報学部 情報ネットワーク・コミュニケーション学科	上平 員文
情報学部 情報ネットワーク・コミュニケーション学科	井上 哲理

テーマ2の目的

ナノバイオテクノロジーによるバイオ機能材料の創出や革新的基盤医療技術の実現をめざす本プロジェクトにおいて、

バイオ機能材料開発を支援する情報メディア技術の開発

研究内容

サブテーマ1

数値流体力学にもとづき薬剤やカプセルの体内での挙動を数値計算し薬剤効果を予測・解析できる生体力学シミュレーション技術の研究（服部）

サブテーマ2

体内のカプセルや薬物の動態を画像解析し、薬剤の効果を早期に自動診断するための人工知能を用いた画像認識技術の研究（武尾）

サブテーマ3

バーチャルリアリティによる3次元可視化技術を用いた高臨場感仮想空間での標的分子の設計システムの研究（井上、上平）

研究内容

サブテーマ2

体内のカプセル・薬物動態画像解析システムの研究

カプセルや薬物が投与後に体内で実際にどのように動き、作用しているかをX線画像などから解析できるシステムの開発をめざす。

これまでのCT画像にもとづく医用診断システムの技術を発展させる。

研究内容

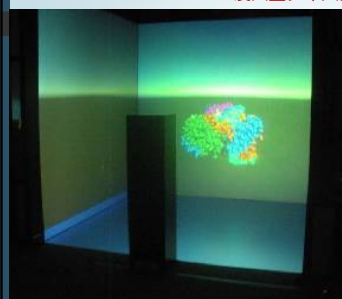
サブテーマ3

高臨場感仮想空間での標的分子の設計システムの研究

没入型ディスプレイを用いて分子モデルを等身大で3次元表示し、標的分子の設計を直感的に行えるシステムを開発する。このため、分子モデルの表現方法やユーザインタラクション技術を研究する。

高分子モデルの臨場感表示では、スポーツ訓練へのバーチャル空間応用技術を、ユーザインタラクションには拡張現実空間技術を援用する。

没入型ディスプレイ



27年度の計画

3つのサブテーマの目標と研究スケジュールを明確にして、研究分野の現状、課題を調べる。

(1) 薬剤やカプセルの挙動シミュレーションの研究

血流のシミュレーションの現状調査、特に数値流体力学を用いた研究を調べる。有限差分法、有限体積法、有限要素法を血流シミュレーションに適用する際の利点、欠点をプログラム作成などを行って調べる。

(2) 体内のカプセル・薬物動態画像解析システムの研究

本研究プロジェクトで対象とするカプセルや薬物を対象としたサンプル画像にもとづいて、プレスタディとして、コンピュータ支援画像診断(CAD)技術を用いて、顕微鏡画像レベルで画像解析を行う

(3) 高臨場感仮想空間での標的分子の設計システムの研究

没入型多面立映像システムに高分子モデルを表示することを実施して、分子モデルのCG表現、表示速度、ユーザとのインタラクションに関する課題をまとめる。

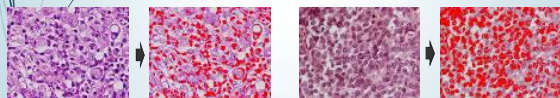
体内のカプセル・薬物動態画像解析システムの研究

- ドラッグデリバリーシステムの誘導支援としてカプセルの追跡システムの開発を行う。
- 薬剤カプセルにX線を吸収する素材を付与し、X線CTを用いカプセルのリアルタイム動的画像解析を行う。
- 体内においてカプセルや薬剤がどのように動くかを解析することで誘導管理を行う。
- まずプレスタディとして、コンピュータ支援画像診断(CAD)技術を用いて、抗がん剤を投与したがん細胞を顕微鏡画像レベルで画像解析を行い、経時の変化から薬効などを判定するシステムの研究を行う。

2015年度の成果

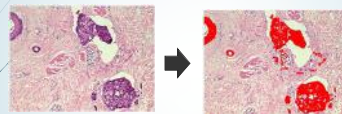
1) 細胞核の抽出

- ・ がん細胞の検出処理の開発にあたり、前段として細胞核の抽出処理の開発を行った
- ・ 細胞核を抽出することにより画像内の細胞数の計測することや核の形状に特徴を持つがん細胞の判別などが可能となった



2) がん領域の抽出

- ・ 形状・画素特徴よりがん領域の抽出を行う
- ・ 面積のピクセル数での定量化が可能となった



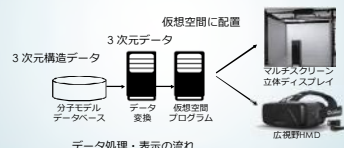
まとめ

- ・ 細胞核の抽出による核形状からのがん判別や細胞数の判別が可能となった
- ・ 一定程度大きい範囲であるがん領域の抽出が可能となった

高臨場感仮想空間での標的分子の設計システムの研究

-標的分子の設計支援-

- ・ 没入型空間表示技術で分子モデルをライフサイズ(人間サイズ)で表示
- ・ 高臨場感表現により、標的分子の理解や設計に寄与するシステムの実現



11

平成27年度

- 没入型立体映像システムへの分子モデル表示
- 分子モデルのCG表現、処理速度に関する課題調査



データ変換の課題

- 分子の立体構造データについて、表示までに今回の処理の中で2回のデータ変換を実施。
- モデル数が多いと変換処理に時間がかかる。
- 高速表示の観点でのデータ形式について検討が必要。
- また、データ変換中に色情報などが欠落することがあった。原因を調べるとともに、モデルの色付けは分子設計の観点で検討をする。

処理速度等の課題

- 今回用いた分子モデルデータでは表示の大幅な遅延はなかった。
- しかし、分子モデル数が多くなるほど（図1）、回転・拡大縮小などの処理に遅れもみられた。同じ分子でもモデル数が少ない表現であれば（図2）速度は問題なかった。
- モデルの表現など、分子設計面と表示速度面から検討を続ける必要がある。

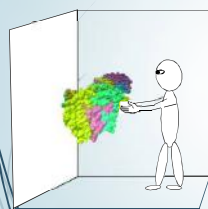


図1



図2

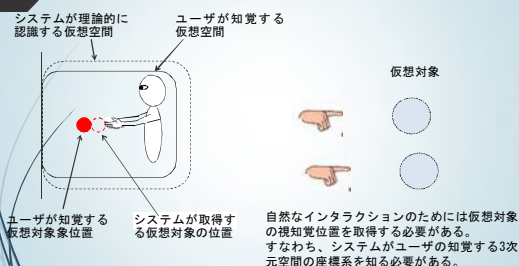
高臨場感仮想空間での標的分子の設計システムの研究 ユーザとのインタラクション



平成27年度
課題の抽出

- ① 自然なインタラクション
- ② シースルー表示による影響
- ③ マルチモーダルインタラクション
- ④ 絶対座標表示

課題① 自然なインタラクション



課題③ マルチモーダルインタラクション

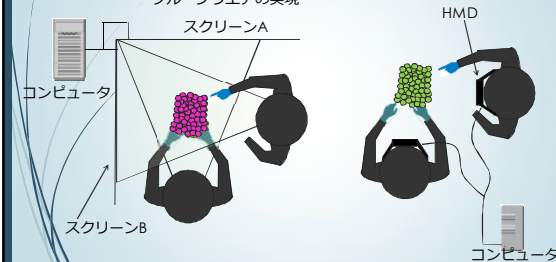
触覚や音声の提示



ユーザの手が仮想対象に触れたとき（ユーザが視覚で触れたと見えたとき）、システムもそれを認識して触覚や音声の提示により応答することにより、より自然なインタラクションが可能となる

課題④ 座標共有複数視点表示

VRにおいて複数のユーザが一つの座標系を共有できるグループウェアの実現



来年度の予定

体内のカプセル・薬物動態画像解析システムの研究

- 1) 経時変化を見越した位置合わせ手法の検討
・薬効評価などの際、がん領域の数値化に有効
- 2) 様々なパターンのがん症例での検証
・培養画像のがん症例に合わせた処理の開発
- 3) 動的画像解析に対する基礎研究
・カプセル追従に対するX線動的解析に関する基礎研究

画像データの収集

- ・細胞系の抽出処理の開発、及びカプセル追従システムの開発
双方のために画像データの収集が必要
- ・経時変化を追跡する処理の開発も検討しており、継続的に
細胞の培養を追った画像データも必要

バイオ班にこれら画像データの提供を依頼したい

来年度の計画

高臨場感仮想空間での標的分子の設計システムの研究

- ・分子データベースから没入型多面立体映像システムに分子モデルを人間サイズで表示するプログラムを作成する。計算・表示の高速化、分子モデルの3次元構造の表現について最適化を行う。
- ・ユーザとのインタラクションでは、視知覚位置推定技術、マルチモーダルインタラクション、グループウェアの必要性、適用性を明らかにする。

テーマ1と連携しながら課題を明確にする

血液の流れを粒子法で数値計算する試み

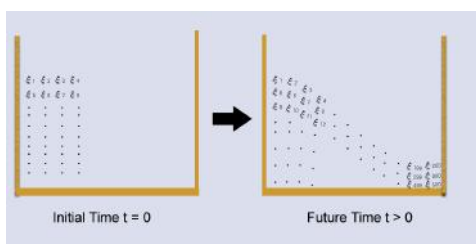
服部 元史

神奈川工科大学 情報メディア学科

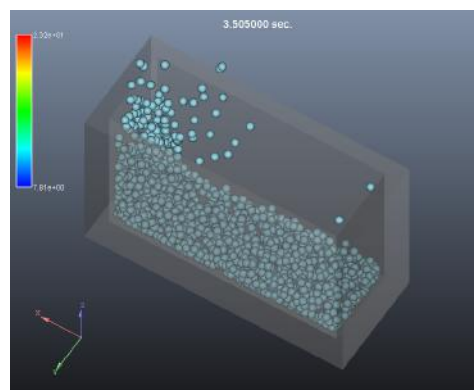
粒子法 Moving Particle Simulation (MPS) とは

- 1 タンパク質カプセルを搬送する血液の流れを数値計算シミュレーションする.
- 2 液体の流れを記述する非圧縮 Navier-Stokes 方程式の近似解を数値計算する.
- 3 粒子法 Moving Particle Simulation
膨大な個数の粒子達で液体領域を空間離散化して数値計算する
越塚誠一 (東京大学 工学系) ら [1]

流体領域を粒子達で空間離散化する



水の柱が崩壊する様子で粒子法 MPS を説明



圧力を求解する Poisson 偏微分方程式

越塚誠一ら (1998) による質量密度 feedback [1]

$$\left(\frac{-1}{\rho_0}\right) \Delta_z P(t/s, X) = \left(\frac{-1}{\Delta s^2}\right) \frac{\rho_0 - \text{Rho}_{(\text{tmp})}(t/s, X)}{\rho_0} \quad (1)$$

Navier-Stokes 方程式の数学理論

$$\frac{1}{\rho_0} \Delta_z P(t/s, X) = \frac{1}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(s/s, X) \quad (2)$$

但し P は圧力, V は流速, Rho は質量密度の計算値を表す.

上記 2 つの式を合成して圧力 P を求解する妥協案 [2] [3] [4] が工学的な数値計算で経験的に採用されていた.

圧力 Poisson 偏微分方程式 (本研究)

数値計算に誤差が生じる事に注目すれば
(非圧縮性が破られる事に注目すれば)

$$\frac{1}{\rho_0} \Delta_z P(t/s, X) = \frac{1}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(s/s, X) + \frac{1}{(\Delta s)^2} \frac{\rho_0 - \text{Rho}(s/s, X)}{\rho_0} \quad (3)$$

と導出された.

越塚ら (1998) が導出した質量密度 feedback (式 (3) の右辺第 2 項) は, 非圧縮性を回復させる効果を有している.

粒子法 MPS は Step(A)(B)(C) を繰り返す

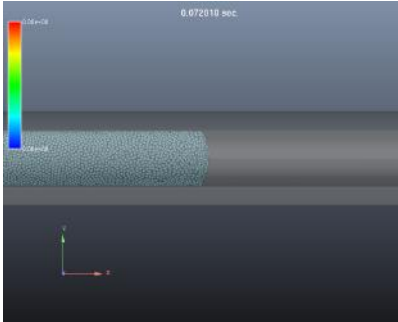
(A) 圧力 P から流速 V を計算し、流速 V から粒子位置 Z を計算する

$$\frac{V(t/s, x) - V(s/s, x)}{\Delta s} = \frac{\mu}{\rho_0} \Delta_z V(t/s, X) - \frac{1}{\rho_0} \frac{\partial P(t/s, X)}{\partial Z} \quad (4)$$
$$\frac{Z - X}{\Delta s} = V(t/s, X) \quad (5)$$

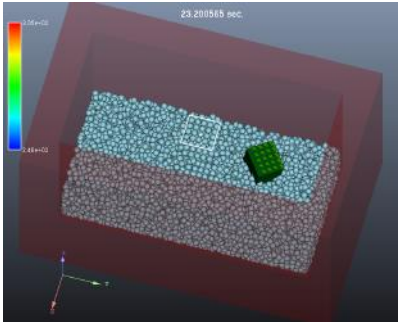
(B) 粒子位置 Z から 圧力 P を計算する。
(圧力 Poisson 偏微分方程式を求解する.)

(C) 血液ながれの圧力 P から、
タンパク質カプセルの加速度・速度・位置を計算する。

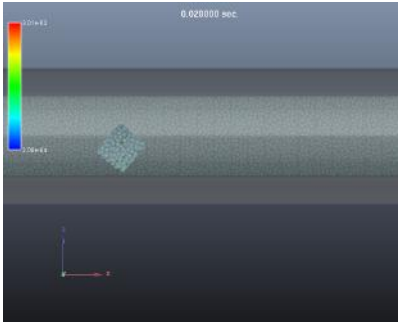
粒子法 MPS 事例 1：液体が管の中を流れる



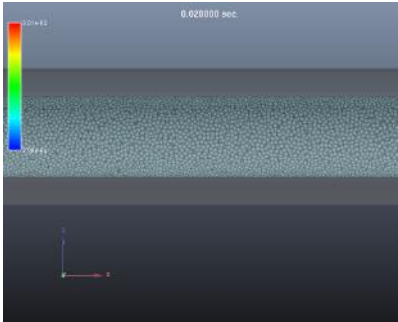
粒子法 MPS 事例 2：水槽内の液体に浮かぶ固体



粒子法 MPS 事例 3：
管の中を流れる液体が固体を運搬する



粒子法 MPS 事例 3：管の中を流れる液体が
固体を運搬する (液体だけを描写)



粒子の運動で流れを記述する

	過去	現在	未来
時刻	s	$\rightarrow \tau$	$\rightarrow t$
粒子位置	x	$\rightarrow y$	$\rightarrow z$

時刻 s に位置 $x \in \mathbb{R}^{\text{Dim}}$ に居た粒子が、時刻 $t = s + \Delta s$ に位置 $z \in \mathbb{R}^{\text{Dim}}$ に到達している事を、 $z = r(t/s, x)$ と記載する。

時刻 s に位置 x に居ながら時刻 $t = s + \Delta s$ で位置 $z = r(t/s, x)$ に到達している粒子が、時刻 t と位置 z で有している
速度を $v(t/s, x) \in \mathbb{R}^{\text{Dim}}$ で表し、 加速度を $a(t/s, x) \in \mathbb{R}^{\text{Dim}}$ で表し、
圧力を $p(t/s, x) \in \mathbb{R}$ で表し、 質量密度を $\rho(t/s, x) \in \mathbb{R}$ で表す。

$$r = (r_1, r_2, r_3) \in \mathbb{R}^3 \quad (6)$$

$$v = (v_1, v_2, v_3) \in \mathbb{R}^3 \quad (7)$$

$$a = (a_1, a_2, a_3) \in \mathbb{R}^3 \quad (8)$$

次元 $\text{Dim} = 2$ のとき $\mathbb{R}^{\text{Dim}}$ は平面 次元 $\text{Dim} = 3$ のとき $\mathbb{R}^{\text{Dim}}$ は空間

非圧縮性を仮定する

ρ_0 は 初期時刻 0 における質量密度

$$\rho(t/s, x) = \rho_0 \left\{ \det \left(\frac{\partial r(t/s, x)}{\partial x} \right) \right\}^{-1} \quad (9)$$

$$= \rho_0 \left\{ \det \left(\frac{\partial z}{\partial x} \right) \right\}^{-1} \quad (10)$$

液体の変形運動を考察しているので、非圧縮性

$$1 = \det \left(\frac{\partial r(t/s, x)}{\partial x} \right) = \det \left(\frac{\partial z}{\partial x} \right) \quad (11)$$

を仮定する.

質量密度は定数

$$\rho(t/s, x) = \rho_0 \quad (12)$$

と成る.

血液の流れを記述する Navier-Stokes 偏微分方程式

$$z = r(t/s, x) \quad (13)$$

$$\frac{D r(t/s, x)}{Dt} = v(t/s, x) \quad (14)$$

$$\frac{D v(t/s, x)}{Dt} = a(t/s, x) \quad (15)$$

$$\rho_0 a(t/s, x) = \mu \Delta_z v(t/s, x) - \frac{\partial p(t/s, x)}{\partial z} + \rho_0 c_{\text{gravity}}$$

但し, Laplace 偏微分作用素 (Laplacian)

$$\Delta_z = \sum_{j=1}^{\text{Dim}} \frac{\partial^2}{\partial z_j^2} \quad (16)$$

質量保存則による連続の式

$$0 = \frac{D \rho(t/s, x)}{Dt} + \rho(t/s, x) \frac{\partial}{\partial z} \cdot v(t/s, x) \quad (17)$$

但し, divergence 偏微分作用素 $\partial/\partial z$.

$$\frac{\partial}{\partial z} \cdot = \sum_{i=1}^{\text{Dim}} \frac{\partial}{\partial z_i} \quad (18)$$

粒子法 MPS の時間発展 (離散時間 Navier-Stokes 方程式)

離散時刻における物理量の値を計算する

粒子の加速度を A で表わし,
速度 V で表わし, 位置を Z で表わし,
圧力を P で表わし, 質量密度を ρ で表わす.

連続時間での物理量の変数が
アルファベットの小文字で表示されていたのに対し,
離散時刻での物理量を
それらに対する大文字のアルファベットで表示する.

次の時刻 $t = s + \Delta s$ での粒子の加速度 $A(t/s, X)$

$$\begin{aligned} \rho_0 A(t/s, X) \\ = \mu \Delta_X V(s/s, X) - \frac{\partial P(s/s, X)}{\partial X} + \rho_0 c_{\text{gravity}} \end{aligned} \quad (19)$$

次の時刻 $t = s + \Delta s$ での粒子の速度 $V(t/s, X)$

$$V(t/s, X) = V(s/s, X) + \Delta s A(t/s, X) \quad (20)$$

次の時刻 $t = s + \Delta s$ での粒子の位置 $Z = R(t/s, X)$

$$Z = X + \Delta s V(t/s, X) \quad (21)$$

圧力 P を計算する方法を次に議論する.

圧力 Poisson 偏微分方程式を導出し直す

Navier-Stokes の方程式

$$\rho_0 a(t/s, x) = \mu \Delta_z v(t/s, x) - \frac{\partial p(t/s, x)}{\partial z} + \rho_0 c_{\text{gravity}}$$

の両辺に $\partial/\partial z \cdot$ を作用させ, 非圧縮性を考慮して

$$\rho_0 \frac{\partial}{\partial z} \cdot a(t/s, x) = (-1) \Delta_z p(t/s, x) \quad (22)$$

時間について離散化すれば

$$\Delta_z P(t/s, X) = (-1) \rho_0 \frac{\partial}{\partial Z} \cdot \frac{V(t/s, X) - V(s/s, X)}{\Delta s}$$

つまり

$$\begin{aligned} \Delta_z P(t/s, X) = \\ (-1) \frac{\rho_0}{\Delta s} \left\{ \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(t/s, X) - \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(s/s, X) \right\} \end{aligned} \quad (23)$$

すなわち

$$\begin{aligned} \Delta_Z P(t/s, X) = \\ (-1) \frac{\rho_0}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(t/s, X) + \frac{\rho_0}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(s/s, X) \end{aligned} \quad (24)$$

両辺を ρ_0 で割って

$$\begin{aligned} \frac{1}{\rho_0} \Delta_Z P(t/s, X) = \\ (-1) \frac{1}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(t/s, X) + \frac{1}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(s/s, X) \end{aligned} \quad (25)$$

という Key Equation を得る。

質量保存則による連続の式を時間離散化した

$$0 = \frac{\text{Rho}(t/s, X) - \text{Rho}(s/s, X)}{\Delta s} + \text{Rho}(t/s, X) \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(t/s, X)$$

から求まる

$$(-1) \frac{1}{\Delta s} \frac{\text{Rho}(t/s, X) - \text{Rho}(s/s, X)}{\text{Rho}(t/s, X)} = \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(t/s, X) \quad (26)$$

の右辺を, Key Equation (25)

$$\begin{aligned} \frac{1}{\rho_0} \Delta_Z P(t/s, X) = \\ (-1) \frac{1}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(t/s, X) + \frac{1}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(s/s, X) \end{aligned} \quad (27)$$

の右辺の第1項に代入する事によって

$$\begin{aligned} \frac{1}{\rho_0} \Delta_Z P(t/s, X) \\ = \frac{1}{(\Delta s)^2} \frac{\text{Rho}(t/s, X) - \text{Rho}(s/s, X)}{\text{Rho}(t/s, X)} + \frac{1}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(s/s, X) \end{aligned} \quad (28)$$

を得る。

流れの非圧縮性を回復するべく,
時刻 t での質量密度 $\text{Rho}(t/s, X)$ は定数 ρ_0 に一致する必要があるので

$$\begin{aligned} \frac{1}{\rho_0} \Delta_Z P(t/s, X) = \\ \frac{1}{(\Delta s)^2} \frac{\rho_0 - \text{Rho}(s/s, X)}{\rho_0} + \frac{1}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(s/s, X) \end{aligned} \quad (29)$$

この Poisson 偏微分方程式を解いて
圧力 $P(t/s, X)$ の値を求める事ができる。

結論

- 1 時間 t が経過するにつれて移動して行く粒子の位置 Z による空間偏微分を明示する事で,
Navier-Stokes 方程式における空間偏微分作用素 Δ_Z や
連続の式における空間偏微分作用素 $(\partial/\partial Z) \cdot$ が
時間と共に変化して行く状況を数学として正確に記述し,
粒子法 MPS アルゴリズムを検討した。

- 2 圧力値を安定して求解できるように修正された
粒子法 MPS の Poisson 偏微分方程式

$$\frac{1}{\rho_0} \Delta_Z P(t/s, X) = \frac{1}{\Delta s} \frac{\partial}{\partial Z} \cdot V(s/s, X) + \frac{1}{(\Delta s)^2} \frac{\rho_0 - \text{Rho}(s/s, X)}{\rho_0} \quad (30)$$

を数学的に導出した。

右辺 第2項は, 数値誤差を修正する feedback と解釈できる。

今後の課題

- 1 タンパク質カプセル表面への圧力を面積分して
タンパク質カプセルの加速度・速度・位置を計算し,
タンパク質カプセルを搬送する計算法を改良して行く。
- 2 血管の柔らかさを考慮する。
- 3 タンパク質カプセルの柔らかさを考慮する。

参考文献

- 1 越塚誠一著, "粒子法", 日本計算工学会編, 計算力学レクチャー シリーズ 5, 丸善株式会社, (2005)
- 2 南 佳成, "粒子法の実用化に向けて (圧力計算時の振動の低減について)", Papers of National Maritime Research Institute, Volume 7, Number 2, pp.209-214, (2007)
- 3 田中 正幸, 益永 孝幸, "疑似圧縮性効果による MPS 法の安定化と圧力の平滑化", 日本計算工学会 論文集 Transaction of JSCES, Paper No.20080025 (2008)
- 4 Masayuki Tanaka & Takayuki Masunaga, "Stabilization and smoothing of pressure in MPS method by Quasi-Compressibility", Journal of Computational Physics archive Volume 229 Issue 11, June, 2010 Pages 4279-4290 (2010)