

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年6月6日現在

機関番号：14301
研究種目：若手研究（B）
研究期間：2011～2012
課題番号：23760390
研究課題名（和文） エレクトロポレーションの非線形時空ダイナミクス：モデリング・解析・制御
研究課題名（英文） Nonlinear Spatio-Temporal Dynamics of Electroporation: Modeling, Analysis, and Control
研究代表者
薄 良彦（SUSUKI YOSHIHIKO）
京都大学・大学院工学研究科・講師
研究者番号：40402961

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、エレクトロポレーションに関わる制御システム技術の確立である。本目的の達成に向けて、単一細胞に対するエレクトロポレーションの非線形時空ダイナミクスに関する解析及びダイナミクスに基づく制御プロトコルの設計を行った。本研究では、従来の一定振幅の外部制御電界（直流電界）とは異なり、振幅を交番成分で変調した振幅変調電界をエレクトロポレーションに用いることを提案し、その有効性を数値シミュレーションにより明らかにした。

研究成果の概要（英文）： The goal of this research was to establish a control technology of electroporation in a single cell. Towards the goal, I analyzed nonlinear spatio-temporal dynamics emerging in electroporation of a single cell and synthesized a control protocol for regulating the electroporation. A new control protocol using amplitude-modulated electric fields for regulating the cell membrane permittivity was developed and demonstrated in numerical simulations.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|-----------|---------|-----------|
| 交付決定額 | 2,800,000 | 840,000 | 3,640,000 |

研究分野：非線形動力学，制御応用，電力・エネルギーシステム

科研費の分科・細目：電気電子工学・制御工学

キーワード：エレクトロポレーション，非線形動力学，制御技術

1. 研究開始当初の背景

電気電子工学の生体応用としてエレクトロポレーションによる細胞膜制御がある。エレクトロポレーション（電気穿孔）とは、細胞膜あるいは人工脂質二重層膜に対して外部から電圧を印可することにより複数の欠陥（孔，pore）が形成され、膜透過率が変化するという非線形現象を指す。特に、可逆エレクトロポレーションでは孔の形成が一時的であり、外部電

圧の除去により孔は消滅し、膜透過率は外部電圧の印可前の状態（値）に戻る。この現象を利用すると細胞膜の透過率を人為的に操作できるため、イオンチャネルを介して導入困難な外部因子（DNA・薬剤など）を細胞内へ導入することが可能になる。この優れた特徴から、エレクトロポレーションはライフサイエンス・バイオテクノロジーの研究開発において幅広く用いられている。近年では、マイクロ・ナノ技術を応用したマイクロ流路デバイスによ

り単一細胞へのエレクトロポレーションが可能になっている。さらに、将来のテーラーメイド医療や再生医療では細胞レベルでの疾患のメカニズム解明や投薬が必須とされており、エレクトロポレーションによる細胞膜制御の高性能化や多機能化が今後重要になることは確実である。

上述の背景から、申請者はエレクトロポレーションの制御システムの開発という本研究の着想に至った。エレクトロポレーションによる従来の細胞膜制御では、経験則に基づいて外部パルス電圧の振幅や時間幅が決定されており、細胞膜のダイナミクスを計測し制御電圧を決定するといったフィードバック機構は必ずしも採用されていない。このため、細胞膜制御の目的(例えば、所望の外部因子の導入)が達成できた否かの保証は無く、実際にエレクトロポレーションを行わなければ制御効果の評価できず、細胞膜制御の高性能化や多機能化には課題が多い。さらに、マイクロ流路デバイスによる単一細胞のエレクトロポレーションでは、対象とする物理システムがマイクロオーダーのスケールを有し、細胞膜の電気・機械・化学ダイナミクスや懸濁液の電磁流体ダイナミクス、外部因子の輸送ダイナミクスなどが複雑に絡み合った非線形現象が生起する。これによりエレクトロポレーションの制御プロトコルの決定は困難で、申請者の知り得る限り制御問題として十分解決には至っていない。本研究は、この問題に真正面から取り組むことでエレクトロポレーションの制御システムの設計指針を明確にし、エレクトロポレーションデバイスの多機能化を目指すものである。

2. 研究の目的

本研究は、エレクトロポレーションの制御プロトコルの確立を目的とする。本目的の達成に向けて、エレクトロポレーションの非線形時空ダイナミクスの解析、ダイナミクスに基づく制御プロトコルの設計を行う。本研究を通してエレクトロポレーションの力学と制御原理の一端を明らかにし、エレクトロポレーションによる細胞膜制御システムの開発に向けた基礎的な知見とマイクロ流路デバイスによる実用化に向けた知見---単一細胞エレクトロポレータ(図1)---の獲得を目指すものである。

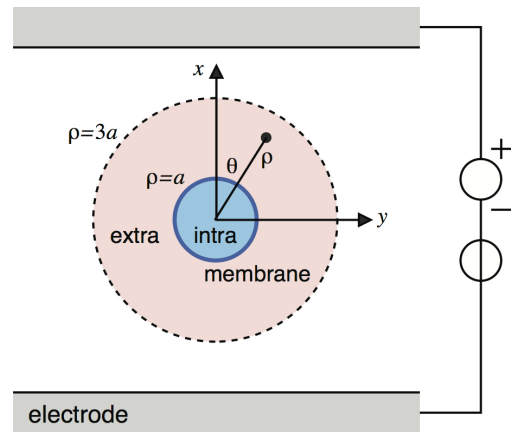


図 1: 単一細胞エレクトロポレータ. 学会発表の予稿集より転載.

3. 研究の方法

本研究では計算機シミュレーションを用いた。具体的には Krassowska 及び Filev が提案したエレクトロポレーションの数理モデル (Krassowska and Filev, *Biophys. J.*, vol. 92, pp. 404-417, 2007) に基づくダイナミクスの検討であり、本モデルの数理的観点からの検討と数値シミュレーションによるダイナミクス及び制御の検討を本研究の期間内において遂行した。

4. 研究成果

本研究により得られた成果は以下の3点である。

- ① 細胞膜を形成する脂質二重層の電気・機械ダイナミクス及び懸濁液内部の電界分布を表す数学モデルがハイブリッドシステム---離散値変数と連続値変数が混在した偏微分方程式系---として定式化されることを示した。
- ② 非線形時空ダイナミクスの印可電界に対する依存性を数値的に検討し、エレクトロポレーションの力学的メカニズムの一端を明らかにした。
- ③ エレクトロポレーションにより所望の膜透過率を達成するための制御プロトコルを設計し、その有効性を数値的に検討した。特に、従来の一定振幅の外部制御電界(直流電界)ではなく、振幅を交番成分で変調した振幅変調電界を用いたエレクトロポレーションを提案し、そ

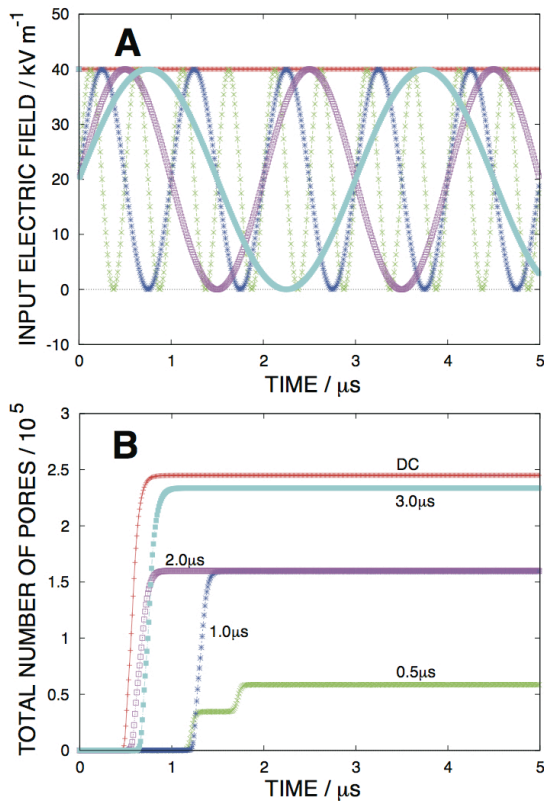


図 2：振幅変調電界によるエレクトロポレーション。A では従来の振幅一定電界（赤色）と提案した振幅変調電界（他の色）の時間変化を示す，B では各電界により生成される孔の総数の時間変化を示す．B では変調周波数の設定値を併せて示している．学会発表の予稿集より転載．

の有効性を明らかにした．図 2 に外部制御電界の時間波形と細胞膜に生成される孔の総数の時間変化を示す．従来の振幅一定電界（A の赤色）における孔総数と同程度の孔総数を振幅変調電界（他の色）により達成していることが分かる．また，図 3 に振幅変調電界による孔半径分布の時間変化を示す．生成された孔の半径が時間進展に従い大きくなっていく様子が確認される．本提案のプロトコルは，従来の振幅一定の制御電界と異なり，懸濁液における流体運動の生成や細胞自体の移動等を可能にするので，単一細胞エレクトロポレータの多機能化に資するものであり，実用化に向けて重要である．

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

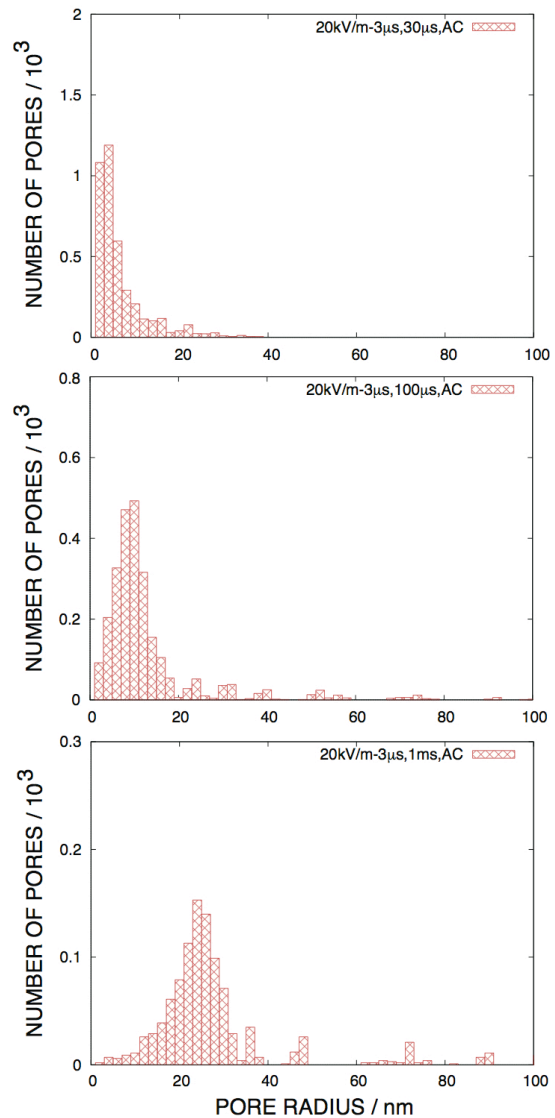


図 3：振幅変調電界によるエレクトロポレーションにおける孔半径分布の時間変化． $30\ \mu\text{m}$ 、 $100\ \mu\text{m}$ 、 1ms における数値計算結果を示している．時間が進むにつれて孔半径分布のピークが右方向に移動している様子が確認される．これは，生成された多くの孔の半径が時間進展に従い増加していることを示している．学会発表の予稿集より転載．

〔雑誌論文〕（計 0 件）

〔学会発表〕（計 2 件）

- ① 薄 良彦，振幅変調電界によるエレクトロポレーションの一検討，電子情報通信学会技術報告，NLP2013-24，pp. 81-86，福岡，2013 年 5 月 28 日．

- ② Yoshihiko Susuki, A numerical study on electroporation by amplitude-modulated electric field, *Proceedings of the 2013 International Symposium on Nonlinear Theory and its Applications (NOLTA2013)*, Santa Fe, USA, September 8-12 (2013) (accepted for presentation).

[その他]

ホームページ等

<http://www-lab23.kuee.kyoto-u.ac.jp/susuki>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

薄 良彦 (SUSUKI YOSHIHIKO)

京都大学・大学院工学研究科・講師

研究者番号：40402961