

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21686020

研究課題名（和文） 革新的光学干渉法による複雑系物質輸送過程の計測

研究課題名（英文） Measurement of mass transport process in complex system using innovative interferometry method

研究代表者

小宮 敦樹（KOMIYA ATSUKI）

東北大学・流体科学研究所・准教授

研究者番号：60371142

研究成果の概要（和文）：

本研究では、これまでに確立してきた物質拡散係数導出法を用い、ヒト体内環境がタンパク質の物質輸送現象にどのような影響を及ぼすかについて、周囲環境を変えた観察実験を行い、その評価を行ってきた。無機塩溶質の濃度勾配が存在する中、外力の影響を受けてタンパク質移動現象がどのように変化するかについて観察実験を行った。タンパク質が有する構造が物質拡散の濃度依存性に大きな影響を及ぼしていくことを実験的に明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

In this study, the visualization measurements of protein diffusion phenomena were performed under several conditions and the effect of intravital condition on protein diffusion phenomena was evaluated. Under the condition of existence of concentration gradient, the effect of external force on transient diffusion phenomena of several proteins were quantitatively evaluated. It is clarified from experimental results that the unique structure of protein affects on diffusion process.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	7,400,000	2,220,000	9,620,000
2010 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2011 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
総計	12,100,000	3,630,000	15,730,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・熱工学

キーワード：タンパク質、物質移動、可視化、拡散係数

## 1. 研究開始当初の背景

消化過程では、生体高分子（タンパク質）が体内の様々な器官において極限環境の下、消化プロセスをたどり、一部はアミノ酸に分解され物質輸送が進行する。タンパク質およびアミノ酸の物質拡散係数測定は、諸々の熱物性値測定の中でも極めて困難であり、そのため、生体高分子の諸物性値は散見される程度であり、医工学分野等で重

要性が高まってきているのに対し、データが欠乏しているのが現状となっている。これは従来の拡散係数測定法には、精密な計測には数十時間～数日という長時間を要することや物質自体が稀有であるため大量試料の投与ができないことなどの技術的課題が残存しているためである。ヒト体内環境下での物質輸送現象の解明は、新薬の生成や消化メカニズム解明の一助に重要な役割

を担うのに対し、このように実験データ・知見等が脆弱であるという問題点がある。

そこで研究代表者がこれまでに光学系を駆使して開発を行ってきた物質拡散係数の高精度導出法を用い、卵白リゾチーム (Egg White Lysozyme) を用いた計測実験を行った結果、ヒト体内環境で大きく異なってくる周囲環境条件により物質輸送現象が異なってくることを実験的に評価した。ヒト体内環境では物質拡散係数の値が大きく変わり、物質輸送が促進される場合、抑制される場合が存在するという重要な知見を得るに至った。

しかしながら、この結果は実際の体内環境の一部のみを模擬したものに過ぎない。すなわち、信頼得るヒト体内の物質輸送モデリングには、より生体内環境を模擬した条件下での実験が必須となってくる。得られた結果を更に発展させ、ヒト体内環境という複雑系でのタンパク質およびアミノ酸の物質輸送過程の定量評価を行わなければならない必要性を見出し、本研究課題を提案するに至った。

## 2. 研究の目的

研究代表者はこれまでに微量試料で物質拡散係数を導出する測定法の基礎的概念を確立し、光学干渉法による測定技術開発を行ってきた。この方法を有効利用して、ヒト体内環境がタンパク質の物質輸送現象にどのような影響を及ぼすかについて、パラメトリックに周囲環境を変えて観察実験を行い、その評価を行っていく。本研究では生体膜などの空間的な抵抗である浸透現象が物質輸送現象に及ぼす影響を評価する。さらに、温度場・電場が物質輸送現象に及ぼす影響についても評価する。試料としては卵白より抽出されるリゾチームを用いる。一般にリゾチームのアミノ酸組成はリシンやアルギニンなどの塩基性アミノ酸に富んでおり、著しく正電荷に偏っているため、溶液中で周囲分子と非共有結合をし、周囲環境と強相互作用を及ぼすとされている。本研究で行う点および明らかにする点は以下に示すとおりである。

### (1) 生体膜とタンパク質物質輸送現象の関連・依存性の評価

生体膜を模擬した擬似浸透膜を介しての物質輸送過程を光学観察し、輸送現象への影響を評価する。膜厚・膜を介しての濃度差・圧力差等をパラメータとし、生体を模擬した範囲内でのパラメトリック実験を行い、依存性を評価する。擬似浸透膜製作には医学系の研究協力者による意見を反映し、数種類の臓器を模擬した浸透膜で実験を行う。

### (2) 生体組織内の物質輸送過程のモデリングと評価

多孔質体で模擬できる生体組織内での物質輸送現象を高精度干渉計を用いて局所計測する。同条件で繰り返し実験を行い偶然誤差による不確かさ評価を低減させ、高信頼度のデータを取得し輸送過程をモデル化する。定量的に計測するには、現在の光学系を改良しなければならない、より精緻に計測が行えるよう改良を施した時点でパラメトリックな実験を開始する。

### (3) 外力印加による物質輸送制御の可能性評価

ヒト体内では周囲の濃度および pH の環境変化によりタンパク質物質輸送過程が変化することから、場に外力を印加することで物質輸送現象の能動制御が可能であるかの検証を行う。また、場との相互作用を評価することにより消化プロセス解明の一助となる物質輸送メカニズムの提案を目指す。マクロな現象としての物質拡散係数の差異をもたらすかの評価を行うとともに、諸条件下での物質拡散係数のデータベースを構築する。

## 3. 研究の方法

研究課題の円滑な遂行をするためには、既存の装置を改良利用することでシステム構築の時間短縮を図り、研究フェーズを明確化することでステップ毎に研究を進めていく。そこで、研究フェーズを「システム改良」・「拡散観察実験」・「モデリング」・「データベースの構築」に分類し、以下に示す研究計画で研究を遂行していく。

### (1) 高精度計測システムの改良

研究代表者が既に設計開発している高精度干渉計を改良利用する。本システムに用いている位相シフト技術を高精度計測用に改良するため、新たな画像処理システムを導入し、測定実験の高効率化を図る。新システム用に演算専用コンピュータを本年度に購入する。

### (2) 観察セルの製作と観察実験の実施

医学系研究協力者とともに擬似生体膜の製作を行い、タンパク質非定常拡散場の観察実験を実施する。拡散セルに温度制御機構を付加し浸透圧および温度条件を生体内と等しく模擬し、分解過程を経たタンパク質が膜を介してどのように浸透・拡散するかを可視化する。また、生体組織を擬似した多孔質体や寒天内における実験の実施を行う。本実験用の観察セル製作には、医学系研究協力者の意見を反映させ、より生体組織を模擬したセルにて実験を行う。

### (3) タンパク質拡散現象のモデリング

前年度パラメトリックに行った実験結果をもとに多成分系複雑系におけるタンパク質の輸送現象をモデル化する。特に生体膜および生体組織が物質輸送現象に及ぼす影響の定量的評価を行い、モデルに反映させる。

### (4) 物質拡散係数のデータベース化

医学分野で必要とされるヒト体内環境条件下での物質拡散係数を測定し、データベースの構築を図る。昨年度から行っているパラメトリックな実験データを条件ごとに整理し、より重要とされる条件下においては、更に詳細なデータを取得するとともに、ニーズに対応できるデータベースの構築を行う。また、得られた研究成果の総括を行うとともに、国内外の研究会・学会にて発表を行う。研究発表は熱工学分野にとどまらず、医工学分野等においても本研究課題の成果を公表していく。

## 4. 研究成果

本研究では、研究代表者がこれまでに確立してきた微量試料で物質拡散係数を導出する測定法を用い、ヒト体内環境がタンパク質の物質輸送現象にどのような影響を及ぼすかについて、周囲環境を変えた観察実験を行い、その評価を行ってきた。試料としては卵白より抽出されるリゾチームを用いた。

計測に先立ち、まず研究代表者が既に設計開発していた高精度干渉計を改良し、実験による偏り誤差を5%以内に抑えた。また、同条件で繰り返し実験を行い偶然誤差による不確かさ評価を低減させ、高信頼度のデータを取得できるシステムを構築した。この測定系を用い、上記タンパク質の拡散実験を実施した。医学系研究協力者の意見をもとに擬似生体条件下でタンパク質非定常拡散場の観察実験を実施した。具体的には、リゾチームの拡散現象と拡散場周囲環境との関係を明らかにした他、移動物質（溶質）が系内に複数存在する多成分系の拡散現象に着目し、無機塩溶質の濃度勾配が存在する中、クーロン力の影響を受けてタンパク質移動現象がどのように変化するかについて観察実験を行った。この結果、無機塩溶質が希薄な状態では、タンパク質および無機塩は互いに独立した拡散現象を呈することを明らかにした。

また、外力によりタンパク質やアミノ酸輸送現象の能動制御が可能であるかの基礎的実験を行った。具体的には電場を印加した実験を行い拡散現象を評価した。その結果、物質移動現象を能動的に制御するには、強力な外力場の印加が必要となり、生体に適

用する場合は副作用的な要素も十分考慮しなければならないことが明らかとなった。さらに、外力の新たなパラメータとして、拡散場のpHを変化させて実験を行った。これまで行ってきた温度、濃度、および成分構成の他に、新たなパラメータを増やすことで拡散現象を観察し、周囲環境諸条件がどのように物質輸送現象に寄与するかを総合的に評価した。拡散係数のデータベースの構築の観点からは、これまで試料として用いてきたタンパク質であるLysozymeの他に、BSAも試料として加え、これまでと同じパラメータ条件の下、実験を行った。両者は分子量等が大きく変わるわけではなく、等電位点も大きな差はない。しかし、統計力学的な視点からは、剛体球および軟体球でモデル化されるところに大きな違いがある。この違いが物質輸送現象にどのような影響を及ぼすかについても検討を行った。半年の研究期間延長を選択し、より深い実験を実施した。これらの新パラメータを考慮した更なる実験により、タンパク質の構造自体が物質拡散の濃度依存性に大きな影響を及ぼしていくことを実験的に捉えることができた。

以上、研究年度内に得られた成果の一部は国内外の学術講演会にて発表を行っており、多くの評価を得た。

## 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)

[雑誌論文] (計 3 件)

1. J.F. Torres, A. Komiya, J. Okajima and S. Maruyama, Measurement of the Molecular Mass Dependence of the Mass Diffusion Coefficient in Protein Aqueous Solutions, Defects and Diffusion Forum, Vol. 326-328 (2012), pp.452-458. 査読有  
DOI:10.4028/www.scientific.net/DDF.326-328.452
2. A. Komiya, J.F. Torres and S. Maruyama, Measurement of Mass Diffusion Coefficient of Multi-Component System in Aqueous Media by Phase Shifting Interferometer, Defect and Diffusion Forum, Vol.297-301 (2010), pp.624-630. 査読有  
DOI:10.4028/www.scientific.net/DDF.297-301.624
3. 小宮敦樹, 円山重直, 守谷修一, タンパク質物質拡散現象における広域緩衝液の影響評価, 熱物性, Vol.24-1 (2010), pp.15-20. 査読有

[学会発表] (計 14 件)

1. A. Komiya and J. Chevalier, Experimental

- Trial to Active Control of Protein Mass Flux in Hindered Diffusion Field, 23rd International Symposium on Transport Phenomena, (2012.11.20), Auckland, New Zealand
2. J.F. Torres, A. Komiya, D. Henry and S. Maruyama, Measurement of Soret Coefficients in Binary Solutions by Phase-Shifting Interferometry, 10th International Meeting on Thermofusion, (2012.6.7), Brussels, Belgium
  3. A. Komiya, S. Livi, S. Pruvost and J. Chevalier Active Mass Transfer Control in Diffusion Field by Smart Materials, 2012 Annual ELYT Workshop, (2012.3.13), Gien, France
  4. E. Shoji, A. Komiya, J. Okajima and S. Maruyama, Visualization and Measurement of Natural Convection around Vertical Flat Plate by Common Path Phase-Shifting Interferometer, The 22nd International Symposium on Transport Phenomena, (2011.11.9), Delft, Netherlands
  5. 小宮敦樹, 円山重直, J.F. Torres, 庄司衛太, 光学干渉計による物質拡散場および温度境界層の高精度可視化, 日本機械学会熱工学コンファレンス 2011, (2011.10.29), 浜松
  6. J.F. Torres, A. Komiya, J. Okajima and S. Maruyama, Evaluation of the Concentration Dependency of Mass Diffusion Coefficients in Aqueous Binary Solutions, The 7th International Conference on Diffusion in Solids and Liquids, (2011.6.28), Algarve, Portugal
  7. J.F. Torres, 小宮敦樹, 岡島淳之介, 円山重直, 高分子化合物の水溶液内物質拡散係数の濃度依存性測定, 第48回日本伝熱シンポジウム, (2011.6.1), 岡山
  8. G. Rosengarten and A. Komiya, Diatoms, Diffusion and Membranes, The Tenth International Symposium on Advanced Fluid Information and Transdisciplinary Fluid Integration, (2010.11.2), Sendai, Japan
  9. A. Komiya, J.F. Torres, J. Okajima and S. Maruyama, Measurement of the Concentration Dependency of Mass Diffusion Coefficients in Aqueous Binary Solutions by Phase-Shifting Interferometer, The Ninth Asian Thermophysical Properties Conference, (2010.10.19), Beijing, China
  10. A. Komiya, J.F. Torres, J. Okajima, S. Moriya, S. Maruyama and M. Behnia, An Investigation of Concentration Dependency of Mass Diffusion Coefficients in Multi-Component Diffusion, The 14th International Heat Transfer Conference, (2010.8.9), Washington D.C., US
  11. A. Komiya and S. Maruyama, Evaluation of the Effect of Gravity Force on Transient Mass Diffusion Fields, The 38th Committee on Space Research (COSPAR10), (2010.7.20), Bremen, Germany
  12. A. Komiya, J.F. Torres, J. Okajima and S. Maruyama, Experimental Trial to Determine Mass Diffusion Coefficients in Multi-component System, 7th Pacific Symposium on Flow Visualization and Image Processing, (2009.11.16), Kaohsiung, Taiwan
  13. J.F. Torres, 小宮敦樹, 岡島淳之介, 円山重直, 位相シフト干渉計を用いた多成分系非定常拡散場の計測と逆問題解析による物質拡散係数および濃度比の導出, 第30回日本熱物性シンポジウム, (2009.10.28), 米沢
  14. A. Komiya, J.F. Torres, J. Okajima and S. Maruyama, Measurement of Mass Diffusion Coefficient of Multi-Component Systems in Aqueous Media by Phase Shifting Interferometer, 5th International Conference on Diffusion in Solids and Liquids, (2009.6.25), Rome, Italy
6. 研究組織  
 (1) 研究代表者  
 小宮 敦樹 (KOMIYA ATSUKI)  
 東北大学・流体科学研究所・准教授  
 研究者番号：60371142