

I-01

車両旋回時のロール姿勢変更によるドライバと パセンジャの官能評価と車両運動特性の基礎解析

(近畿大学高専総合システム工学科¹, 近畿大学高専²)

○田中蒼竜¹・山田泰輝¹・廣瀬泰斗¹・武馬 修一²

キーワード：シミュレータ, 車両運動, ロール姿勢, ドライバ評価, パセンジャ評価

1. 緒言

1990年代のアクティブサスペンション車の目標ロール姿勢に逆ロールは評価が低く採用されなかった。近年、パーソナルモビリティビークルや一部の欧州高級乗用車は逆ロール姿勢を採用してきている。このような市場要求の変化の中、一般的な市場走行において、大きくロール角を正逆に振った事により官能評価がどのように変化するのかをドライバとパセンジャにて実験し考察する。

2. 評価内容

ロール角と前景が模擬できるシミュレータを使い、車両運動シミュレーションと連動させて、正・逆のロール角を大きく変化させ、その時の車両運動特性とドライバとパセンジャの官能評価値の関係について調査解析する。

1) 実験方法

- ・試乗順番：目標ロール角 0, +3, -3, +6, -6°
- ・運転回数：各条件 2 回。2 回目のデータ比較
- ・走行コース：一般的市街地の連続コーナー
- ・車速は 40km/h 一定の走行。

2) 車両実験条件

使用したシミュレータを図 1 そして目標ロール角と車両諸元を以下に表 1 に示す。



図 1 Simulator

表 1 Parameters

目標Roll角	6deg	3 deg	0 deg	-3 deg	-6deg
サスペンション仕様	オリジナル	オリジナル	コロイダルシリンダー	コロイダル装着車両に対しロールゲイン変更	コロイダル装着車両に対しロールゲイン変更
バネ定数[N/mm]	83.12	83.12	1800	1800	1800
減衰係数[N/0.1m/s]	640	640	4500	4500	4500
ロール再現ゲイン	K=2	K=1	K=1	K=-4.4	K=-8.8

3) 計測項目

1) 被験者 7 名の官能評価はドライバ席はハンドルフィーリング, ロール応答, ヨー応答, 運転のしやすさ. パセンジャ席は乗り心地をそれ

ぞれ項目 5 点満点の評価する。

2) 車両運動特性は舵角, ロール角, 横加速度, ヨーレート値を代表値としてシミュレーション演算値から抽出し比較評価する。

3. 実験結果

図 2 に車両運動特性のロール角を代表値として時系列の波形結果を示す。5 条件の波形の Peak to Peak 値を抽出し相関を調査。シミュレータの逆ロール値(赤色)は逆方向に成立。

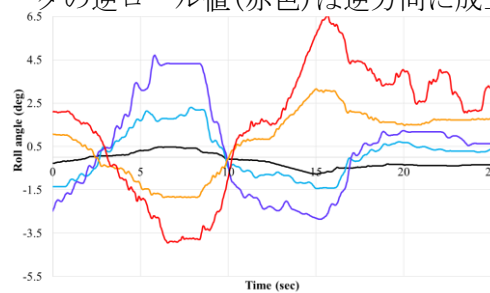


図 2 Roll Angle

官能評価値と強い相関が有ったのはロール角であり, Driver は逆ロールほど官能値が高く, Passenger はロール角が小ほど好評であったことを示す。図 3 に示す。

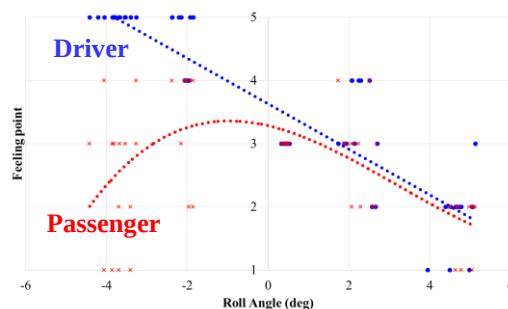


図 3 Correlation of Roll Angle and Sensual value

4. まとめ

- 1) Driver は逆ロールほど好評価。
- 2) Passenger はロール小が好評。
両立する好評点はロール角が-1~0deg.
- 2) 今後の課題は早いレーンチェンジ走行や車速を変えた条件変更による検証必要。

お問い合わせ先

氏名：武馬 修一

E-mail：buma@kct.ac.jp

段階的投与の弱磁場領域の効果検証

(和歌山高専知能機械工学科¹、和歌山高専専攻科メカトロニクス専攻²)○青松好雄¹・川尻裕寅²・早坂良¹

キーワード：分子流体シミュレーション、磁気溶液堆積法、磁性ナノ粒子、薄膜、磁場

1. 緒言

近年、高密度な磁気記録材料を生成する磁性材料としてFe-Pt系材料が着目され、幅広く研究されている。しかしながら、5nm程度の粒子径となるとナノ粒子を規則正しく配置する技術は困難を極めることになる。この問題を解決する方法として本研究グループでは新たに磁気溶液堆積法¹⁾を考案した。

これは強磁性ナノ粒子を溶液に懸濁し、粒子間磁気力や粒子の質量密度などの物性に応じて、印加磁場の強さと溶液の温度を適切に制御することで、全粒子を沈降させることで薄膜を生成する方法である。本グループではこの生成過程を分子流体シミュレーション¹⁾により詳細に解析してきた。その結果、薄膜生成には限界点が存在することが明らかになった。

以上のような背景から、本研究ではその限界点を突破する工夫として粒子の投与を段階的にすること考え、その効果を詳細に検討する。

2. 粒子モデルと運動方程式

本研究では粒子モデルとして、その表面を厚さ δ の界面活性剤によって一様に被覆された球状粒子を考える。なお、 ρ は粒子の質量密度、 m は磁気モーメントの大きさ、 d は粒子個体部の直径、 V は粒子の体積、 g は重力加速度を表す。このような粒子には、粒子 i, j 間の粒子間磁気力およびトルク、粒子 i と印加磁場 $\mathbf{H}(\mathbf{H}=|\mathbf{H}|)$ との相互作用に基づくトルク、界面活性剤層の重畳に起因する斥力、さらにブラウン運動に起因するランダム力とランダムトルクが作用し揺動散逸定理で表現される。また溶液の粘度は μ で密度が ρ' とする。粒子の並進および回転の運動方程式はランジュバン方程式で表現される。

粘性摩擦により慣性項は無視できるオーダーとなり、浮力を基準にして運動方程式を無次元化し差分式に変形する。無次元化した力およびトルクの式には以下の無次元パラメータが現れる。

ここに、 R_B は浮力に対するランダム力の大きさ、 R_H は浮力に対する印加磁場の強さ、 R_m は浮力に対する粒子間磁気力の大きさを表す、 R_ρ は粒子と液体の質量密度の比を表す。

$$\begin{aligned} R_B &= \frac{kT}{\rho' g V d}, & R_H &= \frac{\mu_0 m H}{\rho' g V d}, \\ R_m &= \frac{\mu_0 m^2}{4\pi d^4 \rho' g V}, & R_\rho &= \frac{\rho}{\rho'} \end{aligned} \quad (1)$$

3. 計算条件と段階的投与

シミュレーションは3次元系に対して行う。粒子濃度を表す面積分率は $\phi_A=0.145$ で全粒子数を $N=1400$ とし、これに対応する領域の長さは $L_x = 87.5000$, $L_y = 87.5000$, $L_z = 86.6025$ である。境界条件として重力方向には、一般的な衝突モデルである弾性反射、 x, z 軸方向には周期境界条件を適用した。粒子の初期条件として、粒子をランダムに配置し、粒子の磁気モーメントはすべて磁場方向を向いているとした。印加磁場の強さを $R_H=10$ から30の3通り、懸濁液の温度に起因するランダム力 $R_B=0.01$ から0.10の10通り、粒子間磁気力の強さ $R_m=3$ から30の10通りに設定し、 $R_\rho=3$ から30の10通りの場合の全3000通りの計算を行った。

総時間ステップは $\text{NTIMEMX}=2000000$ として、計算開始直後に140個の粒子を投与し、その後時間ステップ $\text{NTIME}=100000$ ごとに、計10回投与した。

4. 結果と考察

4. 1 沈降過程とスナップショット

粒子の沈降過程を定量的に把握するために、横軸に時刻、縦軸にその時刻で最上位に存在す

る粒子の位置を示した結果を図 1 に示す. なお, 両軸ともに対数を取っており, 縦軸の値が 0.5 にあるときは全ての粒子が最下層に沈降していることを意味している. 無次元パラメータは図 1 に示す通りであり, 密度比は $R_\rho=30, 15, 12, 6$ を抽出している. 図より $R_\rho=12, 6$ は全粒子が最下層に沈降していないことがわかる. 最終的に, 縦軸の値が 0.5 になり全粒子が最下層に沈降しているのは $R_\rho=30$ と 15 なので, このときは所望の薄膜がえられていると期待される.

粒子の状態をさらに詳しく検証するためにスナップショットを図 2 に示す. 条件は図 1 と同じで, 密度比は $R_\rho=30$ を掲載している. 図 2 (a) は計算開始時に全粒子 1400 個を一度に投入した先行研究¹⁾の結果である. このとき 5 個程度の空間的なクラスタが形成されており所望の薄膜が得られていないことがわかる. 図 2(b) は段階的に投与した本研究の結果である. このときはクラスタを形成せず, 全粒子が沈降し所望の薄膜が得られていることがわかる.

4. 2 薄膜生成条件

図 3 は所望の薄膜が得られる条件を統計的に考察するため, 最終時刻における最大クラスタサイズを構成しているサイズを等高線で示したもので, (a) は先行研究, (b) は本研究の結果である. 全体的に本研究のほうがクラスタサイズが小さいことがわかる. さらに詳しく見ると, クラスタサイズが 1 で所望の薄膜が得られている青色領域は(a)では $R_m=12$ までしかないが, (b)では $R_m=15$ の領域まで薄膜ができていることがわかる. 結果的に薄膜ができる条件数は 31 通りから 36 通りまで向上している.

図 4 は横軸にランダム力 R_B をとり, 薄膜が形成される条件の数を示したものである. 先行研究を線で示し, 本研究の結果をプロットしてある. 全体的に本研究のほうが条件数が上回っていることがわかる. その効果は, 磁場が強くなるに従って顕著になっていることもわかる. このことから段階的投与は非常に有効な手段であるといえる. 今後はさらに印加磁場を強くした解析を進める必要がある.

参考文献

1) 早坂, et. al., 日本機械学会論文集, 83 巻, 854 号, 17-00180(2017)

謝辞

本研究は JSPS 科研費 JP 18K04819 の助成を受けたものです.

お問い合わせ先

氏名: 早坂良

E-mail: hayasaka@wakayama-nct.ac.jp

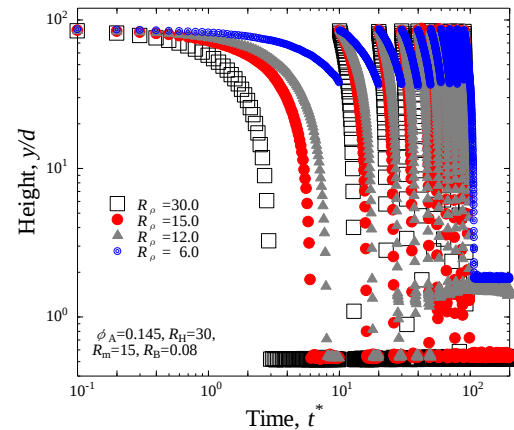
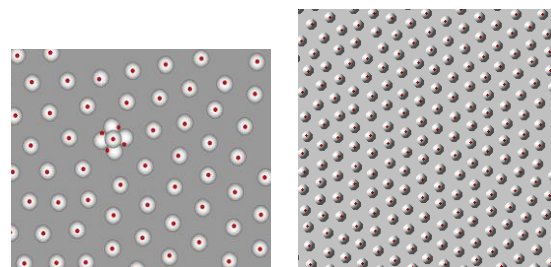


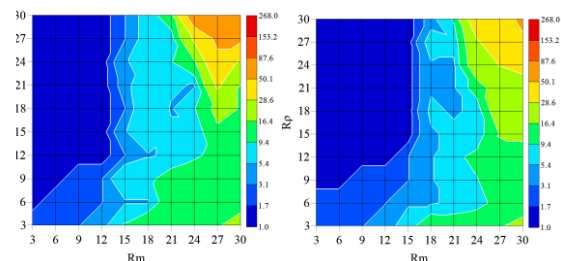
図 1 最上位粒子位置の時間変化



(a) 先行研究(Nor.)

(b) 本研究(Ste.)

図 2 スナップショット($R_\rho=30$)



(a) 先行研究(Nor.)

(b) 本研究(Ste.)

図 3 最大クラスタサイズ($R_H=30, R_B=0.08$)

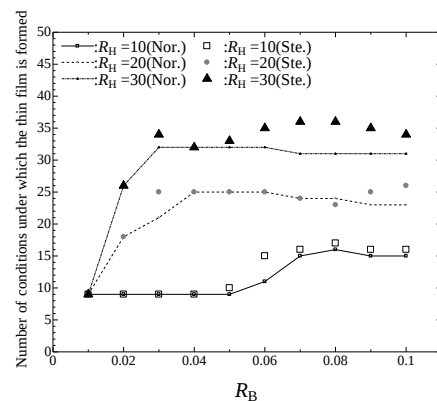


図 4 薄膜生成条件数

流体粒子シミュレーションによる検証

(和歌山高専知能機械工学科¹⁾)○東知希¹⁾・西田翔¹⁾・早坂良¹⁾

キーワード：流体粒子シミュレーション，磁気溶液堆積法，磁性ナノ粒子，薄膜，高密度

1. 緒言

近年，高密度な磁気記録材料を生成する磁性材料としてFe-Pt系材料が着目され，幅広く研究されている．しかしながら，5nm程度の粒子径となるとナノ粒子を規則正しく配置する技術は困難を極めることになる．この問題を解決する方法として本研究グループでは新たに磁気溶液堆積法¹⁾を考案した．これは強磁性ナノ粒子を溶液に懸濁し，粒子間磁気力や粒子の質量密度などの物性に応じて，印加磁場の強さと溶液の温度を適切に制御することで，全粒子を沈降させることで薄膜を生成する方法である．前報¹⁾では粒子濃度の設定において，平均粒子間距離を $l^*=2.5$ にするため面積分率は $\phi_A = 0.145$ にした．しかしながら，さらに記録容量が大きい，高密度な薄膜を作製することが望まれる．

以上のような背景から，平均粒子間距離が $l^*=1.5$ の薄膜の作成を目指すため，面積分率は $\phi_A = 0.403$ に設定し，超高密度薄膜形成過程および生成の可能性を検討することを目的とする．

2. 粒子モデルと運動方程式

本研究では粒子モデルとして，その表面界面活性剤によって一様に被覆された球状粒子を考える．なお， ρ は粒子の質量密度， m は磁気モーメントの大きさ， d は粒子個体部の直径， V は粒子の体積， g は重力加速度を表す．

浮力を基準にして運動方程式を無次元化し差分式に変形する．無次元化した力およびトルクの式には以下の無次元パラメータが現れる．

$$R_B = \frac{kT}{\rho' g V d}, \quad R_H = \frac{\mu_0 m H}{\rho' g V d},$$

$$R_m = \frac{\mu_0 m^2}{4\pi d^4 \rho' g V}, \quad R_\rho = \frac{\rho}{\rho'}$$

(1)

R_B は浮力に対するランダム力の大きさ， R_H は浮力に対する印加磁場の強さ， R_m は浮力に対する粒子間磁気力の大きさを表す， R_ρ は粒子と液体の質量密度の比を表す．ここに k はボルツマン定数， T は溶液の温度である．

3. 計算条件

シミュレーションは3次元系に対して行う．粒子濃度を表す面積分率は $\phi_A = 0.403$ で全粒子数を $N=1400$ とし，これに対応する領域の長さは $L_x = 52.5000$ ， $L_y = 52.5000$ ， $L_z = 51.9615$ にした．

4. 結果の一部と考察

図1は面積分率が $\phi_A = 0.403$ ，印加磁場の強さが $R_H=100$ ， $R_m=9$ ，ランダム力が $R_B=0.07$ ，時刻 $t^*=200$ ，密度比が $R_\rho=3$ のときの結果である．全粒子が沈降しておらず，所望の薄膜が得られていない．これは粒子濃度が高く，粒子間磁気力により空間的なクラスタ，スナップショットでもその様相が確認できる．平均粒子間距離が $l^*=1.5$ になるような超高密度な薄膜の作成は困難が予想される．今後，さらなる工夫が必要となる．

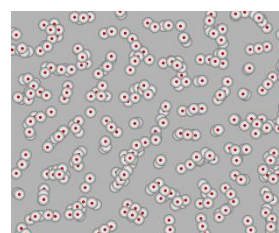


図1 スナップショット

参考文献

1)早坂, et. al., 日本機械学会論文集, 83巻, 854号, 17-00180(2017)

お問い合わせ先

氏名：早坂良

E-mail：hayasaka@wakayama-nct.ac.jp

(和歌山高専 知能機械工学科¹⁾)○三岩功季¹・島田小太郎¹・山本和波¹・北澤雅之¹

キーワード：ノイズキャンセリング, ANC, 家庭騒音

1. 緒言

家電製品が発する騒音は日常生活に大きな影響を及ぼす因子の一つである。環境省が実施した騒音規制法施工状況調査では、平成 22 年に 15000 件以上の騒音に関する苦情が地方公共団体に寄せられている。それによると、エアコンの室外機や、掃除機のモータ音などが家庭内の生活騒音として挙げられている。そのため家庭内騒音を抑制することができれば生活環境が大きく改善されることが考えられる。

そこで本研究では騒音を抑制する方法としてノイズキャンセリングシステムの技術を応用し、家庭騒音を低減させる装置を試作することにした。ここでは、家庭騒音として掃除機の騒音を目標とする。

2. ノイズキャンセリングとは

ノイズキャンセリングとは Active Noise Control (能動的騒音制御)(以下 ANC)の技術を用いた消音システムであり、ANC とは採取したノイズの波形を分析し、図 1 に示すようにノイズの波形と逆位相の波形を出力することでノイズを相殺し消音する技術である。

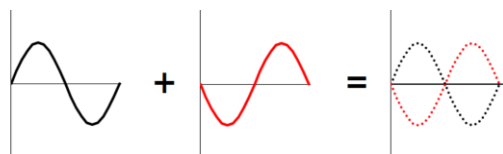


図 1 ANC 原理

ANC による消音技術はすでに工場の排気ダクトなどに応用されたり¹⁾、農業機械騒音低減に一定の効果が確認されたりしている²⁾。しかしいずれも ANC に適した音場であり、家庭製品にそのまま適用することは難しいと思われる。



図 2 作成した ANC 回路

3. 実験システムの構築と実験手順

電子耳栓の回路図を参考に図 2 に示す ANC 回路を作成した。これを用いて図 3 に示す実験システムを構築した。ノートパソコン 2(以下 PC2)から原音となるサイン波、ノコギリ波(800Hz)を生成し、スピーカー 2 で音を出力した。スピーカー 2 から出力された音をスピーカー 1 から 30cm 離れた位置にあるマイク 1 で集音し、ノートパソコン 2(以下 PC2)を用いて波形を観察した(図 4 に示す原音波形)。

その後、スピーカー 2 から出力された音をマイク 2 により集音した。その音を ANC 回路に入力して逆位相の波形を生成し、スピーカー 1 から出力した。両スピーカーから出力された音をマイク 1 で同時に集音し、ノートパソコン 1(以下 PC1)を用いて波形を観察し音の低減具合を観察した(図 4 に示すキャンセリング後の波形)。

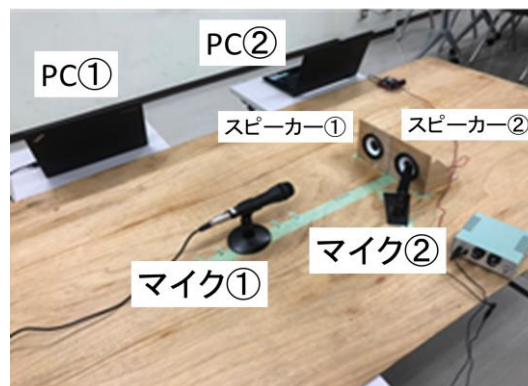


図 3 実験システム

4. 実験結果

図 4 にサイン波、ノコギリ波の原音波形とキャンセリング後の波形を示す。この図より両波形とも、振幅が減少していることから ANC 回路が波形を反転させ、原音と逆位相の音が互いに相殺しあっていることが確認できる。

しかし、実際に音を聞いたところノコギリ波ではキャンセリング後の方が原音に比べ音が大きく感じられた。そこで騒音計を使用し各 3 回ずつ測定し平均値を比較したところ、表 1 に示すようにサイン波は dB 値が小さくなっているもののノコギリ波は原音に比べキャンセリング後の方の dB 値が大きくなっていること

が分かった。

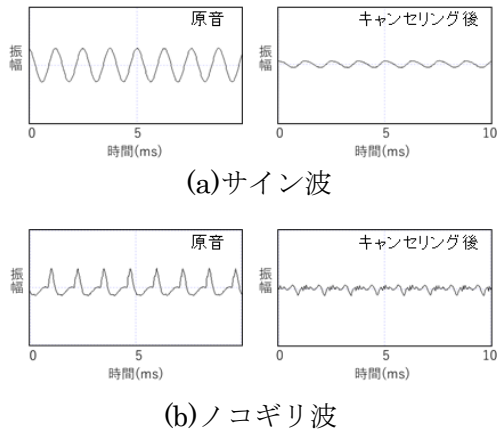
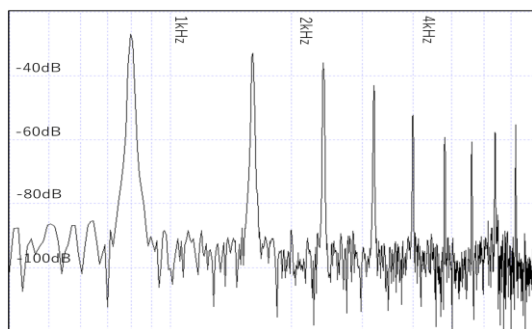


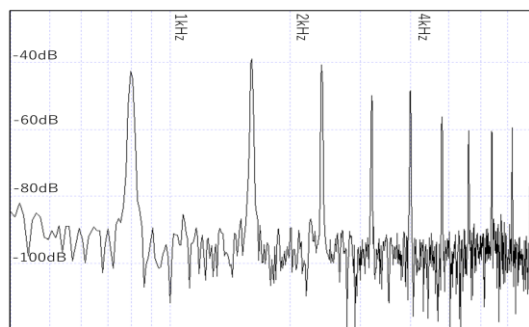
図 4 ANC 効果測定結果

表 1 騒音計による測定結果

測定値(dB)		
	原音	キャンセリング後
サイン波	72.4	71.2
ノコギリ波	69.2	72.7



(a)原音



(b)キャンセリング後

図 5 スペクトラム解析結果

この原因を調べるためノコギリ波のスペクトラム解析を行い、周波数成分を比較した。その結果を図 5 に示す。すると、PC2 で出力した周波数の音(800Hz)は低減できているがそ

の周波数の倍音に対する音は低減されていないことが分かった。

5. 考察

本研究で、サイン波に関する低減効果を確認することができたもののノコギリ波に関しては低減することができなかった。この理由の一つとして倍音の影響が考えられる。サイン波はピュアトーンとも呼ばれ、倍音がほとんど発生しない。しかし、ノコギリ波は倍音の影響を受けやすく、今回作成した ANC 回路では倍音の影響は考慮していなかったためにキャンセリング後の方が原音より大きく計測されたのではないかと考える。

また、人の聴覚と周波数の関係を表した等ラウドネス曲線(2003 年に新たに ISO 226 として国際規格化)によると人は特に、2kHz~6kHz の音を敏感に感じる事が分かっている。今回低減することのできなかった倍音は特にこの周波数帯に多く含まれているため、騒音計による測定値以上に感覚として音が大きく感じられたと考えられる。

6. 結言

本研究ではノイズキャンセリングシステムを応用し、家庭騒音を低減させることを目的とし検討を行った。実験の結果、サイン波もノコギリ波も波形を反転させ、原音を逆位相の音で相殺することが可能であるということが確認できた。サイン波のような倍音が発生しにくい音では音を相殺し、実際に音を低減させることが可能であることが分かった。しかし、ノコギリ波のような倍音の影響を受ける音では倍音の影響で騒音が増加するということが分かった。

一般的に使われている家庭用掃除機は様々な周波数帯の音が混ざり合っており、中にはノコギリ派のような倍音を発生させる音も含まれている可能性がある。そのため、今後の研究では、いかに倍音を低減していくかが課題である。

7. 参考文献

- 1) アクティブ騒音制御装置 ANC-Duo
http://www.anc-labo.com/images/ANC_Duo_TechBrief_2015.pdf
- 2) 日野翔太 他 3 名, アクティブノイズコントロールを用いた農業機械騒音の低減に関する基礎的研究, 九大農学芸誌第 70 巻第 1 号, pp.7-14 (2015)

お問い合わせ先

氏名: 北澤雅之

E-mail: kitazawa@wakayama-nct.ac.jp

クリンチ接合体の耐水素脆化特性の向上

(久留米高専材料工学科)

○吉崎綾人¹・佐々木大輔²

キーワード：メカニカルクリンチ、水素脆化、軟鋼、引張破壊

1. 緒言

自動車の車体はプレス成形した鋼板を溶接することにより組み立てられている。近年、車体の軽量化のために比強度の高いアルミニウム合金が使用されているが、溶接の際に、熱により強度低下するなどの欠点がある。そのため、低コストかつリベットなどの部品を必要としないメカニカルクリンチの利用拡大が望まれている。メカニカルクリンチとは、積層した板の一部をパンチでダイ側に押し込み、かしめることで接合する方法である。しかし、接合過程において接合部では結晶粒微細化および加工硬化が生じ、縦割れなどの応力集中源の要因となる。これらは遅れ破壊の原因となる水素脆化現象を助長する¹。また、水素脆化が発現しないとされてきたパーライト体積率の低い軟鋼材でも、塑性接合体では発現することが報告^{2,3}されている。したがって、加工時の内部縦割れを防ぐことが重要である。

本研究では、予ひずみ除去のため軟鋼材（以下 SPCC 材と呼ぶ）を加工前に変態点（727℃）以下にまで昇温させ、A5052 材とのメカニカルクリンチ接合を行い、その接合体の引張強度と破壊挙動に及ぼす水素の影響を調査した。

2. 実験方法

接合にはメカニカルクリンチを用い、ダイ直径 9.4 mm、ダイ深さ 2.0 mm、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min とした。SPCC 材については試験前に簡易雰囲気炉を用いてそれぞれ 500℃、600℃、700℃で 3 分間保持し、炉から試験片を取り出し、すばやく接合を行った。接合時は荷重が 30000 N を越えると自動的に停止するように試験機を設定した。接合後はスカイカッターを用いて接合部を切断した。切断面を 1.0 μm、0.3 μm のアルミナ粉で 10 分間、0.05 μm のコロイダルシリカで 20 分間研磨後、界面活性剤および超音波洗浄機を用いて洗浄し、光学顕微鏡（OM）による観察を行った。

3. 実験結果

接合時の荷重変位線図を Fig.1 に示す。各温度で熱処理を行った接合体と未処理の接合体とでは大きな差は見られなかったことから、接合前の熱処理が SPCC 材の強度へ影響を及ぼさないことがわかる。また、0 から 0.7mm、0.7 から 2 mm、2mm 以降の範囲で傾きの異なる線形的な変化となった。Fig.2 に OM による未処理材と 500℃で熱処理をした接合体の切断面観察結果を示す。熱処理を行った接合体には縦割れ、接合部表面からの割れは確認されなかった。しかし、未処理材では表面から 0.17 mm のき裂が発生していることが確認された。

4. 考察

Fig.2 において熱処理をした接合体にき裂が見られなかったこと理由として以下のことが考えられる。1) 市販の軟鋼材を使用したため、その鋼板製造時の予ひずみを熱処理によって解消し、転位の堆積を低減した。2) 室温よりも高い温度で接合することにより、転位の動的回復を促した。

先行研究⁴では、予ひずみ量に応じて侵入する水素量も増加することが報告されている。接合時には塑性変形を伴うため、接合部にひずみが局所的集中する。転位の動的回復が起こっているならば、侵入する水素量も低減すると考える。したがって、今後は EBSD 解析、KAM 解析によりひずみ分布解析を行い、熱処理が及ぼす微視的な影響を明らかにする。

5. 結言

本研究により、以下の知見を得た。

1) 接合前の荷重変位線図からは、接合前の熱処理による影響は確認されなかった。

2) OM 観察では、未熱処理材からは接合部表面からの割れが確認されたが、熱処理材からは縦割れおよびき裂のどちらも確認されなかった。

3) き裂が確認されなかった理由として、熱処理による鋼板製造時の予ひずみの解消、転位の動的回復が考えられる。

謝辞

本研究は第 26 回鉄鋼研究振興助成受給の支援を承りました。ここに感謝の意を示します。

お問い合わせ先

氏名：佐々木 大輔

E-mail : d-sasaki@kurume-nct.ac.jp

6. 参考文献

- [1] 西口廣志, 松田悠太, 福田孝之, 東田賢二, 山辺純一郎, 松永久生, 材料, 67(2018)7.
- [2] 佐々木大輔, 丹羽侑希, 加藤亨, 材料, 67(2018), 2.
- [3] 小山元道, 秋山英二, 津崎兼彰, 鋼と鉄, 100(2014), 9.
- [4] 松尾尚, 本間伸浩, 松尾三郎, 村上敬宜, 日本機械学会論文集 A 編, 74(2008), 744.

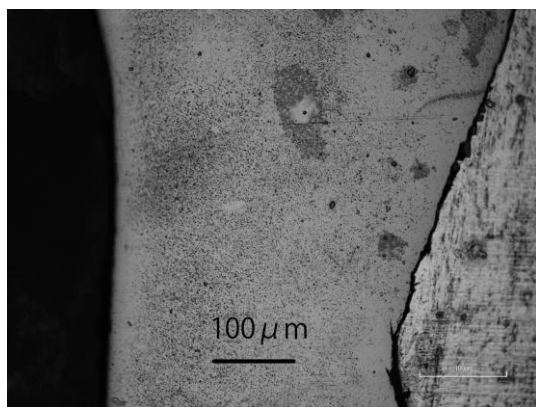
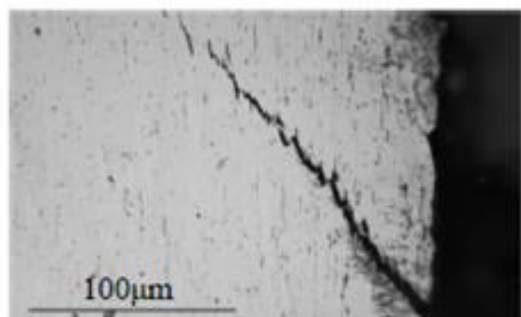
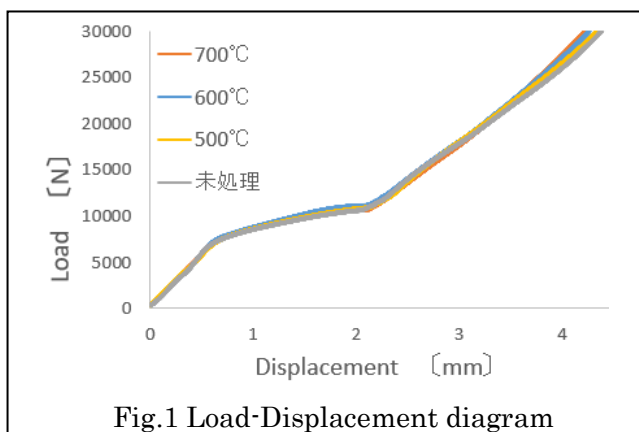


Fig.2 Cross sectional diagram

キーワード：噴流、5 角形ダクト、拡散制御、方向制御、流れの可視化

1. 緒言

5 角形ダクトの 1 つの頂点の外側から、主噴流に向けてシンセティックジェット (SJ) を付加して、主噴流のせん断層を励起し、5 角形ダクト噴流の拡散制御および方向制御を行うことを目的とする。

2. 実験装置および方法

噴流の可視化のため、トレーサとして、グリコールの微粒子が混入された空気は、1 辺が 35.6[mm] で長さ 2,200[mm] の正 5 角形断面をもつダクトから自由噴流として流出する。図 1 に示すように、ダクト出口の 1 頂点の外側に SJ アクチュエーターが設置され、その底面に対して垂直、または 45 [°] の角度であけられた内径 4 [mm] の小孔から空気が $f = 500$ [Hz] で噴出・吸引することによって、SJ が流出する。CW-YAG レーザーのシート光が xOy 平面に照射され、可視化された流れは、噴流側方に設置された高速度カメラ (LaVision GmbH, Davis-HS-3D) によって撮影され、得られた画像情報の解析には、再帰的相関法に基づく市販の PIV ソフト (Davis 8.1.6) を用いた。ここで、ダクト出口における最大速度 $U_{0\max}$ および水力平均直径 $D_e = 49.1$ [mm] に基づくレイノルズ数は $Re = 5.6 \times 10^3$ である。なお、PIV 法におけるスケールファクターは 0.5656 [mm/pixel]、サンプリング周波数は 500 [Hz] およびサンプリング数は 3003 [個] とした。

3. 実験結果および考察

図 2(a) に示す xOy 平面における流れの可視化画像から、5 角形ダクト噴流において、 $y/D_e > 0$ の頂点側では流出した渦輪が上流で崩壊し、 $y/D_e < 0$ の底辺側ではロールアップ渦が巻き上がりながら下流へ進む。一方、図 2(b) に示す $\alpha = 45$ [deg.] でシンセティックジェット (SJ) を噴出させる場合、噴流は y/D_e の負側へ進み、 $y/D_e < 0$ の領域における噴流の広がりが大きいの。また、 y/D_e が正のダクト出口近傍において、SJ によって、周囲流体が x 軸付近まで達していることがわかる。

噴流幅を定量的に評価するため、流れの可視化画像に PIV 法を適用して得られた速度情報から半値幅を調べ、その結果を図 3 に示す。円形噴流の場合と比較して、5 角形ダクト噴流の半値幅は大きく、その増加率も高い。また、5 角形ダクト噴流の場合と比較して、 $\alpha = 0$ [deg.] の SJ を付

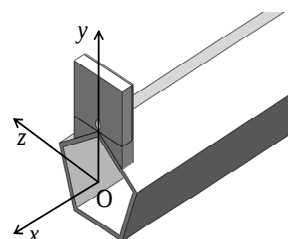
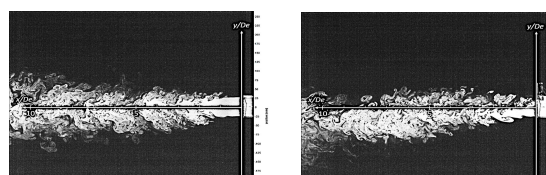


Fig.1 Flow field and coordinate systems



(a) Pentagonal Jet (b) SJ ($\alpha = 45$ [°])

Fig.2 Flow images (xOy plane)

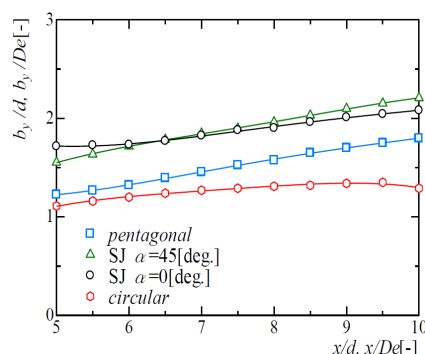


Fig.3 Variations of Half Width

加する場合の半値幅は増加し、噴流の拡散は促進される。さらに、 $\alpha = 0$ [deg.] の場合と比較して、 $\alpha = 45$ [deg.] の場合における半値幅の増加率は大きく、半値幅は $x/D_e > 7$ において大きくなる。これは、SJ を付加することによって、周囲流体の噴流内への誘因がさらに活性化されるためと思われる。

以上のことから、SJ を付加することによって、5 角形ダクト噴流の拡散制御および方向制御を行うことが可能であることがわかった。

お問い合わせ先

氏名：田畑隆英

E-mail：tabata@kagoshima-ct.ac.jp

I-07 感覚代行による視覚障がい者の色認識システムの開発

(函館高専 生産システム工学科)

○谷内 勇介・浜 克己

キーワード：感覚代行，スティーブンスの法則，ファントムセンセーション

1. 緒言

人間は、失われた感覚機能を補うために他の感覚が鋭くなる特徴を持っており、これを利用して残された感覚で失った機能を代行する感覚代行という方法がある。その一例である点字は触覚を用いた感覚代行の一種で、視覚障がい者のコミュニケーション手段として広く用いられている。しかし、点字には視覚機能として重要な文字の形状や色といった情報が含まれていない。また、先行研究[1]では、モノクロ画像を用いての物体認識は行われているが、色認識までには至っていない。

そこで、最終目標は視覚障がい者の方々が色空間を認識できることとした。その前段階として、本研究では健常者において視覚情報を使わずに用意した対象の色をそれぞれ識別できることを目的とする。さらに、心理 4 原色である赤、緑、青、黄からなる色相環に使われる 24 色と無彩色である黒、白、灰の 3 色の合計 27 色を対象に、それぞれの色認識を目指す。

本稿では、そのためのシステム開発の概要を報告する。

2. システム構成

以下に、本実験で開発する色認識システムの構成を示す。(図 1)

初めに Kinect からカラー映像を取り込む。Kinect は、今後深度のデータも認識させ、色空間を認識することを考慮して使用した。

Kinect から取り込んだ画像にはピクセルごとに RGB の色情報が 1 バイトの数値で格納されており、processing3 のライブラリを用いて

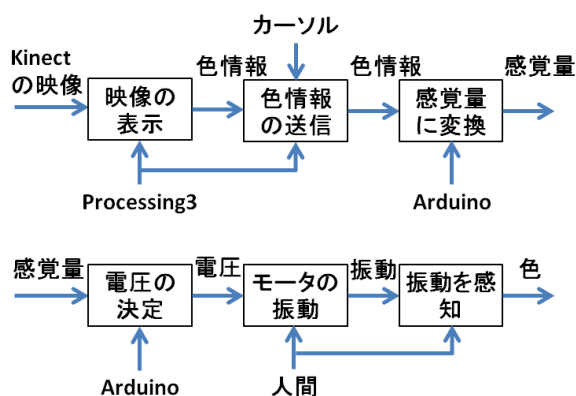


図 1：色認識システムの構成

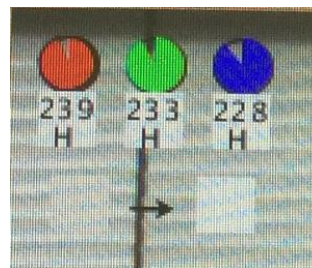


図 2：processing3 での実行画面

この情報を取得する。このとき、取得した色の赤、緑、青のそれぞれの強さを円グラフに、モータの振動の強さをその下示している。(図 2)

今回は、実行画面にある十字のカーソルで指定した色を認識させる方向で研究を進める。

取得したデータをシリアル通信で Arduino に送信し、A/D 変換をした値に応じて振動モータを動作させる。ここで、外界の物理量を人間の感覚量に変換するためにスティーブンスの法を用いている。この法則は、感覚量が物理的な刺激の強さのべき乗に比例するという法則であり、この関係を式(1)に示す。

$$R=ks^n \quad (1)$$

ここで、 R は感覚量、 s は物理量、 n は物理的な刺激の種類で定められる定数である。本研究では、3 原色を混色すると白に近づく加法混色という考えに基づいている。したがって、光が灰色の物体で跳ね返るときに使われている定数 $n=1.2$ を用いる。また、Kinect で扱われている 1 バイトの色情報を物理量 s として感覚量を算出しており、最大値は $255^{1.2}$ となる。これにより、算出した感覚量によって振動モータに入力する電圧を 3 段階に分ける。(表 1)

表 1：感覚量とモータ電圧の対応表

最大感覚量に対する割合	モータ電圧
2/3～	5V
1/3～2/3	2.5V
～1/3	0V

表 1 のように、振動させるモータを 3 個用いることで、全部で $3^3=27$ 通りの振動パターンを作ることができる。このモータ 3 個を、以下のように配置する。(図 3)

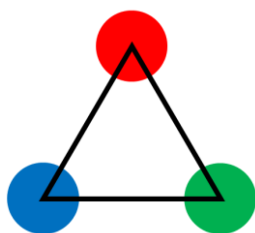


図 3：振動モータの配置イメージ

3. アプローチ

図 3 において、赤い円は赤用の振動モータ、緑の円は緑用の振動モータ、青い円は青用の振動モータを表している。

ここで、赤を認識させる場合は赤用のモータのみを振動させる。緑と青でも同様に振動させることで、振動する場所の違いが生じ、色の違いを認識することができる。

次に原色を 2 つ以上混合してできる色の認識について記述する。

この場合、ファントムセンセーション[2]という特性を用いて色認識を行う。ファントムセンセーションとは、人の皮膚に 2 点の振動刺激を与えた場合に、人間が刺激を与えられた 2 点間の 1 点で振動を錯覚する現象のことである。また、2 つの刺激に差がある場合、刺激の強い方向に振動を錯覚する地点が移動する。

このことを、黄色を例に挙げて説明する。黄色は赤と緑の光が混合することでできる色である。したがって、赤用のモータと緑用のモータを同時に振動させると、ファントムセンセーションによって 2 つの振動モータ間の 1 点で振動していると錯覚する。特に黄でも赤に近い場合には、赤用のモータの振動を緑用のモータの振動より強くすることで、振動を錯覚する地点を赤用のモータ側に移動することができる。

また、無彩色のように 3 つのモータを振動させる場合には、同様にファントムセンセーションによって図 3 における三角形領域内の 1 点で振動を錯覚することになる。

4. 実験

上記のアプローチに基づき、実際に健常者に対して運用実験を行う。本研究では、2 つの実験方法、評価の各項目について記述する。

4-1. ファントムセンセーションの検証

3 節で述べたファントムセンセーションの定義にしたがい、人間が実際にどのような錯覚を起こすかを検証した。

●実験方法

- ①手の甲に 2 個の振動モータを取り付ける(図 4)
- ②システムを動作させる。
- ③被験者にどこで振動しているかを指さしで示してもらう。

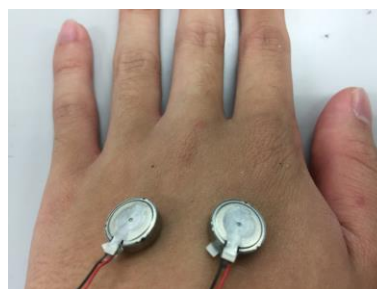


図 4：実験 1 における振動モータの配置

●実験結果

結果は、同じ大きさの振動が手の甲に発生した結果、被験者は全く振動を感知できなかったという回答であった。

この原因としては、同じ波長、振幅の波が重ね合わせの原理より互いに打ち消し合い、振幅が 0 で一定になってしまったことが考えられる。そこで、振動モータ同士の間隔を再度検討することで、この問題を解決しようと考えた。

4-2. 3 個の振動モータを用いた色認識システムの評価

この実験では、人間が 3 点の振動刺激に対して感知する皮膚感覚を、色認識に応用できるかを検証する。

●実験方法

- ①装着後、訓練として 27 色すべての振動パターンを使用者に学習させる。
- ②27 色をランダムに KinectV1 に映し、実行画面でカーソルを合わせて、モータを振動させる。このとき、被験者に口頭で認識した色を回答してもらう。
- ③認識にかかった時間と正否を記録する。
- ④7 色すべてで行った後、平均時間と正解率を算出して評価を行う。

●実験結果

この実験についてはまだ完了していないため、当日のスライドに定量結果を掲載する。

5. 結言

視覚障がい者の色空間の認識を目的に、感覚代行によって実現するシステムを構成し、簡単な実験を通じてその有効性を確認した。3 点での振動刺激への対応が、今後の課題である。

参考文献

- [1]<https://www.wicab.com/brainport-vision-pro>, アクセス日：4/27
- [2]<http://srdmechtohokuuacjp/ja/phantom-sensation/>, アクセス日：4/27
- [3]飯田健夫：感覚生理工学，コロナ社，pp. 62(2009)

お問い合わせ先

氏名：浜 克己

E-mail : hama@hakodate-ct.ac.jp

(仙台高専専攻科生産システムデザイン工学専攻¹, 総合工学科²)○窪田裕人¹・北島宏之²・大町方子²

キーワード：畳み込みニューラルネットワーク, ハイパースペクトル画像, 深層学習

1. 緒言

本研究では、ハイパースペクトル画像に対して畳み込みニューラルネットワーク(以下 CNN, Convolutional Neural Network)を用いてセグメンテーションを行う際の、入力データの差異による精度、必要データ量、計算コスト等の試算を目的とする。これにより、CNN を導入する際の指標となることを目指す。

2. 手法

以下、研究に用いるデータセットやニューラルネットワークの構造、検証手法について述べる。

2.1 データセット

本研究では、[1]で公開されるデータセットを用いる。これは、 145×145 Pixel のハイパースペクトル画像であり、400~2400nm の波長帯域において各バンドのスペクトル帯域幅 10nm, バンド数 200 を有している。

2.2 ニューラルネットワークの構造

本研究では、画像処理分野における物体認識で高い実績を持つ CNN を採用する。このニューラルネットワークは、主に畳み込み層とプーリング層と呼ばれる 2 種類の層から成り、特徴量の抽出と位置変化に対するロバスト性が付与されている[2]。その中でも、今回は画像をピクセル単位で分類するセグメンテーション手法により画像解析する。具体的には、セグメンテーション課題で成果を上げている U-net[3]によりセグメンテーションを行う。

2.3 入力データ形式

ハイパースペクトル画像は、カラー合成の際に割り当てるバンドを任意に変更することにより、様々な色相の画像を作り出すことが可能である。これらを利用し、今回は従来の RGB 画像色相の他に、GBR 画像などの様々な画像を生成し入力データとした場合や、全バンドのデータを 3 次元データとして入力データとした場合、各バンドの 2 次元データを入力データとした場合など、様々な入力データ形式ごとに画像の解析を行う。

3. 現在の進捗と今後の予定

現在、全バンドのピクセル値をラベル毎に解析し図 1 に示すグラフを作成することで有用なバンドを選定し、それを元に特定のスペクトル帯域幅のみを用

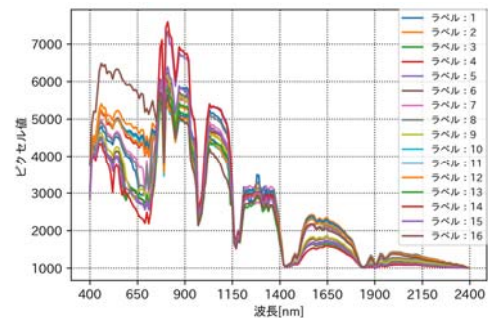


図 1 解析結果

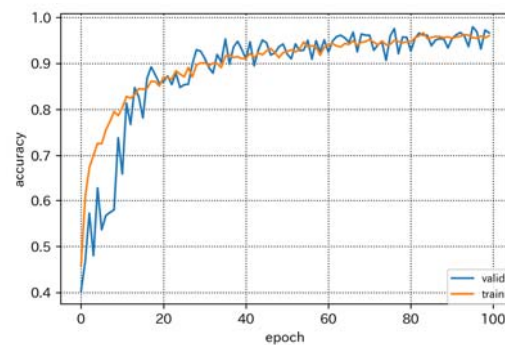


図 2 波長 750~950nm を用いた解析結果

いた解析を数種に関して終えている。図 2 に一例を示す。今後は、バンド単体を二次元配列データとして入力データを扱った場合や、様々なスペクトル帯域幅の組み合わせを検証することで、スペクトル帯域の選択による精度等の変化について検証する予定である。

参考文献

- [1] http://www.ehu.es/ccwintco/index.php/Hyperspectral_Remote_Sensing_Scenes#Indian_Pines
- [2] <https://jp.mathworks.com/discovery/convolutional-neural-network.html>
- [3] <https://lmb.informatik.uni-freiburg.de/people/ronneber/u-net/>

問い合わせ先

氏名：北島宏之

E-mail：kitag@sendai-nct.ac.jp

(仙台高専専攻科生産システムデザイン工学専攻¹, 総合工学科²)○松崎峻¹・北島宏之²・大町方子²

キーワード：距離センサデータ，ポリゴン，AR 技術

1. 緒言

近年，高度なセンシング技術が進歩し，生活の幅広い分野で利用が始まっている．中でも，自動運転やドローンによる土木測量など各種センサを利用した技術開発が盛んに行われている．しかし，それらに搭載されるカメラやセンサの多くは高価かつ用途が限られ，またセンサから取得されるデータは単なる数値データであることなど視認性や汎用性の向上は容易ではない．

そこで，本研究では，安価な距離センサから取得されるデータを三次元面に再構成することで，それらデータの視認性と汎用性の向上を目指す．加えて，距離センサデータの可搬性や，ドローンあるいはロボットに搭載した際の AR (拡張現実感，Augmented Reality) 技術への応用について検討する．

2. 距離センサデータの可視化

2.1 使用機器

本研究では，距離センサとして，センサ周囲水平面上の測長が可能であり，同種他センサと比較して安価な SLAMTEC 社製 RPLIDAR^[1]を使用する．また，アプリケーション開発には，実用時のユーザの操作がモバイル端末である場合にも配慮し，マルチプラットフォーム対応のゲーム開発エンジンである Unity^[2]を利用する．

2.2 距離センサデータの可視化

以下の手順により距離センサデータを三次元ポリゴン化することで可視化する．はじめに，単一水平面において物体までの距離データを取得し座標データに変換する．続いて，水平面を変更して同様に距離データ測定と座標データへの変換を行う．最後に座標データを基に三角形ポリゴンを構成することにより三次元化する．ここで，RPLIDAR の上下動は，精度を保つため Fig.1 に示すようにジャッキ上に固定し，高さを変更しつつ測定を行う．

3. 結果および考察

距離データから物体表面としての三次元面を三角形ポリゴンの集合として再構成することで可視化することができた．Fig.2 に結果を示す．しかし，数箇所ではあるが，他と比較して僅かに歪んだ形状のポリゴンが存在した．これは，センサから得られた距離データの誤差が原因と考えられる．大局的な面の認識には大きな影響はないが，高精細な三次元面



Fig.1 測定の様子

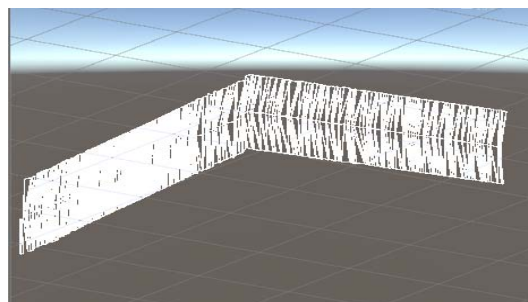


Fig.2 作成されたポリゴン

の構成には課題が残る．

三次元面による物体認識が可能となることで，ロボットの衝突回避経路探索などへの利用が可能と考ええる．加えて，本研究で扱うセンサデータの利用技術は，距離以外のセンサデータについても拡張できるため応用性が高いと考えられる．

4. 今後の予定

今回の実験では，測定の都合上，距離センサデータを一旦 CSV 出力し，その後にポリゴンを作成した．今後は，リアルタイム可視化技術のアルゴリズムについても検討を行いたいと考えている．加えて，AR プログラムの開発環境は整え済みであることから，AR 技術と組み合わせた視認性の向上についても検討する予定である．

参考文献

- [1] <https://www.slamtec.com/en/Lidar/A2> .
- [2] <https://github.com/zcyemi/Rplidar-Unity> .

問い合わせ先

氏名：北島宏之

E-mail：kitag@sendai-nct.ac.jp

(豊田高専専攻科電子機械工学専攻¹、豊田高専機械工学科²)○黒柳賢人¹・淵名皓平²・小谷明²・田中淑晴²

キーワード：衝撃波反射、衝撃波管、液体噴霧

1. 背景および目的

自動車等のエンジン内部では、噴射された燃液体燃料に着火されて爆発が生じ、衝撃波が発生する。発生した衝撃波は、エンジン内部の壁面にて反射するため、その衝撃波の反射形態はエンジンの性能向上において重要となる。気体中を伝播する衝撃波の反射形態は、気体の比熱比、衝撃波マッハ数、反射面の角度によって正常反射とマッハ反射に大別される。しかしながら、液体噴霧を含む気体中を伝播する衝撃波に関する実験的研究は少なく、数値シミュレーションによる解析が殆どである。本研究では、衝撃波管内に液体微粒子が浮遊した状態における衝撃波のマッハ反射について可視化実験を行い、三重点（入射衝撃波、反射衝撃波、マッハステムの交点）の軌跡を調べた。

2. 実験装置および実験方法

本研究では補助高压部、高压部、低压部からなるピストン式無隔膜衝撃波管を使用した。低压部には液体噴霧発生装置を接続し、衝撃波管内に液体噴霧をほぼ均一に浮遊させた状態を実現した。液体噴霧液はグリコール水溶液であり、管内の液体噴霧割合 ε は噴霧発生装置が吸い込む噴霧液の質量から求めた体積流量を衝撃波管内で噴霧の流速を測定した体積流量で割ったものとして見積られる。実験には、駆動気体および被駆動気体として空気をを用い、補助高压部の圧力 p_4' を高压部圧力 $p_4+0.05\text{MPa}$ 、低压部の圧力 p_1 を大気圧とした。また、低压部下流の観測部に反射面を有するウェッジ(ウェッジ角 θ)を取り付け、衝撃波が斜め反射した際の反射形態を影写真法で可視化した。

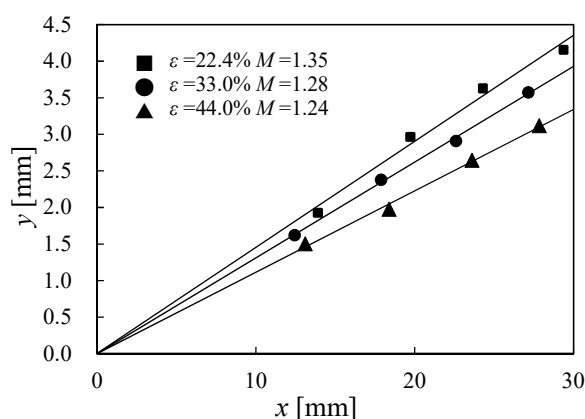
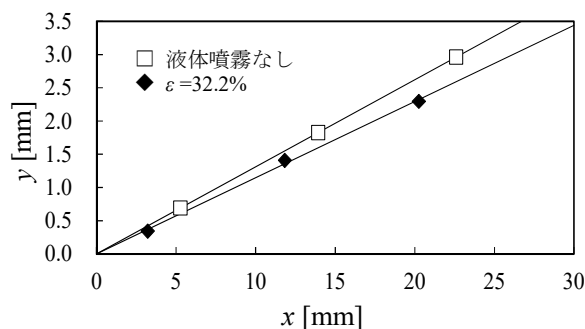
3. 実験結果

先行研究より、液体噴霧がある場合では、衝撃波による不連続な圧力上昇は小さく、衝撃波が減衰していること、また衝撃波背後の圧力は最終的に液体噴霧がない状態の圧力に落ち着くことが確認できている。

図1および図2に可視化写真より測定した三重点の軌跡を示す。ここで、ウェッジの先端から反射面上に沿って x 軸を、 x 軸に垂直に y 軸

をとった。図1より、三重点はウェッジの先端からほぼ直線的に反射面から離れていくこと、同じ初期圧力比 p_4/p_1 であっても、管内噴霧割合 ε が大きくなるにつれて衝撃波マッハ数は小さくなり、三重点の位置が反射面に近づくことが確認できる。

また、図2より同じ衝撃波マッハ数 M においても、液体噴霧がある場合は、液体噴霧がない場合よりも三重点の位置は反射面に近くなることが分かる。したがって、液体噴霧が存在する場合、液体噴霧によって減衰した衝撃波のマッハ数だけではなく、液体噴霧割合にも依存することがいえる。

図1 三重点の軌跡 ($p_4/p_1=4.0$, $\theta=30.0^\circ$)図2 三重点の軌跡 ($M=1.25$, $\theta=30.5^\circ$)

お問い合わせ先

氏名：小谷 明

E-mail : kotani@toyota-ct.ac.jp

衝撃波の斜め反射における壁面上の圧力測定 —実験装置の構築と性能実験—

(豊田高専専攻科電子機械工学専攻¹、豊田高専機械工学科²)

○杉浦健太郎¹・榊原将秀²・乗松洸斗²・小谷明²・田中淑晴²

キーワード：衝撃波反射、衝撃波管、圧力測定

1. はじめに

斜め衝撃波の反射形態は正常反射とマッハ反射に大別され、どちらの反射形態が表れるかは、気体の比熱比、衝撃波のマッハ数、反射面の傾斜角等に依存するとされている。これまでに、その反射形態の遷移基準の理論的解析がされ、マッハ数が 1.5 以上の強い衝撃波に対して、この理論的な解析による遷移点は実験結果と非常によく一致するが、マッハ数が 1.5 未満の場合においては理論的な解析と実験結果による遷移点が一致しないこと（フォンノイマン・パラドックス）が報告されている。本研究では、正常反射とマッハ反射の遷移点について圧力の観点から調べることを目的とし、断面が長方形のピストン式無隔膜衝撃波管を設計・製作し、その性能実験を行った。

2. 実験装置および実験方法

本実験では、高压部、低压部および補助高压部から構成される無隔膜衝撃波管(長方形断面 30mm×40mm)を製作した。補助高压部には圧縮空気を、高压部には補助高压部よりも小さい圧力の空気を充填し、ピストンによって高压部と低压部を分離する。低压部管に取り付けたバルブを一時的に解放し低压部圧力を大気圧にした後、補助高压部の圧縮空気を電磁弁により瞬間的に開放することで補助高压部は急激に減圧しピストンが押し上げられ、高压部の圧縮空気が低压部に流入し衝撃波が発生する。発生した衝撃波による圧力上昇を検出するためにピエゾ式圧力センサ①～③を低压部側壁の 3 か所に取り付け、この圧力センサから得た電圧をアンプで増幅し、オシロスコープによって記録する。圧力センサ間①～②および②～③はそれぞれ 210mm、100mm である。低压部管端の観測部には反射ウェッジ(傾斜角 30°)が取り付けられており、反射面上にも圧力センサ④が取り付けられている。実験は、低压部圧力 p_1 を大気圧、高压部圧力 p_4 を 0.10~0.35MPa、補助高压部 p_4' を $p_4+0.05\text{MPa}$ とし、同条件下で 3 回ずつの圧力測定を行った。

3. 性能実験結果および今後の実験計画

初期圧力 p_4/p_1 と平均マッハ数 M の関係を図 1 に示す。ここで、平均マッハ数 M は M_1 (圧力センサ①～②間におけるマッハ数) M_2 (圧力センサ①～②間におけるマッハ数) の平均値である。

この図より、実験値は理論値と近い値となっており、初期圧力比 p_4/p_1 が大きくなるにつれ衝撃波マッハ数 M も大きくなることが分かる。

圧力センサ②～④によって得られた圧力履歴を図 2 に示す。この図より、衝撃波の斜め反射によって傾斜面上の圧力は、垂直衝撃波背後の圧力よりも大きくなることが分かる。今後、衝撃波の反射形態の遷移が生じるであろう実験条件にて、この圧力センサ④の圧力値が、衝撃波マッハ数および反射面の傾斜角によってどのように変化するかを実験的に調べ、二衝撃波理論から得られる離脱基準との比較検討を行う予定である。

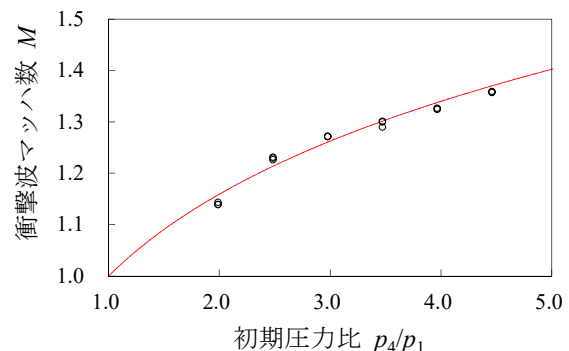


図1 初期圧力比とマッハ数の関係

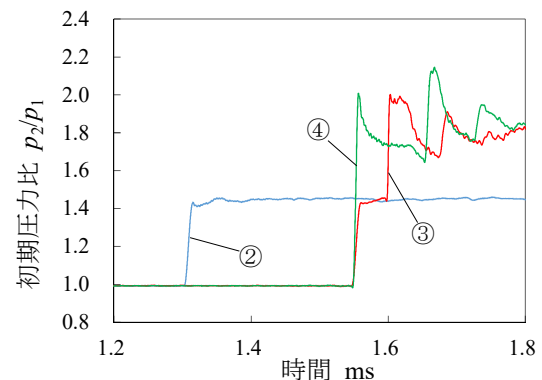


図2 圧力履歴
($p_4=0.11\text{MPa}$ $p_4'=p_4+0.05\text{MPa}$)

お問い合わせ先

氏名：小谷 明

E-mail : kotani@toyota-ct.ac.jp

(仙台高専専攻科生産システムデザイン工学専攻¹、仙台高専機械システム工学科²)○佐藤章二郎¹・永弘進一郎²

キーワード：マグナス効果，負のマグナス力，シーディング装置，霧

1. 緒言

霧の環境下でのソフトテニスボールの軌道の変化について考察する．一般的にトップスピンの場合ボール下面（地面を向く側）の回転による運動方向がボールの進行方向と反平行になる場合，ボールは下に落ちやすくなる．このような運動はマグナス力によって説明できる．しかしながら，ソフトテニス競技において霧がある場合は上記の一般的な軌道とは正反対になることが知られている．すなわちトップスピンの場合は大きく伸び上がる様な軌道を描き，バックスピンの場合はまるで急ブレーキをかけたかのように失速する．武藤ら^[1]はある閾値を超えると負のマグナス力が生じると報告している．一方，気体中の滴がマグナス力に与える影響を議論した研究報告は我々が知る限りでは見られない．

本研究では，霧の中でマグナス力の反転を観測するため，無霧の場合と霧中の場合における揚力係数の大きさおよびレイノルズ数に着目し，霧の濃さや回転速度，風速を変化させたときの霧中で生じる負のマグナス効果について考察する．

2. 実験装置と方法

図 1 に本研究で用いる実験装置の概略図を示す．対象球はソフトテニスボール回転軸にプーリーを取り付けモーターで任意の回転数を与える．ロードセルを用いてマグナス力による荷重の変化を読み取る．霧は可視化に用いるシーディング装置によって模倣する．発生される粒径は約 $1\mu\text{m}$ であり，これは自然霧の粒径と同程度の大きさである．測定条件は前田氏^[2]の測定結果を参考に流速を $20\text{--}32\text{m/s}$ ，回転数を $600\text{--}1800\text{rpm}$ とする．

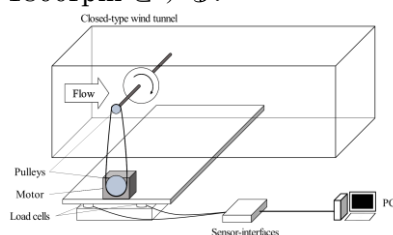


図 1. 実験装置

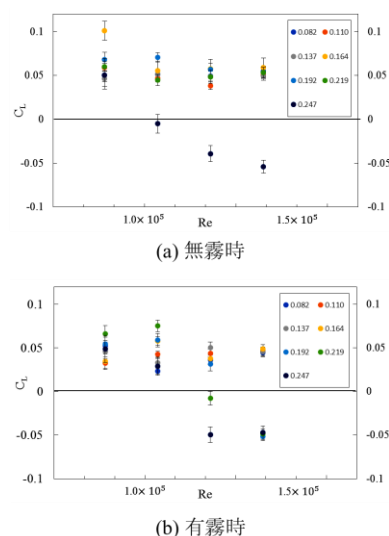


図 2. トップスピン時の測定結果

3. 実験結果と考察

図 2 は無次元回転数 Γ の違いによるレイノルズ数 Re と揚力係数の関係を示す．無霧時は Re を大きく変化させた場合， C_L は減少傾向にある．特に $\Gamma \geq 0.247$ では $Re \geq 10^5$ の領域では負の値を示している．有霧時には， $Re \geq 1.2 \times 10^5$ 且つ $\Gamma \geq 0.219$ の場合で負の値をとった．この条件において霧中でのソフトテニスにおける特異飛行が観測されると推測できる．また，可視化のために添加される約 $1\mu\text{m}$ 程度の滴がダイナミクスに影響を与えていることを示唆する．

今後は霧を定量的に測定する機器を製作し，霧の濃さがマグナス力に及ぼす影響の大きさについても調査する．

参考文献

- [1] 武藤昌也，回転球に作用する負のマグナス力の数値解析，日本機械学会論文集 B 編，77(775):781-792，(2011)
 [2] 前田正登，ソフトテニスにおけるボールの特異な飛行挙動に関する研究，スポーツ産業学研究 Vol.15 No.2，33-41，(2005)

お問い合わせ先

氏名：永弘進一郎

E-mail：nagahiro@sendai-nct.ac.jp

I-13 自動操舵システムとドライバとの協調方法の基礎検討 ～運転時の目標コース検討と脳血流との関係～

(近大高専生産システム工学専攻)

○江村陵哉・深山大樹・奥野皓大・後藤武志

キーワード：目標コース、脳血流、ドライバスキル、仕事率

1. 緒言

自動操舵システムとドライバとの協調には違和感を与えないドライバモデル構築が必要となる。特にドライバ技量の差に影響される。本研究では、ドライバの目標コースとドライバ技量と脳血流との関係を検討したので結果を報告する。

2. 道路中央での目標コース

2.1 評価指標

2.1.1 操舵仕事率

道路中央を目標に走行する自動操舵モデルを基準に、その操舵仕事率との差分をドライバの余分な操作量の評価指標として定義した。操舵仕事率を $W[J/s]$ 、トルクを $T[Nm]$ 、舵角速度を $\dot{\theta}[rad/s]$ とする次式が操舵仕事率となる。

$$W = T\dot{\theta}$$

2.1.2 脳血流

前頭葉から右脳や左脳に指示を送るヘモグロビン量変化を計測する。

【右脳】視覚や聴覚情報を処理

【左脳】言語や論理思考などを処理

把持力の強弱で血流の変化を確認する。

2.2 DS によるシミュレーション結果

運転技量の異なる 5 名の被験者に、DS のモニター上に“車線中央”と“アウトインアウト”の目標ラインを表示して、ライントレースするタスクを与えた。車速 60km/h での走行をおこなった。図 1 は車線中央の、図 2 はアウトインアウトの目標コースを走行したものを仕事率で表したものである。



Fig. 1 Effect of the target course

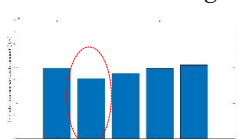


Fig. 2 Effect of the target course

今回は大きく仕事率が減少したドライバ B に着目をした。

ドライバ B は 5 人の中で一番運転歴も長く、運転頻度も多い技量の高いドライバである。

その運転技量の高いドライバは異なる条件ではどのようなことを考えているか見るため、脳血流計を用いて測定を行うこととした。

3. 脳血流

3.1 運転中の右脳と左脳の関係

運転中には視覚情報が使われます。先行車との距離や道路環境の把握などの役割は右脳と言われている。左脳は危険予測や反射運動の役割。

運転技量の高いドライバ B の脳血流を測定した偏差量の結果を図 3、図 4 示す。

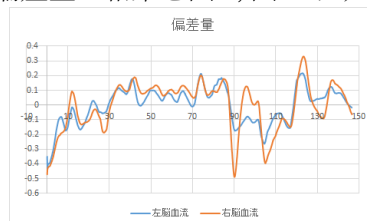


Fig. 3 Lane center course

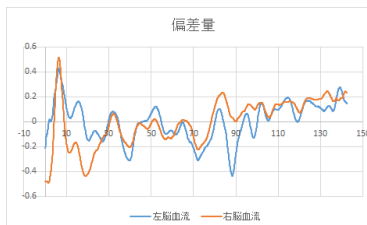


Fig. 4 Out-in-out course

図 3 は車線中央での測定結果、図 4 はアウトインアウトの測定結果を示している。

車線中央を走行しているときは、自分に合っていない走行ラインのため、左脳をよく使い考えながら走行しているのではないと思われる。一方微細な差ではあるがアウトインアウトのラインを走行する場合は波形幅が多くなっていることから気持ちよく走行していると考えられる。

4. 結言

運転技量の高いドライバには、道路中央ではなく運転技量に適した目標コースにすることが有効であった。しかし運転技量の低いドライバは、数値が悪くなっているため改善が必要。

お問い合わせ先

氏名：江村陵哉

E-mail : s30201@ktc.ac.jp

(群馬高専物質工学科)

○浅香万里、大岡久子

キーワード：ハナミズキ、内部標準、GAPDH

【緒言】

ハナミズキ(*Cornus florida*)は米国バージニア州、ノースカロライナ州の州花であり、日本でもいくつかの市や区のシンボルツリーとして親しまれている。四季折々で様々な姿を見せてくれることから庭木や街路樹として日本各地に植えられている。しかし、ハナミズキの総苞片はピンクと白の二種類しかなく品種改良は進められていない。その理由として、カルスからの再分化培養系が確立されていないことや遺伝子解析が進んでいないことが挙げられる。花色に改変を加えるためには、ハナミズキが持つ色素合成遺伝子の解析が必要であるが、現在、目的遺伝子を解析する上で欠かせない内部標準遺伝子も明らかにされていない。一般的に内部標準として用いられている遺伝子は β -アクチン、ユビキチン及び GAPDH

(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) などである。GAPDH は解糖系で利用される酵素であるため、多くの細胞で発現していることから内部標準としてよく使われている^[1]。そこで本研究では、GAPDH に注目して、ハナミズキの内部標準として適用できるかを検討する。

【実験方法】

1. 遺伝子情報の収集

NCBI^[2]から、ハナミズキの GAPDH の C サブユニットである GAPC-2 (JQ248955) と、全ゲノムが解読されているシロイヌナズナの GAPC (M64119) の配列情報を収集した。

2. アライメント解析

NCBI^[2]で収集したアミノ酸配列情報を、ClustalX (ver.2.1) を用いてアライメント解析を行い、GeneDoc (ver.2.7.000) を用いてアミノ酸の共通配列を示した。相同性が確認できた部分に対応する塩基配列で同じようにアライメント解析を行った。

3. プライマー設計

塩基配列のアライメント解析結果から、相同性を考慮してプライマーを設計した。プライマーの配列を表 1 に示す。

表 1 設計したプライマー

プライマー		塩基配列 (5'-3')	推定 PCR 産物 [bp]
①	F	ACTAACTGCCTTGCT	319
	R	ACCTCTCCAGTCCTT	
②	F	GGTGTCTTCACTGAC	769
	R	GTTGGAACACGGAAA	
③	F	CACTAACTGCCTTGC	532
	R	GACATCAACGGTTGG	

4. DNA 抽出

約 0.1 g の葉を採取し液体窒素で凍結後、乳棒、乳鉢を用いて粉碎し、CTAB 法^[3]を改変して DNA 抽出を行った。抽出後、分光光度計 (Nano Drop Lite) を用いて濃度測定を行った。

5. PCR 反応

設計したプライマーを用いて PCR 反応を行った。反応条件は 97℃, 3 分 → [44℃, 30 秒 → 72℃, 60 秒 → 95℃, 30 秒] × 35 回 → 44℃, 30 秒 → 72℃, 3 分 → 4℃ で行った。PCR の酵素は KOD FX Neo と *Ex Taq* polymerase の 2 種類を用いた。得られた PCR 産物は 1 % アガロースゲルを用いて 100 V、1 h で電気泳動を行った。

【実験結果及び考察】

ハナミズキの GAPC-2 とシロイヌナズナの GAPC のアミノ酸配列を用いたアライメント解析結果から、ハナミズキの GAPC-2 は、両端の情報が欠けた部分配列であることが明らかにされた。配列情報がある部分の相同性は 98.5% であった。ハナミズキはミズキ目であり、シロイヌナズナはアブラナ目である。目が異なる植物でも相同性が高く、保存性が高い遺伝子

であることから、GAPC を内部標準遺伝子として使用できると考えた。次に相同性の高い部分で設計した 3 種類のプライマー (表 1 に示した①、②、③のプライマー) を使用し、酵素は KOD FX Neo を用いた PCR 後の電気泳動結果を図 1 に示す。

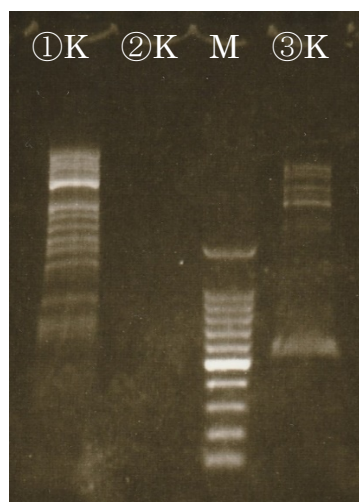


図 1 3 種類のプライマーを用いた電気泳動結果
①,②,③:プライマーの種類(表1)
M:分子量マーカー(100 bp DNA Ladder)

②K ではバンドが現れなかった。①K と③K では、目的産物の長さよりも長鎖 DNA が多数検出された。③K の結果では、予想される PCR 産物の長さに近いバンドも確認できた。

この①K と③K で観察された長鎖 DNA はミスアニーリングの可能性があり、伸長時間を短くすることでミスアニーリングを防げると考えた。そこで PCR プログラムの伸長反応時間を 60 秒から 30 秒に変更し、酵素は KOD FX Neo を用いて PCR 反応、電気泳動を行った。また、*Ex Taq* polymerase (伸長 60 sec) も使用した。これらの電気泳動結果を図 2 に示す。

図 1 の③K と同様に図 2 の③K' で予想される部分にバンドが現れた。また③K' では目的以外の長鎖 DNA の増幅が抑えられた。しかし、*Ex Taq* polymerase ではバンドが見られなかった。通常、A260/A280 が 1.8~2.0 の場合、試料の核酸純度が高いとされるが、抽出した DNA の A260/A280 は 1.06 であり、280 nm に吸収を持つタンパク質が混入したと考えら

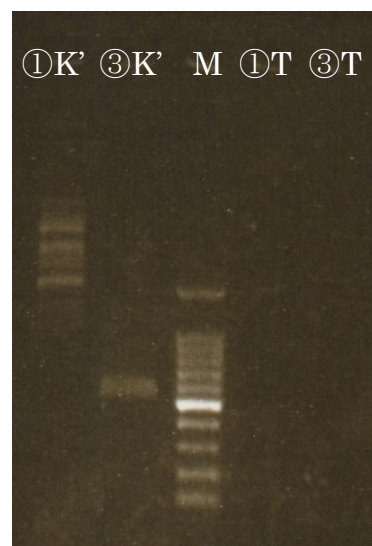


図 2 酵素と反応条件を変更した電気泳動結果
①,③:プライマーの種類(表1)
K':KOD(30 sec)
T: *Ex Taq* (60 sec)
M:分子量マーカー(100 bp DNA Ladder)

れる。*Ex Taq* polymerase では、タンパク質などの混入のため PCR 反応が阻害され、バンドが見られなかったと推察される。一方、KOD FX Neo の KOD DNA polymerase は、クルード成分の阻害に強い特徴があり^[4]、目的のバンドが得られたと考えられる。

【参考文献】

- [1] Wu Y, *et al.* (2012)
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: a universal internal control for Western blots in prokaryotic and eukaryotic cells. *Anal Biochem* 423: 15-22.
- [2] NCBI (National Center for Biotechnology Information)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- [3] 島本功、佐々木卓治(2000)「細胞工学別冊 植物細胞工学シリーズ7 新版 植物の PCR 実験プロトコール—核酸の単離法とゲノム・遺伝子発現の最新解析法—」秀潤社 pp.34, 49~51
- [4] 東洋紡 ライフサイエンス事業部「高成功率 PCR 酵素 KOD FX Neo」
http://lifescience.toyobo.co.jp/user_data/pdf/products/manual/KFX-201.pdf

お問い合わせ先
氏名：大岡久子
E-mail：ooka@gunma-ct.ac.jp

その周辺土壌藻について

(久留米高専¹、秋田県立大学²)○永吉正汰¹・山本好和²・中畠裕之¹

キーワード：担子地衣、日本産アリノタイマツ、分子系統解析、土壌藻、DGGE 法

1. 緒言

アリノタイマツ（図 1）は、担子地衣の一種であり、直立した子実体を地衣菌として基本葉体中に 1 種の緑藻を共生藻として有する。



図 1. 久留米市で採集したアリノタイマツ

その国内ハプロタイプの解析を行う目的で、秋田県立大学名誉教授山本好和先生が「アリノタイマツプロジェクト」を立ちあげられた。

本研究室では、福岡県久留米市で採集した標本をはじめ、日本各地で採集された標本を冷凍保存している。

本研究ではこれらのうち国内 6 県 9 か所のアリノタイマツ試料を用いて地衣菌 rRNA コード領域について遺伝子系統解析を行った。また、共生藻の選択性を追究する目的で、地衣体周辺土壌藻のゲノム解析を行った。

2. 実験方法

(1) 地衣菌の rRNA コード領域の解析

地衣菌 DNA は、液体窒素で凍結した子実体地衣菌をビーズ破砕法で破砕し、Chelex 法により抽出した。得られた DNA を鋳型とし、rRNA コード領域のプライマーを用いて PCR 増幅後、塩基配列を決定、得られた塩基配列データについて BioEdit 及び GENETYX を用いて解析を行った。

(2) 地衣体周辺土壌藻 DNA の解析

土壌からの全 DNA 抽出は、土壌サンプル 0.5 g を用いて土壌 DNA 抽出キット ISOIL for Beads Beating（ニッポンジーン）により行った。得られた抽出 DNA を鋳型とし、藻特異的な 18S rRNA 領域の GC クランプ付きプライマーを用いて PCR 増幅を行った。得られた

PCR 産物を用いて、変性剤濃度勾配を 30～60%とした 8%ポリアクリルアミドを用いた変性剤濃度勾配ゲル電気泳動（DGGE）法により藻種数を解析した。

3. 結果と考察

アリノタイマツ地衣菌の、18S-28S rRNA コード領域にかけて地域ごとに塩基配列を決定した。決定した領域においては 9 か所全ての塩基配列が一致し、Yanaga et al. (2015)による *Lepidostroma asianum* と 100%一致した。さらに、ITS1 領域の系統樹において、*L. asianum* のクレードに属し、同種である可能性が示唆された（図 2）。本種は、Liu et al. (2017) により *Sulzbacheromyces sinensis* の属とされており、本研究の解析結果により日本産アリノタイマツを同種であると結論づけた。

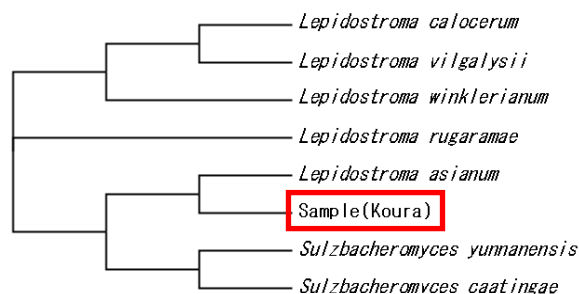


図 2. ITS 領域の系統樹

供試地衣を赤囲みで示す

また、アリノタイマツにおける共生藻の選択性を追究する目的で、地衣体周辺土壌藻のゲノム解析を行った。採集地点のうち 4 か所（久留米は 2 地点）について周辺土壌から全 DNA 抽出を行い、藻特異的なプライマーを用いることにより藻 DNA を増幅後 DGGE 法による電気泳動解析を行った。その結果、福岡県久留米市及び鹿児島県熊毛郡屋久島町のもので 10 種以上、福井県で 6 種並びに鹿児島県奄美市で 4 種の藻の存在が認められ、共通の 1～2 本を含むもののバンドパターンに地域性が見られた。

お問い合わせ先

氏名：中畠裕之

E-mail：nakahiro@kurume-nct.ac.jp

生化学的解析

(久留米高専専攻科物質工学専攻¹、久留米高専生物応用化学科²)○原口大和¹・萩原義徳²

キーワード：フィコビリソーム、鉄硫黄タンパク質、光合成

1. 緒言

酸素発生型光合成を行う原核生物として知られるシアノバクテリアは、光エネルギーを捕集するアンテナであるフィコビリソームを持つ⁽¹⁾。このフィコビリソームはビリン色素を結合したフィコビリタンパク質から構成され、分子量は500万を超える超分子複合体で、シアノバクテリアや紅藻の中にあるチラコイド膜の細胞質側に規則的に配列されている。一般的に、中心のコアからロッドが放射状に伸びた構造を取り、それぞれ特異的なリンカータンパク質により結合している⁽²⁾。光化学系Ⅱへのエネルギー伝達を行い、クロロフィルが吸収できない波長域(500-600 nm)の光を吸収することができるため、長波長域が衰退しやすくクロロフィルが有効に機能しない深層の水中環境でも機能する。生物種によって保有するビリン色素の種類が異なるため、シアノバクテリアや紅藻は水圏の多様な光環境に対応することができる。

緑色植物の葉緑体ゲノムとシアノバクテリアゲノムは共通配列を持ち、この遺伝子配列は *ycf* (Hypothetical chloroplast open reading frame) と呼ばれ、主に光合成機能に関与すると考えられている。しかし、その遺伝子発現やタンパク質機能は明らかにされていない。

先行研究において、シアノバクテリアの *ycf34* 遺伝子の欠損株では、野生株と比べてフィコビリソームが減少することが示唆されている⁽³⁾。また、その発現タンパク質の解析により、Ycf34 タンパク質はその内部に鉄硫黄クラスターを保持することが示されている。

本研究では、このような背景を持つ Ycf34 タンパク質に着目し、その機能や構造を解明することを目的として、遺伝子組換え大腸菌を用いたシアノバクテリア由来の Ycf34 タンパク質の発現・精製条件の検討を行った。

2. 実験操作

二種類のシアノバクテリア (*Synechocystis* sp. PCC6803 (以下 6803)、*Thermosynechococcus elongatus* BP-1 (以下 BP-1)) 由来のタンパク質発現大腸菌を用いて Ycf34 タンパク質の発現を行った。*ycf34* 遺

伝子上流には *gst* (Glutathione S-transferase) 遺伝子が組み込まれており、これによって目的タンパク質は GST 融合タンパク質として発現されるため、可溶化の促進やアフィニティ精製することが可能となる。各サイズは、GST が 27 kDa、Ycf34 が 10 kDa であるため GST 融合 Ycf34 は 37 kDa となる。

2-1. 各温度条件での発現実験

各シアノバクテリア由来 Ycf34 発現大腸菌を、Ampicilin 含有 LB 液体培地に植菌し、160 spm、37°C の条件で 16 時間の前培養を行った後、新しく作製した同液体培地に植菌し、同条件にて 2 時間培養を行った。その後、IPTG (Isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside) を添加するものと添加しないものに分け、温度条件を 37°C、25°C、17°C に設定し 16 時間培養を行った。IPTG 添加における終濃度は 1 mmol/l とした。本培養が 25°C の条件では、IPTG 添加前の温度条件を 25°C とした場合も行った。本培養後、溶菌剤である Bugbuster を用いて菌体を破碎し、上清と沈殿に遠心分離し、それぞれ SDS-PAGE により目的タンパク質の発現を調べた。ただし、沈殿については尿素処理により可溶化させた。

2-2. 大量培養

6803 由来 Ycf34 タンパク質発現大腸菌を、Ampicilin 含有 TB 液体培地に植菌し、160 spm、37°C の条件で 16 時間の前培養を行った後、500 ml の TB 液体培地に植菌し、同条件にて 2 時間培養した。その後 IPTG を添加して 16 時間培養を行った。菌体を遠心分離により回収した後、超音波破碎した。破碎上清から、GST-tag による、アフィニティークロマトグラフィーで不純物を除去した。その後 4°C、48 時間の透析・プロテアーゼ処理により GST-tag と Ycf34 の結合を切断した後、再度アフィニティークロマトグラフィーを行い目的タンパク質の精製を行った。カラムとしては、グルタチオン結合樹脂を用いた。その後 SDS-PAGE によって目的タンパク質の発現及び精製の確認を行った。

培地を 2L の LB 液体培地とし、本培養の温度条件を 25°C とし BP-1 由来 Ycf34 発現大腸菌についても大量培養を行った。

3. 結果及び考察

Fig. 1, 2 に 37°C 条件での上清と沈殿の発現チェック結果を示す。

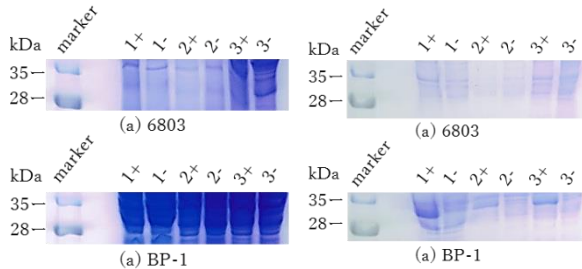


Fig.1 SDS-PAGE of supernatant

+: Sample induced by IPTG
-: Sample without IPTG
No.: test tube number

Fig.2 SDS-PAGE of pellet

+: Sample induced by IPTG
-: Sample without IPTG
No.: test tube number

IPTG の添加の有無で目的タンパク質の発現に差は見られなかった。

Fig. 3 に 6803 由来タンパク質発現大腸菌の TB 液体培地 500 ml での大量培養によって得られた菌体についての SDS-PAGE の泳動結果を示す。

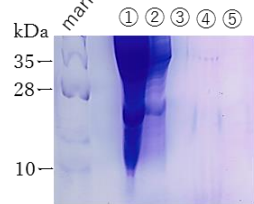


Fig.3 SDS-PAGE of large scale culture

①:Flow-through①
②:Flow-through②
③:Before dialysis/protease processing
④:After dialysis/protease processing
⑤:Ycf34 sample

目的サイズのバンドは得られなかったため、GST 融合 Ycf34 タンパク質は発現およびアフィニティ精製できなかったと考えられる。

Fig. 4, 5 に 17°C、25°C の条件にて発現チェック結果を示す。

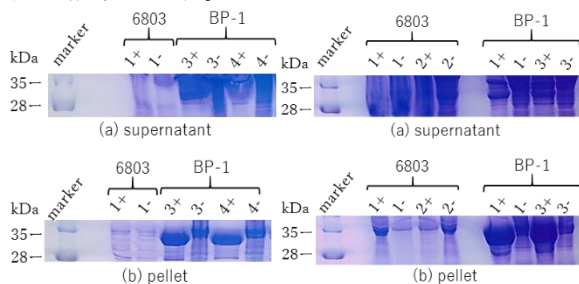


Fig.4 SDS-PAGE of 17°C culture

+: Sample induced by IPTG
-: Sample without IPTG
No.: test tube number

Fig.5 SDS-PAGE of 25°C culture

+: Sample induced by IPTG
-: Sample without IPTG
No.: test tube number

17°C では、BP-1 由来のタンパク質発現大腸菌から得られたサンプルにて、沈殿の結果において IPTG を添加の有無にて目的サイズのバンドに差が見られた。このことから、発現した Ycf34 タンパク質は封入体であったと考えられる。25°C においても、BP-1 由来のタンパク質発現大腸菌から得られたサンプルの沈殿にて、IPTG を添加しなかったサンプルと比べて IPTG を添加したサンプルは目的サイズのバンドが顕著に現れた。また上清でもかすかにバンドの差が見られた。これより目的タンパクが一部立

体構造を保持したまま得られたと考えられる。

Fig. 6 に IPTG 添加前も 25°C の条件にて培養した各タンパク質発現大腸菌の発現チェック結果を示す。

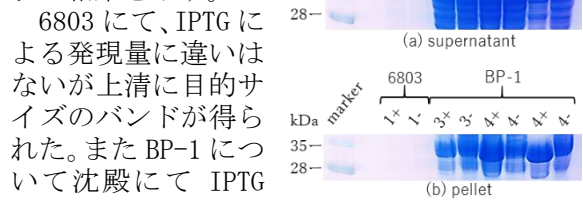


Fig.6 SDS-PAGE of 25°C culture

+: Sample induced by IPTG
-: Sample without IPTG
No.: test tube number

6803 にて、IPTG による発現量に違いはないが上清に目的サイズのバンドが得られた。また BP-1 について沈殿にて IPTG による発現量に差が見られたが上清では見られなかった。

Fig. 7 に BP-1 由来タンパク質発現大腸菌の TB 液体培地 2 L での大量培養によって得られた菌体についての SDS-PAGE の泳動結果を示す。



Fig.7 SDS-PAGE of large scale culture

①:Flow-through①
②:Flow-through②
③:Before dialysis/protease processing
④:After dialysis/protease processing
⑤:Ycf34 sample

本条件では可溶性画分に得られないことがわかった。

4. 結言

6803 由来の Ycf34 タンパク質は、今回の培養条件では発現しないことがわかった。

BP-1 由来の Ycf34 タンパク質は、37°C の条件では発現しなかったが、17°C 及び 25°C での培養により過剰発現することができた。ただし、それは封入体であることがわかった。

今後の展望としては、BP-1 由来の Ycf34 タンパク質の封入体が得られたことから可溶性・リフォールディング・高純度精製の後、結晶化および構造と機能の解析を目指す。同時に、6803 由来の Ycf34 タンパク質の発現についても条件を最適化する。また、他の発現プラスミドベクターを用いた発現についても検討したい。

参考文献

- (1) 三室 守ら, シアノバクテリアの集光性超分子会合体フィコビリソーム, 蛋白質核酸酵素, **42**, 2613-2625, 1997.
- (2) 渡邊 麻衣ら, リンカーが決める 2 つのフィコビリソーム, 光合成研究, **24**, 4-7, 2014.
- (3) T. Wallner, *et al.*, *BBA bio.*, **1817**, 2016-2026, 2012.

お問い合わせ先

氏名: 萩原義徳

E-mail: hagiwara@kurume-nct.ac.jp

キーワード：バイオ素子, 酵素, 酵素電極

1. 緒言

酵素電極により生成される酵素触媒電流の増大は、それを利用したバイオ燃料電池の出力向上を導く。本研究では電極表面の微細構造が酵素触媒電流におよぼす影響を調べている。本報告では、酵素電極への多孔質構造の付与が酵素触媒電流に与える影響について述べる。

2. 実験

多孔質金電極 (p-Au) は電圧を印加した際に生成される水素気泡をテンプレートとして利用した金の電着により作製した。電着液には 2.5 M の塩化アンモニウムを含む蒸留水に 10 mM となるように塩化金(III) (AuCl_3) を溶解させたものを使用した。電着に先立ち、電着液に窒素ガスを 20 分間通じさせることで溶存酸素を除いた。作用電極には $\phi 3$ mm になるようポリイミドテープでマスキングを施した Au、参照電極に飽和カロメル電極 (SCE)、対向電極には白金を用いた。電着にあたり、作用電極に対し、-1.5 V vs. SCE の電圧を通過電荷量が 0.5 C/cm² に達するまで印加した。酵素電極は金表面を 4-メルカプトフェノール (4-MPh) 単分子層で修飾した後、フルクトースデヒドロゲナーゼ (FDH) を吸着固定することで作製した。酵素電極 (FDH/p-Au) のフルクトース酸化能は 0.2 M フルクトースを含む 0.05 M 酢酸緩衝液 (pH 4.5) 中で、-0.2~+0.5 V vs. Ag/AgCl の範囲を 5 mV/s で掃引した際の酸化電流値により評価した。

3. 結果・考察

FDH/p-Au はフルクトース存在下で、FDH の活性部位である Heme c の酸化電位 (-0.1 V) 付近から立ち上がる酸化電流の増大を示した (Fig. 1)。この FDH/p-Au により得られた電流は多孔質化処理をしていない Au を用いて作製した酵素電極 (FDH/Au) から得られた電流値と比較して 130 倍大きかった (Fig. 2)。これは、Fig. 2 中の SEM 画像からわかるように水素気泡の形状を転写したマイクロサイズの細孔と粒子状の金の堆積によるナノサイズの細孔によって電極表面積が増大し、酵素固定化量が増大したことに起因すると考えられる。

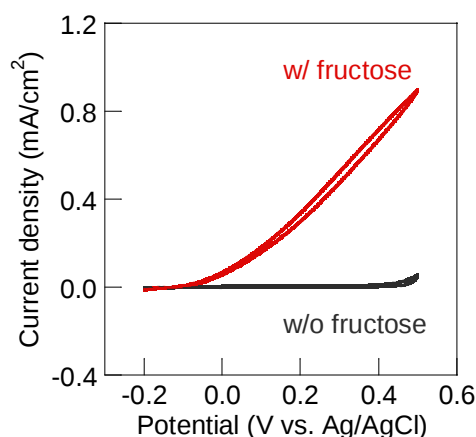


Fig. 1 Cyclic voltammograms obtained using FDH/p-Au.

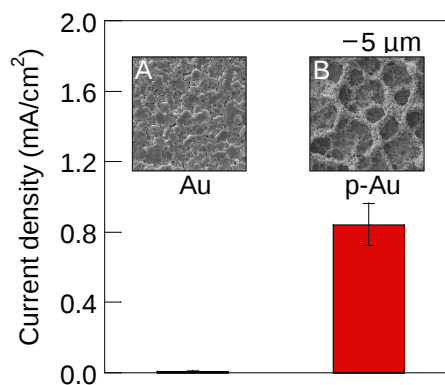


Fig. 2 Comparison of fructose oxidation current density at 0.5 V vs. Ag/AgCl obtained using FDH/Au and FDH/p-Au in the presence of 0.2 M fructose. The insets A and B show SEM images of Au and p-Au.

お問い合わせ先

氏名：桑原敬司

E-mail：kuwataka@vos.nagaokaut.ac.jp

バイポーラ現象を利用した ヒト血清アルブミンのワイヤレスセンシング (長岡技大)

○阿部舜市・桑原敬司・近藤みずき・下村雅人

キーワード：バイポーラ電気化学，ワイヤレスバイオセンシング，ヒト血清アルブミン

1. 緒言

バイポーラ現象とは，測定溶液に浸漬した基板が電界中で分極する現象である。このとき分極した基板をバイポーラ電極(BPE)，電界を生じさせる電極を駆動電極(DE)という(Fig. 1)。バイポーラ現象には，外部回路とは接続されていない電極上で電解反応を生じさせることができるという特徴がある。近年，この特徴を応用した電気化学的手法のワイヤレス化，小型化が非常に大きな注目を集めている。

本研究では，抗原抗体反応と電気化学インピーダンス分光法を利用し，BPE 表面上に固定化したヒト血清アルブミン(HSA)の非接触検知に試みた。

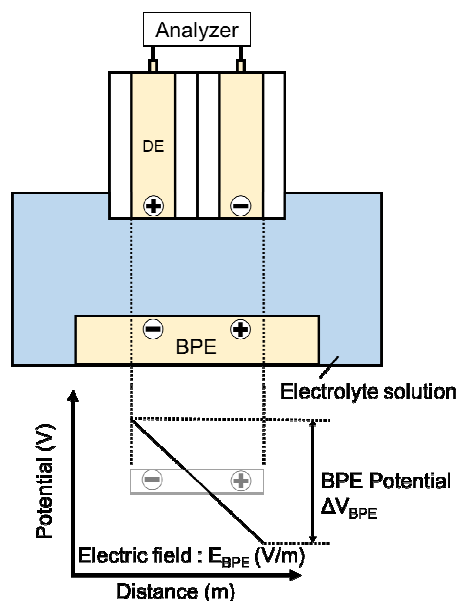


Fig. 1 Schematic illustration of opened bipolar electrochemical measurement system.

2. 実験

本研究では，DE としてリング状の金ワイヤ，BPEとして0.5 cm²の金電極，測定溶液として0.1 M リン酸緩衝液(pH 7.0)を用い，BPE に固定した HSA の検知を試みた。陽性抗原として HSA，陰性抗原としてセリシンを用いた。金電極への HSA の固定は以下の方法で行った。まず，1 μg/ml 抗 HSA 抗体水溶液に金電極を 1 時間浸漬し，10 μg/ml BSA 水溶液に 1 時間浸漬

してブロッキング処理を行うことで抗 HSA 固定化金電極を作製した。次に，抗 HSA 固定化金電極を 1 mg/ml HSA 水溶液に 1 時間浸漬して HSA-抗 HSA 固定化金電極を作製した。また，抗 HSA 固定化金電極を 1 mg/ml セリシン水溶液に 1 時間浸漬してセリシン-抗 HSA 固定化金電極を作製した。作製したそれぞれの電極を BPE として測定溶液中に設置し，印加周波数 1 Hz～1 MHz で電気化学インピーダンス測定を行った。DE 間距離は 3 mm，DE-BPE 間距離は 1 mm とした。印加電圧は 0.2 V，振幅は 0.02 V とした。

3. 結果・考察

Fig. 2 に HSA 固定化前後，セリシン固定化前後のインピーダンス値の変化率を示した。陽性抗原の HSA を固定化した場合，測定周波数全域でインピーダンス値は減少した。陰性抗原のセリシンを固定化した場合，高周波帯でわずかにインピーダンス値が減少した。すなわち，抗原抗体反応と電気化学インピーダンス分光法を用いることで，バイポーラ電極上に固定化した HSA の非接触検知に成功した。

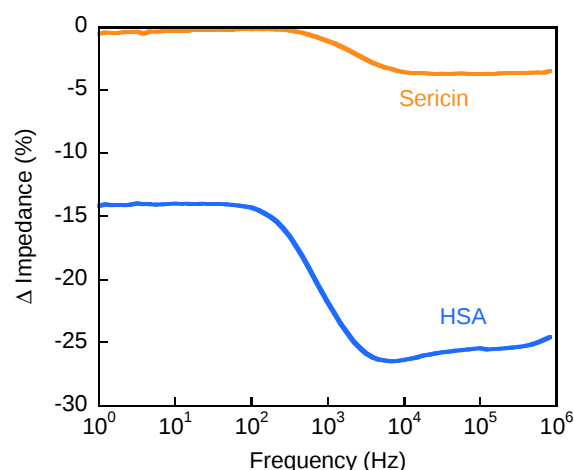


Fig. 2 Impedance spectrum before and after immobilization of HSA or sericin on BPE.

お問い合わせ先
氏名：桑原敬司
E-mail：kuwataka@vos.nagaokaut.ac.jp

I-21 微生物によるスルホン化芳香族アミン化合物分解への金属イオンの影響

(新居浜高専専攻科生物応用化学専攻¹, 新居浜高専生物応用化学科²)

○植松大翔¹・喜多晃久²・中川克彦²・早瀬伸樹²

キーワード：水溶性アゾ染料、スルホン化芳香族アミン化合物、亜硫酸イオン、スルファニル酸

1. 緒言

私たちの身の回りの染料は、衣服、食料品など様々な分野で利用されており、特にアゾ染料は合成染料の生産量の半分以上を占めている。その製造工程等で約 2~10 %のアゾ染料が廃液として放出されている。このアゾ染料のうち、水溶性アゾ染料は、水に対する溶解性を改善し、染色性を向上させるため、染料分子にスルホン酸基が導入されている。このスルホン酸基が導入された水溶性アゾ染料の多くは、比較的容易に微生物により脱色され、スルホン化芳香族アミン化合物を生じる。例えば、水溶性アゾ染料であるオレンジⅡの分解によって、スルホン化芳香族アミン化合物であるスルファニル酸が生じることが報告されている¹⁾。また、これまでの研究で、スルファニル酸の微生物による分解で亜硫酸イオンが生成し、この亜硫酸イオンがスルファニル酸分解菌の増殖を阻害している仮説が得られている。そこで本研究では、亜硫酸イオンを酸化するために金属イオンを触媒として添加し、スルファニル酸分解菌と組み合わせることにより分解促進効果を検討した。

2. 実験方法

Fe^{3+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} を用いて亜硫酸イオン酸化促進能力を調べた。Tris 緩衝液(50mM, pH7)に亜硫酸ナトリウムを 5 mM の濃度になるように加え、それぞれの金属イオンを 2 mg/L の濃度になるように添加した。30 °C、150 rpm で振とうしながら、1 時間ごとにサンプルを採取し、イオンクロマトグラフィーにより亜硫酸イオン濃度を測定した。

亜硫酸イオン酸化に効果が見られた Cu^{2+} 、 Mn^{2+} を、スルファニル酸分解菌である *Bradyrhizobiaceae* 科の 624-S 株と組み合わせ、スルファニル酸分解及び増殖への影響を検討した。スルファニル酸を 1 g/L 添加した無機塩液体培地に、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} を 0、10、30、50 μM 加え、624-S 株の前培養液を植菌し、30 °C、120 rpm で振とう培養を行った。1 日ごとにサンプルを採取し、吸光度 600nm で菌体濃度、HPLC によりスルファニル酸濃度、比色法により亜硫酸イオン濃度を測定した。

3. 実験結果及び考察

Fe^{3+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} を用いた亜硫酸イオン酸化促進能力試験では、金属イオンを添加しなかったコントロール実験と比較して、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} を添加した場合に亜硫酸イオンの酸化促進が観察された。その中から、今回は Cu^{2+} 、 Mn^{2+} について検討した。

Cu^{2+} については、金属の添加濃度に従って亜硫酸イオンの酸化促進が観察されたが、菌体濃度及びスルファニル酸濃度は、金属を添加していないものと大きな差がなく、明確な添加効果は確認できなかった。

一方、 Mn^{2+} については Fig. 1 に示したように、 Mn^{2+} を添加していない 0 μM と比較して、 Mn^{2+} を添加したもののほうが、624-S 株の増殖速度が向上した。添加した Mn^{2+} によって亜硫酸イオンの酸化が進み、624-S 株への亜硫酸イオンによる阻害が解消され、増殖が促進された可能性が示唆された。

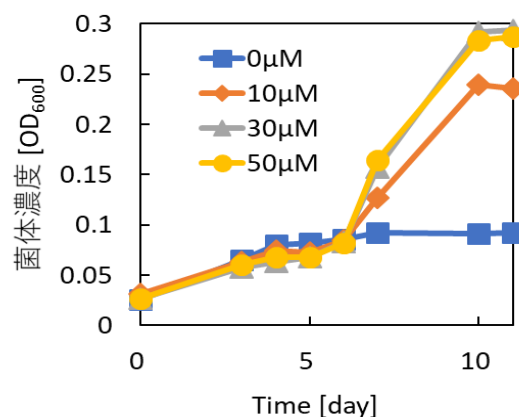


Fig. 1 624-S 株増殖への Mn^{2+} の影響

1) Carcia-Martínez, Y.C.Bengoa, F.stüber, A.fortuny, J.Font, A.Fabregat, Biodegradation of acid orange 7 in an anaerobic-aerobic sequential treatment system, Chemical Engineering and Processing : Process Intensification, 96, 99-104 (2015).

氏名：早瀬 伸樹

E-mail : hayase@chem.niihama-nct.ac.jp

(長岡技科大・生物)

○儀武 菜美子・須田 大登・笠井 大輔

キーワード：天然ゴム、ゴム分解細菌、ポリ(*cis*-1,4-イソプレン)、ゴム分解酵素、微生物ゲノム

1. 緒言

パラゴムノキ (*Hevea brasiliensis*)から生産される天然ゴムは、ポリ(*cis*-1,4-イソプレン)を基本骨格とし、化石資源を原料とする合成イソプレンとともにタイヤや一般工業用品など広範な分野で利用される。近年の世界的な経済成長によって、さらなる需要の拡大も予想されている。しかし、それに伴う将来的な廃棄物の増大は、焼却処理による温室効果ガスの増加や環境への負荷に繋がる点で課題となっている。そこで本研究では、微生物の酵素機能を利用したゴム廃棄物処理法の開発を目指して、ゴム分解細菌を単離し、分解酵素系の機能を明らかにすることを目的とした。

2. 材料と方法

ゴム分解菌 *Nocardia* sp. NR1 株の加硫ゴム分解能を評価するために、培養系としてラテックスグロブを添加した無機塩培地を用いた。分解能は反応液中に残存するイソプレン量を熱分解 GC (PyGC) で分析することで評価した。ゴム代謝時に転写誘導される遺伝子を特定するため、ゴム存在下または非存在下で培養した細胞から調製した RNA を用いたマイクロアレイ解析と定量的 RT-PCR を行った。遺伝子の異種宿主発現は、*E. coli* BL21 株を宿主として、*cspA* プロモーターの制御下で行った。ヒスチジントグ融合タンパク質として生産したゴム分解遺伝子産物を Ni-アフィニティカラムを用いたカラムクロマトグラフィーにより精製した。ゴム分解酵素の酵素活性は、溶存酸素計を用いて反

応系の酸素消費量を計測することで算出した。分解産物の推定には FT-IR 分析と HPLC-MS 分析を用いた。遺伝子破壊株は、相同組換えを利用した遺伝子置換法により作製した。

3. 結果と考察

加硫された天然ゴム (ラテックスグロブ) を唯一の炭素源として *Nocardia* sp. NR1 株を培養した結果、30 日でラテックスグロブの分解と菌体の増殖が観察された。PyGC 分析の結果、分解の経過とともにイソプレン量の減少が観察されたことから、本株が天然ゴムを炭素源として資化していることが示唆された。また NR1 株がラテックスグロブ片内部に入り込みゴムを分解している様子が観察された。NR1 株は、ラテックスグロブだけでなく、未加硫天然ゴムや合成イソプレンゴムの分解能を示したことから、ポリ(*cis*-1,4-イソプレン)を炭素源として生育できることが示唆された。

NR1 株のゴム分解遺伝子を特定するため、網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、ゴム代謝時に特異的に転写上昇する 121 遺伝子を限定した。そして、それらの推定アミノ酸配列から、ゴムの分解に関わると考えられる酸素添加酵素遺伝子 (*peg.0998*) を特定した。

peg.0998 遺伝子産物 (Lcp) の機能を明らかにするために、精製 Lcp とポリ(*cis*-1,4-イソプレン)を含む天然ゴムラテックスを反応させた。その結果、反応時間の経過とともにラテックスの分解と酸素消費が観察されたことから、Lcp が酸素添加によってゴムを分解することが示唆された。さらに、本酵素による反応産物として、アルデヒド基を持つ $n = 3 \sim 9$ のオリゴイソプレノイドが検出されたことから、本酵素はポリ(*cis*-1,4-イソプレン)の低分子化を触媒することが示唆された (図 1)。

NR1 株における *peg.0998* の役割を明確するために、*peg.0998* 破壊株を構築した。本破壊株はゴム分解能を完全に失ったことから、*peg.0998* は NR1 株のゴム分解に必須であることが強く示唆された。

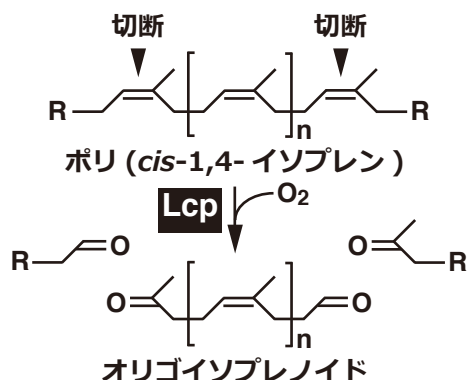


図 1. NR1 株のゴム分解酵素 (Lcp) によるポリ *cis*-1,4-イソプレン分解反応。

お問い合わせ先

氏名：笠井 大輔

E-mail：dkasail@vos.nagaokaut.ac.jp

キーワード：*Enterobactor* MOE-1、ゴム分解残渣、有機溶媒、酵素

1. 緒言

近年、微生物、あるいは微生物由来の酵素を用いた廃棄物の処理法が多く提案されている。この方法は燃焼法に比べて低温で進行し、ダイオキシンや酸化硫黄のような有害物質を発生させないため、安全かつ環境に負荷を与えない技術になると期待されている。本研究室では、SBR(スチレン-ブタジエンゴム)を分解することのできる *Enterobactor* MOE-1 株を有しているが、処理速度が遅く、かつ多くの不溶性の残渣(Fig. 1)が残ってしまうなど、実用化に向けて解決すべき課題が多い。なお、この残渣はビフィズス菌の代謝作用を促進することが分かっており、回収を行うことにより有効利用することが確認されている。そこで、有機層に反応生成物を移動させることにより反応を促進させ、かつ残渣を回収できる水-有機溶媒二層系の反応を検討している。

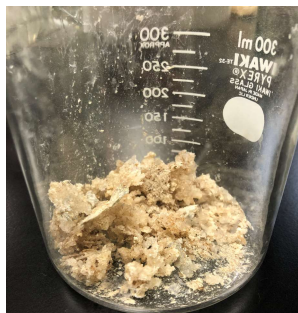


Fig. 1 乾燥させた
ゴム分解残渣

2. 目的

ゴム分解反応の処理速度および反応性の向上のために、水-有機溶媒二層系を用いたゴム分解試験について検討した。

3. 結果および考察

Table 1 に反応生成物であるゴム残渣の回収を行うための有機溶媒への抽出試験の結果を示す。これより、酢酸エチルなどの有機溶媒が残渣の抽出に利用できることが確認できる。

Table 1 の溶媒により、酢酸エチルを用いてゴム分解微生物およびゴム分解酵素液の有機

Table 1 ゴム残渣の有機溶媒抽出試験

溶媒	結果
①蒸留水	×
②アセトニトリル	○
③エタノール	○
④トルエン	○
⑤酢酸エチル	○
⑥ヘキサン	×

溶媒耐性について検討した。培地に MOE-1 菌株と酢酸エチルを加えて培養を行い、菌の生育状況を濁度測定により評価した。酵素液については同様の検討を行った後に、取り出した酵素の活性測定により評価した。Table 2 および 3 にそれぞれの結果を示した。

Table 2 酢酸エチル添加による
ゴム分解微生物の生育度

酢酸エチル量 [ml]	微生物生育度
無し	8.9
20	0.61
10	0.32
5	0.2

Table 3 DNPH を用いた酢酸エチル添加による
ゴム分解微生物の酵素活性
(A_{410})

添加無し	酢酸エチル添加
0.434	0.487

その結果、酢酸エチルの添加により、一律に生育度は低下したのに対し、酵素活性は、添加による活性減少はほとんどなかった。これより、酵素単体では有機溶媒に影響されないことが考えられる。以上の結果を基に、水-有機溶媒二層系にて酵素を用いた分解試験を行ったところ、ゴムの重量減少および残渣の抽出が確認できた。

お問い合わせ先

氏名：笈木宏和

E-mail：oiki@kurume-nct.ac.jp

(久留米高専専攻科物質工学専攻¹、久留米高専生物応用化学科²)一木葉月¹・〇笈木宏和²

キーワード：ゴム残渣, Enterobacter, Lactococcus, ナイシン

1. 緒言

自動車用タイヤの焼却は、脱硫装置を使用せずに燃焼を行うことによる大気汚染などが問題となっている。

近年、微生物による廃棄物処理が環境負荷が低く、持続可能であるとして利用されている¹⁾。我々の研究室では、合成ゴムを分解し低分子化することが可能なゴム分解微生物 *Enterobacter* MOE-1 をラテックス中より単離した²⁾。同微生物による分解反応は、処理後に水に不溶性の残渣が残る。この残渣をバイオマス資源として利用することにより、環境負荷の少ない資源の有効利用が可能であると期待される。今回、防腐剤として活用されているナイシンの生産能を有する乳酸菌に着目し、ゴム分解残渣の培地中への添加によりナイシン生産能が変化するという結果が得られたので報告する。

2. 実験操作

MOE-1 の培養には土井等により報告された無機培地¹⁾より各種金属イオンを除去した改変無機培地を、ナイシン生産菌である *Lactococcus lactis* NBRC 12007 の培養には CMG (complete medium with glucose) 培地を、抗菌試験の検定菌である *Bacillus subtilis* NBRC 16412 の培養には LB 培地を用いた。

ゴム分解残渣は、無機培地に SBR ゴム断片を加えた培地で培養を行い、濾過した濾液及び濾液を用いた。濾液の一部は水溶性疎水画分として、疎水カラム Sep-Pak® Plus short tC18 Cartridges (General Laboratory Use 製) にて抽出を行った。作成したそれぞれのゴム残渣を、CMG 培地中で 12007 株を加えて培養後、濁度及び培地 pH 測定を行った。ナイシンの抗菌作用はペーパーディスク法を用いて評価した。

3. 結果及び考察

Table 1 に各種残渣を培地に加えたときの乳酸菌の濁度および抗菌作用の結果を示す。濁度の差より、残渣添加により生育の促進は確認できなかったが、ナイシンによる抗菌作用の向上が確認できた。特に、水溶性疎水画分は高い抗菌活性を示している。このことから、ゴム残渣中のナイシン抗菌活性促進物質は疎水性の高い物質であることが予想された。

Table 2 に、1/10 濃度 CMG 培地を用いたときの

Table 1 Growth of and metabolite production by *L. lactis* cultured in CMG medium supplemented with various rubber residues.

Component	OD	pH	Nisin activity
CMG	0.651	3.9	0.3
CMG+Filtrate	0.636	3.93	1
CMG+Residue	0.603	3.88	2.2
CMG+Filtrate (hydrophobic fraction)	0.618	3.92	2.7

Residue: residue of rubber decomposing waste with ADVANTEC No.2 size filter paper

hydrophobic fraction: hydrophobic fraction of rubber decomposing waste treatment with hydrophobic column.

Table 2 Growth of and metabolite production by *L. lactis* cultured in 1×10^{-1} fold dilution of CMG medium supplemented with various rubber residues.

Component	OD	pH	Nisin activity
CMG	0.3	4	1.7
CMG+Filtrate (hydrophobic fraction)	0.85	4.2	1.5

hydrophobic fraction: hydrophobic fraction of rubber decomposing waste treatment with hydrophobic column.

乳酸菌の濁度と抗菌試験の結果を示す。これより、阻害円の直径は変化しなかったが、濁度の増加が確認されるという、先ほどの条件と異なった結果となった。これは、有効成分と培地の混合比により代謝作用が変化している可能性が考えられる。

4. まとめ

ゴム残渣に有用な代謝促進機能が確認できた。微生物の生育促進物質は数多く報告されている³⁾が、その多くは生育促進に特化したものが多い。今回の報告のように、条件の違いにより挙動が変化する促進作用についての報告例はなく、新規の有用成分の存在、あるいは異なる有効成分の相互作用により同現象が引き起こされていることが想定される。

1) 土井明夫：日本ゴム協会誌 67,54 (1994)

2) 笈木宏和：特開平 2003-250526(2003)

3) Modler, HW et al.: Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 23,29(1990)

お問い合わせ先

笈木宏和

E-mail: oiki@kurume-nct.ac.jp