

SCIENCE JOURNAL

SCIENCE JOURNAL **OF** KANAGAWA UNIVERSITY

KANAGAWA UNIVERSITY

神奈川大学理学誌

Vol.27 2016

神奈川大学総合理学研究所

Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University

Science Journal of Kanagawa University

Vol. 27

目 次

巻頭言

所長就任にあたって

川本達也 1

原 著

Vibrational Zero-Point Energies and Structures of Rare-Gas Clusters

Chikara Amano 3

Synthesis of a Thin Buried Oxide Layer by High Temperature Oxygen Implantation in a Silicon Substrate

— Effect of High Temperature Implantation —

Yasushi Hoshino, Gosuke Yachida, Yasunao Saito and Jyoji Nakata 9

可視域シリコン発光素子の開発

水野智久、前田辰郎、青木 孝、鮫島俊之 15

自動車機能安全・OSD アシュランスケースの為の AFSCF 議論モデル

中原早生、木下佳樹 23

SDBS の帰属および帰属決定プロセスについてのアシュランスケースの研究

渡邊 宏、木下佳樹、武山 誠、奥野康二 29

Al³⁺ および Ga³⁺ イオンを開口部に導入した Open-Dawson 型ポリ酸塩の合成と構造解析

松永 諭、井上雄介、長田宏紀、大滝卓也、三原航平、力石紀子、野宮健司 39

カラスウリ果実の成熟に伴う果皮色素成分変化と有色体形態形成

早津 学、佐藤光恵、鈴木季直 45

PHYTO-PAM 法による相模川河口域植物プランクトン群集の特性の推定

鈴木祥弘、金澤謙一、西本右子 53

相模湾平塚沖の貝類相：2014 年と 2015 年の調査結果

大和田正人、齋藤礼弥、小林 剛、吉田汐里、金澤謙一 59

繊毛関連蛋白質の局在観察による繊毛内区画の可視化

安達 健、高橋遼平、泉 進 63

Klebsormidium flaccidum (Klebsormidiophyceae) におけるオイルボディ形成

立石真希、三坂瑠奈、福本 悠、藤原 誠、箸本春樹 67

次世代シーケンサを用いたウニ類ミトコンドリア DNA 全配列の解析手法の開発

若山典央、齋藤礼弥、金澤謙一 73

短 報

多倍精度整数の小さな定数による剰余の高速計算法 松井祥悟	77
相模湾河口域海水及び流入河川水の元素濃度 武井尊也、鈴木祥弘、金澤謙一、西本右子	81

報告書

モバイルアプリケーションの統合に基づく食と健康の情報の収集・分析システムの設計と試作 韓 浩、中山 堯	85
--	----

教育論文

プログラミング演習授業で用いる課題集における要点項目の対応分析 永松礼夫、渥美拓也	89
情報科学科プログラミング演習に向けたオンラインコンパイラシステムの実装とレポート提出システムとの連動 韓 浩、中山 堯	97

研究交流報告

第 11 回神奈川大学-国立台湾大学学術交流 木原伸浩	101
2015 年度神奈川大学総合理学研究所事業報告	109
Science Journal of Kanagawa University 投稿規定	117
Author Index	121
編集後記	122

■巻頭言■

所長就任にあたって

川本達也

神奈川大学総合理学研究所 所長

Greetings from the Director

Tatsuya Kawamoto

Director of the Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University

シャープが外国企業に買収され、東芝が事業を縮小するようなことは数年前までは考えられませんでした。このような厳しい時代の到来は、そのまま大学にも当てはまります。東京オリンピックを2年後に控えた2018年には受験生の大幅な減少が見込まれています。しかし、そのときを待つまでもなく学生の奪い合いは年を追うごとに激化しているように感じるのは私だけではないでしょう。このような時代においても優れた学生を確保するためには、やはりその責務である教育と研究に腰を据えてしっかりと取り組むことが何より肝要と考えます。

このような困難な時代を生き抜くために総合理学研究所として貢献できることは何かと考えるために総合理学研究所設置の目的に立ち返ってみました。そこには「理学に関する研究と調査を行い、学問の向上と発展に寄与することを目的とする」とありました。これまで総合理学研究所は、この目的にしたがって忠実に運営されてきた結果、所員が腰を据えて研究に取り組める環境づくりにしっかりと貢献してきたといえるでしょう。個々の内発的動機に基づく独創的な研究やイノベーションの創出に向けた新しい試みを支援するだけでなく、さらにこれからは、オープンイノベーションが世界的レベルで進展する中、研究拠点の形成を目指した取り組みを促すことも役割のひとつと考えます。総合理学研究所はこれらの挑戦を支える基盤であり、その責務を全う

することが理学部の活性化をもたらし、延いてはより魅力ある大学づくりにつながると信じます。

一方、理学部の教育研究上の目的には「学術の基礎と一般常識を身に付け、理学における専門的な知識を修得する道を通じて個を確立し、社会の中核として活躍できる人材の育成を目的とする」とあります。これに加えて、「大学」にとって薄暗く息苦しい未来を打破するためには、今後、総合理学研究所としても社会の中核として活躍できる人材への成長が見込める学生の確保を見据えた活動を積極的に推し進める必要があると考えます。この問題に対する意識を総合理学研究所として共有できたところで、そのための体制づくりを進めることになるでしょう。受験生や保護者を対象とする研究についての情報発信や外部資金の獲得とそれによる研究設備のさらなる充実を後押しすることが優れた学生の確保にも結び付くと考えます。また、本雑誌を研究成果の報告書にとどめることなく、様々な情報発信源として活用することも必要不可欠なことです。

総合理学研究所のこのような活動は所員の皆様のご協力なくしては成し得ません。絶えず皆様のお知恵を拝借しながら、所員全員の共通認識のもと総合理学研究所としてできることを力強くスピード感をもって推し進め、理学部、延いては神奈川大学の発展に資する所存でございます。

■ Full-Length Paper ■

Vibrational Zero-Point Energies and Structures of Rare-Gas Clusters

Chikara Amano^{1, 2}

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² To whom correspondence should be addressed. E-mail: amano@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: For argon, krypton, and xenon clusters, the vibrational zero-point energy corrections to the classical binding energies were calculated by using the harmonic approximation to the Lennard-Jones 6-12 potential. The relative stabilities of the face centered cubic and the non-crystalline icosahedral structures were examined for complete shell clusters in the range of $N = 13$ –1415. The zero-point energy values for argon are in the range of 11%–13% of the classical binding energy. The values follow the order $\text{Ar} > \text{Kr} > \text{Xe}$, and those for Kr and Xe are about 50% and 30% of those for Ar. For $N < 309$, the values for the icosahedral structure are somewhat larger, meaning that the icosahedral structure is slightly unstable. However, it is not enough to affect the conventional order. For $N > 923$, the values for the f.c.c. structure are larger, and thus, the order did not change. The zero-point energy correction does not affect the conventional order of stability.

Keywords: rare-gas cluster, crossover of structure, molecular mechanics, zero-point energy, vibrational energy

Introduction

For stable structures of atomic nuclei and crystal seeds and for the local geometries of liquids, a structure with five-fold symmetry has been proposed for aggregates made of 13 particles¹⁻⁴. The structure has been extended by Mackey to clusters of all sizes. He has noticed that it is nearly as dense as the closest packing structure is⁵.

Audit has studied the free expansion of argon and xenon gases in a supersonic jet by using electron diffraction⁶. He has observed that the structure changes from a dimer to a liquid droplet and a liquid droplet to a crystal due to an increase in the pressure. In the diffraction graphs, the 111 peak is much stronger than the 200 peak is. However, he does not explain the reason for the different intensities. Hoare and Pal have studied the structures and shapes of rare-gas clusters for cases where the number of atoms per cluster (N) is in the range 3-70 by using molecular mechanics with the Lennard-Jones (L-J) 6-12 potential and the Morse potential⁷. They have concluded that amorphous structures composed of tetrahedra, each

of which consists of four atoms, bound in face-to-face form. For closed-shell clusters of 13 and 55 atoms, a non-crystalline icosahedral structure (Mackay icosahedron) has been shown to be more stable than the face centered cubic (f.c.c.) cuboctahedron and amorphous structures are. Farges et al. have studied argon clusters formed in a supersonic beam by using electron diffraction⁸. The diffraction graphs have been interpreted by using a simulation with a nearly spherical-shaped f.c.c. structure with $N = 500$. In the results of the simulation, they have found that the 111 peak is much stronger than the 200 peak is, as was observed earlier by Audit, and they ascribe the difference to the formation of a non-crystalline structure in an early stage of generation.

Echt *et al.* have obtained the mass spectra of xenon clusters formed in a supersonic beam⁹. They have observed that, in the mass spectra, 13, 19, 25, 55, 71, 87 and 147, which correspond to the intense peaks, are magic numbers of atoms. Of these numbers, 13, 55 and 147 correspond to the numbers of atoms for closed-shell clusters with icosahedral structures. On

the basis of this observation and the binding energy calculations by Hoare, he has concluded that xenon clusters have an icosahedral structure. However, the above three magic numbers also correspond to the closed shell numbers for the f.c.c. cuboctahedral structure, and the magic number 19 corresponds to that for the f.c.c. octahedron.

Ten years after the first study, Farges *et al.* again studied argon clusters by using electron diffraction^{10,11}. They concluded from a simulation of the diffraction graphs that clusters in the N range of 20-50 have poly-icosahedral structures formed through the union or interpenetration of $N = 13$ fundamental icosahedra and that clusters in the N range of 50-750 have multi-shell icosahedral structures (Mackay icosahedra). They suggest that, at $N = 75$, the first structure transition from poly-icosahedral to multi-shell icosahedral structures occurs and, at $N = 750$, the second transition from multi-shell icosahedral to f.c.c. crystal structures occurs.

Xie *et al.* have calculated the binding energies of rare-gas clusters by using molecular mechanics with the L-J 6-12 potential¹². They report that, for clusters of smaller N , the icosahedral structure is more stable than the cuboctahedral f.c.c. structure is and that the structures form between $N = 8217$ and 10179 . For clusters in the range of $500 < N < 6000$, Raoul *et al.* report that results obtained by using molecular mechanics calculations with the L-J 6-12 potential are similar to those reported by Xie *et al.*¹³ In addition, they show that the Marks decahedral structure is stable in the range of $1600 < N < 105$.

Van de Waal has examined electron diffraction graphs obtained in 1973 by Farges *et al.* and has shown via simulation that they can be interpreted by using an f.c.c. microcrystalline structure with $N = 3000$ grown from twin nuclei with 5-fold symmetry¹⁴. On the basis of this interpretation, he has proposed a dynamic model for crystal growth without a structural phase transition, in which an f.c.c. crystal forms naturally from icosahedral or similar structural nuclei with 5-fold symmetry. The two peaks at the smallest angles, which correspond to the icosahedral structure, and the other peaks for the f.c.c. structure provide evidence for Van de Waal's interpretation of the diffraction graphs. Kovalenko *et al.* have studied argon, krypton, and

xenon clusters with $N \geq 2000$ formed in a supersonic jet expansion by using electron diffraction¹⁵⁻¹⁷. They have interpreted the diffraction graphs by invoking f.c.c. structures with deformation and intersection type defects. They support the kinetic crystal growth model proposed by Van de Waal. However, studies of large argon clusters in the range of $10^3 < N < 10^5$ by using electron diffraction, reported by Van de Waal *et al.*, do not support the formation of an f.c.c. structure, but they do support the formation of a mixture of f.c.c., h.c.p. and random structure regions, which is inconsistent with the kinetic crystal growth model¹⁸. In supersonic jet expansion experiments, clusters with non-equilibrium structures can be produced.

As the above results show, clusters with $N < 750$ have non-crystalline icosahedral, poly-icosahedral and multi-shell icosahedral structures, and those with $N > 750$ have f.c.c. crystalline structures. The transition between these two types of structures is difficult to understand. Farges *et al.* and Northby support a real phase transition, whereas Van de Waal and Kovalenko *et al.* support a gradual structure change, in which icosahedral nuclei are incorporated. As recent results by Van de Waal *et al.* show, there is another problem because clusters with non-equilibrium structures can form in supersonic jet expansions. However, only clusters with equilibrium structures can undergo phase transitions. For the crossover from icosahedral to f.c.c. structures, there is still a discrepancy between experiment and theory. Experimentally, the phase transition has been shown to occur at $N = 750$, whereas it has been theoretically shown to occur in the range of $8217 < N < 10179$. From this discrepancy, it has been suggested that the interatomic forces between distant atoms in a cluster are shielded by neighboring atoms to become short range ones, and this crossover has been studied by using molecular mechanics with short range L-J potentials¹⁹. When the L-J 8-14 potential is used, crossover occurs at $N \approx 750$.

The binding energies calculated by using molecular mechanics are classical ones. By adding the zero-point vibration energies, the quantum mechanical binding energies are obtained. In this report, the quantum mechanical binding energies for heavy rare-gas clusters with f.c.c. cuboctahedral and

icosahedral structures were calculated by using the harmonic approximation of the L-J 6-12 potential. On the basis of the results, the stable structures and the crossover between structures are discussed

Methods

A general form of the Lennard-Jones potential is given by

$$V_{a,b}(\mathbf{r}_a, \mathbf{r}_b) = \frac{U_0}{R-S} \left[S \left(\frac{r_0}{r_{a,b}} \right)^R - R \left(\frac{r_0}{r_{a,b}} \right)^S \right], \quad (1)$$

where a and b are the labels of the atoms, and $r_{a,b}$ is the distance between atoms a and b . Integers R and S are parameters for determining the range of the interatomic forces. For convenience, $R = 12$ and $S = 6$ were employed. The total potential energy of a cluster composed of N atoms is given by

$$U = U_N(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots) = \sum_{a=1}^{N-1} \sum_{b=a+1}^N V_{a,b}(\mathbf{r}_a, \mathbf{r}_b). \quad (2)$$

The minimum value of the potential energy corresponds to the classical binding energy, and the correspondent coordinates \mathbf{r}_a^0 are the coordinates for the stable structure of the cluster, which were calculated by using molecular mechanics^{20,21)}.

In order to calculate the zero-point vibrational energies, a method based on Cartesian coordinates was used²²⁾. Thus, it was possible to obtain six vibrational frequencies, which are equal to zero. The harmonic approximation U_h of the L-J 6-12 potential was used:

$$U_h = \sum_{c=1}^N \sum_{d=1}^N \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \left(\frac{1}{2} \right) k_{s(i),s(j)}^{c,d} s(i)_c s(j)_d, \quad (3)$$

$$k_{s(i),s(j)}^{c,d} = \left[-\frac{\partial F_{s(i)}^c}{\partial s(j)_d} \right]^0 = \left[\frac{\partial^2 U}{\partial s(i)_c \partial s(j)_d} \right]^0, \quad (4)$$

$$k_{\alpha,\beta} = k_{s(i),s(j)}^{c,d}; \alpha = 3(c-1) + i, \beta = 3(d-1) + j, \quad (5)$$

where k is the force constant, and $s(i)$ is the displacement from the equilibrium position. C and d are the labels of the atoms, and i and j are the labels

of coordinate components, which take values of 1, 2, and 3 corresponding to the x , y , and z components. The superscript 0 refers to the stable structure. $s(1)_c = xc - x_c^0$, $s(2)_c = y_c - y_c^0$, and $s(3)_c = z_c - z_c^0$. α and β are labels composed of c or d and 1, 2, or 3 and are in the range of 1-3 N . An application program MATLAB was used for solving the eigenvalue problem of $k_{\alpha\beta}$ ²³⁾.

For actual calculations, reduced units, which are shown in Table 1, were used^{24,25)}.

The zero-point vibrational energy is given by

$$E = \sum_{\alpha=1}^{3N} \left(\frac{1}{4\pi} \right) h \omega_{\alpha}. \quad (6)$$

The same formula expressed in reduced units is given by

$$E^* = \sum_{\alpha=1}^{3N} \left(\frac{1}{4\pi} \right) h^* \omega_{\alpha}^* = \left(\frac{1}{4\pi} \right) h^* \sum_{\alpha=1}^{3N} \omega_{\alpha}^* \quad (7)$$

Quantities with an asterisk (*) are those represented in reduced units. For example, $h^* = h/h_0$ and $h_0 = r_0 m_0^{1/2} U_0^{1/2}$.

Table 1. Reduced units for Ar, Kr, and Xe

unit	Ar	Kr	Xe
r_0 (nm)	0.340	0.360	0.410
U_0 (10^{-23} J)	166	236	305
m_0 (10^{-26} kg)	6.6336	13.916	21.803
t_0 (ps)	2.15	2.76	3.47

Results and Discussion

The zero-point energy values calculated for the f.c.c. and the icosahedral structures are shown in Table 2. First, the changes in the values with respect to the sizes of the clusters are discussed. For clusters with $N \leq 309$, the icosahedral structures have large zero-point energy values. The difference between the two structures becomes smaller with an increase in N , and it is nearly zero when $N = 561$. When $N \geq 923$, the zero-point energy for the f.c.c. structure becomes large, and it becomes larger with an increase in N . Next, the zero-point energy values for Ar, Kr, and Xe are compared. The values for Ar are the largest, and the other follow in the order Ar > Kr > Xe. The values for Kr are about 50% of those for Ar,

and those for Xe are about 30% of those for Ar. The values in parentheses for the f.c.c. structure with $N = 13$ are tentative since the minimum value of the vibrational frequency was a negative value. The values for $N > 1415$ could not be obtained because of the limited amount of available computer memory.

Zero-point energy corrections to the binding energy values for the Ar clusters are shown in Table 3. The zero-point energy values were 11%–13% of the classical binding energies for all values of N . This means that they are not small enough to be neglected. When $N < 309$, the zero-point energy

values indicate that the icosahedral structure is a little unstable, but this does not affect the order of the stabilities. When $N > 923$, the zero-point energy values are larger for the f.c.c. structure, supporting the usual order of stabilities. In addition, the quantum mechanical binding energy values support the classical order of stabilities. When $N \leq 8217$, the icosahedral structure is stable, and crossover occurs in the range of $8217 < N < 10179$. Binding energy calculations based on classical mechanics can be used to predict the stable structures of rare-gas clusters.

Table 2. Zero-point energy values for the f.c.c. and the icosahedral (ih.) structures of Ar, Kr, and Xe clusters

No. of atoms	Zero-point energy for f.c.c.			Zero-point energy ih.		
	Ar	Kr	Xe	Ar	Kr	Xe
13(1)*	(6.152)	(3.366)	(2.077)	6.429	3.518	2.171
55(2)	34.31	19.32	11.92	35.83	19.60	12.09
147(3)	105.7	57.83	35.68	106.4	58.19	35.91
309(4)	235.8	129.0	79.60	236.4	129.3	79.79
561(5)	444.1	243.0	149.9	444.2	243.0	145.0
923(6)	749.2	409.9	252.9	748.1	409.3	252.6
1415(7)	1170	639.9	394.8	1167	638.2	393.8

* Numbers in parentheses represent the numbers of shells H.

Table 3. Binding, zero-point, and total energies for the f.c.c. and ih structures of Ar clusters

No. of atoms	f.c.c.			ih		
	Binding energy	Zero-point energy	Total energy	Binding energy	Zero-point energy	Total energy
13	-40.8844	(6.152)	(-34.7324)	-44.3268	6.429	-37.8978
55	-268.276	35.31	-232.966	-279.248	35.83	-243.418
147	-854.376	105.7	-748.676	-876.461	106.4	-770.061
309	-1971.56	235.8	-1735.76	-2007.21	236.4	-1770.81
561	-3792.09	444.1	-3347.99	-3842.39	444.2	-3398.19
923	-6488.21	749.2	-5739.01	-6552.72	748.1	-5804.62
1415	-10232.1	1170	-9062.10	-10308.8	1166	-9142.80

References

- 1) Wefelmeier W (1937) A geometrical model of the nucleus. *Z. Physik* **107**: 332-346.
- 2) Benson GC and Shuttleworth R (1951) The surface energy of small nuclei. *J. Chem. Phys.* **19**: 130-131.
- 3) Bernal JD (1959) Geometric approach to the structure of liquids. *Nature* **183**: 141-147.
- 4) Bernal JD (1959) Geometry of the structure of monoatomic liquids. *Nature* **185**: 68-70.
- 5) Mackey AL (1962) A dense non-crystallographic packing of equal spheres. *Acta Cryst.* **15**: 916-918.
- 6) Audit P (1969) Liaisons intermoleculaires dans les jets supersoniques etude par diffraction d'electrons. *Journal de Physique* **30**: 192-202.
- 7) Hoare MR and Pal P (1972) Geometry and stability of spherical f.c.c. microcrystallites. *Nature Phys. Sci.* **236**: 35-37.
- 8) Farges J, Raoult B and Torchet G (1973) Crystalline and noncrystalline effects in electron diffraction patterns from small clusters in an argon cluster beam. *J. Chem. Phys.* **59**: 3454-3458.
- 9) Echt O, Sattler K and Rehnagel E (1981) Magic numbers for sphere packings: Experimental verifica-

- tion in free xenon clusters. *Phys. Rev. Lett.* **47**: 1121-1124.
- 10) Farges J, de Feraudy MF, Raoult B and Torchet G (1983) Noncrystalline structure of argon clusters I. Polyicosahedral structure of Ar_N clusters, $20 < N < 50$. *J. Chem. Phys.* **78**: 5067-5080.
 - 11) Farges J., de Feraudy MF, Raoult B and Torchet G (1986) Noncrystalline structures of argon clusters. II. Multilayer icosahedral structure of Ar_N clusters $50 < N < 750$. *J. Chem. Phys.* **84**: 3491-3501.
 - 12) Xie J, Northby JA, Freeman DL and Doll JD (1989) Theoretical studies of the energetic and structures of atomic clusters. *J. Chem. Phys.* **91**: 612-619.
 - 13) Raoult B, Farges J, de Feraudy MF and Torchet G (1989) Comparison between icosahedral, decahedral and crystalline Lennard-Jones models containing 500 to 6000 atoms. *Phil. Mag.* **60**: 881-906.
 - 14) Van de Waal BW (1996) No evidence for size-dependent icosahedral \rightarrow fcc structural transition in rare-gas clusters. *Phys. Rev. Lett.* **76**: 1083-1086.
 - 15) Kovalenko SI, Solnyshkin DD, Bondarenko EA and Verkhovtseva ET (1997) Crystal phase formation and growth in rare-gas clusters. *Low Temp. Phys.* **23**: 140-144.
 - 16) Kovalenko SI, Solnyshkin DD, Bondarenko EA, Verkhovtseva ET and Eremenko VV (1998) Electron diffraction study on the rise of crystal phase in rare-gas and nitrogen clusters. *J. Crystal Growth* **191**: 553-557.
 - 17) Kovalenko SI, Solnyshkin DD and Verkhovtseva ET (2000) On the mechanism of transformation of icosahedral rare-gas clusters into fcc aggrgations. *Low Temp. Phys.* **26**: 207-209.
 - 18) Van de Waal BW, Torchet, G and de Feraudy MF (2000) Structure of large argon clusters Ar_N , $103 < N < 105$: experiments and simulations. *Chem. Phys. Lett.* **331**: 57-63.
 - 19) Amano C, Mikami Y and Mochizuki M (2011) Shielded Lennard-Jones potentials and the crossover of structures of rare gas clusters. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **22**: 1-7.
 - 20) Stillinger FH and Weber TA (1982) Hidden structures in liquids. *Phys. Rev. A* **25**: 978-989.
 - 21) Amano C, Niina H and Mikami Y (2009) Molecular dynamics on silver cluster structures along the icosahedral noncrystalline and the cuboctahedral c.c.p. growth sequence. *J. Mol. Structure: THEOCHEM* **904**: 64-68.
 - 22) G. Herzberg (1991) *Molecular Spectra and Molecular Structure Vol. II*. Robert E. Krieger Publishing Co., Malabar, Florida. pp. 67-69.
 - 23) MATLAB R2015a (2015) MathWorks Inc.
 - 24) Verlet L (1967) Computer experiments on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules. *Phys. Rev.* **159**: 98-103.
 - 25) Stillinger FH and Stillinger DK (1990) Computational study of transition dynamics in 55-atom clusters. *J. Chem. Phys.* **93**: 6013-6024.

■ Full-Length Paper ■ By a grant from Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University

Synthesis of a Thin Buried Oxide Layer by High Temperature Oxygen Implantation in a Silicon Substrate — Effect of High Temperature Implantation —

Yasushi Hoshino^{1,3}, Gosuke Yachida², Yasunao Saito¹ and Jyoji Nakata¹

¹ Department of Mathematics and Physics, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² Division of Physics, Graduate School of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ To whom correspondence should be addressed. E-mail: yhoshino@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: We performed O⁺ ion implantation in silicon substrates at considerably high substrate temperatures (up to 1000°C) to synthesize a silicon-on-insulator (SOI) structure, and investigated the effect of the high-temperature implantation. We expect that such high-temperature implantation can effectively avoid radiation damage induced in the SOI layer, and simultaneously stabilize the SOI and buried oxide (BOX) layer. Such high-temperature implantation could make it possible to reduce the temperature in post-implantation annealing. In this study, O⁺ ions at an energy of 180 keV were incident on Si(001) substrates at a fluence of 1×10^{18} ions/cm² while keeping the substrate temperatures at room temperature (RT), 500, 800 and 1000°C. Some of the samples were additionally postannealed at 1000°C under an argon atmosphere in a quartz furnace. The topographic images were observed by an atomic force microscope (AFM) and the elemental depth profiles and crystallinity were analyzed by Rutherford backscattering spectroscopy (RBS). The AFM analysis showed that the surface roughness of the samples implanted at 500°C or below were significantly smaller with a mean roughness of less than 1 nm, and substantially increased for the 800°C-implanted sample. On the other hand, many dents were observed in the 1000°C-implanted sample. The RBS analysis revealed that stoichiometric BOX layers were formed by oxygen implantation at RT, 500 and 800°C. However, the implanted oxygen atoms were desorbed during the implantation at 1000°C. It was confirmed that the crystallinity of the SOI layer was improved by postannealing at 1000°C; however, the oxygen atoms were found to significantly diffuse in the superficial Si layer.

Keywords: silicon-on-insulator (SOI), separation by implanted oxygen (SIMOX), hot-implantation, Rutherford backscattering spectroscopy (RBS), atomic force microscope (AFM)

Introduction

Silicon-on-insulator (SOI) technology makes it possible to reduce stray capacity and leak-current between transistors and a substrate due to electrical isolation by a buried insulating layer of SiO₂, compared to ordinary Si-based transistors^{1,2}. The SOI structure therefore should be applied to energy-saving and high-performance electronic devices. There are typically two kinds of method to fabricate the SOI structure: one is wafer-bonding followed by

wafer-thinning processes, and the other is oxygen implantation in silicon method called “SIMOX” (Separation by IMplanted OXYgen)³.

Today, SOI wafers are commercially provided by the wafer bonding method; however bonding and thinning processes are more complicated and requires high costs, especially for making an ultrathin SOI substrate. Furthermore, low-dimensionally integrated SOI patterns on silicon wafers cannot be

realized by the wafer bonding process.

In the 1970s, Izumi *et al.* succeeded in synthesizing SOI structure by a high-fluence oxygen implantation in silicon substrates followed by extremely high temperatures annealing ($>1300^{\circ}\text{C}$) for a long time (SIMOX method)⁴⁾. In principle, the SIMOX process was thought to be simpler than the wafer bonding method in terms of the number of processes, though extremely high-temperature and longtime annealing were necessary to recover the damages induced by high-dose ion irradiation and stabilize the box layer.

In the present study, oxygen ion implantation in silicon substrate at considerably high temperatures was performed for the purpose of avoiding the irradiation damages and simultaneously stabilizing the buried oxide (BOX) and the SOI layers. We also confirmed the possibility to reduce postannealing temperature by preparing the samples using the hot-implantation.

Materials and Methods

The implantation was performed by the 200 kV medium-current ion-implanter at Kanagawa University. The implanter is capable of irradiating most of elemental species into solids at wide temperature range from -196°C to 1000°C . The temperature is monitored by thermocouples attached to a sample holder. In this study, O^+ ions accelerated at 180 keV were incident on Si(001) substrates at various substrate temperatures of room temperature (RT), 500, 800 and 1000°C . The implantation at RT here means that the implantation was performed without power supply from a heater. In general, the sample was subsidiarily heated by energy deposition from ion beam. In the present condition of the RT implantation, the sample was found to be actually heated more than 300°C .

We simulated oxygen ion profile in advance by the TRIM code based on a binary collision Monte Carlo method; as a result, the projected range of oxygen ion at the energy of 180 keV in silicon was estimated to be about $450\text{ nm}^5)$. The fluence of oxygen ion, which was determined by integrating the beam current, was $1 \times 10^{18}\text{ ions/cm}^2$. The atomic concentration at the maximum of the profile was estimated to be $\sim 4.5 \times 10^{22}\text{ atoms/cm}^3$, whose value corresponds to the atomic density of oxygen in a stoichiometric

SiO_2 . The thickness of the BOX layer will be about 200 nm.

Some of the samples were postannealed at 1000°C in argon ambient to stabilize the structure. The details of the sample preparation are summarized in Table 1.

The prepared samples were analyzed by atomic force microscope (AFM), and Rutherford backscattering (RBS). Here, the AFM analysis provides the information on the surface morphology and the RBS measurement does the elemental depth profiles and the crystallinity.

Table 1. Implantation condition

Projectile	O^+
Energy	180 keV
Substrate temp.	RT, 500, 800, 1000°C
Fluence	$1.0 \times 10^{18}\text{ (ions/cm}^2)$
Postannealing	No / 1000°C

In the RBS measurement, we used 1988-keV Li^{2+} ions as the primary beam and scattered Li particles were detected by two silicon-surface-barrier detectors located at 160 and 100° in terms of the scattering angles. The projectiles were incident on the samples with respect to the surface normal. In order to extract quantitative information on the depth profile of elements, it is essential to best-fit the simulated spectrum to the experimentally observed one by varying the fitting parameters reflecting the sample structures of elemental composition and layer thickness. Details of the simulation methods can be found in some previous reports⁶⁻⁸⁾.

Results

Fig.1 shows topographic images obtained by AFM observation for the oxygen-implanted samples with the ion-fluence of $1 \times 10^{18}\text{ ions/cm}^2$ at RT ($\sim 300^{\circ}\text{C}$), 500, 800 and 1000°C . The surfaces prepared at 500°C or below were found to be significantly flat with mean roughness of less than 1 nm. The surface roughness was slightly increased to about 7 nm by the higher temperature implantation at 800°C . Furthermore, a lot of dents were observed for the 1000°C -implanted sample and the depth of them were typically a few hundred nanometers, roughly corresponding to the depth of implanted oxygen.

Next, we show RBS spectra measured for the

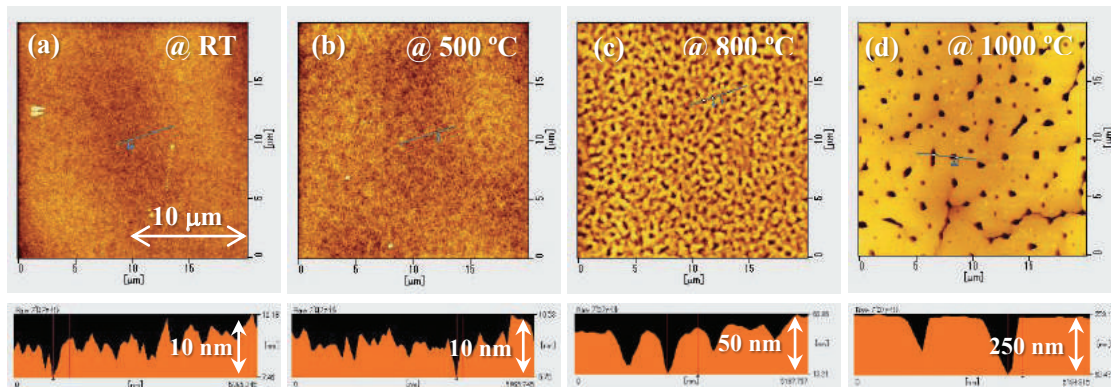


Fig. 1. Topographic images by AFM for the samples implanted at (a) RT, (b) 500, (c) 800 and (d) 1000°C .

oxygen-implanted samples at random (black) and [001]-aligned (red) geometry prepared at RT(*300°C), 500, and 800°C implantation in Fig. 2. For reference, RBS spectra for a bare Si sample denoted by green (random) and blue (aligned) dots are shown in the figure. The figures of (a), (b) and (c) correspond to the as-implanted samples and that of (d), (e) and (f) are the postannealed ones. In the random condition, the projectiles were incident on the samples with a slightly tilted angle of a few degrees from the surface normal. Yellow curves show the best-fitted spectrum by using the RBS simulation code.

The assumed elemental compositions to get the best-fit spectra are shown in Fig. 3. It is clearly observed in the as-implanted samples shown in Fig. 3(a), (b) and (c) that a buried SiO₂ layer with thickness of ~ 300 nm was formed underneath the Si layer with thickness of ~300 nm. The surface oxide layer with ~50 nm thick could be grown in postannealing by residual oxygen-derived compounds in the furnace. According to the results, the elemental compositions of the BOX layer are almost stoichiometric. On the other hand, the superficial Si layer in the RT sample contained some oxygen atoms of ~15 atoms%, and the fraction was increased to ~20 atoms% with elevating temperature to 500°C. Implantation performed at 800°C significantly diffused oxygen atoms into the SOI layer. Besides, we observed elemental transition layers at the interfaces of SOI/BOX and BOX/substrate, indicating that the interfaces were not abrupt so much. The thickness of the transition layer at the SOI/BOX interface was estimated to be about 100 nm. On the other hand, no SiO₂ layer was detected in the 1000°C-implanted

sample (not shown here). It is indicated that the SiO₂ layer disappeared during oxygen implantation.

After annealing at 1000°C in Ar atmosphere, the oxygen atoms were significantly diffused in the superficial Si layer as shown in Fig.3(d), (e) and (f). The fraction of oxygen in the Si layer was monotonically increased with approaching the interface. The thickness of the transition layer was not changed clearly by postannealing.

Finally, we show the result on the crystallinity of the SOI layer for the as-implanted and the postannealed samples. In the RBS analysis, the ratio of the aligned spectrum to the random one reflects the quality of the single crystallinity. Fig. 4 shows the align/random ratio in the SOI layer formed by (a) RT, (b) 500 and (c) 800°C implantation. The black and red lines show the as-implanted and the postannealed samples, respectively. It is found that the single crystallinity was completely lost in the whole SOI layer for the as-implanted sample prepared at RT and the crystallinity around the interface was not recovered after high-temperature annealing at 1000°C . On the other hand, the high-temperature implantation resulted in keeping the crystallinity in the SOI layer even for the considerably high-fluence of 1×10^{18} ions/cm². As clearly shown in Fig. 4, the recrystallization took place from the surface to deeper layers by postannealing. The final crystallinity of the postannealed samples of the 500 and 800°C -implantation seems to be equivalent.

Discussion

As can be shown in Fig. 1, high-temperature implantation at 1000°C created a lot of dents and resulted in increasing the surface roughness. It is widely

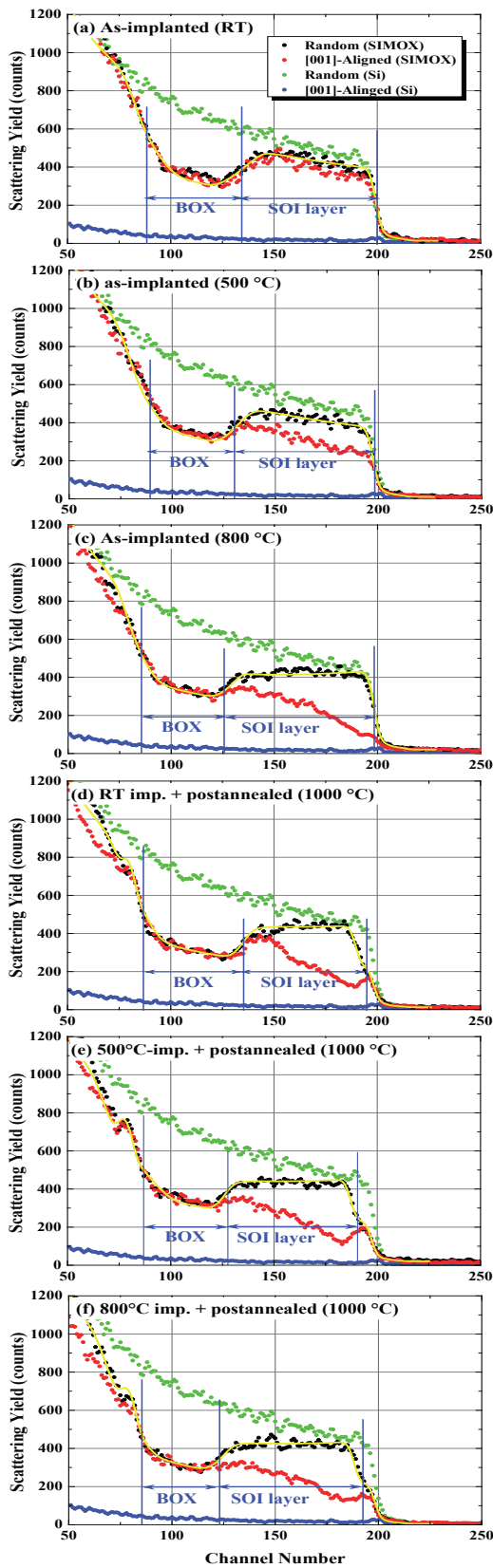


Fig. 2. RBS spectra observed for O⁺-implanted samples at RT, 500 and 800 °C . (a), (b) and (c) are as-implanted and (d), (e) and (f) are postannealed samples.

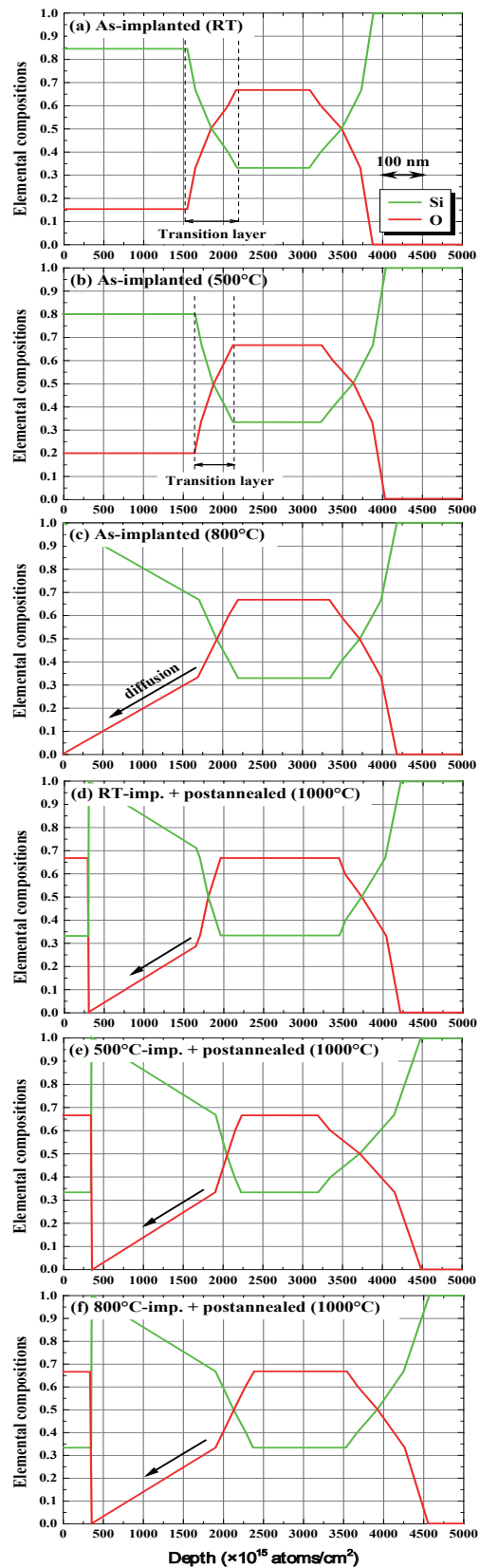


Fig. 3. Elemental depth profiles for O⁺-implanted samples at RT, 500 and 800 °C . (a), (b) and (c) are as-implanted and (d), (e) and (f) are postannealed samples.

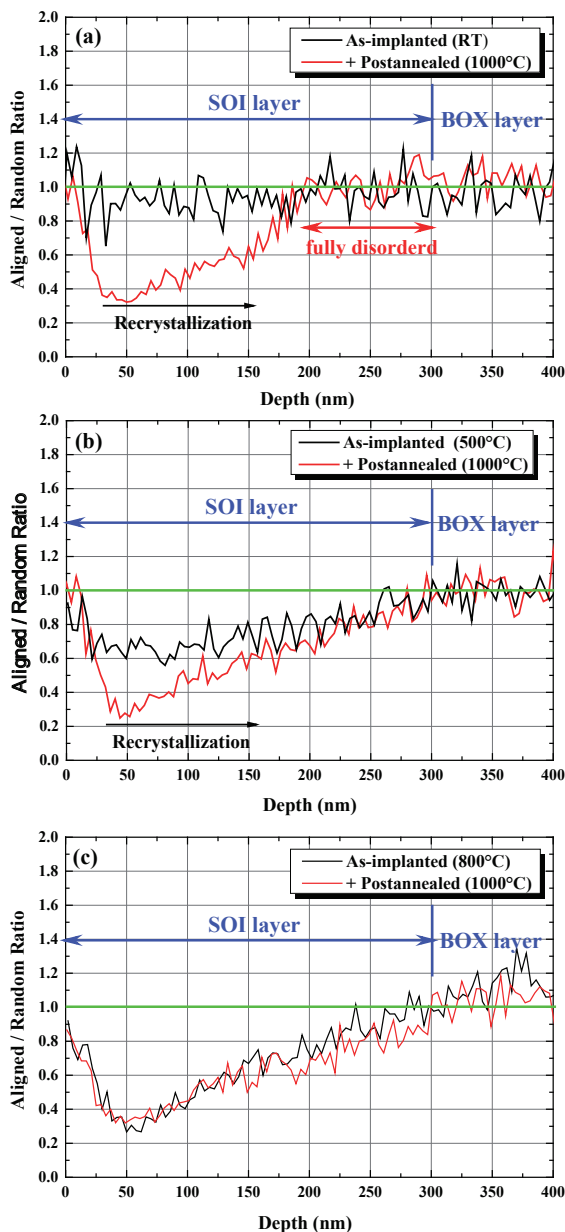


Fig. 4. Align/random ratio in the SOI layer formed at (a) RT, (b) 500 and (c) 800°C implantation.

known that desorption of thermally grown SiO₂ layer is strongly activated above the temperatures more than 800°C under low-pressure condition, and SiO molecules are responsible for this desorption phenomenon. The fact is generally used in the surface cleaning process of silicon. A lot of dents observed on the surface prepared by 1000°C -annealing could be responsible for the thermal desorption of oxygen accompanied with a Si atom. It is consistent with the result of the RBS analysis that most of implanted oxygen atoms disappeared from the sample. From

the viewpoint of the surface roughness, therefore, the oxygen implantation should be performed at the substrate temperatures less than 800°C .

Next, we discuss the result of RBS analysis. In order to synthesize high-quality SOI/BOX layer by the SIMOX process, the formation of an abrupt BOX layer by effective oxygen precipitation and the recrystallization of a defective Si layer are inevitably required. According to the result of the RBS analysis, the low temperature implantation at RT (*300°C) followed by 1000°C annealing was found to be insufficient to synthesize single crystalline SOI layer. It is indicated that hot implantation is effective to keep single crystalline domains in the Si layer against the high fluence. In the case of the implantation above 500°C , some of single crystalline domains were kept in the SOI layer, and the crystallinity was improved by the subsequent annealing. The reason why the recrystallization took place near the surface could be explained that the crystalline structure remaining near the surface was attributed to be the nucleation center of recrystallization.

In the present study, the ion-beam-induced damages are found to be slightly suppressed by high-temperatures implantation, though the crystallinity was not perfectly recovered even if the implantation was performed at high temperature of 800°C followed by high-temperature annealing. It is suggested that higher temperature annealing should be needed to recover and stabilize the structure.

Acknowledgement

The authors would like to acknowledge Prof. Mizuno T. for his valuable suggestions. This research was supported by a grant from Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University (RIIS201502).

References

- 1) Kononchuk O and Nguyen BY (2014) *Silicon-On-Insulator (SOI) Technology : Manufacture and Applications*. Woodhead Publishing.
- 2) Colinge JP (2004) *Silicon on Insulator Technology: Materials to VSLI*. Springer 3rd ed. Berlin.
- 3) Anc MJ (2004) *SIMOX*. The Institution of Electrical Engineering, London.
- 4) Izumi K, Doken M and Ariyoshi H (1978) CMOS devices fabricated on buried SiO₂ layers by oxygen implantation into silicon. *Electron. Lett.* 14: 593-594.

- 5) Ziegler JF, Biersack JI and Littmark U (1985) *The Stopping and Ranges of Ions in Solids*. Pergamon Press, New York.
- 6) Kido Y and Koshikawa T (1990) Ion scattering analysis programs for studying surface and interface structures. *J. Appl. Phys.* **67**: 187-193.
- 7) Saunders PA and Ziegler JF (1983) Interactive computer analysis of nuclear backscattering spectra. *Nucl. Instrum. Method* **218**: 67-74.
- 8) Doolittle LR (1985) Algorithms for the rapid simulation of Rutherford backscattering spectra. *Nucl. Instrum. Method B* **9**: 344-351.

■原 著■ 2015 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

可視域シリコン発光素子の開発

水野智久^{1,4} 前田辰郎² 青木 孝¹ 鮫島俊之³

Experimental Study on Two-Dimensional Si-Based Devices

Tomohisa Mizuno^{1,4}, Tatsuro Maeda², Takashi Aoki¹
and Toshiyuki Sameshima³

¹ Department of Mathematics and Physics, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan.

² National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba City, Ibaraki 305-8568, Japan.

³ Department of Electrical and Electronic Engineering, Faculty of Engineering, Tokyo University of Agriculture/Technology, Bunkyo-ku, Tokyo 184-8588, Japan.

⁴ To whom correspondence should be addressed. E-mail: mizuno@info.kanagawa-u.ac.jp

Abstract: We experimentally studied the effects of the C atom on bandgap E_G modulation in two-dimensional (2D) silicon carbon alloys, $\text{Si}_{1-Y}\text{C}_Y$, fabricated by hot C^+ ion implantation into the (100) SOI substrate with a wide range of Y ($4 \times 10^{-5} \leq Y \leq 0.13$), in comparison with the characteristics of 3D silicon carbide (SiC). X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and UV-Raman analysis confirmed the Si-C, C-C, and Si-Si bonds in the 2D- $\text{Si}_{1-Y}\text{C}_Y$ layer. The photoluminescence (PL) method showed that the E_G and PL intensity I_{PL} of 2D- $\text{Si}_{1-Y}\text{C}_Y$ markedly increased with increasing Y for high Y (≥ 0.005), and, thus, we demonstrated a high E_G of 2.5 eV and a visible wavelength λ_{PL} less than 500 nm. Even for low Y ($< 10^{-3}$), I_{PL} of 2D- $\text{Si}_{1-Y}\text{C}_Y$ also increased with increasing Y , owing to the compressive strain of the 2D- $\text{Si}_{1-Y}\text{C}_Y$ layer caused by the C atoms, but the Y dependence of E_G is very small. E_G of 2D- $\text{Si}_{1-Y}\text{C}_Y$ can be controlled by changing Y . Thus, the 2D- $\text{Si}_{1-Y}\text{C}_Y$ technique is very promising for new E_G engineering of future high-performance CMOS and Si photonics.

Keywords: 2D-Si, carbon, Si-based semiconductor, quantum confinement effects, raman spectroscopy, band structure modulation, photoluminescence, CMOS, SOI, Si-photonics

序論

2次元 Si (2D-Si) 構造は、極微細 SOI (silicon-on-insulator)、FinFET¹⁾ などの CMOS (complementary metal-oxide-semiconductor) 素子、及び Si 光素子²⁾ に広く応用されている。SOI 素子においては、Si 膜厚 $d_S = L_{EFF}/3$ (L_{EFF} は素子のチャネル長) に従って薄膜化するだけで短チャネル効果を抑制でき、その結果、SOI 素子は将来素子としても非常に有望とされている¹⁾。しかし、 d_S の薄膜化を続けると Si 格子定数程度まで薄膜化が進み、SOI は 2D-Si 構造となり、現在の 3D-Si とは物性が異なってくる³⁻¹⁰⁾。従って、将来素子の特性を予測するには、2D-Si 構造の物性を解明する必要がある。

また、高速 CMOS 素子実現には、(110) 面 CMOS や歪み Si 構造などの研究も進められている¹⁾。

2D-Si 層においては、電子の量子力学的閉じ込め効果により、電子移動度劣化の議論がされている³⁾。更に、2D-Si を含めた低次元 Si においては、電子の量子力学的閉じ込め効果によりバンド構造が変調され、バンドギャップ E_G の増大も報告されている⁴⁾。

一方、低次元 Si 構造 (Si ナノワイヤー、Si ドットなど) においては、量子的な閉じ込め効果による第一次近似以外のフォノンも活性化される⁵⁾。これがフォノン閉じ込め効果である。その結果、半導体素子におけるキャリアのフォノン散乱確率が増えキャリア速度の劣化も予想されている⁵⁾。

以上のように、2D-Si を含めた低次元 Si 研究は、微細素子実現のための実用的な目的のみならず、種々の量子的閉じ込め効果の実証という物性研究にとつ

ても非常に重要である。我々は2D-Siにおける量子閉じ込め効果を Raman 分光及び PL 法により実験的に実証してきた⁶⁻¹⁴⁾。

本稿では、更なる E_G の増大と、それに伴う可視域 PL 発光を目指した 2D-Si_{1-y}C_y 構造¹⁵⁾を検討したので報告する。

材料と方法

2D-Si_{1-y}C_y の形成及び構造解析

(100)2D-Si_{1-y}C_y は、図 1 に示すように、膜厚 55 nm の (100)SOI 基板を酸化法によって 40 nm まで薄膜化後 (図 1a)、¹²C⁺ホットイオン注入を基板温度 900°Cで行った後に (図 1b)、酸化法により半導体層を薄膜化することにより作製した (図 1c)¹⁵⁾。¹²C⁺イオンエネルギーは 32keV、 Y は¹²Cイオンドーズ D_C (ドーズ量は 5×10^{12} から 2×10^{16} cm⁻²) により制御した。また、 d_s 値は酸化時間により制御し、反射率スペクトル法により求め⁶⁾、本研究においては $0.4 \leq d_s \leq 8$ nm、原子層数 $N_L (\equiv d_s/d+1, d$ は原子一層幅で (100) では 0.136 nm) に換算すると $4 \leq N_L \leq 60$ を実現した。

フォノン特性は波長 325 nm レーザー光を用いた UV-Raman 分光により評価した。また、バンド構造

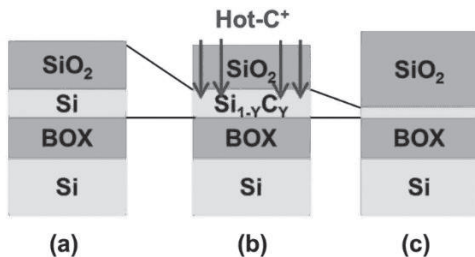


図 1. Si_{1-y}C_y の形成方法. (a) 40 nm まで薄膜化後, (b) C のホットイオン注入, (c) 酸化法による薄膜化を行う.

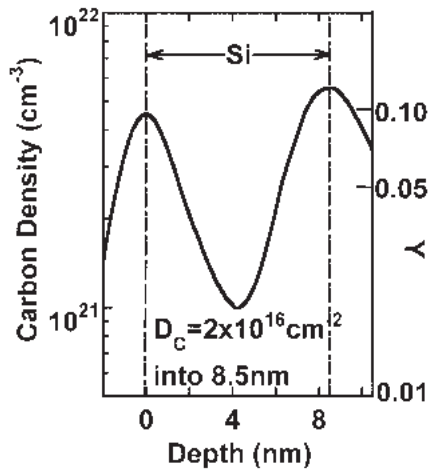


図 2. SIMS 法による C 濃度 (Y) 分布. $d_s=8.5$ nm, $D_C=2 \times 10^{16}$ cm⁻².

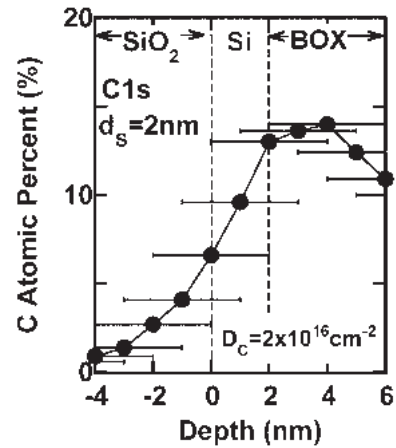


図 3. C1s スペクトルより求めた C 原子濃度深さ分布 (%). $d_s=2$ nm、 $D_C=2 \times 10^{16}$ cm⁻².

は、励起エネルギー $E_{EX} 2.3$ から 3.8 eV のレーザーを用いた PL 法により解析した。

図 2 に、C イオン注入直後の C 濃度深さ分布の SIMS (二次イオン質量分析法) 結果を示す。酸化膜界面に C が偏析しているのがわかり、そのピーク Y は BOX (埋め込み酸化膜) 界面において 0.13 であることがわかる。

更に、図 3 に XPS (X 線光電子分光) の C1s ス

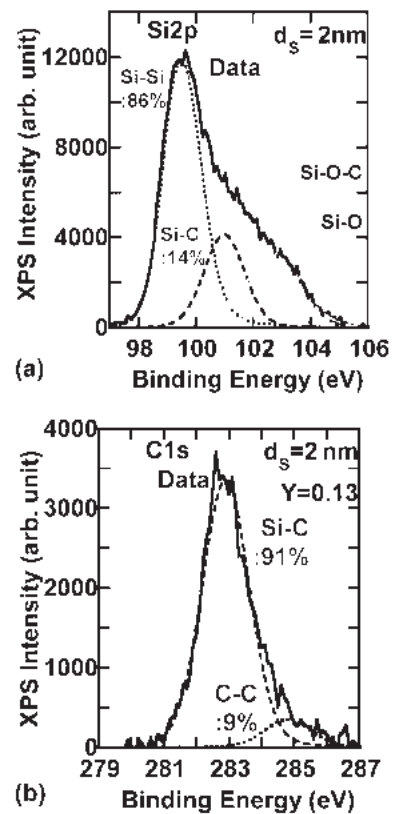


図 4. XPS 法による (a)Si2p スペクトル (a) 及び C1s スペクトル (b). $d_s=2$ nm、 $D_C=2 \times 10^{16}$ cm⁻².

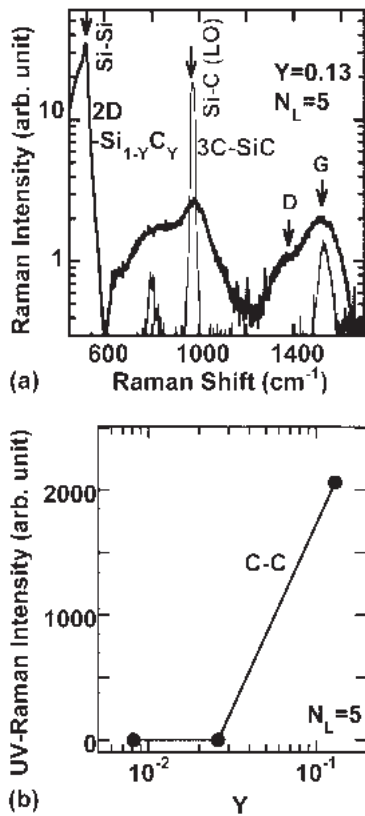


図5. (a)UV-Raman の 2D-Si_{0.87}C_{0.13} と 3C-SiC の比較. (b) G バンド強度の Y 依存性. $N_L=5$.

ペクトルによる膜厚 2 nm の C 原子濃度深さ分布を示す。BOX 界面に C 濃度のピークがあり、しかも図 2 同様、 $Y=0.13$ であることが判明した。従って、ピーク Y は膜厚に依存しないことがわかった。

また、図 4 の XPS 各スペクトルにより、Si_{1-y}C_y 中の各原子の結合状態が分析できる。 $d_s=2$ nm、 $D_c=2 \times 10^{16}$ cm⁻² の場合、Si-Si、Si-C、及び C-C 結合の割合は、それぞれ、86、13、及び 1% であった。この C-C 結合は、Si_{1-y}C_y 中の C 析出を意味し、Si 中の低い C 固溶度に起因している¹⁶⁾。

この C 析出は、UV-Raman 分光により再確認できる。図 5a は、UV-Raman スペクトルの 2D-Si_{0.87}C_{0.13} と 3C-SiC 比較である。1500 cm⁻¹ 付近のピークはグラファイト系の D (多結晶系) 及び G バンド (結晶系) に起因し、3C-SiC にも G バンドが見える。従って、2D-Si_{0.87}C_{0.13} にもグラファイトが、即ち C が析出していることが UV-Raman により再確認できた。一方、970 cm⁻¹ 付近の Si-C 振動モードは 2D-Si_{0.87}C_{0.13} では大きな二次 Si モードにより観測は不能であった。また、図 5b より、2D-Si_{1-y}C_y の G バンド強度は、 $Y=0.13$ のみ観測され、 $Y<0.03$ では観測できず C 析出現象は Y の高濃度化とともに起こると考えられる。

以上のように、C のホットイオン注入法により作

製した 2D-Si_{1-y}C_y には 3 つの原子結合モード、即ち Si-Si、Si-C、及び C-C 結合が存在し、また、不均一な C 濃度分布より、C 低濃度領域、C 高濃度領域、C 析出領域の三領域からの PL 発光が予想される。また、Y は D_c のみにより次式で決定できる。

$$Y = 6.5 \times 10^{-18} D_c. \quad (1)$$

結果及び討論

2D-Si_{1-y}C_y におけるバンド変調

図 6 に $E_{EX}=2.3$ eV における 2D-Si_{1-y}C_y ($N_L=4$) PL スペクトルの Y 依存性を示す。 $Y>0.5\%$ の高 C 濃度領域 (図 6a) においては、2D-Si の PL 強度ピークエネルギー E_{PH} (1.7 eV) より高エネルギー側の発光を有する二重ピークの PL スペクトルを初めて観測できた。しかも、Y の増大とともに、 I_{PL} は急激に増大することも判明した。低 E_{PH} の PL は 2D-Si_{1-y}C_y の表面側の低 C 濃度領域、高 E_{PH} の PL は 2D-Si_{1-y}C_y の BOX 側の高 C 濃度領域からの発光と思われる。更に $Y \leq 8 \times 10^{-4}$ の低 C 濃度領域 (図 6b) においても E_{PH} 及び I_{PL} の増大効果も確認できた。

また、図 7a に示すように、PL スペクトルは E_{EX} 依存性が大きく、大きな E_G を有する 2D-Si_{1-y}C_y の PL スペクトルを正確に計測するには 3.8 eV の高

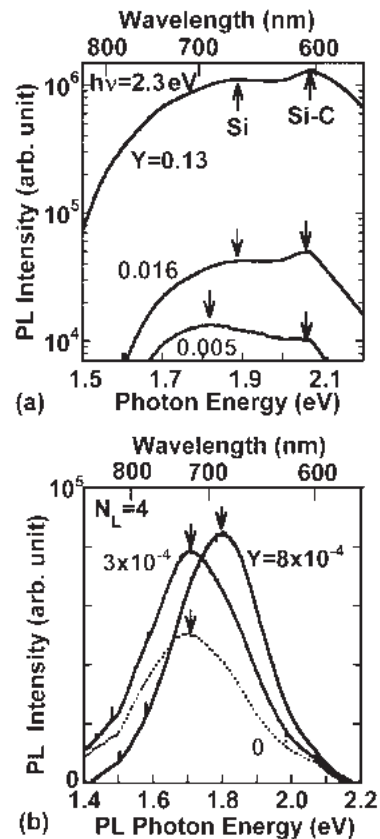


図6. $E_{EX}=2.3$ eV での PL スペクトルの Y 依存性. (a) $Y>0.05$. (b) $Y<0.001$. $N_L=4$. 下軸は E_{PH} . 上軸は PL 光波長 λ_{PL} である。

E_{EX} が必要であることがわかった。従って、 $E_{EX}=3.8$ eVにおける2D-Si_{1-Y}C_Y ($N_L=4$) PLスペクトルの Y 依存性を図7bに示す。3 eV以上のPL光、即ち可視光域のPLも実現できている。また、 E_{PH} は Y 依存性がほとんど無いが、 I_{PL} は $E_{EX}=2.3$ eV同様に急激に増大することも判明した。

図8に、 E_{PH} の Y 依存性のまとめを示す。 $E_{EX}=2.3$

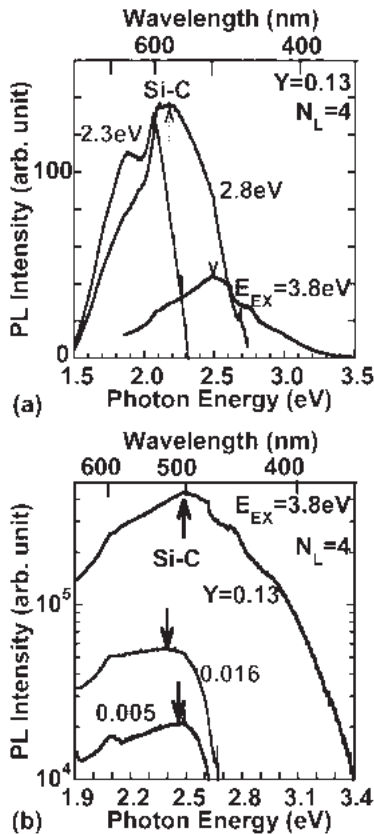


図7. (a) $Y=0.13$ におけるPLスペクトルの E_{EX} 依存性. (b) $E_{EX}=3.8$ eVにおけるPLスペクトルの Y 依存性. $N_L=4$. 下軸は E_{PH} , 上軸は λ_{PL} である.

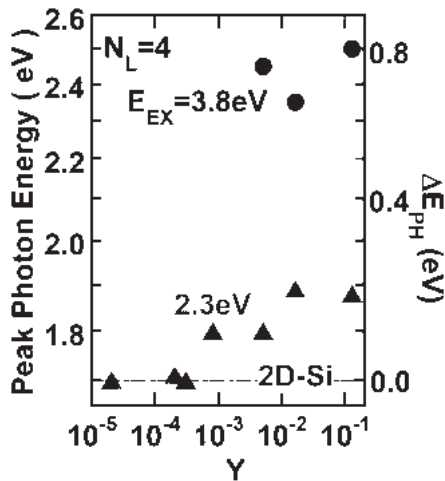


図8. E_{PH} の Y 依存性. $N_L=4$. 丸及び三角印は、それぞれ $E_{EX}=2.3$ eV及び3.8 eVでのデータ.

eVにおいては、 E_{PH} は明らかに Y 依存性があり、2D-Siの1.7 eVから Y とともに $Y=0.13$ では1.9 eVまで増大している。しかし、 $E_{EX}=3.8$ eVにおいては、 E_{PH} は約2.4 eVでほぼ一定である。

E_{PH} の増大機構

図9に、 $E_{EX}=3.8$ eVにおけるの E_{PH} の Y 依存性の2D及び3D-Si_{1-Y}C_Y¹⁷⁾での比較を示す。3D-Si_{1-Y}C_Yの場合 E_{PH} の大きな Y 依存性と違って、2D-Si_{1-Y}C_Yはほぼ一定である。現在、この機構は不明である。一方、PL発光波長は緑色より短波長の500 nmが実現出来ているのがわかる。

次に、 $E_{EX}=2.3$ eVにおける E_{PH} は増大機構を述べる。Si層にC添加したSi_{1-Y}C_Yは、Cの影響によりSiに比べて格子定数が小さくなる。3D-Si_{1-Y}C_Yでの

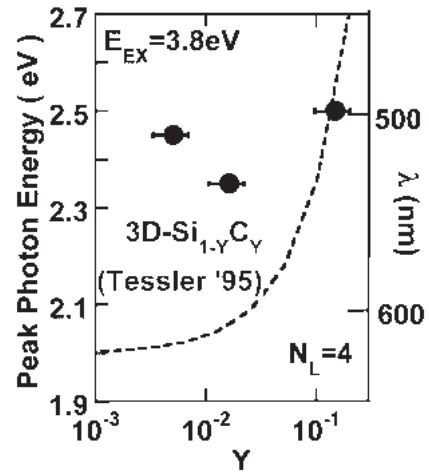


図9. $E_{EX}=3.8$ eVでの E_{PH} の Y 依存性. $N_L=4$. 破線は3D-Si_{1-Y}C_Yのデータ¹⁷⁾.

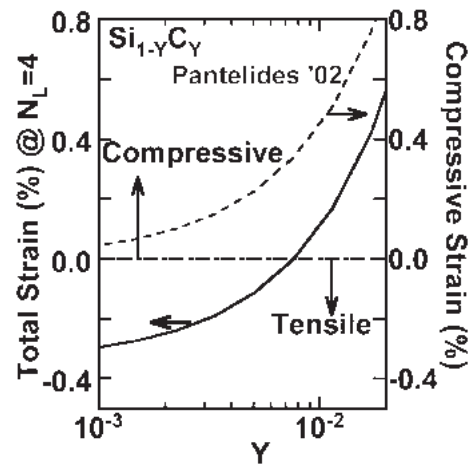


図10. 2D-Si_{1-Y}C_Yにおける圧縮ひずみ(破線)及び表面酸化膜起因の引っ張り応力を考慮した場合の歪み(実線)の Y 依存性の計算値¹⁶⁾. $N_L=4$.

圧縮歪 ε_c [%] は、Vegard 線形則より Y とともに増大することがわかっている¹⁶⁾。即ち、

$$\varepsilon_c(Y) = \frac{a_s - a_{sc}(Y)}{a_s} = \frac{-24Y + 5.7Y^2}{a_s} \quad (2)$$

ここで、 a_s 及び a_{sc} は Si 及び $\text{Si}_{1-Y}\text{C}_Y$ の格子定数である。

図 10 の破線は式 (2) による計算結果 (右軸) である。 $Y > 0.1$ では、 ε_c は 0.4% 以上に増大することがわかる。一方、酸化膜と Si の線膨張率には大きな差があり、前者は後者の約 1/5 であるため、2D-Si 作成時の酸化後の降温下では、表面及び埋め込み酸化膜に挟まれた Si の格子定数は膨張したまま室温より大きいため、引っ張り歪 ε_T が導入される¹⁴⁾。よって、2D-Si_{1-Y}C_Y では (2) 式に ε_T を加算した式より、 ε_c は Y とともに引っ張り歪は緩和される。図 10 の実線は、 $N_L=4$ での実験値 $\varepsilon_T=0.3\%$ の場合¹⁴⁾ の計算結果である。 Y とともに 2D-Si の歪 ε が緩和されるのがわかる。

更に 2D-Si の E_G は ε の減少とともに増大することが実験的にわかっている、次式で表される¹⁴⁾。

$$E_G(Y) = E_0 + E_1 \exp\left[-\frac{\varepsilon(Y)}{\varepsilon_0}\right] \quad (3)$$

ここで、パラメータはそれぞれ $E_0=1.67$ eV、 $E_1=0.346$ eV、及び $\varepsilon_0=0.22\%$ である¹⁴⁾。図 10 の実線結果を式 (3) に代入すると 2D-Si_{1-Y}C_Y の E_G の Y 依存性を求めることができ、その結果を図 11 に点線で示す。四角印の実験結果を良く説明できているのがわかる。

このように、 $E_{EX}=2.3$ eV における E_{PH} の増大効果は、C による 2D-Si_{1-Y}C_Y における歪緩和で説明できることが判明した。

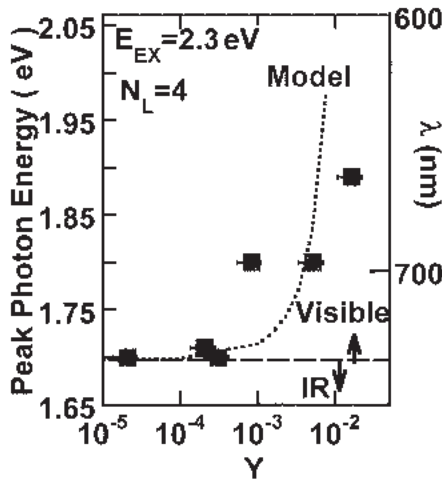


図 11. $E_{EX}=2.3$ eV における E_{PH} 実測値 (四角) と図 10 の応力起因の E_G の Y 依存計算値 (破線) の比較. $N_L=4$.

PL 発光強度の増大効果

前述の PL スペクトル図より、PL 強度 I_{PL} は Y とともに増大することがわかっている。

図 12 は、 I_{PL} の Y 依存性を E_{EX} ごとにまとめた結果である。 $E_{EX} = 2.3$ eV での図 12a より、2D-Si の I_{PL} より 2D-Si_{1-Y}C_Y は更に増大し、 $Y=0.13$ では数十倍に達する。一般的に I_{PL} は次式で表される¹⁴⁾。

$$I_{PL} \propto \alpha \left(1 + \frac{\tau_R}{\tau_{NR}}\right)^{-1} \quad (4)$$

ここで、 α 、 τ_N 、及び τ_{NR} は、それぞれ半導体の吸収係数、電子の放射緩和時間、非放射緩和時間である。 I_{PL} の増大効果が全て α に起因すると仮定した場合の結果が右軸である。既に、2D-Si では 3D-Si より数百倍 α が大きい¹⁸⁾、2D-Si_{1-Y}C_Y では約 3000 倍に達する。 $E_{EX} = 3.8$ eV での図 12b も同様で、 $I_{PL} \propto Y^\beta$ で増大することがわかった。これらの I_{PL} 増大効果はバンド構造変調に起因すると思われるが、詳細は不明である。

以上の結果より、発光素子への応用に 2D-Si_{1-Y}C_Y は非常に有望であると言える。

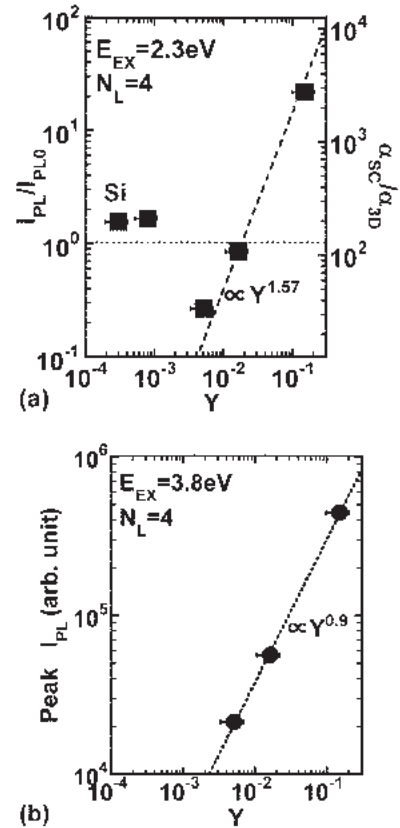


図 12. PL ピーク強度の Y 依存性. $N_L=4$. (a) 縦軸は、 $E_{EX}=2.3$ eV における 2D-Si の I_{PL} ; I_{PL} で規格化. (b) $E_{EX}=3.8$ eV.

デバイス設計

前述のように、2D-Si_{1-y}C_y 技術は 2D-Si への大きなバンド構造変調効果があり、その結果、可視域発光素子の応用も期待できることがわかった。そこで、我々の今までの 2D-Si 研究による E_G 変調と PL 発光波長の変調技術を図 13 にまとめる。

E_G が 1.1 eV であった 3D-Si を膜厚を二次元化し電子の閉じ込め効果の増大により、 E_G は 2.1 eV 程度まで拡大できる。膜厚を 1 nm 以下までの二次元化により、2D-Si は間接遷移型から直接遷移型に変調される (PL 発光の膜厚依存性より)。この場合、2D-Si 形成法による表面酸化膜の厚膜化による 2D-Si の引っ張り歪 ϵ の増大のため、 E_G は 1.7 eV まで低下するため、2D-Si の E_G 増大化には ϵ 緩和 (表面酸化膜の薄膜化) が必要となる。更なる E_G の増大には、2D-Si への C 原子の添加 (2D-Si_{1-y}C_y 技術) が必要となり、 E_G は 3 eV 程度までの増大効果が実現できる。2D-Si の発光波長は近赤外から赤色である。2D-Si_{1-y}C_y の場合、緑色から青色までの発光を実現でき、大きな発光効率も相まって、2D-Si_{1-y}C_y 技術は発光デバイスとして大変有望である。

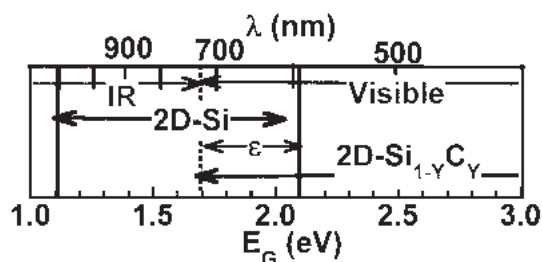


図 13. E_G 及び PL 発光波長のデバイス設計. $N_L \geq 4$.

結論

新たな 2D-Si 用バンド変調技術を確立するために、2D-Si への C⁺ホットイオン注入法及び酸化法を用いて 2D-Si_{1-y}C_y を検討し、その作製に成功した。

XPS 及び SIMS 分析法により、注入された C 原子は Si 界面に偏析し、しかも C 原子濃度はその膜厚に依存しないことが判明した。また、XPS より、Si_{1-y}C_y 中の Si-Si、Si-C、及び C-C の 3 つの原子結合割合も決定できた。C-C 結合は Si 中の C 析出であり、UV-Raman 分析により、C の高濃度化とともに C 析出が起こることもわかった。

PL 法により、C 濃度とともに大きな E_G 増大効果を新たに発見した。しかも $Y=0.13$ では、 $E_G > 2.5$ eV を達成できた。また、PL 発光効率は、2D-Si の数十倍にも達することも明確となった。

従って 2D-Si_{1-y}C_y 技術は、2D-Si バンド変調技術及び発光デバイス応用に大変有望であると言える。

謝辞

C イオン注入に関して、理学部の中田穰治教授及び星野靖特別助教に感謝いたします。本研究の一部は、総合理学研究所共同研究助成金 (RIIS201501) の援助を受けた。

文献

- 1) Nazarov A, Colinge JP, Balestra F, Raskin JP, Gamiz F and Lysenko VS (2011) *Semiconductor-On-Insulator Materials for Nanoelectronics Applications*. Springer, Berlin.
- 2) Saito S, Sakuma N, Suwa Y, Arimoto H, Hisamoto D, Uchiyama H, Yamamoto J, Sakamizu T, Mine T, Kimura S, Sugawara T, Aoki M and Onai T (2008) Observation of optical gain in ultra-thin silicon resonant cavity light-emitting diode. In: *IEDM Tech. Dig.*, Paper 19.5., pp.1-4.
- 3) Uchida K, Koga J and Takagi S (2007) Experimental study on electron mobility in ultrathin-body silicon-insulator metal-oxide-semiconductor field-effect transistors. *J. Appl. Phys.* **102**: 1-8 (074510).
- 4) Agrawal BK and Agrawal S (2000) First-principles study of one-dimensional quantum-confined H-passivated ultrathin Si films. *Appl. Phys. Lett.* **77**: 3039-3041.
- 5) Kumar V (2008) *Nanosilicon*. Elsevier, Amsterdam.
- 6) Mizuno T, Tobe K, Maruyama Y and Sameshima T (2012) Experimental study of silicon monolayers for future extremely thin silicon-on-insulator devices: phonon/band structures modulation due to quantum confinement effects. *Jpn. J. Appl. Phys.* **51**:1-8 (02BC03).
- 7) Mizuno T, Aoki T, Nagata Y, Nakahara Y, and Sameshima T (2013) Experimental study on surface-orientation/strain dependence of phonon confinement effects and band structure modulation in two-dimensional Si layers. *Jpn. J. Appl. Phys.* **52**:1-8 (04CC13).
- 8) 水野智久, 青木 孝, 鮫島俊之 (2013) 低次元シリコン半導体構造の研究. *神奈川大学理学誌* **24**:17-24.
- 9) 水野智久, 青木 孝, 鮫島俊之 (2014) 二次元シリコン半導体基板の物性研究. *神奈川大学理学誌* **25**:23-30.
- 10) 水野智久, 前田辰郎, 多田哲也, 青木 孝 (2015) 二次元半導体デバイスの研究. *神奈川大学理学誌* **26**:33-39.
- 11) Mizuno T, Nagata Y, Suzuki Y, Nakahara Y, Aoki T and Sameshima T (2014) Crystal direction dependence of quantum confinement effects of two-dimensional Si layers fabricated on silicon-on-quartz substrates: modulation of phonon spectra and energy-band structures. *Jpn. J. Appl. Phys.* **53**:1-6 (04EC08).
- 12) Mizuno T, Nakahara Y, Nagata Y, Suzuki Y, Aoki T and Sameshima T (2014) Quantum confinement effects in doped two-dimensional Si layers: novel device design for two-dimensional pn-junction structures, *Jpn. J. Appl. Phys.* **53**:1-7 (04EC09).
- 13) Mizuno T, Nagamine Y, Suzuki Y, Nakahara Y, Nagata Y, Aoki T and Sameshima T (2015) Impurity doping effects on impurity band structure modulation in two dimensional n⁺ and p⁺ Si layers for future CMOS. *Jpn. J. Appl. Phys.* **54**:1-6 (04DC05).

- 14) Mizuno T, Suzuki Y, Nagamine Y, Nakahara Y, Nagata Y, Aoki T and Maeda T (2015) Surface-oxide stress induced band-structure modulation in two-dimensional Si layers. *Jpn. J. Appl. Phys.* **54**:1-6 (04DC02).
- 15) Mizuno T, Nagamine Y, Omata Y, Suzuki Y, Urayama W, Aoki T and Sameshima T (2016) C-atom-induced bandgap modulation in two-dimensional (100) silicon carbon alloys. *Jpn. J. Appl. Phys.* **55**:1-8 (04EB02).
- 16) Pantelides ST and Zollner S (2002) *Silicon-Germanium Carbon Alloys*. Taylor & Francis, New York.
- 17) Tessler LR and Solomon I (1995) Photoluminescence of tetrahedrally coordinated a-Si_{1-x}C_x:H. *Phys. Rev. B* **52**:10962-10971.
- 18) Mizuno T, Nagata Y, Suzuki Y, Nakahara Y, Tanaka T, Aoki T and Sameshima T (2013) Anisotropic phonon-confinement-effects/band-structure-modulation of two-dimensional Si layers fabricated on silicon-on-quartz substrates. *Ext. Abstr. Solid State Devices and Materials* 96-97.

■原 著■

自動車機能安全・OSD アシュランスケースの為の AFSCF 議論モデル

中原早生^{1,3} 木下佳樹^{1,2}

AFSCF Argument Model for Assurance Cases of Functional Safety
and Open Systems Dependability of Road Vehicles

Hayao Nakahara^{1,3} and Yoshiki Kinoshita^{1,2}

¹ Research Institute for Programming Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² Department of Information Sciences, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ To whom correspondence should be addressed . E-mail: nakahara-h@progsi.info.kanagawa-u.ac.jp

Abstract: A framework AFSCF (Automobile Functional Safety Case Framework) of assurance argument that the claims functional safety and open system dependability of automobile systems is proposed. Conformance with major related International Standards such as ISO 26262 Road vehicles — Functional Safety and IEC 62853 Open systems dependability, the latter being under development, is considered so that assurance cases developed using AFSCF can naturally and easily conform with them.

Keywords: assurance case, functional safety, open systems dependability

序論

本論文では、車載システムが機能安全を達成していること、および Open Systems Dependability を達成していることを関連国際標準体系のもとで主張するアシュランスケースをつなぐ為のフレームワーク「AFSCF (Automobile Functional Safety Case Framework) 議論モデル」を記述する。

車載システムの機能安全を達成するための要求事項を規定する ISO26262¹⁾ が制定されている。そこでは主として技術的な開発過程に対して安全なシステム開発の要求事項が規定されている。しかし、全体的な安全のためには、想定外の原因による障害対応のための運用過程や保守過程も重要である。さらに、合意形成や説明責任達成、中長期的な変化対応などに様々なシステムライフサイクル過程が貢献することが求められる。これらの、非機能要件の中長期的な達成のために必要な要件が IEC62853 Open systems dependability として策定作業が進んでいる。

ISO26262 も IEC62853 も適合性主張のためにアシュランスケースの提出を求めており、それぞれの規格に沿った機能安全達成の議論、オープンシステ

ム・ディペンダビリティ達成の議論がなされなければならない。AFSCF 議論モデルは、これらの議論を合わせて行うための指針を提供するものである。

本論文は以下のように構成する。材料と方法の章では、車載システムの機能安全とオープンシステム・ディペンダビリティを融合したアシュランスケースを記述するにあたり、先行研究の紹介を行ない、モデルを構築するにあたって留意した点について述べる。結果の章では、AFSCF 議論モデルの記述を行なう。最後の章で本モデルの有効性について議論する。

材料と方法

車載システムの機能安全

車載システムの機能安全を達成するための要求事項を規定する ISO26262¹⁾ は、機能安全を「電気・電子システムの正常でないふるまいにより引き起こされるハザードが原因となる、不合理なリスクの不在」と定義している。

ISO26262 が求める成果物の中にアシュランスケース（安全ケースと呼ばれている）も含まれている。

しかしながら ISO26262 ほどのようなアシュランスケースを要求しているのかの説明が満足に成されていない。

そこで ISO26262 に沿ったアシュランスケースとしてどのようなものが必要か検討する必要がある。

ISO26262 準拠機能安全ケースのレイヤーモデル

Habli 等は ISO26262 に対応したアシュランスケースについて一定の方針を提示している²⁾。開発の各フェーズごとに4つのレイヤーを定め、それぞれに対応したアシュランスケースの議論をすべきだと主張している。4つのレイヤーとは

- ・ Core: Rational (仕様設定レイヤー)
- ・ Layer 1: Conformance (適合性レイヤー)
- ・ Layer 2: Means (手法レイヤー)
- ・ Layer 3: Environment (環境レイヤー)

である。

仕様設定レイヤーでは要求仕様が正しく設定されているか、適合性レイヤーでは当該のフェーズにおける成果物が要求仕様を満たしているか、手法レイヤーでは当該フェーズでの作業が適切な手法で実行されたか、環境レイヤーでは作業への教育や品質管理が適切な環境で行われたか、の議論を行う。

オープンシステム・ディペンダビリティ

IEC 62853 のアシュランスケースモデルはオープンシステム・ディペンダビリティの議論の枠組みを提示している。また、オープンシステム・ディペンダビリティ達成を主張するアシュランスケースを記述するための一般的なフレームが、武山等による FFO として提示されている。AFSCF 議論モデルにおいては、オープンディペンダビリティに関する議論の部分は、このフレームワークを用いることとした。

AFSCF 議論モデル

機能安全を中長期的に達成することの議論の枠組みを与えるため、Habli 等の ISO26262 準拠機能安全ケースのレイヤーモデルと、武山等の IEC 62853 の

アシュランスケースモデルを融合させて AFSCF 議論モデルを構築した (図 1)。

まず、機能安全の達成に関する議論を次のように定めた。開発プロセスに対して「機能安全の達成」というゴールの下に

- ・ 仕様設定の根拠
- ・ 仕様への適合性
- ・ 手法の適切さ

の3つに対応するサブゴールを設定し、開発プロセス全体の管理運営に関して

- ・ 環境

に対するサブゴールを設定した。

各サブゴールについて何を主張すべきかについて、機能安全目標から技術安全要求仕様を設定する工程 (機能安全 / 技術安全 phase と呼ぶ) の場合を基に説明する。

- ・ 「仕様設定の根拠」に対しては、技術安全要求仕様を満たされれば、機能安全要求仕様も満たされること、すなわち技術安全要求仕様設定の妥当性を示す。「仕様設定の根拠」を示す技法として「導出パターン」を導入した。
- ・ 「仕様への適合性」に対しては、システムが要求される仕様を満たしている事を、テスト結果およびテスト手法の適切さにより示す。
- ・ 「手法の適切さ」に対しては、開発に用いた手法、プロセス、ツール、レビューが適切であることを示す。

一方、OSD の4つの要素

- ・ 関係者間の合意形成
- ・ 説明責任
- ・ 障害対応の適切さ
- ・ 変化対応の適切さ

の議論はそのまま用いた。これらについては FFO の枠組みの中で実現できる。

以上の考察から、トップレベルのゴールを「OSD・機能安全の達成」とした「AFSCF 議論モデル」を提案した。

結果

モデルの記述

AFSCF 議論モデルについて説明する。

トップレベルゴールは「OSD・機能安全の達成」とし、次の6つのサブゴールを設定した。

1. 「機能安全の達成」(システムの正常でない振舞いによるハザードに起因する不適当なリスクは回避される)。
2. 「環境」(適切な環境のもとで機能安全を達成している)

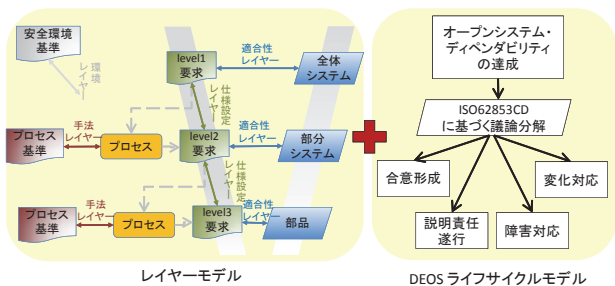


図 1. AFSCF 議論モデル=レイヤーモデル+ DEOS ライフサイクルモデル。

- 3. 「合意形成」(関係者間の合意形成が適切に成されている)
 - 4. 「説明責任達成」(説明責任が達成するための準備が整っている)
 - 5. 「変化対応」(変化対応が適切になされている)
 - 6. 「障害対応」(障害対応が適切になされている)
- ここまです GSN で図示したものが図 2 である。

以下では、「機能安全の達成」ゴール以下の構造について説明する。

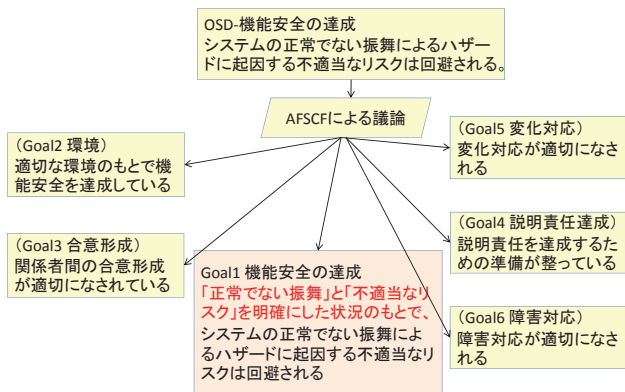


図 2. OSD –機能安全の達成の 6 つのサブゴール.

機能安全の達成

ISO26262 に基づく開発を次の 4 つの phase に分けて、phase ごとに議論する。我々が定めた 4 つの phase は

- p1 ハザード分析 / 安全目標 phase
- p2 安全目標 / 機能安全 phase
- p3 機能安全 / 技術安全 phase
- p4 技術安全 / HW/SW 安全 phase

である。

次に各 phase に対しては「仕様設定の根拠」、「仕様への整合性」、「手法の適切さ」に対応するサブゴールを定めた。

- p1 ハザード分析 / 安全目標 phase に対しては次のサブゴールを設定する
 - a. 仕様設定の根拠: 「ハザード分析 / 安全目標 phase は妥当」
 - b. 仕様への整合性: 「システムは安全目標を満たす」
 - c. 手法の適切さ: 「安全目標設定・試験の手法は適切」
- p2 安全目標 / 機能安全 phase に対しては次のサブゴールを設定する
 - a. 仕様設定の根拠: 「安全目標 / 機能安全 phase は妥当」
 - b. 仕様への整合性: 「システムは機能安全要求

- を満たす」
- c. 手法の適切さ: 「機能安全要求設定・試験の手法は適切」
- p3 機能安全 / 技術安全 phase に対しては次のサブゴールを設定する
 - a. 仕様設定の根拠: 「機能安全 / 技術安全 phase は妥当」
 - b. 仕様への整合性: 「システムは技術安全要求を満たす」
 - c. 手法の適切さ: 「技術安全要求設定・試験の手法は適切」
- p4 技術安全 / HW/SW 安全 phase に対しては次のサブゴールを設定する
 - a. 仕様設定の根拠: 「技術安全 / HW/SW 安全 phase は妥当」
 - b. 仕様への整合性: 「システムは HW/SW 安全要求を満たす」
 - c. 手法の適切さ: 「HW/SW 安全要求設定・試験の手法は適切」

の 12 個である。「機能安全の達成」ゴールは、以上の 12 個のサブゴールから達成される。「機能安全の達成」ゴールに対する議論を GSN で図示したものが図 3 である。

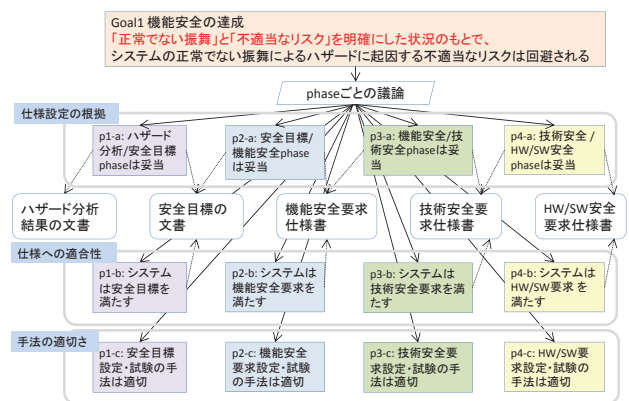


図 3. 機能安全の達成の phase ごとの議論.

仕様導出パターン

ISO26262 においては、機能安全に関する仕様のみを扱っており、多くの要求仕様の導出過程は、似かよった構造をしている。その為、要求仕様の導出過程および導出する根拠を「パターン化」するために「仕様導出パターン」を導入した。

仕様導出パターンとは

- a) 上位要求仕様のパターン
- b) 下位要求仕様のパターン
- c) 導出パターンの適用条件

の 3 つの要素から構成され a), b) はパラメータ化さ

れた要求仕様、c) は仕様の導出が適切となる実パラメータの満たすべき条件である。

上位要求仕様が a) のパターンに適合する時、c) の適用条件を満たすような実パラメータを設定できれば b) により下位要求仕様を決定できる。導出パターンは実パラメータが適用条件を満たす場合には下位要求仕様を満たすシステムは上位要求仕様を満たすように与えられている。よって、導出パターンを用いて上位要求仕様から下位要求仕様を導いた場合、仕様の導出の妥当性は a), b), c) が正しいこと(「導出パターンの適用」が正しいこと)に帰着する。導出パターンを用いた機能安全要求仕様から技術安全要求仕様の導出の正しさを示す議論の構造を GSN で図示したものが図 4 である。

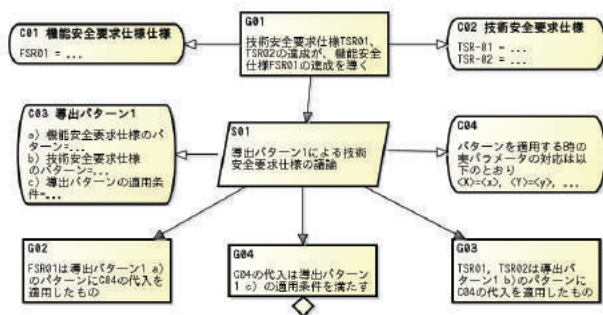


図 4. 仕様導出パターンによる議論.

仕様導出パターンを用いた AFSCF 議論モデル

「仕様設定の根拠」のアシュランスケースを記述するにあたっては「仕様導出パターン」を用いることが有効であると考えられる。そこで「仕様設定の根拠」のアシュランスケース記述については「仕様導出パターン」の使用を前提とした議論の構造を提案した。

仕様導出パターンを考慮に入れ、各 phase の「仕様設定の根拠」に対する議論の構造を以下のように定めた。

「ハザード分析/安全目標 phase は妥当」(図 5 の青色強調部)

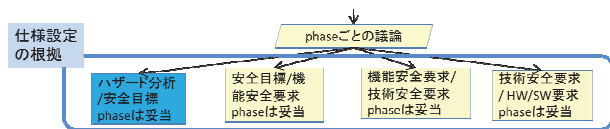


図 5. ハザード分析/安全目標 phase は妥当.

に対して次のサブゴールを定める。

- ・システムが安全目標を満たせば、正常でない振舞によるハザードに起因する不適当なリスクは回避される。

以上を GSN で図示したものが図 6 である。

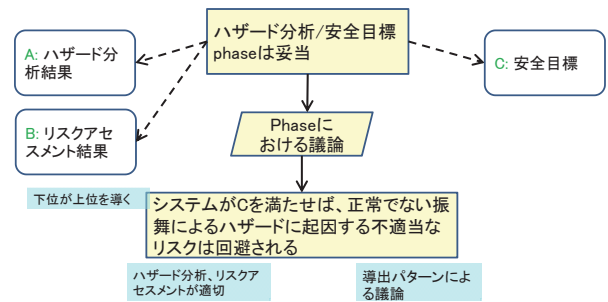


図 6. ハザード分析/安全目標 phaseにおける「仕様設定の根拠」議論.

「安全目標/機能安全 phase は妥当」(図 7 の青色強調部)

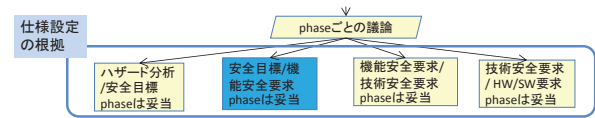


図 7. 安全目標/機能安全 phase は妥当.

に対して次のサブゴールを定める。

- ・機能安全要求仕様の達成は安全目標の達成を導く
- ・各安全目標に対する機能安全レベルの FTA によれば機能安全要求仕様書の設定は妥当
- ・各安全目標に対する機能安全レベルの FTA の実行は妥当
- ・安全目標から機能安全要求仕様を導いた仕様導出パターンは妥当

以上を GSN で図示したものが図 8 である。

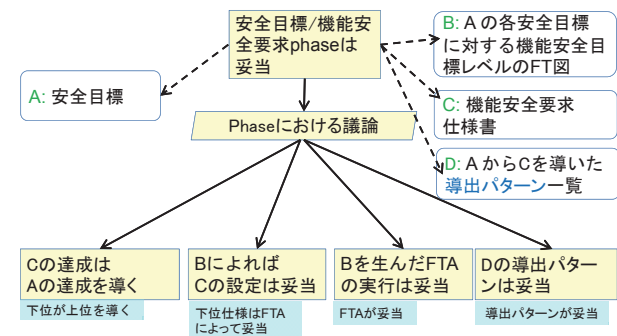


図 8. 安全目標/機能安全 phaseにおける「仕様設定の根拠」議論.

「機能安全/技術安全 phase は妥当」(図 9 の青色強調部)

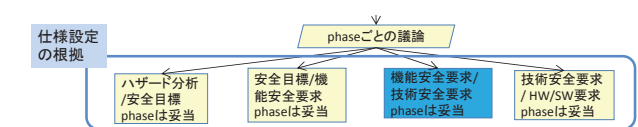


図 9. 機能安全/技術安全 phase は妥当.

に対して次のサブゴールを定める。

- 技術安全要求仕様の達成は機能安全仕様の達成を導く
- 各安全目標に対する技術安全レベルの FTA によれば技術安全要求仕様書の設定は妥当
- 各安全目標に対する技術安全レベルの FTA の実行は妥当
- 機能安全要求仕様から技術安全要求仕様を導いた仕様導出パターンは妥当

以上を GSN で図示したものが図 10 である。

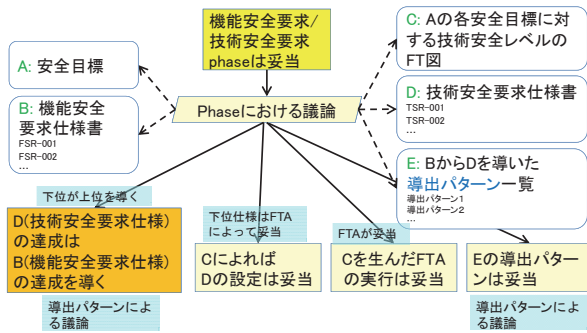


図 10. 機能安全 / 技術安全 phase における「仕様設定の根拠」議論。

「技術安全 / HW/SW 安全 phase は妥当」（図 11 の青色強調部）

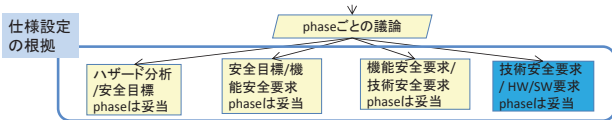


図 11. 技術安全 / HW/SW 安全 phase は妥当。

に対して次のサブゴールを定める。

- HW/SW 安全要求仕様の達成は技術安全仕様の達成を導く
- 各安全目標に対する HW/SW 安全レベルの FTA によれば HW/SW 安全要求仕様書の設定は妥当
- 各安全目標に対する HW/SW 安全レベルの FTA の

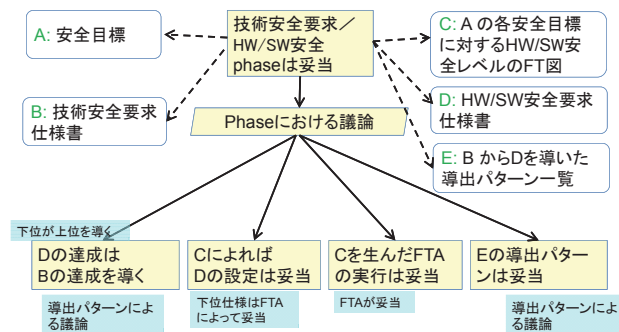


図 12. 技術安全 / HW/SW 安全 phase における「仕様設定の根拠」議論。

実行は妥当

- 技術安全要求仕様から HW/SW 安全要求仕様を導いた仕様導出パターンは妥当

以上を GSN で図示したものが図 12 である。

以上が AFSCF 議論モデルである。

討論

AFSCF 議論モデルの有効性

ISO26262 は開発過程に主眼を置くため、システムライフサイクルが ISO26262 に適合しても、運用、保守過程や合意形成過程が不十分であるために機能安全を欠く場合があり得る。また、想定外の原因による障害発生についても ISO26262 は十分な配慮をしていない。そのため、障害対応や変化対応に重点を置くオープンシステム・ディペンダビリティの要件は、ISO26262 と相補的に機能すると考えられ、両者の要件を合わせることで、機能安全の中長期的な達成を要求することができる。AFSCF は、そのような要求を車載システムが達成していることについての議論モデルを提供している。

謝辞

本研究は（独）情報処理推進機構からの受託研究「オープンシステム・ディペンダビリティの為の形式アシュランスケース・フレームワーク」および（株）デンソーとの共同研究「自動車機能安全ケースの為のフレームワークの研究」によって行った。

文献

- 1) ISO (2011) ISO 26262 Road Vehicles Functional Safety, *ISO Standard*.
- 2) Birch J, Rivett R, Habli I, Bradshaw B, Botham J, Higham D, Monkhouse H and Palin R (2014), A layered model for structuring automotive safety arguments. In: *10th European Dependable Computing Conference (EDCC2014)*.

■原 著■ 2015 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

SDBS の帰属および帰属決定プロセスについての アシュランスケースの研究

渡邊 宏^{1,4} 木下佳樹^{2,3} 武山 誠^{2,3} 奥野康二³

Toward an Assurance Case Practice for ¹H NMR Assignment for SDBS

Hiroshi Watanabe^{1,4}, Yoshiki Kinoshita^{2,3}, Makoto Takeyama^{2,3} and Koji Okuno³

¹ Research Institute for Materials and Chemical Measurement Standard, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba Central 5, Tsukuba City, Ibaraki 305-8565, Japan.

² Department of Information Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ Research Institute for Programming Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

⁴ To whom correspondence should be addressed. E-mail: hiroshi-watanabe@aist.go.jp

Abstract: SDBS is a spectral database for organic compounds developed and maintained at AIST. It provides not only spectral data but also chemical shift assignments obtained from analysis for both ¹H NMR and ¹³C NMR spectra. However, the database shows only spectra and the evaluated assignments without any evidences or proofs for them. So, there are no means to convey the quality and reliability of them to its users.

Our approach to this issue employs assurance cases. An assurance case is a documented body of evidence that provides a convincing and valid argument that a system has claimed properties. It is used in the evaluation of safety as a means of communication among stakeholders.

As a case study, we apply the assurance case to the concrete problem in SDBS. We apply it to the evaluation of the chemical shift assignments for ¹H NMR in SDBS and construct assurance cases that claim validity of the obtained assignments. A semi-formal version of the assurance cases is also considered to enable machine-checking and manipulation, in the context of formal assurance case.

Keywords: formal assurance case, ¹H NMR assignment, database, SDBS,

序論

近年、研究開発で得られた科学技術データのオープンデータ化、共有、利活用推進が一層求められている¹⁾。科学技術データの流通では、データの信頼や品質もデータと一緒に流通させなければならない。データの信頼や品質がデータの利用者へ適切に伝わらないと、次のような問題が起こる可能性がある：

- ・たとえ信頼できる品質の良いデータでも利用者が自分の使用目的への適合性を判断できずに使われない。あるいは逆に、
- ・信頼、品質の面で問題があるデータを利用者が知らずに二次利用してしまい、得られた結果に影響する。

このようなことを避けるには、データの信頼や品質を適切に伝えるための明文化をする。そして明文

化された文書などをデータと一緒に利用者へ伝える解決方法が考えられる。さらに、そのような文書を検証する方法も整備できればなお良いだろう。しかし、まずどのように明文化すれば良いのだろうか？

我々はその問題へアシュランスケースを適用することを考えたい。アシュランスケース²⁾とは、システムのアシュランス（システムへの信頼）を明文化する文書である。プラントや医療システム、交通システムなどで広く用いられている。

アシュランスケースの研究の中で、複雑で大規模なシステムに対するシステムの信頼の根拠を、全体の中の位置づけを明示しながら記述するための体系が研究されている。特にこのような体系を計算機により自動処理可能な形式体系として与える研究（形

式アシュランスの研究)³⁾が行われている。自動処理可能な形式体系は検証方法の実装を可能にする。

このようなアシュランスケースの枠組みをデータの信頼や品質の明文化に適用できる可能性があり、適用できれば先行的な知見の活用も期待できる。これまで、データの信頼や品質を明文化する目的でアシュランスケースを適用した具体例は見当たらない。そこで、アシュランスケースを使ったデータの信頼や品質の明文化とは実際どんなものかについて、具体的な事例を設定して考察した。

取り組む事例として、産業技術総合研究所の有機化合物のスペクトルデータベース (SDBS)⁴⁾の「1H NMR スペクトルの帰属評価」を取り上げる。SDBSは有機化合物のスペクトルを測定してインターネット上公開するプロジェクトである。1H NMRと13C NMR スペクトルについてはスペクトル画像だけでなく、帰属評価も行い、その結果も公開されている。帰属評価が付いたスペクトルが提供されていることはSDBSの特徴でもある。しかし、利用者がその妥当性を確認するのに十分な情報が公開されていない。帰属評価結果は図1のように主に結果のみスペクトル画像と一緒に公開されるだけである。

本課題では、SDBSの1H NMR 帰属評価を事例に評価結果の妥当性を主張するアシュランスケースを作成する実験を行い、アシュランスケースの一事例を作成した。基本設計、データの表現方法などとともに我々が作成したアシュランスケースを紹介する。

関連研究との相違について述べる。

システムのアシュランスケースは、安全性、セキュリティ、信頼性の分野で盛んに研究されている^{2,5,6)}。本課題はこれらを参考にしている。また、アシュランスケースをさまざまな方面への適用する研究も始まっている。例えば、生物学のシミュレーションで使われたモデル、創発された現象、予測の妥当性主張などへの適用報告もある⁷⁾。しかし我々の知る限り、帰属評価結果の妥当性への適用した研究はまだない。

我々の貢献は次の通りである。

- 1H NMR の帰属評価を題材に、評価結果の妥当性を主張するアシュランスケースを作成するための基本設計、データの表現方法を得た。
- 帰属評価結果の妥当性を主張するアシュランスケースの一パターンを得た。これはデータの信頼や品質の明文化としてのアシュランスケースの有用性および可能性の議論に使用可能なサンプルになる。
- 作成したアシュランスケースをもとに、形式アシュランスケースを作成するのに適した部分を検討

した。また、そこで形式アシュランスケース化する意義を検討した。

材料と方法

事例「SDBSの1H NMR 帰属評価」

1H NMR スペクトル^{8,9)}には、測定したサンプルの化合物中にあるプロトンの情報がシグナルとして表れる。このことを利用して1H NMR スペクトルは化合物の構造解析や同定に用いられる。ここで言うスペクトルのシグナルとはスペクトル画像中の一つピークあるいは複数のピークの集まりのことを指している。一つのシグナルは、化合物中の磁的に等価な関係にあるプロトンからなる組に対応し、シグナルの数はプロトンの組分けの数に対応する。

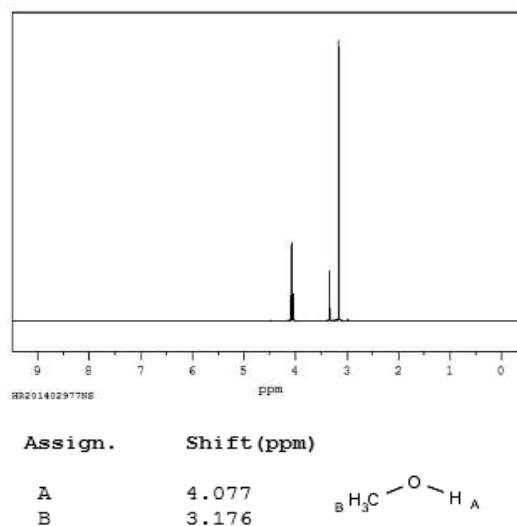


図1. 1H NMR スペクトルと帰属評価結果. メタノールの1H NMR スペクトル(上)とその帰属評価結果(下)である. スペクトルはDMSO-d₆にて399.65 MHzで測定. グラフの横軸の4.077 ppm付近に四重線, 3.176 ppm付近に二重線のシグナルが出現している. それらのシグナルはそれぞれヒドロキシ基のプロトンA, メチル基の3つのプロトンBに由来する. 産業技術総合研究所 SDBS sdb sno=3302 spcode= HR2014-02977NS <http://sdb.db.aist.go.jp> より.

SDBSでの1H NMR測定では、市販されている高純度の試薬を測定する。したがって、測定するサンプルの化合物の構造式はあらかじめわかっている。そのため、SDBSの帰属作業は、未知の化合物の推定ではなく、スペクトルから読み取れるシグナルが測定した化合物のどのプロトンに由来するものかを関係付ける作業である。作業のアウトプットである帰属評価結果は、図1下のように、化合物中のプロトンの組とシグナルを指定する化学シフト値(図1上の横軸の値)の対で与える。

帰属評価作業が一定の品質を持つ帰属結果をもた

らすように SDBS は運営されている。評価作業は専門の熟練したスタッフの手で行われる。求められた評価結果はプロジェクト内部でレビューされる。レビューで合格した評価結果だけがスペクトル画像とともに公開される。また、利用者から疑義の指摘があった場合も、内部で検証確認が行われる。これらのプロセスは品質管理システムの枠組みに載せて運営されているわけではないが、作業内容は明確化されていて、いつも正確で一定の品質の結果が出るように注意が払われている。

しかし、このようにして得られた SDBS の帰属結果の信頼や品質は利用者へうまく伝えられていない状況である。SDBS が帰属評価結果として公開されるのは図 1 と特徴的なピークの情報だけで、評価結果を導く推論およびその根拠は示していないからだと考えられる。また、スペクトルのオリジナルデータは知財として管理されるため、公開されない。そのため利用者は結果の良し悪しを判断しにくい。

アシュランスケース

アシュランスケースはシステムのアシュランス（システムへの信頼）を明文化する文書である。プラント、航空管制、自動車機能安全、医療電子機器、システムセキュリティの分野で安全管理や認証に用いられている。

システムアシュランスの議論は大きく複雑になることが多い。また、さまざまな利害関係者間の合意形成に用いられることも多いため、整理され、誰にも読みやすく、理解しやすい文書化が求められる。そこで、議論の構造を整理して文書化する記法がいろいろ提案されてきた。Tim Kelly が提案した GSN (Goal Structuring Notation)⁵⁾ はそのような記法の一つであり、アシュランスケースの文書化に良く使われる。我々も GSN の記法を用いる。GSN によるアシュランスケースの書き方は次に説明する。

帰属評価結果の妥当性を主張するアシュランスケースの作成

本研究では、SDBS で既に公開されている帰属評価結果を題材に、その妥当性を主張するアシュランスケースを作成し、帰属評価結果の信頼性を明示の一例を得る。アシュランスケースを作成する題材は複雑な分析を伴わない、初歩的、基礎的な次の二つを選んだ。

- ・ 題材 1 メタノール HR2014-02977NS sdb sno=3302
 - ・ 題材 2 エタノール HR2014-02978NS sdb sno=1300
- これらの二つの題材について、次のことがらに取り組んだ。

- ・ 帰属評価を行ったスタッフから聞き取りを行い、実際に帰属評価を導き出した議論に準拠してアシュランスケースを作成する。
- ・ 特に、帰属評価の中で使われた根拠のうち、スタッフの判断にもとづく根拠も明らかにする。
- ・ 複雑なところは整理して定型化する。さらに進めて、形式化したアシュランスケースの作成方法も模索する。

アシュランスケースは次の手順に従って作成した。

1. ゴールを設定する。
 - (ア) ゴールの主張を記述する。
 - (イ) ゴールの主張の中で言及するデータ、対象は、ゴールを支援するコンテキストをゴールの横に設け、その中で説明する。特に、ゴールの主張が意味するところ、すなわちゴールが成立する条件を記す。
2. ゴールの主張を支援する議論を作成する。
 - (ア) 1の(イ)でコンテキストの中に書いたゴールの主張が意味するところ、成立する条件を検討し、サブゴールへ分解する/しないを決める。
 - (イ) サブゴールへ分解しない場合
 - ① ゴールの主張が成り立つ根拠を示せる場合、ゴールの真下にエビデンスを置き、その根拠を書きこんで終了する。
 - ② そのままゴールが成立する場合はエビデンスを置かずして終了する。
 - (ウ) 主張を分解して議論する必要があるれば、1.にもどってゴールの下にいくつかのサブゴールを設定する。このさいゴールとサブゴールたちの間にストラテジーを置き、サブゴールの分解方針を記述する。

以上を繰り返して適用し、ゴールをより具体的かつ成立/不成立が明確に判断できるサブゴールへと分解していき、全体の議論を完成させる。

結果

SDBS で帰属評価作業を行うスタッフから題材の帰属評価作業で行った内容を聞き取り、アシュランスケースを作成した。初めに我々が作成したアシュランスケースの基本設計とデータの表現方法を説明し、次に作成したアシュランスケースを紹介する。

アシュランスケースの基本設計

アシュランスケースのトップゴールでは、作業の最終的なアウトプットである帰属評価結果の妥当性を主張することとした。トップゴールをサポートする議論として、次の三つを設けた。

表1. ¹H NMR スペクトル HR2014-02977NS の測定データ (一部)*

INDEX	ν	δ	intensity
0	-	-	-
⋮	⋮	⋮	⋮
p1	1637.96	4.097	88
⋮	⋮	⋮	⋮
p2	1632.45	4.083	268
⋮	⋮	⋮	⋮
p3	1627.20	4.070	277
⋮	⋮	⋮	⋮
p4	1621.95	4.057	96
⋮	⋮	⋮	⋮
p5	1272.16	3.132	1000
⋮	⋮	⋮	⋮
p6	1256.91	3.159	976
⋮	⋮	⋮	⋮

* 項目 INDEX は自然数のラベル, ν は測定周波数, δ は濃度, intensity は強度を示す. データは測定周波数の降順に並べられ, INDEX の欄には上から順に 0,1,2, ... と割り振られている. ここにはピーク候補として選択するデータ p1,...,p6 だけ記載した.

1. 化合物の解析結果の妥当性の議論、
 2. スペクトルの解析結果の妥当性の議論、および
 3. 帰属結果自身の妥当性の議論
- これらの項目の内容は、SDBS で実際に行われる作業内容である。

データの表現方法

アシユランスケースの議論の中で繰り返し言及する対象、および議論の途中に出てくる計算で引用する

表2. SIGNAL の解析結果*

SIGNAL	pattern	JValue	ν	δ	area
s1	[4]	[5.25]	1629.37	4.077	1.000
s2	[2]	[5.25]	1269.28	3.176	3.041

* 項目 pattern は分裂の様子, JValue は J 値, δ は化学シフト値, area は面積値を示す.

表3. GROUP の解析結果*

GROUP	protons	neighbors	δ _predicted
A	1	[B]	2-5ppm
B	3	[A]	3.2-4ppm

* 項目 protons はプロトンの数, neighbors はスピン結合する組のリスト, はシグナルとして出現が予測される化学シフト値を示す.

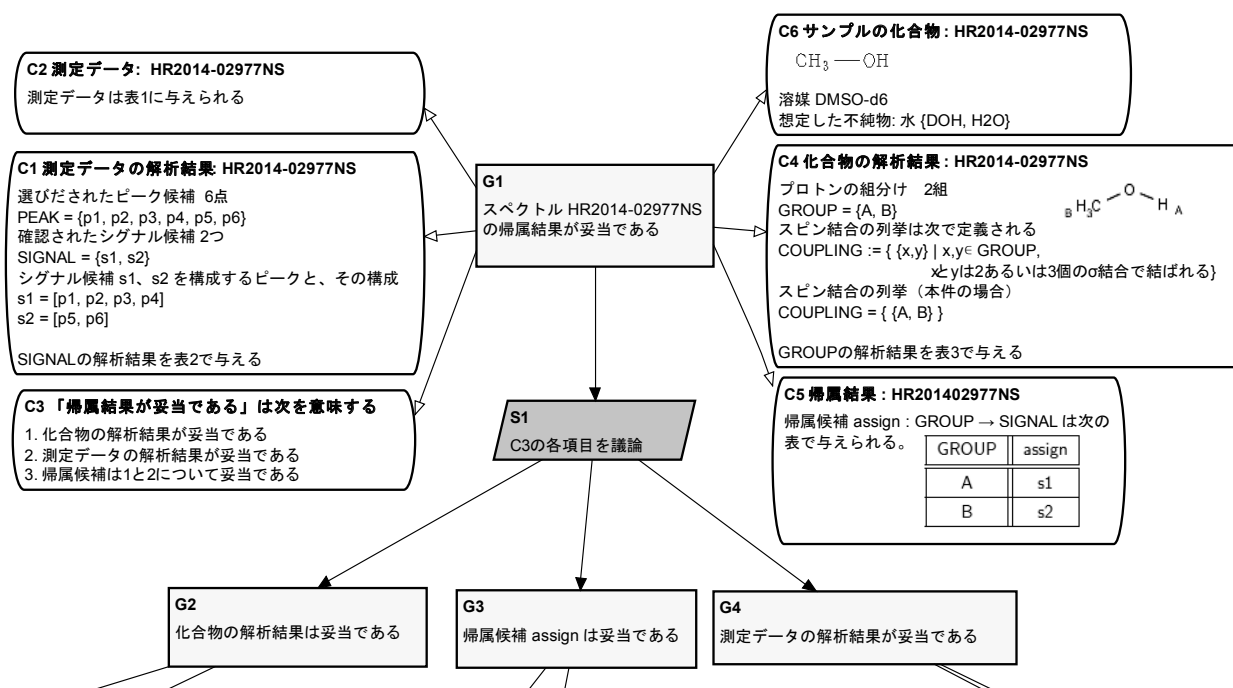


図 2. トップゴール周辺. トップゴール G1 は「スペクトル HR2014-02977NS の帰属結果が妥当である」とした. ゴール G1 のすぐ下にあるストラテジー S1 では, コンテキスト C3 に書かれた定義に従い, 各項目に分解して議論を進めることを宣言している. そこで, このストラテジーに従い, G2, G4, G3 のサブゴールに分けて議論を展開する. これらサブゴール G2, G4, G3 の議論は図 3, 図 4 および図 6 でそれぞれ展開される.

値はあらかじめデータとして登録しておくで便利であるだけでなく見やすくなる。特に形式アシュランスケースを展開する場合は、あらかじめデータとして登録しておく必要がある。次のようにデータを与えることにした。

SDBS では、スペクトルの測定データは測定周波数と濃度と強度の三つ組が数万組記録されたものである。データの取り扱いを簡単にするため、三つ組を測定周波数の降順に並べ、0 から順番に自然数の番号をラベルとして割り振った四つ組を測定データとして扱うこととした (表 1)。割り振った自然数の集まりは INDEX と書く。測定周波数および濃度、強度はそれぞれ ν 、 δ 、intensity のラベルを使って参照できるものとする。例えば i 番目のデータの測定周波数は $\nu(i)$ で参照する。

我々のアシュランスケースでは測定データの INDEX を用いてピークおよびシグナルを表現する。これは、測定データから帰属結果までピークおよびシグナルを経て関係付けるためと、ピークとシグナルの妥当性を議論したいためである。もし、このようなことをせず、ピークあるいはシグナルを所与の

データとして出発すると、ピークあるいはシグナルそれ自体の妥当性を議論しにくくなる。例えば一旦ピークとして定義した対象を、不純物由来なのでピークとは認めないなどといった、おかしい表現になる可能性がある。特に形式アシュランスケースでは、このような主張は矛盾するため表現できない。

また、トップゴールの横のコンテキストの中で、ピーク候補、シグナル候補、帰属候補を定義した。これらはそれぞれピーク、シグナル、帰属を表現するために用意したデータであるが、それぞれ候補と記述した。このような言葉遣いをする理由は、ピーク、シグナル、帰属の実物と、それらを指し示すデータを区別するためである。データを与えただけで妥当性確認が済んでいないピーク候補はただのデータであり、ピークとは別の対象として取り扱う仕掛けにした。これも、形式アシュランスケースに準じたデータ表現である。

ピーク候補、シグナル候補は具体的には次のように表現する。一つ一つのピーク候補はデータの中から選ばれた対象であり、ピーク候補の集合 PEAK を集合 INDEX の部分集合として与える。また、シグ

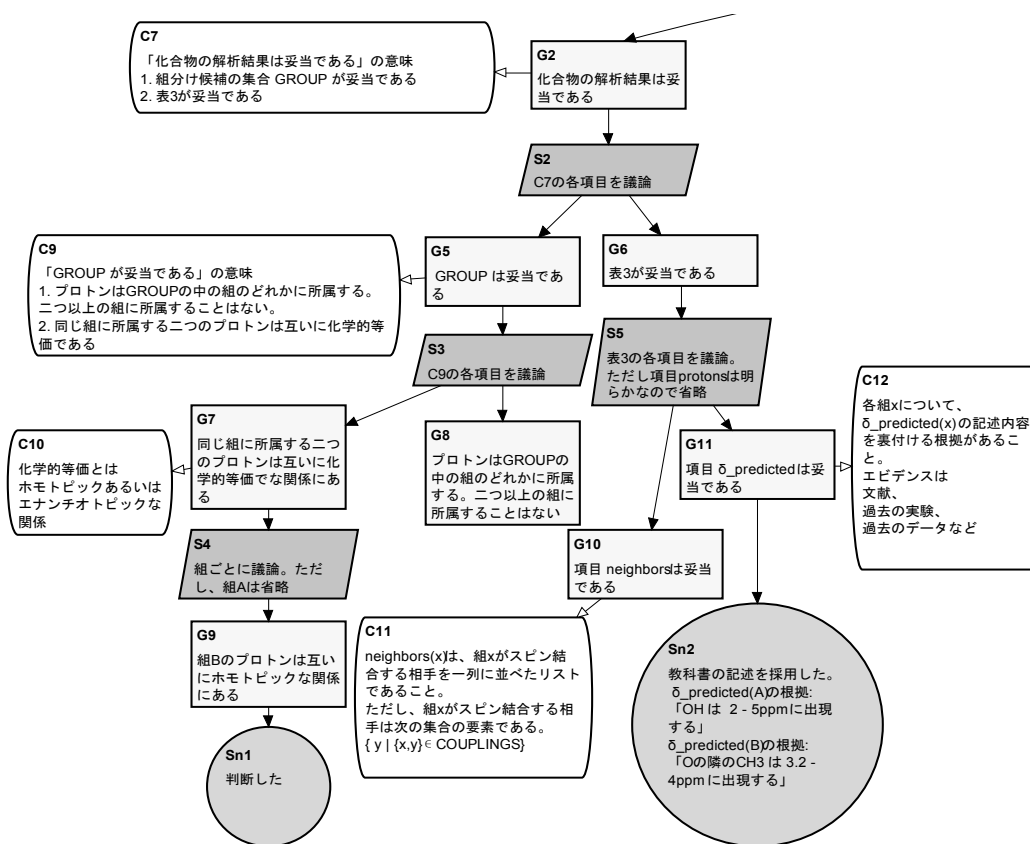


図 3. 化合物の解析結果は妥当である。図 2 のサブゴール G2 の議論であり、化合物の解析結果 (図 2 C4) が妥当であることを主張している。議論は二つに分かれており、化合物のプロトンの組分けとして与えた GROUP 自身の妥当性の議論 (サブゴール G5 以下)、および表 3 にまとめられた解析結果の妥当性の議論 (サブゴール G6 以下) から構成される。

ナル候補は、集合 PEAK の要素で構成するリストで表現する (図 2 の C1)。例えば、ピーク候補 q で形成される一重線はリスト $[q]$ で表現する。二つのピーク候補 $q1, q2$ で形成される二重線は $[q1, q2]$ と表現する。リストを使う方法で積み重なった複雑な多重線も表現できる。例えば、三本の二重線 $[q1, q2]$ 、 $[q3, q4]$ 、 $[q5, q6]$ から構成される二重線の三重線は $[[q1, q2], [q3, q4], [q5, q6]]$ で表現する。シグナル候補を集めた集合は SIGNAL で表す。

このようにシグナル候補を与えると正しく整理していないものもシグナル候補として定義できてしまうが、かまわない。データとして定義しても、シグナル候補とその特性値の妥当性確認の議論 (図 5) でそのようなシグナル候補の妥当性は主張できず、結局シグナルと認められないことになるからである。

測定データの解析結果は表 2 のように表現する。各シグナル候補について、シグナルの形状 **pattern**、J 値 **JValue**、二つの化学シフト値 ν および δ 、それから面積値 **area** などの特性値をまとめたものである。項目 **pattern** と **JValue** の二つは、多重線の場合はそれぞれ自然数のリストと実数のリストを記載する、一重線の場合は空欄にする。

次に化合物の解析結果の部分 (図 2 の C4) を説明する。集合 **GROUP** は化合物中のプロトンの組分けを集めた集合である。図 1 のメタノールの題材では、出現するプロトンを二つの組 **A, B** に組分けした。A はヒドロキシ基の一つのプロトンからなる組で、B はメチル基部分の三つのプロトンからなる組である。集合 **GROUP** は A と B を要素として持つ。

GROUP の解析結果は表 3 のように表現する。

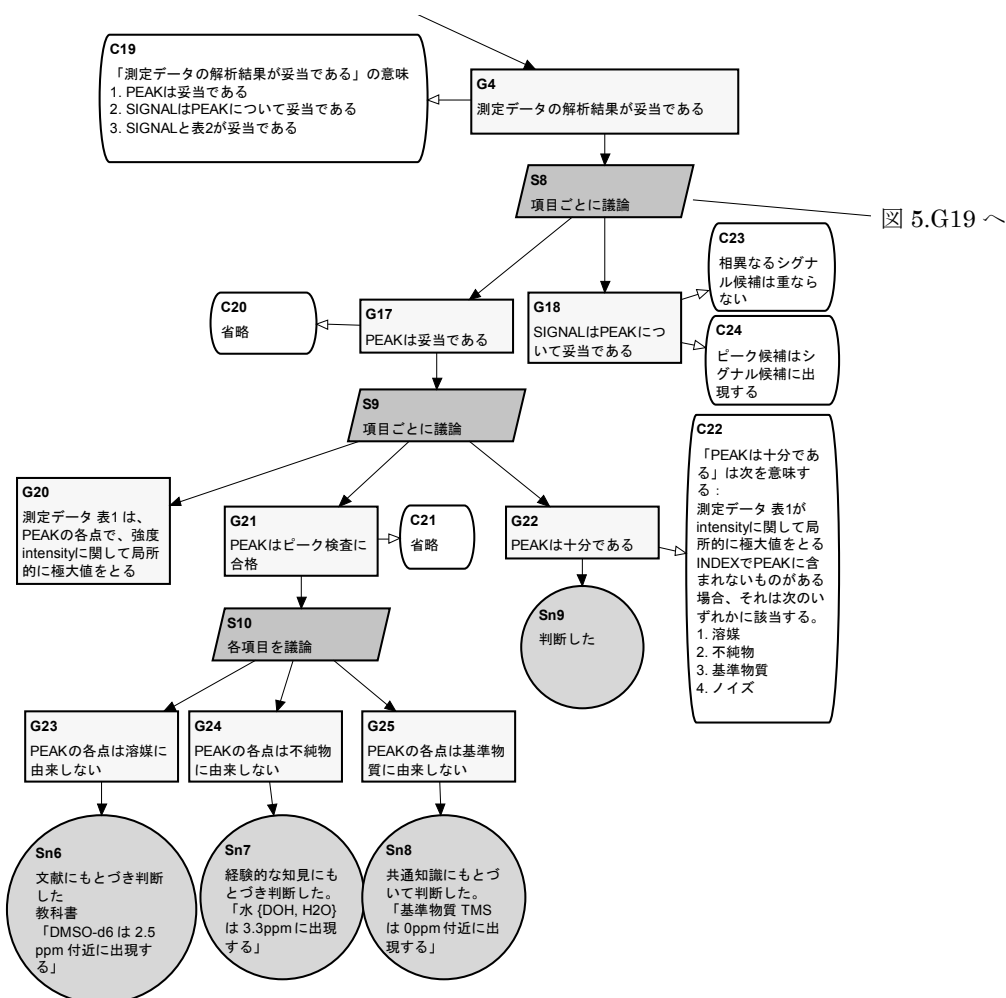


図 4. 測定データの解析結果が妥当である。図 2 のサブゴール G4 の議論の半分。G4 はコンテキスト C19 にもとづき、ストラテジー S8 で 3 つのサブゴールに分解される。このうち、SIGNAL と表 2 が妥当であることを主張する議論は図 5 の G19 以下で展開される。ここではそれ以外の二つ、選んだ PEAK が妥当であること、PEAK と SIGNAL との関係が妥当であることを議論する。PEAK が溶媒、不純物、基準物質それぞれに由来しないことを主張するサブゴール G23, G24, G25 はエビデンス Sn6, Sn7, Sn8 にもとづき主張される。これらのエビデンスには、評価作業を行ったスタッフが判断した事実とその根拠が書かれている。

図 4. S8 より

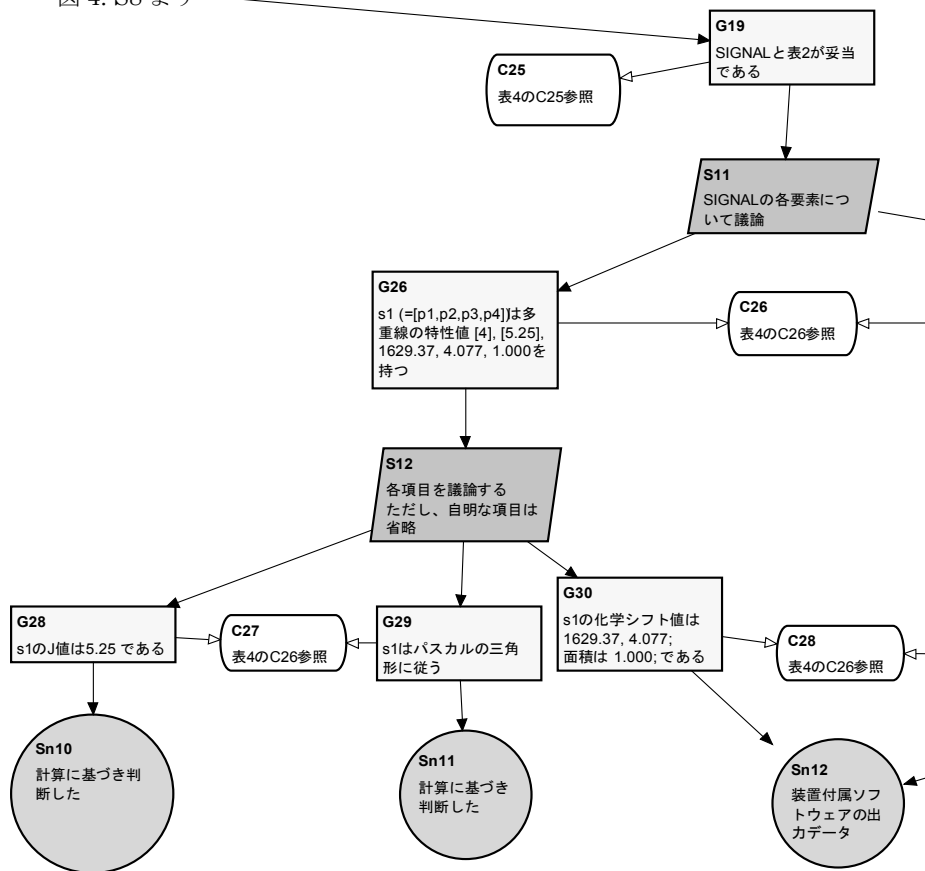


図 5. SIGNAL と表 2 が妥当である。図 2 のサブゴール G4 の議論の一部。戦略 S11 は、各シグナル候補の議論へ分解する。それぞれのシグナル候補について、一重線あるいは多重線を形成することと、表 2 に解析結果として示された特性値が妥当であることの両方を主張する議論が展開される。ここでは、G26 以下でシグナル候補 s1 を議論しており、もう一つのシグナル候補 s2 の議論は省略されている。サブゴールの具体的な要件は表 4 の C25, C26 にまとめる。

表 4. 図 5 のコンテキスト C25, C26

<p>C25 SIGNAL の各要素 s について次のいずれかが成り立つ： s は多重線の特性値 $pattern(s)$, $JValue(s)$, $v(s)$, $\delta(s)$, $area(s)$ を持つ。 $pattern(s)$ と $JValue(s)$ が空欄であり、s は一重線の特性値 $v(s)$, $\delta(s)$, $area(s)$ を持つ。</p> <p>C26 「s は多重線の特性値 xs, ys, v, δ, m を持つ」は次を意味する： $\exists k \geq 2. \exists p_1, \dots, p_k \in PEAK. s = [p_1, \dots, p_k]$ の場合、 $xs = [k]$. $\exists j > 0. ys = [j]$ かつ s の J 値は j である。つまり $\forall i < k. v(p_i) - v(p_{i+1}) \approx j$. s はパスカルの三角形に従う。すなわち $\exists c > 0. \forall i < k. intensity(p_i) / \binom{k-1}{i-1} \approx c$. s の化学シフト値はそれぞれ v, δ であり、面積値は m である。 \equiv 装置付属ソフトウェアが示す s の化学シフト値はそれぞれ v, δ であり、面積値は m である。</p> <p>$\exists k \geq 2. \exists \alpha_1, \dots, \alpha_k \notin PEAK. s = [\alpha_1, \dots, \alpha_k]$ の場合 次の満たす $ks, js, v_1, \dots, v_k, \delta_1, \dots, \delta_k, m_1, \dots, m_k$ が存在する： $xs = k: ks, ys = j: js$. $\forall i. \alpha_i$ は多重線の特性値 $ks, js, v_i, \delta_i, m_i$ を持つ。 s の J 値は j である。すなわち、$\forall i < k. v_i - v_{i+1} \approx j$. s はパスカルの三角形に従う。すなわち $\exists c > 0. \forall i < k. m_i / \binom{k-1}{i-1} \approx c$ s の化学シフト値はそれぞれ v, δ であり、面積値は m である。 \equiv 装置付属ソフトウェアが示す s の化学シフト値はそれぞれ v, δ であり、面積値は m である。</p>

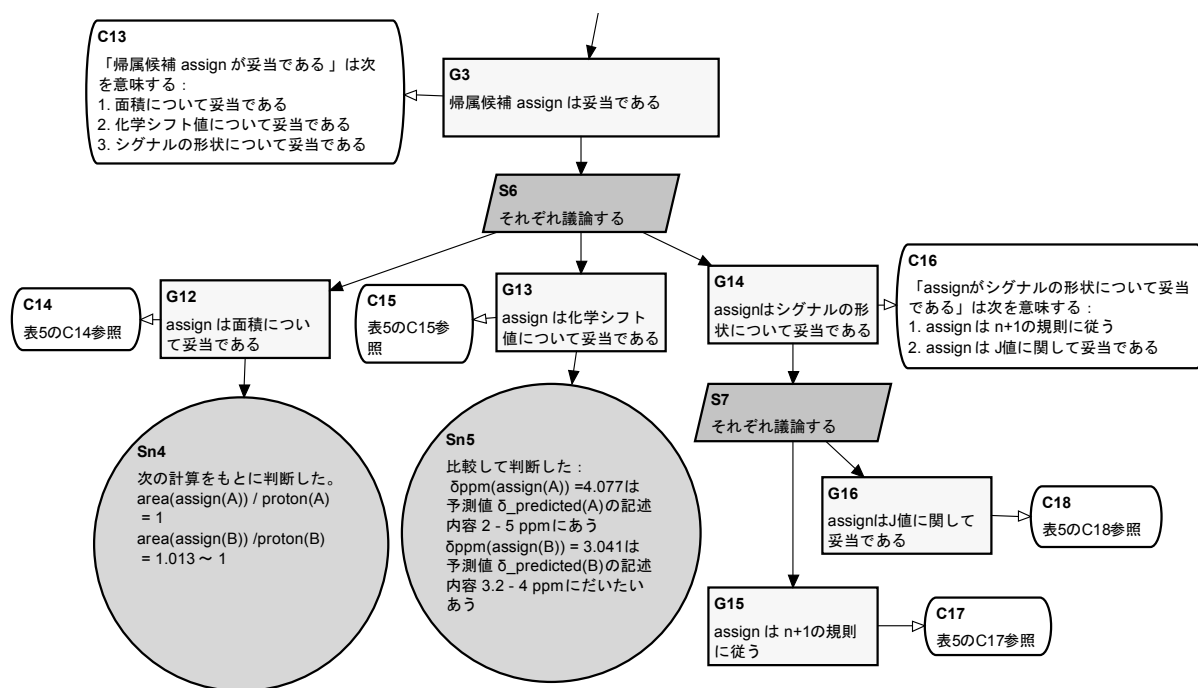


図 6. 帰属候補 assign は妥当である. 図 2 のサブゴール G3 の議論. 図 2 の C5 で与えられる帰属候補 assign が, 測定サンプルの化合物の解析結果 (表 3) と測定データの解析結果 (表 2) の両者に矛盾しないことが議論される. サブゴールのコンテキストは表 5 にまとめる.

表 5. 図 6 のコンテキスト C14, C15, C16, C17, C18

<p>C14 「assign は面積について妥当である」は次を意味する： $\exists c > 0. \forall g \in GROUP. area(assign(g))/protons(g) \approx c$</p> <p>C15 「assign が化学シフト値について妥当である」は次を意味する： 各組 g について、次の二つが外れていないと判断できる 測定データの解析結果 $\delta(assign(g))$ 予測値 $\delta_predicted(g)$</p> <p>C17 「assign は n+1 規則に従う」は次を意味する： $\forall g \in GROUP. neighbors(g) \neq [] \rightarrow pattern(assign(g)) = Map\ neighbors(g)\ \lambda x. protons(x) + 1$ ここで、Map は (整数の) リストと関数を引数として受け取り、リストの各要素に関数を適用したリストを返す。</p> <p>C18 「assign は J 値に関して妥当である」は次を意味する： $\forall g_1, g_2 \in GROUP. \{g_1, g_2\} \in COUPLING$ $\rightarrow JValue(g_1)(Position(neighbors(assign(g_1)), g_2)) = JValue(g_2)(Position(neighbors(assign(g_2)), g_1))$ ここで、Position はリストと要素を引数として受け取り、リストの中で要素が最初に出現する位置を返す関数である。もしリストの中に要素が出現しなければ 0 を返す。</p>

GROUP の各組について、プロトンの数 protons、スピン結合する相手の組のリスト neighbors、シグナルの出現予測 $\delta_predicted$ をまとめる。

最後に、帰属結果は図 2 の C5 のとおり、集合 GROUP からシグナル候補の集合 SIGNAL への写像 assign で表現する。

作成したアシュランスケース

題材 1 と題材 2 の帰属評価結果の妥当性を主張するアシュランスケースを作成した。図 2 から図 6 までがそのアシュランスケースの主要な部分である。結果として題材 1 と題材 2 は、細部は異なるがほぼ同じ形をしたアシュランスケースにまとめることができた。ここでは題材 1 を詳しく紹介する。

アシュランスケースは図 2 から始まる。図 2 はトップゴールとその周辺を示している。トップゴールは G1 「スペクトル HR2014-02977NS の帰属結果が妥当である」とした。

- 図 2 以下の階層関係は次の通りまとめられる：
- 図 2 スペクトル HR2014-02977NS の帰属結果が妥当である。
 - 図 3 化合物の解析結果は妥当である
 - 図 4 測定データの解析結果が妥当である。
 - ◇ 図 5 SIGNAL と表 2 が妥当である。
 - 図 6 帰属候補 assign は妥当である。

作成したアシュランスケースは次の特徴を持つ：

- ・測定データから帰属結果まで、データのつながりが表現されている。
- ・データはコンテキストの中で定義され、アシュランスケースの中でデータの妥当性が確認される。
- ・帰属作業を行うスタッフの判断にもとづき主張されるサブゴールにはエビデンスを付け、判断した事実とその根拠を記述した。帰属作業の中で使われた根拠、判断を検証可能である。

帰属の部分的根拠

得られたアシュランスケースを見てみると、エビデンスの根拠には次のようなものがあげられていた：

- ・装置付属ソフトウェアなどの出力結果
- ・文献のデータ
- ・過去の測定データ
- ・類似化合物の測定データの知見
- ・計算および計算値の比較

例えば、J 値の決定および強度比を比較する箇所で行われる計算や計算値の比較では、精度を要求する計算や厳密な比較は行われないことがわかった。

討論

SDBS の帰属評価を事例に、アシュランスケースを用いて信頼を明示する文書を作成する実験を行った。その結果、帰属評価結果の妥当性を主張するアシュランスケースを得た。また、基本設計、データの表現方法を得た。

今回の実験では、スペクトルの測定データから帰属結果までつながる範囲でアシュランスケースを構築した。今回得られたアシュランスケースの活用方法および課題について述べたい。

まず、今後の仕事として、得られたアシュランスケースを形式化して形式アシュランスケースを作成することが考えられる。今回、形式化するのに適当な次の二つの題材を見つけることができた。

一つめは図 5 の SIGNAL と表 2 の妥当性を確認する部分である。これは表 4 の C26 のルールで分解される。C26 に書かれたルールはリストの構成に従う再帰的な記述であり、形式的取り扱いに向いている。文書化は識別されたシグナルの構成を記録するもので、シグナルが妥当であることを示す証明になる。

二つめは、図 6 の帰属候補 assign の妥当性確認の部分である。ここは、GROUP の解析結果の表と SIGNAL の解析結果の表の整合性を確認している。このような部分は形式アシュランスケースの整合性確認として実現可能ではないかと考えられる。

SDBS の帰属評価作業の中では、これらはいずれも定型化された作業で、スタッフがチャートや研究ノ

ートメモをとりながら頭の中で考えて処理することが多いようである。頭の中だけで考えて処理していると複雑なケースでは間違いが入る可能性がある。これらの形式アシュランスケースを作成すれば、間違いを防ぎ、しかも、過去の評価結果の保守管理などにも使える機械処理可能な証拠を残すことにつながられる可能性がある。

さらに、より複雑かつ実際的な題材へどう適用するかという問題を今後解決しなければならない。今回検討した二つの題材については、どちらも同じパターンでの議論を持つアシュランスケースで表現できた。他にも同じパターンの議論が適用できる題材はあるだろう。しかし、今回の題材は、帰属評価でもごく簡単なもので、同じパターンの議論が適用できる範囲は SDBS でも一部分に過ぎない。より複雑な分裂パターン、複数のシグナルが重なるケース、数種類の測定結果 (13C NMR および二次元データなど) を総合して帰属情報を導くケース、またいくつか仮説を立てて実験を行い、得られた実験をもとに可能性を絞る議論を必要とするケースなどに対応する課題が残っている。

謝辞

本研究課題は総合理工学研究所の共同研究助成 (RIIS201503) により行われた。記して感謝する。

文献

- 1) 村山泰啓, 林 和弘 (2014) オープンサイエンスをめぐる新しい潮流 (その 1). In: *科学技術動向* 146: 12-17. <http://hdl.handle.net/11035/2972>.
- 2) Bloomfield R and Bishop P (2010) Safety and assurance cases: past, present and possible future. In: *Proceedings of the Eighteenth Safety-Critical Systems Symposium 2010*. Dale C and Anderson T, eds., Springer, London. pp. 51-67.
- 3) Kinoshita Y and Takeyama M (2013) Assurance case as a proof in a theory: towards formulation of rebuttals. In: *Assuring the Safety of Systems-Proceedings of the Twenty-first Safety-Critical Systems Symposium*. Dale C and Anderson T, eds., CreateSpace Independent Publishing Platform, Bristol. pp. 205-230.
- 4) 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 有機化合物のスペクトルデータベース (SDBS). <http://sdbb.db.aist.go.jp>
- 5) Kelly TP (1999) Arguing safety: a systematic approach to managing safety cases. *PhD thesis, University of York, UK*.
- 6) Weinstock CB and Goodenough JB (2009) Toward an assurance case practice for medical devices. In: *Technical Report of Software Engineering Institute, Carnegie Mellon University*. CMU/SEI-2009-TN-018.
- 7) Alden K, Andrews PS, Polack FAC, Veiga-Fernandes H, Coles MC and Timmis J (2015) Using argument notation to engineer biological simulations with in-

creased confidence. *Interface* 12: 20141059.

<http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2014.1059>

- 8) Klein D (2015) *Organic Chemistry, 2nd Edition*.
Wiley, NewYork.

- 9) Silverstein RM, Webster FX and Kiemle DJ [荒木
峻, 益子洋一郎, 山本 修, 鎌田利紘 訳] (2006) *有
機化合物のスペクトルによる同定法 (第7版)*. 東京
化学同人, 東京.

■原 著■ 2015 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

Al³⁺ および Ga³⁺ イオンを開口部に導入した Open-Dawson 型ポリ酸塩の合成と構造解析

松永 諭^{1,2} 井上雄介¹ 長田宏紀¹ 大滝卓也¹ 三原航平¹
力石紀子^{1,2} 野宮健司^{1,2,3}

Syntheses and Characterization of Open-Dawson Polyoxometalates Containing Al³⁺ and Ga³⁺ Ions

Satoshi Matsunaga^{1,2}, Yusuke Inoue¹, Hironori Osada¹, Takuya Otaki¹,
Kohei Mihara¹, Noriko Chikaraishi Kasuga^{1,2} and Kenji Nomiya^{1,2,3}

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ To whom correspondence should be addressed. E-mail: nomiya@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: Open-Dawson polyoxometalates (POMs) containing tetra-aluminum(III) and tetra-gallium(III) clusters, i.e., K₁₀[{Al₄(μ-OH)₆}{α,α-Si₂W₁₈O₆₆}]·28.5H₂O (potassium salt of Al₄-open) and K₁₀[{Ga₄(μ-OH)₆}{α,α-Si₂W₁₈O₆₆}]·25H₂O (potassium salt of Ga₄-open), were synthesized by the reactions of [A-α-SiW₉O₃₄]¹⁰⁻ with Al(NO₃)₃·9H₂O or Ga(NO₃)₃·nH₂O, and characterized by X-ray crystallography, FTIR, elemental analysis, and TG/DTA. X-ray crystallography revealed that the {M₄(μ-OH)₆}⁶⁺ (M = Al, Ga) clusters were accommodated in an open pocket of the open-Dawson polyanion, [α,α-Si₂W₁₈O₆₆]¹⁶⁻, which was constituted by the fusion of two trilacunary Keggin POMs via two W-O-W bonds. These two open-Dawson POMs showed a clear difference in the bite angles depending on the size of ionic radii. The solution ²⁹Si and ¹⁸³W NMR spectra in D₂O showed only one signal and five signals, respectively. These spectra were consistent with the molecular structures of Al₄- and Ga₄-open, suggesting that these polyoxoanions were obtained as single species and that they maintained their molecular structures in solution.

Keywords: polyoxometalates, open-Dawson structural POM, aluminum, gallium

序論

分子性の酸化物クラスターであるポリ酸塩は、強酸性、耐酸性、豊富な酸化還元特性などの極めて多彩な性質を有しているため、触媒、表面化学、材料科学、医薬など様々な観点から広く研究がなされている¹⁾。様々な構造のポリ酸塩が知られているが、近年 open-Dawson 型ポリ酸塩が新しいタイプのポリ酸塩として注目されている²⁾。古くからよく知られる Dawson 型ポリ酸塩は、2つの Keggin 型ポリ酸塩三欠損種が6本の W-O-W 結合により縮合した構造を有している(図1)。しかし、負電荷の大きいゲストアニオン XO₄⁴⁻ (X = Si, Ge) を内包する Keggin 型三欠損種は、静電反発により通常の Dawson 型

構造にはなりづらく、電荷反発を避けるように2本の W-O-W 結合のみで連結した open-Dawson 型ポリ酸塩を形成する(図1)。つまり、open-Dawson 型ポリ酸塩は、従来の Dawson 型ポリ酸塩が中央で口を開いた様な構造を有している。その開口部には、様々な金属イオンを最大6個まで導入することが可能であり、これまでに様々な金属イオンを導入した open-Dawson 型ポリ酸塩が報告されている²⁻⁴⁾。特に、多核金属中心による共同的な触媒反応や基底高スピンを有する単分子磁石などのプラットフォームとして期待でき、実際に5個の Ni イオンを開口部に含む open-Dawson 型ポリ酸塩が水の酸化分解触媒とし

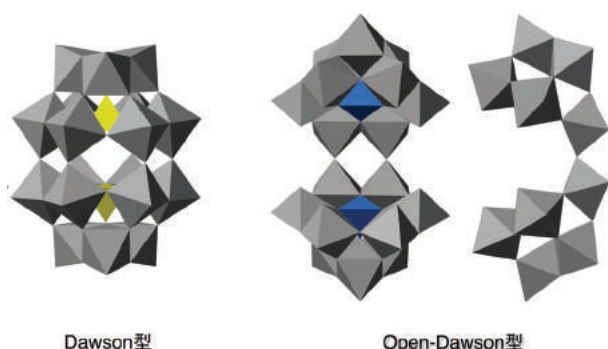


図1. 通常の Dawson 型ポリ酸塩と open-Dawson 型ポリ酸塩の構造。

て効果的に機能することが報告されている³⁾。しかし、これまで報告されている open-Dawson 型ポリ酸塩は、偶然合成されることがほとんどであり合成法の確立が急務である。

一方で、第13属元素である Al や Ga は、水中で非常に複雑な多核ヒドロキシクラスターを形成しており、その構造や溶液中での挙動に興味を持たれている⁵⁾。Al や Ga を含むポリ酸塩は、これら多核ヒドロキシクラスター化学種の安定な分子モデルと見なすことができ、この様なポリ酸塩を合成し構造を明らかにする事は、有用な知見を与えられ考えられる。これまでもポリ酸塩骨格の W 原子を Al および Ga で置換した化合物は報告されているが、結晶構造を明らかにした例はあまり多くない。特に Ga 置換ポリ酸塩の構造解析例は Patzke らの報告のみである⁶⁾。

今回我々は、 Al^{3+} および Ga^{3+} イオンを開口部に導入した open-Dawson 型ポリ酸塩、 $\text{K}_{10}[\text{Al}_4(\mu\text{-OH})_6\{\alpha,\alpha\text{-Si}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}\}] \cdot 28.5\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Al}_4\text{-open}$ カリウム塩) および $\text{K}_{10}\{\{\text{Ga}_4(\mu\text{-OH})_6\}\{\alpha,\alpha\text{-Si}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}\}\} \cdot 25\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Ga}_4\text{-open}$ カリウム塩)、の合成に成功し、構造を明らかにしたので報告する。

材料と方法

材料

硝酸アルミニウム九水和物、硝酸ガリウム n 水和物 ($n = 7 \sim 9$)、塩酸、水酸化カリウム、塩化カリウム (和光純薬) 重水 (関東化学) は、精製せずに購入したものをそのまま用いた。Keggin 型ポリ酸塩三欠損種ナトリウム塩およびカリウム塩は既報^{7,8)} に従い合成した。

合成法

$\text{K}_{10}\{\{\text{Al}_4(\mu\text{-OH})_6\}\{\alpha,\alpha\text{-Si}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}\}\} \cdot 28.5\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Al}_4\text{-open}$ カリウム塩) の合成

Keggin 型ポリ酸塩三欠損種 Na^+ 塩 $\text{Na}_{10}[\text{A-}\alpha\text{-SiW}_9\text{O}_{34}]$

$\cdot 18\text{H}_2\text{O}$ (6.0 g, 2.16 mmol) を純水 120 mL に懸濁させた。0.1 M HCl_{aq} を用いて pH 7.5 に調整した。この溶液に $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (1.62 g, 4.32 mmol) を加え 80°C で 30 分間攪拌した。この段階での pH は 2.00 であった。その溶液を 1 M KOH_{aq} を用いて pH 6.5 に調整し、飽和 KCl 水溶液を 6 mL 加えた。一日後、不純物を含む粗結晶が析出するため濾過により除去した。ろ液に飽和 KCl 水溶液を 6 mL 加え、さらに一日間室温にて放置することにより、無色針状結晶が析出した。析出した結晶をメンブランフィルター (JG 0.2 μm) を使ってろ取り、冷水にて洗浄し、減圧乾燥を二時間おこなうことで、 $\text{Al}_4\text{-open}$ カリウム塩 0.818 g (0.148 mmol) を得た (収率 13.7%)。

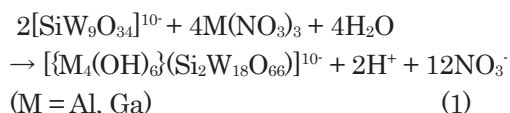
$\text{K}_{10}\{\{\text{Ga}_4(\mu\text{-OH})_6\}\{\alpha,\alpha\text{-Si}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}\}\} \cdot 25\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Ga}_4\text{-open}$ カリウム塩) の合成

Keggin 型ポリ酸塩三欠損種 K^+ 塩、 $\text{K}_{10}[\text{A-}\alpha\text{-SiW}_9\text{O}_{34}] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (3.0 g, 1.07 mmol) を純水 60 mL に懸濁させた。0.1 M HCl_{aq} を用いて pH 7.5 に調整した。この溶液に $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (0.86 g, 2.14 mmol, $n=8$ で計算) を加え 80°C で 30 分間攪拌した。この段階での pH は 1.78 であった。その溶液を 1 M KOH_{aq} を用いて pH 6.5 に調整し、飽和 KCl 水溶液を 1.8 mL 加えた。一日後、無色針状結晶が析出した。析出した結晶をメンブランフィルター (JG 0.2 μm) を使ってろ取り、減圧乾燥を二時間おこなうことで、 $\text{Ga}_4\text{-open}$ カリウム塩 0.79 g (0.140 mmol) を得た (収率 26.2%)。

結果と討論

合成と同定

$\text{Al}_4\text{-open}$ カリウム塩 $\text{K}_{10}\{\{\text{Al}_4(\mu\text{-OH})_6\}\{\alpha,\alpha\text{-Si}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}\}\} \cdot 28.5\text{H}_2\text{O}$ は、Keggin 型ポリ酸塩三欠損種ナトリウム塩 $\text{Na}_{10}[\text{A-}\alpha\text{-SiW}_9\text{O}_{34}] \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ と $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ をモル比 1 : 2 で反応させた後、飽和 KCl 水溶液を加えることで、結晶として得た。 $\text{Ga}_4\text{-open}$ カリウム塩 $\text{K}_{10}\{\{\text{Ga}_4(\mu\text{-OH})_6\}\{\alpha,\alpha\text{-Si}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}\}\} \cdot 25\text{H}_2\text{O}$ もほぼ同様の条件で合成したが、前駆体として Keggin 型ポリ酸塩三欠損種カリウム塩 $\text{K}_{10}[\text{A-}\alpha\text{-SiW}_9\text{O}_{34}] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ を用いている点で異なっている。収率はそれぞれ 13.7% ($\text{Al}_4\text{-open}$ カリウム塩)、26.2% ($\text{Ga}_4\text{-open}$ カリウム塩) であった。 $\text{Al}_4\text{-open}$ および $\text{Ga}_4\text{-open}$ の反応式を以下に示す。



$\text{Al}_4\text{-open}$ カリウム塩における結晶化の初期段階では、目的物の結晶以外にも副生成物として Al^{3+} 16 核

クラスターで連結された Keggin 型ポリ酸塩四量体 $[\{\alpha\text{-Al}_3\text{SiW}_9\text{O}_{34}(\mu\text{-OH})_6\}_4\{\text{Al}_4(\mu\text{-OH})_6\}]^{22-}$ の結晶も析出した⁹⁾。そのため、副生成物を含む粗結晶をろ過により除去し、ろ液に飽和 KCl 水溶液を追加し結晶化することで、Al₄-open カリウム塩のみを単離することができた。Ga₄-open カリウム塩の場合も、Ga イオン 3 つが置換した Keggin 型ポリ酸塩二量体⁶⁾が副生成物として稀に生成した。この場合も、副生成物を含む粗結晶を除去し、ろ液に飽和 KCl 水溶液を加えて結晶化することで純粋な Ga₄-open カリウム塩を得ることができた。また、副生成物を含むサンプルを熱再結晶することでも精製が可能であった。

Al₄-open カリウム塩および Ga₄-open カリウム塩の合成において、大過剰の K⁺ イオンの添加が不可欠である。既報の open-Dawson 型ポリ酸塩の大部分はカリウム塩として単離されている。これは、対イオンに Na⁺ を用いると、open-Dawson 型ではなく多核金属イオンクラスターを 2 つの Keggin 型三欠損種で挟み込んだ、所謂サンドイッチ型ポリ酸塩の生成が支配的となるためである。後述の X 線構造解析から、open-Dawson 型ポリアニオンの酸素原子と対イオンである K⁺ イオンとの間に明確な相互作用が存在し、open-Dawson 型ポリ酸塩を安定化していることが示唆された。このことから、大過剰の KCl を加えることが、open-Dawson 型ポリ酸塩の合成において重要であることが明らかとなった。

Al₄-open カリウム塩および Ga₄-open カリウム塩の FTIR の結果、1000 cm⁻¹ 付近に $\nu_{\text{as}}(\text{Si-O})$ 、960 cm⁻¹ 付近に $\nu_{\text{as}}(\text{W-O})$ に基づく振動バンドが観測された。また、900-600 cm⁻¹ の領域においても W-O の振動および変角に基づく特徴的な吸収が観測された。これらの IR スペクトルは、既報の open-Dawson 型ポリ酸塩のスペクトル形状とよく似ており、open-Dawson 型ポリアニオン骨格に特徴的な吸収である事が確認できた。

結晶構造

Al₄-open カリウム塩の単結晶 X 線構造解析の結果を図 2 左上に示す。2 つの Keggin 型ポリ酸塩三欠損種が二本の W-O-W 結合で連結した open-Dawson 型骨格 $[\alpha, \alpha\text{-Si}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}]^{16-}$ を形成しており、その開口部に Al³⁺ 4 核ヒドロキシクラスター $\{\text{Al}_4(\mu\text{-OH})_6\}^{6+}$ が導入された構造 $[\{\text{Al}_4(\mu\text{-OH})_6\}\{\alpha, \alpha\text{-Si}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}\}]^{10-}$ であった。開口部内の 4 つの Al³⁺ イオンは長方形型に配列していた。隣接している Al³⁺ イオン同士は稜共有型 (O67, O68, O69, O70) および頂点共有型酸素原子 (O71, O72) で連結されており、全ての Al³⁺ は六配位八面体構造であった。BVS 計算¹⁰⁾の結果から、Al³⁺ イオ

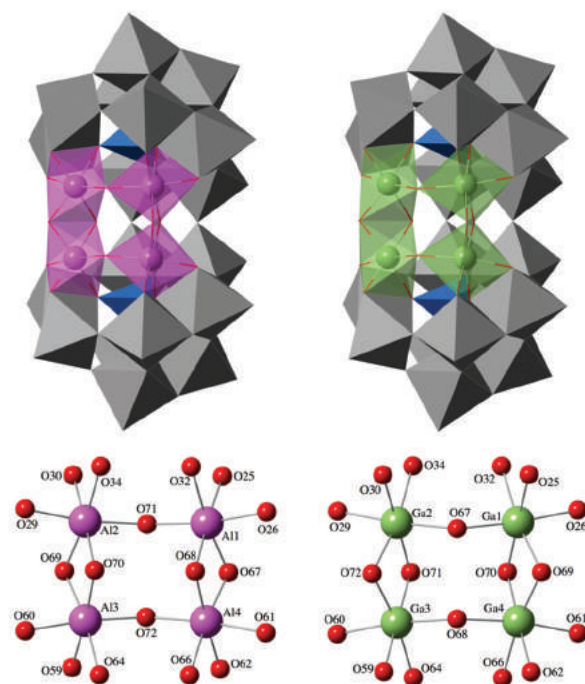


図 2. Al₄-open のアニオン部位の構造 (左上) と開口角内の Al クラスターの部分構造 (左下), および Ga₄-open の構造 (右上) と Ga クラスターの部分構造 (右下). 灰色, 水色, ピンク色, および緑色の多面体はそれぞれ $\{\text{WO}_6\}$, $\{\text{SiO}_4\}$, $\{\text{AlO}_6\}$, $\{\text{GaO}_6\}$ を示している。

ンを架橋する酸素原子はすべて OH⁻ である事が示唆された (BVS 値; O67, 0.992; O68, 0.945; O69, 0.965; O70, 0.974; O71, 0.958; O72, 0.984)。

Ga₄-open カリウム塩の構造は、Al₄-open カリウム塩と同構造であった (図 2 右上)。この様な 4 つの金属イオンが長方形型に配列した open-Dawson 型ポリ酸塩は、Fe を導入した $\text{K}_2\text{Na}_8[\{\text{Fe}_4(\text{OH})_6\}\{\alpha, \alpha\text{-Si}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}\}] \cdot 44\text{H}_2\text{O}$ のみが知られている⁴⁾。

Open-Dawson 型ポリ酸塩は、開口部の開き具合を開口角として定義することができ、導入された金属クラスターに依存して開口角が変化する。今回の化合物の開口角は Al₄-open が 54.277°, Ga₄-open が 56.118° であり、Ga₄-open の方が約 2° 大きいことがわかった (図 3 上)。両者は同構造である事から、この開口角の違いは導入金属のイオン半径に由来すると考えられる。Al と Ga のイオン半径はそれぞれ 0.53Å, 0.76Å であり、Ga の方が僅かに大きいため、開口角が大きくなったと考えられる。

両化合物ともに、ポリ酸塩の酸素原子と対イオンの K⁺ イオンとの間に多くの相互作用が存在していた。特に open-Dawson 型ポリ酸塩のチョウツガイ部分に相当する $\{\text{WO}_6\}$ の酸素原子 (O16, O21, O49, O55) と K イオン (Al₄-open の K1, K4, Ga₄-open の K1, K3) の相互作用 (図 3 下) は、既報の open-Dawson 型ポリ酸塩でも観測されている。この相互

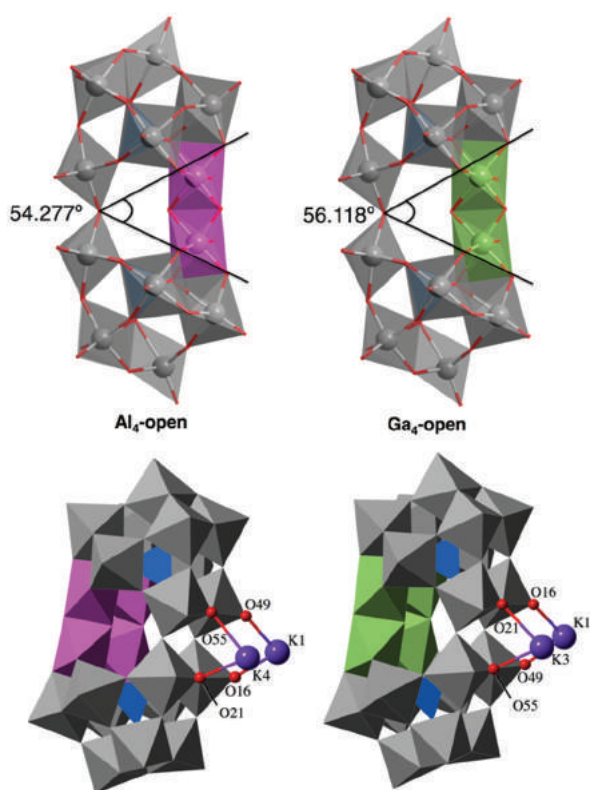


図 3. $\text{Al}_4\text{-open}$ と $\text{Ga}_4\text{-open}$ の開口角の比較 (上) とポリ酸塩と K イオンとの相互作用 (下)。

作用が open-Dawson 型骨格を安定化している重要な要因であると我々は考えており、合成時に大過剰の KCl の添加が不可欠であることと対応している。この相互作用以外にも、ポリ酸骨格の酸素原子、結晶水、 K^+ イオンとの間で多くの相互作用が存在し、結晶構造中で三次元ネットワーク構造を構成している。

^{29}Si および ^{183}W NMR スペクトル

D_2O 中での $\text{Al}_4\text{-open}$ および $\text{Ga}_4\text{-open}$ の ^{29}Si NMR の結果、 -82.55 ($\text{Al}_4\text{-open}$) および -82.31 ($\text{Ga}_4\text{-open}$) ppm に一本線ピークが観測された。また、 ^{183}W NMR では両者ともに open-Dawson 構造から予想される 5 本線ピークが積分比 2 : 2 : 2 : 1 : 2 で観測された (-79.67 , -83.33 , -149.84 , -175.17 , -197.67 ppm for $\text{Al}_4\text{-open}$; -64.31 , -72.52 , -151.79 , -167.10 , -194.70 ppm for $\text{Ga}_4\text{-open}$)。このことから、溶液中でも open-Dawson 構造を維持していることが明らかとなった。また、結晶化の初期段階で生成する副生成物のピークも観測されず、純度良く合成できていることがわかった。

まとめと展望

我々は、open-Dawson 型ポリ酸塩の開口部に Al, Ga を導入した $\text{Al}_4\text{-open}$ および $\text{Ga}_4\text{-open}$ カリウム塩の合成法を確立し、構造を決定することに成功

した。今回第 13 属元素である Al と Ga を導入したが、同族でイオン半径の大きな In (0.94 \AA) を導入した open-Dawson 型ポリ酸塩を合成することができれば、同族元素で構造の比較が可能であり、イオン半径が open-Dawson 型ポリ酸塩の構造に与える影響を系統的に評価することができる。第 5 および第 6 周期の元素には多彩な触媒活性を有するものが数多く存在するが、これらを導入した open-Dawson 型ポリ酸塩の例はこれまでに報告されていない。複数の金属イオンを密に配列することができる open-Dawson 型ポリ酸塩に第 5 および第 6 周期元素を導入することができれば、多核金属中心による共同的な触媒活性を発現しうるのではないかと考えている。そのためにも、上記のような同族元素による系統的な評価は、今後の分子設計を考える上で重要であり、現在さらなる研究を進めているところである。

謝辞

本研究は、研究課題「様々な金属を導入した新規 open-Dawson 型ポリオキソメタレート合成」に対する 2015 年度総合理学研究所共同研究の研究助成 (RIIS201505) を受けて行いました。厚く御礼申し上げます。

文献

- Hill CL, Ed. (1998) Polyoxometalates. *Chem. Rev.* 98: 1-390.
- Laronze N, Marrot J and Hervé G (2003) Synthesis, molecular structure and chemical properties of a new tungstosilicate with an open Wells-Dawson structure, $\alpha\text{-}[\text{Si}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}]^{16-}$. *Chem. Commun.*: 2360-2361.
- Zhu G, Glass EN, Zhao C, Lv H, Vickers JW, Geletii YV, Musaev DG, Song J and Hill CL (2012) A nickel containing polyoxometalate water oxidation catalyst. *Dalton Trans.* 41: 13043-13049.
- Leclerc-Laronze N, Marrot J and Hervé G (2006) Dinuclear vanadium and tetranuclear iron complexes obtained with the open Wells-Dawson $[\text{Si}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}]^{16-}$ tungstosilicate. *C. R. Chimie* 9: 1467-1471.
- Mensingher ZL, Wang W, Keszler DA and Johnson DW (2012) Oligomeric group 13 hydroxide compounds—a rare but varied class of molecules. *Chem. Soc. Rev.* 41: 1019-1030.
- Allmen K, Car PE, Blacque O, Fox T, Müller R and Patzke GR (2014) Structure and properties of new gallium-containing polyoxotungstates with hexanuclear and tetranuclear cores. *Z. Anorg. Allg. Chem.* 640: 781-789.
- Tézé A and Hervé G (1990) α -, β -, and γ -Dodecatungstosilicic acids: isomers and related lacunary compounds. *Inorg. Synth.* 27: 85-96.
- Laronze N, Marrot J and Hervé G (2003) Cation-directed synthesis of tungstosilicates. 1. Syntheses

- and structures of $K_{10}A-\alpha-[SiW_9O_{34}] \cdot 24H_2O$, of the sandwich-type complex $K_{10.75}[Co(H_2O)_6]_{0.5}[Co(H_2O)_4Cl]_{0.25}A-\alpha-[K_2\{Co(H_2O)_2\}_3(SiW_9O_{34})_2] \cdot 32H_2O$ and of $Cs_{15}[K(SiW_{11}O_{39})_2] \cdot 39H_2O$. *Inorg. Chem.* **42**: 5857–5862.
- 9) Inoue Y, Matsunaga S and Nomiya K (2015) Al_{16} -hydroxide cluster-containing tetrameric polyoxo-metalate, $[\{\alpha-Al_3SiW_9O_{34}(\mu-OH)_6\}_4\{Al_4(\mu-OH)_6\}]^{22-}$. *Chem. Lett.* **44**: 1649–1651.
- 10) Brown ID and Altermatt D (1985) Bond-valence parameters obtained from a systematic analysis of the Inorganic Crystal Structure Database. *Acta Crystallogr.* **B41**: 244–247.

■原 著■

カラスウリ果実の成熟に伴う果皮色素成分変化と有色体形態形成

早津 学^{1,2,3} 佐藤光恵¹ 鈴木季直^{1,2,4}

Pigment Changes and Chromoplast Morphogenesis in Pericarp during Fruit Ripening of *Trichosanthes Cucumeroides* Maxim.

Manabu Hayatsu^{1,2,3}, Mitsue Sato¹ and Suechika Suzuki^{1,2,4}

¹ Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ Present Address: Division of Microscopic Anatomy, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University, Niigata City, Niigata 951-8150, Japan

⁴ To whom correspondence should be addressed. E-mail: suechika-bio@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: The correlative change of pigments with chromoplast morphogenesis in the fruit pericarp of *Trichosanthes cucumeroides* Maxim. was examined by pigment spectrophotometry and electron-microscopy. In young gourd fruits, dark and pale green stripes were running alternately on the surface of fruit, and those colors changed gradually to red through yellow during fruit ripening. As fruit ripening proceeded, chlorophyll contents in the dark green stripe region increased in the early stage, and then decreased gradually toward the red-ripe stage. In the pale green region, however, chlorophyll contents decreased successively during the fruit ripening. On the other hand, carotenoids were newly synthesized. When both stripe regions became yellow, major carotenoids were α -cryptoxanthin and lutein. Lycopene was detected as a major carotenoid at the red-ripe stage of fruit ripening. Plastid metamorphosis to chromoplasts was observed with the pigment change in the pericarp. In greenish pericarps, plastids had well developed grana and intergrana thylakoids, as found in the chloroplasts of green leaves. As ripening proceeded, the internal thylakoid system was gradually destroyed, and plastoglobuli increased in both number and size. At the red-ripe stage of fruit ripening, chromoplasts exclusively included plate-like crystalloids. The results suggest that the plate-like carotenoid crystalloids are formed by the aggregation of fibrous crystalloids during chromoplast maturation.

Keywords: fruit ripening of *Trichosanthes cucumeroides* Maxim., fruit pericarp, chlorophyll, carotenoid, chromoplast morphogenesis

序論

多くの植物の花や果実は成熟に伴い多様に色変化する。この色変化に関わる主な色素はクロロフィル、カロチノイド、アントシアンなどであるが、このうち、前二者は色素体に含まれるので、それらの合成や分解に伴う濃度の増減は花や果実の色変化に強く反映され、これと相関して、細胞内色素体の微細構造も著しく変化する¹⁻⁴⁾。果実では、一般に、成熟に伴いクロロフィルは分解されて色素体内含有量が減少するので、緑色は退色する³⁻⁶⁾。一方、成熟に伴い、

色素体内で新たなカロチノイドが合成されることにより、果実は、主に、黄色系または赤色系に色づく³⁻¹¹⁾。この過程で、色素体内では内膜系は崩壊し、顆粒状、繊維状、針状または板状のカロチノイド結晶様体を含む有色体が形成される^{1-6, 11-12)}。果実を着色する主成分となるカロチノイドは種によって様々に異なり、また、黄色系と赤色系では含有結晶様体の形状も異なるが、成熟に伴い黄色から赤色へと変化するような果実では、黄色系有色体 (Y型有色体)

を特徴づける顆粒状結晶様体が赤色系有色体 (R 型有色体) を特徴づける針状結晶様体へと変化するところが報告されている^{4,6)}。

カラスウリ (*Trichosanthes cucumeroides* Maxim.) の果実は、ある大きさに達するまでの早期には、果皮表面に交互に走る濃緑色と淡緑色の縦縞があり、縞ごとにその後の成熟に伴う色変化はずれて起こるが、全体的には黄色 (橙色) 期を経て最後には赤熟する。果実の成熟に伴う果皮の色素成分変化と有色体形成との相関、特に、Y 型から R 型への有色体変化の微細構造学的特徴を明らかにするために、完熟までの各段階の果皮におけるクロロフィル濃度の定量とカロチノイドの定性を行った。また、それぞれの段階の果皮細胞内色素体の微細構造を電子顕微鏡で観察した。

材料と方法

果実の採集と果皮の抽出

神奈川県湘南ひらつかキャンパス周辺の野外に自然生育していたカラスウリから、十分に大きく成長した様々な色の果実を採集した (Fig.1)。この大きさからの果実の成熟段階を、色によって、緑色系 (第一段階)、黄緑色系 (第二段階)、橙色系 (第三段階)、赤色系 (第四段階) の 4 段階とした。第一段階の果実には、濃い緑と淡い緑からなる幅広の縦縞模様があり、それぞれを濃緑色帯と淡緑色帯と呼ぶことにした。色は変化するが、縦縞は第三段階まで確認でき、濃緑色帯は緑色 (G; green)、黄緑色 (YG; yellowish green)、黄色 (Y; yellow) に、淡緑色帯は淡緑色 (PG; pale green)、淡黄色 (PY; pale yellow)、橙色 (OR; orange) へと変化した (Fig.1)。第四段階でも微かに縦縞の痕跡は認められるが共に赤色 (R; red) になっていた。それぞれの段階を顕す果皮を果実から小片として抽出した。

クロロフィルの抽出と定量

クロロフィルと次に述べるカロチノイドの抽出は、Suzuki (1974)⁴⁾ によって報告され、その後、共同研究者ら^{5,6,11)} によって改良された方法に従って行なわれた。簡潔に述べると以下のようなものである。各段階の果皮を、湿重量測定後に、適時 90%アセトンを加え、さらに、摩砕液酸性化防止のための炭酸カルシウムと石英砂を加えて乳鉢で磨砕した。摩砕液を遠心管に移し、冷却した遠心機により ~3000 g で 10 分間遠心した。上清を回収し、沈殿はさらに 90%アセトンを加えて懸濁して遠心した。この操作を二度繰り返し、回収した全上清 (抽出液) の全量をメスフラスコで定量した。

分光光度計 (JASCO-V630) により、波長 400 ~ 700 nm (0.5 nm step) の範囲で抽出液の吸光度を測定した。得られた吸光度のうち、663、645、630 nm の各値をもとに SCOR-UNESCO (1966)¹³⁾ により湿重量 1 g あたりのクロロフィル量 (μg) を計算した。

カロチノイドの抽出と定性

各段階の果皮から抽出した試料を Aoki ら (2011)⁵⁾ と同じ方法で処理し、ヘキサン抽出液を得た。

分光光度計 (JASCO-V630) により波長 250 ~ 700 nm の範囲で 0.5 nm ごとに抽出液の吸光度を測定し、得られた吸光スペクトルを解析し、それらのピーク波長に基づいてカロチノイドの定性¹⁴⁾ を行なった。

微細構造観察

各成熟段階の果皮小片を pH7.2 のリン酸緩衝液で希釈した 6%グルタルアルデヒド溶液で前固定し、緩衝液による洗浄後に 2%四酸化オスミウム (OsO_4) 水溶液で後固定した。固定試料をアセトン系列で脱水し、Quetol 812 樹脂に包埋して加温重合させた。ウルトラミクロトーム (Reichert Ultracut-N) で超薄切片を作製し、酢酸ウランとクエン酸鉛で二重染色し、透過型電子顕微鏡 (JEOL JEM2000EX) で観察した。

結果

果実の成熟に伴う果皮の色素変化

各成熟段階を示す果皮に含まれるクロロフィル量を測定した。Fig.2 はその結果を示している。始めに濃緑色帯であった部分では、第一段階のクロロフィル量は $132.9 \mu\text{g/g fresh wt.}$ であり、第二段階でやや増加していたが、次の第三段階で激減し、第四段階の赤熟果皮ではさらに減少していた (Fig.2A)。一方、第一段階の淡緑色帯果皮部分のクロロフィル量は $101.6 \mu\text{g/g fresh wt.}$ で濃緑色帯より少なく、第二段階でこの部分が黄緑色になるとクロロフィル量はさらに激減し、その傾向は第三、第四段階へと続いた (Fig.2B)。

Fig.3 は、成熟各段階の果皮に含まれているカロチノイドの吸光スペクトル ($\lambda: 390\text{-}530 \text{ nm}$) を示している。四段階 7 色からなる果皮のスペクトルパターンは、概ね 3 群に仕分けことができ、それらは、第 1 群の緑色系 (G, PG, YG)、第 2 群の黄色系 (PY, Y)、第 3 群の赤色系 (O, R) であった。緑色系果皮のスペクトルはほぼ同じパターンを示し、淡緑色 (PG) 果皮では、ショルダーを含めたスペクトルピ

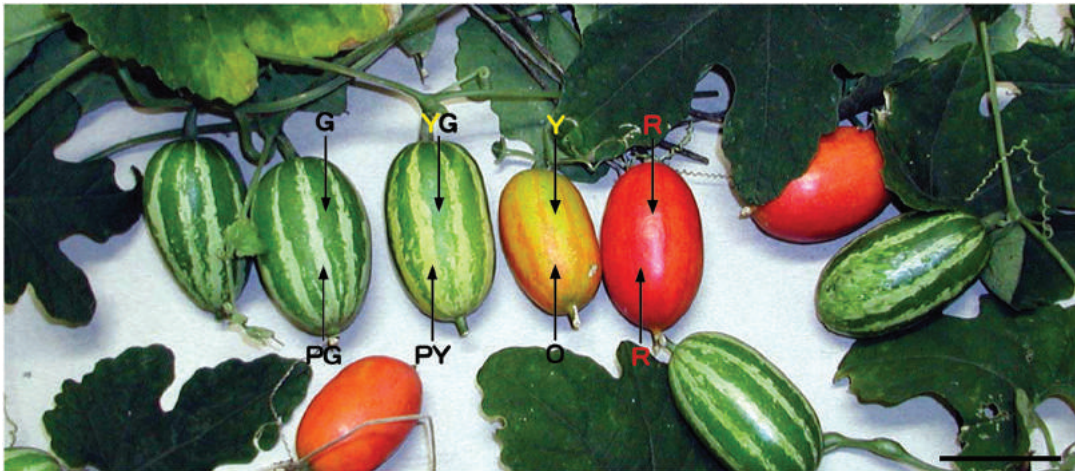


Fig.1. Fruits of *Trichosanthes cucumeroides* Maxim., called in Japanese “karasu-uri” (karasu means a bird crow, uri is a kind of gourd), in various stages of ripening. Note two stripes with dark and pale green colors, running in parallel longitudinally on the fruit surface in young fruits. Color abbreviations : G (dark green); PG (pale green); YG (yellowish green); PY (pale yellow); Y (Yellow); O (orange); R (red). Colors of leaves also change from green to greenish yellow, and finally to brownish yellow during their senescence, although it is not shown in this photograph. Scale bar, 5 cm.

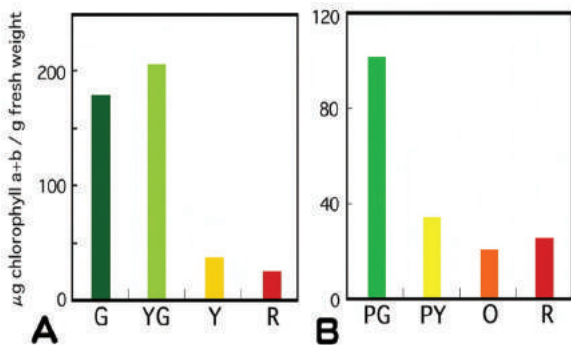


Fig.2. Changes of chlorophyll concentrations in the dark green stripe region (A) and pale green stripe region (B) of pericarps during fruit ripening.

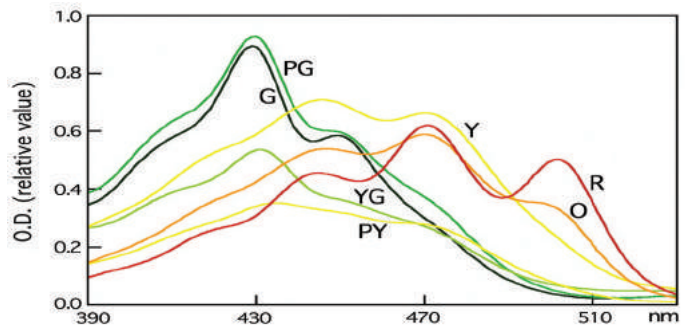


Fig.3. Visible absorption spectra of the pigments extracted from pericarps of respective fruit ripening-stages. Fruit pericarp colors: PG (pale green); G (dark green); YG (yellowish green); PY (pale yellow); Y (yellow); O (orange); R (red).

ークは 410、430、449 nm であり、最大吸収ピークは 430 nm であった。黄色系果皮でもそれらのスペクトルは良く似たパターンを示し、黄色 (Y) 果皮では、スペクトルピークは 418、446、470 nm であった。赤色系果皮のスペクトルは互いに良く似ており、明確な三つのピークを持ち、赤色 (R) 果皮のスペクトルではピークは 445、471、502 nm であった。黄色系と赤色系果皮のスペクトルは共に緑色系のそれより明らかに長波長側にシフトしており、この段階で新たなカロチノイドが合成され、増加することを示唆した。

果皮色素体の微細構造変化

果皮の緑色部に含まれる色素体と比較するために、成長緑葉の葉肉細胞葉緑体の微細構造を観察した (Fig.4)。葉肉細胞には長径 ~ 6 µm の良く発達したレンズ状の葉緑体が含まれていた。それらの内膜系

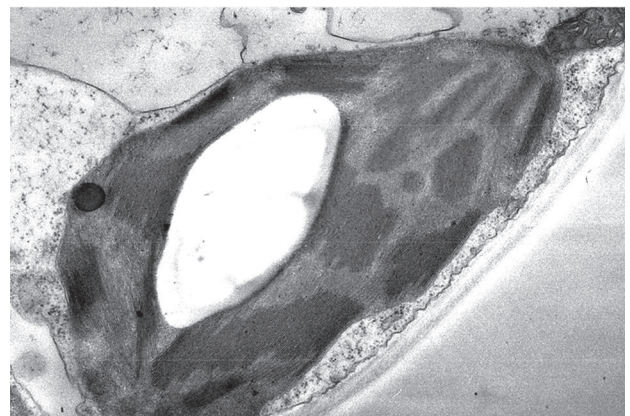


Fig.4. Fine structures of a chloroplast found in adult green leaf of Japanese “karasu-uri”. Scale bar, 1 µm.

のうち、グラナは、大きなものになると数十枚のチラコイドが重なって形成されており、グラナ間は多数のインターグラナチラコイドにより連結されてい

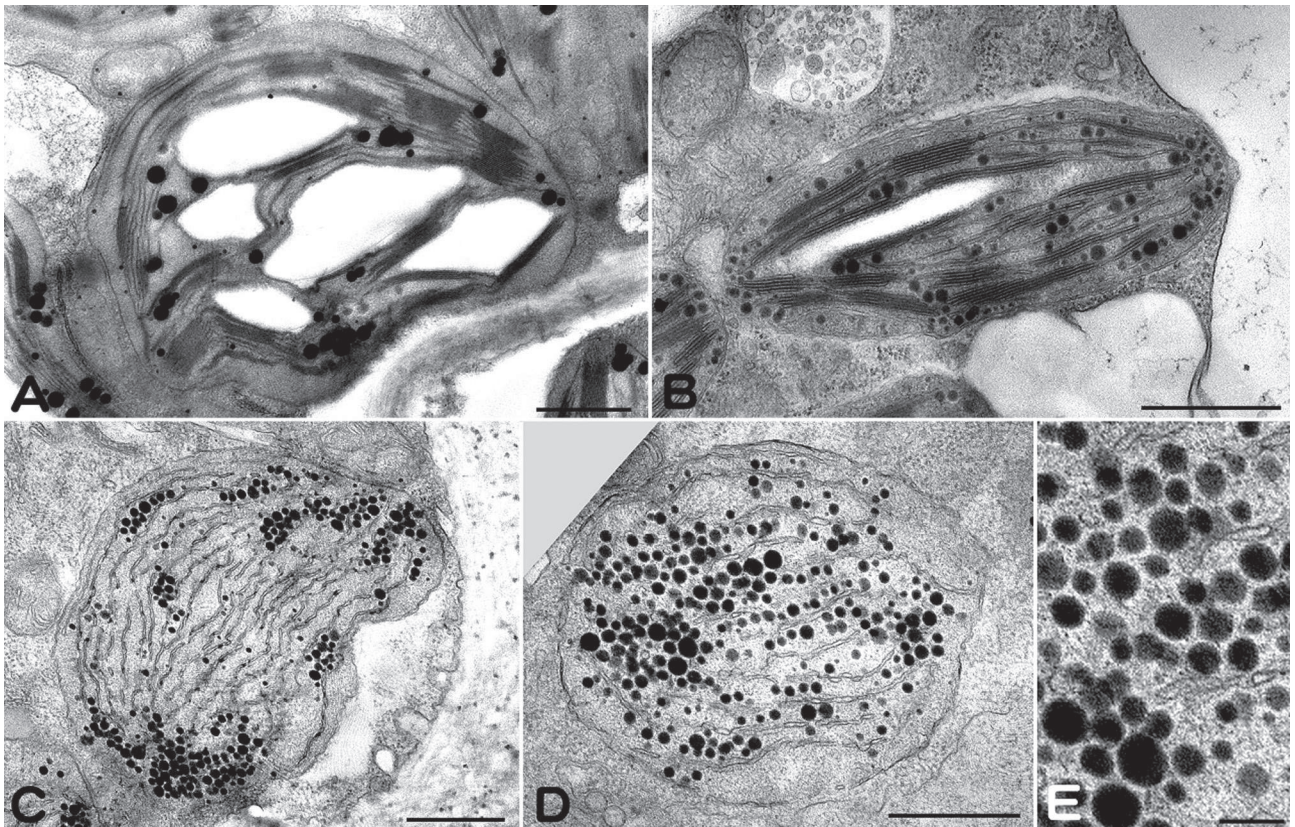


Fig. 5. Fine structures of plastids found in pericarp with various colors in fruits of Japanese “karasu-uri”. A. Typical chloroplast in the dark green stripe on the pericarp of greenish fruits. B. Chloroplast found in the pericarp, of which dark green stripe has been changed to yellowish green in color. Note grana degradation and increase of plastoglobuli in number. C and D. Chromoplasts found in the 2nd and 4th cell layers under the epidermis of pericarp, of which dark green stripe has been changed to yellow in color. Note grana disappearance and remarkable increase of plastoglobuli in number and size. E. Enlarged view of D, showing plastoglobuli characterizing the Y(yellow)-type chromoplasts. Scale bars, 1 μm (A-D) and 0.2 μm (E).

た。ストロマ内にはしばしば直径 50 – 300 nm の好オスミウム性顆粒（プラスト顆粒）が含まれていた。さらに、殆どの葉緑体は複数のデンプン粒を含んでおり、それらのうちの大きなものは時には長径が 3 μm を超えていた。

果実の成熟に伴い、若い果実の果皮に見られる濃緑色帯部分における色素体の微細構造がどのように変化するかについて観察した。この果皮部分が濃緑色の時、そこで見出される色素体は、成長緑葉で観察されたものよりやや小さめであったが、同じように多重層グラナを多数持つ、良く発達した内膜系からなる葉緑体であった (Fig.5A)。高い光合成活性を示唆するように、ストロマ内には大きな多数のデンプン粒が観察された。また、成長緑葉の葉緑体と比べると、直径が 20 – 200 nm とやや小さめな好オスミウム性顆粒が見られ、その数は緑葉の葉緑体よりかなり多いように思われた。果皮のこの部分は次の果実成熟段階で黄緑色 (YG) に変化する。その段階で見られる色素体は葉緑体であるが、前段階よりやや小さめで、内膜系のグラナの重なりも減少

しているように思われた (Fig.5B)。デンプン粒もその数と大きさを減じていた。一方、これとは対照的に、好オスミウム性顆粒は数を増しているように思われた。次の成熟段階では、この果皮部分は黄色 (Y) に変化する。いずれの成熟段階でも果皮の表皮領域とその下層は殆ど同じ色に変化しており、この段階でも表皮から 2 層目と 4 層目の細胞に見られる色素体 (Fig.5C, D) の微細構造上の特徴は良く一致していた。この段階で、色素体の形状はレンズ状から球状に変化しており、内膜系のうちグラナは崩壊して殆ど認められず、多数のとり残された単一チラコイドがストロマ内を並走していた。デンプン粒は見られず、一方、好オスミウム性顆粒は顕著に数と大きさを増し、随所で会合し始めていた。この段階で、これらの顆粒の濃淡は様々であったが、特に形状の変化は認められなかった。

若い果実の果皮に見られる淡緑色帯部分の色変化は濃緑色帯のそれよりもやや先行しており、これに伴い、有色体形成も速やかに進行していた。Fig.6 はその過程の各段階における色素体の微細構造を示し

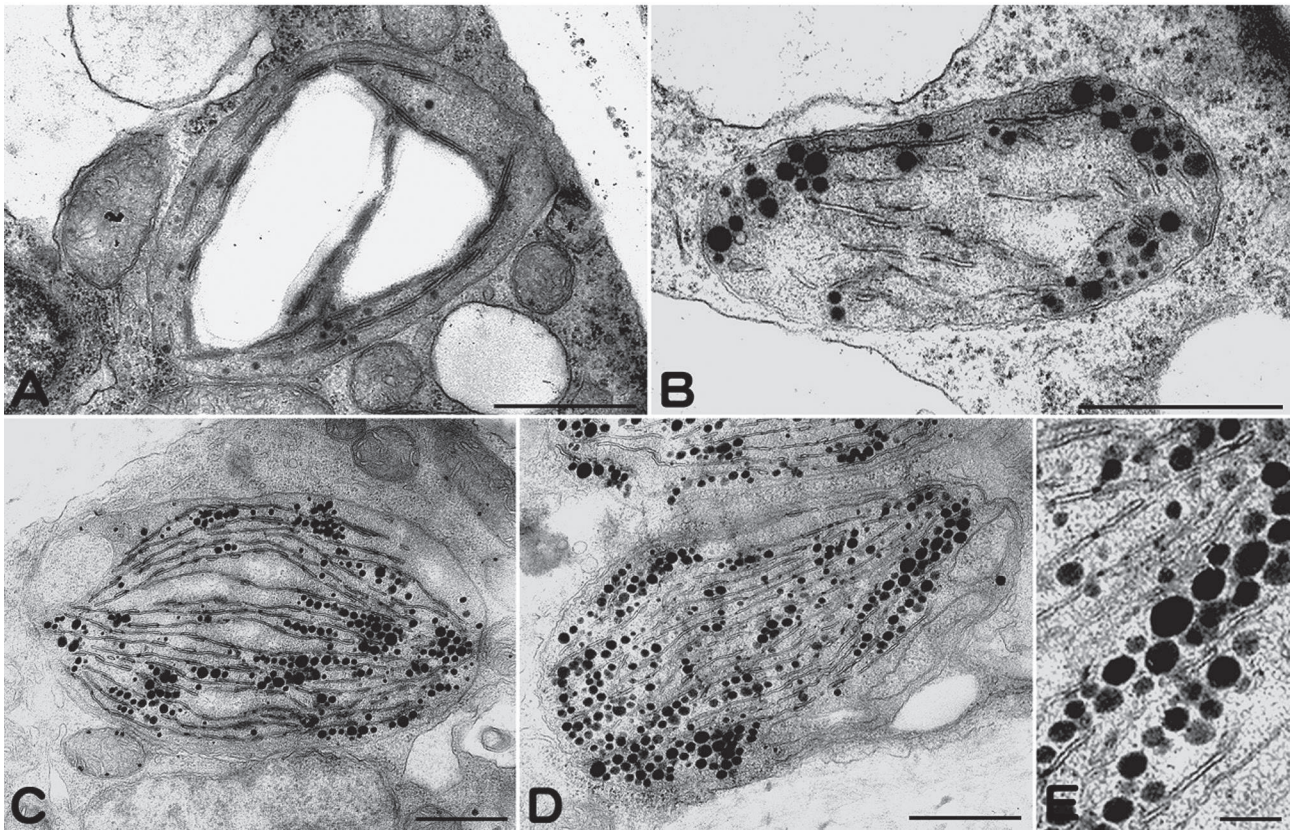


Fig. 6. Fine structures of plastids found in pericarp with various colors in Japanese “karasu-uri” fruits. A. Young chloroplast in the pale green stripe on the pericarp of greenish fruits. B. Young chromoplast found in the pericarp, of which pale green stripe has been changed to yellow in color. Note grana disappearance and increase of plastoglobuli in number and size. C and D. Typical chromoplasts found in the 2nd and 4th cell layers under the epidermis of pericarp, of which pale green stripe has been changed to orange in color. Note grana disappearance and remarkable increase of plastoglobuli in number and size. E. Enlarged view of D, showing plastoglobuli characterizing the Y(yellow)-type chromoplasts. Scale bars, 1 μm (A-D) and 0.2 μm (E).

ている。早期果実の果皮淡緑色帯で見られる色素体は、隣接する濃緑色帯で見られる葉緑体と比べると長径が3–4 μm と小さく、グラナの構成チラコイドの重なりが数層で、その数も少なく、全体的に内膜系が未発達の状態であった (Fig.6A)。デンプン粒が含まれていることから光合成できる葉緑体と判定しうが、グラナが未発達であることからその活性はあまり高いとは思われなかった。ストロマ内には直径20–50 nmの好オスミウム性顆粒がかなり多く観察された。淡緑色帯の部分は次に淡黄色 (PG) になるが、そこに含まれる色素体は淡緑色の時の色素体と大きさではほぼ同じであったが、形状はレンズ状から楕円体状に変化しており、内膜系では、グラナは見られず、断片化した単一チラコイドのみが顕著で、デンプン粒は見られなかった (Fig.6B)。一方、好オスミウム性顆粒は著しくその大きさと数を増しており、色素体が有色体となりつつあることを示していた。次の成熟段階では、この果皮部分は赤味が加わって橙色 (Y) になる。この段階で見られる色素体は長径 \sim 6 μm の楕円体状で、内膜系には

グラナはなく、並走する単一チラコイドのみからなっていた (Figs.6C, D)。好オスミウム性顆粒は顕著にその数を増し、ストロマ内に散在し、随所で会合していた。個々の顆粒サイズも増大しており、大きなものでは直径およそ200 nmのものも認められた (Fig.6E)。

果実が完熟すると、表面は全体が赤色となり、帯状の縞模様は殆ど判別できなくなる。Fig.7は、この段階の果皮に見られる色素体を示しており、これらはすべて有色体であった。それらの大きさは前段階の有色体とほぼ同じであった。一方、その形状では、球状を維持しているもの (Fig.7A) も見られたが、多くのものは表面凹凸が顕著となり、不定形を呈していた (Figs.7B, C)。例外的な一部を除き、チラコイドは殆ど見られず、内膜系は完全に崩壊していた。好オスミウム性顆粒の大きさは前段階の色素体から殆ど変化していなかったが、数は減少していた。特に、最終段階と思われる有色体 (Fig.7C) では好オスミウム性顆粒は殆ど見られなかった。これに対し、ストロマ内には、切片像としては細い繊維のように

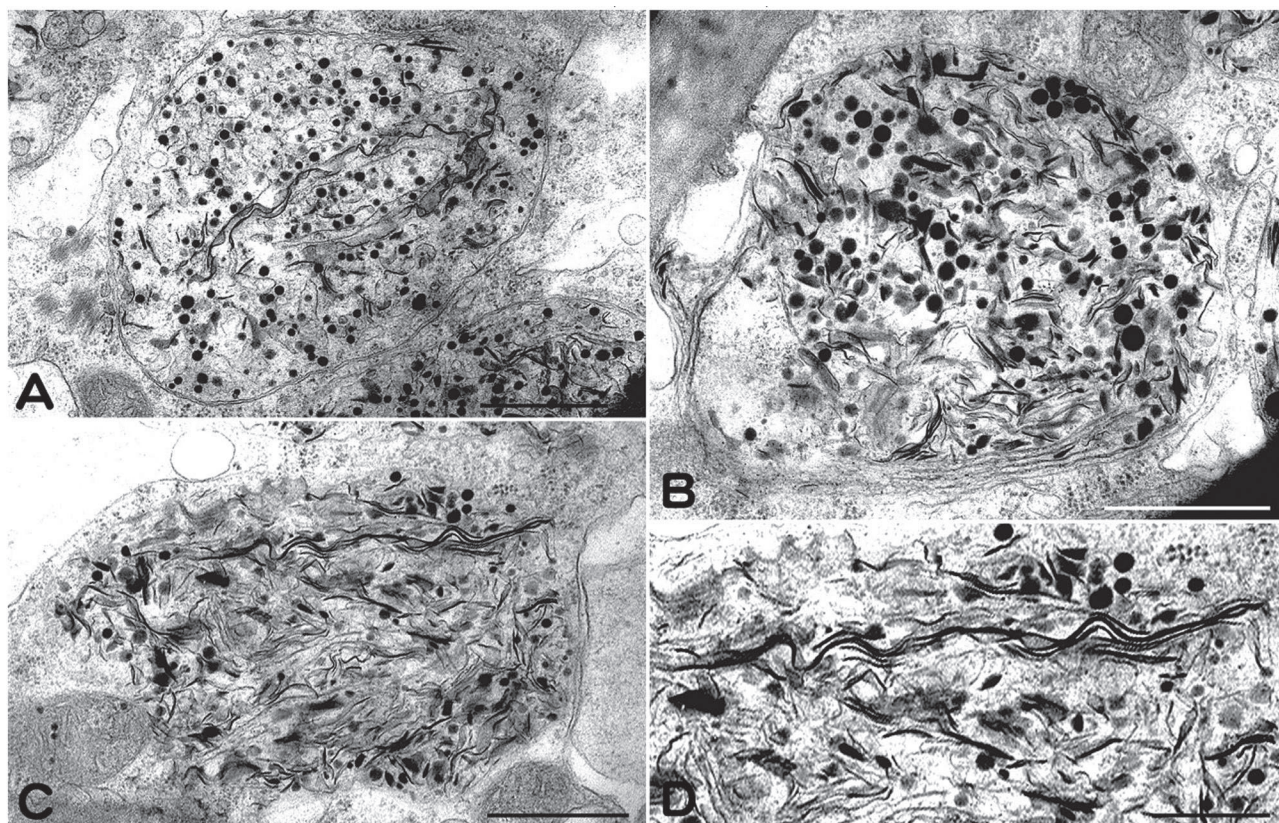


Fig. 7. Fine structures of plastids found in red-ripe fruit pericarp of Japanese “karasu-uri”. A-C. Typical chromoplasts found respectively in the 2nd, 3rd and 4th cell layers under the epidermis of pericarp, containing numerous plastoglobuli and fibrous or plate-like structures which are seemed to be carotenoid crystalloids. D. Enlarged view of a mature chromoplast in C, showing fibrous structures and plate-like structures. Scale bars, 1 μm (A-C) and 0.5 μm (D).

見える高電子密度の物体が多数出現しており、それらのあるものは数 μm と非常に長くて蛇行していた。この蛇行している物体の屈曲部ではしばしば面としての奥行きが観察された (Fig.7D) ので、これらは、板状であると思われた。後述するように、これらの高電子密度の物体はカロチノイドの結晶様体と思われる。完熟した有色体の不定形化にはこれらの結晶様体の局在や配列が影響しているように思われた。

討論

カラスウリの果実では、早期にその表面に濃緑色と淡緑色の縦縞があり、成熟に伴い縞ごとに多様な色変化を示すが、全過程を通して概観すると、緑色系、黄色系、赤色系へと変化している。それぞれの果皮に含まれるクロロフィルの定量、カロチノイドの定性、色素体の微細構造観察を行った。

果実の成熟が進むにつれて果皮の緑は退色するが、果皮に含まれるクロロフィル濃度の測定結果から、これは、成熟に伴い、果皮におけるクロロフィルの分解が進行するためと考えられる (Fig.2)。クロロフィルの減少は葉緑体のグラナ崩壊とも相関して生じていることが示された (Figs.4-6)。この結果は、

内膜系の三次元構築にクロロフィルのチラコイド膜内局在が不可欠とする考え¹⁵⁾を支持する。

成熟に伴う果皮の色変化は四段階7色であり、それらの果皮に含まれるカロチノイドの吸光スペクトルパターンをまとめると3群となった (Fig.3)。第1群の緑色系 (G, PG, YG) が示したスペクトルのピークを既知のヘキサン溶媒中における各種カロチノイドの吸光スペクトルピーク¹⁴⁾と比較検討したが、ピーク波長が一致するものはなかった。しかし、これらのピーク波長は、アオキ、ホオズキ、ピーマンなどの緑色果実から抽出された色素のピーク波長によく一致しており^{5,6,11)}、このカロチノイドは緑色果実に共通するものと考えられる。

第2群の黄色系 (PY, Y) が示したスペクトルのピーク波長はルテイン (lutein; 420, 447, 477 nm) や α -クリプトキサンチン (α -cryptoxanthin; 421, 446, 475 nm)¹³⁾のそれに近似していた。同様の結果は、成熟に伴い果実の色が緑色から黄色へと変化するホオズキの果実でも報告されており⁶⁾、緑色系のカロチノイドと入れ替わるように新たにルテインなどが合成されるものと思われる。

第3群の赤色系 (O, R) が示したスペクトルのピ

ーク波長はリコピン (lycopene; 446, 472, 505 nm)¹³⁾のそれにほぼ一致していた。リコピンはトマトの赤熟果実に含まれる主要カロチノイドとして良く知られており²⁾、カラスウリ果実でもリコピンが赤熟果実の主要カロチノイドとして合成されると考えられる。

前述したように、有色体の形態形成過程では内膜系の崩壊と並行して新たに種々のカロチノイドが合成され、濃度増加に伴いカロチノイドはストロマ内で結晶様体を形成すると考えられている。この結晶様体の形に基づき微細構造学的に有色体はG型 (globular type)、F型 (filament type)、C型 (crystalline type) と区別されており¹⁾、トウガラシ果実の有色体を色に基づき表現するY型とR型は、それぞれがG型とF型に相当する^{3,4)}。従来の研究で、様々な植物の黄色組織に含まれるY型有色体は一般にG型である^{4,6,11)}。しかし、赤熟果実の有色体ではF型とC型の二通りがあると思われる。カラスウリの赤色系果実に見られる有色体では結晶様体と考えられる構造として繊維状と板状の構造が見られた。しかし、形態形成における最終段階の特徴を示すと思われる不定形の有色体内では板状の構造が顕著であったことから、カラスウリ果実の赤色有色体はC型有色体に相当すると考えられる。この板状構造は、リコピンを主要カロチノイドとする赤色トマトの果皮に含まれる有色体の結晶様体^{7,8)}と微細構造上の特徴が良く似ており、カラスウリの赤熟果実からもリコピンと同定しうるカロチノイドが検出されたことから、リコピンを主体とする結晶様体と考えられる。

ゴシキトウガラシの果実ではY型 (G型) からR型 (F型) へと有色体に変化し、その段階で顆粒状結晶様体から針状結晶様体が形成されることが報告されている^{3,4)}。カラスウリ果実では、同じように黄色系から赤色系へと色変化するが、結晶様体の変化はゴシキトウガラシのそれとは異なる様式で生じていると思われる。前述したように、赤熟果実の不定形有色体では繊維状構造は減少し、板状構造が顕著となっているように思われた。このことから、繊維状構造は前駆体であり、板状の結晶様体はそれらによって形成される可能性があると考えられる。結晶様体の形状はそれを構成するカロチノイドの化学的性質を反映していると思われる。有色体内の結晶様体の形成過程がトウガラシとカラスウリとで違うの

は、それぞれの主要カロチノイド、カプサンチンとリコピンとの違いが反映された結果と考える。

文献

- 1) Frey-Wyssling A and Kreutzer E (1958) The submicroscopic development of chromoplasts in the fruit of *Capsicum annum* L. *J. Ultrastruct. Res.* **1**:397-411.
- 2) Kirk JTO and Tilney-Bassett RAE (1967) *The Plastids*. Freeman WH and Co., London.
- 3) 鈴木季直 (1977) 葉緑体の退化と有色体. 光合成器官の細胞生物学. 石田政弘, 植田勝巳 遠山 益編, 共立出版, 東京. pp. 116-137.
- 4) Suzuki S (1974) Ultrastructural development of plastid in cherry pepper during fruit ripening. *Bot. Mag. Tokyo* **87**:165-178.
- 5) Aoki Y, Ono M, Hayatsu M and Suzuki S (2011) Changes of pigments and plastid ultrastructures in the pericarp during fruit ripening of *Aucuba japonica* Thunb. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **22**:63-70.
- 6) Ito S, Otsuka M, Amano K, Hayatsu M and Suzuki S (2013) Pigment Changes and chromoplast morphogenesis in galyx and pericarp during fruit ripening of Japanese bladder cherry. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **24**:47-54.
- 7) Harris WM and Spurr AR (1969) Chromoplasts of tomato fruits. I. Ultrastructure of low-pigment and high-beta mutants. *Am. J. Bot.* **56**:369-379.
- 8) Harris WM and Spurr AR (1969) Chromoplasts of tomato fruits. II. The red tomato. *Am. J. Bot.* **56**:380-389.
- 9) Spurr AR and Harris WM (1968) Ultrastructure of chloroplasts and chromoplasts in *Capsicum annum*. I. Thylakoid membrane changes during fruit ripening. *Am. J. Bot.* **55**:1210-1224.
- 10) Spurr AR (1971) Morphological changes in ripening fruit. *Hortiscience* **5**:33-35.
- 11) Yoshida M, Hayatsu M and Suzuki S (2008) Pigment changes and ultrastructural morphogenesis of chromoplasts during fruit ripening of pimentos. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **19**:51-56.
- 12) Bovier F and Camara B (2006) The role of plastids in ripening fruits. In: *The Structure and Function of Plastids*. Wise RR and Hooper JK, eds., Springer, Dordrecht, Netherlands. pp. 419-432.
- 13) SCOR-UNESCO WG (1966) Determination of photosynthetic pigment in sea water. *Monogr. Oceanogr. Methol.* **1**: 9-18.
- 14) Davies BH (1965) Analysis of carotenoid pigments. In: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. Goodwin TW, ed., Academic Press, London. pp.489-532.
- 15) Weier TE and Benson AA (1967) The molecular organization of chloroplast membrane. *Amer. J. Bot.* **54**:389-402.

■原 著■

PHYTO-PAM 法による相模川河口域植物プランクトン群集の特性の推定

鈴木祥弘^{1,3,5} 金澤謙一^{1,3} 西本右子^{2,4}

Characteristics of Phytoplankton Communities
in the Estuary of the Sagami River Estimated with PHYTO-PAM.

Yoshihiro Suzuki^{1,3,5}, Ken'ichi Kanazawa^{1,3} and Yuko Nishimoto^{2,4}

¹ Department of Biological Science, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ Department of Biological Science, Graduate School of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

⁴ Department of Chemistry, Graduate School of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

⁵ To whom correspondence should be addressed. E-mail:suzuky03@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: Phytoplankton communities were collected from the estuary of the Sagami River in winter 2016, and their species compositions and photosynthetic characteristics were determined. Microscopic observation showed the predominance of diatom species of *Detonula pumila*, *Eucampia zodiacus*, and *Chaetoceros* spp. in the communities. In addition to diatom species, a predominance of green algal species, whose cell sizes were too small the microscopic observation, were estimated with PHYTO-PAM. The amounts of diatoms and green algae were 84 and 23% of the total chlorophyll biomass at most, respectively. PHYTO-PAM also showed the photosynthetic characteristics of each taxonomic group of algae. Estimated electron transporters of diatom species in the communities did not become saturated even at 500 μ mol photons m⁻² s⁻¹. All of the communities collected from different places and different depths in this study showed similar species compositions and photosynthetic characteristics. These results suggest rapid vertical mixing in winter in this area.

Keywords: biomass, PHYTO-PAM, phytoplankton, sagami river, vertical mixing

序論

日本海溝から湾内に延びる相模トラフとその周辺に形成された海丘や海底谷により、相模湾は特徴的な海底地形を形成している。この相模湾の中央付近に位置する相模川河口海域には、周辺の隆起海岸段丘地形とともに、平塚海底谷と呼ばれる特異な海底地形が存在する¹⁾。これに加え、湾沖合の黒潮や相模川からの淡水流入により²⁾、相模川河口沖合の環境は複雑に変動している。この複雑な変動は、この海域の植物プランクトンの光合成・一次生産や、それに支えられた海域の生態系を特徴づけている³⁾。この特徴を検討するため、潮汐にともなう日変動⁴⁾や、河川流量の変化^{2,5)}と対応付けて、植物プランクト

ン群集の生物量の変動が調べられてきた^{6,7)}。植物プランクトン群集の生物量の変動をさらに詳細に解析するためには、植物プランクトン群集の示す環境への応答を検討する必要がある。天然の植物プランクトン群集は珪藻類、渦鞭毛藻類、緑藻類やラン藻類(シアノバクテリア)などの分類群を中心とする様々な分類群に属する生物種から構成されている⁹⁾。植物プランクトン群集の環境への応答の解析には、群集構造を解析した上で、群集を構成する各種の応答を検討する必要がある。しかし、自然環境へ対応したままの状態では、群集内の各藻類種を分別し、その応答を解析することは難しかった。植物プランクト

ン群集の群集構造を決定する主要因の一つである光合成の応答の解析法に、光化学系IIの発するクロロフィル蛍光を利用したPAM蛍光法(pulse amplitude modulated fluorometry)がある。PAM蛍光法の一つに集光性色素の違いから生じるクロロフィル蛍光収率の光波長特性の違いを利用して、珪藻類・渦鞭毛藻類と緑藻類、ラン藻類(シアノバクテリア)の三つの分類群を区別し、それぞれの光合成を測定する方法(PHYTO-PAM法)がある⁹⁾。この方法は藻類の光合成を分類群ごとに分別して測定できる唯一の方法である。一方、培養細胞を用いたクロロフィル蛍光収率の光波長特性の違いに基づき推定するために、この方法を天然藻類群集へ適用することには限界があることも指摘されている⁹⁾。本研究では、各種環境要因の測定、植物プランクトン群集の群集構造の解析とともに、採集された植物プランクトン群集にPHYTO-PAM法を適用した。これにより、各分類群に分けて、植物プランクトン群集の光合成特性の解析の可能性を検討した。

材料と方法

環境要因と植物プランクトン生物量の測定

2016年1月28日、相模川河口から沖合に向かって南北方向に280m、1000m、2000mの各地点で観測を行った(図1)。各地点で調査船舷側より、直読式総合水質計(AAQ126, JFEアドバンテック株式会社)を垂下し、観測海域の各地点で電気伝導度、温度、圧力に加えて、クロロフィル蛍光強度を測定した。電気伝導度と圧力は、測定器付属のソフトウェアにより塩濃度(‰)と水深(m)に換算した。海水密度の指標(σ)は、塩濃度と温度、圧力から算出した海水密度(kg m^{-3})より1000を引いて求めた。同時に採

水した海水中のクロロフィル濃度を求め¹⁰⁾、機器の蛍光強度をこの値で較正してクロロフィル濃度($\mu\text{g l}^{-1}$)に換算した。全地球測位システム(GPS)端末(FG-530, EMPEX社)を用いて、測定期間中の時刻と緯度、経度を記録し、測定を行った時刻から観測点を算出した。測定点の平面上の位置より河口からの距離を求めた。

植物プランクトン群集構造

各観測地点でバンドーン採水器(離合社)を用い、表層と水深20mの海水10lを採水した。海水試料は沈降係数板(Combined Plate Chamber, Hydro-Bios, Germany)を用いて濃縮し、光学顕微鏡(IX70, オリンパス)で種同定と細胞密度測定を行った。

PHYTO-PAM法による植物プランクトン群集の解析

海水試料を平底試験管中、15°C、暗黒下で2時間以上静置した。試験管底面に集積した細胞をピペティングで収集した。これをキュベットに移し、PHYTO-PAM(PHYTO-PAM, Walz, Germany)を用いて室温(18°C)で測定を行った。海水試料を直接用いるとシグナルが小さく、測定結果が安定しなかった。このため、沈降により濃縮した試料を用いた。測定用プログラム(PHYTO-Win, Walz, Germany)のプロトコルに従い、各藻類の生物量と $0\text{-}500 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光強度での電子伝達速度を推定した。

結果 海況

観測実施日の水温は最低14.4°C、最大15.1°Cであった。最低水温は沖合280mの地点の表層で認められた。この地点での水温は水深とともに上昇し、水深3m以深では15.0-15.1°Cでほぼ一定となった。沖合1000mの地点では、表層から15.0-15.1°Cで一定であった。沖合2000m地点では沖合280mの地点と同様に表層にやや低い水温(14.8°C)であったが、この地点での水温は水深とともに上昇し、水深3m以深では15.0-15.1°Cでほぼ一定となった。表層の低い水温と対応して、沖合280mの地点では低い塩濃度(33.3‰)が表層に認められた。塩分濃度も水深とともに上昇し、水深3m以深では34.6‰で一定の値を示した。沖合2000mの地点でもやや低い塩濃度(34.4‰)が表層に認められたが、深層との差は小さく、水深3m以深では34.6‰で一定の値を示した。塩分濃度も水深とともに上昇し、水深3m以深では34.6‰で一定の値を示した。沖合1000mの地点では、表層から34.6‰で一定の値を示した。温度

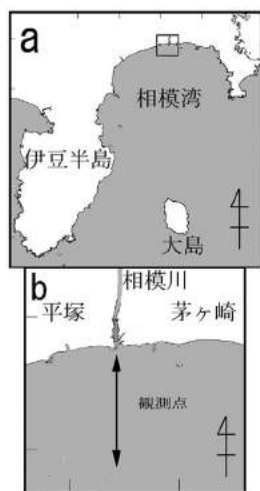


図1. 観測海域. a. 相模湾全景. 図中の四角形は図bの位置を示す. b. 調査海域. 図中の南北2.5 kmの直線に沿って観測を行った.

と塩分濃度の影響を受け、沖合 280 m の地点では密度の指標である σ_T は表層で僅かに低い値 (24.8) を示したが、水深 3 m 以深では 25.7 で一定となった。沖合 2000 m の地点でも僅かに低い値 (25.5) が表層に認められたが、水深 3 m 以深では 25.7 で一定となった。沖合 1000 m の地点では、表層で 25.6、以深で 25.7 の一定の値を示した。どの地点でも表層数 m 以深では測定した水深 45 m まで均質であった。この構造と対して、植物プランクトンの生物量は表層で僅かに低かったが、表層数 m 以深では測定した水深 45 m まで均質で 3 地点のいずれでも、 $850 \mu\text{g l}^{-1}$ 前後の高い値が維持された。高い生物量と対応して海表から進入した太陽光は急激に減衰し、水深 9-12 m で表層の 10%、17-23 m で表層の 1% 以下に減衰した (図 2)。

植物プランクトン群集の種組成

観測を行った 3 地点で表層と水深 20 m 層から試料を採取した。海水試料中の藻類を 40-400 倍の倍率

で顕微鏡観察したところ、主として珪藻類から成る植物プランクトン群集が観察された。珪藻類の細胞の破片と共に、小型の藻類が観察されたが、個々の細胞体積が小さく、珪藻類の細胞と同等に扱うのが難しいこと、光学顕微鏡では破片との区別や種同定が難しいことから、細胞数の計数は行わなかった。計数できた珪藻類の細胞密度を求めたところ、沖合 2000 m の水深 20 m から採水した試料で 1287細胞 ml^{-1} と細胞密度がやや低かったが、その他の地点、水深で採水した試料中では密度は 1715 から 2019細胞 ml^{-1} で、大きな違いは認められなかった。構成する種を見ると全ての試料で、*Detonula pumila* が優占していた。細胞密度が小さかった沖合 2000 m の水深 20 m から採水した試料でも、*D. pumila* は他の試料と同等の密度を示したため、全細胞数に占める *D. pumila* の割合は 57% とやや高くなった。他の 5 つの試料でも、細胞数に占める割合は 45-52% に達した。次いで高い密度で存在したのが *Eucampia zodiacus* であった (図 3)。

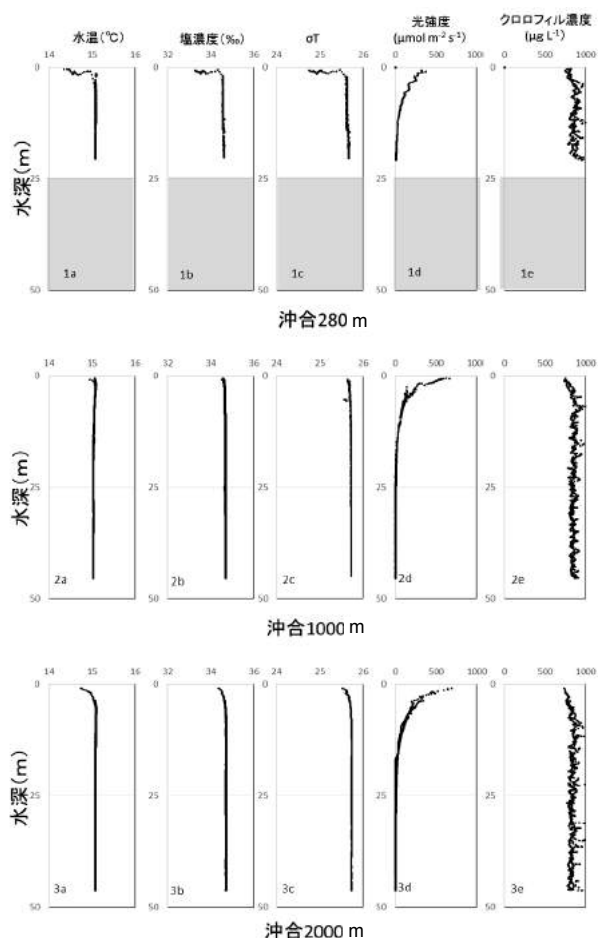


図 2. 観測地点の環境要因とクロロフィル a 濃度。沖合 280 m (1), 1000 m (2), 2000 m (3) の各観測地点における、水温 (a), 塩濃度 (b), 密度 (c), 光強度 (d), クロロフィル a 濃度 (e) を表す。

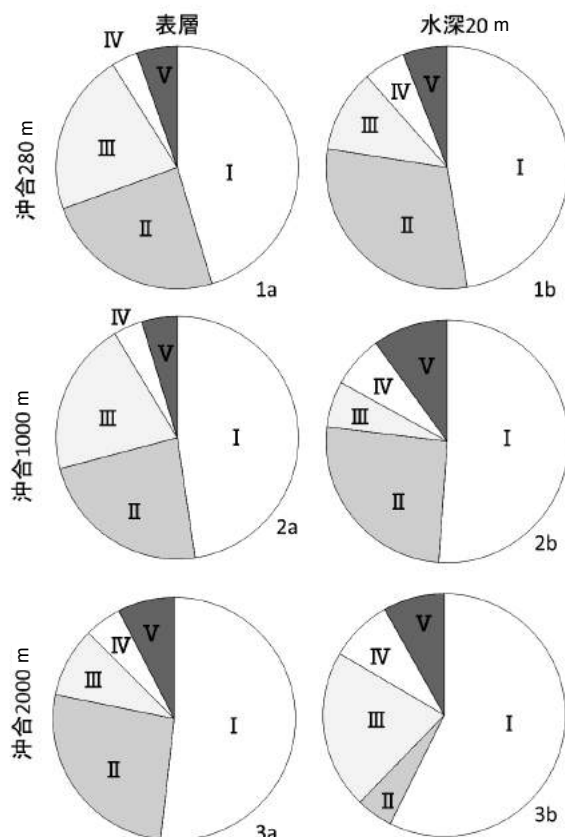


図 3. 観測地点の表層と水深 20 m 層の植物プランクトンの種組成。沖合 280 m (1), 1000 m (2), 2000 m (3) の各観測地点の表層 (a) と 20 m 層 (b) の海水試料中の植物プランクトンの細胞数を光学顕微鏡で計数し、各種の割合を示した。I: *Detonula pumila*, II: *Eucampia zodiacus*, III: *Chaetoceros* spp., IV: *Rhizosolenia* spp., V: その他珪藻種の割合を示す。

沖合 2000 m の水深 20 m から採水した試料では、*Eucampia zodiacus* は 5% に過ぎなかったが、他の試料では 23-30% を占めていた。*Chaetoceros* 属の珪藻類も多数含まれていた。*C. pseudo-curvisetus*、*C. debilis*、*C. curvisetus*、*C. affinis*、*C. danicus* などの沿岸性の珪藻種が確認できた。これらをまとめて *Chaetoceros* spp. とすると、細胞密度に占める割合は、6-21% に達した。しかし、*Chaetoceros* spp. は細胞体積が小さく、炭素量などで表した群集全体の生物量に占める割合や、群集全体の光合成速度に与える影響は小さいと考えられた。*Rhizosolenia* 属の藻類も全ての試料で認められ、これらをまとめて *Rhizosolenia* spp. とすると、細胞密度に占める割合は、4-8% に達した。これら主要な珪藻類に加えて、*Ditylum brightwellii*、*Stephanopyxis palmeriana*、*Thalassionema nitzschioides*、*Thalassionema frauenfeldii* などの珪藻種が認められた。これらの珪藻種は全ての試料に認められるわけではなかった。沖合 280 m から 2000 m の範囲で採集された植物プ

ランクトン個体群では、*D. pumila* と *E. zodiacus* が細胞数の 50% 以上を占める類似した種組成を示した。特に、沖合 280 m と 1000 m で採集された個体群の種構成は、*Chaetoceros* 属の珪藻類が水深 20 m に比べて表層で多く認められる点も含めてよく類似していた。一方、沖合 2000 m の試料では、水深 20 m の *E. zodiacus* が 5% と低く、これを補うように *Chaetoceros* spp. の密度が高かった。これらの結果は沖合 2000 m の地点が、沖合 280 m と 1000 m とはある程度異なる状況にあることを示唆していた。

クロロフィル蛍光法で推定された各藻類の生物量と電子伝達速度の光強度依存性

沈降により濃縮した試料を用いた。測定用プログラム (PHYTOWin, Walz, Germany) のプロトコルに従い、各藻類の生物量と 0-600 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光強度での電子伝達速度を推定した。推定された生物量は、試料に依らずほぼ一定の値を示したが、沈降法による濃縮率が不明であり、全生物量に

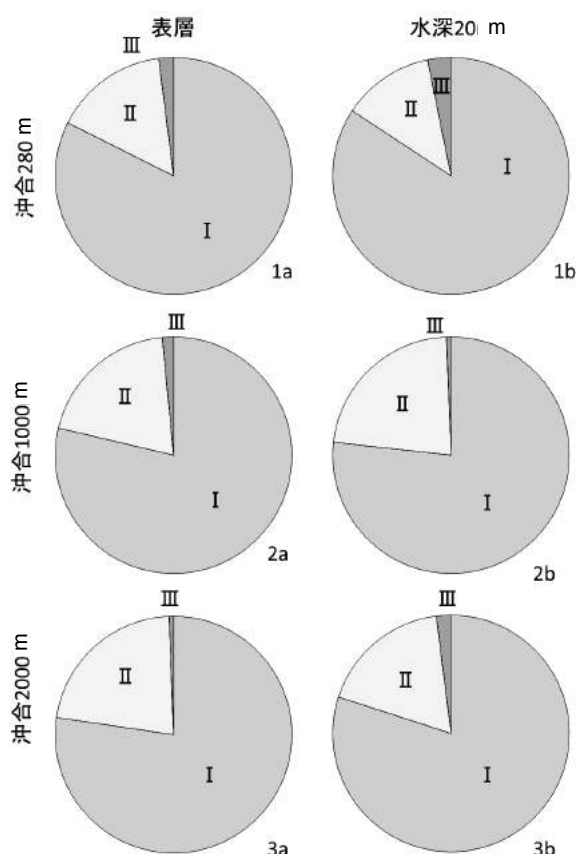


図 4. クロロフィル蛍光法で推定された藻類の生物量 (クロロフィル a 量) の比。沖合 280 m (1), 1000 m (2), 2000 m (3) の各観測地点の表層 (a) と 20 m 層 (b) の海水試料中の植物プランクトンの生物量を珪藻類 (I), 緑藻類 (II), ラン藻類 (III) に分けて、クロロフィル蛍光法で推定し、その割合を示す。

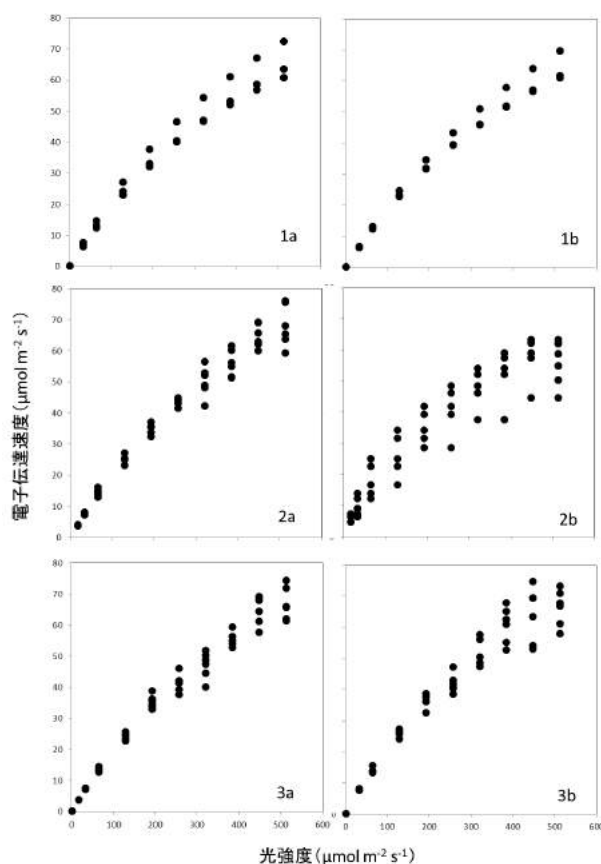


図 5. クロロフィル蛍光法で推定された珪藻類の電子伝達速度の光強度依存性。沖合 280 m (1), 1000 m (2), 2000 m (3) の各観測地点の表層 (a) と 20 m 層 (b) の海水中の植物プランクトンの電子伝達速度。

対する珪藻類、緑藻類とラン藻類（シアノバクテリア）の割合として表示した（図4）。その結果、珪藻類、渦鞭毛藻類が77-84%で、緑藻類が13-23%、ラン藻類が0.6-3.2%であると推定された。これらの結果は、光学顕微鏡観察で計数されなかった微小な藻類の多くが、クロロフィルaとクロロフィルbを持つ緑藻類に特徴的な光合成系を持つ藻類であることを強く示唆していた。また、顕微鏡観察で認められた、沖合2000m試料と沖合280m、1000m試料の幾つかの違いは、PHYTO-PAM法で推定された生物量にはほとんど反映されなかった。選別されたシグナルを用いて、珪藻類と緑藻類の電子伝達速度の光強度依存性を求めた。最も生物量の多い珪藻類では、安定したシグナルが得られたが、緑藻類で推定された量子収率は不安定であった。このため、珪藻類で得られた電子伝達速度の光強度依存性を検討した（図5）。沖合280m、1000m、2000mの調査地点で採集された表層の試料は500 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で光飽和せず、60-70 $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の電子伝達速度を示す類似した光強度依存性を示した。また、各地点で採集された水深20mの試料は、上層の試料が示したものと類似した光強度依存性を示し、500 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で光飽和せず、60-70 $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の電子伝達速度を示した。

討論

相模川河口域の環境は、測定年に依らずほぼ同様の周年変化を示し、冬季には50m以深までの鉛直混合、が認められた⁷⁾。本研究で認められた50m以深までの均質な水温、塩濃度と密度、クロロフィル濃度は、例年冬季にこの海域に生じる鉛直混合が測定期間中も生じていたことを示している（図2）。さらに、この海域では、相模川からの淡水の流入が複雑な変化を生じさせる⁵⁾。沖合280mと2000mの測定に僅かに認められた、表層の低温・低塩濃度の水塊は、相模川からの淡水の流入の影響を端的に示していた（図2）。鉛直混合による深層からの栄養塩の供給に加えて、この海域では、河川からの栄養塩の供給が行われていると考えられる。これと対応してこの海域では、季節によらず700 $\mu\text{g Chla l}^{-1}$ 以上の生物量が維持されている。本研究でも、850 $\mu\text{g Chla l}^{-1}$ 前後の高いクロロフィル濃度が河口からの距離や深度に依らず維持されていた（図2）。

顕微鏡観察の結果、このクロロフィルの多くが、沿岸性の珪藻類で構成される植物プランクトン群集によるものであることが明らかになった。この植物プランクトン群集は、*D. pumila* と *Eucampia zodiacus* が細胞数で45-52%と23-30%を占めてい

た。*C. pseudocurvisetus*、*C. debilis*、*C. curvisetus*、*C. affinis*、*C. danicus* などの沿岸性の *Chaetoceros* 属の珪藻種も多数含まれ、これに *Rhizosolenia* 属の数種を加えた種が各採集地点の表層と水深20mから採集された試料に認められた（図3）。沖合2000mの植物プランクトン群集の群集構造は、沖合280m、1000mの群集構造と僅かに異なっており、*Eucampia zodiacus* の細胞数が少なかった。また、沖合280m、1000mの表層の植物プランクトン群集は、比較的多くの *Chaetoceros* 属の珪藻種を含むなど、群集間の構成種の割合に一定の差違が認められたが、種構成はほぼ等しく、非常に類似した群集であった（図3）。これらの結果は、河口域（沖合280m）と等しい環境が、この海域全体である程度均一に維持されている可能性を示唆していた。

顕微鏡観察に加えて、PHYTO-PAM法で生物量を推定した。その結果、全生物量に対する珪藻類・渦鞭毛藻類、緑藻類とラン藻類の生物量の割合は、77-84%、13-23%、0.6-3.2%と推定されることが明らかになった。顕微鏡観察の結果を考慮すると、珪藻類・渦鞭毛藻類の殆どが珪藻類であるものと考えられる（図4）。また、この結果は、珪藻類の細胞の破片と共に観察された小型の藻類が主として緑藻類と同じ光合成系をもつ藻類から成ることを示していた。小型で、生物量を検討する際に珪藻類の細胞数と同等に扱うのが難しく、光学顕微鏡では破片との区別や種同定が難しい細胞が、光学顕微鏡観察で圧倒的に優占していた珪藻類の三分の一に相当する生物量を持つことを示すこの結果は、光学顕微鏡での測定の難しい微細な藻類が、植物プランクトン群集の重要な構成要素となっていることを示していた。三つの分類群の割合を示すPHYTO-PAM法で求めた生物量の結果は、さらに、藻類全体としてみた場合にも、この海域の植物プランクトン群集が、採集地点や水深に依らず類似していることを示していた（図4）。この結果からは、河口域（沖合280m）と等しい環境が、この海域全体で均一に維持されている可能性が確認された。

PHYTO-PAM法では生物量に加えて光合成系の環境応答を推定できる。本研究では優占種である珪藻類の電子伝達速度の光強度依存性を求めた（図5）。その結果、沖合280m、1000m、2000mの調査地点で採集された試料は表層、水深20mの有光層下部（図2）のいずれから採水された試料も500 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で光飽和せず、60-70 $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の電子伝達速度を示す非常に類似した光強度依存性を示した（図5）。約100倍の光強度差にも関わらず同じ光強度依存性を示したことは、群集がそ

それぞれの光環境に対して充分には馴化していないことを示している。温度・塩分濃度、植物プランクトンの生物量が水深に依らず均質であるばかりでなく(図2)、植物プランクトン群集の光合成特性までも均質であることは、植物プランクトンが光環境に馴化する以上の速い速度で鉛直混合が生じている可能性を示している。一般に、冬季の深い鉛直混合は植物プランクトンの光合成に必要な光条件を悪化させ、プランクトン生物量を低下させると考えられている⁸⁾。しかし、激しい鉛直混合は、藻類細胞に有光層・無光層間の短周期移動を引き起こし、結果として、水隗内の植物プランクトンに均一な光環境を提供しているのかもしれない。この場合、有光層以下の植物プランクトンも含め、正の光合成速度が維持できる。多くの季節に $700 \mu\text{g l}^{-1}$ 以上の生物量が維持されているこの海域の一次生産を速い鉛直混合が支えている可能性を示唆していた。

集光性色素の違いから生じるクロロフィル蛍光収率の光波長特性の違いを利用して、珪藻類・渦鞭毛藻類と緑藻類、ラン藻類(シアノバクテリア)の三つの分類群の光合成を区別して測定する方法にPHYTO-PAM法がある。この方法は主要な分類群の藻類の光合成を分別して測定できる唯一の方法であるが、一方で培養細胞を用いたクロロフィル蛍光収率の光波長特性の違いに基づき推定するために、天然藻類群集への適用には限界があることも指摘されている⁹⁾。こうした限界を考慮し、得られたデータを定性的にしか扱えないとしても、PHYTO-PAM法は光学顕微鏡を用いた生物量推定を補い、優占種光合成系の光馴化を明らかにするという、この方法に特徴的な結果をもたらすことができた。PHYTO-PAM法は、環境中の植物プランクトンを解析する上できわめて重要なツールであることが、本研究により示された。

謝辞

本研究は、神奈川大学理学部総合理学研究所共同研究助成(RIIS201504)により一部助成を受けて実施された。本研究では野外調査に、神奈川県平塚市漁業協同組合の伏黒哲司氏と栄宝丸船長の上谷きよし氏にご協力頂いた。厚く御礼申し上げる。

文献

- 1) 日本海洋学会編(1985) *日本全国沿岸海洋誌*. 東海大学出版会, 東京.
- 2) 国土交通省 水文水質データベース (<http://www1.river.go.jp/>).
- 3) 平賀義路, 鈴木祥弘(2013) 相模川河口域の植物プランクトン分布の季節変化. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **24**: 55-62.
- 4) 栗飯原海人, 平賀義路, 鈴木祥弘(2014) 相模川河口域海況の日変化. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **25**: 111-116.
- 5) 平賀義路, 児玉壮史, 鈴木祥弘(2011) 相模川河口域の植物プランクトンの分布への淡水流入の影響. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **23**: 59-66.
- 6) 児玉壮史, 鈴木祥弘(2010) 相模川河口域の海況と植物プランクトンの分布. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **21**: 65-69.
- 7) 野木大輝, 平賀義路, 金沢謙一, 西本右子, 武井尊也, 鈴木祥弘(2015) 相模川河口域プランクトン生物量の周年変化. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **26**: 91-96.
- 8) Lalli CM and Parsons TR (1995) *Biological Oceanography: An Introduction (Open University Oceanography Series)*. Butterworth-Heinemann, Oxford, UK.
- 9) Jakob T, Schreiber U, Kirchesch V, Langner U and Wilhelm C (2005) Estimation of chlorophyll content and daily primary production of the major algal groups by means of multiwavelength-excitation PAM chlorophyll fluorometry: performance and methodological limits, *Photosynth Res.* **83**: 343-61.
- 10) PROTOCOLS FOR THE JOINT GLOBAL OCEAN FLUX STUDY (JGOFS) CORE MEASURE MENT-1 (1994UNESCO).

■原 著■

相模湾平塚沖の貝類相：2014年と2015年の調査結果

大和田正人^{1,4} 齋藤礼弥^{1,3} 小林 剛² 吉田汐里² 金沢謙一^{1,2,3}

Molluscan Fauna in Sagami Bay Off Hiratsuka:
Results of the Investigation by Dredging in 2014 and 2015

Masato Owada^{1,4}, Masaya Saito^{1,3}, Tsuyoshi Kobayashi²,
Shiori Yoshida² and Ken'ichi Kanazawa^{1,2,3}

¹ Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

⁴ To whom correspondence should be addressed. E-mail: owada-bio@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: Mollusca and bottom sediments were simultaneously collected by dredging Sagami Bay off Hiratsuka on 8 September 2014, and 8 September 2015. The collected specimens were 390 individuals composed of 38 species: 17 gastropods, 2 scaphopods, 18 bivalves, and 1 cephalopod. Ten species which are reproductive species in this locality, were collected. Furthermore, another 10 species: *Sinum undulatum*, *Cryptonatica andoi*, *Eulima bifascialis*, *Niotha variegata*, *Cancellaria spengleriana*, *Gemmula kieneri*, *Scapharca satowi*, *Macra nipponica*, *Cardiomya gouldiana*, and *Cardiomya sagamiana*, were collected for the first time in this investigation. Almost all collected species were warm-water species, but 1 species, *Modiolus flavidus*, was a tropical species. Around depths of 10 m, the bottom sediment was coarse- to fine-grained sand containing 1.4-5.5% mud. The substrate around 10 to 30 m deep was fine- to very fine-grained sand containing 5.2-17.4% mud, and that around 40 m deep was the same as the former but the mud comprised 15.4-26.2%.

Keywords: molluscan fauna, bottom sediment, dredge, hiratsuka, sagami bay

序論

相模湾に生息する貝類については、東部では三浦半島周辺、西部では伊豆半島周辺を中心に多数の調査が行われてきた。代表的な報告としては Horikoshi¹⁾、黒田ほか²⁾、Okutani and Matsukuma³⁾、Okutani⁴⁾などが挙げられる。このうち黒田ほか²⁾は多数の分類群を扱っており、実質的に相模湾に生息する貝類の目録となっている。中央部については、大和田ほか⁵⁻⁸⁾の平塚沖の調査、佐藤ほか⁹⁾の藤沢市地先および大磯の調査などが知られるが、東部や西部に比べると未だに十分な成果は得られていない。また、貝類の生息分布は底質に強く影響されることが知られているが、実際に潮下帯において貝類と海底堆積物を同時に採集、解析した例は少ない。

本研究は神奈川県平塚沖で貝類と海底堆積物を同時に採集し、年ごとの貝類相の変化及び底質と種組成の関係を2010年から継続的に調査している。今回は2014年と2015年に行った調査結果について報告する。

材料と方法

2014年9月8日(特別採捕許可番号:第26-55号)と2015年9月8日(特別採捕許可番号:第27-48号)に調査を行った。漁船を借りて、神奈川県平塚市の平塚新港から直線距離で約2000m以内の海域でドレッジを使用して貝類と海底堆積物を採集した(Fig.1, Table 1)。貝類の採集には間口50×15cm、

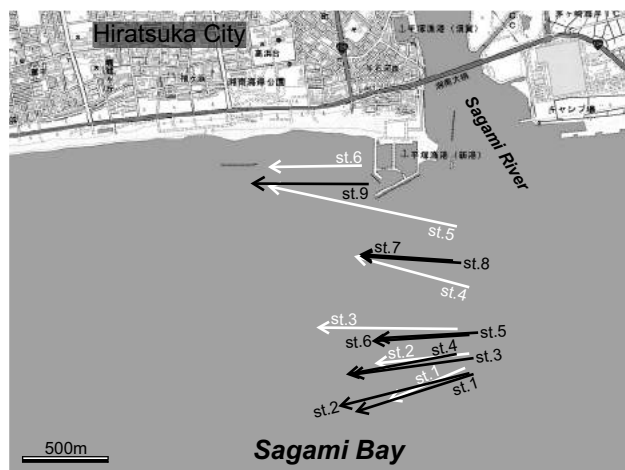


Fig. 1. Sampling localities. Arrows show the positions and directions of dredging. The white arrows indicate the investigation on September 2014, and the black arrows indicate that on September 2015.

Table 1. Depths and positions where a dredge was dropped or lifted

sampling date	station	position	depth (m)
September, 2014	st.1	35°18'07"N, 139°22'11"E—35°18'01"N, 139°21'53"E	42—42
	st.2	35°18'10"N, 139°22'12"E—35°18'08"N, 139°21'50"E	31—28
	st.3	35°18'15"N, 139°22'09"E—35°18'15"N, 139°21'36"E	20—20
	st.4	35°18'23"N, 139°22'12"E—35°18'29"N, 139°21'45"E	12—11
	st.5	35°18'35"N, 139°22'09"E—35°18'43"N, 139°21'24"E	6—6
	st.6	35°18'47"N, 139°21'46"E—35°18'47"N, 139°21'24"E	3—3
September, 2015	st.1	35°18'07"N, 139°22'13"E—35°18'00"N, 139°21'46"E	44—45
	st.2	35°18'07"N, 139°22'12"E—35°18'01"N, 139°21'42"E	40—42
	st.3	35°18'11"N, 139°22'09"E—35°18'07"N, 139°21'44"E	30—31
	st.4	35°18'10"N, 139°22'13"E—35°18'07"N, 139°21'45"E	31—31
	st.5	35°18'15"N, 139°22'14"E—35°18'14"N, 139°21'51"E	21—20
	st.6	35°18'15"N, 139°22'12"E—35°18'14"N, 139°21'50"E	21—21
	st.7	35°18'29"N, 139°22'08"E—35°18'30"N, 139°21'47"E	11—11
	st.8	35°18'29"N, 139°22'10"E—35°18'30"N, 139°21'47"E	10—11
	st.9	35°18'44"N, 139°21'48"E—35°18'44"N, 139°21'21"E	5—6

袋部のメッシュサイズ 20 mm の簡易ドレッジ (離合社、5121-B)、堆積物の採集には直径 17 cm、長さ 42 cm の小型円筒形ドレッジ (離合社、5113) を用いた。簡易ドレッジの後部に小型円筒形ドレッジを連結し、貝類と堆積物を同時に採集した。採集した貝類は実験室に持ち帰り、種ごとにまとめ、100% エタノールで固定した。種の同定は主に奥谷^{10,11)}に基づいて行い、同時にそこに記載されている分布域も記録した。堆積物については乾燥重量を計測し、目合い 2 mm、1 mm、0.5 mm、0.25 mm、0.125 mm、0.063 mm の連続篩を使用して篩い分けを行った。各粒度区分に篩い出された堆積物の重量を精密天秤で計測した。

結果 貝類

2014 年 9 月の調査では腹足綱 12 種、二枚貝綱 12 種、頭足綱 1 種の合計 25 種 293 個体、2015 年 9 月の調査では腹足綱 11 種、掘足綱 2 種、二枚貝綱 13 種の合計 26 種 97 個体の生貝が採集された (Table 2)。

調査全体では、38 種 390 個体の生貝が採集された。これらの貝類の分布域を Table 3 にまとめた。採集された 38 種は全て房総半島以南に分布する暖流系種であり、房総半島以北に分布する寒流系種は全く見られなかった。また、紀伊半島以南に分布するサザナミマクラを除く 37 種が本州を分布の中心とする種であった。

底質

今回の調査で採集された海底堆積物の粒度分布を Fig. 2 に示した。水深 10 m 以浅の堆積物は、主に中粒砂と細粒砂で構成され、含泥率は 1.4 ~ 5.5% であった。水深 10 ~ 30 m の堆積物は、主に細粒砂と極細粒砂で構成され、含泥率は 5.2 ~ 17.4% であった。しかし、2015 年 st.7 の堆積物のみ、水深 11 m と比較的浅いにも拘わらず、極細粒砂を多く含み、含泥率も 21.2% と高かった。水深 40 m 付近の堆積物は、主に細粒砂と極細粒砂で構成され、含泥率は 15.4 ~ 26.2% であった。

討論

今回の調査で採集されたサザナミマクラは殻長が 15 mm 以下であったため、幼貝である可能性が高い。この種は 2010 年、2012 年の調査でも採集されているが、いずれも幼貝であった。したがって、黒潮によって不規則に平塚沖に運ばれ、再生産は行っていないと見られる。

今回の調査で採集された 38 種を大和田ほか⁵⁻⁸⁾と比較したところ、平塚沖で再生産していると思われる貝類が 10 種 (ダンバイキサゴ、ツメタガイ、ムシボタル、クダマキガイ、ヒメトクサ、ミタマキガイ、バカガイ、ハナガイ、マツヤマワスレ、クチベニガイ)、今回の調査で初めて採集された貝類が 10 種 (ツガイ、エゾタマガイ、ハナゴウナ、アラレガイ、コロモガイ、ジュズカケクダマキ、サトウガイ、チゴバカガイ、ヒメシャクシ、サガミヒメシャクシ) いることが分かった。初めて採集された 10 種については、黒田ほか²⁾相模湾東部で既に採集されていることを報告している。一方、平塚沖で再生産していると思われるが、今回の調査で採集されなかった貝類としては、マキモノシャクシ、ゲンロクソデガイ、ヒメカノコアサリ、ウスハマグリ、ワスレガイの 5 種があげられる。マキモノシャクシ、ウスハマグリ、ワスレガイの 3 種はこれまでの調査で採集された個体数が多くないため、今回の調査では偶然採集できなかったのであろう。ヒメカノコアサリは 2013 年 9 月の調査で 439 個体が採集されているが、他の調査では 1 ~ 2 個体しか採集されていない。この貝は適した環境では急

Table 2. List of the species collected in the investigation on September 2014, and September 2015

class	scientific name	Japanese name	September, 2014							September, 2015							total			
			st.1	st.2	st.3	st.4	st.5	st.6	st.7	st.1	st.2	st.3	st.4	st.5	st.6	st.7		st.8	st.9	
Gastropoda	<i>Calliostoma aculeatum</i>	トゲエビス										1							1	
	<i>Umbonium giganteum</i>	ダンバイキサゴ					7	24	171									15	217	
	<i>Glossaulax didyma</i>	ツメタガイ			1	1	4	6	12							2		4	30	
	<i>Sinum undulatum</i>	ツガイ			1														1	
	<i>Natica buriasensis</i>	カスミコダマ			1							1	1	4	1				8	
	<i>Cryptonatica andoi</i>	エゾタマガイ												1					1	
	<i>Eulima bifascialis</i>	ハナゴウナ			2														2	
	<i>Niotha variegata</i>	アラレガイ				1													1	
	<i>Zeuxis castus</i>	ハナムシロ											1	1					2	
	<i>Fusinus perplexus</i>	ナガニシ					1						2	1					4	
	<i>Olivella japonica</i>	ホタルガイ									1								1	
	<i>Olivella fulgulata</i>	ムシボタル							2										2	
	<i>Cancellaria spengleriana</i>	コロモガイ											1						1	
	<i>Gemmula kieneri</i>	ジュズカケクダマキ												1					1	
	<i>Lophiotoma leucotropis</i>	クダマキガイ			1								1	1					3	
	<i>Brevimyrella japonica</i>	ヒメトクサ							3									1	5	
	<i>Philine vitrea</i>	ウスキシセウタ		5	3														8	
	Scaphopoda	<i>Episiphon subrectum</i>	ロウソクツノガイ										1							1
		<i>Laevidentium coruscum</i>	セトモノツノガイ											3	3					6
	Bivalvia	<i>Petrasma pusilla</i>	キヌタレガイ		2										5					7
<i>Nucula paulula</i>		マメクルミガイ									2								2	
<i>Scapharca satowi</i>		サトウガイ												1					1	
<i>Glycymeris imperialis</i>		ミタマキガイ		6	1						1		9	3					20	
<i>Modiolus flavidus</i>		サザナミマクラ											2	2					4	
<i>Mactra chinensis</i>		バカガイ							1	3									4	
<i>Mactra nipponica</i>		チゴバカガイ														1			1	
<i>Mactra crossei</i>		ヒメバカガイ						8	2					2			1	6	19	
<i>Raetellops pulchellus</i>		チヨノハナガイ	1												1				2	
<i>Nitidotellina minuta</i>		ウズザクラ		2															2	
<i>Placamen tiara</i>		ハナガイ	1	4									4	1					10	
<i>Callista chinensis</i>		マツヤマワスレ		1		2								1			1		5	
<i>Maretrix lamarekii</i>		チヨウセンハマグリ								5									5	
<i>Solidicorbula erythrodon</i>		クチベニガイ			1		1	1					1		1	2			8	
<i>Pandorella pseudobilirata</i>		ウスネリガイ		1															1	
<i>Laternula anatina</i>		オキナガイ												1					1	
<i>Cardiomya gouldiana</i>		ヒメシヤクシ												1					1	
<i>Cardiomya sagamiana</i>		サガミヒメシヤクシ	1																1	
Cephalopoda		<i>Sepiola cf. birostrata</i>	cf.ダンゴイカ							1										1

Table 3. Distributions of the species collected in this investigation

distribution areas	number of species
Hokkaido to Kyushu	1
southern Hokkaido and southward	1
southern Hokkaido to Kyushu	8
Honshu to Okinawa	1
Honshu to Kyushu	2
Tohoku and southward	2
Tohoku to Kii Peninsula	1
Kashima sea and southward	1
Kashima sea to Kyushu	1
Boso Peninsula and southward	8
Boso Peninsula to Kyushu	7
Boso Peninsula to Okinawa	3
Sagami Bay and southward	1
Kii Peninsula and southward	1
total species	38

激に個体数を増加するが、そうでない環境では低い個体群密度で生息しているのであろう。今回の調査で採集できなかった理由は、前述の3種と同様に偶然である可能性が高い。ゲンロクソデガイは細粒砂から泥を含む極細粒砂に生息する種であり、これま

での調査でも多くの個体が採集されている。今回の調査のみ採集されなかった理由は不明である。

2015年の調査では、例外的に水深11m付近に泥を多く含む極細粒砂の堆積物が見られた。この堆積物は、調査の数日前に関東地方に接近した台風によって、相模川から供給されたと考えられる。一方、2014年と2015年の調査結果を比較すると、2015年に採集された貝類の個体数は2014年の半分以下であった。これは、相模川からもたらされた堆積物の影響が調査当日まで残っていたためであろう。

謝辞

ドレッジを用いた貝類と海底堆積物の採集については、平塚漁業組合の小久保誠氏と伏黒哲司氏、神奈川大学の池尾奈々氏にご協力を頂いた。底生生物の選別、リストの作成については、神奈川大学理学部で2014年度、2015年度に博物館実習Iを履修した学生諸氏にご協力を頂いた。これらの方々に心より感謝を申し上げる。

文献

- 1) Horikoshi M (1957) Note on the molluscan fauna of Sagami Bay and its adjacent waters. *Sci. Rep. Yokohama National Univ., Section 2*. **6**: 37-64.

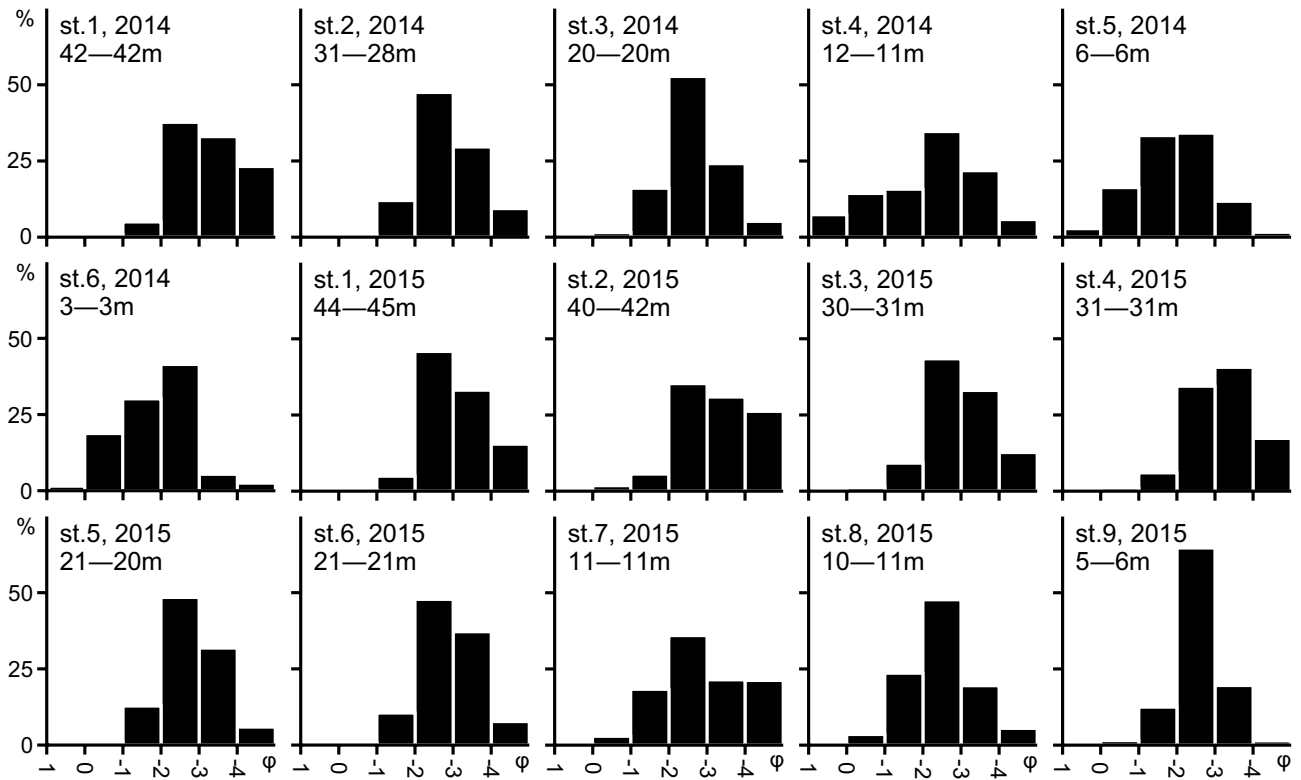


Fig. 2. Grain size distribution and depth on each locality. Grain size was shown in phi scale.

2) 黒田徳米, 波部忠重, 大山 桂 (1971) 相模湾産貝類. 生物学御研究所編, 丸善, 東京.

3) Okutani T and Matsukuma A (1982) Some interesting mollusks dredged from the shelf around the southern coast of the Izu Peninsula, Honshu, with description of two new species. *Mem. Natn. Sci. Mus., Tokyo* **15**: 163-183.

4) Okutani T (2006) Protobranchia and Anomalodesmata (Mollusca: Bivalvia) collected in shelf, slope and bathyal zones in Sagami Bay, 2002-2004. *Mem. Natn. Sci. Mus., Tokyo* **40**: 295-306.

5) 大和田正人, 吉田奈央, 金沢謙一 (2007) 海産無脊椎動物の相互作用と形態・適応の進化、および、人間活動がこれらに与える影響—相模湾平塚沖の貝類と海底環境—. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **18**: 77-80.

6) 大和田正人, 金沢謙一 (2011) 相模湾平塚沖の貝類相: 2010年夏の調査結果. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **22**: 79-82.

7) 大和田正人, 小林由弥, 大久保至, 金沢謙一 (2012) 相模湾平塚沖の貝類相: 2011年9月と10月の調査結果. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **23**: 71-74.

8) 大和田正人, 小林由弥, 大久保至, 金沢謙一 (2014) 相模湾平塚沖の貝類相: 2012年と2013年の調査結果. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **25**: 87-90.

9) 佐藤武宏, 利波之徳, 山本章太郎 (2009) 藤沢市地先の相模湾におけるダンベイキサゴの分布と成長について. *Bull. Kanagawa prefect. Mus. (Nat. Sci.)* **38**: 95-106.

10) 奥谷喬司 (1986) 決定版生物大図鑑貝類. 世界文化社, 東京.

11) 奥谷喬司 (2000) 日本近海産貝類図鑑. 東海大学出版, 東京.

■原 著■ 2015 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

繊毛関連蛋白質の局在観察による繊毛内区画の可視化

安達 健^{1,2,3} 高橋遼平¹ 泉 進^{1,2}

Visualization of Ciliary Compartments by Observing Cilia-Associated Proteins in *Caenorhabditis elegans*

Takeshi Adachi^{1,2,3}, Ryohei Takahashi¹ and Susumu Izumi^{1,2}

¹ Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1294, Japan

² Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ To whom correspondence should be addressed. E-mail: adachi-bio@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: Cilia and flagella are microtubule-based organelles protruding from cell surfaces. Cilia consist of three compartments: a ciliary base, transition zone, and axoneme. At the ciliary base, the basal body consists of nine triplet microtubules arranged into a structure showing nine-fold symmetry. In the transition zone, transition fibers sort proteins localized in cilia. In the axoneme, nine doublet microtubules extending from the basal body are observed. In *Caenorhabditis elegans*, cilia are associated with amphid and phasmid sensory neurons. The sensory cilium of *C. elegans* also consists of those three compartments. Furthermore, in *C. elegans*, nine doublet and singlet microtubules are observed in middle and distal segments, respectively. In each compartment and segment, distinct sets of ciliary proteins are localized. ARL-13 is a ciliary small GTPase localized in the middle segment. MKSR-1 forms the MKS module that contributes to transition zone formation and function. XBX-1 is an intermediate dynein light chain that is distributed throughout cilia. In the present study, ciliary compartments were visualized by expressing these proteins fused with the red fluorescent protein mCherry in *C. elegans*. These fusion proteins were observed in cilia of phasmid neurons. ARL-13::mCherry protein was localized in the middle segments. MKSR-1::mCherry was preferentially localized at transition zones and also detected at dendrites. XBX-1::mCherry was localized throughout cilia and dendrites. We confirmed that those ciliary proteins fused with fluorescent proteins are useful to identify ciliary compartments.

Keywords: cilia, *Caenorhabditis elegans*

序論

繊毛・鞭毛は多くの真核生物の細胞表面に観察される棒状の構造物である。繊毛のもっとも特徴的な構造は、基底小体から伸長する9回対称に配置した微小管であり、これは種を超えて高く保存されている。繊毛あるいは鞭毛という呼称は便宜的なものであり、両者の構造や機能に差異はない(以下、繊毛と呼ぶ)。繊毛には運動して液流を生み出すものと、外界のシグナルに対するセンサーとしてはたらくものがある^{1,2)}。モデル生物である線虫(*Caenorhabditis elegans*)の繊毛は、頭部と尾部にある感覚神経細胞の先端にのみ観察される。これらの繊毛に運動性はなく、化

学物質、機械刺激、温度変化を受容する³⁾。

繊毛の内部にはいくつかの明確な区画があり、それらは繊毛基部、移行帯、軸糸と呼ばれている。繊毛基部には、中心体が再利用された基底小体があり、これは9回対称に配置した3連微小管で構成されている。移行帯では、内部にある微小管と繊毛膜のあいだに移行繊維があり、これは繊毛内に局在する蛋白質をソートしていると考えられている。軸糸の区画では、伸長した微小管が9回対称に配置している。線虫の軸糸では、基部からみて近位側に2連微小管が観察され、この領域を Middle segment と呼ぶ。

また、軸糸の遠位側では1連微小管が観察され、この領域を Distal segment と呼ぶ⁴⁾。

繊毛内の区画を同定するためには、電子顕微鏡による観察のほかに、繊毛内の局在が既に知られている蛋白質を指標にするという方法がある。線虫は体が透明であり、形質転換体を得ることが容易であるため、蛍光蛋白質を融合させた既知蛋白質の細胞内局在を観察するという手法が頻繁に用いられる。

本研究では、線虫繊毛の区画を可視化するために、赤色蛍光蛋白質である mCherry を融合させた繊毛関連蛋白質 (ARL-13、MKSR-1、XBX-1) を発現する形質転換線虫を作成し、その局在を観察した。

材料と方法

線虫繊毛関連蛋白質の発現コンストラクトおよび形質転換線虫株の作成

線虫繊毛関連蛋白質の発現コンストラクトは以下のように作成した。まず、WormBase (<http://www.wormbase.org/>) を参照して *arl-13*、*mksr-1*、*xbx-1* 遺伝子のオープンリーディングフレームを確認した。各遺伝子について、プロモーター領域を含み終止コドンの直前のコドンまでのゲノム領域を PCR により増幅させた。*arl-13* 遺伝子を含む DNA 断片の 5' 末端側の配列は 5'-cgtatcaagcaggagaaagc-3' であり、3' 末端側は 5'-ttttggcactactcgattgt-3' である。*mksr-1* 遺伝子 DNA 断片の 5' 末端側の配列は 5'-cctcaactgtactgtctct-3' であり、3' 末端側の配列は 5'-tcgcttcgattcctcatcat-3' である。*xbx-1* 遺伝子を含む DNA 断片の 5' 末端側の配列は 5'-gactcgtccaatgaacgatg-3' であり、3' 末端側の配列は 5'-tegaacattaatttttgcga-3' である。これら 3 種の DNA 断片の下流に mCherry および *unc-54* 3'-UTR を連結して発現コンストラクトを作成した (図 1)。

これらの発現コンストラクトと pRF4[*rol-6* (*su1006*)] を混合して野生型の線虫である N2 株にマイクロインジェクションを行った。インジェクションした溶液のコンストラクトの最終濃度は、*arl-13::mCherry* が 1 ng/uL、*mksr-1::mCherry* が 5 ng/uL、*xbx-1::mCherry* が 15 ng/uL であり、pRF4 の最終濃度は 100 ng/uL であった。

共焦点顕微鏡による繊毛関連蛋白質の局在観察

マイクロインジェクションにより得られた形質転換線虫株を、1 mM のレバミゾールで麻酔し、5% アガロースをのせたスライドガラス上に置いた。線虫の尾部の繊毛について共焦点顕微鏡 (Zeiss LSM700) により画像を取得した。

結果

繊毛関連蛋白質を発現する形質転換線虫株の作成

繊毛関連蛋白質をコードする *arl-13*、*mksr-1*、*xbx-1* 遺伝子のそれぞれについて、プロモーター領域を含み終止コドンの直前のコドンまでのゲノム領域を PCR により増幅させて DNA 断片を得た (材料と方法を参照)。これら DNA 断片に mCherry と *unc-54* 3'-UTR を連結して発現コンストラクトを作成した (図 1)。これらを野生型線虫である N2 株にインジェクションして形質転換線虫を得た (材料と方法を参照)。

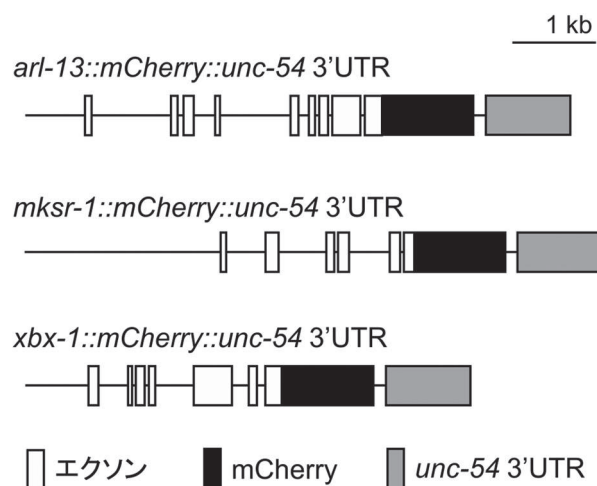


図 1. 繊毛関連蛋白質の発現コンストラクト. 赤色蛍光蛋白質である mCherry を融合させた線虫 ARL-13、MKSR-1、XBX-1 蛋白質を発現するコンストラクトを示す。

線虫繊毛関連蛋白質の局在の解析

局在観察では、頭部の繊毛よりも本数が少なく観察が容易な尾部の繊毛を対象とした。線虫の尾部には PHA および PHB 感覚神経細胞があり、その先端にある繊毛は伸長して外界に露出する。繊毛軸糸の Middle segment はシース細胞に、Distal segment はソケット細胞に包まれている。PHA と PHB の繊毛の Middle segment は離れて見えるが Distal segment は近づいて見える (図 2A)⁵⁾。

線虫 ARL-13 (ARF-like) 蛋白質は、ヒト ARL13 蛋白質のホモログであり、低分子量 G 蛋白質をコードする。線虫 ARL-13 蛋白質は、2 連微小管がある繊毛軸糸の近位側に局在することが知られている⁶⁾。作成した形質転換線虫の尾部の繊毛における ARL-13::mCherry 蛋白質の局在を観察したところ、過去の報告例の通り、繊毛軸糸の Middle segment に局在が確認され、Middle segment 以外に局在する例はほとんどなかった。

線虫 MKSR-1 (Meckel Syndrome 1 (MKS1) related) 蛋白質は、ヒト MKS1 蛋白質に相同な蛋白質である。

MKS 蛋白質は移行帯の形成と機能に必要であると考えられており、線虫 MKSR-1 蛋白質も移行帯に局在することが報告されている⁷⁾。線虫尾部の繊毛における MKSR-1::mCherry 蛋白質の局在を観察したところ、移行帯に強く局在する様子が観察された。一方で、樹状突起や繊毛の他の区画においても弱く局在していた。

線虫 XBX-1 (X box) 蛋白質は、dynein intermediate chain のホモログであり、鞭毛内輸送に必要な蛋白質である。XBX-1 は繊毛内の全体にわたり局在することが報告されている⁸⁾。線虫尾部の繊毛における XBX-1::mCherry の局在を観察したところ、繊毛の移行帯から Distal segment まで全体にわたって局在が確認された。また、樹状突起にも同じレベルの局在が観察された。

討論

蛍光蛋白質を融合した繊毛関連蛋白質の局在

細胞内に融合蛋白質を発現させる際、過剰量に発現した蛋白質は、内在性のものと異なる部位に局在することが多い。また、蛍光蛋白質を融合させる位置 (N 末端側あるいは C 末端側など) によって、蛋白質の立体構造が変化して本来とは異なる部位に局在することもある。さらに、蛍光蛋白質自身が持つ性質によって、細胞内の特定の部位に局在してしまう例もある。

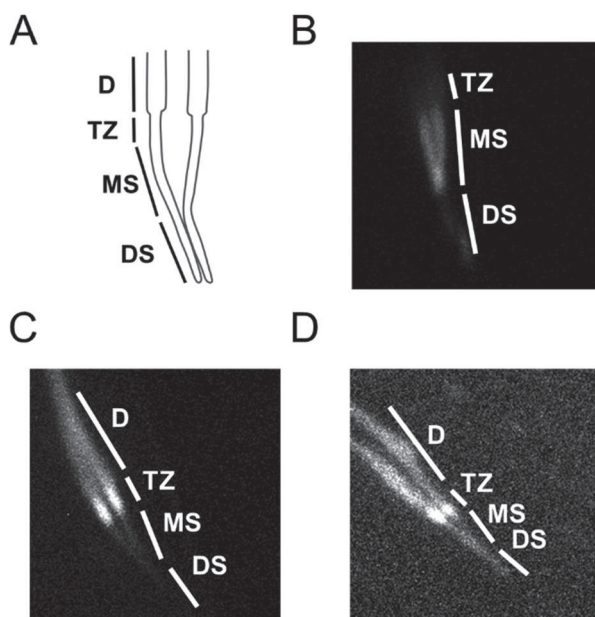


図 2. 線虫の尾部の繊毛における繊毛関連蛋白質の局在。A. 線虫の尾部の繊毛の模式図。B. ARL-13::mCherry 蛋白質の局在。C. MKSR-1::mCherry 蛋白質の局在。D. XBX-1::mCherry 蛋白質の局在。D, 樹状突起; TZ, 移行帯; MS, Middle segment; DS, Distal segment.

蛋白質の局在を観察するために、その蛋白質に特異的に結合する抗体を利用することがある。この場合、内在性の目的蛋白質の局在を調べることができ、抗体の結合特異性に注意する必要がある。抗チューブリン抗体などは多くの利用実績から高い結合特異性が確認されており、このような抗体は内在性蛋白質の局在の解析に適しているといえる。しかし新奇の蛋白質については、結合特異性の高い抗体を得ることは困難である場合も多い。

線虫は体が透明であるため、*vivo* で解剖せずに直接に観察が可能であるという利点がある。このため、蛋白質の局在を解析する際には、蛍光蛋白質を融合させた目的蛋白質を発現する形質転換線虫を作出し、*vivo* で細胞内局在を観察することが多い。mCherry 蛋白質を融合させた ARL-13、MKSR-1、XBX-1 蛋白質は、おおよそこれまでの報告の報告と一致して、繊毛の各部位に局在が確認された。ただし、MKSR-1 および XBX-1 蛋白質は樹状突起上にも局在していた。過去の報告も蛍光蛋白質を融合させた蛋白質を利用しているが、樹状突起上の局在の有無についての記述はない。樹状突起上の局在は、前述した発現量の問題や蛍光蛋白質の性質に起因している可能性がある。

謝辞

本研究は、研究課題「線虫 *Caenorhabditis elegans* の繊毛関連蛋白質の局在解析」に対する 2015 年度 神奈川県総合学術研究所共同研究助成の助成金 (RIIS201507) を受けて行われました。ここに謝意を表します。

文献

- 1) Gerdes JM, Davis EE and Katsanis N (2009) The vertebrate primary cilium in development, homeostasis, and disease. *Cell*. **137**:32-45.
- 2) Nigg EA and Raff JW (2009) Centrioles, centrosomes, and cilia in health and disease. *Cell*. **139**:663-678.
- 3) Inglis PN, Ou G, Leroux MR and Scholey JM (2007) The sensory cilia of *Caenorhabditis elegans*. *WormBook, The C. elegans Research Community*. [doi/10.1895/wormbook.1.126.1 http://www.wormbook.org].
- 4) Perkins LA, Hedgecock EM, Thomson JN and Cullotti JG (1986) Mutant sensory cilia in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*. **117**:456-487.
- 5) Altun ZF and Hall DH (2010) Nervous system, neuronal support cells. *WormAtlas*. [doi:10.3908/wormatlas.1.19 http://www.wormatlas.org].
- 6) Li Y, Wei Q, Zhang Y, Ling K and Hu J (2010) The small GTPases ARL-13 and ARL-3 coordinate intraflagellar transport and ciliogenesis. *J Cell Biol*.

189:1039-1051.

- 7) Bialas NJ, Inglis PN, Li C, Robinson JF, Parker JD, Healey MP, Davis EE, Inglis CD, Toivonen T, Cottell DC, Blacque OE, Quarmby LM, Katsanis N and Leroux MR (2009) Functional interactions between the ciliopathy-associated Meckel syndrome 1 (MKS1) protein and two novel MKS1-related (MKSR) proteins. *J Cell Sci.* **122**:611-624.
- 8) Schafer JC, Haycraft CJ, Thomas JH, Yoder BK and Swoboda P (2003) XBX-1 encodes a dynein light intermediate chain required for retrograde intraflagellar transport and cilia assembly in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell.* **14**:2057-2070.

■原 著■ 2015 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

Klebsormidium flaccidum (Klebsormidiophyceae) における オイルボディ形成

立石真希¹ 三坂瑠奈² 福本 悠² 藤原 誠² 箸本春樹^{1,3,4}

Oil Body Formation in the *Klebsormidiophyceae* Alga *Klebsormidium flaccidum*

Maki Tateishi¹, Runa Misaka², Yu Fukumoto², Makoto Fujiwara²
and Haruki Hashimoto^{1,3,4}

¹ Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² Department of Materials and Life Sciences, Faculty of Science and Technology, Sophia University, Kioicho, Chiyoda-ku, Tokyo 102-8554, Japan

³ Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

⁴ To whom correspondence should be addressed. E-mail: hashimoto-h-bio@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: In the klebsormidiophyceae alga *Klebsormidium flaccidum*, massive oil body formation was detected by light microscopy and Nile Red fluorostaining after a two month or longer culture on agar plates containing inorganic ingredients and vitamins. While the oil bodies occupied most of the cytoplasm, chloroplasts heavily reduced their volume. However, electron microscopic observations revealed that the pyrenoids and thylakoid membranes were maintained. The marked numbers of oil bodies within the cells were tinged yellowish green in colour. Centrifugation (280,000 xg) of lysates of cells accumulating oil bodies resulted in an oil body-rich fraction at the top of the suspension. With containing virtually no thylakoid membranes, this fraction was coloured yellowish green. These observations suggest that the oil bodies, if not all, contain chlorophylls or its derivatives; nevertheless, the reduced chloroplasts still remained in the cells. This suggests that oil body production in *K. flaccidum* may concomitantly occur with the gradual reduction of chloroplasts.

Keywords: oil body, chloroplast, Nile Red, chlorophyll, electron microscopy

序論

Klebsormidium flaccidum は陸上植物とともに単系統群を構成するストレプト植物に属する。*K. flaccidum* はストレプト植物の中の基部群に属する気生藻であることから、植物が水生環境から陸上へ進出する過程を理解する上で重要と考えられ、進化的にも生態学的にも注目されている¹⁾。近年、その核ゲノムの全塩基配列が解読され、オーキシン合成に関連する遺伝子や強光阻害に対する抵抗性に関する遺伝子などがコードされていることが明らかになり、陸上植物との進化的類縁性が一層強く示唆されることになった²⁾。また、*K. flaccidum* やその近縁種では、乾燥ストレスや栄養物の枯渇など陸上に

似た環境条件下に置かれることによって、細胞内にオイルボディー (OB) と呼ばれる中性脂質を蓄積する構造を形成することが知られている³⁾。

Klebsormidium 属の藻類は細胞が一行に繋がった分枝の無い糸状体で、非運動性の藻類である。各細胞には核、葉緑体、ペルオキシソームがそれぞれ 1 個ずつ含まれる⁴⁾。これらの特徴によって *Klebsormidium* 属の藻類は、環境変化に伴う OB 形成と、それに伴う細胞小器官やその他の細胞構造の変化を細胞生物学的に研究するための好材料となり得る。OB の形成部位については、様々な真核生物において、小胞体やペルオキシソーム、ミトコンド

リアなど種によって異なることが知られている⁵⁻⁷⁾。

本研究では、*K. flaccidum* の OB の形成過程と葉緑体の関わりについて光学顕微鏡観察と電子顕微鏡観察によって調べた。

材料と方法

材料

本研究で用いた *Klebsormidium flaccidum* は東京大学応用微生物研究所 (現、分子細胞生物学研究所) 藻類保存施設から分譲された株 (IAM-164) を箸本が無菌化し、保存を行っているものである。

培養条件

K. flaccidum を MES-volvox 寒天平板培地上で培養した。培地の組成は以下の通りである。0.5 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、0.16 mM MgSO_4 、0.16 mM sodium glycerophosphate、0.67 mM KCl、10 mM 2-Morpholinoethanesulfonic acid、monohydrate (MES)、6 mL/L of PIV metals (2 mM ethylenediamine-*N*, *N*, *N'*, *N'*-tetraacetic acid、disodium salt (Na_2EDTA)、0.36 mM FeCl_3 、0.21 mM MnCl_2 、0.037 mM ZnCl_2 、0.0084 mM CoCl_2 、0.017 mM Na_2MoO_4)、0.5 mM NH_4Cl 0.1 μM cyanocobalamin、0.1 μM biotin、1.5% agar、pH 6.7。上記の平板培地上の *K. flaccidum* を人工気象器中で 22 °C、明期 12 時間 (光強度 40 $\mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$) 暗期 12 時間の明暗周期の下で培養した。

蛍光顕微鏡観察

中性脂質を検出するために Nile Red による蛍光染色を行った。10% (v/v) のジメチルスルホキシド (DMSO) に溶かした Nile Red をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に溶かし、終濃度 100 $\mu\text{g/mL}$ にして Nile Red 染色液とした。スライドガラス上に *K. flaccidum* を塗布し、Nile Red 染色液を加え、カバーガラスを被せ、Green 励起フィルターセットを用いて蛍光顕微鏡 (Olympus BX53) で蛍光像を観察した。

電子顕微鏡観察

0.1 M カコジル酸ナトリウム (pH 7.2) 中に 2.5% グルタルアルデヒドを含む前固定液中で、氷上で 1 時間固定し、洗浄後、0.1 M カコジル酸ナトリウム (pH 7.2) 中に 1% 四酸化オスミウムを含む後固定液中で、氷上で 1 時間固定し、洗浄後、エタノール上昇シリーズで脱水した後、Spurr の低粘性樹脂に包埋した⁸⁾。厚さ約 70 nm の切片を酢酸ウランとクエン酸鉛で染色し、透過型電子顕微鏡 (JEM-2100、JEOL) で観察した。

OB の単離

K. flaccidum 細胞を培地から回収し、約 30 ml の氷冷した PBS に懸濁し、French press で 120 MPa まで圧力をかけた後、徐々に大気圧に戻しながら細胞を破碎し、細胞破碎液を回収した。細胞破碎液を 280,000 $\times g$ 、4 °C、20 分の条件で遠心分離し、上清の最上層に浮遊する OB 画分を回収した。

結果と討論

培養を開始して数日のうちから顕著な細胞増殖が見られた。この時期の細胞は長く繋がった糸状体を形成し、細胞内の 1 個の大きな葉緑体によって緑色を呈していた (図 1)。培養開始後約 2 ヶ月を過ぎると、細胞の増殖はほとんど見られず、定常期に移行していたと考えられた。ほとんどの糸状体は短く分断し、単細胞化したものも多く見られた。大部分の細胞は淡黄緑色を呈し、細胞内を球形の顆粒が占めていた。培養開始後 2 ヶ月目の細胞を透過型電子顕微鏡で観察したところ、OB と考えられる直径がおおよそ 3 μm に及ぶ球形の構造が細胞の体積の大部分を占めていた (図 2a, b)。それらのほとんどの切片像の内部に電子密度の高い粒状の構造が複数個観察された (図 2a, b)。その個数は単一切片上では 1 個から数個で、一定ではなかったが、実際は OB 内部に複数個存在していると考えられる。しかし、この像が固定などの過程で生じた人工産物である可能性も現段階では否定できないので、この点について今後検討が必要である。複数の OB が細胞の大部分を占めていたが、葉緑体も観察された (図 2a, 矢印)。葉緑体は増殖期の細胞の葉緑体に比べて著しく縮小していたが、内部にピレノイドとチラコイド (図 2c, 矢印) が認められた。しかし、ピレノイドのサイズは縮小した葉緑体全体の中ではチラコイド全体に比べて相対的に大きな体積を占めていた。また、ピレノイドの周縁のデンプン粒も顕著に認められた。したがって、少なくともこの時期の細胞では、細胞内の炭素の蓄積について、中性脂質だけでなくデンプンもある程度寄与していると考えられる。

図 3 は、培養開始後 6 ヶ月を経過した細胞の光学顕微鏡像 (図 3a) と Nile Red 蛍光染色像 (図 3b) である。ほとんどの細胞で、大きな球形の構造から Nile Red の橙色の蛍光が発しているの、それらが OB であることが明らかである。それらの OB の中には、光学顕微鏡像としてクロロフィルに由来すると思われる淡緑色を呈しているものが多く認められた (図 3a, 矢尻)。これらの細胞の多くは培養 2 ヶ月後の細胞に比べて、5 μm 程度の大きな OB を少数持っていた。これはすでに形成されていた複数の

OBが融合したことによる可能性がある。増殖期の細胞の葉緑体よりも縮小した葉緑体も大部分の細胞で認められた(図3a, 矢印)。

OBの中にクロロフィルが含まれているかどうかを確かめる目的で、培養開始後約6ヶ月を経過した

細胞からOBを単離することを試みた。細胞を培地から回収し、French pressを用いて破碎し、280,000 xg、4℃、20分の条件で遠心分離して、上清の最上層に浮遊する画分を得た。この画分はクロロフィルによると考えられる淡緑色を呈していた(図4)。こ

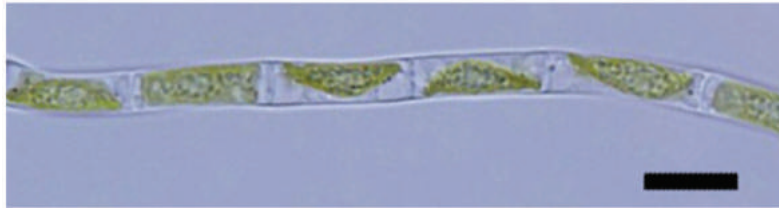


図1. 細胞増殖期の *K. flaccidum* の糸状体. スケール: 10 μm .

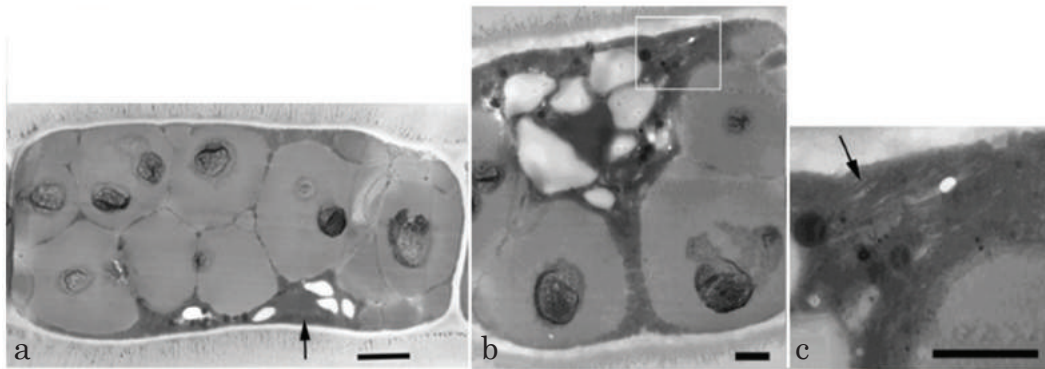


図2. 培養開始約2ヶ月の細胞. 細胞体積の大部分を占めるOBの間に縮小した葉緑体が見える(a図中の矢印). c図はb図内の四角い枠部分の拡大像. チラコイド(矢印)が認められる. スケール: 1 μm (a), 500 nm (b,c).

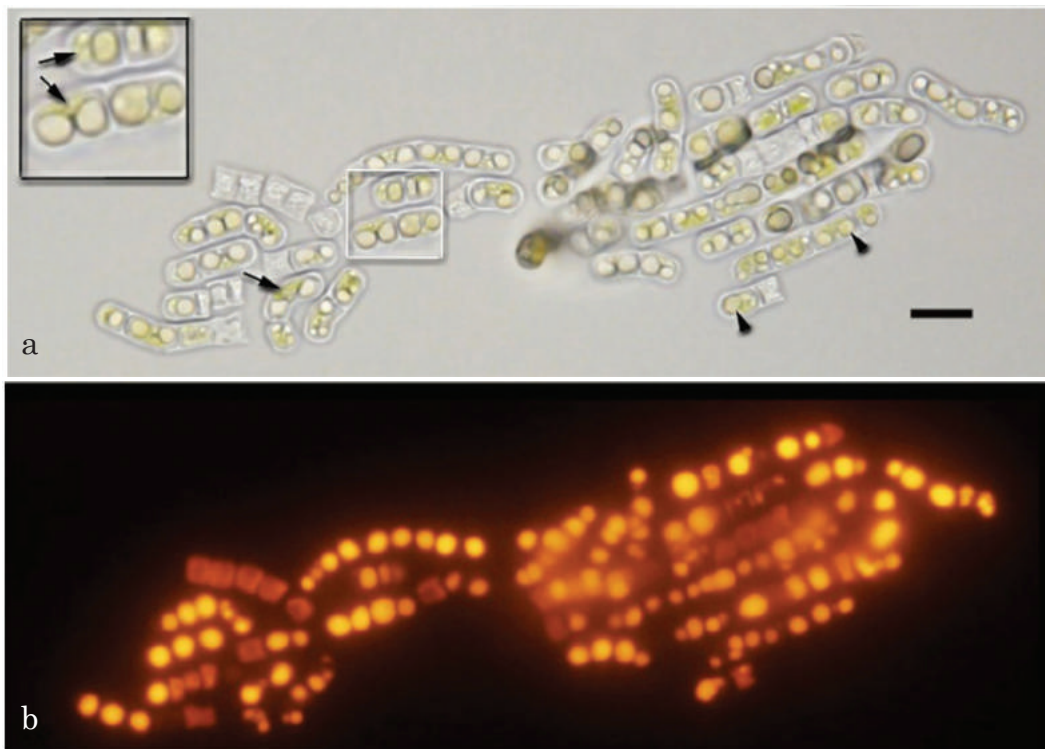


図3. 培養開始後6ヶ月を経過した細胞の光学顕微鏡像(a)とNile Red蛍光染色像(b). aの黒枠内は白枠内の拡大像. 矢尻は淡黄緑色のOB. 矢印は縮小した葉緑体. スケール: 10 μm .

の画分を Nile Red で蛍光染色すると橙色の強い蛍光を発する多数の顆粒が観察され、これらの顆粒が OB であることが確認できた。また、これらの OB の一部からもクロロフィルの自家蛍光と考えられる赤色蛍光が観察された。この赤色蛍光は顕微鏡下で励起光照射後、極めて短時間で消したため、その蛍光像を撮影できなかったが、目視によって確認できた。この画分を電子顕微鏡で観察したところ、サイズの異なる多数の顆粒 (OB) が認められたが、チラコイド膜の断片と考えられるものは全く認められなかった (図 5)。

したがって、OB 画分が淡緑色を呈しているのは、クロロフィルが OB に含まれていることによると考えられる。

本研究の結果、培養開始後、遅くとも 2 ヶ月目には大量の OB が形成されることが明らかになった。*K. flaccidum* における OB 形成の機構はよくわかっていないが、*Chlamydomonas* や *Nannochloropsis* などの他の微細藻類では、窒素源の枯渇が主要な要因の一つであることが知られている^{9,10}。本研究では、*K. flaccidum* を寒天平板培地で培養したため、時間の経過にともなって栄養物の枯渇だけではなく、培地の乾燥や廃棄物の蓄積、光強度なども OB 形成に至る炭素代謝の変換の要因のひとつとして検討する必要があるであろう。

本研究で OB にクロロフィルが含まれていることが示唆されたが、この結果は、OB 形成の機構を解

明する上で非常に興味深い。動物細胞では、OB 形成に小胞体が関与していると考えられている^{11,12}。最近、*K. nitens* においても、葉緑体の縮小にともなって葉緑体の脂質成分が OB に移行していることが示唆され、その移行に小胞体が関与していることが示唆された⁷。しかし、本研究で電子顕微鏡観察によって調べた限り、*K. flaccidum* においては、*K. nitens* において報告されたような OB 形成での小胞体の関与を示す証拠は得られなかった。

本研究で培養した *K. flaccidum* では、OB 形成と葉緑体の縮小が相伴っていた。OB を形成した細胞を新鮮培地に移すと、OB の消失と葉緑体の発達が可逆的に起こる (未発表) ことから、*K. flaccidum* においては OB 形成と葉緑体のバイオジェネシスが密接に関わっていると考えられる。

本研究で、前述の通り、OB にクロロフィルが含まれていることが示唆された。その理由として、葉緑体の縮小の際にチラコイドのある部分において分解が起こり、クロロフィルとチラコイド膜の脂質成分が、何らかの過程によって OB に移行した可能性が考えられる。*K. flaccidum* の葉緑体は 1 個しかなく、その葉緑体が縮小はしても存続しているから、葉緑体全体が崩壊して、クロロフィルや他の膜脂質が細胞質基質中に放出された後、OB に取り込まれたという可能性は考えにくい。上に述べた通り、培養 6 ヶ月の大部分の細胞では葉緑体は縮小しつつも存在していたが (図 3a, 矢印)、一部の細胞



図 4. 細胞破碎液を 280,000 xg で遠心分離して形成された OB 画分 (矢印). アンクルローターで遠心分離したため、最上層に浮遊していた OB 画分は遠沈管に対して斜めになっている。

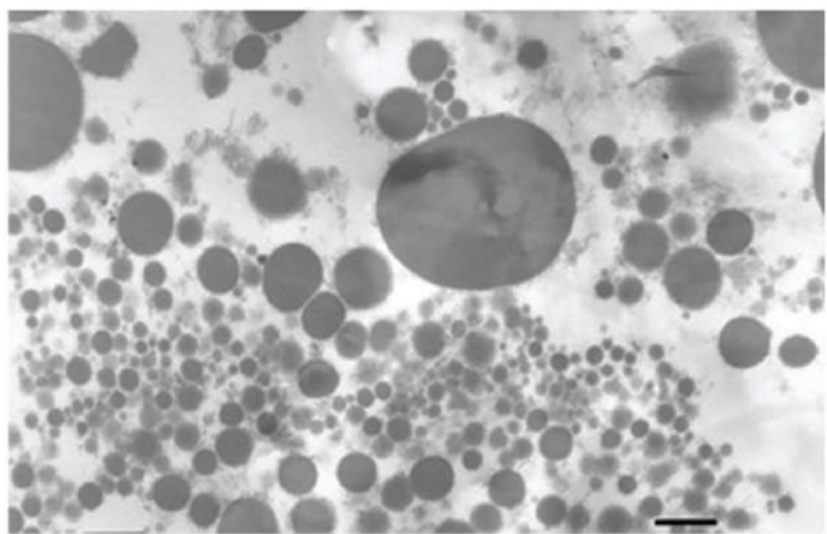


図 5. 280,000 xg で遠心分離して得られた OB 画分の電子顕微鏡写真。スケール: 1 μm.

では、葉緑体が完全に崩壊してその脂質成分が細胞質基質に溶出して OB に取り込まれた可能性は否定できない。

小胞体での OB 形成機構として提出されているモデルでは、小胞体膜の脂質二重層の間に中性脂質が局所的に蓄積され、サイトゾル側の一層が中性脂質を包む形で出芽することによって OB が形成されると考えられている¹³⁾。しかし、葉緑体は内外二重の包膜に包まれているので、チラコイド膜の脂質成分が、小胞体でのモデルのようにサイトゾル側に出るためには、内包膜と外包膜の間の膜間相に出なければならぬであろう。チラコイド膜の分解産物がどのような過程で内外二重の包膜の外に出て OB に取り込まれるかは、小胞体でのモデルとは別の機構によるのかもしれない。OB の形成機構は、膜脂質のダイナミックな変化を伴う細胞小器官の再編成過程であり、その機構については解明すべき点が多く残されている。本研究で用いた *K. flaccidum* は OB の形成機構解明のための興味深い研究材料の一つになると期待される。

謝辞

本研究は、研究課題「緑藻 *Klebsormidium* のオイルボディの単離と形成および消失の過程の解析」に対する 2015 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究の助成金 (RIIS201509) を受けておこなわれました。ここに感謝の意を表します。

文献

- 1) Lewis LA and McCourt RM (2004) Green algae and the origin of land plants. *Am. J. Bot.* **91**:1535–1556.
- 2) Hori K, Maruyama F, Fujisawa T, Togashi T, Yamamoto N, Seo M, Sato S, Yamada T, Mori H, Tajima N, Moriyama T, Ikeuchi M, Watanabe M, Wada H, Kobayashi K, Saito M, Masuda T, Sasaki-Sekimoto Y, Mashiguchi K, Awai K, Shimojima M, Masuda S, Iwai M, Nobusawa T, Narise T, Kondo S, Saito H, Sato R, Murakawa M, Ihara Y, Oshima-Yamada Y, Ohtaka K, Satoh M, Sonobe K, Ishii M, Ohtani R, Kanamori-Sato M, Honoki R, Miyazaki D, Mochizuki H, Umetsu J, Higashi K, Shibata D, Kamiya Y, Sato N, Nakamura Y, Tabata S, Ida S, Kurokawa K and Ohta H (2014) *Klebsormidium flaccidum* genome reveals primary factors for plant terrestrial adaptation. *Nature Commun.* **5**:3978.
- 3) Holzinger A, Lütz C and Karsten U (2011) Desiccation stress causes structural and ultrastructural alterations in the aeroterrestrial green alga *Klebsormidium crenulatum* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) isolated from an alpine soil crust. *J. Phycol.* **47**:591-602.
- 4) Honda M and Hashimoto H (2007) Close association of centrosomes to the distal ends of the microbody during its growth, division and partitioning in the green alga *Klebsormidium flaccidum*. *Protoplasma* **231**:127-135.
- 5) Hayashi Y, Hayashi M, Hayashi H, Hara-Nishimura I, and Nishimura M (2001) Direct interaction between glyoxysomes and lipid bodies in cotyledons of the *Arabidopsis thaliana ped1* mutant. *Protoplasma* **218**:83–94.
- 6) Suzuki M, Shinohara Y, Ohsaki Y and Fujimoto T (2011) Lipid droplets: size matters. *J. Electron Microsc. (Tokyo)* **60**:S101-S116.
- 7) Kuroiwa T, Ohnuma M, Imoto Y and Kuroiwa H (2014) Lipid droplet formation in cells of the filamentous green alga *Klebsormidium nitens* as revealed by BODIYO-DiOC₆ and BODIPY-Nile Red double-staining microscopy. *Cytologia* **79**:501-507.
- 8) Spurr AR (1969) A low-viscosity resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **26**:31-34.
- 9) Weers PMM and Gulati RD (1997) Growth and reproduction of *Daphnia galeata* in response to changes in fatty acids, phosphorus, and nitrogen in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Limnol Oceanogr.* **72**:1584-1589.
- 10) Li J, Han D, Wang D, Ning K, Jia J, Wei L, Jing X, Huang S, Chen J, Li Y, Hu Q and Xu J (2014) Choreography of transcriptomes and lipidomes of *Nannochloropsis* reveals the mechanisms of oil synthesis in microalgae. *Plant Cell* **26**:1645-1665.
- 11) Wilfling F, Wang H, Haas JT, Krahmer N, Gould TJ, Uchida A, Cheng J, Graham M, Christiano R, Fröhlich F, Liu X, Buhman KK, Coleman RA, Bewersdorf J, Farese Jr RV and Walther TC (2013) Triacylglycerol synthesis enzymes mediate lipid droplet growth by relocating from the ER to lipid droplets. *Dev. Cell* **24**: 384-399.
- 12) Jacquier N, Choudhary V, Mari M, Toulmay A, Reggiori F and Schneiter R (2011) Lipid droplets are functionally connected to the endoplasmic reticulum in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Sci.* **124**:2424-2437.
- 13) Tzen JTC (2012) Integral Proteins in Plant Oil Bodies. *ISRN Botany* **2012**:Article ID 173954. [doi:10.5402/2012/173954].

■原 著■ 2015 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

次世代シーケンサを用いた ウニ類ミトコンドリア DNA 全配列の解析手法の開発

若山典央^{1,3} 齋藤礼弥¹ 金沢謙一²

An Efficient Method of NGS Analysis for
Echinoid Mitochondrial Genome

Norio Wakayama^{1,3}, Masaya Saitoh¹ and Ken'ichi Kanazawa²

¹ Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ To whom correspondence should be addressed. E-mail: wakayama_norio@jindai.jp

Abstract: Eight echinoid species were used for PCR-based NGS analysis in this study. Newly designed primers amplified the mitochondrial genome as a series of three mutually overlapping PCR fragments. The obtained PCR fragments of each species were mixed, fragmented, and subsequently barcoded. Several processed samples were mixed and sequenced by one chip. Two draft and six complete mitochondrial sequences were acquired. The clarified gene orders and orientations were consistent with those of the mitochondrial DNA sequences already known in some echinoids. No translocations or inversions were detected. This fact suggests that the mitochondrial DNA construction shows high stability among echinoids.

Keywords: sea urchin, mitochondria, NGS

序論

ウニ類は発生生物学における生物材料の一つとして良く知られているが、生態や系統などの生物学的実態についてはいまだ未解明な領域の多い生物である。

系統推定については伝統的に形態に基づいて行われており、分子系統推定は狭いグループを対象とした研究¹⁻³⁾が主である。ウニ類全般の系統関係を求めた試み⁴⁻⁵⁾において分子系統も利用されているが、これらの研究は化石ウニ類を含めた系統推定を目的としているため形態解析が主であり、分子系統推定は補足的に用いられているのみである。これまでのところ、ウニ類全般にわたる信頼の置ける分子系統樹というものは作成されていない。

次世代シーケンサの普及によりいわゆる Phylogenomics が勃興しつつあり、今後、大規模なゲノム解析に基づく系統推定が行われる事で過去に行われてきた特定領域に限った系統推定が陳腐化していくと予測される。しかし、特に分類、系統関連の研究が盛んではない生物においては、現状で大規模に Phylogenomics を展開する事は難しい。そこで

本研究ではミトコンドリア DNA に着目した。ミトコンドリア DNA は全長約 15000 bp の環状 DNA であり現状で十分に解析可能な規模である。独立して構造をなす事から今後の Phylogenomics 時代においても現状可能な解析を上回る配列データが示される事はなく、データの陳腐化や無意味化を防止する事ができると考えられる。ミトコンドリア DNA の全長は旧来のキャピラリーシーケンサであっても数十の領域に分割してシーケンスする事で十分に解析可能なサイズである事から一部の生物では全長の解析が進んでいる。しかし、様々な種の解析を行う場合には再三に渡りシーケンスプライマの再設計を行う必要が生じるという欠点があった。これに対し、Ion PGM 等の次世代シーケンサで採用されているショットガン法であれば、局所的な変異を気にかける必要はなく一括してシーケンスを行う事ができる。次世代シーケンサは1ランあたりのコストではキャピラリーシーケンサをはるかに上回るものの、一度のシーケンスで複数サンプルを処理可能な、

いわゆるバーコードの使用によりコストダウンを図ることができる。本研究の狙いはミトコンドリア DNA の全配列を求め、さらに適切な領域を定めてウニ類の系統解析を行うに先立って、その解析の技術的基盤を構築する事にある。

材料と方法

用いたウニと採集法、使用部位は次の通り。正形類から 2 種を用いた：ツマジロナガウニ *Echinometra tsumajiro* (沖縄・ウテナでダイビング採集、棘)；クロウニ *Stomopneustes variolaris* (沖縄・瀬底でダイビング採集、棘)。不正形類から 6 種を用いた：ニホンマメウニ *Fibularia japonica* (三浦半島沖でドレッジ採集、ホールサンプル)；ハスノハカシパン *Scaphechinus mirabilis* (平塚沖でドレッジ採集、殻を含む体組織)；*Nacospatangus alta* (神奈川・真鶴でダイビング採集、生殖巣)；*Spatangus luetkeni* (三浦半島沖でドレッジ採集、殻)；*Eurypatagus ovalis* (鳥羽水族館より、棘)；*Linopneustes murrayi* (鳥羽水族館より、棘)。

DNA 抽出

DNA 精製カラム (SIGMA GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit) またはフェノール・クロロホルム法によりウニ類の組織から DNA を抽出した。フェノール・クロロホルム法においてはウニ組織に TNES-Urea バッファー⁶⁾ を加え 8 時間以上常温で処理した後、Proteinase K を加えて 55°C で 1 時間以上処理したものをフェノール・クロロホルム・イソアミルアルコール、クロロホルム・イソアミルアルコールの二段階に分けて精製し、エタノール沈殿によって精製 DNA を得た。得られた total DNA は TE バッファーに溶解し、凍結保存した。

PCR プライマ

Genbank に収められていた 14 種のウニのミトコンドリア DNA 全長配列 (NC001453、NC001572、NC001770、NC009940、NC009941、NC013881、NC020771、NC023255、NC023770、NC023771、NC023772、NC023773、NC023774、NC024177) をアライメントし、変異の極めて少ない領域の配列を元に新規プライマの設計を行った。用いたプライマを表 1 に、PCR によって得られる増幅物の構成を図 1 に記す。

PCR

PCR はサーマルサイクラ PCR Thermal Cycler Dice Touch (TAKARA) と PCR 酵素 PrimeStar GXL (TAKARA) を用いて行った。テンプレート DNA 濃度は主に 2.5 - 10 ng / 10 μL 反応系とし、アニーリング温度は 55 - 60 °C とした。また、反応系に 5M ベタイン溶液を最終濃度 0.1 - 0.5M となる様に加えた。PCR 産物を 0.7% アガロースゲル中で電気泳動して目的の増幅物が得られているかを確認した。

シーケンス前処理

PCR 産物を AMPure XP (Agencourt) により精製し、3 種の断片を等モルで混合した後、Ion Xpress Plus Fragment Library Kit および Barcode Adapters (ThermoFisher Scientific) により断片化およびバーコードの付加を行った。得られた断片は E-Gel (ThermoFisher Scientific) によりサイズセレクション後ライブラリ増幅を行い、BioAnalyzer (Agilent Technologies) により純度と断片サイズの確認を行った。以上の処理により得られた複数種のサンプルを等モルで混合してシーケンスした。シーケンスは Ion PGM ((ThermoFisher Scientific))

表 1. 使用したプライマ*

断片	方向	プライマ名	配列
Fragment 1	F	HSM_F1ech	5'- AAGTTTAAAACTCAAAGGACTTGGCGG -3'
		HSM_F2	5'- CGTCAGATCAAGGTGCAGC -3'
	R	echR02	5'- GTAGATAGAACTGACCTGGCTCTCG -3'
Fragment 2	F	echF03	5'- CCTGTTTACCAAAAACATCGCTCC -3'
	R	HSM_R4ech	5'- GCAGATAGGAATGCATGCGGCTTGAAAC -3'
Fragment 3	F	HSM_F4	5'- GGCTCATCAACACCCWT -3'
		HSM_F4ech	5'- GAACATTTAAATTATGGCTCATCAAC -3'
	R	HSM_R1ech	5'- GAGTGACGGGCGATGTGTACGCATTCCAG -3'

* ミトコンドリア DNA を 3 つの断片に分け、それぞれの断片の末端が 160-800 bp 程度重複するように設計がなされている。Fragment1, 3 についてはウニによって異なる F 側プライマを使用した。

を用い、Ion 314 チップまたは 316 チップにより行った。シーケンスにより得られた断片は SeqMan NGen ソフトウェア (DNASTAR) により De novo アセンブルして contig を得た。ミトコンドリア DNA 全長よりも長い contig が得られたものについては両端の重複部分を調整してミトコンドリア DNA 全長を得た。短い contig のみが得られたものについては、各 contig をアライメントし、重複領域を確認して結合した。得られた contig の配列データから、各ウニのミトコンドリア DNA 上に存在するタンパク質をコードする遺伝子の位置、方向を求めた。配列の編集には Geneious R9 ソフトウェア (Biomatters) を使用した。

結果

DNA 抽出と PCR

棘から抽出した DNA は概ね低濃度であり、分光光度計で濃度を求める事は不可能であったが PCR の結果で問題はみられなかった。測定可能なサンプルの全てが分光光度計での純度測定で PCR 反応に問題のない値を示していたが、同条件での PCR ではカラム精製よりもフェノール・クロロホルム法により抽出した DNA の方が良好な成果を示した。PrimeStar GXL の 10 μL 反応系で 2.5 ~ 10 ng と、非常に薄いテンプレート DNA 濃度でなければ PCR 産物が得られず、10 ng を越えると増幅率が著しく低下したが、全ての種で想定通りの分子量の PCR 産物が得られた。プライマの適合性は分類群によって異なっており、ブブク類においては HSM_F1ech、HSM_F4ech よりも HSM_F2、HSM_F4 が優れていた。

シーケンス

全てのウニでミトコンドリア DNA 全長をカバーするだけの contig が得られたが、314 チップを用いて 200 bp リードを行った 4 種のうち *Stomopneustes variolaris* と *Fibularia japonica* の 2 種ではカバレッジが低く、精度が不十分で結合できない領域を含んでいた。それら 2 種でも手動アライメントによりミトコンドリア DNA 全体の再構成は可能だったが、信頼性を欠く領域を含むドラフト配列しか得られなかった。それに対し 316 チップを用いた 400 bp リードでは 4 種全てで高いカバレッジが得られ、十分な精度での再構築がなされた。

討論

DNA 抽出と証拠標本の保存

数本の棘から得た DNA であっても PCR からミトコンドリア DNA の全配列を得る事ができた。ウニ類

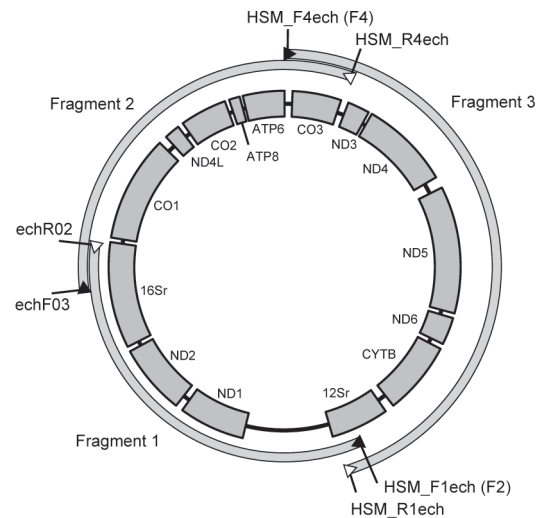


図 1. 用いたプライマの位置関係、断片の構成とウニ類のミトコンドリア DNA にコードされているタンパク質遺伝子の配置。3つの PCR 断片の両末端が重なり合う様に構成されている。HSM_F1ech と HSM_F2、HSM_F4ech と HSM_F4 はそれぞれ近傍にあることから正確な位置を略している。タンパク質をコードする遺伝子の配置は、配列を得た全てのウニで既知のウニと同様であった。

の棘は冗長性の高い組織であり、ここから DNA 抽出を行う事で標本が持つ分類形質を損なう事なく分子系統解析が可能となる。今後、非破壊的に系統解析を行い、DNA 配列の元となった標本そのものを証拠標本として保存する事で後年の再同定や形質の確認に対応する事が可能となるであろう。

ウニのミトコンドリア DNA における PCR 条件

いわゆる long PCR においてテンプレート DNA の濃度条件がより厳しくなる事が知られているが、今回求めた PCR 断片はミトコンドリア DNA を 5000 - 7000 bp 程度に分割したものであり、それほど大きい分子量ではない。しかしながら今回行った PCR においてテンプレート DNA の濃度条件は一般的なミトコンドリア DNA からの PCR に比べ、かなり厳密かつ低濃度でなければならなかった。テンプレート DNA の濃度や精製度がいかなる作用により PCR の成否に影響しているかは不明だが、ウニ類においては他の生物よりも濃度、精製条件が厳しい可能性がある。

シーケンス条件

Ion314 チップでの 200bp read よりも Ion316 チップによる 400bp read の方がアセンブルの結果が良好であった。316 チップは 314 チップの約 10 倍のシーケンス能力を持つことから、この結果は当然ではあるが、今回得られたシーケンスと解析の

結果は今後、複数サンプルの同時シーケンシングにおけるサンプル数やリード長の最適条件を求めていく上で重要な指針となる。次世代シーケンシングは短時間で莫大な塩基数を処理できる反面、キャピラリーシーケンシングよりも精度で劣る点があるとされている。求められた配列の精度については今後の検討が必要であるが、本研究で得た *Nacospatangus alta* の配列はサンガー法により求められた同種の既知配列 (NC023255) と 99.5 % の同一性を示した。元となった個体が異なることから同一性だけを精度の指標とはできないものの、十分なカバレッジが得られている限りにおいては Ion PGM で得た配列データの精度が今後の系統解析に大きく影響する事はないと推測される。

ウニ類ミトコンドリア DNA の遺伝子構成

今回用いた 8 種から得られたミトコンドリア DNA の配列から判断された各タンパク質遺伝子の構成は図 1 の通りである。これまでミトコンドリア DNA の遺伝子構成が不明であったカシパン類についても他のウニ類と同様であった。既知のウニ 14 種と比較して転座や逆位は見られないことから、ウニ類のミトコンドリア DNA の構成は広く共通しているとみられる。

今後の展望

本研究により、ウニ類のミトコンドリア DNA 全長を高効率で解析する技術的素地が完成された。今後、より早期に分岐したと考えられているキダリス類の他、代表的な種のミトコンドリア DNA 全長配列を解析し、またタンパク質や tRNA をコードする遺伝

子の配列や構成を比較する事でミトコンドリア DNA 中で系統推定に最も適した領域を明らかにし、広くウニ類全体の系統解析を試みていく予定である。

謝辞

本研究は 2015 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成を受けて行った。ドレッジ採集では東京大学大学院理学系研究科附属臨海実験所にご協力頂いた。また鳥羽水族館の森滝丈也氏にはサンプルを寄贈していただいた。ご厚情に深謝致します。

文献

- 1) Lee YH (2003) Molecular phylogenies and divergence times of sea urchin species of stronglylorentidae, Echinoidea. *Mol. Biol. Evol.* **20**: 1211-1221.
- 2) Kober KM and Bernardi G (2013) Phylogenomics of stronglylorentid sea urchins. *BMC Evol. Biol.* **13**: 1471-2148.
- 3) Stockley B, Smith AB, Littlewood T, Lessios HA and Mackenzie-Dodds JA (2005) Phylogenetic relationships of spatangoid sea urchins (Echinoidea): taxon sampling density and congruence between morphological and molecular estimates. *Zool. Scr.* **34**: 447-468.
- 4) Smith AB and Littlewood DTJ (1994) Paleontological data and molecular phylogenetic analysis. *Palaeobiology* **20**: 259-273.
- 5) Littlewood DTJ and Smith AB (1995) A combined morphological and molecular phylogeny for sea urchins (Echinoidea: Echinodermata). *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* **B347**: 213-234.
- 6) Asahida T, Kobayashi T, Saitoh K and Nakayama I (1996) Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffers containing of urea. *Fish. Sci.* **62**: 727-730.

■短 報■

多倍精度整数の小さな定数による剰余の高速計算法

松井祥悟¹

Remainder of a Division by a Small Constant for Large Integers

Shogo Matsui^{1,2}

¹ Department of Information Science, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsukashi City, Kanagawa 259-1293, Japan

² To whom correspondence should be addressed. E-mail: sho@info.kanagawa-u.ac.jp

Abstract: In recent computer system, large integers are represented in fixed base β . In the case a large integer A is divided by a smaller integer c than β , if remainder of β^i divided by c is already known, the remainder of A can be calculated by using only multiplication and summation. In this paper, we show the details of the algorithm and the application for radix conversion.

Keywords: remainder, large integer

序論

多倍精度整数は、通常 β 進数 (ただし β は 2^{32} や 2^{64}) の整数として保存されている。 β より小さな整数 c でこの整数を割ったときの剰余は、各桁の基数 β^i の c の剰余が既知である場合、各桁に対する乗算とその総和から求められる。

本論文では、この方法の詳細を説明し、基数変換への応用を示した。また、Java を用いた実験を行い、有効性を示した。

結果と討論

数の表記と解決すべき問題

多倍精度数 A は、数 a_i とその桁の基数である β のべきを用いて、次のような n 桁の β 進数の数として表現できる:

$$A = a_{n-1}\beta^{n-1} + \dots + a_2\beta^2 + a_1\beta + a_0.$$

ただし、 $0 \leq a_i \leq \beta - 1$ であり、 $a_{n-1} \neq 0$ と仮定する。

本論文において解決すべき問題は、 β より小さな整数 c で A を割る場合の剰余を求めることである。ただし、 β は 2 のべき乗 (具体的には 2^{32} や 2^{64}) と考え、 $3 \leq c \leq \beta - 1$ である場合を考える。

基本的な考え方

基本は、 A の各桁ごとに c の剰余を求めることである。 r_m を A の各基数 β^m の c の剰余、すなわち $r_m = \beta^m \bmod c$ とおくと、 A の各桁は、

$$a_m\beta^m = r_m \cdot a_m \pmod{c}$$

が成り立つ。これより、

$$\begin{aligned} A &= a_{n-1}\beta^{n-1} + \dots + a_2\beta^2 + a_1\beta + a_0 \\ &\equiv r_{n-1} \cdot a_{n-1} + \dots + r_2 \cdot a_2 + r_1 \cdot a_1 + r_0 \cdot a_0 \\ &\pmod{c}. \end{aligned}$$

したがって、 A の剰余 R は、

$$R = \left(\sum_{i=0}^{n-1} r_i \cdot a_i \right) \bmod c$$

と計算できる。

$0 \leq m \leq n - 1$ に対する $r_m \equiv \beta^m \pmod{c}$ が既知の場合には、 A の剰余は、 n 回の乗算とそれらの総和、一度の剰余計算で得られることになる。一般的な剰余計算が、 n 回の除算を必要とすることを考えると、計算時間の短縮が期待できる。

基数の剰余

実際的な例として、 $\beta = 2^{32}$ の場合を考える。

$c = 5$ や $c = 10$ の場合、基数の剰余 r_m は単純な数となる。

$c = 5$ の場合、 $\beta \equiv 1 \pmod{5}$ なので、 $1 \leq m \leq n - 1$ に対して $\beta^m \equiv 1 \pmod{5}$ である。したがって、 A の剰余 R は、

$$R = (a_{n-1} + \dots + a_2 + a_1 + a_0) \bmod 5$$

で計算できる。

$c = 10$ の場合も同様に、 $\beta \equiv 6 \pmod{10}$ なので、 $1 \leq m \leq n - 1$ に対して $\beta^m \equiv 6 \pmod{10}$ である。 A の剰余 R は、

$R = \{6(a_{n-1} + \dots + a_2 + a_1) + a_0\} \bmod 10$
で計算できる。
 r_m が単純な数でない場合は、巡回する数列となる。

入力: $\sum_{i=0}^{n-1} a_i \beta^i, 0 < c < \beta$, 出力: $\sum_{i=0}^{n-1} q_i \beta^i$

```

1:  $d \leftarrow 1/c \pmod{\beta}$ 
2:  $b \leftarrow 0$ 
3: for  $i$  from 0 to  $n-1$  do
4:   if  $b \leq a_i$  then  $(x, b') \leftarrow (a_i - b, 0)$ 
5:   else  $(x, b') \leftarrow (\beta + a_i - b, 1)$ 
6:    $q_i \leftarrow dx \bmod \beta$ 
7:    $b'' \leftarrow \frac{q_i c - x}{\beta}$ 
8:    $b \leftarrow b' + b''$ 
9: return  $\sum_{i=0}^{n-1} q_i \beta^i$ 

```

図1. 厳密除算アルゴリズム (algorithm1).

$c = 7$ の場合は $\beta \equiv 4 \pmod{7}$ なので, $\beta^2 \equiv 2, \beta^3 \equiv 1, \beta^4 \equiv 4, \beta^5 \equiv 2, \beta^6 \equiv 1, \beta^7 \equiv 4, \beta^8 \equiv 2, \beta^9 \equiv 1, \beta^{10} \equiv 4, \dots \pmod{7}$ と, $4 \rightarrow 2 \rightarrow 1$ のサイクルを繰り返す. たとえば $n-1 = 3k+2$ の場合, A の剰余 R は,

$$R = \{ (a_{3k} + \dots + a_6 + a_3 + a_0) + 4(a_{3k+1} + \dots + a_7 + a_4 + a_1) + 2(a_{3k+2} + \dots + a_8 + a_5 + a_2) \} \bmod 7$$

で計算できる.

$c = 11$ の場合, r_m は $5 \rightarrow 3 \rightarrow 4 \rightarrow 9 \rightarrow 1$ の5つの数のサイクルを繰り返す. 剰余計算は $c = 7$ の場合と同様である.

$c = 10^2 = 100$ の場合は $96 \rightarrow 16 \rightarrow 36 \rightarrow 56 \rightarrow 76$ の5つの数のサイクル, $c = 10^3 = 1000$ の場合は $296 \rightarrow 616 \rightarrow 336 \rightarrow \dots \rightarrow 856 \rightarrow 376$ の25の数のサイクル, $c = 10^4 = 10000$ の場合は $7296 \rightarrow 1616 \rightarrow 336 \rightarrow 1456 \rightarrow \dots \rightarrow 9856 \rightarrow 9376$ の125の数のサイクルを繰り返す (付録 A.1). A の剰余は, 掛ける数や繰り返すサイクル数が違うだけで, $c = 7$ の場合と同様に計算できる.

基数変換への応用

数 A の c による剰余 $R = A \bmod c$ が得られている場合, $A - R$ は c で割り切れることが保証される. 商 Q は $(A - R)/c$ の厳密除算 (必ず割り切れる除算) で得られる. このような場合, Toom-Cook 法^{1,2)}などで用いられている厳密除算アルゴリズム^{1,2)}が利用できる. この方法を図1の algorithm1 に示す.

この方法では, 各桁の c による除算を行う代わりに, $1/c \pmod{\beta}$ による乗算を行う. 乗算の計算速度が除算の計算速度を大きく上回る場合には有効な方法である.

一般に, 数 A の N 進数への基数変換は, A の N に

入力: $\sum_{i=0}^{n-1} a_i \beta^i, 0 < c < \beta$, 出力: $\sum_{i=0}^{n-1} q_i \beta^i, b$

```

1:  $b \leftarrow 0$ 
2: for  $i$  from  $n-1$  downto 0 do
3:    $l \leftarrow b\beta + a_i$ 
4:    $q_i \leftarrow l/c$ 
5:    $b \leftarrow l - q_i c$ 
6: return  $\sum_{i=0}^{n-1} q_i \beta^i, b$ 

```

図2. 従来の除算アルゴリズム (algorithm2).

よる商と余りを求め, その商の N による商と余りを求め, ... という操作を商が0になるまで繰り返す. i 回めで得られる余りを r_i とし, m 個の余りが得られた場合, $\sum_{i=0}^{m-1} r_i \cdot N^i$ が変換された N 進数の数である.

この手順のうちの商と余りの計算に本論文の方法を用いることを考える. たとえば10進数への変換 ($N = 10$) の場合, 10の剰余を求め, 厳密除算で商を求める. ただし, $\beta = 2^{32}$ の場合, $1/c \pmod{\beta}$ が求まらないので, 2の商 Q' を求め, Q' に対する5の商 Q を求める. 具体的には次のような手順となる:

- (1) $R \leftarrow A \bmod 10$
- (2) $Q' \leftarrow A/2$
- (3) $Q \leftarrow (Q' - R/2)/5$

手順1の R は先に述べたように $(a_0 + 6 \sum_{i=1}^{n-1} a_i) \bmod 10$ で得られる. 手順2は多倍精度数 A に対してシフト演算を行うことで得られる. 手順3は algorithm1 を使う.

大きな数の場合, 一度 10^4 で割り, その剰余を10進変換する方が速い. たとえば10000で割る場合も上の手順と同様に求められる. 手順1の R は, これも先に述べたように, 付録 A.1.3の数列の数を順に a_i に掛け, それらの総和の10000の剰余を求める. 手順2は4ビットのシフト演算を使って 2^4 で割る. 手順3は algorithm1 を使って 5^4 で割る.

実験および評価

Java の BigInteger 数に対する10進変換プログラムを作成し, 実行速度を計測した.

BigInteger は内部データを直接参照できないので, 数値データを byte 配列として取り出し, int 配列に詰め直したものを数値データとして使用した. このデータ

† 多倍精度数の乗算を高速に行うアルゴリズムの一つ. アルゴリズム中の6での厳密除算に使用される

は A と同じ構造で、 $\beta = 2^{32}$ である。これを 10 進変換し、文字列 String として返す。

プログラムは 3 種類作成した。一つ目は前節で説明した本論文の方法で 10 で割るもの (Rem10)、二つ目は同じ方法で 10000 で割るもの (Rem10000)、最後は割り算命令を使った従来の方法 (図 2 の algorithm2) で 10000 で割るもの (Sch10000) である。これら 3 つと、

表 1. 実験環境

項目	内容
コンピュータ名	Apple PowerBook
CPU	1.67GHz PowerPC G4
メモリ	1G バイト
OS	MacOSX10.5.8
Java	バージョン 1.5.0_30

BigInteger にある標準の 10 進変換メソッド (toString) の合計 4 つの実行時間を比較した。評価に使用した機器およびソフトウェアは表 1 の通りである。

各プログラムの実行時間を表 2 に示す。bit 数は変換する BigInteger 数のビット数を表し、その横に各方法での実行時間 (mS) が示されている。

Java オリジナルの toString の実行時間に対して、本論文の Rem10 は 4 倍近いが、Rem10000 は 2/3 程度である。基本的に 10 で割る方法は実用的でないことがわかる。Rem10000 については、配列の詰め直しなどの余分な操作を考えると、toString を上回ったという結果には注目できる。

また、従来の除算命令を使った方法である Sch10000 は、toString とほとんど同じ実行時間である。Rem10000 とは除算と剰余の計算部分だけが違うので、本論文の方法が従来の除算を用いた方法 (algorithm2) より速いことが示されている。

Sch10000 の algorithm2 の除算 (4 行目) と剰余 (5 行目) の β^2 長の演算が、Rem10000 の剰余処理と厳密除算では複数の β^2 長の乗算に置き換えられている。したがって、上の結果は、この実験環境において β^2 長の乗算が β^2 長除算に対して十分速いことを示している。

また、10 進変換自体は $O(N^2)$ である。bit 数に 50000 を超える部分は明らかにこれを示している。本論文の方法は実行時間を短くはするが、オーダを抜本的に改善するものではない。

まとめ

小さい定数に対する剰余計算は、あらかじめ基数に対する剰余を求めることで、除算をほとんど用いずに簡潔に計算できる。

この方法と厳密計算を組み合わせることで、基数変換にも応用できることを示した。

表 2. 10 進変換の実行時間 (mS)

bit 数	toString	Rem10	Rem10000	Sch10000
3143	16	22	29	7
6366	30	33	27	17
12823	35	87	37	36
25725	87	288	77	91
51548	304	1202	233	330
103219	1151	4566	913	1283
206549	4545	17637	3387	5074
413187	18494	70794	13330	20480
826496	84178	285440	53598	82264
1653165	366762	1176996	215908	333416

文献

- 1) 松井祥悟 (2012) 多倍精度整数のための小さな定数の剰余計算. In: FIT2012 (第 11 回情報科学技術フォーラム) 第 1 分冊. 電子情報通信学会編. pp.149-151.
- 2) Jebelean T (1993), An algorithm for exact division. *J.symbolic Computation* 15: 169-180. [ftp://ftp.risc.uni-linz.ac.at/pub/techreports/1992/92-35.ps.gz].
- 3) Brent R and Zimmermann P (2009) *Modern Computer Arithmetic, version 0.4*. pp.40. [http://www.loria.fr/~zimmerma/mca/mca-0.4.pdf].

付録

A.1 β^i の 10^j の剰余の数列

$\beta = 2^{32}$ において、 $i \geq 1$ に対する β^i の 10^j の剰余数列は巡回する数列となる。その個数 m は $m = 5^{j-1}$ となる。 $j = 2, 3, 4$ の例を示す。

A.1.1 $10^2 = 100$ の数列 ($m = 5$)

96, 16, 36, 56, 76

A.1.2 $10^3 = 1000$ の数列 ($m = 25$)

296, 616, 336, 456, 976, 896, 216, 936,
56, 576, 496, 816, 536, 656, 176, 96,
416, 136, 256, 776, 696, 16, 736, 856,
376

A.1.3 $10^4 = 10000$ の数列 ($m = 125$)

7296, 1616, 336, 1456, 2976, 2896, 9216, 9936,
3056, 6576, 8496, 6816, 9536, 4656, 176, 4096,
4416, 9136, 6256, 3776, 9696, 2016, 8736, 7856,
7376, 5296, 9616, 8336, 9456, 976, 896, 7216,
7936, 1056, 4576, 6496, 4816, 7536, 2656, 8176,
2096, 2416, 7136, 4256, 1776, 7696, 16, 6736,
5856, 5376, 3296, 7616, 6336, 7456, 8976, 8896,
5216, 5936, 9056, 2576, 4496, 2816, 5536, 656,
6176, 96, 416, 5136, 2256, 9776, 5696, 8016,
4736, 3856, 3376, 1296, 5616, 4336, 5456, 6976,
6896, 3216, 3936, 7056, 576, 2496, 816, 3536,
8656, 4176, 8096, 8416, 3136, 256, 7776, 3696,
6016, 2736, 1856, 1376, 9296, 3616, 2336, 3456,
4976, 4896, 1216, 1936, 5056, 8576, 496, 8816,
1536, 6656, 2176, 6096, 6416, 1136, 8256, 5776,
1696, 4016, 736, 9856, 9376

■短 報■ 2015 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

相模湾河口域海水及び流入河川水の元素濃度

武井尊也¹ 鈴木祥弘² 金澤謙一² 西本右子^{1,3}

Determination of the Seawater in the Sagami Bay Estuary
at the Mouth of the River and Inflow River Water

Takaya Takei¹, Yoshihiro Suzuki², Ken'ichi Kanazawa² and Yuko Nishimoto^{1,3}

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² Department of Biology, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ To whom correspondence should be addressed. E-mail: y24moto@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: Seawater in the Sagami bay estuary at the mouth of the river and inflow river water in winter from 2012 to 2014 were analyzed. The separation and concentration systems of minor metal elements with freeze and melt processes of environmental water, such as river and sea water, were established. The minor metal elements are concentrated by dissolving in a eutectic mixture of the salt and water in a freeze process. This method will be applicable to environmental water.

Keywords: environmental water, melt process, freeze concentration, ice chromatography, eutectics

序論

有害な試薬を用いずに河川水・温泉水等の環境水中の有害元素や稀少元素(レアメタル)を分離濃縮するシステムの構築を目的として、凍結・融解過程に注目している。現在研究開発が進んでいる分離・分析法の多くは、微量・希薄試料を対象とした高感度な手法が多い。試薬の使用料も少なく環境配慮型分析法として有用ではあるが、一方で比較的多くの試料を扱う環境試料に適用できる手法の開発は多くない。本研究では有害な試薬を用いずに、数百mL～L単位での試料の分離・濃縮を行うことを目的とした。前報では人の健康の保護に関する環境基準が定められており、温泉水の成分として含まれていることが多く、河川への流入が問題視されているホウ素を取り上げ、有害な試薬や高価な試薬を使用しない分離・濃縮法として、凍結融解過程を利用する方法を示した¹⁾。この方法は塩と水の共晶の融解過程にホウ素等の微量元素が溶け込むことで濃縮される方法である。そこで今回は氷の粒子を固定相とするクロマトグラフィーの一種であるアイスクロマトグラフィーの応用と考えることができる手法を応用し、塩を含む氷へ環境水を通過させることで濃縮するシ

ステムの構築を目指した。これまでにホウ素は中性以上のpHの水溶液中ではCa²⁺などの共存する陽イオンと作用して、一種の錯体を形成することが知られているため、ホウ素では環境水中に共存する陽イオンと相互作用した形で存在し、NaClと水の共融混合物中に濃縮されたと考えられたが、さらに他の元素への適用を考えたシステムの構築を図った。

環境水試料としては、著者らが継続して測定を行っている相模湾の平塚市周辺の海域で採取した海水及び相模湾への流入河川である金目川の河川水を使用した。相模湾河口域の海水では、冬期に流入した河川水の影響で、表層に塩濃度の低下が観測されている^{2,3)}。そのため、これまで継続して検討してきた金目川(花水川)の河川水と2012年から2014年の11月～12月に採水した河口域の海水の測定結果を示すこととした。

材料と方法

海水及び河川水の採取

河川水の試料は、金目川(上流:秦野市内、国道246号線との交差点付近、中流:平塚市内土屋橋

付近、下流：平塚市内鼻水橋付近）で採取した。海水の試料は、相模湾の金目川河口付近の海水を用いた。金目川河口から 0 m, 200 m, 400 m, 800 m, 1000 m, 2000 m の地点の海面（水深 0 m）で採水した試料、200 m, 400 m, 800 m, 1000 m, 2000 m の地点の水深 5 m で採水した試料、1000 m, 2000 m の地点の水深 20 m で採水した試料を使用した。

海水及び河川水の分析

採水した試料を、No.5A (ADVANTEC) と No.5C (ADVANTEC) のろ紙でろ過後、孔径 0.45 μm のシリンジフィルター (Minisart RC15, Sartorius) でろ過した。河川水は 10 倍希釈して測定試料とし、海水

は 100 倍、1000 倍に希釈して測定試料とした。

測定には ICP-AES (日立ハイテクサイエンス SPS3500) を使用し、キャリアーガス：0.35 L/min、プラズマガス：14.0 L/min、補助ガス：0.40 L/min (いずれも Ar)、吸い込み量：1.70~1.90 mL/min の条件で測定した。

結果と討論

河川水及び海水の測定結果

表 1 に金目川での採水結果を示した。2011 年 7 月採取の中流域の試料の定量結果が全体に高濃度であるが、それを除くとほぼ一定値であり、下流に従って濃度が増加することがわかる。また下流での測定結

表 1. 金目川採取試料の定量結果

Sampling date	Sampling point	Ca	Na	Si	Mg	K	Sr	B	Fe	Mn	Cd
2010/10/7	upper	16.40	7.20	12.30	5.90	1.30	0.03	0.01	0.01	-	
	middle	21.30	11.65	13.10	6.60	2.20	0.05	0.01	0.01	-	
	lower	25.85	16.10	14.70	8.90	3.35	0.07	0.02	0.02	0.02	
2010/12/7	upper	20.36	9.66	12.89	7.33	2.17	0.06	0.01	0.02	-	
	middle	25.42	15.60	13.46	8.12	3.36	0.07	0.01	0.02	-	
	lower	30.47	22.65	14.35	10.12	5.54	0.09	0.01	0.06	0.04	
2011/7/15	upper	26.74	11.73	14.98	7.53	2.17	0.06	0.03	0.02	-	0.01
	middle	31.88	25.33	15.23	7.96	7.07	0.07	0.04	0.02	-	0.01
	lower	27.86	17.99	12.13	11.64	5.25	0.06	0.03	0.09	-	0.01
2011/12/15	upper	23.00	9.58	13.17	7.71	2.21	0.06	0.03	0.02	-	-
	middle	28.88	14.45	13.33	8.70	3.77	0.06	0.03	0.01	-	-
	lower	34.51	25.44	13.75	10.32	5.48	0.08	0.04	0.06	0.03	-
2012/7/28	upper	20.89	7.43	12.77	7.06	1.14	0.05	0.01	0.01	-	-
	middle	26.53	15.95	13.17	7.81	3.34	0.06	0.01	0.01	-	-
	lower	28.03	19.22	12.33	8.13	4.17	0.07	0.03	0.04	-	-
2012/12/11	upper	23.12	8.72	12.74	7.96	1.56		0.02	-	-	-
	middle	29.12	14.92	12.95	8.85	4.24		0.02	-	-	-
	lower	33.71	19.89	14.58	10.61	6.04		0.03	-	-	-
2013/8/26	upper	22.04	10.78	14.65	8.37	4.76	0.06	0.14	-	-	-
	middle	26.90	19.78	14.74	9.19	7.18	0.07	0.14	-	-	-
	lower	24.51	16.87	12.36	9.20	4.18	0.08	0.09	0.04	-	-
2013/12/3	upper	20.64	9.55	14.68	7.32	1.49	0.05	0.07	-	-	0.02
	middle	25.03	20.66	14.67	7.84	3.71	0.05	-	0.01	-	0.01
	lower	27.92	21.87	14.29	9.13	4.56	0.06	-	0.03	-	-
2014/4/27	upper	21.13	7.03	12.15	6.43	2.51	-	0.01	0.02	-	-
	middle	27.32	13.52	12.28	7.35	4.30	-	0.05	0.03	-	-
	lower	31.55	17.43	12.32	9.03	4.98	-	0.10	0.04	-	-
2014/9/23	upper	27.09	9.99	13.77	8.29	2.80	-	0.03	-	-	-
	middle	28.91	14.20	13.14	8.14	4.31	-	-	-	-	-
	lower	27.73	13.05	12.48	8.43	4.22	-	-	0.01	-	-

値の単位は mg/L. blank: 測定せず, -: 定量下限以下.

表 2. 金目川河口付近の海水の測定結果 (2012 年～2014 年採取)

Sampling			Temperature °C	Mg ($\times 10^3$) mg/L	Ca ($\times 10^3$) mg/L	K ($\times 10^3$) mg/L	Sr mg/L	B mg/L
distance (m)	depth (m)	date						
0	0	2012/12/13	13.3	0.95	0.43	0.29	4.7	2.8
		2013/11/22	17.0	0.95	0.29	0.43	5.3	3.9
		2014/12/15	—	—	—	—	—	—
200	0	2012/12/13	15.7	1.31	0.76	0.41	7.1	4.1
		2013/11/22	17.0	1.35	0.41	0.76	7.1	5.0
		2014/12/15	—	—	—	—	—	—
	5	2012/12/13	15.6	1.34	0.71	0.41	6.8	4.1
		2013/11/22	18.0	1.26	0.41	0.71	7.3	4.9
		2014/12/15	—	—	—	—	—	—
400	0	2012/12/13	15.3	1.30	0.73	0.42	6.8	4.1
		2013/11/22	19.0	1.44	0.42	0.73	7.0	4.6
		2014/12/15	14.2	1.2	0.39	0.79	7.8	3.6
	5	2012/12/13	15.4	1.33	0.79	0.44	7.3	4.5
		2013/11/22	19.0	1.35	0.44	0.79	7.1	4.8
		2014/12/15	14.4	1.2	0.39	0.89	7.8	3.4
800	0	2012/12/13	15.1	1.27	0.69	0.40	6.5	4.0
		2013/11/22	18.0	1.34	0.40	0.69	6.9	4.7
		2014/12/15	14.0	1.30	0.39	0.82	7.8	3.5
	5	2012/12/13	15.2	1.34	0.77	0.43	7.2	4.2
		2013/11/22	18.0	1.43	0.43	0.77	7.1	4.7
		2014/12/15	14.1	1.2	0.38	0.88	7.9	3.4
1000	0	2012/12/13	14.0	1.30	0.72	0.41	6.8	3.9
		2013/11/22	18.0	1.26	0.41	0.72	7.1	4.7
		2014/12/15	13.8	1.3	0.38	0.80	7.8	3.6
	5	2012/12/13	14.3	1.35	0.78	0.42	7.1	4.3
		2013/11/22	18.0	1.34	0.42	0.78	7.0	4.7
		2014/12/15	14.2	1.3	0.37	0.78	7.7	3.3
	20	2012/12/13	14.4	1.21	0.73	0.42	6.9	4.0
		2013/11/22	17.0	1.51	0.42	0.73	7.1	4.7
		2014/12/15	13.9	1.3	0.39	0.79	7.9	3.3
2000	0	2012/12/13	14.7	1.36	0.73	0.42	6.9	4.2
		2013/11/22	17.0	1.22	0.42	0.73	6.8	4.5
		2014/12/15	14.6	1.3	0.40	0.80	7.9	3.3
	5	2012/12/13	14.8	1.35	0.76	0.42	7.0	4.0
		2013/11/22	17.0	1.32	0.42	0.76	7.1	4.6
		2014/12/15	13.4	1.2	0.40	0.82	7.8	3.4
	20	2012/12/13	14.9	1.33	0.75	0.43	7.0	4.3
		2013/11/22	18.0	1.25	0.43	0.75	7.1	4.7
		2014/12/15	13.6	1.4	0.39	0.78	7.8	3.2
average concentration of sea				1.30	0.41	0.39	7.8	4.5

— : 測定せず.

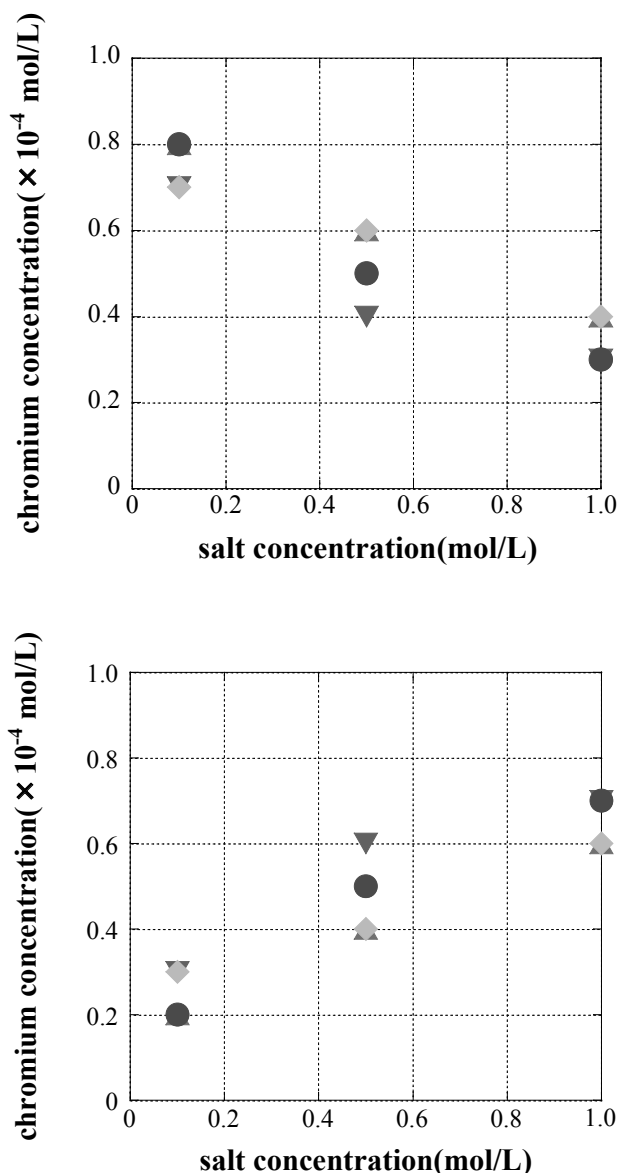


図 1. 氷を通過した試料中の Fe 濃度 (上) と通過後の氷中の Fe 濃度 (下).

果には著しい季節変動は観測されていない。表 2 には金目川河口付近の海水の測定結果を示した。2014 年の河口付近のサンプリングは行えなかったため、データがとれていないが、すべての元素でほぼ海水の平均濃度に近い値であった。2012 年の 12 月採取

試料で河口付近で Ca 濃度が他の試料より高いが、同時期に採取した金目川 (花水川) 下流の試料でも Ca 濃度が高いことから、流入河川の影響も考えられるが、K 濃度については相関がみられず、さらに検討する必要がある。

環境水の共晶への濃縮

有害な試薬や高価な試薬を使用しない分離・濃縮法として、凍結融解過程を利用する方法を検討した。NaCl 水溶液を冷却すると、氷が形成された後に NaCl と水の共晶が生成する。NaCl と水の共晶には溶存気体やリン酸、アミノ酸などがとりこまれる。河川水等の環境水中の微量元素も NaCl と水の共融混合物に濃縮されると考えられた。そこで、NaCl 水溶液を凍結させた氷を粉碎し、Fe 及び Cr を含む溶液を滴下した。氷を通過した溶液及び溶液通過後の氷中の Fe 及び Cr の濃度を測定した。図 1 にモデル溶液として Fe の水溶液の測定結果を示した。結果は Cr でも同様となり、B 以外でも塩と水の共晶へ濃縮することがわかり、環境水中の微量元素の濃縮法として有用であると考えられた。また塩の水溶液の代わりに海水を用いた場合も同様の結果が得られることもわかった。さらに実際の河川水でも同様の結果となり、実試料への適用も確認できた。

謝辞

本研究は、研究課題「相模川河口域における長期環境変動のモニタリング 3」に対する 2015 年度神奈川県大学総合理学研究所共同研究助成 (RIS201506) を受けて行った。ここに謝意を表します。

文献

- 1) 澤田直孝, 清水秀世, 武井尊也, 鈴木祥弘, 金澤謙一, 西本右子 (2013) 環境水からのホウ素及び稀少元素の分離を目的とした試薬フリーな分離濃縮システム. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **24**: 41-46.
- 2) 平賀義路, 児玉壮史, 鈴木祥弘 (2011) 相模川河口域の植物プランクトンの分布への淡水流入の影響. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **23**: 59-66.
- 3) 野木大輔, 平賀義路, 金澤謙一, 西本右子, 武井尊也, 鈴木祥弘 (2015) 相模川河口域プランクトン生物量の周年変化. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **26**: 91-96.

■報告書■ 2015年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

モバイルアプリケーションの統合に基づく食と健康の情報の 収集・分析システムの設計と試作

韓 浩^{1,4} 中山 堯^{2,3}

Designing and Prototyping an Analysis System of
Food and Health Information Based on Mobile Application Integration

Hao Han^{1,4} and Takashi Nakayama^{2,3}

¹ Department of Healthcare Information Management, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan

² Department of Information Science, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

⁴ To whom correspondence should be addressed . E-mail: han@hcc.h.u-tokyo.ac.jp

Abstract: Various diseases caused by disturbance of lifestyle are a major obstacle to our health. With the rapid development of mobile devices, the use of smartphones and healthcare applications is increasing exponentially worldwide. In this study, an analysis system of food and health information was designed and prototyped based on mobile application integration and the real-time collection of life log data. Moreover, problems with the user interface and security policy are also discussed.

Keywords: health information, mobile application, smartphone, life log

序論

食生活を中心とする生活習慣の乱れによって起こる様々な病気は、我々の健康の大きな妨げとなる。「未病」を始め、食と健康に対する関心は増大している。例えば、人間の運動状況や食事などの日常的な記録は個人の健康状態の把握と生活習慣病の予防などに大きな役割を果たすことができると考えられる。特に高齢者や健康意識の高い人に対して、これらは非常に重要な情報であり、医療機関の医師や栄養士に参考資料として提供するなどの医療分野の活用も期待できる。

しかし、手頃で便利な記録(収集)方法はまだ乏しく、特に飲食情報の整理については、データの連続性と精確さなどの維持が困難である。この課題を解決する方法としては、普及が進んでいるスマートフォンやスマートウォッチなどの携帯情報端末を利用した健康情報の管理サービスなどの様々なモバイルアプリケーションが提供されている。アプリケーションを通じて、多種の情報を便利に扱えるようになってきている。さらに、カメラや加速度センサーなどのセンシングデバイスも搭載されており、様々な飲

食と行動情報の収集が実現可能になっている。

本論文では、食と健康の情報を収集し、個人利用者に対してデータ分析や健康アドバイスなどのサービスを行うシステムを提案する。また、企業や社会組織などとの連携も考えられる。

本論文の以降の構成は次の通りである。「ライフログとシステムの仕組み」では、個人健康状況に関連する行動や飲食などの情報記録(ライフログ)について紹介し、システム全体構成などを説明する。「データ収集」では、健康関連データ収集について具体的な手法を提案する。最後に、本論文の結論と今後の展望や課題について述べる。

ライフログとシステムの仕組み

ライフログ(Life Log)とは、人間の生活・行動・体験(Life)を、映像・音声・位置情報などのデジタルデータとして記録(Log)する技術、あるいは記録自体のこと。本研究では、通常的生活情報収集と異なり、個人の健康状況に関連したデータの収集を行う。主として、体重、運動量、睡眠状況、飲食

あるいはGPS (Global Positioning System) 情報などを記録し、総合的に分析することを目指す。

全体システムにはデータの収集、記録と分析、および結果を利用者や関連機関に連携するインターフェースの三つの部分が含まれる。

データの収集

スマートフォンの普及に伴い、体に装着するウェアラブル機器が世界中で多数登場している。そのような装置を利用し、日常活動を記録することが可能になった。それらにはセンサーが搭載されているので、健康と医療などの分野での活用が大きく期待される。本研究では、スマートフォンに限らず、様々なウェアラブル装置を利用し、日常生活のデータを記録することを想定している。例えば、スマートウォッチで毎日の睡眠状況、運動量などを記録できる。体重計とスマートフォンなどをデータ連携し、体重の変化を把握することも可能になる。さらに、生活習慣病が気になる人に対しては、心拍センサーと血糖値測定装置などが状態悪化防止や生活習慣改善などに役立つと考えられる。

データの記録と分析

収集したデータの記録と分析はデータ活用に対して、大きな役割を担う。日常活動を記録するため、大量かつ多種類のデータ処理能力が必要である。収集したデータは基本的にリアルタイムで反映するデータとリアルタイム性の低いデータの二種類がある。リアルタイム性の高いデータに対しては迅速な対応を行う。例えば、心臓病患者の心拍数と心電図情報などをリアルタイムで採取し、分析結果によって利用者や医療機関に情報連携することが重要と考えられる。リアルタイム性の低いデータは定期的な手動方式で採取し、一括転送すれば効率よく処理できると考えられる。

データ分析は収集したデータを処理し、健康状況などに関する情報を抽出して分析結果をまとめることである。例えば、スマートフォンなどのカメラで記録した飲食写真を分析して、食べ物の種類とカロリー量などの情報を特定する。その結果と体重、運動量などのデータを組み合わせて総合的に分析し、生活習慣の改善に対する健康アドバイスを提示することになる。

ユーザインターフェース

データの分析結果の表示には次の二つの方法がある。
① Web 画面、クライアントアプリケーションを通じて結果を表示する方法、②リアルタイム性の高い

データの分析結果などは電子メール、SMS (Short Message Service) 等の方法で直接に利用者の端末に送信する仕組。

収集されるのは個人情報に関連するデータであり、情報漏洩や外部侵入などを防ぐために十分な情報セキュリティ対策が必要である。情報セキュリティの観点で主に三つの対策が必要である。①データ収集段階については、個人を特定できる情報を収集しないこと。例えば、電話番号、住所、生年月日などである。②情報保存とデータ処理を分離すること。端末から採取したデータを保存する時、公開鍵方式暗号化を利用し、公開キーで保存したデータを暗号化する。データ処理時には物理的に分離した場所で秘密鍵で復号化する。データ処理用端末はインターネットとの接続を行わない等の安全対策を実施して最大限にデータ漏洩を阻止する。③採取したデータのセキュリティレベルに応じて分類保管すること。レベルの高いデータは保管期間を設定し、定期的に削除するなどの対策でデータの安全性を確保する。

データ収集

現時点は、各アプリケーションで収集したデータの共有が系統的に困難である。異なるインターフェースが使われているため、各アプリケーションが連動できず、データの統合・統計と情報の総合的な表現・提示には応えられないという問題が生ずる。デバイス上のアプリケーションは「サンドボックス化」されているため、ほかのアプリケーションによって保存されたデータにはアクセスできない。また、システムファイル、リソース、およびカーネルは、利用者のアプリケーション空間から保護されている。アプリケーションがほかのアプリケーションのデータにアクセスする必要がある場合は、OS (Operation System) が提供する API (Application Programming Interface) とサービスを使用した時のみアクセスできる¹⁾。例えば、アプリケーション側はスマートフォンの中に保存されている連絡帳情報をアクセスしようとする場合、まず利用者の許可を求めるようになり、許可を取得した後にデータを参照できるようになる。アプリケーションの間に OS の管理を経由しないで、勝手に相互アクセスすることが禁止されている (図1)。

この問題の解決方法の一つは、OS レベルの公開インターフェースを基にデータの共有を行うことである。iOS8 から、HealthKit が OS のバージョンアップにより公開され、人の体に関する各種データのインターフェースが設けられている。即ち、共有のルートが整えている。該当 HealthKit に決めたイン

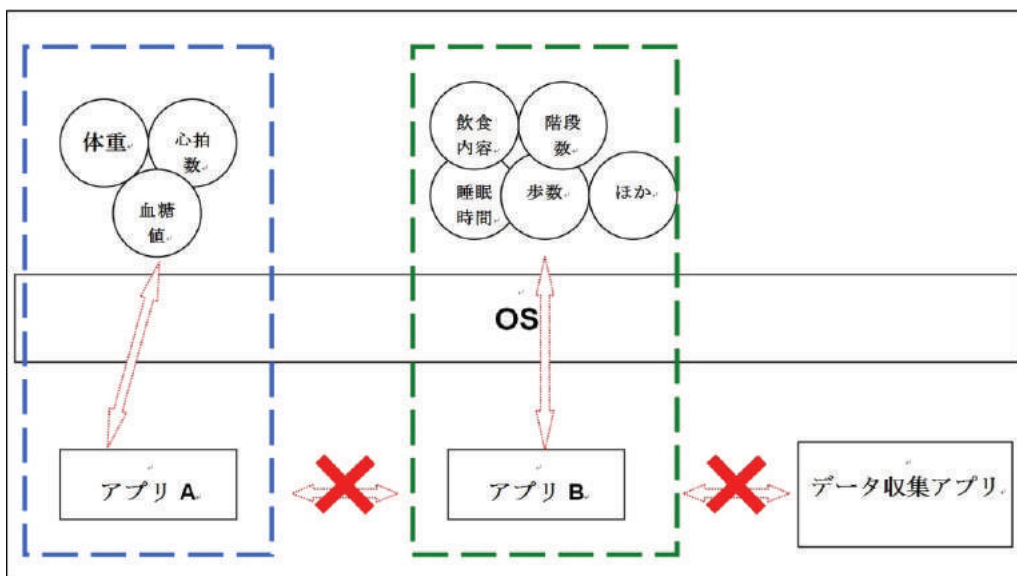


図 1. 従来の場合.

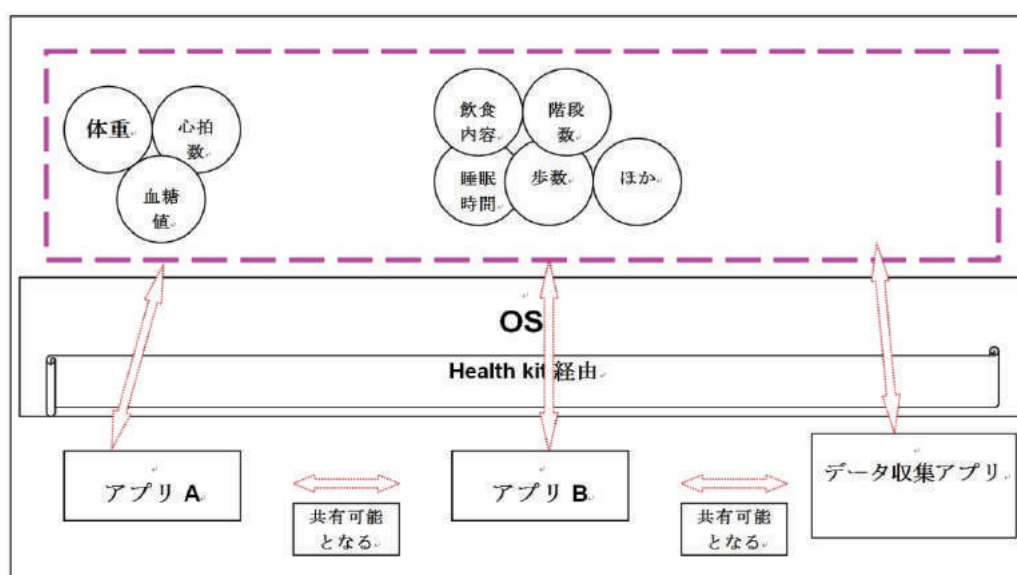


図 2. Health Kit 経由の場合.

ターフェス（図 2）を経由して、様々のアプリケーション間のデータ共有が可能となる。現時点は該当インターフェースで他のアプリケーションへ提供可能な応用がまだ少なく、今後増加することが期待される。

上記のように整えていたインターフェース（図 3）の存在を前提とした場合、データを受ける側はそのインターフェースにアタッチし、このインターフェースに准じるアプリケーションであれば、データをうまく受け入れられる状態に整えることができる。

飲食については、写真の分析で情報認識を行う。食べもの、飲みものの写真を OpenCV (Open Source Computer Vision Library) などの画像認識

技術（図 4）により対象を確定し、摂取した食物や、飲料の成分を記録する。単発一つの写真に対して、複数の認識結果がありうるが、認識結果の集合に共通な部分を抽出し、より精度の高い摂取食物を認識することが可能である。

結論

本研究は、健康に影響する潜在要素を把握するために、主に普段の飲食生活の行動をより簡単な方法でデジタル化して収集する手段の研究を行った。画像の認識技術の実現性や、利用者の自主的記録方法などの方向を考案し、アプリケーションの試作を行った。



図 3. インターフェース.



図 4. 飲食画像の認識.

今後は、SNS (Social Networking Service) を経由して、受動的なデータ収集より、利用者の能動的な動きにする形に進化することなどが研究予定である。

謝辞

本研究は、2015 年度神奈川大学総合理学研究所共同

研究の研究助成 (RIIS201504) を受けて行いました。厚く御礼申し上げます。また、実験とアプリケーション試作に協力頂いた関係各位に感謝致します。

文献

- 1) デバイスのセキュリティの概要 . https://www.apple.com/jp/ipad/business/docs/iOS_6_Security_Sep12.pdf.

■教育論文■

プログラミング演習授業で用いる課題集における 要点項目の対応分析

永松礼夫^{1,2} 渥美拓也¹

Correspondence Analysis of the Essential Points Included in Exercise Books Used in a Programming Exercise Class

Leo Nagamatsu^{1,2} and Takuya Atsumi¹

¹ Department of Information Science, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² To whom correspondence should be addressed. E-mail: lnag@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: The present study aimed to examine exercise books that had been used in Programming 1, or a classroom lecture held in Kanagawa University, for the past three years to summarize essential points for learning. A survey was conducted to examine the correspondence of questions that had actually been asked with the essential points for learning, and determine whether or not the questions were biased. Furthermore, the meaning of teaching the subjects involving biases was also discussed.

Keywords: programming class, topic coverage, course design

序論

本学科の学生を対象に一年生後期に実施されている「プログラミング1演習」のクラスは、C言語に関する初級の演習科目である。この授業では、毎回の演習で学生に解かせる課題として教員グループが作成したオリジナル課題を用いている。また演習の際の事前自習のための参考書として、過去3年ぶんの問題をまとめた「課題集」¹⁾を配布し、出題される課題の類題として参照させている。

一学期の15週の授業について、各回のテーマが決まっており、そのテーマに沿った課題を一回の演習につき3問題作成する。ただし、中間試験・期末試験に相当する「総合問題」の回は問題数が多くなる。通常の演習で学生に解かせる課題として、「学習のねらい」として演習テーマとともに提示された項目(例えば「判定(1)」の回であれば:「単純なif文」、「elseのあるif文」、「if…else if…elseを使った3通り以上の分岐」)に関する問題が偏りなく出題されていることが望ましい。

この研究では過去3年分をまとめた課題集を分析して、実際に出題された問題と学修上の要点項目とがどのように対応し、それが偏りなく出題されているか(教員の学んで欲しいと思ったことが尽くされているか)について調査をし、また偏りの見られた

項目について指導上の意味があるかについて考察を行った。

調査方法

まず、「一般の演習」と「総合問題」(それ以前の一般の演習の内容すべてが出題範囲になるもの)に分けて、それぞれの週の問題を3年分並べて課題ごとに、一般の演習ではその回の「学習のねらい」項目に対応していれば○をつけるような表を作成した。総合問題では、その回より前のすべての項目との対応を調べた。○をつける基準は著者の主観で行った。

なお、今回用いた課題集は2011～2013年度の課題を用いており、授業回数や授業週ごとのテーマが年度によって一部一致しないものも含まれている。

項目ごとに扱われている率を調べることで、判明した結果としてバランスが良ければ、学習者は多くの項目を理解できる。しかし、偏っていれば学習者は一部の内容について理解できるが、触れなかった項目は理解できない。また、教員が演習課題を作問する上で、留意事項に気づくことができる。ただし、この調査で判るのは、ある項目についてバランス良いか否かのみであり、その数字の多寡が項目の重要性を表すわけではない。項目の意味を勘案して重要

性（偏りなく出題に含めることが強く求められるかどうか）は教員が別途判断する必要がある。つまり、とても重要で毎年必ず含まれて欲しい項目がある一方で、それなりのトピックなのでたまに触れるので十分といった内容の項目もあるだろう。

調査手順について述べる。今年度（2015年度）に用いた課題集では、第1回～第14(15)回までの課題回がある。分析表の作成では、毎回のテーマー 導入、変数と四則演算、文の接続および入力と出力 (scanf)、判定（分岐制御）、繰り返し (for)、繰り返し (while)、配列、文字と文字列、関数、文字列と関数の組み合わせ、ファイル入出力、中間総合問題、総合問題 ー について、「○」と「×」を用いてまとめた。ただし、「オーバーフロー、アンダーフローと関数の組み合わせ」は2013年度のみ実施されたため、省略した。

項目ごと、演習回ごと、など表のブロック単位に○の出現率を集計して、「あまり触れられていない」トピックや、トピックの集合や、特定の年度だけ扱いの少ないものを見つけやすいように集計した。

集計結果

基礎データは量が多いので付録に示す。第1回「導入」～第12回「ファイル入出力」までが通常の演習、第13回と第14回が総合問題である。また最後の「補足 C 言語」はどの演習回とは特定できないが学期のうち一度は触れたいと教員から指摘のあった項目についての出現を調べたものである。

出現率の数字で75%以上は青色に、25%以上は黄色にマークつけてあり、特に高い/低い出現率の項目を見つけやすくしてある。

考察

今回は予備的な調査のため、単純に出現の偏りが目立ったものについて述べる。

第1回（導入）～第14回（総合問題）+補足までの学習上のポイント項目でカバーされている項目は、学習者にとって理解が進んでいると期待できる。ただし、過去3年間で1度も出現していない項目よりも、特定の年度だけまったく扱っていない項目または、とくに少ない回数しか扱っていないもののほうが、その学年だけ欠損するおそれがあるので要注意と考える。さらに教員の立場から、教えることが重要と考えられる項目を挙げてもらい、そのうちで扱われている率の低いものを順に以下に示す。

- void 型を返す関数 (6%)
- 文字列ライブラリ関数の使用 (7%)
- #define の使用 (14%)
- 剰余演算子 (%) (22%)

- 条件を1とした while による無限ループ (22%)
- 2次元配列 (22%)
- 文字コード (22%)
- キーボードから文字・文字列の入力 (28%)
- 二重(三重)ループ (33%)
- 数学関数の使用 (47%)

教員が授業の計画に沿って、課題集を作成する際には、ここに挙げた項目について注意することで、バランスの良い授業構成が実現できるであろう。

項目の設定については、より授業内容と対応した分析のために、項目のくり方を見直しが望ましい。例えば、「四則演算」と1項目にするか、「加算・減算・乗算・除算」を個別に扱うかで見掛けの出現率は変わってしまう。また、アルゴリズム的には重要な「剰余演算」のあつかいも考える必要がある。また、「高い」と判断する基準の吟味がさらに必要と思われる。

関連研究

プログラミング教育や情報教育において、「出題された演習課題や試験問題」と「学修の要点」の対応をつける試みはカリキュラムが適切に実施されているかを知る上からも様々なものが行われている。ここでは特徴的な取り組みをいくつか紹介する。

文献2では、高等学校の教科「情報」の指導要領と、その学習成果を評価する立場での入学試験問題の出題項目の対応を論じている²⁾。

文献3はアメリカのAPプログラムの「コンピュータ科学基礎」のカリキュラム概要である³⁾。そのコース終了者に対する達成度評価で使われる試験問題例(87ページ)では、Scratch風のブロック言語で書かれたロボットの動作を答える問題に対して、どのような「学修の要点」と対応するかを規程している。つまり「抽象化」や「アルゴリズムを実装する手段としてのプログラムの理解」などと、個々の問題をマッピングしている。このように問題の作成の段階で、どのような学習項目と対応させるかを意識したコース設計を行っている。

今後の課題

本調査で得られた知見の活用として以下の2つの方向性が考えられる。一つは、授業や問題作成過程の改善へのフィードバックであり、特にどのような項目をどの程度手厚く言及するかを調整することで効率的な作問に生かせるであろう。二つ目は分析をより詳細化することで、講義のトピックや教員の想定する「教えたい項目」がもっと問題のレパートリーに反映するような授業設計にできることが期待でき

る。

本研究の意義と今後の発展の方向性について補足すと、プログラミング能力を構成するスキルを細分化して定義するアプローチの応用については、高校までの初等中等教育と大学教育の接続を意識した教育改革⁴⁾とも関連付けて検討する必要がある。

現状では、現行の高校の指導要領での共通教科「情報」の科目である「情報の科学」⁵⁾の中で、「(2) 問題解決とコンピュータの活用」の下の、「イ 問題の解決と処理手順の自動化」で「問題の解法をアルゴリズムを用いて表現する方法を習得」とのみ解説に記載されているに留まっている。

一方で小学校からのプログラミング教育の導入⁶⁾が検討されており、広い年齢層をカバーした教育課程の設計や評価のために知識体系の整理に関する重要性はさらに増すものと期待される。

まとめ

プログラミング演習で試用している演習課題が十分に「学習のねらい」をカバーしているかの分析を行い、授業設計における問題点を定量化して示すことができた。

文献

- 1) 神奈川大学理学部情報科学科編 演習テキスト「プログラミング課題集 第3版」(2015年9月)。
- 2) 河合塾 キミのミライ発見 入試問題サイト 入試問題との対応。
[http://www.wakuwaku-catch-mondai.net/question/show_course/kind:101 (2016年5月5日閲覧)]。
- 3) AP Computer Science Principles - Including the Curriculum Framework.
[https://secure-media.collegeboard.org/digitalServices/pdf/ap/ap-computer-science-principles-course-and-exam-description.pdf (2016年5月5日閲覧)]。
- 4) 文部科学省：高大接続システム改革会議，2015年3月～2016年3月。
[http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/chousa/koutou/064/index.htm (2016年5月5日閲覧)]。
- 5) 文部科学省：高等学校学習指導要領解説．情報編．2010. (28ページ).
[http://www.mext.go.jp/component/a_menu/education/micro_detail/_icsFiles/afieldfile/2012/01/26/1282000_11.pdf (2016年5月5日閲覧)]。
- 6) 小学校段階における論理的思考力や創造性、問題解決能力等の育成とプログラミング教育に関する有識者会議，2016年5月～。
[http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/chousa/shotou/122/index.htm (2016年5月5日閲覧)]。

付録

集計結果

第1回：導入

年	学習の狙い	a							a		
		a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7	○ : (%)		
2011	練習問題1	○	○ (1つ)	○	○	×	×	×	57	64	
	練習問題2	○	○ (1つ)	○	○	×	×	×	57		
	練習問題3	○	○ (1つ)	○	○	×	×	○	71		
	課題	○	○ (3つ)	○	○	×	×	○	71		
2012	課題1	○	○ (3つ)	○	○	×	×	×	57	76	
	課題2	○	○ (4つ)	○	○	×	○ (1つ)	○	86		
	課題3	○	○ (4つ)	○	○	×	○ (2つ)	○	86		
2013	課題1	○	○ (1つ)	○	×	○ (4つ)	×	×	57	67	
	課題2	○	○ (4つ)	○	○	×	○ (2つ)	×	71		
	課題3	○	○ (1つ)	○	○	×	×	○	71		
a	○ : (%)	100	100	100	90	10	30	50			
		97.5							30		
		69									

いわゆる「hello world」(main と printf のあるプログラムの作成を行う)。

a1 : main 関数, a2 : printf() 関数の数, a3 : ソースコード作成・コンパイル・実行, a4 : 改行 (printf() 関数の書式中に \n が 1 つある場合), a5 : 複数改行 (printf() 関数の書式中に \n が複数), a6 : 改行しない (printf() 関数の書式中に \n が無い), a7 : %d 等で数を次の引数として指定する書式を使う。

⇒ 2011、2012 では \n の有無で printf 数と出力行数とが独立に設定できることを意識して教えていないことが a5,a6 より読み取れる。

第2回：変数と四則演算

年	学習の狙い	b											b	
		b1	b2	b3	b4	b5	b6	b7	b8	b9	b10	b11	○ : (%)	
2011	練習問題1	○	○	×	○	○	○	×	○	×	×	×	55	58
	練習問題2	○	○	×	○	○	○	○	○	○	×	×	73	
	課題	×	○	×	○	○	×	×	○	○	×	×	45	
2012	課題1	○	×	○	○	×	×	×	×	×	×	×	27	55
	課題2	○	×	×	○	○	○	○	○	○	○	×	73	
	課題3	×	○	×	○	○	○	○	○	○	×	×	64	
2013	課題1	○	×	○	×	○	○	×	×	×	×	×	45	58
	課題2	○	○	○	×	○	×	×	×	○	○	○	64	
	課題3	○	○	○	×	○	×	○	○	○	×	×	64	
b	○ : (%)	78	67	44	67	89	56	56	67	67	22	11		
		69							46					
		57												

b1：変数（整数型）の宣言，b2：変数（浮動小数点型）の宣言，b3：初期化，b4：変数への値の代入，b5：変数を用いた計算，b6：演算子(+)加法，b7：演算子(-)減法，b8：演算子(*)乗法，b9：演算子(/)除法，b10：演算子(%)剰余，b11：浮動小数点数をint型変数に代入すると切捨てになる。

⇒ 2011、2012では、実数を整数型変数に代入すると切り捨てになることをあまり意識して教えていない(b11)。また、剰余演算子の扱いが四則に順ずるかがあいまいである。

第3回：文の接続 (scanf)

年	学習の狙い	c				c	
		c1	c2	c3	c4	○ : (%)	
2011	練習問題1	○	○	×	×	50	58
	練習問題2	○	○	○	×	75	
	課題	○	○	×	×	50	
2012	課題1	○	○	×	×	50	83
	課題2	○	○	○	○	100	
	課題3	○	○	○	○	100	
2013	課題1	×	×	○	○	50	75
	課題2	○	○	○	×	75	
	課題3	○	○	○	○	100	
c	○ : (%)	89	89	67	44		
		89		56			
		72					

逐次実行と数の入力. c1：標準ライブラリ関数のscanf()関数を用い変数に値を入力，c2：入力した値から逐次的に計算を続けるて目的の値を得る，c3：実行過程で同じ変数の値が変化していく様子を観察，c4：複合代入演算子. 注) 2011年：複合代入演算子(c4)は、繰り返し(1)forの回から登場。

⇒ 2011では、複合代入演算子(+= など)を明示的に扱っていなかった。

第4回：判定(分岐制御)－その1

年	学習の狙い	d					d	
		d1	d2	d3	d4	d5	○ : (%)	
2011	練習問題1	×	○	×	×	×	20	30
	練習問題2	×	×	○	×	○	40	
	課題	×	×	○	×	○	40	
	参考	○	×	×	×	×	20	
2012	課題1	○	×	×	×	○	40	40
	課題2	×	○	○	×	○	60	
	課題3	×	×	○	×	×	20	
2013	課題1	○	○	×	×	×	40	40
	課題2	○	○	×	×	×	40	
	課題3	○	×	○	×	×	40	
d	○ : (%)	50	40	50	0	40		
		47		20				
		36						

条件判定(単純な場合). d1：ある処理を実行するかしないか選択(if)，d2：2つの処理のうちいずれを実行するか選択(if + else)，d3：3つ以上の処理のうちどの1つを実行するかを選択(ifとelse ifとelse)，d4：2つ以上の処理の選択にif-elseでなくif-ifを用いる(望ましくない場合)，d5：流れ図を使った説明。

⇒項目d4は、if(A)…else…と書けるものをif(A)…if(notA)…と書くことを避けるという指導指針であるが、課題としてはうまく反映されていない。これに限らず、「○○と書くべき」という知識は学習の狙いに書きやすいが、「○○と書くべきではない」という知識の表現方法には工夫が必要である。

第5回：判定(分岐制御)－その2

年	学習の狙い	e			e	
		e1	e2	e3	○ : (%)	
2011	練習問題1	×	○ (&&)	○ (1つ)	67	78
	練習問題2	○	×	○ (3つ)	67	
	課題	○	○ (&&,)	○ (4つ)	100	
2012	課題1	○	○ (&&)	○ (4つ)	100	100
	課題2	○	○ (&&)	○ (1つ)	100	
	課題3	○	○ (&&,)	○ (4つ)	100	
2013	課題1	×	○ (&&,)	○ (1つ)	67	56
	課題2	○	×	○ (4つ)	67	
	課題3	×	×	○ (2つ)	33	
e	○ : (%)	67	67	100		
		78				

条件判定(入れ子のif, 条件AまたはB, など) e1：入れ子のif-else, e2：論理演算子(&&, ||)を含む条件. e3：比較演算子(<, <=, >, >=, ==, !=)の使用法。

⇒特に顕著な偏りはない。

第6回：繰り返し—その1

年	学習の狙い	f			f	
		f1	f2	f3	○ : (%)	
2011	練習問題1	○	○	×	67	67
	練習問題2	○	○	×	67	
	課題	○	○	×	67	
2012	課題1	○	○	×	67	78
	課題2	○	○	×	67	
	課題3	○	○	○	100	
2013	課題1	○	○	×	67	89
	課題2	○	○	○	100	
	課題3	○	○	○	100	
f	○ : (%)	100	100	33	78	

for 文による繰り返し. f1:for 文で繰り返し, f2:繰り返し回数が事前に決っている場合, f3:二重ループ.

⇒特に顕著な偏りはない

第7回：繰り返し—その2

年	学習の狙い	g				g	
		g1	g2	g3	g4	○ : (%)	
2011	練習問題1	○	○	×	×	50	58
	練習問題2	○	×	○	○	75	
	課題	○	○	×	×	50	
2012	課題1	○	○	×	×	50	50
	課題2	○	×	○	○	75	
	課題3	×	×	×	○	25	
2013	課題1	○	○	×	×	50	58
	課題2	○	○	×	○	75	
	課題3	○	○	×	×	50	
g	○ : (%)	89	67	22	44	56	

while と条件成立が実行するまで不明な場合と break. g1: while を用いた繰り返し, g2: while による繰り返しで条件が x < 100 のような論理式, g3: while で条件を 1 とした無限ループ, g4: break による繰り返しの途中終了.

⇒2013で「while(1)による無限ループ」の扱いがされていないが、慣用的に使われる記法なので明示的に扱うことが望まれる。

第8回：配列

年	学習の狙い	h					h	
		h1	h2	h3	h4	h5	○ : (%)	
2011	練習問題1	○	○	×	×	×	40	60
	練習問題2	○	○	×	○	×	60	
	課題	×	○	○	○	○	80	
2012	課題1	○	○	×	○	×	60	60
	課題2	○	○	×	○	×	60	
	課題3	○	○	×	○	×	60	
2013	課題1	○	○	×	○	×	60	67
	課題2	○	○	×	○	×	60	
	課題3	○	○	○	○	×	80	
h	○ : (%)	89	100	22	89	11	94	
		62			41		62	

配列. h1:配列の書き込み(データを格納), h2:配列の呼び出し(データにアクセス), h3:2次元配列(データの格納とアクセス), h4:配列と繰り返しの組み合わせ, h5:リダイレクションで入力する.

⇒2012と2013で、リダイレクション入力が扱われていない。直接に配列と関わる項目ではないが、演習がこの段階に進むところに必要とされるスキルであり、意識して(配列の演習の回でなくても)項目を立てて扱うことが望まれる。

第9回：文字と文字列

年	学習の狙い	i								i	
		i1	i2	i3	i4	i5	i6	i7	i8	○ : (%)	
2011	練習問題1	×	○	○	○	○	×	×	×	50	58
	練習問題2	×	○	○	○	○	×	○	×	62.5	
	課題	×	○	○	○	○	○	×	○	62.5	
2012	課題1	○	○	○	○	○	○	×	×	75	58
	課題2	×	○	○	○	○	×	×	×	50	
	課題3	×	○	○	○	○	×	×	×	50	
2013	課題1	○	○	×	×	×	○	×	○	50	58
	課題2	×	○	○	○	○	×	○	×	62.5	
	課題3	×	○	○	○	○	×	○	×	62.5	
i	○ : (%)	22	100	89	89	89	22	44	11	92	
		58			26		58		26		

i1:文字コード, i2:変数の型(文字型)の宣言, i3:文字列は文字を要素とする配列, i4:文字列の最後にナル文字(‘\0’)が必要, i5:文字列の表示に%s, i6:文字の表示は%c, i7:キーボードから文字列(%s)の入力, i8:キーボードから文字(%c)の入力.

⇒文字コードについては、コード表のすべてを掲載する・コード表作成プログラムを載せると煩雑になりすぎるので、講義に譲るとして扱わない年度があった。printfとscanfの書式については、まとめて知識の再確認ができる機会があるとよい。

第 10 回：関数

学習の狙い		k										k					
年		k1	k2	k3	k4	k5	k6	k7	k8	k9	k10	k11	○ : (%)				
2011	練習問題1	x	x	o	o	x	x	x	o	o	x	x	36	42	52		
	練習問題2	x	x	o	o	x	x	x	o	o	x	x	45				
	課題	x	x	o	o	x	x	x	o	o	x	x	45				
	練習問題1	o	o	o	o	x	x	o	x	x	x	x	45	61			
	練習問題2	o	o	o	o	x	x	o	o	o	x	x	64				
	課題	o	o	o	o	x	x	o	o	o	x	x	73				
2012	課題1	x	x	o	o	x	x	x	o	o	x	x	36	39	45		
	課題2	x	x	o	o	x	x	x	o	o	x	x	45				
	課題3	x	x	o	o	x	x	x	x	x	o	o	45				
	課題1	o	o	o	o	x	x	o	x	x	x	x	45	52			
	課題2	o	o	o	o	x	x	o	x	x	x	x	45				
	課題3	o	o	o	o	o	o	o	x	x	x	x	64				
2013	課題1	o	o	o	o	x	x	x	x	x	x	x	45	48			
	課題2	o	o	o	o	x	x	o	x	x	x	x	45				
	課題3	o	o	o	o	x	x	o	x	x	x	x	55				
k	○ : (%)	60	60	100	93	27	27	60	47	47	7	7					
		78				38		27									
		48															

k1：自作の関数を定義+その関数を呼び出す，
 k2：単一の引数と複数の引数をとる関数，
 k3：関数の宣言と関数の定義，
 k4：戻り値の使い方，
 k5：関数を繰り返して呼ぶ，
 k6：呼び出した関数からさらに別の関数を呼び出す，
 k7：異なる関数に値を与える・返す方法，
 k8：関数内で数学関数を呼び出す，
 k9：数学関数を使うため math.h をインクルード，
 k10：関数内で文字列操作関数を呼び出す，
 k11：文字列操作関数を使うため string.h をインクルード，
 注) 2013：数学関数は，中間総合問題で行っている。

⇒項目 k5：関数は本来は頻出する処理を何度も書かないで済ませる方法という意味もあるが、小規模の演習問題としては、一つの関数を複数回呼び出すことを含めるのが難しいこともある。

第 11 回：文字列と関数の組み合わせ

学習の狙い		m			m			
年		m1	m2	m3	○ : (%)			
2011	練習問題1							
	練習問題2							
	課題							
2012	課題1							
	課題2							
	課題3							
2013	課題1	o	o	o	100			
	課題2	o	o	o	100			
	課題3	o	o	o	100			
m	○ : (%)	100	100	100				

2013年度のみ実施のテーマ。m1：キーボードから文字列を入力，m2：文字配列の使用，m3：文字列を関数の引数にする。

⇒ 2013のみ実施なので、これだけでは判断できない。

第 12 回：ファイル入出力

学習の狙い		n									n					
年		n1	n2	n3	n4	n5	n6	n7	n8	n9	○ : (%)					
2011	練習問題1	o	x	o	o	o	x	x	x	x	44	56	56			
	練習問題2	o	x	o	o	o	o	x	x	x	56					
	課題	o	o	o	o	o	o	x	x	x	67					
2012	課題1	o	o	o	o	o	o	x	x	x	67	67	67			
	課題2	o	o	o	o	x	x	o	o	x	67					
	課題3	o	o	o	o	o	o	x	x	x	67					
2013	課題1	o	x	o	o	o	o	x	x	x	56	59	59			
	課題2	o	o	o	o	o	o	x	x	x	67					
	課題3	o	x	o	o	o	o	x	x	x	56					
n	○ : (%)	100	56	100	100	89	78	11	11	0						
		85		89		7										
		60														

n1：ファイルからデータを読み込む，n2：ファイルヘータを書き込む，
 n3：fopenによる正常・エラー(NULL)終了，
 n4：fopenされたファイルをfcloseで閉じる・エラー(EOF)，
 n5：fscanfによる書式付き入力，
 n6：fprintfによる書式付き出力，
 n7：getcharとputcharを用いた標準入出力，
 n8：fgetcとfputcを用いた一文字単位のファイル入出力，
 n9：fgetsとfputsを用いた一行ごとのファイル入出力。

⇒ fgets, fputc, fgets, fputs については必ずしも教えるべきものであるか担当により意見が分かれています。

総合課題 以下は総合課題である。問題数が通常回よりも多い。2012年は中間総合を二回実施した。実施するタイミング（第何週に実施するか）は年度によって7～9回目と違っている。それより前の通常回の演習で取り上げた項目についてカバーされているかをすべて集計した。

中間総合問題

中間総合（項目群 a-d）

年	学習の狙い																										
	a						b						c			d											
	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7	b1	b2	b3	b4	b5	b6	b7	b8	b9	b10	b11	c1	c2	c3	c4	d1	d2	d3	d4	d5
2011	課題1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
2012	課題1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
2013	課題1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
t	100 100 100 100 0 86 100						100 21 71 71 93 93						29 43 36			21 0 86 64 71 71			50 43 29 0 0								
O : (%)	100						62						75			26			75 71			40			24		

⇒項目群 d（分岐 1）が少ないが、分岐 2 でカバーされるので問題ではない。

中間総合（項目群 e-i）

年	学習の狙い																							
	e			f			g				h				i									
	e1	e2	e3	f1	f2	f3	g1	g2	g3	g4	h1	h2	h3	h4	h5	i1	i2	i3	i4	i5	i6	i7	i8	
2011	課題1	○ (&&)	○ (2つ)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題2	○	○	○ (3つ)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題3	○	○	○ (1つ)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
2012	課題1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
2013	課題1	○	○	○ (1つ)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題2	○	○	○ (1つ)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題3	○	○	○ (1つ)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題4	○	○	○ (3つ)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
2013	課題1	○ (&&,)	○ (2つ)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題2	○	○	○ (1つ)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題3	○ (&&,)	○ (2つ)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	課題4	○	○	○ (1つ)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
t	93			64 64 9			27 9 27 36				50 50 0 50 0				0 25 25 25 25 0 0 0									
O : (%)	55			45			25				50				17				12.5					

⇒項目群 g（繰り返し 2）, i（文字と文字列）が手薄であるように見える。総合問題では少ない課題数で多くのテーマをカバーすることが期待されるので個々の項目ごとのカバー率として低くなるが、少なくとも一つの問題に出されていればその項目の学習成果を問うテスト問題としては目標を達成している。

最終総合問題

最終総合（項目群 a-d）

年	学習の狙い																										
	a						b						c			d											
	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7	b1	b2	b3	b4	b5	b6	b7	b8	b9	b10	b11	c1	c2	c3	c4	d1	d2	d3	d4	d5
2011	問題1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	問題2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	問題3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	問題4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
2012	課題1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	課題2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	課題3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	課題4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
2013	課題1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	課題2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	課題3-1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	課題3-2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
課題4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○		
t	100 100 100 100 8 92 100						85 31 62 92 92 92						0 62 23 8 8			85 38 77 77			46 23 23 0 0								
O : (%)	100						67						76			20			62 77			31			0		

最終総合 (項目群 e-i)

e																		f																		g																		h																		i																	
e1	e2	e3	f1	f2	f3	g1	g2	g3	g4	h1	h2	h3	h4	h5	i1	i2	i3	i4	i5	i6	i7	i8	e		f		g		h		i																																																										
O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)																																																											
x	O (&&)	O (2)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	67		0		0		0		0		0																																																								
x	x	O (1)	O	O	x	O	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	33	42	67		50		0		0		0																																																								
x	x	O (1)	O	O	x	x	x	x	O	O	x	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	33		67	33		0		12.5		60		15																																																							
x	x	O (2)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	33		0		0		0		0		0																																																								
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	0		0		0		0		0		0																																																								
x	O ()	O (2)	x	x	x	O	O	x	x	x	x	x	O	x	x	x	x	x	x	x	x	O	67	33	0		50		0		20		12.5																																																								
x	x	O (3)	O	O	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	33		100		0		0		0		0																																																								
x	x	O (2)	x	x	x	O	O	x	O	O	x	O	x	x	O	O	O	O	O	O	O	x	33		0		75		60		50		15.625																																																								
x	O (&&)	O (4)	O	O	x	x	x	x	O	O	O	O	x	x	O	O	O	O	O	O	O	x	67		67		0		80		62.5		0																																																								
x	x	O (1)	O	O	O	x	x	x	x	O	O	x	O	x	x	O	O	O	O	O	O	O	33		67		0		60		87.5		0																																																								
O (&&)	O (3)	O	O	O	x	x	x	x	O	O	x	O	x	x	O	O	O	O	O	O	O	x	100	67	100		0		60		52		0																																																								
O (&&)	O (4)	O	O	O	x	x	x	O	O	O	x	O	x	x	O	O	O	O	O	O	O	x	100		100		25		60		50		50																																																								
x	x	O (2)	x	x	x	O	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	33		0		50		0		0		0																																																								
15	38	92	54	54	23	31	31	0	15	46	46	8	46	8	0	38	38	38	38	8	15	15																																																																			
49			44			31		8		46		21			0																																																																										
						19				31																																																																															

最終総合 (項目群 k-n)

k																		m																		n																	
k1	k2	k3	k4	k5	k6	k7	k8	k9	k10	k11	m1	m2	m3	n1	n2	n3	n4	n5	n6	n7	n8	n9	k		m		n																										
O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)		O : (%)																											
x	x	O	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	18		0		0		0		0		0																					
x	x	O	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	18	32	0		0		0		0		0																					
x	x	O	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	18		0		0		0		0		0																					
O	O	O	O	x	O	O	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	73		0		0		0		0		0																					
O	O	O	O	x	O	O	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	64		0		0		0		0		0																					
x	x	O	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	O	18	39	0		8		11		14		0																					
O	O	O	O	x	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	55		0		0		0		0		0																					
x	x	O	O	x	x	x	x	x	x	x	O	x	O	O	O	x	x	x	x	x	x	18		33		44		0		0		0																					
x	O	O	O	x	x	x	x	x	x	O	O	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	45		67		0		0		0		9																					
O	O	O	O	x	O	x	x	x	x	x	O	O	O	x	x	x	x	x	x	x	x	45		100		0		0		0		0																					
O	O	O	O	x	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	55		0		33		0		0		0																					
O	O	O	O	x	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	55		0		0		0		0		0																					
O	O	O	O	x	O	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	55		0		0		0		0		0																					
54	54	100	100	38	0	54	15	15	0	0	15	23	8	15	0	15	15	15	0	8	0	0																															
77			31			8					15			10																																							
			39								15			10																																							

⇒問題数が限られているのですべてをカバーできないのは当然ともいえる。実質的によりよい教育のために何が必要かは今後の議論を待ちたい。

補足 C 言語演習全般に関わる項目

年	学習の狙い	z1	z2	z3	z4	z5	z6	z7	z8
2011	a	x	x	x	x	x	x	x	x
	b	x	x	x	x	x	x	x	x
	c	x	x	x	x	x	x	x	x
	d	x	x	x	x	x	x	x	x
	e	x	x	x	x	x	x	x	x
	f	x	x	x	x	x	x	x	x
	g	x	x	x	x	x	x	x	x
	h	x	x	x	x	x	x	x	x
	i	x	x	x	x	x	x	x	x
	k	x	x	x	x	x	x	x	x
	n	x	x	x	x	x	x	x	x
2012	a	x	x	x	x	x	x	x	x
	b	x	x	x	x	x	x	x	x
	c	x	x	x	x	x	x	x	x
	d	x	x	x	x	x	x	x	x
	e	x	x	x	x	x	x	x	x
	f	x	x	x	x	x	x	x	x
	g	x	x	x	x	x	x	x	x
	h	x	x	x	x	x	x	x	x
	i	x	x	x	x	x	x	x	x
	k	x	x	x	x	x	x	x	x
	n	x	x	x	x	x	x	x	x
2013	a	x	x	x	x	x	x	x	x
	b	x	x	x	x	x	x	x	x
	c	x	x	x	x	x	x	x	x
	d	x	x	x	x	x	x	x	x
	e	x	x	x	x	x	x	x	x
	f	x	x	x	x	x	x	x	x
	g	x	x	x	x	x	x	x	x
	h	x	x	x	x	x	x	x	x
	i	x	x	x	x	x	x	x	x
	k	x	x	x	x	x	x	x	x
	n	x	x	x	x	x	x	x	x

それぞれの年に一回以上どこかで解説または出題されていればよいような項目を集めて検討した表である。従って疎な表になるためカバー率は示してない。分布が年度をまたいで極端に違ってなければよい。この例ではz3が3年間に渡って一度も出題されていないことが判明した。項目内容: z1: #define (記号定数), z2: フラグ変数の使用, z3: 棒グラフの作り方, z4: 素数の求め方, z5: 素因数分解の求め方, z6: 最大値の求め方, z7: 最小値の求め方, z8: void型を返す関数。

■教育論文■

情報科学科プログラミング演習に向けたオンラインコンパイラシステムの実装とレポート提出システムとの連動

韓 浩^{1,4} 中山 堯^{2,3}

Importing Online Compiler Functionality into Report Management System for Programming Education

Hao Han^{1,4} and Takashi Nakayama^{2,3}

¹ Department of Healthcare Information Management, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan

² Department of Information Science, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

³ Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

⁴ To whom correspondence should be addressed. E-mail: han@hcc.h.u-tokyo.ac.jp

Abstract: A demo of an online compiler system was constructed for programming education and integrated with a report management system.

Keywords: online compiler, programming education

序論

学生の演習状況とプログラミング能力を深く把握するため、情報科学科の講義「プログラミング演習」に向けたオンラインコンパイラシステムの導入を提案した。オンラインコンパイラシステムとは、ブラウザでプログラムを入力すると実行結果を出力してくれるアプリケーションである。このシステムを利用する最大のメリットは、端末に依存せず、面倒な環境構築を飛ばして手軽に多くのプログラミング言語を試せることである。さらに、教員は学生の作成途中のプログラムとコンパイルエラーなどの情報を参照することが可能であり、学生のプログラムの作成プロセスを全般的に把握できるという魅力がある。

システムの構築

Web サーバ

- サーバ : Apache HTTP Server
- フォルダ構成 :
 - ルート :
/var/www/html/WebStudio
 - アップロード :
/var/www/html/WebStudio/files
 - Web 端末クライアント :
/var/www/html/WebStudio/term

- Web 方式の POPUP 画面 : /var/www/html/WebStudio/zDialog
- 使用ポート : 30443

Term サーバ

- サーバ : Node.js express
- フォルダ構成
 - ルート (任意場所可) : /home/UserID/demo
 - SSL 証明書 : /home/UserID/demo/sslcert
- 使用ポート : 8080

SSL 証明書について

- テスト用 SSL 証明書作成
 - \$ openssl genrsa 2048 > server.key
 - \$ openssl req -new -key server.key > server.csr
 - \$ openssl x509 -days 3650 -req -signkey server.key < server.csr > server.crt
- 正規発行電子証明書必要の場合、SSL 証明書を購入する必要がある

Apache HTTPS サーバの設定

- /etc/httpd/conf.d/ssl.conf

- > SSLCertificateFile /etc/pki/tls/certs/server.crt
- > SSLCertificateKeyFile /etc/pki/tls/private/server.key

•HTTPS サーバ起動の時、SSL 証明書のパスワード入力が必要である

Node.js 環境構築

- EPEL リポジトリの追加 : `sudo rpm -ivh http://ftp.iij.ad.jp/pub/linux/fedora/epel/6/x86_64/epel-release-6-8.noarch.rpm`
- nodejs と npm のインストール : `sudo yum -y install nodejs npm --enablerepo=epel`
- express パッケージのインストール : `npm install -g express`
- その他必要モジュール
 - > extend
 - > pty.js
 - > socket.io
 - > term.js

Term サーバの設定

- SSL 証明書の格納場所 : サーバのルートフォルダ / `sslcert`
- Term サーバを起動するコマンド : `node index.js &`
- Term サーバポート : `index.js` の `server.run` の引数で指定する (テスト環境は 8080 に指定された)

Web 端末環境について

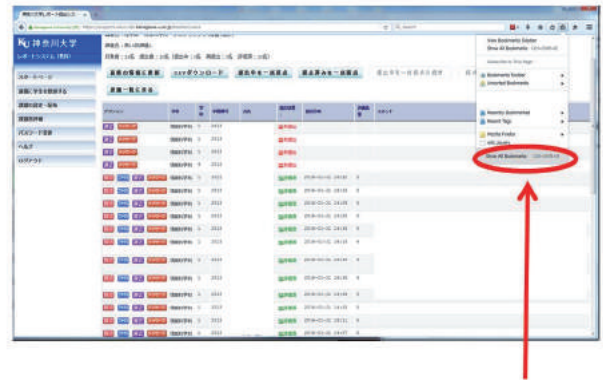
- ログイン時のホームディレクトリ : Term サーバ起動ユーザのホームディレクトリ
- クライアントの Term サーバ接続設定 : `/var/www/html/WebStudio/term/index.html` の 65 行目に Term サーバ URL とポートを指定する

システムの実行

1) 以下の JavaScript を Bookmark として追加する (図 1)。

```
javascript:(function(d){if(frames.length>0){d=frames['main'].document};var%20f=${'<form></form>'}',{action:'http://www.sp-tec.co.jp:30080/WebStudio/WebStudio.php',target:'WebStudio',method:'POST'}).hide();var%20b=${'body',d};b.append(f);for(i=0;i<d.links.length;i++){d.links[i].onclick=function(e){if(e.ctrlKey){var%20p="UserID";var%20s=this.href;var%20s=this.href.substr(this.href.lastIndexOf("/")+1);if(!s.toLowerCase().match(/\.c.*$/)){s='test.c'};f.append('${<input>',{type:'hidden',name:'file_
```

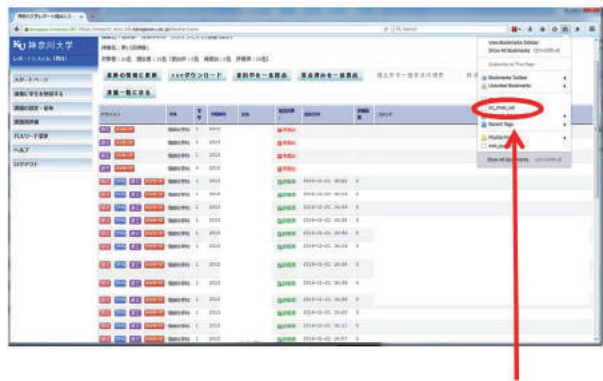
```
name',value:s}));f.append('${<input>',{type:'hidden',name:'file_path',value:p}});$.get(this.href,function(d1){f.append('${<input>',{type:'hidden',name:'src_data',value:d1}});f.submit();});window.open('http://www.sp-tec.co.jp:30080/WebStudio?file_name='+s+'&file_path='+p,'WebStudio','menubar=no,toolbar=no,location=no,status=no,resizable=yes');return%20false}}})(document);
```



Bookmarkの設定

図 1. Bookmark の設定.

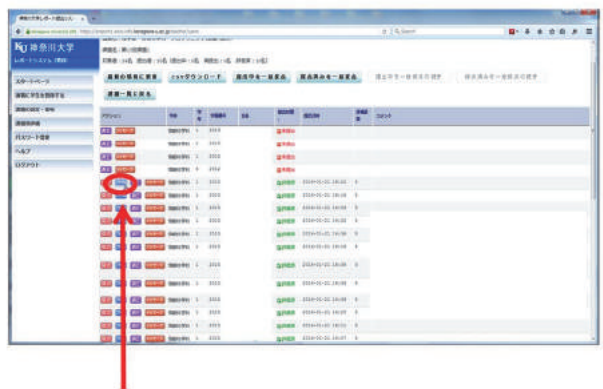
2) Bookmark した JavaScript を実行する (図 2)。



Bookmarkの実行

図 2. JavaScript の実行.

3) 対象になるソースファイル (リンク) をコントロール・クリックする (図 3)。



Ctrl+クリック

図 3. ソースファイルのクリック.

4) コンパイラ画面がポップアップし、ソースファイルを自動的にサーバにアップロードし、コンパイラ準備が完了である (図4)。ソースも表示する。

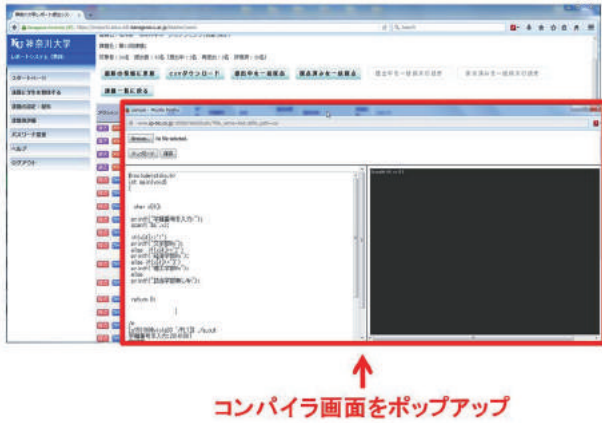


図4. コンパイラ画面の呼び出し.

今後の課題

現在のポップアップ形式の操作について、ブラウザによりブロックされる場合がある。また、試作されたコンパイラサーバーにおいて、クライアントサイドで JavaScript を実行すればレポート提出システムとの連動が可能であるが、操作が面倒である。今後は、レポート提出システムの機能の一つとしてオンラインコンパイラシステムを導入することが期待される。

謝辞

システム試作に協力頂いた関係各位に感謝します。

■ 研究交流報告 ■

第 11 回神奈川大学－国立台湾大学学術交流

木原伸浩^{1,2}

Report of the 11th International Exchange Program between Kanagawa University and National Taiwan University

Nobuhiro Kihara^{1,2}

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

² To whom correspondence should be addressed. E-mail: kihara@kanagawa-u.ac.jp

はじめに

神奈川大学化学科と国立台湾大学化学科（化学系）は毎年交互に教員と学生を派遣しながら国際会議を開催する国際学術交流を続けている¹⁻⁹⁾。2015 年度には、2016 年 3 月 10 日（木）から 13 日（日）にかけて、神奈川大学において第 11 回学術交流行事が行なわれた。

学術交流

第 11 回学術交流の位置づけ

国立台湾大学化学系と神奈川大学理学部化学科は 2005 年 3 月に学術交流協定を結び、以来、毎年度、交互に訪問団を組織し、訪問先で国際会議を開催する学術交流を続けてきた。第四回学術交流からは大学院生も参加するようになり 3、現在ではむしろ大学院生の交流が中心である。派遣大学院生の数を表 1 にまとめる。開催地が台湾の時は神奈川大学からの派遣数、開催地が日本の時は国立台湾大学からの受入数である。

表 1. 派遣大学院生数

年度	開催地	大学院生数
2008	台湾	6
2009	日本	9
2010	台湾	12
2011	日本	8
2012	台湾	12
2013	日本	12
2014	台湾	15
2015	日本	13

ここ数年は 12-15 名の派遣が定着している。交流の規模は、神奈川大学については国際交流研修施設のキャパシティ、国立台湾大学については、交流

への参加が成果を出した大学院生へのご褒美となっている、等の事情によって制約されている。大学院の学生数や国際交流行事の密度などを勘案すると、これ以上の規模の拡大は難しい。むしろ、質の向上に力を注ぐべきであろう。

1 つは、「化学国際交流」との連携である。大学院レベルでの緊密な学術交流を背景に、国立台湾大学化学系と神奈川大学理学部化学科は 2012 年度から学部 3、4 年生を対象とした国際共同授業を開始した。「化学国際交流」は神奈川大学での授業名称である。「化学国際交流」は 2012 年度にはまず神奈川大学で開催し、以後、毎年度台湾と日本で交互に開催している。2012 年度は周知も十分ではなく、授業の期間も短かったため交流も限られ、目立った成果を挙げていない。しかし、2013 年度に台湾で開催された「化学国際交流」は余裕のあるスケジュールで行われたため、十分な国際交流ができた。また、2012 年度の「化学国際交流」のタネが芽を出したこともあり、受講した学生の大学院進学率は極めて高かった。今回の交流は「化学国際交流」の受講生が大学院生として参加するようになった初めての学術交流である。彼らは交流において中心的な役割を果たし、また継続して国立台湾大学と関わる者として、交流の質の向上に大きく貢献した。

もう 1 つは、全学レベルでの交換留学との関連である。化学科同士で始まった学術交流は、その実績を元に 2011 年度からは全学レベルに拡大された⁶⁾。この制度を利用して、化学専攻 M1 の猪狩拓真君が 2015 年 10 月から国立台湾大学化学系の詹研究室で 1 年間研究をすることとなった。学術交流が始まって以来、初めての長期的な研究交流である。今回の交流が行われた期間中は、猪狩君はまだ台湾である

ので直接の貢献があったわけではないが、このような長期の研究交流の実績が積み重なれば、今後の交流がより重層的なものとなることは間違いないであろう。

さて、国立台湾大学との国際交流では、国際交流学会が中心行事であるが、その前後の行事で、本学の学生が台湾の学生と個人的に交流する経験を持つことが重要である。そのために、神奈川大学で学術交流を行なう際には神奈川大学大学院生で Welcome 委員会と呼ばれる組織を作り、密な交流を行なってきた。今回の Welcome 委員会の委員長には生物科学専攻 D2 の佐藤剛君に就任してもらい、委員会のメンバー集めや、学生の交流行事を企画してもらった。佐藤君は 2 年前の Welcome 委員であるだけでなく、昨年 of 学術交流で台湾に派遣されており、これ以上の適任はいない。なお、Welcome 委員は約 15 名であった。「約」とあるのは、Welcome 委員会が流動的な集まりで、飛び入りで参加したり、急に参加できなくなったりするからである。先ほども述べたように、Welcome 委員には、「化学国際交流」を受講した学生が多く含まれている。

3月10日(木)

Welcome 委員 13 名と木原は、国立台湾大学の一行をお迎えするために、チャーターバスで羽田に向かった。特にトラブルもなく全員無事に到着し、安堵した。国立台湾大学の一行のうち、教員は以下の 4 名である。

王 宗興 副教授 (化学系)

詹 益慈 副教授 (化学系)

謝 旭亮 教授 (植物学研究所)

何 佳安 教授 (生物化学科学技術系)

王副教授は「化学国際交流」を台湾で行なう時には毎回講師としてアクティブな授業をしていただいている。詹副教授は台湾側の交流窓口であるだけでなく、猪狩君がお世話になっている。謝教授は 4 年前にも学術交流に参加されている。このように、交流が長いので、既知の間柄が多い。何教授 (今回唯一の女性教員) とは初めてお会いしたが、大変朗らかな方であった。さらに各教員が自分の研究室の学生をそれぞれ 3 名ずつ連れてきた。女性の何教授が連れてきた学生は全員女性で、男性教員が連れてきた学生は全員男性であった。各研究室で良い成果を挙げた学生を 3 名選ぶそうで、男女がきれいに別れたのは偶然だそうである。なお、何教授は RA の研究成果を講演するというので、その RA (これも女性!) も連れてきた。

国立台湾大学の一行をバスに乗せて、まずは鎌倉

に向かった。Welcome 委員は 13 名としてあるので、各メンバーをバスの 2 人掛けのシートに 1 人ずつ座らせ、国立台湾大学の学生とそれぞれ隣同士となるようにした。鎌倉につくまでに自己紹介などをし、早速仲良くなったようである。

鎌倉では鶴岡八幡宮を訪れた (図 1)。1 時間ほどの自由時間の間に、バスで隣り合った同士などで境内や小町通りを散策した。



図 1. 鶴岡八幡宮にて。

夕方の帰宅ラッシュが始まる前に鎌倉を出発し、交通渋滞に遭わずに箱根保養所に移動した。保養所は貸し切りにしてもらったのでゆっくりとくつろぐことができた。美しく盛りつけられた夕食に歓声を上げ、夕食後は温泉も楽しんだ。女性用に用意されているゆかたは人気であった。ロビーでは夜遅くまで懇親の時間が続いた。

3月11日(金)

昨夜半から雪が舞い始めた。すぐに止むような予報が出ていたが、翌朝もまだ雪は降り続いており、周りは一面銀世界であった。経験豊かな教員たちはともかくとして、ほとんどの台湾の学生にとって雪は初めてである。興味津々であった。

何人かの Welcome 委員が用事で朝早く抜けたので、バスの中は 1:1 ではなくなったが、昨日と同じように、仲良く会話しながらチャーターバスで出発した。

まずは、溶岩洞穴としては日本最大の規模を誇る駒門風穴を訪れた (図 2)。箱根から御殿場に降りるにしたがって雪は雨に変わると共に勢いを失い、駒門風穴は快適に訪問することができた。溶岩洞穴は台湾には存在しないので、興味深い訪問であったようである。



図 2. 駒門風穴.

次に、古くからの信仰の対象である天然記念物の溶岩隧道御胎内を訪れた（図 3）。御胎内は、駒門風穴と異なり、溶岩樹型による洞窟なので、一部に非常に狭い個所があり、ここを通り抜けることができれば生まれ変わると言われている。御胎内は標高がかなり高いところにあり、御胎内に近づくとまた風景が銀世界に変わった。バスを降りて御胎内に向かう道にはかなりの積雪があり、台湾の学生達は初めての雪合戦をしたり、小さな雪だるまを作ったり、新鮮な体験をした。御胎内に挑戦した全員が抜けることができ、出口では皆で reborn! と祝福しあった。



図 3. 雪の御胎内神社.

御胎内からは大山に向かった。大山では名物の豆腐のフルコースの昼食を堪能した。ゆっくりと昼食を取っていると雨足が弱まったようだったので、ケーブルカーで下社（図 4）に向かうことにした。ケーブルカーは 2015 年の 10 月に施設を一新しただけのことにはあり、非常にきれいである。

ケーブルカーが上り始めると、辺りの景色がみるみる銀世界に変わって行った。ケーブルカーを降り

ると激しく雪が降っていた。いくら雨降り山とはいえ、タイミングが悪い。あまりの寒さに早々に下山することとした。女坂をゆっくりと降りる計画もあったが、それどころではなかった。



図 4. 雪景色の下社.

大山からは真っ直ぐに湘南ひらつかキャンパスに向かった。台湾の学生たちを国際交流研修施設に案内するのは Welcome 委員会に任せることとし、大山を予定よりも早く出発して時間に余裕があったことから、教員にはキャンパス内を見学していただいた。その後、第三食堂 Luna で歓迎会を開催した（図 5）。化学科を中心に多数の教員が参加し、来日を歓迎すると共に、国際交流のあり方について意見を交換した。歓迎会では加部化学科主任から挨拶をいただいた。この日は 3.11 から 5 年後であることから、3.11 の際の台湾からの篤い援助に対する御礼を述べられ、感動を呼んでいた。



図 5. 歓迎会にて.

終宴後、学生たちは国際交流研修施設で Welcome 委員会メンバーと歓迎会の続きを行なった。教員は

グランドホテル神奈中平塚に宿泊していただいた。

3月12日(土)

朝からきれいに晴れ上がり、昨日とは打って変わって暖かい日となった。学术交流国際会議を行なうのには絶好である。Welcome 委員会には属さない大学院生たちによって前日のうちにスペースが作られ、ポスターボードが設置されており、朝からポスターを貼る学生の姿がみられた。

国際会議のポスターとプログラムを後掲する。サーカムホールが改修で使えなかったため、1号館 AV 教室での開催となっている。今年度の国際会議は平塚シンポジウムとの共催である。そこで、まず、山口理学研究科委員長の挨拶をいただいた。山口教授からも 3.11 についての話があり、台湾の方には強い印象を与えたものと思う。国際交流学会議では、神奈川大学から 4 件（理学部化学科 2、理学部生物科学科 1、工学部物質生命化学科 1）、国立台湾大学から 4 件、産業技術総合研究所から 1 件の招待講演があり、神奈川大学から 35 件（理学研究科化学専攻 24、理学研究科生物科学専攻 8、工学研究科応用化学専攻 3）、国立台湾大学から 13 件のポスター発表があった。また、ポスターを発表した学生のうち神奈川大学から 2 名（化学専攻、生物科学専攻各 1）と国立台湾大学から 2 名は講演のみのショートスピーチも行なった。招待講演はいずれも聞き応えのある内容で、会場からは多くの質問が寄せられた(図6)。



図6. 学术交流国際会議における質疑応答。

ポスター発表は軽食をつまみながらの気楽な雰囲気で行なわれた(図7)。ポスター発表には2時間を用意したがあっという間で、午後の講演が始まってもポスターの前から去り難い多くの参加者があった。

学术交流国際会議が終わった後、発表者と山口理学研究科委員長および理学部国際交流委員会から鈴



図7. ポスター会場での熱心なディスカッション。

木(祥)准教授および木原は平塚で懇親会を行ない、学术交流国際会議の成功を祝うと共に、今後の国際交流の進め方について話し合いをおこなった。国立台湾大学との交換留学により詹研究室で研究をしている猪狩拓真君が山口研究室の M1 であることもあり、特に山口教授は、今後そのような方向に学术交流を進めて行けるよう、様々な提案を行っていた。

一方、学生は国際交流研修施設でパーティーを行ない、やはり、学术交流国際会議での発表の成功を祝った。ビンゴ大会もあり、さらにその後はゲームなどをしながら話し込み、遅くまで交流を行なった。

3月13日(日)

あっという間に国際交流の最終日を迎えた。Welcome 委員 9 名が参加し、まず横浜中華街に行き、「日本風中華料理」を賞味した(図8)。日本人が辛いと感じるチリソースが「全く辛くない」そうで、日本と台湾での味覚の違いを体験した。昼の部屋での食事であり、中華料理といっても異文化体験であったようである。



図8. 昼の部屋での中華料理。

出発時のトラブルのため、中華街を観光する時間は無かったが、なんとかショッピングをする時間を作ることができた。ただ、そのためにカップヌードル博物館に移動するのがぎりぎりになってしまい、冷や汗をかいた。カップヌードル博物館は、チキンラーメンとカップヌードルを中心とする博物館である。いずれも日本で発明され、今では世界中で毎年数10億食が消費されており、日本の食品工業の象徴の1つでもあるので、ぜひ見学していただきたいかった。

なんとか予約に間に合い、本学工学研究科からのWelcome委員会メンバー2人(内1人は国立台湾大学-ただし工学系-からの交換留学生)と合流し、チキンラーメンファクトリーでオリジナルのチキンラーメンを作った(図9)。チキンラーメンがどのような苦勞の末に作られたのか、チキンラーメンに込められた様々な工夫が大変興味深く、日本の匠の心が伝わる忘れられない体験となったと思う。



図9. 自作のチキンラーメンを持つ謝教授。

国立台湾大学一行のうち詹副教授と詹研究室の学生たちは日本国内の旅行をさらに続けるとのことであったが、残りのメンバーは名残を惜しみながら羽田を発って行った。Welcome委員会メンバーはそれを見送り、湘南ひらつかキャンパスへの帰途についてた。

さいごに

神奈川大学と国立台湾大学との国際交流は、回を重ね、学生の交流を中心とする行事として定着してきた。大学院生の中では国立台湾大学との国際交流があることが当然と受け止められ、大学院進学へのモチベーションの1つともなっている。

国立台湾大学との学术交流における長年の懸案事項は、今回のような4日間の交流を、いかにして長

期の研究交流に発展させるかであった。猪狩君がその初めての例として、詹研究室で1年間の研究生活を送っていることは、本学术交流がいよいよ次の段階に発展したことを示している。すでに何人かの学生が猪狩君に続くべく準備を始めている。やはり、大学院生として長期の交換留学をするにあたっては、どの研究室で研究をするかが大事である。猪狩君が詹研究室を選んだのは、国立台湾大学との交流に基づく詹副教授との人間的な関係があったからこそである。多くの学生が長期の研究交流に出かけ、より太いつながりを生んでいって欲しい。

大学院生の学术交流に比べ、学部生の「化学国際交流」はまだ十分定着しているとは言い難い。しかし、「化学国際交流」の先に本学术交流や長期の研究交流がある道筋が整備されてくれば、自然としっかりと根を下ろすことになるであろう。「化学国際交流」で台湾に親しみを感じるようになった学生が、大学院に進学してより本格的な学术交流に進み、あるいは視野を広げて、身構えることなく自然体での国際化に向き合えるようになることを期待している。それは、国立台湾大学との学术交流を超えて、世界中の大学との交流として実を結ぶであろう。

謝辞

第11回神奈川大学-国立台湾大学国際交流は理学研究科特別予算で行ないました。年度末の忙しい中、開催に尽力して下さった多くの関係者の方々に深謝します。

文献

- 1) 杉谷嘉則 (2007) 「国立台湾大学」訪問の記. *神奈川大学理学誌* 18: 103-105.
- 2) 竹内重夫 (2007) 台湾大学における第2回化学科合同シンポジウムに参加して. *神奈川大学理学誌* 18: 107.
- 3) 木原伸浩 (2009) 第四回神奈川大学-国立台湾大学学术交流国際会議. *神奈川大学理学誌* 20: 93-103.
- 4) 木原伸浩 (2010) 第五回神奈川大学-国立台湾大学学术交流の記. *神奈川大学理学誌* 21: 77-88.
- 5) 松原世明 (2011) 第六回神奈川大学-国立台湾大学学术交流の記. *神奈川大学理学誌* 22: 95-107.
- 6) 木原伸浩 (2012) 第七回神奈川大学-国立台湾大学学术交流. *神奈川大学理学誌* 23: 89-98.
- 7) 木原伸浩 (2013) 第八回神奈川大学-国立台湾大学学术交流. *神奈川大学理学誌* 24: 135-139.
- 8) 木原伸浩 (2014) 第九回神奈川大学-国立台湾大学学术交流. *神奈川大学理学誌* 25: 125-130.
- 9) 加部義夫 (2015) 第十回神奈川大学-国立台湾大学学术交流. *神奈川大学理学誌* 26: 97-105.

研究交流報告：付録



Joint Symposium of

11th International Symposium on the Kanagawa University - National Taiwan University Exchange and Hiratsuka Symposium 2016

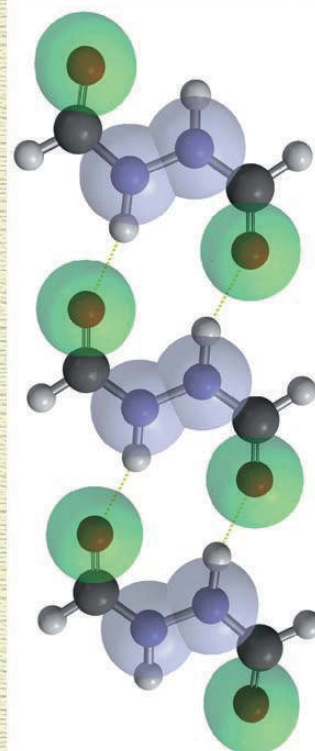
Kanagawa University, SHC, 1-332 (AV room)
12 March 2016 9:30 – 17:20
Poster Session 12:30 – 14:30 at 1-240 and 241

INVITED LECTURES

- Toshiaki Matsubara (KU, Chemistry)**
Application of the ONIOM-Molecular Dynamics (MD) Method to Chemical Reactions
- Tsung-Shing Andrew Wang (NTU, Chemistry)**
Development of Siderophore Conjugates for Selective Bacterial Targeting
- Md. Masud Parvez (KU, Chemistry)**
Oxidatively Degradable Polyamide Bearing Diacylhydrazine Moiety
- Yi-Tsu Chan (NTU, Chemistry)**
Towards Functional Materials: From Self-Assembled Metallomacrocycles to Stimuli-Responsive Supramolecular Polymers
- Hiroshi Watanabe (AIST, Metrological Information)**
Toward an Assurance Case Practice for ¹H NMR Assignment in SDBS
- Hisao Saneyoshi (KU, Material and Life Chemistry)**
Development of bio-degradable protecting groups for oligonucleotide therapeutics
- Hsu-Liang Hsieh (NTU, Institute of Plant Biology)**
Functional studies of FIN219/JAR1 interacting partners in integrating light and jasmonate signaling pathways in Arabidopsis
- Ja-An Annie Ho (NTU, Biochemical Science and Technology)**
Novel DNA Nanotechnology in Medical Diagnosis
- Haruki Hashimoto (KU, Biological Sciences)**
Plastid division, the origins and evolution

SHORT SPEECHES

- Tsubasa Konishi (KU, Chemistry)**
Site-Selective Deposition of Ag Nanoparticulate Ink and Surface Modification Using a Photoresponsive Self-Assembled Monolayer
- Sheng-Yang Ho (NTU, Chemistry)**
Synthesis of Chrysoactin Conjugate for Soft Rot Disease Diagnosis and Treatment
- Tsuyoshi Kobayashi (KU, Biological Sciences)**
Morphogenesis and Adaptive Significance in Sea Urchin Post-Larval Development
- Yen-Ho Chen (NTU, Institute of Plant Biology)**
Functional Studies of HYS Involved in Far-red Light and Jasmonate Signalling Pathway in Arabidopsis



Program

- 9:30 Opening Remarks
- 9:35 Application of the ONIOM-Molecular Dynamics (MD) Method to Chemical Reactions
Toshiaki Matsubara, KU, Chemistry
- 10:05 Development of Siderophore Conjugates for Selective Bacterial Targeting
Tsung-Shing Andrew Wang, NTU, Chemistry
- 10:35 Coffee Break
- 10:50 Oxidatively Degradable Polyamide Bearing Diacylhydrazine Moiety
Md. Masud Parvez, KU, Chemistry
- 11:20 Towards Functional Materials: From Self-Assembled Metallomacrocycles to Stimuli-Responsive Supramolecular Polymers
Yi-Tsu Chan, NTU, Chemistry
- 11:50 Site-Selective Deposition of Ag Nanoparticulate Ink and Surface Modification Using a Photoresponsive Self-Assembled Monolayer
Tsubasa Konishi, KU, Chemistry
- 12:00 Synthesis of Chrysobactin Conjugate for Soft Rot Disease Diagnosis and Treatment
Sheng-Yang Ho, NTU, Chemistry
- 12:10 Morphogenesis and Adaptive Significance in Sea Urchin Post-Larval Development
Tsuyoshi Kobayashi, KU, Biological Sciences
- 12:20 Functional Studies of HY5 Involved in Far-red Light And Jasmonate Signalling Pathway in *Arabidopsis*
Yen-Ho Chen, NTU, Institute of Plant Biology
- 12:30 Poster Session
- 14:30 Toward an Assurance Case Practice for ^1H NMR Assignment in SDBS
Hiroshi Watanabe, AIST, Metrological Information
- 15:00 Development of Bio-Degradable Protecting Groups for Oligonucleotide Therapeutics
Hisao Saneyoshi, KU, Material and Life Chemistry
- 15:30 Coffee Break
- 15:45 Functional Studies of FIN219/JAR1-Interacting Partners in Integrating Light and Jasmonate Signaling Pathways in *Arabidopsis*
Hsu-Liang Hsieh, NTU, Institute of Plant Biology
- 16:15 Novel DNA Nanotechnology in Medical Diagnosis
Ja-An Annie Ho, NTU, Biochemical Science and Technology
- 16:45 Plastid Division, the Origins and Evolution
Haruki Hashimoto, KU, Biological Sciences
- 17:15 Closing Remarks

2015年度 神奈川大学総合理学研究所事業報告

1 人事

(1) 所長・運営委員

所長	生物科学科	教授	鈴木季直
運営委員	数理・物理学科	教授	伊藤 博
	数理・物理学科	教授	水野智久
	情報科学科	教授	木下佳樹
	情報科学科	教授	張 善俊
	化学科	教授	木原伸浩
	化学科	教授	西本右子
	生物科学科	教授	小笠原強
	生物科学科	教授	金沢謙一

(2) 編集委員

委員長	生物科学科	教授	鈴木季直
編集委員	数理・物理学科	教授	長澤倫康
	数理・物理学科	教授	堀口正之
	情報科学科	教授	桑原恒夫
	情報科学科	教授	張 善俊
	化学科	教授	天野 力
	化学科	教授	加部義夫
	生物科学科	准教授	安積良隆
	生物科学科	教授	井上和仁

(3) 産官学委員

委員長	数理・物理学科	教授	水野智久
運営委員	数理・物理学科	准教授	加藤憲一
	数理・物理学科	教授	堀口正之
	情報科学科	教授	桑原恒夫
	情報科学科	教授	張 善俊
	化学科	教授	堀 久男
	化学科	教授	山口和夫
	生物科学科	教授	井上和仁
	生物科学科	教授	鈴木季直

(4) 教育研究委員

委員長	生物科学科	教授	小笠原強
運営委員	数理・物理学科	教授	木村 敬
	数理・物理学科	教授	長澤倫康
	化学科	教授	西本右子

(5) 顧問・特別所員・客員教授・客員研究員

顧問	藤原鎮男、	門屋 卓
特別所員	紀 一誠、	羽鳥尹承

客員教授	松本正勝、	森 和亮
	笹本浜子、	細谷浩史
客員研究員	市川貴美子、	河合 忍、
	岸 康人、	北島正治、
	河野 優、	斎藤保直、
	齋藤礼弥、	坂本峻彦、
	佐藤繭子、	鈴木健太郎、
	谷村昌俊、	辻本和雄、
	堤 一統、	豊泉和枝、
	中川清子、	永島咲子、
	平井 誠、	八柳祐一、
	湯浅能史、	若山典央

2 セミナー・シンポジウム・講演会

(1) 第42回湘南ハイテクセミナー

ー機器分析入門ー

種々の機器分析法の基礎を幅広く講義します。企業や公立機関の新人クラスの分析担当者、あるいは開発部門で分析にも興味を持たれているような方を対象にします。

演題・講師：

1) 「赤外分光」

高柳正夫(東京農工大学大学院 連合農学研究科)

2) 「液体クロマトグラフィー」

渋川雅美(埼玉大学大学院理工学研究科)

3) 「環境分析」

西本右子(神奈川大学理学部化学科)

4) 「質量分析」

明石知子(横浜市立大学大学院 生命医科学研究科)

5) 「NMR分光」

天野 力(神奈川大学理学部化学科)

6) 「有機・高分子材料の組成分析」

松尾大輔(株式会社日東分析センター)

日時：2015年6月4日(木)・5日(金)

10時～16時40分

会場：KUポートスクエア

(みなとみらいクイーンズタワー 14階)

主催：神奈川大学総合理学研究所

後援：日本分析化学会関東支部

(2) 第43回湘南ハイテクセミナー

— 研究開発と分析技術 —

種々の機器分析法の基礎と応用を幅広く講義します。特に、優れた分析技術が研究・開発に対し、いかに重要な寄与をなし得るかという視点を重視します。企業や公立機関の分析担当者、あるいは開発部門で分析にも興味を持たれているような方を対象にします。

演題・講師：

- 1) 「研究・開発と赤外分光」
由井宏治(東京理科大学理学部化学科)
- 2) 「研究・開発と超微量分析」
原口紘丞(名古屋大学 名誉教授)
- 3) 「研究・開発と環境分析」
古田直紀(中央大学理工学部)
- 4) 「研究・開発とNMR」
嶋田一夫(東京大学大学院薬学系研究科)
- 5) 「研究・開発と表面分析」
田沼繁夫(独立行政法人物質・材料研究機構)
- 6) 「研究・開発と材料分析」
志智雄之(株式会社 日産アーク)

日時：2015年12月3日(木)・4日(金)

10時～16時40分

会場：KUポートスクエア

(みなとみらいクイーンズタワー14階)

主催：神奈川大学総合理学研究所

後援：日本分析化学会関東支部

(3) Joint Symposium of 11th International Symposium on the Kanagawa University - National Taiwan University Exchange and Hiratsuka Symposium 2016

日時：2016年3月12日(土)

9時30分～17時20分

会場：神奈川大学湘南ひらつかキャンパス

(1号館332号室)

主催：神奈川大学理学部

神奈川大学総合理学研究所

演題・発表者：

Toshiaki Matsubara (Kanagawa University, Chemistry): Application of the ONIOM-Molecular Dynamics (MD) Method to Chemical Reactions

Tsung-Shing Wang (National Taiwan University,

Chemistry): Development of Siderophore Conjugates for Selective Bacterial Targeting

Md. Masud Parvez (Kanagawa University, Chemistry): Oxidatively degradable polyamide bearing diacylhydrazine moiety

Yi-Tsu Chan (National Taiwan University, Chemistry): Towards Functional Materials: From Self-Assembled Metallomacrocycles to Stimuli-Responsive Supramolecular Polymers

Hiroshi Watanabe (Advanced Institute of Science and Technology, Metrological Information): Toward an Assurance Case Practice for ¹H NMR Assignment in SDBS

Hisao Saneyoshi (Kanagawa University, Material and Life Chemistry): Development of bio-degradable protecting groups for oligonucleotide therapeutics

Hsu-Liang Hsieh (National Taiwan University, Institute of Plant Biology): Functional studies of FIN219/JAR1-interacting partners in integrating light and jasmonate signaling pathways in Arabidopsis

Ja-An Ho (National Taiwan University, Biochemical Science and Technology): Novel DNA Nanotechnology in Medical Diagnosis

Haruki Hashimoto (Kanagawa University, Biological Sciences): Plastid division, the origins and evolution

[ショートスピーチ4件]

Tsubasa Konishi (Kanagawa University, Chemistry): Site-Selective Deposition of Ag Nanoparticulate Ink and Surface Modification Using a Photoresponsive Self-Assembled Monolayer

Sheng-Yang Ho (National Taiwan University, Chemistry): Synthesis of Chrysobactin Conjugate for Soft Rot Disease Diagnosis and Treatment

Tsuyoshi Kobayashi (Kanagawa University, Biological Sciences): Morphogenesis and Adaptive Significance in Sea Urchin Post-Larval Development

Yen-Ho Chen (National Taiwan University, Institute of Plant Biology): Functional Studies of HY5 Involved in Far-red Light and Jasmonate Signalling Pathway in Arabidopsis

[ポスター発表 47件]

神奈川大学大学院理学研究科化学専攻大学院生 24名
 神奈川大学大学院理学研究科生物化学専攻大学院生 8名
 神奈川大学大学院工学研究科応用化学専攻大学院生 3名
 国立台湾大学化学大学院生 6名
 国立台湾大学生物化学科学技術大学院生 3名
 国立台湾大学植物生物学大学院生 3名
 (報告者 木原伸浩 2016.3.29)

(4) 講演会

演 題: 「新しい乳化法」
 講演者: 田嶋和夫 教授
 (神奈川大学特別招聘教授)
 日 時: 2015年6月2日(金)
 15時10分~16時40分
 会 場: 神奈川大学 湘南ひらつかキャンパス
 (6号館307室)
 主 催: 神奈川大学大学院理学研究科
 神奈川大学総合理学研究所
 報 告:

油脂は食品、燃料、薬品をはじめ我々の身の回りで広く使われている。しかし、「油と水は溶け合わない」が、油脂は乳化状態にすることによって、その特性が発現され、高機能化するので、多種多様の油脂が日常生活をはじめ、広範な産業分野で使用されている。本講義は油と水を混ぜて安定な乳化物を作る技術について、以下の項目に従い、平易に解説いただいた。

1. 乳化とは、界面とは。
2. 界面活性剤によるエマルジョンの調製
3. 乳化剤を界面活性剤から親水性ナノ粒子へ
4. 実用化: 化粧品、燃料、食品、農薬など
5. 問題点: 乳化粒子の開発

- (a): 香料(テルペン類)
 (b): 食品添加着色剤(カロテノイド類)

(報告者 山口和夫 2015.6.12)

(5) 講演会

演 題: 「かたちやサイズを整えることで実現する機能性素材とエネルギーデバイス」
 講演者: 久保貴哉 特任教授
 (東京大学先端科学技術研究センター)
 日 時: 2015年6月23日(火)
 15時10分~16時40分

会 場: 神奈川大学 湘南ひらつかキャンパス
 (6号館305室)

主 催: 神奈川大学理学部化学科
 神奈川大学総合理学研究所

報 告:

化学科の菅原が世話人となり、上記講演会を6号館305号室で開催した。分子を基盤とした物性科学の研究例として、講演者が米国カリフォルニア大学のHeeger教授のもとで行った導電性ポリアセチレンに関する基礎的説明および、繊維状ポリアセチレンの配列制御による伝導性向上を目指した研究に関して、分かりやすい説明があった。また近年、集中的に研究している色素増感太陽電池の高効率化研究に関しては、陽極酸化で合成する酸化チタンナノチューブを利用した色素増感太陽電池の高効率化に関する研究、サイズの異なるナノ粒子の多層膜を利用した太陽光の高効率利用についての研究の紹介があった。化学科の教職員、大学院生(数名)、学部学生(約50名)が聴講し、講演終了後も講演者に質問する院生が出るなど、大方の関心を引く講演会となった。

(報告者 菅原 正 2015.7.1)

(6) 講演会

演 題: 「Uncommon Reactivities and Photo-physics derived from or leading to Ruthenium Organometallic Complexes」
 講演者: Chun-Yuen Wong 教授
 (City University of Hong Kong)
 日 時: 2015年7月15日(水)
 16時00分~17時30分
 会 場: 神奈川大学 湘南ひらつかキャンパス
 (6号館304室)
 主 催: 神奈川大学理学部化学科
 神奈川大学総合理学研究所

報 告:

化学科の川本が世話人となり、上記講演会を6号館304号室で開催した。ルテニウム錯体の話を中心に錯体の反応性やその電子状態についてご講演頂いた。また、ルテニウムおよびオスニウム錯体の光物理化学的な特性についてのトピックスにも触れられ、錯体化学を専門としない方にも興味をもっていただけたようである。

(報告者 川本達也 2015.7.17)

(7) 第三回システムアシュランス研究会・

第三回DEOS標準化部会講演会

演題・講師：

- 1) 「サービス化する経済における標準化」
大芦 誠 (日本規格協会 規格開発ユニット、主席専門職)
- 2) 「DEOS ライフサイクルモデルについて」
武山 誠 (神奈川大学プロジェクト研究所 (プログラミング科学研究所)、研究員)
- 3) 「IEC 62853 オープンシステムズディペンダビリティの最新動向」
木下佳樹 (神奈川大学 理学部情報科学科教授 / DEOS標準化部会 主査)

日 時：2015年7月21日(火)
15時30分～18時00分

会 場：KU ポートスクエア
(みなとみらいクイーンズタワー 14階)
主 催：(社)ディペンダビリティ技術推進協会
神奈川大学総合理学研究所
神奈川大学プロジェクト研究所 (プログラミング科学研究所)

報 告：

第1回から引き続き、今回もDEOS標準化部会講演会と合同で開催した。標準化を進めているIEC62853が対象とするシステムは第三次産業(サービス業)であり、産業が益々とサービス化する社会の中でのサービス業全般の標準化の動向を、日本規格協会の大芦誠主席専門職にご講演いただいた。ISOで、マネジメントシステムの仕組みやプロセスの標準化が進んでいるとの説明があった。標準化は、目に見えないサービスを「見える化」してサービスの生産性を向上し、また、品質を向上して安全安心を確保する。そのために標準化は必要だと話があった。

武山誠研究員より、DEOSプロセスを、「OSDが達成されている」をモデルが満たすべき仕様として定式化を試みたペトリネット(離散分散システムを数学的に表現する)モデルが紹介された。

木下よりIEC62853の状況が報告された。2ndCD(委員会原案)の内容紹介と、2ndCDへ対する各国からの意見の集約が手元に届いたところとの説明。次はCDV(国際規格原案)、その次はFDIS(最終国際規格案)の予定で、来年12月出版を予定しているとのこと。もし、3rdCDとなった場合には出版は数か月先へ延

びるとの説明があった。

(報告者 木下佳樹, 奥野康二 2015.7.27)

(8) 講演会

演 題：「ポリ酸-エチニル銀複合クラスタの分子設計」

講演者：尾関智二 教授
(日本大学文理学部)

日 時：2015年8月28日(金)

16時00分～17時00分

会 場：神奈川大学 湘南ひらつかキャンパス
(6号館228室)

主 催：神奈川大学大学院理学研究科
神奈川大学総合理学研究所

報 告：

化学科の力石助教および川本が世話人となり、上記講演会を6号館228号室で開催した。ポリオキシメタレートを主な題材として、ポリオキシメタレートに関する基礎的な解説にはじまり、講演者ご自身の最先端の研究成果まで、大学院生にもわかりやすくご講演いただいた。また、最近判明したポリオキシメタレートが関連した一般的にも重要な話題についてもご紹介いただいた。専門家に限らず、多くの聴衆が興味をもったようである。

(報告者 川本達也 2015.8.31)

(9) 講演会

演 題：「革新的ガラス溶融技術開発」

講演者：井上 悟 氏
(国立研究開発法人 物質・材料研究機構)

日 時：2015年9月30日(水)

15時10分～16時40分

会 場：神奈川大学 湘南ひらつかキャンパス
(6号館204室)

主 催：神奈川大学大学院理学研究科
神奈川大学総合理学研究所

報 告：

大幅な省エネルギー化を目指した革新的ガラス溶解技術開発プロジェクトの概要について述べた。平成20年度～24年度を実施期間とし、ガラスを気中で直接溶融ガラス化する気中溶解技術を柱とする新規のガラス溶融技術を開発した。現行のガラス溶解エネルギーを半分以上削減可能な他、炉の小型化等に伴うガラス製造技術への期待される波及効果について述べた。

(報告者 山口和夫 2015.10.5)

(10) 講演会

演 題：「プロトン応答性配位子をもつ新規
金属錯体の合成と機能開発」
講演者：桑田繁樹 准教授
(東京工業大学 大学院理工学研究科応
用化学専攻)
日 時：2015年10月27日(火)
15時10分～16時40分
会 場：神奈川大学 湘南ひらつかキャンパス
(6号館305室)
主 催：神奈川大学理学部化学科
神奈川大学総合理学研究所
報 告：

化学科の木原が世話人となり上記講演会を開催した。金属錯体の配位子として、ピラゾールのようなものを用いることで、錯体の中心金属上だけでなく、配位子上にも反応点を持たせ、両者の協働により従来にない反応制御が可能になることが紹介された。特に、**Frustrated Lewis Pair**としての効果やヒドラジンの不均化触媒への応用などが紹介され、窒素の固定化への期待も講演された。化学科の教員やポスドクだけでなく、大学院生や学部学生など、約30名が聴講し、講演後には活発な質疑応答が行なわれた。
(報告者 木原伸浩 2015.11.7)

(11) 講演会

演 題：「橋かけケイ素、ゲルマニウム配位子の多彩な反応性を利用した錯体合成と触媒反応機構の解明」
講演者：小坂田耕太郎 教授
(東京工業大学資源化学研究所)
日 時：2015年11月4日(水)
15時30分～16時30分
会 場：神奈川大学 湘南ひらつかキャンパス
(6号館304室)
主 催：神奈川大学理学部化学科
神奈川大学総合理学研究所
報 告：

化学科の川本が世話人となり、上記講演会を6号館304号室で開催した。有機金属化学における優れた研究成果をご講演頂いた。特に、ケイ素あるいはゲルマニウム配位子が架橋配位した大変特徴的な構造と電子状態を有するパラジウムおよび白金錯体について最新の研究成果をご紹介いただき、多くの聴衆が興味をもったようである。
(報告者 川本達也 2015.11.6)

(12) 講演会

演 題：「Subnormality of unbounded operators via inductive limits」
講演者：Piotr Budzynski 教授
(ポーランド・University of Agriculture in Krakow)
日 時：2015年11月7日(土)
10時20分～11時20分
会 場：神奈川大学 湘南ひらつかキャンパス
(13号館103室)
主 催：神奈川大学理学部数理・物理学科
神奈川大学総合理学研究所
報 告：

Piotr Budzynski 氏は量子力学で現れる作用素として、creation作用素があるが、それは非有界作用素であり、その研究で重要な作用素の性質であるsub-normalityについて、帰納的極限によるアプローチでの研究を紹介された。
(報告者 長 宗雄 2015.11.18)

(13) 講演会

演 題：「On generalized Jacobson's lemma and spectral properties of operators」
講演者：Chafiq Benhida 教授
(フランス・リール第1大学)
日 時：2015年11月7日(土)
11時20分～12時20分
会 場：神奈川大学 湘南ひらつかキャンパス
(13号館103室)
主 催：神奈川大学理学部数理・物理学科
神奈川大学総合理学研究所
報 告：

今回の講演では作用素論で joint spectrum に関わる問題で Jacobson Lemma においては criss-cross 可換性の条件の下で示されていたのであるが、これを弱可換性とのより一般的な条件のもとで Jacobson Lemma が成り立つことを示した。この証明を行うと共に、これに関連してスペクトルの性質についての最近の研究成果についても講演された。
(報告者 長 宗雄 2015.11.18)

(14) 講演会

演 題：「Spring-8/SACLAの新しい光に期待する生物中心教義の謎解明」
講演者：別所義隆 博士
(台湾中央研究院 生物化学研究所)

日 時：2016年2月4日(木)
15時30分～16時30分
会 場：神奈川大学 湘南ひらつかキャンパス
(6号館206室)
主 催：神奈川大学光合成水素生産研究所
神奈川大学理学部生物科学科
神奈川大学総合理学研究所

報 告：

生物科学科の井上が世話人となり、上記講演会を開催した。生物の持つ基本的な遺伝子情報の発現に関わるタンパク質の翻訳機構について、特に、運搬RNA、アミノアシル化tRNA合成酵素、遺伝暗号の進化についての基礎的な解説にはじまり、台湾中央研究院と日本の理化学研究所との共同研究の現状についてご紹介いただいた。講演の後半ではSPring8に併設されたSACLAによる生きたままの状態に近い細胞観察の研究の最新成果を講演していただいた。生物科学科の学生や教職員にとどまらず、化学科の学生や教職員にも講演会に多数参加していただき、講演後には熱心な質疑が行われた。

(報告者 井上和仁 2016.2.12)

(15) 日本動物学会 第68回関東支部大会
公開シンポジウム「昆虫生理学-今と昔-」
演題・講師：

1) 「お蚕さまを愛した人々-昆虫ホルモンの始まりと発展-」 桜井 勝 館長 (サイエンスヒルズこまつひとものづくり科学館)

内容：

昆虫の脱皮や変態を調節するホルモンについて、1918年から1991年にかけての世界の研究の流れと日本の研究者の果たした役割について解説していただいた。特に、養蚕業が盛んだった時代に、カイコが自由に使え、カイコを研究材料とすることを愛した日本の研究者がこの世界をリードしてきたことについて詳しく紹介していただいた。

2) 「ホルモン応答によってもたらされた昆虫の進化」

藤原 晴彦 教授 (東京大学大学院 新領域創成科学研究科)

内容：

昆虫の多様な適応形質はホルモンによって制御されており、この制御機構は昆虫生理学の中心的なテーマとして古くから研究されてきた。本講演では捕食者などを攪乱する「擬態」

の背景にある分子機構について、アゲハチョウを例に挙げ紹介していただいた。さらに、脱皮や変態で培われた基本的なホルモン応答システムが、どのように擬態のシステムに組み込まれたのかについて、進化的な視点を交えて紹介していただいた。

3) 「昆虫脳ニューロンの膜興奮性とイオンチャンネル」

吉野 正巳 教授 (東京学芸大学 教育学部)

内容：

昆虫は体表に張り巡らされた多くの感覚器官から外界情報を集め、中枢神経系で処理・判断して行動へ繋げている。昆虫の学習・記憶の中枢は、脳のキノコ体と呼ばれる領域である。フタホシコオロギのキノコ体から解離したケニオン細胞において、Na⁺、Ca²⁺、及びK⁺チャンネルはそれぞれ性質を異にする複数のチャンネルから成り、相互に作用し合い、役割分担することにより膜興奮性を巧妙に調節していることを紹介していただいた。

4) 「昆虫の中枢神経系ではたらく神経伝達物質」

泉 進 教授 (神奈川大学理学部生物学科)

内容：

昆虫の中枢神経は前後に走る平行した一対の神経索と、それによって連結される一連の対になった神経節から構成されている。カイコガの中枢神経系ではアセチルコリンが主要神経伝達物質であること、ならびに、アセチルコリンを神経伝達物質として用いるコリン作動性神経の同定と中枢神経系における分布状況について紹介がなされた。

日 時：2016年3月12日(土)

10時00分～12時00分

会 場：神奈川大学 横浜キャンパス
(3号館B104号室)

主 催：日本動物学会関東支部
神奈川大学総合理学研究所

報 告：

生物科学科の大平が世話人となり、上記の演題でシンポジウムを開催した。理学部生物科学科と理学研究科生物科学専攻の学生の他に近隣の高校生や中高教員にも多数参加していただき、盛大なシンポジウムを開催することができた。

(報告者 大平 剛 2016.3.24)

(16) 第5回システムアシュランス研究会

第4回DEOS標準化部会講演会

演題・講師：

- 1) 「計量器のリスク対策の変化」
渡邊 宏((国研)産業技術総合研究所)
- 2) 「アシュランス議論のための6W1Hモデル」
木下修司(神奈川大学プロジェクト研究所
(プログラミング科学研究所))
- 3) 「IEC 62853 Open system dependability 制定
活動の最新動向」
木下佳樹(神奈川大学理学部情報科学科)

日 時：2016年3月16日(水)
16時00分～18時00分

会 場：KUポートスクエア
(みなとみらいクイーンズタワー 14階)

主 催：社)ディペンダビリティ技術推進協会
神奈川大学総合理学研究所
神奈川大学プロジェクト研究所 (プロ
gramming科学研究所)

報 告：

変化しつづけるシステムのディペンダビリティの好例として、特定計量器について産業技術総合研究所の渡邊宏主任研究員にご講演いただいた。特定計量器は型式承認・検定を必要とするが、技術の進展に伴い、機械式から、電子化、ソフトウェア制御、ネットワーク接続、無線通信が導入されてきた。これらと共に型式承認試験等の方法が変化し続けることとなり、新たな課題・リスクを生み、それへの対策が必要となる。特定計量器へ無線通信が導入されたことによるリスク対策が紹介された。

木下修司RAより、自然言語で記述された平塚市地域防災計画をDEOSの枠組みによってアシュランス議論をするための6W1Hモデルが紹介された。地域防災計画をシステムとして捉える手法を模索する中で考案したこのモデルにより、アシュランスケースを記述中。地域防災計画というこれまでのアシュランスケースの対象とは異色であることから、今後の研究の成り行きが注目される。

木下よりIEC62853の状況と、それを取り巻く状況が報告された。IEC62853の3rdCD(委員会原案)の内容が紹介された。次は6月にCDV(国際規格原案)配布、その次は来年1月にFDIS(最終国際規格案)配布の予定で、来年10月出版を予定しているとのこと。また、ISO/IEC 15026-4 Assurance in the life cycle

へOSDの考えが埋め込まれているとの紹介があった。全体に聴講者から活発な意見・質問がなされた。

(報告者 木下佳樹, 奥野康二 2016.3.16)

(17) 平塚祭 特別参加企画

テーマ：「神大理学部の産官学連携へのアプローチ」公募に参加した理学部の研究をポスターで紹介

日 時：2015年10月24日(土)、25日(日)
10時00分～16時00分

会 場：神奈川大学 湘南ひらつかキャンパス
(6号館226室)

主 催：神奈川大学総合理学研究所

3 産官学 活動実績

(1) 展示会

「BIO tech 2015」

日 時：2015年5月13日(水)～15日(金)

会 場：東京ビッグサイト

出展者：神奈川大学理学部化学科
教授 上村大輔

テーマ：「抗肥満薬リードの提案」

出展者：光機能性材料研究所
独立研究者 中西 淳

テーマ：「光応答性細胞移動アッセイ系」

主 催：リードエグジビションジャパン(株)

(2) 展示会

「イノベーションジャパン2015」

日 時：2015年8月27日(木)、28日(金)

会 場：東京ビッグサイト

出展者：神奈川大学理学部化学科
教授 山口和夫

テーマ：「細胞接着性を光制御できるガラスボトムディスプレイの開発」

出展者：神奈川大学理学部情報科学科
教授 木下佳樹

テーマ：「形式アシュランスケース・フレームワークとその自動車機能安全への応用」

主 催：独立行政法人科学技術振興機構
独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構

(3) 展示会

「JASIS 2015 ～アジア最大級の分析・科学機器展」

日 時：2015年9月2日(水)～4日(金)

会 場：幕張メッセ

出展者：神奈川県立理学部化学科
教授 西本右子

テーマ：「“環境に優しい”から一歩進めて“環境を育てる”ための前処理、分析法、アプリケーションの紹介、汎用分析機器を用いてできる水と天然物の力に注目した研究内容展示」

主 催：一般財団法人日本分析機器工業会
一般財団法人日本科学機器協会

(4) 展示会

「湘南ひらつかテクノフェア 2015」

日 時：2015年10月24日(土)～26日(月)

会 場：ひらつかアリーナ

出展者：理学部生物科学科
教授 井上和仁

テーマ：「光合成微生物を利用した水素生産」

主 催：平塚商工会議所

(5) 特 許

[日本出願]

1) 「化合物、表面処理剤、及び表面処理方法」
山口和夫

2) 「文章読解支援装置、並びに、注釈データ作成装置、注釈データ作成方法及び注釈データ作成プ

ログラム」

桑原恒夫

3) 「レニウムの回収方法」

堀 久男

4) 「新規化合物」

上村大輔、川添嘉徳、小林里美、大村幸和、犬塚俊康

5) 「シャーレ型細胞培養容器」

山口和夫、伊藤倫子、山本 翔太、中西 淳、山本 浩司

6) 「パターン形成方法及び対象物の被処理面の改質方法」

山口和夫、小西 翼、川上雄介

7) 「含フッ素組成物、パターン形成用基板、光分解性カップリング剤、パターン形成方法及びトランジスタの製造方法」

山口和夫、川上雄介

8) 「レニウムの回収方法、レニウムとその他の金属とを含む溶液からレニウムを選択的に回収する方法、及びレニウムとその他の金属とを含む」

堀 久男

[海外出願]

1) 「含フッ素化合物、パターン形成用基板、光分解性カップリング剤、パターン形成方法、化合物」
(アメリカ)

山口和夫、川上雄介

Science Journal of Kanagawa University

投稿規定

1 編集方針

Science Journal of Kanagawa University は、神奈川大学総合理学研究所の事業および研究の成果を公表する科学誌であり、事業報告、公募研究の成果報告論文、情報科学、化学、生物学その他理学全般にわたる所員による一般研究論文、所員が所外の研究者と行なった共同研究に関する論文等を掲載する。投稿者は原則として神奈川大学総合理学研究所所員であるが、編集委員会の承認により所員以外の投稿論文も掲載する。論文の共著者については特に規定しない。本誌名称の略記は *Sci. J. Kanagawa Univ.* とし、和名は神奈川大学理学誌である。

2 掲載論文の種類

研究論文は、総説 (Review) と原著 (Full-Length Paper/ Note) とし、原著には短報 (Note) を含む。報告書 (Report) は原著に準ずる。

上記論文の他に、テクニカルノート (Technical Note)、教育論文 (Educational Paper) および研究交流報告 (Report of Research Communication) を掲載する。

掲載する論文は和文および英文である。

3 原稿の体裁 (総説および原著)

総説および原著論文 (短報を含む) の原稿は、下記要領に従って、そのまま印刷できるように仕上げる。なお、テクニカルノート、報告書、教育論文および研究交流報告についてはそれぞれ以下の4、5、6、7に示す。

(1) 頁数

短報は、刷り上がり4頁以内とするが、それ以外の論文には特に頁制限はない。但し、編集委員会により論文が冗長と判断された場合には頁数は限定される。また、12頁を超える場合には超過分に係わる経費は著者の負担とする。

(2) 原稿用紙サイズ

A4版の用紙を用いる。本文および図表の占める範囲 (紙面) は縦横 245 × 170mm とす

る。この場合、余白は、上辺 30 mm、下辺 20 mm、左辺 20 mm、右辺 20 mm である。

(3) 段組み

研究課題名、著者名、研究課題名 (英語)、著者名 (英語)、所属 (英語)、Abstract (英文)、Keywords (英語) は1段組みとする。但し、所属、Abstract、Keywords は紙面内で更に左右およそ 10 mm ずつの余白を置く。

研究課題名、著者名、研究課題名 (英語)、著者名 (英語) は中央揃え、所属 (英語)、Abstract (英文)、Keywords (英語) は左右両端揃えとする。

序論、材料と方法、結果、討論、謝辞、文献は2段組み、左右両端揃えとする。

(4) 使用文字 (フォントの種類)

基本的に、和文はMS明朝、英文はCenturyとする。但し、μなどのギリシャ文字や数学記号などを部分的に異なる字体にすることは差し支えない。

図の説明文および表もこれに準ずるが、図中の文字や記号については特に限定しない。文字サイズは下記の各項目で指示する。

(5) 論文構成

研究課題名、著者名、研究課題名 (英語)、著者名 (英語)、所属 (英語)、Abstract (英文)、Keywords (英語)、序論、材料と方法、結果、討論、謝辞、文献 (英語または日本語) の順とする。図と表は本文中の適切な位置に挿入する。

(6) 論文種の表示

第1頁、第1行目に左揃えで、前後に■記号を付して論文種を記入する。

例えば、■総説■、■原著■、■原著 (短報) ■、■報告書■ など、英文では、■Review■、■Full-Length Paper■、■Note■、■Report■ など。

最終的には編集委員が判断して論文種を決定する。

文字は、MSゴシックで11P (ポイント) とし、太字にはしない。

次の研究課題名まで1行あける。

(7) 研究課題名、著者名、所属

本文が和文の場合、研究課題名（日本語）は太字（Bold）で14P（ポイント）、著者名（日本語）は太字で12Pとする。著者と著者の間は1文字分のスペースをあける。

続く、研究課題名（英語）は13P、著者名（英語）は12P、所属（英語）は9Pとし、これらは太字にしない。

本文が英文の場合、研究課題名は太字で14P、著者名は太字で12P、所属（英語）は太字にせず9Pとする。

それぞれの間は1行あけを原則とするが、著者名（英語）と所属（英語）の間は行間をあけない。

著者の所属が複数の場合には、各著者名末尾および対応する所属の先頭に上つき数字（1、2、3、など）を付し区別する。

本文が英文の場合、研究課題および所属は前置詞、冠詞、接続詞を除き各語の最初の文字を大文字で記述し、著者名はフルネームで名姓の順に記述する。最終著者の前は“and”を置く。

次のAbstractまでは1行あける。

(8) Abstract

要旨は原則的に英文とする。語数は250語程度が適切であるが、特に制限しない。

見出し（Abstract:）からは1文字あけて要旨本文を書く。

文字サイズは、見出し（Abstract:）は太字で11P、要旨本文は10Pとする。

(9) Keywords

要旨に続けて、行間をあけず、Keywords:の見出しを置き、1字あけて、5語程度（英語）のKeywordsを付す。

文字は10Pを用い、見出し（Keywords:）はイタリックで太字とする。

次の本文との間は1行あける。

(10) 本文

横2段組、各段48行とする。

1行の文字数は和文23文字、英文46文字とする。

序論、材料と方法、結果、討論、謝辞、文献の各項目の見出しは左揃えとする。

各項目間は1行分のスペースをあける。

文字サイズは、各項目の見出しは太字で12P、本文は10Pとする。

各項目の第1段落の出だしは左寄せではじめ、第2段落から出だしを1文字（英文では

2文字）あける。

必要なら、各項目内で小見出しを設ける。小見出しは太字で10Pとする。

小見出しの文章の出だしは左寄せとする。

(11) 文献

文献の項目見出しは左揃えとする。

文献は本文に引用した順に番号を付し、記載する。

番号は片括弧（閉じ括弧のみ）表示とする。

本文中では、片括弧つき番号を“上つき文字”とし、該当する部分に必ず記入する。

文字サイズは、項目の見出しは太字で12P、各文献は9Pとする。

文献が日英混合の場合、和文の文献のアルファベットと数字には、Centuryのフォントを用いる。

以下は記入例である。著書、分担著書、原著、学位論文、学会発表などにより表記法が異なるので、それぞれの記入例を参照して正確に記載する。

- 1) Fawcett DW and Revel J-P (1961) The sarcoplasmic reticulum of a fast-acting fish muscle. *J. Cell Biol.* **10** Suppl: 89-109.
- 2) Suzuki S, Hamamoto C and Shibayama R (2005) X-ray microanalysis studies on the calcium localization along the inner surface of plasma membranes in the anterior byssus retractor muscle of *Mytilus edulis*. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **16**: 9-17.
- 3) Squire J (1981) *The Structural Basis of Muscular Contraction*. Plenum Press, New York.
- 4) Suzuki S and Sugi H (1982) Mechanisms of intracellular calcium translocation in muscle. In: *The Role of Calcium in Biological Systems, Vol. I*. Anghileri LJ and Tuffet-Anghileri AM, eds., CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 201-217.
- 5) Owada M (2011) Phylogeny and adaptation of endolithic bivalves in the Mytilidae. *D.Sc. thesis, Kanagawa University, Japan*.
- 6) Taiz L and Zeigen E [西谷一彦, 島津研一郎 監訳] (2003) *テイツ ザイガー 植物生理学 第3版*. 倍風館. 東京
- 7) 鈴木季直 (1989) 電子顕微鏡による生物試料の元素分析法. *微生物* **5**: 34-44.

- 8) 佐藤賢一, 鈴木季直 (1998) *生命へのアプローチ*. 弘学出版, 東京.
- 9) 鈴木季直 (1992) 凍結技法, 第6章. *よくわかる電子顕微鏡技術*. 平野 寛, 宮澤七郎監修, 朝倉書店, 東京. pp. 137-148.
- 10) 安積良隆, 鈴木秀穂 (2003) シロイヌナズナを用いた植物の有性生殖研究における最近の展開 2003. *神奈川大学総合理学研究所年報 2003*. pp.41-80.

(12) 表

本文中の適切な部分に挿入し、紙面内では中央揃えとする。

表の上部には必ず番号(表 1.、Table 1. など)とタイトルを付し、本文との整合を期す。

表のタイトルは、表の幅にあわせて両端揃えとする。

表のスタイルについては特に定めないが、用いる文字や数字のサイズは本文のそれを超えないように配慮する。

(13) 図

本文中の適切な部分に挿入し、紙面内では中央揃えとする。

図には必ず番号(図 1.、Fig.1. など)を付し、本文との整合を期し、図の下部に番号と説明文を加える。図が細分化されている場合には、A、B、C… (図 1A.、Fig.1A. など)をつけて区別する。

図の説明文は、図の幅にあわせて両端揃えとする。

図の説明文に限り、和文でもピリオド(.)とカンマ(,)を用いる(和文の句読点はいない)。

図の番号および説明文の文字サイズは9Pとする。

図はできるだけ分かりやすいものとし、図中の文字や記号は高さ3～5 mm程度にする。

写真はデジタル化で不明瞭にならないよう、極度の圧縮は避ける。

(14) 単位

SI unit を用いる。和文であっても、原則的に、数値および単位には半角文字を用い、%および°Cを除き、数値と単位の間は必ず半角分スペースをあける。

(15) 作製見本

希望者には作製見本(デジタルファイル)を配付する。

原稿は、作製見本および既に発表されている本誌の各論文を参照して作製する。

4 原稿の体裁 (テクニカルノート)

これに該当するものは、研究技術および研究装置の紹介記事である。

研究論文(原著)の規定に準じて原稿を作製する。

5 原稿の体裁 (報告書)

これに該当するものは、神奈川大学および総合理学研究所より研究費助成を受けた研究の報告書である。

下記要領に従って、原稿はそのまま印刷できるように仕上げる。

個別の助成研究の報告書は原著と同等に扱うので3の規定に準じて原稿を作製する。

多人数による共同研究のうち、

(1) 各研究者が全員原著と同等の論文(短報の場合も含めて)を投稿出来る場合は、それらを原著として扱い、原稿は3の規定に準じて作製する。

(2) 各研究者が要約を作製し、代表者がそれらを一つの報告書としてまとめる場合は、編集委員会の指示に従ってこれを作製する。この場合も、文書のレイアウト、フォントの種類とサイズなどの基本的な原稿作製基準は3の規定と同じである。

報告書のうち、著者が希望し編集委員会が採択したもの、あるいは編集委員会が選択し著者の同意が得られたものは原著または短報として掲載する。

6 原稿の体裁 (教育論文)

これに該当するものは、自然科学分野の教育研究や教育技法に関する論文、および完成度が高く簡潔に纏められた実習テキストなどである。

研究論文(原著および報告書)の規定に準じて原稿を作製する。

7 原稿の体裁 (研究交流報告)

これに該当するものは、研究交流を目的とした他大学・研究所訪問記、海外研究留学報告、国内外開催の国際学会参加報告などである。

本誌、18巻掲載の該当論文を参照し、英文要旨を省略できることを除いて、研究論文(原著および報告書)の規定に準じて原稿を作製する。

8 投稿と略題名 (Running Title) 提出

明瞭に印刷された図を含むオリジナルの印刷された原稿 1 部とそれがファイルされているデジタル記録媒体 (FD、MO、CD など) を編集委員会 (神奈川大学総合理学研究所) に提出する。

論文の課題名が長い場合には、和文で 25 字、英文で 50 字以内の略題名 (Running Title) が必要である。略題名は原稿に加え、別紙に記入して提出する。

9 投稿論文の審査

適時、レフリーによる校閲を行ない、採否や再投稿請求は編集委員会で決定する。

総説、および編集委員会が認める特殊な報告書の場合を除き、既に発表されている論文の著作権を侵害するような原稿は採用されない。

10 原稿の校正

掲載決定原稿は、ゲラ刷りの段階で著者の校正を依頼する。校正は最低限の修正に留める。

11 投稿料

原則として投稿は無料であるが、カラー印刷を含むものについての著者経費負担の有無および負担額は編集委員会で決定する。投稿原稿の体裁が規定にあわず、編集段階で修正に経費が生じた場合は著者が実費を負担するものとする。また、いずれの範疇であっても、論文が 12 頁を超える場合には、超過分に係る経費は著者がその実費を負担するものとする。

12 別刷

掲載された総説および原著 (短報を含む) は別刷り 50 部が著者に無料贈呈される。50 部を超えて希望された別刷部数については実費を徴する。

13 著作権等

掲載論文の内容についての責任は著者が負うものとする。その著作権は著者に属するが、著作権は神奈川大学総合理学研究所に属する。

Author Index

A

Adachi, Takeshi	安達 健	63
Amano, Chikara	3
Aoki, Takashi	青木 孝	15
Atsumi, Takuya	渥美拓也	89

F

Fujiwara, Makoto	藤原 誠	67
Fukumoto, Yu	福本 悠	67

H

Han, Hao	韓 浩	85, 97
Hashimoto, Haruki	箸本春樹	67
Hayatsu, Manabu	早津 学	45
Hoshino, Yasushi	9

I

Inoue, Yusuke	井上雄介	39
Izumi, Susumu	泉 進	63

K

Kanazawa, Ken'ichi	金沢謙一	53, 59, 73, 81
Kasuga, Noriko Chikaraishi	力石紀子	39
Kawamoto, Tatsuya	川本達也	1
Kihara, Nobuhiro	木原伸浩	101
Kinoshita, Yoshiki	木下佳樹	23, 29
Kobayashi, Tsuyoshi	小林 剛	59

M

Maeda, Tatsuro	前田辰郎	15
Matsui, Shogo	松井祥悟	77
Matsunaga, Satoshi	松永 諭	39
Mihara, Kohei	三原航平	39
Misaka, Runa	三坂瑠奈	67
Mizuno, Tomohisa	水野智久	15

N

Nagamatsu, Leo	永松礼夫	89
Nakahara, Hayao	中原早生	23
Nakata, Jyoji	9
Nakayama, Takashi	中山 堯	85, 97
Nishimoto, Yuko	西本右子	53, 81
Nomiya, Kenji	野宮健司	39

O

Okuno, Koji	奥野康二	29
Osada, Hironori	長田宏紀	39
Otaki, Takuya	大滝卓也	39
Owada, Masato	大和田正人	59

S

Saito, Masaya	齋藤礼弥	59, 73
Saito, Yasunao	9
Samejima, Toshiyuki	鮫島俊之	15
Sato, Mitsue	佐藤光恵	45
Suzuki, Suechika	鈴木季直	45
Suzuki, Yoshihiro	鈴木祥弘	53, 81

T

Takahashi, Ryohei	高橋遼平	63
Takei, Takaya	武井尊也	81
Takeyama, Makoto	武山 誠	29
Tateishi, Maki	立石真希	67

W

Wakayama, Norio	若山典央	73
Watanabe, Hiroshi	渡邊 宏	29

Y

Yachida, Gosuke	9
Yoshida, Shiori	吉田汐里	59

編集後記

本年度の発刊をもちまして Science Journal of Kanagawa University (神奈川大学理学誌) も第 27 巻を数えることになりました。編集委員として、まず最初に論文、報告書等を投稿して下さった著者の皆様、編集長をはじめ編集および印刷に協力して下さった方々に厚く御礼申し上げます。本誌は前身である神奈川大学理学研究所年報の時代から発展の歴史を積み重ね、総合理学研究所所員と理学部教員の研究成果の発表の場として定着して参りました。理学全般の論文を掲載する本誌は、所員間の情報交換の場ともなり、他誌にはない魅力があります。これまでに、誌名を変更し論文を主体にするなど大きな改革がなされてきましたが、改革の成果が着実に実を結んできているものと考えます。本年も原著論文、報告書、テクニカルノート、教育論文、研究交流など計 18 の論文と報告書が掲載される運びとなりました。総ページ数は 120 ページを超え、充実した内容となっております。お読みになる皆様には必ずや満足して頂けるものと自負しております。

編集作業は投稿規定が定着、浸透してきたおかげか、苦勞するところが無いわけでもありませんが、概ねスムーズに進行するようになりました。この点に関しましても寄稿して下さった著者の方々にお礼申し上げます。今後も改正すべき点は改正して、よ

り多くの皆様に投稿して頂けるよう努力して行きたいと考えます。総合理学研究所所員も理学部の発展に伴い様々な分野の方が所属されています。これからも理学部は時代の流れに応じてより一層の拡充が行われ、今はまだ想像すらできないような領域の研究が盛んになり、それが将来、学科として成立するやも知れません。理学の幅広い分野からより多くの論文を掲載することが本誌の使命であります。ご意見や注文等が御座いましたら、今後の発展のためにも編集委員にお伝え願えればと思います。

来年度は例年通りの原著論文や報告書を掲載する号と、それとは別に理学部開設 30 周年を記念する特集号を発刊する予定です。学力低下が叫ばれる昨今では、大学教員も教育に以前に増して大きな力を注がねばなりません。特集号では教育を念頭に置いた論文を総合理学研究所所員全員に寄稿して頂き、総合研究所所員及び理学部教員の教育への取り組みを研究所内外にアピールする所存です。どうかご期待ください。最後に、本誌が神奈川大学とともに大きく発展していくために皆様方からのさらなるご支援とご協力をお願い申し上げます。

[神奈川大学総合理学研究所、
理学部生物科学科 安積良隆]

神奈川大学理学誌編集委員会		Science Journal of Kanagawa University	
委員長		Editor-in-Chief	
川本達也	化学科	Tatsuya Kawamoto	Department of Chemistry
委員		Editors	
安積良隆	生物科学科	Yoshitaka Azumi	Department of Biological Sciences
天野 力	化学科	Chikara Amano	Department of Chemistry
井上和仁	生物科学科	Kazuhiro Inoue	Department of Biological Sciences
加部義夫	化学科	Yoshio Kabe	Department of Chemistry
桑原恒夫	情報科学科	Tsuneo Kuwabara	Department of Information Sciences
張 善俊	情報科学科	Shanjun Zhang	Department of Information Sciences
長澤倫康	数理・物理学科	Michiyasu Nagasawa	Department of Mathematics and Physics
堀口正之	数理・物理学科	Masayuki Horiguchi	Department of Mathematics and Physics
顧問		Adviser	
鈴木季直	神奈川大学名誉教授	Suechika Suzuki	Emeritus Professor of Kanagawa University

Science Journal of Kanagawa University Vol. 27 (Sci. J. Kanagawa Univ.)

発行日 2016 年 6 月 30 日
 編集者 Science Journal of Kanagawa University 編集委員会
 発行者 神奈川大学総合理学研究所
 発行所 〒 259-1293 平塚市土屋 2946
 Tel. 0463-59-4111 (内 2500)
 Fax. 0463-58-9684
 印刷所 光和アドバンス株式会社

神奈川大学総合理学研究所

Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University