反応－拡散モデルによる真菌増殖現象の数理的形態解析

NUMERICAL MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF FUNGAL GROWTH BASED ON REACTION－DIFFUSION MODEL

伊藤 一秀*, 水野 優**
Kazuhide ITO and Yu MIZUNO

The overarching objective of this study is to develop the numerical model based on reaction-diffusion model that predict colony forming by taking into account the influence of nutrients, moisture, temperature and surface characteristics of building materials for various fungi. Toward this end, this paper provides two results. The first topic is the results of fundamental experiment which measure the growth responses of colony size on culture media under various environmental conditions. The second topic is concerning the mathematical models that reproduce the colony formation on the PDA medium and numerical simulation intended for the experimental conditions. As results by the execution of the sensitivity analysis, we did the fitting of the model coefficient by using the experiment data. The mathematical models proposed by this research received a strong influence to the nourishment concentration on the surface of construction materials, and were in reasonable agreement with the experimental data.

Keywords : Fungi, Proliferation Rate, Mathematical Model, Colony
真菌類, 増殖速度, 数理モデル, コロニー

1. 序

浴室等の高湿度環境となる空間では、壁面表面において目視可能なスケールで真菌増殖が確認される。特にクロカワカビ(*Cladosporium*)やエクソフィアラ(*Exophiala spp*)といった黒カビの増殖が顕著に観察されることが多く、室内美観の観点だけでなく、健康影響の側面からも汚染メカニズムの原理的解明と対策技術の確立が強く求められている。室内での真菌汚染問題に特化した場合、その増殖メカニズムは真菌種や属に依存すると共に、増殖・生育環境となる建材表面(胞子付着面)の温度、含水率(自由水量)、水素イオン指数(pH)や養分量に強く影響を受ける。また、真菌の増殖速度は雰囲気空気の温度、湿度ならびに含有化学物質等にも依存することが明らかとなっている。

このような背景のもと、本研究では一般的な室内環境中に存在する真菌を対象として、雰囲気空気と接する建材表面における真菌増殖現象を予測する数理モデルを作成することに主眼がある。一般に、建材表面での真菌増殖現象は建材内部への菌糸成長を含めた3次元現象であるが、本報では建材表面のみを対象とした2次元平面上での現象と仮定して数理モデルを構築し、実験結果と比較することで予測精度の確認を行った結果を報告する。

2. 微生物増殖モデルに関する既往研究

生命科学や生物学の分野では、増殖現象の基本概念を数理モデルとして定式化し、コンピュータシミュレーションや解析によって現象把握を行う数理的アプローチが急速に展開しており、一般には数理生物学や理論生物学とよばれる分野を形成している。

特に細胞レベル程度から細菌(バクテリア)や真菌といった微生物を対象とした増殖現象に関しては、増殖速度が個体密度に依存するロジ

スティック(Logistic)モデルをベースに個体群(生物集団)のマクロな生命現象を表現する試みが行われてきた。ロジスティックモデルは、微生物個体の増加速度が現時点での個体数に比例するとした微分方程式(所謂マラスモデル)の比例定数を個体密度と共に減少する関数に置換したもので、その一般解はシグモイド型関数となる。また分子の合成反応や酵素反応レベルの反応系速度を対象とした有効性の高い式として、ミカエル・メンテン式(Michaelis-Menten kinetics)が提案されている¹⁾。

細菌や真菌のコロニー形成といった微生物のパターン形成に着目した場合、均一な個体群密度分布より不均一な増殖パターンを再現する基本モデルとしてチューリングモデル(Turing model)が提案されている²⁾。このモデルは、微生物増殖現象の支配パラメータとして活性化因子と抑制因子を仮定し、両因子の相互作用を含めた反応－拡散現象によって周期的な増殖パターンを再現するもので、一般には時間微分項の他、拡散項、活性化因子による反応生成項(正の生成項)、抑制因子による反応生成項(負の生成項)等を含む偏微分方程式で表現される。このモデルを基本形として各種の非線形反応項を組み込むことで、水玉模様、縞模様、逆水玉模様といった各種の微生物パターン形成の再現が可能であると報告されている。特に細菌(バクテリア)の中で*Bacillus subtilis*(枯草菌)のコロニー形成(パターン形成)に着目した数理モデルとして、Kawasaki et al³⁾やMimura et al⁴⁾によって各種の反応－拡散モデルが提案されており、パターン再現性の観点では定性的に良い精度であると報告されている。

3. 真菌増殖を対象とした非線形反応・拡散モデルの概要

本報では反応－拡散モデルを基に真菌増殖を再現する数理モデルを

* 九州大学大学院総合理工学研究院 准教授・工博

** 東京工芸大学大学院工学研究科 博士課程

Assoc. Prof., IGSES, Kyushu Univ., Dr. Eng.
Graduate School, Tokyo Polytechnic Univ., M. Eng.

構築する。真菌コロニーの増殖現象は、前述のとおり一般にはシグモイド型の関数で表現されることが多く、個体群密度が低い場合には、指数関数的に増殖する。一方で、S.J. Pirtは肉眼でサイズの確認が可能な細菌コロニーの増殖を調査し、コロニー直径 d と時間経過 t の間には指数関数的な増殖関係ではなく直線関係が成立すると指摘している⁴⁾。これは、十分な養分量が確保されている場でのコロニー成長がコロニー周辺部分のみの増殖で生じており、コロニー中心部での増殖現象は無視できるとの仮定に基づく。このPirtのモデル化とMimura et alの定式化を参考に、真菌増殖現象を再現する数理モデルを以下の仮定の下で構築する。

- (1) 真菌による増殖現象は、活性があり増殖活動の盛んな真菌群 u と、その後活性度が低下し静かな状態になっている真菌群 v (例えば孢子や分生子との想定することも可能)とに区別し、前者が後者を生成・生産しながら拡散移動すると仮定する。特にコロニー形成においては、コロニー周辺部分が活性度の高い真菌群によって形成されており、コロニー中心部分は活性度の低い真菌群によって占められているとのPirtモデルに基づくモデル化となる⁴⁾。
- (2) 真菌増殖現象は反応-拡散(Reaction- Diffusion)モデルをベースに記述する³⁾。活性度の高い真菌群の拡散係数 D_c は真菌の個体群密度 u に依存するLogistic型を採用する。真菌の反応生成項(正の生産項)は個体群密度と養分量の他、温度、湿度(水分量)等の関数とし、一定の割合で不活性化する反応生成項(負の生産項)を有するとする。
- (3) 不活性真菌に関しては、死滅や移動を考慮せず、活性の高い真菌より生成された反応生成量がそのまま蓄積する。

以上の仮定をもとに、真菌増殖モデルを以下の連立偏微分方程式にて表現する。

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot (D_c \nabla u) + \theta f(u, n) - a(u, n)u - \gamma u \quad (1)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} = a(u, n)u \quad (2)$$

ここで、 u は活性度が高く増殖現象に寄与する真菌群密度、 v は活性度が低くその場で蓄積する真菌群密度を示す。(1)式の右辺第一項はランダムな真菌群移動を示す拡散項、右辺第二項は真菌密度や養分、その他の環境因子による反応生成項、右辺第三項は真菌密度 u に依存する不活性真菌群 v への変換項であり、(2)式の右辺第一項で示された不活性真菌群 v の反応生成項となる。右辺第四項は活性真菌の消失(死亡)項を示す。また n は養分濃度を示す(8)式参照)。

(1)式中の拡散係数 D_c は真菌の個体密度 u に依存する定式化、本報ではLogistic型を適用し、次式で表現する。

$$D_c = \sigma'_1 \cdot d_1 u \left(1 - \frac{u}{d_2} \right) \cdot n \quad (3)$$

ここで σ'_1 はスケールパラメータ、 d_1 ならびに d_2 はLogisticモデルに関連するモデル定数を示す($d_2 > 0$)。またMimuraらやKawasakiらのモデルでは、拡散係数に(4)式で示す一定の変動を加えることで解析を実施している。

$$\sigma'_1 = \sigma_1(1 + \delta), \quad -0.5 < \delta < 0.5 \quad (4)$$

真菌増殖の温湿度依存性を表現する場合、その効果は特に(3)式で示される拡散係数に強く影響を及ぼすと推察される。例えば、温湿度の効果を組み込む場合、(5)式の様な温度 T ならびに相対湿度 φ をパラメータとする関数 $\zeta(T, \varphi)$ を乗じることで効果を組み込む^{注1)}。

$$D_c(u, n, T, \varphi) = D_c \times \zeta(T, \varphi) \quad (5)$$

また、(1)式右辺第二項中の $f(u, n)$ は真菌による養分消費を示すモデル関数であり、養分消費量に対して一定の割合 θ にて真菌成長(増殖)に寄与すると仮定した反応生成項である。

この $f(u, n)$ は、養分消費に伴うダンピングとしてMichaelis- Menten式¹⁾を適用し、次式で定式化する。

$$f(u, n) = \sigma_2 \left(\frac{f_1 n}{1 + f_2 n} \right) \cdot u \quad (6)$$

ここで、 σ_2 はスケールパラメータ、 f_1 ならびに f_2 はMichaelis- Menten式のモデル定数を示す($f_1, f_2 > 0$)。

活性真菌群 u から不活性真菌群 v への変換項を示す(1)式右辺第三項中の $a(u, n)$ は*Bacillus subtilis* (枯草菌)を対象としたMimuraらの定式化を参考に次式で表現する。

$$a(u, n) = \sigma_3 \cdot \frac{1}{\left(1 + \frac{u}{a_1} \right) \cdot \left(1 + \frac{n}{a_2} \right)} \quad (7)$$

ここで、 σ_3 は活性-不活性の変換率に関連するスケールパラメータ、 a_1 ならびに a_2 はモデル定数を示す($a > 0$)。

活性真菌 u はその濃度レベルに応じて一定の消失割合(death rate) γ にて死亡するとの単純モデルを採用する($0 \leq \gamma < 1.0$)。

(1)式~(7)式中の拡散係数 D_c ならびに反応生成項中の各パラメータは、養分濃度の他、雰囲気温度・湿度、建材表面での含水量等に影響を受ける。必要に応じてこれらの効果を陽に組み込むこととなる。言い換えれば、解析対象とする2次元平面上において養分密度ならびに温度・湿度(水分量)等の不均一分布が形成されている場合、これらの物理量は各々の輸送方程式を立てることで、(1)式ならびに(2)式の真菌群密度の輸送方程式と連成して解析することとなる。簡略化のため、本報での定式化では増殖の支配要素として特に養分 n のみを式中に陽に示している。

増殖の支配パラメータの一つである養分量 n の輸送方程式は次式で表現する。

$$\frac{\partial n}{\partial t} = D_n \nabla^2 n - f(u, n) \quad (8)$$

(8)式中では真菌の個体群密度に応じた養分消費に加え、濃度勾配に応じて2次元平面上で拡散を仮定した定式化である^{注2)}。

4. 反応・拡散モデル中のモデル定数の推定

前節にて示した真菌増殖現象を再現する数理モデル中のモデル定数は、著者らが実施した菌糸成長ならびにコロニー形成に関する増殖速度測定実験の結果を参考に推定する。

4.1 活性真菌 u ならびに不活性真菌 v の濃度次元

真菌が孢子状態にて存在する場合、その孢子濃度は個数濃度(気中濃度の場合 spores/m³、表面濃度の場合 spores/m²等の次元)にて表現される。一般に孢子個数濃度の計測は容易ではなく、現実的には培地上に捕集・培養し、コロニー形成後のコロニー数をカウントすることでcfu/m³、cfu/m²等の次元で表現することが多い。

建材表面にて真菌増殖する現象に着目した場合、その面的な増殖現象を表現する場合には何らかの真菌密度を用いる必要があるが、実際には菌糸、分生子、分生子柄等が複雑に混在することでコロニー形成されるため、一元的かつ汎用的な次元は存在し無い。そのため本報で

は第一次近似として建材表面における仮想的な真菌密度(初期濃度で無次元化した真菌密度)を仮定し、活性があり増殖活動の盛んな真菌群密度 u [-]と、その後に活性度が低下し静かな状態になっている真菌群密度 v [-]を解析に用いることとする^{注3)}。

4.2 養分 n の濃度次元

本報では2次元平面上での真菌増殖を対象とする。表面での養分濃度に関しても2次元を仮定する。表面養分は単位面積当たりの増殖に寄与する養分量で示され、例えば g/m^2 、 m^2/m^2 等の次元で表現されると推察されるが、本報では第一近似として真菌密度と同様の仮定に従い、初期濃度(特に PDA 培地表面での養分密度を $n=1.0$ (過剰養分)と仮定)で無次元化した仮想的な養分密度 n [-]を解析に用いる^{注3)}。

4.3 真菌群の拡散係数 D_c 中のモデルパラメータ

(3)式で示された拡散係数 D_c は菌糸成長実験ならびにコロニー形成実験のデータを参考に *Logistic* 式の定数部分を推定する。特に培地中の養分が十分に確保されており、且つ真菌個体数密度の増加に伴う抑制効果が小さいと推察されるコロニー形成の初期段階のデータを対象として、スケーリングファクターを推定する。

本報では、スケーリングファクター $\sigma_f=1.0 \times 10^{-2}$ 、 $d_f=1.0 \times 10^{-2}$ 、 $d_2=1.0 \times 10^2$ と仮定して基本ケースの解析に用いる。

4.4 養分消費項 (Michaelis-Menten 式)中のモデルパラメータ

養分消費速度に依存した反応生成項((5)式)は実験データが存在しないが、コロニー形成実験結果を参考に試行錯誤にて推定を行う。本報ではスケーリングファクター $\sigma_2=5.0$ 、 $f_1=1.0$ 、 $f_2=1.0$ を基本値と仮定する。

4.5 高活性ー低活性変換項のモデルパラメータ

活性度の高い真菌群から活性度の低い真菌群への変換を示す反応生成項((7)式)に関する基礎情報は皆無であり、Mimura らも適当な数値を代用している。本研究では、Mimura らの値を参考にスケーリングファクター $\sigma_3=5.0$ 、 $a_f=1/2400$ 、 $a_2=1/120$ と仮定する。

4.6 活性真菌 u の消失項のモデルパラメータ

本報では比較的短期間での形態解析を対象とするため、簡易化を意図し $\gamma=0$ と仮定する。

5. 感度解析の概要

本報で提案する真菌増殖を再現する数理モデルの予測精度を確認するため、数値解析の第一歩として各モデル中のモデルパラメータに着目し、1変数ずつ設定値を変化させた感度解析を実施する。この解析では反応・拡散モデル中のモデル定数を系統的に変化させた感度解析を実施することで、各モデル定数や初期条件がコロニー形成に与える影響を定性的に検討すると共に、後述する培地上でのコロニー形成実験結果に適合する予測結果を導くために、試行錯誤的なパラメータ同定の実施を目的とする。

5.1 計算条件ならびに境界条件

感度解析は後述するシャーレ内に設置した PDA 培地上のコロニー形成速度に関する基礎実験ケースを対象とするため、 $200[\text{mm}] \times 200[\text{mm}]$ の2次元平面を解析対象空間とする。x 方向ならびに y 方向ともに $1[\text{mm}]$ 幅の等間隔メッシュ分割とする。解析対象となる2次元平面上では、初期条件として一様な養分濃度分布を仮定する。

真菌初期条件として、解析対象中心位置($x=100\text{mm}$, $y=100\text{mm}$ 位置)に活性真菌 u の初期濃度として $u=1.0$ を与える(v はゼロ)。解析対象領

表 1 感度解析のモデル定数一覧

解析ケース	モデルパラメータ		
Case a1	$\sigma_f=1.0 \times 10^{-2}$, $\sigma_2=5.0$, $\sigma_3=5.0$, $n_0=1.0$, $u_0(\text{center})=1.0$	$d_f=1.0 \times 10^{-2}$, $f_1=1.0$, $a_f=1/2400$, $D_n=1.0 \times 10^{-6}$, $v_0=0.0$	$d_2=1.0 \times 10^2$, $f_2=1.0$, $a_2=1/120$,
Case a2-1	$n_0=0.5$,		
Case a2-2	$n_0=0.1$,		
Case a2-3	$n=1.0$ (=constant, Eq.(8) is not solved.)		
Case a3-1	$D_n=1.0 \times 10^{-3}$,		
Case a3-2	$D_n=1.0 \times 10^{-9}$,		
Case a4	$\sigma_f=1.0 \times 10^{-3}$,		
Case a5	$\sigma_2=3.0$,		
Case a6-1	$\sigma_3=0$ (Eq.(7) is not solved.)		
Case a6-2	$\sigma_3=5.0 \times 10^1$,		

域境界部分では勾配ゼロを仮定。活性真菌の輸送方程式である(1)式、不活性真菌の輸送方程式である(2)式、ならびに養分の輸送方程式である(8)式は有限体積法による陽解法にて離散化し、非定常解析を行う。本解析では1ケースあたり実時間で168[h](7日間)の解析を行う。なお、感度解析では(4)式のノイズは与えていない。

5.2 解析ケース設定

感度解析の設定ケースを表1に纏めて示す。本解析では Case a1 の条件設定を基本ケースとして、各変数の影響を検討する。基準ケースである Case a1 の解析に使用した各モデルパラメータは既往文献を参考に適当に設定したものである。Case a2-1～Case a2-3 は解析対象平面上の初期養分濃度 n_0 に着目し、無次元の初期養分濃度を 1.0 から 0.1 まで変化させると共に、養分の輸送方程式である(7)式を解かず、養分濃度を一定値として与えた条件を設定する。Case a3-1 ならびに a3-2 は Case a1 の条件と比較して、養分の拡散係数を変化させて設定したケースであり、Case a3-1 は養分の拡散係数が大きいソフト培地、Case a3-2 はハード培地を想定している。Case a4 は活性真菌の輸送方程式である(1)式中の拡散係数のオーダを変化させたケース、Case a5 は真菌による養分消費を示すモデル関数中のモデル定数を変化させたケースである。また Case a6-1 ならびに a6-2 は活性真菌群 u から不活性真菌群 v への変換割合を変化させたケースである。

6. 感度解析の結果

ここでは解析開始より 168 [h]経過後の形態解析結果を示す。活性真菌 u ならびに不活性真菌 v の分布を塗り潰しコンタ図、活性真菌と不活性真菌の和 $u+v$ をラインコンタ図として示している。

基本ケースである Case a1 の解析結果を図1に示す。Case a1 の設定条件では活性真菌 u の増殖がリング形状(ドーナツ型)を形成する。不活性真菌 v は時間進行と共に中心部から濃度蓄積する。基本ケースと比較して、養分濃度 n を段階的に小さく設定することでコロニー形成速度が低下し、コロニー径も小さくなる。 $n_0=0.1$ の条件(Case a2-1)では計算開始より 168h 経過時点で活性真菌 u はほぼ消滅する。養分 n の拡散係数と大きくした場合(Case a3-1, ソフト培地を想定)、ドーナツ形状とならず中心部で高濃度のコロニーを形成し、養分 n の拡散係数と小さく(Case a3-2, ハード培地を想定)することでリング形状が明確に形成されるようになる。拡散項中の σ_1 を小さく設定した Case a4 では拡散速度が抑制され、相対的に小さなコロニー径となる。養分 n に依存する活性真菌 u の生成項中の σ_2 を基本ケースから相対的に小さく設定した Case a5 では活性真菌 u によるリング形成速度が低下し、

図1 感度解析の結果 (168 [h]経過時での形態解析結果, Case a2-3 のみ 72 [h]時点での様相)

コロニー径も小さくなる。図は割愛するが σ_2 の設定値はコロニー径に強い感度を有し、 $\sigma_2=10$ の場合、計算開始より 48h 後にはコロニーが解析領域をオーバーする。活性真菌 u から不活性真菌 v への変換項 $a(u, n)$ を考慮しない Case a6-1 の場合、活性真菌 u によるコロニー形成は単調増加となり、中心部では養分の消費と共に真菌生成が停止し一定濃度となる。 σ_3 を基本ケースの 10 倍とした Case a6-2 では不活性真菌 v の生成が大きくなり、活性真菌 u によって形成されるリング形状が細くクリアとなる。

7. 培地上でのコロニー形成実験の概要

構築した真菌増殖を再現する数理モデルの予測精度を確認するための、予測精度検証用実験を実施する。本実験では孢子濃度を一定数

に制御した条件で、PDA 培地上でのコロニー形成速度を計測する。

7.1 対象とする真菌

本実験では、*Cladosporium cladosporioides* (NBRC 6348) を対象真菌とする。*Cladosporium cladosporioides* は好湿性真菌に分類され、室内にも多く存在する黒色真菌であり、タイル目地やコーキング部位で繁殖することが多いとされる。

7.2 孢子懸濁液の作成

NBRC より分譲された各菌株を PDA 培地上に接種し、20℃ に制御したインキュベータ内で 2 週間程度培養する。培養した分生子 (conidia) を用いて分生子分散水 (孢子懸濁液) を作成する。孢子懸濁液作成の際には界面活性剤を使用せず蒸留水のみを使用する。ヘモサイトメータを用い孢子濃度を 4.4×10^7 [spors/mL] 程度に制御する^{8,9)}。

表2 基礎実験を対象とした数値解析に使用したモデル定数一覧ならびに解析対象の幾何条件

モデルパラメータ	Case b1	Case b2	Case b3
$\sigma_1=5.0\times 10^{-3}$, $d_1=1.0\times 10^{-2}$, $\sigma_2=3.0$, $f_1=1.0$, $\theta=5.0\times 10^2$, $\sigma_3=5.0$, $a_1=1/2400$, $n_0=1.0$ for PDA, 0.0 for Tile $D_n=1.0\times 10^{-9}$, $u_0(\text{center})=1.0$ $v_0=0.0$ (全解析ケースで同一)	190mm 190mm	190mm 190mm	190mm 190mm

図2 実験結果

7.3 実験手順

直径 190[mm]のシャーレに通常濃度の PDA 培地を薄く用意し、シャーレ中央に前述の孢子懸濁液を 30[μL]滴下して密閉する。数値モデルを用いた感度解析より、養分濃度がコロニー形成速度に与える影響が大きいと、全ての実験ケースで PDA 培地厚は 6mm で統一している。このシャーレを 28[°C]に制御したインキュベータ内に設置する。湿度は PDA 培地に含まれる自由水で十分な湿度が確保されていると想定し、特別な制御を実施しない。増殖の発育状況はデジタルカメラを用いて培地裏面から撮影を行う。本実験は二週間継続して実施する。

7.4 実験ケース

本報は幾何的なコロニー形成に着目するため、真菌増殖に関して幾何的な制約を設けて3種の実験ケースを設定する。Case b1は上述のシャーレ内にPDA培地のみを設置したケース、Case b2ならびにCase b3はシャーレ内にタイルを設置し、目地に相当する箇所にPDA培地を設置したケースである。タイル間隔は10mmならびに30mmである。タイルはオートクレーブにて滅菌し十分に乾燥させた状態で使用する。

タイル設置等の幾何条件を纏めて表2に示す。

8. コロニー形成に関する基礎実験結果

実験結果を図2に示す。基礎ケースであるCase b1では孢子懸濁液をPDA培地上に接種し28℃にて培養を開始後、約24時間経過後に目視可能なコロニー形成が確認され、50時間経過後にはコロニー直径が30mm程度となり5日間程度(120時間)までは円形コロニーを形成する。コロニー周辺部は組織構成が異なりリング上の模様が確認できる。その後は不均一・非対称のコロニー形成となり、10日経過後以降は目視で正確にコロニーサイズの時間変化を確認することが困難となる。

タイル間隔を10mmでレイアウトしたCase b2では実験開始から1週間程度の期間は目地部分に相当するPDA培地上を均一・対象に増殖するが、その後は場所により大きく異なった増殖を示す。タイルの表面ならびに裏面での真菌増殖は確認できない。

タイル間隔を30mmでレイアウトしたCase b3ではタイル部分を避けてPDA培地上のみを均一に増殖していく様子が確認できる。Case

b2とCase b3はタイルの設置間隔のみが異なり、その他の実験条件は同一である。Case b2ならびにCase b3でコロニー増殖の様相が大きく異なる原因は不明であるが、養分濃度(PDA培地)の初期条件の不均一性、ならびに養分中水分濃度の不均一性等が増殖現象に影響を与えた要因と推察される。

9. 基礎実験を対象とした数値解析概要

構築した真菌増殖を再現する数理モデルの予測精度を確認するため、基礎的な実験結果を対象として数値解析を実施する。本数値解析には前節にて実施した感度解析の結果を踏まえ、試行錯誤的にモデルパラメータを決定している。

9.1 計算条件ならびに境界条件

数値解析は前節と同様に 200[mm]×200[mm]の2次元平面、 x 方向ならびに y 方向ともに 1 [mm]幅の等間隔メッシュ分割とする。真菌初期条件等は感度解析の条件と同一とし、真菌初期濃度 ($u_0=1.0$, $v_0=0.0$)を解析領域中心位置に設定する^{注4)}。実験データをターゲットとするため1ケースあたり実時間で312[h]の解析を行う。また、本解析では(4)式で示す一定の数値変動(ホワイトノイズ)を与えている。

9.2 数値解析のケース設定

数値解析ケースは基本実験のケースと併せ、Case b1 から Case b3 の3ケース設定する。Case b1 はPDA培地上での単純なコロニー形成を再現する基本ケースであり、Case b2 ならびに Case b3 はタイルと目

地を模擬した PDA 培地より構成されている。タイル位置と PDA 培地の相違は初期養分濃度(タイル表面では $n_0=0.0$)のみである。タイルと PDA の境界は勾配ゼロを仮定。本節での数値解析に用いたモデルパラメータの一覧を表 2 に示す。

10. 数値解析の結果

実験条件を対象とした数値解析の結果を図 3 に示す。本解析で採用した表 2 中の各モデル定数は感度解析を試行錯誤的に実施することで実験ケース Case b1 のコロニー形成、特に初期 1 週間程度の増殖現象をある程度再現することを前提に推定したものである。それ故、計算開始より 4 日程度までは実験結果と数値解析結果はほぼ同様の増殖過程を示す。またコロニー周辺部分のリング状の形態は活性真菌 u と不活性真菌 v を個別にモデル化することである程度の形態予測が出来ていると言える。7 日目以降の解析結果は実験結果と比較してコロニー形成速度をやや過大評価すると共に、実験で確認された不均一非対称な拡散現象は再現出来ていない^{注5)}。

タイルと PDA の組み合わせより構成した Case b2 ならびに Case b3 においても、初期の一週間程度の増殖現象に着目した場合には数値解析結果は十分な精度で実験結果を再現する。Case b2 では部分的ではあるものの、実験開始から 200 時間経過後に確認されたタイルを取り囲むようなコロニー増殖現象を数値予測でも良く再現している。

11. 考察

感度解析の結果を基に真菌コロニー形成に関する養分(培地)濃度、培地性状(ハード培地 or ソフト培地)の影響、もしくは活性真菌 u の拡散項 D_c と養分消費項 $f(u, n)$ ならびに高活性-低活性変換項 $a(u, n)$ の影響を概念図として纏めたものを図 4 に示す。本報で提案する真菌増殖の数理モデルを前提とした場合、真菌増殖現象は養分性状に強く依存し、養分 n の拡散係数が小さいハードな培地上ではコロニー形成速度が大きく、相対的に大きなコロニーが形成されるのに対し、養分 n の拡散係数が大きくソフトな培地上では真菌が活発に拡散せずとも養分が早く輸送されてくるためにコロニー形成速度は小さく、形成されるコロニーサイズも小さくなる。養分の拡散係数が小さい場合にはコロニー周辺部のリング状の形態が明確に現れ、養分の拡散係数が大きい場合にはボタンの花を思わせる特徴的な形態が現れることが確認されている。同様に初期養分濃度 n_0 もコロニー形成速度に支配的な影響を与え、養分濃度が高い場合には形成されるコロニーが大きくなる。

活性真菌 u と不活性真菌 v を個別にモデル化した場合、活性真菌 u の拡散係数が大きい場合にはコロニーサイズが大きく且つリング状の形態が明確に形成され、活性真菌 u の拡散係数が小さい場合には小形で密度の高いコロニーが形成される。養分消費項 $f(u, n)$ ならびに高活性-低活性変換項 $a(u, n)$ は特にコロニー周辺部分に形成されるリング状の形態に影響を与える。

12. 結語

本報では2次元平面上での真菌増殖を再現する数理モデルを提案し、数理モデルの各モデルパラメータを変化させた感度解析を実施することで、コロニー形成に関する形態解析の予測結果を紹介した。

真菌増殖現象に関する反応-拡散モデルを活性度の高い真菌群密度

(1) 養分濃度 n_0 と養分拡散係数 D_n の関係

(2) 活性真菌の拡散係数 D_c と $f(u, n)$, $a(u, n)$ の関係

図 4 真菌コロニー増殖に与える各パラメータの影響度

と活性度の低い真菌群密度に区別してモデル化することで、コロニー形成におけるリング状(ドーナツ状)の形態形成をある程度定性的に再現することが可能となった。

また、PDA培地上に真菌増殖を幾何的に抑制するタイルをレイアウトした基礎的な実験を実施することで、提案する真菌増殖数値モデルの予測精度を検討した結果、特に初期の1週間程度のコロニー形成の様相は十分に再現可能であることが確認された。1週間以降の増殖現象に関しては、部分的ではあるが特徴的な形態を再現出来ている箇所もあるが、大局的には課題も多い。今後、詳細な実験データを基にモデルパラメータの同定を行うと共に、温度ならびに湿度(特に水分)等の他の物理パラメータを陽にモデル中に組み込んでいく必要がある。この点と実現象に近い条件での応用解析への適用が今後の課題である。

注

注1) 例えば、活性真菌の拡散係数 D_c へ温度 T ならびに相対湿度 φ の効果を組み込む際の関数 $\zeta(T, \varphi)$ は、Abe⁶⁾によるFungal Indexの実験データより推定することができる。文献⁶⁾によればAbeは相対湿度70%から95%、温度0℃から40℃の範囲にてFungal Indexの測定を行っている。その実験データを元に重回帰分析により予測式を推定すると次式が得られる。

$$\zeta(T, \varphi) = \alpha_1 \cdot \varphi + \alpha_2 \cdot T + \alpha_3 \cdot \varphi^2 + \alpha_4 \cdot T^2 + \alpha_5 \cdot \varphi \cdot T + \alpha_6 \quad (A1)$$

上記の回帰式は28℃、RH95%の条件を基準とし、Fungal Indexを無次元化して表現した場合、 $\alpha_1=-0.1667$, $\alpha_2=-0.0483$, $\alpha_3=0.0011$, $\alpha_4=-0.0010$, $\alpha_5=0.0013$, $\alpha_6=6.1216$ となる。重相関係数は0.947であり高い相関を示す。真菌増殖面となる建材表面の温度 T (℃) ならびに相対湿度 φ (%) を、建材内部の熱水分同時移動方程式ならびにCFD等により別に解析することで、(A1)式を併用することで真菌増殖の温湿度依存性のある程度再現することが可能となる。

- 注2) 本報で示した数理モデルは、最終的には室内環境を対象としたCFD解析や熱水分同時移動を含むエネルギーシミュレーションと連成させることを意図している。特に真菌増殖に伴い、臭気成分(所謂カビ臭)の放散やアレルゲンとなりうる真菌胞子(所謂バイオエアロゾル)の放散に関する数値モデルも順次組み込む予定である。例えばMVOC成分の放散は、真菌コロニーの成長段階に依存して支配成分が時間変化することが知られており、このような現象は活性真菌 u と不活性真菌 v の濃度レベルに依存する生成項としてモデル化することとなる。
- 注3) コロニーの形成要素である胞子(分生子)や菌糸、担子器、胞子嚢等は真菌種によって大きく異なる。これら構成要素が複雑に混在することでマクロなコロニーを形成することとなるが、本報では真菌によるコロニー形成の形態解析の実施を目的とするため、繁殖のベースとなる建材単位表面積当たりが存在するコロニー形成要素としての真菌要素の総和を真菌密度と仮定する。本数値解析では、7章の基礎実験の初期胞子密度にて無次元化した真菌密度を用いている。第一次近似的には目視による単位平面当たりの真菌量の大小に一致する。
- また養分濃度 n はMichaelis- Menten式を介して真菌濃度 u に変換させることを仮定するため、養分濃度の濃度次元はMichaelis- Menten式のモデルパラメータに支配的な影響を与える。本報では一般的なPDA培地の養分濃度^{8,9)}を代表濃度として無次元化した仮想的な単位面積当たりの濃度次元を解析に用いている。
- 本報での解析は非線形反応拡散方程式による定性的なパターン形成の数値予測に主眼を置いているため、実現象との定量的な対応関係には問題が残る。この点は今後の研究課題である。
- 注4) 実験条件の胞子懸濁液の滴下面積に併せるため真菌初期濃度は $2\text{ mm}\times 2\text{ mm}$ の面積に $u_0=1.0$ を与えることで解析を実施した。
- 注5) 実験結果Case b1における1週間以上の時間経過後に見られる不均一なコロニー形成は主に時間経過に伴うPDA培地性状の不均一化、特に不均一乾燥によると考えられる。数値解析においても培地表面での水分濃度分布を連成解析することが重要と推察される。この点も今後の課題である。

記号表

a_1	: 活性－不活性の変換項のモデル定数
a_2	: 活性－不活性の変換項のモデル定数
d_1	: Logisticモデルに関連するモデル定数($d_1>0$)
d_2	: Logisticモデルに関連するモデル定数($d_2>0$)
D_c	: 活性真菌 u の拡散係数
D_n	: 養分濃度の拡散係数
f_1	: Michaelis- Menten式のモデル定数 ($f_1>0$)
f_2	: Michaelis- Menten式のモデル定数 ($f_2>0$)
n	: 無次元養分濃度
n_0	: 初期無次元養分濃度
u	: 活性度が高く増殖現象に寄与する無次元真菌群密度
u_0	: 活性度が高く増殖現象に寄与する無次元真菌群の初期密度
v	: 活性度が低くその場で蓄積する無次元真菌群密度
v_0	: 活性度が低くその場で蓄積する無次元真菌群の初期密度
T	: 温度
t	: 時間
γ	: 消失割合(death rate)
θ	: 養分消費量に対する真菌成長(増殖)の寄与割合
ϕ	: 相対湿度
σ_1	: 活性真菌 u の拡散項のスケールパラメータ
σ_2	: 反応生成項のスケールパラメータ
σ_3	: 活性－不活性の変換項のスケールパラメータ

参考文献

- 1) Michaelis, L. and Menten, M.L. (1913) Kinetics of invertase action, *Biochem. Z.* **49**, p.333
- 2) Turing, A.M. (1952) The chemical basis of morphogenesis. *Phil. Trans. Roy. Soc.* **237**: 37-72
- 3) Kawasaki, K., A. Mochizuki, M. Matsushita, T. Umeda and N. Shigesada (1997) Modeling spatio-temporal patterns generated by *Bacillus subtilis*. *J. Theor. Biol.* **188**: 177-185
- 4) Mimura, M., H.Sakaguchi and M. Matsushita (2000) Reaction- diffusion modeling of bacterial colony pattern. *Physica A* **282**: 283-303
- 5) Pirt, S. J., (1965) The Maintenance Energy of Bacteria in Growing Cultures. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, Vol.**163**, No. **991**: 224-231
- 6) Tohoya, S., A. Mochizuki, S. Imayama and Y. Iwasa (1998) On rugged shape of skin tumor (basal cell carcinoma). *J. Theor. Biol.* **194**: 65-78
- 7) Abe, K., A (1993) Method for Numerical Characterization of Indoor Climates by a Biosensor using a Xerophilic Fungus, *Indoor Air* **3**, 344-348
- 8) JIS Z 2911-2000 カビ抵抗性試験方法
- 9) 高島浩介 監修 かび検査マニュアルカラー図鑑、テクノシステム、2002

(2008年5月20日原稿受理, 2008年12月2日採用決定)