

1-6 先端化学生命工学研究(aCYBER)センター活動報告

aCYBER センター長 白石 浩平
所員 山田 康枝, 渡邊 義之, 小川 智弘

1. 平成 26 年度活動報告

ヒト細胞株の利用を基礎とした研究 (白石, 山田)

<目的> 細胞接着を制御する高分子生体材料あるいは基板とそれらとロボティクスを融合した遺伝子, タンパク質の網羅的解析あるいは細胞操作 (回収・融合) システムの構築 (白石, 山田)



(現状と結果) 細胞マイクロアレイの研究において, 細胞を用いたハイスループットな機能解析のための基材開発, 下限臨界共溶温度型, 上限臨界共溶温度型温度応答性ポリマーの開発, 金スポットへの選択的な細胞の接着が可能な細胞アレイの調製, 細胞接着領域, 非接着領域の構築, 細胞接着後の細胞機能の検討, ヒト人工染色体(HAC)ベクターを導入する細胞融合用基板とパルスレーザー光細胞融合, CW レーザー光ピンセット, CW レーザー光加温などすべて, 順調に進んでいる. さらに, レーザーにより不用な細胞を除くあるいは有用細胞のみを非侵襲的ではなく離回収するシステムおよび装置を開発している.

新たに誘電電気泳動法を用いた細胞集積と細胞-細胞間接着に誘引する新法を加えて, パルスレーザー光照射との併用によって細胞融合の飛躍的な向上を進めている.

(研究計画) 細胞アレイを用いて有用細胞と診断されたアレイスポット上にレーザー光で加温して細胞を選択的かつ非侵襲的ではなく離回収にシステム進化させ, さらに効率よく細胞検出・分別が出来る条件を検討している. 表面に処理する機能性素材を廉価でこれまでの同じあるいはそれ以上の機能を達成するために素材の最適化を進めている. また操作の自動化を視野に入れたバイオチャンバーを含むロボットの作製も進め, 細胞回収流路等を備えて装置を作製している. エステック株式会社, 鳥取大学医学部ととっとりバイオフロンティアのラボでユーザー情報を取り入れながら開発を進める. また, 細胞アレイの廉価化や細胞診断・回収・融合をユーザーカスタマイズ化した装置の開発を進めて, 実用化検討を進める.

<目的> 日本酒成分の中の有効成分の構造決定を行い, サプリメント, 医薬への応用を検討する. (山田)

(現状と結果) 日本酒成分の分画とメタボローム解析を行い, ヒトの睡眠や抗不安効果に重要な働きをしている GABA_A 受容体活性及び NMDA 型グルタミン酸受容体に対する日本酒成分の効果を検討した. 受容体の阻害活性や作動活性が得られた物質についてその効果を詳細に検討した.

GABA_A 受容体に作用する物質を 16 成分見出した. これまで, 鎮静・催眠薬, 抗癌薬や抗不安薬は化学物質であったが, 今回見つけた物質は古来ヒトが摂取してきた日本酒に含まれる天然成分であり, 生体内にも普遍的に存在するものが多いため, 薬としても

安全性が高く、また機能性食品への応用も可能である。同様の活性のある物質はこれまで、見つかっておらず現在論文投稿中である（特許出願中）。

NMDA 型グルタミン酸受容体に作用する物質を 13 成分見出し、その内の 10 成分は新規物質であった。27 年度日本農芸化学会大会にてその成果を発表した。

（研究計画）今後も引き続き、日本酒に含まれる有効成分の神経系受容体（GABA_A 受容体、NMDA 型グルタミン酸受容体）への効果を検討する。結果に基づき、神経系細胞への直接効果や、動物実験（受動回避試験、高架式十字迷路試験）を行い、神経機能への効果を検証する。お茶などの植物由来の香気成分、生理活性物質の神経系細胞への効果を検討する。

〈目的〉細胞を用いた医薬品、保健機能食品への開発を目指した酒含有成分、ペプチド類、ビタミン、漢方成分など生理活性物質の検索

（現状と結果）ヒト神経芽細胞腫由来株や肝ガン由来株を用いて、プロポリスやピロロキノリンキノン、多糖類の効果を検討した。ピロロキノリンキノンとその誘導体及びプロポリスとその含有成分に神経毒及び酸化ストレスに対する保護作用があることを見出した。27 年度日本農芸化学会大会にてその成果を発表した。

（研究計画）今後もヒト神経芽細胞腫由来株や肝ガン由来株を用いて、細胞保護作用をもつ物質を見つけ、その作用機序を検討する予定である。

バイオプラスチックを用いるカーボンニュートラル産業用素材の開発（白石、山田）

〈目的〉植物由来素材ポリ乳酸(PLA)あるいは天然ゴム(NR)を主成分とした高植物度な産業用樹脂あるいはゴム素材の開発（白石）

（現状と結果）新規な結晶化促進剤としての無機材料等の選定と配合技術により、安価でかつ少量添加で PLA の物性改善した。NR に石油由来のカーボンブラック代替としてのセルロースナノファイバー(CNF)等の配合によって、自動車用ウエザーストリップとして必要なゴム物性を達成した。

得られた樹脂およびゴム素材からの揮発性有機化合物(VOCs)の細胞等を用いる新しい評価法を開発し、PLA 主成分からの VOCs の一部が生体に対する安全性が高いことを認めた。PLA の示す優れた流動性と研究開発によって得た添加剤による物性調整技術を用いて、精細加工品用途として、医療用途の血液採取無痛針用の素材や 3D プリンター用の樹脂としての応用展開に着手した。また、PLA の配合改質に生体無毒な TiO₂ ナノ微粒子（スポンジ状酸化チタン）を活用して、PLA への配合によって樹脂の加工時との流動性や物性改変に有効であることを認めた。自動車用部品の調製技術を応用して、医療用の採血・ワクチン接種用の無痛ランセットとしてのランセット筐体の全生分解性を旨とした低環境負荷素材の実用化研究に発展した。

（研究計画）自動車用等の産業用途では開発からユーザーの要求にあった仕様に最適な配合を行い、低価格、安全、易加工性の実用化素材へとシフトした事業化検討を加速する。生分解性機能を利用した新規なユーザー開拓を進め採血用無痛針等の医療用材料への展開

を樹脂加工技術の開発を同メーカー（神戸市，東大阪市）等と共同で進める．樹脂，ゴム成分からの VOCs の生体影響を引き続き評価する．ランセット用樹脂の配合品開発と配合樹脂の生分解性評価，ダイオキシン発生リスク評価，VOCs 発生評価，難燃性試験等を実施する．

生物資源の食品素材としての効果的な利用を基礎とした研究（渡邊）

<目的> 地域で特産される農水産物，特に未利用な生物資源の食品素材としての機能の付加，向上および改変を実現するための生物化学工学的プロセスの構築

（現状と結果）レモン果皮に亜臨界水処理を導入してその機能性の改変を図り，特定消化酵素への活性阻害が見出された．また，改質の程度が処理条件に依存することが示された．昆布，鰹節および炒り子を原料とした和風出汁の調製では，使用する水の硬度により旨味および雑味に関わる成分の溶出量に際が認められた．海苔色素タンパク質の水溶液中での安定性と色調変化との関係が確認された．さらに色調改質のための酵素処理の有効性が示された．炊飯の際に生成する溶出性澱粉の消化特性評価により，低分子量アミロースとしての構造的特徴が観察された．凍結・解凍を経たフレーバー含有エマルジョンの安定性解析では，油相の分子量と分子形状，それに伴う凝固点・融点の寄与が明らかとなった．乳化安定性の低下に起因したフレーバー成分残存量の減少と気相への蒸散が確認された．

（研究計画）亜臨界水処理によるレモン果皮残渣の改質においては，機能性成分の同定を試みる．また残渣を用いたゾルまたはゲルの物性評価を行い，適当な利用形態を模索する．和風出汁の香気成分と調製時の水の硬度との関係について検討し，出汁のおいしさに貢献する成分と適した調製条件を探索する．酵素処理による海苔色素タンパク質の色調変化メカニズムの解明を試み，その有効な利用法の提案を目指す．米からの溶出性澱粉に複数の糖質加水分解酵素を作用させ，その構造の解明に取り組む．噴霧乾燥法によりフレーバー・エマルジョンを粉末化し，その安定性に及ぼす低温保存の影響について検討する．

肝臓病態の作用機序の解明と肝臓に対する抗酸化物質の作用に関する研究（小川）

<目的> あらゆる肝臓病の作用機序を明らかにするとともに，医薬品や食品に含まれる成分の安全性の検討および新たな生理活性物質の発見（小川）

（現状と結果）マウスの肝臓病態モデルを作製し，そのマウスに強い抗酸化作用を持つプロポリスまたプロポリスに含まれる成分を投与することで肝臓の脂肪化や炎症，線維化への影響を遺伝子およびタンパク質レベルでの解析を行った．結果として，プロポリス投与によってマウス肝臓の脂肪化や炎症が抑制された．しかしながら，マウスの肝線維化を抑制するプロポリス成分の同定には至っていない．また，肝臓細胞（肝がん細胞や星細胞）にプロポリス成分を添加することによる細胞の増殖や遺伝子およびタンパク質の発現を調べた．各種プロポリス成分を25-100 μ Mで添加した際，プロポリスに含まれるクリシンとケンフェロールが肝星細胞の細胞死を誘発することが明らかとなった．また，これらの成分は肝星細胞のI型コラーゲンの遺伝子及びタンパク質レベルも顕著に減少させることが明らかとなった．さらに，線維化関連遺

伝子であるMMP-2やMMP-9の発現も減少させることが明らかとなり、これらの成分には肝線維化の抑制効果が期待された。

(研究計画) 引き続き上記の詳細な実験を行い、プロポリスの肝臓の脂肪化や炎症、線維化、酸化ストレスへの影響を調べる。また、プロポリスには肝臓の脂肪化を抑制する働きがあり、肝がん細胞を使って肝細胞の脂肪化や細胞死を抑制するプロポリス成分の同定を試みる。

2. 共同研究 (6 件)

1) 白石 浩平：平成 26 年度

「生分解性ポリブチレンサクシアネートのセルロースナノファイバー添加による物性改善の研究」独立行政法人産業技術総合研究所との共同研究

2) 白石 浩平：平成 26 年度 (4 件)

3) 山田 康枝：平成 26 年度

「グルタミン酸受容体及び GABA_A 受容体に作用する酒成分に関する研究」,
独立行政法人 酒類総合研究所

3. 主要な研究業績

(1) 論文 (4 件)

- 1) 白石 浩平, 山田 康枝, 今城 明典, 伊藤 大時, 農宗 辰己, “UCST 型スルホベタイン系ポリマーを表面修飾したガラス基板の調製と HeLa 細胞の温度刺激はく離”, 近畿大学次世代基盤技術研究所報告, Vol.5, (2014), pp.49-54
- 2) 今城 明典, 伊藤 大時, 白石 浩平, “プラズマ照射-ポスト重合法でUCST型スルホベタイン系ポリマーを表面修飾したPETフィルムの調製”, 近畿大学工学部研究報告, Vol.48, (2014), pp.19-24
- 3) Wu S, Zhao Z, Okada Y, Watanabe Y, Takahata T, Inoue T, Otsubo E, Wang J, Lu Y, Nomura M, “Physiological activity of Chinese Lichen (*Gyrophora esculenta*) component, methyl 2,4-dihydroxy-6-methylbenzoate and the related compounds.” *Asian Journal of Chemistry*, 26(3), (2014), pp.702-708
- 4) Watanabe Y, Fukuda T, Takahashi N, Adachi S, “Optimal conditions for lipase-catalyzed condensation of erythorbic acid with fatty acids in organic solvent.” *Japan Journal of Food Engineering*, 15(3), (2014), pp.143-148

(2) 学会発表 (17 件)

- 1) 今城 明典, 農宗 辰己, 神崎 有加, 山田 康枝, 白石 浩平, 中谷 達行, “SI-ATRP 法により鎖長を制御した PNiPAAm 固定化マイクロアレイの調製と細胞接着およびはく離” 第 63 回高分子学会年次大会, (2014-5), 名古屋
- 2) 農宗 辰己, 山田 康枝, 白石 浩平, “低温プラズマ-ポスト重合法による PNiPAAm 固定化ポリアセチレン系酸素富化膜の調製と細胞接着・増殖と温度刺激はく離”, 第 63 回高分子学会年次大会, (2014-5), 名古屋
- 3) Watanabe Y, Kono Y, Hinohara T, “Effect of Freezing and Thawing Processes on Stability of Oil-in-water Emulsion Containing Flavor Components”, 105th AOCS

Annual Meeting & Expo, (2014-5), San Antonio

- 4) 山田 康枝, “発酵食品に含まれるアミン類の生理活性”, 第 41 回機能性食品用ペプチド研究会, (2014-6), 大阪
- 5) 小川 智弘, 川根 章範, 加島 智子, “使い易さを考慮したデジタル教科書の作製と理科教育への活用”, 日本理科教育学会第 64 回全国大会, (2014-8), 愛媛
- 6) 今城 明典, 神崎 有加, 山田 康枝, 白石 浩平, “PEG 鎖固定化マイクロアレイによる U937 細胞とヒト人工染色体 (HAC) ベクター含有微小核細胞の高効率融合”, 第 63 回高分子討論会, (2014-9), 長崎
- 7) 農宗 辰己, 今城 明典, 神崎 有加, 山田 康枝, 白石 浩平, 河津 博文, “各種温度応答性高分子を表面修飾したマイクロアレイの調製と熱・レーザー光照射による細胞はく離の評価”, 第 63 回高分子討論会, (2014-9), 長崎
- 8) K. Yamada, H. Shiraiishi, A. Namera, Y. Arima, M. Nagao, Y. Yamada, “The effect of a sarin-like organophosphorus agent on human neuroblastoma cell line SK-N-SH” 第 87 回日本生化学会大会, (2014-10), 京都
- 9) 佐藤 崇弘, 山田 康枝, “Capsaicin 受容体 (TRPV1) 活性に作用する物質の検討” 第 7 回トランスポーター研究会九州部会, (2014-11)
- 10) Y. Yamada, K. Shigemori, M. Eguchi, S. Kawane, H. Izu, “GABA_A receptor agonist activity and anxiolytic effects of organic acids” Society for Neuroscience 44th Annual Meeting (2014-11), Washington D.C.
- 11) 小川 智弘, 平尾 凌, 寺田 拓実, “肝星細胞のコラーゲン産生および細胞増殖に対するブラジル産プロポリス成分の効果の検討”, 第 28 回肝類洞壁細胞研究会学術集会, (2014-12), 岡山
- 12) 山田 康枝, 鈴木 直人, 安藤 正隆, 片井 優二, 中西 慧, “酸化ストレスと創傷への糖類の効果” 日本農芸化学会 2015 年度大会, (2015-3), 岡山
- 13) 矢吹 智, 上村 勇貴, 曾我部 直哉, 黒沢 幹, 則包 潔人, 伊豆 英恵, 山田 康枝, “NMDA グルタミン酸受容体に対する日本酒成分の効果”, 日本農芸化学会 2015 年度大会, (2015-3), 岡山
- 14) 佐藤 崇弘, 山岡 裕磨, 岡田 芳治, 青島 均, 伊豆 英恵, 山田 康枝, “新たな Capsaicin 受容体 (TRPV1) 作用物質および Capsaicin による神経細胞保護効果の検討”, 日本農芸化学会 2015 年度大会, (2015-3), 岡山
- 15) 山田 耕資, 白石 弘章, 奈女 良昭, 有馬 陽介, 長尾 正崇, 山田 康枝, “ヒト神経芽細胞腫 SK-N-SH へのサリン類似有機リン剤の毒性作用” 日本農芸化学会 2015 年度大会, (2015-3), 岡山
- 16) 中路 昌志, 池本 一人, 中野 昌彦, 山田 康枝, “ピロロキノリンキノン (PQQ) とその誘導体の生理活性の比較” 日本農芸化学会 2015 年度大会, (2015-3), 岡山
- 17) 小川 智弘, 平尾 凌, 寺田 拓実, 山田 康枝, 兵庫 秀幸, 河田 則文, “Propolis components suppresses collagen production and cell proliferation in activated hepatic stellate cells”, Asian Pacific Association for the Study of the Liver 2015, (2015-3), Turkey

(3) 講演 (8 件)

- 1) 山田 康枝, “発酵食品に含まれるアミン類の生理活性”, 第 41 回機能性食品用ペプチド研究会, 大阪国際会議場, 2014.6.27
- 2) 白石 浩平, “自動車部品の調製技術を展開した PLA の医療材料への応用—カーボンニュートラルから生分解性へ—”, 文部科学省戦略研究プロジェクト「地域連携による次世代自動車技術に関する研究」成果発表会講演, 近畿大学工学部メディアセンター (東広島), 2014.7.30
- 3) 白石 浩平, “iPS 細胞等の万能細胞の実用化を目指すポリマーバイオマテリアルの開発”, 第 45 回広島県私立学校教育研修会, 近畿大学附属広島高校東広島校 (東広島), 2014.8.21
- 4) 渡邊 義之, “食品素材の機能を効果的に活用するためのプロセス開発”, 第 45 回広島県私学教育研修会, 近畿大学附属広島高等学校・中学校東広島校 (東広島), 2014.8.21
- 5) 渡邊 義之, “均一・分散・粉末系におけるアシルアスコルビン酸の抗酸化性”, 日本油化学会第 53 回年会シンポジウム“油脂の酸化: 研究の最前線”講演, ロイトン札幌 (札幌), 2014.9.11
- 6) 渡邊 義之, “抗酸化性乳化剤の酵素合成と液状脂質の粉末化技術”, インテレクチャルカフェ広島, TKP ガーデンシティ広島 (広島), 2014.11.21
- 7) 山田 康枝, “日本酒に含まれる有効成分”, 平成 26 年度健康食品管理士会中国支部第 2 回研修会, 山口大学医学部, 2014.12.7
- 8) 白石 浩平, “ポリカルボジイミドの接着機能を利用した天然素材 (ポリ乳酸/天然ゴム/セルロースナノファイバー) の自動車部品並びに医用素材への活用”, 接着学会広島講演会, RCC 文化センター (広島), 2015.2.10

(4) 特許出願 (1 件)

- 1) 白石 浩平: 1 件

(5) その他

- 1) 白石 浩平: 企業等技術指導 (19 件)
- 2) 白石 浩平: 平成 26 年度経済産業省戦略的基盤技術高度化推進事業報告書
- 3) 白石 浩平: 委託研究報告書 (1 件)

4. 外部資金獲得 (10 件)

【競争的資金】

- 1) 白石 浩平, 山田 康枝: 経済産業省 戦略的基盤技術高度化支援推進事業平成 24~26 年度「レーザー光と高速可動ステージの精密制御による高効率細胞融合・回収自動化装置の開発」(研究副代表者: 白石浩平)
- 2) 渡邊 義之: 科学研究費, 基盤研究(C)「食品としての脂質の高度利用とその品質劣化機構の解明」(代表者) 平成 26~28 年度
- 3) 山田 康枝: 近畿大学 21 世紀研究開発奨励金 (平成 26~28 年) (代表者: 産業理工学部 藤井政幸教授)

- 4) 山田 康枝：(公財)サタケ技術振興財団・平成26年度大学研究助成
- 5) 小川 智弘：科学研究費，若手研究(B)「肝線維化部位に集積する筋線維芽細胞による線維形成の分子機構に関する基礎的研究」(代表者)平成26～27年度

【寄附・委託研究費】

- 1) 白石 浩平：代表者 (3件)
- 2) 山田 康枝：受託研究 (1件)

5. 学外兼務業務

- 1) 白石 浩平：
(公社)高分子学会中国四国支部幹事
(一社)日本ゴム協会第50回夏期講座運営委員
(公財)ひろしま産業振興機構平成26年度医療・福祉課題解決に向けたデバイス開発プロジェクト事業(新規細胞培養容器の開発と再生医療用足場材料の検討)アドバイザー業務
- 2) 山田 康枝：
日本食品・機械研究会 理事
日本薬理学会 評議員
- 3) 渡邊 義之：
(公社)日本農芸化学会大会プログラム編成委員
(一社)日本食品工学会年次大会実行委員
- 4) 小川 智弘：
公立大学法人大阪市立大学 客員研究員

6. その他

※研究発表・指導

- 1) 白石 浩平，山田 康枝：Biotech2014 -第13回国際バイオテクノロジー展／技術会議-出展(リードエグジビションジャパン(株))，東京ビックサイト西展示場，会議棟1Fレセプションホール，2014.5.13～2014.5.15
- 2) 白石 浩平，小川 智弘：兵庫県立赤穂市立有年中学校 教育連携授業「酵素反応」「カエルの受精卵の観察」，2014.8.8
- 3) 白石 浩平，小川 智弘：岡山私立金光学園高等学校 スーパーサイエンスハイスクール 指導および助言，2014.11.21

※プレス発表

- 1) 白石 浩平，小川 智弘：赤穂民報「大学生が理科実験を出前授業」，第2101号，2014.8.30
- 2) 白石 浩平：広島経済レポート，2014.9.15

※研究成果活用教育研究連携

- 1) 白石 浩平：広島大学大学院特別研究学生制度（広島大学工学研究院大下浄治教授共同）
（新規有機合成反応とガスクロマトグラフィー質量分析装置(GC・MASS)による構造決定と装置使用の演習）