

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 山田 康枝
所員 白石 浩平, 北岡 賢, 小川 智弘

1. 令和2年度活動報告

ヒト細胞株の利用を基礎とした研究（白石）

<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

（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を進めている。共同開発先のエステック㈱（島根県）との間でレーザー細胞融合に関する装置・特許（3件）の権利を維持して、基板表面処理技術を転用した事業化活動を実施している。プラズマ表面処理では、広島発ベンチャー企業からプラズマ表面処理フィルムの受注があった。さらに、販売を目的とした、同フィルムへの温度応答性素材の固定化フィルムの調製を別企業から依頼を受け調製している。

（研究計画）上限臨界共溶温度(UCST)をもつ素材の基板上への固定化に関する基礎研究を進める。レーザー照射はく離型のアレイの要素技術の確立を進める。細胞内へのタンパク質等の導入が動物細胞より難しいとされる植物細胞へのゲノム編集用のツールとしての利用推進を引き続き広報活動を続ける。調製依頼のあった温度応答性素材固定化フィルムは、プラズマ処理条件を最適化して、ポスト重合により、事業レベルの規模への装置等大型化実験を支援する。

生医学材料の開発（白石）

<目的> 医用材料として実用化されている素材の持続的な抗血栓性の付与を含むさらなる高機能化及び抗血栓素材の開発の知見を利用して、実用化可能な創傷被覆材の調製

（現状と結果）医療材料メーカーとの過去4年の共同研究の結果から、溶媒キャスト法として確立した医療用素材へのコーティング状態を細胞応答等から明らかにした。同コーティング技術で調製した生体適合性表面を用いて、水中で、生体適合性を簡便に評価する技術に関する支援を実施した。理化学研究所（理研）生命機能科学研究センター、大阪府立大学工学部研究科、北川鉄工所（広島県府中市）の共同体で、R02(20)年5月13日、理研からプレスリリースされた。線溶活性を亢進するアミノ酸由来材料とリン脂質系抗血栓材料の技術開発を継続しており、水中で形成する中間水量と線溶酵素の活性亢進の点から研究を進めている。これらの研究の過程で蓄積した情報から、COVID-19禍で注目される抗菌・抗ウイルス性繊維に着手し、ポリエステル繊維への数%のコーティングにより、抗菌活性と認めており、現在の共同研究先での製品への応用を検討している。

(研究計画)線溶機能を亢進するアミノ酸ユニットをもつリン脂質類似構造をもつ素材との学究レベルからの作用機序の追求を進めると共に、上記「ヒト細胞株利用」等によるフィルムあるいは基板表面への、溶媒キャスト法を開発し、コーティング素材としての実用化を目指す。

ナノ・マイクロ微粒子配合による耐油性ニトリルゴムの滑り特性の改善 (白石)

<目的>食品や自動車産業等の成長産業分野において、乾燥、水付着およびオイル付着等の全ての作業環境で、作業効率や安全性向上を得られる高いグリップ力のある手袋の調製

(現状と結果)開発品の工業化に必要なコスト削減のため、新しい表面処理剤の利用により従来の調製プロセスの約 1/3 を簡略化に成功した。一方、新法で油環境でのグリップ力が向上していないため、油環境にも優れた「乾燥・水浸・油」全ての環境下で優れた性能を示す素材をナノ素材の利用によって開発を進めている。

(研究計画)一昨年、油環境性能を大幅に改善した高分子ヒドロゲル法と新規表面処理剤の併用による全環境下で優れたグリップ力を示すコーティングの完成を目指す。また、製品コスト減に繋がる配合品の前調製の簡略化と工程減に関する学術的な見地からの支援を実施する。

5G, 6G 対応アンテナ用フッ素樹脂／銅箔接合低損失基板の開発 (白石)

<目的>次世代通信に不可欠な低損失基板への接合技術と接合機構及び低損失表面の創成を実施する。(令和元年経済産業省：中小企業経営支援等対策費補助金(戦略的基盤技術高度化支援事業)採択プロジェクト, STC(株)(島根県), APC(株)(滋賀県), 岐阜大学工学部共同研究開発)

(現状と結果)難接合の超平滑銅箔とフッ素樹脂との接着剤レス接合に成功した。また、接合の前処理として必要なプラズマ処理によるフッ素樹脂フィルムの表面官能基の化学構造や量を明らかにし、合理性のある接合機構を提案して、実験的検証を進めている。調製した接合体の80GHz帯の高周波域での伝送損失は、R01年度評価値よりも大幅に向上し、世界最高レベルの接合品よりも低い誘電損失であることを認めた。

(研究計画)詳細に検討を進めるフッ素樹脂側の表面構造に加えて、銅箔側の表面状態の分析を計算化学、各種表面分析装置を利用して評価し、接合機構の解明を進める。低コストでの接合体の量産調製に不可欠となる熱ラミネート接着に関する技術支援として、ラミネート接着体の誘電損失等の物性の及ぼす表面状態等の影響を検討する。

プラスチック等の配合を目的とした 3R を達成するバイオコークス製造の実証実験 (白石・小川)

<目的>海洋流出等で難分解性のため、単なる水質汚濁物質としてのみならず生態系に様々な悪影響が知られるようになったマイクロあるいはナノプラスチックの低減も1つの

目的として、緑茶あるいはコーヒー滓に配合したバイオコークスの製造を実施して、循環型社会に不可欠な環境汚染の低減と炭酸ガス排出削減を可能とするバイオ燃料の製造を目的とする。さらに、共同研究者が保有するダイオキシン分解性の常在菌株を用いて汎用プラスチックの分解を行いバイオコークス資源としての有用性を高める。(NPO 法人広島循環型社会推進機構採択課題, (一社) 地域 QOL 研究所, (株) センタークリーナー共同開発, 近畿大学バイオコークス研究所支援)

(現状と結果) 前年度の研究成果を活用して、素材の由来、組成が明確、バイオ成分の豊富なジーンズ廃繊維を原料とするバイオコークスの製造を実施した結果、密度 1.4g/cm^3 程度のバイオコークスの製造に成功した。また、バイオコークスの石炭コークスとの異なる化学構造や状態を X 線 CT や固体 NMR 法によって解明し、バイオコークス化によって結晶化が促進されることは、繊維成分によって綿成分と合成繊維との間の強い結合を認めた。調製したバイオコークスを用いてネギ促成栽培農家の熱源として利用した結果、異臭等も一切なく、通常の熱源と異なる空気曝気なく燃焼が持続し、燃え残りも少ない優良な燃料素材であることも明らかにした。

一方、常在菌を用いて汎用樹脂ポリスチレンの室温での分解実験の結果、樹脂への官能基導入及び分子量が低減を認め、分解の可能性を認めた。

(研究計画) 福山市の繊維メーカーや海洋プラスチック対策の高等教育機関等とも共同を拡大して、高度エネルギー素材としての合成繊維、樹脂の利用をバイオコークス調製、前処理、バイオコークスを用いた水蒸気発生等の一連の装置開発を実施して、繊維産業の廃素材の資源化に着手する。本技術と微生物分解の促進条件の探査を併用し、最終目標とする海洋プラスチックゴミの資源化に向けてのロードマップ作成に向けた基盤要素技術の開発を実施する。

日本酒酒粕に含まれる核酸の新規機能性に関する研究 (小川)

<目的> 日本酒酒粕に含まれる成分の新規機能性について、皮膚由来細胞の培養系を用いて評価する。

(現状と結果) 近年、美容への関心が高まっており、日本酒酒粕にも美白成分が含まれていることで注目を集めている。本研究では、日本酒酒粕から得られた分画とメラニン産生との関係を調べるため、マウス B16 メラノーマ細胞を用いて実験を行った。まず初めに、日本酒酒粕を PBS (-) に溶解させ、溶解されない不要物を遠心分離により除去した。次に、超遠心分離により日本酒酒粕分画を得た。得られた日本酒酒粕分画は、マウス B16 メラノーマ細胞に対して添加し、細胞毒性試験とメラニン産生抑制効果を調べた。結果として、得られた日本酒酒粕分画 ($\sim 10\ \mu\text{g/mL}$) には細胞毒性が見られなかった。これらの濃度でメラニン測定試験を行った結果、日本酒酒粕分画が α -アルブチンと同等に、メラニンの産生を有意に抑制した。また、メラニン産生を誘導するチロシナーゼ遺伝子の発現を定量性 PCR により測定した結果、日本酒酒粕分画はチロシナーゼ遺伝子の発現を有意に抑制した。加えて、得られた日本酒酒粕分画のヒト線維芽細胞のコラーゲン産生に対する効果を調べ

た。ヒト線維芽細胞のコラーゲン産生は炎症性サイトカインにより抑制されるが、日本酒酒粕分画を添加することでコラーゲン産生への影響は見られなかった。

(研究計画) 引き続き上記の詳細な実験を行い、メラニン産生を抑制した成分の同定を進めることで、より効果的な美白効果を有する化粧品開発に繋がると期待できる。

酸性深共晶溶媒を活用したポルフィリン合成法の開発 (北岡)

<目的> 酸性深共晶溶媒を活用し、テトラフェニルポルフィリン合成を行う。本研究は、好環境的かつ低コストに有用な機能性材料であるポルフィリンを合成することを目的とする。

(現状と結果) ポルフィリンは太陽電池、有機 EL などのエレクトロデバイスへ応用される機能性材料であるが、各種溶媒に対する溶解度が低いために合成が難しい問題を抱えている。例えば、最も工業的に多用されるテトラフェニルポルフィリン (TPP) の合成は、溶媒としてプロピオン酸を用いた Adler 法や塩化メチレンを用いた Lindsey 法により中等度の収率で得られる。しかし、これら溶媒は有害性が高く、効果的回収もでき無いため、他溶媒への変更が望まれる。当研究室では、その解決策としてイオン液体 (IL) を活用した手法を開発してきた。IL は燃えない、蒸発しないなどのグリーン特性を持ち、尚且ポルフィリンを高濃度に溶解するものも存在する。これら性質から安全、好環境的に効果的なポルフィリン合成を実現してきた。しかし、IL はそれ自身の合成が難しく、それが原因で高価である点が実用化を妨げる原因となっていた。本研究では、IL とほぼ同じグリーン特性を持ち、かつ合成が簡単で安価な深共晶溶媒 (DES) に着目した。DES は、水素結合ドナー化合物 (HBD) とアクセプター化合物 (HBA) を混ぜることで共晶融点降下により液体になる物質の総称である。通常、HBD と HBA は豊富に存在する天然物が用いられるため、非常に安価に製造可能である。また、その組合せにより様々な性質を付与することができるのが大きな強みである。HBA として生体物質のコリンクロリド ([Ch][Cl]) や液体を導きやすい [C₄mim][Cl] を用い、HBD として酸性のシュウ酸 (oxa), *p*-トルエンスルホン酸 (PTS) と組合せた酸性の DES を合成した。これら DES は HBD 由来の酸性を有しており、反応溶媒と酸触媒の 2 つの機能を併せ持っている。これら酸性 DES を用いて TPP 合成を行うと、[C₄mim][Cl]: oxa(1:1), [C₄mim][Cl]: oxa(2:1) を用いた場合、7% の収率で TPP が得られることが明らかとなった。これは酸性 IL である [HC₄im][CF₃CO₂] を用いた場合と同等の収率であった。

(研究計画) 本研究では、TPP の更なる効果的な触媒能を可能とする酸性 DES の構造を明らかにする。また、TPP 合成は、反応物の濃度や反応時間、反応温度など反応条件に敏感である。そこで DES を活用した TPP 合成に最適な反応条件を探索する。また、ポルフィリンの金属錯体化反応は従来、DMSO, DMF など限られた溶媒を用いないと合成できなかった。そこで、DES を TPP の金属錯体化に展開する。

神経系受容体活性測定を基礎とした食品成分機能性の研究（山田）

<目的> 食品中成分の神経系受容体への効果を検討し、受容体の機能解析とその機能性食品や医薬への応用を考える。

（現状と結果）ヒトの記憶学習に重要な働きをしている NMDA 型グルタミン酸受容体、痛みや辛みに関係しているカプサイシン受容体とワサビ受容体の機能解析と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。

（研究計画）今後も引き続き、日本酒に含まれる有効成分の GABA_A 受容体、NMDA 型グルタミン酸受容体への効果を検討し、さらに辛味と痛みに関係した受容体であるヒトのカプサイシン受容体とワサビ受容体に作用する物質についても検討する予定である。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、米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。

培養細胞を用いた食品成分機能性の研究（山田）

<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、茶成分など食品に含まれる新規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、ポリフェノール類、ピロロキノリンキノン、ピロロキノリンキノンの誘導体、糖類の効果を検討した。ポリフェノールの効果については、工学部研究報告に発表し、日本農芸化学会にて成果を発表した。石川県工業試験場によるほうじ茶の成分分析結果をもとに、ほうじ茶に特有の成分の生理活性の検討を行った。ほうじ茶の香ばしい香りのもとであるピラジン類に GABA 受容体活性化効果があること、マウスを用いた動物実験で抗不安効果があること新たに発見し、日本生化学会で発表し、現在投稿準備中である。

（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ヒト正常表皮角化細胞用いて、細胞保護作用をもつ物質を食品中から見つけ、その作用機序を検討する予定である。ほうじ茶の成分について新規生理活性に詳細に検討予定である。また、漢方薬中の成分についても検討予定である。

2. 共同研究（6 件）

- 1) 白石 浩平
民間企業 1 件，国立大学法人 1 件
- 2) 小川 智弘
民間企業 2 件，公益財団法人 1 件
- 3) 山田 康枝
独立行政法人 1 件

3. 主要な研究業績

(1) 著書 (1 件)

矢野 徹, 白石 浩平, ”自動車樹脂化の最新動向, 第 5 章 バイオプラスチック・樹脂リサイクル材, 2. 植物由来バイオプラスチックの自動車内装材への応用, CMC 出版, pp230-240(2020)

(2) 学術論文 (6 件)

- 1) Katayama R, Tanaka N, Takagi Y, Shirashi K, Tanaka Y, Matsumoto A, Kojima C, “Characterization of the Hydration Process of Phospholipid-Mimetic Polymers Using Air-Injection-Mediated Liquid Exclusion Method” *Langmuir* 36, (2020), pp.5626-5632
- 2) Kojima C, Katayama R, Nguyen Thi L, Oki Y, Tsujimoto A, Yusa S, Shiraishi K, Matsumoto A, “Different antifouling effects of random and block copolymers comprising 2-methacryloylethyl phosphorylcholine and dodecyl methacrylate” *European Polymer Journal*, 136, (2020), pp.109932-109940
- 3) 小川 智弘, 農宗 辰己, 市原 祐介, 沖 勇斗, 白石 浩平, ” L-Lysine を側鎖にもつ生体適合性 polyacrylamide 存在下での HepG2 細胞応答性, 近畿大学工学部研究報告, 54,(2020), pp.7-12
- 4) Kitaoka S, Hori T, Nobuoka K, “Eco-friendly and Effective Tetraphenylporphyrin Metalation Utilizing Ionic Liquids.” *Trans. Mat. Res. Soc. Jpn.*, 45(4), (2020), pp109-113.
- 5) Nobuoka K, Kitaoka S, “Constructing Double Helical DNA Supramolecule in Ionic Liquids” *Trans. Mat. Res. Soc. Jpn.*, 45(6), (2020), pp191-196.
- 6) 森 淳輝, 中西 慧, 山田 康枝 “酸化ストレスおよび肝障害下のヒト肝ガン由来細胞株 HepG2 に対する食品成分の効果” 近畿大学工学部研究報告 No.54 R3,2 月 pp1-5.

(3) 学会発表 (11 件)

- 1) 沖 勇人, 杉本 奈美, 白石 浩平 “L-リジンを持つアクリルアミドと各種共重合体及び共重合体構造が与える線溶活性への影響” 第 69 回高分子学会年次大会(2020-5) (福岡)
- 2) 武部 佑紀, 沖 勇人, 白石 浩平 “スター型ポリマーが中間水形成と酵素活性に与える影響” 第 69 回高分子学会年次大会(2020-5) (福岡)
- 3) 児島 千恵, 片山 里紗, 田中 信行, 田中 陽, 白石 浩平, 松本 章一 “新規濡れ性試験 AILE 法を用いた MPC ポリマー被覆表面の膨潤挙動の解析” 第 69 回高分子学会年次大会(2020-5) (福岡)
- 4) 松本 和也, 平尾 成隆, 崔 源煥, 久武 信太朗, 白石 浩平, 與倉 三好, 永島 正嗣 “超平滑銅箔/低温プラズマ表面処理フッ素樹脂の接着剤レス接合体の調製” 第 29 回ポリマー材料フォーラム (2020-11) オンライン
- 5) 岡田 清孝, 武知 薫子, 白石 浩平, 松村 治雄 “医学教育の中の化学教育におけるオンライン教育の実践と成果”, 第 101 回日本化学会年次大会, (2021-3), オンライン
- 6) 野添 稜, 信岡 かおる, 北岡 賢, “イミダゾピリジン型イオン液体の合成と蛍光特性,” 日本化学会第 101 春季年会 (2021) , (2021-3), オンライン

- 7) 木村 駿介, 北岡 賢, 石川 雄一, 信岡 かおる, “チアゾリウム型イオン液体触媒の不斉マイケル付加反応における基質選択メカニズムの解明,” 日本化学会第 101 春季年会 (2021), (2021-3), オンライン
- 8) 大賀 隆寛, 北岡 賢, 石川 雄一, 信岡 かおる, “グリコールリンカーを導入した 5-アミノチアゾール型蛍光イオン液体の合成および光特性,” 日本化学会第 101 春季年会 (2021), (2021-3), オンライン
- 9) 本廣 真穂, 信岡 かおる, 北岡 賢, “酸性深共晶溶媒を反応溶媒としたテトラフェニルポルフィリン合成法の開発,” 日本化学会第 101 春季年会 (2021), (2021-3), オンライン
- 10) 山田 康枝, 沖田 裕司, 矢吹 智, 西居 和哉, 北村 悠仁, 笹木 哲也 “ほうじ茶に特異的な成分の GABA_A 受容体および神経芽細胞腫細胞株 SK-N-SH への効果” 第 93 回日本生化学会大会(2020-9)オンライン
- 11) 森 淳輝, 山田 康枝 “酸化ストレスおよび肝障害下のヒト肝ガン由来細胞株 HepG2 に対するポリフェノールの効果” 日本農芸化学会 2021 年度大会 (2021-3 仙台)オンライン

(4) 講演 (1 件)

- 1) 白石 浩平: 「合成高分子含有バイオコークスの内部構造と分子運動性変化」, R02 年度近畿大学バイオコークス研究所・外部評価委員会基調講演(2021-3)

(5) 特許登録 (3 件)

- ・特許第 6692023 号 (2020 年 4 月 16 日) 発明者: 白石 浩平他
- ・特許第 6717659 号 (2020 年 6 月 15 日) 発明者: 白石 浩平他
- ・特許第 6778295 号 (2020 年 10 月 13 日) 発明者: 白石 浩平他

(6) その他 (11 件)

- 1) 白石 浩平: 受託研究報告書 (5 件)
 - ・令和元年度戦略的基盤技術高度化支援事業「マイルドプラズマ処理と精密ラミネートによるフッ素樹脂と銅箔を直接接合する低損失基板製造技術の開発」成果報告書 (2020-3)
 - ・令和元年度研究成果報告書 (NPO 法人広島循環型社会推進機構) (2020-8) 一般 5 「廃棄物の 3R としてのバイオコークスの製造実験」
 - ・その他 (3 件)
- 2) 白石 浩平: 企業等技術指導 (6 件)

4. 外部資金獲得 (3 件)

【競争的資金】

- 1) 白石 浩平: NPO 法人広島循環型社会推進機構 循環型社会形成推進技術研究開発事業 一般課題 (令和 2 年度) 「廃プラスチックを活用したバイオコークスに関する研究」 (代表者: (一社) 地域 QOL 研究所 田村真悠)

- 2) 白石 浩平：経済産業省：令和2年度中小企業経営支援対策補助金（戦略的基盤技術高度化推進事業）（PL：エステック㈱（松江市），SL：近畿大学工学部）
- 3) 北岡 賢：科学研究費助成事業（学術研究助成基金）基盤研究(C)，「生体物質が切り拓くイオン液体研究のパラダイムシフト-高機能性食品へ-」，19K05622，令和1～4年度（代表者）

【寄附・委託研究費】

- 1) 白石 浩平：寄附研究（1件），受託研究（5件）
- 2) 小川 智弘：寄附研究（2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
 - 令和01(19)年度経済産業省戦略的技術高度化支援事業 副総括研究代表
 - （公社）日本化学会中国四国支部 学会賞関連評価委員
 - （国立大学法人）広島大学デジタルものづくり教育研究センター
 - 「ひろしまものづくりデジタルイノベーション創出プログラム」参画メンバー
- 2) 小川 智弘：
 - （公立大学法人）大阪市立大学 客員研究員
 - 美味技術学会運営委員
- 3) 北岡 賢：
 - 複素環化学討論会世話人会役員
 - （公社）高分子学会中国四国支部 若手研究会運営委員
 - （公社）日本化学会中国四国支部 地区幹事
 - （公社）日本化学会中国四国支部 代表正会員
- 4) 山田 康枝：
 - 日本食品・機械研究会 理事
 - （公社）日本薬理学会 評議員
 - （公社）日本農芸化学会英文誌 編集委員
 - （公社）日本食品保蔵科学会HACCP管理者ワークショップ認定講師
 - （独行）酒類総合研究所動物実験委員会 外部委員

6. その他

- 1) 白石 浩平：（公社）高分子学会，第27回ポリマー材料フォーラム（2020-11），広報委員パブリシティ賞「超平滑銅箔／低温プラズマ処理フッ素樹脂の接着剤レス接合体の調製」（採択8件／300件余）
- 2) 白石 浩平：日本経済新聞中国四国版（2020-9-24）「プラズマ照射で基板接着，次世代通信向け技術，フッ素樹脂で高性能に」