

1-5 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 25 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, レーザーにより不要な細胞を除くあるいは有用細胞のみを非侵襲的にはく離回収するシステムおよび装置を開発している.

(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には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.

〈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する. 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 12 成分見出した. これまで, 鎮静・催眠薬, 抗痙攣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作成中である (特許出願中).

NMDA 型グルタミン酸受容体に作用する物質を 6 成分見出し, その内の 3 成分は新規物

質であった。25年度アメリカ神経科学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。また、その他にも、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及びプロポリス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。

(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。

(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。

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) レモン果皮を用いたアルコール飲料製造における糖化過程での抗酸化能の経時変化が評価された。製造プロセスにおける材料の機能性変化に関わる重要な知見が得られた。また、出汁作りに一般的に使用されている昆布、鰹節および炒り子を原料とした最適な調製条件と、その際の旨味分量や粘性・色調などの状態が確認された。従来の手法が最も効果的に旨味成分を抽出できることが定量的に示された。

(研究計画) 糖化工程後の効率的な発酵条件の検討と、新規なアルコール飲料開発のためのおいしさに配慮した発酵補助材料の利用について検討する。また、地域の特産品を用いた出汁調製の際の旨味成分および香気成分量の測定や、色調および粘性などの状態観察を課題として取り組む。新しい出汁におけるおいしさ創造のための科学的根拠を提示することを目指す。

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。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。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線維化が抑制された。また、プロポリス成分の中から星細胞の増殖およびコラーゲン産生を抑制する成分の同定に成功した。

(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、星細胞の増殖やコラーゲン産生を抑制するプロポリス成分の肝臓病態での機能について解析を行う。

2. 共同研究 (6件)

1) 白石 浩平:平成 25 年度

「ナノファイバー化バイオマス原料の天然ゴム中での界面結合に関する研究」, (独)産業技術総合研究所との共同研究.

2) 白石 浩平:平成 25 年度 (2件)

3) 山田 康枝:平成 25 年度

「グルタミン酸受容体及び GABA 受容体に作用する酒成分に関する研究」, (独) 酒類総合研究所.

4) 山田 康枝:平成 25 年度

「神経細胞および神経系受容体に対するサリン類似化合物を主とした薬毒物の作用」, 国立大学法人広島大学大学院医歯薬保健学研究科.

- 5) 山田 康枝：平成 25 年度
「棒茶に含まれる香気成分のリラックス効果の評価」, 石川県工業試験場.
- 6) 渡邊 義之：平成 24 度～平成 25 年度
「乳化及び粉末化操作によるナノ構造化機能的脂質粉末の酵素処理技法開発」日本学術振興会日本-フィンランド二国間共同研究, 香川大学, 京都大学, 岡山大学, フィンランド国立技術研究所との共同研究.

3. 主要な研究業績

(1) 論文 (6 件)

- 1) 白石 浩平, 矢野 徹, 三田 浩貴, 遠藤 貴士, “木質セルロースナノファイバー配合による天然ゴムの物性改善”, 近畿大学次世代基盤技術研究所報告, Vol.4, (2013), pp.43-47
- 2) 今城 明典, 伊藤 大時, 農宗 辰己, 朝井 麻奈人, 白石 浩平, “表面開始 ATRP 法により LCST 型温度応答性高分子を修飾したガラス基板の調製と HeLa 細胞の温度刺激はく離”, 近畿大学工学部研究報告, Vol.47, (2013), pp.7-12
- 3) 白石 浩平, 相良 宗作, 矢野 徹, 川口 敬子, 橋本 邦彦, “ポリ乳酸射出成形による自動車内装用モジュール部品の新規開発”, 機能材料, Vol.33(8), (2013), pp.36-41
- 4) Watanabe Y, “Improvement of color and functional stability of strawberry jam by impregnation with sucrose”, In *Sucrose: Properties, Biosynthesis and Health Implications* (Eds., Magazù S, Nova Science Publishers), (2013), pp. 61-74
- 5) Watanabe Y, Shirai Y, Miyake M, Kitano J, Adachi S, “Antimicrobial activity of monoacyl hexose coexistent with lysozyme against Gram-positive Bacilli”, *International Journal of Food Properties*, 16, (2013), pp. 1222-1230
- 6) Uda Y, Watanabe Y, Matsugami T, Fujita A, Kanagawa H, Takatsu K, Kawakami K, Nomura M, “Changes in the Composition of Saccharides in Rice Grains through Cooking and Digestion using Synthetic Human Saliva”, In *Recent Advances in Ginseng and Glycosides Research* (Eds., Hopkins C J, Nova Science Publishers), (2013), pp. 137-154

(2) 学会発表 (19 件)

- 1) 伊藤 大時, 農宗 辰己, 山田 康枝, 白石 浩平, 杉山 一男, 河津 博文, “UCST 型温度応答性ポリマーを表面修飾した基板の調製と熱・レーザー光照射による細胞はく離の評価”, 第 62 回高分子学会年次大会 (京都), (2014)
- 2) 今城 明典, 山田 康枝, 白石 浩平, 杉山 一男, 中谷 達行, “細胞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 62 回高分子学会年次大会 (京都), (2014)
- 3) 伊藤 大時, 農宗 辰己, 山田 康枝, 白石 浩平, 河津 博文, 中谷 達行, “ST-ATRP 法により UCST 型温度応答性 Poly (acrylamide-co-acrylonitrile) を表面修飾したガラス基板の調製と加温による細胞はく離”, 第 62 回高分子討論会 (金沢), (2014)
- 4) 今城 明典, 朝井 麻奈人, 山田 康枝, 白石 浩平, 中谷 達行, “ST-ATRP 法により

- PNiPAAm 鎖長を制御した固定化ガラス基板の調製と間葉系幹細胞(MSC)の接着およびはく離”，第 62 回高分子討論会（金沢），（2014）
- 5) 中路 昌司, 小川 智弘, 藤原 弘宜, 山田 康枝, “ヒト神経芽細胞腫株 SK-N-SH の 6-OHDA および過酸化水素による細胞死に保護効果を示す物質の検討”, 日本農芸化学会 2014 年度大会（東京）, (2014)
 - 6) 小川 智弘, 山田 康枝, 兵庫 秀幸, 河田 則文, “The beneficial effect of propolis on fat accumulation and lipid metabolism in NASH model”, Asian Pacific Association for the Study of the Liver 2014(Australia), (2014)
 - 7) 小川 智弘, 山田 康枝, 兵庫 秀幸, 河田 則文, “プロポリスの脂肪肝や非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)に対する予防および治療効果の検討”, 第 40 回日本肝臓学会西部会（岐阜）, (2013)
 - 8) 小川 智弘, 山田 康枝, 兵庫 秀幸, 河田 則文, “The beneficial effect of propolis on fat accumulation and liver fibrosis in mice fed a methionine-choline diet.”, 17th International Symposium on Cells of the Hepatic Sinusoid（大阪）, (2013)
 - 9) 藤井 英樹, 小川 智弘, 元山 宏行, 吉里 勝利, 河田 則文, “Role of macrophage scavenger receptor A in hepatic fibrogenesis of an animal NASH model”, 17th International Symposium on Cells of the Hepatic Sinusoid（大阪）, (2013)
 - 10) 小川 智弘, “教職課程科目における iPad 導入による理科授業の実践とその評価”, 日本工学教育協会第 61 回年次大会（新潟）, (2013)
 - 11) 中路 昌司, 小川 智弘, 藤原 弘宜, 山田 康枝, “ヒト神経芽細胞腫株 SK-N-SH に対する酸化ストレス保護効果”, 日本農芸化学会中四国支部第 36 回講演会（島根）, (2013)
 - 12) Y. Yamada, K. Norikane, K. Matsumaru H. Izu, “Effects of polyamines and monoamines on GluN1/GluN2A and GluN1/GluN2B subtypes of NMDA receptor Neuroscience” (San Diego), (2013 November 9-13)
 - 13) 中村 一美, 樹野 淳也, 米原 牧子, 山田 康枝, 竹原 伸, “車室内空間の快適性向上を目指して”, 生活生命支援医療福祉工学系学会連合大会 (LIFE2013)（山梨）, (2013)
 - 14) 中村 一美, 樹野 淳也, 米原 牧子, 山田 康枝, 竹原 伸, “自動車室内の快適性・空気質に関する基礎研究”, 第15回 日本感性工学会（東京）, (2013)
 - 15) 山田 康枝, 大谷 航平, 白石 浩平, “揮発性有機化合物の神経系細胞への効果”, 第 40 回 日本毒性学会学術年会（千葉）, (2013)
 - 16) 中村 一美, 樹野 淳也, 米原 牧子, 竹原 伸, 山田 康枝, “悪臭物質がマウスの自発運動能におよぼす影響”, 第 40 回 日本毒性学会学術年会（千葉）, (2013)
 - 17) 佐藤 崇弘, 青島 均, 山田 康枝, “カプサイシン受容体(TRPV1)活性に作用する物質の検討”, 日本農芸化学会中四国支部第 36 回講演会（島根）, (2013)
 - 18) 中路 昌志, 小川 智弘, 山田 康枝, “ヒト神経芽細胞腫 SK-N-SH に対する酸化ストレス保護効果”, 日本農芸化学会中四国支部第 36 回講演会（島根）, (2013)
 - 19) Watanabe Y, Kono Y, Hinohara T, Adachi S, “Stability of O/W Emulsion with Limonene through Freezing and Thawing”, 2nd Finnish-Japanese Bilateral Symposium, “Nano-emulsions and encapsulation for delivering functionality in foods” (Takamatsu), (2013-9)

(3) 講演 (6 件)

- 1) 白石 浩平, “東ソー株式会社四日市研究所招待講演「細胞マイクロアレイを用いた細胞融合・細胞回収装置の新規開発」”, 2013.5.14 (三重県: 東ソー(株)四日市研究所)
- 2) 白石 浩平, “近畿大学工学部公開講座「細胞に番号を付ける!?!新しい細胞操作のプラットフォーム創製を目指して」”, 2013.7.6 (東広島: 近畿大学工学部)
- 3) 白石 浩平, “日本ゴム協会関西支部講演会「メカニカル解繊セルロースナノファイバー配合による天然ゴムの物性改善」”, 2013.8.23 (広島: 広島市工業技術センター)
- 4) 白石 浩平, 山田 康枝, “産総研研究成果報告会「バイオマス系原料の樹脂及びゴムへのセルロース複合材料化技術に関する研究」”, 2013.11.13 (東広島: (独)産総研中国センター)
- 5) Yasue Yamada, “The biological activity of various compounds in sake (Japanese traditional liquor from rice)”, 2013.10.30 (Palacky University, Centre of the Region Haná for Biotechnical and Agricultural Research)
- 6) 渡邊 義之, “研究公開フォーラム 2013「RAMOS による大腸菌の回分培養における代謝活性の測定とオーバーフロー代謝のモデリング」”, 2013.10.28 (広島: メルパルク広島)

(4) 特許出願 (2 件)

- 1) 白石 浩平: 2 件

(5) その他 (5 件)

- 1) 白石 浩平: 企業等技術指導 (24 件)
- 2) 白石 浩平: 平成 25 年度経済産業省戦略的基盤技術高度化推進事業報告書
- 3-4) 白石 浩平: 委託研究報告書 (2 件)
- 5) 小川 智弘: 平成 24~25 年度山田養蜂場 みつばち研究助成基金報告書

4. 外部資金獲得 (7 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)

【委託研究費】

- 1) 白石 浩平: 代表者 (2 件)
- 2) 山田 康枝: 代表者 (2 件), 分担者 (1 件)
- 3) 渡邊 義之: 代表者 (1 件)
- 4) 小川 智弘: 研究助成金 「非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)などの肝障害に対するプロポリス成分の効果」山田養蜂場 みつばち研究助成基金 (代表者)

5. 学外兼務業務

- 1) 白石 浩平:
(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

- 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：
(社)日本食品工学会評議員
- 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

※Biotech2013 –第12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))

- 1) 白石 浩平, 山田 康枝：平成 25 年 5 月 8 日 (水) ～5 月 10 日 (金), 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

※プレス発表(白石, 小川)

- 1) 白石 浩平：
ゴム産業ニュース「日本ゴム協会関西支部広島で合同役員会 近大工学部白石教授が基調講演」平成 25 年 9 月 5 日 (木) 第 126 号
- 2) 白石 浩平, 小川 智弘：
赤穂民報「“教師の卵” が出前授業」平成 25 年 9 月 14 日第 2053 号

※研究成果活用教育研究連携

- 3) 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)
(固体高分解能核磁気共鳴吸収装置の測定法と応用について)
- 4) 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「野菜や魚から DNA を取り出す. ルミノール反応の発光観察」平成 25 年 8 月 8 日

以上