

2024年11月6日

報道関係者各位

国立大学法人福島大学
独立行政法人国立高等専門学校機構 苫小牧工業高等専門学校

セルロースから分子を認識する新材料を開発 ー病原性ウイルスや毒素タンパク質の検査ツールとして期待ー

福島大学食農学類の尾形慎准教授と苫小牧工業高等専門学校創造工学科の甲野裕之教授を中心とする研究グループは、木材の主成分であるセルロースから簡単に作られるカルボキシメチルセルロース (CMC)¹⁾ を粒子化し、その表面に糖鎖と呼ばれる分子を認識する部分を多数固定することで、検出したいタンパク質に対する結合能と特異性に優れた新しい吸着剤の開発に成功しました。

本研究は、毒素タンパク質や病原性ウイルスに対する吸着剤への応用が可能であり、今後の研究の発展により、新しい検査法の確立が期待されます。本研究成果は、アメリカ化学会の国際学術雑誌『*ACS Applied Materials & Interfaces*』オンライン版 (2024年10月8日付) に掲載されました。

【本研究のポイント】

- ✓ **木質バイオマス由来のナノヒドロゲル状の吸着担体**: CMC 同士を結び付ける薬剤 (架橋剤) で粒子化することで、粒子表面に多数の反応点を持ったナノヒドロゲル状の吸着担体 (CMC ナノヒドロゲル粒子²⁾) の合成に成功しました。
- ✓ **糖鎖クラスター化技術による糖鎖固定化 CMC ナノヒドロゲル粒子の合成**: CMC ナノヒドロゲル粒子表面の反応点を介した糖鎖³⁾ 固定化量を制御することで、吸着剤⁴⁾ の構造最適化を達成しました。
- ✓ **優れた吸着特性**: 標的タンパク質に対する迅速かつ構造特異的な高吸着が示されました。具体的には、乾燥糖鎖固定化 CMC ナノヒドロゲル粒子 1 μg 当たりおおよそ 2 μg のレクチン⁵⁾ 吸着が観察されました。

【研究の背景と目的】

糖鎖とレクチンとの相互作用は、生体内における重要な生物学的現象として知られています。一般に、これら糖鎖とレクチン間の一対一の結合力は微弱ですが、生体内での糖鎖の局所的な集合理化によって糖鎖クラスター⁶⁾ 効果を引き起こし、その相互作用を大幅に増強することが明らかになっています。このような生体内における糖鎖とレクチン間での結合親和性の飛躍的な増強効果は、レクチンを標的とした機能性糖鎖材料開発においても重要な分子設計指針として広く活用されています。機能性糖鎖材料開発における糖鎖クラスター化技術の適用例としては、レクチンや酵素を分離・精製するための吸着体や、病原性ウイルスや毒素タンパク質を回収・検出するための吸着剤などが挙げられます。しかし、レクチンのような生体高分子に対して強い結合親和性と高い吸着量を有し、さらには、対象としていない分子 (夾雑物) は吸着しないような高い結合特異性を有する優れた吸着特性を持った吸着剤を簡便かつ安価に合成することは難しいとされてきました。

近年、天然のバイオマス素材を活用するバイオリファイナリー技術が環境に配慮したモノづくりとして注目を集めています。なかでも、木質バイオマスであるセルロースは、自然界で最も豊富に存在する天然高分子であり、生物生産量は年間 2000 億トンにも達し、製品原料としての価値も高いとされています。本研究では、セルロースから容易に調製される CMC の

化学的性質に着目し、架橋剤による不溶性ナノヒドロゲル粒子化、さらには粒子表面への糖鎖修飾によって、レクチンに対する新しい吸着剤の開発を目的としました。

【今回の成果】

始めに、CMC を両末端エポキシ化合物で架橋することで、CMC ナノヒドロゲル粒子を合成しました (図 1)。本ナノゲル粒子は、リン酸緩衝食塩水中では平均粒子直径がおよそ 800 nm であり、その表層が膨大なヒドロキシ基とカルボキシ基から構成された完全親水性であることから夾雑物質に対する非特異的吸着の抑制が期待でき、さらに、カルボキシ官能基を起点とした多価の糖鎖導入も可能になります (図 1)。次に、ナノゲル粒子由来カルボキシ基と LacNAc⁷配糖体由来アグリコン部末端アミノ基とをペプチド合成試薬を用いて脱水縮合反応を行いました。反応終了後、簡単な粒子洗浄工程を経て LacNAc 固定化 CMC ナノヒドロゲル粒子を得ました (図 2)。本研究では、ナノゲル粒子中のカルボキシ基に対する LacNAc 配糖体の添加モル比を 1:2.4~0.15 の範囲で制御することで、タイプ A~E の LacNAc 固定化 CMC ナノヒドロゲル粒子を合成しました (図 2)。得られたナノゲル粒子の構造解析は、構成糖分析および固体 ¹³C-NMR によって行い、乾燥ナノゲル粒子 1 mg 当たりの糖鎖導入量はタイプ A~E でそれぞれ 560、531、438、306、226 nmol でした (図 2)。この結果は、ナノゲル粒子中の全カルボキシ基に対して 21~8.5%の割合で糖鎖が導入されたこと意味し、合成溶媒に使用したジメチルスルホキシド中におけるナノゲル粒子の膨潤性を考慮すると、主に粒子表層への糖鎖導入であると結論付けることができました。

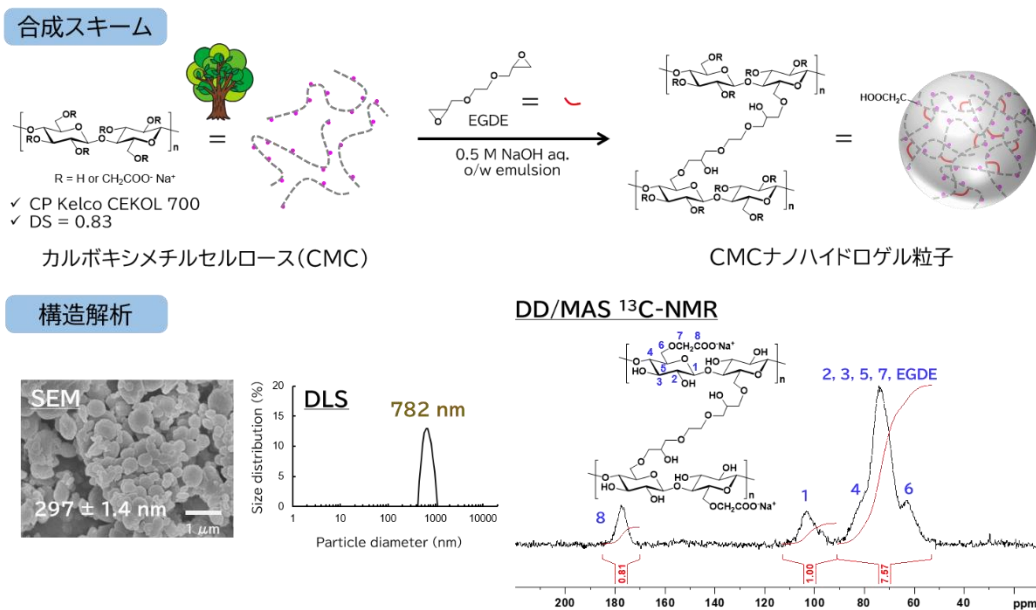
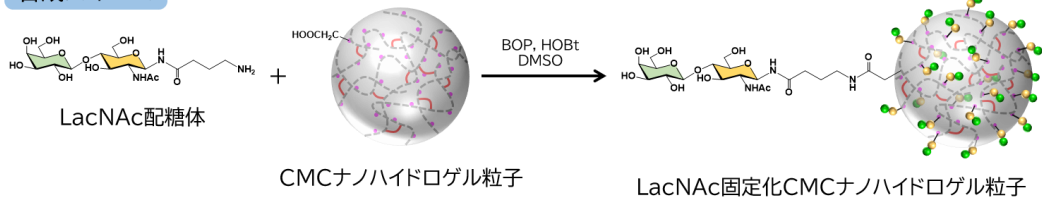


図 1 CMC ナノヒドロゲル粒子の合成

非毒性・生体適合性・生分解性などの特性を有し、粒子表面に多数の反応点(カルボキシ基)を持ったナノヒドロゲル状の吸着担体の合成に成功した。

合成スキーム



反応組成・収量・糖鎖導入量・糖鎖導入率

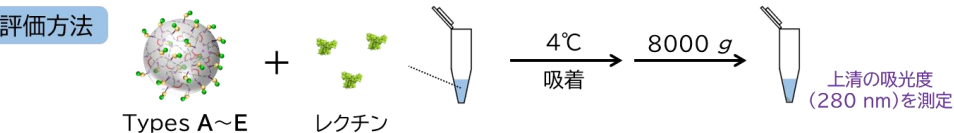
Types	CMCナノ水ゲル粒子 CM group (mmol)	BOP (mg)	HOBt (mg)	LacNAc配糖体 (mmol)	Yield (mg)	導入量 (nmol/mg)	導入率 (%)
A	0.013	55.7	4.7	0.032	2.9	560±7	21.0
B	0.013	27.9	2.3	0.016	3.1	531±12	19.9
C	0.013	13.9	1.2	0.008	3.1	438±6	16.4
D	0.013	7.0	0.6	0.004	3.8	306±5	11.5
E	0.013	3.5	0.3	0.002	4.3	226±12	8.5

図2 LacNAc固定化 CMC ナノ水ゲル粒子の合成

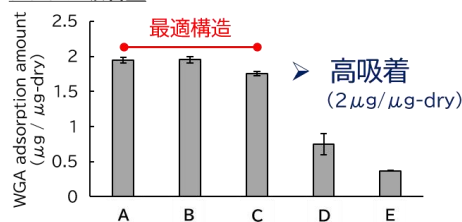
LacNAcを多価導入した LacNAc 固定化 CMC ナノ水ゲル粒子の合成に成功した。反応組成を調節することで糖鎖導入量を制御することが可能であった。

続いて、合成粒子の分子認識能をレクチン結合試験によって評価しました。結果、LacNAc に対して結合親和性を有する小麦胚芽レクチン (WGA) の吸着量はタイプ A~C が多く、驚くべきことに乾燥粒子 1 μg あたり約 2 μg の選択的なレクチン吸着が観察されました (図3)。これら合成ナノゲル粒子に対するレクチンの高吸着は、Langmuir の吸着等温式から算出された最大吸着量とも矛盾ない結果であることが示されました (図3)。さらに、粒子表面に結合したレクチンの構造解析およびハプテンを用いたレクチン溶出試験において、吸着したレクチンは構造変化なく生物活性を維持したまま脱着できることが示されました (図4)。

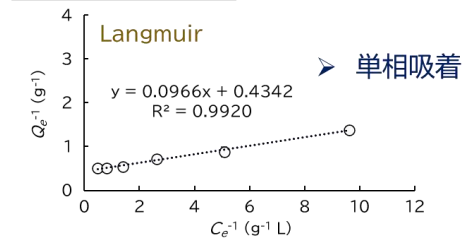
評価方法



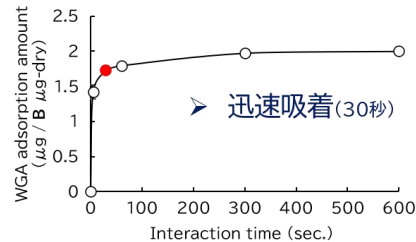
レクチン吸着量



最大吸着量と吸着モデル



相互作用時間と吸着量の関係



特異性解析

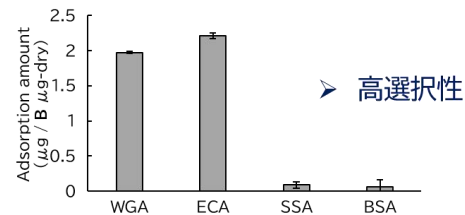


図3 LacNAc固定化 CMC ナノ水ゲル粒子の機能

各種機能評価により、合成ナノゲル粒子に対するレクチンの吸着様式ならびに高い吸着能、優れた結合特異性が明らかになった。

アフィニティー精製

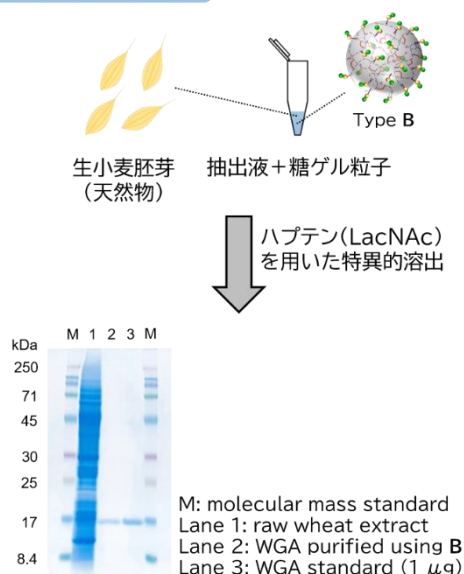


図 4 LacNAc固定化 CMC ナノハイドロゲル粒子を用いたレクチンのアフィニティー精製
多数の夾雑物が含まれる天然サンプル中より目的レクチンのみを生物活性を維持したまま単離精製することが可能であった。

【今後の期待】

今回我々は、木質バイオマスを合成原料とし、生体内での糖鎖を介した分子認識機構を模倣した新しい吸着剤を合成する方法論を確立しました。この新規吸着剤は、ハイドロゲル骨格となるバイオマス多糖類を改変することでカルボキシ基以外の官能基も選択できるため、用途によっては機能性を向上させることも可能です。さらに、分子認識素子として機能する糖鎖部分をカスタマイズすることで、対象となる物質をレクチンから病原性ウイルスや毒性タンパク質などへ変更することも可能であり、今後、病原性ウイルスや毒素タンパク質に対する吸着特性を利用した検査ツールの開発などが期待されます。

【用語解説】

1) カルボキシメチルセルロース (CMC)

セルロース水酸基の一部をカルボキシメチル基に置換した水溶性セルロース誘導体。増粘多糖や乳化安定剤として食品に広く利用されており、毒性やアレルギー性が無いことから点眼液をはじめ、医療分野でも活用されている。

2) CMC ナノハイドロゲル粒子

表面に CMC 由来のカルボキシ基を多数持ったナノサイズの粒子であり、水もしくは生理食塩水中で吸水し、瞬時にゲル化する特性を持つ。

3) 糖鎖

グルコースなどの糖が鎖状につながった物質のこと。生体内では、レクチンとの相互作用を介して複合糖質の輸送管理や細胞接着の仲介と調節など分子認識素子として機能している。

4) 吸着剤

吸着剤が持つ物質と吸着する性質を活かして、脱臭や水処理、金属リサイクル、抗体精製など様々な産業で利用されている。

5) レクチン

糖と特異的に結合するタンパク質の総称。植物や動物のみならず、病原性ウイルスなどにもレクチンが存在し、インフルエンザウイルスの例では、ウイルス表面上のヘマグルチニンと呼ばれるレクチンが宿主細胞表面上糖鎖に構造特異的に結合し、感染を成立させることが知られている。

6) 糖鎖クラスター

糖鎖が高分子上に複数個配置された構造を糖鎖クラスターと呼ぶ。

7) LacNAc

N-アセチルラクトサミン (Gal β 1,4GlcNAc)

【論文情報】

タイトル Synthesis of multivalent glycoside-immobilized carboxymethyl cellulose nanohydrogel particles with superadsorption ability for lectins
著者名 Makoto Ogata*, Remi Anazawa, Lisa Connolly, Tomomi Ogata, Yuto Wada, Yuki Tanaka, Ami Koizumi, Mitsuki Asano, Hiroyuki Kono* (*責任著者)
掲載誌 *ACS Applied Materials & Interfaces*, 16, 56031-56040 (2024)
DOI <http://doi.org/10.1021/acsami.4c08821>

【研究支援】

本研究の一部は JST 研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP) JPMJTM20KP、JSPS 科研費 JP24K08548、福島国際研究教育機構 (F-REI) の委託研究費 JPFR23020106 の助成により実施されました。

【報道機関関係者の方々へのお願い】

ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

【本発表資料のお問い合わせ先】

福島大学農学群食農学類 准教授 尾形 慎 (おがた まこと)
TEL: 024-503-4982
E-mail: ogata@agri.fukushima-u.ac.jp
<https://glycochemistry-lab.jp/>

苫小牧工業高等専門学校 教授 甲野 裕之 (こうの ひろゆき)
TEL: 0144-67-8036
E-mail: kono@tomakomai-ct.ac.jp

【本リリースの発信元】

福島大学 総務課広報係
TEL: 024-548-5190
E-mail: kouho@adb.fukushima-u.ac.jp

苫小牧工業高等専門学校 総務課総務係
TEL: 0144-67-0213
E-mail: soumu@tomakomai-ct.ac.jp