

令和 元年 5月 21日現在

機関番号：14501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06861

研究課題名(和文) バイオフィウリングを抑制するクォーラムセンシング阻害剤徐放型逆浸透膜の新規開発

研究課題名(英文) Development of reverse osmosis membrane with controlled release function of quorum sensing inhibitor for inhibition of biofouling

研究代表者

稲田 飛鳥 (Inada, Asuka)

神戸大学・工学研究科・学術研究員

研究者番号：10803835

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：バイオフィルム形成を抑制するクォーラムセンシング(QS)阻害剤を膜表面に導入し、薬剤徐放能を有する新規RO膜の開発を行うため、QS阻害剤によるバイオフィルム形成阻害活性に関する基礎的検討を行った。QS阻害剤としては、バニリンやベンゾキノンを類を用いて試験した結果、全てのQS阻害剤で微生物の増殖抑制が確認された。RO膜からの徐放キャリアとしてポリ(ラクチド-co-グリコリド)共重合体(PLGA)を用いることで徐放速度を制御することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究におけるQS阻害剤徐放RO膜は系内へのQS阻害剤添加法に比べ、使用する薬剤総量を大幅に低減することができるため、その結果、環境への負荷は激減するものと予想される。また、バイオフィルムの形成を長期的に抑制することにより、膜の洗浄頻度を低減、あるいは洗浄が不要となり得る。さらに、洗浄による膜性能の低下や膜の劣化を軽減できるため生産性の向上にも期待できる。以上のように、本研究成果によって、高バイオフィウリング耐性を有する次世代の徐放型RO膜設計の指針を示した。

研究成果の概要(英文)：The reverse osmosis membrane with controlled release function of quorum sensing inhibitors was developed to inhibit the biofouling. The vaniline and benzoquinone were evaluated as quorum sensing inhibitor. As the result, growth inhibition effect of bacteria for vaniline and benzoquinone was seen. Moreover, poly (lactide-co-glycolide) (PLGA) was used as the carrier for controlled release of quorum sensing inhibitor, and we succeeded to control the release rate of the inhibitors.

研究分野：化学工学、膜分離工学

キーワード：クォーラムセンシング バイオフィルム 徐放 マイクロビーズ 逆浸透

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

地球温暖化や人口増加により、水環境の汚染や水資源の枯渇問題は世界中で深刻化するばかりである。しかしながら、この水処理プロセスにおいて、膜表面に微生物が形成するバイオフィームによる膜の目詰まりであるバイオフィアウリングが極めて深刻な問題となっている。従来から用いられている次亜塩素酸ナトリウムやアルカリ溶液による膜面の殺菌・洗浄は、バイオフィアウリングに対しては有効でないことがしばしばあり、膜面に対するダメージも懸念されている。

近年、自然界において、微生物は細胞間で互いにコミュニケーションをとりながら生存していることが明らかとなっており、この機構はクォーラムセンシング (QS) と呼ばれ、関連する医療分野において研究が盛んにされてきた。水処理におけるバイオフィアウリングの原因であるバイオフィームの形成においても QS が関与していることが報告されている。バイオフィームは、付着した細菌が QS を通じて情報伝達を互に行い、多糖を主成分とするマトリックスを分泌して形成される。以降、QS のシグナル伝達物質や阻害剤に関する研究が進められてきた。QS 阻害技術として、シグナル物質を分解する方法や、シグナル物質に対して阻害活性を持つ構造類似化合物の系内への添加などが挙げられる。しかしながら、QS 機構を遮断してバイオフィアウリングを抑制する技術はまだ開発途上にあるため、実用化には至っていない。

2. 研究の目的

本研究では、膜表面におけるバイオフィーム形成を長期的に抑制することに重点を置き、膜表面からの QS 阻害剤徐放性を有する RO 膜の開発することを目的とする。QS 阻害剤のバイオフィーム形成阻害活性に関する基礎的検討を行う。モデル菌を用いて QS 阻害剤のスクリーニングを行い、濃度別に膜表面における微生物の増殖率やバイオフィームの形成阻害能を評価する。次に RO 膜表面に導入する QS 阻害剤徐放キャリアの検討を行う。徐放キャリアとして、生分解性ポリマーや大環状化合物など、QS 阻害剤との組合せを検討し、長期徐放可能なキャリアを検討する。

3. 研究の方法

バイオフィーム形成を抑制する QS 阻害剤を膜表面に導入し、DDS を応用した薬剤徐放性を有する新規 RO 膜を開発する。QS 阻害剤によるバイオフィーム形成阻害活性に関する基礎的検討、徐放キャリアの検討を行った。種々の QS 阻害剤のバイオフィーム形成阻害の評価を行い、その中で優れた薬剤を徐放キャリアに担持・包接し、複合体を調製した。その後、徐放キャリアからの徐放速度の評価を行い、クロスフロー濾過における新規 RO 膜の実現可能性を示した。

4. 研究成果

バイオフィーム形成を抑制するクォーラムセンシング (QS) 阻害剤を膜表面に導入し、ドラッグデリバリーシステム (DDS) を応用した薬剤徐放性を有する新規 RO 膜の開発を行うため、まず初めに QS 阻害剤によるバイオフィーム形成阻害活性に関する基礎的検討を行った。QS 阻害剤としては、バニリン、シンナムアルデヒド、レスベラトロール、エラグ酸、ベンゾキノンを対象として、バイオフィームの形成阻害活性の有無を調査した。一定面積に切り取った逆浸透膜を浮遊させた液体培地に *Sphingomonas paucimobilis* NBRC133935 を培養し、各溶液に所定濃度の QS 阻害剤を添加し、一定時間振とう後、溶液の濁度測定、および膜面を共焦点レーザー顕微鏡で観察することにより、バイオフィームの形成阻害活性を評価した。濁度測定の結果、試験した全ての QS 阻害剤で微生物の増殖抑制が確認された。また、共焦点レーザー顕微鏡の観察においてもバイオフィームの形成が抑制されていることが確認された。

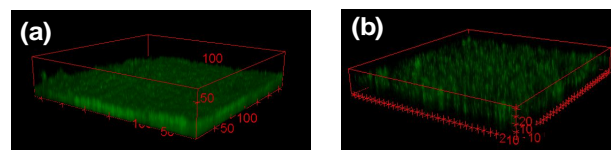


図1 (a)微生物(生菌)が付着した共焦点レーザー顕微鏡像。(b)QS阻害剤添加系における像。

表1 マイクロビーズに使用したポリマーの種類。

ポリマー	分子量	末端基
RESOMER RG 502H	7,000 - 17,000	カルボン酸
RESOMER RG 503H	24,000 - 38,000	カルボン酸
RESOMER RG 504H	38,000 - 54,000	カルボン酸
RESOMER RG 503	24,000 - 38,000	エステル化

表2 各マイクロビーズにおける封入効率及びベンゾキノンの含有率。

マイクロビーズ	封入効率 [%]	薬物含有率 [%]
502H-0.12	12.1	1.47
503H-0.12	12.8	1.55
503-0.12	12.7	1.53
504H-0.12	12.9	1.55
504H-4.6	1.95	8.20
504H-9.2	0.91	7.72

徐放キャリアとしてはシクロデキストリン、およびマイクロビーズの2通りを検討した。QS 阻害剤としてベンゾキノンをういたところ、シクロデキストリンについては、型、型、型、メチル- 型のうち、メチル- 型の包接能が最も高かった。しかしながら、用いたベン

ゾキノン類の疎水性度が低く、結合定数がいずれにおいても低いため、マイクロビーズの検討を行った。

ポリ(ラクチド-co-グリコリド)共重合体(PLGA)(表1)でマイクロビーズを調製し、その中にベンゾキノンの封入を試みた。マイクロビーズの調製は、有機相にジクロロメタンを用い、PLGAとベンゾキノンを溶解した。一方で水相にはポリビニルアルコールを溶解して、調製した有機相と混合・攪拌することにより、oil in water エマルションを形成し有機相を蒸発させた。その後、溶液を凍結乾燥してマイクロビーズを得た。分子量の異なるPLGAを用いて調製したマイクロビーズによってベンゾキノンの徐放速度を検討した。結果として、PLGAの分子量を大きくすることで、徐放速度を制御することに成功した。さらに、仕込み薬剤の濃度が増加するにつれ、徐放速度が増加することも示された。実際に薬剤を膜面から放出する徐放膜にした際の実現可能性を示すために、一般的なクロスフロー条件で推算した。その結果、膜面から長期徐放するためには薬剤含有率を10%以上、1日当たりの放出量を1%以下のマイクロビーズを調製すれば徐放能を十分に有する薬剤徐放膜を製膜可能であることが示唆された。

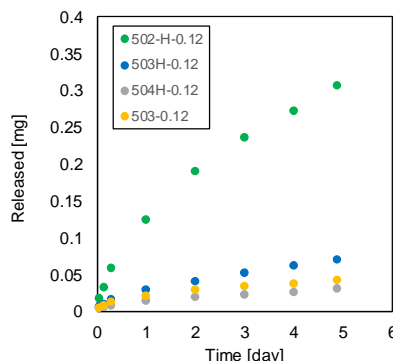


図2 各マイクロビーズにおけるベンゾキノンの放出量。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Asuka Inada, Yuki Sakurai, Tatsuya Oshima, Yoshinari Baba, Hideto Matsuyama, Improvements in the water dispersibility of paclitaxel by complexing with synthetic peptides derived from κ -casein, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 査読有, 167巻, 2018, 144 - 149, DOI:10.1016/j.colsurfb.2018.03.040

Asuka Inada, Kenichiro Yumiya, Tomoki Takahashi, Kazuo Kumagai, Yoko Hashizume, Hideto Matsuyama, Development of thermoresponsive star oligomers with a glycerol backbone as the draw solute in forward osmosis process, Journal of Membrane Science, 査読有, 574巻, 2018, 147 - 153, DOI:10.1016/j.memsci.2018.12.067

〔学会発表〕(計11件)

弓矢 健一郎, 稲田 飛鳥, 高橋 智輝, 橋爪 陽子, 松山 秀人, 駆動溶液に用いる温度応答性を付与した多分岐ポリマーの開発, 日本膜学会第40年会, 2018年

弓矢 健一郎, 稲田 飛鳥, 高橋 智輝, 橋爪 陽子, 松山 秀人, 正浸透プロセスに向けたグリセロール骨格を有する温度応答性ドロー溶質の開発, 第7回JACI/GSCシンポジウム, 2018年

Asuka Inada, Shihomi Nishimori, Tomoki Takahashi, Toyozo Hamada, Hideto Matsuyama, Development and evaluation of thermal/CO₂ dual responsive dendrimers as draw solute for forward osmosis, The 11th conference of the Aseanian Membrane Society, 2018

稲田 飛鳥, 栗栖 宏樹, 神尾 英治, 高橋 智輝, 松山 秀人, 正浸透法における駆動溶液に用いる最適な温度応答性イオン液体の創製と評価, 膜シンポジウム2018, 2018年

弓矢 健一郎, 稲田 飛鳥, 橋爪 陽子, 松山 秀人, 駆動溶液に用いるグリセロール誘導体の開発, 膜シンポジウム2018, 2018年

弓矢 健一郎, 稲田 飛鳥, 高橋 智輝, 橋爪 陽子, 松山 秀人, 温度応答性ポリグリセロール誘導体を用いた駆動溶液の開発, 化学工学会第50回秋季大会, 2018年

栗栖 宏樹, 高橋 智輝, 吉岡 朋久, 神尾 英治, 稲田 飛鳥, 松山 秀人, 正浸透膜プロセスに用いる温度相転移物質の会合挙動が浸透圧に及ぼす影響, 化学工学会第50回秋季大会, 2018年

圓尾 有矢, 佐々木 雄史, 稲田 飛鳥, 新谷 卓司, 彌田 智一, 松山 秀人, 液晶性ブロックコポリマーによる新規分離膜の開発, 第21回化学工学会学生発表会(京都大会), 2019年

村田 裕紀, 佐々木 雄史, 稲田 飛鳥, 新谷 卓司, 彌田 智一, 松山 秀人, 側鎖型液晶性ブロックコポリマーのミクロ相分離構造を利用したナノ多孔膜の細孔径制御, 第21回化学工学会学生発表会(京都大会), 2019年

稲田 飛鳥, 高橋 智輝, 熊谷 和夫, 松山 秀人, 温度応答性モルフォリン誘導体の相分離性評価と正浸透法への応用, 化学工学会第84年会, 2019年

弓矢 健一郎, 稲田 飛鳥, 橋爪 陽子, 松山 秀人, 分岐構造を有する温度応答性分子の開発と 駆動溶液としての応用, 化学工学会第 84 年会, 2019 年

〔産業財産権〕

出願状況 (計 2 件)

名称: ドロー溶質及び水処理装置

発明者: 松山秀人、稲田飛鳥、小山康司、三吉祐輝

権利者: 神戸大学、他

種類: 特許

番号: 2018-162688

出願年: 2018

国内外の別: 国内

名称: エーテル誘導体の製造方法

発明者: 松山秀人、稲田飛鳥、弓矢健一郎、高瀬一郎、浜田豊三、橋爪陽子

権利者: 神戸大学、他

種類: 特許

番号: 2018-169538

出願年: 2018

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

神戸大学大学院工学研究科 膜工学グループ (松山・吉岡研究室)

http://www2.kobe-u.ac.jp/~matuyama/cx14HP/index_j.html

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 稲田 飛鳥

ローマ字氏名: INADA, Asuka

所属研究機関名: 神戸大学

部局名: 大学院工学研究科

職名: 学術研究院

研究者番号 (8 桁): 1 0 8 0 3 8 3 5

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。