

令和元年6月25日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H04531

研究課題名(和文) バイオマスの限定的分解-分離-再結合反応を基盤とした高付加価値医療材料の開発

研究課題名(英文) Development of biomedical materials based on limited-degradation, separation, and recombination of biomass

研究代表者

上高原 浩 (Kamitakahara, Hiroshi)

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：10293911

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：バイオマス資源の有効利用を目指し、「バイオマスの限定的分解-分離-再結合反応」を開発することに成功した。次いで、その反応を応用展開し高付加価値医療最良の開発を行った。セルロース部分からは、熱応答性超分子ヒドロゲルや生体適合性バイオマスプラスチック、高付加価値医療材料としての抗体医療用分子を、ヘミセルロースからはバイオマス由来の界面活性剤を、リグニンからは両親媒性ナノ粒子を調製した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本は石油資源に乏しいが木材を始めとするバイオマス資源には恵まれており、その有効活用法の開発は重要である。本研究ではバイオマスの材料としての新しい利用法を開発するため、未利用バイオマスを原材料として化学反応を経てその成分を分離し、様々な高付加価値へ導く方法を見出した。本研究により見出された方法により、木質資源の有効利用が促進され、日本の林業に好影響を及ぼすことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：For the sake of the effective utilization of biomass resources, we developed derivatization-triggered fractionation of biomass, followed by the recombination of fractions to afford 3 biomass-based functional materials. Cellulose part was converted into thermoresponsive supramolecular hydrogels, biocompatible biomass-based plastics, and molecules for antibody drugs as medical materials. Hemicellulose part was converted to biomass-based surfactant. Lignin part was converted into amphiphilic nanoparticles.

研究分野：木材化学

キーワード：バイオマス

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

1. 研究開始当初の背景

バイオマスの有効活用は、持続可能なエネルギー供給と二酸化炭素濃度の上昇抑制による地球環境維持のために社会的要請が強く、二酸化炭素資源化を目指したバイオマス変換研究が国内外で集中的に行われている。中でもバイオマス材料研究では、ポリ乳酸等以外の非可食バイオマスを原料とした新しいバイオマスプラスチックの登場が世界的に待たれているが、従来はバイオマスをセルロース、ヘミセルロース、リグニンに分離後に、それぞれ望みの化合物へと変換する方法が国内外で一般的である。これに対し本研究の方法、すなわち、木材・木粉を出発原料としてフェノールなどの添加剤を加えずにバイオマスをまとめて誘導体化したのちに分離し再結合させオールバイオマス材料を合成するスキームは、申請者の知る限り国内外で存在しない。

他方、メチルセルロースを含む培地が再生医療に不可欠なヒト幹細胞の三次元培養のために有効に機能することが京都大学の中辻らにより発表され(*Stem Cell Reports*, 2, 734-745 (2014))、バイオマスの医療分野における高いポテンシャルが再確認され、大きな注目を集めている。

2. 研究の目的

本研究の目的はバイオマスから石油化学由来ポリマーを凌ぐ高付加価値医療材料を開発する事である。具体的には、バイオマス材料の高次構造を破壊しながら、窒素、硫黄などヘテロ原子や反応性官能基を位置選択的に導入し、医療材料として高い価値を有する新たな超分子構造を再構築する。即ち、バイオマス材料が有する潜在的に優れた化学構造を上手く利用しながら申請者が開発した多糖末端への自在な官能基導入反応を駆使し、(1)再生医療に不可欠な細胞シート作製の足場材料となる熱応答性超分子ヒドロゲル、(2)生体適合性オールバイオマスプラスチック(フィルム)、(3)抗がん剤担持用分子、(4)抗体医療用分子、といった高付加価値医療材料に変換する基盤技術を構築する。

3. 研究の方法

1. バイオマスの限定的分解-分離-再結合反応

1.1. 誘導体化・分離・限定的分解反応

1.1.1. メチル化バイオマスブロックの調製

木材をイオン液体や DMSO/TBAF などの最新の溶媒を用いて溶解させ、粉末 NaOH を塩基としてヨウ化メチルによりメチル化した。溶解性、分子量、極性の違いにより多糖成分とリグニン成分の分離を行った。

1.1.2. 限定的分解反応による分子末端機能化疎水性中分子量合成ブロックの調製

申請者らにより既に確立しているメタノリシス反応を適切に制御し、非還元性末端単糖の4位のみ水酸基を有する望みの分子量の疎水性中分子量のメチル化バイオマスブロックを調製した。次いで、Trimethylsilyl azide (TMS-N₃)/四塩化スズ(SnCl₄)により処理し、導入された中分子量メチル化多糖ブロックを得た。更に、クリック反応に利用可能なプロパルギル基(-OCH₂C≡CH)を多糖ブロック末端へ導入した。低分子量メチル化リグニンを TMS-N₃/ SnCl₄ で処理し、リグニンのα位にアジド基を導入した。

1.2. 再結合反応

1.2.1. Huisgen 1,3-双極子付加環化反応

アルキン、アジドをセルロースブロック末端に導入する方法をヘミセルロースおよびリグニン誘導体に適用した。同時に市販のメチルセルロース誘導体を合成ブロックとして用い、クリック反応によるリグニン-多糖ハイブリッド化合物などを合成した。

1.2.2. グリコシル化反応

メチル化バイオマスブロックを1成分として利用し糖鎖間の結合反応を行った。

2. 安全性の高いバイオマス材料の開発

2.1. バイオマスプラスチックの調製

天然ゴムとセルロース誘導体との複合材料を合成しその物性を評価した。

2.2. バイオマス系界面活性剤の調製

これまでに報告しているメチルセルロース系界面活性剤の性能向上を目指し、構造-活性相関を検討した。

3. 高付加価値医療材料の開発

3.1. 抗がん剤担持用分子の開発

抗がん剤シスプラチン($\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$)には副作用の問題がある。そこで、アミノ基、カルボキシル基を導入した両親媒性オリゴ糖分子に Pt, Pd など金属分子を配位させた有機-無機ハイブリッド化合物を合成し、活性・毒性を評価した。

3.2. 抗体医療用超高感度ガン診断分子の合成

親水的かつフレキシブルな PEG リンカーの影響により、臨床検査試薬の疎水性色素部位が疎水性タンパク表面に非特異的に吸着するため検査精度が低下している。そこで、非特異的吸着を回避するために親水的かつ半剛直なセロオリゴ糖をリンカーとする臨床検査試薬の合成を行った。

3.3. 熱応答性超分子ヒドロゲルの細胞培養足場材料としての評価

ジブロック型メチルセルロースからなる熱応答性超分子ヒドロゲルを合成し、細胞培養足場材料としての性能を評価した。

4. 研究成果

誘導体化・分離・限定的分解反応(アルカリ性条件) および再結合反応:

カラマツ鋸屑を DMSO/TBAF に分散させ、粉末 NaOH を延期としてヨウ化メチルによりメチル化した。実験条件を最適化し、メチル化セルロース、メチル化ヘミセルロース、メチル化リグニンの 3 フラクションに分離し得た。次いで、限定的分解反応として、各フラクションにプロパルギル基あるいはアジド基を導入しつつ、適度に分子量が低下した中分子量誘導体を得た。同時に、モデル反応として、グアイアシルグリセロール-beta-グアイアシルエーテルメチル化物の 1 位にアジド基を導入し、アセチル化プロパルギルセロピオシドをクリック反応により導入した。その後、保護基を除去し、最終的に 3 種類の両親媒性化合物を得た。

その結果、メチル化セルロース誘導体は熱応答性ヒドロゲル、メチル化ヘミセルロースは界面活性剤、メチル化リグニン誘導体はナノ粒子として利用可能であることが判った。

また、カラマツ以外の鋸屑にもこの反応を適用した。すなわち、針葉樹であるスギ、広葉樹であるブナ、草本類であるモウソウチクの鋸屑を原料とした場合でも、それぞれの最適条件下で同様の反応が可能であることを見出した。

以上、バイオマスの限定的分解反応を行いながらバイオマスの化学構造中の特定の位置に選択的に官能基を導入する反応条件を様々な樹種を用いて確立した。

安全性の高いバイオマス材料の開発:

トランス型天然ゴムにセルロースアセテート誘導体をグラフト化した新規材料の開発を行った。次いで、天然ゴム材料との複合材料を調製し、ブレンド比が相溶性に与える影響を調べた。その結果、最適なブレンド比が存在することが明らかになった。

また、バイオマス由来の界面活性剤の構造-物性相関に関して詳細な検討を行い、特定の分子量領域の分子が高い界面活性を示すことがわかった。

高付加価値医療材料の開発

3-1. 抗がん剤担持用分子の開発

ジブロック型メチルセルロース誘導体-金属錯体の合成と細胞毒性に関して成果を得た。

3-2. 抗体医療用超高感度ガン診断分子の合成

メチル化セロピオース誘導体を原料として用い、蛍光色素および活性エステル基を有する新規化合物を合成した。モデル細胞を用いた実験の結果、この分子は抗体医療用のリンカー分子として利用可能であることが判った。次いで、蛍光色素の代わりにビオチン基を導入した化合物の合成を行った。

3-3. 熱応答性超分子ヒドロゲルの細胞培養足場材料としての評価

細胞培養液、血清を含む溶液中でブロック的メチル化セルロース誘導体は体温付近でヒドロゲルを形成することがわかった。さらに、分子末端に様々な親水性糖鎖を導入したメチルセルロースを合成し、そのヒドロゲル形成能を評価した。その結果、様々な糖鎖を導入しても温度応答性ヒドロゲルとしての性質は損なわれなかった。

また、熱応答性超分子ヒドロゲル中での炭酸カルシウムカプセル構造形成についても検討を行った。タンパク質を炭酸カルシウムカプセル中にタンパク質を内包させた。その結果、タンパク質は超分子ヒドロゲル中では安定的に存在し得ることが判明した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3 件)

Kamitakahara, H., Suhara, R., Yamagami, M., Kawano, H., Okanishi, R., Asahi, T., Takano, T. A versatile pathway to end-functionalized cellulose ethers for click chemistry applications. *Carbohydrate*

Polymers, 査読有、151, (2016) 88-95.

DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.05.016

Yamagami, M.; Kamitakahara, H.; Yoshinaga, A.; Takano, T., Thermo-reversible supramolecular hydrogels of trehalose-type diblock methylcellulose analogues. *Carbohydr. Polym.* 査読有、183, (2018) 110-122.

DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.12.006

Suhara R.; Yamagami M.; Kamitakahara H.; Yoshinaga A.; Tanaka Y.; Takano T., Methylcelluloses end-functionalized with peptides as thermoresponsive supramolecular hydrogelators, *Cellulose*, 査読有、26 (1), (2019) 355-382.

DOI: 10.1007/s10570-018-2027-5

〔学会発表〕(計 24 件)

上高原 浩, 山上 真緒, 須原 遼, 吉永 新, 高野 俊幸, 分子末端機能化メチルセルロースからなる熱応答性超分子ヒドロゲル: 生体模倣ミネラルイゼーションの3次元足場として, K04, セルロース学会第22回年次大会, 2015年7月9日-10日, 北海道大学, 札幌

上高原 浩, 木質バイオマスの限定的分解-分離-再結合反応の開発とその応用, 日本木材学会バイオマス変換研究会 夏季講演会「バイオマス変換の研究最前線」2015年7月11日, 北海道大学, 札幌 (招待講演)

H. Kamitakahara, M. Yamagami, R. Suhara, A. Nakagawa, A. Yoshinaga, T. Takano,

Thermo-responsive supramolecular hydrogels of end-functionalized methyl celluloses, ISWFPC 2015 (18th International Symposium on Wood, Fibre, and Pulping Chemistry), 09-11. 09. 2015. Vienna, Austria

三木 健太郎, 飛松 裕基, 上高原 浩, 高野 俊幸 ポスター賞受賞

第66回日本木材学会大会(名古屋), 未利用バイオマスの新規分子構造変換法-木質ナノ材料への展開-, 2016年3月27日-3月29日, 名古屋大学, 名古屋

三木 健太郎, 上高原 浩, 飛松 裕基, 吉永 新, 高野 俊幸

第23回セルロース学会(つくば) 口頭、木質バイオマスの新規分子構造変換法 誘導体化・分離・クリック反応・ナノ粒子化、2016年7月14-15日 K07

京大院 農 岡西 諒子, 上高原 浩, 高野 俊幸

第23回セルロース学会(つくば) 単糖あるいはオリゴ糖を分子末端に有するメチル化多糖の合成とその構造-物性相関、2016年7月14-15日

朝日 智之, 上高原 浩, 高野 俊幸

第23回セルロース学会(つくば) 温度応答性ジブロック型メチルセルロース類縁体のガラス基板への固定化、2016年7月14-15日

Hiroshi Kamitakahara, Ryo Suhara, Mao Yamagami, Haruko Kawano, Kentaro Miki, Ryoko Okanishi, Tomoyuki Asahi, Arata Yoshinaga, Toshiyuki Takano

End-functionalization of cellulose derivatives: design, synthesis, properties, and functions

Advanced Functional Biopolymers & Biomaterials, POLY52, 252nd ACS national meeting, Philadelphia, August 21-25, 2016 (Oral presentation, invited)

上高原 浩, 未利用木質バイオマスから両親媒性マテリアルへの新規化学変換法、バイオマス利用研究会第89回研究会 平成28年9月16日 (公財)京都高度技術研究所 (招待講演)

三木 健太郎・上高原 浩・吉永 新・高野 俊幸, 第65回高分子討論会(横浜)口頭、未利用木質バイオマスを原料としたブロックコポリマーの合成とナノ粒子化、2016年10月14-16日 1S07

三木 健太郎・上高原 浩・吉永 新・飛松 裕基・高野 俊幸, 木質バイオマスのメチル化・分画・クリック反応による機能性材料の開発と評価、第67回日本木材学会大会(九州大学)2017年3月17-19日、Z17-03-1115

Hiroshi Kamitakahara, Synthesis, properties, and applications of cellulosic diblock copolymers (CELL 302) (Oral presentation, invited), Design & Control in Polysaccharide Chemistry: Anselme Payen Award Symposium in honor of Kevin J. Edgar, The 253rd ACS National Meeting in San Francisco, California, April 2-6, 2017

上高原 浩・三木 健太郎・岡西 諒子・高野 俊幸, 木質バイオマスを原料とした両親媒性マテリアルの合成、平成29年度繊維学会年次大会、平成29年6月7-9日

Hiroshi Kamitakahara, Design and synthesis of regioselectively and blocky functionalized cellulose derivatives, 5th EPNOE International Polysaccharide Conference 2017, 20-24 August 2017

Hiroshi Kamitakahara, "Polysaccharide chemistry in solution", EPNOE Workshop, Polysaccharide Solutions: Solvents, Characterization and Application, August 20, 2017

上高原 浩・須原 遼・山上 真緒・岡西 諒子・朝日 智之・吉永 新・高野 俊幸, 熱応答性超分子ヒドロゲル構造を惹起する新規メチルセルロースの合成と機能、第66回高分子討論会(愛媛) 2017年9月20-22日

Hiroshi Kamitakahara, Atsushi Nakagawa, Ryo Suhara, Mao Yamagami, Haruko Kawano, Ryoko Okanishi, Kentaro Miki, Tomoyuki Asahi, Arata Yoshinaga, Toshiyuki Takano, Design and synthesis of

end-functionalized methylcelluloses for thermoresponsive supramolecular hydrogels with multi-functions, The 4th International Cellulose Conference (ICC2017), October 17, 2017

三浦克也, 上高原浩, 高野俊幸, 田中義正, 両末端に異なる置換基を有するメチル化セロビオースの合成, 第68回木材学会大会(京都) 2018年3月14-16日

伊賀悠珠, 上高原浩, 高野俊幸 (LIPI)Agusta, Andria (Kasetsart University)Eiadthong, Wichan, トランス-1,4-ポリイソプレンへのセルロース誘導体の導入, 第68回木材学会大会(京都) 2018年3月14-16日

Hiroshi Kamitakahara, Ryo Suhara, Mao Yamagami, Haruko Kawano, Ryoko Okanishi, Kentaro Miki, Tomoyuki Asahi, Arata Yoshinaga, Yoshimasa Tanaka, Toshiyuki Takano, End-functionalization of polysaccharide in cellulose chemistry, "Frontiers in Glycoscience: Bridging the Gap Between Carbohydrate and Polysaccharide Chemistries", The 255th ACS National Meeting in New Orleans, March 18-22, 2018

21. 畑本 彩, 上高原 浩, 田中 義正, 高野 俊幸, メチル化セロビオース-b-ジアルギニン/金属錯体の合成とその性質, 第69回日本木材学会大会(函館大会) 2019年3月14-16日

22. 杉本 瑛里香, 上高原 浩, 高野 俊幸, ジブロック型メチルセルロースの構造-物性相関, 第69回日本木材学会大会(函館大会) 2019年3月14-16日

23. 込山 活哉, 上高原 浩, 吉永 新, 高野 俊幸, 熱応答性ゲルである分子末端機能化メチルセルロースを足場とした炭酸カルシウムマイクロカプセルの形成とその応用, 第69回日本木材学会大会(函館大会) 2019年3月14-16日

24. Hiroshi Kamitakahara, Kentaro Miki, Toshiyuki Takano, Methylated hemicelluloses as surfactants prepared from sawdust, Advanced Chemistry of "Non-Traditional" Polysaccharides, The 255th ACS National Meeting in Orlando March 31-April 4, 2018

〔図書〕(計 1件)

Kamitakahara, H., 12 - Thermoresponsive Supramolecular Hydrogels Comprising Diblock Methylcellulose Derivatives -. In *Biomass as Renewable Raw Material to Obtain Bioproducts of High-Tech Value*, Popa, V. and Volf, I., Ed. Elsevier: 2018; pp 441-460. ISBN: 9780444637741

〔産業財産権〕

出願状況(計 1件)

名称: ジブロック型オリゴ糖及びそれを含む界面活性剤

発明者: 上高原浩, 杉本瑛里香

権利者: 国立大学法人京都大学

種類: 特許

番号: 特願 2019-035735

出願年: 2019年

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.fukugou.kais.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 高野 俊幸

ローマ字氏名: Toshiyuki Takano

所属研究機関名: 京都大学

部局名: 大学院農学研究科

職名: 教授

研究者番号(8桁): 50335303

研究分担者氏名: 吉永 新

ローマ字氏名: Arata Yoshinaga

所属研究機関名: 京都大学

部局名：大学院農学研究科
職名：准教授
研究者番号（8桁）：60273489

研究分担者氏名：増田 誠司
ローマ字氏名：Seiji Masuda
所属研究機関名：京都大学
部局名：大学院生命科学研究科
職名：准教授
研究者番号（8桁）：20260614

研究分担者氏名：飛松 裕基
ローマ字氏名：Yuki Tobimatsu
所属研究機関名：京都大学
部局名：生存圏研究所
職名：准教授
研究者番号（8桁）：20734221

研究分担者氏名：田中 義正
ローマ字氏名：Yoshimasa Tanaka
所属研究機関名：長崎大学
部局名：医歯薬学総合研究科（医学系）
職名：准教授
研究者番号（8桁）：90280700

研究分担者氏名：蟹江 治
ローマ字氏名：Osamu Kanie
所属研究機関名：東海大学
部局名：工学部
職名：教授
研究者番号（8桁）：90291062

研究分担者氏名：濱田 剛
ローマ字氏名：Tuyoshi Hamada
所属研究機関名：長崎大学
部局名：先端計算研究センター
職名：准教授
研究者番号（8桁）：00443010
(2015-2016年度)

(2)研究協力者
研究協力者氏名：早川 和久
ローマ字氏名：Kazuhiya Hayakawa

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。