同時発表：
筑波研究学園都市記者会（レク）
文部科学記者会（資料配付）
科学記者会（資料配付）

タンパク質を捕まえる濾紙

― ピコモル濃度のタンパク質を簡便に検出することに成功 ―

平成１８年　４月２８日

独立行政法人 物質・材料研究機構

概要

１．独立行政法人物質・材料研究機構（理事長：岸 輝雄）ナノ有機センター（センター長：一ノ瀬 泉）機能膜グループの一ノ瀬 泉グループリーダー、黄 建国（Huang Jianguo）研究員は、理化学研究所（理事長：野依 良治）フロンティア研究システム（システム長：玉尾 皓平）時空間機能材料研究グループの国武 豊喜グループディレクターと共同し、タンパク質を効率的に捕捉するセルロース[1]の開発に成功した。

２．木材や紙、綿などの主要な構成成分であるセルロースは、地球上で最も存在量が多い天然高分子[2]であり、衣類や食品、トイレットペーパーや生分解性プラスチック[3]など、我々の日常生活とも関わりが深い高分子材料である。セルロースでは、グルコース[4]の直鎖状高分子が集まってナノファイバーを形成し、ナノファイバーが集まってマイクロファイバーを形成し、このマイクロファイバーから網目状に絡み合ったセルロース繊維が形成される。このような階層構造を有するセルロースは、丈夫で柔らかく、高い吸湿性を示し、かつ環境にも優しい天然高分子である。近年、再生可能な資源の活用、あるいは医療やヘルスケアに貢献する新材料の開発に向けて、セルロースの高機能化に大きな期待が寄せられていた。

３．セルロース繊維の最小の構成要素は、直径が数 10 ナノメートルのファイバーである。黄研究員らは、今回、このような極細のナノファイバーを壊すことなく、その表面に高密度かつ均一に生体分子をコーティングすることに世界で初めて成功した。この技術の開発により、特定のタンパク質を効率的に吸着させることが可能となった。階層的な構造をもつセルロースでは、比表面積[5]が著しく大きく、単位体積当たりに形成される吸着（分子認識）部位[6]の数が極めて大きくなる。このため、今回の実験では、ピコモル濃度[7]のタンパク質を容易に検出することが可能であった。

４．本技術は、セルロースにバイオ機能を付与する一般的な手法や透過選択性に優れた高性能のフィルターを製造する技術として、幅広く活用されることが期待される。今回の成果は、平成 18 年 4 月 28 日に Angewandte Chemie International Edition に掲載された。また、本成果は、7 月 25-27 日にパシフィコ横浜にて開催されるオルガテクノ 2006（有機テクノロジー展示会＆国際会議）でも紹介される予定である。

研究の背景

【セルロースの機能化の必要性】

セルロースは、我々の日常生活に必要不可欠な天然高分子である。例えば、木材から取り出された純度の高いセルロース繊維は、パルプと呼ばれ、紙の製造に用いられる。タオルやシャツなどに用いられている綿も、ほぼ純粋なセルロースである。一方、セルロースは、光合成によって地球上で最も大量に生産されているバイオマス[8)]であり、化石資源が枯渇する中で、再生可能な天然資源として幅広い利用が期待されている。植物由来のセルロース繊維は、ナノファイバーの階層的な構造を有しており、力学的に丈夫で、吸湿性が高く、適度な生分解性を有するなどの特長がある。これらの特性を生かしつつ、様々な機能を付加することができれば、セルロースの用途の大幅な拡大につながる。特に、セルロースへのバイオ機能の導入は、医療やヘルスケア分野での応用に直結しており、新技術の開発が待ち望まれていた。

【従来の技術】

セルロースは、高分子鎖が水素結合[9)]でしっかりと結びついており、水や有機溶媒に不溶である。高分子鎖を構成するグルコースの水酸基を化学的に処理すると、溶媒に可溶化することができ、様々な機能性高分子に変換できる。しかしながら、この方法では、セルロース本来の階層的な構造が壊れてしまうという問題があった。一方、セルロース繊維の表面の水酸基は、反応性が低く、温和な条件下で化学修飾することが容易でない。このため、セルロースの階層構造を維持したまま新たな機能を付与するには、プラズマ[10)]を照射したり、酸化剤を用いて化学的に表面改質したりする必要があった。しかしながら、これらの方法は、セルロースを構成するナノファイバーの水酸基を効率的に活性化するには限界があった。

成果の内容

今回の成果は、特定の金属アルコキシドを用いて、セルロースのナノファイバーを壊すことなく表面のみを活性化し、高密度かつ均一に生体分子をコーティングすることに世界で初めて成功したことである。黄研究員らは、直径が数 10 ナノメートルのセルロースのファイバーの回りに数ナノメートルの厚みの酸化物ゲル薄膜を形成し、その表面に極めて多くのビオチン分子[11)]を固定化させた。このような表面修飾を施したセルロースのフィルム（濾紙）は、ストレプトアビジン[12)]というタンパク質を選択的に吸着した。

蛍光ラベル化したストレプトアビジンを用いて評価したところ、ピコモル濃度でも十分に吸着することが明らかとなった。ビオチンとストレプトアビジンの水溶液中での解離定数は、10^{-14}のオーダーにあり、1×10^{-7}M（Mはモル濃度を表す）以下の濃度では、両者を結合させることができない。今回、ピコモル濃度の水溶液からの吸着が確認されたことは、セルロースが非常に大きな比表面積を有し、そのナノファイバーに著しく高密度にビオチン分子が結合していることを示している。解離定数から計算した見かけのビオチンの濃度は、1×10^{-4}Mであった。

さらに、ストレプトアビジンを結合したセルロースは、1×10^{-9}M程度の濃度でもビオチン化した分子を選択的に吸着することが確認された。これは、ナノファイバー上に固定化されたストレ

プトアビジンが、変性されずに、その本来の機能を維持することを示している。

波及効果と今後の展開

セルロースのナノファイバーに生体分子をコーティングすることで、極低濃度の水溶液からタンパク質を吸着させることが可能となった。ピコモル濃度でのタンパク質の検出は、精巧なナノエレクトロニクスデバイス[13]によって達成されている。一方、本研究では、著しく多くの分子認識部位を形成することで高感度化を実現している。ナノファイバーのコーティングには、まだまだ改良の余地があり、将来的には、フェムトモル濃度でタンパク質を捕捉することも可能になるであろう。

セルロース繊維は、実験で使用された濾紙以外にも、様々な分離膜として利用されている。今回の成果は、これらの分離膜に特定のバイオ機能を与えることができ、特に、医療やヘルスケア分野での大きな波及効果が期待できる。例えば、タバコのフィルターに応用すると、人体に有害な物質を効率的に除去することが可能となる。また、セルロース繊維に固定化されたタンパク質は、ウイルスなどの除去にも有効と考えられ、感染を防止する医療用マスク、あるいは生体防御ウエアの開発などにつながるものと期待される。

問い合わせ先：

〒305-0047　茨城県つくば市千現１－２－１
独立行政法人物質・材料研究機構
広報室　TEL:029-859-2026

研究内容に関すること：

独立行政法人物質・材料研究機構
ナノ有機センター
センター長　一ノ瀬 泉（いちのせ いずみ）
または、
研究員　黄 建国（ふぁん じゃんご）
TEL： 029-851-3354（内線　8326）
FAX：：029-852-7449
E-mail：ICHINOSE.Izumi@nims.go.jp

用語解説

１）セルロース：

植物の細胞膜の主成分であり、デンプンと同じようにグルコースから構成されるが、デンプンよりも化学的に丈夫で、消化されにくい。綿などの植物繊維は、ほとんどセルロースからできている。木材の主要な構成要素でもある。

２）天然高分子：

自然界に存在する分子量が大きな化合物の総称。セルロースやデンプンなどの多糖類、天然ゴム、核酸、タンパク質などがある。中でもセルロースは、リサイクルが可能な環境に優しい天然高分子であり、21 世紀の最も重要な天然資源の一つである。天然高分子には、ケイ素化合物などの無機系の高分子も含まれる。

３）生分解性プラスチック：

使用後に生態系に戻すことで、微生物の働きにより分解されるプラスチック。

４）グルコース：

ブドウ糖とも呼ばれる。デンプンなどの炭水化物の構成成分。1 分子中に 5 つの水酸基を有する。

５）比表面積：

物体 1ｇ当たりの表面積を比表面積という。繊維状の物質は、一般に、大きな比表面積をもつ。直径が数 10 ナノメートルのファイバーから構成されるセルロースは、著しく大きな比表面積をもつ。

６）分子認識部位：

ある分子がその他の分子（または、イオン）を識別することを分子認識という。分子認識は、形をもつ分子同士に立体的な相互作用がある場合に起こりえる。酵素や抗体などの巨大分子、あるいは細胞膜などの組織体では、分子認識をする領域を分子認識部位という。

７）ピコモル濃度：

1 リットルの溶液中に 1 兆分の 1 モルの分子が存在する場合、1 ピコモル濃度（1 ｐM、または 1×10^{-12}M、（Mはモル濃度を表す））となる。今回のプレスリリースでは、濃度が 1×10^{-9}M未満で 1×10^{-12}M以上の場合をピコモル濃度と言っている。

８）バイオマス：

生物由来の資源のこと。一般に、エネルギー源として再利用できる自然界の有機性資源を指し、木材、海草、プランクトン、動植物の死骸、有機系の廃棄物などがある。

９）水素結合：

水やアンモニアのように、電子を与える傾向（電子供与性）がある水素が電子を引きつける傾向（電子吸引性）が強い酸素や窒素などの元素と結合している場合、水素の電子密度が低くなる。このような場合に、水素が共有結合を形成せずに、電子吸引性の強い元素との間で弱い結合を形成し、これを水素結合を言う。セルロースの場合、多くの水酸基の間で水素結合が形成される。

１０）プラズマ：

電離した気体のこと。高エネルギー状態にあるプラズマは、セルロースなどの有機化合物の表面改質に用いることができる。

１１）ビオチン分子

ビタミンＢ群に属する水溶性ビタミンの一種。腸管内で腸内細菌によって合成されており、糖質、脂質、タンパク質の代謝に関与する。欠乏症としては、皮膚障害、抜け毛、疲労感などがある。

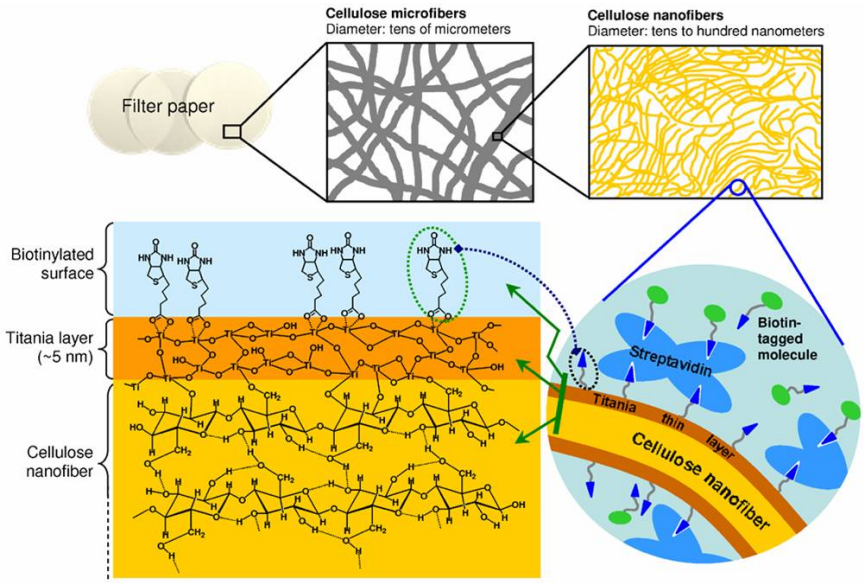
１２）ストレプトアビジン

ビオチンと高い結合能を有するタンパク質である。安定な４量体として存在し、１つのサブユニットが１つのビオチン分子と結合する。動物・植物、及び多くの微生物など、生物界に広範囲にわたって存在する。

１３）ナノエレクトロニクスデバイス：

半導体の微細加工技術により、ナノメートル（10^{-9}メートル）領域で、トランジスタなどの素子を製造する研究をナノエレクトロニクスといい、製造されたデバイスをナノエレクトロニクスデバイスという。

［説明図］



セルロースのナノファイバーへのビオチンとストレプトアビジンの固定化、ならびにビオチン化した分子の結合（模式図）

［備考］

物質・材料研究機構における研究は、物質研究所（所長：室町 英治）高分子性酸化物グループにおいて行われた。本グループは、平成 18 年度から同機構のナノ有機センターに所属する機能膜グループとなっている。

タンパク質を捕まえる濾紙

天然高分子であるセルロースは、木材や綿などの主要な構成成分である。

セルロースは、マイクロファイバーのネットワークから出来ており、さらに、このマイクロファイバーは、直径数10ナノメートルの極細のナノファイバーから構成されている。

今回、このような極細のナノファイバーを壊すことなく、ナノファイバーの表面を化学的に活性化し、生体分子を高密度にコーティングすることに世界で初めて成功した。

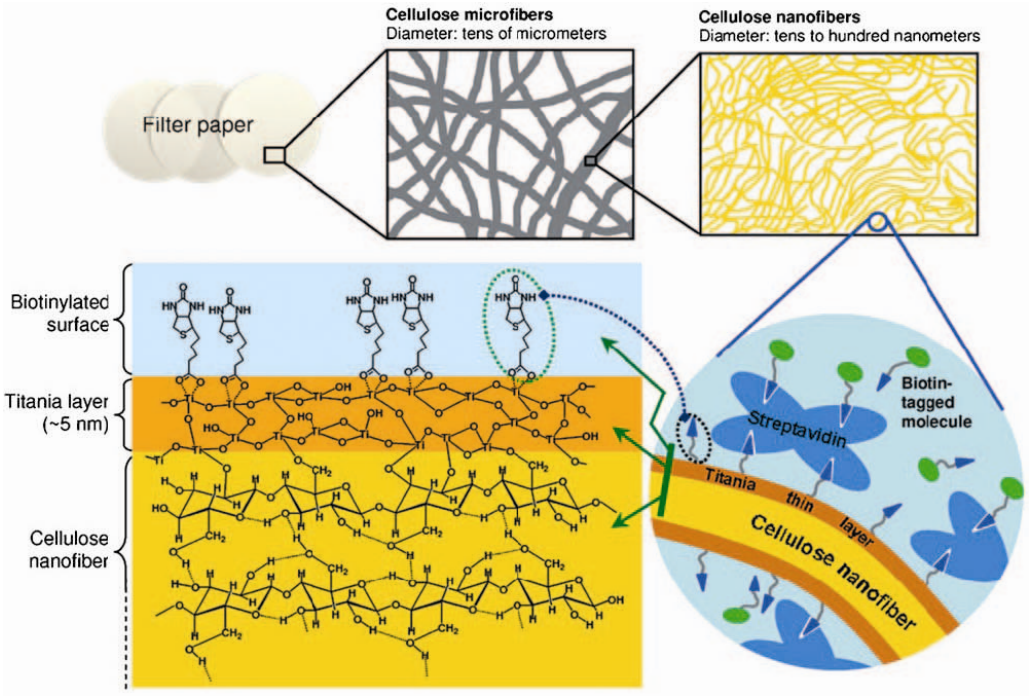


図１．セルロースのナノファイバーへのビオチンとストレプトアビジンの固定化、ならびにビオチン化した分子の結合

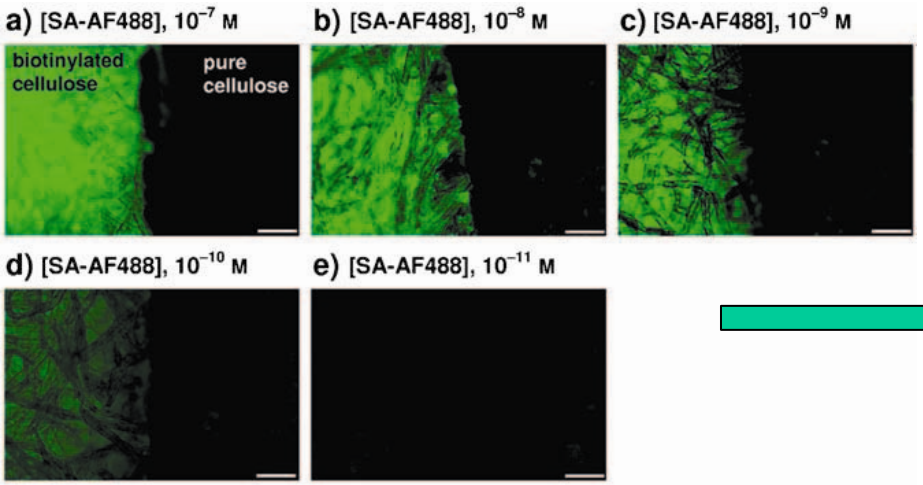


図２．ビオチン化したセルロースへの蛍光ラベル化したストレプトアビジン（SA-AF488）の吸着

濾紙（セルロース）の表面に極めて多くのビオチン分子が存在するため、ストレプトアビジン水溶液の濃度が10^{-10} Mの場合でも十分な吸着が確認できる。解離定数から計算した見かけのビオチンの濃度は、10^{-4} Mである。

Angew. Chem., 2006 in press