ISSN 2189-6097

産総研 LINK

技術を社会へつなげるコミュニケーション・マガジン

03
2019
MARCH

NO.23

BUSINESS MODEL P02

培養細胞の精密処理を自動・高速化する装置を開発

1時間の作業を1分に!
再生医療・創薬の発展に大きな力

Kimio Sumaru / Junichi Matsumoto

NEW TECHNOLOGY P08

ゲル材料を用いて、超撥水／親水性と自己修復性を両立

傷を自分で直す、
生物のようなコーティング新素材

Chihiro Urata / Tomoya Sato

NEW TECHNOLOGY P12

医薬品や機能性食品の原料として広がる未来

生産量90倍!
コウジカビから遊離脂肪酸をつくる

Koichi Tamano

1時間の作業を1分に！
再生医療・創薬の発展に大きな力

培養細胞の精密処理を自動・高速化する装置を開発

産業技術総合研究所
生命工学領域 創薬基盤研究部門
医薬品アッセイデバイス研究グループ
上級主任研究員
須丸 公雄
Kimio Sumaru

株式会社 片岡製作所
研究開発本部 ライフサイエンス研究所
主席研究員
松本 潤一
Junichi Matsumoto

KEY POINT

レーザーと光応答性ポリマーを用いて**培養細胞を高速かつ大量に**分別し、純化する技術が、産総研と片岡製作所との**共同研究開発**によって実用化された。必要な細胞と不要な細胞の判別は**人工知能**を使うことで、精密化も実現。iPS細胞を用いた**創薬や再生医療に貢献**できると期待されるこの自動化装置は近く上市される予定だ。

産総研の技術シーズ×企業のリソースで新しい価値が生まれる

―― 産総研と片岡製作所が共同研究開発を始めたきっかけはどこにあったのでしょう。

須丸　JST（科学技術振興機構）が毎年、大学や研究機関の技術シーズを企業向けに紹介する新技術説明会を開催しているのですが、そこで、私の研究してきた光応答性材料とレーザーを用いて培養細胞を操作する独自技術を、所属グループ長である金森敏幸が紹介しました。これが2014年のことです。それをご覧になった片岡製作所の方が興味を持ってくださったことがきっかけでした。

松本　当社はレーザー加工装置メーカーでバイオテクノロジーは専門ではないのですが、当時、新事業を探索しており、当社の精密なレーザー制御技術をライフサイエンス分野に役立てられないだろうかと調査していました。そんなときに須丸さんの技術を知り、当社のリソースと組み合わせることで新しい価値が生み出せるのではないかと直感し、光で細胞を扱う技術を深掘りしていこうと共同研究が始まりました。

須丸　私自身、もともとの専門は高分子ポリマーの物性研究で、ライフサイエンスについては新参者でした。その中で光と光応答性材料の組み合わせに興味を持つようになり、狭い範囲に精密に照射できる光の特性を細胞処理に応用できたら面白いのではないかと考えるようになりました。

　というのは、培養細胞の多くは何らかの足場に接着してその機能を発現します。ですから培養した細胞を分けたり純化したりするときは、足場である基材を酵素で剥がして細胞同士のつながりを断

ち切らなければなりません。そうするとどうしても細胞がダメージを受けてしまいます。しかし、基材上で直接細胞を操作できればその問題は解決できるのではないか、と発想しました。

そこで光応答性ポリマーの基材の上で細胞を培養し、下から光を照射することによって、精密かつ無菌的に細胞を処理する技術の研究を、NEDOの若手事業として2002年にスタートさせました。

松本　「多能性幹細胞（iPS細胞）」が登場したのが2006年なので、それ以前から光を用いた細胞処理の研究をしていたということですね。

須丸　体のさまざまな組織や臓器に分化する能力をもつiPS細胞が出てきたときは、今後ヒト細胞を活用する機運が高まり、この技術にも出番が回ってくるかもしれないと思いました。しかし、2006年当時でもまだニーズがほとんど顕在化していませんでした。

松本　それから10年以上経ち、現在はiPS細胞を用いた再生医療研究が本格化しています。将来、ヒト由来のそうした細胞が活用される時代がくれば、培養細胞を大量に処理するニーズもでてくると見込まれます。光で培養細胞を精密に操作する須丸さんの技術と、当社の高速かつ精密なレーザー照射技術を組み合わせた培養細胞を高速に処理する技術は、必ず役に立つはずです。

レーザーを秒速2 mで高速走査

―― 研究開発はどのように進められたのですか。

須丸　医療や創薬に培養細胞を用いる場合、必要な細胞とそうでない細胞を分別して、不要なものを基材上から取り除いたり、必要な細胞を大量培養するために適切なサイズに切り分けたりなど、さまざまな処理が必要ですが、これらの判別や分別は人間が手作業で行っているのが現状です。不要な細胞が非常に多い場合、培養ディッシュ1枚に1時間かけても、十分には処理しきれません。これでは再生医療が実用化された時に必要となるレベルの量産と品質管理にはとても応えることができません。

レーザーを用いて基材上の培養細胞から不要な細胞を除去する方法は、これまでも研究されてきました。最も一般的なのは、培養液中の細胞に直接ダメージを与えるレーザーを用いる方法です。しかし、この方法では培養液や周囲の細胞まで加熱されてしまい、必要な細胞にも影響が及んでしまいます。さらに、エネルギー効率が悪いため、一般的なレーザー光源では、実用レベルの処理速度を実現できない、という課題がありました。

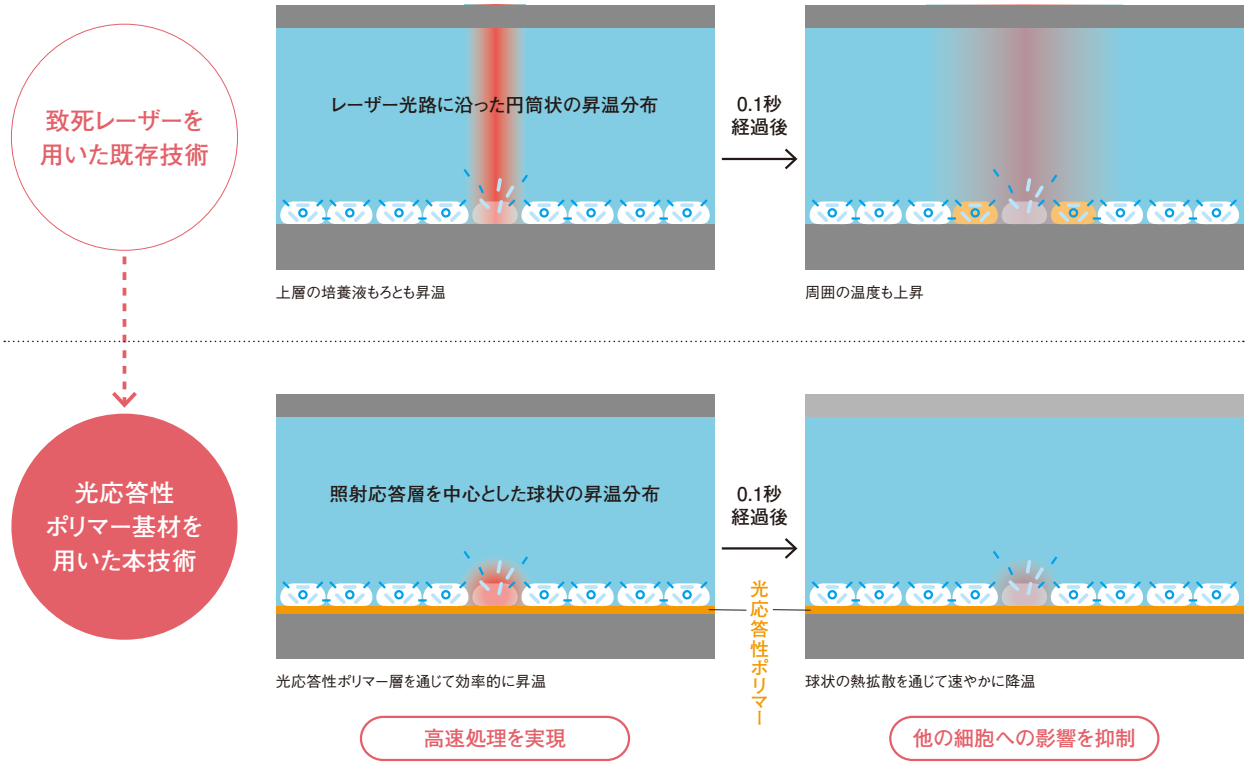
私は、この課題に対して光応答性ポリマーを用いることで解決できるのではないかと考えました。細胞が感じないマイルドな光を、培養基材の表面に塗布した光応答性ポリマーで、細胞が感じる刺激に変換する方法です。研究を始めた頃は微小パターン光の照射で操作することを中心に検討していましたが、やはり処理速度に課題があったので、片岡製作所さんが保有されていた非常に強いレーザービームを、高速かつ精密に走査する技術と組み合わせることに、大きな可能性を感じました。

松本　レーザーによる細胞処理の実用化にあたっては細胞処理速度を上げて大量処理できるようにしなくてはなりませんが、当初はそれを実現するためにレーザーを高速に走査させるのは難しいと考えていました。

そこでまずは細胞を大量処理できるほどにレーザーを高速走査できるのか見極めるため、速度とエネルギーの兼ね合いを見るところから共同研究をスタートさせました。須丸さんにはより応答性の高いポリマー基材の開発や改良に試行錯誤していただきながら、レーザー走査を秒速数十 mmから始め、100 mm、200 mmと少しずつスピードを上げて試していったところ、思った以上に高速化できることがわかりました。秒速2 mまで上げても十分に細胞処理ができたのです。秒速2 mなら細胞の大量処理を必要とする現場でも問題なく使うことができます。この結果を得たことが大きなターニングポイントとなり、研究開発を加速させました。

須丸　強いビームが秒速2 mで動くというのは私にとっても未知の世界で、どの波長のレーザーを用いるかについてはとても悩みました。細胞にも培養液にも作用せず、基材にだけ作用する波長の光はどれなのか。適用範囲の広い紫外光がよいのか。かなり悩んだ末、最初の原理確認用のプロトタイプ装置には青い光で、と松本さんにお願いしました。これを使って実験を始めると、条件によっては培養ディッシュまで溶けてしまい、こんなこともあるのかと驚きました。紫外光を選んでいたらこうした問題から逃れられなかったことが、実際に実験してわかりました。結果的に選んだ波長は絶妙で、ディッシュを傷つけない一

従来技術との比較



方で、私たちが開発したさまざまな光応答性ポリマー材料を駆動できることが確認できました。

この光を用いると、レーザーの照射エネルギーを光応答性ポリマー層だけで効率よく熱に変換でき、その真上にある細胞を中心に球状に温度を上昇させることができます。しかも、0.1秒後には温度が下がるため、培養液や周囲の細胞への影響を最小限に抑えながら、不要な細胞だけを効果的に除去できるのです。

先ほど、手作業だと培養ディッシュ1枚分に1時間かかるといいましたが、この技術を用いると、ディッシュ1枚を1分ほどで終えることができます。従来の方法に比べ、処理速度がいかに向上したかがおわかりになると思います。

松本　レーザーによる細胞処理にはもう一つメリットがあります。多くの細胞は単体ではなく塊になることではじめて機能するため、培養細胞はある程度の塊で操作する必要があります。特にiPS細胞はこの塊をバラバラにすると死んでしまうので、この点は非常に重要です。

通常の処理手順では、人間が手作業で細胞をある程度の大きさに細分化します。そのため塊の大きさにバラつきが出て、塊ごとの培養環境が不均質になり、得られる培養細胞が安定しないという課題がありました。

しかし、レーザーで切断すれば均一なサイズの細胞の塊が効率的につくれます。300 μm間隔でレーザーを照射し、酵素で処理して基材から剥がすだけで、300 μm四方の塊ができるのです。これによって培養環境が均一化し、iPS細胞の未分化状態の維持を安定的に行えるようになりました。

細胞の判別はAIを使う

―― 今回の装置には人工知能（AI）も導入していますね。

須丸　はい、高速で細胞を処理することは実現できましたが、私たちの目指したのは細胞の判別・処理を自動で行える装置であり、それを実現するには、光応答性材料の技術やレーザー照射・加工技術といった私たちのもっている技術だけでは足りませんでした。

松本　そこで、（株）iPSポータルの方々や名城大学理工学部の堀田一弘教授ら、多くの異分野の方々にご協力いただくこと

自動高速レーザープロセシング装置に培養細胞をセット

にしました。細胞の分別処理は、装置にて細胞培養容器の顕微鏡画像を取得し、AIが細胞の要不要を見分け、どの細胞を除去するか除去用レーザーに指示を出す、という仕組みで行うことにしました。しかし、私たちにはそもそも移植細胞を培養するためにどのような操作が必要なのか、そしてどのように細胞の要不要を見分ければよいのか、という知識が十分にありませんでした。そうしたことについては、当時iPSポータルにいらっしゃった、現理化学研究所バイオリソース研究センターの林洋平氏にご検討いただきました。

また、堀田教授にご協力いただき、画像認識に関する知識をもとに、人工知能（AI）に細胞の要不要の判別法をディープラーニング（深層学習）という方法で学習させました。スキャンして得た細胞の画像と、どの細胞が必要でどれは不要かという“正解”の情報を大量にAIに読み込ませ、両者のパターンを覚えさせたわけです。最近はAIが診断画像から病巣を見つけるがん診断などが実用化されていますが、それと同じような手法ですね。LINK2017年11月号 No.15参照 それによって、自動的に、高精度で細胞の要不要が判別できるようになりました。

須丸　松本さんのお声がけでこうしてご協力いただいた異分野の専門家の方々は、本当に素晴らしい方ばかりで、実現された優れた要素技術には目を見張りました。また、片岡製作所さんは、専業メーカーレベルの技術を、すぐに装置に実装してしまうのです。松本さんの人に対する目利きの力や片岡製作所さんの技術力の高さ、スピード感に、精鋭の技術者集団の迫力を感じながら、私も緊張感をもって取り組むことができました。

松本　実用化にあたっては大小さまざまな課題が出てきましたが、それらすべてに対して須丸さんは真摯に向き合ってくださいました。だから私たちは、新しい技術をいかに装置に反映させるかということに全力で取り組んだのです。

今回の装置の開発にあたっては、当社の既存技術をそっくり生かせるところもありましたが、それ以上に新たな技術開発がいくつも必要でした。例えば、当社はこれまで液体を扱ったことはなかったので、培養液中の細胞にレーザー加工技術を適用するための技術を開発する必要がありました。また、除去用レーザーを高速にスキャンし、不要細胞の位置でのみレーザーの出力などを瞬時に切り替える機能がなくてはなりません。これまでもこの切り替えが可能な装置はありましたが、今回求められる高速かつ精密なレベルを実現するためには、ハード、ソフトともに新たな開発を行わなくてはなりませんでした。

そういったさまざまな新しい要素技術を一つにまとめたのがこの装置です。この開発を通じて幅広い技術を培えたことは、メーカーとして大きな財産になると思っています。

「再生医療に貢献する」共通の思いが開発のモチベーションになった

―― 実用化できたポイントはどんなことでしょう。また、これからの展望もお聞かせください。

松本　4年間に及ぶ開発を継続できた大きな要因は、須丸さんの「この研究を世に出して、社会に貢献したい」という思いと、当社の「事業としてこれを成功させたい、そして企業として社会貢献をしたい」という思いの方向性がぴったり合ったからだと思います。そこが食い違っていたら、おそらくこの製品を完成させることはできなかったでしょう。

また、今回は両者の技術マッチングがうまくいったわけですが、そもそも出会いがなければマッチングの機会も生まれません。出会いの機会に恵まれたこと、それから組織対組織、人対

人の関係性を構築できたことによって、成果を出せたと思っています。

須丸　開発中には、iPS細胞が培養できない、細胞にダメージを与える操作をしても期待通りの反応を示さないなど、想定外のことがいくつも起こり、何度も冷や汗をかきました。そのようなときに役立ったのが、これまでの研究で蓄積してきた細かいノウハウでした。それらのノウハウを総動員することで、なんとか実用化することができました。

また、幅広い分野の技術がある産総研だからこそ、さまざまな問題に対応しやすいメリットがあります。特に今回は機械やAIなど、自分の未知の分野の技術も扱ったので私もとても勉強になりましたし、産総研の幅広さを大切にしていかなければと実感することもできました。

松本　ライフサイエンスの技術リソースは当社になかったので、産総研にいろいろと教えていただきながらの開発となりました。特に大きかったのは、将来どのような方向性で進んでいくか、それにあたっての課題は何かを教えていただけたことです。将来を見据えたストーリーをつかめたことは、新しい分野にチャレンジする支えとなり、また、世の中にない新しい装置を開発していく上で大きなモチベーションになりました。

須丸　培養細胞種の判別や純化、細胞単層の切断や均一・細分化などを高速かつ自動で行えるこの装置は、2018年に完成しました。これからの産業的なニーズがどうなるかはしばらく見守るしかありませんが、この装置の完成により、市場を刺激し、ニーズを顕在化できるのではとも思っています。

松本　現在、社会的にはiPS細胞由来の心筋細胞や神経細胞を用いた治験がスタートしたところで、製薬メーカーや再生医療関連者など、大量に細胞処理するニーズのある方々は、この装置に高い関心を寄せてくださっています。この装置が「再生医療に貢献する」という私たちの最終目標を実現できるよう、これからも研究開発を続けて精度や安全性を高めていきます。

須丸　今回開発した強力なレーザービームを高速に照射する技術は、バイオテクノロジーや材料以外の分野にも応用できる汎用性の高い技術でもあります。私たちは他にも光に応答してさまざまな特性を示す光応答性材料を開発しており、私はこの装置が、これらを含む数多くの光応答材料をオンデマンドに操作できるプラットフォームになるのではないかと考えています。例えば、パターニングや表面処理などのものづくりに展開することも考えられます。

「技術を社会に」が産総研のミッションです。ですから、産総研が生み出すのは、明日すぐ製品になる技術ではなく、かといって100年先に必要になるかもしれないものでもなく、10年ぐらい後を見据えた技術であることが必要です。企業は見通しが確かでない技術の開発には手を出しづらいところがあるので、そこは産総研の守備範囲なのではないかと思っています。

産総研はそのような技術シーズを日々開発して蓄積している研究者・技術者の集団です。「こんなことをしてみたい」という発想がある企業にとって、必ず役立つシーズが産総研にはあると信じています。ニーズを投げかけていただければ対応させていただきますので、ぜひ声をおかけください。

NEW TECHNOLOGY

傷を自分で直す、生物のようなコーティング新素材

ゲル材料を用いて、超撥水／親水性と自己修復性を両立

きれいな表面を自己修復機能で長期間保持！

KEY POINT

モノの表面に撥水性・撥油性・防汚性・防曇性などの機能をもたせる表面処理技術はさまざまな分野で使われている。こうしたコーティングの効果をより長持ちさせるため、産総研ではナメクジや魚類などの生物に倣った自己修復性材料を開発した。傷を自己修復する生物のような機能により、コーティング材料の耐久性の飛躍的な向上が期待される。

構造材料研究部門
材料表界面グループ
主任研究員
浦田 千尋
Chihiro Urata

構造材料研究部門
材料表界面グループ
研究員
佐藤 知哉
Tomoya Sato

土の上でも汚れないナメクジの体表に注目

傘の水滴が落ちやすくなった、車の窓が水をよく弾くようになった、洗面所の鏡が昔よりも曇らなくなった。生活を根本から変えるような改善ではないため普段あまり意識しないが、私たちの生活は、このような細部であっても、便利で快適なものに変わってきている。これらの例はいずれも表面処理技術の進化によるものだ。

表面処理技術とは、モノの表面を別の材料でコーティングしたり、表面の構造を変えるなどの処理を施すことで、新たな機能を付加する技術のことだ。「曇らなければいいのに」「汚れが付かなければいいのに」といった表面に関する多様なニーズに応えるこの技術は、すでに私たちの身のまわりで広く使われている。

「しかし、コーティング材料が剥がれたり、その機能をもつ成分がなくなったりすると、機能は失われてしまいます。そのため少しでも機能・効果が長持ちするコーティング材料が求められています」

材料表界面グループの浦田千尋はこう語る。浦田が取り組んだのは、効果が長持ちするだけではなく、剥がれたり、傷ついたりしても自己修復するコーティング材料の開発だ。生物が新陳代謝によって自分で傷を治すように、自分で修復するコーティング材料ができれば、耐久性は飛躍的に向上すると考えたのだ。

この着想のきっかけとなったのが、生物の優れた機能に倣って人工物をつくる技術「バイオミメティクス」だ。絹糸を模倣したナイロンの発明もそのひとつで、衣服にくっつく野生のゴボウの実をヒントに作られた面ファスナーや、フクロウの翼の構造をヒントに作られた500系新幹線のパンタグラフなど生活に応用された技術は多い。

表面処理技術の分野では、2011年に米国で食虫植物ウツボカズラの捕虫の仕組みを模倣した撥液コーティング材が開発された。このコーティング材は、スポンジ状の構造内部に難付着性の液体が染み込ませてあり、これを利用して、対象となる付着物の付着抑制効果を実現した。しかし、これまでのコーティング材料にない優れた撥液性を示すものの、コーティング表面の難付着性液体の層が無くなればその機能は失われてしまう。そこで浦田は、多少の傷がついても液体を維持し続けるような仕組みをもつ生物を探し、ナメクジに着目した。

自己修復性と超撥水性を併せ持つ世界初の機能材料

「ナメクジはジメジメした土壌の上にいますが、土やゴミで汚れていることはありません。その機能に倣おうと考えたのです」（浦田）

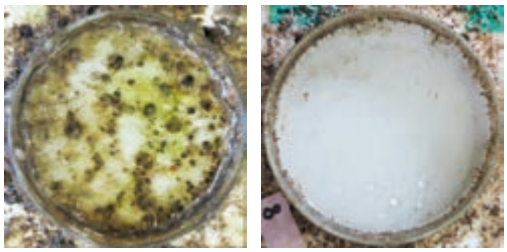
ナメクジには表面の粘液と移動するときの動きで汚れを取り除く仕組みがある。ナメクジから粘液が出てくるように、モノの表面から不要な物質となじみにくい成分が常に出てくるようにすれば、表面の清浄さを保てるのではないか。浦田はそう考えた。

自己修復する超撥水材料（ナメクジ体表の粘液分泌から着想）

■ ナメクジの粘液を用いた体表清浄

（左）土汚れが付着したナメクジ
（右）粘液分泌および運動により表面の土汚れが除去

粘液分泌による土汚れの除去



■ 潤滑液の選択によりさまざまな表面機能が発現

（左）ガラスシャーレ
（右）SLUGをコーティングしたガラスシャーレ

海中付着生物の付着挙動

しかし模倣するといっても人工的な細胞を作るレベルでの再現は、将来的な可能性はともかく現段階では難しい。

そこで思いついたのが、ゲルの表面に液体が浸み出してくる離漿（ゲル状のものから液体が分離すること）という現象を用いることだった。身近なところでは、ヨーグルトの表面に乳清が出てくる現象でみることができる。

浦田は、まずこのゲルの開発を行った。開発にあたっては、産業化を見越して、入手しやすくつくりやすい材料を使うことを意識し、市販のシリコーン樹脂を使用。これに撥水成分としてシリコーンオイルを混ぜ、オルガノゲル（油性ゲル）をつくってモノの表面に塗布したところ、狙い通り表面から油が浸み出してきて、水性の汚れを付きにくくすることができた。浦田はこれをナメクジの英名slugにかけて、「SLUG（Self-LUbricating Gel：自己潤滑性ゲル）」と命名した。

「この方法は、液体を親水性にすれば油が付きにくい表面ができ、液体を疎水性にすれば水の付きにくい表面ができるというように、液体の成分を変えることで多様な用途に対応できるメリットがあります。研究会等でこの技術を紹介したところ、太陽光発電パネルの表面に雪や氷が付くのを軽減したい、海中の設備にフジツボ等が付くのを避けたいといったニーズがあることがわかり、まずは水性物質の付着を抑える機能材料の開発に取り組むことにしました」（浦田）

次に、離漿現象を温度でコントロールし、必要なときに油を出し、不要なときには油を戻す仕組みを組み入れた。例えば太陽光発電パネルの対着氷用の材料は、0 ℃以上では油がにじまないように調整し、効果が長持ちするようにした。

そして、いよいよ自己修復機能の開発である。高い撥水性（以下「超撥水性」）を示すことでよく知られている蓮の葉の表面はマイクロ／ナノメートル単位で凹凸構造をしている。これをコーティング材料で再現しようと試みた。

「オルガノゲルの中に表面に凹凸をつくる分子を埋め込み、ゲルがダメージを受けたらその分子が表面に浮いてくるようにしました。皮膜表面の分子は大気中の水と反応し、傷を修復して超撥水性のある表面を自動的に再形成します。ゲル中に分子が満遍なく含まれているため、どこで材料を切っても破断面から超撥水性の機能が現れ、長く超撥水効果を保つことができるのです」

これが世界で初めての、マクロな自己修復性と超撥水性を併せ持つ機能材料となった。

魚の体表にならって親水性、防汚性・抗菌性の高い材料ができた

産総研では、水中や高湿度環境で使う材料のコーティング用にヒドロゲル（水性ゲル）の開発も進めている。これを担当する佐藤知哉が注目したのは、魚類の体表の多機能性だ。「魚の体表の粘液には、薄い水膜を安定的に形成することで水とよくなじむ機能があります。生物なので代謝によって水膜を自己修復できるのはもちろん、高い防汚効果や抗菌性もあることがわかっています」と言う。

実際に、例えば水中のメダカに油を付けようとしても、油はまったく付かない。コーティング材料に魚の体表のような成分をもた

せれば、前記のような多機能性を発揮できると考えた。

「私たちは産業のための技術をつくっているので、入手コストを度外視したこだわった材料で世界トップの数値を出すのではなく、機能を求めつつも、使いやすい材料、プロセス、環境負荷などに配慮して、産業で利用されるものをつくる必要があります。このヒドロゲルについても、材料の入手や製造、塗装が容易であることを意識しました」

佐藤は入手しやすい材料とシンプルな工程を採用し、水とよくなじむポリマーと人工ナノクレイ（人工的に作られた粘土鉱物）を水中で混ぜて加熱した。これにより、水をよく吸収し、かつ、表面に安定な水膜を形成可能な機能材料をつくることができた。

「このコーティング材料を塗布したガラスは高湿度な環境でも結露が起こりにくく、高い防曇効果を発揮しました。それだけではなく、傷がついても自らの力でふさがっていく自己修復機能や、高い防汚性、抗菌性も確認できています。このような防曇性と自己修復性を兼ね備えた機能材料は、ほとんどありません」

最初の試作では自己修復に24時間ほどかかっていたが、膜厚や成分を変えることにより、すでに5分程度までの短時間化が実現している。曇りを抑えて透明性を維持でき、傷の自己修復もできるこの機能材料は、車のヘッドライトやコンビニなどの大型冷蔵庫のガラス扉などへの応用が考えられる。また、抗菌性が高いので、浴室や洗面所などの鏡のコーティング材料としても有用だろう。現在は企業にサンプルを提供し、それぞれの用途での実用化を模索している段階だ。

さらなる使いやすさを目指して

現在、SLUGはメガソーラーを手掛ける企業と実証実験を進め上市を目指している。太陽光発電パネルに氷や雪が付着すると発電できないが、雪が自動的にするっと落ちれば発電量も確保できるうえに、雪の重みによる倒壊も防げるため期待度は高い。浦田は「私たちのような材料工学分野だけでなく、他分野の研究者との共同研究等も行うことにより、製品化に向けた研究を行っていきたい」と語る。

さらに、SLUGには新たな展開が見えている。蛾の目に倣った無反射・低反射構造（モスアイ構造）を表面に形成させた低反射機能を有するSLUGの開発である。窓や美術館の展示ケースに用いると視認性が高まるほか、太陽光発電パネルに用いると光の反射が抑えられて発電効率が高まるという実験結果も出ているという。

今後、SLUGについては、さらに付着物抑制効果を高めるとともに、薄膜化を進めていく予定だ。「実用化は私たちの成果だけでなく、企業の熱意や努力があってこそ可能になります。先に進めるには、私たちと企業の研究者がコミュニケーションを取り合い、お互いを理解してよい関係性をつくっていくことが必要です。お互いに歩み寄りながら企業の方々と、ぜひ一緒に製品化までつなげていきたいと思っています」（浦田）

ヒドロゲルについては、自己修復にかかる時間をさらに短くすると同時に、より安価で使いやすいものにしていく。「サンプル評価の希望があれば、ぜひ気軽にお問い合わせください。即時対応させていただきます」（佐藤）

汚したくないあらゆるモノに使える高機能なコーティング材料。使う場所や汚れの種類に合わせた多様な機能を持たせることができ、どのような場所でも、より便利で快適な表面をつくることができる。産総研はこれからも社会から求められる表面処理技術を開発し、社会に貢献していく。

生産量90倍！
コウジカビから遊離脂肪酸をつくる

医薬品や機能性食品の原料として広がる未来

ゲノム解読の完了で
理論的で効率よい改良が可能に

「代謝」は酵素等によって物質を分解し、元の物質とは別の物質をつくるはたらきのことだが、微生物が代謝によってつくり出す多種多様な物質は、食品や医薬品、バイオ燃料、抗菌剤、界面活性剤などの原料として広く用いられている。

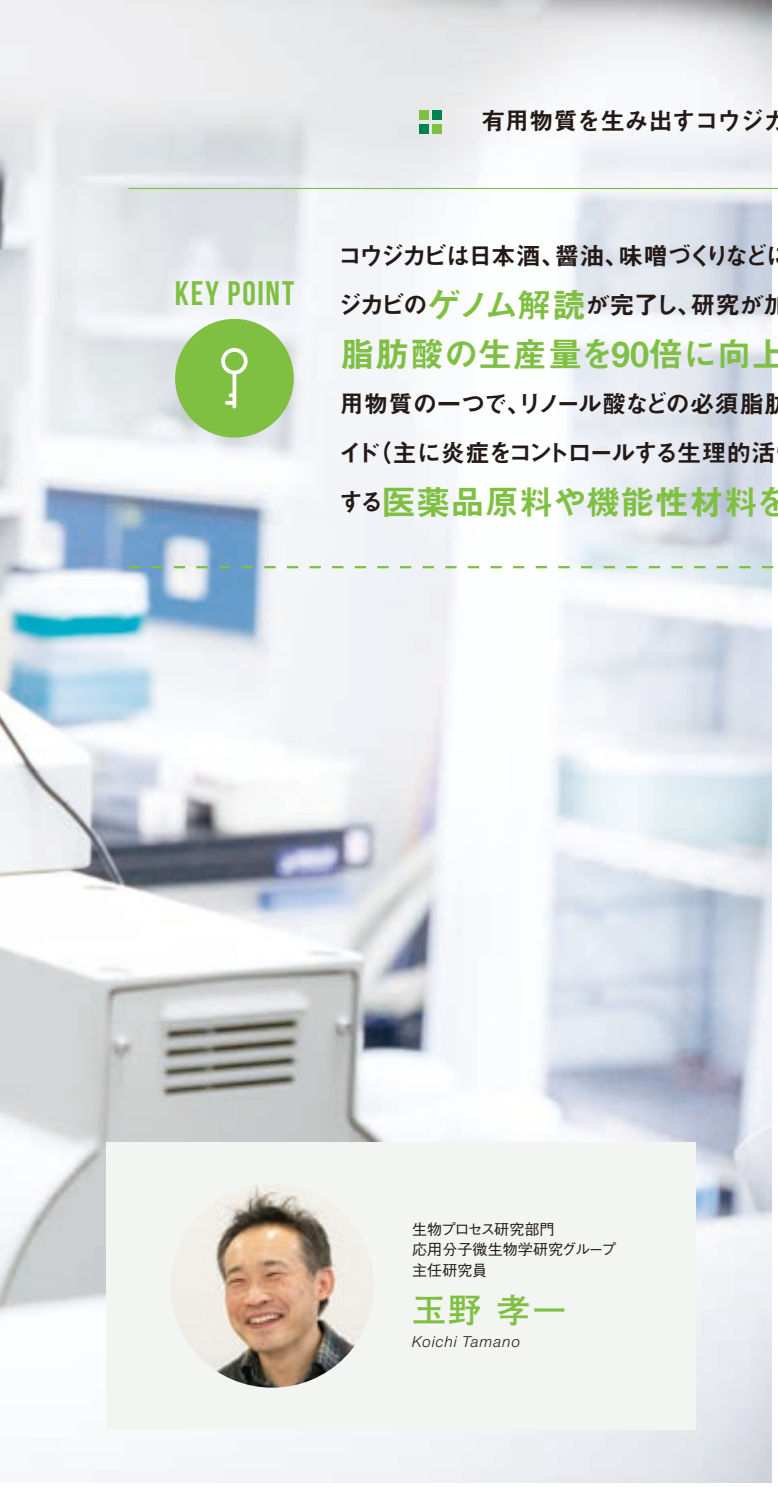
特に日本人にとってなじみの深い微生物が、コウジカビ（麹菌）という糸状菌だ。日本酒、味噌、醤油、さらには味醂や酢に至るまで、伝統的な発酵食品はどれもコウジカビのはたらきによって醸造されてきた。コウジカビの分解酵素は原材料に含まれるタンパク質や糖質、脂質を分解してアミノ酸やブドウ糖（グルコース）、脂肪酸などを生成するが、そのとき、続けて酵母や酢酸菌など他の微生物も働かせることでアルコールや香り成分、酢酸等も生成し、独特の香りや味わいをもつ発酵食品となるのである。

コウジカビの利用範囲は食品にとどまらない。多種類の酵素を大量に生産する能力をもつため、食品加工用アミラーゼ、プロテアーゼ、ペクチナーゼなどの酵素のほか、繊維工業用アミラーゼやセルラーゼなど工業用酵素剤も生産している。

これらの有用物質をコウジカビから生産するには、自然のまま発酵させるよりもコウジカビを改良した方がよい結果が得られることは知られていた。ところがこれまでの改良方法は、コウジカ

KEY POINT

コウジカビは日本酒、醤油、味噌づくりなどに使われ、日本人にとってなじみの深い微生物だ。2005年、コウジカビの<u>ゲノム解読</u>が完了し、研究が加速する中、産総研は遺伝子組換えと培地の改良により、<u>遊離脂肪酸の生産量を90倍に向上</u>させることに成功した。この遊離脂肪酸はコウジカビがつくる有用物質の一つで、リノール酸などの必須脂肪酸を含んでいる。さらに、必須脂肪酸の代謝によってエイコサノイド（主に炎症をコントロールする生理的活性物質）が生成されることから、将来的にエイコサノイドを原料とする<u>医薬品原料や機能性材料を高効率</u>に生産できる可能性が大いに高まっている。



生物プロセス研究部門
応用分子微生物学研究グループ
主任研究員
玉野 孝一
Koichi Tamano

ビに紫外線を照射するなどして不特定の遺伝子に変異を起こし、多い場合には1千を超える株を育種し、その中から優れた株を探す方法で行われていた。そのため、かかる時間も労力も大変なものだった。

2005年その状況が一変する。この年、産総研も参画していた産学官コンソーシアムが進めていたコウジカビの全ゲノムの解読が完了したのだ。玉野孝一は、そのゲノム解読を心待ちにしていた。

「産総研に入ったからには産業に役立つ研究をしようと思っていました。そこで選んだテーマがコウジカビでした。コウジカビのゲノム解読が完了したことで、コウジカビのつくる有用物質の生産が、ようやく理論的かつ効率的に進められるようになりました」

ゲノムが解読されれば、「代謝に関わる酵素はこの遺伝子」など、各遺伝子の役割や、機能する場所などが予測できるようになり、最初から狙いをつけて遺伝子操作が進められるようになる。

「ゲノム情報を用いることで、これまで生産されてきた有用物質の生産効率を上げたり、未知の有用物質を生産したりするための遺伝子組換えが容易に行えるようになり、コウジカビの利活用の可能性がぐっと広がると期待されました」

代謝をストップさせ
大量の遊離脂肪酸を蓄積

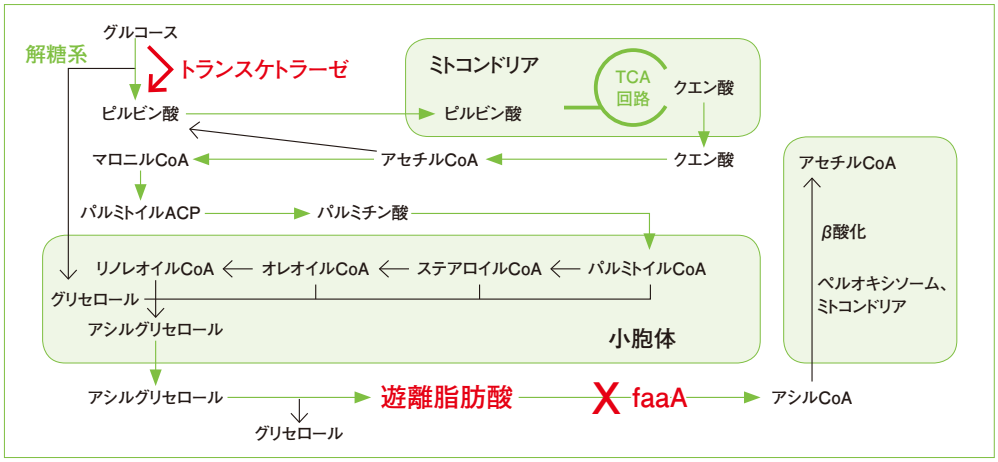
コウジカビの脂質含有率は57%に及ぶ。脂質の応用範囲は広く、油として燃料に使用する、必須脂肪酸を生成して食品や医薬品に応用するなどさまざまな用途が期待される。玉野はまず、コウジカビから脂質を生産する研究に取り組むことにした。

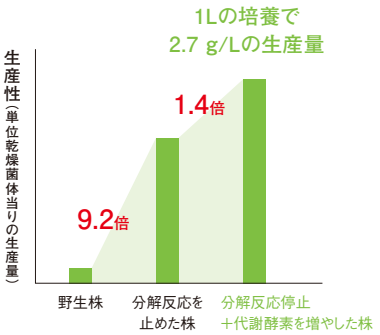
「糸状菌の中にはもっと脂質含有量の多い菌もありますが、酵素生産性の高さや遺伝子組換えのしやすさから、コウジカビを使うのがよいと考えました。当初はこの脂質から脂肪酸を生成してバイオ燃料に応用しようと構想したのですが、バイオ燃料は生産性、価格等でまだ市場に十分なニーズがあるとはいえません。そこで方向転換し、コウジカビの高い安全性を生かし、遊離脂肪酸をつくり医薬品や健康補助食品などの原料生産を目指すことにしました」

コウジカビが遊離脂肪酸をつくるのも「代謝」、すなわち「連続した物質変換反応」によるものだ。

「コウジカビは代謝の過程で遊離脂肪酸を生成しますが、そ

代謝改変による遊離脂肪酸の生産性向上





▲コウジカビ

・アシルCoA合成酵素欠損株（ΔfaaA）では遊離脂肪酸の生産性が野生株に比べて9.2倍向上
・ΔfaaAでのペントースリン酸経路トランスケトラーゼ過剰発現化で生産性がさらに1.4倍向上

れを産業に用いるのであれば、効率よく大量に生成できるようにしなくてはなりません。私は遺伝子組換えを行い、より効率よく遊離脂肪酸を得られるよう、コウジカビを改良することにしました」

コウジカビはグルコースを遊離脂肪酸に変換するが、変換経路は非常に複雑である。玉野はこの経路のどの部分をどう変えれば、遊離脂肪酸の生産性は向上するのだろうかと検討を重ねた。

まず注目したのは、遊離脂肪酸ができた後に継続する反応である。遊離脂肪酸は、できたらそこで変換反応が止まるわけではなく、アシルCoAという物質に変わり、さらにそれがβ酸化によってアセチルCoAという物質に変換される。アセチルCoAは代謝経路の上流にあったクエン酸回路に送られ、また同じように遊離脂肪酸が生成されるまでの経路をたどる。つまり、つくられた物質はリサイクルされ、変換反応が繰り返されていくのだ。

「遊離脂肪酸から先の分解反応を止めることができれば、遊離脂肪酸が細胞内に蓄積されたままになり、大量に生産できるのではないかと考えました」

玉野はコウジカビのゲノム情報を用いて、遊離脂肪酸をアシルCoAに分解する遺伝子faaAを特定し、遺伝子組換えによってその遺伝子を欠失させ、遊離脂肪酸から先に分解反応が進まないコウジカビ株を作製した。このような下流をせき止めるかたちの改良により、遊離脂肪酸の生産性を、改良前のコウジカビ株の9.2倍にまで向上させることができた。

生産量が90倍に向上し産業応用も十分可能に

「しかし、これでは十分とは言えません。代謝経路の上流には、DNAからRNAに転写するときに働く『プロモーター』という部分があります。DNA配列のカギとなるこの部分を変えれば経路全体が変わるので、効果はより大きくなるはずです。下流をせき止めるだけではなく、遊離脂肪酸をつくる酵素を大量に出せるように上流も活性化させようと考えました」

そのためには、どの遺伝子を変えればよいのだろうか。玉野はさまざまな文献をあたり、他の微生物で効果があった方法を調べては、可能性のありそうなものがあれば一つ一つ遺伝子組換えを行い、遊離脂肪酸の生産量を計測していった。地道な探索の中で玉野が見つけたのが、グルコースからピルビン酸への分解経路にある酵素遺伝子のプロモーターをより強力なものに置き換える方法だった。これにより、代謝にかかわる重要な酵素である「トランスケトラーゼ」の大量発現に成功。これが過剰に出るように改良できたことで、糖の分解反応が強まり、結果として遊離脂肪酸をより多く生成できたのである。

「先に9.2倍の生産性になったものから、さらに1.4倍向上し、もとのコウジカビの13倍の生産性向上が実現しました」

玉野はさらに、培養液の成分や温度、pHなど、培養条件の改良によって生産性を上げると同時に、コウジカビの細胞内に蓄積されている遊離脂肪酸の分泌化にも取り組んだ。これまで遊離脂肪酸は、細胞を壊して中から取り出していたのだが、こ

れを改良して細胞から遊離脂肪酸が勝手に出てくる仕組みを作ろうと試みたのだ。

コウジカビの培地に糖や塩化カルシウム、酸化還元剤、界面活性剤など、さまざまな物質を添加しては、遊離脂肪酸が分泌されてくるかどうかを観察。ほとんどの添加物で効果が見られなかったが、その中で1種類だけ、菌体内の遊離脂肪酸の90%を分泌させるものが見つかった。1%の濃度の非イオン性界面活性剤（Triton X-100）である。

「この方法であれば、遊離脂肪酸を得るのに細胞を壊す必要がないので、コウジカビは増殖しながら遊離脂肪酸をつくり続けることができるのです」

改良株をこのような改良培地で培養することにより、玉野は1ℓ当たり2.7gの遊離脂肪酸の生産を実現した。これは実に、自然のままの野生株に比べ90倍にも達する量である。これだけ大量に生産できれば、産業用途にも十分に活用できる。

新薬開発への貢献
エイコサノイド生産を目指す

遊離脂肪酸の大量生産につながるこの技術をもとに、玉野が現在取り組んでいるのが、医薬品や機能性食品の原料になる生理活性物質エイコサノイドの生産である。

遊離脂肪酸は変換反応をストップさせなければ、グルコースからパルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸と、いろいろな種類が生合成されていく。

「本来のコウジカビがつくるのはリノール酸までですが、そこにコウジカビがもたない酵素遺伝子を組み入れることで、新しい代謝経路を導き、より複雑な構造の脂肪酸をつくれるようにしようと考えました」

不飽和化酵素を組み入れることでリノール酸からγ-リノレン酸ができ、そこに伸長酵素を働かせることでジホモ-γ-リノレン酸をつくる。さらに別の不飽和化酵素によって、そこからアラキドン酸を生み出す。主にこのアラキドン酸からできる物質の総称がエイコサノイドである。

現在の医薬品にはさまざまな方法でつくられた多様なエイコサノイドが用いられているが、遺伝子組換えにより、これまで使われていない酵素遺伝子を導入すれば、新たな構造のエイコサノイドが生成できるはずだ。さらにそれを用いることで、これまでにない機能をもつ新しい医薬品ができる可能性がある。現在はまだ挑戦の途上だが、順調に進めば、2019年中には実用化のめどが立つと予測されている。

さらに今後は遺伝子組換えではなく、ゲノム編集を取り入れることを計画中だ。それが実現すれば、より短期間により多様なコウジカビの株をつくることが可能になる。

「遺伝子組換えやゲノム編集で多種多様な変異株を作出し、そこからさまざまな代謝物質をつくる。それを一覧できるライブラリを構築できれば、新たな構造の有用物質を探している企業等に広く役立てていただけるでしょう」

コウジカビから新たな有用物質をつくり、生産性を向上させる方法については、現在、2つの企業との共同研究が進められている。

「エイコサノイドの例でわかるように、この方法は遊離脂肪酸だけではなく二次代謝産物にも対応できるので、将来的な展開は非常に広いと考えています。こんな機能をもつ物質を探している、こんな物質を微生物でつくらせられないか、そんなご要望があれば、ぜひ一度、産総研にご相談ください」

日本人にとって欠かせない食品を作り続けてきたコウジカビ、その微生物の力に玉野は無限ともいえる可能性を感じている。

産総研

サイエンスと技術をLINKする産総研
科学技術とビジネスをLINKする産総研
人々と科学技術をLINKする産総研

LINKの先にあるのは「技術を社会へ」
そんな思いをのせたコミュニケーション・マガジン
「産総研LINK」をお届けします

産総研 LINK
技術を社会へつなげるコミュニケーション・マガジン

産総研LINK　No.23　2019年3月発行

編集・発行　国立研究開発法人 産業技術総合研究所
問い合わせ　企画本部 広報サービス室 出版グループ
〒305-8560　茨城県つくば市梅園1-1-1 中央第1
TEL　：029-862-6217
E-mail：prpub-ml@aist.go.jp

子育てサポートしています 2014年認定事業主
仕事と介護の両立支援
女性が活躍しています！
VEGETABLE OIL INK

■ 禁無断転載 ©2019 All rights reserved by the National Institute of Advanced Industrial Science and Technology（AIST）
■ 所外からの寄稿や発言内容は、必ずしも当所の見解を表明しているものではありません。
■「産総研LINK」へのご意見・ご感想がございましたら、上記E-mailまでお寄せください。今後の編集の参考にさせていただきます。

産総研チャンネル　バックナンバー

AIST15-E00004-23