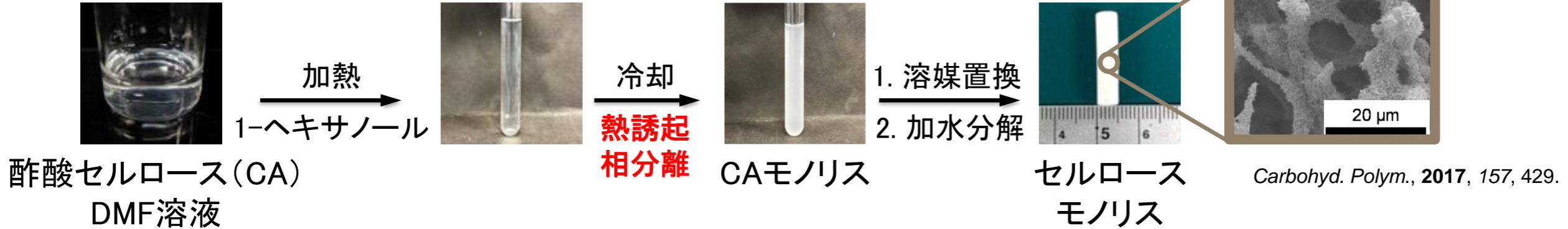


微量体液を手軽に分析可能にする セルロース系前処理デバイス

大阪大学 工学研究科 応用化学専攻
助教 菅原 章秀

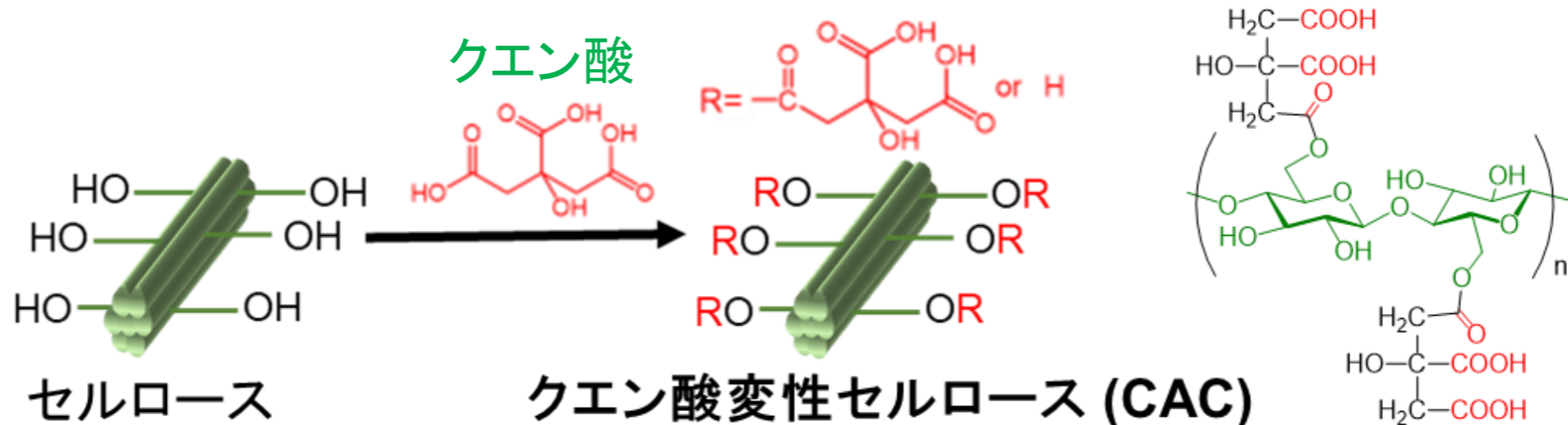
2026年1月29日

基盤技術 I : 多孔質セルロース材料



ポリマー溶液の加熱・冷却による簡便な作製方法

基盤技術 II : クエン酸変性セルロース

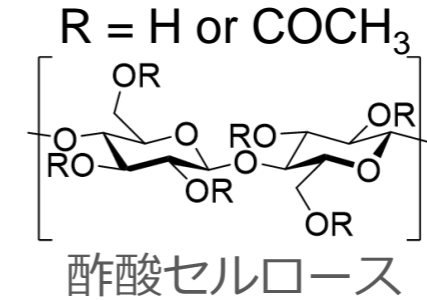


バイオマスを用いた簡便かつ低環境負荷な修飾反応

酢酸セルロースモノリスを利用した 疎水相互作用に基づくタンパク質の分離

疎水性吸着 (Hydrophobic adsorption)

- 共有結合を伴わない物理吸着により、穏やかな条件で分離が可能
- タンパク質表面に存在する疎水基を利用した選択的吸着が可能
- 低分子化合物を保持したまま、複雑な生体試料中のタンパク質を除去可能



酢酸セルロース (Cellulose acetate, CA)

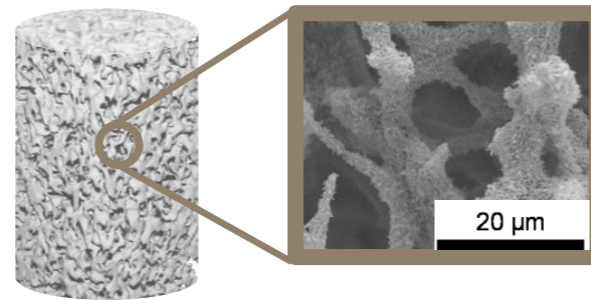
- 分離膜・フィルター材料として利用実績のあるバイオマス由来材料
- 医療・分析分野での使用例があり、一定の安全性・信頼性を有する
- **アセチル基に由来する適度な疎水性を有する**

従来のCA膜・フィルター材料

- 分離は膜表面あるいは薄層内部で進行するため、有効界面積が限定的である
- 流路設計や形状自由度が低く、用途最適化に制約がある

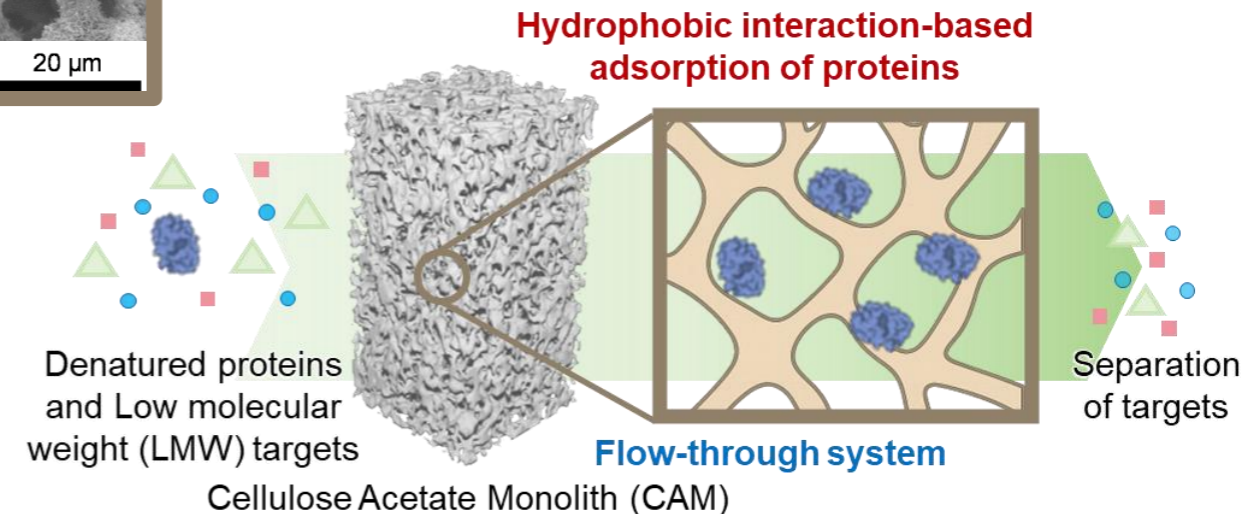
モノリス材料 (Monolith)

- 三次元連続多孔構造による大きな比表面積
- 低背圧でのフロー処理が可能
- 孔構造・形状・流路設計の自由度が高い



本研究

CAモノリスのアセチル基に由来する疎水性を活用し、タンパク質を選択的に吸着する。さらに、低背圧でのシリンジ操作による迅速なフロー分離を可能にする。



除タンパクの従来技術とその問題点

既に実用化されている方法には、有機溶媒沈殿法や限外ろ過膜法による除タンパク法があるが、

- ・ 有機溶媒添加に起因する低分子代謝物の損失
- ・ 試薬使用量の増加によるコスト上昇
- ・ 操作工程の複雑化による再現性低下

といった問題があり、迅速分析や現場利用への展開には至っていない。

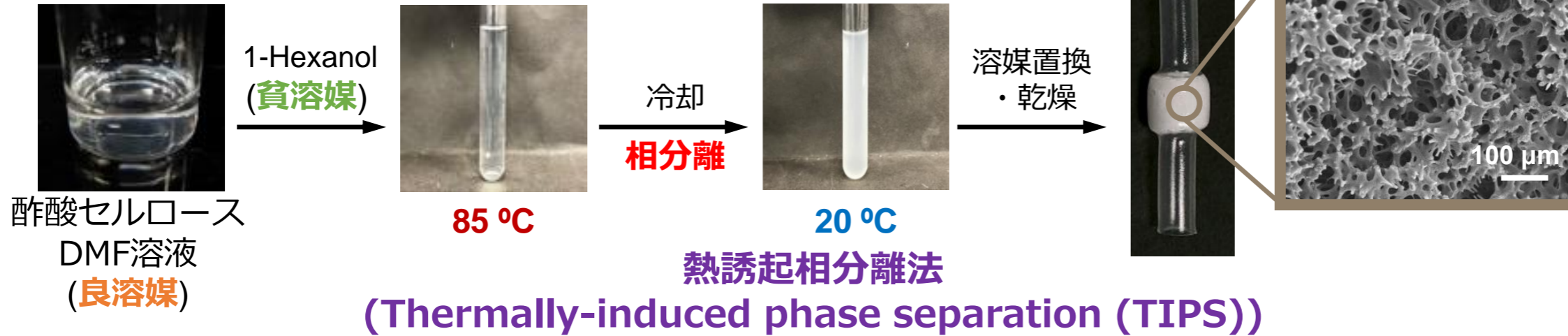
新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術の課題であった低分子化合物の損失を低減可能な除タンパク処理を実現した。
- 従来は前処理に長時間・多工程を要する分析に限られていたが、フロー通液のみで処理可能としたことで、迅速分析への適用が可能となった。
- 本分離技術の適用により、試薬使用量および前処理工程数を削減できるため、分析コストならびに環境負荷の低減が期待される。

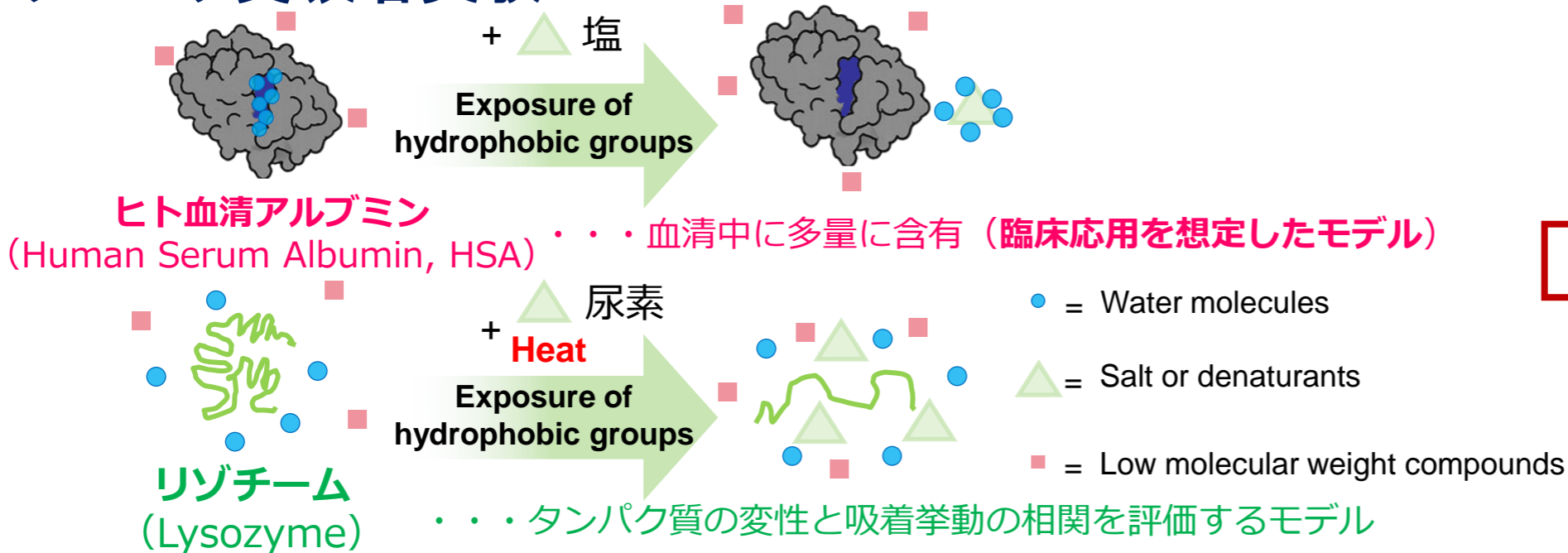
想定される用途

- 生体試料前処理（血液・唾液・尿など）に適用することで迅速分析のメリットが大きいと考えられる。
- 分析前処理の簡略化および時間短縮が期待され、臨床検査をはじめとする分析への応用に貢献すると考えられる。
- タンパク吸着選択性を利用することで、メタボロミクス、臨床診断、食品・環境分析分野への展開も可能と考えられる。

CAモノリスの作製



タンパク質吸着実験

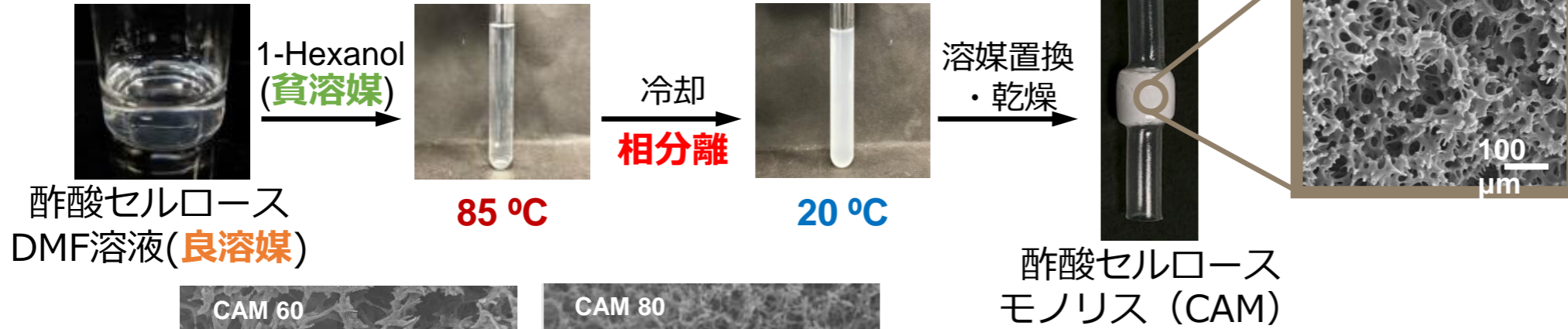


疎水部位を露出させる簡便なタンパク質変性処理

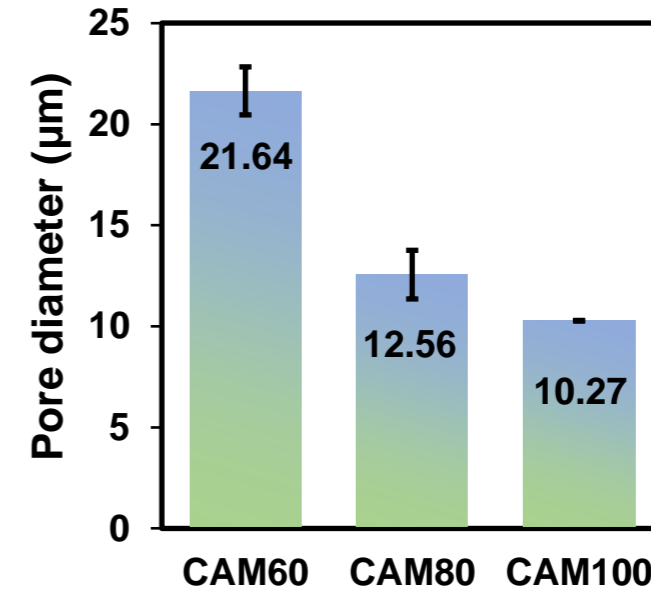
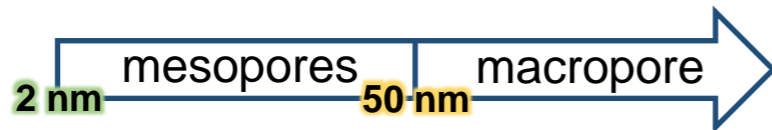
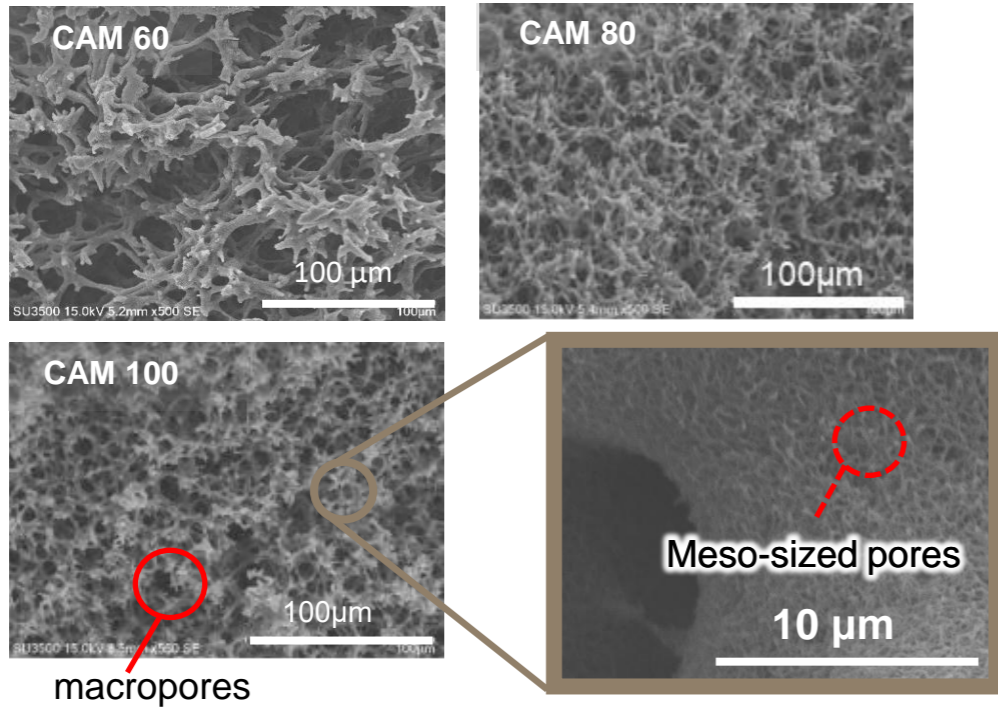


シリンジポンプ
Single-pass adsorption
1 mL/min
手操作を想定した
フロー式吸着

モノリスの孔構造制御



	Concentration (mg/mL)
CAM60	60
CAM80	80
CAM100	100

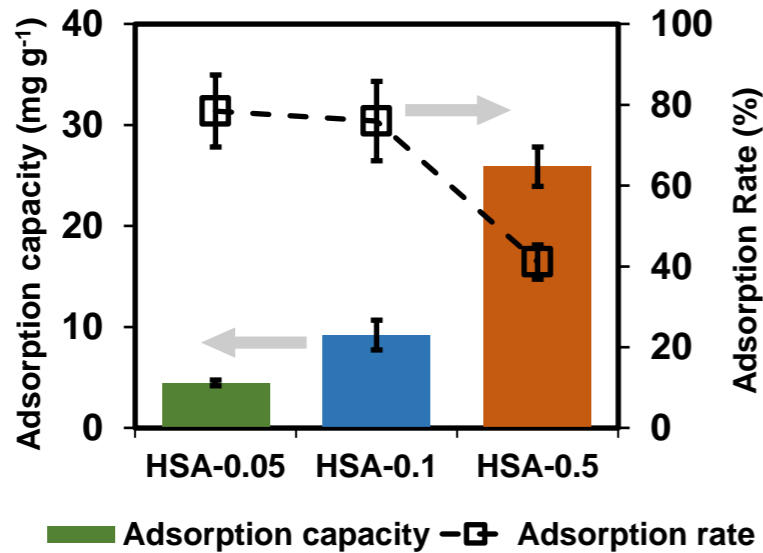
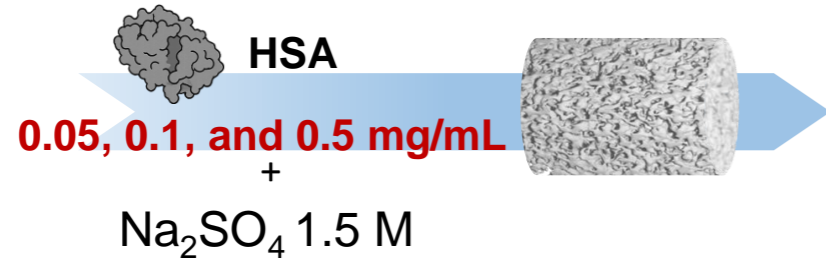


- CAM100 macropores ≈ 10 μm

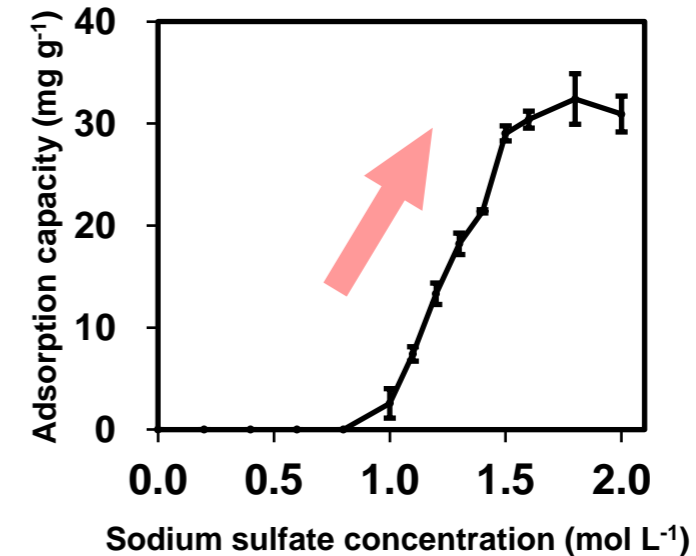
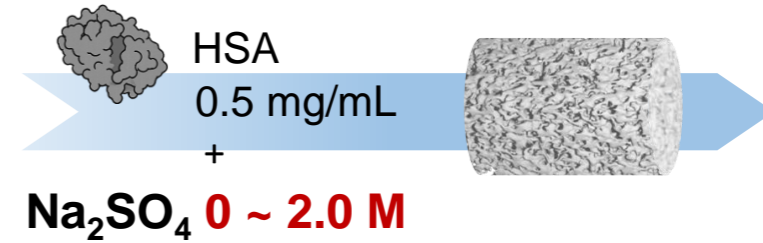
作製条件により孔構造を制御可能

塩存在下での酢酸セルロースモノリスのHSA吸着特性

• HSA concentration



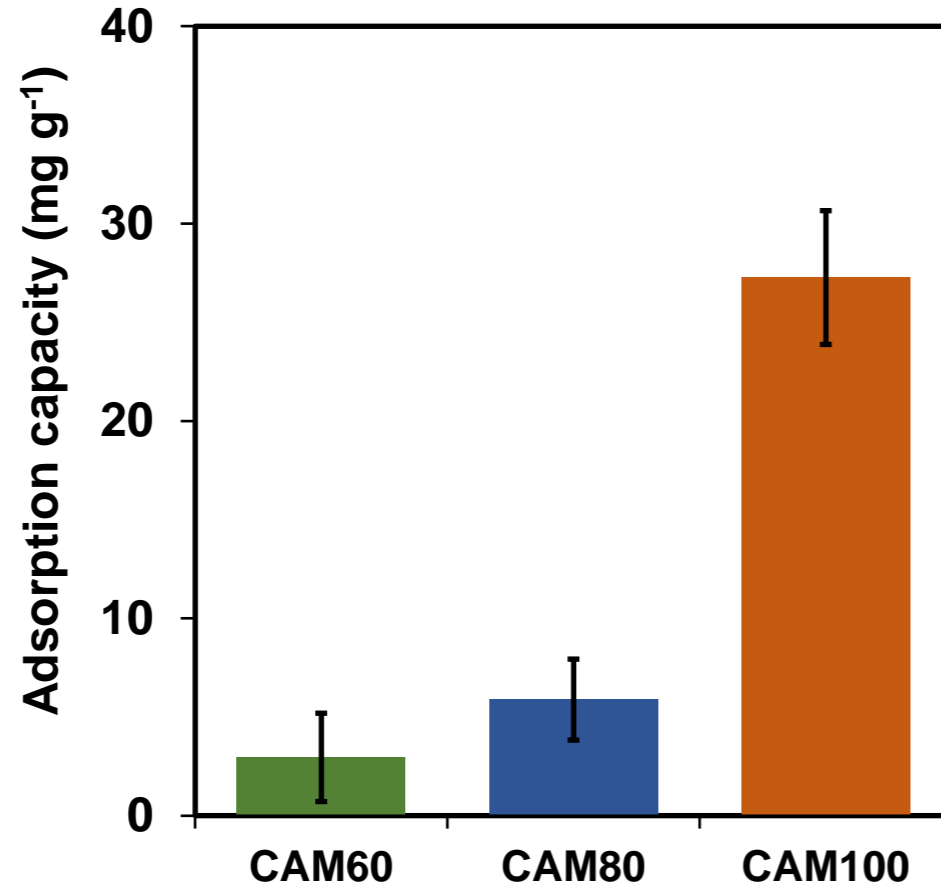
• Na₂SO₄ concentration



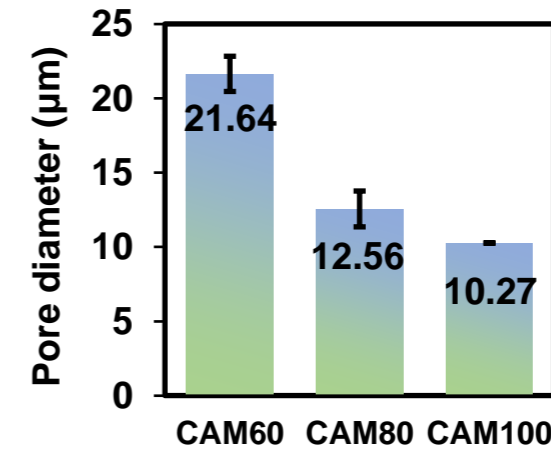
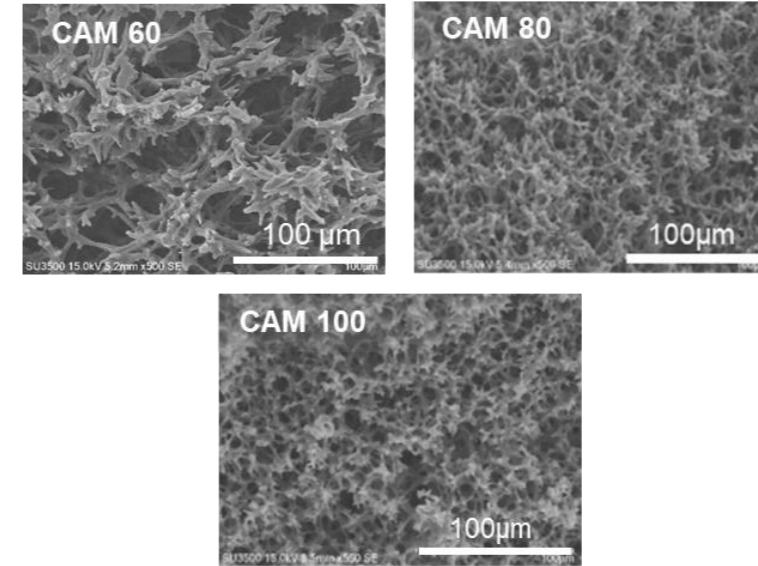
CAモノリスへのHSA吸着はNa₂SO₄の添加により顕著に促進され、single-passによる吸着が可能であった。

モリス孔径の吸着量に対する影響

- CAM60, 80, and 100

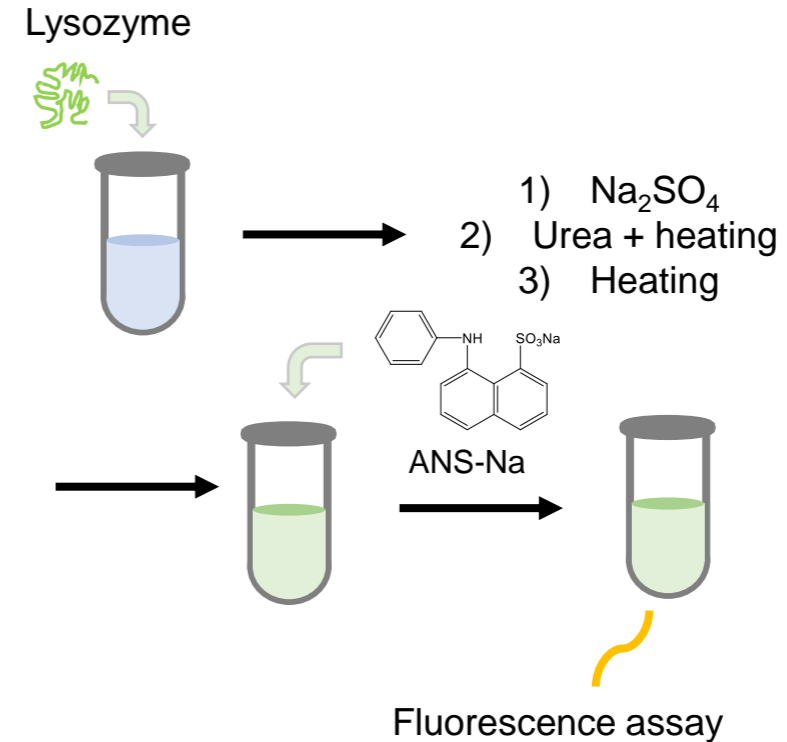
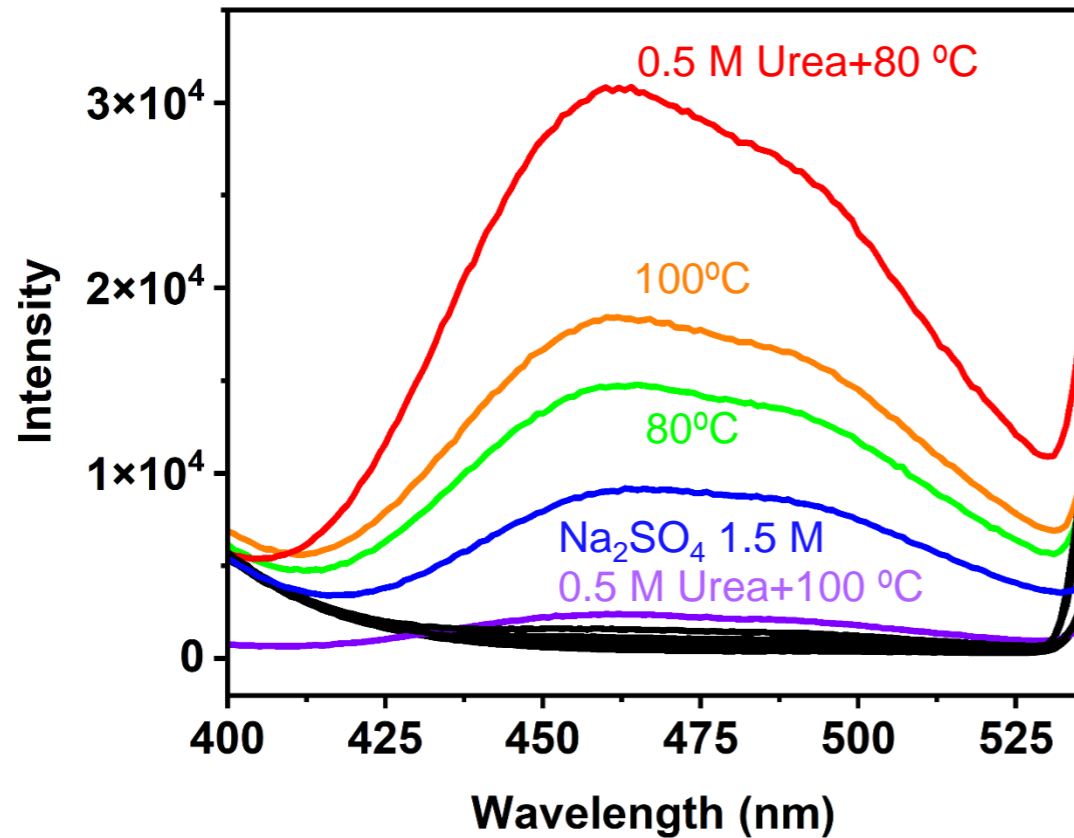


Morphologies



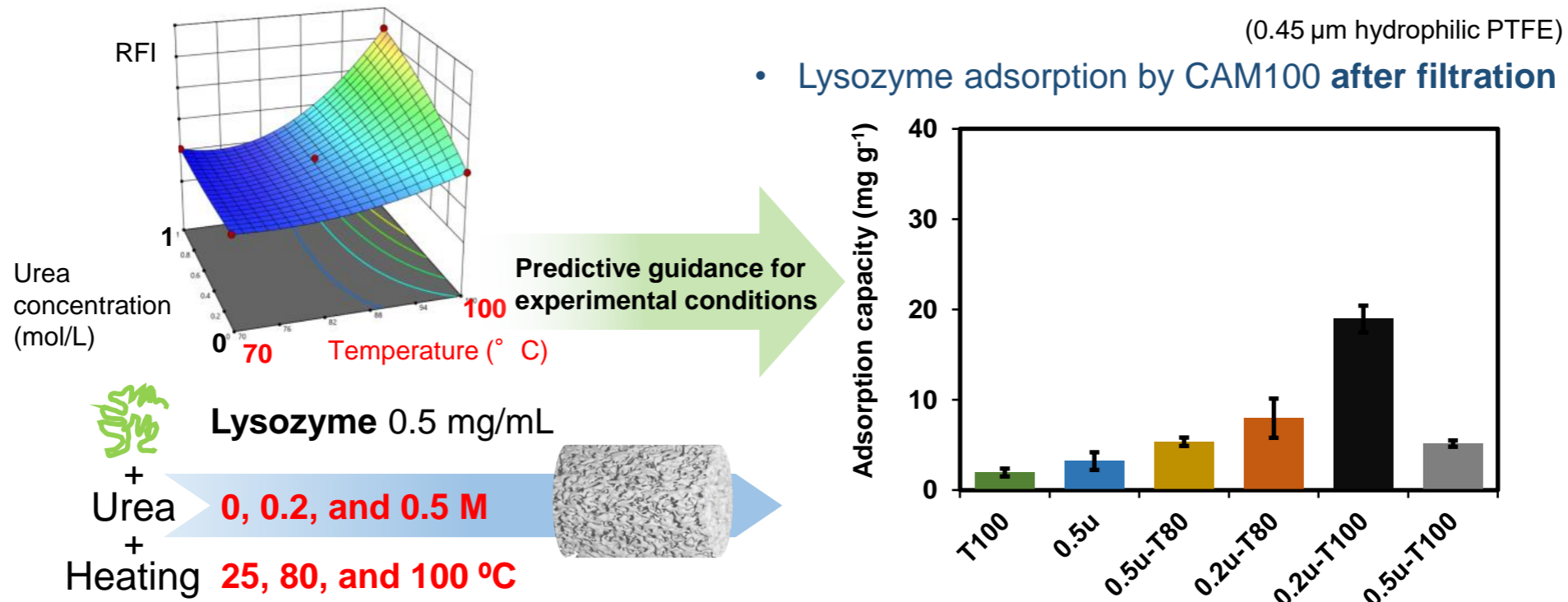
マクロ孔径が小さいCAM100が最も高い吸着容量を示した。

リゾチームの熱 + 尿素による変性



リゾチームは加熱により変性し、尿素の添加により疎水部位の露出がさらに促進された。

変性処理がリゾチーム吸着能に与える影響



Lysozyme	Filtration Rate	Total Reduction Rate after Adsorption	Adsorption Rate by CAM100
T100	5.8%	11.00%	5.2%
0.5u	0.9%	7.9%	7.0%
0.5u-T80	3.6%	19.1%	15.5%
0.2u-T80	5.7%	19.5%	13.8%
0.2u-T100	10.2%	63.4%	53.2%
Aggregation 0.5u-T100*	75.2%	85.3%	10.1%

変性処理したリゾチームは、酢酸セルロースモノリスに良好に吸着された。

実用化に向けた課題

- 現時点では、モデルタンパクを用いた吸着および低分子の分離が可能なことを確認している。一方で、実生体試料への適用に向けた条件最適化は未完了である。
- 今後、血清・唾液などの実試料を用いた実験データを取得し、シリンジ操作に適した流速・処理量・再現性について評価を進める必要がある。
- 実用化に向けて、除タンパク効率および低分子回収率のばらつきを抑制し、定量分析に耐えうる再現性・精度を確保する技術の確立が課題である。

生体内代謝物迅速分析のための官能基を導入したセルロースペーパー開発

- 背景

- 医療診断のための代謝物分析

- メタボロミクスの研究の進展によって代謝物分析による診断が実現可能に
- 医療現場ですぐに使える情報提供

- 発明の目的

- 臨床医療への応用を目的とした迅速な代謝物分析

- 分析時間15分以内目標
 - 治療もしくは手術中に結果をフィードバック
- 複雑な前処理をできるだけ簡略化
 - 自動化、迅速化
- 大型・高額な装置をできるだけ用いない
 - 医療機関に設置できる低価格化（コンビニ診断）

従来の分析方法

(口腔内の生体試料：唾液，歯肉溝滲出液など)

- ろ紙で口腔内の液体試料を採取（5分）
- 水/メタノール/クロロホルムで抽出、内部標準添加後上清抽出（10分）
- 溶媒を加えて遠心（除タンパク）（20分）
- 減圧乾燥機で濃縮後、凍結乾燥で乾固（720分）
- 試薬で誘導体化後、振盪機でインキュベート（150分）

- ヘキサンに溶解してGCMS分析（40分）

- 煩雑な操作が多く前処理に必要な装置も多い



凍結乾燥機



振盪機



冷却遠心機



減圧乾燥機

サンプリングの改善

- 従来法

- ペーパーポイントに生体試料を吸着させる
- 有機溶媒を含む溶液に試料中の代謝物を脱着
- 前述の前処理を行ったうえで誘導体化
- ヘキサンに溶解してGCMS分析

945分

- 改良法

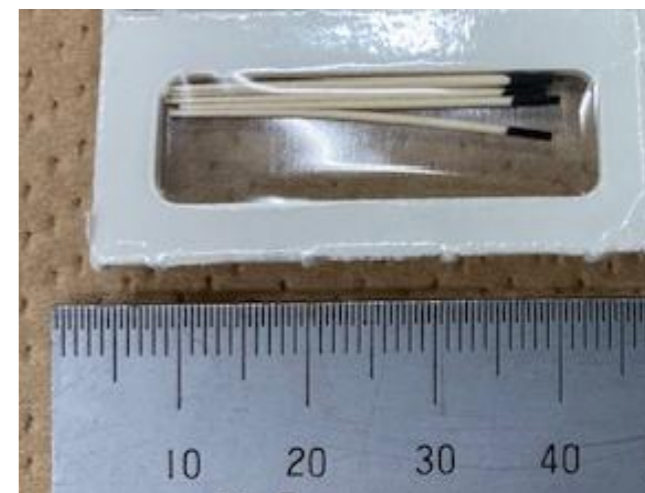
- あらかじめ官能基を付けたペーパーポイントに試料を吸着させる (5分)
- 洗浄・脱水の上, 誘導体化処理 (5分)
- ヘキサンに溶解してGCMS分析 (40分)

50分

トータル時間 945分→50分と**大幅短縮**

FastGCを用いることでGCMS時間はさらに短縮可能 (10分以下)

(トータル時間 **30分以内**)



歯科治療に用いられる
ペーパーポイント

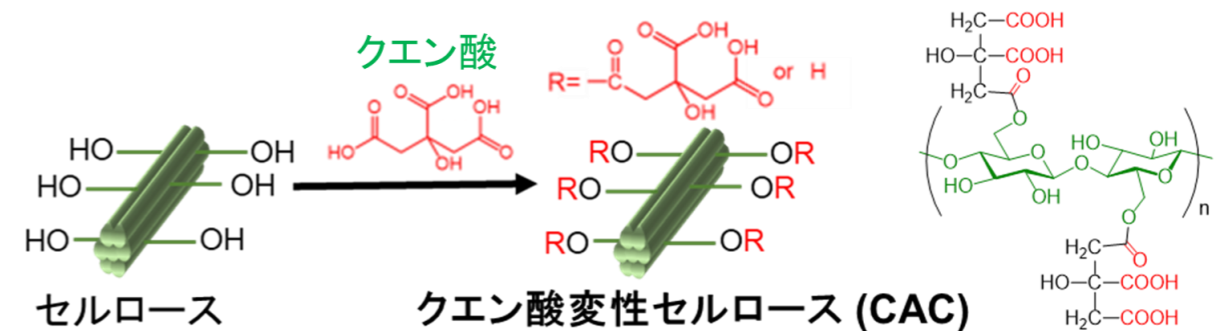


ペーパーポイントに官能基
を付加してカットしたもの

官能基を付加したセルロースペーパー

- セルロースペーパーを用いるメリット
 - 官能基による有機酸、アミノ酸などの生体由来代謝物の捕集濃縮
 - 誘導体化や分析に不要/有害な塩を除去
 - セルロース材料なので生体適合性が高い
(そのままサンプリングにも使える)

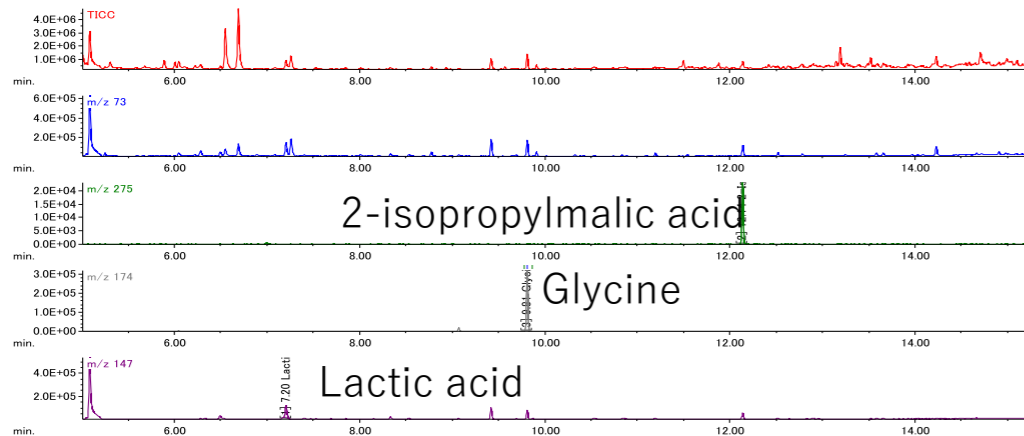
- 官能基付加ペーパーポイントの作成方法
 - ペーパーポイントをクエン酸溶液に含浸後、加熱反応により修飾し、洗浄する簡便な工程による修飾



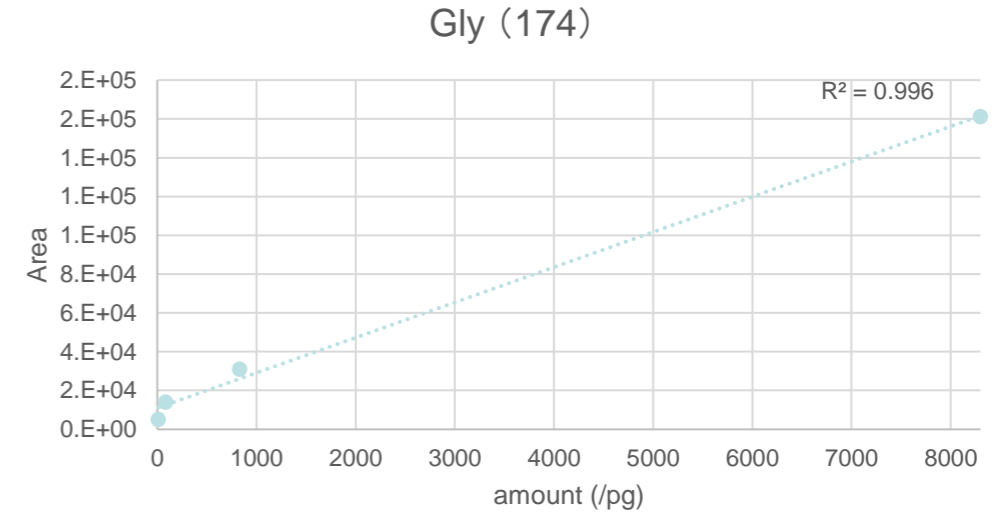
- カルボン酸の他にポリドーパミン、キトサンによる表面修飾も可能 (アニオン・カチオン)

新技術の原理・メリット

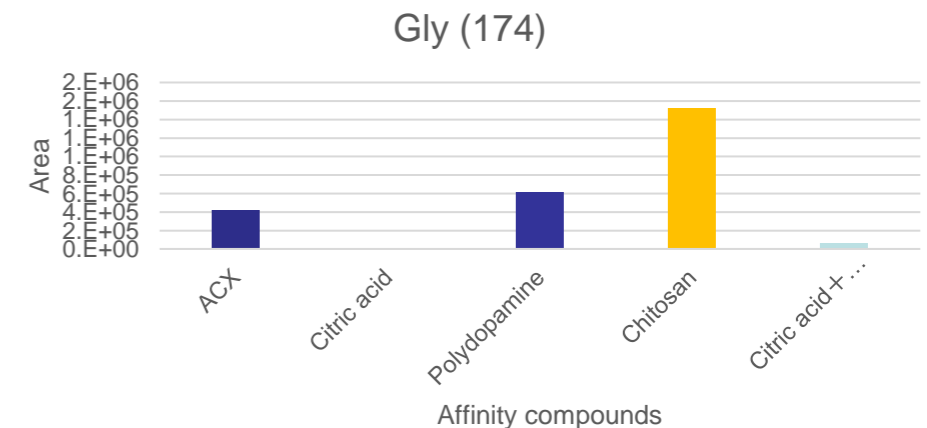
- セルロースの水酸基や導入する化合物の官能基と対象化合物の官能基間のアフィニティにより各種の生体分子を捕集可能
- 反応時間短縮可能なため、実分析時間が大幅短縮
- 短時間で濃縮効果
- 誘導体化処理をそのまま行える
- ヘキサン溶液はGCMS分析にそのまま導入可能



TIC and mass chromatogram of saliva sample



Plot of initial sample amount and peak area for Glycine



Affinity chemicals and peak area

課題と将来展望

- 除タンパクから代謝物濃縮・分析までの流れは未実証
- 新規除タンパク法と組み合わせて迅速・簡便代謝物分析法が可能
 - 精確な診断による最適な治療の実現
 - 自動化による省力化・再現性向上
 - コンビニ診断（広い分野での医療応用）

社会実装への道筋

時期	取り組む課題や明らかにしたい原理等	社会実装へ取り組みについて記載
基礎研究	<ul style="list-style-type: none">・酢酸セルロースモノリス、官能基化セルロースペーパーの作製・設計・分離・捕集の基本原理の確認	
現在	<ul style="list-style-type: none">・モデル生体試料を用いた除タンパク・代謝物分析の実証	
1年後	<ul style="list-style-type: none">・実生体試料への適用検討、ターゲット選定・前処理条件・材料形状・分析工程の最適化	企業との共同研究の開始 デモンストレーションの実施
2年後	<ul style="list-style-type: none">・再現性・精度の向上・応用分野別の性能評価	企業・医療現場ニーズに応じた改良
3年後	<ul style="list-style-type: none">・実用条件下での性能向上	製品化に向けた検討

企業への期待

- 生体試料の分析において課題となっている前処理の簡略化・高速化は、本技術の導入により解決可能であると考えている。
- 分析装置、診断デバイス、前処理材料に関する技術を有する企業との共同研究を希望する。
- 分析フローや製品を開発している企業、ならびに医歯科領域を中心とした迅速診断・分析分野への展開を検討している企業にとって、本技術の導入は有効であると考えられる。

企業への貢献、PRポイント

- 血液や唾液などの生体試料の分析前処理時間を大幅に短縮することで、迅速診断・迅速分析の実現に貢献する。
- 簡便かつ低コストな操作性により、既存分析装置との親和性が高い
- セルロース修飾官能基設計に基づくカスタマイズにより、多様なニーズに対応可能である。

本技術に関する知的財産権

特許 1

- 発明の名称 : 目的化合物を選択的に採取するためのデバイス、該デバイスの製造方法、および生体または環境試料から目的化合物を選択的に採取するための方法
- 出願番号 : 特願2024-088075
- 出願人 : 大阪大学
- 発明者 : 大須賀潤一、菅原章秀、宇山浩、野崎剛徳、豊田 岐聡

特許 2

- 発明の名称 : タンパク質吸着材、ならびにその製造方法およびそれを用いた生体試料液からのタンパク質の分離方法
- 出願番号 : 特願2025-113101
- 出願人 : 大阪大学
- 発明者 : 菅原章秀、大須賀潤一、宇山浩、豊田岐聡、野崎剛徳、張晨旭

お問い合わせ先

大阪大学

共創機構 イノベーション戦略部門 知的財産室

<TEL> 06-6879-4861

<e-mail> tenjikai@uic.osaka-u.ac.jp