

アカデミックプログラム [A 講演] | 17. 生体機能関連化学・バイオテクノロジー：口頭A 講演

2025年3月26日(水) 9:00 ~ 11:40 [A]A304(第3学舎 1号館 [3階] A304)

**[[A]A304-1am] 17. 生体機能関連化学・バイオテクノロジー**

座長：原 正之、松岡 浩司

## ◆ 英語

9:00 ~ 9:10

[[A]A304-1am-01]

糖鎖デンドリマーの合成研究（V）：GlcNAc含有デンドリマーの合成と評価

○富山 紋<sup>1</sup>、松下 隆彦<sup>1,2,3</sup>、小山 哲夫<sup>1</sup>、幡野 健<sup>1,2,3</sup>、松岡 浩司<sup>1,2,3</sup> (1. 埼玉大学理工、2. 埼玉先端ラボ、3. 埼玉戦略研究)

## ◆ 英語

9:10 ~ 9:20

[[A]A304-1am-02]

ヒトインフルエンザウイルス阻害剤に関するオリゴ糖鎖の合成 (VI)  
～3糖体の構築～○高根沢 開登<sup>1</sup>、松下 隆彦<sup>1,2,3</sup>、小山 哲夫<sup>1</sup>、幡野 健<sup>1,2,3</sup>、松岡 浩司<sup>1,2,3</sup> (1. 埼玉大学大学院、2. 埼玉先端ラボ、3. 埼玉戦略研究)

## ◆ 日本語

9:20 ~ 9:30

[[A]A304-1am-03]

糖鎖修飾ダイヤモンド電極を用いたウイルスの糖鎖認識能の評価

○田中 雄太郎<sup>1</sup>、加藤 颯<sup>1</sup>、山本 崇史<sup>1</sup>、栄長 泰明<sup>1</sup>、佐藤 智典<sup>1</sup>、松原 輝彦<sup>1</sup> (1. 慶應義塾大学 理工学部)

## ◆ 日本語

9:30 ~ 9:40

[[A]A304-1am-04]

ペプチド修飾シリカ微粒子によるSARS-CoV-2検出法の開発

○森村 和花葉<sup>1</sup>、鈴木 寧々<sup>1</sup>、佐藤 智典<sup>1</sup>、松原 輝彦<sup>1</sup> (1. 慶應義塾大学)

## ◆ 日本語

9:40 ~ 9:50

[[A]A304-1am-05]

ポリエチレングリコールで血液型抗原を遮蔽したユニバーサル赤血球の合成

○石橋 柚里<sup>1</sup>、藤田 真悠花<sup>1</sup>、小松 晃之<sup>1</sup> (1. 中央大学)

## ◆ 日本語

9:50 ~ 10:00

[[A]A304-1am-06]

アジド修飾ヒアルロン酸と水溶性歪みジインを細胞足場材とした機能性ハイドロゲルの作製

○佐藤 史也<sup>1</sup>、細川 紀代香<sup>1</sup>、角谷 綾夏<sup>1</sup>、吉野 大輔<sup>1</sup>、寺 正行<sup>1</sup> (1. 東農工大院工)

## ◆ 日本語

10:00 ~ 10:10

[[A]A304-1am-07]

## アジド修飾ヒアルロン酸と極性官能基を有する水溶性歪みジインから構成されるハイドロゲルの特性解析

○島田 和弥<sup>1</sup>、佐藤 史也<sup>1</sup>、伊藤 大知<sup>2</sup>、稲垣 奈都子<sup>2</sup>、寺 正行<sup>1</sup> (1. 東農工大、2. 東大院工)

---

10:10 ~ 10:20

休憩

---

◆ 日本語

10:20 ~ 10:30

[[A]A304-1am-08]

脂質抗原の機能を利用した免疫調節性複合型分子の開発

○菊地 隼矢<sup>1</sup>、青木 優人<sup>1</sup>、平野 雄基<sup>1</sup>、久保 和生<sup>1,2</sup>、松丸 尊紀<sup>1</sup>、藤本 ゆかり<sup>1</sup> (1. 慶大理工、2. 株式会社バイオ薬化学研究所)

---

◆ 日本語

10:30 ~ 10:40

[[A]A304-1am-09]

ヒトiPS細胞由来脳オルガノイドを用いたカドミウムによる神経幹細胞の生存・増殖に対する影響の解析

○森 英樹<sup>1</sup>、喜多 美月<sup>1</sup>、原 正之<sup>1</sup> (1. 大阪公立大学)

---

◆ 日本語

10:40 ~ 10:50

[[A]A304-1am-10]

ヒトiPS細胞由来ヒト脳オルガノイド形成におけるI型コラーゲンゲル包埋の影響

○青柿 真由<sup>1</sup>、森 英樹<sup>1</sup>、原 正之<sup>1</sup> (1. 大阪公立大学大学院)

---

◆ 日本語

10:50 ~ 11:00

[[A]A304-1am-11]

近接依存性標識法を用いた細胞への糖鎖高分子導入によるがん免疫療法の開発

○河原 咲来<sup>1</sup>、檜岡 善也<sup>1</sup>、宮川 稜平<sup>2</sup>、真鍋 良幸<sup>2</sup>、深瀬 浩一<sup>2</sup>、田中 知成<sup>1</sup> (1. 京都工芸繊維大学、2. 大阪大学)

---

◆ 日本語

11:00 ~ 11:10

[[A]A304-1am-12]

内因性ホスファチジルエタノールアミンを標的としたオルガネラ選択的ラベリング

○川本 青汰<sup>1</sup>、田村 朋則<sup>1</sup>、浜地 格<sup>1</sup> (1. 京都大学)

---

◆ 日本語

11:10 ~ 11:20

[[A]A304-1am-13]

マイクロウェルとハイドロゲルを用いた1細胞レベルでの分泌抗体検出と細胞選別技術の開発

○山本 涼太郎<sup>1</sup>、岡本 晃充<sup>1</sup>、山口 哲志<sup>2</sup> (1. 東大、2. 阪大)

---

◆ 日本語

11:20 ~ 11:30

[[A]A304-1am-14]

癌細胞選択的薬物導入システムの構築と機能性評価：オリゴアルギニンとPAD誘導体を活用した新規高効率細胞内導入ペプチドシステムの開発

○石川 航大<sup>1</sup>、加藤 ひらり<sup>1</sup>、荒木 保幸<sup>1</sup>、松本 光代<sup>1</sup>、中瀬 生彦<sup>2</sup>、和田 健彦<sup>1</sup> (1. 東北大学 多元物質科学研究所、2. 大阪公立大学 大学院理学研究科)

---

◆ 日本語

11:30 ~ 11:40

[[A]A304-1am-15]

タンパク質の特異的化学修飾を利用した次世代マイクロキャリアの開発

○長岡 佑哉<sup>1</sup>、長谷 政彦<sup>2</sup>、小野田 晃<sup>1,3</sup> (1. 北大院環境科学、2. 大日本印刷株式会社、3. 北大院地球環境科学)

---

## Synthetic studies of glycosylated dendrimers (V): synthesis and evaluation of GlcNAc-containing dendrimers.

(<sup>1</sup>Graduate School of Science & Engineering, Saitama University, <sup>2</sup>Advanced Institute of Innovative Technology, Saitama University, <sup>3</sup>Strategic Research Center, Saitama University)  
 ○ Aya Tomiyama<sup>1</sup>, Takahiko Matsushita<sup>1,2,3</sup>, Tetsuo Koyama<sup>1</sup>, Ken Hatano<sup>1,2,3</sup>, Koji Matsuoka<sup>1,2,3</sup>

**Keywords:** dendrimer; carbosilane dendrimer; *N*-acetylglucosamine; Lectin

In general, the accumulation of sugar chains *in vivo* results in a strong interaction for proteins, and the interaction is expected to be applied to drug delivery systems (DDS). In DDS, by binding a substance that specifically binds to sugar chains to a drug, it is possible to inhibit viruses' entry into the cells and other substances from binding to the sugar chains. To accomplish the objective, combine of a substance that specifically binds to the sugar chain and the drug is one of the methods.

In this study, we focus on carbosilane dendrimers, which have been rarely used, as a method for densifying sugar chains (Fig. 1). The carbosilane dendrimers have high stability and low toxicity to the human body, and we believe that the dendrimers can be used in pharmaceuticals.<sup>1)</sup> In this report,  $\alpha$ -glycosidic GlcNAc ( $\alpha$ -glycosidic *N*-acetyl-D-glucosamine), which has few findings among functional sugar chains, was selected as the sugar chain to be introduced into the carbosilane dendrimer (Fig.2).

A scaffold was synthesized from tetrachlorosilane, and  $\alpha$ -glycosidic GlcNAc with propargylic moiety was prepared by means of Fischer glycosidation. Coupling reaction of these compounds gave the desired compound successfully, albeit in low yield. The biological evaluation of the multivalent-type compound with lectins was conducted. The results of these syntheses and evaluations will be presented.

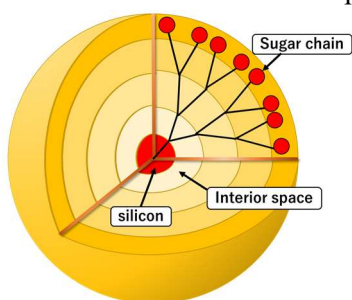


Fig. 1. Structure of carbosilane dendrimers

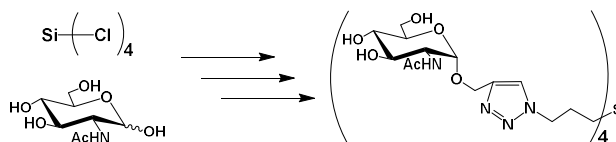


Fig.2. Synthesized compounds

- 1) 土田隆樹, 島崎智恵美, 幡野健, 松岡浩司, 青木良夫, 野平博之, 江角保明, 照沼大陽, *高分子論文集*, **60**, pp. 561-568, **2003**.

## Synthesis of oligosaccharides related to human influenza virus inhibitors (VI) ~Construction of trisaccharides~

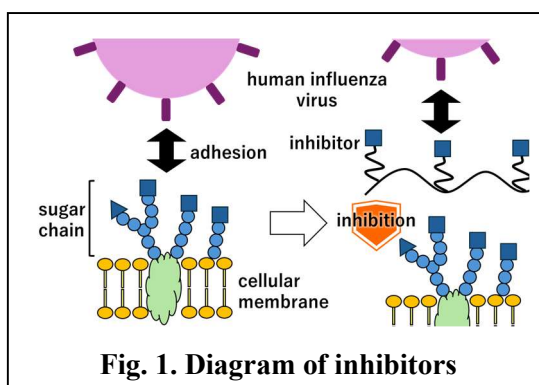
(<sup>1</sup>Graduate School of Science and Engineering, Saitama University, <sup>2</sup>Advanced Institute of Innovative Technology, <sup>3</sup>Strategic Research Center, Saitama University) ○ Kaito Takanezawa,<sup>1</sup> Takahiko Matsushita,<sup>1,2,3</sup> Tetsuo Koyama,<sup>1</sup> Ken Hatano,<sup>1,2,3</sup> Koji Matsuoka<sup>1,2,3</sup>

**Keywords:** human influenza virus inhibitors, Glycopolymers, sialyl oligosaccharides

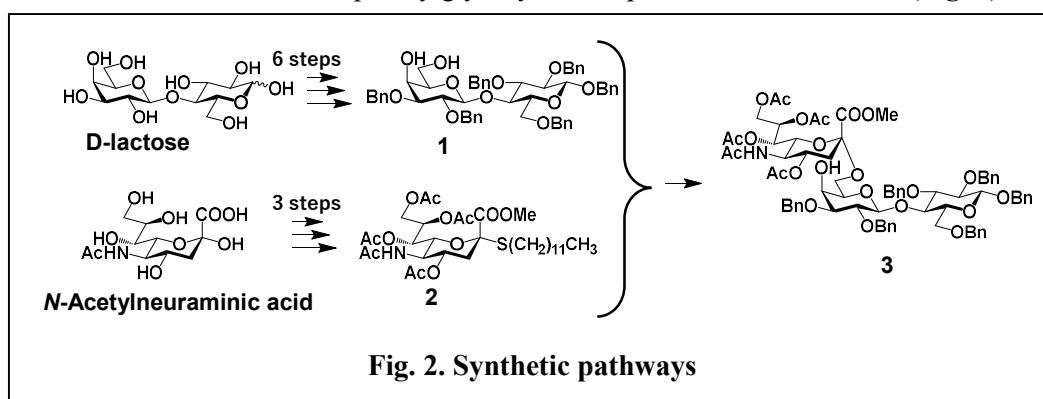
Influenza is a serious infectious disease worldwide, with major outbreaks occurring every year. Anti-influenza viral drugs currently used in the treatment of influenza inhibit the spread of infection by inhibiting the budding of influenza viruses from infected cells. As to the nature of their inhibitory action, the emergence of genetically mutated drug-resistant viruses, however, has become a problem<sup>1)</sup>. Therefore, it is necessary to

develop a new therapeutic agent with a different mechanism due to action from present antiviral drugs, and we planned to synthesise an inhibitor that prevents viral adhesion (Fig. 1).

The research objective of this study is the efficient chemical synthesis of sialyl  $\alpha(2,6)$ lactose, which are recognised and bound to human influenza viruses when they enter the body, and the polymerization (accumulation) of the sugar units, in order to develop a potent inhibitor of influenza virus infection by means of the strong molecular recognition function derived from multivalent binding. To accomplish the aim, we selected to use inexpensive D-lactose as a starting material. Thus, lactose was converted to glycosyl acceptor **1** as the diol-type glycosyl acceptor in six steps, while sialic acid was converted to glycosyl donor **2** in three steps. These derivatives **1** and **2** were subsequently glycosylated to produce trisaccharide **3** (Fig. 2).



**Fig. 1. Diagram of inhibitors**



**Fig. 2. Synthetic pathways**

1) M. Nagao *et al.*, Design of Glycopolymers Carrying Sialyl Oligosaccharides for Controlling the Interaction with the Influenza Virus. *Biomacromolecules* **18**, 4385-4392 (2017).

## 糖鎖修飾ダイヤモンド電極を用いたウイルスの糖鎖認識能の評価

(慶應大理工) ○田中 雄太郎・加藤 颯・山本 崇史・栄長 泰明・佐藤 智典・松原 輝彦

Evaluation of Viral Glycan Recognition Using Glycan-Modified Diamond Electrodes  
(Faculty of Science and Technology, Keio University) ○Yutaro Tanaka, Hayate Kato, Takashi Yamamoto, Yasuaki Einaga, Toshinori Sato, Teruhiko Matsubara

Currently, RT-PCR and immunochromatography are generally employed for the detection of respiratory viruses. However, there are problems such as a risk of false negative and low sensitivity. Electrochemistry detection offers advantages such as immediacy, high sensitivity, and simplicity, making it a promising alternative for virus detection. Influenza viruses (IFV) infect host cells by binding hemmagglutinin (HA) to sialic acid, while SARS-CoV-2 has also been reported to bind sialic acids and sulfated glycans via its spike (S) protein. In this study, we developed a biosensor by modifying boron-doped diamond (BDD) electrode with glycans obtained by saccharide primer method. After incubation the glycan-modified electrode, HA, IFV, and SARS-CoV-2 S1 protein were detected by electrochemical impedance spectroscopy. **Keywords** : Influenza virus; SARS-CoV-2; Glycan; Electrochemistry; Boron-doped diamond electrode

現在、呼吸器系ウイルスの検出法として、RT-PCR 法やイムノクロマト法が用いられているが、感度や偽陰性のリスクなど改善の余地がある。電気化学的検出法は、即時性、高い感度、簡便性などの特徴があり、迅速かつ高感度にウイルスを検出できる可能性がある。インフルエンザウイルス (IFV) は、その膜表面に存在するヘマグルチニン (HA) が細胞表面のシアル酸と結合することで宿主細胞に感染する。また、新型コロナウイルス SARS-CoV-2 においても、スパイク (S) タンパク質がシアル酸や硫酸化糖との結合能を有することが報告されている。

そこで本研究では、ウイルスのレセプターである糖鎖を糖鎖プライマー法によって獲得し、ホウ素ドーパダイヤモンド (BDD) 電極に修飾することでバイオセンサーを開発した (Fig.1)。糖鎖修飾電極と HA、IFV、SARS-CoV-2 の S1 タンパク質を相互作用させ、電気化学インピーダンス法によって検出した。

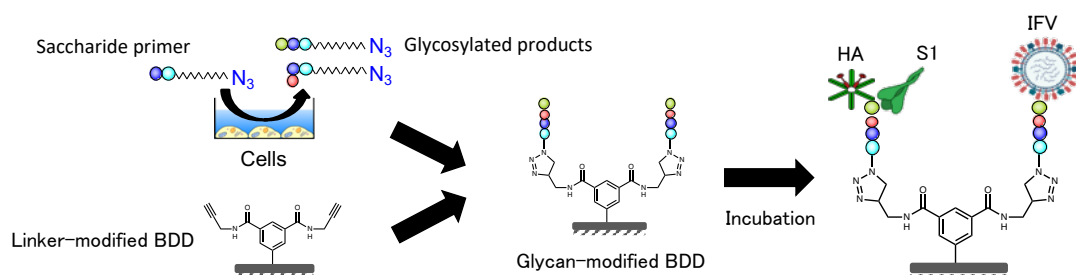


Fig. 1 Preparation of glycan-modified BDD electrode for virus detection.

## ファージ提示法で獲得したペプチドを修飾したシリカ微粒子による SARS-CoV-2 検出法の開発

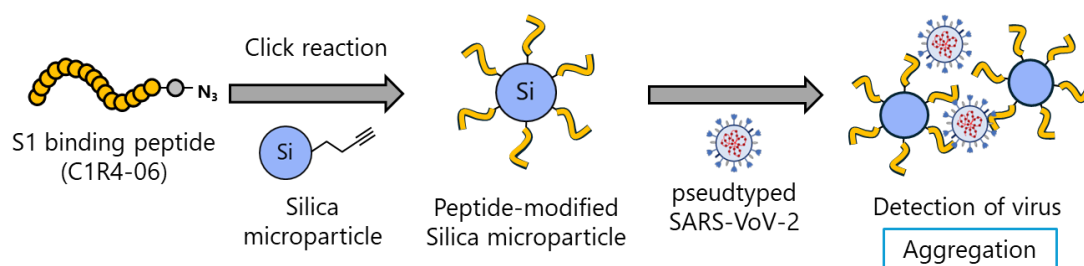
(慶応大理工) ○森村 和花葉・鈴木 寧々・佐藤 智典・松原 輝彦

Development of SARS-CoV-2 detection method using silica microparticles with peptides identified by phage display selection (*Faculty of Science and Technology, Keio University*) ○ Wakaba Morimura, Nene Suzuki, Toshinori Sato, Teruhiko Matsubara

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) spread rapidly all over the world since 2019. To reduce the spread of the virus, the development of rapid and simple detection methods is required. Previously, we identified a 15-residues peptide (C1R4-06) that binds to spike protein on the surface of SARS-CoV-2 by the phage-display method. In this study, the C1R4-06 peptide was synthesized, and silica particles were modified with the peptides by click reactions. The peptide-modified silica particles were mixed with pseudotyped SARS-CoV-2 on round-bottom 96 well plates, and aggregation was observed by visual inspection. The particles were able to detect SARS-CoV-2 within 10 minutes.

**Keywords :** virus detection; SARS-CoV-2; Silica Microparticle; Phage-display Method; Agglutination Assay

ウイルス感染症の拡大を抑えるためには、迅速かつ簡便な検出法の開発が必要である。これまでに当研究室では、ファージ提示法を用いて SARS-CoV-2 の膜表面に存在するスパイクタンパク質の S1 サブユニットに結合するペプチドの探索を行い、15 残基のペプチド C1R4-06 を獲得した。本研究では、C1R4-06 ペプチドを化学合成し、縮合反応およびクリック反応によりシリカ微粒子に修飾した。作製したペプチド修飾シリカ微粒子と SARS-CoV-2 疑似ウイルスを丸底 96 well プレート上で混合し、凝集を目視で判定することで検出を行った。ペプチド修飾微粒子は疑似ウイルスを 17.8 GoStix Value (GV) の感度で、かつ 10 分という短時間で検出することができた。



## ポリエチレングリコールで血液型抗原を遮蔽したユニバーサル赤血球の合成

(中央大理工) ○石橋 柚里・藤田 真悠花・小松 晃之

Synthesis of Universal Red Blood Cells Covered with Polyethylene Glycol to Mask Blood Type Antigens (*Faculty of Sci. and Eng., Chuo University*) ○Yuri Ishibashi, Mayuka Fujita, Teruyuki Komatsu

Blood type is determined by blood type antigens (A, B, and RhD) on the surface of red blood cell (RBC) membrane. Administration of different blood-type RBC preparations may cause strong immune responses. Although RBCs conjugated with polyethylene glycol (PEG) to mask blood type antigens have been reported as universal RBCs without blood type, the details have not been clarified.<sup>1,2)</sup> The aim of this study is to synthesize RBCs conjugated with PEG by thioether bond (PEG-S-RBC) and amide bond (PEG-RBC), and to clarify their structures and O<sub>2</sub> affinities. In blood typing test, no agglutination occurred with anti-A, anti-B, and anti-RhD antibodies. PEG conjugation prevented the antigen-antibody reaction of blood types. Interestingly, O<sub>2</sub> affinities of PEG-S-RBCs and PEG-RBCs are equivalent to that of RBCs. While PEG-S-RBCs deformed to echinocytes, PEG-RBCs maintained the disk shape and exhibited high storage stability. PEG-RBC is expected to be used in vivo as universal RBCs.  
**Keywords :** Artificial Red Blood Cell; Blood Type; Blood Type Antigen; Polyethylene Glycol; O<sub>2</sub> Affinity

血液型は赤血球(RBC)膜表面にある血液型抗原(A抗原、B抗原、RhD抗原等)により決まり、異型RBC製剤の投与は強い免疫反応を引き起こす恐れがある。血液型を持たないユニバーサルRBCとして、ポリエチレングリコール(PEG)で血液型抗原を遮蔽したPEG結合RBCが報告されているものの、その詳細は明らかにされていない<sup>1,2)</sup>。本研究は、RBC(A型(Rh+)またはB型(Rh+))にPEGをチオエーテル結合で導入したPEG-S-RBCと、アミド結合で導入したPEG-RBCを合成し、その構造および酸素結合能を明らかにすることを目的とした。PEG-S-RBC、PEG-RBCの血液型検査を行ったところ、いずれも抗A抗体、抗B抗体、抗RhD抗体と凝集を起こさず、血液型抗原と抗体の反応はPEG鎖により抑止されていることがわかった。興味深いことに、PEG-S-RBCとPEG-RBCの酸素親和性はRBCと同等であった。また、PEG-S-RBCはウニ状構造に変形していたのに対し、PEG-RBCはRBC本来の円盤状構造を維持し、保存安定性も良好であった。PEG-RBCはユニバーサルRBCとしての生体利用が期待される。

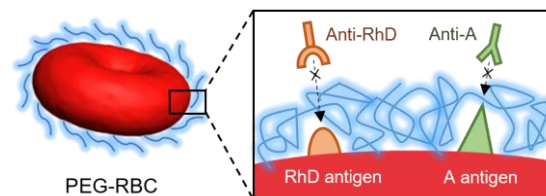


Fig. 1 Structure of PEG-RBC.

1) M. D. Scott *et al.*, *Blood* **1999**, 93, 2121.

2) S. A. Acharya *et al.*, *Transfusion* **2005**, 45, 374.



## アジド修飾ヒアルロン酸と水溶性歪みジインを細胞足場材とした機能性ハイドロゲルの作製

(東農工大院工) ○佐藤 史也・細川 紀代香・角谷 綾夏・吉野 大輔・寺 正行  
Development of Functional Cell-Encapsulating Hydrogels via Click Crosslinking of Azide-Modified Hyaluronic Acid and Water-Soluble Cyclooctadiyne (*Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology*) ○Fumiya Sato, Kiyoka Hosokawa, Ayaka Kadotani, Daisuke Yoshino, Masayuki Tera

We have developed the water-soluble cyclooctadiyne (WS-CODY) equipping polar functional groups on their side chains, which could spontaneously crosslink two azides in water. In this study, we synthesized a hydrogel ("click gel") by crosslinking azide-modified hyaluronic acid using a WS-CODY through a double-click reaction and encapsulated cells to form cellular aggregates within the gel. When cell-adhesive peptides were ligated within the click gel and myoblasts were encapsulated, the cells exhibited a myotube-like morphology. Furthermore, covalent attachment of a peptide-modified click gel to the cell-encapsulating gel induced directional migration due to haptotaxis to the peptides.

**Keywords :** Click reaction; Hydrogel; 3D culture; Hyaluronic acid; Cell encapsulation

【目的】生体組織は非連続かつ複雑な構造を持ち、三次元培養技術ではこれらを再現することが求められている。当研究室では歪み促進型アジド-アルキン付加環化反応 (SPAAC) により、水溶液中でアジド 2 分子を連結できる水溶性歪みジイン (WS-CODY) を開発している<sup>1)</sup> (Figure 1a)。本研究では物質透過性に優れたアジド修飾ヒアルロン酸を WS-CODY で架橋したハイドロゲル (クリックゲル) を作製し、組成の異なるハイドロゲル同士を共有結合により接着することで、非連続な環境を再現し細胞の移動方向の制御を目的とした。

【結果】まず、ヒアルロン酸ゲル内にアジド修飾 RGD ペプチドを修飾し、マウス筋芽細胞株 (C2C12 細胞) を封入したところ、細胞は接着・伸展し、筋管様に形態が変化した。続いて、RGD ペプチド修飾ヒアルロン酸ゲルと C2C12 細胞封入ヒアルロン酸ゲルを WS-CODY でゲル-ゲル接着し、接着させた状態で培養を行った。その結果、48 時間後に細胞が RGD ペプチド修飾ゲルへ移動し、ペプチドに対する接触走性を利用した、細胞の移動方向の制御を達成した (Figure 1b)。

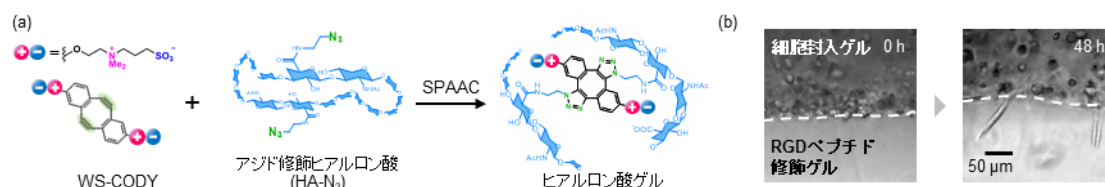


Figure 1. (a) SPAAC reaction between WS-CODY and HA-N<sub>3</sub>. (b) Cell migration at the gel interface.

1) F. Sato, M. Tera *et al*, *Chem. Commun.*, **2023**, 59, 6678.

## アジド修飾ヒアルロン酸と極性官能基を有する水溶性歪みジインから構成されるハイドロゲルの特性解析

(東農工大院工<sup>1</sup>・東大院工<sup>2</sup>) ○島田 和弥<sup>1</sup>・佐藤 史也<sup>1</sup>・稲垣 奈都子<sup>2</sup>・伊藤 大知<sup>2</sup>・寺 正行<sup>1</sup>

Development of Functional Hydrogels Through Click Chemistry Between Azide-Modified Hyaluronic Acid and Polar Substituted WS-CODY (<sup>1</sup>Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology, <sup>2</sup>Graduate School of Engineering, Tokyo University) ○Kazuya Shimada,<sup>1</sup> Fumiya Sato,<sup>1</sup> Natsuko Inagaki,<sup>2</sup> Taichi Ito,<sup>2</sup> Masayuki Tera<sup>1</sup>

3D bioprinting holds great promise for regenerative medicine. It requires materials with tunable gelation rates and elasticity. We have been developing water-soluble strained cyclooctadienes (WS-CODYs) with polar functional side chains for click reactions under physiological conditions. We synthesized WS-CODY derivatives with cationic (**1**), zwitterionic (**2**), or anionic (**3**) side chains and evaluated their gelation kinetics with azide-modified hyaluronic acid (HA-N<sub>3</sub>). Reaction kinetics and storage moduli followed order **1** > **2** > **3**, indicating electrostatic interactions between WS-CODY and hyaluronic acid.

**Keywords** : Click reaction; Strained alkyne; Hydrogel; Viscoelasticity; Hyaluronic acid

【目的】3次元バイオプリンティングは立体的な細胞含有構造物を成形する技術であり、特に再生医療分野への応用が期待されている。当該技術では、プリンティング時のゾルゲル転移速度や、適用細胞ごとに適したゲル弾性率の調整ができる高分子材料が求められている<sup>1</sup>。当研究室では、生理的条件化で2つのアジド基をクリック反応で連結でき、極性官能基を側鎖に有する水溶性歪みジイン (WS-CODY) を開発している<sup>2</sup>。本研究では、極性官能基の側鎖がカチオン (**1**)、双性イオン (**2**)、アニオン (**3**) に置換された WS-CODY 類 (Figure 1) を合成し、アジド修飾ヒアルロン酸 (HA-N<sub>3</sub>) とのゲル化速度および生じたハイドロゲルの貯蔵弾性率の評価を行った。

【結果】まず、3種の WS-CODY 類 (**1-3**) および、HA-N<sub>3</sub> の合成を行った。次に、**1-3** を HA-N<sub>3</sub> と混合することで、ハイドロゲルを作製した。**1-3** による HA-N<sub>3</sub> のゲル化反応速度を測定した結果、反応速度は **1** > **2** > **3** の順に大きいことが分かった。得られたハイドロゲルの貯蔵弾性率も、**1** > **2** > **3** の順に大きいことが分かった。これらの結果は、WS-CODY の側鎖官能基とヒアルロン酸との静電相互作用によると考えられた。

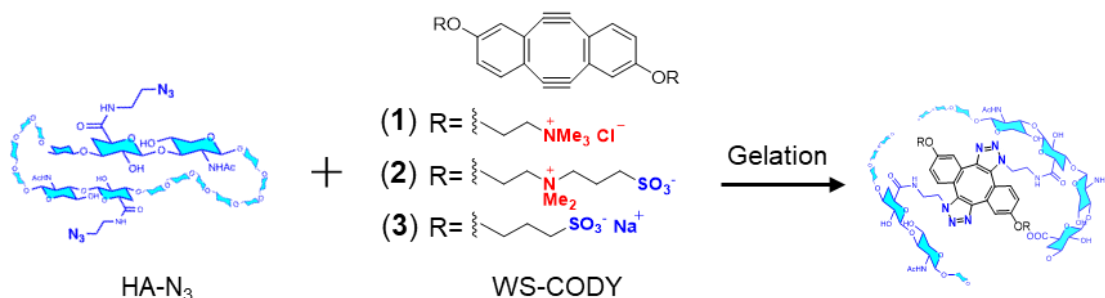


Figure 1. Schematic illustrations of gelation by WS-CODYs (**1-3**)

【参考文献】 1) Panwar, A., Tan, P. L. *Molecules.*, **2016**, *21*, 685; 2) M. Yoshinaga, M. Tera *et al*, *Chem. Commun.*, **2023**, 59, 6678.

## 脂質抗原の機能を利用した免疫調節性複合型分子の開発

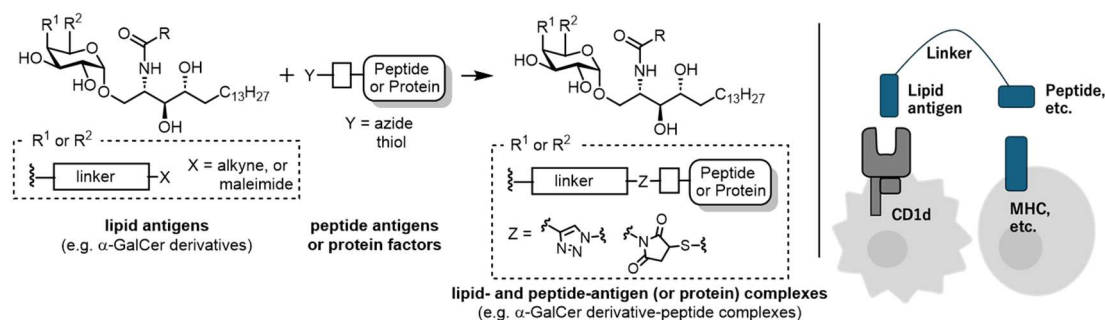
(慶大理工<sup>1</sup>・株式会社バイオ薬化学研究所<sup>2</sup>) ○菊地 隼矢<sup>1</sup>・青木 優人<sup>1</sup>・平野 雄基<sup>1</sup>・久保 和生<sup>1,2</sup>・松丸 尊紀<sup>1</sup>・藤本 ゆかり<sup>1</sup>

Development of Lipid Antigen-containing Complex Molecules for Immunomodulation (<sup>1</sup>Keio University, <sup>2</sup>Bio-Drug Chemistry Research Institute, Inc.) ○Shunya Kikuchi,<sup>1</sup> Yuto Aoki,<sup>1</sup> Yuki Hirano,<sup>1</sup> Kazuki Kubo,<sup>1,2</sup> Takanori Matsumaru,<sup>1</sup> Yukari Fujimoto<sup>1</sup>

On antigen-presenting cells, glycolipid antigens are presented by CD1 such as CD1d, and peptide antigens are presented by MHC molecules to activate and modulate the immune system. For instance, CD1d presents lipid antigens to NKT cells, inducing various kinds of cytokine responses. In this study, to further elucidate the role of lipid antigen presentation, we designed and synthesized conjugate molecules combining the representative lipid antigen  $\alpha$ -GalCer or its derivative<sup>1</sup> with peptide antigens/protein factors. Alkynyl or maleimide linkers were introduced at the 4- or 6-position of the glycolipid, enabling conjugation with azide- or cysteine-tagged peptides via Huisgen cycloaddition or Michael addition reactions, respectively. Utilizing the resulting conjugates, we evaluated their immunomodulatory functions and performed analyses to explore the antigen structure-dependent immune responses.

**Keywords :** Organic Synthesis; Complex Molecules; Glycolipids; Antigen Presentation

抗原提示細胞上において、MHC 分子がペプチド抗原を提示する一方、CD1 分子、特に CD1d は糖脂質抗原を NKT 細胞に提示することで多様なサイトカイン産生を誘導する。本研究では脂質抗原提示の機能をより詳細に解析するために、代表的な脂質抗原である糖脂質  $\alpha$ -GalCer やその誘導体<sup>1</sup>とペプチド抗原等を組み合わせた複合分子を設計し、合成した。糖脂質の 4 位もしくは 6 位にアルキンもしくはマレイミドを含むリンカーを導入し、Huisgen 環化もしくは Mc-Thiol 反応を用いて、アジド基もしくはシステインをタグとして含むペプチドなどとの複合化を達成した。得られた複合体を用い免疫調節機能評価を行った。



1) Inuki, S., Hirata, N., Kashiwabara, E., Kishi, J., Aiba, T., Fujimoto, Y. et al. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 15766.

## ヒト iPS 細胞由来脳オルガノイドを用いたカドミウムによる神経幹細胞の生存・増殖に対する影響の解析

(阪公大院理) ○森 英樹・喜多 美月・原 正之

Analysis of the effects of cadmium on the survival and proliferation of neural stem cells using human iPS cell-derived brain organoids (*Graduate School of Science, Osaka Metropolitan University*) ○Hideki Mori, Midzuki Kita, Masayuki Hara

The culture technique for induction of pluripotent stem cells into cerebral organoids is expected to be a powerful tool for studying the process of CNS development. Although the toxicity of cadmium on bone formation and renal function is known, the neurodevelopmental toxicity is not well understood. In this study, we analyzed the effects of exposure to cadmium-containing medium on the survival and proliferation of neural stem cells during early brain development using cerebral organoids that can be derived from pluripotent stem cells. Even in the presence of low concentrations of cadmium, a decrease in neural stem cells was observed after approximately 7 weeks of induced culture of cerebral organoids.

Cytotoxicity tests of cadmium on human iPS cell-derived neural stem cells showed that the addition of cadmium chloride at a final concentration of 20  $\mu\text{M}$  or higher significantly reduced cell viability after 2 days of culture. Next, embryoid bodies (EBs) were prepared from human iPS cells on low-adhesion plates, and then the EBs were embedded in Matrigel and cerebral organoids were induced using cerebral organoid induction medium. Cadmium chloride was added at various concentrations during the induction culture. Even under low concentrations of cadmium, such as 2  $\mu\text{M}$  and 0.5  $\mu\text{M}$ , a decrease in the neural stem cell area of the cerebral organoids formed after 47 and 55 days was observed.

**Keywords :** Cadmium; Neural Stem Cell; Cerebral Organoid; Developmental Toxicity

多能性幹細胞から脳オルガノイドへの誘導培養法は、中枢神経発生過程を解析する有力なツールとして期待されている。カドミウムの骨形成や腎機能への毒性は知られているが、神経発生毒性については詳しく分かっていない。本研究では、多能性幹細胞から誘導できる脳オルガノイドを用い、カドミウムを含んだ培地中への曝露によって、脳初期発生段階で生じる神経幹細胞の生存や増殖に対する影響について解析した。低濃度のカドミウム存在下でも、約7週間の大脳オルガノイド誘導培養で神経幹細胞の減少が見られた。

ヒト iPS 細胞由来神経幹細胞に対する塩化カドミウムの細胞毒性試験を行ったところ、終濃度 20  $\mu\text{M}$  以上の塩化カドミウム添加条件では2日間の培養で著しい細胞生存率の減少が見られた。次に、低接着プレート上でヒト iPS 細胞から胚様体を作製した後、胚様体をマトリジェルに包埋し、大脳オルガノイド誘導培地を用いて大脳オルガノイドを誘導した。この誘導培養時に各濃度の塩化カドミウムを加えて培養した。終濃度 2  $\mu\text{M}$ 、0.5  $\mu\text{M}$  といった低濃度カドミウム条件でも、47日或は55日培養後に形成された大脳オルガノイドの神経幹細胞領域の減少が確認できた。

## ヒト iPS 細胞由来ヒト脳オルガノイド形成における I 型コラーゲンゲル包埋の影響

(阪公大院理) ○青柿 真由・森 英樹・原 正之

Effect of embedding in a type I collagen gel on the formation of human iPS cell-derived human brain organoid. (*Graduate School of Science, Osaka Metropolitan University*) Mayu Aogaki, Hideki Mori, Masayuki Hara

Cerebral organoids are three-dimensional cell assemblies with brain tissue-like structures that recapitulate the process of human central nervous system development, and are promising tools for the study of early development of the human brain, disease modeling, and drug development. One of the typical methods for producing these brain organoids is to embed embryoid bodies (EBs) induced from pluripotent stem cells in Matrigel containing laminin, type IV collagen, and other substances. However, the effect of type I collagen, the most widely used biomaterial, on cerebral organoids is not yet known. In this study, we investigated the effect of hydrogel-embedding of human iPS cell-derived EBs in porcine type I collagen gels on cerebral organoid formation compared to Matrigel-embedding conditions.

Human iPS cells (201B7) were cultured in StemFit medium and then seeded into round-bottom low-attachment plates to induce EBs. EBs were embedded in Matrigel or type I collagen gel, and cultured in brain organoid induction medium under 5% CO<sub>2</sub> at 37°C with rotation. Under the condition of EBs embedded in type I collagen gels, a lower percentage of the EBs were retained in the gels after 6 weeks of culture than under the Matrigel-embedded condition, and the ratio of astrocytes found in the organoids was higher.

**Keywords :** *Cerebral organoid; Collagen gel; Matrigel; iPS cell; Embryoid body*

脳オルガノイドは、脳組織様構造を有する 3 次元的な細胞集合体で、ヒトの中枢神経発生過程を再現しており、ヒト脳の初期発生過程の研究、疾患モデルや薬剤開発のための有望なツールとなっている。この脳オルガノイドの代表的な作製方法の 1 つに、多能性幹細胞から誘導した胚様体を、ラミニンやIV型コラーゲン等を含むマトリゲルに包埋して培養する方法がある。しかし、生体材料として最も多く利用される I 型コラーゲンのハイドロゲルが脳オルガノイド形成に与える影響はまだ知られていない。本研究では、ブタ由来 I 型コラーゲンからなるハイドロゲルにヒト iPS 細胞から誘導した胚様体を包埋した時に、マトリゲル包埋条件と比較して脳オルガノイド形成にどのような変化が生じるのかについて調べた。

ヒト iPS 細胞 (201B7) を StemFit 培地で培養した後、丸底型低接着プレートに播種し胚様体を誘導した。胚様体をマトリゲルあるいは I 型コラーゲンゲルに包埋し、脳オルガノイド誘導培地、5%CO<sub>2</sub>、37°C 条件下で旋回培養した。I 型コラーゲンゲルに胚様体を包埋した条件では、マトリゲル包埋条件と比較して 6 週間培養後にゲル内に保持されている割合が少なく、オルガノイド中に見られるアストロサイトの割合が多い傾向にあった。

## 近接依存性標識法を用いた細胞への糖鎖高分子導入によるがん免疫療法の開発

(京工繊大院工芸<sup>1</sup>・阪大院理<sup>2</sup>) ○河原 咲来<sup>1</sup>・檜岡 善也<sup>1</sup>・宮川 稜平<sup>2</sup>・真鍋 良幸<sup>2</sup>・深瀬 浩一<sup>2</sup>・田中 知成<sup>1</sup>

Development of Cancer Immunotherapy by Introducing Glycopolymers onto Cells Using Proximity Dependent Labeling (<sup>1</sup>Graduate School of Science and Technology, Kyoto Institute of Technology, <sup>2</sup>Graduate School of Science, Osaka University) ○Sakura Kawahara,<sup>1</sup> Zenya Naraoka,<sup>1</sup> Ryohei Miyagawa,<sup>2</sup> Yoshiyuki Manabe,<sup>2</sup> Koichi Fukase,<sup>2</sup> Tomonari Tanaka<sup>1</sup>

Glycans on the cell surface are known to serve as a marker to identify self and non-self. In humans,  $\alpha$ -rhamnose ( $\alpha$ -Rha) acts as a non-self and induces a severe immune response. To utilize this in cancer immunotherapy, it has been reported that introduction of carbohydrate antigens such as  $\alpha$ -Rha on the surface of cancer cells recruits natural antibodies in the body and induces an immune response against cancer cells<sup>1,2</sup>. In this study, glycopolymers bearing  $\alpha$ -Rha moieties were introduced onto the cancer cell surface using a proximity dependent labeling method based on antibodies and a radical reaction (Fig. 1). Furthermore, the immune response induced by the glycopolymers on the cancer cell surface was evaluated.

**Keywords :** Proximity Dependent Labeling; Glycopolymer; Antibody; Immunoreaction; Cancer cell

細胞表面に存在する糖鎖は、自己・非自己を識別する目印としての役割を果たすことが知られており、ヒトでは $\alpha$ -ラムノース( $\alpha$ -Rha)が非自己として働き、激しい免疫反応を誘起する。これをがん免疫療法に利用するため、がん細胞表面に $\alpha$ -Rhaなどの糖鎖抗原を導入して体内の自然抗体をリクルートし、がん細胞に対する免疫反応の誘導が報告されている<sup>1,2</sup>。本研究では、抗体とラジカル反応を利用した近接依存性標識法を用いてがん細胞表面に $\alpha$ -Rha 担持糖鎖高分子を導入し、がん細胞表面に導入した $\alpha$ -Rha 担持糖鎖高分子による免疫応答を評価した(Fig. 1)。

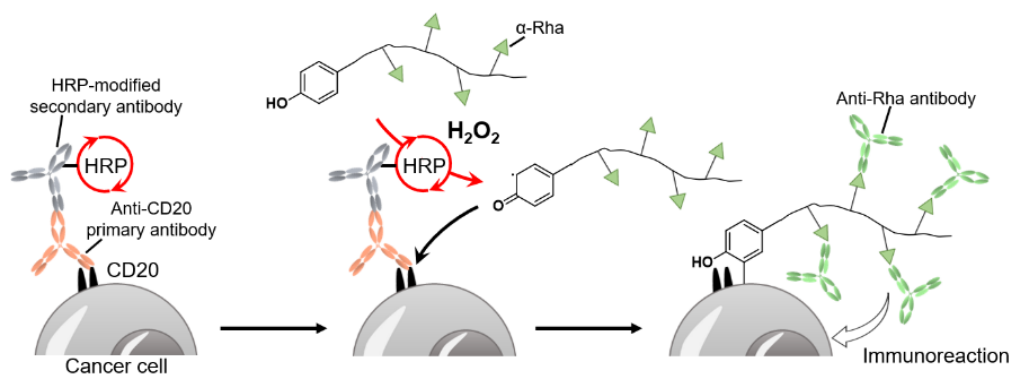


Fig. 1 Proximity labelling using glycopolymers.

- 1) J. Sianturi *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, 58, 4526-4530.
- 2) R. D. Coen *et al.*, *Biomacromolecules*, **2020**, 21, 793-802.



## 内因性ホスファチジルエタノールアミンを標的としたオルガネラ選択的ラベリング

(京都大学<sup>1</sup>) ○川本 青汰<sup>1</sup>・田村 朋則<sup>1</sup>・浜地 格<sup>1</sup>

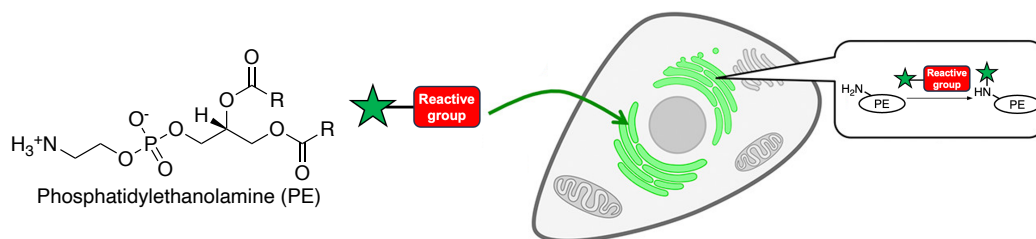
Organelle-selective Labeling of Endogenous Phosphatidylethanolamine (<sup>1</sup>Kyoto University)

○Seita Kawamoto<sup>1</sup>, Tomonori Tamura<sup>1</sup>, Itaru Hamachi<sup>1</sup>

Phosphatidylethanolamine (PE) is a class of glycerophospholipids and is the second most abundant phospholipid in mammalian cells. Due to the lack of PE-specific detection probes, our understanding of the intracellular distribution and dynamics of PE remains limited to date. Here, we developed chemical probes that can label endogenous PE at organelle-level spatial resolution. The probes consist of an organelle-targeting fluorescent dye and an amine-selective reactive warhead. We developed two probes targeting endoplasmic reticulum/Golgi apparatus and mitochondria and confirmed their organelle-selective localization in live HeLa cells. In addition, TLC and mass spectrometry revealed that these probes can selectively react with endogenous PE and lyso PE to yield the corresponding dye-modified products.

**Keywords :** *Phosphatidylethanolamine; Organelle; Fluorescent Labeling; Lipidomics*

ホスファチジルエタノールアミン (PE) は、生体膜を構成するグリセロリン脂質の一種として、哺乳類細胞では2番目に多く存在することが知られている。一方で、細胞内環境で PE を特異的に検出できるプローブがほとんどないことから、内因性 PE の各細胞小器官 (オルガネラ) における分布や時空間的な存在量変化については未だ不明な点が多い<sup>1</sup>。このような背景から本研究では、オルガネラレベルの空間分解能で PE を選択的に蛍光標識するためのプローブ開発を試みた。具体的には、小胞体/ゴルジ体またはミトコンドリアに局在する蛍光色素<sup>2</sup>と、アミン選択的反応基を連結した化合物を分子設計し化学合成した。これらの化合物を HeLa 細胞に添加し共焦点顕微鏡観察を行ったところ、狙い通り標的オルガネラに自発的かつ選択的に局在することがわかった。さらに、TLC および質量分析によりこの化合物は細胞内において PE および Lyso PE と反応し、対応する蛍光色素修飾生成物を与えることが明らかとなった。本講演ではその詳細について述べる。



1. Maekawa, M. & Fairn, G. D. *J Cell Sci* **127**, 4801–4812 (2014).

2. Tamura, T. *et al. Nat Chem Biol* **16**, 1361–1367 (2020).

## マイクロウェルとハイドロゲルを用いた 1 細胞レベルでの分泌抗体検出と細胞選別技術の開発

(東大院工<sup>1</sup>・阪大産研<sup>2</sup>) ○山本 涼太郎<sup>1</sup>・岡本 晃充<sup>1</sup>・山口 哲志<sup>2</sup>

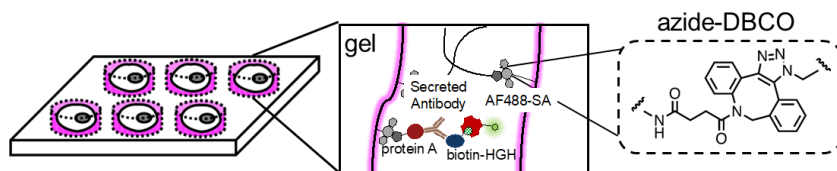
A microwell-based hydrogel system for detecting secreted antibodies and cell-sorting at the single-cell level (<sup>1</sup>*Graduate School of Engineering, The University of Tokyo*, <sup>2</sup>*SANKEN, Osaka University*) ○Yamamoto Ryotaro,<sup>1</sup> Okamoto Akimitsu,<sup>1</sup> Satoshi Yamaguchi,<sup>2</sup>

The technology to analyze secretions at the single-cell level and sort cells is crucial for applications ranging from fundamental research to industry. In conventional methods, individual cells are cultured in separate microwells, and their secretions are captured and detected using antibody-modified beads or substrates. However, technologies for rapidly sorting cells based on secretion analysis remain limited. Therefore, we synthesized a multifunctional gel material aimed at integrating secretion detection and rapid cell sorting for single-cell analysis. Previously, we synthesized a biocompatible photolytic gel and developed a technique for encapsulating single cells in micro-wells, observing their phenotypes, and then rapidly and selectively recovering the cells via light irradiation<sup>2</sup>). In this study, to enable large-scale detection of antibodies secreted by encapsulated cells on a well array, we developed a gel modified with protein A via a click reaction and successfully achieved fluorescent detection of antibody secretion. In this presentation, we will also report on the results of rapid light-induced recovery of cells from the detected wells and the cell sorting based on their secretion.

**Keywords :** Hydrogel; Cell-sorting; single-cell analysis; Secretion

1 細胞レベルで分泌物を解析し、細胞を選択的に回収する技術は、基礎研究から産業まで幅広い分野で重要である。細胞の分泌物を 1 細胞レベルで検出する手法として、マイクロウェル内などで 1 細胞ずつ培養し、抗体を修飾したビーズや基板で分泌物を捕捉し、検出する技術などが開発されている<sup>1)</sup>。一方、分泌物の解析に基づく迅速な細胞選別を実現する技術は限られている。そこで、分泌物の検出と細胞の迅速選別を統合した 1 細胞解析の実現を目的とし、多機能性のゲル材料を開発した。

我々は、生体直交性の光溶解性ゲルを合成し、マイクロウェル内で 1 細胞を包埋して表現型を観察後、光照射を介して迅速かつ選択的に細胞を回収する技術を開発してきた<sup>2)</sup>。本研究では、包埋した細胞が分泌する抗体をウェルアレイ上で大規模に検出するために、抗体を捕捉する azide 修飾 protein A をクリック反応で共有結合させたゲルを開発し、抗体分泌の蛍光検出に成功した。本発表では、検出したウェルから細胞を迅速に光回収し、分泌に応じて細胞を選別した結果についても報告する予定である。



1) Y. Ji, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2019**, 116, 5979-5984; 2) S. Yamaguchi, et al., *ACS Appl. Bio Mater.*, **2020**, 3, 9, 5887-5895.



## 癌細胞選択的薬物導入システムの構築と機能性評価：オリゴアルギニンと PAD 誘導体を活用した新規高効率細胞内導入ペプチドシステムの開発

(東北大多元研<sup>1</sup>・阪公大院理<sup>2</sup>・東北大 INGEM<sup>3</sup>) ○石川 航大<sup>1</sup>・加藤 ひらり<sup>1</sup>・荒木 保幸<sup>1</sup>・松本 光代<sup>1</sup>・中瀬 生彦<sup>2</sup>・和田 健彦<sup>1,3\*</sup>

Construction and evaluation of cancer cell-selective drug delivery system: Development of highly efficient intracellular transfection systems based on oligoarginine combined with PAD derivatives (<sup>1</sup>IMRAM, Tohoku Univ., <sup>2</sup>Osaka Metropolitan Univ., <sup>3</sup>INGEM, Tohoku Univ.) <sup>1</sup>Kodai Ishikawa, <sup>1</sup>Hirari Kato, <sup>1</sup>Yasuyuki Araki, <sup>1</sup>Mitsuyo Matsumoto, <sup>2</sup>Ikuhiko Nakase, <sup>1</sup>Takehiko Wada

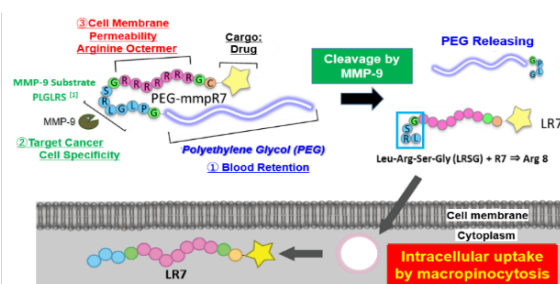
The side effects and cytotoxicities mainly resulting from the delivery of anticancer treatments into normal cells, have been pointed out as serious issues to be improved. We have proposed and demonstrated the promising characteristics of the cancer cell selective intracellular delivery system consisting of three functional modules, i.e., oligoarginine peptide (R8), polyethylene glycol (PEG), and matrix metalloproteinase (MMP) substrate peptide. Oligoarginine, one of the most popular cell-penetrating peptides, has been used in pharmaceuticals to enhance cellular uptake capability. To provide cancer cell specificity, oligoarginine was conjugated to PEG via MMPs substrate peptide, which would be expected to act as a cancer cell-responsive cleavable linker since MMPs have been reported to be specifically overexpressed in cancer cells. In this design, the PEG was used to reduce non-specific aggregation and adsorption. The pro-apoptosis domain (PAD) was conjugated to the C-terminus of the system as a model pharmaceutical. Cellular uptake of the PEGylated peptide was scarcely observed. In sharp contrast, efficient intracellular delivery of the PEG-cleaved PAD conjugated system after endogenous MMP digestion was observed with apoptosis inducing function. In addition, five different PAD derivatives conjugated with LRSG-R7, a peptide cleaved by MMP-9, were designed and synthesized as a new CPP system.

**Keywords:** Cell penetrate peptides, Matrix metalloproteinase, Cancer cell selective delivery, Drug delivery system (DDS), Cellular membrane uptake capability, Oligo Arginine

我々は一般的投与方法として多用される静脈投与(静注)を想定した癌細胞選択的 DDS 分子系開発に向け、血中滞留性向上、癌細胞選択性付与、細胞膜透過性向上に取り組んだ。これら各課題解決を目指し、生体ストレス性を有するポリエチレングリコール(PEG)とオリゴアルギニン、なかでも8残基のアルギニン(R8)に注目し、癌細胞選択的付与のため癌細胞で過剰発現されるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)、特に放出型 MMP-9 の基質配列を PEG と R8 のリンカー部に導入した新たな癌細胞選択的 DDS 分子系を立案した、その有効性を実証し、報告してきた(図)。

本研究では、DDS 分子系有効性実証に向け、R8 の細胞内取込機能の PEG 修飾による抑制ならびに内在性 MMP-9 による基質リンカーの酵素分解による細胞取込み機能の活性化を検討した。さらにモデル薬物としてアポトーシス促進ドメイン (Pro Apoptosis Domain: PAD) を C 末端に導入し、 $\alpha$ -ヘリックス型両親媒性ペプチドである PAD が細胞内取込挙動に与える影響や MMP-9 基質切断後モデルにおける PAD の細胞生存率への影響を検討した。

さらに、PAD 導入により細胞膜透過性が導入前に比較して約 30 倍も向上する予想外の結果が得られたため、MMP-9 切断後基質断片 Leu-Arg-Ser-Gly(LRSG)を付加した LR7-PAD を新規細胞膜透過性ベクターペプチドとしての展開を目指し、5 種類の PAD 誘導体の設計・合成と細胞内導入効率と細胞毒性など初期的特性解析に取り組んだ。その結果、優れた CPP としての特性を有することを見出した。



## タンパク質の特異的化学修飾を利用した次世代マイクロキャリアの開発

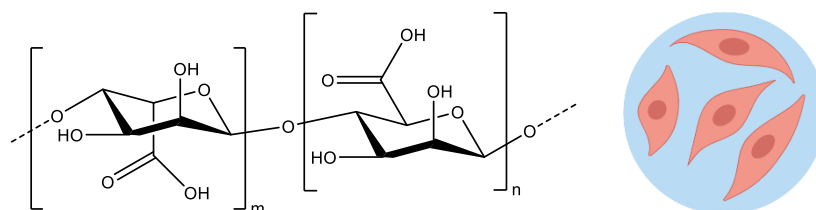
(北大院環境科学<sup>1</sup>・大日本印刷株式会社<sup>2</sup>・北大院地球環境科学<sup>3</sup>) ○長岡 佑哉<sup>1</sup>・長谷 政彦<sup>2</sup>・小野田 晃<sup>1,3</sup>

Development of next generation microcarriers using site-specific protein modification (<sup>1</sup>Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, <sup>2</sup>Dai Nippon Printing Co., Ltd., <sup>3</sup>Faculty of Environmental Earth Science, Hokkaido University) ○Yuya Nagaoka,<sup>1</sup> Masahiko Hase,<sup>2</sup> Akira Onoda,<sup>1,3</sup>

For applications such as regenerative medicine and biopharmaceuticals, three-dimensional floating culture using microcarriers is being used, which enables mass culture in a smaller space than conventional two-dimensional cell culture. The use of highly biocompatible algal-derived sodium alginate soluble gel as a microcarrier enables three-dimensional floating culture of human mesenchymal stem cells (Figure 1). Previously, we have reported 1*H*-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde (TA4C), which specifically reacts with the N-terminus of proteins. In this study, we functionalized the surface of sodium alginate-derived microcarriers by introducing TA4C to develop a next-generation microcarrier capable of conjugating to the N-termini of proteins. We will report on the three-dimensional floating culture properties of the novel microcarriers.

**Keywords :** *Regenerative Medicine; Microcarrier; Sodium Alginate; Protein Modification; N-terminus*

再生医療やバイオ医薬品等の用途に向けて、従来の二次元細胞培養よりも省スペース化による大量培養が可能なマイクロキャリアを用いた三次元浮遊培養が利用されている。特に、生体適合性の高い藻類由来のアルギン酸ナトリウムの可溶性ゲルをマイクロキャリアに用いることで、ヒト間葉系幹細胞等の三次元浮遊培養が可能となる (Figure 1)。これまでに、我々は、タンパク質の N 末端に特異的に反応する 1*H*-1,2,3-トリアゾール-4-カルボアルデヒド (TA4C) を報告している<sup>1</sup>。本研究では、アルギン酸ナトリウム由来のマイクロキャリア表面を TA4C の導入より機能化し、特定のタンパク質の N 末端との結合を可能にした次世代マイクロキャリアの開発を目指した。新規マイクロキャリアの調製と三次元浮遊培養特性について報告する。



**Figure. 1.** Microcarrier prepared from sodium alginate

- 1) Onoda, A, Inoue, N., Sumiyoshi, E., Hayashi, T. *ChemBioChem*, **2020**, 21, 1274.