

ウイルス不活性化能が高いハンドソープの開発 Development of Liquid Soap with High Anti-Virus Effect

秋葉 勇, 木下 雅貴, 大倉 彩, 櫻井 和朗
Isamu Akiba, Masaki Kinoshita, Aya Ookura, Kazuo Sakurai

北九州市立大学国際環境工学部
The University of Kitakyushu

高級脂肪酸塩で構成される無添加石けんは、手肌にやさしいことが知られている。また、界面活性剤を用いた手指洗浄は、ウイルス感染症予防に効果的であることも知られている。これらの知見をもとに、本研究では、手荒れを起こさず、ウイルス感染症予防にきわめて高い効果を発揮する石けんの開発を目指し、石けんとウイルス粒子間の相互作用について検討することを目的とする。小角 X 線散乱、動的散乱の結果から、石けんとウイルス粒子が複合体を形成することがわかり、これがウイルスの不活性化を引き起こすことが示唆された。

キーワード： 高級脂肪酸塩、ウイルス、小角 X 線散乱

目的：

インフルエンザウイルスやノロウイルスなどにより引き起こされるウイルス感染症は、大きな社会問題となっている。申請者は、シャボン玉石けん(株)と共同で、ウイルスを不活性化する能力の高いハンドソープの開発に取り組んでおり、これまでに、インフルエンザウイルスに対して極めて高い不活性化能を示す石けんの開発に成功している。その過程において、SPring-8における小角X線散乱実験から、高級脂肪酸塩がインフルエンザウイルスを極めて効果的に不活性化することを見出した。一般的な界面活性剤によるインフルエンザウイルスの不活性化機構は、界面活性剤の疎水基による脂質二重膜からなるエンベロープの融解であるが、申請者らが見出したこのメカニズムは、界面活性剤の極性基とエンベロープ内のタンパク質との相互作用による複合体形成に起因する。このことは、高級脂肪酸塩はノロウイルスなどのエンベロープを持たないウイルスに対しても、キャプシドタンパクとの複合化により不活性化が達成されることを示唆する。予備試験において、ノロウイルス代替であるネコカリシウイルス由来のタンパク質と高級脂肪酸塩を混合すると、発熱相互作用が生じることを見出し、また、これらのウイルスを不活性化することが示唆される結果を得た。それ故、脂肪酸塩組成などの最適化を行うことにより、非エンベロープウイルスに対しても極めて有効なハンドソープの開発につながるものと期待できる。そのため、高級脂肪酸塩とウイルス由来タンパク質の複合体形成について検討を行い、そのメカニズムを解明することは、製品開発において極めて有益な知見を与える。

そこで、本申請課題では、高級脂肪酸塩とウイルス由来タンパク質の複合体形成過程を時分割小角X線散乱により追跡し、複合体形成メカニズムを明らかにするとともに、その知見を用いて新規なハンドソープ開発の指針を得ることを目的とする。

実験：

石けん成分には炭素数14の飽和脂肪酸のカリウム塩(C14)を用いた。C14水溶液とウイルス由来タンパク質粒子(Virus)の懸濁液を混合し、小角X線散乱(SAXS)測定および動的散乱(DLS)測定を行った。SAXS測定は、SPring-8のBL40B2にて、入射X線波長0.1 nm、カメラ距離1 mで行った。カメラ長の較正は、ベヘン酸銀を標準試料に用いて行った。また、ビームのスポットサイズは縦250 μm、横200 μmとした。検出器には30 cm × 30 cmのイメージングプレート(R-AXIS VII)を用いた。試料の照射損傷を考慮し、照射時間は1分とし、S/N比を向上させるために、同様の測定5回の結果を積算した。DLS測定は、大塚電子のDLS-7000を用い、波長632.8 nmのHe-Neレーザを光源に用いて行った。

結果と考察：

図1にC14-Virus混合液からのSAXSプロファイルを示す。C14ミセル単独水溶液からのSAXSプロファイルと比較すると、低 q 域($q < 0.6 \text{ nm}^{-1}$)の散乱強度の顕著な増大が観察されている。これは、C14ミセルとVirusの間の相互作用により、より大きな粒子が形成されていることを示唆している。また、 $q = 1 \text{ nm}^{-1}$ 付近のSAXSプロファイルの形状に大きな変化が見られる。これは、C14ミセル中の電子密度プロファイルがVirusとの混合により大きく変化していることを示している。以前のC14-Virus系に対する熱量測定の結果から、C14とVirusの間には発熱相互作用が働くことが確認されている。このような相互作用は一般的な界面活性剤とVirusの混合系には見られない、高級脂肪酸塩特有の性質である。この強い引力相互作用により、C14-Virus複合体が形成されたため、図1のようにSAXSプロファイルに大きな変化が生じたと考えられることができる。

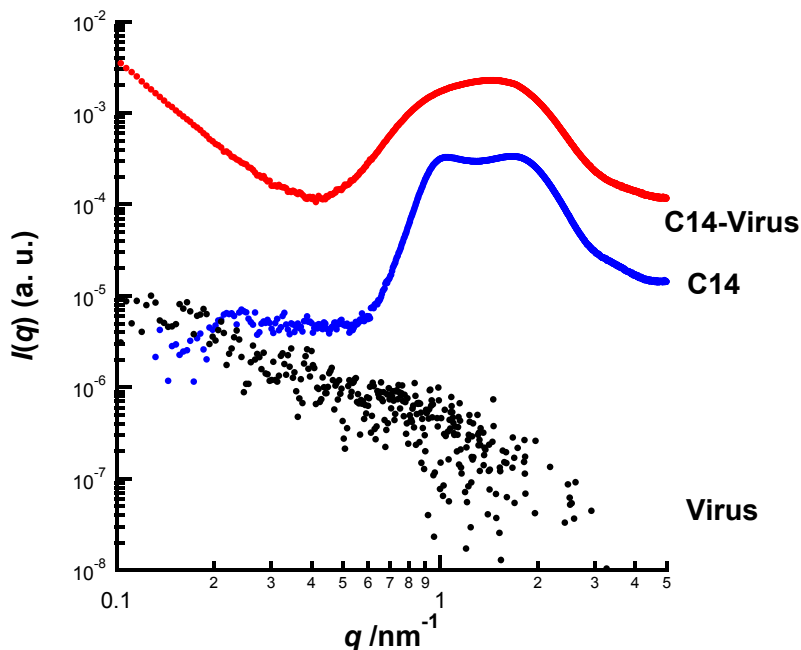


図1. C14 と Virus の混合による SAXS プロファイルの変化

図2にC14とVirusの混合による、DLS測定から得られる自己相関関数の時間変化を示す。図中の赤線がC14ミセル、青線がVirus粒子の相関関数である。また、混合物の自己相関関数をグレーで示しており、淡色の線ほど混合後の経過時間が長いことを示している。C14とVirusの混合初期(0-1時間)は粒子径が低下していくことが確認された。一方、混合後1時間経過以降、粒子径の増大が観察された。このことから、このことは、混合1時間以内では、複合体形成によるVirus粒子の崩壊が生じ、混合後1時間以降で複合体の2次凝集により、粒子サイズが増大していると考えられることができる。混合後6時間経過以降では、見かけ上、粒子径の低下が観察されているが、これは、2次凝集した複合体粒子が析出し、沈殿するため、溶存しているサイズの小さい複合体粒子または過剰に存在しているC14ミセルの相関関数を検出していることが原因である。これらの結果から、高級脂肪酸塩であるC14とVirusは混合後すぐに複合体を形成することにより、Virus粒子が崩壊し、形成された複合体が2次凝集することにより、系外に排出されることがわかった。この一連の過程が、他の界面活性剤と比較して極めて効果の高い、高級脂肪酸塩によるウィルスの不活性化のメカニズムであると考えられる。

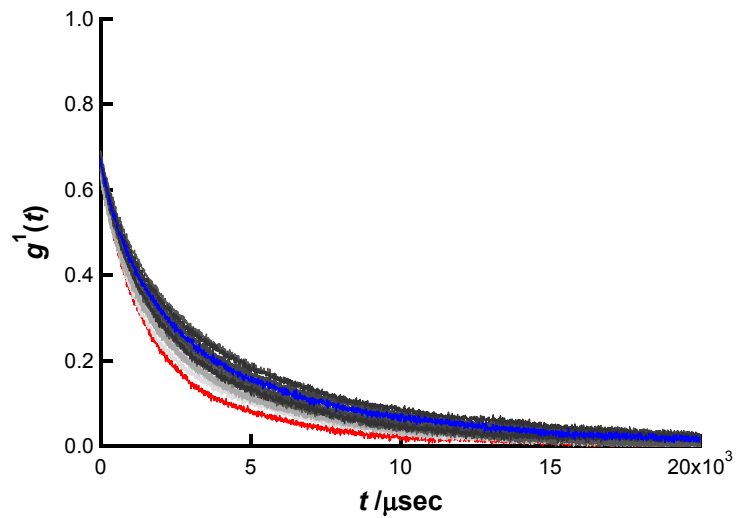


図 2. C14 と Virus の混合による自己相関関数の変化(DLS 測定から)

今後の課題：

他の非エンベロープウイルスに対する高級脂肪酸塩の相互作用、複合体形成、不活性化能について系統的に検討を行う。また、形成される複合体の構造を詳細に解析し、石けんによるウイルス不活性化のメカニズムを解明する。