精練によるシルクフィブロインフィルムの性状制御

1熊本大学院先端科学, 2農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 ○原田 昌弥¹, 佐々木 誠¹, 徐 薇¹, 神戸 裕介², 亀田 恒徳², 新留 琢郎¹

【緒言】

天然シルク由来のフィブロインタンパク質(以下、SF)は、緻密に配置された側鎖の小さいアミノ酸(グリシン、アラニン、セリンで分子の約90%を構成)を有する D。これらアミノ酸の分子間相互作用を応用することによって多様な形態に成形加工することが可能であるため、次代の生体吸収性素材として期待されている。

成形加工の原料となる水溶液は、炭酸ナトリウム水溶液による精練(天然シルクの外殻を形成するセリシンの除去)および臭化リチウム水溶液による溶解処理を経て得られる。これら工程の諸条件は、水溶液中の SF 分子の性状に大きな影響を及ぼす。そこで、本研究では、フィルム構造体(以下、SF フィルム)の機能に及ぼす精練条件の影響を評価した。なお、一般的な学術研究においては、精練に低濃度(0.2%程度)の炭酸ナトリウム水溶液が採用される。

【実験】

各種濃度(1、8%)の炭酸ナトリウム水溶液を用いて、シルクからセリシンを除去することにより、各 SF ファイバーを抽出した。得られた SF ファイバーを 9M の臭化リチウム水溶液に溶解させ、 80° で1時間攪拌後、透析ならびに遠心分離を経て SF 水溶液を得た。SF 水溶液 $10\,\mathrm{mL}$ をシリコン製の型($60\,\mathrm{mm}$ × $60\,\mathrm{mm}$)に流し込み、一晩乾燥させて SF フィルムを作製した。得られた SF フィルムの特性を、様々な分析機器および細胞を用いて評価した。

【結果と考察】

SDS-PAGE を用いて各 SF 水溶液の分子量を評価した結果、分子量 分布に明白な差異が確認された (Fig1)。これは、炭酸ナトリウム水 溶液濃度の増加に伴い、SFに低分子化・不均一化が生じることを示唆す る。各水溶液から得られた SF フィルムに対して FT-IR を用いて二次構造 を調べた結果、全てにおいてβシートの形成が確認されたが、それぞれ の間に違いは認められなかった。水接触角測定では、高濃度の炭酸ナト リウム水溶液で処理された SF フィルム(以下、高濃度処理 SF フィル ム)は、低濃度のもの(以下、低濃度処理 SF フィルム)に比べて親水 性が高い傾向にあった。続いて、細胞培養液 2.0 mL に浸漬 (37℃、任 意時間) し、溶解性を評価したところ、3日間にわたって構造を維持し た低濃度処理 SF フィルム (1%) とは異なり、高濃度処理 SF フィルム (8%) ではわずか数時間も構造を維持することができなかった。このこ とから、高濃度処理 SF フィルムの高い水濡れ性および溶解性は、分子 量分布の広い SF 分子の介在に起因することが示唆された。細胞を用い た生化学的評価では、SF フィルム表面において線維芽細胞の接着と伸展 が認められたことから、生体適合性が示された。当日は、動物試験の成 果についても言及する。

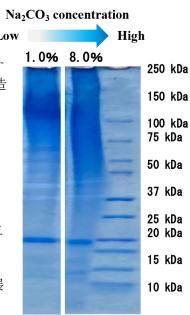


Figure 1. Results of SDS-PAGE

【参考文献】

[1] Y. Tamada, Sanshi-Konchu Biotec, 2007, 76, 1-4.

Controlling the properties of silk fibroin film by degumming

Masaya HARADA¹, Makoto SASAKI¹, Wei XU¹, Yusuke KAMBE², Tsunenori KAMEDA², Takuro NIIDOME¹ Faculty of Advanced Science and Technology, Kumamoto University, Japan

²Institute of Agrobiological Sciences, National Agriculture and Food Research Organization

Tel: +81-096-342-3667, E-mail: 234d8770@st.kumamoto-u.ac.jp