

## 組織工学材料を指向したシルクフィブロイン結晶領域への 分子修飾と構造・物性解析

(農工大院・工) ○細川奈那海、是枝耀佳、秋岡翔太、中澤靖元

### 【緒言】

家蚕(*Bombyx mori*)由来シルクフィブロイン(SF)は、低炎症性、機械的特性、生分解性、形態加工性といった特徴を有することから組織工学材料として研究されてきた。SF は一次構造中に(GAGAGS)の反復配列からなる結晶領域を有しており、これが $\beta$ シート構造を形成し、さらに疎水性相互作用等によりパッキングすることで結晶構造を形成する。この結晶構造が SF の物性に大きく影響しているため、結晶領域に対応するアミノ酸残基に対して他分子を化学修飾し、SF の二次構造や結晶化度を変化させることができれば、機械的特性や生分解性などの材料特性を制御でき、SF の組織工学材料としての応用可能性の拡大が期待できると考えた。

そこで本研究では、結晶部に局在する Ser 残基、Tyr 残基への各種アシル基修飾、および酸素プラズマ処理により表面に生成した官能基に対して各種ペプチド修飾を施した SF フィルムを作製した。SF フィルムに対し、固体  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR 測定による構造解析と一軸引張試験による機械的特性の評価を行い、SF への化学修飾による構造変化とそれに伴う物性への影響について考察した。

### 【実験方法】

SF 水溶液より作製したキャストフィルムに対し、3 種類のカルボン酸無水物(酢酸無水物、酪酸無水物、イソ酪酸無水物)をそれぞれ反応させ、アセチル基(A)、ブタノイル基(B)、イソブタノイル基(isoB)を有するアシル化 SF フィルムを作製した。さらに、得られたアシル化フィルムと未修飾の SF フィルムを同濃度でギ酸に溶解し、溶液体積比が 1:1 となるよう混合し、風乾することで各再生 SF フィルム(RSF、RSF-A、RSF-B、RSF-isoB)を作製した。一方、SF フィルムに酸素プラズマ処理を施し表面に COOH 基を導入したフィルムを作製した(SF-COOH)。カルボジイミド化合物を用いたペプチド修飾法により、COOH 基に残基長 3 と 7 のポリグルタミン酸(PGlu)(PGlu3、PGlu7)をそれぞれ修飾することで SF-PGlu3、SF-PGlu7 を作製した。これらをそれぞれ同濃度でギ酸に溶解し、風乾することで各再生 SF フィルム(RSF、RSF-COOH、RSF-PGlu3、RSF-PGlu7)を作製した。各再生 SF フィルムは全て 70 (v/v)%のエタノール水溶液に 30 分間浸漬することで水に不溶な状態にしたのち、固体  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR 測定および一軸引張試験を行った。

### 【結果・考察】

RSF、RSF-A、RSF-B、RSF-isoB における固体  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR 測定の結果、反応させたアシル基由来のピークが出現したことからアシル化反応の進行が確認された。引張試験から算出した各再生フィルムのヤング率(Fig. 1)については、導入炭素鎖長が最も長い RSF-B で低値を示し、結晶構造の形成阻害を示唆した。

一方、RSF、RSF-COOH、RSF-PGlu3、RSF-PGlu7 について  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR スペクトルから得た波形分離結果を Fig. 2 に示す。その結果、RSF-PGlu3、RSF-PGlu7 は、RSF-COOH と比較し、ランダムコイルの割合が 7~8%増加したこと、PGlu の修飾により SF の  $\beta$  シート構造形成が阻害されたと考えられる。本発表では、引張試験の結果についてもこれらの二次構造成分比の結果と絡めて考察する。

【謝辞】本研究は一部、科学研究費補助金(海外連携研究)(23KK0202)、および東京農工大学融合研究支援制度『TAMAGO』により実施した。

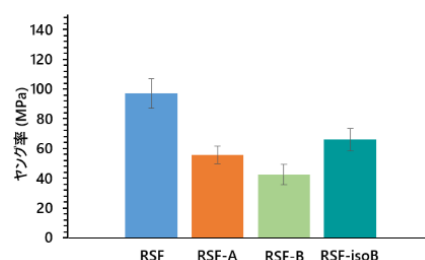


Fig. 1 各再生フィルムのヤング率

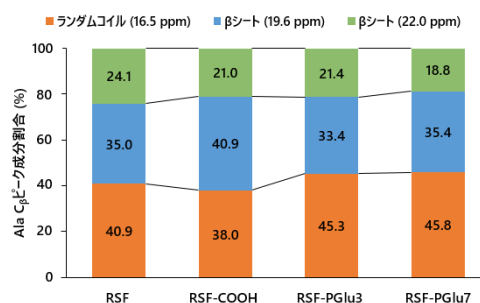


Fig. 2 各再生フィルムの二次構造成分比 (Ala C $\beta$  ピークより算出)

Structural and Physical Properties of Silk Fibroin with Molecularly Modified Crystal Region for Tissue Engineering Materials, Nanami HOSOKAWA, Youka KOREEDA, Shota AKIOKA, Yasumoto NAKAZAWA: Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology, 2-24-16 Naka-cho, Koganei, Tokyo, 184-8588, Japan, Tel: +81-42-388-7612, E-mail: y-nakazawa@go.tuat.ac.jp