

(奈良女大・生環) ○橋本朋子、水野しおり、佐野奈緒子、
(国循セ研) 山岡哲二、(農研機構) 亀田恒徳、
(信州大・繊維) 玉田靖、(奈良女大・生環) 黒子弘道

【緒言】シルクフィブロインは優れた生体親和性、また適度な強度を有する天然由来高分子材料であり、医療分野では長く外科用縫合糸としての実績をもつ。さらに近年ではシルクフィブロインは医用材料として、多孔体やナノファイバー等、様々な形状へと成形され有用な組織再生用足場材料の可能性について広く研究されている。われわれは、シルクフィブロインを創傷被覆材として応用することを目指し、加熱やアルコール処理による二次構造変化を利用したシルクフィブロインへの機能性付与等の検討を進めている。本研究では、このシルクフィブロインのタンパク質二次構造が、強度など材料としての物性のみならず、生体との相互作用にも寄与すると考え、加熱や各種アルコール処理により、各種シルクフィブロインフィルムを作製した。得られたフィルム表面近傍の β シートやヘリックス構造などのタンパク質二次構造の変化を詳細に調べた。そして、構造含有率や表面近傍での分布と、フィルム上で培養した細胞の増殖や移動などの挙動との関係性について評価した。

【実験】精練済シルクフィブロイン糸を飽和臭化リチウム水溶液に溶解し、その後透析を経て水溶液を得た。所定濃度に調整したシルクフィブロイン水溶液を基材に滴下し室温または 50°C で乾燥させた。乾燥後、80%アルコール水溶液による処理を行い、再度室温または 50°C で乾燥させ、フィルムを得た。乾燥温度 (室温: RT、50 度: 50)、およびアルコール処理の有無 (有: Xx、無: Non) の組み合わせより、得られたフィルムを RT/Non、RT/Xx、50/Non、50/Xx と表記する。Attenuated Total Reflection (ATR) 法による FTIR スペクトル測定、および顕微ラマンスペクトル測定により、シルクフィブロインフィルム表面近傍のタンパク質二次構造含有率、またフィルム表面近傍における構造の分布について調べた。続いて、マウス繊維芽細胞 (NIH/3T3) を各フィルム上に播種・培養し、各種評価を行った。

【結果と考察】各フィルムの二次構造解析を行った。図 1 にアルコール種としてエタノールを用い作製したフィルムの ATR-FTIR 測定による構造解析の結果を示す。得られた結果より、乾燥温度やアルコール処理の有無、またアルコールの種類によって異なる二次構造含有率を有するフィルムを作製することができた。顕微ラマンのマッピング測定による解析の結果、フィルム表面近傍における二次構造の含有率が二次元的に不均一となる傾向が示された。

各フィルム上に NIH/3T3 を播種し、各評価を行った結果より、フィルム表面近傍の二次構造含有率が、細胞の増殖などの挙動に影響を与える可能性が示唆された。

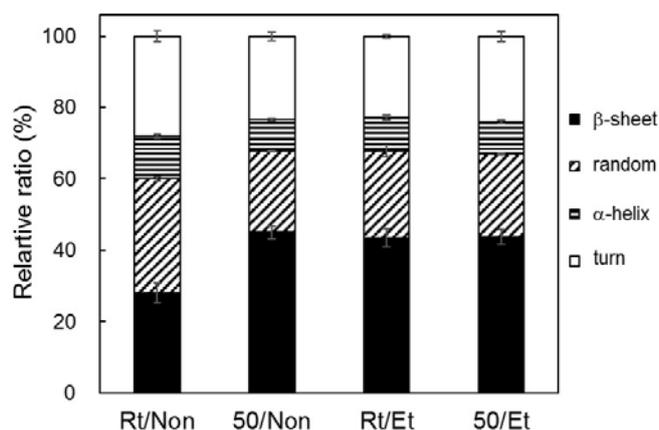


Figure 1. Relative intensity of secondary structures in silk fibroin films (n=5).

Secondary structure and interactions with fibroblasts of silk fibroin films

Tomoko HASHIMOTO¹, Shiori MIZUNO¹, Naoko SANNO¹, Tetsuji YAMAOKA², Tsunenori KAMEDA³, Yasushi TAMADA⁴, Hiromichi KUROSU¹

¹Faculty of Human Life and Environment, Nara Women's University, Kitaouya-Nishimachi, Nara 630-8506, Japan, ²Department of Biomedical Engineering, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, ³National Agriculture and Food Research Organization, 1-2 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan, ⁴Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, 3-15-1, Tokida, Ueda, Nagano 386-8567, Japan
Tel & Fax: +81-742-20-3462, E-mail: hashitomo@cc.nara-wu.ac.jp