



Title	アレルギー反応を起こしにくいシルクを使ったマテリアルの開発とその応用
Author(s)	森, 陶子
Citation	令和元 (2019) 年度学部学生による自主研究奨励事業研究成果報告書. 2020
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/76004">https://hdl.handle.net/11094/76004</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 2019年度大阪大学未来基金【住野勇財団】学部学生による自主研究奨励事業研究成果報告書

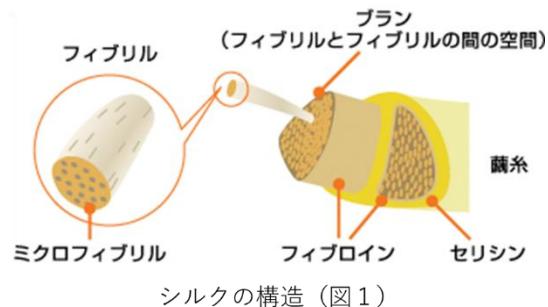
ふりがな 氏名	もりとうこ 森 陶子	学部 学科	工学部 応用理工学科	学年	1年
ふりがな 共同 研究者氏名	みやもと せい 宮本 晴	学部 学科	工学部 応用理工学科	学年	1年
					年
					年
アドバイザー教員 氏名	境 慎司 先生	所属	基礎工学部 応用化学科		
研究課題名	アレルギー反応を起こしにくいシルクを使ったマテリアルの開発とその応用				
研究成果の概要	研究目的、研究計画、研究方法、研究経過、研究成果等について記述すること。必要に応じて用紙を追加してもよい。(先行する研究を引用する場合は、「阪大生のためのアカデミックライティング入門」に従い、盗作剽窃にならないように引用部分を明示し文末に参考文献リストをつけること。)				

## 1. 研究目的

金属アレルギーは、日本人の10人に一人が発症しているといわれている。これは、医学の世界では命に係わる問題であり、アレルギーを発症しない新しい材料が求められている。私自身、金青くアレルギーを持っており、アクセサリーやファスナーなど金属が直接、肌に触れるとき赤みを帯びかゆみが発生したり腫れたりといったトラブルが発生する。日常生活において、特に耳に着けるピアスについての金属アレルギーによるトラブルはその他のアクセサリーなどに比べて多くみられる。(これは、皮膚に穴を開けるために他のアクセサリーと異なり、皮膚の下のより内部に近い組織にまで金属が触れるからである。) その対策として、近年はアレルギーが起こりにくい金属チタンや医療用ステンレスといったもの、また金属ではないアクリル樹脂が使われてたりする。しかし、チタンや医療用ステンレスは他のアレルギーが起こりやすい金属に比べて比較的高価であり、また金属アレルギー起こりにくいとはいえる金属であるわけなので100%金属アレルギーが起こらないとは言えない。またアクリル樹脂は、金属に比べて強度が劣るため、変形や破損が心配である。そこで身近なピアスを例として、金属アレルギーを発生させずその役割を果たす新しい材料の開発に取り組むこととした。

## 2. 研究方法

本研究では、構成するアミノ酸の組成が人の皮膚を構成するアミノ酸の組成に近いために、アレルギー反応を起こしにくいといわれているシルクに着目する。シルクはアレルギー反応を起こしにくいだけでなく、比較的安価で加工も容易い。シルクは、シルクフィブロインというタンパク質の周りをセリシンというタンパク質が囲っている構造をしている(図1)。セリシンは粘着性のあるタンパク質



で、水溶性でないため多くの場合、性質の違うセリシンとシルクフィブロインを分離させ、シルクフィブロインのみを用いる。シルクからシルクフィブロインを取り出したのちに、取り出したシルクフィブロインを用いて、乾燥させ固める方法について考察した。また、シルクは雨に弱いといわれているが、シルクフィブロインについての水溶性も検討した。具体的な実験方法は以下の様である。

### 3. 実験方法

セリシン除去後、抽出剤を用いた silk fibroin solvent 1 の精製は 2 種類の方法で行ったので、以下に②中に A と B とで記す。

#### ① セリシンの除去（脱ガム処理）

炭酸水素ナトリウム ( $\text{NaHCO}_3$ ) 5.35g, 炭酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 0.6685g を水 3.5L に混合 (solvent1 とする) し、そこに糸状のシルクを水の 1/100g (3.5L) 入れ、3 時間煮沸させる。この時、シルクは軽いために溶液内で浮いてきてしまうので、重しを置いてシルク全体が常に溶液に浸かっているように気をつける。また、シルク全体と溶液がしっかりと接するよう、10 分おきにかき混ぜる。沸騰してから 1.5 時間経過後に一度、シルクの漬かっていた溶液と新たに作製した solvent 1 を入れ替え先ほど溶液に浸していたシルクを入れ、更に 1.5 時間沸騰させる。得られた生成物を徹底的に純水で洗い、その後、約 60°C で 12 時間程度乾燥させる。

#### ② 抽出剤を用いて抽出

A) セリシンの除去によって取り出したシルクフィブロイン 5g に対して 50ml のエタノールと塩化カルシウムと純水の混合物 ( $\text{EtOH-CaCl}_2$ ) を加え、70°C で 2 時間、湯浴する。この時、エタノールの揮発性に注意しラップで蓋をすることを忘れないようにする。溶媒である  $\text{EtOH-CaCl}_2$  について、塩化カルシウム、純水、エタノールのモル比は 1 : 8 : 2 で調整する。その後、シルクフィブロインが溶け切った溶液に対して透析を行う。透析は、10°C の純水に対して 3 日間行う。透析を行う際、純水は 12 時間ごとに入れ替えを行う。

B) A と同様に、セリシンの除去によって取り出したシルクフィブロイン 5g に対して 50ml のエタノールと塩化カルシウムと純水の混合物 ( $\text{EtOH-CaCl}_2$ ) を加え、80°C で 2 時間、湯浴する。時間がたつと溶液の粘性が高くなり均一に温まりにくくなるため、1 時間おきにかき混ぜる。シルクフィブロインが完全に溶け切ったことを確認し、3500rpm で 5 分間遠心分離を行う。その後、上澄みだけを取り出し吸引ろ過を行い、得られた溶液に対して透析を行う。透析膜に溶液を注ぐ際に溶液の濃度が均一でないと一部のみ膨張して、透析膜が破れることがあるので、溶液をよく混ぜることに注意する。水温を 10°C とし、攪拌しながら丸 1 日透析を行う。この際、初めの 2 時間のみ 1 時間おきに純水を取り換える。

ここでできたものを silk fibroin solvent 1 とする。シルクフィブロインが 10w/v で 50mL の溶液になるようにする。

#### ③ silk fibroin solvent1 を、鋳型を用いて乾燥させる

直径 1cm、深さ 1cm 程の穴があいたポリジメチルシロキサン (PDMS) でできた鋳型に silk fibroin solvent 1 を流し込み、60°C で一晩乾燥させる。

#### ④ 乾燥したものの分析、同時に水溶性の確認

③で乾燥させたものの様子を観察し、厚さを測る。また、乾燥させたものを水に浸し 1 週間

放置した前と後の様子を比較する。水溶性については、室温に放置した場合と人肌程度の温度下に放置した場合の両方を調べる。

- ⑤ 更に silk fibroin solvent 1 を加え乾燥させ、分析を行う

④で乾燥させたものを鋳型に残したまま、その上から更に silk fibroin solvent 1 を注ぎ、60°Cで一晩乾燥させる。乾燥させたものの様子を再び観察し、厚さを測る。④とどう変わったのか比較する。

- ⑥ silk fibroin solvent1 の濃度を上げる

silk fibroin solvent1 に対して脱水作業を行う。透析膜に入れた silk fibroin solvent1 を高水性樹脂であるポリアクリル酸ナトリウムで包んで、冷所で 1 日放置した。

- ⑦ 更に、乾燥させ、分析を行う

濃度が上昇した silk fibroin solvent1 を用いて③、④の作業をもう一度行う。

- ⑧ 糸状のシルクの周りを silk fibroin solvent1 で覆う

糸状のシルクを毛の向きをそろえて並べ、それを silk fibroin solvent1 に浸し 60°Cで 1 日乾燥させる。

#### 4. 研究結果と考察

- ① 脱ガムに成功した。脱ガムに成功していなければ②の工程で EtOH-CaCl<sub>2</sub> にうまく溶けない。

- ② 作製した silk fibroin solvent1 は白く濁った溶液であり、水と比べると粘性が高いのが見て取れた。A で作製した silk fibroin solvent1 に含まれるシルクフィブロインの割合は 3% 前後であった。B で作製した silk fibroin solvent1 について A と比較したかったのであるが、作製途中で失敗したため、比較はできなかった。silk fibroin solvent1 について時間がたつとシルクフィブロインが溶液中で分離して沈殿してしまい、silk fibroin solvent1 は作製してから長く置いておくことは難しいことが分かった。

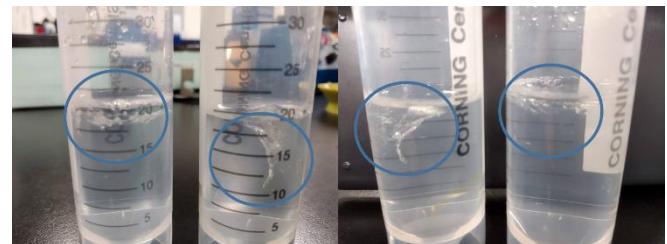
- ③ 鋳型で乾燥させると面に張り付いたものが残るだけで、想像していた円柱形のものはできなかった。(右上図)

- ④ パリパリとしていて、手で鋳型から外す際に形が壊れてしまったものもいくつかあった。厚さは、人間の髪の毛の太さよりもほんの少し厚いくらいであった。silk fibroin solvent1 に含まれるシルクフィブロインの量が少ないために薄くなってしまったと考え、更に追加で silk fibroin solvent1 を鋳型に注ぎ⑤を行った。また、silk fibroin solvent1 を乾燥させたものについて、室温(右の写真) または人肌程度の温度下の水中内に放置した場合の双方において変化は見られず、水溶性は無いと考えられる。

- ⑤ 再び乾燥させたのちに、見かけに大きな変化はなかったが厚さについては倍以上になっていた。しかし、1 回目の乾燥と 2 回目の乾燥の間に空気が入り隙間ができてしまったらしく、厚



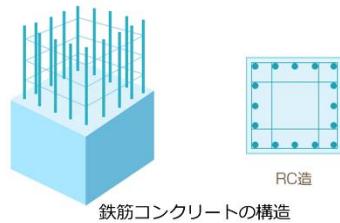
鋳型と乾燥後のsilk fibroin solvent 1



乾燥させたsilk fibroin solvent 1を水に浸した  
左:浸した直後、右:1週間後

さを測る場所によって大きく結果が異なる結果となつた。触感も厚くなつてゐたところはかなり固くなつたように感じたので、きれいに層ができれば強度の高い材料ができるのではないか、と考えた。

- ⑥ silk fibroin solvent1 内のシルクフィブロインは 3%から 5%まで上昇した。3%の silk fibroin solvent1 よりもより粘性が強く、短い時間でシルクフィブロインが沈殿した。
- ⑦ 厚みは増したが、微々たる変化であった。濃度の上昇率が低いからと考えた。
- ⑧ silk fibroin solvent1 内のシルクフィブロインの濃度を上げるという考え方の他に、鉄筋コンクリートのつくり(右図)から発想を得て、内部に向きのそろつた強いものを入れることによって強度を上げる方法を考えた。しかしこれについては、時間が足りず実験が終わつていなため、結果を示すことができない。



## 5. 実験のまとめ

今回の実験では、シルクの特にシルクフィブロインを利用した新たな材料についてアレルギー反応を起こしにくいと考えられる水溶性のない生成物を作製することができた。その材料を利用して強度を高める方法については未だ検討中ではあるが、いくつかの方法を思いつき、新たな材料の使い道への足掛かりを得ることができた。

## 6. 今後の発展と展開

今回の実験では思ったようにいかないことが多く、特に必ず使用する silk fibroin solvent1においてすぐにシルクフィブロインが分離してしまうことが、進行が遅くなつてしまつた原因であると考えられる。ここについて改善することができれば、関連する研究はもっと進むであらう。続いて研究ができるとしたら、まず時間が足りず結果の出なかつた鉄筋コンクリートを元にした方法についての結果を出したいと思う。また、乾燥の度合いを小さくしてみたり（温度を下げる、または乾燥時間を短くする）、silk fibroin solvent1 を注いだ際の空気抜きを行つて乾燥させたり、何度も注ぐ方法以外の層の作り方に挑戦したいと考える。もっと silk fibroin solvent1 内のシルクフィブロインの濃度をあげたものも扱つてみたいが、溶液からシルクフィブロインが分離する件についての改善がないと難しいであらう。

## 7. 参考文献

- Scientific REPORTs |(2018) 8:3654| DOI:10.1038/s41598-018-21970-1| “Spider dragline silk composite films doped with linear and telechelic polyalanine: Effect of polyalanine on the structure and mechanical properties”, Kousuke Tsuchiya , Takaoki Ishii, Hiroyasu Masunaga & Keiji Numata
- NATURE COMMUNICATIONS, |(2014)5:3385|DOI: 10.1038/ncomms4385| ”The use of silk-based devices for fracture fixation”, Gabriel S. Perrone, Gary G. Leisk, Tim J. Lo, Jodie E. Moreau1, Dylan S. Haas, Bernke J. Papenburg, Ethan B. Golden, Benjamin P. Partlow, Sharon E. Fox, Ahmed M.S. Ibrahim, Samuel J. Lin & David L. Kaplan