

目的別テーマ：生体材料を用いたバイオミメティックス材料の開発

16年度研究テーマ

15-3-9：ヒト由来生体材料の個人対応製品への創製と販売

ABSTRACT

We developed a rapid and convenient extraction method for quantifying human hair components called the "Shindai Method" and novel procedures for preparing human hair protein films (Pre-cast and Post-cast methods). All the people do not have a hair. Thus, we applied these methods in the preparation of protein solution and film formation from human nail. The amount of protein extracted by the Shindai method was about 2.5 times more than that of the conventional method. Obtained proteins contained soft keratins in addition to hard keratins and matrix proteins. We found the presence of serine phosphorylation in keratins and matrix proteins, in addition to threonine and tyrosine phosphorylation in keratins indicating the presence of post-translational modifications in the nail proteins. When Pre-cast, post-cast, and soft Post-cast methods, which can convert hair protein solution into protein films, were used, white color films were formed from the nail protein solution. The maximum protein recovery from the films was 70-90%, and the protein components mainly consisted of hard and soft keratins. Using the Post-cast (pH 5) and soft Post-cast methods, the films formed slowly (approximately 5-40 min) and became translucent. In construct, the Pre-cast and Post-cast methods resulted in films which formed quickly (within 1 min) and turned white and opaque. SEM observations showed that the surface of the translucent films was smooth compared with that of the opaque films. Translucent nail protein films exhibited an absorption around 270-295 nm, indicating their selective application for UV-care goods

研究目的

近年の牛海綿状脳症（BSE）問題から、牛由来のコラーゲン、ゼラチン、プラセンタエキスといった原料を食品のみならず、医薬品、医薬部外品、化粧品、日用雑貨品への使用を止める方向にある。これらへの対策として、牛以外の動物や植物成分や合成高分子材料へのシフトが行われている。私たちは、他者由来ではなく、自己由来の生体物質を再利用することにより、いくつかの問題が解決できると考えている。自己由来で原材料になりうる物質の中で、血液は輸血などで生じる HIV、肝炎ウイルスや未確認ウイルスなどによる多くのトラブルを引き起こしてきている。これらのトラブルを避けるために、私たちは、採取が容易である程度の量の入手可能な毛髪、爪、体毛に注目している。しかしながら、万人において毛髪、つまり頭髪を保有しているとは限らず、また、量的に乏しく採取が困難な人も多い。そこで、毛髪と類似したタンパク質組成、つまり、ハードケラチンとマトリックスタンパク質を含む爪に着目した。ヒトの爪は毛髪同様に、“セルフ-リユース (self-reuse)” の概念にもとづいた“セルフ-リサイクル (self-recycle) 製品” の重要な原材料と考えられる。

一年間の研究内容と成果

本年は毛髪以外の材料としての爪と毛髪タンパク質フィルムとファイバーに関する成果を報告する。

- ・爪：ヒト毛髪、羊毛から短時間にタンパク質抽出できる信大法は、ヒト爪からのタンパク質の抽出にも有効であった (Fig. 1)。抽出成分はハード及びソフトケラチンとその付随タンパク質であるマトリックスタンパク質から構成されていた。また、ケラチンとマトリックスタンパク質においては、リン酸化分子種も含まれていた。爪タンパク質フィルムの作製のため、プレキャスト法、ポストキャスト法、ソフト-ポストキャスト法を適用したところ、いずれの方法においても高収率でフィルムが形成し回収できた。形成フィルムの光透過性には差が見られ、不透明性フィルムは1分以内の短時間でフィルム形成がおきたときに観察された。一方、半透明性フィルムはその形成に長時間必要とした場合に得られた。また、微形態においても両者間に差が見られ、半透明性フィルムはより滑らかな表面構造を構築していた。半透明性フィルムは、290-295 nm の UV-B と 270-290 nm UV-C に吸収をもっていた。

- ・ **フィルム**：私たちが開発したプレキャスト法とポストキャスト法は簡便で迅速なフィルム形成が可能であるが、これらの方法で作製したフィルムの機械的強度と柔軟性は低く、実用性には乏しかった。次に、プレキャスト法とポストキャスト法を改良したソフト-ポストキャスト法で作製したフィルムにおいては柔軟性に優れていたが強度においては到底毛髪には及ばなかった。そこで、ガーゼを基材として、そこへ毛髪タンパク質をコーティングしたところ、数日間皮膚に接触可能なコーティングフィルムが作製できた。これを使用し、ヒト皮膚へのパッチテストを行った。試料として、ガーゼ単独、本人由来と複数の人由来の3種類作製し、1日8時間5日間貼附した。貼附後、発赤、発疹、といった皮膚症状と痛み、かゆみなどのアンケートを行ったところ、外見上の皮膚異常は観察されず、さらに、異常を訴えた被験者はいなかった。また、貼附期間中にフィルムの破損は見られなかった。これらの結果、コーティングフィルムは、実用可能な力学的特性をもつことが明らかとなり、また薬剤などの生理活性物質を導入すれば新しいタイプの生体被覆材となりうることを示された。
- ・ **ファイバー**：昨年からはスタートした毛髪タンパク質入り PIC (ポリオンコンプレックス) ファイバーに関しては、同じ3班の山本 (浩) & 大川 研究室との共同研究で進めている。これは、毛髪タンパク質単独での実用可能な物性をもつファイバーへの変換は困難なため、発想を変え、天然由来の高分子ファイバーに組み込んだタイプのファイバーとしての作製に成功しており、その諸性質と合わせ論文にまとめており in press の状況下にある。ファイバー内におけるタンパク質の分布、物性と生分解性に関して研究を展開している。

展望

- ・ **パウダー**：新たに毛髪タンパク質微粒子の作製を行い、同じ3班の小林研と共同研究として循環シミュレーター開発用の模擬血液としての可能性を探る。
- ・ **フィルム**：コーティングフィルムの生理学的な評価、絹フィブリンなどとのハイブリッド-フィルムの作製に取りかかる。また、バイオメモリアル製品への応用を試みる。
- ・ **ファイバー**：布にするとともに生分解性と抗菌作用に重点をおいた評価に入る。

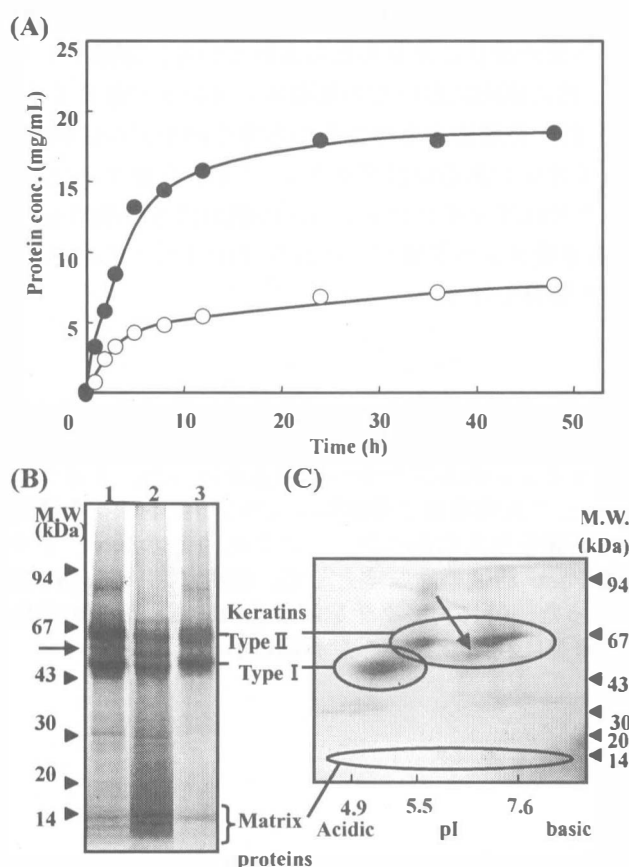


Fig. 1. Time course of the extraction of protein from human nail and electrophoretical analyses: (A) The protein was extracted from human nail at 50°C using the Shindai method (●) or the conventional method (○) and aliquots were measured for protein concentration. (B) The nail proteins extracted at 50°C for 2 days were subjected to 7.5-17.5% gradient gel. Lane 1, Shindai method, nail proteins; lane 2, the conventional method, nail proteins; lane 3, Shindai method, hair proteins. (C) 2-DE of nail proteins prepared by Shindai method.