

(愛工大¹・産総研²) ○小島鈴果^{1,2}・永田夫久江²・釘宮慎一¹・加藤且也^{2,*}

E-mail: katsuya-kato@aist.go.jp

【緒言】

歯や骨の無機成分の大部分を占めるハイドロキシアパタイト (HAp) は、タンパク質に対し高い親和性を持つことで知られている。現在、HAp は高速液体クロマトグラフィーにおいて、カラム担体として様々なタンパク質を分離する目的で利用されている。しかし、HAp 単体では選択的吸着能は不十分であり、より高いタンパク質選択的吸着性が求められている。本研究では、合成時にペプチドを混合することにより、ペプチド含有リン酸カルシウムを合成し、得られた粒子の形態観察、並びに混合したペプチド量が及ぼすタンパク質吸着性への影響について調査した。

【実験方法】

酢酸カルシウム水溶液とリン酸水素二アンモニウム水溶液を Ca/P 比が 1.67 の割合で混合し、懸濁液を 60°C で 3 時間攪拌した。徐冷後に洗浄・乾燥し、粉体粒子を得た。また、酢酸カルシウム水溶液にポリグルタミン酸 (p-Glu)、またはリン酸水素二アンモニウム水溶液にポリリジン (p-Lys) を混合し、同様の手順でペプチド含有リン酸カルシウムを合成した。得られた試料は FE-SEM、TEM、ICP-OES、XRD、FT-IR により評価した。タンパク質吸着実験では、Cytochrome c (Cyt c)、Myoglobin (MGB)、Bovine Serum Albumin (BSA) を使用し、タンパク質の吸着量を算出した。

【結果及び考察】

HAp 及びペプチド含有 HAp に対し、タンパク質吸着実験を行ったところ、p-Lys を 5 mg 混合した場合 BSA について 0.09 mg/mg HAp、Cyt c については 0.06 mg/mg HAp の吸着量であった。しかし、p-Lys を 20 mg 混合した場合 BSA について 0.10 mg/mg HAp の吸着量を示し、Cyt c は吸着しなかった。p-Glu を複合化させた場合も同様の結果を示し、複合化させたペプチド量の増加と共に、タンパク質の選択的吸着性が大幅に上昇することが明らかとなった (Fig. 1)。

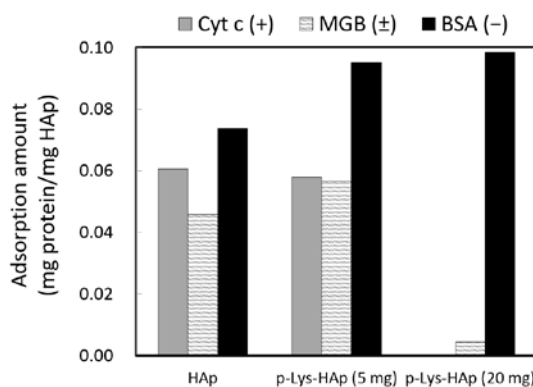


Fig. 1 Adsorption amount of Cyt c, MGB and BSA on HAp and peptide-HAp.

D17 MgO 含有リン酸塩インバートガラスの構造と溶解性

(名古屋工業大学) ○大井勇輝・三浦淳弘・前田浩孝・小幡亜希子・春日敏宏

E-mail : kasuga.toshihiro@nitech.ac.jp

【緒言】

当研究室では、これまでにケイ酸イオン、 Mg^{2+} イオンなどの無機イオンが骨芽細胞様細胞の石灰化過程を促進し、骨形成を促すことを明らかにしている。一方で無機イオン種により促進効果を示す濃度が異なるため、患部への徐放性を調整することが求められる。リン酸含有量の多いメタまたはウルトラリン酸塩ガラスは、リン酸グループが連結した長鎖構造を有し、高い溶解性を示す。しかし生体内への過剰なリン酸イオンの溶出は pH の低下を引き起こし、細胞の増殖等を抑制する¹⁾。そこで、イオン性の高いリン酸塩インバートガラス構造を作ることによって化学的耐久性を改善し、いくつかの治療用イオン (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Si^{4+}) をバランスよく供給することを考えている。リン酸塩インバートガラスは網目形成酸化物の量が少ないため、ガラス作製が容易ではない場合が多いが、ガラス中で中間酸化物として働く Mg を導入することで、ガラス形成能の向上が期待される。本研究では SiO_2 , MgO を導入したリン酸塩インバートガラスを作製し、その構造及び溶出挙動について調べた。

【実験方法】

$15MgO-15CaO-8P_2O_5-xSiO_2$ (mol ratio, $x = 3\sim7$, サンプル名: xSi) 組成のリン酸塩インバートガラスを熔融急冷法 (1500 °C, 30 min) にて作製した。得られたガラス試料の構造をラマンスペクトルにて評価した。ガラス形成能を DTA にて評価した。Tris 緩衝溶液に浸漬後の各イオン (Mg^{2+} , Ca^{2+} , P^{5+} , Si^{4+}) 濃度を誘導結合プラズマ発光分光計 (ICP-AES) にて評価した。

【実験結果と考察】

ラマンスペクトルの結果から、ガラス中のリン酸塩・ケイ酸塩グループは主にオルトリン酸 (Q_P^0)、オルトケイ酸 (Q_{Si}^0) から構成されていることが確認できた。これは、 Ca^{2+} , Mg^{2+} のカチオンが網目形成四面体である Q_P^0 , Q_{Si}^0 周辺に配位し、長鎖構造を持たないガラスを形成したと考えられる。 SiO_2 含有量の増加に伴い、 Q_{Si}^0 の割合は減少傾向を示した。DTA の結果から、5Si が最も高いガラス形成能を示した。これまではケイ酸塩ガラスに Q_P^0 構造が含まれることは報告されていたが、ケイ酸グループ、リン酸グループともに Q^0 構造のみから成るガラスについては報告がなかったと思われる。ガラスの溶解性については当日報告する。

1) M. Y. Shie *et al.*, *Acta Biomater.*, **7** (2011) 2604.

D18 リン酸イオンおよびケイ酸イオンが骨芽細胞様細胞の石灰化

過程に及ぼす影響

(名古屋工業大学大学院) ○後藤大和 ・ 古屋陸 ・ 小幡亜希子 ・ 春日敏宏

E-mail : obata.akiko@nitech.ac.jp

【緒言】 骨欠損部に埋入する材料として、Ca-P 系および Ca-Si 系セラミックス・ガラス材料が一般的に用いられる。これらの材料が骨形成を促進する要因の一つに、溶出するイオンによる影響が挙げられる。Ca-P 系および Ca-Si 系の材料から溶出するイオンにはリン酸(P)、ケイ酸(Si) およびカルシウム(Ca)イオンが存在するが、特に材料間で異なる P イオンと Si イオンがそれぞれ骨形成に対してどのように寄与しているか興味深い。Si イオンが骨芽細胞の石灰化過程に及ぼす影響について、他のイオン等による影響を除いた条件下で調査した報告が数多く存在する一方、P イオンに関する同様な報告は皆無である。そこで、本研究では P および Si イオンを添加した培養培地を用いて同一条件下で細胞応答を比較する事で、P イオンが骨芽細胞に及ぼす影響を明確化し、さらに両イオン間で影響に違いがあるか検討する事を目的とした。

【実験方法】 P および Si イオン源として Na_2HPO_4 , $\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ を通常培地 (McCoy's 5A, 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin) に所定濃度となるようにそれぞれ添加し、各イオン添加培地を作製した (x -P, y -Si, $x, y = 10 \sim 300$ ppm)。通常培地を用いてヒト骨肉腫由来骨芽細胞様細胞 (SaOS-2) の懸濁液を濃度 1.0×10^5 cells/ml で作製し、24 または 96 ウェルプレートに播種した後、各イオン添加培地で所定期間 (1~35 d) 培養を行った。石灰化能評価のため生細胞数およびカルシウム沈着量を測定し、XRD および SEM-EDS にて石灰化質の解析を行った。

【結果】 30~300 ppm の P イオンおよび 100 ppm の Si イオンを用いて培養を行った際、通常培地を用いた場合と比較して有意に高いカルシウム沈着量を示した。また、XRD および SEM-EDS を用いて石灰化質の組成分析を行ったところ、P および Si のサンプルでは骨の主成分であるハイドロキシアパタイトの形成を確認した一方で、通常培地では同様な物質は確認されなかった。この結果から、P イオンおよび Si イオンは特定の濃度域において骨形成を促進することが明らかになった。P イオンは細胞由来のリン酸カルシウムの結晶形成に寄与するタンパク質である Glvr-1 および Glvr-2 の発現を促進することが報告されており¹⁾、本研究でも同様な促進効果が発現した可能性が考えられる。

1) Y. Wittrant, *et al.*, "Inorganic phosphate regulates Glvr-1 and -2 expression: Role of calcium and ERK1/2", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 381, 259-263 (2009).

名古屋工業大学 ○中田 勇輔・太田 敏孝・安達 信泰

Synthesis and Magnetic Properties of ZnFe_2O_4 / Y. Nakata, T. Ota, N. Adachi. (Nagoya Institute of Technology) /
 The ZnFe_2O_4 films have been synthesized by a metal organic decomposition technique from the point of view of ferromagnetic materials. The XRD patterns showed polycrystalline spinel structure and no secondary phase. The EDS analysis exhibits elementally homogeneous distribution. The magnetization curve in low temperature region showed ferromagnetic and approximately 500 Oe of coercive force at the temperature of 4 K. These results indicate of the existence of the ferromagnetic phase of ZnFe_2O_4 .

問合せ先 : E-mail: nadachi@nitech.ac.jp

1、はじめに

亜鉛フェライトの一つである ZnFe_2O_4 結晶の安定相は反強磁性を示すことで知られている。これは ZnFe_2O_4 結晶が正スピネル型構造をとり、酸化物イオンが面心位置、 Zn^{2+} イオンが四面体位置、 Fe^{3+} イオンが八面体位置に入り、 Fe^{3+} イオン同士の酸素を介した負の相互作用によるものである。しかし、 ZnFe_2O_4 結晶を急冷して作られる準安定相では磁化を示すという報告[1]もある。本グループの研究では、有機金属分解法により $\text{Zn}_{1-x}\text{Fe}_x\text{O}$ 薄膜を作製する過程で二次相としての ZnFe_2O_4 が析出され、その薄膜の磁化測定によって低温領域で保磁力をもつことが観測された。亜鉛フェライトが強磁性を示すかどうかを詳細に調べるために、本研究では、 ZnFe_2O_4 薄膜を作製し、その磁気特性の知見を得ることを目的とした。

2、実験方法

有機金属溶液として、高純度化学 SYM-ZN20、Zn-05、Fe-03 の 3 種を用い、Zn と Fe が 1 : 2 の組成比になるよう混合して ZnFe_2O_4 用の有機金属溶液を作製した。その溶液を 15mm 角の 2000rpm で回転するシリカガラス基板に滴下し、スピコートを行った。その後 100°C で 30 分乾燥し、有機物を分解させるために 300°C で 30 分間仮熱処理を行った。これを必要な膜厚になるまで繰り返し、その後、熱処理を 600°C で 1 時間行い結晶化させた。作製した試料に対し、XRD による結晶の評価、FE-SEM による表面と断面観察、EDS による組成分析、SQUID 磁化測定を行った。

3、結果と考察

作製した薄膜の XRD パターンを Fig.1 に示す。 ZnFe_2O_4 を示す多結晶回折ピークのみが観測され、また、二次相によるピークは現れなかった。FE-SEM による断面観察により、ほぼ一定の膜厚であった。また、EDS による組成分析では、膜内における Zn や Fe の濃度偏析は見られなかった。以上から、均質な膜を得ることが確認できた。Fig.2 に ZnFe_2O_4 薄膜の磁化曲線を示す。低温ではヒステリシス曲線を示し、4K に関しては 500 Oe を超える大きな保磁力が観測されたことから、作製した ZnFe_2O_4 相は反強磁性ではなく、自発磁化のある強磁性相が確認された。

Ref. [1] K. TANAKA et.al. , J. Phys. Chem Solids Vol 59, No. 9, pp. 1611–1618 (1998)

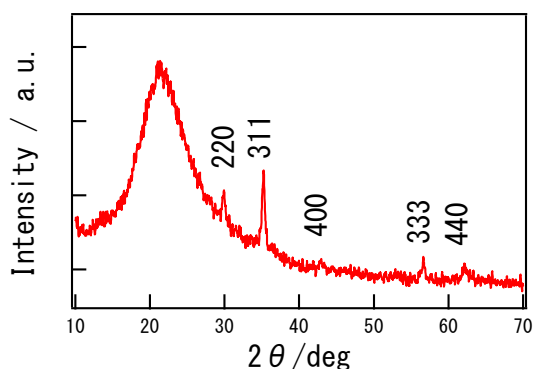


Fig.1. XRD spectrum of ZnFe_2O_4

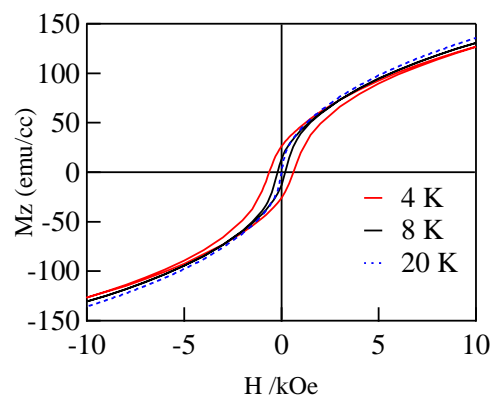


Fig.2 Magnetization curve of ZnFe_2O_4