

京都大学教育研究振興財団助成事業  
成果報告書

平成 28 年 8 月 3 日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団  
会長 辻 井 昭 雄 様

所属部局 農学研究科

職名 准教授

氏名 和田昌久

助成の種類	平成 28 年度 ・ 外国人研究者招へい助成	
招へいた研究者	所属・職名	Kyung Hee University ・ Associate Professor
	氏名	Ung-Jin Kim
研究課題名	LiBr水溶液を溶剤として調製したセルロースヒドロゲルの機能化	
招へい期間	平成 28 年 7 月 4 日 ～ 平成 28 年 8 月 2 日	
招へい成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有( )	
会計報告	交付を受けた助成金額	450,000 円
	使用した助成金額	450,000 円
	返納すべき助成金額	0 円
	助成金の使途内訳	宿泊費・滞在費 15,000円 × 30日 = 450,000 円 ----- ----- ----- -----
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。)	

植物によって生産されるセルロースはカーボンニュートラル素材として注目を集めているが、セルロースの溶剤には環境負荷の大きいものも多く、作業性が課題であった。Ung-Jin Kim 氏と申請者らは絹フィブロインとのコンポジットを調製する目的で、絹フィブロインの良溶媒とセルロースとの相互作用を検討している過程で 60 wt%の LiBr 水溶液に 1~2 wt%までのセルロースが溶解すること（セルロースの新規溶媒）を最近発見した（*Cellulose*, **21**, 1175-1181, 2014）。セルロースは 120°C程度の加熱で溶解し、透明な粘稠液となるが、放冷すると 70°C付近でゲル化した。水洗して LiBr を取り除くと緻密で均一な網目構造を有する多孔性の高強度ヒドロゲルとなった。この手法は、有機溶剤等は一切使用しないグリーンケミストリーであるばかりでなく、LiBr は再利用可能であることから環境調和型手法であるともいえる。そこで、Protein Drug Delivery や細胞培養・組織化のための三次元足場材料としての利用を念頭に、絹フィブロインとの複合材料化（ヒドロゲルの調製）を目指すこととした。

カイコの繭を 0.02 M 炭酸ナトリウム水溶液中にて 100°Cで 20 分処理することによりセリシンを取り除いて絹フィブロインを精製した。その後、60 wt%の LiBr 水溶液に種々の濃度でフィブロインを加え、80°Cで 4 時間攪拌して溶解した。このフィブロイン水溶液に、60 wt%の LiBr 水溶液にて 120°Cで 20 分攪拌して予め溶解させておいたセルロース水溶液を加え、さらに数分攪拌した。このフィブロインとセルロースが共に溶解した LiBr 水溶液は、室温まで冷却させるとゲル化した。ゲルはメタノール洗浄後、水洗した。およそ半分はそのままセルロース/フィブロインのヒドロゲルとして水中にて冷蔵庫で保管し、残りは凍結乾燥してエアロゲルとして保存した。

セルロースとフィブロイン水溶液の混合時におけるセルロースとフィブロインの重量比は 1:0、1:0.6、1:1、1:1.4 の 4 段階であった。このうち、フィブロインを混合した 3 試料におけるフィブロインの収率は、重量分析の結果、いずれも 93~99%であった。これまで、セルロースの収率は 99%以上であることを明らかにしてきたが、フィブロインにおいても高収率であることが分かった。また、窒素吸着によるエアロゲルの比表面積測定の結果は 183~236 m<sup>2</sup>/g であり、フィブロインの比率が高いほど大きくなる傾向があった。走査型電子顕微鏡観察を行った結果、セルロースのみのエアロゲルではおよそ幅 30~50 nm のフィブリルが緻密な網目構造を形成し、孔径サイズはおよそ 50~200 nm であった。そして、フィブロイン含量が高くなるとセルロースのみのエアロゲルと比べてフィブリル表面の凹凸が顕著になる様子が観察された。すなわち、フィブロインはセルロースフィブリルの表面に吸着して存在していると思われる。エアロゲルの圧縮試験を行った結果、圧縮強度は 2.0~2.5 MPa といずれの試料でもセルロースのみのものとほとんど変わらなかった。セルロースのフィブリルが強度を支持する役目を担い、フィブロインはセルロースに

比べて格段に強度が弱いこともあるが、セルロースのフィブリルに吸着して存在している為に、強度へほとんど寄与しなかったのであろう。

最後に Protein Drug Delivery への適用を見据え、牛血清アルブミン(BSA)をモデルタンパク質として用いたセルロース/フィブロインヒドロゲルへの吸着量を測定した。フィブロインの等電点は 4.5、BSA の等電点は 4.6 であることから、pH 4.5 で吸着量は極大を示した。そこで、pH 4.5 における最大吸着量を測定したところ、270 mg/g を超え、セルロース/フィブロインヒドロゲルのタンパク質吸着材料としてのポテンシャルの高さを示すことができた。

本研究の成果は、グリーンケミストリーによるセルロース/フィブロインゲルの調製方法の確立と基礎的特性の解明である。より詳細なBSAの吸着特性を解析したのち、学術誌への投稿を検討したい。招聘研究者とは今後も緊密に連絡を取り合い、さらなるディスカッションを通して、細胞培養・組織化のための三次元足場材料への適用を図っていきたいと考えている。