

E. coli の増殖に対するシルクアミノ酸の影響

○ 林 宏行¹、関島安隆^{1,2}(1 ロード 21 (株)、2 埼玉県立大学)

Hiroyuki Hayashi, Yasutaka Sekijima. Effect of silk amino acids on the growth of *Escherichia coli*

Keywords: Silk amino acids ; *E. coli*

はじめに

絹フィブロインの化学構造に関する研究は 1907 年 E. Fischer がフィブロインの加水分解物から Gly-Ala のジペプチドを分離したのが最初である。それ以降、多くの研究者によって絹フィブロインの化学構造に関する研究が進められ、フィブロインのペプチド構造にとどまらず、タンパク質の基本構造がペプチド鎖から構成されているのではないかというタンパク質構造の基本概念を導き出すに至った。

一方、絹フィブロインの実用化を目指した研究において Ajisawa(1968, 1998) はフィブロインの加水分解法をいろいろ検討した。また、陳ら(1991) は塩酸加水分解による水溶性絹粉末を作製した。こんにち、水溶性絹粉末(シルクアミノ酸)は化粧品素材、健康補助剤、作物生産への肥料補助剤などの分野へ向けた開発が進められている。

他方、生体材料分野では、水溶性絹フィブロインを poly(ethylene glycol)-silk fibroin 化合物として用い、繊維芽細胞との相互作用を示すこと(Gotoh et al, 1997)、poly(D,L-lactic acid)-silk fibroin フィルムは、その材料表面での骨芽細胞との相互作用を促進させる(Cai et al. 2002)、さらに、無セリシン・シルクフィルムあるいは RGD-シルクフィルムを用いて、そのフィルム上に播種した hMSC は、初期炎症反応に関与する IL-1 β をコラーゲンと同程度に産生した(Meinel et al. 2005)とする報告があり、この分野においても、水溶性絹フィブロインの有効性が認められている。今後、絹フィブロイン粉末(シルクアミノ酸)の持つ生体活性は、さまざまな分野で拡大するものと思われる。

本研究は、シルクアミノ酸が生体に与える影響とその機作を解析することを目的とするが、今回は予備的実験として、大腸菌の増殖に与える影響について調べた。

材料と方法

常法に従って精鍊した絹を、100 倍量の 1 N NaOH で 70 $^{\circ}$ C、2 時間加熱し、その後 24 時間静置し、加水分解

解した。その後、塩酸で中和した。それによって生成した塩は脱塩装置を用いて除去した。脱塩後の溶液を濃縮した後、凍結乾燥によって粉末化し試料とした。このフィブロイン粉末は著しく水溶性であった。

大腸菌の培養は固形培地として普通寒天培地（日水 k.k.）、液体培地として普通ブイヨン培地（日水 k.k.）を用いた。使用した大腸菌は *Escherichia coli* K12 235（以下 *E. coli* とする）を用いた。

E. coli の培養は普通ブイヨン培地にシルクアミノ酸を 0.1%、1%、5%、10%それぞれ添加し、高圧滅菌処理をして用いた。接種菌は 24 時間培養を 2 度繰り返した菌を用い、培地に対して 1/10 量の菌液を接種した。その後、37℃で静置培養し、3、6、9、12 時間後にサンプリングした。菌数計算は CFU 法 (colony forming unit) に従って行った。

結果及び考察

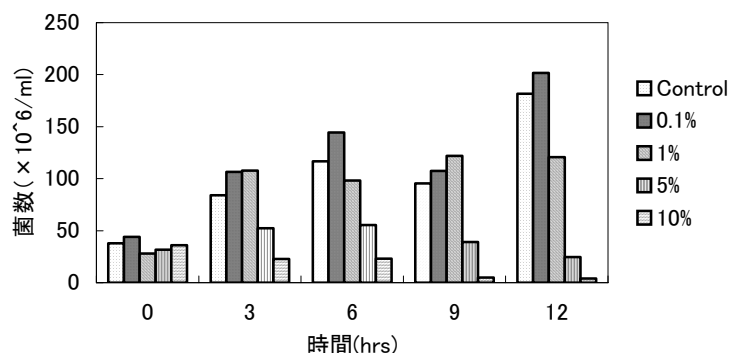
菌数の変動を

図に示した。① 10%では菌接種後、菌数の増加は殆ど認められず、9 時間以降では消滅傾向にあった。② 5%は 3, 6 時間後には幾分増加し、それ以降は減少した。

③ 1%、0.1% は常に

増殖傾向を示した。特に 0.1% では 6 時間後と 12 時間後の菌数は対照を上回った。これらの結果から、シルクアミノ酸の *E. coli* 培地への添加は、*E. coli* の増殖に対して、高濃度 (5%, 10%) では阻害的に、低濃度 (0.1%, 1%) では増殖促進的に影響することが観察された。

シルクアミノ酸添加培地による *E. coli* 培養



参考文献

- Fischer E. et al. Ber, 40:3544, 1907.
 Ajisama A. Sen-i Gakkaishi, 24:61-64, 1968.
 Gotoh Y. et al. J Biomed Mater Res., 39:351-357, 1998.
 Cai K. et al. Biomaterials, 23:1153-1160, 2002.
 Meinerl L. et al. Biomaterials, 26:147-155, 2005.