

# SBF 中における DNA 分子鎖表面へのアパタイト形成

豊田工大院工 ○竹下貴之・岡本正巳

## <緒言>

事故や病気などで大規模な骨の欠損が生じた場合、人体においてその自己再生は難しい。この時の治療法として人工材料の移植が考えられるが、その材料には生体活性、生体適合性などが求められる。生体活性材料を骨欠損部に埋入させると材料に骨の主成分であるヒドロキシアパタイト(HA:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )を析出し、その HA を骨伝導物質として生体骨と結合する。生体活性の評価方法として体内の血漿成分の無機イオン濃度とほぼ等しくした擬似体液 (SBF)が用いられている<sup>1)</sup>。材料を SBF に浸漬させ材料に生体活性がある場合はその材料表面に HA が析出する。生体活性材料の研究は HA、ポリ乳酸、バイオガラスなど様々行われているが生体高分子を用いた研究例はあまり報告されていない。デオキシリボ核酸 (DNA)はリン酸基を持つヌクレオチドの重合体であり、細胞の形質転換にも利用できるため幅広い医療分野での応用が期待されている。本研究では、骨の再生医療への応用の基礎研究のため、SBF 中における DNA 分子鎖表面への HA 析出の評価を行った。

## <実験>

DNA としてサケ精巢由来の 2 本鎖 DNA (Sigma-Aldrich: D1626)を用いた。SBF は文献に従って作製したものを実験に供した<sup>1)</sup>。0.5 g の DNA を 50 ml の SBF に加え室温下にて 24 時間攪拌した後、36.5 °C に設定したインキュベーターにて 4 週間静置した。その後沈殿 (DNA-HA)が生じた。DNA-HA の特性評価として電界放出型走査型電子顕微鏡 (FE-SEM)、エネルギー分散型 X 線分析 (EDX)、X 線回折 (WAXD)、フーリエ変換赤外分光法 (FTIR)、示差熱/熱重量分析 (TG/DTA)にて解析した。

## <結果・考察>

DNA-HA は DNA 分子鎖表面に HA が析出したバイオミネラリゼーションと考えられた。DNA-HA が生じた原因は、DNA 分子鎖のリン酸基に SBF 中の  $\text{Ca}^{2+}$  が反応し、それに  $\text{HPO}_4^{2-}$  が反応する連鎖反応により HA が析出したためと考えられる<sup>2)</sup>。Fig.1 に DNA-HA の FE-SEM 画像を示した。DNA-HA の大きさは 1-14  $\mu\text{m}$  であった。形状は様々な形状が観察された。この原因は DNA 分子鎖のバンドル化による核剤効果が原因だと考えられる。EDX 測定より得られた Ca/P モル比は 1.1-1.5 という値であり理想的な HA の Ca/P モル比の 1.67 という値より低い値であった。これは核となった DNA にリン酸基を含むことや析出した HA 結晶中の  $\text{Ca}^{2+}$  が SBF 中の  $\text{Na}^+$  や  $\text{Mg}^{2+}$  とイオン交換していることなどが原因だと考えられる。FTIR の解析結果より DNA-HA は DNA と HA の両方の特徴的なピークが観測された (Fig.2)。

当日は HA 形成に重要な SBF 中のイオン ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ )濃度を変化させた場合の HA 形成についても報告する。

## <参考文献>

- 1) Kokubo T, Takadama H, *Biomaterials*, 27, 2907 (2006)
- 2) Qingwei Z, Vadym N.M, *et al*, *Biomaterials*, 33, 5067 (2012)

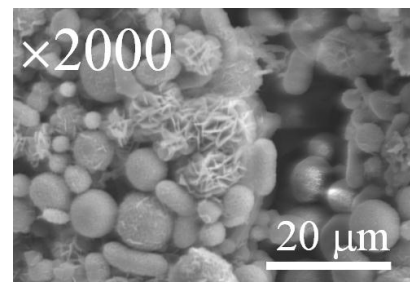


Fig.1. FE-SEM image of DNA-HA.

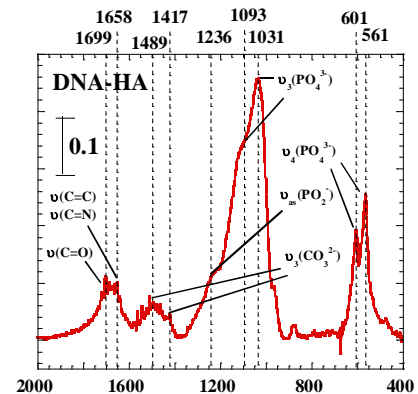


Fig.2. FTIR spectrum of DNA-HA.

## Biom mineralization of Hydroxyapatite on DNA Molecules in SBF

Takayuki Takeshita<sup>1</sup>, Masami Okamoto<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Graduate School of Engineering Toyota Technological Institute, 3-10-9 Irifune, 2-12-1, Hisakata, Tempaku, Nagoya, Aichi 468-8511, Japan)

<sup>1</sup>Tel: 052-809-1863, Fax: 052-809-1864, E-mail: sd09051@toyota-ti.ac.jp

**Key Word:** DNA / hydroxyapatite / biomineralization / simulated body fluid

**Abstract:** The osteoconductivity of a variety of materials were investigated by simulated body fluid (SBF) having ion concentrations approximately equal to those of human blood plasma. However, the research on the osteoconductivity of biopolymers are at its infancy. In this study, the hydroxyapatite (HA) formation on the surface of DNA molecules in SBF was examined. After immersion for 4 weeks in SBF at 36.5 °C, the HA crystallites possessing ~ 1-14  $\mu\text{m}$  in diameter grew on the surface of DNA molecules. Various morphologies were successfully observed through scanning electron microscopy analysis. The Ca/P mol ratio (1.1-1.5) in HA was estimated by energy dispersive X-ray analysis. Original peaks of both of DNA and HA were characterized by fourier transform infrared spectroscopy. By changing the ion ( $\text{HPO}_4^{2-}$  and  $\text{Ca}^{2+}$ ) concentrations in SBF the formation on DNA molecules was discussed.