

平成29年 5月26日

所属:名古屋大学 工学研究科
化学・生物工学専攻

氏名: 神田 英輝



平成 28 年度 助成

研究 経過 ・ 終了 報告書

※ゴシック文字で記入下さい。

研究テーマ	界面活性剤フリーなスキャフォールド作成手法の開発
研究の結果	液化DMEの供給器、抽出カラム、流量バルブ、回収部、減圧バルブが直列に繋がった装置を作成して、抽出カラムに豚の大動脈を充填して細胞膜の抽出を行った。25℃の環境で液化DMEを供給器から抽出カラムに流速10 ml/minで導入した。抽出カラムの内部で、液化DMEと豚大動脈に含まれる水が混合し、この混合液によって油脂が抽出される。その後、液化DME、油脂、水の混合物が回収部で回収される。液化DMEの標準沸点は-24.8℃のため、減圧バルブを開放し、回収部の内部を常圧に減圧させると液化DMEは蒸発する。完全に液化DMEを除去した後は油脂と水が得られる。DMEによる脂質抽出後に得られる豚耐動脈の残渣に、DNA分解酵素であるDNaseと1～7日間接触させることで組織内部のDNAを断片化した。その後80%エタノールにて3日間洗浄を行った後に、残留DNA量の定量分析を行った。 最終的にはサンプル乾燥重量あたり1.65重量%の油脂が抽出された。また、DME流量が約300gの時点で抽出量は収束しており、この時点で処理が完了したと見なすことができる。抽出された脂質は細胞膜を構成するリン脂質であると考えられる。 DMEを用いた脱細胞化処理により作成した大動脈組織のスキャホールドの中のDNAの残存量の定量分析を行った。DMEによる脂質抽出後の段階(酵素処理0日目)では残存DNA量は2070 ng/mg-dryである、一般的なスキャホールドの基準値である50ng/mg-dryを大幅に上回る。酵素処理を行ったところ残存DNA量は大幅に減少した。これは、DMEによる細胞破壊がなされた結果、DNA分解酵素が細胞内部のDNAに到達し、DNAが断片化されたことによって洗浄により分離が可能な状態となったことを示した。3日間の酵素処理を施したスキャホールドの残存DNA量は32ng/mg-dryとなり基準値を満たした。日間の酵素処理を施した場合、スキャホールド内部に残留するDNAは2ng/mg-dryとなりほぼ全て除去されたことが示された。 これにより、界面活性剤を用いることなく、スキャホールドを作成することに成功した。
研究発表 (実績)	特許出願前のため、学会発表を行っていない。特許出願後に学会発表する計画である。

提出期限: 研究期間終了後、すみやかに助成金の「必要経費使途明細書」「領収書(原本)」と合わせて提出下さい。
年度をまたぐ場合は毎年3月末日までに、途中経過をご記入の上、報告願います。