

実施課題番号 2007A1946
実施課題名 SR-XRFによる銀イオンの細胞障害活性の生化学的評価
実験責任者所属機関 シャープ（株）技術本部 バイオセンシングシステム研究所
及び氏名 山中 幹宏
使用ビームライン BL37XU

実験結果

【概要】

銀イオンによる抗菌技術は、2003年にシャープ製洗濯機に応用される以前より、セラミックス、繊維や樹脂へ混合することで、浄水器、加湿器、台所用品、建材、医療用器具等、幅広く応用されている技術である。これは銀イオンが人体に対して安全であり、その一方で人体に害を及ぼすような微生物に対して効果的に作用できるという特長に因るところが大きい。しかし実際に銀イオンがどのように生体材料へ作用しているのか、その作用メカニズムについては不明な点が非常に多く、銀イオンを利用した洗濯機等を製造している当社としては、学術的に販売促進用データとしても、ユーザー向けに是非とも解明しておきたい問題である。これまでは細菌の外膜と内膜の間に存在する呼吸鎖酵素のチオール基（-SH 基）が銀イオンと反応して、酵素活性が損なわれることにより抗菌効果が発現するとされていた。しかし我々が以前確認した大腸菌をモデルとした試験結果（Applied and Environmental Microbiology 71, No. 11 p. 7589 - 7593, 2005 他）によると、銀イオンは生体内部に速やかに取り込まれ、細胞膜には偏析しないことが明らかとなっている。また同報告によって、銀イオンが偏析する場所がリボソームであることについても言及している。

そこで検出感度の著しく高い、SPring-8 を用いた分析技術により、銀イオンの生体への作用メカニズムを解明し、銀イオンが生体中のどのようなタンパク質や酵素に結合して存在しているのかについての知見を得ることで、最適な濃度での抗菌技術が初めて確立され、必要以上の銀イオンを発生、浪費させることなく、地球環境負荷の低い抗菌技術へと進化すると考えられる。

今回培養細胞から抽出したタンパク質の Native PAGE(ポリアクリルアミドゲル電気泳動)パターンにおける銀の検出を行ったところ、一部の領域から銀の検出が確認された(図1)。また遠心分離を併用した試料調整を行い、核、ミトコンドリア、サイトゾルからなる分画試料を準備した。その結果、図2に示す通り、核画分から銀が強く検出されることが分かった。

【測定条件】

ビームライン : BL37XU (硬 X 線領域アンジュレータービームライン)
励起 X 線 : 30keV
スリット幅 : たて 0.2mm × よこ 0.5mm
検出器 : Si (Li) 半導体検出器

【結果と考察】

今回の実験で、2DE（二次元電気泳動）パターンに放射光を適用することにより、生体細胞中の金属イオンの存在状態について有用な知見が得られる可能性が示された。但し、銀が検出以外のスポットにおいては、銀が確認されなかった。また銀イオンを作用させていないリファレンス試料において、金属タンパク質のもつ亜鉛や銅等が検出されておらず、電気泳動によりタンパク質より金属イオンが脱離した懸念も残るため、電気泳動条件の更なる最適化が必要であると思われる。

一方分画試料において、核より銀が顕著に検出されており、銀が細胞膜に留まることなく、細胞内へ速やかに浸入しているこれまでの結果とよく一致していた。

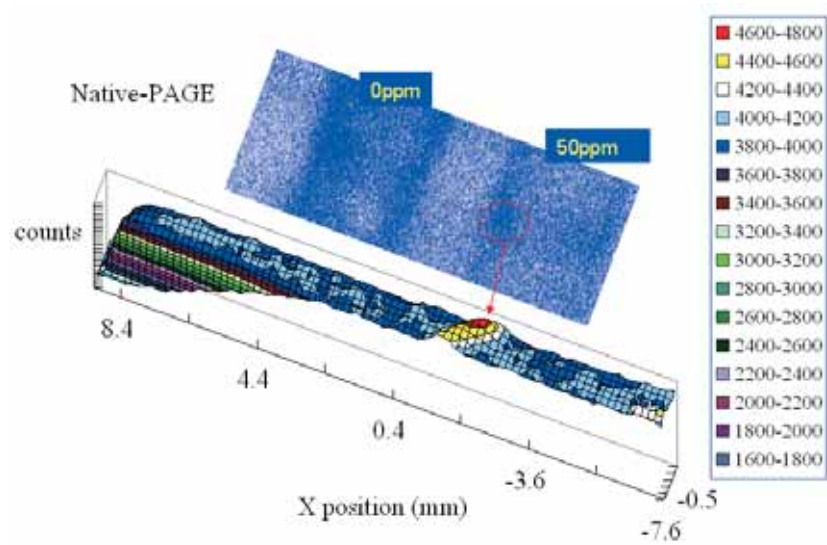


図 1

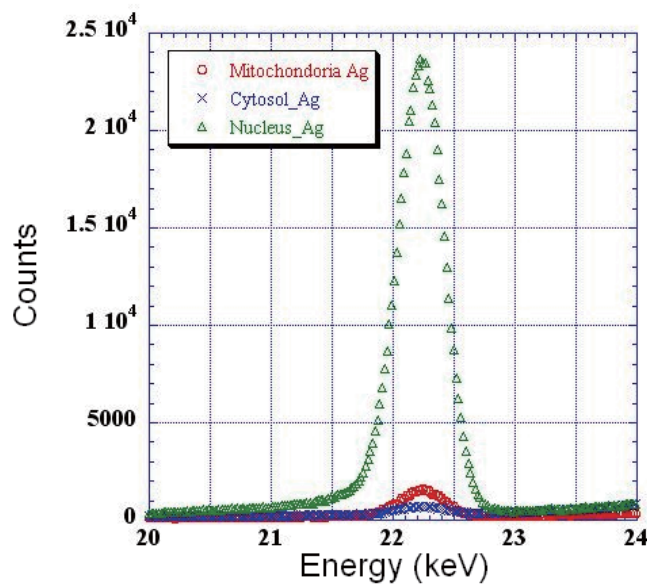


図 2

【引用文献】

- ① Applied and Environmental Microbiology 71, No.11 p.7589 – 7593, 2005
M. Yamanaka, K. Hara, and J. Kudo