SURFACE-MODIFIED ELECTROSPUN POLYCAPROLACTONE FIBROUS MEMBRANES MODIFIED WITH GELATIN, BOVINE SERUM ALBUMIN OR CRUDE BONE PROTEIN EXTRACT AND THEIR POTENTIAL FOR USE AS BONE SCAFFOLDS

Sutthilak Chaichamnarn

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University
in Academic Partnership with
The University of Michigan, The University of Oklahoma,
Case Western Reserve University
2010

Thesis Title:	Surface-Modified Electrospun Polycaprolactone Fibrous Membranes Modified with Gelatin, Bovine Serum Albumin or Crude Bone Protein Extract And Their Potential for Use as Bone Scaffolds
By:	Sutthilak Chaichamnarn
Program:	Polymer Science
Thesis Advisors:	Prof. Pitt Supaphol
	Assoc. Prof. Prasit Pavasant

Accepted by the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, in partial fulfilment of the requirements for the Degree of Master of Science.

..... College Dean

(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

Thesis Committee:

.....

(Prof. Pitt Supaphol)

.....

(Assoc. Prof. Prasit Pavasant)

.....

(Asst. Prof. Hathaikarn Manuspiya)

.....

(Asst. Prof.Voravee P. Hoven)

ABSTRACT

5172037063: Polymer Science Program
Sutthilak Chaichamnarn: Surface-Modified Electrospun Polycaprolactone Fibrous Membranes Modified with Gelatin, Bovine Serum Albumin or Crude Bone Protein Extract and Their Potential for Use as Bone Scaffolds.
Thesis Advisor: Prof. Pitt Supaphol and Assoc. Prof. Prasit Pavasant
86 pp.
Keywords: Polycaprolactone / Immobilization/ Bovine serum albumin/ Crude bone proteins / X-ray Photospectroscopy / Contact angle

Immobilization of biomolecules; i.e. gelatin type-A, gelatin type-B, bovine serum albumin (BSA) and crude bone protein (CBP), making polycaprolactone (PCL) fibrous scaffolds that have been fabricated by electrospinning more suitable for bone tissue engineering. PCL scaffolds were first covalently introduced with amino groups on their surfaces through the aminolysis reaction using 1,6-hexamethylenediamine (HMD) and later immobilized with the above mentioned biomolecules using disuccinimidyl carbonate (DSC) as the coupling agent. Various techniques; ATR-FTIR, XPS, SEM, and water contact angle measurement were used to monitor the scaffold surfaces after each modification step. The potential use of the modified materials as bone scaffolds was evaluated with a murine pre-osteoblastic cell line (MC3T3-E1). MC3T3-E1 proliferation was improved remarkably on the modified surface, especially the BSA-immobilized PCL fibrous scaffolds which showed the greatest proliferation after cell culture as well as the highest ALP activity. In mineralization, the deposited minerals was highest on the CBP-immobilized PCL scaffolds. All the obtained results suggested that immobilization of BSA and CBP is an attractive method for fabricating of fibrous scaffolds for bone tissue engineering.

บทคัดย่อ

สุทธิลักษณ์ ไชยชำนาญ : การปรับปรุงพื้นผิวแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนอิเลกโตรสปันด้วยเจลาติน, โบวิน เซรั่ม อัลบูมิน หรือโปรตีนสกัดจากกระดูก และความสามารถในการใช้เป็นวัสดุโครงร่างสำหรับเซลล์กระดูก (Surface-Modified Electrospun Polycaprolactone Fibrous Membranes Modified with Gelatin, Bovine Serum Albumin or Crude Bone Protein Extract and Their Potential for Use as Bone Scaffolds) อ. ที่ปรึกษา : ศ. ดร. พิชญ์ ศุภผล และ รศ. ดร. ประสิทธิ์ ภวสันต์ 86 หน้า

เพื่อเพิ่มความสามารถในการเป็นวัสดุโครงร่างสำหรับเซลล์กระดูกของแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตน ซึ่งเตรียมได้โดยวิธีการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ทำโดยการเพิ่มหมู่อะมิโนไปบนพื้นผิวของแผ่นเส้นใยก่อน ด้วยการทำปฏิกิริยาอะมิโนไลซิสกับ 1,6-เฮกซะเมทิลีนไดเอมีน(HMD) หลังจากนั้นสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น เจลาตินชนิดเอ, เจลาตินชนิดบี, โบวิน เซรั่ม อัลบูมิน (bovine serum albumin) หรือ โปรตีนสกัดจากกระดูก (crude bone protein) ได้ถูกตรึงโดยใช้ ไดซักซีนิมิดิล คาร์บอเนต (DSC) เป็นสารคู่ควบ หาความหนาแน่น ความมีรูพรุน และปริมาตรของรูพรุน เพื่อ พิสูจน์เอกลักษณ์ของแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนอิเลกโตรสปัน เทคนิค เอทีอาร์เอฟทีไออาร์ สเปกโทรสโกปี (ATR-FTIR), เอกซเรย์โฟโตอิเล็กตรอน สเปกโทรสโกปี (XPS), การส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนนิ่ง (SEM), และการวัดมุมสัมผัสกับน้ำ ถูกนำมาใช้เพื่อตรวจสอบพื้นผิวของแผ่นเส้นใยหลังจากได้รับการปรับปรุงพื้นผิวแล้วในแต่ละขั้นตอน แผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนอิเลกโตรสปัน ถูกนำมาทดสอบความสามารถในการเป็นวัสดุโครงร่างสำหรับเซลล์กระดูก โดยใช้เซลล์กระดูกของหนู (MC3T3-E1) ผลการทดสอบพบว่าเซลล์กระดูกของหนูที่ถูกเลี้ยงบนพื้นผิวแผ่นเส้นใยที่ได้รับการปรับปรุงมีการเจริญเติบโตที่ดีอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับแผ่นเส้นใยที่ไม่รับการปรับปรุงพื้นผิวและตัวควบคุม (จานเลี้ยงเซลล์) โดยที่เซลล์ที่เลี้ยงบนแผ่นเส้นใยที่ได้รับการปรับปรุงด้วยโบวิน เซรั่ม อัลบูมิน จะเจริญเติบโตได้มากที่สุดและเอแอลพีแอกติวิตี้ (ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงหน้าที่ไปเป็นเซลล์กระดูก) มากที่สุดเช่นกัน ในการทดลองหาปริมาณแร่ธาตุที่เซลล์เปลี่ยนแปลงไปเป็นในระยะเวลา 21 วัน พบมากที่สุดในแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนอิเลกโตรสปันที่ได้รับการปรับปรุงด้วยโปรตีนสกัดจากกระดูก ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่า แผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนอิเลกโตรสปัน ที่ได้รับการปรับปรุงด้วยโบวิน เซรั่ม อัลบูมินและโปรตีนสกัดจากกระดูก เป็นวัสดุที่น่าสนใจในการนำไปทำวัสดุโครงร่างสำหรับเซลล์กระดูกและเพิ่มการทำงานของเซลล์กระดูกได้ดี

ACKNOWLEDGEMENTS

This work has been a very memorable and valuable experience as well as a lot of knowledge to the author. It would not have been successful without the assistance of a number of individuals and organizations. The author would like to thank all of them for making this work a success.

First of all, I would like to take this opportunity to express my deep gratitude to Prof. Pitt Supaphol, who acted as my thesis advisors, for his sacrifice and advising, his excellent suggestions and encouragements. Assoc. Prasit Pavasant who acted as my thesis co-advisors, providing many necessary things and many good advices throughout this work. I would like to thank them for their constant valuable advice and support. This thesis would not have been successful without their professional aids.

I would like to specially thank to Asst. Prof. Hathaikarn Manuspiya for being my advisory committee member and giving the valuable comments and recommendation.

Also, I would like to thank Asst. Prof.Voravee P. Hoven for sacrificing her valuable time to be my advisory committee member outside PPC and giving the very useful comment and recommendation.

I am grateful for the scholarship and funding of the thesis work provided by the Petroleum and Petrochemical College, and by the National Center of Excellence for Petroleum, Petrochemical, and Advanced Materials, Thailand. I would like to express my deep appreciation to Ph.D. students for advising a lot of good things as well as making this research filled with fun activities.

I would like to express my sincere gratitude to all faculties and staff of the Petroleum and Petrochemical College for their kind assistance to facilitate all works. Special thanks go to all PPC friends for their friendly assistance and creative suggestions.

Finally, the author would like to express deep appreciation to my parents and my sisters for their endless support, encourage and love throughout the two years study period of my M.S.

TABLE OF CONTENTS

CHAPTER PAGE

CHAPTER **PAGE**

CHAPTER PAGE

LIST OF TABLES

TABLE **PAGE**

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**