

プログラム名：超高機能構造タンパク質による素材産業革命

P M 名：鈴木隆領

プロジェクト名：大規模ゲノム情報を活用した超高機能タンパク質の設計及び製造

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平 成 2 7 年 度

研究開発課題名：

遺伝子組換えカイコおよびシルク加工技術による多種多様な

高機能構造タンパク質繊維の創製と量産

研究開発機関名：

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構

(旧 国立研究開発法人農業生物資源研究所)

研究開発責任者：

亀田 恒徳

# I 当該年度における計画と成果

## 1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

### 【非組換えカイコシルクの特性解析】

- ・既存蚕品種を用いたシルク特性のリスト化：既存蚕品種から3種を選定して飼育し、繰糸した生糸の物性・構造・形状等について調査する。
- ・製糸条件等の検討：既存蚕品種を飼育して、繭乾燥・煮繭・繰糸等の条件を変えて生糸の力学物性を調査する。
- ・生糸生産準備、生産農家の確保：H28年度に飼育するための蚕品種「白麗®」の蚕種60万粒を確保し、生産農家・繰糸業者等と交渉を行う。

### 【遺伝子組換えシルクの創出と特性解析】

- ・新規遺伝子組換えカイコの作出：クモ糸シルクについて高強度系統カイコをホストとして組換えを行う。また、多種絹糸昆虫やクモ等から構造たんぱく質遺伝子のクローニングを行う。
- ・製糸条件等の検討：クモ糸シルク系統を飼育し、生産した繭を用いて繭乾燥・煮繭・繰糸等の条件を検討する。
- ・クモ糸シルクの改良と、シルク特性のリスト化：クモ糸シルク系統の飼育法によりクモ糸タンパク質の発現量を向上させる。
- ・生糸生産の準備、組換えシルク素材の生産・確保：H28年度に飼育するためのクモ糸シルク系統の蚕種を10万粒製造する。

## 2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

### 2-1 進捗状況

「非組換えカイコシルクの特性解析」については当初の予定通り、シルク特性のリスト化、製糸条件等の検討、生産農家の確保を完了することができた。一方、「遺伝子組換えカイコシルクの創出と特性解析」については、他種絹糸昆虫等からの遺伝子クローニングに着手することができなかつたため、H28年度に実施することとした。

### 2-2 成果

#### 【非組換えカイコシルクの特性解析】

##### 既存蚕品種を用いたシルク特性のリスト化

繊度に特徴的がある2品種（白麗：細繊度、ありあけ：太繊度）および通常蚕品種2種の性状を調査し（表1）、それぞれについて、繭1個の中での繊度の変化について調査した（図1）。

表1 生糸の物理的性質

	強度	伸度	ヤング率
	g/d	%	kg/mm <sup>2</sup>
白麗	4.73	22.6	1,453
日137号×中146号	4.74	23.4	1,464
ぐんま200	4.50	28.1	1,349
ありあけ	4.23	23.0	1,410

平成27年晩秋蚕繭を用いて自動繰糸機により27d生糸を繰製し、それぞれの物理的性質をテンシロンにより測定した。

## 製糸条件等の検討

繭の「乾燥の温度」「乾燥法」および「煮繭法」が、繭から得られる生糸の力学物性にどのような影響を与えるかについて検討した。その結果として、生糸の物性は乾燥の温度、乾燥法、煮繭法にほとんど依存しないことが明らかになった。

一方、繰糸条件検討については張力を変化させることで、生糸の力学物性が変化することが確認された（表 2）。

## 生糸生産準備、生産農家の確保

予定通り、中 516 号・中 517 号の飼育を行い、「白麗」蚕種の製造を行った。養蚕農家および繰糸業者等について選定・価格交渉を終了した。

## 【遺伝子組換えシルクの創出と特性解析】 新規遺伝子組換えカイコの作出

高強度系統として当研究機構で所有する蚕品種 2 種を用いて遺伝子組換えカイコの作出を行った。平成 28 年 3 月現在で 2 世代目の飼育を継続しており導入遺伝子のホモ化を進めている。他種絹糸昆虫等からの遺伝子クローニングについては、実施できなかつたため H28 年度に引き続き行う。

## 繰糸条件等の検討

繭乾燥・煮繭の条件検討では、クモ糸シルク絹糸の力学物性に変化は認められなかった。一方、生糸に張力を付加して普通蚕品種の生糸を繰糸したところ、高い張力をかけて繰糸した生糸では、強度の向上と伸度の低下が認められた（表 2）。クモ糸シルクでの検討を進めている。

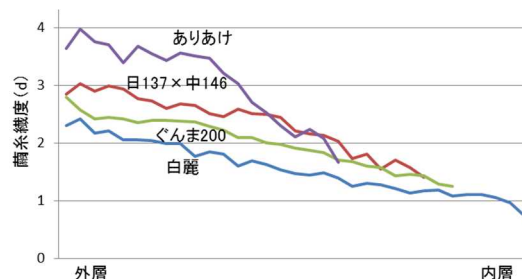


図 1 粒内繭糸織度 平成 27 年晩秋蚕繭を用いて、外層から 50 回（56.25m）ずつ巻き取って織度糸を作製し、繭糸織度を求めた。

表 2 繰糸張力と生糸物性の関係

繰糸張力	強度 (g/d)	伸度 (%)
低	4.44±0.24	28.11±2.57
中	4.68±0.17	22.29±1.78
高	5.02±0.22	15.05±2.16

(N=50)

表 3 餌とクモ糸タンパク質発現量

供試試料	添加量 (mg/5 g diet)		Ratio (vs control) (Av±SD)	
Control	-		1.00	1.00
プロリン	62.5	#1	0.86	0.91±0.05
		#2	0.98	
	62.5	#1	0.93	
		#2	0.86	
		#3	0.94	
グルタミン	180	#1	0.64	0.77±0.20
		#2	0.67	
	180	#1	1.09	
		#2	0.91	
		#3	0.80	
クエン酸 3アンモニウム	225	#1	0.80	0.69±0.16
		#2	0.57	
	70	#1	0.69	0.73±0.06
		#2	0.79	
		#3	0.68	
		#4	0.77	

### **クモ糸シルクの改良と、シルク特性のリスト化**

シルク中に含まれるクモ糸タンパク質の含有量を向上させることを目的として、クモ糸シルクに多く含まれ、欠乏が予想されるアミノ酸等（プロリン・グルタミンならびにグルタミン合成に必要な窒素源（クエン酸 3 アンモニウム））を添加した人工飼料によってクモ糸シルク系統カイコの飼育を行った。この結果、全フィブロインタンパク質におけるクモ糸タンパク質の含有量に増加は認められなかった（表 3）。さらに、上簇時の温度条件が生糸の力学物性に与える影響を検討したが、有意な影響は観測されなかった。

### **生糸生産の準備、組換えシルク素材の生産・確保**

予定していたうち、平成 28 年度の第 1 回目の飼育に供するクモ糸シルク蚕種（中 KH29 ♂×中 KH30 ♀の F<sub>1</sub>）5 万粒の製造を行った。残り 5 万粒分についても準備中である。

### **2-3 新たな課題など**

1. クモ糸シルク蚕種（中 KH29 ♂×中 KH30 ♀の F<sub>1</sub>）の製造において、産卵数がやや少なめであり、さらなる蚕種増産には品種育成による改良が望ましい。
2. 生糸繰糸については、従来型の繰糸装置では条件検討の範囲が限定されるため、新たな装置の設置等が必要と思われる。

### **3. アウトリーチ活動報告**

初年度である今年度は行わなかった