

「資源循環・エネルギーミニマム型システム技術」
平成10年度採択研究代表者

馬越 淳

(農業生物資源研究所 チーム長)

「エネルギーミニマム型高分子形成システム技術の開発」

1. 研究実施の概要

生物は太陽エネルギー、水、炭酸ガス、有機物、無機物などを巧みに利用しながら、植物、動物、微生物の構造形成を行っている。生物の構造形成は一次的に遺伝子の作用により生体高分子が作られ、生体組織の中で合成された生体高分子物質は生体内で物理化学の変化により、生体高分子や複合体が規則正しく構造形成し、自己制御しながら、生物の細胞、器官などの複雑な組織を形成する。生物は長い進化の中で、常温で生体高分子を作るのに対して、人類の知恵で生み出された合成高分子は多量のエネルギーと化石燃料を用い、二酸化炭素を放出している。地球の温暖化を防ぐため、これらの物質を低いエネルギーで生産することを考えなければならない。そこで、生物が作る生体高分子や複合体の形成機構を解明し、低エネルギー高分子形成をシステム化し、低エネルギー物質生産を生み出すことが重要である。

本研究では生物が作る天然高分子の構造形成のメカニズムを解明し、タンパク質などの低エネルギー型の合成方法の探索、精密分子配列制御、自己凝集の方法を検討し、エネルギーミニマム型の機能性高分子の生産システムの基礎研究を行っている。

特に、紡糸生物(カイコ、チョウ、ミツバチ、ハチなどの昆虫やクモなど)、植物(木材、綿、麻)、微生物は巧みな方法で天然高分子を合成し、自己凝集制御しながら、精密に分子配列を行い、繊維状高分子を形成している。ここでは、カイコが常温で、巧妙に生体高分子を作っている構造形成を低エネルギーの構造形成のモデルとして考えた。そこで、カイコが糸を作る低エネルギーミニマム高分子構造形成を研究の対象とした。

2. 研究実施内容

カイコは体内でシルクの原料となるタンパク質を絹糸腺という器官で合成、貯蔵する。そのタンパク質水溶液を桑の葉から吸収した金属イオンを用い、ランダム状の高分子鎖を制御し、分子の流動配向を利用しながら、液晶状態を形成する。カイコ体内にある紡糸管で、液晶状態の高分子を配向状態の逆平行プレートシートに、カイコ自身の力で、強度の高い繊維を作っている。

カイコが行っている高分子構造形成メゾフェーズ（中間相）セルフアSEMBル（自己凝集）無機イオンの作用などを解明し、カイコが行っている低エネルギーでの高分子形成をシステム化する。

1) カイコの総合紡糸

カイコは紡糸口から数十種の紡糸方法が精密に制御された超ハイテク技術により、繊維を形成する。その方法は乾式紡糸、複合紡糸、液晶紡糸、縲縮紡糸、多孔質紡糸、高速紡糸、自力紡糸、傾斜紡糸、移動紡糸、ゾーン延伸、再延伸、イオン制御紡糸、ゲル-ゾル転移紡糸、絡み合い紡糸などの幾つもの紡糸方法を組み合わせ、タンパク質分子を精密に制御させながら、繊維を常温で作っていることを明らかにした。

この実験結果により、生物の糸作りは単に、口から糸を吐き出すのではなく、カイコ自身の力で牽引する。多くの教科書や昆虫図鑑に書かれているのは間違いである。またクモのお尻から糸を吐くのではなく、クモの足や絹糸腺にあるポンプで押し出すことを明らかにした。

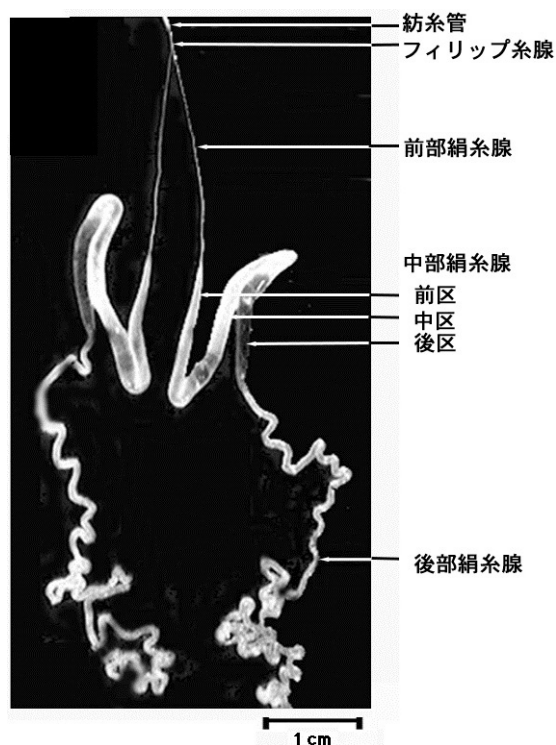


図1 カイコの体内にある絹糸腺（タンパク質を合成、貯蔵）

2) ゲル-ゾル転移紡糸

カイコ体内にある2本の絹糸腺でタンパク質が合成される。絹糸腺には後部絹糸腺、中部絹糸腺、前部絹糸腺の3つの器官に区分され（図1）、それぞれ特有の

タンパク質を合成する。後部絹糸腺ではシルクの原料となるフィブロインタンパク質が合成され、中部絹糸腺、前部絹糸腺を通過し、紡糸口で延伸されてシルクとなる。後部絹糸腺で作られたフィブロインの濃度は12%で、ゲルである。中部絹糸腺で濃度25%のゲルとなる。そこで、カイコ体内にある絹糸腺で作られた25%ゲル状の液状絹はゲル濃度が高いために、前部絹糸腺の細い管を通過出来ない。このために、カイコはゲル状の液状絹をゾルに変えることが必要である。

絹フィブロイン分子は、主に、グリシン、アラニン、セリンなどの疎水性アミノ酸から構成され、フィブロイン分子の両末端近傍に、アスパラギン酸、グルタミン酸、ヒスチジン、リシンなどの親水性アミノ酸から成っている。これらの親水性アミノ酸は電荷を持っている。絹フィブロインゲルは物理ゲルであり、その架橋点はフィブロイン分子鎖上の電荷による静電的な相互作用に依存している。カイコの絹糸腺内はカルシウムやカリウムイオンが存在し、絹糸腺中部から前部絹糸腺に移動するに伴い、無機イオンの濃度は増加する。フィブロインゲル中のイオン濃度の増加により、フィブロイン分子鎖上の電荷が遮蔽され、静電的な相互作用による架橋が破壊され、ゲル→ゾル転移を起こすことを解明した。

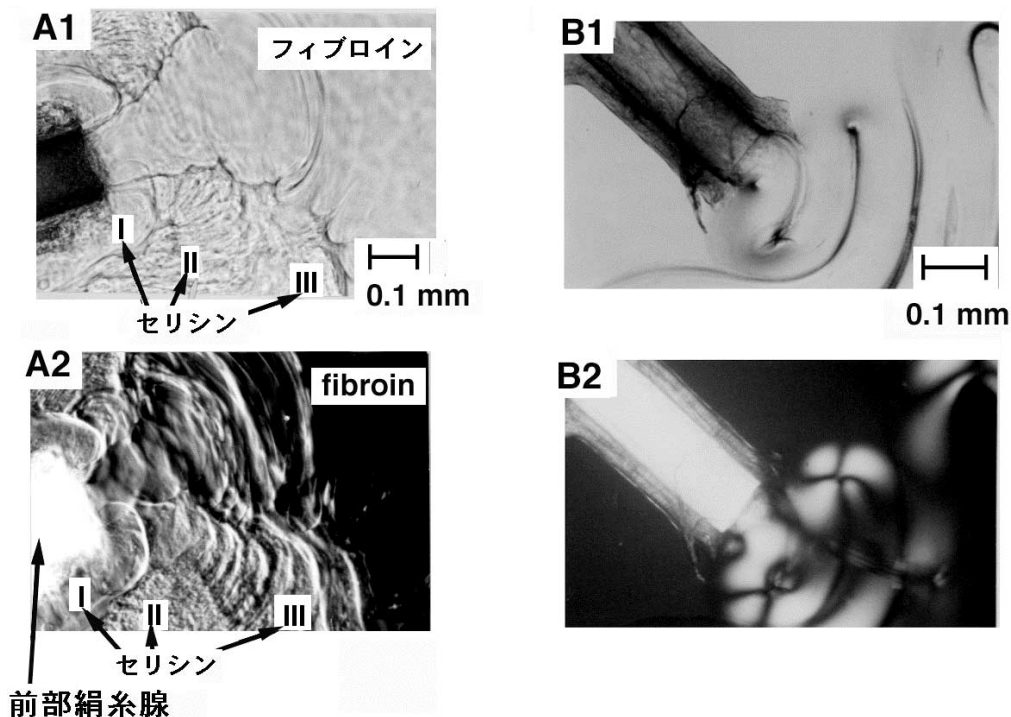


図2 家蚕と野蚕の前部絹糸腺の液状絹の液晶 A：家蚕、B：野蚕

3) 液晶紡糸

絹糸腺の液状絹を偏光顕微鏡で観察すると、結晶状態が見える。ゾル状の液状

絹が長い前部絹糸腺の管を通過するとき、合成高分子と同じように高分子が配向し、ネマチック液晶を形成、水に可溶であることから、ライオトロピックの液晶であることを明らかにした(図2)。さらに、家蚕以外の野蚕(楠蚕、エリ蚕、柞蚕、天蚕)やクモも液晶状態を形成することも明らかにした。

4) 乾式紡糸と多孔質紡糸

カイコの糸作りは湿式紡糸ではなく、乾式紡糸で行われている。中部絹糸腺では液状絹の中に約70%の水分が含まれている。この液状絹を延伸すると約65%の水分が蒸発する。この水分はカイコが繭を作るときに蒸発する。

紡糸中のカイコを液体窒素で凍結し、紡糸口を走査型電子顕微鏡で観察すると、水が入ったままの状態の繊維が観察された。この試料を乾燥させ、水分を蒸発させると、繊維が細くなっている。この水分が蒸発するために、多くの超微細な孔が形成される。

5) 自力紡糸

糸を作る準備が終わった段階で、カイコは何回かタンパク質を体内にあるポンプで接着のタンパク質を押し出す。紡糸口から押し出されたタンパク質は外部の身近な物質にセリシンを付着させ、それを原点にカイコの力でタンパク質を牽引する。カイコの頭部の運動で紡糸口から引っ張り出される。カイコの糸作りは絹糸を吐くのではなく、紡糸口からカイコ自身の力で、糸を引っ張り出すことを明らかにした。

6) セリシンの効果

フィブロイン繊維の周りを覆っているタンパク質、セリシンは内側と外側ではアミノ酸の組成が異なっている。内側のセリシンはフィブロインタンパク質をセリシンタンパク質を相分離する役目を果たし、外側のセリシンタンパク質はフィブロインタンパク質の流動を助けるボールベアリングの役目をするとともに、接着の役目をする。

7) 絡み合い紡糸

カイコの中の液状絹はせん断応力に対し、弱い応力でもすぐに繊維化する。このような繊維化の機構を解明するため、原子間力顕微鏡を用いて絹フィブロインタンパク質の分子および分子会合体の観測を行った。

希薄なフィブロインタンパク質水溶液を雲母基板上に展開、乾燥して分子を基板上に固定した後に観測を行った。その結果、フィブロインタンパク質分子は長さ60nmの剛直な棒状部分の両端に柔軟な紐状部分に取りつけられた形態をしていることが解明された。さらに分子同士はお互いの紐状部分の相互作用によって会合体を形成することも今回はじめて明らかにされた。

希薄な溶液においても容易に会合体を形成すること、さらに分子形態が棒状で

あるために長い繊維状の構造を自己組織的に形成すること、といった点が合成繊維とは異なっており、カイコの低エネルギー繊維形成を可能にしている。

8) 中空繊維

絹繊維の無機物を分析する過程で、絹の熱測定を行ったところ、繊維を加熱することにより、絹繊維の中央部分が空洞化することを観察した。加熱する温度は高温であると繊維全体が崩れるが、ある温度で保持すると繊維の中が空洞化することを見つけた。

9) 絹フィブロイン水溶液の炭酸ガスの影響

炭酸ガス雰囲気下にしたデシケーター中に、絹糸腺の各部分から作製した水溶液を放置した。放置前では透明な水溶液であるが、放置後には、白濁の凝集物が沈澱、またはゲル化する。これは、炭酸ガスが絹フィブロイン水溶液に溶解したためである。すなわち、空気中の炭酸ガスを絹フィブロイン水溶液中に取り込むことができた。

10) フィルム作製に及ぼす炭酸ガスの影響

窒素雰囲気下、炭酸ガス雰囲気下にしたデシケーター中で、絹糸腺の各部分から作製した水溶液をキャストし、放置後、デシケーターより取り出し乾燥固化させて、絹フィブロインフィルムを作製した。窒素雰囲気下に放置して作製したフィルムは、均一で透明である。炭酸ガス雰囲気下で作製したフィルムは、不均一、不透明で白濁している。炭酸ガス雰囲気下に放置することにより、絹フィブロイン水溶液が酸性となり、絹フィブロインが凝集する。このために脆く、不均一なフィルムが形成された。

11) 植物における構造形成

植物のプロトプラストと培養系に特定のイオンを添加することにより、細胞壁の外に向かってプロトプラストが巨大非セルロース繊維（カロース繊維）を生産し始めることを明らかにした。

3. 主な研究成果の発表（論文発表）

S. Inoue, J. Magoshi, T. Tanaka, Y. Magoshi, and M. Becker, Atomic Force Microscopy : *Bombyx mori* Silk Fibroin Molecules and Their High Order Structure, J. Polymer Science, Part B : Polymer Physics Vol. 38, 1436-1439 (2000)

T. Tanaka, J. Magoshi, Y. Magoshi, B. Lotz, S. Inoue, M. Kobayashi, H. Tsuda, M. Becker, Z. Han, and S. Nakamura, Spherulites of Tussah Silk Fibroin : Structure, Thermal Properties and growth Rate, J. Thermal Analysis & Calorimetry, Vol. 64, 1418-2874 (2001)

馬越淳、馬越芳子、生物紡糸 - カイコの紡糸、バイオメティックスハンドブック（エヌ・ティー・エス）1016-1021 (2000)

馬越淳、生物から学ぶ生体高分子の構造形成、繊維学会（繊維と工業）Vol. 5719
馬越淳、植物体のガラス転移と植物の保存、サイエンスフォーラム、49-54(2000)