

「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 上席研究官)

「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

本研究では、生物はエネルギーを極めて有効に用いてその構成成分である高分子を作っている。生物が巧みな方法で作る天然高分子の構造形成や高分子の精密分子配列制御について研究し、エネルギーミニマム型高分子システム技術開発の基礎を構築する。これまでの研究でカイコが行っている繊維形成は、液晶、複合、イオン制御、ゲル、自己凝集などの数十種類の紡糸方法を巧みに使い分けて、常温でシルクを作っていることを明らかにした。

カイコ体内の液状絹を希薄した溶液は単一分子鎖として存在せず、すべてクラスターとして存在し、そのクラスターが集り、カルシウム、カリウムなどの金属イオンの作用により大きな凝集状態を形成する。さらに、カイコは大気中の二酸化炭素を絹タンパク質の主鎖に固定していることを初めて実証した。

フィブロイン水溶液と結晶性セルロースとのブレンドフィルムの構造は結晶性セルロースの表面に絹フィブロイン分子がエピタキシャル成長をすること観察した。また、植物体から取り出したプロトプラストは過酷な条件下で細長いカロース繊維を形成し、平均繊維幅が $30.2\mu\text{m}$ で、 $2\mu\text{m}/\text{分}$ の速さで生産していることが分かった。

さらに、アミノ酸NCA重合について検討し、低温度で重合を行い、純度を上げることによって大きな単結晶が作成できることを見つけ出した。

これらの結果から、エネルギーミニマム型高分子システム技術開発の基礎を構築には、剛直な分子と柔らかい分子とから構成され、自発的に凝集、配向する高分子と液晶形成の秩序ある構造を持つことが必要である。

2. 研究実施内容

本プロジェクトは生物が常温で太陽エネルギーを巧みに利用し、生体高分子や超分子を作っている。この巧みな高分子構造形成を模倣し、高分子形成のシステムを構築するために、カイコ、木材などを研究材料として、カイコが作る高分子の構造形成、木材のカロース繊維の配列形成機構、低温でのアミノ酸合成などの研究を行い、低エネルギー高分子形成システム技術の基礎研究を行った。

カイコの繊維を作る方法は、合成繊維が模倣できないほど、巧妙に行っている。カイコが5齢になると後部絹糸腺で絹タンパク質を多量に合成し、中部絹糸腺で絹タンパク質が貯えられ、ゲル状となる。カイコが糸を紡糸するときに、金属イオンの作用でゲル→ゾル転移を起こし、流動配向で液晶状態となり、延伸によりタンパク質分子を配向させて繊維にする。カイコは合成繊維が行っている紡糸方法より数種類の紡糸（複合・液晶・捲縮・多孔質・高速・ゲル→ゾル転移・イオン制御・自力・自動制御・傾斜紡糸、ゾーン延伸、二酸化炭素固定、ボールベアリング）方法を巧みに組み合わせて、カイコ自身の力で液状タンパク質を牽引して繊維を作り上げている。

さらに、カイコが繭を作る時に、カイコが大気中の二酸化炭素を呼吸から取り込み、TCA(クエン酸、トリカルボン酸)回路を通して、絹タンパク質を構成しているアミノ酸の主鎖に相当するアラニン、アスパラギン酸、セリン、グリシンのカルボニル基と側鎖のアスパラギン酸の炭素として固定していることを見つけ出した(図1)。

低エネルギーでの高分子形成は絹フィブロイン分子の自己凝集が必要である。絹フィブロイン分子は容易に会合することが、原子間力顕微鏡で明らかとなった。そこで、フィブロインの単分子観察すると、分子の長さが60nmの剛直な棒状と柔らかい分子とで構成され、分子両端の相互作用によって会合体を形成し、高次構造を形成する。さらに、エリ蚕から得られたAFM像から織物状の高次構造が観察された。これは核ラミナの構成する高次構造と類似し、生体の構造形成に研究する上で非常に重要な発見である。

カイコのイオン制御を明らかにするために、カイコの絹フィブロインゲルを塩化カルシウム及び塩化カリウムの各濃度の溶液に浸して、フィブロインゲルの溶出量を測定した。それぞれ塩濃度の上昇と共に溶出量は減少し、一定濃度以上になると溶出量は再び増加した。また、この効果は塩化カルシウムの方が強かった。これらの減少はフィブロイン分子の構造が凝集するような分子構造をとることによるものである。

カイコ体内の液状絹は剪断応力によって容易に繊維形成を行う。このことを明らかにするために、低濃度の絹フィブロイン水溶液の動的光散乱とレオロジー測定を行った。カイコ体内から取り出した液状絹の希薄溶液は単一分子鎖として存在せず、すべてクラスターとして存在し、そのクラスターが集まることにより、さらに大きな凝集状態を形成し、この大きな会合体の形成には絹糸腺中に存在するカルシウム、カリウムなどの金属イオンの作用によるものであることを明らかにした。このことにより、カイコは非常に規則正しく構造形成を行っていることが分かった。カイコの繊維化機構の大きな流れが明らかとなり、カイコは巧妙な方法で繊維を作っていることが分かった。

繭糸内の金属イオンと熱特性を研究する中で、繭糸や生糸を燃焼する過程で中空糸が形成されることを見つけ出した。繭糸や生糸を300°Cで3時間熱処理をすると、直径約20 μ mの空洞が観察された。

フィブロインと異なる高分子をブレンドした時の凝集状態を調べるために、フィブロイン水溶液と結晶性セルロースとのブレンドしたフィルムを作成した。その固体特性を解明した結果、フィブロイン分子は結晶性セルロースの表面にエピタキシャル成長をするこ

とを見つけ出した。

木材における低エネルギー高分子形成機構を解明するために、植物細胞を用いて研究を行った結果、植物体から取り出したプロトプラストは過酷な条件下で細長いカロース繊維が形成されることを見つけ出した。カロース繊維は細胞外に向かって、平均繊維幅が $30.2 \mu\text{m}$ で、 $2 \mu\text{m/分}$ の速さで生産している。繊維はカロースの合成酵素の原形質膜上から繊維集合体を作り、その所から繊維構造を構築している。これはセルロースの生合成システムと類似していることが分かった。

生物はエネルギーを最小限にするために自発的な構造形成を行っている。この構造形成を模倣するために、モデル物質として合成高分子のポリシランについて研究を行った。白い蠟状の物質であるポリシランは $60\sim 70^\circ\text{C}$ では流動性のコレステリック液晶で、高温度にシフトすると、スメクチック相、ずりを加えると、配向フォーカルコニック組織へと変化し、自発的な構造形成が行われたことが分かった。

さらに、アミノ酸NCA重合について検討し、この重合方法は水分の影響を受け易いので、水の影響を少なくし、低温度で重合を行い、純度を上げることによって大きな単結晶が作成できることを見つけ出した。

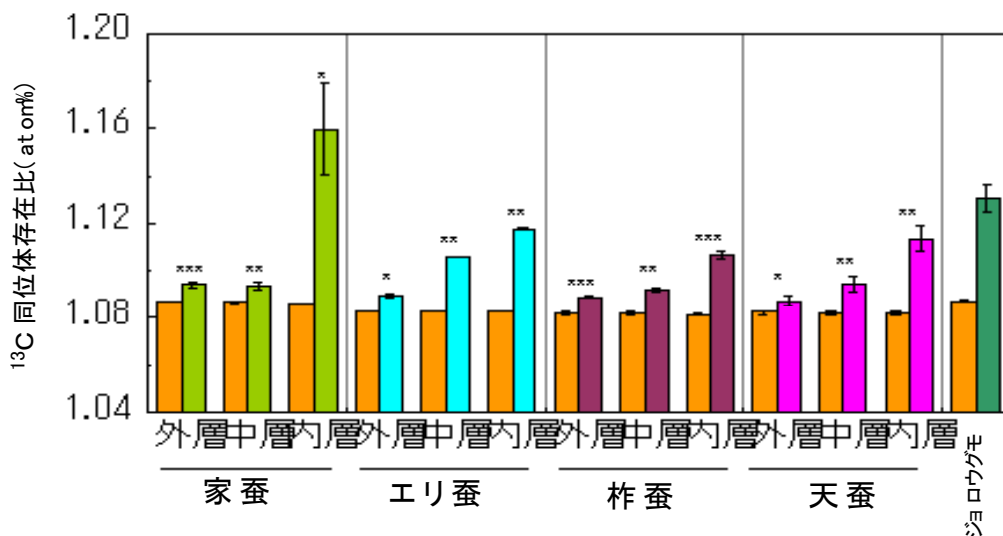


図1 質量スペクトル測定による絹糸中に含まれる ^{13}C 同位体存在比の変化、左側のカラムは対照実験の試料（大気中に放置して作製）で、右側のカラムは $^{13}\text{CO}_2$ 実験の試料（大気+ $^{13}\text{CO}_2$ ガスに放置して作製）。図中の外層、中層、内層とは、繭層を外側から3層に分別した試料。

3. 研究実施体制

天然蛋白質系高分子形成機構グループ

- ① 研究分担グループ長： 馬越 淳（農業生物資源研究所 室長）
- ② 研究項目： 低エネルギー高分子構造形成システム化

天然セルロース系高分子形成グループ

- ① 研究分担グループ長： 近藤 哲男（森林総合研究所、主任研究員）
- ② 研究項目： 低エネルギー高分子構造形成システム化

バイオリキッドクリスタルグループ

- ① 研究分担グループ長： 渡辺 順次（東京工業大学 教授）
- ② 研究項目： 低エネルギー合成高分子形成のシステム化

4. 研究成果の発表

(1) 論文（原著論文）発表

著者名	発表論文タイトル	掲載誌名	巻号頁	発行年
馬越 淳	Effect of processing temperature on the morphology of silkmembranes	Polymer	Vol. 43 3405-3413	2002年
馬越 淳	Smectic Liquid Crystal Observed in Thermotropic System of Rigid-Rod(γ -Otdadecyl L-glutamate)	Jpn. J. Appl. Phys.	Vol. 41 L720-L722	2002年
馬越 淳	THERMAL PROPERTIES OF SEED PROTEINS	J. Therm. Anal. Cal.	Vol. 70	2002年
馬越 淳	植物体の熱測定 Thermal Analysis of Plant	Netsu Sokutei	Vol. 29 No. 2	2002年
田中稔久	Thermal Properties of <i>Bombyx Mori</i> and Several Wild Silkworm Silks Phase Transition of liquid silk	J. Therm. Anal. Cal.	Vol. 70 825-832	2002年
田中稔久	Biospinning: Change of Water Contents in Drawn Silk	J. Poly. Science Part B: Polymer	Vol. 41 Issue 3 274-280	2002年
空閑重則	Influence of Reagent Addition on Carbodiimide-Mediated Amidation for Poly (Ethylene Glycol) Grafting	J. Appl. Poly. Science	Vol. 85 1349-1352	2002年

著者名	発表論文タイトル	掲載誌名	巻号頁	発行年
空閑重則	Mechanical Properties of Silk Fibroin-Microcrystalline Cellulose Composite Films	J. Appl. Poly. Science	Vol. 86 3425-3429	2002年
渡辺順次	Computation Analysis of Side Chain Conformations in Polyapartates Solids Exhibiting Reversible Helical Sense	Journal of Molecular Structuers	Vol. 610 197-205	2002年
渡辺順次	Enhancement of Twisting Power of Chiral Nematic Phase by an Introduction of Achiral banana-Shaped Molecules	Journal of American Chemical Society	Vol. 124 3354-3358	2002年
渡辺順次	液晶が演出する昆虫の美 －自然界のらせん構造－	現代化学	378 45-50	2002年
渡辺順次	AFM study of two-dimensional epitaxial arrays of poly(L-glutamate) with long n-alkyl side chains on Graphite	Mocromolecules		2002年
渡辺順次	バナナ型液晶分子－形が誘起する強誘電性とキラリティー	未来材料	Vol. 2 21-30	2002年
ホセン・カンダ ^カ ール サダ ^ト	Rheological Behaviors of Aqueous Solution of Silk Fibroin 絹フィブロインの水溶液のレオロジー	Journal of the Society of Rheology, Japan	Vol. 30, No. 5 289-294	2002年
ホセン・カンダ ^カ ール サダ ^ト	Rheology and Dynamic Light Scattering of Silk Fibroin Solution Extracted from the Middle Division of <i>Bombyx mori</i> Silkworm	Biomacromolecules	Vol. 3, No. 6 1187-1196	2002年

著者名	発表論文タイトル	掲載誌名	巻号頁	発行年
ホセン・カンタカ ール サダト	Dynamic Light Scattering of Native Silk Fibroin Solution Extracted from Different Parts of the Middle Division of the Silk Gland of <i>Bombyx mori</i> Silk worm	Biomacromolecules ASAP Article Published on web		2002年
ホセン・カンタカ ール サダト	Dilute Solution Properties of Regenerated Silk Fibroin	Journal of Physical ChemistryB		投稿中
張 函	Microstructure of Cocoon Fiber Treated at High Temperature	熱測定	Vol. 3, No. 2 87-88	2002年

(2) 特許出願

H14年度特許出願件数：0件（研究期間累積件数：5件）