

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：

「繊維形成初期過程の解析と分子構造制御」

研究開発機関名：

奈良先端科学技術大学院大学

研究開発責任者：

上久保 裕生

## 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

本研究開発では、クモ糸の紡糸工程に蛋白質に特徴的な自己組織化プロセスを導入し繊維特性を向上させることを目的とする。そのために、**クモ糸蛋白質が有する自己組織化能を評価**すると同時に、紡糸工程を最適化し、更に得られた知見を紡糸工程に適切にフィードバックするために、マイクロ/ミリ流路技術を活用することで、紡糸工程を模倣した**流体中でのクモ糸蛋白質前駆体形成・繊維形成の評価法の開発**を行うことを計画している。

平成 27 年度は、特に、クモ糸蛋白質の自己組織化能の評価に重点を置き、**①各種改変クモ糸蛋白質の自己組織化能を評価**し、アミロイド繊維形成に見られる繊維形成前駆体と類似した状態が存在するかどうかについて検証することを計画していた。さらに、繊維形成前駆体や繊維状凝集体の形成が確認された場合、これらの構造評価、並びに、紡糸への展開を実現することを目的とした、**②流体中での構造評価システムの構築**を開始することを計画した。

### 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

本開発研究を開始するにあたり、最も重要な課題はクモ糸蛋白質が自己組織化能を有するかどうかを検証することであった。もしなければ、抜本的に開発研究計画を変更する必要があった。そこで上半期は**①各種改変クモ糸蛋白質の自己組織化能を評価**に注力した。その結果、**2-2**に示すとおり、すべてのクモ糸蛋白質で階層的自己組織化能が確認された。この結果を受け、下半期は、計画通り全反射顕微赤外吸収顕微鏡と全反射蛍光顕微鏡を導入し、さらに**①**で得られたナノ粒子の構造評価のため、一部計画を変更し走査型プローブ顕微鏡を導入した。導入した装置を活用しクモ糸蛋白質の自己組織化的に形成された構造体の構造評価を進めると同時に、それらの**②流体中での構造評価に向けたシステム構築**を進めた。

#### 2-2 成果

27 年度は、主に、クモ糸蛋白質に対する代表的な貧溶媒である水中における、各種クモ糸蛋白質の自己組織化能の評価を行ってきた。その結果、ある特定の条件で**1. 繊維状の凝集体が形成されることを発見した**。また、**2. 前述の繊維状凝集体を形成するための条件検討を行い、安定性の高い繊維状凝集体を得ることに成功した**。

以上の結果は、*in vitro* の再構成系において、**クモ糸蛋白質が有する階層的自己組織化能を活用することで、より強い人工クモ糸を調製することが可能であることを強く示唆するものである**。**紡糸に応用可能なクモ糸蛋白質の自己組織化能の評価を平成 27 年度の達成目標として掲げていたが、期待以上の成果をあげることができたといえる**。

流体中での構造評価の目的に、上述の自己組織化的に形成される凝集体の構造評価を加え、主として凝集体の軸制御が可能なマイクロ流路の設計を進め、プロトタイプの作製を行った。ただし、繊維凝集体の作製条件の検討、及び、繊維状凝集体の構造評価を優先し、実際に解析に用いるマイクロ流路の作製は次年度へ繰り越すこととした。

### 2-3 新たな課題など

当該年度の開発研究において、当初期待した以上の成果が上がり、クモ糸蛋白質の階層的自己組織化を活用した紡糸プロセスの現実味が増してきた。そのため、当初計画していた以上に、クモ糸蛋白質の凝集体の形成条件、アミノ酸配列との関連性、さらに、詳細な構造の解析が必要になってきた。そのため、マイクロ流路を活用した流体中での構造評価システムの構築に遅れが生じている。次年度は、本開発研究に関与する人員を増強し、当初の計画を進められるようにする。

### 3. アウトリーチ活動報告

特になし。