

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27年度

研究開発課題名：

超高機能構造タンパク質の劣化解析研究開発

機関名：

北陸先端科学技術大学院大学

研究開発責任者：

谷池 俊明

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

本研究の目的は、超高機能構造タンパク質としてのクモ糸の劣化挙動を明らかにし、構造材としての安定性を確保する手段を確立することであり、平成 27 年度は以下の目標・計画を実施した。

- ① 超高機能構造タンパク質のフィルム成形、構造解析、劣化解析
 - i) 劣化解析や安定化に用いる無配向フィルムの成形条件を最適化する。
 - ii) クモ糸の化学・物理構造を同定する一連の分析法を確立する。
 - iii) 劣化時のクモ糸の化学・物理構造の変化を捉える一連の分析法を確立した後、種々の条件にて系統的な劣化試験の実施を開始する。
- ② 安定化剤の配合研究
 - iv) クモ糸に対して安定化剤のスクリーニングを行い、有効な安定化剤を少なくとも 2 種類発見する。
- ③ 構造性能相間の解明
 - v) クモ糸の構造情報と性能の相関を蓄積する。

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

項 1 のそれぞれの目標・計画に対する進捗状況を以下にまとめた。

- ① 超高機能構造タンパク質のフィルム成形、構造解析、劣化解析
 - i) 水/エタノール/ CaCl_2 を溶媒としてフィルム成形条件の最適化を完了した。
 - ii) 熱重量分析、赤外吸収・ラマン・X 線光電子分光、固体・溶液 NMR、X 線回折を含む一連の分析法の標準化を完了した。
 - iii) 上述の分析法を化学発光測定と併用することで、クモ糸の系統的な劣化解析が可能となった。粉末状試料を用いた熱酸化劣化試験を完了し、その分析を行った。
- ② 安定化剤の配合研究
 - iv) 化学発光測定を用いた大規模なスクリーニング試験を実施し、安定化剤として有効な分子構造を 2 種類発見した。
 - v) ii)-iv) で得られたデータを順調に収集し、その結果、粉末試料の精製過程と純度がクモ糸の安定性に大きく影響することを見出した。

2-2 成果

超高機能構造タンパク質の劣化解析に当って、大気下で安定かつ均質な無配向フィルムを調製する必要があった。将来的なプロセス設計の観点からドープ液に水/エタノール/ CaCl_2 を、洗浄液にメタノールを用い、キャストフィルムの調製条件を検討した結果、 CaCl_2 /タンパク質のモル比が 250-500 の範囲にある場合、比較的均質かつ安定なフィルムが得られることがわかった(図 1 左上)。モル比が低すぎる場合、タンパク質が十分に溶解せずフィルムが不均質になるが、モル比が高すぎる場合はフィルムのゲル化が不十分となり、フィルムが高湿度化にて潮解してしまう。また、抗酸化剤などの添加剤を、ドープ液を通してフィルムに混入する条件も確立した。

熱重量分析、赤外吸収・ラマン・X線光電子分光、固体・溶液 NMR、X線回折を含む一連の分析法の標準化を完了し、人工クモ糸粉末の品質管理法をプロジェクトに提供した。粉末の品質異常は、不純物の混入や劣化促進という観点からディスクの色味、赤外吸収スペクトル、化学発光挙動により検出可能であり（図1右上）、現在までに20種類程度の粉末分析を完了した。

恒温オープン中、乾燥空気下 200℃に置かれた人工クモ糸粉末の変性を各種分析法で追跡し、スペクトル変化と劣化時間の相関を系統的に分析することで劣化機構の完全解明を試み（図1左下）、上述の条件にける人工クモ糸の劣化に関する知見を得た。

上述の劣化機構を受けてクモ糸への各種抗酸化剤の添加による安定化を試みた。なお、抗酸化剤は粉末には湿式含浸、フィルムにはドープ液を通して添加した。化学発光を用いた一次スクリーニングによって、クモ糸の酸化劣化の抑制に効果を示す添加剤を選定した（図1右下）。

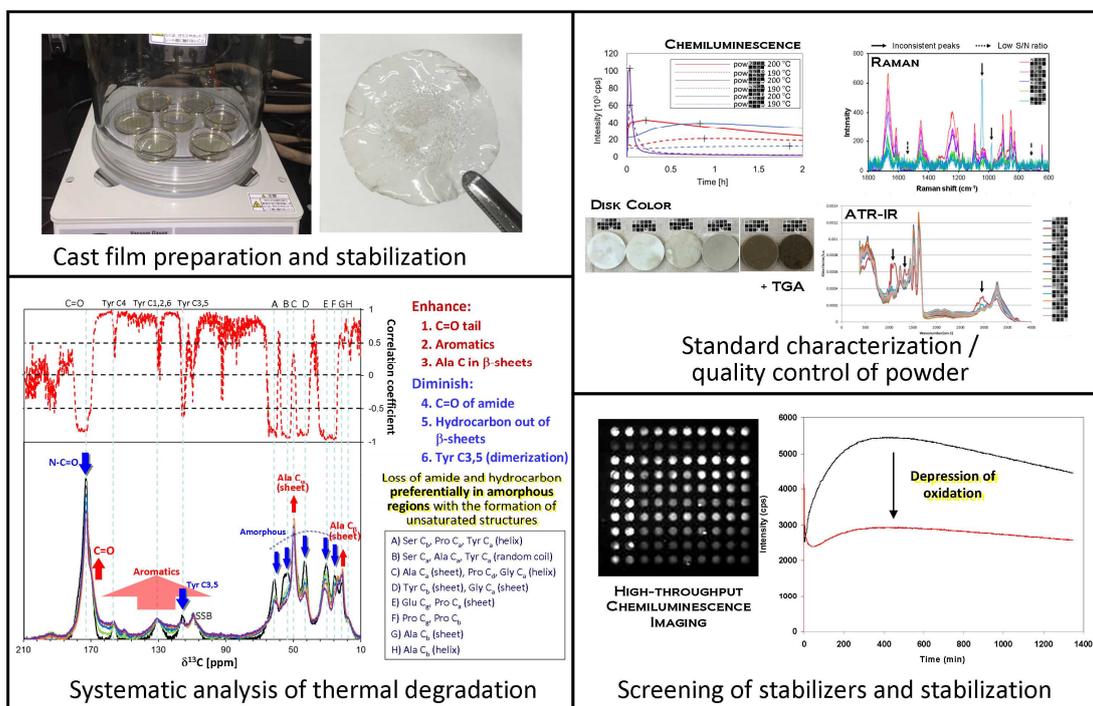


図1 平成27年度に得られた代表的な成果一覧

2-3 新たな課題など

人工クモ糸の分析過程で、不純物の混入や精製過程における劣化が粉末の安定性を大きく左右することがわかり、粉末試料の劣化解析・安定化も重要であることが判明した。これに伴い計画を一部修正し、人工クモ糸の成形前後での安定性を設計するという、より包括的な目標を設定した。

3. アウトリーチ活動報告

特に無し。