

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

PM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 8 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：既存蚕品種の中から特徴のあるものを選定して飼育し、生糸を繰製するとともに、生糸の物性・構造・電気特性・形状等について調査し、リスト化を図る。
- ・製糸条件等の検討：既存蚕品種を飼育して生産した繭を用いて、繭乾燥・煮繭・繰糸等の条件を変えて処理を行い、生糸の力学特性が最も有効と思われる処理法を探索する。
- ・生糸生産の準備、シルク素材の生産・確保：H27年に選定した蚕品種について、60万頭規模の飼育を行ない生糸を生産する。得られた生糸を用いて工業材料としての適性等を解析する。また、H29年度に飼育するための蚕種製造と飼育農家の確保等を行なう。

【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：力学物性等が改変された新たな遺伝子組換えカイコとして、ホーネットシルク含有シルク、長鎖クモ糸シルク含有の遺伝子組換えカイコを作出する。また、H27年度にクローニングした新規繊維タンパク質遺伝子について遺伝子組換えカイコ作製を行なう。新たに相同組換え法の確立に着手する。
- ・製糸条件等の検討：H27年度に続き、クモ糸シルク系統を飼育して生産した繭を用いて、繭乾燥・煮繭・繰糸等の条件検討を進める。
- ・クモ糸シルクの改良と、シルク特性のリスト化：H27年度に検討した高発現クモ糸シルク系統について、試験的生糸生産を行ない物性等の調査・リスト化を行なう。
- ・生糸生産の準備、組換えシルク素材の生産・確保：クモ糸シルク5万頭飼育を2回実施し生糸とする。得られた生糸を用いてクモ糸シルクの特性等解析し、工業材料としての検討を行なう。

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

昨年度実施できずに本年度に繰り入れた研究計画および、本年度の実施計画ともにほぼ順調に研究開発を進めたが、本年度の夏の気温が高かったために、生糸生産において、予定を下回る結果となった。

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

25品種について、試験結果および文献検索等により、生糸の力学物性等について調査した（表1）。

製糸条件等の検討

H27年度に引き続き、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。乾燥温度として、凍結乾燥・低温乾繭（80℃）・通常乾繭（115℃）とし、煮繭条件として、通常煮繭と真空煮繭を調査したが、生糸の物性はこれらの条件でほとんど変化がなく、工業利用生糸の調製条件としてはどの方法であっても得られる生糸に差異は無かった。一方、繰糸条件の検討により、従来の生糸を上回る強度を持つ生糸が得られた(図1)。

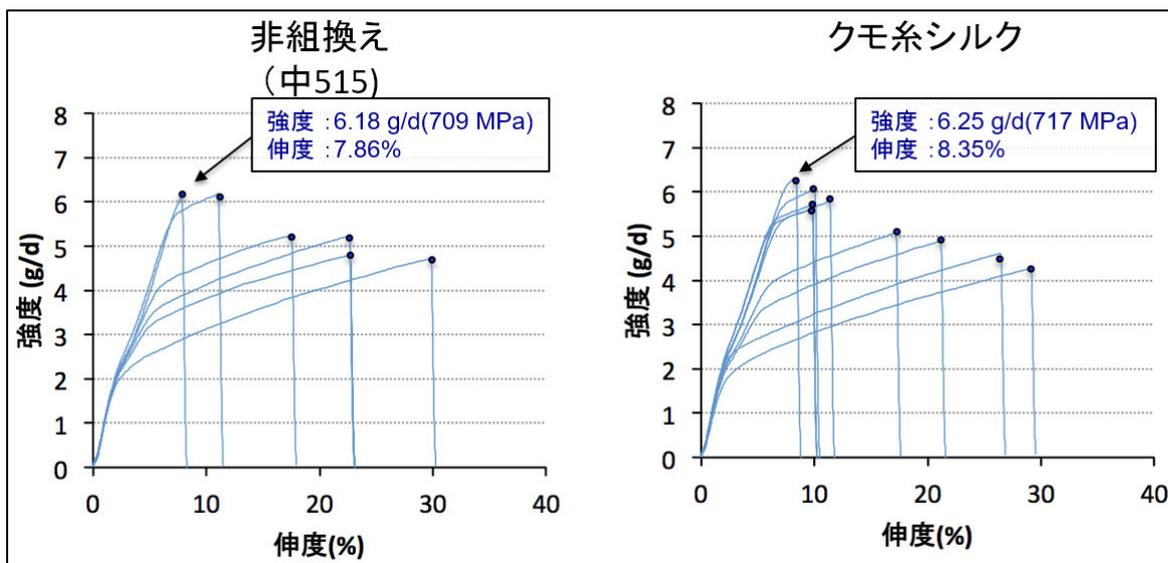


図1 繰糸条件の検討による生糸物性の改変

普通生糸（左）およびクモ糸シルク（右）の繰糸条件を変えることで、種々の力学物性を持つシルクをつくり出すことに成功した。クモ糸シルクを繰糸した際に最高強度の生糸が得られ、その強度は6.25g/d(717MPa)、伸度は8.35%であった。

生糸生産の準備、シルク素材の生産・確保

碓井製糸株式会社に委託して、「白麗」の生糸を調達した。計画では100kgの生糸を生産する予定であったが、低孵化歩合や成育不良などの影響により、生産生糸数量は52kgであった。不足分については、ぐんま200の生糸を約28kgを追加した。

また、H29年度に「白麗」の飼育委託をするために、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

高強度系統にクモ糸遺伝子を導入した遺伝子組換えカイコの実験を終了し、一部の系統についてタンパク質発現量と生糸の力学物性解析を終了した。その結果、

組換えタンパク質の発現量によらず、伸度が高い生糸が得られた。一方、強度については、もともと発現量が低い系統において、若干の強度向上が認められ、組換えタンパク質の発現量の増加に伴って生糸の力学物性が低下する傾向が認められた。特に組換えタンパク質発現量が高いカイコ系統では、著しい強度低下が認められた。(図2、表1)。

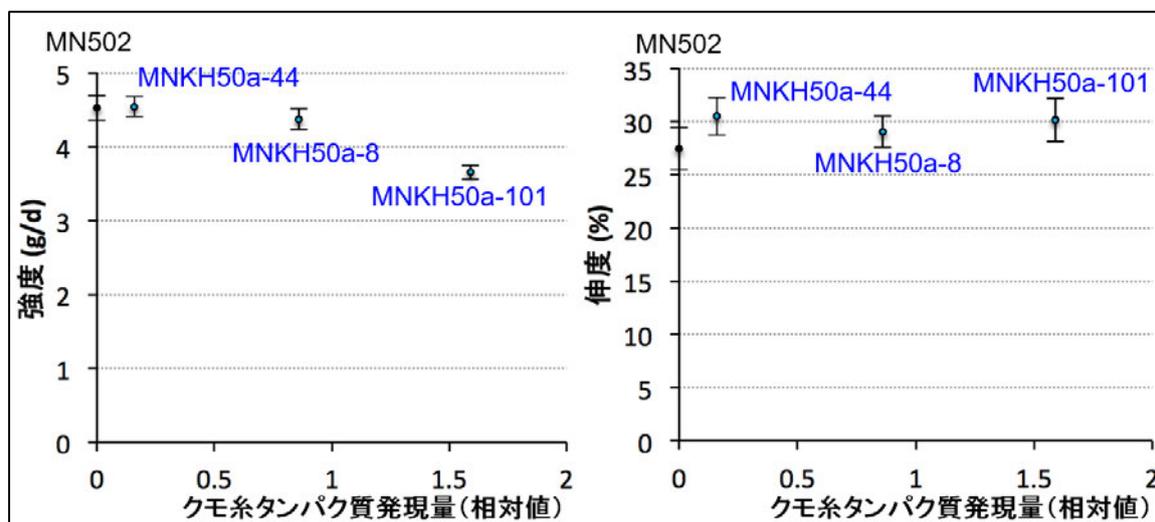


図2 クモ糸シルクの力学物性

クモ糸タンパク質の発現量 (x 軸) と、生糸の強度 (左) および伸度 (右) の関係。クモ糸タンパク質発現量が高いと、強度が低下するが、伸度は発現量にかかわらずやや高い。

長鎖クモ糸タンパク質導入カイコの作出では、これまでの4倍の長さのクモ糸タンパク質 (250kDa 程度) を構築し、遺伝子組換えカイコの作出に成功した。組換えタンパク質の発現解析等は、予定通り H29 年度に行う予定ある。

他種絹糸昆虫等からの遺伝子クローニングについては、ホーネットシルクを発現する遺伝子組換えカイコの作出を行ったが、生糸の力学物性に変化は認められなかった (表1)。他の絹糸昆虫等の繊維タンパク質遺伝子クローニングは随時進めている。

繰糸条件等の検討

クモ糸シルク生糸の調製については、前述の通常生糸の繰糸条件と同様に、繭の乾燥・煮繭条件は生糸物性に影響しなかった。一方、繰糸張力を変化させることで、高い強度を持つ生糸が繰製された (図1)。

クモ糸シルクの改良と、シルク特性のリスト化

クモ糸タンパク質の発現量が異なる3種類のクモ糸シルク系統を樹立して、力学物性等のシルク特性をリスト化した (表1)。また、他の組換えシルクについても、同様にリスト化した。

生糸生産の準備、組換えシルク素材の生産・確保

クモ糸シルクカイコを2回飼育した。低孵化歩合や成育不良の影響はあったが、生糸6kgを生産した。

2-3 新たな課題など

生糸の実用化担当参画機関への提供時期が期末にずれ込んだため、企業側からの生糸調製に関する聞き取りができなかった。これにより、H29年度に生産する生糸についての品種の調整ができず、H28年度と同様の「白麗」の生糸を生産する事とした。

クモ糸シルクの生産においては、当該品種は大量生産に於いては通常品種と比べ蚕種製造と飼育が困難（蚕卵の受精率が低い、幼虫の飼育期間が長い）であった。H29年度においては、本年度の飼育経験を活かして対応する予定である。

3. アウトリーチ活動

なし