

平成21年 4月 1日現在

研究種目： 基盤研究 (B)
 研究期間： 2006 ~ 2008
 課題番号： 18380041
 研究課題名 (和文) スパイダーシルクの開発

研究課題名 (英文) The development of the spider silk

研究代表者

中垣 雅雄 (NAKAGAKI MASAO)
 信州大学・繊維学部・教授
 研究者番号：70135169

研究成果の概要： 遺伝子組換え技術を用いて、各種の蜘蛛糸をカイコにおいて効率よく大量生産させるために、RNAi法を利用して、カイコ本来のフィブロイン遺伝子をノックダウンする方法を試したが、蜘蛛糸含量を高める効果が認められなかった。フィブロインを生産しない変異系統のカイコに遺伝子操作を行い、蜘蛛糸遺伝子を導入した。蜘蛛糸含量を高める効果があるかどうかを検討中である。

日本に生息するいくつかの蜘蛛について、その糸の力学的性状を調査するとともに糸遺伝子のcDNAライブラリーを作成した。そのcDNAライブラリー中に、蜘蛛糸の遺伝子配列をいくつか同定した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	6,300,000	1,890,000	8,190,000
2007年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2008年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫

キーワード：バイオテクノロジー、昆虫、蜘蛛、新素材、繊維

1. 研究開始当初の背景

スパイダーシルクは、高機能バイオ繊維として世界的に注目されている。蜘蛛糸は、高機能繊維として注目されているにもかかわらず、量産が難しいので、ほとんど利用されていない。

2. 研究の目的

遺伝子組換え技術を用いて、各種の蜘蛛糸をカイコにおいて効率よく大量生産させる

ことを目的とする。

スパイダーシルクが高機能バイオ繊維として世界的に注目されているにもかかわらず、ほとんど利用されていないのは量産が難しいからである。量産が難しい理由は、蜘蛛が肉食で、生きた餌しか食べず、共食いするので、蚕のように密集状態での大量飼育ができないためである。また、蜘蛛一匹あたりから一度に連続して採れる糸の量は、蚕ほど多くなく、蜘蛛がどの糸を出糸するかは蜘蛛の都合によるので、特定の糸だけを集めること

ができないためである。本研究は、遺伝子組換え技術を用いて、各種の蜘蛛糸をカイコにおいて効率よく大量生産させることを目的とする。カイコは、遺伝子操作を行う昆虫として好都合というだけでなく、産業用に蜘蛛糸を量産させる昆虫としても優れている。

3. 研究の方法

【蜘蛛糸含量を高める研究】

RNAi法を利用して、カイコ本来のフィブロイン遺伝子をノックダウンし、その効果を調査する。フィブロインを生産しない変異系統のカイコを利用する方法を検討する。

Bac-to-Bac/BmNPV Baculovirus expression system を用いた方法による蜘蛛糸フィブロインの発現についても調査研究した。

【日本独自の蜘蛛糸遺伝子の解析】

日本に生息するいくつかの蜘蛛について、その糸の力学的性状を調査するとともに糸遺伝子のcDNAライブラリーを作成し、蜘蛛糸の遺伝子配列を解明する。

4. 研究成果

RNAi法を利用して、カイコ本来のフィブロイン遺伝子をノックダウンする方法を試したが、蜘蛛糸含量を高める効果が認められなかった。フィブロインを生産しない変異系統のカイコに遺伝子操作を行い、蜘蛛糸遺伝子を導入した。蜘蛛糸含量を高める効果があるかどうかを検討中である。

Bac-to-Bac/BmNPV Baculovirus expression system を用いた方法による蜘蛛糸フィブロインの発現についても調査研究し、効率よく発現させることを確認した。

日本に生息するいくつかの蜘蛛について、その糸の力学的性状を調査するとともに糸遺伝子のcDNAライブラリーを作成した。そのcDNAライブラリー中に、蜘蛛糸の遺伝子配列をいくつか同定した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計11件)

① Hongxiu Wen, Xiqian Lan, Tingcai Cheng, Ningjia He, Kunihiro Shiomi, Zenta Kajiura, Zeyang Zhou, Qingyou Xia, Zhonghuai Xiang, Masao Nakagaki: Sequence structure and expression pattern of a novel anionic defensin-like gene from silkworm (*Bombyx mori*). Mol Biol Rep, 36(4), 711-716, 2009年、査読有

② 張 袁松, 清水 一彦, 塩見 邦博, 梶浦 善太, 中垣 雅雄: ジョロウグモ (*Nephila clavata*) 牽引糸タンパク質 MaSp1 遺伝子のcDNA クローニングおよびカイコフィブロイン遺伝子との配列解析. 蚕糸・昆虫バイオテック, 77 (1), pp.39-46, 2008年、査読有

③ Yuansong Zhang, Junhua Hu, Yungen Miao, Aichun Zhao, Tianfu Zhao, Dayang Wu, Liefeng Liang, Ayumi Miikura, Kunihiro Shiomi, Zenta Kajiura, Masao Nakagaki: Expression of EGFP-spider dragline silk fusion protein in BmN cells and larvae of silkworm showed the solubility is primary limit for dragline proteins yield. Mol Biol Rep., 35(3), 329-335, 2008年、査読有

④ Shiomi K, Fujiwara Y, Yasukochi Y, Kajiura Z, Nakagaki M, Yaginuma T.: The Pitx homeobox gene in *Bombyx mori*: Regulation of DH-PBAN neuropeptide hormone gene expression. Mol Cell Neurosci., 34(2), 209-218. 2007年、査読有

⑤ Yue W, Miao Y, Li X, Wu X, Zhao A, Nakagaki M: Cloning and expression of manganese superoxide dismutase of the silkworm, *Bombyx mori* by Bac-to-Bac/BmNPV Baculovirus expression system. Appl Microbiol Biotechnol., 73(1), 181-186. 2006年、査読有

⑥ Miao Y, Zhao A, Zhang Y, Nakagaki K, Meng Y, Zhao T and Nakagaki M: Silkworm, *Bombyx mori* larvae expressed the spider silk protein through a novel Bac-to-Bac/BmNPV baculovirus. J. Appl. Entomol. 130(5), 297-301. 2006年、査読有

⑦ Meng Y, Liu C, Zhao A, Shiomi K, Nakagaki M, Kajiura Z.: Vitellogenin gene organization of *Antheraea yamamai* and promoter activity analysis. Int. J. Wild Silkworm & Silk, 11, 29-40. 2006年、査読有

⑧ Meng Y, Liu C, Shiomi K, Nakagaki M, Banno Y, Kajiura Z.: Genetic variations in the vitellogenin of Japanese populations of the wild silkworm *Bombyx mandarina*. J. Insect Biotechnol. Sericol., 75, 127-134. 2006年、査読有

⑨ Zhao AC, Zhao TF, Nakagaki K, Zhang YS, Sima YH, Miao YG, Shiomi K, Kajiura Z, Nagata Y, Takadera M, Nakagaki M: Novel

molecular and mechanical properties of egg case silk from wasp spider, *Argiope bruennichi*. *Biochemistry*, 45(10), 3348-3356. 2006年、査読有

⑩ Zhao A, Zhao T, Sima Y, Zhang Y, Nakagaki K, Miao Y, Shiomi K, Kajiura Z, Nagata Y, Nakagaki M: Unique molecular architecture of egg case silk protein in a spider, *Nephila clavata*. *J. Biochem. (Tokyo)*, 138(5), 593-604. 2006年、査読有

⑪ Miao Y, Zhang Y, Nakagaki K, Zhao T, Zhao A, Meng Y, Nakagaki M, Park EY, Maenaka K.: Expression of spider flagelliform silk protein in *Bombyx mori* cell line by a novel Bac-to-Bac/BmNPV baculovirus expression system. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 71(2), 192-199. 2006年、査読有

[学会発表] (計16件)

① 長谷川 雄一郎, 奥村 稔, 東條 未樹, 中垣 雅雄, 長田 洋子: O-ホスホ-L-セリンがカイコガ *Bombyx mori* の成長に与える影響, 第79回日本蚕糸学会 (2009年3月、東京)

② 奥村 稔, 長谷川 雄一郎, 東條 未樹, 中垣 雅雄, 長田 洋子: カイコガ *Bombyx mori* における D-セリンレベルの成長に伴う変化, 第79回日本蚕糸学会 (2009年3月、東京)

③ 春原 萌、王 玉軍、佐内和美、中垣雅雄: ヒゲナガカワトビケラ絹糸腺からのセリンリッチのタンパク質について, 日本蚕糸学会中部支部第64回・東海支部第60回合同研究発表会(2008年11月、上田市)

④ 佐内和美、王 玉軍、春原 萌、中垣雅雄: ヒゲナガカワトビケラの二つのユニークなシルク様タンパク質の配列, 日本蚕糸学会中部支部第64回・東海支部第60回合同研究発表会(2008年11月、上田市)

⑤ 王 玉軍、佐内和美、春原 萌、中垣雅雄: ヒゲナガカワトビケラ由来糸ファイブリンH鎖のタンパク質について, 日本蚕糸学会中部支部第64回・東海支部第60回合同研究発表会(2008年11月、上田市)

⑥ Wen Hongxiu, Lan Xiqian, Shiomi Kunihiro, Kajiura Zenta, Nakagaki Masao: Production of silkworm defensinA in *Escherichia coli* by soluble fusion expression, 日本蚕糸学会中部支部第64

回・東海支部第60回合同研究発表会(2008年11月、上田市)

⑦ 王 玉軍, 佐内和美, 春原 萌, 中垣雅雄: THE PROTEIN OF AN AQUATIC TEXTILE FIBRE-(TRICHOPTERA: Stenopsychidae marmorata), 先端ファイバー材料及び加工技術国際会議, (2008年10月、中国、杭州) ポスター発表

⑧ 中島健陽・作道隆・藤本浩文・高田直子・中垣雅雄・嶋田透・土田耕三: クワコカロテノイド結合タンパク質遺伝子の解析. 日本蚕糸学会第78回大会, (2008年3月、名古屋市)

⑨ Wen Hongxiu, Lan Xiqian, Shiomi Kunihiro, Kajiura Zenta, Nakagaki Masao: Analysis of an Anionic Defensin-Like Gene from Silkworm, The 4th International Conference on Advanced Fiber/Textile Materials 2007 in Ueda. (2007年12月、長野県上田市) ポスター発表

⑩ Wen Hongxiu, Lan xiqian, Zhao Tianfu, Zhang Yuansong, Wang Yujun, Shiomi Kunihiro, Kajiura Zenta, Nakagaki Masao: Study on expression of spider silk in silkworm (*Bombyx mori*), The 4th International Conference on Advanced Fiber/Textile Materials 2007 in Ueda. (2007年12月、長野県上田市) ポスター発表

⑪ 王 玉軍 佐内 和美 塩見邦博・梶浦善太・中垣雅雄: 水中繊維化するヒゲナガカワトビケラのシルク蛋白質について, 日本蚕糸学会中部支部第63回・東海支部第59回合同研究発表会(2007年11月、岡谷市)

⑫ Wen Hongxiu, Lan Xiqian, Shiomi Kunihiro, Kajiura Zenta, Nakagaki Masao: Gene Properties and Transcriptional Profiles of a Defensin-Like Gene from Silkworm, 日本蚕糸学会中部支部第63回・東海支部第59回合同研究発表会(2007年11月、岡谷市)

⑬ 中島健陽、作道隆、藤本浩文、高田直子、前川秀彰、中垣雅雄、土田耕三: クワコのカロチノイド結合タンパク質遺伝子について. 日本分子生物学会2006フォーラム冬、(2006年12月、名古屋)

⑭ 及川美代子、斎藤公明、藤本浩文、屠振力、渡辺立子、山内恵美子、土田耕三、中垣雅雄、高田直子、前川秀彰: 温度処理を利用した放射線によるDNA損傷検出法の開発。日

本分子生物学会 2006 フォーラム冬、(2006 年 12 月、名古屋)

⑮ 前川秀彰、及川美代子、斎藤公明、藤本浩文、屠振力、渡辺立子、山内恵美子、土田耕三、中垣雅雄、高田直子：リアルタイム PCR 法を利用した新たな切断誘発確定法の提唱、第 49 回日本放射線影響学会、(2006 年、札幌)

⑯ 及川美代子、斎藤公明、藤本浩文、屠振力、渡辺立子、山内恵美子、土田耕三、中垣雅雄、高田直子、前川秀彰：リアルタイム PCR 法を利用した新たな切断誘発確定法の提唱。日本放射線影響学会第 49 回大会。(2006 年 8 月、札幌)

[その他]

中垣 雅雄：クモが出す糸の成分を蚕に組み入れ、強度や伸縮性に優れた「スパイダーシルク」を開発。BRAIN テクノニュース、第 128 号。2008 年 7 月、査読 無

中垣 雅雄：「夢のシルク『スパイダーシルク』について」，京都府織物・機械金属振興センター『織物ジョイント・フォーラム』講演会，2008 年 3 月，京都府京丹後市

中垣 雅雄：「お蚕にクモの糸を吐かせる」，放送大学講演会，2009 年 2 月，長野市

中垣 雅雄：「クモの糸からできるもの - 繊維は今」，塩尻公民館講演会(『塩尻時報』とその時代 V)，2009 年 2 月，上田市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中垣雅雄 (NAKAGAKI MASAO)
信州大学・繊維学部・教授
研究者番号：70135169

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし