科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号: 82111

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2015~2017

課題番号: 15K07803

研究課題名(和文)クロスズメバチ(地蜂)の巣を原料にして創る新シルク素材の開発

研究課題名(英文)Development study of Vespula silk as new silk material

研究代表者

亀田 恒徳 (KAMEDA, Tsunenori)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門・ユニット長

研究者番号:70334042

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文):繭、シルクと言えばカイコであるが、カイコ以外にも繭を作る昆虫は沢山いる。カイコの繭からは長尺のシルク糸が取れるが、カイコ以外の昆虫が作る繭から長尺糸を取ることは難しい。しかし、繭の使い方は糸を取って繊維利用するだけでなく、フィルム、ゲル、チューブなどのタンパク質素材としても利用できる。スズメバチの仲間であるクロスズメバチも幼虫が蛹になる直前に繭を作る。この繭から糸を取ることが難しいが、タンパク質素材として加工することができれば、新たな天然素材として使うことができるかもしれない。そこで本研究では、クロスズメバチのシルクの素材化に関する研究を行った。結果として素材利用可能であることが分かった。

研究成果の概要(英文): Silk fiber can be reeled from cocoons produced by Bombyx mori silkworm. Other than Bombyx more silkworm, many insects make a cocoon consisting of silk. For most of the cocoons of such insects, it is difficult or impossible to reel fibers. However, silk's attraction as a material does not end with the original spun fiber that can be reeled from a cocoon. Reconstituted or reconditioned silk liquid can be turned into various forms, such as films, gels, tubes, sponges, blocks and powders, which have found use in all manner of applications. Larvae of Vespula (Hymenoptera) wrap themselves into a silky cocoon to protect themselves during metamorphosis inside the cells of their comb-like nest. The objective of the present study is to develop a method to fabricate the film from Vespula silk.

研究分野: 昆虫利用学

キーワード: 昆虫新素材

1.研究開始当初の背景

申請者は、スズメバチの幼虫が作るシルク(以下ホーネットシルクと略す)の素材を世界に先駆けて成功し、カイコのシルクとは構造や物性が異なるこのシルクを新たな医療材料として応用することを目指してきた。ホーネットシルクの素材は、再生医療材料として、a)様々な形状に成形加工ができる、b)細胞が接着しにくい「細胞非接着活性」を示す、c)優れた耐熱性で乾熱法による滅菌が可能、といった特徴を示すことから、創傷被覆材、角膜再生材料、人工血管、神経再生材料等に応用できると考えていた。

最近ではウィルス製剤の室温乾燥状態における長期保存保護材としての有効性が見出され、さらにホーネットシルクのフィルムの低誘電率性、耐電圧性、成形加工性、優れた力学物性、耐熱性を利用して音響用のトランスを音響メーカーと共同で開発し、製品化した。

しかし、スズメバチは、右図に示すように、素材利用する上での問題点が幾つかある。一方、クロスズメバチ(Vespula 属)は、スズメバチ(Vespa 属)と近縁であるが、正確が比較的穏やかで扱いやすい。日本ではクロスズメバチを地蜂と呼んで親しみ、飼育(養蜂)して食用として重宝してきた。ヘボシルクは原料の安定供給が可能(クロスズメバチは飼うこと(養蜂)が可能)なので、ホーネットシルクで問題になってきた原料調達(ホーネットシルクの原料となる危険なスズメバチの巣を一体どのようにして安定に集めるのか)が問題にならない。以上のことからヘボシルクは成形加工と原料調達の両面から考えてホーネットシルクよりも実用向きである可能性が高い。

クロスズメバチはスズメバチと近縁であるから、クロスズメバチの幼虫が作るシルクは、ホーネットシルクと同様の性質を有しているのではないかと考え、クロスズメバチのシルク(クロスズメバチは方言でへボと言うので、ヘボシルクと命名)の構造や特性を調べることを考案した。

2.研究の目的

へボシルクの素材としての優位性を確固たるものにするために、ヘボシルクとホーネットシルクの物性の違いを「溶液物性を中心に」 徹底的に解明したい。これによってクロスズメ バチ巣からヘボシルクを抽出・精製する最適 条件と、フィルムやチューブ等の成形加工条件の最適化ができ、ヘボシルクが成形加工性に優れていることをアピールできる。また、フィルムの構造については、本研究遂行中に構造に関する新たな知見が得られたので、ホーネットシルクのフィルムに立ち返って、構造の詳細解析、およびフィルムの延伸過程における構造変化についても研究を加えた。

また、ヘボシルクとホーネットシルクは構成 タンパク質が良く似ているのに、なぜ、溶液物 性が異なるのか?』という学術的な疑問にも 目を向けたい。具体的にはヘボシルクの全ア ミノ酸配列を決定して、ホーネットシルクとの 構造の違いを見つけ出す。



3.研究の方法

へボシルクの溶液物性の解明については、 ヘボシルクを溶解する溶媒の探索、溶媒の安 定性評価、および不安定要因を解消するため の方法を検討した。また、成形物の構造は主 にX線と固体 NMR を用いて解析した。

4. 研究成果

クロスズメバチは、スズメバチと系統的にごく近縁であることから、『マユを構成するシルクのタンパク質はほとんど同じ』と考えてきた。実際にスズメバチのシルクタンパク質をコードす

る遺伝子と高い相同性が示された。また、両シルクにとっての良溶媒が同一であることもわかった。ところが、予想外にも、両シルクは溶液物性において大きな違いがあることが分かった。具体的には、ホーネットシルクは純水中ではすぐに固化してゲルになるが、ヘボシルクは純水中に溶解した状態を比較的安定に維持し、ほとんど固化しない。

ヘボシルクのゲル化温度はキイロスズメバチ のホーネットシルクよりも20°C以上高く、また、 コガタスズメバチやヒメスズメバチのホーネット シルクよりも 10°C 以上高いことがわかり、ゲ ル化しにくいことがわかった。ヘボシルクとホ ーネットシルク は遺伝子の相同性が高いこと がわかっており、上述のヘボシルクとホーネッ トシルクの違いは、シルクタンパク質のアミノ酸 配列のわずかな違いに起因していると予想し、 ヘボシルクのアミノ酸配列解析を行った。その 結果、分子鎖の基本構成は類似しているもの の、幾つかの差異が認められた。この差異と、 ゲル化物性の関係については、本研究期間 での解明は達成できず、引き続き研究を進め ていく必要がある。ゲル化温度以下で透析し たヘボシルクは シート含量が少ないことが 固体 NMR からわかった。二次構造の安定性と アミノ酸 配列との関係についても、遺伝子解 析を通じて明らかにできる可能性が示唆され た。

また、ヘボシルクとホーネットシルクがゲルフィルム形成時に共通して形成しているコイルドコイル構造について詳細な研究を行った。サンプルは、構造の変化が明瞭に測定することができたキイロスズメバチのホーネットシルクで作製したゲルフィルムを利用した。ゲルフィルムを延伸する過程での構造変化を放射光X線で測定した結果、フィルム中で形成されたコイルドコイル構造は、延伸に伴ってクロスシート構造へ転移することが分かった(下図)。

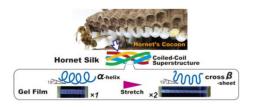


図 4本の ヘリックス鎖から成るホーネットシルクは、延伸によってクロス シート構造へと転移する。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

Taiyo Yoshioka, <u>Tsunenori Kameda</u>, Kohji Tashiro, Noboru Ohta, and Andreas K. Schaper, "Transformation of Coiled

-Helices into Cross--Sheets Superstructure", Biomacromolecules, 2017, 18, 3892-3903.

[学会発表](計 3 件)

<u>Tsunenori KAMEDA</u> and Taiyo YOSHIOKA, "Fibrous silk with coiled coil superstructure produced by the larvae of hornets and its application to useful materials"

8th International conference on wild silk moths, 22nd-24th January 2018, Guwahati, India

Tsunenori KAMEDA, "Fibrous silk with coiled coil superstructure produced by the larvae of hornets and its application to useful materials", Alpbach Workshop, Coiled-coil, Fibrous & Repeat Proteins (国際学会), 2017

<u>亀田恒徳</u>、吉岡太陽「コイルドコイル構造を 有するホーネットシルクの固体 NMR 構造解 析」高分子学会(神奈川)、2016 年 09 月 14 ~16 日

[図書](計 1 件)

K. Yukuhiro, H. Sezutsu, T. Tsubota, Y. Takasu, <u>T. Kameda</u>, N. Yonemura, "Extracellular Composite Matrices in Arthropods", Springer 2016, p41.

〔その他〕 ホームページ等

https://researchmap.jp/hornetsilk/

http://www.naro.affrc.go.jp/collab/rese
archer_profile/laboratory/nias/079449.h
tml

6.研究組織 (1)研究代表者

亀田 恒徳(KAMEDA TSUNENORI)

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 新素材開発ユニット・ユニット長

研究者番号:70334042