

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05250

研究課題名(和文)再生シルクタンパクを原料とする高タフネスシルク素材の創製

研究課題名(英文)Fabrication of high-toughness silk-fibers from regenerated silk proteins

研究代表者

吉岡 太陽 (YOSHIOKA, TAIYO)

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・上級研究員

研究者番号：90596165

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、再生シルクタンパク質から天然シルクの力学物性に匹敵する強く丈夫な繊維を人工的に紡糸するための技術を確立することである。最初に、様々な天然シルクの階層構造を詳細に解析し、それらに共通するフィブリル階層構造の詳細を定量的に解明することで、人工紡糸で目指すべき階層構造の指針を明確にした。次いで、フィブリル階層構造の形成過程を調べ、絹糸腺内部でのナノフィブリル前駆体・自己組織化形成とその集合化を定量的に捉えることに成功した。これら天然シルクの構造形成に関する知見を紡糸技術に模倣・取り込むことで、天然繊維の力学物性に近付ける紡糸技術の改善を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

持続可能社会の実現に向け、優れた力学特性を有する再生可能資源「シルク」が次世代構造材料の分野より注目を集めている。シルクの大量生産に向け、人工シルクタンパク質の創製が世界中で進められており、その紡糸技術の開発が急務とされている。本研究では、構造材料として実用化可能な力学特性を備える人工シルク繊維を紡糸するための技術開発を目的とした。本研究で得られた成果は、人工シルクタンパク質の紡糸技術としても応用可能であり、持続可能社会の構築、脱石油社会への実現など、SDGsに貢献する成果である。

研究成果の概要(英文)：Silk, which is a renewable resource with excellent mechanical property, is attracting attention from the field of next-generation of structural materials. In order to realize mass production of silk, the creation of artificial silk protein is being promoted all over the world, and therefore the development of its spinning technology is urgently required. The purpose of this study is to develop the artificial spinning technology giving artificial silk fibers with comparable mechanical property with native silks. In this study, first, a detailed structural analysis for various silks was carried out and then the structural formation process was investigated. Finally, an artificial spinning system was developed by mimicking the structural formation mechanism learned from the native silks. The achievements in this study is expected to contribute to accelerate the realize of sustainable society.

研究分野：高分子・繊維材料科学、シルク素材科学

キーワード：シルク 高タフネス繊維 階層構造 X線構造解析 紡糸 構造制御 構造材料 持続可能社会

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

持続可能社会構築に向けた脱炭素・脱石油への取り組みを加速させるため、様々な材料分野にて、再生可能資源を利用した材料開発への転換が必須となっている。カイコ絹糸やクモの糸に代表される、生物がタンパク質から創り出す糸「シルク」は、再生可能資源であるとともに、硬さ（初期弾性率）、強さ（破断強度）、柔らかさ（破断伸度）のバランスに優れ、破断までに吸収可能なエネルギー（タフネス）がスチールや炭素繊維よりも一桁以上高いことから、耐衝撃吸収能を要する構造材料への応用が強く期待されている。一方、構造材料分野での実用化達成には、量産化が不可欠であり、近年クモの糸を中心に、人工シルクタンパク質の創製とその繊維化技術の開発が世界的に競われている。すでに、様々なグループが遺伝子組換え技術を利用した人工シルクタンパク質の創製に成功する一方、繊維化技術の開発は大きく遅れ、これまでのところ天然シルクに匹敵する人工紡糸シルクの創製に成功した例は報告されていない。同様の問題は、天然シルク繊維を溶解させて得られる再生シルク溶液からの紡糸でも認められる。これらの事実は、カイコやクモが繊維化過程で難なく付与するタンパクの「階層構造」を、人工シルクや再生シルクタンパクを用いて人工的に再現することが困難であることを示している。次世代構造材料としてシルクを広く普及させるためには、シルクタンパク質の人工紡糸技術、すなわち構造制御技術の開発が避けて通れない課題となっていた。

本研究代表者らは、カイコ絹糸を溶解させた再生シルクフィブロイン (RSF) 溶液から天然絹糸の力学物性に匹敵する人工シルク繊維の紡糸技術の開発を目的とし、とくに、天然絹糸の階層構造の再現を課題に、天然繊維の精密構造解析とその構造を再現するための制御技術の開発を中心に研究を進めてきた。その結果、フッ素置換アルコールを溶媒として用いることで RSF のヘリックス形成と、引き続きヘキサゴナルパッキング集合体形成を誘導できることを見出した。さらに、その状態から加熱延伸を施すことで、天然繊維の結晶配向度を超える高配向性繊維をつくり出すことに世界で初めて成功し、結果、天然シルクの弾性率を超えることに成功した [1]。一方で、破断強度は天然繊維の 30%程度と劣り、破断強度の顕著な上昇が課題として残っていた。また、得られる繊維の長さは 20~30cm 程度と短く、全ての工程が人の手による非連続的な生産方法であった。

【天然シルク】弾性率: 5.9(GPa), 破断強度: 467(MPa), 破断伸度: 23(%)  
【2016年時点の人工紡糸繊維】弾性率: 6.0(GPa), 破断強度: 159(MPa), 破断伸度: 29(%)

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、絹糸（シルク）を溶解させて得られるシルクタンパク溶液（再生シルク）から天然シルクの力学物性に匹敵する高弾性・高強度・高伸度の高タフネス再生シルク繊維を創製するための構造制御技術（すなわち、人工紡糸技術）の開発である。本目的が達成されれば、着古された絹衣料品の再利用に加え、人工シルクタンパク質を用いた繊維化技術の向上に繋がるなど、持続可能な脱石油社会への大きな貢献が期待される。

### 3. 研究の方法

シルクの構造制御技術の確立に向け、様々な絹糸昆虫シルクが生み出す天然シルク繊維の階層構造の把握と、その形成過程を解明し、その模倣を紡糸技術に取り込むことを方針とした。その際、以下二つの問いを重視した。

- (i) 絹糸昆虫は吐糸過程で如何にタンパクを操り、階層構造をつくり上げるのか？
- (ii) 我々は、その階層構造形成プロセスをどのように模倣し得るのか？

#### 実験 1) 天然シルク繊維の階層構造解析

カイコ、エリサン、ミノムシの糸について、広角および小角 X 線散乱 (WAXS, SAXS) 解析により繊維の階層構造を調べた。必要に応じ、放射光施設 (SPring-8、兵庫県播磨) の高輝度放射光 X 線を利用した。これまでシルクでは知見が皆無であった SAXS 解析を重点的に実施し、定量的な階層構造の把握を目指した。

#### 実験 2) 吐糸前の絹糸腺内部で生じる階層構造形成の追跡

上記三種の絹糸昆虫について、解剖により絹糸腺を摘出し、吐糸前のシルクタンパク質の構造形成を、SAXS 解析により時分割で追跡した（必要に応じ、放射光 X 線を用いた）。

#### 実験 3) 天然模倣を取り入れた人工紡糸

実験 1, 2 より得られた構造情報をもとに、シルクの天然吐糸模倣を取り入れた紡糸条件の検討を行った。得られた繊維の物性、構造解析を行い、紡糸条件の改善を重ねた。

#### 4. 研究成果

##### (1) 天然シルクのフィブリル階層構造

小角 X 線散法を駆使することで、カイコ、野蚕、ミノムシの糸がいずれもフィブリル階層構造からなることを定量的に証明した。これまで、顕微鏡観察を中心に様々なシルクでフィブリル階層構造の存在が報告されてきたが、定量評価はなされていなかった。本研究では、各階層の構造スケール（すなわち、ナノフィブリルからマイクロフィブリルまでの構造スケール）を定量的に決定し、さらにナノフィブリル同士の集合様式（フィブリルパッキング様式）を決定することに成功した [2-4]。これにより、人工紡糸での構造制御で目指すべき指針を明確にした（カイコ絹糸について決定したフィブリル階層構造の定量モデルを図 1 に示す）。なお、本研究で得られた重要な知見の一つとして、様々なシルクのナノフィブリル径は絹糸昆虫の種類や糸の直径に関わらず 4.5~4.8nm 程度と共通していることを見出した [2-4]。このことは、人工紡糸技術の開発において基本指針とすべき模倣点であると考えられる。

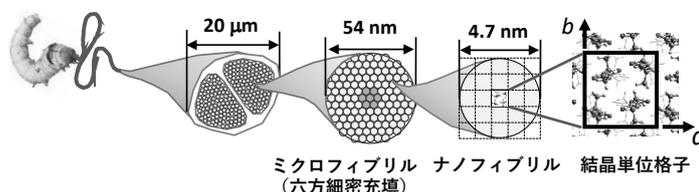


図 1 カイコ絹糸のフィブリル階層構造

##### (2) 絹糸腺内部でのフィブリル階層構造前駆体形成

様々なシルクに共通するフィブリル階層構造の形成と、その最小構造単位であるナノフィブリル直径を上記 1) で明らかにした。ここでは、ナノフィブリル構造が天然吐糸のどの過程で生じるかを調べた。カイコの前部絹糸腺について、乾燥過程の小角 X 線散乱時分割解析を行った結果、乾燥過程でナノフィブリルの前駆体と考えられる絹糸腺長さ方向に配向した液晶形成が確認され、乾燥とともに、フィブリル前駆体は集合し、やがて吐糸後の繊維の構造で確認されたヘキサゴナルパッキング (図 1 参照) を形成することを明らかにした (図 2) [5,6]。絹糸腺内部でのフィブリル集合体形成の観測は初めてであり、人工紡糸技術で目指すべき構造模倣の指針を強く示した。

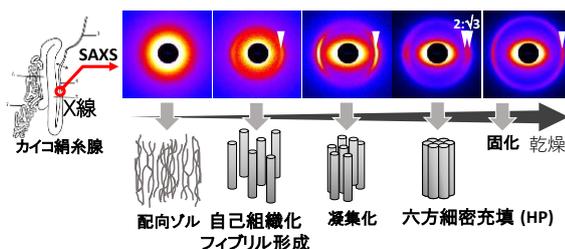


図 2 カイコ絹糸腺内部での自己組織化構造形成

##### (3) 人工紡糸技術の開発

上記 1, 2) より、人工シルク紡糸の構造制御において、ノズルから吐糸される以前に如何にナノフィブリル前駆構造を形成させ、さらにその集合体を形成させられるかが鍵であることが示された。フッ素置換アルコールを RSF の溶媒として用いることで、フィブロインタパクの  $\alpha$ -ヘリックス誘導、さらには引き続くヘリックス同士のヘキサゴナルパッキング誘導が可能であることを本科研費開始時点で明らかにしていた。ただし、 $\alpha$ -ヘリックスを維持したまま配向性を付与することには成功しておらず、したがって、上記 2) で明らかにした絹糸腺内部での配向構造形成とは大きな差異があった。そこで、本研究では、ノズル長を長くし、ノズルから吐糸される前の緩やかな流動時間を稼ぐことで、 $\beta$ -シート構造への転移を伴わない配向  $\alpha$ -ヘリックス構造を与えることに成功し、加熱延伸前の配向  $\alpha$ -ヘリックス繊維の作製に成功した。これにより、引き続く加熱延伸を行うことにより、研究開始時の強度を 40%以上増加させることに成功し、天然繊維の 50%となった。また、開始当初は 20~30cm の短繊維しか得られな状況であったが、本研究により 1 時間以上の連続紡糸が可能となるシステムを構築し、長繊維の作製が可能となった (図 3)。



図 3 人工紡糸 RSF 繊維

【最終到達人工紡糸繊維】弾性率:7(GPa)、破断強度:230(MPa)、破断伸度:12(%)

##### (4) まとめ

本科研費の実施により、様々なシルクの階層構造を定量的に明らかにし、その階層構造が形成される様子を明らかにした。本研究で得た知見の人工紡糸技術への模倣を戦略とし、初期弾性率が天然を超え、かつ、強度が 50%の繊維を長繊維として 1 時間以上紡糸する技術を確立した。引き続き天然模倣の向上に努めることで、天然吐糸に迫る更なる紡糸技術の改善を進めていく。

<引用文献>

- [1] Taiyo YOSHIOKA, Kohji TASHIRO, Noboru OHTA (2016) Molecular Orientation Enhancement of Silk by the Hot-Stretching-Induced Transition from  $\alpha$ -Helix-HFIP Complex to  $\beta$ -Sheet, *Biomacromolecules* 17: 1437-1448.
- [2] Taiyo YOSHIOKA, Takuya TSUBOTA, Kohji TASHIRO, Akiya JOURAKU, Tsunenori KAMEDA (2019) A Study of the Extraordinarily Strong and Tough Silk Produced by Bagworms, *Nat. Commun.* 10: 1469.
- [3] Taiyo YOSHIOKA, Tsunenori KAMEDA (2020) Hexagonal Packing of Nanofibrils in *Bombyx mori* Silkworm Silk Revealed by Small-angle X-ray Scattering Analysis, *J Silk Sci. Tech. Jpn.* 28: 129-135.
- [4] Taiyo YOSHIOKA, Tsunenori KAMEDA (2019) X-ray Scattering Analyses Quantitatively Revealed Periodic Hierarchical Structure of Polyalanine  $\beta$ -sheet and Non-polyalanine Amorphous Domains in *Antheraea assamensis* (Muga) Silk, *J. Silk Sci. Tech. Jpn.* 27: 95-101.
- [5] 吉岡太陽, 亀田恒徳 (2020) シルクのナノフィブリル構造とその構造形成機構. 2020 年繊維学会秋季研究発表会 (口頭発表) .
- [6] 吉岡太陽, 亀田恒徳 (2020) 放射光 X 線散乱法に基づくシルク・ナノフィブリル構造形成機構の追跡. 第 69 回高分子討論会 (依頼講演) .

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kelvin O. Mosesti, Yoshioka Taiyo, Kameda Tsunenori, Nakazawa Yasumoto	4. 巻 24
2. 論文標題 Structure Water-Solubility Relationship in $\alpha$ -Helix-Rich Films Cast from Aqueous and 1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-Propanol Solutions of S. c. ricini Silk Fibroin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 3945 ~ 3945
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules24213945	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kelvin O. Mosesti, Yoshioka Taiyo, Kameda Tsunenori, Nakazawa Yasumoto	4. 巻 24
2. 論文標題 Aggregation State of Residual $\alpha$ -Helices and Their Influence on Physical Properties of S. c. ricini Native Fiber	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 3741 ~ 3741
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules24203741	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Yoshioka Taiyo, Kameda Tsunenori	4. 巻 28
2. 論文標題 Hexagonal Packing of Nanofibrils in Bombyx mori Silkworm Silk Revealed by Small-angle X-ray Scattering Analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Silk Sci. Tech. Jpn.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yoshioka Taiyo, Tsubota Takuya, Tashiro Kohji, Jouraku Akiya, Kameda Tsunenori	4. 巻 10
2. 論文標題 A study of the extraordinarily strong and tough silk produced by bagworms	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-09350-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshioka Taiyo, Kameda Tsunenori	4. 巻 27
2. 論文標題 X-ray Scattering Analyses Quantitatively Revealed Periodic Hierarchical Structure of Polyalanine Beta-sheet and Non-polyalanine Amorphous Domains in Antheraea assamensis (Muga) Silk	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Silk Sci. Tech. Jpn.	6. 最初と最後の頁 95-101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉岡太陽	4. 巻 76
2. 論文標題 シルク繊維の高タフネス性発現機構に関する研究	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 繊維学会誌	6. 最初と最後の頁 372-376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉岡太陽	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 高タフネスシルクの階層構造：アミノ酸配列からフィブリル構造まで	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 繊維機械学会誌	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 吉岡太陽、亀田恒徳、坪田拓也、上樂明也、田代孝二
2. 発表標題 ミノムシの糸の強さの解明
3. 学会等名 令和元年度繊維学会年次大会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Kelvin O. Mosefi, Taiyo YOSHIOKA, Tsunenori KAMEDA, Yasumoto NAKAZAWA
2. 発表標題 A mild dissolution strategy for cocoon silk from the non-mulberry silkworm, <i>Samia cynthia ricini</i> .
3. 学会等名 令和元年度繊維学会年次大会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 吉岡太陽、亀田恒徳
2. 発表標題 強くタフなシルクを与えるアミノ酸配列の条件
3. 学会等名 第68回高分子討論会（招待講演）
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 吉岡太陽、亀田恒徳
2. 発表標題 ミノムシルク
3. 学会等名 第68回高分子学会年次大会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 吉岡太陽
2. 発表標題 放射光X線解析から分かってきたシルクの高タフネス発現における階層構造の役割
3. 学会等名 第67回高分子討論会（招待講演）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 吉岡太陽、亀田恒徳
2. 発表標題 シルクの力学特性における階層構造の役割
3. 学会等名 平成30年度繊維学会年次大会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 Taiyo Yoshioka, Tsunenori Kameda, Kohji Tashiro
2. 発表標題 Structural change and its effect on the mechanical property of silk induced by tensile deformation
3. 学会等名 The Fiber Society's Spring 2018 Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 吉岡太陽、亀田恒徳、浅沼章宗
2. 発表標題 新しいシルク：ミノムシシルク！
3. 学会等名 医工連携フォーラム2019
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Taiyo Yoshioka, Tsunenori Kameda
2. 発表標題 Relationships between protein amino acid sequence, hierarchical structure and mechanical deformation behaviour of <i>Antheraea assamensis</i> (Muga) silk
3. 学会等名 The 6th Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Taiyo Yoshioka, Tsunenori Kameda
2. 発表標題 Strongest and toughest new silk: bagworm silk!
3. 学会等名 The 6th Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------