

新たな天然系高分子材料開発のための
 遺伝子組換えシルク単繊維の結晶弾性率評価(2)
**Elastic Modulus of the Crystalline Regions of Genetically Modified Silk
 Single Fiber for Development of Novel Polymeric Materials (2)**

小寺 賢^a, 高橋 健太^a, 天藤 理^a, 小林 一稔^b, 玉田 靖^c
 Masaru Kotera^a, Kenta Takahashi^a, Tadashi Tendou^a, Kazutoshi Kobayashi^b, Yasushi Tamada^c

^a神戸大学大学院工学研究科, ^b日立化成工業(株), ^c(独)農業生物資源研究所
^aGRADUATE SCHOOL OF ENGINEERING, KOBE UNIV., ^bHITACHI CHEMICAL CO.,LTD.,
^cNATIONAL INSTITUTE OF AGROBIOLOGICAL SCIENCES

X線回折法により、遺伝子組換えシルク単繊維の結晶弾性率(E_l)測定を行った。その結果、 E_l 値として18.3GPaが得られ、これは組換え操作前の15.5GPaと比較し約1.2倍大きな値となった。このことから、組換え操作を施したカイコからは、より高強度・高弾性率シルク繊維が創製される可能性を有することが明らかとなった。

キーワード：シルク単繊維、遺伝子組換え操作、結晶弾性率

背景と研究目的：

近年、環境とエネルギーそして持続可能な社会の構築は最重要課題として挙げられている。この課題に対する解決策として、有機材料の観点からは脱石油材料・天然系材料へのシフトにより、利用可能な原材料の選択肢を拡げることが考えられている。現在、ポリ乳酸系材料の展開が行われているが、これはトウモロコシ等の植物を原料として合成されるため、バイオエタノールとしてのエネルギー源や食糧との競合から、原料の安定供給という観点においては不安定要素が多い。なかでも、カイコから得られるシルクは古来より高級衣料用繊維として用いられてきた生物系有機材料であり、既に工業的生産技術が確立され利用の観点からも有望な材料である。

近年、遺伝子組換えカイコ作出技術が開発され、分子設計されたシルクタンパク質の生産が可能となった。これにより、天然系材料であっても、石油由来の汎用高分子材料が行ってきた分子設計法と同様に、その分子構造および物性を人為的にコントロールすることを可能とするため、たとえば力学物性を異にする新規高性能シルク繊維の作出も期待できる。

2009A期(2009A1786)においては、シルク単繊維に対する放射光X線回折法の適用性について検討した。本課題では、今後の新規天然系材料開発に資する力学的な基礎知見を得るため、結晶領域のみの力学特性である結晶弾性率(E_l)を評価することにより、遺伝子組換え種カイコより産出されたシルク単繊維の力学特性について検討を行った。

実験：

試料として、家蚕 (*Bombyx mori*) 繭、およびこれにフィブロインH鎖タンパク質にクモ糸タンパク質配列を挿入し組換えフィブロインを含有する組換えカイコ繭 (Genetically modified) からの生糸を用いた。これらは、フィブロインの周囲にセリシンが被覆されているため、0.02M炭酸ナトリウム水溶液にて95°Cで30分間精練した後、洗浄することで除去した。得られたシルクフィブロイン単繊維を、そのまま測定に用いた。重量と浮沈法(ベンゼン-四塩化炭素系@30°C)による試料密度(1.381cm³/g)から求めた試料断面積は6.3216×10⁻¹¹m²であり、繊維断面は異形ではあるが真円と

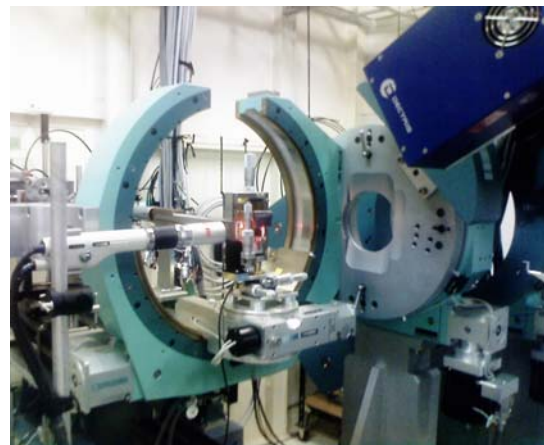


図1. BL46XUでの測定セットアップ

仮定すると繊維直径は約 $8.97\mu\text{m}$ であった。シルクフィブロイン(silkII)は、格子定数として $a=9.38\text{ \AA}$ (水素結合方向), $b=9.49\text{ \AA}$ (逆平行鎖 β -シートに対して垂直方向), $c=6.98\text{ \AA}$ (繊維軸) の斜方晶に、4本の分子鎖が含まれた結晶構造をとっている[1]。本実験では、silkII型の002子午線反射について分子鎖軸方向の E_l 値の測定を行った。

図1には、測定の設定アップを示した。紙製ホルダーに取り付けた単繊維試料をチャック間距離30mmにて自作引張り器に取り付け、BL46XUに設置のHuber社製多軸回折計上に設置した。回折計回転中心への試料位置合わせは、CCD顕微鏡カメラにより確認しながら引張り器に付随させたX-Y-Zステージにて調整した。引張り器のマイクロメーターにより試料を歪ませ、試料にかかる荷重はロードセルにて検知した。応力緩和が収束したことを確認し、定応力下にて対称透過法によりX線回折測定を行い、X線光子計数型二次元検出器PILATUS(ピクセルサイズ:172 μm , カメラ距離:344.84mm)にて回折X線を検出した。なお、X線エネルギーは10keV、照射時間10秒の条件にて測定を行った。結晶格子のひずみ(ε)は、(1)式より算出した。

$$\varepsilon=(d-d_0)/d_0 \quad (1)$$

ただし、 d :応力下での面間隔, d_0 :無応力下での面間隔である。結晶領域にかかる応力は、試料に加えた応力(σ)が試料全体に均等にかかると仮定して、(2)式より E_l 値を算出した。

$$E_l=\sigma/\varepsilon \quad (2)$$

結果および考察：

別途測定した繊維図形より、いずれの試料ともシルクフィブロイン II 型結晶(silkII)であることが分かった。

図2には、各試料について、silkII型(002)面を用いて測定を行った結晶格子の応力-ひずみ曲線を示した。結晶格子のひずみはいずれも可逆的であり、各測定点は原点を通る一本の直線で表すことができた。その勾配より、 E_l 値として15.5GPa(○: *Bombyx mori*)および18.3GPa(●: Genetically modified)が得られた。この際、ピーク位置の読み取り誤差から考えると、ひずみの誤差は $\pm 0.023\%$ となる。従って、今回得られた E_l 値は有意差であり、遺伝子組換え操作を施すことにより大きな E_l 値が得られた。また、繊維破断強度についても組換え体については約180MPaと、家蚕型に比較し約50MPaほど大きな値を示した。

以上より、遺伝子組換え操作を施すことにより結晶領域の力学物性のみならず、試料全体の力学物性を引き上げることが期待された。

今後の課題：

遺伝子組換え操作が与える分子鎖骨格構造、ひいては力学物性への影響を検討する。この相関が解明されることにより、構造および物性を自由にコントロールしうる遺伝子組換え操作技術の確立を目指す。

参考文献：

[1] Y.Takahashi, M.Gehoh and K.Yuzuriha, *Biological Macromolecules*, **24**, 127 (1999).

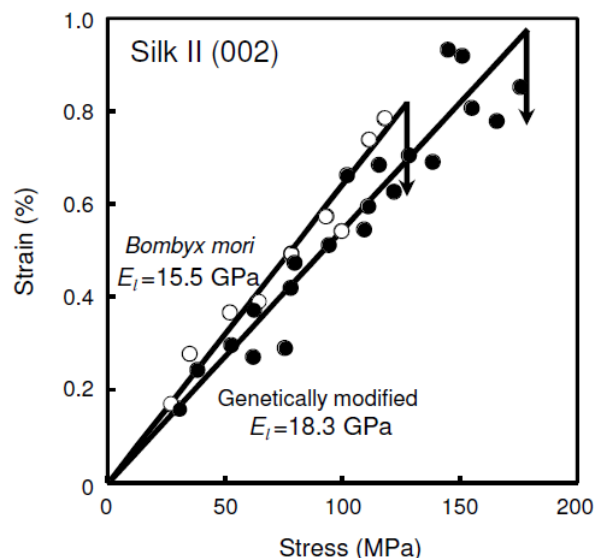


図2. 遺伝子組換え操作の有無によるシルク II 型結晶(002)面を用いて測定した結晶格子の応力-ひずみ曲線

○：家蚕 (*Bombyx mori*)

●：遺伝子組み換え体 (Genetically modified)