

大川 浩作・山本 浩之

目的別テーマ：生体材料を用いたバイオミメティクス材料の開発

研究テーマ

15-3-12：バイオミメティック繊維の創成

ABSTRACT

We have previously reported creation of the bio-inspired fiber materials using the enzymatically cross-linkable cationic polymers. In this study, we examined the synthesis of the anionic polymer, γ -(Gly-Tyr-Gly-Glu)-poly-L-glutamic acid [PLG(GYGE)]. When the molar ratio of g-carboxyl groups of PLG and the protected GYGE peptides was 1:0.2, the degrees of substitutions of GYGE were 18-19% by use of DCC-HOBt and DCC-HOSu, resulting in 90-95% yields of the coupling reaction. The PLG(GYGE) thus synthesized was oxidized by tyrosinase, and approximately 13% of Tyr was converted to Dopa, which are the reactive intermediate for inter-polymer cross-linking. The chitosan-cross-linked PLG(GYGE) hybrid fiber colored brown and exhibited a yellow fluorescence (Fig. 2). The mechanical strength of the cross-linked hybrid fiber was superior to the chitosan-PLG and the non-cross-linked chitosan-PLG(GYGE) fibers. These results indicate that the cross-bridge formation inside the hybrid fiber contributes for mechanical reinforcement.

研究目的

水のみを溶媒に使用する新コンセプトによるハイブリッド繊維の創成方法として提案して以来、天然および修飾多糖、タンパク質関連化合物、ビニルポリマーなどの水溶性高分子電解質を用いて自己電荷対形成による多目的天然高分子複合繊維について一連の研究を報告してきた。この水系での新素材の創成のコンセプトは海洋関連新素材の開発に直結している。水系での高分子形成は生体内の細胞が種々の有用な高分子材料（例えば、天然繊維、皮革および膜など）を生合成するプロセスに部分的に類似している。我々の新コンセプトを拡張し、種々のバイオミメティックな繊維を創製する。

5年間の研究内容と成果

- | | |
|--------------------------|------------------|
| 1. バイオミメティック繊維の創製 | 2. 繊維特性 |
| a 蚕が生合成する絹 | a モノフィラメントの紡糸方法 |
| b 羊が生合成する羊毛 | b 繊維強度、結節強度の評価 |
| c 海洋付着イガイの足糸様繊維 (Fig. 1) | c 異なる染色方法による染色特性 |

研究の概要

漆の硬化、昆虫の外殻の形成、および、水棲生物の付着には、自然界において普遍的に見られるカテコール由来のキノン架橋が関与している。キノン架橋機構では、(i) タンパク質中の Tyr 残基がチロシナーゼにより 3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン (Dopa)、Dopa キノンへと酸化され、次いで、(ii) キノン二分子間のカップリング、あるいは、求核性側鎖官能基の付加反応により、(iii) タンパク質分子間に架橋構造が形成される。海産二枚貝はこのキノン架橋により水溶性タンパク質を不溶化し、岩礁などに固着するために、足糸と呼ばれる繊維を作り出す。足糸は激しい潮流や波浪に耐えうる強度を持ち、微生物による腐食をほとんど受けない優れた繊維である。本研究では、足糸の形成機構に基づき酵素架橋複合繊維を作成し、架橋反応に伴う繊維の力学特性変化、および、分子機構を調べた。

実験

既報の方法により Lys-Gly-Tyr-Gly (GYGK) および Ne-(Lys-Gly-Tyr-Gly)-poly(L-lysine) [PLL (GYGK)] を合成した後、アニオン性多糖であるジェランとの複合繊維を作成した。酵素添加有無の系の複合繊維の引張強度、および、励起光 420-490 nm の蛍光顕微鏡像を比較した。PLL (GYGK) 水溶液にチロシナーゼを加え、酵素反応に伴う Tyr から Dopa への変換率をアミノ酸分析により求めた。

結果と考察

酵素基質として GYGK および PLL (GYGK) を用いて、酵素反応時間と Dopa への変換率を調べた結果、2 種の基質の双方について、Tyr は経時的に減少するが、一方、Dopa はほとんど検出されなかった。このことは、Tyr の酸化によって生じた Dopa が、反応系中では直ちに Dopa キノンへと酸化されることを示唆している。そこで、アスコルビン酸を還元剤として系中に共存させて同じ反応を行った。その結果、Tyr から Dopa への変換率は、GYGK では 85%、および、PLL (GYGK) では 52%であった。従って、アスコルビン酸無添加系での Tyr の減少量は、Dopa キノンの生成量と等しいことが確かめられた。実験結果から、GYGK では 74%、PLL (GYGK) では 49%の Tyr 残基が Dopa キノンに変換されることが明らかになった。

蛍光顕微鏡観察において、酵素架橋 PLL (GYGK)-ジェラン繊維は繊維全体に黄色の蛍光を発した。これは、酵素架橋繊維内にキノン付加物が形成されていることを示す。酵素架橋 PLL (GYGK)-ジェラン繊維の破断強度は、対照試料の PLL-ジェラン繊維と比較して 1.7 倍の値を示した。これらの結果から、Fig. 3 の機構により複合繊維が高強度化することが結論できた。

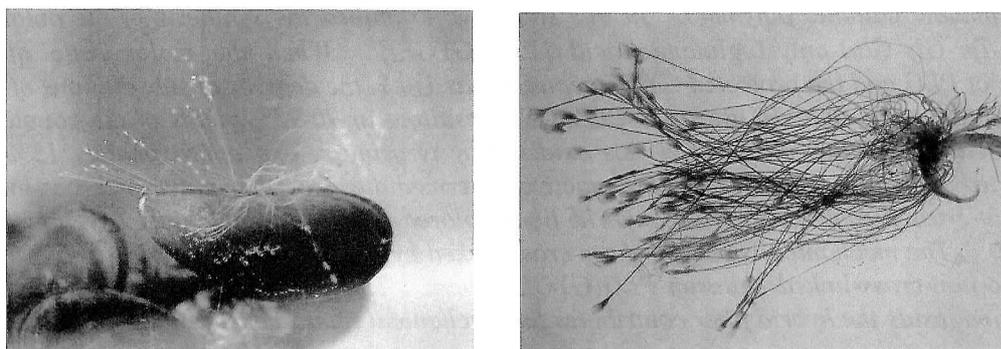


Fig. 1. (left) Attachment of a mussel by byssus fibers and (right) A bundle of byssus fibers secreted from one mussel.

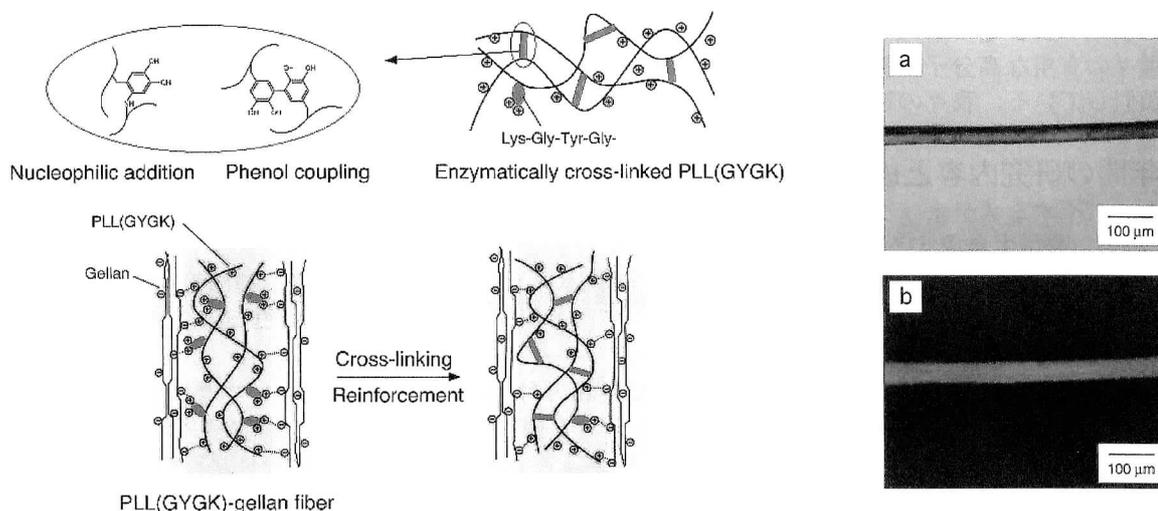


Fig. 2. Quinone-crosslinking mechanisms involved in the reinforcement of the bio-inspired hybrid fiber.

Fig. 3. (a) Bright field and (b) fluorescence observations of enzymatically cross-linked chitosan-PLG(GYGE) hybrid fiber.

展望

本研究において取り扱う天然高分子と水とから構成される系は、生態系の物質科学そのものであり、自然環境における分解・生合成サイクルの一環である。PIC 繊維形成を水系界面で巧みにデザインし、天然高分子の資源化とともに、ポリペプチドなどの関連化合物を利用する新繊維素材を創成する研究は、21 世紀の繊維生産工業、高分子材料化学、地球環境科学の立場から、大変意義深いと考えている。