

令和 3 年 4 月 27 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14290

研究課題名(和文)熱成形可能な人工クモ系シルクの合成

研究課題名(英文)Synthesis of artificial spider silk with thermal processability

研究代表者

矢澤 健二郎 (Yazawa, Kenjiro)

信州大学・学術研究院繊維学系・助教

研究者番号：70726596

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：熱成形可能な人工合成クモシルクの合成後には、二次延伸や加熱および湿度処理などの紡糸後処理によって糸の構造・力学物性をユーザーの要望に合わせて調節する技術が重要となる。本研究では、クモシルク紡糸時の射出速度に対する依存性を調べるため、射出速度や湿度を変化させて、生きたクモから直接糸を巻き取り、構造と力学的性質に及ぼす影響を調べた。その結果、クモは射出速度や湿度に対して非依存的に、結晶構造および力学的強度を維持した糸を作り出すことを見出した。このようなクモが有する糸作成時のロバスト性は、進化の過程で獲得したと考えられ、家畜化されたカイコの糸が射出速度に依存的な性質を示すのとは対照的であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

持続可能な開発目標(SDGs)が設定され、石油を原料とする汎用プラスチックからの脱却が国際的に推進されている現在、カイコやクモなどの生物が生産するシルクは、タンパク質から構成される繊維であり、次世代繊維の候補の一つである。本研究では、クモが射出速度に非依存的に力学的強度を維持した糸を作り出すことを示した。また、圧力印加に対して、クモ糸の構造は影響を受けにくかったが、カイコの糸は結晶化が誘起されることが見出された。さらに高湿度処理によって、クモとカイコシルクの両方を結晶化させ、高強度化できることを示した。これらの知見は、ユーザーの要望に応じた物性を有する人工シルクの紡糸条件の最適化に貢献できる。

研究成果の概要(英文)：Silk is used as a structural material in nature such as lifelines of spiders and outer layers of silkworm cocoons. It could be nice to synthesize the thermally processable silk with desirable structural and mechanical properties. To realize the tailor made silk material, post-spinning extension and heat or humidity treatment of the fibers can adjust the physical properties of the fibers. In this study, we investigated the effect of spinning speed and environmental humidity on the physical properties of spiders silk fibers. We found that the spiders have evolved to synthesize silk fibers with maintained mechanical properties, irrespective of spinning speeds and humidity. Considering that the silk fibers spun by domesticated silkworms are largely influenced by spinning speeds and humidity, spiders living in wild acquired the robust spinning mechanism as a course of evolution.

研究分野：生体高分子

キーワード：シルク クモ カイコ 熱成形 圧力 湿度 射出速度 ロバスト性

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

持続可能な開発目標 (SDGs) が設定され、石油由来の汎用性プラスチックからの脱却が国際的に望まれる中、クモやカイコなどの生物が作り出すシルクは次世代繊維の候補の一つとして注目されている。その理由として、シルクは高強度繊維に匹敵する強度だけでなく、柔軟性も有し、さらに生分解性・低細胞毒性・生体適合性といった特長を有するため、SDGs に適合する繊維として有望である。しかしながら、カイコが作出するシルクは縫合糸としての利用が実用化されているにも関わらず、衣類や縫合糸以外でのシルクの利用はほとんど進んでいない。その理由として、一般的な汎用プラスチックが加熱することで熔融し、鋳型に流し込んで冷却することで成形が可能であることとは対照的に、シルクは加熱に伴って熔融する以前に熱分解するため、成形加工が非常に困難であることが挙げられる。さらに、クモやカイコがシルクを作り出す仕組みについて未知の点が多いことも考慮すべき課題である。

2. 研究の目的

クモやカイコは、体内の分泌腺において、様々な要素が同時に制御された精巧な仕組みでシルクを作り出していると考えられている。具体的な調節要素として、射出速度、剪断圧力、水分含量が挙げられる。本研究では、クモやカイコの紡糸の仕組みを調べるために、射出速度、剪断圧力、水分含量がクモやカイコの構造や力学物性に与える影響を調べることを目的とした。自然界でクモやカイコが行っている高効率なシルクの作出システムの理解が進行すれば、人工シルクの合成および成形加工の実現に貢献できると考えられる。



図 1: ジョロウグモ雌 (*Triconephila clavata*)

3. 研究の方法

ジョロウグモ雌 (図 1) をスポンジの間に輪ゴムで固定し、巻き取り装置を利用して糸を採集した (図 2、図 3)。採集した糸をヘキサフルオロイソプロパノール (HFIP) に溶解させた後、キャスト法にてフィルムを作成した。巻き取り速度は高速 (70 mm/s)、低速 (10 mm/s) で行った。巻き取りは人工気象室で湿度と温度の制御下で行った。湿度は相対湿度 (RH) 11%、40%、84% に設定し、25 °C で行った。

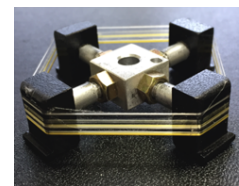


図 2: ジョロウグモ雌から直接得られた牽引糸

カイコの繭を煮沸させた炭酸ナトリウム水溶液中で精練し、セリンを除去した後、9.3 M の臭化リチウム水溶液中で 60 °C で溶解させた。水で透析を行い脱塩した後、キャスト法でフィルムを作成した。

シルクフィルムはシリカゲルと共存させることで乾燥状態とし、飽和硫酸カリウム水溶液と共存させることで相対湿度 97% の状態を再現した。フィルムをパウチで密封した後、圧力を印加した。

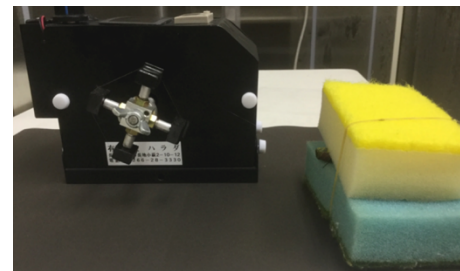


図 3: ジョロウグモ雌をスポンジ内部に固定し、牽引糸を巻き取り装置で採集する様子

シンクロトロン放射光を用いた X 線散乱でシルクの結晶構造を評価するため、つくばの高エネルギー加速器研究機構 放射光施設 BL-10C を利用した。X 線のエネルギーは 12.4 keV であり、波長は 0.1 nm であった。光路長を 258 mm、露光時間を 10 秒にして広角 X 線散乱を測定した。引張り試験で力学物性を評価した。

4. 研究成果

クモ糸を RH 11%、40%、84% の 3 種類の条件下で、高速・低速の 2 種類の巻き取り速度で採集した糸について、広角 X 線散乱測定によって、結晶構造を評価すると、結晶ピークの位置や結晶化度に有意差が見られないことが分かった (図 4)。次に引張り試験を行い、糸の力学物性を調べた。図 5 に示すとおり、糸の強度、延伸度、タフネスの各パラメータについて、天然のクモ牽引糸と類似した値を示しており、湿度と巻き取り速度が糸の力学物性に与える影響は小さいと考えられる。以上の構造および力学分析の結果から、クモは様々な巻き取り速度や湿度の条件下でも、一定の構造と力学強度を維持した糸を作成できることが示唆された (文献 1)。この結果は、家畜化されたカイコの射出する糸が、巻き取り速度や湿度変化に影響されるという先行研究における報告 (文献 2) とは対照的である。野生で生息するクモは環境の変化に対応する堅牢性を進化の過程で得たと考えられる。クモの糸の分泌機構の詳細は未だ不明な点が多いが、糸疣付近の筋肉を巧みに調節することで糸にかかる応力を、巻き取り速度の変化に関わらず、一定に調整しているのかもしれない。

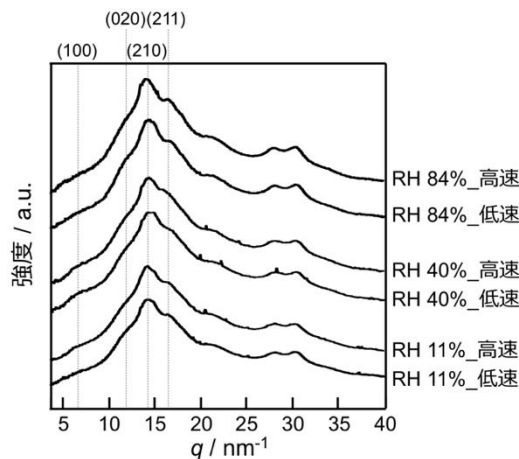


図 4: 様々な圧力印加後のクモシルクフィルムの広角 X 線散乱

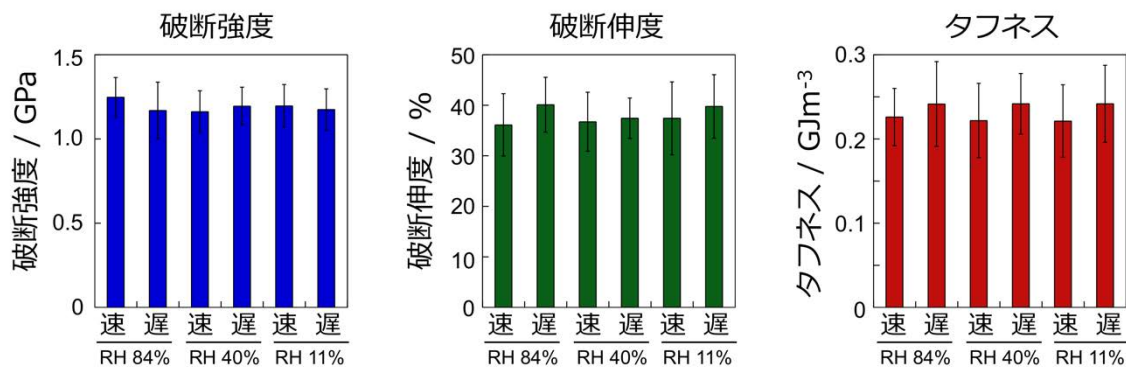


図 5: クモ糸の強制紡糸時に巻き取り速度と湿度が力学物性に与える影響の評価

次にクモとカイコフィルムの結晶構造に対して、圧力が及ぼす影響を評価した。クモシルクフィルムについては、980 MPa までの圧力印加に対して、特に構造変化は観察されなかった (図 6)。0 MPa と 980 MPa の圧力印加後の結晶化度は、それぞれ $18.1\% \pm 3.3\%$ と $18.6\% \pm 2.5\%$ であった。一方で、カイコフィルムの場合には、100 MPa の付近を境に、結晶領域が誘起されていることが分かった (図 7)。75 MPa の圧力印加時には $8.5\% \pm 2.3\%$ の結晶化度であり、100 MPa の圧力印加時には $27.6\% \pm 2.8\%$ の結

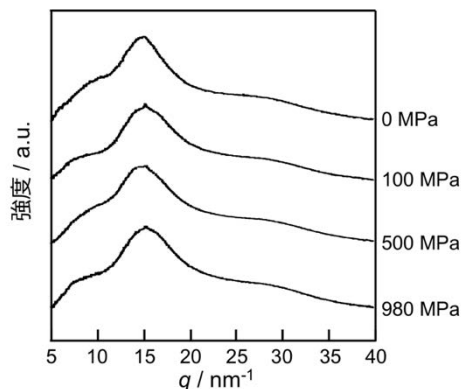


図 6: 様々な圧力印加後のクモシルクフィルムの広角 X 線散乱

晶化度であった。また、ヘキサフルオロイソプロパノール (HFIP) は、シルクのらせん構造を誘起することが知られている。そこで、HFIP でらせん構造を予め誘起したフィルムに対して、圧力印加後、結晶構造を調べると、25 MPa 付近を境に結晶構造が誘起されることが分かった。25 MPa の圧力印加前後の結晶化度は、それぞれ $14.5\% \pm 1.8\%$ 、 $28.1\% \pm 2.8\%$ であった。この結果より、非晶領域から結晶構造を誘起するよりも、予めらせん構造を誘起していた方が、結晶化が起りやすいことが示唆された。

続いて、高湿度処理がクモとカイコシルクフィルムに及ぼす影響を調べた。図 8 にしめすように、クモとカイコ共に RH 97% において結晶化が誘起された。圧力印加では、クモシルクフィルムの結晶化は誘起されなかったが、湿度処理では誘起された。圧力と湿度処理による結晶化誘起の仕組みの詳細は不明な点が多い。考えられ得るところでは、圧力印加では分子鎖が部分的に高密度で集合することで結晶化が促進される一方で、湿度処理では水分子が分子鎖間に形成されている水素結合と置き換わり、分子鎖の柔軟性が向上することで、エネルギー的に安定な分子構造に再配置され、その後に脱水することで結晶領域が増大していくものと考えられる。

シルクフィルムに圧力印加と湿度処理することによって、力学物性がどのように変化するか、引張り試験で調べた。図 9 に示すとおり、圧力印加と湿度処理後には、強度が増大していることが分かった。これは、結晶化度が増大したことで、強度に貢献する結晶領域の割合が多くなり、高強度化したことに起因していると思われる。

圧力と水分子が誘起する結晶構造の比較について図 10 にまとめた。水分子による結晶化誘起では、圧力印加の場合より大きな結晶子サイズとなるが、結晶化度は低いことが示唆された (文献 3)。

本研究において、クモは巻き取り速度や湿度に依存せず、一定の構造と力学物性を有する糸を作ることが見出された。この知見は、人工シルクタンパク質溶液を紡糸する際の条件の最適化に役立つと考えられる。さらに、クモとカイコのシルクが圧力印加や高湿度処理によって結晶度を増大させ、さらに高強度化できることも見

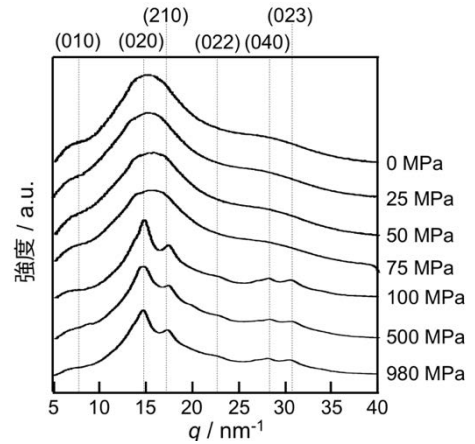


図 7: シルクフィルムの様々な圧力印加後の広角 X 線散乱

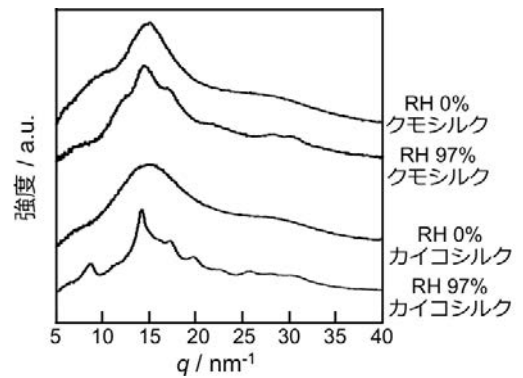


図 8: クモシルクとカイコシルクの高湿度処理前後の広角 X 線散乱

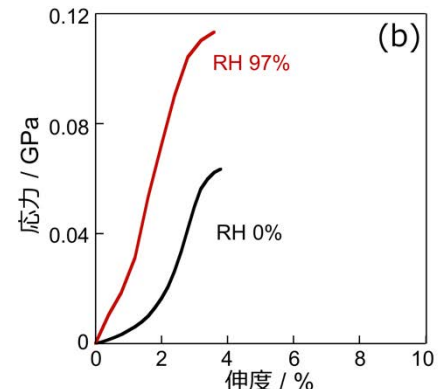
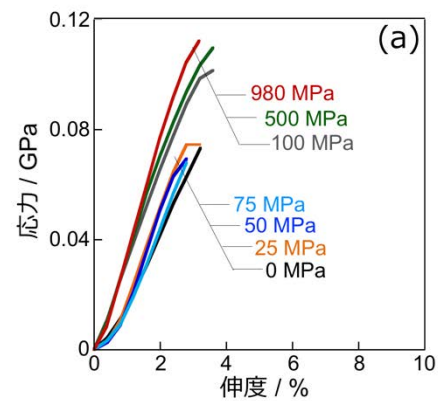


図 9: カイコシルクフィルムの引張り試験: (a) 圧力印加、(b) 湿度処理時

出された。次世代材料としてシルクを使用する際に、圧力と湿度処理を利用して、ユーザーの要望に応じた物性を有するシルクを作出することに貢献できると考えられる。

【文献】

- 1) Yazawa, K. et al. *Int. J. Biol. Macromol.*, **168**, 550-557 (2021).
- 2) Shao, Z. et al. *Nature*, **418**, 741 (2002).
- 3) Yazawa, K. et al. *Polymer*, **211**, 123082 (2020).

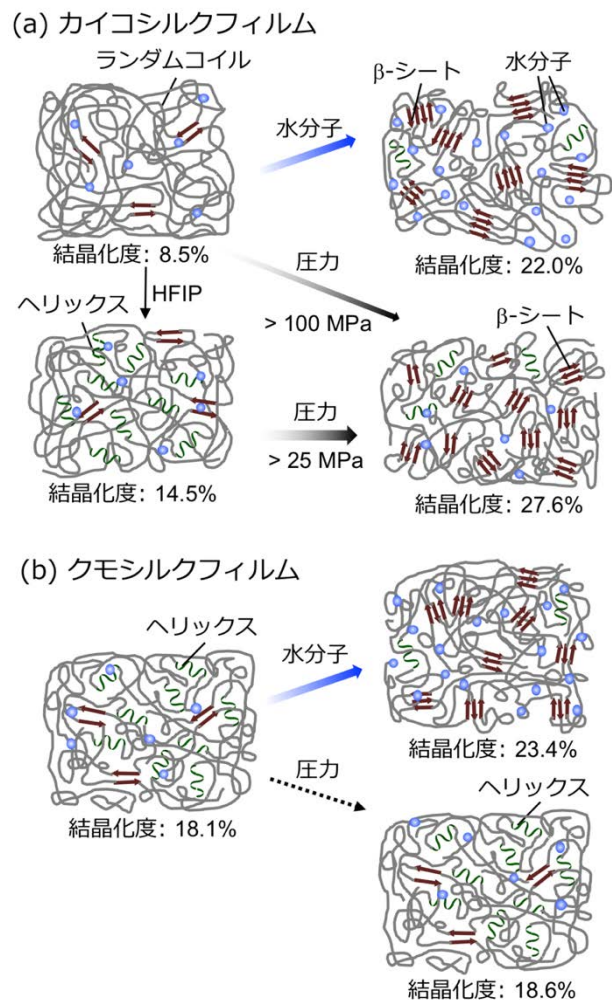


図 10: クモシルクとカイコシルクの圧力および高湿度処理前後の結晶構造変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yazawa Kenjiro, Sasaki Umi	4. 巻 168
2. 論文標題 Forcibly spun dragline silk fibers from web-building spider <i>Trichonephila clavata</i> ensure robustness irrespective of spinning speed and humidity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Biological Macromolecules	6. 最初と最後の頁 550 ~ 557
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.076	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 Yazawa Kenjiro, Hidaka Kosuke	4. 巻 211
2. 論文標題 Pressure- and humidity-induced structural transition of silk fibroin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Polymer	6. 最初と最後の頁 123082 ~ 123082
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.polymer.2020.123082	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 -

〔学会発表〕 計19件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 日高 康輔・矢澤 健二郎
2. 発表標題 水分子がクモ糸の結晶構造に与える影響
3. 学会等名 令和3年度 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 館林 有加・梶浦 善太・矢澤 健二郎
2. 発表標題 野蚕シルクの強度と巻き取り速度の関係
3. 学会等名 日本蚕糸学会中部支部第76回・東海支部第72回研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中山 堅登・後藤 康夫・矢澤 健二郎
2. 発表標題 カイコシルクH鎖を利用した湿式紡糸
3. 学会等名 日本蚕糸学会中部支部第76回・東海支部第72回研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水上 紗衣花・玉田 靖・矢澤 健二郎
2. 発表標題 クモシルク不織布の構造・力学物性と細胞接着性
3. 学会等名 日本蚕糸学会中部支部第76回・東海支部第72回研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢澤 健二郎, 沼田 圭司
2. 発表標題 湿度および変形速度依存的なクモ牽引糸の結晶構造と力学物性
3. 学会等名 第69回高分子学会年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 崎山 真喜人・森 研堂・矢澤 健二郎
2. 発表標題 クモの糸を水中で形成させることは可能なのか？
3. 学会等名 第62回 日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 日高 康輔・矢澤 健二郎
2. 発表標題 シルクフィブロインの結晶化における溶媒の効果
3. 学会等名 2020年繊維学会年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐々木 つみ・矢澤 健二郎
2. 発表標題 湿度と巻き取り速度に非依存的なクモ糸のロバストネス発現に関する研究
3. 学会等名 2020年繊維学会年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢澤 健二郎・佐々木 つみ・日高 康輔・村上 伸吾
2. 発表標題 カイコヒコモ由来シルクの湿度・圧力・射出速度依存的な物性に基づいた材料設計
3. 学会等名 日本蚕糸学会 中部支部第75回・東海支部第71回研究発表会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenjiro Yazawa and Kousuke Hidaka
2. 発表標題 Pressure- and water-induced crystallization of silk fibroin
3. 学会等名 The 25th International Congress on Sericulture and Silk Industry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上 伸吾・後藤 康夫・矢澤 健二郎
2. 発表標題 湿式紡糸法による人工シルクの作成
3. 学会等名 令和2年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 日高 康輔・矢澤 健二郎
2. 発表標題 クモとカイコシルクタンパク質の圧力応答性の違い
3. 学会等名 令和2年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐々木 つみ・矢澤 健二郎
2. 発表標題 湿度・巻き取り速度がクモ糸の物性に及ぼす影響の評価
3. 学会等名 2019年 繊維学会秋季研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日高 康輔・矢澤 健二郎
2. 発表標題 クモ及びカイコ糸における結晶化機構の解明
3. 学会等名 2019年 繊維学会秋季研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenjiro Yazawa
2. 発表標題 Use of silk as structural material
3. 学会等名 The 10th International Conference of Modification, Degradation and Stabilization of Polymers (MoDeSt2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 矢澤 健二郎
2. 発表標題 シルクの構造および力学物性に水分子が与える影響
3. 学会等名 日本蚕糸学会 中部支部第74回・東海支部第70回研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 矢澤 健二郎
2. 発表標題 非晶シルクフィブロインの人工紡糸
3. 学会等名 第24回日本野蚕学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 矢澤 健二郎
2. 発表標題 シルクの変形速度および湿度依存的な物性に基づいた材料設計
3. 学会等名 第28回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 矢澤 健二郎
2. 発表標題 タフネスの向上を指向した非晶シルクフィブロイン溶液の人工紡糸
3. 学会等名 第67回高分子学会年次大会
4. 発表年 2018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
---------	---------