

業績

クモ糸の階層構造の理解と生合成

Studies on Biosynthesis and Hierarchical Structures of Spider Silk

ぬまたけいじ
沼田圭司

京都大学大学院工学研究科・教授（博士（工学））

世界中で地球環境の持続性が議論されており、高度な資源循環とモノづくりの低炭素化の両立によるサーキュラーエコノミーの構築が求められている。このような背景の下、受賞者は環境循環型材料として、クモ糸を構成するシルクタンパク質をはじめとした種々の構造タンパク質およびポリペプチドの生合成と材料化に関する研究を進めてきた。また、環境低負荷な合成法だけでなく、得られた高分子の生分解性までも含めた評価を達成しており、自然環境を考慮した高分子科学に大きく寄与した。

1. クモ糸の階層構造と紡糸機構

クモ糸は既存の構造材料では達成できない力学物性を示すと同時に、環境分解性を有し、さまざまな産業分野から注目されている。クモ糸の階層構造と力学物性の相関は、長年にわたり世界中で研究されてきたにもかかわらず、その詳細な分子論は推測の域を出ていなかった。しかし、受賞者の一連の研究成果により、紡糸過程の分子論が格段に進展した。とくに、天然の牽引糸と同等のバイオ高分子材料を創出するため、牽引糸の形成機構を分子レベルで明らかにし、その知見を活かした水系の人工紡糸システムに応用した。これは、現状、世界で唯一の有機溶剤や酸塩基を利用しない構造タンパク質の紡糸法であり、環境低負荷なバイオものづくりとして非常に有用な技術である。

クモ糸を構成する構造タンパク質の研究も並行して進めており、ジョロウグモの牽引糸に少なくとも Major Ampullate Spidroin (MaSp) として、MaSp1, MaSp2, MaSp3などが含まれることを明らかにした。これらのアミノ酸配列から、MaSp1は糸の強度、MaSp2は伸びに寄与することが推測され、MaSp2の伸びは、水分子との相互作用も必要であることを明らかにしてきた。また、MaSp2は紡糸過程において、液-液相分離という自己組織化を示すことを世界で初めて報告し、C末端ドメインが液-液相分離に、N末端ドメインが繊維化に寄与することも併せて明らかにした。さらに、世界中のクモ糸タンパク質を収集し、そのアミノ酸配列と力学物性、構造物性解析の結果をデータベース化することで、シルクをはじめとする構造タンパク質の物性と配列の相関を明示した。高分子におけ

るマテリアルインフォマティクスの観点からも稀有な成功例となっている。

2. バイオ高分子の多様な生合成経路の開拓

受賞者は、酵素重合、微生物発酵、真核生物による代謝工学などを併用し、さまざまなバイオ高分子を合成してきた。化学酵素重合は、試験管の中で、タンパク質分解酵素を触媒としてポリペプチドを合成する手法であり、多様な人工配列を合成することに成功してきた。近年では、植物細胞や、海洋性紅色光合成細菌である *Rhodovulum sulfidophilum* を主たる菌株として用い、バイオマスプラスチックであるポリヒドロキシアルカン酸 (PHA) や、クモ糸に代表される構造タンパク質を人工的に合成する基盤技術を構築した。

クモ糸を構成するシルクタンパク質を、従来型の発酵法で生産するためには多大な炭素源と窒素源が必要であり、環境低負荷とは言い難い。そこで、受賞者はシルクをはじめとした構造タンパク質を、光合成細菌や植物細胞をはじめとした、光合成生物を利活用して合成する基盤技術を研究してきた。海水条件下で培養できる *R. sulfidophilum* は、光合成により二酸化炭素を固定し、ニトロゲナーゼにより窒素を固定化する。以前は、接合伝達でしか遺伝子を組み換えることができなかったが、候補者が開発した「ペプチド法」により、ハイスループットで組み換え体を作成できるようになった。また、目的タンパク質を発現させるためのプロモーター、ターミネーター、薬剤耐性遺伝子なども最適化し、*R. sulfidophilum* を用いた人工シルクの生合成に成功した。このように、二酸化炭素や窒素の固定化能を有する光合成生物を用いることで、炭素源や窒素源の問題を解決し、完全循環型の高分子生産システムの可能性を示した。「ペプチド法」により、上述の海洋性紅色光合成細菌に加えて、植物細胞、藻類、褐藻類、さらには動植物ミトコンドリアなどの改変も可能になってきている。

受賞者の一連の研究成果は国内外で高く評価されており、高分子学会学術賞に値するものと認められた。

業績

環状高分子が発現する特異的物性と新奇ナノ材料への応用

Unique Properties of Cyclic Polymers and Their Applications for Nanomaterials

やまもとたくや
山本拓矢

北海道大学大学院工学研究院・准教授 (Ph.D., Chemistry)

高分子の『かたち』は、その物性に大きく影響を与えることが知られており、学術的関心からさまざまな研究が行われている。しかし、実際のところ『かたち』の違いによる融点の変化に代表される多少の物性差異の発現は古くから知られているものの、このようなわずかな違いを材料分野の応用として展開するのは難しいと考えられていた。一方、自然界に目を転ずると、環状の高分子構造に基づくさまざまな機能が進化の過程で培われ、プラスミドDNAをはじめ、環状タンパク質、環状アミロースなどが、その『かたち』によって特異的な効果を発現することが知られている。この現象は、自然界の環状高分子が単一分子で機能しているのではなく、超分子系を形成することで組織を構成したりエネルギーの非局在化を実現しているためである。この方略に基づき、受賞者は環状両親媒性ブロック共重合体の合成と自己組織化、導電性環状高分子の合成と物性追求、および環状PEGによるナノ粒子の分散安定化について精力的に研究を行い次の業績を挙げた。

1. 両親媒性ブロック共重合体の自己組織化

受賞者は、両親媒性の直鎖状ブロック共重合体を環状化し、直鎖状および環状高分子それぞれの自己組織化構造であるミセルの特性を比較検討した。その結果、環状高分子ミセルの曇点、すなわち構造崩壊温度が、直鎖状高分子ミセルと比べて飛躍的に上昇するという高分子の『かたち』に由来する特性を見出した。この結果は、分子分散状態での環状高分子による曇点の上昇は5°C程度が限界であるという過去の報告とは対照的であり、自己組織化により環に由来する効果が増幅されることを示した初めての例である。また、直鎖状・環状高分子の混合比調整により、50°Cにも及ぶ広い範囲でのミセルの崩壊温度制御に加え塩析濃度制御にも成功した。さらに、シンクロトロンを用いた環状高分子ミセルの構造解析およびNMR緩和時間測定を用いたミセルからネットワーク構造への動的変化の調査を行い、高分子の『かたち』に依存したメカニズムを解明した。また、環状両親媒性ブロック共重合体からベシクルやエマルション、液晶性部位を導入したミセル・ベシクル、およびLB膜の作製と構造・機能を報告した。

2. 導電性環状高分子の合成と物性追求

また、受賞者は代表的な導電性高分子である poly(3-hexylthiophene) (P3HT) における『かたち』に関する研究を行い、全 π 共役系環状高分子合成法の確立お

よび環構造特有の新奇物性を発見している。すなわち、位置規則性が統一されるように設計された開始剤を用いた重合により完全 All Head-to-Tail 型の直鎖状 P3HT を合成し、高分子鎖末端のチオフェンの分子内カップリング反応を徹底的に検討した結果、構造欠陥の全くない環状 P3HT の合成に成功した。さらに、走査型トンネル顕微鏡を用いてその環構造の可視化に成功した。また、蛍光スペクトル測定において、環状 P3HT はその環対称性に由来し、振動電子状態の 0-0 遷移が禁制となり 0-1 遷移のみが観測された。これは、環状 P3HT が正円のコンフォメーションを取ることで全 π 共役となり、理論研究から予測される多環式芳香族化合物の選択則に従うことを示している。

3. 環状 PEG によるナノ粒子の分散安定化

現在、DDS キャリアに代表されるさまざまなナノ粒子系医薬品の研究が進展しているが、それらの多くは粒子表面の生体適合性の PEG による修飾を基盤としている。その中で、金属ナノ粒子の PEG 化については、高分子鎖末端に導入されたチオールとの化学吸着を利用したものにはほぼ限定されている。これに対して、受賞者は構造欠陥のない環状 PEG (*c*-PEG) の物理吸着により修飾した金ナノ粒子 (AuNPs) が非常に高い分散安定性を示すことを見いだした。すなわち、AuNPs の水分散液に対し、直鎖状 HO-PEG-OH、直鎖状 MeO-PEG-OMe、直鎖状 HS-PEG-OMe、または *c*-PEG を加え、冷凍、加熱、または凍結乾燥後に再分散、および生理条件下で分散安定性を調査した。その結果、HO-PEG-OH や MeO-PEG-OMe では無修飾の AuNPs とほとんど変わらず不可逆的に凝集・沈殿したのに対し、*c*-PEG を加えた AuNP は、これらの過酷な条件下でも分散安定性を保持していた。さらに興味深いことに、チオールとの化学反応を基盤とする金属ナノ粒子の代表的な PEG 化剤である HS-PEG-OMe を用いた場合でも、上述の加熱条件には耐えられずほとんど再分散しなかった。つまり、*c*-PEG は従来の HS-PEG-OMe よりも優れた分散安定剤であることが示された。加えて、DLS やゼータ電位測定および動物実験からもその有効性を明らかにした。

以上のように受賞者の高分子の『かたち』に基づいた多岐にわたる研究成果は高く評価されており、高分子学会学術賞に値するものと認められた。