

昆虫由来蛋白質の機能特性と産業的利用

絹蛋白質は昆虫産業を支える有用生体素材となり得るか

誌名	農林水産技術研究ジャーナル
ISSN	03879240
著者名	塚田,益裕
発行元	農林水産技術情報協会
巻/号	15巻7号
巻号補足	
掲載ページ	p. 24-28
発行年月	1992年7月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



特集 昆虫産業—技術開発の展望—

昆虫由来蛋白質の機能特性と産業的利用 —絹蛋白質は昆虫産業を支える有用生体素材となり得るか—

塚田 益裕

1. はじめに

カイコがミツバチとともに最も有用な昆虫と呼ばれるのは、繭糸が絹織物の原料として古くから用いられてきたからである。最近、昆虫生体高分子である絹蛋白質の構造と機能特性との相関を究明しようとする研究が進展するにつれ、絹蛋白質は生体親和性、物質透過性等多様な機能特性を持つことが次々と確かめられるようになった。絹蛋白質が酵素の固定化担体、物質透過膜、細胞培養床材料など先端的な生医学材料として利用できる明るい見通しが得られている。各種の産業材料として絹の機能特性を高度に活用した利用技術の開発研究が進展し、絹蛋白質の産業的な利用を図ろうとする開発研究も活発に展開するようになった。そのため、カイコを飼育して生糸を製造する伝統的な養蚕業は、カイコの旺盛な絹物質生産能力を活用することにより多様な機能性を持つ天然生体素材を得るための新たな昆虫産業へと「脱皮」できる状況を迎えているといっても過言ではない。

絹蛋白質が、コラーゲン、キチン、キトサン等の他の生体高分子素材に比べて産業材料とし

て優れた特性を持つと考えられるのは次の理由によるものである。①純粋な蛋白質がカイコを通して多量に入手できる。②材料の精製が容易であり、絹蛋白質水溶液が簡便な方法で調製できる。③一本の分子鎖には、結晶部分と非結晶部分となるべきアミノ酸部分がカイコにより既に分子設計されている。④微細構造は、溶媒処理、延伸、熱処理、加熱などの操作で自由に変えることができる。⑤分子側鎖部分には化学反応性に富む官能基が多いため化学修飾加工が可能である。これらの特徴の中で、繭糸が中性塩溶液に溶けて水溶液となること、水溶液の蒸発条件を変えることにより従来の繊維状試料はもとより溶液、粉末、膜あるいは多孔質体等のように形を自由に変えることができること、さらに結晶性や水に対する溶解性もかなり任意に制御できることは絹の最大の特徴である。絹製の手術縫合糸に見るように絹蛋白質は人体等生体組織との適合性も良く、生体に移植しても抗原抗体反応の起こり方は軽微である。

ここでは絹フィブリン水溶液の調製方法、非衣料分野での最近の利用開発研究の実際、機能性絹蛋白質素材の開発研究の現状を述べ、さらには将来技術の展望についても触れてみたい。

2. 絹蛋白質素材の調製

カイコの繭糸は、にかわ質のセリシンを除く

Masuhiko TSUKADA: Functional properties and new industrial uses of silk proteins for non-textile applications

だけで純度の高い絹フィブロインが調製できる。非衣料分野での利用を考えるにはまず絹フィブロイン繊維を塩化カルシウムや臭化リチウム等の濃厚な中性塩溶液に一旦溶かし、セルロース製の透析膜に入れて純水と置換した再生絹フィブロイン水溶液を原材料に用いると便利である。絹フィブロイン水溶液をポリエチレン膜の上に広げて、時間をかけてゆっくり蒸発させると無色透明の絹膜が作製できる。このままだと絹膜は水に溶けてしまうので、メタノール等、蛋白質に対する貧溶媒に浸漬することにより分子の引き揃え状態が変化して水に溶けなくなる。医療用素材として利用する場合にはまず絹蛋白質を不溶化させる必要がある。繭糸を中性塩で溶解した水溶液からも調製できるし、成熟したカイコを解剖して絹糸膜を取り出し、腺細胞をピンセットで除去することにより得られる絹水溶液を用いることもできる。絹蛋白質溶液は攪拌等機械的な作用や加熱、有機溶媒処理等により分子の凝集状態が変化し易く、微生物の繁殖等も受け易いため試料溶液の取り扱いには特に注意する必要があるが、このような水溶液から冒頭に述べたように各種の産業材料を調製することができる。

3. 絹蛋白質の新しい利用技術

絹糸が外科用縫合糸に用いられたのは11世紀にまで遡ると言われており、優れた生体適合性天然素材として古くから利用されてきた。我が国には、絹蛋白質の構造と物性に関する学術的な蓄積があり、機能と構造との相関を考究したり絹の新しい利用技術を開発する準備が整っている。蚕糸・昆虫農業技術研究所は、工業技術院・製品科学研究所、信州大学等の国立大学ならびに国外の研究者の協力を得て、「生体高分子物質の特性解明と機能性素材の開発」と題する科学技術庁省際基礎研究に着手し、絹蛋白質を対象にして生体高分子物質の機能の解明と利用に関する基礎的研究を進めてきた。該大型研

究を進めることで明らかとなった成果の概要ならびに絹蛋白質をめぐる産業利用の現状を次に紹介することにしたい。

(1) 細胞付着・増殖膜

有益な遊離細胞を経済的に低コストで、しかも効率的に培養する技術を開発することは免疫工学あるいは細胞工学といった関連分野においては極めて重要であり、この意味において細胞の大量培養が可能となる培養基材の開発が望まれてきた。当研究所では、非衣料分野における絹蛋白質の新しい利用技術の開発を目指して、フィブロイン表面の化学構造と生体細胞の相互作用との相関を解明する研究を進めている。細胞付着実験の一例を次に説明する。マウス由来の繊維芽細胞 L 929 を用い、試料膜の表面上に 10% の子牛血清を含んだ細胞浮遊液 (約 10 万/ml) を加え、所定時間培養してフィブロイン膜上での細胞の付着・増殖の実験を試みた (箕浦・塚田ら, 1988)。細胞付着率は、培養 17 時間後の値を、また細胞増殖率は 50 時間後の値を表示することとし、対照区には組織培養用のプラスチックシートを用いることにした。絹糸は絹フィブロインと絹セリシンの 2 種類の蛋白質から構成されるが、それぞれの蛋白質膜表面における細胞付着実験の結果を表 1 に示す。絹フィブロインは、従来、細胞の付着性が良好であると言われているコラーゲンに匹敵する優れた細胞付着・増殖能力を持つことが確かめられ、絹表面が生体細胞の足場となり細胞の増殖を促進する材料であることが示唆された。絹セリシン膜の表面における細胞の付着率と増殖率の値は絹フィブロインとほぼ同等か若干高い値を示

表 1 絹蛋白質表面における細胞の付着増殖率

	初期細胞付着率 (%)	細胞増殖率 (%)
絹フィブロイン	96	125
絹セリシン	100	130

(箕浦・塚田ら, 1988)

マウス由来の繊維芽細胞 L 929 を対象にしている。

している(表1)。絹が化学反応性に富むアミノ酸残基を多くもつため、生化学的な機能特性を持つ第二物質を絹の反応拠点へ結合させることにより、特定の有益細胞を選択的に付着・増殖できる素材の開発研究が今後進展するであろう。

(2) 酸素透過性

絹膜における酸素の通り易さは酸素透過係数測定により評価できる。乾燥状態の絹膜は酸素を通し難いが水を含んだゲル状態の試料膜は酸素をよく通すようになる。絹フィブリン溶液を蒸発して作製できる絹膜は水に溶けてしまうため、アルコール溶液に浸漬して水に不溶化させる必要がある。試料膜の物質透過性は不溶化処理の程度により大きく変化するので、不溶化の度合いと酸素透過性との関係を究明することにした。絹フィブリン膜に対する酸素透過係数とアルコールでの浸漬時間との関係を調べてみよう。酸素透過の測定温度を変えても(10~50℃)、不溶化時間30分で酸素透過係数の最少値が現われる。試料を水中に浸漬したときの吸水量は不溶化時間30分で最少となる。アルコール浸漬処理により絹フィブリン膜にはどのような構造変化が起こるのか考究してみよう。X線回折測定で不溶化処理による構造変化を調べたところ、不溶化時間3分以内の処理では絹はsilk I型結晶を取っているのに、不溶化時間が3分以上となるとsilk II型結晶を持つ構造へと変わることがわかった。非結晶部分(ランダムコイル形態)がsilk II型の結晶構造へと転移したものと推定される。不溶化時間が3分以内で試料の結晶化度は12%から18%にまで急激に増加しその後は平衡状態に達した。分子凝集状態がどのように変化するか追究した。不溶化時間3分で試料の密度は対象試料より一旦増加するが、不溶化時間を更に延長すると密度は逆に低下してしまう。つぎに、試料の密度を結晶分と非結晶分の密度と分率との線形結合で表現できるものと仮定し、silk I、silk IIの文献値の密度とを考慮して、非結晶部分の密度を計算で求

めた。非結晶部分の密度はアルコール処理により単純減少の曲線となった。これはメタノール処理により試料内に分子凝集性の良い結晶あるいは球晶が成長すること、結晶領域に添って分子の乱れたボイド様の領域が次第に成長することによるものであろう。絹膜は優れた酸素透過性を持っているので、生体機能性を有する人工肺用膜としての利用も可能となろう。

酸素の透過性が良好であるので、生体に酸素を補給する医用材料として適しているのではないかと予想できる。絹フィブリンは光学的にみても透明度が高く、400~750 nmにおける可視領域の光透過は98%以上であることが確かめられている。光学的に歪みがない材質も調製できるため、視力補正用のコンタクトレンズ(CL)素材に適しているものと考えている。

水を含んだゲル状態の絹フィブリン膜の酸素透過量は、酸素透過性の良いCL素材である2-ヒドロキシエチルメタクリレート(PHEMA)のヒドロゲルCL素材とほぼ同等の値となった。コンタクトレンズ素材ならびに絹フィブリン膜における酸素の通り易さや材料の特徴から判断すると、含水状態(40%)にある絹フィブリン膜の酸素透過係数はPHEMAと同等であるが、生体高分子である絹蛋白質は生体と馴染みが良く、生体親和性が良好であるのでコンタクトレンズ素材に適しているものと考えられる。

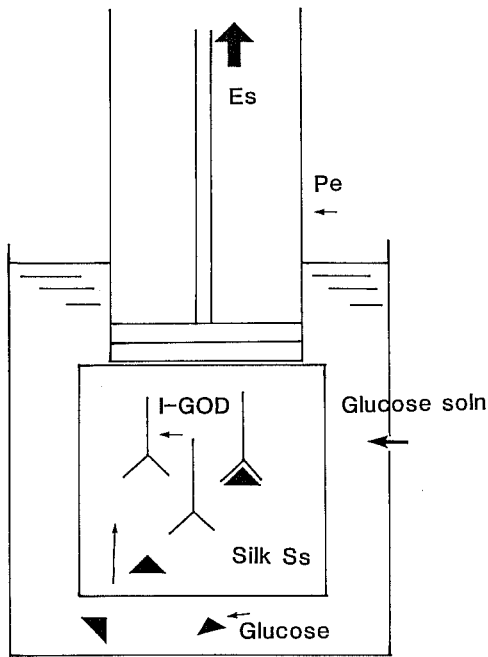
(3) 人工皮膚素材としての利用

吸湿率は絹のすぐれた特性の一つであるため絹フィブリン膜に対する水蒸気透過量を調べることは絹の新しい利用を考える上で重要である。絹膜を水に溶けないようにするためメタノール処理を事前に行うが不溶化時間3分、60分の試料膜の水分透過量は、それぞれ1日当たり、1 m²の膜で19.12 kgであった(箕浦・塚田ら、1988)。ヒトの皮膚、現在の人工皮膚用コーラゲン不織布、ならびに絹フィブリン膜の水蒸気透過量等の性能をまとめたものが表2である。人工皮膚用材料が備えるべき条件のうち、最も重要なものは水蒸気透過性である。絹膜の水蒸

表2 ヒトの皮膚、シリコンゴムならびに生体高分子膜の機械的性質等

	ヒトの皮膚 *1	人工皮膚用医用 コラーゲン不織布 *2		絹フィブロイン膜		シリコンゴム *3		キチン膜 *4	
機械的性質	乾燥時	湿潤時	乾燥時	湿潤時	乾燥時	湿潤時	乾燥時	湿潤時	乾燥時
強度	1.4 (下腹部 横方向) kg/m ²	50-100 g/m ²	250-450 g/m ²	0.7kg/m ²	3.3	—	35kg/cm ²	1.96kg	2.2kg
伸度	120 (下腹部 横方向) %	5 %	5 %	100 %	0.8 %	—	100-800 %	21%	12.3 %
水蒸気透過量 (g/m ² ・day)	300 ~ 500	500		12000 ~ 19000		—		—	

出典：*1 H.Yamada (1970), *2 中村宣男 (1978), *3 浅井 潔 (1986), *4 平野茂博 (1986)



Es 電気信号, Pe 過酸化電極, Glucose soln グルコース溶液, I-GOD 固定化 GOD, Silk Ss 絹フィブロイン担体, Glucose グルコース分子

図1 グルコースオキシダーゼを固定化した絹フィブロイン膜のグルコースセンサーの原理図

気透過量は現行の医用材料や有機高分子よりも優れているため、人工皮膚用材料として利用することができる。医用素材関連の高分子材料の強度、伸度等の機械的性質をヒトの皮膚の特性と比べたものを表2に掲げる。湿潤時における絹フィブロイン膜の強さや伸び等の機械的性質は、ヒトの皮膚の特性に近く、絹膜の水蒸気透

過量は他の材料に比べて優れている。

(4) グルコースセンサー

絹フィブロインは生体触媒である酵素に対して強い親和性を持っている。グルコースオキシダーゼ（GOD）を固定化した絹フィブロイン膜は、グルコースという特定物質を認識するためのバイオセンサーとして利用できる。GOD 固定化絹フィブロイン膜をグルコース水溶液に浸すと膜中のGODはグルコースと反応してグルコン酸と過酸化水素が新たに生ずる。発生する過酸化水素の量を過酸化水素電極で検出して電気信号量に変換することによりグルコース濃度が定量できる。絹フィブロインをGODの固定化担体とした場合のグルコースセンサーの原理図を図1に示す。絹フィブロインを酵素固定化担体に用いたGODセンサーの性能研究によると、GOD固定化担体に絹フィブロインを用いると、酵素活性のpH領域が広くなり、膜の温度安定性が向上することが明らかにされている。絹フィブロイン担体は、ゼラチン担体よりも、包括力と、安定性において優れている（朝倉ら, 1989）。

(5) 機能性絹食品

機能性食品は、整腸作用等体調を調節し、病気の予防に効果があるように工夫した食品である。絹を粉末にしたりゲル状試料にしたものが機能性食品になるのではないかとのユニークな発想が、「絹入りあめ」や「絹入り粥」の商品化を実現させた（平林ら, 1989）。マウスを用

いて絹の消化や吸収量を調べたところ、再生絹水溶液では47.2%が消化するのに対し、再生絹粉末では26.3%の消化が確認された。絹分子を切断して低分子化处理によりオリゴペプチドやアミノ酸にまで分解すると、90%以上も消化吸収される。

(6) 抗血栓性材料

医療用高分子材料の中には、生体組織に移植して人体の一部の代わりにしようとする医用高分子がある。体内に包埋したとき血液の凝固がおこり難い優れた抗血栓性材料が必要である。絹フィブロイン膜を用い成犬による *in vivo* 動物実験を行い、取り出して表面の血液凝固状態を調べたところ、留置14日後においても絹フィブロイン膜は良好な血液適合性を示した(坂部ら, 1989)。今後、絹フィブロイン膜に対する血栓の形成機構が解明されると、将来的には優れた血液適合性を確立する方法論が確立できるであろうし、血液適合性が必要不可欠となっている各種人工デバイスの開発を進展させることとなる。

4. おわりに

絹の結晶部分のアミノ酸配列の概要は明らかとなったが、染色性、吸湿性、機械的性質に大

きな影響力を持つ非結晶部分の化学構造は未解決のままである。絹蛋白質の化学構造は極めて複雑であり、微細構造は分子の引き揃え状態の良い結晶領域と乱れた分子鎖の非結晶領域とから構成される点が絹蛋白質の特徴である。非結晶領域には、分子側鎖が長くて化学反応性に富んだアミノ酸部分が多く含まれるため、生化学機能を持つ有機高分子を非結晶部分の絹分子に結合させることにより天然素材にはない新たな機能特性を絹蛋白質に付与できるのではないかと期待される。絹糸を構成する第2の蛋白質成分の絹セリシンにはフィブロインより側鎖に極性基を持つものが多く含まれ、反応性に富んだアミノ酸残基が多いことから、こうした反応性部分を化学反応の拠点にして人為的なデザインを施すことにより付加価値の高い絹蛋白質の利用が可能となろう。絹蛋白質の構造と機能との相関が多面的に解析可能となれば、絹の新用途開発が効率的に進展するであろう。その結果、絹蛋白質が持つ新たな機能性が見出され衣料素材としての利用はもとより、工業素材、医療素材として絹を利用する技術が更に進展するものと期待できる。

(蚕糸・昆虫農業技術研究所

物質変換技術研究室)