

人工クモ系の物性を劇的に改善する新物質を発見 —新素材開発に期待—

慶應義塾大学先端生命科学研究所（山形県鶴岡市）の河野暢明特任講師と荒川和晴准教授の研究グループは、理化学研究所環境資源科学研究センター（埼玉県和光市）、京都大学（京都市）、Spiber 株式会社（山形県鶴岡市）と共同で、ジョロウグモ亜科 4 種のゲノムを決定した上でマルチオミクス解析（※1）を実施し、研究対象のクモ糸がこれまで考えられていた以上に複雑な複合素材であることを明らかにしました。さらに、新規同定されたクモ糸に含まれるタンパク質の中から、人工クモ糸材に配合することで材料の物理特性を 2 倍以上に向上させることができるタンパク質「SpiCE-NMa1」を発見しました。この成果は、今後の人工タンパク素材開発の促進に大きく貢献すると考えられます。

この研究内容は 2021 年 7 月 27 日、米国科学アカデミー紀要「*Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America (PNAS)*」にてオンライン発表されました。

1. 研究の背景

生物由来のバイオマテリアルを再生可能かつ生分解可能な新素材として人工利用するという近年の流れは、持続可能な開発目標（SDGs）の目標 7、9、12、14、15（※2）などに関連して持続可能な社会に寄与し、第五次産業革命を支えるものと期待されています。特に、鋼を上回る強度とナイロンに匹敵する伸縮性を併せ持つ強靱なクモ糸の人工合成は注目され、国内外でいくつかのベンチャー企業が産業応用をはじめていますが、現状では天然の物性を完全に再現するに至っていません。その理由として、クモ糸の構造形成に重要な紡糸過程が天然と産業的生産工程で大きく異なることや、クモ牽引糸（※3）を構成する MaSp1 と MaSp2 というタンパク質のうち、工業的には主に一種類のみが活用されている点などが考えられています。一方、本研究チームの先行研究によりクモ牽引糸を構成する遺伝子は MaSp1 と MaSp2 の二つだけではなく、より複雑であることが示されつつあり（文献1）、その多様な構成要素がどのようにクモ糸の物性に寄与するか、解明が待たれていました。

2. 研究の成果と意義

本研究では、クモの中でも特に優れた物性を持つ牽引糸を紡ぐコガネグモ科ジョロウグモ亜科のなかま四種、ジョロウグモ（*Trichonephila clavata*）、アメリカジョロウグモ（*Trichonephila clavipes*）、オオジョロウグモ（*Nephila pilipes*）、そしてマダガスカルジョロウグモ（*Trichonephila inaurata madagascariensis*）を対象に、まずこれらのゲノムを決定しました。ジョロウグモのなかまは、ヒトゲノムに匹敵する 30 億文字程度の巨大なゲノムを持ち、さらにリピート配列から構成されるその糸遺伝子の決定は困難を極めますが、ナノポアシーケンサーとショートリードシーケンサー（※4）を組み合わせた独自のアセンブル法により、高品質なゲノム情報が整備されました。この情報をもとに、クモ腹部の糸腺ごとの遺伝子発現量解析、さらにクモ糸が含むタンパク質のプロテオーム解析といったマルチオミクス解析（※1）を実施し、ジョロウグモ亜科に共通して保存されているクモ糸関連のタンパク質レパートリーを明らかにしました。これまで牽引糸と呼ばれるクモが自重を支えるために用いる糸には MaSp1 と MaSp2 という糸タンパク質 2 種類のみが用いられていると考えられていましたが、本研究により新たな糸タンパク質「MaSp3B」がむしろ主要な構成成分として存在していることが明らかになりました。さらに糸タンパク質以外にも複数の機能未知タンパク質が含まれており、中でも牽引糸を合成するクモ腹部の大鞭状腺で遺伝子発現が極めて高かった「SpiCE (Spider-silk Constituting Element)」と名付けられたタンパク質が複数発見されました（図1）。このことから、強靱なジョロウグモの糸は想定されていたほど単純ではなく、未知のタンパクを含む十数種類の複合素材であることが確認されました。

次に研究チームは、これら新規要素を複合的に用いた人工クモ糸合成に挑みました。まず、牽引糸の大部分を占める MaSp1-3 タンパク質を組み合わせたフィルムを合成し、それぞれの構造変化を

WAXS 解析 (※5) しました。クモ糸は主に逆方向 β シート構造で占められ、この β シートが繊維軸方向に配向して重なり合うことでその強度を実現していると考えられていますが、実際に MaSp の組み合わせパターンによらず、MaSp3 を含むフィルムも安定した逆並行 β シート構造を取っていることが観察されました。さらに、MaSp タンパク質は繊維になる前に二量体を形成し、この時に N 末端同士の分子間相互作用が必須ですが、MaSp3 も N 末端に MaSp1 や 2 と保存された配列を持つことがわかりました。これらのことから、MaSp3 が MaSp1 や MaSp2 と協調的にクモ糸の構造を形成していることがわかります。さらに、ジョロウグモ亜科 4 種全てのクモ糸から共通して新規発見された SpiCE (SpiCE-NMa1) を MaSp に混ぜて人工クモ糸タンパクを素材としたフィルムを合成したところ、驚くべきことに、わずか重量あたり 1% の SpiCE の添加により、MaSp タンパク質のみで作られた時に比べて強さ (Tensile strength) を 2 倍以上、伸び率 (Elongation) を 1.5 倍以上上昇させることに成功しました (図 2)。

多くの研究や企業がこれまで人工クモ糸材の物性を向上させるべく、クモ糸タンパク質の種類や量、あるいは紡糸方法の改善に取り組んできました。そのような中、本研究はクモ糸の構成タンパク質を数%しか含まれない因子を含め網羅的に明らかにし、クモ糸が十数種類のタンパク質から構成される複合材であることを示したほか、クモ糸に含まれる新規タンパク質が実際に物性向上に寄与することを実験的に証明しました。

この発見は、人工クモ糸の高機能発現メカニズムの一端を明らかにするもので、タンパク素材の物性向上を実現できる革新的な方策を世界に先駆けて示したことになります。本研究成果は、今後の人工タンパク素材開発の更なる促進と、持続可能な開発目標 (SDGs) の「目標 9: 産業と技術革新の基盤をつくろう」および「目標 12: つくる責任 つかう責任」に大きく貢献するものです。

3. 論文情報

タイトル: Multicomponent nature underlies the extraordinary mechanical properties of spider dragline silk

著者名: Nobuaki Kono, Hiroyuki Nakamura, Masaru Mori, Yuki Yoshida, Rintaro Ohtoshi, Ali D. Malay, Daniel A. Pedrazzoli Moran, Masaru Tomita, Keiji Numata, and Kazuharu Arakawa

掲載誌: 米国科学アカデミー紀要「*Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America (PNAS)*」

DOI: 10.1073/pnas.2107065118

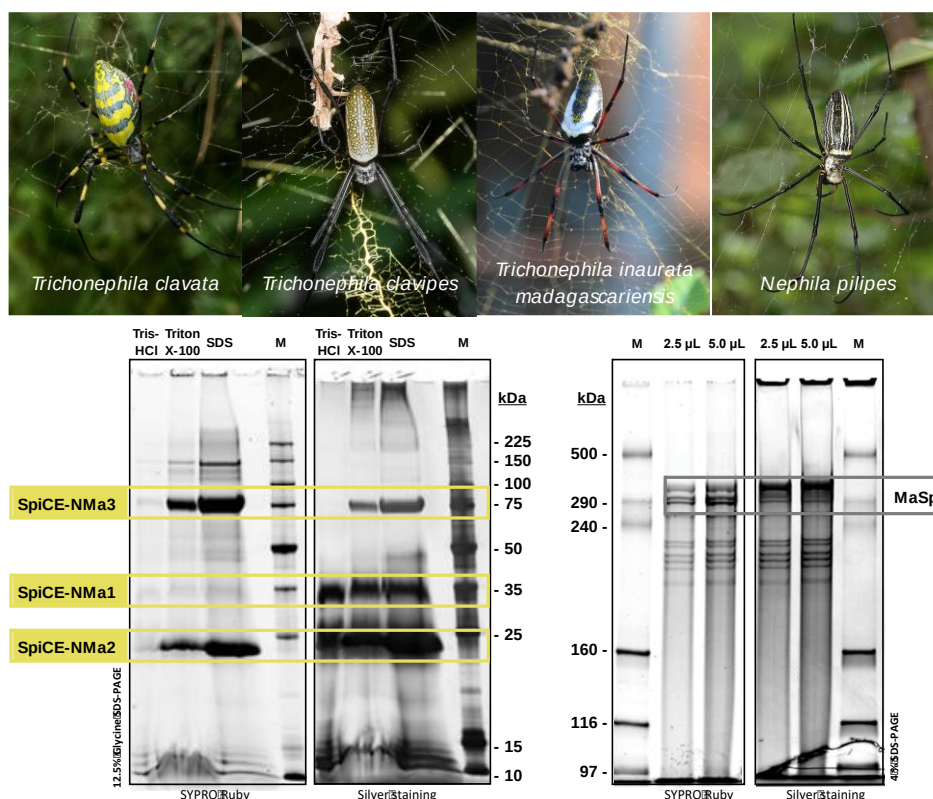


図 1：オミクス解析に用いた 4 種のジョロウグモ近縁種とそのクモ糸含有タンパク質
本研究で対象としたジョロウグモ (*Trichonephila clavata*)、アメリカジョロウグモ (*Trichonephila clavipes*)、マダガスカルジョロウグモ (*Trichonephila inaurata madagascariensis*)、そしてオオジョロウグモ (*Nephila pilipes*) の写真。下の泳動写真は、ジョロウグモ (*Trichonephila clavata*) から得られたクモ糸の中に含まれているタンパク質を SDS-PAGE によって観察した結果を示す。SDS-PAGE では、タンパクがその大きさによって分離される。従来、クモ糸を構成すると考えられてきた MaSp1 や MaSp2 が含まれる 250~300kDa の高分子領域だけでなく、100 kDa 以下のサイズに数種類のタンパク質が明確に含まれていることがわかる。

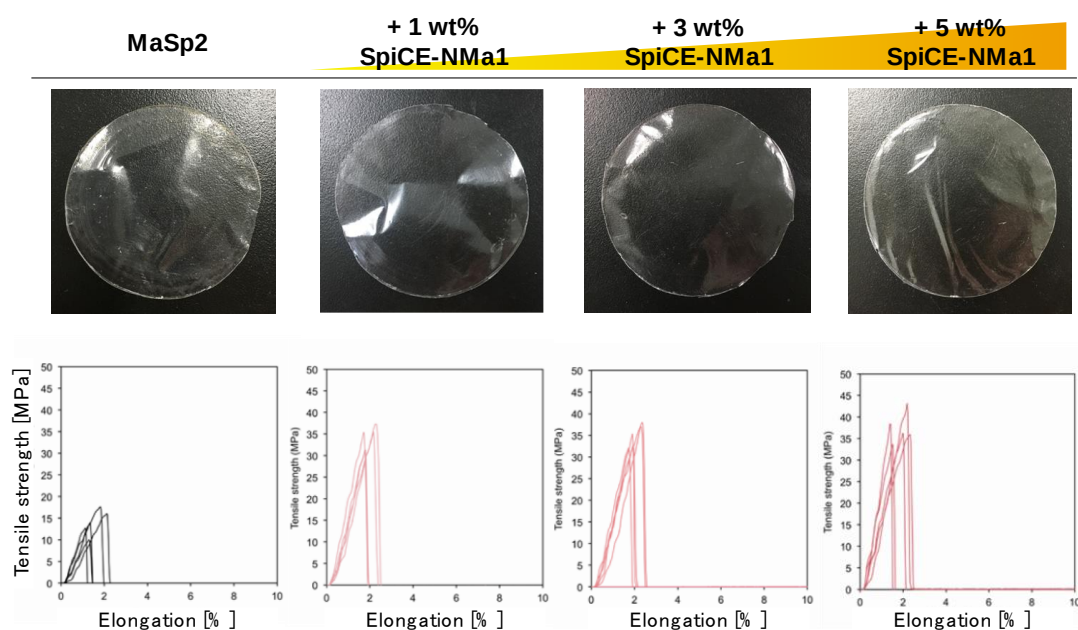


図 2：SpiCE-NMa1 が与える物性変化

クモ糸タンパク質 (MaSp2) にクモ糸から新規発見された SpiCE-NMa1 を添加してクモ糸タンパクを材料としたフィルムを合成し、各素材の物性を比較した図。フィルムに SpiCE-NMa1 をわずか 1%以上混合するだけで強さ (Tensile strength) が 3 倍、伸び率 (Elongation) が 1.5 倍上昇している。

用語解説

※1 マルチオミクス解析

ゲノミクス（遺伝子の全て=ゲノムを対象とした解析）・トランスクリプトミクス（発現している RNA の全て=トランスクリプトームを対象とした解析）・プロテオミクス（発現しているタンパクの全て=プロテオームを対象とした解析）を組み合わせた解析手法。

※2 持続可能な開発目標（SDGs）

2015 年 9 月の国連総会で採択された 2030 年を期限とした、世界的課題に対する 17 の目標。

SDGs は、Sustainable Development Goals（持続可能な開発目標）の略称。

目標 7：エネルギーをみんなに そしてクリーンに

目標 9：産業と技術革新の基盤をつくろう

目標 12：つくる責任 つかう責任

目標 14：海の豊かさを守ろう

目標 15：陸の豊かさを守ろう

※3 牽引糸

クモがぶら下がったり移動する際に用いる糸で、最も強靱さに優れる。クモは、この他にも獲物を捕獲するために粘着性を持つ糸や、卵を守るための硬い糸など、複数の種類の糸を使い分ける。

※4 ナノポアシークエンサー・ショートリードシークエンサー

現在 DNA の塩基配列を解析する装置（=DNA シークエンサー）としては、主に 100 塩基程度の短い配列を精度良く大量に読むことに長けているショートリードシークエンサーと、読み取る長さに制限がないが精度が必ずしも高くないロングリードシークエンサーの二種類が存在する。後者の代表的なものとして、DNA が微細な筒状タンパクの穴（=ナノポア）を通る際の電流変化によって DNA を解析するナノポアシークエンサーがある。精度良く長い配列を読み取るために、これら二種の機械を組み合わせた解析が必要となる。

※5 WAXS 解析 (Wide Angle X-ray scattering)

広角 X 線散乱解析。X 線が材料を透過する際にサブナノメートルサイズの構造によって散乱を生じる挙動から、物質の結晶構造や密度などを解析する手法。

文献

1. Kono N, Nakamura H, Ohtoshi R, Pedrazzoli Moran DA, Shinohara A, Yoshida Y, Fujiwara M, Mori M, Tomita M, Arakawa K*, “Orb-weaving spider *Araneus ventricosus* genome elucidates the spidroin gene catalogue”, Sci. Rep. 9(1):8380, 2019.