スパイダーシルクペプチドの遺伝子工学的合成

福島康正 ユニチカ(株)中央研究所
Yasumasa FUKUSHIMA

スパイダーシルクの牽引糸は、破断に必要なエネルギーがアラミド繊維の約3倍であり、高強度・高伸度繊維として期待されている。この優れた物性は、スパイダーシルクの結晶部分の分子鎖が規則正しく伸び切った β シート構造を形成し、その微結晶がゴム状の非晶部分中に広く分布することによって発現している¹⁾。

クモの一種である *Nephila clavipes* の牽引糸のアミノ酸配列は、4〜7個のアラニンが連続に配列したポリアラニン配列とグリシンを多く含むグリシンリッチ配列が繰り返された構造である¹⁾。現在、アミノ酸配列のどこの部分が牽引糸中の結晶部分を構成しているか精力的に研究されている。

一方、クモはカイコと異なり共存性が悪く共食いするため、クモを飼育し糸を大量に採取することは不可能である。また、スパイダーシルクはアミノ酸配列も複雑であり、分子量も高く、通常の方法で合成することは困難である。

そこで、筆者らは、スパイダーシルクの結晶部分が、どちらの繰り返し配列から構成されているか検討する目的も含め、アミノ酸15個からなるグリシンリッチ配列を反復単位としたスパイダーシルク類似ペプチド(図1のSCAP)の遺伝子組換え技術による合成を検討した^{2)~4)}。

SCAP(n)を合成するため、反復単位をコードするDNAを化学合成し、それをT4リガーゼで酵素的に自己縮合することで高分子化した後、それをT7プロモーターを有する発現ベクターに挿入し、大腸菌に導入した。発現ペプチドは水に不溶であるため、8M尿素に溶解しニッケルキレートカラムで精製した。その後、アミノ酸分析および¹H NMRにより目的ペプチドであることを確認した。

重合度 n が4から30までのDNAを含む組換え発現ベクターは得られたが、合成できたSCAP(n)は n が4から13までのペプチドであり、 n が15以上のペプチドは合成できなかった。さらに、重合度 n が小さくなるほどペプチドの収量は増加する傾向が観察され、 n が13, 12, 11, 7および6のとき、培養液1リットルあたりの収

図1 スパイダーシルク類似ペプチドのアミノ酸配列

量がそれぞれ1.2, 1.7, 3.8, 4.6 および 5.2 mg となり、 n が6から4まではほぼ同じ収量であった。

SCAP(13)の固体状態における赤外吸収スペクトル解析から、凍結乾燥後のサンプルではランダムコイルであるが、ギ酸処理すると β シート構造を形成することが判明し、グリシンリッチ配列がスパイダーシルク中の結晶部分であることを示唆する結果が得られた。また、SCAP(13)の熱分解温度は、天然スパイダーシルクとはほぼ同じ約230℃であった⁴⁾。

合成したペプチドは分子量、配列および立体化学等の性質が完全に制御されたユニフォームな高分子であり、1次構造だけでなく高次構造もユニフォームな化合物であることが期待できる。これらのペプチドが天然スパイダーシルクの優れた性質を再現できる材料になることを期待したい。

文 献

- 1) R. V. Lewis: *Acc. Chem. Res.*, **25**, 392 (1992)
- 2) Y. Fukushima, *et al.*: *Sen'i Gakkaishi*, **52**, 441 (1996)
- 3) Y. Fukushima, *et al.*: *Chem. Lett.*, 1087 (1997)
- 4) Y. Fukushima, *et al.*: *Biopolymers*, **45**, 269 (1998)

(ユニチカ(株)中央研究所・研究員, 理博. 専門=高分子化学)