

ゲノム編集技術が切り拓く シルクの新しい構造 “ぶんせき”の可能性



古賀 舞都

1 はじめに

カイコが産生するシルクは、その優れた機械的特性により古くから注目されてきた天然材料であり、シルクの主成分であるフィブロインタンパク質の構造と機能の関係を解明することは、優れた構造特性と高機能を有した新たな機能性材料の開発につながる重要な研究課題である。近年、ゲノム編集技術の発展により、カイコのフィブロイン遺伝子を直接改変することが可能になり、シルクの構造研究に新たな可能性がもたらされた。本稿では、ゲノム編集技術を用いたシルク構造研究の最新動向と、それがもたらす新たな分析手法の可能性について紹介する。

2 シルク研究へのゲノム編集技術の登場

シルクの構造研究は 20 世紀初頭から始まり、X 線回折法などの手法により、その特徴的な β -シート構造（タンパク質の結晶構造の一種で、シルクの強度に寄与する）が研究されてきた¹⁾。しかし、フィブロインタンパク質の複雑な一次構造（アミノ酸配列）や、結晶構造、階層構造が機械特性に与える影響を直接的に検証することは困難であった。

ゲノム編集技術の登場がこの状況を大きく変えた。特に、ZFN (zinc finger nuclease)、TALEN (transcription activator-like effector nuclease) や CRISPR/Cas9 (クリスパー・キャスナイン) の開発により、カイコのフィブロイン H 鎖 (Fib-H) 遺伝子を改変し、目的の配列を導入することが可能になった。これらの技術は、特定の DNA 配列を認識して切断し、目的の遺伝子配列を挿入、削除することができる。カイコのゲノム編集技術は、2010 年代に急速に発展し、現在では様々な遺伝子の改変が可能になっている²⁾。例えば、特定のアミノ酸配列の繰返し回数を制御することで、結晶と非晶の比率がシルクの機械特性にどのように影響するかを実験的に検証できる。

3 シルク構造研究の新展開

ゲノム編集技術を用いたシルク研究の代表的な例として、Fib-H 遺伝子の繰返し配列領域の改変が挙げられる。Takasu らは、TALEN を用いて Fib-H 遺伝子の繰返し配列領域を大幅に短縮したカイコ系統を作出した³⁾。この系統は、野生型（通常の遺伝子配列のままのカイコ）と比較して短い Fib-H タンパク質を産生し、得られたシルクは著しく脆くなる^{もろ}ことが明らかになった。

さらに、Takasu らは、Fib-H 遺伝子の繰返し配列領域全体を人工的に設計した配列に置換することに成功した⁴⁾。この研究では、野生型の Fib-H 遺伝子と同程度の長さを持つが、その配列を単純化した人工配列を設計し、相同組換え（配列がよく似ている DNA 鎖部分を利用した置換え）によってゲノム上の Fib-H 遺伝子を人工配列で置換した。得られた置換個体を交配し、Fib-H 遺伝子が人工配列のみの個体（ホモ接合体）と、野生型と人工配列を共に持つ個体（ヘテロ接合体）を得た。ヘテロ接合体のカイコは、見かけは正常な繭を形成したが、ホモ接合体では繭形成が著しく阻害されることが明らかになった。人工配列では、Fib-H タンパク質に見られる繰返しアミノ酸配列（GAGAGS (G:グリシン, A:アラニン, S:セリン)）が高度に反復している点が野生型と異なっており、この配列がシルクの機械特性や繭形成に直接関与していることを実験的に示すものとなった。

4 シルクの構造解析手法

ゲノム編集により得られた新規シルクの構造解析には、様々な分析手法が用いられている（図 1）。これらの手法を組み合わせることで、ゲノム編集がシルクの構造と機能にどのような影響を与えるかを多角的に解析することが可能となる。

4.1 X線回折法

X 線回折法は、シルクの結晶構造を解析する上で最も重要な手法の一つである。この手法では、X 線をシルク繊維に照射し、散乱された X 線のパターンから結晶部分の構造や結晶化度を推定する。ゲノム編集シルクの分析に応用することで、アミノ酸配列の変化が結晶構造や階層構造にどのような影響を与えるかを調べることができる³⁾。

4.2 固体 NMR 分光法

固体 NMR 分光法は、シルクの分子レベルでの構造情報を得るのに有効な手法である⁵⁾。¹³C CP/MAS NMR スペクトルにより、シルクの β -シート構造の形成状態を評価することができる。ゲノム編集シルクの分析にこの手法を適用することで、アミノ酸配列の変化が β -シート構造の内部ゆらぎや局所的な構造変化にどのような影響を与えるかを詳細に調べることができるだろう。

4.3 顕微鏡観察

走査型電子顕微鏡 (SEM) や透過型電子顕微鏡 (TEM)

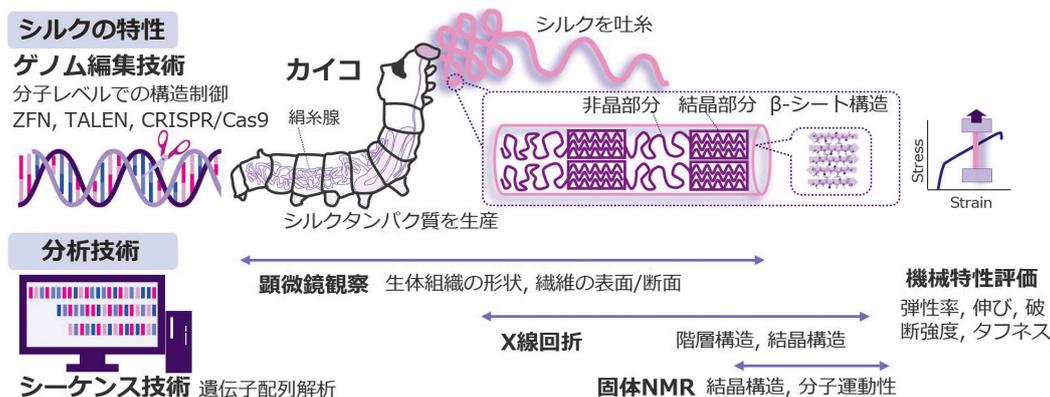


図1 シルクの構造特性と分析手法

を用いたシルク繊維の表面・断面観察，ナノスケールの生体組織や器官の観察により，ゲノム編集がシルクの繊維形態にもたらす影響を評価することができる。例えば，ゲノム編集により繭形成が阻害されたカイコでは，絹糸腺（フィブロインタンパク質を生産するカイコの体内器官）が萎縮し，細胞が崩れてフィブロインタンパク質が分泌されていないことが示された⁴⁾。遺伝子改変が生体内タンパク質生産にどのような影響を与えるかを視覚的に理解することができる。

4.4 機械特性評価

引張試験は，シルクの機械的特性を直接評価する重要な手法である。ゲノム編集シルクと野生型シルクの引張特性を比較することで，特定の遺伝子配列が繊維の強度や伸縮性にどのような影響を与えるかを定量的に評価することができる。

4.5 シーケンス技術

DNA や RNA の配列を解析するシーケンス技術の発展は，ゲノム編集シルクの研究に大きく貢献している。中でも Nanopore シーケンス技術は，長鎖 DNA 配列を直接解読することが可能であり，複雑な繰返し配列を持つ Fib-H 遺伝子を正確に検証することができる。Takasu らはこの技術を，ゲノム編集により導入した人工 Fib-H 遺伝子の全長配列の確認に用いている⁴⁾。また，RNA-seq を用いると，発現する mRNA を網羅的に解析することができる⁶⁾。ゲノム編集がシルクタンパク質等の発現パターンに与える影響を解析することも可能になっている。

5 ゲノム編集シルクがもたらす可能性

ゲノム編集技術の導入により，シルクの構造研究は新たな段階に入った。Fib-H 遺伝子の直接改変が可能になり，特定のアミノ酸配列がシルクの構造と機能にどのように寄与しているかを直接検証できるようになった。これにより，シルクの優れた機械特性（弾性率，伸び，破断強度，タフネス，など）を担うアミノ酸配列が同定されるなど，タンパク質の一次構造と機械特性との関係の解明が加速している。特定のアミノ酸配列を欠失させた Fib-H タンパク質を設計してカイコに導入することで，X 線回折などによる構造決定の精度向上も見込まれる。

さらに，シルクタンパク質の生合成や分泌のメカニズムに新たな知見をもたらすことも期待される。ゲノム編集シルクは従来の分析手法の限界を超えるための新たなツールとなりつつある。

6 今後の展望

より精密な遺伝子改変技術の開発や構造解析手法の発展により，分子構造から繊維特性に至る多階層的な理解が深まることが期待される。一方で，ゲノム編集シルクの実用化には，安全性評価や大量生産技術の確立に加え，倫理的・法的問題への十分な配慮も必要である。

シルクは，その優れた特性から古くから人類に利用されてきた天然材料である。ゲノム編集技術を活用した新たな構造“ぶんせき”アプローチにより，さらなる可能性が拓かれつつある。今後，材料科学，生物学，分析化学など多分野の研究者の協力により，シルク研究がさらに発展していくことが期待される。

文 献

- 1) R. E. Marsh, R. B. Corey, L. Pauling : *Biochim. Biophys. Acta*, **16**, 1 (1955).
- 2) T. Daimon, K. Kiuchi, Y. Takasu : *Dev. Growth Differ.*, **56**, 14 (2014).
- 3) T. Yoshioka, Y. Takasu, H. Sezutsu, T. Kameda : *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **4**, 832 (2018).
- 4) Y. Takasu, N. Yamada, K. Kojima, M. Iga, F. Yukuhiro, T. Iizuka, Y. Yoshioka : *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **161**, 104002 (2023).
- 5) T. Asakura, Y. Suzuki, Y. Nakazawa, K. Yazawa, G. P. Holland, J. L. Yarger : *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, **69**, 23 (2013).
- 6) K. Yokoi, T. Tsubota, A. Jouraku, H. Sezutsu, H. Bono : *Insects*, **12**, 519 (2021).



古賀 舞都 (KOGA Maito)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構生物機能利用研究部門絹糸昆虫高度利用研究領域新素材開発グループ（〒305-8634 茨城県つくば市大わし1-2）。東京工業大学大学院有機・高分子物質専攻。博士（工学）。《現在の研究テーマ》シルク素材の開発。《趣味》旅行，チェロ。E-mail : maito.koga@naro.affrc.go.jp