慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	タンパク質素材産業化への挑戦
Sub Title	Towards industrialization of protein materials
Author	中村, 浩之(Nakamura, Hiroyuki) 菅原, 潤一(Sugahara, Junichi)
Publisher	慶應SFC学会
Publication year	2023
Jtitle	Keio SFC journal Vol.22, No.2 (2022.) ,p.108- 127
JaLC DOI	10.14991/003.00220002-0108
Abstract	クモの糸、シルク、羊毛、髪の毛や爪など、□物は様々な□的のためにタンパク質を素材として利□している。これらの素材を構成するタンパク質は、酵素や抗体などのタンパク質と区別され、構造タンパク質と呼ばれる。構造タンパク質は、素材としての魅力的な機能、石油化学製品を代替する可能性から、循環経済を実現する素材として期待されている。Spiber株式会社は、2007年の創業から一貫してタンパク質素材の産業化に挑んできた。本報告では、構造タンパク質および、その産業化に挑戦するSpiberについて紹介する。
Notes	特集 SFCバイオの軌跡 第3章 鶴岡からの地方創生 招待論文 : 実践報告
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AA11671240-00220002-0108

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

［招待論文：実践報告］

タンパク質素材産業化への挑戦
Towards Industrialization of Protein Materials

中村 浩之
Spiber 株式会社チームマネージャー
慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科後期博士課程
Hiroyuki Nakamura
Team Manager, Spiber Inc.
Doactoral Program, Graduate School of Media and Governance, Keio University
Correspondence to: nakamura@spiber.inc

菅原 潤一
Spiber 株式会社取締役兼執行役
Junichi Sugahara
Director and Executive Officer, Spiber Inc.

Abstract:　クモの糸、シルク、羊毛、髪の毛や爪など、生物は様々な目的のためにタンパク質を素材として利用している。これらの素材を構成するタンパク質は、酵素や抗体などのタンパク質と区別され、構造タンパク質と呼ばれる。構造タンパク質は、素材としての魅力的な機能、石油化学製品を代替する可能性から、循環経済を実現する素材として期待されている。Spiber 株式会社は、2007 年の創業から一貫してタンパク質素材の産業化に挑んできた。本報告では、構造タンパク質および、その産業化に挑戦する Spiber について紹介する。

Living organisms utilize proteins as materials for various purposes like silk, spider silk, wool, hair and nails. Proteins composing these materials are named structural proteins, as distinguished from enzymes and antibodies. Spiber Inc. has been trying to industrialize protein materials since its establishment in 2007. In this report, we introduce structural proteins and our challenge for their industrialization.

Keywords: 構造タンパク質、フィブロイン、循環経済
structural protein, fibroin, circular economy

はじめに

タンパク質という言葉を聞いて、何を思い浮かべるだろうか。動物性タンパク質や植物性タンパク質のように、わたしたちの体を構成する栄養素を思

い浮かべる人が多いのではないか。タンパク質は、生物の体を構成する重要な要素の 1 つであり、動物の内臓や骨、筋肉を構成するのはもちろん、皮膚や髪の毛、爪を構成するためにも使われている。人類はタンパク質を、長年にわたり素材として使用してきた。カイコ (*Bombyx mori*) は 5,000 年以上前から、人間によって家畜化され、絹を作るために飼育されてきた (The International Silkworm Genome Consortium, 2008)。羊 (*Ovis aries*) から得られる羊毛もまた、古くから素材として使われてきたタンパク質の 1 つであり、その家畜化の歴史は中石器時代の 11,000 年前に遡る (Zeder, 2008)。このように、タンパク質によって構成された素材を、本稿ではタンパク質素材と呼ぶ。見た目の美しさ、保温性、軽さなど、優れた機能を持つタンパク質素材は、人類の生活を豊かにすることに貢献してきた。

現在、世界全体で 1 年に生産される羊毛はおよそ 110 万トン、絹は 20 万トン程度である。大きな数字に見えるかもしれないが、化学繊維を含めた繊維全体の生産量から見ればそれぞれ 1.2%、0.2% を占めるに過ぎない (日本化学繊維協会 , 2018)。生産量の 70% を占めるのは、ポリエステル、ナイロン、アクリルに代表される化学繊維である。天然繊維は綿花の栽培や牧畜、養蚕を通じて生産される。そのため、需要に応じて規模を拡大するには、飼育する生物の数を増やす必要があり、牧草地や耕作地のスペース、飼育にかかる人の数などによって制約を受ける。一方、化学繊維は大規模なプラントによって石油化学製品を用いて作られる。大規模に生産すればするほどコストは下がるため、生産量を短期間で増加させることは天然繊維に比べ容易い。実際に、繊維全体の生産量は年々増加しており、需要は高まっていると考えられるが、天然繊維の生産量はほぼ横ばいである (日本化学繊維協会 , 2018)。人口の増加や開発途上国の発展に伴い増加した需要を、化学繊維の増産によって満たしていることが推察される。

化学繊維の大量生産と大量消費には、化石燃料を使用し大量のエネルギーを消費して繊維を生産することの問題と、マイクロプラスチックによる海洋汚染に代表される、製品自体の生分解性に関する問題が存在する。最も生産量の多い化学繊維であるポリエステル繊維の生産には、大量のエネルギーと石油を必要とし、プラントからは大量の副産物が排水とともに排出される。

このため、環境に対する負荷は高いと考えられている（Koszewska, 2018）。化学繊維は環境中での分解速度が遅く、環境中に長期間残ってしまう。漁業等で使われた化学繊維が海洋中に残留する問題、非常に小さいプラスチックの破片が海洋中に漂うマイクロプラスチックによる海洋汚染もまた、大きな問題となっている（Andrady, 2011）。天然繊維に関しても問題がないわけではなく、コットンの生産に非常に大量の真水を使用する問題（Chapagain et al., 2006）、生地に含まれる染料によって土壌が汚染される問題が存在する（Koszewska, 2018）。このように、現在主流の化学繊維、天然繊維には、環境負荷の面で問題が存在しており、これらを代替する素材が求められている。

タンパク質素材は生物によって非常に長い期間使われており、進化によって洗練された機能を持った魅力的な材料である。タンパク質という共通の構成要素を持ちながら、羊毛のように軽く暖かい繊維、絹のように審美性に優れた繊維、皮のように柔軟な材料、爪や角のように硬い材料など、さまざまな材料を形作ることができる。しかし、人類はこれまで、数種類のタンパク質素材しか使いこなしてこなかった。素材を作る生物を飼育することによってのみ生産が可能であり、大規模に飼育が可能な生物は多くないためである。

タンパク質は、最終的にどのような材料になるにせよ、生物の細胞内で遺伝子が翻訳されることで作られる。目的の材料を構成するタンパク質のアミノ酸配列を設計し、遺伝子組換え技術を用いて遺伝子を導入した微生物をタンクの中で培養すれば、理論的にはどのようなタンパク質素材であっても生産することができる。細胞という単一のプラットフォームでさまざまなタンパク質素材を作ることが可能なのである。さらに、大型の培養タンクを使用することで、工業的なスケールでの生産を行うこともできる。発酵生産によって多種多様なタンパク質を大規模に生産することができれば、生物から大量に得ることが難しいタンパク質素材など、これまで人類が活用してこなかったタンパク質素材にも活用の道が開けるだろう。

タンパク質素材を化学繊維と同等の規模で作ることができれば、化学繊維の代替として産業応用が可能になるだろう。天然繊維の生産に存在する、大規模な農地や牧草地、大量の水の使用に関連する問題も、化学繊維のように環境中に残留することで起こる問題も、克服することが可能なのではないか。

さらに、微生物発酵に非可食バイオマスや廃棄されるバイオマスを利用する、光合成によって二酸化炭素や窒素を固定する微生物を利用するといったことが実現すれば、循環経済の実現にとって重要なピースの 1 つとなり得るだろう。本稿では、持続可能な社会の実現に資するタンパク質素材と、それを構成する構造タンパク質について解説する。そして、Spiber 株式会社（以下、Spiber）が創立から 15 年にわたって取り組んできた、タンパク質素材産業化の試みについて紹介する。

1　構造タンパク質について

シルクや羊毛などのタンパク質素材は、構造タンパク質と呼ばれるタンパク質によって構成されている。構造タンパク質は主に生物の体を構成する材料として使われ、酵素や抗体などのタンパク質と区別され研究が行われており、その多くは分子間・分子内水素結合による階層的構造を作るためにアミノ酸配列の繰り返し構造を持っている（Numata, 2020）。代表的なタンパク質素材であるシルクや羊毛の他にも、クモ糸（クモシルク）をはじめとした節足動物のシルク、動物の細胞外マトリックス、トンボやバッタの羽、イカの吸盤の角質環など、様々なタンパク質素材が存在する。本項では、これら自然界に存在する様々なタンパク質素材を構成する構造タンパク質について紹介する。

シルクといえば、カイコガのシルクが代表的であるが、それ以外にも多くの節足動物がシルクを利用する。カイコガを含む新鱗翅類（Neolepidoptera）の幼虫の多くはシルクを作り、風による分散や隠れ家の材料、蛹の時期に外敵から身を守る繭として利用する（Fedic et al., 2002）。野蚕として知られ、カイコガに近縁なヤママユガ（*Antheraea yamamai*）やウスタビガ（*Rhodinia fugax*）のシルクは、カイコガのフィブロインと異なったアミノ酸配列からなるフィブロインを持ち、構造的な特徴や熱物性、力学物性がカイコガのシルクと異なっていることが報告されている（Malay et al., 2016）。ミノムシとして知られるミノガ科（Psychidae）も糸を紡ぐ鱗翅目として知られている。河野らはミノガ科のオオミノガのゲノムを解読することで、それまで知られていなかったミノガのフィブロインを同定し、カイコガとヤママユガのフィブロイン

の両方の配列的特徴を持っていることを明らかにした（Kono et al., 2019a）。

その他のシルクを作る節足動物として特に有名なのは、生態の様々な場面でシルクを活用するクモであろう。クモが特徴的なのは、1 匹のクモが持つシルクの多様性と、その力学物性にある。1 匹のクモは 7 種類の糸を紡ぐことができ、命綱として使う糸や獲物を捕獲するための網を構成する糸、卵嚢の内側と外側を覆う糸など、用途に応じて異なる性質の糸を使い分けている（Eberhard, 2020）。7 種類の糸はそれぞれ対応する器官である糸腺で作られる。いわゆる「クモの巣」として知られる円網は、大瓶状腺で作られるワク糸やタテ糸、小瓶状腺で作られ、巣を張る際に一時的に使われる足場糸、集合腺で作られ、獲物に貼り付く粘球として使われる糸、鞭状腺で作られ、粘球を付着させる横糸、ナシ状腺で作られ、巣を壁や木の枝に固定するための付着盤といった、様々な種類のシルクで構成されている（Eberhard, 2020; 新海ら , 2020）。これらのシルクは異なる力学物性を持っていることが知られており、目的に応じて使用するシルクを変えていることを示唆している（Blackledge and Hayashi, 2006）。クモ糸を構成するクモフィブロイン（Spidroin）は大量のリピート領域を含み、かつ非常に長い遺伝子である。そのため、シーケンシングによって全長配列を決定することは困難であった。荒川、河野ら慶應義塾大学先端生命科学研究所のグループは、ロングリードシーケンシングとショートリードシーケンシングを組み合わせた手法によって、様々なクモにおいてクモフィブロインの全長配列の完全なセットを得ることに成功している（Kono et al., 2019b, 2020, 2021a, 2021b）。

カイコガ、クモ以外にも、節足動物には生活の中でシルクを利用するものが数多く存在する。クモ型類ではクモ以外にも、ダニやカニムシがシルクを巣として利用する（Arakawa et al., 2021; Kovoor, 1987）し、アリやハチの仲間では、幼虫がシルクを利用することが知られている。ハバチ亜目（Symphyta）では多くの種で幼虫が蛹になる際に繭を作ることが知られている（Sehnal and Sutherland, 2008）。ハチ亜目（Apocrita）においても、寄生バチであるヒメバチ上科（Ichneumonoidea）で β シート構造を持つシルクで繭を作ることが報告されているし、社会性昆虫であるミツバチ上科（Apoidea）のハチの中にも、コイルドコイル構造を持つシルクを、巣を構成する材料として使う種が知ら

れている (Sehnal and Sutherland, 2008; Sutherland et al., 2007)。水生昆虫の中にも、水中でシルクを使うことが知られている種が存在する。トビケラ目 (Trichoptera) の幼虫は、水中で小石や枯葉をシルクによってつなぎ合わせて巣を作る。トビケラが持つフィブロインはリン酸化されたセリンによって β シート構造を形成しており、カルシウムやマグネシウム、鉄などのカチオンによって構造が安定化されていると考えられている (Addison et al., 2014)。小型の水棲甲殻類であるタナイス類 (Tanaidacea) もまた、水中でシルクを使用して巣を作り、その中で生活することが知られている。トランスクリプトームとプロテオームを用いてシルクを構成するタンパク質が同定されており、*B. mori* シルクフィブロイン H 鎖同様に GAGAGS モチーフを持つタンパク質、トビケラ目のシルク同様に SXSXSXSX モチーフを持つタンパク質、コラーゲン同様に GPX モチーフを持つタンパク質が報告されている (Kakui et al., 2021)。タナイス類のシルクから複数のタンパク質が検出され、他の生物が使う構造タンパク質と共通の配列的特徴が見られたことは、シルクの使用用途とアミノ酸配列の関係を考える上で興味深い。

羊毛やカシミア、ファーとして使われる獣毛、私たち人間の毛髪や爪、ウシやシカの角、鳥の羽毛、これらは全て、ケラチンを主成分とするタンパク質素材である。ケラチンは、広角 X 線回折によるパターンから α-ケラチンと β-ケラチンに大別される。α-ケラチンは哺乳類に多くみられ、β-ケラチンは鳥類や爬虫類に多く見られる。α-ケラチンは α ヘリックスが 2 つバンドルされた二量体が集合してフィラメント前駆体を構成し、さらにそれらがバンドルされることでフィブリル前駆体が、フィブリル前駆体が集合して中間径フィラメントが構成される。このフィラメントがさらに寄り集まり、システインを豊富に含むケラチン関連タンパク質 (Keratin Associated Protein, KAP) に包まれ、階層的な構造を作ることによって、毛髪や羊毛となる。β-ケラチンは β シートが集合してフィラメントを構成し、鳥類の羽毛や爬虫類の鱗となる (Wang et al., 2016)。

エラスチンは、細胞外マトリックスを構成するタンパク質として知られており、その名前が示す通り伸縮性の高い組織を構成するために使われている。ゴムのようなエントロピー弾性を示すことが知られており、特徴的な GVGVP

モチーフを繰り返したタンパク質を利用した研究によって、分子鎖内部の運動が伸長によって減衰することが弾性の原因であることが示唆されている（Urry et al., 2002）。また、温度が閾値を超えた時に液体－液体相分離（Liquid-Liquid Phase Separation, LLPS）を起こすことが知られており、配列を改変したエラスチン様ペプチドによる LLPS の挙動とアミノ酸配列の関係が調べられている（Muiznieks et al., 2018; Quiroz and Chilkoti, 2015）。アミノ酸配列はポリアラニンを含む疎水的な領域と、GVGVP モチーフを多く含む架橋ドメインから構成されていおり、クモ牽引糸を構成するタンパク質の１つである Major ampullate spidroin 2（MaSp2）に似通っている（Muiznieks et al., 2018）。

コラーゲンもまた、細胞外マトリックスを構成するタンパク質の１つである。哺乳類の体を構成する、最も存在量の多いタンパク質として知られており、総重量の 30% 程度を占めている。少なくとも１つの三重ヘリックスドメインを持つ、28 種類のファミリーで構成されるスーパーファミリーである。コラーゲンは３つのα鎖からなる三重ヘリックス構造をとって機能する。この三重ヘリックスは３残基に１つ存在するグリシンと、プロリンおよびヒドロキシプロリン、分子間の水素結合と静電相互作用によって安定化される。三重ヘリックス構造をとる配列は Gly-X-Y リピートから成り、X と Y はプロリンあるいはヒドロキシプロリンであることが多い。この三重ヘリックスが集まることによって、コラーゲン繊維が構成される。ファミリーによっては繊維状ではなく、ネットワーク状の超構造をとる場合もある（Ricard-Blum, 2011）。古くから、皮革の残渣を使用した再生コラーゲン繊維の製造が試みられてきた（谷口 , 1963）。複数の企業により実用化されており、吸放湿性や難燃性に優れた繊維として、人工毛髪等に応用されている。

この他にも、ノミの跳躍機構やトンボの羽など、節足動物で弾性タンパク質として使用されるレジリン（Andersen and Weis-Fogh, 1964）、イカの触腕に使われ、自己修復する性質が注目されているサッカリン（Ding et al., 2014, 2015; Manabe et al., 2021）、同じくイカが瞬時に環境に合わせて体色を変化させる際に使うリフレクチン（Crookes et al., 2004; Gabryelczyk et al., 2019）など、多様な構造タンパク質が存在している。

このように、生物は様々な構造タンパク質を材料として活用しており、材料としての特性や形態も、構成するタンパク質のアミノ酸配列も多種多様である。これらのほとんどは、これまで人類によって利用されてこなかったタンパク質素材であり、タンパク質素材に大きな可能性があることを示している。次項では、これら構造タンパク質の中でも、最も盛んに微生物発酵を用いた応用研究が行われてきた、クモ牽引糸の実用化に向けた試みについて紹介する。

2　人工構造タンパク質研究と実用化の試みについて

種々の構造タンパク質の中でも、クモ糸、特に命綱として使われる牽引糸は、その並外れた強度と高い伸度を兼ね備えたタフな繊維として知られており、古くから盛んに研究の対象とされてきた (Denny, 1976; Gosline et al., 1986)。クモ牽引糸は 1GPa を超える強度、20% を超える伸度を合わせ持ち、強度と伸度がトレードオフの関係になることの多い繊維の中で、特筆すべき性能を持っている (Porter et al., 2012; Vollrath, 2000)。また、2010 年に記載された、川にまたがる巨大な巣を張る Darwin's bark spider (*Caerostris darwini*) の牽引糸は、354MJ/m^3 という、それまでに知られていたどのクモよりも高いタフネスを持っていることがわかった (Agnarsson et al., 2010; Gregorič et al., 2011)。このように魅力的な力学物性を持つクモ糸であるが、クモはカイコガと異なり肉食であり、家畜化して大規模に飼育することは困難である。このため、1990 年に *Trichonephila clavipes* 由来の Spidroin MaSp1 のアミノ酸配列が部分的に明らかになったことをきっかけとして、遺伝子組換え技術を用い、人工的にクモ牽引糸を再現しようとする研究が開始された (Prince et al., 1995; Xu and Lewis, 1990)。学術界での最初の報告のすぐあとの 1996 年には、Du Pont 社による組換えタンパク質を用いた人工クモ糸の最初の特許が公開された (Fahnestock, 1996)。2002 年には哺乳類の培養細胞によって作られた人工クモ糸繊維の報告が Science 誌に掲載された (Lazaris et al., 2002)。この頃から、天然のクモ糸の優れた力学物性を人工的に再現する試みが数多くなされてきた。

これらの試みは使用される手法が共通していた。遺伝子組換え技術によっ

て様々なホストに、改変したクモフィブロインを導入して発現させ、精製して得られたタンパク質を水や有機溶媒に高濃度で溶解し、メタノール等の固化浴中に高濃度溶液を押し出し、脱溶媒によって繊維の形に加工するというものである。これはレーヨンやミルク繊維、再生絹糸などの再生繊維の作り方に近い方法といえる。

天然のクモフィブロインは分子量が 300kDa 程度と大きく、アミノ酸配列は末端ドメインを除き、偏ったアミノ酸組成の短い繰り返し領域で構成される。このため、天然のクモフィブロインを遺伝子組換えによって作成することは、遺伝子を合成する点においても、異種タンパク質発現の点においてもハードルが高い。そのため、分子量を小さくし、単一の繰り返し領域を一定回数繰り返したコンストラクトが使われることが多い。これはしばしば mini-spidroin と呼ばれる。

クモフィブロインを発現させるホストとしては、大腸菌やサルモネラ菌、酵母といった微生物、タバコやジャガイモ、シロイヌナズナといった植物、哺乳動物の細胞系列、ヤギ、マウス、昆虫細胞、カイコガ、光合成細菌など多岐にわたる報告が存在する (Tokareva et al., 2013; Whittall et al., 2020; 清水ら , 2004)。また、大腸菌の tRNA プールを増強することにより、高分子量のクモフィブロインの発現を可能にしたという報告もある (Xia et al., 2010)。このように様々なホストに関する工夫が行われてきたのは、前述したクモフィブロインの分子量の大きさと繰り返し領域の存在によるものであろう。

当初、再生繊維同様の方法で作られた人工クモ糸は、強度が低く脆いものがほとんどだった。これに対し、複数のアプローチで天然のクモ糸の力学物性に近づけようとする試みが行われた。クモフィブロインの大きな分子量が力学物性の鍵なのではないか、という仮説はその 1 つである。Xia らは、前述した大腸菌のグリシンに対応する tRNA プールを増強することで、天然のクモフィブロインと同等の分子量を持つ人工クモフィブロインを作り、天然のクモ牽引糸の半分程度の強度を持つ人工クモ糸を作ったと報告した (Xia et al., 2010)。また、天然のクモフィブロインは、N 末端ドメインが繊維形成過程で二量化することが知られている。そこで、Bowen らは、インテインを利用することによって、アミノ酸配列長が天然のクモ糸の 2 倍程度の人工クモ

フィブロインを作成し、天然クモ牽引糸と同等の強度を実現したと報告した（Bowen et al., 2018）。これらの試みでは、再生繊維同様の手法を用いて繊維が作られた。

人工クモ糸についての研究と並行して、天然クモ糸の繊維形成機構に関する研究が進み、クモがどのように溶液状態のタンパク質を固体の繊維に加工しているかが、少しずつ明らかになっていった。クモフィブロインは N 末端ドメイン、繰り返し領域、C 末端ドメインで構成されている。N 末端ドメインと C 末端ドメインは繊維形成に寄与していると考えられており、N 末端は pH に反応して二量化することが明らかになった（Askarieh et al., 2010; Hagn et al., 2011; Landreh et al., 2010; Schwarze et al., 2013）。また、C 末端に関しても構造が明らかになることで、繊維形成に関与していることが示唆された（Hagn et al., 2010）。また近年 Malay らは、C 末端がイオン強度の変化に反応して LLPS を引き起こすこと、N 末端が pH の変化に反応して繊維形成を引き起こすことを報告した（Malay et al., 2020）。

このように天然クモ糸の繊維形成機構が徐々に明らかになるにつれ、天然クモフィブロインの繊維形成機構を利用した紡糸の試みや、天然クモ糸に見られる階層構造を再現することで、力学物性を近づけようとする試みがなされるようになってきた。Andersson らは N 末端、C 末端ドメインを持つ minispidroin の高濃度水溶液を pH の低い固化浴に吐出することによって繊維形成を行った（Andersson et al., 2017）。Saric らは、N 末端と C 末端を持つ eADF3 および eADF4 を用いて、pH を下げることによりヘテロダイマーを形成させ、より天然のクモ糸に近い力学物性を持つ繊維を作ったと報告した（Saric et al., 2021）。これらの Biomimetic spinning は、従来の人工クモ糸の作成方法と異なり、有機溶媒を使用せず、pH の変化とイオン強度の変化によって繊維を作ることが可能であり、新しい繊維形成の手法として期待される。

このように、学術界において人工クモ糸の研究は盛んに行われてきた。これらの人工クモ糸の研究では、最終的な目標として実用化が想定されるものの、基本的には天然クモ糸がなぜ優れた力学物性を持つのかを研究する目的で行われている。文献を見る限り、その試みは一定の成功を収めているように見える。それでは、1990 年代後半に始まり、その後も続いてきた学術界、

産業界における実用化に向けた試みは、何がハードルとなってきたのだろうか。

筆者らは、構造タンパク質素材の実用化研究におけるハードルは、素材の特性や、素材に加工を施した加工品の評価を行うために、研究室で行われる組換えタンパク質生産のスケールを大きく超える大量のタンパク質を必要とする点であると考えている。実用化という点において、必要なのは、繊維や加工品を実際に使用した際に起こる課題を発見し、克服することである。繊維は、紡糸後の繊維の状態で最終製品となることはほとんどなく、紡績糸のように加工を経た繊維、さらに加工されて織物や編物などの布や、それらから作られた衣服として使用される。T シャツのようにシンプルな衣服であっても、200 グラム程度の生地を必要とする。このように、繊維を加工して得られる生地、樹脂などの材料の評価には、数百グラムから数キログラムスケールのタンパク質が必要となる。非常に小規模な材料で評価が行える実験系を作ったとしても、グラムスケールでタンパク質を得なければならない。グラムスケールのタンパク質というのは、一般的な研究対象である酵素などのタンパク質の常識からは非常に大きい。大規模な培養設備や精製が行える環境と手法、人的資源が必要となり、1 つの研究室で全ての設備や手法を揃えることは困難である。そのため、構造タンパク質素材に加工を加えて評価するといった研究は、そもそも行うことが難しい。このような理由から、タンパク質素材の材料としての研究はあまり進んでこなかったのではないか。材料としての評価が行えなければ、実際に材料として使った時にどのような課題が存在するかが明らかにならず、実用化に向けた課題の克服を行うことはできない。

もちろん、産業界においては、大量のタンパク質を発酵生産で作る例は存在する。ただし、そういった技術を持つ企業がビジネスの対象とするのは酵素や医薬品であることがほとんどであり、素材としてタンパク質を生産する例はこれまでになかった。そのため、組換えタンパク質を扱う産業界において、構造タンパク質の研究は積極的に行われてこなかったと推察される。タンパク質素材の実用化の試みは、それ自体を目的とするベンチャー企業によってのみ可能なのだろう。こうした企業としては、筆者の所属する Spiber の他に、

アメリカ西海岸に拠点を置く Bolt Threads、ドイツの AMSilk、スウェーデンの Spiber Technologies AB などがある。筆者が所属する Spiber では、実用化におけるハードルをどのように乗り越え、タンパク質素材の産業化を目指しているのであろうか。次項では、Spiber が実践してきた、これまでの試みを紹介する。

3　Spiber におけるタンパク質素材産業化の試みについて

図 1：MOON PARKA

Spiber は、慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科に在籍中の学生を中心に 2007 年に立ち上げられた。“Contributing to sustainable well-being” をミッションに掲げ、タンパク質素材の産業応用を目指している。設立当初は数 mm の人工クモ糸繊維を作ることができた程度の状態だったが、2 年後の 2009 年には束状にした長繊維を作ることができるようになり、徐々にスケー

ルが上がっていった。2013 年には最初のプロトタイプであるブルードレスを発表、自動車部品製造を行う企業である小島プレス工業と共同で試作研究プラントを立ち上げた。この時点で、ラボスケールから 1,000 倍の規模にスケールアップがなされた（髙橋ら , 2016）。2015 年には株式会社ゴールドウインと共同で開発したアウトドアジャケットのプロトタイプ「MOON PARKA」を発表し、その後 2019 年に初の製品となる T シャツ「Planetary Equilibrium Tee」、製品版の「MOON PARKA」を販売した（図 1）。その後もニット製品である「The Sweater」、デニムやフリースをゴールドウインと共同開発し、発表している（デニム、フリースは 2022 年秋以降に発売予定）。今年 2022 年には、欧米に拠点を置くアパレル企業である PANGAIA と共同開発したスウェットパーカーが発売された。さらにスケールを上げ、産業化を加速するために、2021 年タイ・ラヨン県に初の量産プラントを建設し、生産条件の最適化やより効率的な生産プロセス開発と並行させながら、2022 年春より生産を開始している。また、米国の穀物プロセッサー大手、ADM 社と協業し、米国での量産体制構築に向けた準備を並行して進めている。

この流れを見ると、着実にスケールアップを行い、特に問題もなくタンパク質素材の産業化に向かっているように見える。しかし、その過程では、数々の課題と技術開発による課題の克服があった。実用される製品を開発する上で次々に起こる課題を克服できた要因は、Spiber の特徴が大きく関連していると筆者らは考えている。

Spiber には、他のタンパク質素材ベンチャーにはない特徴が 3 つある。それは、垂直統合、マルチスケール、そしてフィードバックサイクルという考え方である。垂直統合とは、原料に近い分野の製造工程から、最終製品に近い製造工程までを 1 つの企業が全て担うモデルである。Spiber の場合、タンパク質素材の配列デザインから遺伝子合成、発酵生産といった川上分野から、繊維の紡糸やプロトタイプ作製、製品の評価までの工程を全て行える体制をとっている。マルチスケールとは、これらの工程をラボレベルから商業生産スケールで設備を保有していることを意味する。筆者らの知るかぎり、ここまでの統合を行っている例はなく、発酵生産は発酵に強い企業との共同研究で行う、紡糸は紡糸を専門に行う会社と共同で行うなど、水平分業のスタイ

ルがとられていたり、ラボレベルでは垂直統合できていても、生産設備を持っておらずスケールアップ時の問題発見・解決ができないケースが多い。タンパク質素材の産業化に関わる研究開発は、世の中で初めて行われることの連続であり、かつ分野と分野の間に重要な課題が存在する場合が多い。そのため、全ての工程を把握していないと、本質的な課題を見出すことはできない（髙橋ら , 2016）。例えば、繊維を作る段階で現れた課題が即座に上流のチームに共有され、あらゆる角度から課題の解決に向けた取り組みが行われ、課題が解決されるといったことが頻繁に行われている。このように、垂直統合・マルチスケールは問題解決の速度向上に大きく貢献していると考えられる。

フィードバックサイクルとは、構造タンパク質のアミノ酸配列デザインから遺伝子合成、微生物発酵による培養から精製、紡糸による素材化とプロトタイプ作製という一連の流れから得られる情報を、アミノ酸配列デザインにフィードバックすることによってデザインを更新し、素材の特性や微生物発酵における生産性の改善を図るサイクルのことである。このフィードバックを素早く行い、サイクルを高速に回すことによって、Spiber の構造タンパク質は実用上の課題を克服し続けてきた。このフィードバックサイクルは、前述した垂直統合があるからこそ実現可能なものである。

このように、垂直統合、マルチスケール、フィードバックサイクルによって、Spiber は自身が使う構造タンパク質を改良し続けてきた。実用上の課題の克服の一例として、クモフィブロインを用いて製品を作る上で大きな問題となる収縮の問題が挙げられる。

天然のクモ牽引糸は水や高い湿度に触れることで急激に収縮することが知られており、超収縮と呼ばれている（Work, 1977; 1981）。非結晶領域の分子配向が水によって低下することで起こる現象であり、クモが作る円網はこの現象によって雨が降った時に構造を維持することができると考えられている（Boutry and Blackledge, 2013; Grubb and Ji, 1999; Shao et al., 1999）。

2014 年から始まった、内閣府革新的研究開発推進プログラム（ImPACT）では、さまざまな学術機関や企業が参画し、タンパク質素材の基礎研究から工業スケールでの材料化技術開発、製品化試作・評価までを進めていた。この中で、人工クモ糸においても、機構は全く同一でない可能性が高いものの、

同様の水による収縮が見られ、これが加工時や製品として使用する際に大きな問題となることが判明した。この問題に対し、学術領域での基礎研究の結果を基にしてアミノ酸配列を設計し、水に対する感受性を下げた新しいタンパク質を作ることに成功した。新しいタンパク質素材では、水に触れた時の収縮率が大幅に低減することが確認された（森田ら , 2019）。また、同プロジェクトにおいては、天然クモ糸の優れた物性と配列との関係を探る研究が、慶應義塾大学先端生命科学研究所と理化学研究所、Spiber の 3 者によって推し進められた。このプロジェクトでは、日本を中心に系統樹網羅的にクモを採集し、繊維をサンプリングしてその力学物性、構造的特性等の物性を分析・収集し、世界初の物性と配列のデータベースを構築した（Arakawa et al., 2022）。将来的に、構造タンパク質研究を行う学術界の基盤となるデータベースとなること、新規構造タンパク質設計の基礎となることが期待される。このように、タンパク質素材の産業化には、最先端の基礎研究からの知見による問題解決が必要不可欠である。学術界との連携という点において、先端生命科学研究所を中心に広がる鶴岡サイエンスパークに位置することは、Spiber の競争力を高める要因となっている。

本項では、Spiber が行ってきたタンパク質素材実用化に向けた挑戦について紹介した。垂直統合、マルチスケール、フィードバックサイクルという、Spiber に特徴的な体制と方法論が存在し、これを利用した課題の解決が行われた結果、産業化が近づきつつある。実用化の障害となる収縮の問題に対しても、プロトタイプからのフィードバックを受けて学術界、産業界が一体となり課題の解決にあたったことで、これを克服することができた。もちろん、現在の人工タンパク質素材は完璧なものではなく、これからも課題を解決し続けることが必要である。シルクや羊毛、クモ牽引糸などの天然のタンパク質素材の優れた特性を完全に再現できているわけではなく、この点においては基礎的なメカニズムの解明を含めたブレークスルーが必要とされる。実用化の過程における課題発見と解決、学術界におけるメカニズムの解明、この両方のアプローチを推し進めることが重要である。

おわりに

Spiber 株式会社では、持続可能な社会の実現に向け、クモ糸をはじめとするタンパク質素材の産業化を目指して研究開発に取り組んできた。垂直統合・マルチスケールモデルとフィードバックサイクルによって実用上の様々な課題を克服した新たな構造タンパク質が開発され、さらに工業規模での生産が可能なプラントを立ち上げることにより、タンパク質素材の産業化は確実に近づきつつある。しかし、本稿で紹介したように、我々が未だ活用していない構造タンパクは数多く存在する。構造タンパク質をプラットフォームとして使いこなし、多様な特性を持った素材を枯渇資源に依存することなく生産する、その実現にはより多くの課題を技術的なイノベーションによって解決する必要がある。我々はこれからも、タンパク質を素材として使いこなす社会の実現を目指して研究開発を続けていくだろう。

謝辞

スパイバープロジェクトは、冨田勝教授の研究室での「地球上で最も強い生物は何か？」という議論から生まれた。また、「人からありがとうと言われると幸せな気持ちになる。社会に貢献し、その結果自分も幸せになれる」という冨田教授からの教えは、Spiber の最も大切な遺伝子の 1 つとして今もなお受け継がれている。冨田教授がいなかったら、今日の Spiber は存在していない。我々に真剣に向き合ってくれた冨田教授に感謝の意を表したい。

参考文献

清水一彦、塩見邦博、梶浦善太、中垣雅雄 (2004)「昆虫細胞で発現させた日本産ジョロウグモ Nephila clavata の横糸タンパク質」『日本蚕糸学雑誌』73, pp 23-29. https://doi.org/10.11416/kontyushigen.73.23.

新海明、谷川明男、鶴崎展巨 (2020)「クモの多様性：糸腺と網――クモの生活を支える多様な糸腺と網の進化」『遺伝：生物の科学』74(6), pp. 653-662.

髙橋安大、蒲生秀典、新村和久 (2016)「Spiber 株式会社　菅原潤一 取締役兼執行役インタビュー」『STI Horizon』2(2). https://doi.org/10.15108/stih.00025.

谷口政勝 (1963)「コラーゲンより人造繊維の製造」『高分子』12, pp 608-613. https://doi.org/10.1295/kobunshi.12.608.

日本化学繊維協会 (2018)「内外の化学繊維生産動向」(2017 年).

森田啓介、安部佑之介、前川健久、小鷹浩一、菅原潤一、沼田圭司．改変フィブロイン．特許第 6807089 号．2020.12.9

Addison, J.B., Weber, W.S., Mou, Q., Ashton, N.N., Stewart, R.J., et al. (2014) “Reversible Assembly of β-Sheet Nanocrystals within Caddisfly Silk”, *Biomacromolecules.* 15, pp.

1269-1275. https://doi.org/10.1021/bm401822p.
Agnarsson, I., Kuntner, M., and Blackledge, T. A. (2010) “Bioprospecting finds the toughest biological material: extraordinary silk from a giant riverine orb spider”, *PLoS One.* 5, e11234. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011234.
Andersen, S.O., and Weis-Fogh, T. (1964) “Resilin. A Rubberlike Protein in Arthropod Cuticle”, In *Advances in Insect Physiology.* J.W.L. Beament, J.E. Treherne, and V.B. Wigglesworth, eds. (Academic Press), pp. 1-65.
Andersson, M., Jia, Q., Abella, A., Lee, X.-Y., Landreh, M., et al. (2017) “Biomimetic spinning of artificial spider silk from a chimeric minispidroin”, *Nature Chemical Biology.* 13, pp. 262-264. https://doi.org/10.1038/nchembio.2269.
Andrady, A.L. (2011) “Microplastics in the marine environment”, *Marine Pollution Bulletin.* 62, pp. 1596-1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030.
Arakawa, K., Mori, M., Kono, N., Suzuki, T., Gotoh, T., and Shimano, S. (2021) “Proteomic evidence for the silk fibroin genes of spider mites (Order Trombidiformes: Family Tetranychidae)”, *Journal of Proteomics.* 239, 104195. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2021.104195.
Arakawa, K., Kono, N., Malay, A.D., Tateishi, A., Ifuku, N., et al. (2022) “1000 spider silkomes: Linking sequences to silk physical properties”, *Science Advances*. 8, eabo6043. 10.1126/sciadv.abo6043.
Askarieh, G., Hedhammar, M., Nordling, K., Saenz, A., Casals, C., et al. (2010) “Self-assembly of spider silk proteins is controlled by a pH-sensitive relay”, *Nature.* 465, pp. 236-238. https://doi.org/10.1038/nature08962.
Blackledge, T. A., and Hayashi, C.Y. (2006) “Silken toolkits: biomechanics of silk fibers spun by the orb web spider Argiope argentata (Fabricius 1775)”, *The Journal of Experimental Biology.* 209, pp. 2452-2461. https://doi.org/10.1242/jeb.02275.
Boutry, C., and Blackledge, T. (2013) “Wet webs work better: Humidity, supercontraction and the performance of spider orb webs”, *The Journal of Experimental Biology.* https://doi.org/10.1242/jeb.084236.
Bowen, C.H., Dai, B., Sargent, C.J., Bai, W., Ladiwala, P., et al. (2018) “Recombinant Spidroins Fully Replicate Primary Mechanical Properties of Natural Spider Silk”, *Biomacromolecules.* 19, pp. 3853-3860. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.8b00980.
Chapagain, A.K., Hoekstra, A.Y., Savenije, H.H.G., and Gautam, R. (2006) “The water footprint of cotton consumption: An assessment of the impact of worldwide consumption of cotton products on the water resources in the cotton producing countries”, *Ecological Economics.* 60, pp. 186-203. https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2005.11.027.
Crookes, W.J., Ding, L.-L., Huang, Q.L., Kimbell, J.R., Horwitz, J., and McFall-Ngai, M.J. (2004) “Reflectins: The Unusual Proteins of Squid Reflective Tissues”, *Science.* 303, pp. 235-238. https://doi.org/10.1126/science.1091288.
DENNY, M. (1976) “THE PHYSICAL PROPERTIES OF SPIDER’S SILK AND THEIR ROLE IN THE DESIGN OF ORB-WEBS”, *The Journal of Experimental Biology.* 65, pp. 483-506.
Ding, D., Guerette, P.A., Hoon, S., Kong, K.W., Cornvik, T., et al. (2014) “Biomimetic Production of Silk-Like Recombinant Squid Sucker Ring Teeth Proteins”, *Biomacromolecules.* 15, pp. 3278-3289. https://doi.org/10.1021/bm500670r.
Ding, D., Guerette, P.A., Fu, J., Zhang, L., Irvine, S.A., and Miserez, A. (2015) “From Soft Self-Healing Gels to Stiff Films in Suckerin-Based Materials Through Modulation of Crosslink Density and β-Sheet Content”, *Advanced Materials.* 27, pp. 3953-3961. https://doi.

org/10.1002/adma.201500280.
Eberhard, W. (2020) *Spider Webs: Behavior, Function, and Evolution* (Chicago, IL: University of Chicago Press).
Fahnestock, S.R. (1994) Recombinantly produced spider silk, Patent application number US062681699
Fedic, R., Zurovec, M., and Sehnal, F. (2002) "The Silk of Lepidoptera", *Journal of Insect Biotechnology and Sericology.* 71, pp. 1-15. https://doi.org/10.11416/jibs2001.71.1.
Gabryelczyk, B., Cai, H., Shi, X., Sun, Y., Swinkels, P.J.M., et al. (2019) "Hydrogen bond guidance and aromatic stacking drive liquid-liquid phase separation of intrinsically disordered histidine-rich peptides", *Nat Commun.* 10, 5465. https://doi.org/10.1038/s41467-019-13469-8.
Gosline, J.M., DeMont, M.E., and Denny, M.W. (1986) "The structure and properties of spider silk", *Endeavour.* 10, pp. 37-43. https://doi.org/10.1016/0160-9327(86)90049-9.
Gregorič, M., Agnarsson, I., Blackledge, T.A., and Kuntner, M. (2011) "How Did the Spider Cross the River? Behavioral Adaptations for River-Bridging Webs in Caerostris darwini (Araneae: Araneidae)", *PLOS ONE.* 6, e26847. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026847.
Grubb, D.T., and Ji, G. (1999) "Molecular chain orientation in supercontracted and re-extended spider silk", *International Journal of Biological Macromolecules.* 24, pp. 203-210.
Hagn, F., Eisoldt, L., Hardy, J.G., Vendrely, C., Coles, M., Scheibel, T., and Kessler, H. (2010) "A conserved spider silk domain acts as a molecular switch that controls fibre assembly", *Nature.* 465, pp. 239-242. https://doi.org/10.1038/nature08936.
Hagn, F., Thamm, C., Scheibel, T., and Kessler, H. (2011) "pH-Dependent Dimerization and Salt-Dependent Stabilization of the N-terminal Domain of Spider Dragline Silk-Implications for Fiber Formation", *Angew. Chem. Int. Ed.* 50, pp. 310-313. https://doi.org/10.1002/anie.201003795.
The International Silkworm Genome Consortium (2008) "The genome of a lepidopteran model insect, the silkworm Bombyx mori", *Insect Biochemistry and Molecular Biology.* 38, pp. 1036-1045. https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2008.11.004.
Kakui, K., Fleming, J.F., Mori, M., Fujiwara, Y., and Arakawa, K. (2021) "Comprehensive Transcriptome Sequencing of Tanaidacea with Proteomic Evidences for Their Silk", *Genome Biology and Evolution.* 13, evab281. https://doi.org/10.1093/gbe/evab281.
Kono, N., Nakamura, H., Ohtoshi, R., Tomita, M., Numata, K., and Arakawa, K. (2019a) "The bagworm genome reveals a unique fibroin gene that provides high tensile strength", *Communications Biology.* 2, p. 148. https://doi.org/10.1038/s42003-019-0412-8.
Kono, N., Nakamura, H., Ohtoshi, R., Moran, D.A.P., Shinohara, A., et al. (2019b) "Orb-weaving spider Araneus ventricosus genome elucidates the spidroin gene catalogue", *Scientific Reports.* 9, 8380. https://doi.org/10.1038/s41598-019-44775-2.
Kono, N., Nakamura, H., Mori, M., Tomita, M., and Arakawa, K. (2020) "Spidroin profiling of cribellate spiders provides insight into the evolution of spider prey capture strategies", *Scientific Reports.* 10, 15721. https://doi.org/10.1038/s41598-020-72888-6.
Kono, N., Ohtoshi, R., Malay, A.D., Mori, M., Masunaga, H., et al. (2021a) "Darwin's bark spider shares a spidroin repertoire with Caerostris extrusa but achieves extraordinary silk toughness through gene expression", *Open Biology.* 11, 210242. https://doi.org/10.1098/rsob.210242.
Kono, N., Nakamura, H., Mori, M., Yoshida, Y., Ohtoshi, R., et al. (2021b) "Multicomponent nature underlies the extraordinary mechanical properties of spider dragline silk", *PNAS.*

118. https://doi.org/10.1073/pnas.2107065118.
Koszewska, M. (2018) “Circular Economy — Challenges for the Textile and Clothing Industry”, *Autex Research Journal.* 18, pp. 337-347. https://doi.org/10.1515/aut-2018-0023.
Kovoor, J. (1987) Comparative Structure and Histochemistry of Silk-Producing Organs in Arachnids. In *Ecophysiology of Spiders*, (Springer, Berlin, Heidelberg), pp. 160-186.
Landreh, M., Askarieh, G., Nordling, K., Hedhammar, M., Rising, A., et al. (2010) “A pH-dependent dimer lock in spider silk protein”, *Journal of Molecular Biology.* 404, pp. 328-336. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.09.054.
Lazaris, A., Arcidiacono, S., Huang, Y., Zhou, J.-F., Duguay, F., et al. (2002) “Spider silk fibers spun from soluble recombinant silk produced in mammalian cells”, *Science.* (New York, N.Y.) 295, pp 472-476. https://doi.org/10.1126/science.1065780.
Malay, A.D., Sato, R., Yazawa, K., Watanabe, H., Ifuku, N., et al. (2016) “Relationships between physical properties and sequence in silkworm silks”, *Scientific Reports.* 6, 27573. https://doi.org/10.1038/srep27573.
Malay, A.D., Suzuki, T., Katashima, T., Kono, N., Arakawa, K., and Numata, K. (2020) “Spider silk self-assembly via modular liquid-liquid phase separation and nanofibrillation”, *Science Advances.* 6, eabb6030. https://doi.org/10.1126/sciadv.abb6030.
Manabe, K., Nakano, M., Miyake, K., and Norikane, Y. (2021) “Bioinspired Extremely Rapid Self-Repairing Coatings for Long-Life Repeated Features”, *Chemical Engineering Journal.* 130568. https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.130568.
Muiznieks, L.D., Sharpe, S., Pomès, R., and Keeley, F.W. (2018) “Role of Liquid–Liquid Phase Separation in Assembly of Elastin and Other Extracellular Matrix Proteins”, *Journal of Molecular Biology.* 430, pp. 4741-4753. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.06.010.
Numata, K. (2020) “How to define and study structural proteins as biopolymer materials”, *Polymer Journal.* 52, pp. 1043-1056. https://doi.org/10.1038/s41428-020-0362-5.
Porter, D., Guan, J., and Vollrath, F. (2012) “Spider Silk: Super Material or Thin Fibre?”. *Advanced Materials.* 1, n/a-n/a. https://doi.org/10.1002/adma.201204158.
Prince, J.T., McGrath, K.P., DiGirolamo, C.M., and Kaplan, D.L. (1995) “Construction, cloning, and expression of synthetic genes encoding spider dragline silk”, *Biochemistry.* 34, pp. 10879-10885.
Quiroz, F.G., and Chilkoti, A. (2015) “Sequence heuristics to encode phase behaviour in intrinsically disordered protein polymers”, *Nature Mater.* 14, pp. 1164-1171. https://doi.org/10.1038/nmat4418.
Ricard-Blum, S. (2011) “The Collagen Family”, *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 3, a004978. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004978.
Saric, M., Eisoldt, L., Döring, V., and Scheibel, T. (2021) “Interplay of Different Major Ampullate Spidroins during Assembly and Implications for Fiber Mechanics”, *Advanced Materials. n/a,* 2006499. https://doi.org/10.1002/adma.202006499.
Schwarze, S., Zwettler, F.U., Johnson, C.M., and Neuweiler, H. (2013) “The N-terminal domains of spider silk proteins assemble ultrafast and protected from charge screening”, *Nature Communications.* 4, pp. 1-7. https://doi.org/10.1038/ncomms3815.
Sehnal, F., and Sutherland, T. (2008) “Silks produced by insect labial glands”, *Prion*. 2, pp. 145-153. https://doi.org/10.4161/pri.2.4.7489.
Shao, Z., Vollrath, F., Sirichaisit, J., and Young, R.J. (1999) “Analysis of spider silk in native and supercontracted states using Raman spectroscopy”, *Polymer.* 40, pp. 2493-2500. https://doi.org/10.1016/S0032-3861(98)00475-3.
Sutherland, T.D., Weisman, S., Trueman, H.E., Sriskantha, A., Trueman, J.W.H., and Haritos,

V.S. (2007) “Conservation of Essential Design Features in Coiled Coil Silks”, *Molecular Biology and Evolution.* 24, pp. 2424-2432. https://doi.org/10.1093/molbev/msm171.

Tokareva, O., Michalczechen-Lacerda, V. a, Rech, E.L., and Kaplan, D.L. (2013) “Recombinant DNA production of spider silk proteins”, *Microbial Biotechnology.* 6, pp. 651-663. https://doi.org/10.1111/1751-7915.12081.

Urry, D.W., Hugel, T., Seitz, M., Gaub, H.E., Sheiba, L., et al. (2002) “Elastin: a representative ideal protein elastomer. Philosophical Transactions of the Royal Society of London”, *Series B: Biological Sciences.* 357, pp 169-184. https://doi.org/10.1098/rstb.2001.1023.

Vollrath, F. (2000) “Strength and structure of spiders’ silks”, J*ournal of Biotechnology.* 74, pp. 67-83.

Wang, B., Yang, W., McKittrick, J., and Meyers, M.A. (2016) “Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration”, *Progress in Materials Science.* 76, pp. 229-318. https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2015.06.001.

Whittall, D.R., Baker, K.V., Breitling, R., and Takano, E. (2020) “Host Systems for the Production of Recombinant Spider Silk”, *Trends in Biotechnology.* https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.09.007.

Work, R.W. (1977) “Dimensions, Birefringences, and Force-Elongation Behavior of Major and Minor Ampullate Silk Fibers from Orb-Web-Spinning Spiders—The Effects of Wetting on these Properties”, *Textile Research Journal.* 47, pp. 650-662. https://doi.org/10.1177/004051757704701003.

Work, R.W. (1981) “A Comparative Study of the Supercontraction of Major Ampullate Silk Fibers of Orb-Web-Building Spiders (Araneae) ”, *The Journal of Arachnology.* 9, pp. 299-308.

Xia, X.-X., Qian, Z.-G., Ki, C.S., Park, Y.H., Kaplan, D.L., and Lee, S.Y. (2010) “Native-sized recombinant spider silk protein produced in metabolically engineered Escherichia coli results in a strong fiber”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 107, pp. 14059-14063. https://doi.org/10.1073/pnas.1003366107.

Xu, M., and Lewis, R.V. (1990) “Structure of a protein superfiber: spider dragline silk”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 87, pp. 7120-7124.

Zeder, M.A. (2008) “Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact”, *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 105, pp. 11597-11604. https://doi.org/10.1073/pnas.0801317105.

〔受付日　2022. 8. 1〕