

新たな天然系高分子材料開発のための
シルクタンパク質薄膜の表面構造解析
Surface Structures of a Silk Protein Thin Films
for Development of a Novel Natural Polymeric Material

小寺 賢^a, 小林 一稔^b, 玉田 靖^c
Masaru Kotera^a, Kazutoshi Kobayashi^b, Yasushi Tamada^c

^a神戸大学大学院工学研究科, ^b日立化成工業(株), ^c(独)農業生物資源研究所
^aGRADUATE SCHOOL OF ENGINEERING, KOBE UNIV., ^bHITACHI CHEMICAL CO.,LTD.,
^cNATIONAL INSTITUTE OF AGROBIOLOGICAL SCIENCES

入射 X 線と試料表面とのなす角度が微小角であるすれすれ入射 X 線回折法(GIXD)により, シルクフィブロイン薄膜表面の結晶性について評価した。その結果, メタノール処理により結晶化し良好な結晶性が得られた。さらに, 得られたシルクフィブロイン結晶は異なる結晶型の混在および面配向の可能性が示唆された。

キーワード: シルク薄膜, 結晶性, すれすれ入射 X 線回折法

背景と研究目的:

近年, 環境とエネルギーそして持続可能な社会の構築は最重要課題として挙げられている。この課題に対する解決策として, 有機材料の観点からは脱石油材料・天然系材料へのシフトにより, 利用可能な原材料の選択肢を拡げることが考えられている。現在, ポリ乳酸系材料の展開が行われているが, これはトウモロコシ等の植物を原料として合成されるため, バイオエタノールとしてのエネルギー源や食糧との競合から, 原料の安定供給という観点においては不安定要素が多い。なかでも, カイコから得られるシルクは古来より高級衣料用繊維として用いられてきた生物系有機材料であり, 既に工業的生産技術が確立され利用の観点からも有望な材料である。特に, 優れた生体親和性や保湿性・柔軟性を有することから, ライフサイエンスやメディカル分野など, 高機能・高付加価値製品への展開が期待されている。これらの特性については, 材料表面における構造情報(特に結晶情報)が重要な因子であると考え, 製品設計において大きな課題となっている。

これまでシルクフィルムの表面については, 図1に示すように表面自由エネルギーの製膜温度依存性から表面近傍の構造に変化があることを報告してきた[1]。これらの結果は, 外的要因によりシルク表面の構造については表面物性が鋭敏に変化することを示唆している。

本課題では, 風合い・手触り感に深く関わる表面物性を決定付ける因子として, すれすれ入射 X 線回折法(GIXD)によりシルク薄膜表面の結晶性に関する情報を得ることを目的とした。

実験:

家蚕(*Bombyx mori*)の精練絹糸を 9M LiBr に溶解し, 水に対して透析・濃縮してフィブロイン水溶液を調整した。これまでの結果より, シルクフィブロイン薄膜は非晶性であったため, 結晶性

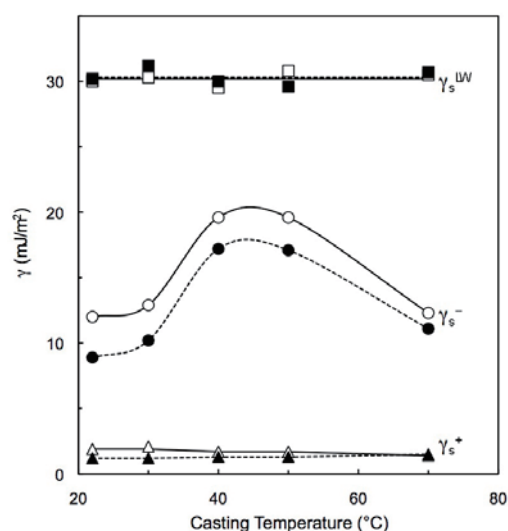


図1. シルクフィブロインフィルムにおける表面自由エネルギーの製膜温度依存性

を高めるためにこの水溶液にキモトリプシンを添加(10 mg/g of fibroin)し、37°Cで24時間反応させることで非晶領域の分子鎖を優先的に酵素加水分解させ、水に不溶なCPフラクションを得た。得られたCPフラクションは、エタノールで洗浄後減圧乾燥し、ヘキサフルオロ-2-プロパノール(HFIP)に溶解させた。4インチシリコンウエハ(厚み:1 mm)上に所定濃度のフィブロイン水溶液あるいはCPフラクションのHFIP溶液をスピコート法(1500 rpm, 20 s + 3000 rpm, 30 s)により製膜し、110°Cにて2時間乾燥後測定試料に用いた。メタノール処理は、上記薄膜試料を80wt%メタノール水溶液に1時間以上浸漬し、100°Cにて1時間乾燥させた。

GIXD測定は、BL19B2にてX線エネルギー10 keV、HUBER社製多軸回折計を用いて測定を行った。試料面内および面外からの情報を得るために、検出器(シンチレーションカウンター)を面内あるいは面外方向にそれぞれスキャンした。予めX線反射率測定より薄膜のX線全反射臨界角(α_c)を求め、GIXD測定ではこれ以上の角度でX線を入射させた。

結果および考察：

シルクフィブロイン結晶(silk II)は、格子定数として $a = 9.38 \text{ \AA}$ (水素結合方向)、 $b = 9.49 \text{ \AA}$ (逆平行鎖 β -シートに対して垂直方向)、 $c = 6.98 \text{ \AA}$ (繊維軸)の斜方晶に、4本の分子鎖が含まれた結晶構造をとっている[2]。

図2には、CPフラクションの1.0 wt%溶液から作製した未処理試料(Non treated)と、さらにそれをメタノール処理した試料(MeOH treated)における面内回折プロファイルを示した。なお予備測定で行ったX線反射率プロファイルは、いずれも明瞭なKiessigフリンジが現れなかった。このことは、薄膜表面の平滑性が不十分あるいは膜厚が大きい(およそ200 nm以上)などが原因と考えられる。図より、未処理試料ではキモトリプシンの添加により結晶性を高めたにも関わらずブロードなピークであった。しかし、メタノールに浸漬させるだけでSilk II型に帰属されるシャープな結晶反射ピークが出現した。メタノール処理前後において、ピーク位置($2\theta = 16 \text{ deg.}$ 付近)は変化しなかったことから、未処理試料においても結晶性ではあるが、非常に小さな微結晶サイズであることが示唆された。

図3には、上記メタノール処理試料について、面内および面外回折プロファイルを示した。いずれもシャープな結晶反射ピークが現れているが、回折ピーク位置は異なっていた。従って、メタノール処理による結晶化の際に、生成する結晶がSilk II型の他にSilk I型も混在しており、さらに面配向している可能性が示唆された。

今後の課題：

今後は、面内および面外回折プロファイルから得られた反射ピーク位置の詳細な解析を行うことで、混在する結晶型の存在割合あるいは面配向などについて議論する予定である。

参考文献：

- [1] O.N.Tretinnikov and Y.Tamada, *Langmuir*, **17**, 7406 (2001).
 [2] Y.Takahashi, M.Gehoh and K.Yuzuriha, *Biological Macromolecules*, **24**, 127 (1999).

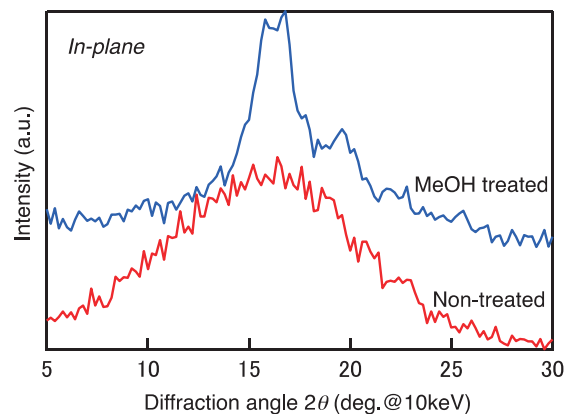


図2. CPフラクション薄膜の面内回折プロファイル
(未処理およびメタノール処理)

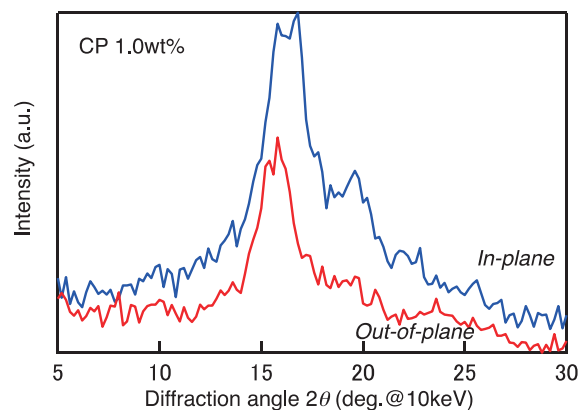


図3. メタノール処理CPフラクション薄膜の面内および面外回折プロファイル