### 6:来年度の事業目標

本章では、各技術項目の来年度の事業目標について述べる。

タンパク質生産性向上検討においては、本年度の検討の結果、タンパク質生産性を採択時の 1.53 倍を達成できた。最終年度の目標はタンパク質生産性を採択時の 1.66 倍である。最終年度においては、培養条件の最適化や必要に応じて遺伝子配列設計を行い、目標とする生産性を達成するとともに、パイロットプラントでの実証に取り組む。

ビーズ加工法の開発では、来年度の目標は「直径 10um 真球ビーズの加工技術及び量産化技術の構築」であり、具体的な数値目標としては「直径 10um 真球ビーズを実機を用いて 5kg 以上取得すること」とした。タンパク質スラリー検討を進め、加工プロセスのコストダウンに取り組み、実機で実証に取り組む。

ビーズ実用化開発での来年度の目標は「各溶媒で良好な分散性を示し、凝集後再分散可能であり、50度の溶媒中で3ヶ月安定していること」とした。本年度の結果から、当社ビーズを化粧品向けに活用することは実現可能性が高い手応えを得た。最終年度では、ビーズ触感の更なる作り込みを進めるとともに、安全性や安定性の確認を進め、化粧品メーカーへのサンプルワークに取り組む。

水系湿式紡糸法の確立での来年度の目標は「水系固化溶媒にて 5,000 ホールでの紡糸プロセス確立」とした。本年度までに 3,000 ホールノズルを使用したスケールアップに漕ぎ着けることができた。最終年度ではこれを 5,000 ホールにまで増やし、安定した紡糸量産プロセスを構築することを目標とする。

かさ高性向上繊維の開発については、本年度にて最終目標数値の達成が完了したため、来年度は開発テーマとして設定しないこととする。

表 6-1:来年度の事業目標

	項目	来年度の目標
1	タンパク質生産性 向上検討	タンパク質生産性を採択時の 1.66 倍
2	ビーズ加工法の開 発	直径 10um 真球ビーズを実機を用いて 5kg 以上取得すること
3	ビーズの実用化開 発	各溶媒で良好な分散性を示し、凝集 後再分散可能であり、50度の溶媒中 で3ヶ月安定していること
4	水系湿式紡糸法の 確立	水系固化溶媒にて 5,000 ホールでの 紡糸プロセス確立

### 7: ライフサイクルでの CO2 削減効果

本章では、タンパク質ビーズ及び繊維のライフサイクルでの CO2 削減効果について述べ る。基本的な考え方やLCAの算出方法については、これまでと変わっていない。ただし本 事業を通じてマテバラやプロセスがかなり具体化されてきたため、来年度の事業において これまでの考え方や LCA 算出を見直す予定である。本事業で開発している素材と代替対象 素材とのライフサイクルフロー(原材料調達・生産・流通・使用・廃棄・リサイクル)に ついて説明する(図 7-1、図 7-2)。タンパク質ビーズ及び繊維に関して、原材料調達・生 産については、代替対象素材と原材料や製造方法は当然異なる。一方で、流通・使用につ いては代替対象素材と同じように扱われることを想定しているため、特に CO2 の削減等に は寄与しないと考えている。また代替対象素材については、最終製品として使用された 後、焼却処分か環境中に流出することが多く、特にリサイクルシステムも確立されていな い。タンパク質ビーズ及び繊維についても特別な回収フローは現時点では策定していない ため、廃棄・リサイクル工程においても特段の違いは出ないと考えている。ただし、タン パク質素材であるため、比較的容易にアミノ酸モノマーに分解することは可能であり、こ のように分解されたアミノ酸を再度培地源として活用することは十分可能である。したが って回収フローの構築ができれば、原材料としてリユースすることはできるので、この点 については今後検討していく必要がある。なお、タンパク質素材は高い海洋生分解性を示 しているため、仮に環境中に流出してもマイクロプラスチックとして問題になることはな

現在、当社はタイランドでタンパク質を量産する工場を稼働させている。したがってタンパク質の製造はタイランドで行うことを想定しており、タンパク質を製造するための発酵原料も現地調達する予定である。ビーズに関しては、タンパク質製造の精製工程から直接製造するフローを考えているため、製造場所はタイランドとしている。一方でタンパク質繊維に関しては、日本の紡糸パイロットラインでの製造を予定しているため、タイランドから原料となるタンパク質を輸入し、日本で製造することとしている。

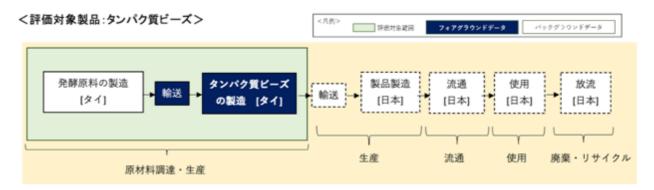
次に CO2 の算出方法について記載する。タンパク質素材を含むバイオ由来製品の原料から生産プロセスまでの一貫したライフサイクルアセスメント (LCA) については、標準的な評価手法が確立されておらず、また、代替対象物質の公知のデータが公開されていないため、Gabi でシナリオを設定して試算した (Gabi http://www.gabi-

software.com/japanese/index)。本年度の実証事業の結果、当初目標で設定したタンパク質ビーズ及びタンパク質繊維の製造プロセスを実現できる可能性が高まったことから、量産時点での CO2 排出量は当初想定と変更していない。タンパク質素材のエネルギー起源 CO2 について、タンパク質材料は当社タイプラントで使用を想定しているバイオマス電力・スチームを前提として試算した。また非エネルギー起源 CO2 は、培養工程で発生する CO2 (biogenic include)、原料のサトウキビの CO2 削減を組み入れて算定した。代替対象素材のウレタンビーズ・アクリル繊維については、CO2 削減を組み入れて算定した。代替対象素材の標準データを比較検討のベースとして引用し(CO2 が異なるため参考指標)、各々比較検討した。なお、代替対象素材の詳細が非開示のため、エネルギー起源・非エネルギー起源 CO2 排出量は均等に按分した。最後にウレタンビーズのエネルギー起源 CO2 排出量を比率で算出した(表 CO2 が

その結果、タンパク質ビーズの CO2 排出量はウレタンビーズの約 62%、タンパク質繊維の CO2 排出量はアクリル繊維の約 75%であると算出された。

表 7-1: ビーズ及び繊維の 002 排出量比

	ウレタンビーズのC	タンパク質ビーズのC	アクリル繊維のCO	タンパク質繊維のC
	O2排出量	O2排出量	2排出量	O2排出量
エネルギー	1.00	0.53	1.05	0.76
起源				
非エネルギ	1.00	0.70	1.05	0.80
一起源				
合計	2.00	1.23	2.10	1.56



### <ベースライン:ウレタンビーズ>

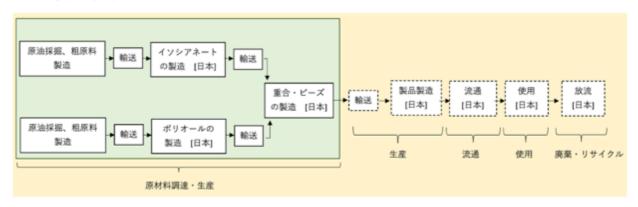


図 7-1:ビーズのライフサイクルフロー図と評価範囲

### 

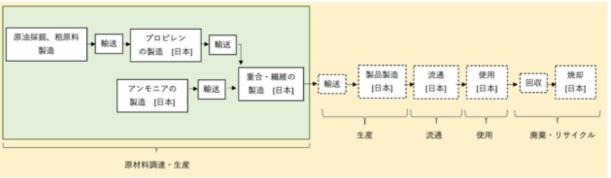


図 7-2:繊維のライフサイクルフロー図と評価範囲

### 8: 事業化の検討

本章では、事業化の検討状況について記載する。当社はこれまで約14年間にわたりタン パク質素材の研究開発及び事業化に向けた取り組みを続けてきた。現状においては、研究 開発は日本、量産実証及び初期のタンパク質製造はタイランド、本格的な普及に向けての タンパク質製造はアメリカという大きな構造ができてきている(図8-1)。以下、各拠点 での活動内容について説明する。日本には本社研究棟及びパイロットプラントが設置され ている。本社研究棟においては、タンパク質素材の性能の向上、コストダウンの検討、関 連分野の新技術開発などが行われている。またパイロットプラントではラボで構築された プロセスのスケールアップや、新しい遺伝子のタンパク質原末の取得、そして当社素材を 用いた製品開発のための原料供給などを担っている。本事業も日本拠点で開発が実施され ている。次に Spiber (Thailand) Ltd. に関して述べる。ここでは日本のパイロットプラン トで構築されたプロセスをさらにスケールを 100 倍近くにまで上げた実証及び生産が行わ れる。タイプラントは2021年上期に完成し、現在商業生産に向けた試運転が続けられてい る。ここでは年間数百トンのタンパク質粉末を供給できる能力がある。本事業を通してタ ンパク質ビーズ及び繊維の生産に目処が立った場合、まずはタイプラントを活用してその 量産に取り組む予定である。そして更なる量産の拠点としてアメリカプラントが予定され ている。本拠点はアイオワ州のクリントンに設置されている穀物メジャーのアーチャー・ ダニエルズ・ミッドランド(ADM)の発酵プラントを活用する計画であり、すでに ADM とは 資本提携をし、本工場でタンパク質を生産するための設計業務を開始している。本拠点は 2023 年以降に稼働する計画となっており、年間数千トンのタンパク質生産能力を確保でき る。したがって本格的な量産はアメリカ拠点が中心的な役割を担うことになる。その後は タンパク質素材の生産を行いたい企業を世界中から募り、技術ライセンスを行うことで、 広く世の中に本素材を普及する体制を構築したいと考えている。

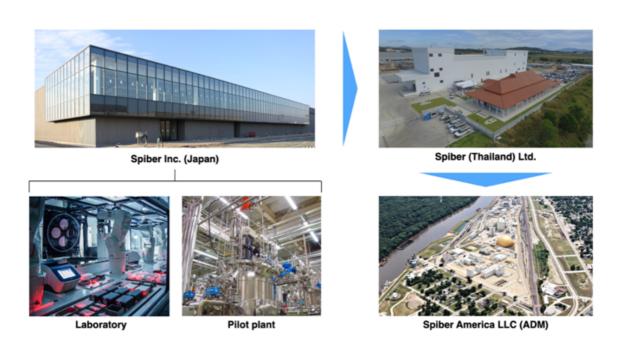


図 8-1:量産化の展開

次に事業化の展開について概要を記載する。当社は現在、アパレルと自動車部品を主力 の出口商品と考えている。アパレル分野に関しては 2015 年に THE NORTH FACE のブランド を保有する株式会社ゴールドウインと資本提携し、2019年に当社繊維と綿との混紡糸を使 用した T シャツと、当社繊維 100%で作ったアウター生地を用いたムーンパーカの限定販売 を行った。いずれも大きな注目を集め、即完売となった。また2020年の暮れにはセーター の限定販売も実施した。さらにファッションデザイナーの YUIMA NAKAZATO とのコラボレー ションにより、パリコレでも発表を行い、様々なメディアに当社繊維が掲載された。昨年 度からの大きなアップデートとしては、タイ工場の稼働が開始されたことから、アパレル ブランドとの交渉が本格化している。世界的な EGS トレンドのため、当社素材に対する期 待は非常に大きいものがあると感じており、タンパク質素材であるが動物由来でないこと や、素材としてのポテンシャルが高く評価されている。ここ数年においては素材価格が最 大のボトルネックになることが予想されるが、高級素材としてのブランドを確立し、まず は高付加価値領域でのビジネスをスタートできればと考えている。一方で上市はできてい ないものの、自動車部品としての樹脂複合材(繊維強化プラスチック)の開発も継続して おり、当社繊維と炭素繊維を組み合わせた CFRP や当社繊維とウレタン樹脂と複合材を自動 車部品メーカーと共同開発している。こちらについてはアパレル分野と比較すると時間軸 が長い取り組みとなっており、すぐに上市することは難しい分野である。しかし実用化で きた時のインパクトは非常に大きく、また市場も巨大であるため、継続的に開発投資を行 く予定である。またその他にも建築材料としての活用や、ウィッグの開発なども各社メー カーと取り組んでいる。すでに様々な成果は出てきており、本素材の更なる普及のため、 アパレル上市後、これらの分野でも製品発売を行いたい。

本事業においては、ウレタンビーズ及びアクリル繊維の代替開発に取り組んでおり、今後の事業展開の幅を広げる素材と考えている。マイクロビーズについては、化粧品分野を初期のターゲットとして想定している。本事業を通してファンデーション応用への実現可能性が高まってきたことから、来年度は積極的にサンプルワークを行い、上市に向けた活動を加速させたい。また本年度開発したスラリー加工方法であれば、スケールアップにも取り組み易いため、量産化も現実的であると考えている。また化粧品分野だけでなく、日用品や表面改質材としての活用も進めたい。繊維に関しては、本事業の開発を通して、アクリル繊維レベルのかさ高性の付与に成功した。したがってほぼ獣毛のようなイメージで当社繊維を使用することが可能になったと言うことができ、特に秋冬向けのアパレルに適していると思われる。今後、かさ高性を付与した繊維を既存の紡績加工ラインや生地加工ラインに投入し、実機での評価や加工プロセスの構築に取り組んでいく。またこのかさ高性を活用した特殊な生地開発にも着手することで、繊維自体の付加価値をさらに高めていきたい。次ページより、当社の人工構造タンパク質素材の実用化に向けた取り組みに関する経緯を記載する。

### 8.1:人工構造タンパク質素材の実用化に向けた取り組み

このパートでは、主に昨年度からアップデートされた部分について記載する。

### 1:アパレル分野での取り組み

2021 年度においてもファッションデザイナーの YUIMA NAKAZATO とのコラボレーションにより、秋春のパリファッションウィークで当社繊維を使用したコレクションの発表を行なった(図 8.1-2、図 8.1-3)。YUIMA NAKAZATO は、衣服の進化がより豊かな未来を創造するというビジョンのもと、使用する素材とその調達先、長く着用しそして循環させることを前提にした衣服作りをコンセプトにしており、当社素材とのシナジーが非常に高いブランドである。当社はこのような様々なクリエイターおよびパートナーと連携し、革新的な技術、プロセス、そしてスタイルを確立して行きたいと考えている。この取り組みによって、サスティナビリティに対する意識がとりわけ高いヨーロッパにて当社素材の認知を高め、ビジネスに繋げていきたい。パリファッションウィークでの発表は今後も継続して取り組んでいく予定であり、より消費者に近い領域も含めた広報活動を行うことで、素材の付加価値を高め、実用化に向け加速していく。



図 8.1-1:中里唯馬氏



図 8.1-2: Paris Fashion Week Haute Couture a/w 2021

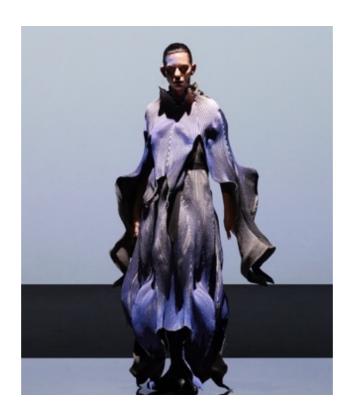


図 8.1-3: Paris Fashion Week Haute Couture a/w 2021

また今年はプルミエール・ビジョン・パリでの発表も行なった。新型コロナウイルスの影響で昨年は開催されなかったため、2 年振りの開催であった。プルミエール・ビジョン・パリは世界最大級のテキスタイルの見本市であり、アパレル分野のトレンドを決める場所であると言っても過言ではない。今年は当社もブースを出展し、当社繊維でできた生地のカタログやアパレルを披露した(図 8.1-4)。また当社ビジネス開発及びサスティナビリティの責任者である東が「What about fashion circularity?」のパネルメンバーとして登壇し、アパレル分野で目指すべきサスティナビリティのあり方、そして当社繊維がそれにどのように貢献できるかのトークを行なった(図 8.1-5)。ブース及びパネルトークとも反響は大きく、すぐにビジネスに繋がる話も多数あったことから、当社素材に対する大きな手応えを掴むことができた。

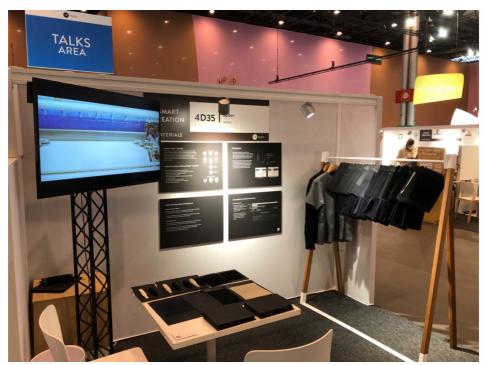


図 8.1-4:プレミエール・ビジョンでの当社ブース



Presentation and conversation moderated by **Andrée-Anne Lemieux**, Sustainability IFM-Kering chair Director, IFM, joined by:

### Kenji Higashi

Head of Business Development and Sustainability, Spiber Inc.

### Hannes Schoenegger

Co-Founder / CEO Bananatex

図 8.1-5: 「What about fashion circularity?」のパネルメンバー (プレミエール・ビジョン HP より)

### 2:化粧品分野での取り組み

本事業をきっかけに化粧品分野における当社タンパク質の実用化に力を入れている。タンパク質の化粧品分野への活用については、図8.2-4に示すように大きく2つの方向性があると考えている。一つは構造材料としての使い方であり、マイクロビーズや短繊維をメイクアップ化粧品に用いることがそれに当たる。もう一つは機能性材料としての活用であり、ペプチドやポリペプチドとして何らかの生理活性や化学的特性を発現するものである。当社はこれまで構造材料としてのタンパク質素材開発に注力しておきており、その点で化粧品分野においてもまずは構造材料として使用することがスピード感を持ったビジネス展開が可能であると考えている。一方で、中長期的にはデザイン技術を活かした機能性素材としてタンパク質利用が付加価値を高める上では有効であると思われる。本事業では、マイクロビーズの評価を中心に進めているが、短繊維についても同様の評価や化粧品試作に取り組んでおり、手応えを感じている。例えば、本事業で行なったような溶媒に試験については、短繊維においても取り組んでおり、図8.2-5に示すような化粧品に比較的よく使われる溶媒において試験を実施した。6ヶ月経過時点で繊維を顕微鏡観察したところ、ブランクと変わらず形状を保持していたため、繊維についてもビーズと同様に化粧品に使用できると思われる。

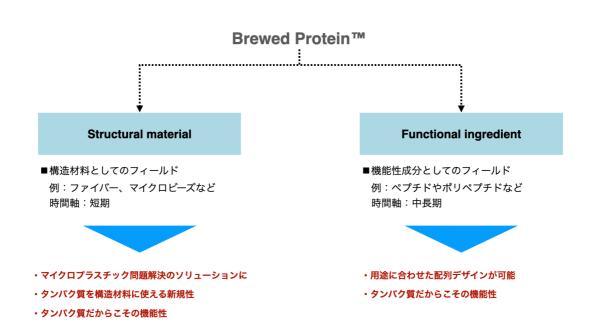


図 8.2-4: タンパク質素材の活用方法

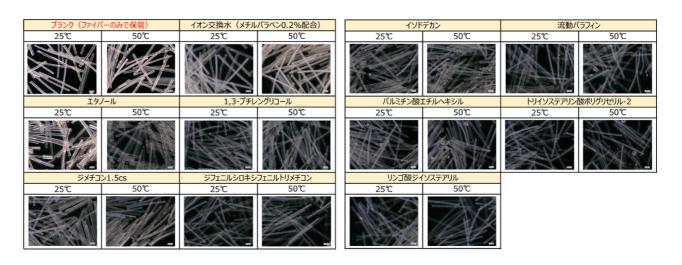


図 8.2-5: タンパク質繊維の溶媒耐性試験(6ヶ月経過時点)

またこのタンパク質素材を化粧品原料として上市する場合、INCI 名が必須となる。INCI 名とは化粧品成分の国際的表示名称のことであり、当社のタンパク質の場合、既存の INCI 名に当てはめることができなかったため、新規で INCI 名登録が必要となった。そこで INCI 登録申請を行い、約半年ほどかけて INCI 名の取得に成功した。当社の場合、タンパク質が独自のアミノ酸配列であったため、INCI 名審査に時間を要することとなった。また INCI 名の中に天然由来の名称は含まれず、最終的に「sr-Polypeptide-1」になった。成分としては Brewed protein を含有する定義となっているため、本 INCI 名は当社のみが使用可能な INCI 名であるとも言える。

INCI名	sr-Polypeptide-1
成分	Brewed protein 95% Others 5%

図 8.2-6:取得された INCI 名

### 3:服飾資材への活用

プラスチックを代替するようなタンパク質樹脂の開発およびそのアプリケーション開発を進めている。一般的にタンパク質は熱可塑がなく、当社のタンパク質繊維も溶媒に溶かした上で繊維化を行なっている。一方で水分、熱、圧力をうまくコントロールできれば、樹脂状に加工可能であることがこれまでの検討でわかっており、この加工方法を利用して、出口商品の一つとしてボタンをアイリス社と共同開発している(図 8.3-1)。アイリス社は日本最大級の服飾資材メーカーであり、さまざまな種類のボタン開発を手掛けているため、当社タンパク質素材の樹脂加工・ボタン成形についても既存設備を活用した開発が可能である。まだ一部の評価項目でスペックが未達であるものの、ボタンとしての基本特性は満たされており、今回、サステナブル・ブランド国際会議 2022 横浜にて、YUIMA NAKAZATO のコレクションの中にこのタンパク質ボタンを搭載したアパレルを発表した(図 8.3-2)。

アイリス社によるとタンパク質の一種であるカゼインを利用したボタンはあるものの、製造工程にホルマリンを使用する必要があるため、市場が広がり辛いという側面があるようである。またバイオマス由来でかつ生分解性を持ち、その素材 100%で作ることができるボタンがなかなかないため、当社タンパク質に大きく期待されているようである。当社としても本取り組みを通して、樹脂素材としてのポテンシャルを広げ、市場が拡大できればと考えている。



図 8.3-1:アイリス社で成形されたタンパク質ボタン (アイリス社 HPより)



図 8.3-2: ガーメントに取り付けられたタンパク質ボタン

### 4:タイ工場の稼働

人工構造タンパク質素材の普及に向けて、タンパク質原末を製造するための量産工場の稼働をタイで開始した(図 8.4-1)。本プラントは 2020 年に着工し、昨年完成した。建設期間中に新型コロナウイルスが発生し、一時は大幅な工期の遅延が懸念されたが、設計建設会社をはじめとした関係各社の努力のお陰もあり、必要最小限の遅延に抑えることができた。工場は主に、製造棟、役務棟、オフィス棟、ケミカルヤード、排水処理設備などから成り立っており、最大生産量として年間数百トンを見込んでいる。

昨年3月にはまだ工場全体は完成していなかったものの、竣工式を行なった(図 8.4-2)。このタイミングではタイの新型コロナウイルスの流行が落ち着いていたこともあり、様々な VIP の方々にお越し頂くことができた(図 8.4-3)。タイ政府関係者としては、タイ投資委員会の Duang jai 長官、タイ国立科学技術開発庁の Narong 社長、工業省の Panuwat 副事務次官にご挨拶頂いた。また日本政府関係者代表としては梨田大使に参列頂いた。当社の事業はタイ政府が推進する BCG (Bio, Circular, Green) economy 構想とシナジーが大きい。BCG はタイが強みとする農産物を上手に活用しすることで、高付加価値で資源循環可能なプロダクトの開発及び製造に注力していくというものである。現在においては当社は BCG の筆頭としてよく現地で紹介されている。

工場完成後、水運転を経て、実液試験に取り組んでいる。途中、タイの新型コロナウイルスの状況が悪化したため、何度か工場稼働を止めざるを得ないことがあり、当初スケジュールから遅れは生じている。しかしスペックを満たすタンパク質原末の製造にも成功できており、来年度からはいよいよ商業生産を開始する予定となっている(図 8.4-4)。



図 8.4-1:タイプラント全景



図 8.4-2:オープニングセレモニー集合写真



図 8.4-3:オープニングセレモニーご来賓者



図 8.4-4:タイ工場で得られたタンパク質原末

### 5:学術論文への貢献

当社は人工タンパク質素材分野の発展を目的として、研究機関とのコラボレーションに よる論文発表も積極的に行なっている。群馬大学粕谷研究室との共同研究では、当社タン パク質の生分解性評価をテーマにしており、2021年1月に論文が公開された。この論文で は当社タンパク質素材の優れた生分解性が明らかにされている。当社では引き続き様々な 環境下における生分解性を評価し、発表していく計画である。

www.nature.com/scientificreports

## scientific reports

Check for updates

## **OPEN** Environmental biodegradability of recombinant structural protein

Yuya Tachibana <sup>1,2™</sup>, Sunita Darbe³, Senri Hayashi¹, Alina Kudasheva³, Haruna Misawa¹, Yuka Shibata¹ & Ken-ichi Kasuya¹.²™

Next generation polymers needs to be produced from renewable sources and to be converted into inorganic compounds in the natural environment at the end of life. Recombinant structural protein is a promising alternative to conventional engineering plastics due to its good thermal and mechanical properties, its production from biomass, and its potential for biodegradability. Herein, we measured properties, its production from bomass, and its potential or biodegradability. Herein, we measured the thermal and mechanical properties of the recombinant structural protein BP1 and evaluated its biodegradability. Because the thermal degradation occurs above 250 °C and the glass transition temperature is 185 °C, BP1 can be molded into sheets by a manual hot press at 150 °C and 83 MPa. The flexural strength and modulus of BP1 were 115 ± 6 MPa and 7.38 ± 0.03 GPa. These properties are superior to those of commercially available biodegradable polymers. The biodegradability of BP1 was carefully evaluated. BP1 was shown to be efficiently hydrolyzed by some isolated bacterial strains in a dispersed state. Furthermore, it was readily hydrolyzed from the solid state by three isolated proteases. The mineralization was evaluated by the biochemical oxygen demand (BOD)-biodegradation testing with soil inocula. The BOD biodegradability of BP1 was 70.2 ± 6.0 after 33 days.

Many commercially available polymers have some associated environmental problems<sup>1,2</sup>. The increase in the Many commercially available polymers have some associated environmental problems.". The increase in this production and subsequent disposal of synthetic polymers causes serious environmental pollution because these polymers do not degrade in the natural environment. Accordingly, researchers have begun to focus on the development of biodegradable polymers as environmentally benign materials that can be degraded by micro organisms into carbon dioxide. Furthermore, the production of synthetic polymers contributes to the depletion of fossil resources. To reduce the usage of fossil resources, researchers have also begun to develop bio-based plants of departs of the production of synthetic polymers contributed to the production of synthetic polymers of the production of synthetic polymers of the production of synthetic polymers.

polymer derived from biomass resources. Biosynthetic poly((R)-3-hydroxyl butyrate) (P3HB), which many microorganisms can use as an energy source, Biosynthetic poly((R)-3-hydroxyl butyrate) (P3HB), which many microorganisms can use as an energy source, has been developed as a potentially biodegradable polymerb. Chemosynthetic polyesters<sup>50</sup>, i.e. poly(lactic acid) (PLA), polycaprolactone (PCL), poly(butylene succinate) (PBSu), and poly(butylene adipate-co-butylene terephthalate) (PBAT) have also been developed as biodegradable polymers since the latter part of the twentieth century, and some of them are manufactured from biomass and used commercially. Natural polymers are also used as biodegradable polymers with or without the modification. For instance, starch modified by glycerol or chemosynthetic polymers, i.e. PCLT-<sup>50</sup>, and cellulose partially esterified with fatty acid "are thermoplastic and biodegradable. The poor mechanical and thermal properties of commercially available biodegradable polymers limit their adoption. Therefore, these biodegradable polymers have only been used as alternatives to general-purpose polymers. PLA, which has a relatively high glass transition temperature (T<sub>2</sub>), flexural strength, and flexural modulus i.e. 60 °C, 80-100 MPa, and 3 GPa, is used for applications requiring rigid material<sup>10,11</sup>. However, the biodegradation of PLA is limited to high-temperature compost environments, and PLA does not show

flexural modulus i.e. 60 °C, 80-100 MPa, and 3 GPa, is used for applications requiring rigid material MI. However, the biodegradation of PLA is limited to high-temperature compost environments, and PLA does not show biodegradability in the natural environment.

Natural protein materials, such as silk, have been used for fiber material since ancient times. They are biobased and degrade in the natural environment MI. Although soybean isolate is an abundant protein resource, it is impossible to use it industrially due to poor processability. Therefore, chemical modification and polymer blending procedures were studied to endow the material with modability and improved mechanical properties while maintaining biodegradability MI.

Natural structural proteins, such as elastin, resilin, mussel byssus thread, squid suckerin, silks produced by various insects, and others are gaining attention due to their remarkable mechanical properties MI-MI. For instance, some spider species produce silk fiber with tensile strength of 1.1 GPa and toughness of 160 MJ m<sup>-3</sup>, stronger and tougher than any commercially available fiber MI. Additionally, biodegradability of naturally occurring structural

<sup>1</sup>Division of Molecular Science, Faculty of Science and Technology, Gunma University, 1-5-1 Tenjin, Kiryu, Gunma 376-8515, Japan. <sup>2</sup>Gunma University Center for Food Science and Wellness, 4-2 Aramaki, Maebashi, Gunma 371-8510, Japan. <sup>3</sup>Spiber Inc., 234-1 Mizukami Kakuganji, Tsuruoka, Yamagata 997-0052, Japan. <sup>56</sup>email: tachibana@gunma-u.ac.jp; kkasuya@gunma-u.ac.jp

Scientific Reports | (2021) 11:242

| https://doi.org/10.1038/s41598-020-80114-6

nature research

図8.5-1: 牛分解性に関する論文

内閣府主導のプロジェクトであった ImPACT での研究成果も 2021 年 8 月に論文発表された。この論文は天然のクモとそのクモ糸を採取し、クモ糸中のアミノ酸配列とその物性を紐付けを試みたものである。過去にこれほど大規模に天然クモ糸とそのアミノ酸配列の解析が行われたことはなく、新しいタイプのタンパク質やモチーフなどが確認された。当社はアミノ酸配列をデザインすることで、オーダーメイドのタンパク質素材を製造しようとしているが、このような天然に存在するタンパク質素材を研究することで、様々な知見が取得でき、それをまたデザインに活かすことができると考えている。このような天然タンパク質素材の研究も引き続き研究機関と共同で取り組んでいく。



# Multicomponent nature underlies the extraordinary mechanical properties of spider dragline silk

Nobuaki Kono<sup>a,b</sup>o, Hiroyuki Nakamura<sup>c</sup>, Masaru Mori<sup>a,b</sup>o, Yuki Yoshida<sup>a,b</sup>o, Rintaro Ohtoshi<sup>d</sup>, Ali D. Malay<sup>d</sup>o, Daniel A. Pedrazzoli Moran<sup>c</sup>o, Masaru Tomita<sup>a,b</sup>, Keiji Numata<sup>d,e</sup>, and Kazuharu Arakawa<sup>a,b,1</sup>o

\*Institute for Advanced Biosciences, Keio University, 403-1 Nihonkoku, Daihouji, Tsuruoka, Yamagata 997-0017, Japan; \*Systems Biology Program, Graduate School of Media and Governance, Keio University, 5322 Endo, Fujisawa, Kanagawa 252-0882, Japan; \*Spiber Inc., 234-1 Mizukami, Kakuganji, Tsuruoka, Yamagata 997-0052, Japan; \*Genter for Sustainable Resource Science, RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan; and \*Depertment of Material Chemistry, Kyoto University, Kyotodaigaku-Katsura, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8510, Japan

Edited by Joseph M. DeSimone, Stanford University, Stanford, CA, and approved June 21, 2021 (received for review April 14, 2021)

Dragline silk of golden orb-weaver spiders (Nephilinae) is noted for its unsurpassed toughness, combining extraordinary extensibility and tensile strength, suggesting industrial application as a sustainable biopolymer material. To pinpoint the molecular composition of dragline silk and the roles of its constituents in achieving its mechanical properties, we report a multiomics approach, combining high-quality genome sequencing and assembly, silk gland transcriptomics, and dragline silk proteomics of four Nephilinae spiders. We observed the consistent presence of the MaSp3B spidroin unique to this sub-family as well as several nonspidroin SpiCE proteins. Artificial synthesis and the combination of these components in vitro showed that the multicomponent nature of dragline silk, including MaSp3B and SpiCE, along with MaSp1 and MaSp2, is essential to realize the mechanical properties of spider dragline silk.

spider silk | orb-weaving spider | mechanical property | genome

■ protein and has potential for numerous applications as a protein biopolymer with biodegradability and biocompatibility (1). Spider silk has a tensile strength superior to that of steel, yet it is highly elastic, showing greater toughness than aramid fibers such as Kevlar (2); thus, it has received interest for use in industrial applications (1, 3). Orb-weaver spiders, especially those belonging to the family Araneidae, are often used as models in attural spider silk research. The average mechanical properties of their dragline silks reach ~1 GPa for breaking strength, 30% for breaking strain, and 130 MJ/m³ for toughness (4). Numerous works have reported the use of recombinant protein and artificial fiber spinning to produce artificial spider silk in genetically optimized organisms (5–10), but it remains challenging to fully reproduce and rival the mechanical properties of natural silks (6, 11–13). The difficulties are multifactorial; the unusually large protein size and the repetitive nature of its sequence are inherent challenges for synthesis, and the natural conditions of spinning are only beginning to be fully uncovered (13–15). However, one primary reason that full reproduction has not been successful is that the previous recombinant approaches employed only MaSp1, only MaSp2, or at most a combination of the two (11, 16–18). In fact, it is often suggested that dragline silk is composed primarily of two components, MaSp1 and MaSp2 (5, 19–23). However, recent proteome analyses suggest the existence of additional components in spider silks, such as a cysteine-rich protein (CRP) in black widows (24–26). Genome and transcriptome analyses have identified many MaSp families (27, 28), and in the genus Araneus, it is known that dragline silk contains nearly equal amounts of MaSp3 and MaSp1/2 (28). Furthermore, low-molecular-weight (LMW) nonspidroin proteins, such as spider-silk constituting element (SpiCE), have been found by transcriptomic and proteomic malayses. SpiCE is a protein of unknown function that is

PNAS 2021 Vol. 118 No. 31 e2107065118

Downloaded from https://www.pnas.org by 43.252.181.106 on March 23, 2022 from IP address 43.252.181

To pinpoint the protein constituents of dragline silk through quantitative proteomics, a high-quality reference genome and full-length coding sequence annotation are essential to allow the correct and comprehensive identification of the proteins corresponding to the detected peptide fragments. Since spider fibroin genes are extremely long (~10 kbp) and consist almost entirely of repeat sequences (29, 30), genome sequencing using PCR-free long reads is critical, and in order to eliminate false-positive annotations, predicted coding sequences need to be confirmed on the bases of conservation in closely related species and actual mRNA expression in the silk gland. Hence, we took a multiomics approach to quantitatively identify the dragline protein constituents and the genomes of four golden silk orb-weavers (subfamily Nephilinae): Trichonephila clavia, Trichonephila pilipes. These spiders are reported to produce high-performance dragline silk with average toughness values of 169, 131, 285, and 292 MJ/m³, respectively (3f Appendix, Fig. S1). T. clavipes genome data have already been reported (27), but we chose to construct ab initio assemblies, including for this species, since the existing genome is based on PCR-amplified sequencing for fibroins, and some fibroin gene sequences remain incomplete. Moreover, the existing T. clavipes assembly is suspected to be substantially contaminated, as the entirety of the longest scaffold has been identified as bacterial in origin (31).

### Significance

Artificial synthesis of spider silk has been actively pursued. However, until now, the natural mechanical properties of spider silk have been largely unreproducible. We thoroughly investigated the genomes and transcripts of four related species of orbweaver spiders as well as the proteins in their silk threads. Then, in addition to spidroin, we found several low-molecular-weight proteins in common. Interestingly, the low-molecular-weight protein component of spider dragline silk doubled the tensile strength of artificial silk-based material. This discovery will greatly advance the industry and research on the use of protein-based materials.

Author contributions: N.K. and K.A. designed research; N.K., H.N., M.M., R.O., A.D.M., D.A.P.M., K.N., and K.A. performed research; N.K., M.T., and K.A. contributed new reagents/analytic tools; N.K., H.N., M.M., Y.Y., A.D.M., K.N., and K.A. analyzed data; and N.K. and K.A. wrote the paper.

Competing interest statement: H.N., R.O., and D.A.P.M. are employees of Spiber Inc., a venture company selling artificial spider silk products. However, all study design decisions were made by N.K. and K.A. of Keio University, and Spiber Inc. had no role in the study design.

This article is a PNAS Direct Submission Published under the PNAS license.

¹To whom correspondence may be addressed. Email: gaou@sfc.keio.ac.jp.

This article contains supporting information online at https://www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.2107065118//DCSupplemental.

Published July 26, 2021.

https://doi.org/10.1073/pnas.2107065118 | 1 of 10

図 8.5-2:配列モチーフと物性に関する論文

### 6:国際標準への取り組み

2019年より一般社団法人 構造タンパク質素材産業推進協会 (SPIA) が主体となり、人工構造タンパク質素材の国際標準化活動を推進している。当社もそのメンバーとして加わっており、この新規素材の規格を検討している。そのような標準化活動の成果として、2021年11月1日に繊維の一般名称に係る国際規格 (ISO2076 Textiles - Man-made fibres - Generic names) の改定版が発行された。

これまで ISO に規定されている繊維の名称・定義の中に「Protein fiber」というものが存在していたが、従来の規格では、天然由来のタンパク質素材のみが対象となっていたことに加え、繊維中の含量が特に明記されていなかったため、極論、繊維中に少しでもタンパク質が含まれていれば、Protein fiber と呼べてしまえる状態となっていた。そこで今回の改定では、人工的に製造されたタンパク質についても対象に含まれるように変更すると同時に、繊維中に占めるタンパク質成分の含有量(重量ベース)が 80%以上となるようにも修正した(図 8.6-1)。今回の改定によって、素材としての認知性や社会的信用性が向上すると同時に、粗悪品との差別化が図られることから、グローバル市場における人工構造タンパク質繊維の用途拡大・早期普及が期待される。

なお、今回の改訂で Protein fiber の定義を修正することができたため、次にはタンパク質の含有量を測定するための分析方法、またアパレル分野での使用を想定した場合に必要となるその他の基準なども現在標準化活動を進めている。国際標準は、現代においてはルールメイキングの主戦場となっており、国際ルールの観点からも人工タンパク質素材の競争力を高めていきたいと考えている。

改訂項目	改訂前 (~2022年10月)	改定後 (2022年11月~)
タンパク質繊維に定義される 素材の由来	天然由来のタンパク質 <u>のみ</u> が対象	天然由来に加え、 <u>人工的に製造されたタンパク質</u> <u>も対象に含む</u>
繊維中のタンパク質成分の 含有量	タンパク質成分の含有量 に関する <u>定めなし</u> (微量でも含まれていれば タンパク質繊維となる)	重量ベースで <u>タンパク質成分</u> 80%以上含まれていることが必要

図 8.6-1:今回の ISO 改訂のポイント



### ICS > 01 > 01.040 > 01.040.59

# ISO 2076:2021

# Textiles — Man-made fibres — Generic names

### **ABSTRACT**

PREVIEW

This document defines the generic names used to designate the different categories of man-made fibres, based on a main polymer, currently manufactured on an industrial scale for textile and other purposes, together with the distinguishing attributes that characterize them. The term "man-made fibres" has been adopted for those fibres obtained by a manufacturing process, as distinct from materials which occur naturally in fibrous form.

This document gives recommendations of rules for the creation of the generic name (see Annex A).

NOTE These rules have been introduced in the sixth edition of ISO 2076, and thus, they are not applicable to the existing generic names of the previous editions.

### GENERAL INFORMATION

Status: ⊙ Published Publication date: 2021-11

Edition: 7 Number of pages: 25

Technical Committee: ISO/TC 38 Textiles

ICS: 01.040.59 Textile and leather technology (Vocabularies) | 59.060.20 Man-

made fibres

図 8.6-2:2022 年 11 月 1 日に発行された ISO 2076:2021

(出典:国際標準化機構 website)

### 8.2:人工タンパク質素材またはタンパク質代替素材を手掛ける主要企業

現在、人工タンパク質素材産業は大きな注目を集めている産業であり、大学等のアカデミアによる研究だけでなく、世界各国で人工タンパク質に関連するベンチャー企業が立ち上がる等、実用化に向けた動きが加速している(表 8.2-1)。また昨今においては、動物の環境負荷が高いことが注目され始めており、特にタンパク質素材の一種である皮革を他の素材で代替するような動きも出てきている。以下、昨年度の調査からアップデートした企業について、記載する。

表 8.2-1:人工タンパク質素材またはタンパク質代替素材を手掛ける主要企業一覧

企業名	所在国	概要
Bolt Threads	アメリカ	・酵母を用いた人工タンパク質繊維「MICROSILKTM」を開発 ・マッシュルーム由来の天然タンパク質合成皮革「MyloTM」を発売
Modern Meadow	アメリカ	・酵母由来のコラーゲンを使ったタンパク質合成皮革「ZoaTM」を開発・2018年にドイツの化学メーカ Evonikとの共同開発を発表
Kraig Biocraft Laboratories	アメリカ	・遺伝子組み換え蚕が作るタンパク質繊維「Monster Silk™」を開発 ・アメリカ国防総省等と共同開発を推進
AMSilk	ドイツ	・ミュンヘン工科大学発のベンチャー企業 ・大腸菌を使って生産する人工タンパク質繊維「Biosteel™」を発表
SEEVIX	イスラエル	・人工クモ糸タンパク質繊維「SVX™」を発表 ・2020年にスポーツ用品メーカ アシックスが出資を発表
Ananas Anam	イギリス	・廃棄されるパイナップルリーフを使った「Pinatex™」を開発 ・ファッションや家具、インテリア等、多くの企業とコラボレーション
VEGEA	イタリア	・ワインの製造工程から生じるブドウの皮由来の「VEGEATM」を開発・2020年にH&Mから同素材を使用した靴や鞄を発売

### 1 : Ananas Anam

2012 年に設立された英国のベンチャー企業で、パイナップル農場から大量に廃棄されるパイナップルリーフを使った人工皮革「PINATEX™」を製造している。防水性や耐水性を向上させるために、ポリウレタンを 10%程度添加しているが、72%がパイナップルリーフ、18%が PLA となっており、高い生分解性を有した素材となっている。 Vegan Trademark や B Corp 等の認証を取得しており、HUGO BOSS や Paul Smith をはじめとした多くのブランドとコラボレーションし、様々な製品を発売している。



図 8. 2-1: PINATEX™の原料となるパイナップルリーフ (出典: Ananas Anam 社 website)

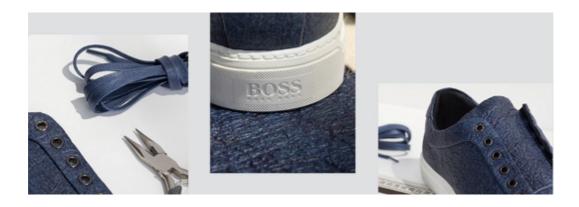


図 8. 2-2: PINATEX™を使用した HUGO BOSS のシューズ (出典: HUGO BOSS 社 website)

### 2 : VEGEA

2018 年にミラノで設立されたベンチャー企業。ワインの製造工程から生じる廃棄物であるブドウの茎、皮、種を利用したビーガンレザー「VEGEA™」を製造している。2020 年にはH&M や Le Coq Sportif 等のブランドとの協業により、靴や鞄をはじめとしたファッションアイテムを発表している。また、人工皮革だけでなく、繊維やポリマーの開発も進めており、様々な製品への適用を目指している。



図 8. 2-3: VEGEA™を使用した H&M の鞄 (出典: H&M 社 website)



図 8.2-4: VEGEA™を使用した Le Coq Sportif の靴 (出典: VEGEA社 website)