

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年8月8日(08.08.2024)



(10) 国際公開番号
WO 2024/162445 A1

(51) 国際特許分類:

C08G 81/00 (2006.01) *C08L 71/00* (2006.01)
C07K 1/02 (2006.01) *C08L 77/04* (2006.01)
C07K 14/435 (2006.01) *D01F 4/02* (2006.01)
C08G 75/045 (2016.01) *D01F 6/92* (2006.01)
C08L 67/00 (2006.01) *D01F 6/94* (2006.01)
C08L 69/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2024/003344

(22) 国際出願日: 2024年2月1日(01.02.2024)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願 2023-015616 2023年2月3日(03.02.2023) JP
特願 2023-059954 2023年4月3日(03.04.2023) JP

(71) 出願人: S p i b e r 株式会社(SPIBER INC.)
[JP/JP]; 〒9970052 山形県鶴岡市覚岸寺字水
上 2 3 4 番地 1 Yamagata (JP).

(72) 発明者: 坂田 一樹(SAKATA Kazuki); 〒9970052
山形県鶴岡市覚岸寺字水上 2 3 4 番地 1 S
p i b e r 株式会社内 Yamagata (JP). 高見 拓
(TAKAMI Taku); 〒9970052 山形県鶴岡市覚岸
寺字水上 2 3 4 番地 1 S p i b e r 株式会
社内 Yamagata (JP). 丹羽 高浩(NIWA Takahiro);
〒9970052 山形県鶴岡市覚岸寺字水上 2 3 4 番
地 1 S p i b e r 株式会社内 Yamagata (JP).
加賀田 秀樹(KAGATA Hideki); 〒9970052 山
形県鶴岡市覚岸寺字水上 2 3 4 番地 1 S p
i b e r 株式会社内 Yamagata (JP).

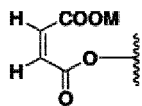
(74) 代理人: 長谷川 芳樹, 外(HASEGAWA Yoshiki
et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内二
丁目 1 番 1 号丸の内 M Y P L A Z A
(明治安田生命ビル) 9 階 創英国際特
許法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,
BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN,
CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC,
EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR,
HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG,
KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU,
LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY,
MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,
PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS,
MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ,
DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS,
IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

(54) Title: POLYMER COMPOUND PRODUCTION METHOD

(54) 発明の名称: 高分子化合物の製造方法



(57) Abstract: One aspect of the present disclosure provides a polymer compound production method comprising heating to cause a reaction between, in dimethyl sulfoxide in the presence of a base and a reducing agent, a polypeptide having at least one mercapto group, and at least one compound that has two structures represented by general formula (1) and that is selected from the group consisting of polyethers, polyesters, and polycarbonates. [In general formula (1), M represents any one of H, Na, K, NH₄Et₃, or NH₄Et₃Pr₂.]

(57) 要約: 本開示の一側面は、メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、下記一般式(1)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基及び還元剤の存在下で、加熱反応させることを含む、高分子化合物の製造方法を提供する。[一般式(1)中、Mは、H、Na、K、NH₄Et₃、又はNH₄Et₃Pr₂のいずれかを示す。]

添付公開書類：

- 一 国際調査報告（条約第21条(3)）
- 一 明細書の別個の部分として表した配列リスト
（規則5.2(a)）

明 細 書

発明の名称： 高分子化合物の製造方法

技術分野

[0001] 本開示は、高分子化合物の製造方法、高分子化合物溶液の製造方法、フィルムの製造方法、及び繊維の製造方法、並びに、フィルム及び繊維に関する。

背景技術

[0002] 絹糸フィブロイン及びクモ糸フィブロインといった構造タンパク質は、優れた堅牢性を発揮し得ることから、合成樹脂等で構成される構造材料の代替物質として注目されている。近年においては、組換え技術の発展によって上述のような構造タンパク質を模した組換え構造タンパク質の量産技術の開発が進んでいる（例えば、特許文献1）。

[0003] タンパク質は主鎖にはアミド基、側鎖にはカルボキシ基、アミノ基、ヒドロキシ基、メルカプト基といった水素結合が可能な官能基を多く有することから、分子間において多数の水素結合が形成される。このため、構造タンパク質を加熱加圧成形することで得られる成形体は機械的な強度に優れると考えられるが、衝撃等を受けることによって、ひび、割れが生じるなど脆い側面も有している。上述のような事情が、タンパク質を一般的な汎用プラスチックの代替品として使用する障害となっている。

[0004] タンパク質の改質手段として、タンパク質とは異なる性質を有する化合物をタンパク質に結合させる方法が検討されている。例えば、特許文献2には、所定の改変フィブロインに対して、耐水性に優れる物質を結合させる工程を含むタンパク質材料の製造方法が開示されている。

[0005] 特許文献3には、例えば、ポリペプチド骨格を構成するシステインのメルカプト基と、マレイミド又はマレイン酸誘導体の炭素－炭素二重結合との1, 4-付加反応（マイケル付加反応）を利用して、チオエーテル結合を生成させることによって、ポリエーテル基、ポリエステル基、ポリカーボネート

基、ポリアミド基、ポリオール基、及び、修飾多糖基からなる群より選択される少なくとも一種の官能基をポリペプチド骨格に導入する、高分子の製造方法が開示されている。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1：国際公開第2015／178466号
特許文献2：国際公開第2019／194146号
特許文献3：国際公開第2021／187502号
特許文献4：特開平05－336963号公報
特許文献5：国際公開第1994／023021号
特許文献6：国際公開第2019／194263号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0007] 特許文献3に記載の製法では、ポリペプチド骨格に対して、種々の官能基を導入できる点で有用であるものの、ポリペプチド骨格が有するメルカプト基との間でマイケル付加反応させることが可能なマイケル付加受容体の構造によっては、反応の制御、反応効率等の制御をより厳密に行う必要があるなど、工業用資材の原料の合成技術としては改善の余地がある。
- [0008] 例えば、マイケル付加受容体として、マレイミド基を用いた場合には、マイケル付加受容体となる化合物の反応性が高いことに起因して、設計した分子だけでなく、想定外の長鎖成長や分岐などを有する高分子化合物の生成、これに起因した反応溶液の粘度上昇を招き、更に反応系の制御が困難になる場合が生じ得る。このような状況では、原料ポリペプチドが所望の高分子化合物となる割合が低く、原料転化率が低下することになる傾向にある。さらに、反応溶液の酸性度、反応温度、及び攪拌速度などの反応条件の調整では十分に反応系を制御することは困難である。
- [0009] そこで、さらに反応基質であるマイケル付加受容体自体を、より反応性の

低いものを採用することが考えられる。しかし、基質自体の反応性の低下に起因する、原料転化率の低下が生じ得る。

[0010] 本開示は、上述のような高分子化合物の製造において、従来よりも原料転化率を高めることが可能な製造方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明者らの検討によれば、工業用規模で従来の製造方法を使用する際、非プロトン性極性溶媒であるジメチルスルホキシドを溶媒として、ポリペプチドに所定の官能基を導入する反応を行う場合には、合成時の加熱によって、ポリペプチドの有するメルカプト基同士のジスルフィド結合の形成が促進されるため、メルカプト基を利用したマイケル付加反応によって官能基をポリペプチドに結合させることが困難になり得ると判明した。マイケル付加反応の速度がジスルフィド結合の形成反応に比べて十分に早い場合には、大きな問題とはならないと推定されるものの、実際には、例えば、(メタ)アクリロイルオキシ基等を有する基質とポリペプチドとの反応では、マイケル付加反応の速度が遅く、ポリペプチド間のジスルフィド結合の形成反応が促進されることで、目的の高分子化合物の合成が十分に進まないことが確認された。本開示は上述のような知見に基づいてなされたものである。

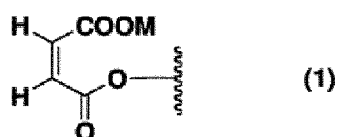
[0012] 本開示は、以下の[1]～[34]を提供する。

[0013] [1]

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、

下記一般式(1)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、

[化1]



[一般式(1)中、Mは、H、Na、K、NHEt₃、又はNHEtiPr₂

のいずれかを示す]

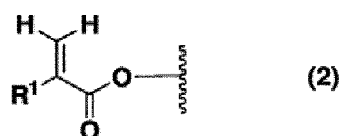
をジメチルスルホキシド中、塩基及び還元剤の存在下で、加熱反応させることを含む、高分子化合物の製造方法。

[2]

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、

下記一般式(2)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、

[化2]



[一般式(2)中、R¹は、水素原子、又はメチル基を示す]

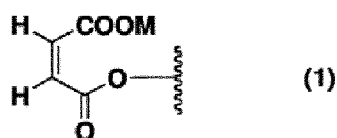
をジメチルスルホキシド中、塩基、還元剤及び重合禁止剤の存在下で、加熱反応させることを含む、高分子化合物の製造方法。

[3]

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、

下記一般式(1)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、

[化3]



[一般式(1)中、Mは、H、Na、K、NH₄⁺、又はNH₄⁺Pr₂のいずれかを示す]

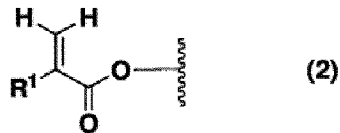
をジメチルスルホキシド中、還元剤の存在下で、加熱反応させることを含む、高分子化合物の製造方法。

[4]

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、

下記一般式(2)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、

[化4]



[一般式(2)中、R¹は、水素原子、又はメチル基を示す]

をジメチルスルホキシド中、還元剤及び重合禁止剤の存在下で、加熱反応させることを含む、高分子化合物の製造方法。

[5]

前記還元剤は、ジチオール、硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、及び、亜ジチオン酸ナトリウムからなる群より選択される少なくとも一種である、

[1]～[4]のいずれかに記載の高分子化合物の製造方法。

[6]

前記還元剤の配合量が、前記ポリペプチドが有するメルカプト基に対して、0.5当量以上である、[1]～[5]のいずれかに記載の製造方法。

[7]

前記ポリペプチドと前記化合物との反応が50℃以上で行われる、[1]～[6]のいずれかに記載の製造方法。

[8]

[1]～[7]のいずれかに記載の製造方法によって得られた高分子化合物を単離した後、溶媒に溶解させることを含む、高分子化合物溶液の製造方法。

[9]

[8]に記載の製造方法によって得られた高分子化合物溶液からフィルムを成形することを含む、フィルムの製造方法。

[1 0]

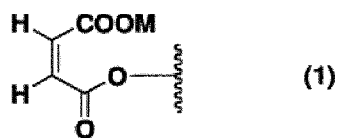
[8] に記載の製造方法によって得られた高分子化合物溶液を紡糸することを含む、繊維の製造方法。

[1 1]

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、下記一般式(1)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基及び還元剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液を得ることと、

前記高分子化合物溶液からフィルムを成形することと、を含む、フィルムの製造方法。

[化5]



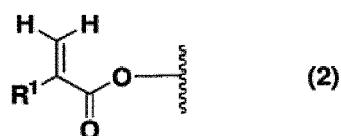
[一般式(1)中、Mは、H、Na、K、 NHEt_3 、又は NHEt iPr_2 のいずれかを示す。]

[1 2]

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、下記一般式(2)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基、還元剤及び重合禁止剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液を得ることと、

前記高分子化合物溶液からフィルムを成形することと、を含む、フィルムの製造方法。

[化6]



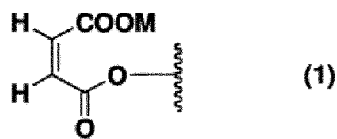
[一般式(2)中、 R^1 は、水素原子、又はメチル基を示す。]

[13]

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、下記一般式(1)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基及び還元剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液を得ることと、

前記高分子化合物溶液を紡糸することと、を含む、繊維の製造方法。

[化7]



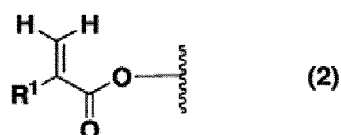
[一般式(1)中、Mは、H、Na、K、 NHEt_3 、又は NHEt iPr_2 のいずれかを示す。]

[14]

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、下記一般式(2)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基、還元剤及び重合禁止剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液を得ることと、

前記高分子化合物溶液を紡糸することと、を含む、繊維の製造方法。

[化8]



[一般式(2)中、 R^1 は、水素原子、又はメチル基を示す。]

[15]

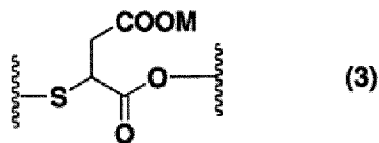
高分子化合物を含むフィルムであって、

前記高分子化合物は、

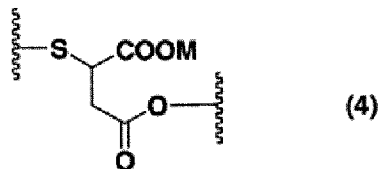
ポリペプチド部と、

ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造からなる群より選択される少なくとも一種の構造単位と、が、前記ポリペプチド部が下記一般式（３）、下記一般式（４）又は下記一般式（５）のＳと結合するようにして下記一般式（３）、下記一般式（４）又は下記一般式（５）で表される構造によって直接結合する構造を有し、

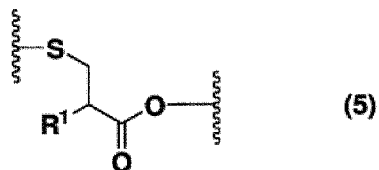
[化9]



[化10]



[化11]



[一般式（３）及び一般式（４）中、Mは、H、Na、K、NHEt₃、又はNHEt₂iPrのいずれかを示し、一般式（５）中、R¹は、H、又はMeを示す]

伸度が４００％以上であり、破断強度が降伏点強度よりも大きい、フィルム。

[1 6]

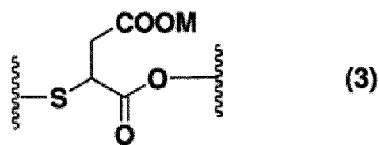
高分子化合物を含む繊維であって、

前記高分子化合物は、

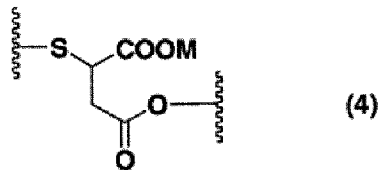
ポリペプチド部と、

ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造からなる群より選択される少なくとも一種の構造単位と、が、前記ポリペプチド部が下記一般式（３）、下記一般式（４）又は下記一般式（５）のＳと結合するようにして下記一般式（３）、下記一般式（４）又は下記一般式（５）で表される構造によって直接結合する構造を有し、

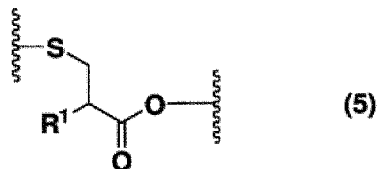
[化12]



[化13]



[化14]



[一般式（３）及び一般式（４）中、Mは、H、Na、K、NHEt₃、又はNHEt_iPr₂のいずれかを示し、一般式（５）中、R¹は、H、又はMeを示す]

伸度が４００％以上であり、破断強度が降伏点強度よりも大きい、繊維。

[1 7]

[1] ～ [8] のいずれかに記載の製造方法によって得られた合成高分子を含み、伸度が４００％以上であり、降伏点強度に対する破断強度の比が１超である、繊維。

[1 8]

[1] ～ [8] のいずれかに記載の製造方法によって得られた合成高分子

を含み、伸度が400%以上であり、降伏点強度に対する破断強度の比が1超である、フィルム。

[19]

[1]～[8]のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物を溶媒に溶解させる工程を含む、溶液状接着剤の製造方法。

[20]

[1]～[8]のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物を水性媒体に分散させる工程を含む、水分散性接着剤の製造方法。

[21]

[1]～[8]のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物が溶解した溶液からフィルムを成形する工程を含む、フィルム状接着剤の製造方法。

[22]

[1]～[8]のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物を含む粉末組成物を得る工程を含む、粉末状接着剤の製造方法。

[23]

[1]～[8]のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物が溶媒に溶解してなる溶液を、複数の被着体の間に介在させた後、前記溶液から前記溶媒を除去して、前記高分子化合物を固化させることにより、前記被着体同士を接着することを特徴とする接着体の製造方法。

[24]

[1]～[8]のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物が水性媒体に分散してなる水分散液を、複数の被着体の間に介在させた後、前記水分散液から前記水性媒体を除去して、前記高分子化合物を固化させることにより、前記被着体同士を接着することを特徴とする接着体の製造方法。

[25]

[1]～[8]のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物を含むフィルムを膨潤又は加熱により軟化させると共に、複数の被着体の間に

介在させた後、前記フィルムを前記被着体に圧接させた状態で硬化させることにより、前記被着体同士を接着することを特徴とする接着体の製造方法。

[2 6]

[1] ～ [8] のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物を含む粉末組成物を複数の被着体の間に介在させた状態で、前記粉末組成物を加熱すると共に、前記被着体を介して前記粉末組成物を加圧して、固化させることにより、前記被着体同士を接着することを特徴とする接着体の製造方法。

[2 7]

[1] ～ [8] のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物を溶媒に溶解させる工程を含む、溶液状コーティング剤の製造方法。

[2 8]

[1] ～ [8] のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物を水性媒体に分散させる工程を含む、水分散性コーティング剤の製造方法。

[2 9]

[1] ～ [8] のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物が溶解した溶液からフィルムを成形する工程を含む、フィルム状コーティング剤の製造方法。

[3 0]

[1] ～ [8] のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物を含む粉末組成物を得る工程を含む、粉末状コーティング剤の製造方法。

[3 1]

基材と、前記基材の表面の少なくとも一部に積層形成されたコーティング層とを有する積層体の製造方法であって、

[1] ～ [8] のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物が溶媒に溶解してなる溶液を前記基材の表面の少なくとも一部に供給して、前記基材の表面の少なくとも一部を前記溶液でコーティングした後、前記溶液から前記溶媒を除去して、前記高分子化合物を固化させることにより、前記

基材の表面の少なくとも一部にコーティング層を積層形成することを特徴とする積層体の製造方法。

[32]

基材と、前記基材の表面の少なくとも一部に積層形成されたコーティング層とを有する積層体の製造方法であって、

[1]～[8]のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物が水性媒体に分散してなる水分散液を前記基材の表面の少なくとも一部に供給して、前記基材の表面の少なくとも一部を前記水分散液でコーティングした後、前記水分散液から前記水性媒体を除去して、前記高分子化合物を固化させることにより、前記基材の表面の少なくとも一部にコーティング層を積層形成することを特徴とする積層体の製造方法。

[33]

基材と、前記基材の表面の少なくとも一部に積層形成されたコーティング層とを有する積層体の製造方法であって、

[1]～[8]のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物を含むフィルムを、膨潤又は加熱により軟化させると共に、前記基材の表面の少なくとも一部に載置した後、前記フィルムを前記基材に圧接させた状態で硬化させることにより、前記基材の表面の少なくとも一部に前記コーティング層を積層形成することを特徴とする積層体の製造方法。

[34]

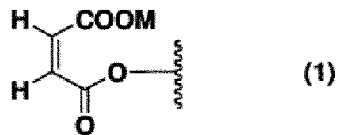
基材と、前記基材の表面の少なくとも一部に積層形成されたコーティング層とを有する積層体の製造方法であって、

[1]～[8]のいずれかに記載の方法によって得られた高分子化合物を含む粉末組成物を前記基材の表面の少なくとも一部に載置した状態で、前記粉末組成物を加熱すると共に、加圧体と前記基材との間で前記粉末組成物を加圧して、固化させることにより、前記基材の表面の少なくとも一部に前記コーティング層を積層形成することを特徴とする積層体の製造方法。

[0014] 本開示の一側面は、メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと

、下記一般式（１）で表される構造を２つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基及び還元剤の存在下で加熱反応させることを含む、高分子化合物の製造方法を提供する。

[化15]

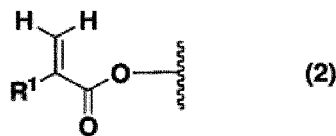


[一般式（１）中、Mは、H、Na、K、 NHEt_3 、又は NHEt^iPr_2 のいずれかを示す]

[0015] 上記製造方法の一例では、ポリペプチドと、本開示所定の化合物との反応を行うに際して、塩基及び還元剤を反応系内に存在させる方法を採用している。還元剤は、ジメチルスルホキシド中でそれ自体は安定に存在し、式（１）で表される官能基との間でマイケル付加反応を起しにくく、且つ、ポリペプチドが有するメルカプト基同士のジスルフィド結合の形成を阻害し得る。そして、塩基はポリペプチドが有するメルカプト基を活性化させ、式（１）で表される官能基とのマイケル付加反応を促進することができる。このような作用によって、ジメチルスルホキシド中で加熱させる方法によっても、ポリペプチドに対してポリエーテル等の骨格を導入し、高分子化合物をより高い効率で製造し得る。塩基は、その他の条件が共通する製造条件の場合、塩基の配合によって、本開示の所望の効果をより高水準で得ることができるが、求める効果の水準次第では、省略することもできる。

[0016] 本開示の一側面は、メルカプト基を少なくとも１つ有するポリペプチドと、下記一般式（２）で表される構造を２つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基、還元剤及び重合禁止剤の存在下で加熱反応させることを含む、高分子化合物の製造方法を提供する。

[化16]



[一般式（２）中、 R^1 は、水素原子、又はメチル基を示す。]

[0017] 上記製造方法の例においても、ポリペプチドと、本開示所定の化合物との反応を行うに際して、塩基及び還元剤を反応系内に存在させる方法を採用している。ここで、一般式（２）で表される官能基は、ジメチルスルホキシド中の加熱によって、ラジカル重合が開始され、上記一般式（２）で表される構造を２つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物の自己重合が生じ得る。しかし、本開示の製造方法によれば、上記反応系内に重合禁止剤をも存在させることによって、一般式（２）で表される官能基のラジカル重合反応を抑制することができる。このような作用によって、ジメチルスルホキシド中で加熱させる方法によっても、ポリペプチドに対してポリエーテル等の骨格を導入し、高分子化合物をより高い効率で製造し得る。塩基は、その他の条件が共通する製造条件の場合、塩基の配合によって、本開示の所望の効果をより高水準で得ることができるが、求める効果の水準次第では、省略することもできる。

[0018] 上述の製造方法において、上記還元剤は、ジチオール、硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、及び亜ジチオン酸ナトリウムからなる群より選択される少なくとも一種であってよい。このような特定の還元剤は、ジメチルスルホキシド中での安定性が高く、ポリペプチドが有するメルカプト基同士のジスルフィド結合の形成をより一層阻害することができる。

[0019] 上記製造方法において上記還元剤の配合量が、前記ポリペプチドが有するメルカプト基に対して、０．５当量以上であってよい。還元剤の配合量を上記範囲内とすることで、ポリペプチドの有するメルカプト基同士の反応によるジスルフィド結合の形成をより十分に阻害することができる。これによ

て、目的の合成高分子の製造効率をより向上させ得る。

[0020] 上記製造方法において、上記ポリペプチドと上記化合物との反応が50℃以上で行われてもよい。

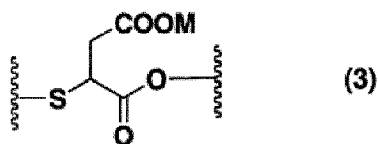
[0021] 本開示の一側面は、上述の製造方法によって得られた高分子化合物を溶媒に溶解させることを含む、高分子化合物溶液の製造方法を提供する。

[0022] 上述の高分子化合物溶液の製造方法によって得られた高分子化合物溶液からフィルムを成形することを含む、高分子フィルムの製造方法。上記フィルムへの成形は、例えば、キャスト成形等であってよい。

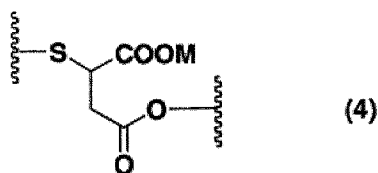
[0023] 本開示の一側面は、上述の製造方法によって得られた高分子化合物溶液を紡糸することを含む、高分子繊維の製造方法を提供する。

[0024] 本開示の一側面は、高分子化合物を含むフィルムであって、上記高分子化合物は、ポリペプチド部と、ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造からなる群より選択される少なくとも一種の構造単位と、が、上記ポリペプチド部が下記一般式(3)、下記一般式(4)又は下記一般式(5)のSと結合するようにして下記式(3)、下記式(4)又は下記一般式(5)で表される構造によって直接結合する構造を有し、伸度が400%以上であり、破断強度が降伏点強度よりも大きい、フィルムを提供する。一般式(3)及び一般式(4)中、Mは、H、Na、K、NHEt₃、又はNHEtiPr₂のいずれかを示し、一般式(5)中、R₁は、H、又はMeを示す。

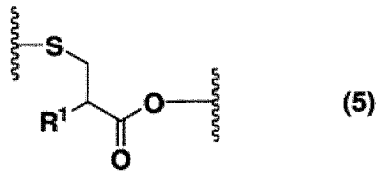
[0025] [化17]



[0026] [化18]

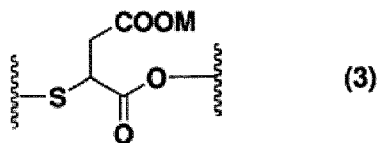


[0027] [化19]

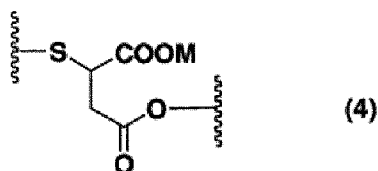


[0028] 本開示の一側面は、高分子化合物を含む繊維であって、高分子化合物を含むフィルムであって、上記高分子化合物は、ポリペプチド部と、ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造からなる群より選択される少なくとも一種の構造単位と、が、前記ポリペプチド部が、下記一般式（3）、下記一般式（4）又は下記一般式（5）のSと結合するようにして下記一般式（3）、下記一般式（4）又は下記一般式（5）で表される構造によって直接結合する構造を有し、伸度が400%以上であり、破断強度が降伏点強度よりも大きい、繊維を提供する。一般式（3）及び一般式（4）中、Mは、H、Na、K、NHEt₃、又はNHEtiPr₂のいずれかを示し、一般式（5）中、R₁は、H、又はMeを示す。

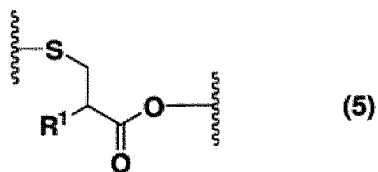
[0029] [化20]



[0030] [化21]



[0031] [化22]



発明の効果

[0032] 本開示によれば、上述のような高分子化合物の製造において、従来よりも原料転化率を高めることが可能な製造方法を提供できる。

発明を実施するための形態

[0033] 本明細書において例示する材料は特に断らない限り、1種を単独で又は2種以上を組み合わせて用いることができる。組成物中の各成分の含有量は、組成物中の各成分に該当する物質が複数存在する場合には、特に断らない限り、組成物中に存在する当該複数の物質の合計量を意味する。

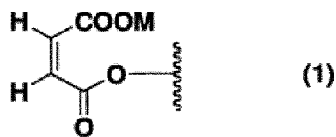
[0034] 本明細書において成形材料とは成形体を製造するために用いられる材料をいう。本開示に係る上記成形材料は、ポリペプチドに対して化学修飾を行った素材ともいえる。本明細書における成形体の形状は特に限定されるものではなく、例えば、フィルム形状、板形状、ブロック形状、スポンジ形状、及び繊維形状等であってよい。本明細書における成形材料の形態も何ら限定されるものではなく、例えば、粉末、粒体、液体、及びゲル等であってよい。また、本開示に係る成形材料は、例えば、加熱加圧成形、キャスト成形、及び紡糸等によって各種形状の成形体とすることができる。成形の際には、必要に応じて、型を用いてもよい。

[0035] 本開示に係る高分子化合物の製造方法は、ポリペプチドの有するメルカプト基（求核性官能基）と、所定の不飽和結合（求電子性官能基）を有するポリエーテル等の骨格との反応を利用する。

[0036] 高分子化合物の製造方法の第一実施形態は、メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチド（以下、（A）成分ともいう）と、下記式（1）で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物（以下、（B1）成分ともいう。後述する（B2）成分と合わせて単に（B）成分ともいう。）と、ジメチルスルホキシド中、塩基（以下、（C）成分ともいう）及び還元剤（以下、（D）成分ともいう）の存在下で、加熱反応させることを含む。上記加熱反応は（A）成分と（B）成分との反応であり、例えば、50℃以上に加熱することで行う。なお、加熱のタイミングは（A）成分～（D）成

分の混合後に限定されるものではなく、例えば、予め加熱したジメチルスルホキシドを用い（Ａ）成分～（Ｄ）成分を添加してもよく、ジメチルスルホキシドに対して（Ｃ）成分及び（Ｄ）成分を添加した後加熱を開始し、所定の温度に達した後（Ａ）成分及び（Ｂ）成分を添加し反応させてもよく、（Ａ）成分及び（Ｂ）成分の一方と、（Ｃ）成分、（Ｄ）成分を添加した後加熱を開始し、所定の温度に達した後に、（Ａ）成分及び（Ｂ）成分の残りの一方を添加し反応させてもよい。（Ｃ）成分は、その他の条件が共通する製造条件の場合、（Ｃ）成分の配合によって、本開示の所望の効果をより高水準で得ることができるが、求める効果の水準次第では、省略することもできる。

[0037] [化23]



[0038] 上記ポリペプチド（（Ａ）成分）が有するメルカプト基の数は一分子あたり１以上であるが、例えば、２以上、４以上、８以上、又は１６以上であってよい。上記メルカプト基の数が上記範囲内であることで、反応点の接触確率が向上し、効率的に反応を進行させることができる。（Ａ）成分が有するメルカプト基の数は、一分子あたり、例えば、６４以下、又は３２以下であってよい。上記メルカプト基の数が上記範囲内であることで、ポリペプチドが有するメルカプト基同士が反応して形成される副生成物の生成を抑えつつ、より一層効率的に目的とする高分子化合物を得ることができる。

[0039] （Ａ）成分を構成するアミノ酸残基の数は、例えば、５０以上、１００以上、１５０以上、２００以上、２５０以上、３００以上、３５０以上、４００以上、４５０以上又は５００以上であってよい。当該アミノ酸残基数は、例えば、５０００以下、４５００以下、４０００以下、３５００以下、３０００以下、２５００以下、２０００以下、１５００以下、１０００以下であってよい。アミノ酸残基数が少ない程、ジメチルスルホキシドへの溶解度が

高まる傾向にある。(A)成分を構成するアミノ酸残基数が、例えば5000以下、又は2500以下である場合、ポリペプチドを溶媒に溶解させて、ポリペプチドと上記化合物((B1)成分)とを反応させる際に、目的とする高分子化合物の生成効率をより向上し得る。また、得られる高分子化合物で構成される成形体は、機械的強度と柔軟性とをより高水準で発揮し得る。

[0040] (A)成分は、例えば、疎水性ポリペプチドであってよい。(A)成分が疎水性ポリペプチドである場合には、(A)成分の調製がより容易になることから、上述の製造方法における原料コストをより低減し得る。この場合、得られる高分子化合物で構成される成形体はより優れた柔軟性を発揮し得る。また上記成形体はより優れた耐水性も発揮し得る。この場合、得られる成形体は、使用寿命をより長期間化することが可能となり得る。なお、(A)成分の疎水性を調製することによって、高分子化合物の疎水性を任意に調整可能である。

[0041] (A)成分の疎水性は、後述する平均ハイドロパシー・インデックス(以下、平均HIと表記する場合もある)の値を指標として推定することができる。(A)成分の平均HIの値は、0超であってよく、例えば、0.10以上、0.20以上、0.22以上、0.25以上、0.30以上、0.35以上、0.40以上、0.45以上、0.50以上、0.55以上、0.60以上、0.65以上、又は0.70以上であってもよい。また、(A)成分の平均HIの値の上限値は、特に制限されるものではないが、例えば、1.00以下、又は0.7以下であってよい。

[0042] (A)成分は、60℃における臭化リチウム水溶液(濃度:9M)に対する溶解性の低いものが好ましい。この溶解性は、(A)成分に相当するポリペプチドを用いて評価できる。60℃における臭化リチウム水溶液(濃度:9M)に対して上記ポリペプチドを溶解させた場合の最大濃度が、例えば、30質量%未満、25質量%未満、20質量%未満、15質量%未満、10質量%未満、5質量%未満、又は1質量%未満であってよい。なお、(A)成分としては、60℃における臭化リチウム水溶液(濃度:9M)に対して

全く溶解しないものであってもよい。本開示に係る製造方法によって得られた高分子化合物については、当該高分子化合物を分解し、疎水性ポリペプチドのみを単離して得られたポリペプチドを用いることで、高分子化合物が有するポリペプチド部の上記溶解性を確認することができる。

[0043] (A) 成分は、水の接触角が大きなものであることが好ましい。水の接触角は、基材上に (A) 成分に相当するポリペプチドを用いて評価できる。より具体的には、上記ポリペプチドからなる膜を形成し、当該膜を用いて評価できる。当該膜に水を滴下して、5 秒間経過後の接触角が 55° 以上となるような膜を構成するポリペプチドが、(A) 成分として好ましい。上記接触角は、例えば、 60° 以上、 65° 以上、又は 70° 以上であってよい。本開示に係る製造方法によって得られた高分子化合物については、当該高分子化合物を分解し、疎水性ポリペプチドのみを単離して得られたポリペプチドを用いることで、高分子化合物が有するポリペプチド部の上記接触角を確認することができる。

[0044] (A) 成分は、耐熱水性に優れたものであることが好ましい。耐熱水性は、(A) 成分に相当するポリペプチドを用いて評価できる。上記ポリペプチドと水とからなる分散液であって、上記ポリペプチドの含有量が 5 質量%である分散液を調製し、当該分散液を 100°C で 5 時間加熱処理しても分解しないようなポリペプチドが、(A) 成分として好ましい。本開示に係る製造方法によって得られた高分子化合物については、当該高分子化合物を分解し、疎水性ポリペプチドのみを単離して得られたポリペプチドを用いることで、高分子化合物が有するポリペプチド部の上記耐熱水性を確認することができる。

[0045] (A) 成分の重量平均分子量は、例えば、 $200 \sim 1000000$ であり、より好ましくは $300 \sim 900000$ であり、更に好ましくは $400 \sim 800000$ であり、更に好ましくは $500 \sim 700000$ であり、更に好ましくは $600 \sim 600000$ であり、更に好適には $1000 \sim 600000$ であり、更に好適には $3000 \sim 600000$ であり、更に好

適には5000～600000であり、更に好適には10000～600000であり、更に好適には5000～100000である。なお、(A)成分の重量平均分子量が200未満であると、(B1)成分の有するポリエーテル構造等（ソフトセグメント）に対してハードセグメントとして機能するポリペプチドが小さくなり過ぎる恐れがある。この場合、得られる高分子化合物（成形材料）を用いて成形される成形体の剛性が小さくなり、例えば構造体としての使用が困難となる可能性がある。

[0046] 本明細書における重量平均分子量は、ドデシル硫酸ナトリウム－ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS－PAGE）によって測定される値である。なお、かかる電気泳動は以下の手順にて実施される。すなわち、先ず、2mgの粉末サンプルに200 μ L、2M塩化リチウムDMSO（富士フィルム和光純薬製）を加え、80℃、60分間、さらに95℃、10分間加熱しながら攪拌することで、サンプルを溶解させる。その後、10Mウレア溶液でサンプルを50倍希釈、試料用緩衝液（富士フィルム和光純薬製）でさらに2倍希釈し、95℃、5分間加熱することで、タンパク質を変性させる。次いで、電気泳動装置（Bio－lad製）にSDS－PAGE用ゲル（Bio－lad製）を取り付け、装置にSDSバッファを満たす一方、電気泳動装置を電源装置（Bio－craft製）に繋ぐ。変性させたサンプルを10 μ LずつSDS－PAGE用ゲルの各ウェルに加え、30mA／1枚、30分間の条件で電流を流す。電気泳動終了後、SDS－PAGE用ゲルを装置から取り出し、Oriole蛍光ゲルステイン（Bio－lad製）に浸し、1時間振盪する。その後、UVサンプルトレイ（Bio－lad製）にゲルをのせ、Gel Doc EZゲル撮影装置（Bio－lad製）で染色像を取得する。なお、標準サンプルとしてXL ladder Broad（アプロサイエンス製）を使用した。

[0047] (A)成分の分子量は、例えば、2kDa以上、3kDa以上、4kDa以上、5kDa以上、6kDa以上、7kDa以上、8kDa以上、9kDa以上、10kDa以上、20kDa以上、30kDa以上、40kDa以

上、50kDa以上、60kDa以上、70kDa以上、80kDa以上、90kDa以上、又は100kDa以上であってよい。(A)成分の分子量は、例えば、500kDa以下、400kDa以下、360kDa未満、300kDa以下、又は200kDa以下であってよい。(A)成分の分子量は上述の範囲内で調整してよく、例えば、2～500kDaであってよい。なお、分子量は液体クロマトグラフ質量分析計により測定することができる。

[0048] (A)成分は、天然のタンパク質、又は人工タンパク質であってよい。また、(A)成分は、天然のタンパク質や人工タンパク質に対して化学修飾（例えば、アルキル化、エーテル化、エステル化、アミド化、チオエーテル化、及びチオエステル化等）を行って得られるタンパク質（修飾タンパク質）であってもよい。天然タンパク質、人工タンパク質、修飾タンパク質は、メルカプト基を1つ以上有していれば、そのアミノ酸配列は特に限定されるものではない。

[0049] (A)成分としては、例えば、高分子化合物の用途に応じた要求特性に合わせて、近い物性を有するタンパク質を採用することができる。本実施形態に係るポリペプチドとしては、医療用に利用できるポリペプチド、工業用に利用できるポリペプチド等を挙げることができる。工業用に利用可能とは、例えば、屋内や屋外で利用される様々な汎用材料等に利用し得ることをいう。

[0050] 医療用に利用できるポリペプチドの具体例としては、酵素、制御タンパク質、受容体、ペプチドホルモン、サイトカイン、膜又は輸送タンパク質、予防接種に利用する抗原、ワクチン、抗原結合タンパク質、免疫刺激タンパク質、アレルゲン、完全長抗体又は抗体フラグメント若しくは誘導体を挙げることができる。

[0051] 工業用に利用できるポリペプチドの具体例としては、構造タンパク質を挙げることができる。構造タンパク質とは、生体の構造に関わるタンパク質、若しくは生体が造り出す構造体を構成するタンパク質、又はそれらに由来す

るタンパク質を意味する。構造タンパク質は、また、一定の条件下において自己凝集し、繊維、フィルム、樹脂、ゲル、ミセル、及びナノパーティクル等の構造体を形成するタンパク質のことをいう。さらに、構造タンパク質は、特徴的なアミノ酸配列もしくはアミノ酸数残基からなるモチーフが繰り返して存在し、生物や材料の骨格を形成するタンパク質ともいえる。構造タンパク質の具体例としては、スパイダーシルク（クモ糸）、カイコシルク、ケラチン、コラーゲン、エラスチン及びレシリン、並びにこれら由来のタンパク質等を挙げることができる。構造タンパク質としては、人工フィブロインであってよく、人工クモ糸フィブロイン（人工改変クモ糸フィブロイン）であってもよい。

[0052] 構造タンパク質は、人工構造タンパク質であってもよい。人工構造タンパク質は、合成タンパク質と、遺伝子組換え技術により微生物から生産した組換え構造タンパク質とを含む。すなわち、本明細書において「人工構造タンパク質」とは、人為的に製造された構造タンパク質を意味する。人工構造タンパク質は、天然の構造タンパク質と同じアミノ酸配列を有するものであってもよく、生産性又は成形性等の観点から、天然由来の構造タンパク質のアミノ酸配列に依拠してそのアミノ酸配列の一部を改変した改変構造タンパク質であってもよい。

[0053] 人工構造タンパク質は、グリシン残基含有量が10～55%であってよい。当該グリシン残基含有量は、例えば、13%～55%であってよく、15%～55%であってよく、18%～55%であってよく、20%～55%であってよく、22%～55%であってよく、25%～55%であってよい。なお、本明細書において、「グリシン残基含有量」とは、下記式で表される値である。

[0054]
$$\text{グリシン残基含有量} = (\text{人工構造タンパク質に含まれるグリシン残基の数} / \text{ポリペプチドの全アミノ酸残基の数}) \times 100 (\%)$$

[0055] 人工構造タンパク質は、アミノ酸残基数が150以上であってよい。当該アミノ酸残基数は、例えば、200以上又は250以上であってよく、好

ましくは300以上、350以上、400以上、450以上又は500以上である。

[0056] 人工構造タンパク質は、セリン、スレオニン及びチロシンからなる群より選択される少なくとも1種のアミノ酸残基含有量（すなわち、セリン残基含有量、スレオニン残基含有量、チロシン残基含有量、セリン残基含有量及びスレオニン残基含有量の合計、セリン残基含有量及びチロシン残基含有量の合計、スレオニン残基含有量及びチロシン残基含有量の合計、セリン残基含有量、スレオニン残基含有量及びチロシン残基含有量の合計のいずれか）と、アラニン残基含有量と、グリシン残基含有量とを合計した含有量（合計含有量）が40%以上であってよい。当該合計含有量は、例えば、45%以上であってよく、50%以上であってよく、55%以上であってよく、60%以上であってよい。当該合計含有量の上限は特に制限はないが、例えば、90%以下であってよく、85%以下であってよく、80%以下であってよい。

[0057] 人工構造タンパク質は、セリン残基含有量、スレオニン残基含有量及びチロシン残基含有量の合計が、4%以上であってよく、4.5%以上であってよく、5%以上であってよく、5.5%以上であってよく、6%以上であってよく、6.5%以上であってよく、7%以上であってよい。セリン残基含有量、スレオニン残基含有量及びチロシン残基含有量の合計は、例えば、35%以下であってよく、33%以下であってよく、30%以下であってよく、25%以下であってよく、20%以下であってよい。

[0058] 人工構造タンパク質は、セリン残基、スレオニン残基又はチロシン残基の分布が平均的であり、任意の連続した20アミノ酸残基の中、セリン残基、スレオニン残基及びチロシン残基の合計含有量が、4%以上、5%以上、10%以上、又は15%以上であってよく、50%以下、40%以下、30%以下、又は20%以下であってよい。

[0059] また、アラニン残基含有量、セリン残基含有量、スレオニン残基含有量及びチロシン残基含有量は、上記式において、アラニン残基をそれぞれグリシ

ン残基、セリン残基、スレオニン残基及びチロシン残基と読み替えたものと同義である。

[0060] 人工構造タンパク質は、反復配列を有するものであってよい。すなわち、人工構造タンパク質は、人工構造タンパク質内に配列同一性が高いアミノ酸配列（反復配列単位）が複数存在するものであってよい。反復配列単位のアミノ酸残基数は6～200であることが好ましい。

[0061] 上記反復配列単位中のアミノ酸残基総数に対する、グリシン残基、セリン残基、グルタミン残基及びアラニン残基の総数が、40%以上であってよく、45%以上であってよく、50%以上であってよく、55%以上であってよく、60%以上であってよく、65%以上であってよく、70%以上であってよい。また、反復配列単位間の配列同一性は、例えば、80%以上であってよく、85%以上であってよく、90%以上であってよく、95%以上であってよく、96%以上であってよく、97%以上であってよく、98%以上であってよく、99%以上であってよい。

[0062] また、上記反復配列単位の疎水性度（ハイドロパシー・インデックス）は、例えば、-0.80以上、-0.70以上、-0.60以上、-0.50以上、-0.40以上、-0.30以上、-0.20以上、-0.10以上、0.00以上、0.22以上、0.25以上、0.30以上、0.35以上、0.40以上、0.45以上、0.50以上、0.55以上、0.60以上、0.65以上、又は0.70以上であってよい。なお、反復配列単位の疎水性度の上限値は特に制限されるものではないものの、例えば、1.0以下であってもよく、0.7以下であってもよい。

[0063] 人工構造タンパク質は、（A）*n*モチーフを含むものであってよい。本明細書において、（A）*n*モチーフとは、アラニン残基を主とするアミノ酸配列を意味する。（A）*n*モチーフのアミノ酸残基数は2～27であってよく、2～20、2～16、又は2～12の整数であってよい。

[0064] また、（A）*n*モチーフ中の全アミノ酸残基数に対するアラニン残基数の割合は40%以上であればよく、45%以上、50%以上、55%以上、6

0%以上、65%以上、70%以上、80%以上、83%以上、85%以上、86%以上、90%以上、95%以上、又は100%（アラニン残基のみで構成されることを意味する。）であってもよい。

[0065] (A) nモチーフは、(A) nモチーフ中のアミノ酸残基総数に対する、アラニン残基、セリン残基、スレオニン残基及びバリン残基の総数が80%以上であってよいが、85%以上であることが好ましく、90%以上であることがより好ましく、95%以上であることが更に好ましく、100%であること（アラニン残基、セリン残基、スレオニン残基及びバリン残基から選択される1種以上のアミノ酸残基のみで構成されることを意味する。）が更により好ましい。本実施形態に係る組み換え構造タンパク質中に複数存在する(A) nモチーフは、互いに同一のアミノ酸配列でもよく、異なるアミノ酸配列でもよい。なお、(A) nモチーフは、アラニン残基を主として含むため、 α ヘリックス構造又は β シート構造を取りやすい。(A) nモチーフが反復配列単位に含まれることにより、本実施形態に係る人工構造タンパク質が、反復してこれら二次構造を有することになるため、後述するように、当該人工構造タンパク質を繊維やフィルムや樹脂等の成形体の形態とすると、これらの二次構造により高い強度を発揮することが期待される。

[0066] なお、構造タンパク質を成形する際、比較的小さな側鎖を有するアミノ酸ほど水素結合を形成しやすく、強度のより高い成形体を得やすい。また、アラニン残基及びグリシン残基は、側鎖が非極性アミノ酸であるため、ポリペプチド生成における折りたたみの過程で内側に向くように配置され、 α ヘリックス構造又は β シート構造を取りやすい。よって、グリシン残基、アラニン残基等のアミノ酸の割合が高いことが望ましい。強度により優れる成形体を得る観点から、アラニン残基含有率は、例えば、10~40%であればよく、12~40%、15~40%、18~40%、20~40%、又は、22~40%であってよい。強度により優れる成形体を得る観点から、グリシン残基含有率は、例えば、10~55%であればよく、11~55%、13~55%、15~55%、18~55%、20~55%、22~55%、又

は25～55%であってよい。

[0067] 本明細書において、「アラニン残基の含有率」とは、タンパク質を構成する全アミノ酸残基数に対するアラニン残基の数を意味し、下記式で表される値である。

[0068] アラニン残基の含有率＝（タンパク質に含まれるアラニン残基の数／タンパク質の全アミノ酸残基数の数）×100（%）

[0069] また、グリシン残基含有率、セリン残基含有率、スレオニン残基含有率、プロリン残基含有率及びチロシン残基含有率は、上記式において、アラニン残基をそれぞれグリシン残基、セリン残基、スレオニン残基、プロリン残基及びチロシン残基と読み替えたものと同義である。

[0070] 構造タンパク質は、比較的大きな側鎖を有するアミノ酸又は屈曲性を有するアミノ酸が一定程度、配列全体に均質に含まれていることが好ましい。具体的には、構造タンパク質は、チロシン残基、スレオニン残基、プロリン残基が含まれるモチーフを繰り返して周期で入っていてもよい。このような構造タンパク質であると、成形して得た成形体の加工時に、強固な分子間水素結合の形成を阻害しやすく、加工性が向上しやすくなる。例えば、任意の連続した20アミノ酸残基の中、プロリン残基、スレオニン残基及びチロシン残基の含有率の合計が、5%以上、5.5%超、6.0%以上、6.5%超、7.0%以上、7.5%超、8.0%以上、8.5%超、9.0%以上、10.0%以上、又は15.0%以上であってよい。また例えば、任意の連続した20アミノ酸残基の中、プロリン残基、スレオニン残基及びチロシン残基の各含有率の合計が、50%以下、40%以下、30%以下、又は20%以下であってよい。

[0071] 人工構造タンパク質は、上述したタンパク質と同様に、反応修飾タンパク質の生産性の向上等の観点から、セリン残基、スレオニン残基及びチロシン残基の各含有率の合計が、例えば、4%以上、4.5%以上、5%以上、5.5%以上、6%以上、6.5%以上、又は7%以上であってよい。セリン残基、スレオニン残基及びチロシン残基の各含有率の合計は、例えば、35

%以下、33%以下、30%以下、25%以下、又は20%以下であってよい。

[0072] 上記製造方法において、上記ポリペプチド（（A）成分）の配合量は、ジメチルスルホキシド100質量部に対して、例えば、1質量部超、2質量部以上、5質量部以上、5質量部超、6質量部以上、7質量部以上、又は8質量部以上であってよい。本開示に係る製造方法であれば、ポリペプチド間でジスルフィド結合が形成されることを抑制することが可能であることから、ポリペプチドの濃度を高めた状況で高分子化合物の製造を進めることができ、より効率を上げた生産が可能となり得る。（A）成分の配合量は、ジメチルスルホキシド100質量部に対して、例えば、50質量部以下、30質量部以下、20質量部以下、又は15質量部以下であってよい。（A）成分の配合量の上限値が上記範囲内であると、副生生物の生成及びゲル化をより十分に抑制しつつ、反応を進行させることができる。上記製造方法において、ジメチルスルホキシド溶液の上記ポリペプチド（（A）成分）の割合は、例えば、15質量%以下、15質量%未満、14質量%以下、12.5質量%以下、又は11.5質量%以下であってよい。

[0073] 式（1）で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物（（B1）成分）は、式（1）で表される構造を有することによって、上述のポリペプチドの有するメルカプト基との反応が可能であり、ポリペプチドに対して、ポリエーテル構造、ポリエステル構造又はポリカーボネート構造を導入可能な化合物である。

[0074] 式（1）で表される構造を2つ有するポリエーテルとしては、例えば、ポリエチレングリコール、ポリテトラメチレングリコール、ポリプロピレングリコール、及びエチレングリコール・プロピレングリコール共重合体などが挙げられる。式（1）で表される構造を2つ有するポリエステルとしては、例えば、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリブチレンサクシネート、ポリカプロラクトン、及び3-ヒドロキシブタン酸・3-ヒドロキシヘキサン酸共

重合体等を含むポリヒドロキシアルカノエート類などが挙げられる。式（１）で表される構造を２つ有するポリカーボネートは、ポリエチレンカルボナート、ポリプロピレンカルボナート、及びポリトリメチレンカルボナート等の脂肪族系ポリカーボネート類などが挙げられる。これらの化合物は、上述のポリペプチドよりも分子運動が容易な化合物であることから、それぞれ上述のような化合物である場合、得られる高分子化合物で構成される成形体の柔軟性をより向上させ得る。

[0075] 上記製造方法において上記化合物（（Ｂ１）成分）の重量平均分子量は、例えば、１００以上、１０００以上、又は２０００以上であってよい。（Ｂ１）成分として重量平均分子量が上記範囲内のものを用いることで、分子同士のかさ高さの影響をより抑制し、効率的に反応を進行させることができる。上記製造方法において（Ｂ１）成分の重量平均分子量は、例えば、２００００以下、１０００００以下、５００００以下、又は１００００以下であってよい。（Ｂ１）成分として重量平均分子量が上記範囲内のものを用いることで、上記化合物の溶媒への溶解性の低下やポリペプチドとの反応性の低下をより十分に抑制できる。

[0076] 上記製造方法において上記化合物（（Ｂ１）成分）の重量平均分子量は、上記ポリペプチドの重量平均分子量を基準として、例えば、０．００５倍以上、０．０１倍以上、０．０５倍以上、又は０．１倍以上であってよい。上記ポリペプチドと（Ｂ１）成分との重量平均分子量の関係を上記範囲内とすることで、ポリペプチド部に対して十分な長さのポリエーテル構造等を有する合成高分子を製造することが可能である。このような合成高分子で構成される成形体は柔軟性に優れたものとなり得る。上記製造方法において（Ｂ１）成分の重量平均分子量は、上記ポリペプチドの重量平均分子量を基準として、例えば、２０倍以下、１０倍以下、５倍以下、又は２倍以下であってよい。上記ポリペプチドと（Ｂ）成分との重量平均分子量の関係を上記範囲内とすることで、反応性の低下をより抑制しながら反応を進行させることができる。上記製造方法において（Ｂ１）成分の重量平均分子量は上述の範囲内

で調整してよく、上記ポリペプチドの重量平均分子量を基準として、例えば、0.005～20倍、0.01～10倍、0.05～5倍、又は0.1～2倍であってよい。

[0077] 上記製造方法において、上記ポリペプチド（（A）成分）が有するメルカプト基のモル数に対する、上記化合物（（B1）成分）が有する式（1）で表される構造のモル数の比は、例えば、0.1倍以上、0.2倍以上、0.5倍以上、又は0.7倍以上であってよい。上記比を上記範囲内とすることで、反応性の低下をより抑制しながら反応を進行させることができる。上記製造方法において、（A）成分が有するメルカプト基のモル数に対する、（B1）成分が有する式（1）で表される構造のモル数の比は、例えば、5.0倍以下、3.0倍以下、1.5倍以下、又は0.8倍以下であってよい。上記比を上記範囲内とすることで、副生物の生成及びゲル化をより一層抑制しつつ、反応を進行させることができる。上記モル比を調整することによって、得られる高分子化合物におけるポリエーテル構造等の数を調製できる。得られる高分子化合物において、ポリペプチド1つに対するポリエーテル構造等の数は、合計で、例えば、1以上、又は2以上とすることができ、2～10、2～8、2～6又は2～4とすることができる。

[0078] 本願明細書におけるメルカプト基のモル数は、測定サンプル中のポリペプチドを酵素によって切り出し、アミノ酸へと変換した後、液体クロマトグラフで分離・検出することによって測定した値を意味する。なお、自らポリペプチドを調製する場合には、設計した分子の配列から上記官能基のモル数を決定できる。

[0079] 本願明細書における一般式（1）で表される構造及び一般式（2）で表される構造のモル数は、MALDI-TOFMSによって測定した値を意味する。

[0080] 上記製造方法においてジメチルスルホキシド中に存在する、上記化合物（（B1）成分）のモル数は、上記ポリペプチドの有するメルカプト基の合計モル数に対して、例えば、0.1倍以上、0.2倍以上、0.5倍以上、又

は0.8倍以上であってよい。メルカプト基の合計モル数に対して（B1）成分のモル数が多くなるように原料配合比を調整することによって、ポリペプチドと上記化合物との反応確率を向上させ、ポリペプチド間でのジスルフィド結合の形成頻度をより十分に低下させることができる。上記製造方法においてジメチルスルホキシド中に存在する、（B1）成分のモル数は、上記ポリペプチドの有するメルカプト基の合計モル数に対して、例えば、5.0倍以下、3.0倍以下、1.5倍以下、又は1.0倍以下であってよい。（B1）成分のモル数を上記範囲内とすることで、副生物の生成及びゲル化をより一層抑制しつつ、反応を進行させることができる。

[0081] 上述の製造方法における塩基（（C）成分）は、ポリペプチドのメルカプト基を活性化させ、式（1）で表される官能基とのマイケル付加反応を促進することができる化合物である。塩基としては、例えば、1級アミン、2級アミン、3級アミン、含窒素環化合物、含窒素芳香族化合物、及び無機塩基などが挙げられる。1級アミンとしては、例えば、エタノールアミン、及びヘキサメチレンジアミン等が挙げられる。2級アミンとしては、例えば、ジエチルアミン、メチルエチルアミン、及びN-メチルブチルアミン等が挙げられる。3級アミンとしては、例えば、トリエチルアミン、ジエチルメチルアミン、及びDIPEA（N,N-ジイソプロピルエチルアミン）等が挙げられる。含窒素環化合物としては、例えば、キヌクリジン、DABCO（1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン）、DBU（1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン）、及びDBN（1,5-ジアザビシクロ[4.3.0]ノン-5-エン）等が挙げられる。含窒素芳香族化合物としては、例えば、ピリジン、イミダゾールなどが挙げられる。無機塩基としては、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸セシウム、リン酸三カリウム、酢酸ナトリウム、及び酢酸カリウム等が挙げられる。

[0082] 上記塩基の配合量の下限值は、ポリペプチドの質量を基準として、例えば、0.01質量部以上、0.05質量部以上、0.1質量部以上、又は0.

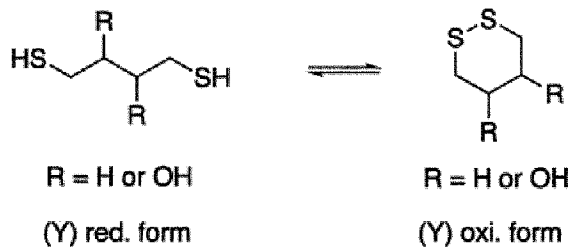
5質量部以上であってよい。塩基の配合量の下限値を上記範囲内とすることで、ポリペプチドの有するメルカプト基と、上記化合物の有する式(1)又は一般式(2)で表される不飽和結合との反応をさらに促進させることができる。上記塩基の配合量の上限値は、ポリペプチドの質量を基準として、例えば、50質量部以下、20質量部以下、10質量部以下、又は5質量部以下であってよい。塩基の配合量の上限値を上記範囲内とすることで、残存する塩基の影響による、分子の分解をより抑制し目的とする高分子化合物を合成できる。上記塩基の配合量は上述の範囲内で調整してよく、ポリペプチドの質量を基準として、例えば、0.05～50質量部、又は0.1～10質量部であってよい。上記塩基の配合量はまた、ポリペプチドの質量を基準として、例えば、0～50質量部、0～10質量部、0～1質量部又は0～0.5質量部であってよい。

[0083] 上述の製造方法における還元剤((D)成分)は、ポリペプチドが有するメルカプト基をジメチルスルホキシド中で安定化し、上記メルカプト基同士のジスルフィド結合の形成を阻害することができる化合物である。還元剤は、例えば、チオール、ジチオール、亜硫酸ナトリウム、次亜硫酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、及び亜ジチオン酸ナトリウムからなる群より選択される少なくとも一種を含んでよく、還元剤は、ジチオール、及び亜硫酸ナトリウムからなる群より選択される少なくとも一種を含んでよく、ジチオール又は亜硫酸ナトリウムであってよい。還元剤としては、メルカプト基を有する化合物が好ましい。還元剤としては、ジチオールが好ましい。

[0084] メルカプト基を有する化合物としては、下記一般式(Y)で表される化合物が望ましい。このような化合物であれば、還元反応後の酸化型において、化学的に安定な六員環構造を形成し、反応系内において、還元剤とマイケル付加受容体と反応が生じることを抑制し、また、還元剤とポリペプチドが有するメルカプト基との間で環状構造を形成する等によって、ポリペプチド同士のジスルフィド結合形成を抑制し、ポリペプチドが有するメルカプト基とマイケル付加受容体との間の反応を有意なものとし、反応設計にそった目的

の高分子化合物をより一層効率的に製造し得る。ジチオールとしては、例えば、ジチオトレイトール、及び1，4－ブタンジチオールなどが挙げられる。一般式（Y）で表される化合物（ジチオール）は、具体的には、ジチオトレイトール、又は1，4－ブタンジチオールである。

[0085] [化24]



[0086] その他のメルカプト基を有する化合物としては、例えば、3－メルカプトプロピオン酸、3－メルカプト－1，2－プロパンジオール、及びPent a e r y t h r i t o l t e t r a (3－mercaptopropionate) 等が挙げられる。還元剤としては、上記の化合物の他、例えば、（トリス（2－カルボキシエチル）ホスフィン（TCEP）等であってよい。

[0087] 上記還元剤の配合量の下限値は、上記ポリペプチドが有するメルカプト基に対して、例えば、0.1当量以上、0.3当量以上、0.5当量以上、0.8当量以上、又は1.0当量以上であってよい。上記還元剤の配合量の下限値を上記範囲内とすることで、ポリペプチドの有するメルカプト基同士の反応によるジスルフィド結合の形成をより十分に阻害することができる。これによって、目的の合成高分子の製造効率をより向上させ得る。上記還元剤の配合量の上限値は、上記ポリペプチドが有するメルカプト基に対して、例えば、2.4当量以下、2.0当量以下、1.6当量以下、1.2当量以下、又は1.1当量以下であってよい。上記還元剤の配合量の上限値を上記範囲内とすることで、（B1）成分と還元剤との反応及び副反応物の生成をより一層抑制しつつ、反応を進行させることができる。

[0088] 上記製造方法において、上記ポリペプチド（（A）成分）と上記化合物（（B1）成分）との反応は、例えば、55℃以上で行われてよい。反応温度

が55℃を超えるような状況では通常、ジメチルスルホキシド中でポリペプチドの有するメルカプト基同士のジスルフィド結合形成が生じ得る。これに対して、本開示に係る製造方法では、反応を還元剤の存在下で行うことによって、上記ジスルフィド結合の形成を疎外することができるため、ジスルフィド結合の形成を抑制した状態で上記ポリペプチドと上記化合物との反応の活性を向上させることができ、高分子化合物の合成の効率を向上させることができる。

[0089] 上記製造方法において、(A)成分と(B1)成分との反応の反応温度は、例えば、20℃以上、30℃以上、40℃以上、50℃以上、53℃以上、55℃以上、57℃以上、又は60℃以上であってよい。上記反応温度の下限値が上記範囲内であることによって、(A)成分と(B1)成分との反応をより促進できる。上記製造方法において、(A)成分と(B1)成分との反応の反応温度の上限値は、例えば、110℃以下、100℃以下、90℃以下、85℃以下、80℃以下、75℃以下、又は70℃以下であってよい。上記反応温度の上限値が上記範囲内であることによって、副反応としてのポリペプチドの有するメルカプト基同士の結合の形成をより一層抑制し、目的とする高分子化合物を効率よく合成できる。(A)成分と(B1)成分との反応の反応温度は上述の範囲内で調整してよく、例えば、50～90℃、53～80℃、又は55～75℃、55～70℃であってよい。任意の温度で反応が進行するが、DMSO溶媒が凍結せず、タンパク質の分解が起こらない温度が望ましい。

[0090] 高分子化合物の製造方法では、その他の工程を更に含んでもよい。その他の工程としては、例えば、(A)成分を別途調製すること、及び(B1)成分を別途調製すること等が挙げられる。

[0091] (A)成分を調製する方法は、後述する発現ベクターで形質転換された宿主に、核酸を発現させることを含む方法であってよい。この際(A)成分は、人工フィブロインであってもよい。発現方法としては、直接発現のほか、モレキュラー・クローニング第2版に記載されている方法等に準じて、分泌

生産、融合タンパク質発現等を行うことができる。酵母、動物細胞、昆虫細胞によって発現させた場合には、糖又は糖鎖が付加されたポリペプチドとして得ることができる。

[0092] 上記人工フィブロインは、例えば、発現ベクターで形質転換された宿主を培養培地中で培養し、培養培地中に上記人工フィブロインを生成蓄積させ、該培養培地から採取することによって製造することができる。上記宿主を培養培地中で培養する方法は、宿主の培養に通常用いられる方法に従って行うことができる。

[0093] 上記宿主が、大腸菌等の原核生物又は酵母等の真核生物である場合、上記宿主の培養培地として、該宿主が資化し得る炭素源、窒素源及び無機塩類等を含む、該宿主の培養を効率的に行える培地であれば、天然培地、及び合成培地のいずれを用いてもよい。

[0094] 炭素源としては、該宿主が資化し得るものであればよい。炭素源としては、例えば、グルコース、フラクトース、スクロース、及びこれらを含む糖蜜、デンプン及びデンプン加水分解物等の炭水化物、酢酸及びプロピオン酸等の有機酸、並びにエタノール及びプロパノール等のアルコール類を用いることができる。

[0095] 窒素源としては、例えば、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム及びリン酸アンモニウム等の無機酸又は有機酸のアンモニウム塩、その他の含窒素化合物、並びにペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーンスチープリカー、カゼイン加水分解物、大豆粕及び大豆粕加水分解物、各種発酵菌体及びその消化物を用いることができる。

[0096] 無機塩としては、例えば、リン酸第一カリウム、リン酸第二カリウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、硫酸銅及び炭酸カルシウムを用いることができる。

[0097] 大腸菌等の原核生物又は酵母等の真核生物の培養は、例えば、振盪培養又は深部通気攪拌培養等の好氣的条件下で行うことができる。培養温度は、例えば、15～40℃である。培養時間は、通常16時間～7日間である。培

養中の培養培地のpHは3.0～9.0に保持することが好ましい。培養培地のpHの調整は、無機酸、有機酸、アルカリ溶液、尿素、炭酸カルシウム及びアンモニア等を用いて行うことができる。

[0098] また、培養中必要に応じて、アンピシリン及びテトラサイクリン等の抗生物質を培養培地に添加してもよい。プロモーターとして誘導性のプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときには、必要に応じてインデューサーを培地に添加してもよい。例えば、lacプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド等を、trpプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはインドールアクリル酸等を培地に添加してもよい。

[0099] 昆虫細胞の培養培地としては、例えば、一般に使用されているTNM-FH培地（PharMingen社製）、Sf-900 II SFM培地（Life Technologies社製）、ExCell 400、ExCell 405（いずれもJRH Biosciences社製）、及びGrace's Insect Medium（Nature, 195, 788（1962））等を用いることができる。

[0100] 昆虫細胞の培養は、例えば、培養培地のpH6～7、培養温度25～30℃等の条件下で、培養時間1～5日間とすることができる。また、培養中必要に応じて、ゲンタマイシン等の抗生物質を培養培地に添加してもよい。

[0101] 宿主が植物細胞の場合、形質転換された植物細胞をそのまま培養してもよく、また植物の器官に分化させて培養することができる。該植物細胞を培養する培地としては、例えば、一般に使用されているムラシゲ・アンド・スクーグ（MS）培地、ホワイト（White）培地、又はこれらの培地にオーキシン、サイトカイニン等、植物ホルモンを添加した培地等を用いることができる。

[0102] 動物細胞の培養は、例えば、培養培地のpH5～9、培養温度20～40℃等の条件下で、培養時間3～60日間とすることができる。また、培養中

必要に応じて、カナマイシン、ハイグロマイシン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

[0103] 上記発現ベクターで形質転換された宿主を用いて人工フィブロインを生産する方法としては、該人工フィブロインを宿主細胞内に生産させる方法、宿主細胞外に分泌させる方法、及び宿主細胞外膜上に生産させる方法等がある。使用する宿主細胞、及び生産させる人工フィブロインの構造を変えることによって、これらの各方法を選択することができる。

[0104] 例えば、人工フィブロインが宿主細胞内又は宿主細胞外膜上に生産される場合、ポールソンらの方法（*J. Biol. Chem.*, 264, 17619 (1989)）、ロウらの方法（*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 8227 (1989)、*Genes Develop.*, 4, 1288 (1990)）、又は特開平05-336963号公報、国際公開第1994/023021号等に記載の方法を準用することによって、人工フィブロインを宿主細胞外に積極的に分泌させるように変更させることができる。すなわち、遺伝子組換えの手法を用いて、人工フィブロインの活性部位を含むポリペプチドにシグナルペプチドを付加した形で発現させることによって、人工フィブロインを宿主細胞外に積極的に分泌させることができる。

[0105] 上記発現ベクターで形質転換された宿主によって生産された人工フィブロインは、タンパク質の単離精製に通常用いられている方法で単離及び精製することができる。例えば、人工フィブロインが、細胞内に溶解状態で発現した場合には、培養終了後、宿主細胞を遠心分離によって回収し、水系緩衝液にけん濁させた後、超音波破碎機、フレンチプレス、マントンガウリンホモゲナイザー及びダイノミル等によって宿主細胞を破碎し、無細胞抽出液を得る。該無細胞抽出液を遠心分離することによって得られる上清から、タンパク質の単離精製に通常用いられている方法、すなわち、溶媒抽出法、硫酸等による塩析法、脱塩法、有機溶媒による沈殿法、ジエチルアミノエチル（DEAE）-セファロース、DIAION HPA-75（三菱化成社製）等

のレジンをを用いた陰イオン交換クロマトグラフィー法、S-Sepharose FF (Pharmacia社製)等のレジンをを用いた陽イオン交換クロマトグラフィー法、ブチルセファロース、フェニルセファロース等のレジンをを用いた疎水性クロマトグラフィー法、分子篩を用いたゲルろ過法、アフィニティークロマトグラフィー法、クロマトフォーカシング法、等電点電気泳動等の電気泳動法等の方法を単独又は組み合わせて使用し、精製標品を得ることができる。

[0106] 上記クロマトグラフィーとしては、フェニルトヨパール(東ソー)、DEAE-トヨパール(東ソー)、セファデックスG-150(ファルマシアバイオテク)を用いたカラムクロマトグラフィーが好ましく用いられる。

[0107] また、人工フィブロインが細胞内に不溶体を形成して発現した場合は、同様に宿主細胞を回収後、破碎し、遠心分離を行うことによって、沈殿画分として人工フィブロインの不溶体を回収する。回収した人工フィブロインの不溶体は蛋白質変性剤で可溶化することができる。該操作の後、上記と同様の単離精製法によって人工フィブロインの精製標品を得ることができる。

[0108] 人工フィブロイン、又は人工フィブロインに糖鎖の付加された誘導体が細胞外に分泌された場合には、培養上清から人工フィブロイン又はその誘導体を回収することができる。すなわち、培養物を遠心分離等の手法で処理することによって培養上清を取得し、該培養上清から、上記と同様の単離精製法を用いることによって、精製標品を得ることができる。

[0109] (A) 成分は人工フィブロインであってよい。人工フィブロインを別途調製する場合、その方法は、例えば、天然由来のフィブロインを人工的に合成する方法であってよい。ここで、天然由来のフィブロインとしては、例えば、昆虫又はクモ類が産生するフィブロインが挙げられる。天然のフィブロインは繊維状のタンパク質であり、分子量が約37万であり、2つのサブユニットで構成され、グリシン残基、アラニン残基、セリン残基及びチロシン残基の含有率が高く、これらのアミノ酸残基が全アミノ酸残基数の90%近くを占める。天然のフィブロインは、グリシン、アラニン及びセリン等の比較

的小さな側鎖を有するアミノ酸残基が豊富な結晶領域と、チロシン等の比較的大きな側鎖を有するアミノ酸残基を有する非晶領域を有する。

[0110] 天然由来のフィブロインのより具体的な例としては、NCBI GenBankに配列情報が登録されているフィブロインを挙げることができる。例えば、NCBI GenBankに登録されている配列情報のうちDIVISIONとしてINVを含む配列の中から、DEFINITIONにspidroin、ampullate、fibroin、「silk及びpolypeptide」、又は「silk及びprotein」がキーワードとして記載されている配列、CDSから特定のproductの文字列、SOURCEからTISSUE TYPEに特定の文字列の記載された配列を抽出することにより確認することができる。

[0111] 本明細書において「人工フィブロイン」とは、人為的に製造されたフィブロイン（人造フィブロイン）を意味する。人工フィブロインは、天然由来のフィブロインのアミノ酸配列とは異なるフィブロインであってもよく、天然由来のフィブロインのアミノ酸配列と同一であるフィブロインであってもよい。人工フィブロインは、公知の方法によって製造でき、例えば、国際公開第2019/194263号に記載の方法で製造できる。

[0112] 人工フィブロインは、天然由来フィブロインに準ずる構造を有する繊維状タンパク質であってよく、天然由来フィブロインが有する反復配列と同様の配列を有するフィブロインであってもよい。「フィブロインが有する反復配列と同様の配列」とは、実際に天然由来フィブロインが有する配列であってもよく、それと類似する配列であってもよい。

[0113] 「人工フィブロイン」は、本開示で特定されるアミノ酸配列を有するものであれば、天然由来のフィブロインに依拠してそのアミノ酸配列を改変したもの（例えば、クローニングした天然由来のフィブロインの遺伝子配列を改変することによりアミノ酸配列を改変したもの）であってもよく、また天然由来のフィブロインに依らず人工的にアミノ酸配列を設計したもの（例えば、設計したアミノ酸配列をコードする核酸を化学合成することにより所望の

アミノ酸配列を有するもの）であってもよい。なお、人工フィブロインのアミノ酸配列を改変したものも、そのアミノ酸配列が天然由来のフィブロインのアミノ酸配列とは異なるものであれば、人工フィブロインに含まれる。人工フィブロインとしては、例えば、人工絹（シルク）フィブロイン（カイコが産生する絹タンパク質のアミノ酸配列を改変したもの）、及び人工クモ糸フィブロイン（クモ類が産生するスパイダーシルクタンパク質のアミノ酸配列を改変したもの）などが挙げられる。人工フィブロインは、比較的フィブリル化が容易で繊維形成能が高いことから、成形材料として好ましくは人工クモ糸フィブロインを含み、より好ましくは人工クモ糸フィブロインからなる。

[0114] 本実施形態に係る人工フィブロインは、式1： $[(A)_n \text{モチーフ}-REP]^m$ 、又は式2： $[(A)_n \text{モチーフ}-REP]^m-(A)_n \text{モチーフ}$ で表されるドメイン配列を含むタンパク質であってもよい。人工フィブロインは、ドメイン配列のN末端側及びC末端側のいずれか一方又は両方に更にアミノ酸配列（N末端配列及びC末端配列）が付加されていてもよい。N末端配列及びC末端配列は、これに限定されるものではないが、典型的には、フィブロインに特徴的なアミノ酸モチーフの反復を有さない領域であり、100残基程度のアミノ酸からなる。

[0115] 本明細書において「ドメイン配列」とは、式1： $[(A)_n \text{モチーフ}-REP]^m$ 、又は式2： $[(A)_n \text{モチーフ}-REP]^m-(A)_n \text{モチーフ}$ で表されるアミノ酸配列を意味する。ここで、 $(A)_n \text{モチーフ}$ は、アラニン残基を主とするアミノ酸配列を示し、アミノ酸残基数は2～27である。

$(A)_n \text{モチーフ}$ のアミノ酸残基数は、2～20、4～27、4～20、8～20、10～20、4～16、8～16、又は10～16の整数であってもよい。また、 $(A)_n \text{モチーフ}$ 中の全アミノ酸残基数に対するアラニン残基数の割合は40%以上であればよく、60%以上、70%以上、80%以上、83%以上、85%以上、86%以上、90%以上、95%以上、又は100%（アラニン残基のみで構成されることを意味する。）であってもよい。

。ドメイン配列中に複数存在する(A)nモチーフは、少なくとも7つがアラニン残基のみで構成されてもよい。REPは2～200アミノ酸残基から構成されるアミノ酸配列を示す。REPは、10～200アミノ酸残基から構成されるアミノ酸配列であってもよい。mは2～300の整数を示し、10～300の整数であってもよい。複数存在する(A)nモチーフは、互いに同一のアミノ酸配列でもよく、異なるアミノ酸配列でもよい。複数存在するREPは、互いに同一のアミノ酸配列でもよく、異なるアミノ酸配列でもよい。

[0116] 人工フィブロインの具体的な例として、例えば、国際公開第2019/194263号に記載されるようなクモの大瓶状腺で産生される大吐糸管しおり糸タンパク質に由来する人工フィブロイン(第1の人工フィブロイン)、グリシン残基の含有量が低減されたドメイン配列を有する人工フィブロイン(第2の人工フィブロイン)、(A)nモチーフの含有量が低減されたドメイン配列を有する人工フィブロイン(第3の人工フィブロイン)、グリシン残基の含有量、及び(A)nモチーフの含有量が低減された人工フィブロイン(第4の人工フィブロイン)、局所的に疎水性指標の大きい領域を含むドメイン配列を有する人工フィブロイン(第5の人工フィブロイン)、並びにグルタミン残基の含有量が低減されたドメイン配列を有する人工フィブロイン(第6の人工フィブロイン)が挙げられる。第1～第6の各人工フィブロインの定義は、国際公開第2019/194263号に記載の内容を参照により本明細書に取り込まれる。

[0117] 人工フィブロインは、N末端及びC末端のいずれか一方又は両方にタグ配列を含んでいてもよい。これによって、人工フィブロインの単離、固定化、検出及び可視化等が可能となる。

[0118] タグ配列として、例えば、他の分子との特異的親和性(結合性、アフィニティ)を利用したアフィニティタグを挙げることができる。アフィニティタグの具体例として、ヒスチジンタグ(Hisタグ)を挙げることができる。Hisタグは、ヒスチジン残基が4から10個程度並んだ短いペプチドで、

ニッケル等の金属イオンと特異的に結合する性質があるため、金属キレートクロマトグラフィー (chelating metal chromatography) による人工フィブロインの単離に利用することができる。タグ配列の具体例として、例えば、配列番号8で示されるアミノ酸配列 (His タグ配列及びヒンジ配列を含むアミノ酸配列) が挙げられる。

[0119] また、グルタチオンに特異的に結合するグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST)、マルトースに特異的に結合するマルトース結合タンパク質 (MBP) 等のタグ配列を利用することもできる。

[0120] さらに、抗原抗体反応を利用した「エピトープタグ」を利用することもできる。抗原性を示すペプチド (エピトープ) をタグ配列として付加することによって、当該エピトープに対する抗体を結合させることができる。エピトープタグとして、HA (インフルエンザウイルスのヘマグルチニンのペプチド配列) タグ、myc タグ、FLAG タグ等を挙げることができる。エピトープタグを利用することにより、高い特異性で容易に人工フィブロインを精製することができる。

[0121] さらにタグ配列を特定のプロテアーゼで切り離せるようにしたものも使用することができる。当該タグ配列を介して吸着したタンパク質をプロテアーゼ処理することによって、タグ配列を切り離した人工フィブロインを回収することもできる。

[0122] 人工フィブロインの具体例としては、例えば、表1に示す人工フィブロインが挙げられる。

[0123]

[表1]

	アラニン残基 含有量 (%)	グリシン残基 含有量 (%)	セリン残基 含有量 (%)	スレオニン残基 含有量 (%)	チロシン残基 含有量 (%)	グルタミン残基 含有量 (%)	リジン残基 含有量 (%)
PRT799 (配列番号 1)	19.8	31.0	9.3	0	7.0	17.3	0.1
PRT966 (配列番号 2)	19.7	31.2	9.4	0	7.1	0	0
PRT918 (配列番号 3)	19.5	30.9	9.7	0	7.0	0	0
PRT313 (配列番号 4)	25.7	36.0	8.9	0	6.4	8.2	0
PRT1000 (配列番号 5)	19.4	30.8	9.6	0	7.0	0	0
PRT1001 (配列番号 6)	19.3	30.7	9.6	0	6.9	0	0
PRT587 (配列番号 7)	19.7	31.1	9.4	0	7.1	17.3	0
PRT2882 (配列番号 9)	16.4	28.2	11.8	0	2.8	0	0

- [0124] 人工フィブロインは、第1の人工フィブロイン、第2の人工フィブロイン、第3の人工フィブロイン、第4の人工フィブロイン、第5の人工フィブロイン、及び第6の人工フィブロインが有する特徴のうち、少なくとも2つ以上の特徴を併せ持つ人工フィブロインであってもよい。
- [0125] 人工フィブロインの分子量は、特に限定されないが、例えば、2 kDa以上700 kDa以下であってよい。本実施形態に係る人工フィブロインの分子量は、例えば、2 kDa以上、3 kDa以上、4 kDa以上、5 kDa以上、6 kDa以上、7 kDa以上、8 kDa以上、9 kDa以上、10 kDa以上、20 kDa以上、30 kDa以上、40 kDa以上、50 kDa以上、60 kDa以上、70 kDa以上、80 kDa以上、90 kDa以上、又は100 kDa以上であってよく、700 kDa以下、600 kDa以下、500 kDa以下、400 kDa以下、360 kDa未満、300 kDa以下、又は200 kDa以下であってよい。
- [0126] 上述のように、上記製造方法で得られる合成高分子を用いて柔軟性に優れた成形体を得る際には、(B1)成分が低分子量の化合物である場合、(A)成分としても、比較的に低分子量のポリペプチドを使用することが好ましい。ところが、ポリペプチドが低分子量（例えば、30 kDa以下）である場合には、その調製における精製の際に、収率が低下する場合が生じ得る。特に、疎水性タンパク質の精製方法を利用した場合には、純度が低下する等の問題が生じる恐れさえもある。そこで、上記製法方法では、例えば、配列番号9で示されるような、N末端又はC末端に疎水性タグ（例えば、配列番号9では、GFILGFIL）が導入されたアミノ酸配列を有するタンパク質（PRT2882）を用いてもよい。このような疎水性タグ配列を含むアミノ酸配列を有する、低分子量の組換えタンパク質は、その精製時において収率や純度の高いものが得られるため、上述の製造方法により、夾雑物の含有量が少ない高分子化合物が得られることとなる。そして、それによって、かかる高分子化合物を成形材料として用いた成形体において、より優れた機械的物性等が得られる等のメリットが有利に確保され得る。

[0127] 本実施形態に係る人工フィブロインにおいて、REPを構成するアミノ酸残基の1以上が、疎水性アミノ酸残基であってよい。すなわち、REPは、疎水性アミノ酸残基を含んでいることが好ましい。疎水性アミノ酸残基とは、疎水性指標がプラスであるアミノ酸残基を意味する。アミノ酸残基の疎水性指標（ハイドロパシー・インデックス、以下「HI」とも記す。）については、公知の指標公知の指標（Hydropathy index: Kyte J, & Doolittle R (1982) “A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein”, J. Mol. Biol., 157, pp. 105–132）を使用する。疎水性アミノ酸残基としては、例えば、イソロイシン（HI: 4.5）、バリン（HI: 4.2）、ロイシン（HI: 3.8）、フェニルアラニン（HI: 2.8）、メチオニン（HI: 1.9）、アラニン（HI: 1.8）が挙げられる。

[0128] 本実施形態に係る人工フィブロインにおいて、ドメイン配列は、天然由来のフィブロインと比較して、REP中にシステイン残基が挿入されたことに相当するアミノ酸配列を有することが好ましい。

[0129] ドメイン配列は、REP中のグリシン残基、セリン残基、又はアラニン残基と隣り合う位置に、システイン残基が挿入されたことに相当するアミノ酸配列を有していることが好ましく、REP中のグリシン残基と隣り合う位置に、システイン残基が挿入されたことに相当するアミノ酸配列を有していることがより好ましい。REP中のシステイン残基は、グリシン残基、セリン残基、又はアラニン残基と、グリシン残基、セリン残基、又はアラニン残基との間に位置していてよく、セリン残基と、グリシン残基との間に位置していてよい。

[0130] ドメイン配列は、REP中の疎水性アミノ酸残基と隣り合う位置に、システイン残基が挿入されたことに相当するアミノ酸配列を有していることが好ましい。この場合、分子間で疎水性アミノ酸残基同士が疎水的相互作用により固定される。REP中のシステイン残基は、疎水性アミノ酸残基の隣に位

置していてもよく、疎水性アミノ酸残基と、疎水性アミノ酸残基以外のアミノ酸残基との間に、位置していてもよく、疎水性アミノ酸残基と、グリシン残基、セリン残基、又はアラニン残基との間に位置していてもよく、疎水性アミノ酸残基と、グリシン残基との間に位置していてもよい。疎水性アミノ酸残基は、イソロイシン残基、バリン残基、ロイシン残基、フェニルアラニン残基、メチオニン残基、及びアラニン残基からなる群より選択される1種であってよい。

[0131] ドメイン配列は、天然由来のフィブロインと比較して、ドメイン配列のN末端及び／又はC末端の近傍に位置するREP中に、システイン残基が挿入されたことに相当するアミノ酸配列を有していてもよい。この場合、分子鎖を長くすることができる。本明細書において、ドメイン配列のN末端の近傍に位置するREPとは、ドメイン配列のN末端から1～3番目に位置するREPを意味する。例えば、システイン残基は、ドメイン配列のN末端から1～2番目に位置するREP中に位置していてもよい。本明細書において、ドメイン配列のC末端の近傍に位置するREPとは、ドメイン配列のC末端から1～3番目に位置するREPを意味する。例えば、システイン残基は、ドメイン配列のC末端から1～2番目に位置するREP中に位置していてもよい。システイン残基は、ドメイン配列の最もN末端側及び／又は最もC末端側に位置するREP中に位置していることが好ましい。

[0132] ドメイン配列は、天然由来のフィブロインと比較して、REP中の中央又は中央近傍にシステイン残基が挿入されたことに相当するアミノ酸配列を有していてもよい。本明細書において、REP中のアミノ酸配列の中央近傍とは、REPの中央に位置するアミノ酸残基（中央に位置するアミノ酸残基が2つ存在する場合はN末端側のアミノ酸残基）からN末端側に向かって1～5番目の位置、又はREPの中央に位置するアミノ酸残基（中央に位置するアミノ酸残基が2つ存在する場合はC末端側のアミノ酸残基）から1～5番目の位置を示す。例えば、システイン残基は、REPの中央に位置していてもよく、REPの中央に位置するアミノ酸残基からN末端側、又はC末端側に

向かって1～3番目又は1～2番目に位置していてもよい。ここにおいて、システイン残基が、例えば、ドメイン配列のN末端側とC末端側にそれぞれ一つずつ位置するように挿入されたポリペプチド骨格を含む第一のセグメントを用いる場合、そのような第一のセグメントと第二のセグメントとが交互に一つずつ位置するように連結させてなる合成高分子を得ることができる。この合成高分子を用いて得られる成形体（例えば、繊維やフィルム、ゲル等）では、伸度の向上が期待され得る。また、システイン残基が、例えば、ドメイン配列のN末端側やC末端側よりも中央部側に位置するように挿入されたポリペプチド骨格を含む第一のセグメントを用いる場合、そのような第一のセグメントに対して第二のセグメントが連結されてなる合成子分子では、溶媒に対する溶解度の向上が期待され得る。

[0133] 人工フィブロインは、REPの疎水性度（ハイドロパシー・インデックス：疎水性指標）が、例えば、 -0.80 、 -0.70 、 -0.06 以上、 -0.50 以上、 -0.40 以上、 -0.30 以上、 -0.20 以上、 -0.10 以上、 0.00 以上、 0.10 以上、 0.20 以上、 0.22 以上、 0.25 以上、 0.30 以上、 0.35 以上、 0.40 以上、 0.45 以上、 0.50 以上、 0.55 以上、 0.60 以上、 0.65 以上、 0.70 以上であってよい。REPの疎水性度の上限に特に制限はなく、 1.0 以下であってよく、 0.7 以下であってもよい。

[0134] 本明細書において、「REPの疎水性度」は、以下の方法により算出される値である。式1： $[(A)_n \text{モチーフ}-REP]_m$ 、又は式2： $[(A)_n \text{モチーフ}-REP]_m - (A)_n \text{モチーフ}$ で表されるドメイン配列を含むフィブロインにおいて、最もC末端側に位置する $(A)_n$ モチーフからドメイン配列のC末端までの配列をドメイン配列から除いた配列に含まれる全てのREPにおいて、その領域の各アミノ酸残基の疎水性指標の総和を e とし、最もC末端側に位置する $(A)_n$ モチーフからドメイン配列のC末端までの配列をドメイン配列から除き、更に $(A)_n$ モチーフを除いた全REPのアミノ酸残基の総数を f としたときに、REPの疎水性度は e/f として算出される。R

EPの疎水性度の算出において、「最もC末端側に位置する(A)_nモチーフからドメイン配列のC末端までの配列をドメイン配列から除いた配列」を対象としている理由は、上述した理由と同様である。

[0135] ドメイン配列は、天然由来のフィブロインと比較して、REP中に1以上16未満のシステイン残基が挿入されたことに相当するアミノ酸配列を有してよい。つまり、REPに挿入したことに相当するシステイン残基の総数は、1以上16未満であってよい。REP中に挿入したことに相当するシステイン残基の総数は、1以上12以下、1以上10以下、1以上8以下、1以上6以下、又は2以上4以下であってもよい。ドメイン配列中のREP一つあたりのシステイン残基数は、例えば、1～3であってよく、1～2であってよく、1であってよい。

[0136] 本実施形態に係る人工フィブロインのシステイン残基の総数は、1以上16未満、1以上12以下、1以上10以下、1以上8以下、1以上6以下、又は2以上4以下であってもよい。

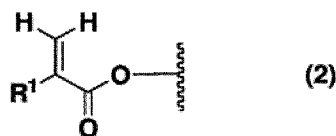
[0137] 本実施形態に係る人工フィブロインは、上述したREP中のシステイン残基に関する改変に加え、天然由来のフィブロインと比較して、1又は複数のアミノ酸残基を置換、欠失、挿入及び／又は付加したことに相当するアミノ酸配列の改変が更にあってよい。

[0138] 本実施形態に係る人工フィブロインとしては、システイン残基が挿入されたことに相当するアミノ酸配列を有することが好ましい。

[0139] (B1)成分を調製する方法は、無水マレイン酸と、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をエステル化させることを含む方法であってよい。その際、酸又は塩基を用いてもよく、無溶媒下で反応を進行させてもよい。(B1)成分の調製では、特にポリエーテルへの保護基の導入などが不要でなく、簡便な方法を採用することができる。精製については、例えば、シクロペンチルメチルエーテル、テトラヒドロフラン、酢酸エチル、又はエタノール等の溶媒で洗浄して、不純物を除去することによって行ってよい。

[0140] 高分子化合物の製造方法の第二実施形態は、メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、下記一般式(2)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物(以下、(B2)成分ともいう)と、をジメチルスルホキシド中、塩基、還元剤及び重合禁止剤(以下、(E)成分ともいう)の存在下で、加熱反応させることを含む。下記一般式(2)中、R¹は、水素原子、又はメチル基を示す。上記加熱反応は(A)成分と(B2)成分との反応であり、例えば、50℃以上に加熱することで行う。なお、加熱のタイミングは(A)成分～(E)成分の混合後に限定されるものではなく、例えば、予め加熱したジメチルスルホキシドを用い(A)成分～(E)成分を添加してもよく、ジメチルスルホキシドに対して(C)成分、(D)成分及び(E)成分を添加した後加熱を開始し、所定の温度に達した後(A)成分及び(B)成分を添加し反応させてもよく、(A)成分及び(B)成分の一方と、(C)成分、(D)成分及び(E)成分を添加した後加熱を開始し、所定の温度に達した後に、(A)成分及び(B)成分の残りの一方を添加し反応させてもよい。

[0141] [化25]



[0142] 以下の説明では、上記第一実施形態との共通する事項についての説明は省略し、異なる点について、説明する。上記第二実施形態におけるメルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチド、塩基、及び還元剤については、上記第一実施形態において(A)成分、(C)成分及び(D)成分についてした説明を適用できる。

[0143] 一般式(2)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物((B2)成分)は、式(1)で表される構造を有することによって、上述の

ポリペプチドの有するメルカプト基との反応が可能であり、ポリペプチドに対して、ポリエーテル構造、ポリエステル構造又はポリカーボネート構造を導入可能な化合物である。

[0144] 式(2)で表される構造を2つ有するポリエーテルとしては、例えば、ポリエチレングリコール、ポリテトラメチレングリコール、ポリプロピレングリコール、及びエチレングリコール・プロピレングリコール共重合体などが挙げられる。式(2)で表される構造を2つ有するポリエステルとしては、例えば、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリブチレンサクシネート、ポリカプロラクトン、及び3-ヒドロキシブタン酸・3-ヒドロキシヘキサン酸共重合体等を含むポリヒドロキシアлкаノエート類などが挙げられる。式(2)で表される構造を2つ有するポリカーボネートは、ポリエチレンカルボナート、ポリプロピレンカルボナート、及びポリトリメチレンカルボナート等の脂肪族系ポリカーボネート類などが挙げられる。これらの化合物は、上述のポリペプチドよりも分子運動が容易な化合物であることから、それぞれ上述のような化合物である場合、得られる高分子化合物で構成される成形体の柔軟性をより向上させ得る。

[0145] (B2)成分の配合量等については、上記第一実施形態において(B1)成分についてした説明を(B2)成分のものとして読み替えて適用できる。

[0146] 上述の製造方法における重合禁止剤((E)成分)は、(B2)成分の自己重合を阻害する化合物である。(E)成分としては、例えば、ヒドロキノン、メトキノン、4-tert-ブチルピロカテコール、tert-ブチルヒドロキノン、1,4-ベンゾキノン、ジブチルヒドロキシトルエン、メキノール、フェノチアジン、及び1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジール等が挙げられる。

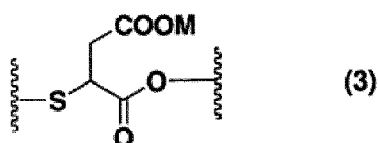
[0147] (E)成分の含有量は、上記化合物((B2)成分)100質量部に対して、例えば、0.01質量部以上、0.05質量部以上、0.1質量部以上、又は0.2質量部以上であってよい。重合禁止剤の含有量を上記範囲内とすることで、一般式(2)で示される構造のラジカル重合が開始を抑制し、

一般式（２）で示される構造と、ポリペプチドが有するメルカプト基との反応をより優位なものとするのが可能となり得る。（Ｅ）成分の含有量は、（Ｂ２）成分１００質量部に対して、例えば、２５質量部以下、１０質量部以下、５質量部以下、又は１質量部以下であってよい。（Ｅ）成分の含有量を上記範囲内とすることで、（Ｅ）成分が系中において反応を阻害することをより一層抑制できる。

[0148] （Ｂ２）成分を調製する方法は、（メタ）アクリル酸、無水（メタ）アクリル酸、（メタ）アクリロイルクロリドと、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をエステル化させることを含む方法であってよい。（Ｂ２）成分の調製では、特にポリエーテルへの保護基の導入などが必要でなく、簡便な方法を採用することができる。精製は、テトラヒドロフランで熱抽出することによって有機塩を除去し、さらにｎ－ヘキサンを加えて再沈することにより行った。

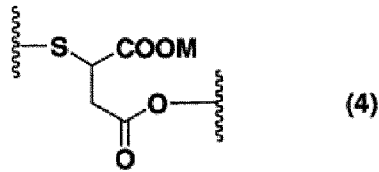
[0149] 上述の製造方法によって合成される高分子化合物は、ポリペプチド部と、ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造からなる群より選択される少なくとも一種の構造単位と、が、上記ポリペプチド部が下記一般式（３）、下記一般式（４）又は下記一般式（５）のＳと結合するようにして下記一般式（３）、下記一般式（４）又は下記一般式（５）で表される構造によって直接結合する構造を有する。一般式（３）及び一般式（４）中、Ｍは、Ｈ（水素原子）、Ｎａ（ナトリウム原子）、Ｋ（カリウム原子）、 NH Et_3 、又は NH Et i Pr_2 のいずれかを示し、一般式（５）中、 R^1 は、Ｈ、又はＭｅを示す。上記Ｍｅはメチル基を示し、上記Ｅｔはエチル基を示し、上記ｉＰｒはイソプロピル基を示す。

[0150] [化26]

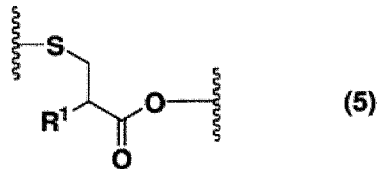


[0151]

[化27]



[0152] [化28]



[0153] 上述の高分子化合物は、ポリペプチドと、ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造からなる群より選択される少なくとも一種の構造単位とを有することから、ブロック共重合体ということもできる。ポリペプチドからなる構造単位をAとし、ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造のうち少なくとも一種を含む構造単位をBとした場合、上述の高分子化合物は、A及びBをそれぞれ少なくとも1つ有していればよい。上述の高分子化合物は、例えば、A-Bジブロック共重合体、A-B-Aトリブロック共重合体、A-B-A-Bテトラブロック共重合体、A-B-A-B-Aペンタブロック共重合体等であってよく、A-A-B-B-B-A-B-B-A-A等の共重合体であってもよい。

[0154] 上記高分子化合物は、直鎖状高分子、又はくし形高分子であってよく、3次元網目構造を有していてもよい。当該高分子化合物で構成される成形体の柔軟性をより向上させる観点からは、直鎖状高分子、又はくし形高分子であることが好ましく、成形体の弾性率を向上させる観点からは三次元網目構造を有することが好ましい。

[0155] ポリペプチド部に対して、導入される、ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造からなる群より選択される少なくとも一種の構造単位的位置は特に限定されるものではなく、ポリペプチド部の末端であってよく、ポリペプチド部の末端以外の位置であってもよいが、高分子化合

物の製造の容易性から、ポリペプチド部の末端であることが好ましい。

[0156] 上述の製造方法によって合成される高分子化合物は、成形用材料として使用できる。上記高分子化合物を成形用材料として用いる成形体の形状は特に限定されるものではなく、例えば、フィルム、繊維等であってよい。

[0157] 本開示の一側面は、上述の製造方法によって得られた高分子化合物を溶媒に溶解させることを含む、高分子化合物溶液の製造方法を提供する。かかる方法で得られる高分子化合物溶液は、成形体を調製する際の、いわゆるドーブ液として使用できる。ドーブ液の調製に用いる溶媒としては、例えば、ギ酸、ジメチルスルホキシド、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、ヘキサフルオロ-2-プロパノール、及びN-メチル-2-ピロリドン等が挙げられる。なお、上述の製造方法では、前記した加熱反応によって、目的とする高分子化合物が、ジメチルスルホキシドに溶解した状態で（ジメチルスルホキシド溶液として）得られる。このため、上記した高分子化合物溶液の製造方法では、ジメチルスルホキシド中から、例えば、公知の抽出方法や分離方法等で取り出された高分子化合物を所定の溶媒に溶解する工程が含まれる。

[0158] 上述の高分子化合物溶液の製造方法によって得られた高分子化合物溶液からフィルムを成形する工程を含む方法によって、高分子フィルムを製造してもよい。上記フィルムへの成形は、例えば、キャスト成形等であってよい。

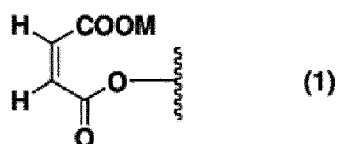
[0159] 上述の高分子化合物溶液の製造方法によって得られた高分子化合物溶液を紡糸する工程を含む方法によって、高分子繊維を製造してもよい。

[0160] なお、上述の高分子化合物の製造方法における加熱反応によって得られた高分子化合物のジメチルスルホキシド溶液を、そのまま、フィルムや繊維を製造に供されるドーブとして用いることもできる。高分子フィルムがより簡便に且つ低コストに製造できる。フィルムの成形も、例えば、キャスト成形等であってよい。

[0161] 本開示の一側面は、メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、下記一般式（1）で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエス

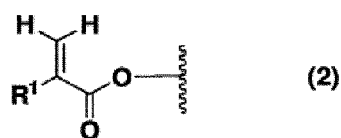
テル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基及び還元剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液（高分子化合物のジメチルスルホキシド溶液）を得ることと、上記高分子化合物溶液からフィルムを成形することと、を含む、フィルムの製造方法を提供する。一般式（1）中、Mは、H、Na、K、NH₄Et₃、又はNH₄Et₃iPr₂のいずれかを示す。

[0162] [化29]



[0163] 本開示の一側面は、メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、下記一般式（2）で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基、還元剤及び重合禁止剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液（高分子化合物のジメチルスルホキシド溶液）を得ることと、上記高分子化合物溶液からフィルムを成形することと、を含む、フィルムの製造方法を提供する。一般式（2）中、R¹は、水素原子、又はメチル基を示す。

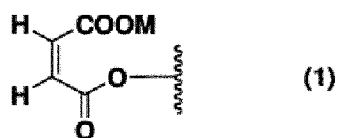
[0164] [化30]



[0165] 本開示の一側面は、メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、下記一般式（1）で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基及び還元剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液（高分子化合物のジメチルスルホキシド溶液）を得ることと、上記高分子化合物溶液を紡糸することと、を含む、繊維の製造方法

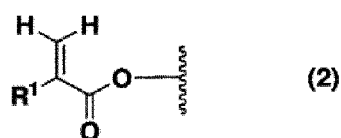
を提供する。一般式（１）中、Mは、H、Na、K、NHEt₃、又はNHEtiPr₂のいずれかを示す。

[0166] [化31]



[0167] 本開示の一側面は、メルカプト基を少なくとも１つ有するポリペプチドと、下記一般式（２）で表される構造を２つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基、還元剤及び重合禁止剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液（高分子化合物のジメチルスルホキシド溶液）を得ることと、上記高分子化合物溶液を紡糸することと、を含む、繊維の製造方法を提供する。一般式（２）中、R¹は、水素原子、又はメチル基を示す。

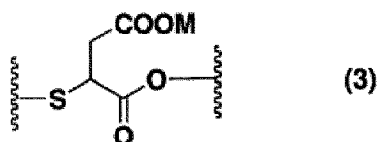
[0168] [化32]



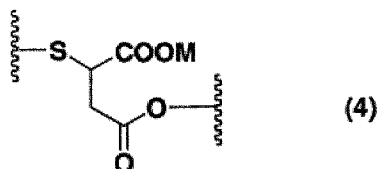
[0169] 本開示の一側面は、高分子化合物を含むフィルムであって、上記高分子化合物は、ポリペプチド部と、ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造からなる群より選択される少なくとも一種の構造単位と、が、上記ポリペプチド部が下記式（３）、下記式（４）又は下記一般式（５）のSと結合するようにして下記式（３）、下記式（４）又は下記一般式（５）で表される構造によって直接結合する構造を有し、伸度が４００％以上であり、降伏点強度に対する破断強度の比が１超である、フィルムを提供する。一般式（３）及び一般式（４）中、Mは、H、Na、K、NHEt₃、又はNHEtiPr₂のいずれかを示し、一般式（５）中、R¹は、H、又はMeを示す。

[0170]

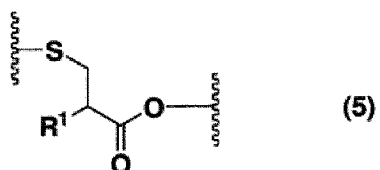
[化33]



[0171] [化34]

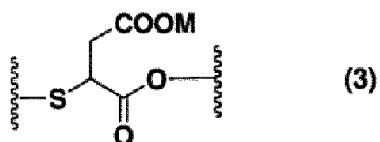


[0172] [化35]

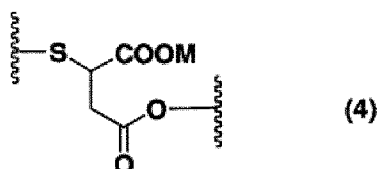


[0173] 本開示の一側面は、高分子化合物を含む繊維であって、上記高分子化合物は、ポリペプチド部と、ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造からなる群より選択される少なくとも一種の構造単位と、が、前記ポリペプチド部が下記式（３）、下記式（４）又は下記一般式（５）のＳと結合するようにして下記式（３）、下記式（４）又は下記一般式（５）で表される構造によって直接結合する構造を有し、伸度が４００％以上であり、降伏点強度に対する破断強度の比が１超である、繊維を提供する。一般式（５）中、Ｒ１は、水素原子、又はメチル基を示す。

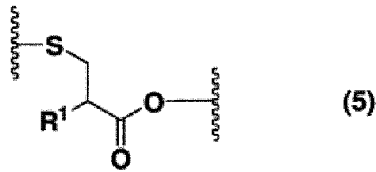
[0174] [化36]



[0175] [化37]



[0176] [化38]



[0177] 上記フィルム及び上記繊維において、降伏点強度に対する破断強度の比（破断強度 [MPa] / 降伏点強度 [MPa] の値）が1超であるが、例えば、1.1以上、1.2以上、1.3以上、1.4以上、又は1.5以上であってよい。上記フィルム及び上記繊維において、降伏点強度に対する破断強度の比（破断強度 [MPa] / 降伏点強度 [MPa] の値）は、例えば、3以下、又は2以下であってよい。

[0178] 本実施形態に係る高分子化合物は、それを主成分とする、溶液の状態や、水分散液の状態、フィルムの状態、粉末の状態で、被着体を接着する接着剤、或いは基材にコーティング層を積層形成するコーティング剤として使用できる。それら溶液状接着剤や溶液状コーティング剤、水分散性接着剤や水分散性コーティング剤、フィルム状接着剤やフィルム状コーティング剤、粉末状接着剤や粉末状コーティング剤は、例えば、以下の製造方法によって得ることができる。

[0179] 高分子化合物を含む溶液状接着剤や溶液状コーティング剤は、本実施形態手法によって得られる高分子化合物を溶媒に溶解させる工程を含んだ方法によって製造できる。このような方法によれば、従来の石油由来の成分を含む溶液状接着剤や溶液状コーティング剤とは異なって、生分解性を有する溶液状接着剤や溶液状コーティング剤が容易に得られることとなる。なお、前述した本実施形態に係る高分子化合物の製造手法では、目的とする高分子化合物が、前記した加熱反応によって、ジメチルスルホキシドに溶解した状態で（ジメチルスルホキシド溶液として）得られる。このため、本実施形態に係る溶液状接着剤やコーティング剤の製造方法では、ジメチルスルホキシド中から、例えば、公知の抽出方法や分離方法等に取り出された高分子化合物を所定の溶媒に溶解する工程が含まれる。また、本実施形態に係る溶液性接着

剤や溶液性コーティング剤が、高分子化合物の製造方法における加熱反応によって得られた高分子化合物のジメチルスルホキシド溶液にて構成されていてもよい。

[0180] 溶液状接着剤や溶液状コーティング剤の製造に用いられる溶媒は、高分子化合物が溶解可能な水や、塩基性水溶液、酸性水溶液、無機塩を含む中性水溶液等の水性媒体や、有機溶媒等が挙げられる。有機溶媒としては、ギ酸、ジメチルスルホキシド（DMSO）、ヘキサフルオロイソプロパノール（HFIP）、N，N-ジメチルホルムアミド（DMF）、N，N-ジメチルアセトアミド（DMAc）、N-メチルピペリドン（NMP）、ジヒドロレボグルコセノン等が例示され得る。

[0181] 溶液状接着剤や溶液状コーティング剤に含まれる高分子化合物は、本実施形態に係る製法によって得られるものであって、前記した水性媒体や有機溶媒に溶解可能なものであれば特に限定されるものではない。高分子化合物が水性媒体に溶解した接着剤やコーティング剤は、高分子化合物が有機溶媒に溶解した接着剤やコーティング剤よりも取扱い性等が優れるといった利点がある。なお、本実施形態に係る高分子化合物は、タンパク質を可塑化できる分子がタンパク質に結合されているため、タンパク質よりも高い水溶性を示す。そのため、高分子化合物が水性媒体に溶解してなる水溶液状接着剤や水溶液状コーティング剤は、単に、タンパク質を水性媒体に溶解してなる水溶液状接着剤や水溶液状コーティング剤に比して、タンパク質の含有量を高くできる。それ故、高分子化合物が水性媒体に溶解した水溶液状接着剤や水溶液状コーティング剤を用いれば、タンパク質が水性媒体に溶解した水溶液状接着剤や水溶液状コーティング剤を用いる場合に比して、後述する被着体の被着面や積層体表面に対する接着剤やコーティング剤の接着強度の向上が期待され得る。

[0182] 溶液状接着剤や溶液状コーティング剤中の高分子化合物の濃度は、高分子化合物の溶媒に対する溶解度等に基づいて適宜に決定される。かかる濃度は、例えば、5～40質量%であってもよく、10～35質量%であってもよ

く、15～20質量%であってもよく、20～25質量%であってもよい。また、溶液状接着剤や溶液状コーティング剤には、必要に応じて、公知の溶液状接着剤や溶液状コーティング剤に含まれる各種の添加剤等の高分子化合物以外の成分が含まれていてもよい。上記濃度の上限値はまた、例えば、30質量%未満、28質量%以下、25質量%以下、又は23質量%以下であってもよい。

[0183] 高分子化合物を含む溶液状接着剤は、複数の被着体が互いに接着された接着体を製造するのに用いられる。例えば、接着されるべき複数の被着体の間に溶液状接着剤を介在させた後、溶液状接着剤中の溶媒を除去して、高分子化合物を固化させることにより、被着体同士を接着して接着体を得ることができる。このような方法によれば、生分解性を有する接着剤を用いて接着体を得られるため、廃棄時の環境負荷を低減可能な接着体が容易に製造できるといったメリットがある。なお、被着体は、高分子化合物を含む溶液状接着剤にて接着可能なものであれば、その材質は特に限定されるものではなく、有機物質（例えば、紙、木材等のセルロース製品や合成樹脂、タンパク質製品）であっても、無機物質（金属やガラス等の非金属）であってもよい。

[0184] 溶液状接着剤を用いて接着体を製造する際の具体的な方法も何等限定されるものではない。例えば、互いに接着される被着体のうちの少なくとも何れか一方の被着面に溶液状接着剤を塗布したり、滴下したり、或いは被着体の被着面を溶液状接着剤の液面に接触させたり、浸漬したりして、被着面に溶液状接着剤を存在させた後、被着体を被着面同士において重ね合わせ乃至は突き合わせることで、複数の被着体の間に溶液状接着剤を介在させるようにしてもよい。また、複数の被着体の間に介在する溶液状接着剤中の溶媒を除去して、高分子化合物を固化させる際には、例えば、重ね合わされた、又は突き合わされた被着面同士が互い密接されるように、複数の被着体に対して、被着面の重合せ方向乃至突合せ方向の少なくとも何れか一方側から圧力を加えた状態で、加熱したり、風乾したり、自然乾燥させたりしてもよい。勿論、そのような圧力を加えなくとも接着が可能な場合は、圧力を加える必要

がない。

[0185] 高分子化合物を含む溶液状コーティング剤は、基材の表面の全体又は一部にコーティング層が積層形成された積層体を製造するのに用いられる。例えば、コーティング層が積層されるべき基材の表面の少なくとも一部に溶液状コーティング剤を供給して、かかる基材の表面部分を溶液状コーティング剤でコーティングした後、溶液状接着剤中の溶媒を除去して、高分子化合物を固化させる。これにより、基材の表面の少なくとも一部にコーティング層を積層形成して積層体を得ることができる。このような方法によっても、生分解性を有するコーティング剤を用いて積層体が得られるため、廃棄時の環境負荷を低減可能な積層体が容易に製造できるといったメリットがある。なお、基材は、高分子化合物を含む溶液状コーティング剤が接着可能なものであれば、その材質は特に限定されるものではなく、前記した溶液状接着剤にて接着される被着体と同様なものであってよい。

[0186] 溶液状コーティング剤を用いて積層体を製造する際の具体的な方法も何等限定されるものではない。例えば、基材表面の少なくとも一部に溶液状コーティング剤を塗布したり、滴下したり、或いは基材表面の少なくとも一部を溶液状コーティング剤の液面に接触させたり、浸漬したりして、基材の少なくとも一部に溶液状コーティング剤を所定厚さの層となるように供給してコーティングしてもよい。また、基材表面に積層されたコーティング剤層（溶液状コーティング剤）中の高分子化合物を固化させる際には、例えば、基材表面上のコーティング剤層を加熱したり、風乾したり、自然乾燥させたりして、コーティング剤層中の溶媒を除去するようにしてもよい。なお、その際には、必要に応じて、コーティング剤層上に、所定の押圧体（加圧体）を、コーティング剤層の全面を覆うように載置し、コーティング剤層が基材表面に密着するようにコーティング剤層を基材表面側に押圧（加圧）してもよい。このとき、押圧体が溶液状コーティング剤に接着しないようにするのが好ましい。例えば、押圧体のコーティング剤層との接触面に、離型剤を塗布したり、離型紙を貼り付けておいたり、或いは接触面に対して、コーティング

剤が接着しないような表面処理したり、若しくは押圧体として、溶液状コーティング剤に接着しない材質のものを用いたりすることで、押圧体に対する溶液状コーティング剤の接着が防止できる。

[0187] 高分子化合物を含む水分散性接着剤や水分散性コーティング剤は、本実施形態手法によって得られる高分子化合物を水性媒体に分散させる工程を含んだ方法によって製造できる。このような方法によれば、従来の石油由来の成分を含む水分散性接着剤や水分散性コーティング剤とは異なって、生分解性を有する水分散性接着剤や水分散性コーティング剤が容易に得られることとなる。前述のように、本実施形態に係る高分子化合物の製造手法では、目的とする高分子化合物が、ジメチルスルホキシドに溶解した状態で（ジメチルスルホキシド溶液として）得られる。このため、本実施形態に係る水分散性接着剤や水分散性コーティング剤の製造方法では、ジメチルスルホキシド中から、例えば、公知の抽出方法や分離方法等に取り出された高分子化合物を所定の水性媒体に分散させる工程が含まれる。

[0188] 水分散性接着剤や水分散性コーティング剤の製造に用いられる水性媒体は、高分子化合物が分散可能な水や、塩基性水溶液、酸性水溶液、無機塩を含む水溶液等が例示され得る。

[0189] 水分散性接着剤や水分散性コーティング剤に含まれる高分子化合物は、本実施形態に係る製法によって得られるものであって、前記した水性媒体に分散可能なものであれば特に限定されるものではない。水分散性接着剤や水分散性コーティング剤中の高分子化合物の含有率は、水分散性接着剤の被着体への接着性や、水分散性コーティング剤の基材に対する接着乃至固着性等を考慮して適宜に決定される。また、水分散性接着剤や水分散性コーティング剤には、必要に応じて、公知の水分散性接着剤や水分散性コーティング剤に含まれる各種の添加剤等の高分子化合物以外の成分が含まれていてもよい。

[0190] なお、本実施形態に係る高分子化合物は、タンパク質を可塑化できる分子がタンパク質に結合されているため、水を含む水性媒体に対して、タンパク質よりも高い親和性を示す。そのため、そのような高分子化合物を含む水分

散性接着剤や水分散性状コーティング剤は、単に、タンパク質を水性媒体に分散してなる水分散性接着剤や水分散性コーティング剤に比して、タンパク質の含有量（分散量）を高くできると共に、高分子化合物を水性媒体中への均一な分散できる。それ故、高分子化合物が水性媒体に分散した水分散性接着剤や水分散性コーティング剤を用いれば、タンパク質が水性媒体に分散した水分散性接着剤や水分散性コーティング剤を用いる場合に比して、後述する被着体の被着面や積層体表面に対する接着剤やコーティング剤の接着強度の向上が期待され得る。

[0191] 高分子化合物を含む水分散性接着剤は、複数の被着体が互いに接着された接着体を製造するのに用いられる。例えば、接着されるべき複数の被着体の間に水分散性接着剤を介在させた後、水分散性接着剤中の水性媒体を除去して、高分子化合物を固化させることにより、被着体同士を接着して接着体を得ることができる。このような方法によれば、生分解性を有する接着剤を用いて接着体が得られるため、廃棄時の環境負荷を低減可能な接着体が容易に製造できるといったメリットがある。なお、被着体は、高分子化合物を含む水分散性接着剤にて接着可能なものであれば、その材質は特に限定されるものではなく、高分子化合物を含む溶液性接着剤にて接着される被着体と同様なものであってもよい。

[0192] 水分散性接着剤を用いて接着体を製造する際の具体的な方法も何等限定されるものではない。例えば、接着されるべき複数の被着体の間に水分散性接着剤を介在させる際は、前記した溶液状接着剤を複数の被着体の間に水分散性接着剤を介在させる際と同様な方法が採用され得る。また、被着体間に介在する水分散性接着剤中の水性媒体を除去して、高分子化合物を固化させる際も、被着体間に介在する溶液状接着剤中の溶媒を除去して、高分子化合物を固化させる際と同様な方法が採用され得る。

[0193] 高分子化合物を含む水分散性コーティング剤は、基材の表面の全体又は一部にコーティング層が積層形成された積層体を製造するのに用いられる。例えば、コーティング層が積層されるべき基材の表面の少なくとも一部に水分

散性コーティング剤を供給して、かかる基材の表面部分を溶液状コーティング剤でコーティングした後、水分散性接着剤中の水性媒体を除去して、高分子化合物を固化させる。これにより、基材の表面の少なくとも一部にコーティング層を積層形成して積層体を得ることができる。このような方法によっても、生分解性を有するコーティング剤を用いて積層体が得られるため、廃棄時の環境負荷を低減可能な積層体が容易に製造できるといったメリットがある。なお、基材は、高分子化合物を含む水分散性コーティング剤が接着可能なものであれば、その材質は特に限定されるものではなく、前記した溶液状コーティング剤にてコーティング層が形成される基材と同様なものであってもよい。

[0194] 水分散性コーティング剤を用いて積層体を製造する際の具体的な方法も何等限定されるものではない。例えば、基材表面の少なくとも一部に水分散性コーティング剤を供給する際には、前記した溶液状コーティング剤を基材表面に供給する際と同様な方法が採用され得る。また、基材表面に供給された水分散性コーティング剤中の水性媒体を除去して高分子化合物を固化させる際には、基材表面に供給された溶液状コーティング剤中の溶媒を除去して高分子化合物を固化させる際と同様な方法が採用され得る。

[0195] 高分子化合物を含むフィルム状接着剤やフィルム状コーティング剤は、本実施形態手法によって得られる高分子化合物が溶解した高分子化合物溶液からフィルムを成形する工程を含んだ方法によって製造できる。このような方法によれば、従来の石油由来の成分を含むフィルム状接着剤やフィルム状コーティング剤とは異なって、生分解性を有するフィルム状接着剤やフィルム状コーティング剤が容易に得られることとなる。なお、上記のフィルムを成形する方法は、公知のキャスト成形であってもよい。

[0196] フィルム状接着剤やフィルム状コーティング剤の製造に用いられるフィルム成形用の溶液としては、例えば、溶液状接着剤や溶液状コーティング剤として使用される高分子化合物溶液が好適に使用される。従って、かかるフィルム成形用溶液は、本実施形態に係る高分子化合物の製造手法で得られる高

分子化合物のジメチルスルホキシド溶液をであってもよく、或いは、かかるジメチルスルホキシド中から、例えば、公知の抽出方法や分離方法等に取り出された高分子化合物を所定の溶媒に溶解してなる溶液であってもよい。なお、高分子化合物溶液をキャスト成形する際には、タンパク質溶液をキャスト成形する際と同様な公知の方法と公知の条件が採用され得る。

[0197] 高分子化合物を含むフィルム状接着剤は、複数の被着体が互いに接着された接着体を製造するのに用いられる。例えば、着されるべき複数の被着体の間にフィルム状接着剤を介在させた状態で、フィルム状接着剤を膨潤させたり、加熱したりして、軟化させ、その後、フィルム状接着剤を被着体に圧接させた状態で硬化させることにより、被着体同士を接着して接着体を得ることができる。また、フィルム状接着剤を、予め膨潤乃至加熱して軟化させてから、複数の被着体の間に介在させ、その後、フィルム状接着剤を被着体に圧接させた状態で硬化させるようにしてもよい。これらの方法によれば、生分解性を有する接着剤を用いて接着体が得られるため、廃棄時の環境負荷を低減可能な接着体が容易に製造できるといったメリットがある。なお、被着体は、高分子化合物を含むフィルム状接着剤にて接着可能なものであればよく、高分子化合物を含む溶液性接着剤にて接着される被着体と同様なものであってもよい。

[0198] フィルム状接着剤は、水分を吸収したり、加熱されたりすると軟化し、その後の乾燥や冷却によって硬化する。また、フィルム状接着剤に含まれる高分子化合物が、特に、成形体とされたときに水との接触や加熱によって収縮挙動を示す特性を有するものである場合には、フィルム状接着剤も水との接触や加熱によって収縮する。このため、高分子化合物を含むフィルム状接着剤は、膨潤乃至加熱されて軟化した状態で、被着体間に介在すると、被着体の被着面に存在する隙間に部分的に食い込み、特に、飾タンパク質が上記の収縮特性を有する場合には、被着面の隙間に食い込んだ状態で収縮する。その状態でフィルム状接着剤が硬化すると、アンカー効果により、フィルム状接着剤と被着体とが接着して、被着体同士が接着されると考えられる。また

、フィルム状接着剤は、タンパク質を可塑化する分子がタンパク質と結合した高分子化合物を主成分として含んでいることで十分な柔軟性を発揮する。そのため、そのようなフィルム状接着剤では、軟化した際に、より高い柔軟性を示すため、被着体の被着面の隙間に更に十分に食い込むようになり、その結果として、更に高い接着強度が得られることが期待され得る。しかも、フィルム状接着剤は、優れた柔軟性を有するため、被着体に接着した後に被着体から剥離することができ、更には、フィルム状接着剤として再利用することができるといった優れた機能を発揮する。なお、フィルム状接着剤を再利用する場合には、被着体から剥離された後に、水洗いしてもよい。なお、フィルム状接着剤の被着体に対する接着は、被着体と高分子化合物との間で水素結合が生じることによることも考えられる。

[0199] フィルム状接着剤を膨潤させて軟化させる際には、フィルム状接着剤に吸収され、また、フィルム状接着剤を収縮させ得る水や、水を含む溶液や分散液等の水性液体が好適に用いられる。そして、例えば、フィルム状接着剤を上記の水性液体を滴下したり、複数の被着体を水性液体中に浸漬したりして、フィルム状接着剤に水を吸収させることで、フィルム状接着剤を膨潤、軟化させるようにしてもよい。また、膨潤により軟化したフィルム状接着剤を硬化させる際には、例えば、被着体間にフィルム状接着剤を介在させた状態で、加熱乾燥したり、風乾したり、自然乾燥させたりする方法が採用され得る。

[0200] フィルム状接着剤を加熱して軟化させる際には、フィルム状接着剤を被着体間に介在させる前に、加熱してもよいし、フィルム状接着剤を被着体間に介在させた後に被着体とフィルム状接着剤の全体を加熱するようにしてもよい。加熱温度は、フィルム状接着剤を軟化させ得る温度で、且つフィルム状接着剤に含まれるタンパク質に悪影響を与えない（例えば分解させない）温度であれば特に限定されない。加熱により軟化したフィルム状接着剤を硬化させる際には、冷却装置で冷却したり、放冷したりする方法が採用され得る。

[0201] 膨潤乃至加熱により軟化したフィルム状接着剤を被着体の被着面の隙間に

十分に食い込ませるには、軟化したフィルム状接着剤と被着体との界面を密接させることが望ましい。そこで、例えば、複数の被着体に対して、被着面の重合せ方向乃至突合せ方向の少なくとも何れか一方側から圧力を加えて、軟化したフィルム状接着剤を被着体に圧接しつつ、硬化させることが好ましい。ここでの被着体に対する加圧方法は、一般的な方法が何れも採用可能である。

[0202] 高分子化合物を含むフィルム状コーティング剤は、基材の表面の全体又は一部にコーティング層が積層形成された積層体を製造するのに用いられる。例えば、フィルム状コーティング剤を基材の表面の少なくとも一部を覆うように載置した状態で、フィルム状コーティング剤を膨潤させたり、加熱したりして、軟化させ、その後、フィルム状コーティング剤を基材表面に圧接させた状態で硬化させることにより、基材表面の少なくとも一部にコーティング層を積層形成して積層体を得ることができる。また、フィルム状コーティング剤を、予め膨潤乃至加熱して軟化させてから、基材の表面の少なくとも一部を覆うように覆うように載置し、その後、フィルム状コーティング剤を被着体に圧接させた状態で硬化させるようにしてもよい。これら方法によれば、生分解性を有するコーティング剤を用いて積層が得られるため、廃棄時の環境負荷を低減可能な積層体が容易に製造できるといったメリットがある。なお、基材は、高分子化合物を含むフィルム状コーティング剤が接着可能なものであればよく、高分子化合物を含むフィルム状接着剤にて接着される被着体と同様なものであってもよい。

[0203] フィルム状コーティング剤が基材表面に接着するメカニズムは、フィルム状接着剤が被着体の被着面に接着するメカニズムと同様と考えられる。従って、フィルム状コーティング剤を用いて積層体を製造する際の具体的な方法も、フィルム状接着剤を用いて接着体を得る際と同様な方法が採用され得る。なお、軟化したフィルム状コーティング剤を基材表面に圧接して硬化させる際には、例えば、基材上にコーティングされた溶液状コーティング剤を基材表面の側に押圧する際に用いられる押圧体と同様な押圧体を用いて、フィ

ルム状コーティング剤を基材表面側に押圧してもよい。また、フィルム状コーティング剤も、フィルム状接着剤と同様に、基材に対する高い接着強度が期待できるだけでなく、接着させた後に剥離することができ、更には再利用が可能である。

[0204] 高分子化合物を含む粉末状接着剤や粉末状コーティング剤には、本実施形態手法によって得られる高分子化合物の粉末を含む粉末組成物が用いられる。この粉末組成物は、高分子化合物が主成分として含まれておれば、各種の添加残等の副成分が含まれていてもよい。前述のように、本実施形態に係る高分子化合物の製造手法では、目的とする高分子化合物が、ジメチルスルホキシドに溶解した状態で（ジメチルスルホキシド溶液として）得られる。このため、本実施形態に係る粉末状接着剤や粉末状コーティング剤の製造方法では、ジメチルスルホキシド中から、例えば、公知の抽出方法や分離方法等に取り出された高分子化合物を公知の方法で粉末化する工程が含まれる。

[0205] 粉末状接着剤や粉末状コーティング剤に含まれる高分子化合物は、本実施形態に係る製法によって得られるものであれば特に限定されるものではない。例えば、溶液状接着剤や溶液状コーティング剤、水分散性接着剤や水分散性コーティング剤、フィルム状接着剤やフィルム状コーティング剤に含まれる高分子化合物が何れも用いられ得る。なお、前述のように、本実施形態に係る高分子化合物は、水を含む水性媒体（水性液体）に対して、タンパク質よりも高い親和性を示す。そのため、そのような高分子化合物を含む粉末接着剤や粉末状コーティング剤は、単に、タンパク質を水性媒体に分散してなる水分散性接着剤や水分散性コーティング剤に比して、タンパク質の含有量（分散量）を高くできると共に、高分子化合物を水性媒体中への均一な分散できる。それ故、高分子化合物が水性媒体に分散した水分散性接着剤や水分散性コーティング剤を用いれば、タンパク質が水性媒体に分散した水分散性接着剤や水分散性コーティング剤を用いる場合に比して、後述する被着体の被着面や積層体表面に対する接着剤やコーティング剤の接着強度の向上が期待され得る。

[0206] 修飾タンパク質を含む粉末状接着剤も、複数の被着体が互いに接着された接着体を製造するのに用いられる。例えば、接着されるべき複数の被着体の間に粉末状接着剤を介在させた状態で、粉末状接着剤を加熱すると共に、被着体を介して加圧して、固化させることにより、被着体同士を接着して接着体を得ることができる。このような方法によれば、生分解性を有する接着剤を用いて接着体を得られるため、廃棄時の環境負荷を低減可能な接着体が容易に製造できるといったメリットがある。なお、被着体は、高分子化合物を含む粉末状接着剤にて接着可能なものであればよく、例えば、高分子化合物を含む溶液性接着剤にて接着される被着体と同様なものであってもよい。

[0207] 粉末状接着剤を用いて接着体を製造する際の具体的な方法も何等限定されるものではない。例えば、接着されるべき複数の被着体の間に介在した粉末状接着剤を加熱・加圧する際には、被着体を金属板等にて被着面側とは反対の両側から挟み、金属板を加熱することで、被着体間に介在した粉末状接着剤を被着体と共に加熱する。それと同時に、ハンドプレス機等で金属板を加圧し、被着体を介して、粉末状接着剤を所定時間加圧する。これにより、粉末状接着剤を樹脂化させ固化して被着体を接着する。なお、粉末状接着剤を固化させる際の加熱温度や加圧量、加熱・加圧時間は、粉末状接着剤中に含まれる修飾タンパク質の種類に応じて、修飾タンパク質を樹脂化させ得る範囲の中から適宜に選択される。

[0208] 高分子化合物を含む粉末状コーティング剤も、基材の表面の全体又は一部にコーティング層が積層形成された積層体を製造するのに用いられる。例えば、粉末状コーティング剤を基材の表面の少なくとも一部に載置した状態で、粉末状コーティング剤を加熱すると共に、加圧体と基材との間で加圧して、固化させることにより、前記基材の表面の少なくとも一部にコーティング層を積層形成する。

[0209] 粉末状コーティング剤を用いて積層体を製造する際の具体的な方法も何等限定されるものではない。例えば、基材表面に載置した粉末状接着剤の全体を覆うように金属板等を配置し、金属板を加熱することで、粉末状接着剤を

加熱する。それと同時に、ハンドプレス機等で金属板と基材との間で粉末状接着剤を所定時間加圧することで、粉末状コーティング剤を樹脂化させて固化させる。なお、粉末状コーティング剤の加熱温度や加圧量、或いは加熱・加圧時間は、粉末状接着剤を用いて接着体を得る際と同様とされる。

[0210] 以上、幾つかの実施形態について説明したが、本開示は上記実施形態に何ら限定されるものではない。また、上述した実施形態についての説明内容は、互いに適用することができる。

実施例

[0211] 以下、実施例等に基づいて本開示をより具体的に説明する。ただし、本開示は以下の実施例に限定されるものではない。

[0212] [ポリペプチドの調製]

(発現ベクターの調製)

配列番号9で示されるアミノ酸配列(PRT2882)を有する人工フィブロインを設計した。

[0213] なお、配列番号9で示されるアミノ酸配列(PRT2882)を有する人工フィブロインの平均ハイドロパシー・インデックスの値は0.47である。

[0214] 配列番号9で示されるアミノ酸配列を有する人工フィブロインをコードする核酸をそれぞれ合成した。当該核酸には、5'末端にNdeIサイト、終止コドン下流にEcoRIサイトを付加した。この核酸をクローニングベクター(pUC118)にクローニングした。その後、同核酸をNdeI及びEcoRIで制限酵素処理して切り出した後、ポリペプチド発現ベクターpET-22b(+)に組換えて発現ベクターを得た。

[0215] (ポリペプチドの調製)

得られた発現ベクターで、大腸菌BLR(DE3)を形質転換した。当該形質転換大腸菌を、アンピシリンを含む2mLのLB培地で15時間培養した。当該培養液を、アンピシリンを含む100mLのシード培養用培地(表2)にOD₆₀₀が0.005となるように添加した。培養液温度を30℃に保

ち、 OD_{600} が5になるまでフラスコ培養を行い（約15時間）、シード培養液を得た。

[0216] [表2]

シード培養用培地	
試薬	濃度(g/L)
グルコース	5.0
KH_2PO_4	4.0
K_2HPO_4	9.3
Yeast Extract	6.0
アンピシリン	0.1

[0217] 当該シード培養液を500mLの生産培地（表3）を添加したジャーファーマンターに OD_{600} が0.05となるように添加した。培養液温度を37℃に保ち、pH6.9で一定に制御して培養した。また培養液中の溶存酸素濃度を、溶存酸素飽和濃度の20％に維持するようにした。

[0218] [表3]

生産培地	
試薬	濃度(g/L)
グルコース	12.0
KH_2PO_4	9.0
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	2.4
Yeast Extract	15
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.04
$MnSO_4 \cdot 5H_2O$	0.04
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.04
アデカノール(アデカ、LG-295S)	0.1(mL/L)

[0219] 生産培地中のグルコースが完全に消費された直後に、フィード液（グルコース455g／1L、Yeast Extract 120g／1L）を1mL／分の速度で添加した。培養液温度を37℃に保ち、pH6.9で一定に制御して培養した。また培養液中の溶存酸素濃度を、溶存酸素飽和濃度の20％に維持するようにし、20時間培養を行った。その後、1Mのイソプロピルーβ-チオガラクトピラノシド（IPTG）を培養液に対して終濃度1mMになるよう添加し、人工フィブロインを発現誘導させた。IPTG添加後20時間経過した時点で、培養液を遠心分離し、菌体を回収した。IPTG添加前とIPTG添加後の培養液から調製した菌体を用いてSDS-P

AGEを行い、IPTG添加に依存した目的とする人工フィブロインサイズのバンドの出現によって、目的とする人工フィブロインの発現を確認した。

[0220] (ポリペプチドの精製)

IPTGを添加してから20時間後に回収した菌体を20mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) で洗浄した。洗浄後の菌体を約1mMのPMSFを含む20mM Tris-HCl緩衝液 (pH 7.4) に懸濁させ、高圧ホモジナイザー (GEA Niro Soavi社製) で細胞を破碎した。破碎した細胞を遠心分離し、沈殿物を得た。得られた沈殿物を、高純度になるまで20mM Tris-HCl緩衝液 (pH 7.4) で洗浄した。洗浄後の沈殿物を100mg/mLの濃度になるように8M グアニジン緩衝液 (8M グアニジン塩酸塩、10mM リン酸二水素ナトリウム、20mM NaCl、1mM Tris-HCl、pH 7.0) で懸濁し、60℃で30分間、スターラーで攪拌し、溶解させた。溶解後、透析チューブ (三光純薬株式会社製のセルロースチューブ36/32) を用いて水で透析を行った。

[0221] 透析後に得られた白色の凝集したポリペプチドを遠心分離により回収し、凍結乾燥機で水分を除き、凍結乾燥粉末を回収することにより、粉末状の人工フィブロイン (PRT2882) を得た。システイン残基を挿入した人工フィブロインについて、分子間でジスルフィド結合が形成されていることを確認した。人工フィブロインに、単量体100質量部に対して、二量体が13.8質量部、三量体が2.1質量部、四量体が0.8質量部含まれていることを確認した。ジスルフィド結合の形成は、SDS-PAGEによって、測定した。

[0222] [一般式(1)に記載の構造を有する化合物の調製]

(ポリエチレングリコールビスマレエートの合成)

ポリエチレングリコール(重量平均分子量:10000)500g及び無水マレイン酸50gを容器に入れ、真空窒素置換を行った。内容物を溶融させた後、トリエチルアミン7mLを添加し、80℃に昇温し、2.5時間加温攪

拌させることによって反応させた。反応後の溶液をシクロペンチルメチルエーテル（CPME）500 mLに加える再沈殿法によって、沈殿物を生成し、回収した。得られた沈殿物に、再度CPME 1500 mLを加え、攪拌することによって沈殿物を洗浄した。ろ過によって回収した洗浄後の沈殿物に対して、テトラヒドロフラン2000 mLを加え、攪拌することによって上記沈殿物をさらに洗浄した。そして、上記沈殿物をろ過によって回収し、真空乾燥することによって、ポリエチレングリコールビスマレエート（マレイン酸骨格を2つ有するポリエチレングリコール）450 g（収率：90質量%）を得た。

[0223] 〔一般式（2）に記載の構造を有する化合物の調製〕

（ポリエチレングリコールビスアクリレートの合成）

ポリエチレングリコール（重量平均分子量：10000）60 gをジクロロメタンに溶解させた溶液300 mLを用意し、無水硫酸ナトリウム60 gを加え30分間攪拌した。無水硫酸ナトリウムをろ集し、ろ集物をジクロロメタン100 mLで洗浄し、固形物を除去して洗浄液を得た。1 Lの4つ口フラスコに、得られたろ液及び洗浄液を入れ、減圧下で、溶媒を留去することでポリエチレングリコールの精製物を得た。

[0224] 次に、窒素雰囲気下で、ポリエチレングリコールの精製物に対して、モレキュラーシーブ4 Aによって予め脱水したトルエン300 mLを加えて懸濁物を調製した。得られた懸濁物を窒素雰囲気下で約50℃に加熱し均一溶液とした。得られた溶液から減圧条件でトルエンを留去した。生成した残渣に、重合禁止剤としてヒドロキノン300 mgを加え、減圧乾燥し、その後、4つ口フラスコ内に窒素ガスを充填した。

[0225] 次に、4つ口フラスコ内に、カニューラを用いて、モレキュラーシーブ4 Aによって予め脱水したジクロロメタン500 mLを、室温及び窒素気流の下で加えた。さらに、モレキュラーシーブ4 Aによって予め脱水したトリエチルアミン8.4 mL（60 mmol）を、室温及び窒素雰囲気の下でシリンジを用いて加えて、混合液を調製した。混合液を窒素雰囲気下に維持し

、 -15°C に調整した氷浴を用いて冷却した。反応温度を -5°C ～ -3°C に調節しながら、窒素雰囲気下でアクリル酸クロリド 5 mL (60 mmol)を約5分間かけて滴下した。アクリル酸クロリドの滴下終了後、氷浴を除去せずに自然に昇温させ、窒素雰囲気下で終夜攪拌し、反応させた。

[0226] 反応後の溶液から、減圧下で溶媒を留去し、得られた残渣を n -ヘキサンで洗浄した。洗浄後の残渣に、ヒドロキノン 600 mg を加え、テトラヒドロフラン 700 mL を用いて熱抽出し、抽出液を得た。セライト 503 を用いて、抽出液をろ過し、ろ集物に n -ヘキサン 700 mL を加えて再沈した。生成した沈殿をろ集し、ジクロロメタン 500 mL に溶解させて、ヒドロキノン 300 mg を加え、減圧下で溶媒を留去した。得られた残渣を減圧乾燥することによって、淡黄色粉末として、ポリエチレングリコールビスアクリレート（アクリレート骨格を2つ有するポリエーテル） 58.8 g （収率：99質量%）を得た。

[0227] [その他の化合物の用意]

（ポリエチレングリコールビスマレイミドの合成）

ポリエチレングリコールビスマレイミドは、フナコシ株式会社製（ Mal-PEG-Mal （ $\text{Maleimide-PEG-Maleimide}$ ）、分子量：10000）を使用した。

[0228] （実施例1-1）

二口ナスフラスコに、上述のとおり調製した配列番号9で示されるアミノ酸配列（ PRT2882 ）を有する人工フィブロイン（ポリペプチド、 10 kDa ） 1 g (0.1 mmol)と、還元剤としてジチオトレイトール（ DTT ） 12.5 mg (0.08 mmol)とを加えて、ジメチルスルホキシド（ DMSO ） 12.5 g を加え、 70°C で30分間加温及び攪拌し、ポリペプチドを含む溶液Aを調製した。なお、還元剤の配合量は、ポリペプチドが有するメルカプト基に対して、0.8当量となるように調整した。

[0229] フラスコに、上述のように調製した、ポリエチレングリコールビスマレイート 1 g (0.1 mmol)を測り取り、ジメチルスルホキシド（ DMSO

、富士フイルム和光純薬株式会社製) 7.5 gを加えて、70℃で10分間加温及び攪拌することで溶解させた。このようにして、ポリエチレングリコールビスマレエートを含む溶液Bを調製した。

[0230] 溶液A及び溶液Bを混合し、塩基としてトリエチルアミン(TEA、富士フイルム和光純薬株式会社製) 110 μ L (0.08 mmol)を、さらに加えて、反応溶液を調製した。なお、混合溶液において、ポリペプチドの配合量が、ジメチルスルホキシド100質量部に対して、7質量部となるように調整した。塩基の配合量は、ポリペプチドの全質量を基準として、8質量部となるように調製した。次に、反応溶液を、70℃、90分間、加温及び攪拌することで反応を進行させた。反応後の溶液を遠心分離し、沈殿物を取り除き、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有する溶液を得た。なお、遠心分離は、微量高速冷却遠心機(トミー工業株式会社製、商品名:MX-307)を用いて、15000 rpmで10分間の処理条件で行った。

[0231] <高分子化合物の製造方法の評価:反応後溶液における沈殿物の状況>

遠心分離前の反応後の溶液を目視観察し、沈殿物の有無を確認した。また、沈殿物除去後の上清に対して、15000 rpmで10分間の処理条件下で遠心分離した際にゲル状物が生じるか否かを確認した。得られた結果から、下記の基準で評価した。結果を表4に示す。なお、沈殿物は主として黄白色であり、ペプチド同士のジスルフィド結合の形成によって生じる副生成物を含むことを確認した。また、ゲル状物は茶色透明の固形物である。

A:沈殿物が観察されず、ゲル状物も生じない。

B:沈殿物が観察されるが、ゲル状物は生じない。

C:沈殿物が観察されないが、ゲル状物が生じる。

D:沈殿物が観察され、ゲル状物も生じる。

[0232] <高分子化合物の製造方法の評価:原料から目的物への転化の程度>

実施例1-1で調製した反応後の溶液を遠心分離によって脱泡し、脱泡後の反応溶液3gをディスポーザブルトレイ(アズワン株式会社製、商品名:

バランスディッシュSCC、外寸法80mm×80mm×24mm)に滴下し展開した。その後、60℃で8時間かけて予備乾燥し、更に80℃で3時間減圧乾燥させることで、溶媒を蒸発させることによって、膜厚：0.09mmのフィルムを作製した。得られたフィルム2mgと(トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン(TCEP)3.1mgとを、トリフルオロ酢酸ナトリウム(TFANA、富士フィルム和光純薬株式会社製)85.3mgがHFIP1000gに溶解するTFANA-HFIP溶液(1.3mL)に溶解し、測定サンプルとした。このようにして得られた測定サンプルに対して、後述する条件でゲルパーミエーションクロマトグラフィー測定を行った。得られたクロマトグラムにおいて、原料であるポリペプチドのピーク強度(ピーク高さ)をP2とし、生成物である高分子化合物のピーク強度(ピーク高さ)をP1として、その比(P1/P2)の値を算出した。この値が高い方が、より反応が進行していることを意味する。結果を表4に示す。

[0233] GPC測定の測定条件は、以下のものとした。

・装置：Agilent 1260 Infinity II液体クロマトグラフィーシステム(Agilent Technologies, Inc.)

・検出器：Agilent 1260 Infinity II refractive index detector (RID)(Agilent Technologies, Inc.)

・カラム：0.5 μ m ガードカラムフィルター(Shodex GPC HK-G、昭和電工株式会社)、スチレン-ジビニルベンゼン共重合体カラム(Shodex GPC HK404L×2本、内径：4.6mm×長さ：150mm、昭和電工株式会社製)

・溶離液：TFANA-HFIP溶液(トリフルオロ酢酸ナトリウム(TFANA)85.3mgがヘキサフルオロイソプロパノール(HFIP セントラル硝子株式会社)1000gに溶解した物)

・流速：0.15mL/分

・測定温度：40℃

[0234] (実施例1-2)

表4に示すように成分及び配合量、並びに反応温度を調製したこと以外は、実施例1-1と同様にして、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を得た。

[0235] (実施例1-3)

ニロナスフラスコに、上述のとおり調製した配列番号9で示されるアミノ酸配列(PRT2882)を有する人工フィブロイン(ポリペプチド、10kDa)1g(0.1mmol)と、還元剤としてブタンジオール7.2mg(0.08mmol)とを加えて、ジメチルスルホキシド(DMSO)9.0gを加え、70℃で30分間加温及び攪拌し、ポリペプチドを含む溶液Cを調製した。なお、還元剤の配合量は、ポリペプチドが有するメルカプト基に対して、0.8当量となるように調整した。

[0236] フラスコに、上述のように調製した、ポリエチレングリコールビスマレエート1g(0.1mmol)を測り取り、ジメチルスルホキシド(DMSO、富士フイルム和光純薬株式会社製)3.0gを加えて、70℃で10分間加温及び攪拌することで溶解させた。このようにして、ポリエチレングリコールビスマレエートを含む溶液Dを調製した。

[0237] 溶液C及び溶液Dを混合し、塩基としてトリエチルアミン(TEA、富士フイルム和光純薬株式会社製)110μL(0.08mmol)を、さらに加えて、反応溶液を調製した。なお、混合溶液において、ポリペプチドの配合量が、ジメチルスルホキシド100質量部に対して、7質量部となるように調整した。塩基の配合量は、ポリペプチドの全質量を基準として、8質量部となるように調製した。次に、反応溶液を、70℃、90分間、加温及び攪拌することで反応を進行させた。反応後の溶液を遠心分離し、沈殿物を取り除き、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有する溶液を得た。なお、遠心分離は、微量高速冷却遠心機(トミー工業株式会社製、商品名：MX-307)を用いて、15000rpmで

10分間の処理条件で行った。

[0238] (実施例1-4)

表4に示すように成分及び配合量、並びに反応温度を調製したこと以外は、実施例1-2と同様にして、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有する溶液を得た。

[0239] (実施例1-5)

フラスコに、上述のように調製したポリエチレングリコールビスアクリレート1g(0.1mmol)と、重合禁止剤としてヒドロキノン(富士フィルム和光純薬株式会社製)25mg(0.23mmol)と、を測り取り、ジメチルスルホキシド(DMSO、富士フィルム和光純薬株式会社製)9.0gを加えて、70℃で10分間加温及び攪拌することで溶解させた。このようにして、ポリエチレングリコールビスアクリレートを含む溶液Eを調製した。

[0240] 実施例1-1と同様にして調製した溶液Aと、上記溶液Eとを混合し、塩基としてトリエチルアミン(TEA、富士フィルム和光純薬株式会社製)110μL(0.08mmol)を、さらに加えて、反応溶液を調製した。なお、混合溶液において、ポリペプチドは、ジメチルスルホキシド100質量部に対して、7質量部となるように調整した。次に、反応溶液を、70℃、90分間、加温及び攪拌することで反応を進行させた。反応後の溶液を遠心分離し、沈殿物を取り除き、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有する溶液を得た。なお、遠心分離は、微量高速冷却遠心機(トミー工業株式会社製、商品名:MX-307)を用いて、15000rpmで10分間の処理条件で行った。

[0241] (実施例1-6~7)

表4に示すように成分及び配合量、並びに反応温度を調製したこと以外は、実施例1-5と同様にして、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有する溶液を得た。

[0242] 実施例1-2~7において、得られた反応後の溶液に対して、実施例1-

1と同様の評価を行った。結果を表4に示す。

[表4]

	実施例 I-1	実施例 I-2	実施例 I-3	実施例 I-4	実施例 I-5	実施例 I-6	実施例 I-7
(A) ポリペプチド [mmol]	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
(B) 化合物	ポリエチレングリコール ビスマレエート [mmol]						
	0.1	0.1	0.1	0.1	—	—	—
その他の化合物	ポリエチレングリコール ビスアクリレート [mmol]						
	—	—	—	—	0.1	0.1	0.1
(C) 塩基	ポリエチレングリコール ビスマレイミド [mmol]						
	—	—	—	—	—	—	—
(D) 還元剤	トリエチルアミン [mmol]						
	0.08	0.08	0.08	0.08	0.16	0.16	0.16
(E) 重合禁止剤	ジチオトリエトール [mmol]						
	0.08	0.08	—	—	—	—	—
溶媒	ブタンジチオール [mmol]						
	—	—	0.08	—	0.08	0.16	0.24
反応温度 [°C]	硫酸ナトリウム [mmol]						
	—	—	—	0.08	—	—	—
評価	ヒドロキノン [mmol]						
	—	—	—	—	0.23	0.23	0.23
反応系における沈殿物の有無	ジメチルスルホキシド [g]						
	20	20	12	12	12	12	12
評価	70						
	70	60	70	70	70	70	70
評価	GPCにおけるピーク強度比： {[生成物のピーク強度 P1] / [未反 応ポリペプチドのピーク強度 P2]} の 値						
	8.1	6.8	6.6	11.5	6.3	8.3	4.7
反応系における沈殿物の有無	A						
	A	A	A	B	B	A	B

[0243] 表4中、ジメチルスルホキシドの量は混合後の溶液における総量（例えば、溶液AにおけるDMSOの量と、溶液BにおけるDMSOの量の合計値）を意味する。

[0244] （比較例1-1）

フラスコに、ポリエチレングリコールビスマレイミド（Male-PEG-Male（Maleimide-PEG-Maleimide）、分子量10000、フナコシ株式会社製）1g（0.1mmol）を測り取り、ジメチルスルホキシド（DMSO、富士フイルム和光純薬株式会社製）12.5gを加えて、70℃で10分間加温及び攪拌することで溶解させた。このようにして、ポリエチレングリコールビスマレイミドを含む溶液Fを調製した。

[0245] 実施例1-1と同様にして調製した溶液Aと、上記溶液Fとを混合し、塩基としてトリエチルアミン（TEA、富士フイルム和光純薬株式会社製）110μL（0.08mmol）を、さらに加えて、反応溶液を調製した。なお、混合溶液において、ポリペプチドの配合量は、ジメチルスルホキシド100質量部に対して、7質量部となるように調整した。次に、反応溶液を、70℃、90分間、加温及び攪拌することで反応を進行させた。反応後の溶液を遠心分離し、沈殿物として、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を得た。なお、遠心分離は、微量高速冷却遠心機（トミー工業株式会社製、商品名：MX-307）を用いて、15000rpmで10分間の処理条件で行った。

[0246] （比較例1-2）

二口ナスフラスコに、上述のとおり調製した配列番号9で示されるアミノ酸配列（PRT2882）を有する人工フィブロイン（ポリペプチド、10kDa）1g（0.1mmol）と、還元剤としてジチオトレイトール（DTT）12.5mg（0.08mmol）を加えて、ジメチルスルホキシド（DMSO）12.5gを加え、70℃で30分間加温及び攪拌し、ポリペプチドを含む溶液Gを調製した。なお、還元剤の配合量は、ポリペプチドが有するメルカプト基に対して、0.8当量となるように調整した。

- [0247] フラスコに、ポリエチレングリコールビスマレイミド (Male-PEG-Male (Maleimide-PEG-Maleimide)、分子量10000、フナコシ株式会社製) 1 g (0.1 mmol) を測り取り、ジメチルスルホキシド (DMSO、富士フイルム和光純薬株式会社製) 25.0 g を加えて、70℃で10分間加温及び攪拌することで溶解させた。このようにして、ポリエチレングリコールビスマレイミドを含む溶液Hを調製した。
- [0248] 上記溶液Gと、上記溶液Hとを混合し、塩基としてトリエチルアミン (TEA、富士フイルム和光純薬株式会社製) 110 μ L (0.08 mmol) を、さらに加えて、反応溶液を調製した。なお、混合溶液において、ポリペプチドの配合量は、ジメチルスルホキシド100質量部に対して、7質量部となるように調整した。次に、反応溶液を、70℃、90分間、加温及び攪拌することで反応を進行させた。反応後の溶液を遠心分離し、沈殿物として、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を得た。なお、遠心分離は、微量高速冷却遠心機 (トミー工業株式会社製、商品名: MX-307) を用いて、15000 rpmで10分間の処理条件で行った。
- [0249] 比較例1-1, 2において、得られた反応後の溶液に対して、実施例1-1と同様の評価を行った。結果を表5に示す。表5中、比較例1に関し、GPCにおけるピーク強度比が「-」となっているが、これは、反応系における沈殿及びゲル状物によって、測定自体ができなかったことを示す。

[0250]

[表5]

		比較例 I-1	比較例 I-2
(A) ポリペプチド [mmol]		0.1	0.1
(B) 化合物	ポリエチレングリコール ビスマレエート [mmol]	—	—
	ポリエチレングリコール ビスアクリレート [mmol]	—	—
その他の化合物	ポリエチレングリコール ビスマレイミド [mmol]	0.1	0.1
(C) 塩基	トリエチルアミン [mmol]	0.08	0.08
(D) 還元剤	ジチオトレイトール [mmol]	0.08	0.08
	ブタンジチオール [mmol]	—	—
	硫酸ナトリウム [mmol]	—	—
(E) 重合禁止剤	ヒドロキノン [mmol]	—	—
溶媒	ジメチルスルホキシド [g]	20	40
反応温度 [°C]		70	70
評価	GPCにおけるピーク強度比： {[生成物のピーク強度 P1] / [未反応ポリ ペプチドのピーク強度 P2]} の値	—	3.2
	反応系における沈殿物の有無	D	B

[0251] (実施例 I-8)

実施例 I-3 で調製した反応溶液を遠心分離により脱泡し、脱泡後の反応溶液 3 g をディスポーザブルトレイ（アズワン株式会社、商品名：バランスディッシュ SCC、外寸法 80 mm×80 mm×24 mm）に滴下し展開した。その後、60℃で8時間かけて乾燥し、更に80℃で3時間減圧乾燥させることで、溶媒を蒸発させることによって、膜厚：0.09 mm のフィルムを作製した。

[0252] <フィルムの評価>

上述のようにして作製したフィルムについて、引張試験機（株式会社島津製作所製、商品名：AG-X plus 50 kN）を用いて、破断伸度、弾性率、及びタフネスを測定した。上記フィルムは、20℃、相対湿度：65%の環境下で、24時間以上保管してから用いた。保管後、測定部位のフィ

ルム距離：25 mm、幅：10 mmとなるように、ダンベル型試験片に打ち抜き機（テスター産業株式会社製、商品名：SA-1008）を用いて打ち抜くことで試験片を調製した。上記試験片を引張試験機にセットし、ロードセル：50 kN、つかみ具間距離：25 mm、及び引張速度：10 mm／分の条件で、引張試験を実施した。結果を表6に示す。

[0253] （実施例 I-9）

高分子材料を実施例 I-7 で調製したものに変更したこと以外は、実施例 I-8 と同様にして、フィルムを調製した。得られたフィルムに対して、実施例 I-8 と同様にして評価を行った。結果を表6に示す。

[0254] （比較例 I-3）

高分子材料を比較例 I-2 で調製したものに変更したこと以外は、実施例 I-8 と同様にして、フィルムを調製した。得られたフィルムに対して、実施例 I-8 と同様にして評価を行った。結果を表6に示す。

[0255] [表6]

	実施例 I-8	実施例 I-9	比較例 I-3
高分子化合物	（実施例 I-3 のもの）	（実施例 I-7 のもの）	（比較例 I-2 のもの）
破断伸度 [%]	449	532	118
破断強度 [MPa]／降伏点 強度 [MPa]の値	1.42	1.63	1.37

[0256] 上記表6に示すとおり、ポリペプチド間のジスルフィド結合形成などの副反応が抑制されたことによって、沈殿物の生成がなく、実施例 I-8, 9 で調製した高分子を含む溶液を精製することなくそのまま用いてフィルム形成したのにもかかわらず、良好な物性を発揮し得るフィルムが得られることが確認された。

[0257] （実施例 I-10）

実施例 I-1 と同様の方法で調製した溶液100 gを、300 mL ビーカーに用意した酢酸エチル100 g中に、攪拌しながら徐々に滴下した。ビーカー内に生成した沈殿物をホモジナイザー（IKA社製、商品名：T-18

D i g i t a l) を使用して、細かく粉砕した。その後、吸引濾過によって沈殿物をろ集した。ろ集物を酢酸エチル 100 g に投入し、攪拌し洗浄した。酢酸エチルによる洗浄を 2 度繰り返した後、ろ集し、40℃で 2 時間かけて真空乾燥させることで、精製した高分子化合物の粉末を得た。

[0258] 得られた粉末 6 g を、攪拌子が入った 20 mL のガラスバイアル（アズワン、商品名：スクリーバイアル瓶）に加えたのち、蟻酸（日合精株式会社製、濃度：98 質量％）11.46 mL 添加した。その後、45℃で 2 時間かけて攪拌することによって、濃度 30 質量％の蟻酸溶液（ドープ液）を作製した。得られたドープ液の温度 45℃における粘度は 17300 mPa・s であった。ここでドープ液の粘度は、ドープ液を球状プローブ（ ϕ 4.7 mm）の入ったガラスチューブに充填した。EMS 粘度計（京都電子工業株式会社製、商品名：EMS-1000S）を用いて、測定温度 45℃で測定した値である。

[0259] 上記ドープ液 10.0 mL を、50 mL ディスポーザルシリンジ（武蔵エンジニアリング製、商品名：PSY-50E）に充填し、その後、プランジャ（武蔵エンジニアリング製、商品名：FLP-50E）を挿入した。そして、プラスチックニードル（武蔵エンジニアリング製、ゲージ：22、内径：0.47 mm）を装着し、シリンジ上部にアダプターチューブ（武蔵エンジニアリング製、商品名：AT-50E-H-1.0）を取り付けた。また、シリンジヒーターを取り付け、ドープ液を 45℃に保温した。

[0260] その後、窒素 0.2 MPa を流入させながら、45℃で保温されたシリンジポンプを稼働させることで、ドープ液を線速度：1.00 m/分で吐出した。吐出したドープ液は、200℃の乾燥ラインを通過させたのち、回転速度：10 m/分に調整したテイクアップローラーに通線した。

[0261] その後、2 つのローラーを介して、275℃の乾燥ラインを通過させ、回転速度：15 m/分の巻取り機によって巻き取り、繊維（フィラメント）を得た。巻き取った繊維の 1 m あたりの質量を測定し、10000 m あたりの質量（繊維度、単位：d t e x）を算出した。上記フィラメントを 5 本束ねた

サンプルを用意し、偏光顕微鏡（株式会社ニコン製、商品名：ECLIPSE LV100ND）を用いて断面解析を行うことによって、5本の円相当径を決定し、その算術平均をフィラメントの円相当径として採用した。

[0262] ＜繊維の評価：破断伸度及び破断強度の測定＞

上記フィラメント5本を束ねたサンプルについて、破断伸度及び破断強度を、引張試験機（株式会社島津製作所社製、AG-X plus 50kN）を用いて評価した。サンプルは、20℃、早退湿度：65%の環境下で24時間以上保管してから用いた。上記サンプルを、試験機にセットし、ロードセル：50kN、つかみ具間距離：50mm、引張速度：50cm/分の条件で、サンプルが切断するまで伸長した。この破断時の応力と長さについて3回測定し、その算術平均値を算出した。結果を表7に示す。

[0263] ＜繊維の評価：応力緩和の測定＞

上記フィラメント5本を束ねたサンプルについて、応力緩和を、引張試験機（株式会社島津製作所社製、商品名：AG-X plus 50kN）を用いて評価した。サンプルは、20℃、早退湿度：65%の環境下で24時間以上保管してから用いた。上記サンプルを、試験機にセットし、ロードセル：50kN、つかみ具間距離：50mm、引張速度：50cm/分の条件で、引張試験を実施した。この際、50mmのサンプルを300%伸長したときの応力Xを測定した。その後、その状態で30秒間保持し、保持直後の応力Yを測定した。本測定を3回実施し、 $(X - Y) / X \times 100$ の式で算出したのち、その算術平均値を応力緩和とした。結果を表7に示す。

[0264] （参考例）

市販のウレタン繊維（東レ・オペロンテックス株式会社製、商品名：ライクラT-127C）について、実施例1-10と同様の評価を行った。結果を表7に示す。

[0265]

[表7]

		実施例 I-10	参考例
高分子材料		(実施例 I-1 で調製したもの)	ウレタン繊維
45℃におけるドープ液の粘度 [mPa・s]		17300	—
評価	繊維度 [dtex]	30	22
	円相当径 [μm]	51	37
	破断強度 [MPa]／降伏点強度 [MPa]の値	1.53	8.94
	応力緩和 [%]	46	34

[0266] (実施例 I-1)

実施例 I-1 と同様の方法で調製した、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有する溶液 3.13 g に対して、水溶性熱可塑性樹脂（明成化学工業株式会社製、商品名：アルコックス E-75）を 50 mg 添加し、70℃で1時間攪拌することによって、DMSO 溶液（ドープ液）を作製した。得られたドープ液の温度 25℃における粘度は 4130 mPa・s であった。ここでドープ液の粘度は、デジタル粘度計（アメテック株式会社製、商品名：Brookfield DV2TLVTJ0）を用いて、測定温度 25℃で測定した値である。

[0267] 上記ドープ液 100 mL ガラスビーカーへ移し入れた。そして、ステンレスパーテルを用いてドープを気泡が入らないようにゆっくりと攪拌し、ゆっくりと持ち上げることで粘稠性を利用してドープを繊維状に引き伸ばした。引き伸ばした繊維状のドープを離型フィルム上に静置し、80℃の真空オーブンをもちいて15時間真空乾燥し、フィラメント（繊維状に成形された高分子化合物）を得た。

[0268] 上記フィラメントを5本束ねたサンプルを用意し、偏光顕微鏡（株式会社ニコン製、商品名：ECLIPSE LV100ND）を用いて断面解析を行うことによって、5本の円相当径を決定し、その算術平均をフィラメントの円相当径として採用した。

[0269] 得られたフィラメント5本を束ねたサンプルに対して、実施例 I-10 と同様にして、繊維の評価を行った。結果を表 8 に示す。表 8 中、「—」は測

定を行っていないことを示す。

[0270] [表8]

		実施例 II-1	参考例
高分子材料		(実施例 I-1 で調製したもの)	ウレタン繊維
25℃におけるドープ液の粘度 [mPa・s]		4130	—
評価	繊維 [dtex]	54	22
	円相当径 [μm]	73	37
	破断強度 [MPa]／降伏点強度 [MPa]の値	4.50	8.94
	応力緩和 [%]	44	34

[0271] (比較例 I-4)

高分子材料を比較例 I-2 で調製したものに変更して、繊維の調製を試みたが、溶液の濃度が不足し、繊維を作製することができなかった。

[0272] (実施例 III-1～III-4)

表 9 に示すように成分及び配合量、並びに反応温度を調製したこと以外は、実施例 I-1 と同様にして、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有する溶液を得た。

[0273] 実施例 III-1～III-4 において、得られた反応後の溶液に対して、実施例 I-1 と同様の評価を行った。結果を表 9 に示す。

[0274]

[表9]

		実施例 III-1	実施例 III-2	実施例 III-3	実施例 III-4
(A) ポリペプチド [mmol]		0.1	0.1	0.1	0.1
(B) 化合物	ポリエチレングリコール ビスマレエート [mmol]	0.1	0.1	0.1	0.1
	ポリエチレングリコール ビスアクリレート [mmol]	—	—	—	—
その他の化合物	ポリエチレングリコール ビスマレイミド [mmol]	—	—	—	—
(C) 塩基	トリエチルアミン [mmol]	—	0.08	0.16	0.32
(D) 還元剤	ジチオトレイトール [mmol]	0.08	0.08	0.08	0.08
	ブタンジチオール [mmol]	—	—	—	—
	硫酸ナトリウム [mmol]	—	—	—	—
(E) 重合禁止剤	ヒドロキノン [mmol]	—	—	—	—
溶媒	ジメチルスルホキシド [g]	12	12	12	12
反応温度 [°C]		70	70	70	70
評価	GPC におけるピーク強度比： [[生成物のピーク強度 P1] / [未反応ポリペプチドのピー ク強度 P2]] の値	8.06	12.5	8.22	8.53
	反応系における沈殿物の有無	A	A	C	C

[0275] (実施例 III-5 ~ III-6)

表 10 に示すように成分及び配合量、並びに反応温度を調製したこと以外は、実施例 I-1 と同様にして、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有する溶液を得た。

[0276] 実施例 III-5 ~ III-6 において、得られた反応後の溶液に対して、実施例 I-1 と同様の評価を行った。結果を表 10 に示す。

[0277] (比較例 III-1, 実施例 III-7 ~ III-8)

表 10 に示すように成分及び配合量、並びに反応温度を調製したこと以外は、実施例 I-1 と同様にして、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有する溶液を得た。

[0278] 比較例 III-1、実施例 III-7 ~ III-8 において、得られた反

応後の溶液に対して、実施例Ⅰ－１と同様の評価を行った。結果を表１０に示す。

[0279] [表10]

		実施例 Ⅲ-5	実施例 Ⅲ-6	比較例 Ⅲ-1	実施例 Ⅲ-7	実施例 Ⅲ-8
(A) ポリペプチド [mmol]		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
(B) 化合物	ポリエチレングリコール ビスマレエート [mmol]	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	ポリエチレングリコール ビスアクリレート [mmol]	—	—	—	—	—
その他の化合物	ポリエチレングリコール ビスマレイミド [mmol]	—	—	—	—	—
(C) 塩基	トリエチルアミン [mmol]	—	—	0.08	0.08	0.08
	炭酸ナトリウム [mmol]	0.08	—	—	—	—
	炭酸カリウム [mmol]	—	0.08	—	—	—
(D) 還元剤	ジチオトレイトール [mmol]	0.08	0.08	—	0.06	0.08
	ブタンジチオール [mmol]	—	—	—	—	—
	硫酸ナトリウム [mmol]	—	—	—	—	—
(E) 重合禁止剤	ヒドロキノン [mmol]	—	—	—	—	—
溶媒	ジメチルスルホキシド [g]	12	12	12	12	12
反応温度 [°C]		70	70	70	70	70
評価	GPC におけるピーク強度比： [[生成物のピーク強度 P1] / [未反応ポリペプチドのピーク強度 P2]] の値	6.54	6.75	0.73	5.27	12.5
	反応系における沈殿物の有無	A	A	B	A	A

[0280] (実施例Ⅲ－９～Ⅲ－１１)

表１１に示すように成分及び配合量、並びに反応温度を調製したこと以外は、実施例Ⅰ－１と同様にして、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有する溶液を得た。

[0281] 実施例Ⅲ－９～Ⅲ－１１において、得られた反応後の溶液に対して、実施例Ⅰ－１と同様の評価を行った。結果を表１１に示す。表１１には、参考のため、実施例Ⅰ－１及び実施例Ⅲ－２の結果を併記した。

[0282]

[表11]

		実施例 I-1	実施例 III-2	実施例 III-9	実施例 III-10	実施例 III-11
(A) ポリペプチド [mmol]		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
(B) 化合物	ポリエチレングリコール ビスマレエート [mmol]	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	ポリエチレングリコール ビスアクリレート [mmol]	—	—	—	—	—
その他の化合物	ポリエチレングリコール ビスマレイミド [mmol]	—	—	—	—	—
(C) 塩基	トリエチルアミン [mmol]	0.08	0.08	0.08	0.08	0.16
(D) 還元剤	ジチオトレイトール [mmol]	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
	ブタンジチオール [mmol]	—	—	—	—	—
	硫酸ナトリウム [mmol]	—	—	—	—	—
(E) 重合禁止剤	ヒドロキノン [mmol]	—	—	—	—	—
溶媒	ジメチルスルホキシド [g]	20	12	10	9	6
反応温度 [°C]		70	70	70	70	70
評価	GPC におけるピーク強度比： [[生成物のピーク強度 P1] / [未反応ポリペプチドのピー ク強度 P2]] の値	8.1	12.5	9.27	12.1	4.88
	反応系における沈殿物の有無	A	A	C	C	C

[0283] (実施例 I-11)

＜フィルム状接着剤の製造＞

二口ナスフラスコに、上述のとおり調製した配列番号9で示されるアミノ酸配列 (P R T 2 8 8 2) を有する人工フィブロイン (ポリペプチド、10 kDa) 2.5 g (0.25 mmol) と、還元剤としてジチオトレイトール (DTT) 31.2 mg (0.2 mmol) とを加えて、ジメチルスルホキシド (DMSO) 25 g を加え、70°C で30分間加温及び攪拌し、ポリペプチドを含む溶液 I を調製した。なお、還元剤の配合量は、ポリペプチドが有するメルカプト基に対して、0.8当量となるように調整した。

[0284] フラスコに、上述のように調製した、ポリエチレングリコールビスマレエート 2.5 g (0.025 mmol) を測り取り、ジメチルスルホキシド (DMSO、富士フィルム和光純薬株式会社製) 20 g を加えて、70で10分

間加温及び攪拌することで溶解させた。このようにして、ポリエチレングリコールビスマレエートを含む溶液Jを調製した。

[0285] 溶液I及び溶液Jを混合し、塩基としてトリエチルアミン（TEA、富士フイルム和光純薬株式会社製） $275\mu\text{L}$ （ 0.2mmol ）を、さらに加えて、反応溶液を調製した。なお、混合溶液において、ポリペプチドの配合量が、ジメチルスルホキシド100質量部に対して、6量部となるように調整した。塩基の配合量は、ポリペプチドの全質量を基準として、8質量部となるように調製した。次に、反応溶液を、 70°C 、90分間、加温及び攪拌することで反応を進行させた。反応後の溶液を遠心分離して脱泡し、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有するDMSO溶液を得た。なお、遠心分離は、微量高速冷却遠心機（トミー工業株式会社製、商品名：MX-307）を用いて、 15000rpm で10分間の処理条件で行った。

[0286] 次いで、得られた高分子化合物のDMSO溶液をPETシート（帝人フィルムソリューション株式会社、ピューレックス、A54タイプ、厚み $38\mu\text{m}$ ）が施されたステンレス板上に滴下して、アナログマイクロメーター付きフレームアプリケーター（井元製作所、 250mm 塗布幅、隙間 1mm ）および塗工機（井元製作所、IMC-7370、塗工速度 $10\text{mm}/1\text{秒}$ ）にて展開した。次いで、 60°C で8時間かけて乾燥し、更に 80°C で3時間減圧乾燥させて、DMSOを蒸発させることによって、厚さが 0.08mm のフィルム状接着剤を得た。

[0287] <接着体の製造>

上記のようにして得たフィルム状接着剤を $15\text{mm}\times 15\text{mm}$ にカットした後、カットしたフィルム状接着剤を水に5分間浸漬し、膨潤させて軟化させた。次いで、軟化したフィルム状接着剤を木板（ヒノキ製、 $1.5\text{mm}\times 40\text{mm}\times 2\text{mm}$ ）の片端 $15\text{mm}\times 15\text{mm}$ の領域にのせ、もう1枚の同じ大きさの木板を、フィルム状接着剤が2枚の木板の間に介在するように重ね合わせた。その後、フィルム状接着剤が各木板に圧接するように、2枚の

木板をクリップで固定し、送風定温恒温機中に入れ、60℃で1時間乾燥させて、フィルム状接着剤を硬化させた。これにより、2枚の木板がフィルム状接着剤にて接着された接着体Aを得た。また、比較のために、フィルム状接着剤に代えて市販の両面テープ（ニチバン、15mm幅、ナスタックNW-15）を用いる以外は、上記と同様な操作を行って、2枚の木材が両面テープにて接着された接着体Bを得た。

[0288] ＜接着体の引張試験＞

上記のようにして得た接着体Aと接着体Bとを、それぞれ室温20℃、湿度65%の環境下において、引張試験機（AG-Plus 50kN、（株）島津製作所社製）にセットして引張試験を行った。なお、引張試験は、ロードセル50kN、つかみ具間距離57.5mm、引張速度10mm/minの条件で実施した。その結果、接着体Aの引張強度が接着体Bの引張強度よりも10倍以上大きな値を示した。これにより、フィルム状接着剤が、市販の両面テープ等に比して十分に大きな接着力（接着強度）を有することが判明した。

[0289] ＜接着体の剥離試験＞

上記のようにして、別の接着体Aを製造し、この接着体Aにおける接着部分の隙間からはみ出したフィルム状接着剤を接着部分から引き抜いた。それによって、接着していた2枚の木板を剥離させることができた。また、2枚の木板の接着していた分の表面を目視により観察したところ、接着前の木板表面との間で変化が認められなかった。更に、引き抜いたフィルム状接着剤を水で洗浄した後、このフィルム状接着剤と別の2枚の木板を用いて、接着体Aを製造する際と同様な操作を行った。その結果、別の2枚の木板も接着することができた。このことから、フィルム状接着剤が再利用可能であることがわかる。

[0290] （実施例1-12）

＜粉末状接着剤の製造＞

三口セパラブルフラスコにジメチルスルホキシド（DMSO）319.3g

を測り取り、還元剤としてジチオトレイトール（D T T）4 1 9 m g（2. 7 2 m m o l）を加えて攪拌し溶解させた。その後、上述のとおり調製した配列番号9で示されるアミノ酸配列（P R T 2 8 8 2）を有する人工フィブリン（ポリペプチド、1 0 k D a）2 7. 5 g（2. 7 5 m m o l）を加え、7 0℃で3 0分間加温及び攪拌し、ポリペプチドを含む溶液Kを調製した。なお、還元剤の配合量は、ポリペプチドが有するメルカプト基に対して、ほぼ1当量となるように調整した。

[0291] フラスコに、上述のように調製した、ポリエチレングリコールビスマレエート2 7. 5 g（2. 7 5 m m o l）を測り取り、ジメチルスルホキシド（D M S O、富士フィルム和光純薬株式会社製）1 2 5. 5 gを加えて、7 0で1 0分間加温及び攪拌することで溶解させた。このようにして、ポリエチレングリコールビスマレエートを含む溶液Lを調製した。

[0292] 溶液K及び溶液Lを混合し、塩基としてトリエチルアミン（T E A、富士フィルム和光純薬株式会社製）4 4 0 0 m g（4 3. 5 m m o l）を、さらに加えて、反応溶液を調製した。なお、混合溶液において、ポリペプチドの配合量が、ジメチルスルホキシド1 0 0質量部に対して、5. 5質量部となるように調整した。塩基の配合量は、ポリペプチドの全質量を基準として、1 6質量部となるように調製した。次に、反応溶液を、7 0℃、9 0分間、加温及び攪拌することで反応を進行させた。反応後の溶液を遠心分離して沈殿物を取り除き、ポリペプチド部とポリエチレングリコール部とが結合した高分子化合物を含有するD M S O溶液を得た。なお、遠心分離は、1 5 0 0 0 r p mで1 0分間の処理条件で行った。

[0293] 得られた高分子化合物のD M S O溶液をアセトン中で洗浄・遠心分離を5回繰り返し行った後、デカンテーションによって上澄みを除去して、沈殿物を分離した。得られた沈殿物をバットに広げてドラフト内で数時間乾燥させた後、4 0℃の真空オーブンで一晩乾燥させて高分子化合物の粉末を得た。この粉末の残留D M S Oは3%質量以下であった。得られた高分子化合物の粉末を粉末状接着剤として用いた。

[0294] <積層体の製造>

上記の粉末状接着剤を0.5 g 測りとり、それを、基材としての綿織布の一方の面上の一部に載置した。その後、粉末状接着剤が載置された基材を、離型剤が塗布された2枚のステンレス板の間に挟んだ後、100℃の温度で加熱しつつ、ハンドプレス機で10 MPa、3分間加圧した。その結果、粉末状接着剤が樹脂化して固化した。これにより、基材表面の一部にコーティング層が積層形成された積層体を得た。

産業上の利用可能性

[0295] 本開示によれば、上述のような高分子化合物の製造において、従来よりも原料転化率を高めることが可能な製造方法を提供できる。

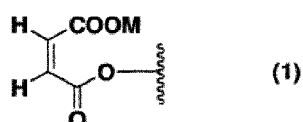
請求の範囲

「請求項1」

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、

下記一般式（１）で表される構造を２つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、

[化1]



[一般式(1)中、Mは、H、Na、K、 NHEt_3 、又は $\text{NHEt}_2\text{iPr}_2$ のいずれかを示す]

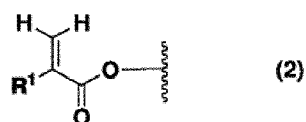
をジメチルスルホキシド中、塩基及び還元剤の存在下で、加熱反応させることを含む、高分子化合物の製造方法。

[請求項2]

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、

下記一般式（２）で表される構造を２つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、

[化2]



[一般式(2)中、R¹は、水素原子、又はメチル基を示す]

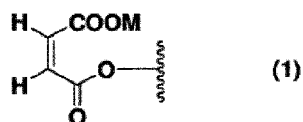
をジメチルスルホキシド中、塩基、還元剤及び重合禁止剤の存在下で、加熱反応させることを含む、高分子化合物の製造方法。

〔請求項3〕

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、

下記一般式（１）で表される構造を２つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、

[化3]



[一般式 (1) 中、Mは、H、Na、K、NHEt₃、又はNH*Et* *i*Pr₂のいずれかを示す]

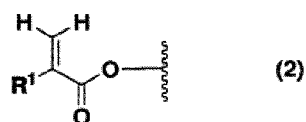
をジメチルスルホキシド中、還元剤の存在下で、加熱反応させることを含む、高分子化合物の製造方法。

[請求項4]

メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、

下記一般式 (2) で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、

[化4]



[一般式 (2) 中、R¹は、水素原子、又はメチル基を示す]

をジメチルスルホキシド中、還元剤及び重合禁止剤の存在下で、加熱反応させることを含む、高分子化合物の製造方法。

[請求項5]

前記還元剤は、ジチオール、硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、及び、亜ジチオン酸ナトリウムからなる群より選択される少なくとも一種である、請求項1～4のいずれか1項に記載の高分子化合物の製造方法。

[請求項6]

前記還元剤の配合量が、前記ポリペプチドが有するメルカプト基に対して、0.5当量以上である、請求項1～4のいずれか1項に記載の製造方法。

[請求項7]

前記ポリペプチドと前記化合物との反応が50℃以上で行われる、請求項1～4のいずれか1項に記載の製造方法。

[請求項8]

請求項1～4のいずれか1項に記載の製造方法によって得られた高

分子化合物を溶媒に溶解させることを含む、高分子化合物溶液の製造方法。

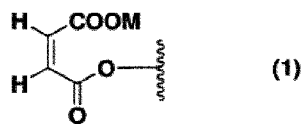
[請求項9] 請求項8に記載の製造方法によって得られた高分子化合物溶液からフィルムを成形することを含む、フィルムの製造方法。

[請求項10] 請求項8に記載の製造方法によって得られた高分子化合物溶液を紡糸することを含む、繊維の製造方法。

[請求項11] メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、下記一般式(1)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基及び還元剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液を得ることと、

前記高分子化合物溶液からフィルムを成形することと、を含む、フィルムの製造方法。

[化5]

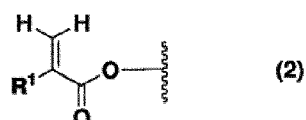


[一般式(1)中、Mは、H、Na、K、NH₄Et₃、又はNH₄Et₃Pr₂のいずれかを示す。]

[請求項12] メルカプト基を少なくとも1つ有するポリペプチドと、下記一般式(2)で表される構造を2つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基、還元剤及び重合禁止剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液を得ることと、

前記高分子化合物溶液からフィルムを成形することと、を含む、フィルムの製造方法。

[化6]



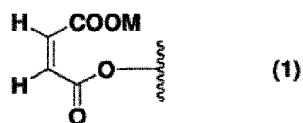
[一般式（２）中、 R^1 は、水素原子、又はメチル基を示す。]

[請求項13]

メルカプト基を少なくとも１つ有するポリペプチドと、下記一般式（１）で表される構造を２つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基及び還元剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液を得ることと、

前記高分子化合物溶液を紡糸することと、を含む、繊維の製造方法。

[化7]



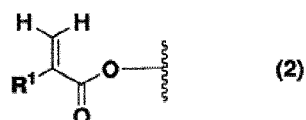
[一般式（１）中、 M は、 H 、 Na 、 K 、 $NHEt_3$ 、又は $NHEtiPr_2$ のいずれかを示す。]

[請求項14]

メルカプト基を少なくとも１つ有するポリペプチドと、下記一般式（２）で表される構造を２つ有する、ポリエーテル、ポリエステル及びポリカーボネートからなる群より選択される少なくとも一種の化合物と、をジメチルスルホキシド中、塩基、還元剤及び重合禁止剤の存在下で、加熱反応させ、高分子化合物溶液を得ることと、

前記高分子化合物溶液を紡糸することと、を含む、繊維の製造方法。

[化8]



[一般式（２）中、 R^1 は、水素原子、又はメチル基を示す。]

[請求項15]

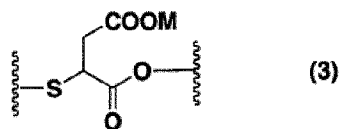
高分子化合物を含むフィルムであって、

前記高分子化合物は、

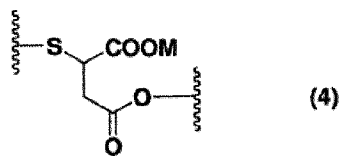
ポリペプチド部と、

ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造からなる群より選択される少なくとも一種の構造単位と、が、前記ポリペプチド部が下記一般式（３）、下記一般式（４）又は下記一般式（５）のＳと結合するようにして下記一般式（３）、下記一般式（４）又は下記一般式（５）で表される構造によって直接結合する構造を有し、

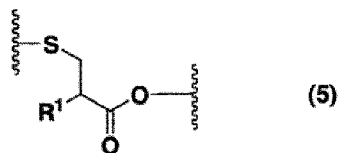
[化9]



[化10]



[化11]



[一般式（３）及び一般式（４）中、Mは、H、Na、K、NH₄、又はNH₄iPr₂のいずれかを示し、一般式（５）中、R¹は、H、又はMeを示す]

伸度が400%以上であり、

降伏点強度に対する破断強度の比が1超である、フィルム。

[請求項16]

高分子化合物を含む繊維であって、

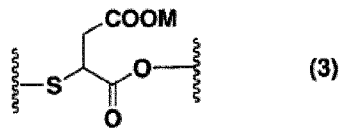
前記高分子化合物は、

ポリペプチド部と、

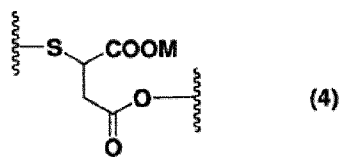
ポリエーテル構造、ポリエステル構造及びポリカーボネート構造からなる群より選択される少なくとも一種の構造単位と、が、前記ポ

リペプチド部が下記一般式（３）、下記一般式（４）又は下記一般式（５）のＳと結合するようにして下記一般式（３）、下記一般式（４）又は下記一般式（５）で表される構造によって直接結合する構造を有し、

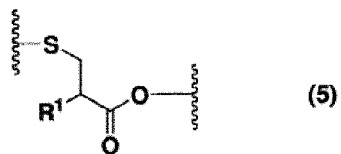
[化12]



[化13]



[化14]



[一般式（３）及び一般式（４）中、Mは、H、Na、K、NH₄、又はNH₄iPr₂のいずれかを示し、一般式（５）中、R¹は、H、又はMeを示す]

伸度が400%以上であり、

降伏点強度に対する破断強度の比が1超である、繊維。

[請求項17] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物を溶媒に溶解させる工程を含む、溶液状接着剤の製造方法。

[請求項18] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物を水性媒体に分散させる工程を含む、水分散性接着剤の製造方法。

[請求項19] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物が溶解した溶液からフィルムを成形する工程を含む、フィルム

状接着剤の製造方法。

[請求項20] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物を含む粉末組成物を得る工程を含む、粉末状接着剤の製造方法。

[請求項21] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物が溶媒に溶解してなる溶液を、複数の被着体の間に介在させた後、前記溶液から前記溶媒を除去して、前記高分子化合物を固化させることにより、前記被着体同士を接着することを特徴とする接着体の製造方法。

[請求項22] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物が水性媒体に分散してなる水分散液を、複数の被着体の間に介在させた後、前記水分散液から前記水性媒体を除去して、前記高分子化合物を固化させることにより、前記被着体同士を接着することを特徴とする接着体の製造方法。

[請求項23] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物を含むフィルムを膨潤又は加熱により軟化させると共に、複数の被着体の間に介在させた後、前記フィルムを前記被着体に圧接させた状態で硬化させることにより、前記被着体同士を接着することを特徴とする接着体の製造方法。

[請求項24] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物を含む粉末組成物を複数の被着体の間に介在させた状態で、前記粉末組成物を加熱すると共に、前記被着体を介して前記粉末組成物を加圧して、固化させることにより、前記被着体同士を接着することを特徴とする接着体の製造方法。

[請求項25] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物を溶媒に溶解させる工程を含む、溶液状コーティング剤の製造方法。

[請求項26] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子

化合物を水性媒体に分散させる工程を含む、水分散性コーティング剤の製造方法。

[請求項27] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物が溶解した溶液からフィルムを成形する工程を含む、フィルム状コーティング剤の製造方法。

[請求項28] 請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物を含む粉末組成物を得る工程を含む、粉末状コーティング剤の製造方法。

[請求項29] 基材と、前記基材の表面の少なくとも一部に積層形成されたコーティング層とを有する積層体の製造方法であって、

請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物が溶媒に溶解してなる溶液を前記基材の表面の少なくとも一部に供給して、前記基材の表面の少なくとも一部を前記溶液でコーティングした後、前記溶液から前記溶媒を除去して、前記高分子化合物を固化させることにより、前記基材の表面の少なくとも一部にコーティング層を積層形成することを特徴とする積層体の製造方法。

[請求項30] 基材と、前記基材の表面の少なくとも一部に積層形成されたコーティング層とを有する積層体の製造方法であって、

請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物が水性媒体に分散してなる水分散液を前記基材の表面の少なくとも一部に供給して、前記基材の表面の少なくとも一部を前記水分散液でコーティングした後、前記水分散液から前記水性媒体を除去して、前記高分子化合物を固化させることにより、前記基材の表面の少なくとも一部にコーティング層を積層形成することを特徴とする積層体の製造方法。

[請求項31] 基材と、前記基材の表面の少なくとも一部に積層形成されたコーティング層とを有する積層体の製造方法であって、

請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子

化合物を含むフィルムを、膨潤又は加熱により軟化させると共に、前記基材の表面の少なくとも一部に載置した後、前記フィルムを前記基材に圧接させた状態で硬化させることにより、前記基材の表面の少なくとも一部に前記コーティング層を積層形成することを特徴とする積層体の製造方法。

[請求項32] 基材と、前記基材の表面の少なくとも一部に積層形成されたコーティング層とを有する積層体の製造方法であって、

請求項1～4のいずれか1項に記載の方法によって得られた高分子化合物を含む粉末組成物を前記基材の表面の少なくとも一部に載置した状態で、前記粉末組成物を加熱すると共に、加圧体と前記基材との間で前記粉末組成物を加圧して、固化させることにより、前記基材の表面の少なくとも一部に前記コーティング層を積層形成することを特徴とする積層体の製造方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/003344

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>C08G 81/00</i> (2006.01)i; <i>C07K 1/02</i> (2006.01)i; <i>C07K 14/435</i> (2006.01)i; <i>C08G 75/045</i> (2016.01)i; <i>C08L 67/00</i> (2006.01)i; <i>C08L 69/00</i> (2006.01)i; <i>C08L 71/00</i> (2006.01)i; <i>C08L 77/04</i> (2006.01)i; <i>D01F 4/02</i> (2006.01)i; <i>D01F 6/92</i> (2006.01)i; <i>D01F 6/94</i> (2006.01)i FI: C08G81/00; D01F4/02; C07K14/435; C08G75/045; D01F6/94 Z; D01F6/92 307G; C08L71/00; C08L67/00; C08L69/00; C07K1/02 ZNA; C08L77/04 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C08G81/00; C07K1/02; C07K14/435; C08G75/045; C08L67/00; C08L69/00; C08L71/00; C08L77/04; D01F4/02; D01F6/92; D01F6/94 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024 Registered utility model specifications of Japan 1996-2024 Published registered utility model applications of Japan 1994-2024 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/REGISTRY (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JONES, Mathew W. et al, Phosphine-mediated one-pot thiol-ene "click" approach to polymer-protein conjugates, Chem. Commun., 2009, pp. 5272-5274, entire text	1-32
A	WO 2021/187502 A1 (SPIBER INC.) 23 September 2021 (2021-09-23)	1-32
A	CN 110507825 A (NATIONAL CENTER FOR NANOSCIENCE AND TECHNOLOGY, CHINA) 29 November 2019 (2019-11-29)	1-32
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: “A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance “D” document cited by the applicant in the international application “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed “T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art “&” document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 07 March 2024		Date of mailing of the international search report 19 March 2024
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/003344

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed.
 - b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2024/003344

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2021/187502	A1	23 September 2021	US	2023/0128695	A1	
				EP	4122948	A1	
				CN	115298201	A	
				KR	10-2022-0155328	A	
CN	110507825	A	29 November 2019	(Family: none)			

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

C08G 81/00(2006.01)i; C07K 1/02(2006.01)i; C07K 14/435(2006.01)i; C08G 75/045(2016.01)i;
C08L 67/00(2006.01)i; C08L 69/00(2006.01)i; C08L 71/00(2006.01)i; C08L 77/04(2006.01)i;
D01F 4/02(2006.01)i; D01F 6/92(2006.01)i; D01F 6/94(2006.01)i
FI: C08G81/00; D01F4/02; C07K14/435; C08G75/045; D01F6/94 Z; D01F6/92 307G; C08L71/00; C08L67/00;
C08L69/00; C07K1/02 ZNA; C08L77/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

C08G81/00; C07K1/02; C07K14/435; C08G75/045; C08L67/00; C08L69/00; C08L71/00; C08L77/04; D01F4/02;
D01F6/92; D01F6/94

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報1922-1996年
日本国公開実用新案公報1971-2024年
日本国実用新案登録公報1996-2024年
日本国登録実用新案公報1994-2024年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CPlus/REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JONES, Mathew W. et al, Phosphine-mediated one-pot thiol-ene ‘click’ approach to polymer-protein conjugates, Chem. Commun., 2009, p. 5272-5274, 全文	1-32
A	WO 2021/187502 A1 (S p i b e r 株式会社) 23.09.2021 (2021-09-23)	1-32
A	CN 110507825 A (NATIONAL CENTER FOR NANOSCIENCE AND TECHNOLOGY, CHINA) 29.11.2019 (2019-11-29)	1-32

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“I” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日
07.03.2024

国際調査報告の発送日
19.03.2024

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員（特許庁審査官）

松元 洋 4J 4166

電話番号 03-3581-1101 内線 3457

様式 PCT/ISA/210（第2ページ）（2022年7月）

第 I 欄 スクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたスクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

- a. ☒ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
- b. ☐ 国際出願日後に、国際調査のために提出された配列表（PCT規則13の3.1(a)）
☐ 配列表が出願時の国際出願の開示の範囲を超えるものではない旨の陳述書が添付されていた。

2. ☐ この国際出願で開示されたスクレオチド又はアミノ酸配列に関して、この国際調査報告は、WIPO標準ST.26に準拠する配列表なしで有意義な国際調査をすることができる限度において作成された。

3. 補足意見：

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2024/003344

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2021/187502	A1	23.09.2021	US	2023/0128695	A1	
				EP	4122948	A1	
				CN	115298201	A	
				KR	10-2022-0155328	A	

CN	110507825	A	29.11.2019	(ファミリーなし)			
