絹糸の“ふさ状ミセル構造”

Fringed Micellar Structure for Silk Fibers

河 原 豊

はじめに

絹フィブロインの繊維構造発現機構に関しては、これまでに多くの総説があり、本誌においても度々登場している。しかし、2000年に絹フィブロインのH鎖の一次構造が解明され、また、同年、フィブロインが超分子構造をとることが報告され、これまでの絹の研究を見直す必要に迫られていると感じる。特に絹フィブロインを用いたナノスケールの医療デバイスを設計する上では、大きな概念の変換を迫られているように思う。絹フィブロインの研究が新たなステージに入ったといってもよいであろう。

研究対象となる絹フィブロインの供給面から見たとき、群馬県は国内で唯一養蚕が農業の一部として営まれ、県内の試験研究機関において蚕の品種開発も行われており、フレッシュな絹糸腺を得ることも容易である。著者らは昨年9月に群馬大学ファイブロボイオプロセス研究会を設立した。この研究会は、群馬県が我国の養蚕業の発祥地であり、群馬大学工学部の前身である桐生高等染織学校が絹を中心とした繊維産業を発展させるために当初設立されたということを背景に、絹を含むバイオベースマテリアルの研究拠点形成を目指している。

本稿では、絹の繊維構造形成メカニズムについて最近の報告をもとに著者の考えを示すとともに、高速紡糸ポリエステル繊維のフィブリル構造と絹糸の構造を対比して、ポリエステル繊維の構造発現機構についてもふれてみる。

絹フィブロインの超分子構造

フィブロインは、分子量が360 KDのH鎖と、25 KDのL鎖、及び25 KDのP25の3種類のタンパク質から構成されている。そして、H鎖とL鎖はS-S結合によって連結され、この結合した分子のH鎖の一部とP25の間が非共有結合(水素結合)で連絡され、この様なH鎖との相互作用をP25は6箇所で行い、フィブロイン分子を形成する¹⁾。

つまり、フィブロインは2,335 KDの超分子構造をとる。図1に模式図(玉田 靖氏のCGに著者が加筆した)を示す。従来の研究ではH鎖の物性解明に主眼が置かれていたといっても過言ではない。なお、絹フィブロインのH鎖の一次構造は、Zhou ら²⁾によって完全に決定されている。H鎖の結晶領域はGly-Alaの交互共重合部分が大半を占める。このH鎖の形成する結晶型として、Silk I、Silk II、Silk IIIがある。

図1 絹フィブロイン分子鎖の模式図

フィブロインH鎖が作る結晶構造

Silk I結晶は、準安定な結晶で、絹糸腺を風乾した試料についてはじめて確認された^{3,4)}。Silk I結晶の構造については、これまでいくつかのモデルが提案されており、Lotz ら⁵⁾は、主鎖が屈曲した"Crankshaft"モデルを提案したが、一方、ほぼ伸びきり鎖からなる“Out of register”モデルも提案され^{6,7)}、なかなか結晶構造が確定されなかったが、Silk I結晶の発見から50年以上経過して、朝倉⁸⁾の詳細なNMRを用いた構造解析によって“タイプII型の繰返しβターン構造”であることが突き止められた。つまり、絹糸腺を風乾した試料から得られるフィブロインのSilk I結晶は主鎖が細かく折り畳まれて分子鎖内部が水素結合で安定化した構造であることがわかった。

Silk II結晶は、最も安定な結晶型であり、絹糸の結晶領域を形成し、絹糸の優れた繊維性能を支えている。Silk II結晶の構造はMarsh ら⁹⁾によって最初に報告され、逆平行βシート構造からなることが示された。最近、高橋¹⁰⁾は、X線構造解析によって詳細にSilk II結晶の単位格子および空間群を調べている。朝倉¹¹⁾はフィブロインの結晶部のモデル化合物として(Ala-Gly)₁₅を用いてラメラ構造の発生を検討し、Silk II型構造は繊維構造の基本となるβ-sheet構造と、一部、残基の内部回転角の分布の大きいβ-turn構造から構成されているとしている。つまり、蚕の生産す

YUTAKA KAWAHARA

群馬大学大学院 工学研究科応用化学
生物化学専攻 教授

〒376-8515 桐生市天神町 1-5-1

Tel/Fax 0277-30-1491

E-mail: kawahara@chem-bio.gunma-u.ac.jp

る絹糸には β -sheet 構造のフィブロインの外に、cross- β 構造のものも若干含まれていると考えなければならないことになる。

手法は全く異なるが、cross- β 構造のフィブロインを作製したとする論文¹²⁾がある。熟蚕の絹糸腺を摘出後、ポリエチレンフィルム上で風乾したのち、シリカゲルを敷いたデシケータ内で約1年間乾燥させ、それから液状絹(乾燥によって角質化して剥離しやすくなったセリシンと絹糸腺膜を絹糸腺から取り除いた残物)を分離し、そして液状絹を再び水に膨潤させ、約1.5倍に延伸してフィルムを作製し、そのX線回折を測定したところ、0.45 nmの面間隔の回折が子午線上に、0.725 nmの面間隔の回折が赤道上に観測され、cross- β 構造のフィブロインが絹糸腺内に存在すると報告している。

この結果は、絹糸腺内の繊維化前のフィブロイン結晶の構造が“タイプII型の繰り返し β ターン構造”とする朝倉の報告¹¹⁾とまったく異なる。これは、平林ら¹²⁾の絹糸腺の摘出とその後の扱いに起因していると考えられる。摘出が室温で行われ、その後の保存も室温で行われたと推測されるため、ターン構造を形成しやすいグリシンを多く含む¹³⁾、水で膨潤してガラス転移温度が室温付近に低下しているフィブロインが、若干の延伸による伸長力によって最も安定なSilk II型のシート構造を選択し、cross- β 構造を生成しても不思議ではない。なお、次項でSilk I、Silk IIの結晶構造の発現に関する選択性を扱うが、Silk II型は、伸長力が作用しなければ基本的に室温では生成しない。平林らの報告で、もし、膨潤させた後、伸長する作業を行わなければ、cross- β 構造は出現せず、Silk I型結晶が得られると推測される。ところで、フィブロインの乾燥状態におけるガラス転移温度は、DSC測定から約175℃であり、210℃付近においてSilk II型結晶が選択的に発現する¹⁴⁾。われわれも液状絹から作製した再生フィルムで同じ挙動を確認した。しかし、水に膨潤した環境下では、温度によってSilk IとSilk IIの発現に選択性が生じる。このことについては次項で述べる。

最後にSilk IIIは、ごく最近、報告された結晶であり¹⁵⁾、9.1MのLiSCN水溶液にフィブロインを溶解して脱塩したフィブロイン溶液を用いてLB膜を作製したときに気液界面に形成される。この場合は、主鎖はThreefoldヘリックスを形成してセリン残基が液相側に揃い、アラニンのメチル基が気相側に揃う事で準安定化する。35 mN/m以上の圧縮力をLB膜に加えることで容易にSilk II型結晶に転移する。

Silk I、Silk IIの結晶構造の発現に関する選択性

Silk I、Silk IIの結晶発現に関してはこれまで多くの研究がなされている。絹糸腺を摘出して作製した試料はSilk I型の結晶構造を示すことが多く、蚕の吐糸活動を経由して繊維化された後は、安定なSilk II型結晶へほぼ完全に転移する。この結晶転移と繊維構造の発現に関する現象を扱

う上で、どのような条件下でいずれの結晶型が選択的に形成されるかを究明することは、繊維工業において絹と同様に分子鎖間あるいは分子鎖内の水素結合の形成を制御して繊維内部の構造欠陥をなくし、繊維の高強度化を実現する新たな製造プロセスを模索する上できわめて重要である。なお、絹フィブロインの繊維化メカニズムについては次項で扱う。ここではSilk I、Silk IIの結晶構造の発現の選択性に関するこれまでの研究例を紹介する。

まず、これまでのSilk I、Silk IIの選択性に関する研究の大部分は、フィブロインの超分子構造が解明される2000年より前に行われたものであることを心に留めておく必要がある。試料となるフィブロインの扱いとしては、大きく分けて2つの方法がある。直接、蚕の絹糸腺を摘出して絹糸腺膜とセリシンを分離した後、フィブロインの水溶液を得る方法、及び、LiBrなどの中性塩の濃厚水溶液に絹糸を溶解させた後、脱塩して再生フィブロイン水溶液を得る方法である。LiBrを用いる初めての研究報告は50年以上前にAmbroseら¹⁶⁾によってなされた。

絹糸腺を用いた最初の絹の結晶に関する研究報告は、清水³⁾によって行われた。絹糸腺を乾燥凝固させる温度を変化させて発現する結晶構造を調べたところ、0~40℃ではSilk I型、50℃以上ではSilk II型になり、結晶化温度が重要であることがわかった。その後、平林ら¹⁷⁾の研究では、絹糸腺を摘出して、絹糸腺膜とセリシンを室温の蒸留水中で除去した液状絹について、スチレンフィルム上で温度を変えながら乾燥凝固させ、X線回折によって構造を調べたところ、20~50℃の乾燥温度ではSilk I型、70~90℃の乾燥温度ではSilk II型が発現した。また、馬越ら¹⁸⁾の研究では、液状絹フィブロイン水溶液の濃度の影響に注目し、初期濃度を20%としたときに、40~45℃で乾燥・製膜すると試料にはSilk II型が発現し、25%では45~47℃、30%では47~50℃にSilk II型が発現すると報告している。一方、LiBrを用いて調製した再生フィブロイン水溶液については、フィブロイン溶液の初期濃度0.1~2.3%の範囲において、得られる再生フィルムには40℃以上でSilk II型が発現すると報告されている¹⁹⁾。

著者ら²⁰⁾はCaCl₂を用いて再生フィブロイン水溶液を調製し、再生フィルムの製造条件と結晶構造の関係を調べた。室温の水蒸気雰囲気中にアモルファスのフィブロインフィルムを放置することで選択的にSilk I型結晶が生成し、70℃のグリセリン水溶液でさらに処理するとフィルムが自発伸長しSilk II型結晶からなるフィルムが得られ、このフィルムは室内に放置してもグリセリンが自由水を取り込むので柔軟性を失うことはなかった。

これらの研究から言えることは、試料の由来によらずH鎖の結晶領域は、主に温度の影響を受けて結晶型を決定するということになる。しかし、蚕の繊維生産は室温で行われ、しかもこの場合、Silk II型結晶しか形成されないことから、温度的な要因ではなく、物理化学的な作用が働いてフィブロインの繊維化が行われていると考えなければなら

ない。なお、フィブロインを有機溶媒で処理した場合においても H 鎖の結晶化が生じるが²¹⁾、ここではこの現象は扱わない。フィブロイン H 鎖の基本的な結晶化挙動に関しては馬越らの総説²²⁾にまとめられている。

フィブロインの繊維化メカニズム

後部絹糸腺で生産されたフィブロイン分子は中部絹糸腺で貯蔵される。赤井ら²³⁾は電子顕微鏡観察から液状絹は分子が凝集したミセル状の構造をとり、家蚕ではミセルの内部に野蚕の様なライソオーム由来の液胞を含まないため、緻密なミセルを形成すると報告している。Kaplan ら²⁴⁾も H 鎖の N 末端 C 末端の大きな親水性のブロック領域を考慮すると、ミセルが形成されるのではないかと指摘している。この様なミセルの形成は、絹糸の繊維構造においてフィブリル構造が形成されることや、結晶領域の構造として“ふさ状ミセル構造モデル”²⁵⁻²⁷⁾が適当であることを容易に説明する。馬越ら²²⁾は、フィブロインの繊維化のメカニズムを詳細に検討している。まず、フィブロインの絹糸腺内での濃度変化を調べ、後部絹糸腺では 12% であったものが中部絹糸腺では 25% にまで高められることをつきとめ、その原因としてカルシウムイオンの作用を指摘している。カルシウムイオン濃度もフィブロインと同様に中部絹糸腺で高いことから、カルシウムイオンがフィブロインとキレート結合を形成し、フィブロインをゲル化して、結果的にフィブロインの濃度を高めるとともに、フィブロインの安定化に寄与しているとしている。繊維化の過程では、中部絹糸腺に貯蔵されたフィブロインゲルを、細い前部絹糸腺、さらに細い紡糸管、そして最も狭くかつ繊維化の起点となる圧糸部を通過させることになる。そのため、フィブロインゲルを破壊する必要が生じる。このときは、カルシウムに代わりカリウムイオン濃度が増加してゲルからゾルへの転移を生じさせる。さらに、前部絹糸腺の偏光顕微鏡観察から、単なるゾルではなく、ネマチック液晶が形成されていることがわかった。

先に述べたように P25 と H 鎖の間は水素結合によって連絡されている。この様な結合がイオン環境の変化や大きな圧糸部でのせん断応力を受ければ不安定化する可能性は十分に考えられる。つまりフィブロインの超分子構造は少なくとも圧糸部で破壊されていると予測される。一方、ゾルからの繊維化はきわめて速い。工業的な紡糸方式の分類ではカイコは乾式紡糸に分類されるが、繊維化に着目したとき、溶媒である水が蒸発する前に繊維化が生じていることが²²⁾、一般的な乾式紡糸繊維の構造形成過程と大きく異なる。

結晶型から見たとき絹糸腺内のフィブロインは分子内水素結合からなる Silk I 型であるが、フィブロイン繊維では分子間水素結合からなる Silk II 型である。仮に、カリウムイオンの作用でフィブロインの超分子構造が完全に破壊され、H 鎖と L 鎖の連結した分子鎖ユニットが流れの方向に配向し、ネマチック液晶を形成したとしても、圧糸部を

通過するわずかの時間で分子鎖間の水素結合を瞬時に形成することが可能であろうか。P25 の役割として、6 本の H 鎖を束ね、分子鎖間に水素結合からなるシート構造を生じさせる結晶化の起点としての機能を仮定すれば、 β ターン構造からなる細かく屈曲した H 分子鎖が瞬時にジグザグ構造の分子鎖に引き伸ばされて Silk II 型結晶を生成し、かつては軍用パラシュートなどにまで用いられた柔軟で高強度の絹糸が成形されることが考えられる。さらに、この基本的な繊維化メカニズムに加えて、絹糸腺内部で形成されていたフィブロイン超分子から成るミセル構造の履歴が影響して、絹糸の特徴的な“ふさ状ミセル構造”からなるフィブリル構造が発現するのではないかと考える。

蚕の高速紡糸

絹糸のフィブリル構造の形成メカニズムに関する私信を前項で述べたが、溶融紡糸で生産されるポリエステル繊維 (PET, PBT, PEN) に形成されるフィブリル構造の発現メカニズムと対比することで、ポリエステルの溶融紡糸に関する仮説を述べたい。なぜならば、繊維の変形率から見て、また圧糸部で瞬時に結晶化する挙動は、PET の高速紡糸線上のネックライク変形ゾーンにおいて配向度の低い溶融体から直接高配向の結晶が形成されることを連想させ²⁸⁾、蚕の繊維生産も高速紡糸に他ならないと判断されるからである。

蚕の場合は、P25 が結晶化の起点となることで、H 鎖間の水素結合を規則的に生成できるであろう。ポリエステルの場合は“シシ”の形成が結晶化の起点になると考えられる。山本²⁹⁾は格子 MC 法を用いて“シシ”の周りにらせん状に“ケバブ”が成長する様子を分子シミュレーションから示している。“シシ”の形成はネックライク変形領域で急激に生じる慣性力による伸長力が一部の分子鎖間の“からみ”を経由して特定の分子を伸長方向に引き伸ばすことでなされると予測される。“シシ”が形成されれば、その周囲の高分子鎖がエピタキシャルに結晶(ケバブ)を成長させて繊維構造が形成される。ポリエステルの“シシ”を直接確認することは、我々も成功していないが、その存在を示唆する間接的な実験結果は得られている³⁰⁻³²⁾。ただ、“ケバブ”のエピタキシャル成長速度が非常に短時間に達成されることを説明しなければならない³³⁾。著者は、“ポリエステル分子の殆ど大半はベンゼン環の相互作用によって分子ごとに独立した微結晶の前駆体としてミセルを形成しているのではないか”、と考えている。この様に仮定すれば、高速紡糸の過冷却効果も作用して、“ケバブ”が瞬間的に“シシ”の周囲に形成されても不思議ではないと思われる。

終わりに

ここではやや強引に蚕の繊維化プロセスをポリエステル繊維の成形プロセスに繋げたが、高分子の高次構造制御として、例えば、蚕が進化の果てに生み出した P25 タンパクの様な機能性物質の利用を検討してみるのはいかがであ

ろうか。

参考文献

- 1) S. Inoue, K. Taneda, F. Arisahi, S. Kimura, F. Ohtomo, S. Mizuno, *J. Biol. Chem.*, **275**, 40517 (2000).
- 2) C. Zhou, F. Confalonieri, N. Medina, Y. Zivanovic, C. Esnault, T. Yang, M. Jacquet, J. Janin, M. Duguet, R. Perasso, Z. Li, *Nucleic. Acids. Res.*, **28**, 2413 (2000).
- 3) 清水正徳, 蚕試報, **10**, 475 (1941).
- 4) O. Kratky, E. Schauenstsin, A. Sekora, *Nature*, **165**, 319 (1950).
- 5) B. Lotz, H. D. Keith, *J. Mol. Biol.*, **61**, 201 (1971).
- 6) S. A. Fossey, G. Nemethy, K. D. Gibson, H. A. Scheraga, *Biopolymers*, **31**, 1529 (1991).
- 7) S. J. He, R. Valluzzi, S. P. Gido, *Int. J. Biol. Macromol.*, **24**, 187 (1999).
- 8) 朝倉哲郎, 繊維学会誌, **60**, P-543 (2004).
- 9) R. Marsh, R. B. Corey, L. Pauling, *Biochim. Biophys. Acta*, **16**, 1 (1955).
- 10) Y. Takahashi, M. Gehoh, K. Yuzuriha, *Int. J. Biol. Macromol.*, **24**, 127 (1999).
- 11) 朝倉哲郎, 中澤靖元, 繊維学会誌, **63**, P-261 (2007).
- 12) 平林 潔, 内山勝敏, 石川 博, 呉 祐吉, 繊維学会誌, **23**, 538 (1967).
- 13) C. M. Dobson, J. A. Gerrard, A. J. Pratt, (訳: 三原久和), “ケミカルバイオロジーの基礎”, 化学同人, 2004, P. 30.
- 14) J. Magoshi, S. Nakamura, *J. Appl. Polym. Sci.*, **19**, 1013 (1974).
- 15) R. Valluzzi, S. P. Gido, W. Muller, D. L. Kaplan, *Int. J. Biol. Macromol.*, **24**, 237 (1999).
- 16) E. J. Ambrose, C. H. Bamford, A. Elliot, W. Hanby, *Nature*, **169**, 264 (1951).
- 17) 平林 潔, 関 常勝, 石川 博, 角戸正夫, 呉 祐吉, 繊維学会誌, **24**, 411 (1968).
- 18) 馬越 淳, 笠井暢民, 角戸正夫, 高分子化学, **30**, 649 (1973).
- 19) 平林 潔, 石川 博, 繊維学会誌, **24**, 449 (1968).
- 20) Y. Kawahara, K. Furukawa, T. Yamamoto, *Macromol. Mater. Eng.*, **291**, 458 (2006).
- 21) 馬越 淳, 高分子論文集, **31**, 765 (1974).
- 22) 馬越 淳, 馬越芳子, 繊維学会誌, **63**, P-244 (2007).
- 23) 赤井 弘, 繊維学会誌, **63**, P-238 (2007).
- 24) H. J. Jin, D. L. Kaplan, *Nature*, **424**, 1057 (2003).
- 25) O. Kratky, H. Mark, *Z. Phys. Chem.*, **B36**, 129 (1937).
- 26) K. Hess, H. Kiessig, *Z. Phys. Chem.*, **A193**, 196 (1944).
- 27) 野村春治, 梶 慶輔, 繊維学会誌, **53**, P-129 (1997).
- 28) T. Kikutani, K. Nakao, W. Takarada, H. Ito, *Polym. Eng. Sci.*, **39**, 2349 (1999).
- 29) 山本 隆, 繊維学会誌, **63**, P-401 (2007).
- 30) T. Yoshioka, M. Tsuji, Y. Kawahara, S. Kohjiya, N. Manabe, Y. Yokota, *Polymer*, **46**, 4987 (2005).
- 31) Y. Kawahara, M. Kamo, K. Yamamoto, S. Ogawa, D. Terada, T. Kikutani, M. Tsuji, *Macromol. Mater. Eng.*, **291**, 11 (2006).
- 32) 吉岡太陽, 辻 正樹, 河原 豊, 繊維学会誌, **63**, P-39 (2007).
- 33) 鞠谷雄士, 河原 豊, 松居隆之, 高久 明, 清水二郎, プラスチック成形加工学会誌, **1**, 333 (1989).

第 143 回ゴム技術シンポジウム 接着における最近の関心

主 催：日本ゴム協会研究部会 接着研究分科会
協 賛：繊維学会ほか
日 時：平成 20 年 7 月 3 日(木) 9:55~16:40
場 所：東京電業会館 地下会議室
東京都港区元赤坂 1-7-8 TEL: 03-3403-5181
問合せ先：(社)日本ゴム協会 第 143 回ゴム技術シンポジウム係
〒107-0051 東京都港区元赤坂 1-5-26
東部ビル 1 階
FAX: 03-3401-4143 TEL: 03-3401-2957
E-mail: nakagawa@srij.or.jp

第 44 回夏期講座 ゴム・エラストマーの過去・現在・未来

主 催：日本ゴム協会
協 賛：繊維学会ほか
日 時：平成 20 年 7 月 10 日(木) 9:30~17:50
(ミキサー 18:00~19:30)
7 月 11 日(金) 8:30~12:45
場 所：講座 公共の宿 猿沢荘 わかくさの間(奈良市池之町 3 TEL: 0742-22-5175)
ミキサー 猿沢荘 まんようの間
問合せ先：(社)日本ゴム協会 第 44 回夏期講座係
〒107-0051 東京都港区元赤坂 1-5-26
東部ビル 1 階
FAX: 03-3401-4143 TEL: 03-3401-2957
E-mail: nakagawa@srij.or.jp