(昭和 35 年 3 月 30 日受理)

絹糸のフィブリル構造に関する電子顕微鏡的研究

農林省蚕糸試験場 皆 川 基

ELECTRON-MICROSCOPIC INVESTIGATION ON THE FIBRIL STRUCTURE OF THE SILK FIBRES

By Motoi Minagawa

(The Sericultural Experiment Station, Koenji, Suginami-ku, Tokyo, Japan)

When domestic and wild silkworm cocoon fibroin fibre, from which sericin has been completely removed, is observed under the electron microscope, while it is being moderately broken down with hydrogen peroxide or sodium hydroxide, 400-600 Å diameter fibrils, formed by a large number of 100-150 Å diameter and 0.2-0.4 μ diameter, 0.6-0.8 μ width sparse fibrils were noticed. During the fibre break-down process, regardless whether it is domestic or wild cocoon fibre, 0.2-0.4 μ diameter fibrils possess a characteristic of developing into band-form fibrils of 1.0-1.2 μ width when treated with hydrogen peroxide or sodium hydroxide. With the exception of wild silkworm and one group of the domestic cocoon (Kuniichi, Kuniichikai, Koishimaru, Chinese etc), the middle layer fibroin fibre of the common domestic cocoon is weak against chemicals such as hydrogen peroxide and sodium hydroxide, different from those the outer and inner layer fibroin fibres.

The following is on the detail electron microscopic study of fibroin fibre fibrilization based on the observations of fibre cross-section of replica test material.

The results on the cross-sections of cocoon fibre and sericin-free fibroin fibre being that much finer, comparatively uniform fibroin of 0.2-0.4 μ diameter fibrils and 0.6-0.8 μ width fibrils, totalling around 1,000 were noticed, compared to the fibril 0.3-3 μ diameter noticed under the ordinary microscope. In order to observe the fibril structures more accurately, the cross-section was treated gradually and broken down with ten per cents solution of hydrogen peroxide or one normal solution of sodium hydroxide the results being that still finer fibrils of 400-600 Å diameter were accurately observed.

(Received March 30, 1960)

絹糸のフィブリル構造は絹糸蛋白質の理化学的研究の分野ならびに糸の加工、黄褐変および織物上にあらわれるラウジネス欠点などの研究の分野にも深い関係があり、そのためには平塚¹⁾、井上、北沢²⁾、小原氏³⁾らによつて認められた顕微鏡可視のフィブリル構造に加えてさらに電子顕微鏡による顕微鏡可視以下のフィブリル構造を究明する必要がある。

本報ではまずこのフィブリル構造を繊維に化学的処理を施して崩壊した試料および繊維横断面の化学的超薄切片試料(断面構造を金属箔に転写するレプリカ)により電子顕微鏡下で観察した結果について報告する。

材料および試料の調製

試料：家蚕繭として小石丸、国一、支 17、Lg 支 109、欧 18、日 122×支 122、日 122×支 115、秋花×銀横、

瑞光×銀白、特欧 4×特支 4、国一改、日一淡赤、大造、イタリー(黄)、スペイン(黄)、印度(黄)など 16 品種の繭を、野蚕繭として印度タッサー蚕、ムガー蚕、ヒマ蚕、柞蚕、山繭などの 5 品種の繭を使用した。

繊維の崩壊試料

a) 繭糸および生糸よりセリシンを完全に除去したフィブロイン繊維をエーテル、アルコールで順次処理し脂肪類を除去した後、10%の過酸化水素水⁴⁾(硫酸鉄を触媒とする)中に室温で 10 分～30 時間浸せきし、同時にわずかの機械的作用を施して崩壊する。つぎにこの料糸を希塩酸で洗浄し後水洗を行なつて乾燥し、さらにオスミウム酸あるいはエチルアルコール・ホルマリン混液で固定処理を施して試料とした。

b) a)と同様の方法によりセリシンおよび脂肪類を除去したフィブロイン繊維を IN の水酸化ナトリウム溶液

中に室温で1~48時間浸せきし同時に機械的作用を施して崩壊する。つぎにこの料糸を希酢酸、水で順次洗浄し後乾燥して上記と同様の固定処理を施し試料とした。

繊維横断面の化学的超薄切片試料

繭糸および精練絹糸（繭糸および生糸よりセリシンを完全に除去したフィブロイン繊維）をエーテル、アルコールで順次処理し脂肪類を除去した後、さらにオスミウム酸またはエチルアルコール・ホルマリン混液で処理し樹脂包埋した。包埋は8:2の割合にn-ブチルメタクリルとメチルメタクリルを用いてゼラチンカプセル内で重合させた。つぎに2~3mmの厚さの硬質ガラス板を割つたときにできる鋭利な刃を用いて横切断面を作り、その面に完全重合させたエチルメタクリレート（分子量が約30万）の薄板を約100°C、2~3 kg/cm²の圧力で

圧着すると薄板の表面に料糸の横断面構造を転写することができるので、これに常法⁵⁾によりアルミニウムあるいはカーボン蒸着し、さらに構造のコントラストをあげるためにクロムをシャドウした後、アセトンで樹脂を溶解して試料とした。

実験結果およびその考察

フィブロイン繊維を1~2Nの水酸化ナトリウム溶液中に30°Cで30~60分間浸せきし後繊維に衝撃を与えて崩壊した料糸を、まず光学顕微鏡下で観察するとplate 1の如く多数のフィブリルが帚状に展開している状態が認められ、一方未処理のフィブロイン繊維にもplate 2の如く繊維の長さの方向に配行した条線が観察される。これは従来からも認められているように絹糸にフィブリル束構造が実在することを示している。しかしこれらフィブリルは光学顕微鏡の分解能に近いディメンションにあるため詳細な観察がむずかしく、したがって筆者は電子顕微鏡の観察を試みた。

まず家蚕繭糸のフィブロイン繊維を過酸化水素水により室温で10~30分間処理し、機械的作用を施して崩壊させるとplate 3, 4の如く、径0.2~0.4 μのフィブリルと、幅0.6~0.8 μの帯状のフィブリルが観察され、径0.2~0.4 μのフィブリルは幅1.0~1.2 μの帯状のフィブリルに展開するのが認められた。またフィブロイン繊維を水酸化ナトリウム溶液により30°Cで1~3時間部分加水分解し、機械的作用を施して崩壊させると上記過酸化水素水によつて酸化崩壊させたときと同様に径0.2~0.4 μのフィブリルとplate 5の如く径400~600 Åのフィブリル20~30本が0.6~0.8 μの幅の間に並んだ帯状のフィブリルが認められ、径400~600 Åのフィブリルは互に撚れ合つた多数の径100~150 Åのフィブリルによつて構成されているように観察された。

つぎに過酸化水素水で3時間、水酸化ナトリウム溶液で10時間処理して崩壊させるとplate 6, 7の如く径100~150 Å、長さ500~3000 Åのフィブリルが観察され、さらに過酸化水素水で24時間、水酸化ナトリウム溶液で40~48時間と長時間処理して崩壊させるとplate 8, 9の如く多数の粒状のフィブロインを含む径100~150 Å、長さ100~1000 Åのフィブリルが認められた。

一方繭層の外・中・内の部位別のフィブロイン繊維を各々1Nの水酸化ナトリウム溶液により30°Cで24~30時間処理し、繊維を部分加水分解して崩壊させると外・内層部位の繊維では、Plate 10, 11の如く共にフィブリル展開する状態が認められるが中層部位の繊維ではこの同一条件の処理によりplate 12の如くフィブリルがさらに微細に崩壊し、フィブリル形態の崩れた状態が

Plate 1: Fibroin fibre that developed into fibrils with 1 N NaOH solution; *Bombyx mori* (Microscope)

Plate 2: Sericin-free fibroin fibres; *Bombyx mori* (Microscope)

Plate 3: 0.2-0.4 μ diameter fibril that developed into band-form fibril of 1.0-1.2 μ width when treated with 10% H₂O₂ solution for 10 minutes; *Bombyx mori* (plate 3-18: Electron microscope Cr-shadowing)

Plate 4: Fibrils treated with 10% H₂O₂ solution for 30 minutes; *Bombyx mori*

Plate 5: Fibrils treated with 1 N NaOH solution for 3 hours; *Bombyx mori*

Plate 6: Fibrils treated with 10% H_2O_2 solution for 3 hours; *Bombyx mori*

Plate 7: Fibrils treated with 1 N NaOH solution for 10 hours; *Bombyx mori*

Plate 8: Fibrils treated with 10% H_2O_2 solution 24~30 hours; *Bombyx mori*

Plate 9: Fibrils treated with 1 N NaOH solution for 48 hours; *Bombyx mori*

認められた。この現象は一部の品種の繭（国一，国一改，小石丸，中共繭など）を除く，多くの家蚕繭糸において比較的顕著に認められ，中層部位のフィブロイン繊維では一般的に外・内層部位の繊維に比し微細に崩壊し易く化学的な処理に対する抵抗性がかなり低いように観察される。これは外・内層部位のフィブロイン繊維では化学的に対象としているいわゆる結晶性部分が多く，中層部位のフィブロイン繊維ではそれが少ないことを示しているものと解される。

多化蚕繭のフィブロイン繊維について同様の実験を試みると一般家蚕繭糸と大差ないフィブリルの展開状態が観察される(plate 13)が，フィブロイン繊維の化学的な処理に対する抵抗性は大きく，前記国一，小石丸，国一改，中共繭などの繊維に近い性質が認められた。

Plate 10: Fibrils of the outer layer fibroin fibre of the cocoon treated with 1 N NaOH solution for 24 hours; *Bombyx mori*

Plate 11: Fibrils of the inner layer fibroin fibre of the cocoon treated with 1 N NaOH solution for 24 hours; *Bombyx mori*

Plate 12: Fibrils of the middle layer fibroin fibre of the cocoon treated with 1 N NaOH solution for 24 hours; *Bombyx mori*

Plate 13: Fibrils of the fibroin fibre of Indian yellow cocoon treated with 1 N NaOH solution for 24 hours

Plate 14: Fibrils of the fibroin fibre of *Anthrea yamamai* treated with 1 N NaOH solution for 30 hours

つぎに野蚕繭糸のフィブロイン繊維を家蚕繭糸と同様に過酸化水素水および水酸化ナトリウム溶液で処理し機械的作用を施して崩壊させて観察すると径 $0.2 \sim 0.4 \mu$ ，径 $400 \sim 600 \text{ \AA}$ および径 $100 \sim 150 \text{ \AA}$ のフィブリルの外に山繭(*Anth. yamamai*)では plate 14 の如く幅 $0.2 \sim 0.4 \mu$ の扁平なフィブリル，柞蚕繭(*Anth. pernyi*)では plate 15 の如く幅 $0.8 \sim 1.0 \mu$ の薄膜状のフィブリル，ムガ蚕繭(*Anth. Asama*)では plate 16 の如く幅 $0.8 \sim 1.0 \mu$ の帯状のフィブリル，タッサー蚕繭(*Anth. mylitta*)では plate 17 の如く，幅 $0.6 \sim 1.0 \mu$ の扁平

Plate 15 : Fibrils of the fibroin fibre of *Anthrea pernyi* treated with 1 N NaOH solution for 35-40 hours

Plate 16 : Fibrils of the fibroin fibre of *Anthrea assama* treated with 1 N NaOH solution for 30 hours

Plate 17 : Fibrils of the fibroin fibre of *Anthrea mylitta* treated with 1 N NaOH solution for 48 hours

Plate 18 : Fibrils of the fibroin fibre of *Attacus ricini* treated with 1 N NaOH solution for 24 hours

なフィブリル、ヒマ蚕繭(*Att. ricini*)では plate 18 の如く幅 $0.2 \sim 0.4 \mu$ の帯状のフィブリルなどがそれぞれ多く存在するように観察された。

つぎにユング型緩斜式マイクロトームを用いて作製した絹糸の横断面の超薄切片試料⁶⁾ (アセトンまたはベンゾール中で包埋材の樹脂を除きクロムシャドウを施す) をまず光学顕微鏡下で観察すると plate 19 の如くフィブロン繊維の横断面には従来金染色で観察された4層構造⁷⁾とは多少異なる不明瞭な層状構造が認められる。この同一試料を電子顕微鏡下で観察すると plate 20 の如く前記層状構造らしきものは全く認められずまた電子線自体の強い回折能に悩まれるためか横断面自体の微細構造によるためか明確なフィブリル構造が認められなかつ

た。

そこで筆者は繊維横断面の化学的超薄切片すなわち繊維の横断面構造を金属箔に転写するレプリカ試料によりフィブリル構造を検討した。まず家蚕繭糸の横断面では plate 21 の如く切断に際してのナイフマークが認められる二つのフィブロン繊維部(F)とその外被のセリシン

Plate 19 : Super-thin section of the sericin-free fibre ; *Bombyx* (Microscope)

Plate 20 : Super-thin section of the sericin-free fibroin fibre ; *Bombyx mori* (Plate 20-26: Electron microscope, Cr-shadowing)

Plate 21 : Replica of the cross section of cocoon fibre ; *Bombyx mori*

F : Fibroin S : Sericin

Plate 22 : A partial enlarging of the same section as shown on plate 21

Plate 23 : A partial enlarging of the cross section treated with 10% H_2O_2 solution for 10 minutes ; *Bombyx mori*

Plate 24 : A partial enlarging of the cross section treated with 10% H_2O_2 solution for 3 hours ; *Bombyx mori*

Plate 25 : Replica of the cross section of cocoon fibre ; *Anthrea yamamai*

Plate 26 : Replica of the cross section of the sericin-free fibroin fibres ; *Anthrea pernyi*

層部(S)に組織的な差異が明確にあらわれ、セリシン層部では無構造なのに比し繊維部には比較的均一な網目状構造が観察される。

この一部を強拡大した plate 22 においてはフィブリル束構造に基づくこの網目状構造がより明確に観察され、比較的均一な径 $0.2 \sim 0.4 \mu$ のフィブリルの断面が認められる。

これら図版からも明らかなように形をくずさず横断面を作ることはむずかしいので、フィブリルの断面が幾分不整となり、フィブリル相互間の間隙が多少大きくあらわれていることなど自然の状態そのままであるとはいえないかとも思われるが、従来からの横断面の光学顕微鏡の観察では認められなかった微細なフィブリル束構造の存在が非常に明瞭に示されている。

またセリシンを除去したフィブロイン繊維の断面を10%の過酸化水素水あるいは1Nの水酸化ナトリウム溶液により10~60分間徐々に腐蝕させて同様にレプリカ試料を作製し観察すると plate 23 の如く一般にナイフマークが消失し前記無処理の場合と同一のフィブリル束構造がより鮮明に観察される。そこで本図版その他多くの写真について測定した結果フィブリルの直径は第1図の如く $0.2 \sim 0.4 \mu$ で、1本のフィブロイン繊維(Brin)の断面には約1000本のこれらフィブリルが存在することが明らかになった。

つぎにこの繊維断面を10%の過酸化水素水あるいは1Nの水酸化ナトリウム溶液によりさらに3~10時間処理して観察すると plate 24 の如く細かいフィブリル束構造を示すが認められ、本図版その他多くの写真について測定した結果、第2図の如く径 $0.2 \sim 0.4 \mu$ のフィ

Fig.1. Showing the relation of the diameter and the number of fibrils; *Bombyx mori*.

Fig.2. Showing the relation of the diameter and the number of fibrils; treated with 10% H_2O_2 solution or 1 N NaOH solution for 3~10 hours; *Bombyx mori*

ブリルはさらに細い径 $400 \sim 600 \text{ Å}$ のフィブリルに分れて行くことが明らかになった。

一方野蚕繭糸のフィブロイン繊維の横断面についてみると plate 25, 26 の如く径 $0.2 \sim 0.4 \mu$ のフィブリルからなるフィブリル束構造が観察され、前記家蚕糸の場合と組織的な差異がほとんど認められないが山蚕繭、柞蚕繭およびタッサ蚕繭糸においては表面部近くに帯状のフィブリルが存在するように観察される場合が多い。

以上のように家蚕、野蚕繭糸のフィブロイン繊維の崩壊過程および繊維横断面において観察される径 $0.2 \sim 0.4 \mu$ のフィブリルは共に形態、大きさなどが全く一致し、またフィブロイン繊維にも繊維の長さの方向に真直に走行した条線^{8,9)}が認められることなどからみても、これらのフィブリルは人為的に生成されたものではなく自然の状態で存在するものと解される。

従来限外顕微鏡およびパラボロイド暗示野装置を用いて観察した結果では、フィブロイン繊維には50~150本の径 $0.3 \sim 3 \mu$ のフィブリルが包含されているであろうと推定されてきたが、筆者の繭糸およびフィブロイン繊維の横断面の電子顕微鏡的観察においては、約1000本の比較的均一な径 $0.2 \sim 0.4 \mu$ のフィブリルからなるフィブリル束構造が認められた。これは従来の方ではフィブリルの大きさが顕微鏡可視以下の電子顕微鏡領域にあるために、その直径も正確に測定されていないこと、およびある幅の間に列んでいるフィブリルの数を数えることが殊に困難であることに基因している。

また径 $0.2 \sim 0.4 \mu$ のフィブリルは過酸化水素水および水酸化ナトリウム溶液により容易に帯状のフィブリル

に展開する性質を有しているので、扁平なフィブリルの存在を確かめることがむずかしいが、家蚕繭では中層部位繭糸において径 $0.2\sim0.4\mu$ のフィブリルの他に幅 $0.6\sim0.8\mu$ の扁平なフィブリルがしばしば存在するように観察され、野蚕繭糸では特にこの扁平なフィブリル（薄い膜状のフィブリルを含む）が顕著に認められる。

従来繊維の崩壊物の電子顕微鏡的観察においては Ruska¹⁰⁾、尾崎氏¹¹⁾らが径 $500\text{\AA}$ のフィブリルを、小原氏¹²⁾が径 $180\text{\AA}$ のマイクロフィブリルを断片的に認めている。したがって筆者が認めた径 $400\sim600\text{\AA}$ のフィブリルおよび径 $100\sim150\text{\AA}$ のマイクロフィブリルはこれらの結果とはほぼ一致することが明らかになった。

なお径 $100\sim150\text{\AA}$ のマイクロフィブリルの長さについては plate 6, 7 では $500\sim3000\text{\AA}$ 、plate 8, 9 では $100\sim1000\text{\AA}$ に観察され、処理を強くすると分解されて短くなる傾向が認められた。したがってマイクロフィブリルの長さは $3000\text{\AA}$ 以上を有するものと解される。

総 括

セリシンを完全に除去した家蚕、野蚕繭糸のフィブロイン繊維を過酸化水素水、あるいは水酸化ナトリウム溶液で処理し崩壊させた試料を電子顕微鏡下で観察すると、径 $0.2\sim0.4\mu$ のフィブリルおよび幅 $0.6\sim0.8\mu$ のフィブリルと多数の径 $100\sim150\text{\AA}$ のマイクロフィブリルで形成された径 $400\sim600\text{\AA}$ のフィブリルとが認められ、径 $0.2\sim0.4\mu$ のフィブリルは過酸化水素水および水酸化ナトリウム溶液により径 $400\sim600\text{\AA}$ のフィブリルの集った幅 $1.0\sim1.2\mu$ の帯状のフィブリルに展開する性質を有しているのが認められた。

また野蚕繭糸および一部の品種（国一、小石丸、国一改、中共繭など）の家蚕繭糸を除く、多くの家蚕の中層

部位繭糸のフィブロイン繊維では外・内層部位繭糸と異なり、過酸化水素水および水酸化ナトリウムなどの試薬に対する抵抗性が極めて低い傾向が認められた。

一方フィブロイン繊維のフィブリル構造を繊維の横断面のレプリカ試料により電子顕微鏡下で観察した結果、繭糸およびセリシンを除去したフィブロイン繊維の横断面には従来の顕微鏡可視で認められた径 $0.3\sim3\mu$ のフィブリルよりも、均一性のある径 $0.2\sim0.4\mu$ のフィブリルおよび幅 $0.6\sim0.8\mu$ の帯状のフィブリルが約 1000 本認められた。

この横断面を 10% の過酸化水素あるいは 1N の水酸化ナトリウム溶液で徐々に処理し腐蝕させると、上記のフィブリル束構造がより明瞭に観察され、またこれらの処理を長時間続けると径 $0.2\sim0.4\mu$ のフィブリルはさらに細い径 $400\sim600\text{\AA}$ の多数のフィブリルに分線することが明らかになった。

最後に本研究について終始御指導を賜った蚕糸科学研究所長平塚英吉博士に深甚の謝意を表する次第である。

文 献

- 1) 平塚英吉；蚕糸試報，1，181（1926）
- 2) 井上柳梧，北沢孝一；日蚕雑，3，203（1932），4，1（1933）
- 3) 小原亀太郎；日蚕雑，6，105（1935）
- 4) 赤堀四郎他 2 名；阪大繊維科研報，5，75（1949）
- 5) 土倉秀次・赤堀宏；電子顕微鏡，2，65（1952）
- 6) 串田 弘；電子顕微鏡，3，199（1954）
- 7) 小原亀太郎；理研彙報，11，466（1932）
- 8) 皆川 基；日蚕雑，1，47（1959）
- 9) 後藤四男，黒川正隆；日蚕雑，20，17（1951）
- 10) H. Ruska；Kolloid Zeits，93，163（1940）
- 11) 尾崎繁夫；繊維科学研究所年報，4（1942）
- 12) 小原亀太郎；繊維文献総覧，6，6，3（1943）