(昭和41年9月9日受理)

絹フィブロインの微細構造に関する研究

第2報 柞蚕テグスとフィルムについてのX線的研究

信州大学繊維学部 平 林 潔・近藤 慶之
呉 祐吉

STUDIES ON THE FINE STRUCTURE OF SILK FIBROIN. (II) STUDIES ON SILK GUT AND FILMS OF TUSSAH SILK FIBROIN BY X-RAY DIFFRACTION.

By Kiyoshi Hirabayashi, Yoshiyuki Kondō and Yūkichi Go

(Faculty of Textile Science and Technology, Shinshū

University, Ueda City, Nagano prefecture, Japan)

Silk glands of matured tussah silkworms were dipped in 1% acetic acid solution for 2 minutes and drawn to make silk gut. X-ray diffraction patterns of these silk guts were obtained and compared with those of poly-L-alanine fibers. From these results it may say that the presence of α -helical conformation are detected in the silk gut. We also found that the skin of silk gut contained oriented β -form and that the core contained some α -helical conformation. These α -helical conformation changed to β -form upon further drawing.

Films of tussah silk fibroin cast after being dispersed with water and dried shows amorphous X-ray patterns with broad rings. It also indicates that some α -helical conformation existed in random coil molecule in silk glands. It is also known that the films show the β -form especially when they are dipped in alcohol or when the solution from which films are prepared are contaminated with haemolymph of the silkworm used.

(Received September 9, 1966)

1. 緒 言

前報¹⁾において柞蚕絹糸腺内凝固フィブロインの結晶形態には処理温度 56°C を境にしてそれ以上では無配列な繊維と同一の結晶状態を示し、それ以下では 7.4 Å 3.7 Å の amorphous に近い幅広い干渉環より α -helix の存在を推定した。

そこで本報では延伸した柞蚕テグスをつくり周囲は β 構造を内部は α -helix 構造をとるのではないかと予想し、poly-L-alanine (PA) と比較しながらX線回折写真を撮影し予想の正しいことを確かめた。

なお絹糸腺内フィブロインを水に分散させて得たフィルムについても条件を変えX線回折写真を撮影し、考察を加えた。

2. 試料および実験方法

2-1 試 料

2-1-1 柞蚕晶テグスの作製

吐糸前熟蚕から後部絹糸腺を摘出し、水洗後1%酢酸溶液に2分間浸せきし、最大限に延伸し試料とした。最

大延伸倍率は13倍であつた。

2-1-2 PA 北大・野に研究室製のPA糸を用いた。

2-1-3 柞蚕フィブロインフィルム

吐糸前熟蚕の後部絹糸腺をとり出し、蒸留水で洗った後水に分散させた。分散速度をはやめるため1cm位の長さに切断し、絹糸腺膜、神経細胞をピンセットで除き数時間室内に放置した。ついで分散した頃を見はからつて、ポリスチレン膜上に流しフィルムを作製した。フィルムの乾燥温度は、室温、50°C、60°C、90°Cであつた。

2-1-4 家蚕フィルム

5れい2日目、中部絹糸腺と後部絹糸腺の中間部を切断、中部絹糸腺の一部を摘出したまま飼育し、1週間後、後部絹糸腺をとり出し、蒸留水に分散させ、柞蚕フィルムと同様フィルムを作製した。

2-1-5 その他のフィルム

アルコール浸せきフィルム：柞蚕フィルムを4時間メタノールで処理した。

再生柞蚕フィルム：柞蚕糸を常法で精練したのち、ジクロル酢酸にとかしフィルムにしたもの。

風乾乳濁色フィルム：フィルム作製の途中周囲が乳濁

Fig. 1. X-ray diffraction patterns of silk gut of tussah silkworm :
(a) drawn by 7 times ;
(b) drawn by 11 times of its initial length.

Fig. 2. α -Patterns : (a) undrawn poly-L-alanine fiber, powdered ; (b) coagulated silk fibroin of *Antheraea pernyi* (from the posterior division of silk gland).

色を呈したものの。

風乾黒色フィルム：絹糸腺内フィブロインを水に分散させる時体液が混入するとこのようなフィルムになる。

60°C 乾燥白濁フィルム：いかなる作用でこうなつたか原因不明。

60°C 黄色フィルム：フィルムというよりも黄色の凝固物がフィルム状に固つたもの、原因不明。

2.2 実験方法

2.2.1. 柞蚕テグス撮影に当つては、中心付近の回折は空気の散乱のため確認が容易でないので真空鐘を設計しその中にカメラを入れ、空気の散乱を防いだ。真空試験の結果性能は 10^{-2} mm Hg まで保証された。

撮影条件は 20 mA, 35 kV で Ni フィルターで濾光した $\text{CuK}\alpha$ 線を用い、中心近傍の干渉は弱いので 20 時間撮影時間をかけた。

2.2.2. フィルムの X 線写真とは主としてラウエカメラを用い柞蚕テグスと同様の条件で 2 時間照射した。

3. 結果および考察

3.1 柞蚕テグスの X 線写真

Fig. 3. Reciprocal lattice diagrams for the α -form (α -helix) of poly-L-alanine (given by L. Brown), the β -form of poly-L-alanine and silk gut (*Antheraea pernyi*).
Symbols : $\circ$, α -phase ; $\bullet$, β -phase ; Δ , a phase of silk gut.

1%酢酸溶液に、7 分間浸せきし 7 倍に延伸した柞蚕フィブロインテグスの真空鐘中で撮影した X 線写真を第 1 図 a に示す。この写真での顕著な点は配向した β 型繊維図形を示す干渉の中に 7.4 Å に相当する強いデバイシェラー環の見出されることである。

これは酢酸に短時間浸せきしたのち延伸されたために、繊維の外周はより β 化され易い状態で延伸されたために柞蚕糸と同一の X 線図を与え、酢酸の滲透の及ばない内部は、絹糸腺内凝固フィブロインと同一の分子形態を示すことを物語るものである。

これをさらに 11 倍に延伸したテグスの X 線図を第 1 図 b に掲げるが、これにはすでに 7.4 Å に相当するデバイシェラー環は赤道線上に弱い弧状になつて残っているのみである。なお赤道線上のより内部の干渉点は中心から約 15 Å, 10 Å, 7.4 Å の面間距離を示す。

柞蚕から吐糸された絹糸の X 線図には 7.4 Å に相当する干渉は見出せない。従つてテグスは延伸するにつれこの 7.4 Å の強い干渉環は赤道線上に収れんすると同時にだんだん弱くなり遂には消失するに至る。

3.2 合成 poly-L-alanine との比較検討

α -helix を含み at random な状態にある poly-L-alanine (PA) の合成物と柞蚕絹糸腺内フィブロインの

X線図を第2図に示す。全く同一の干渉環が見出される。

次に L. Brown²⁾ による PA の α -form (α -helix) と柞蚕テグスの干渉を逆格子により比較したのが第3図である。これから β の干渉点はよい一致を示すが, α -form からの一致は (1010) のみである。L. Brown らの報告によるとこの (1010) は他の干渉点にくらべ強度に格段の相違があり, $(|F|^2)_{obs}$ は $1010=86.0$, $1120=13.6$, $2020=15.0$, $2130=8.35$ であとは5以下) この面間隔は 7.4 Å を示す。

従つてこれら繊維図形においては α -helix の最強の干渉が観測されたものと思われる。

以上の実験的事実から柞蚕フィブロインは絹糸腺内において α -helix 状の分子形態をとり, それらが無配向のまま at random な状態で存在しており, 延伸されるに従い分子鎖 (alanine の繰返し) は伸ばされた β 構造を示すものと思われる。それゆえ延伸の中間過程においては 7.4 Å の赤道線干渉になり, ついに消失するに至るのである。この α -helix の混在は合成 PA から紡糸した繊維の中にも見出される (第4図)。

桐村ら³⁾ も PA 糸を製造しそのX線図より α -helix の混入を認めている。

なお中心近傍の約 15 Å, 10 Å の赤道線干渉は, pleated sheet 間に側鎖の長い他のアミノ酸が入り込み, 幅広い干渉を起こすものと考えられるが, 詳細については

Fig. 4. X-ray diffraction pattern of poly-L-alanine fiber.

Fig. 5. X-ray diffraction pattern of *Bombyx mori* L. silk gut.

検討中である。

3.3 家蚕テグスのX線図

柞蚕テグスに見られるように, β と α -helix の混入がわかったが, 家蚕テグスにおいても β と α との混在の可能性があるので, X線図を撮影してみたところ同様な推定が妥当であると思われる (第5図)。

3.4 柞蚕フィブロインフィルム

種々の試料につき判別した結果を第3表に掲げる。

(1) 透明できれいな常温風乾フィルムは amorphous なX線図を与える。しかし 7.4 Å, 3.7 Å 付近に幅広い弱い干渉環が見出される。これは絹糸腺内フィブロインを 56°C 以下で乾燥したものと同じX線図を与えることから, わずかながら α -helix の混入があるのではないと思われる。第6図に風乾フィルムと体液の混入し

Table 1. Structure of various films of silk fibroins.

Film	Structure
<i>Antheraea pernyi</i>	
dried at 25°C	amorphous
" (milky)	β
" (blackened by haemolymph of the silkworm)	β
" (film, dipped in alcohol)	β
dried at 50°C	amorphous
dried at 60°C	amorphous
" (white)	β
" (yellow)	β
dried at 90°C	β
regenerated, dried at 25°C	β
<i>Antheraea yamamai</i>	
dried at 25°C	amorphous
<i>Bombyx mori</i> L.	
dried at 25°C	α (Shimizu)

Fig. 6. X-ray diffraction patterns of other films of tussah silk fibroin cast and dried at room temperature (ca. 25°C):

(a) normal film;

(b) a film blackened by the contamination of haemolymph of the silkworm used.

た黒色フィルムのX線図を対応させ示してみた。

(2) 絹糸腺内凝固フィブロインが乾燥固化し β 構造をとる 56°C 以上になつてもフィルムでは β とならない。しかし濁っているフィルムは β となる。

(3) 体液がまじると黒色でもろいフィルムができるがこれは第6図(b)のように β 型を示す。

(4) アルコールのような極性溶媒に amorphous なフィルムを浸すと β 型に変わる。

(5) 常法で精練した柞蚕糸をジクロル酢酸にかしフィルムとしたものは β になる(乾燥温度約 70°C)。

以上より透明なフィルムはフィブロイン分子が random な形で存在しており、所々 α -helix 状の分子鎖があるものと思われる。従つて液状絹の分子形態も α -helix 状の分子鎖と coil 状のそれとが水溶液中に混在したような状態で存在しているものと思われる(旋光分散によると約 20% の α -helix を含む)。

液状絹を水に分散させ、得たフィルムに体液の混入、アルコール処理、高温の熱処理を施すと β に転移するのは、著者らの1人呉⁴⁾の研究によるポリ-L-グルタミン酸の pH および乾燥温度による helix-coil 転移と比較し大変興味深い。

4. 結 言

柞蚕絹糸腺内フィブロインを1%酢酸に浸せきし、7倍に延伸したテグスのX線干渉図とPAのX線図とを比較検討し、 α -helix の混入を確認した。

従つて延伸テグス試料は周囲は配向した β 型、内部は α -helix の存在を示すものと思われる。なお延伸すると延伸方向に α -helix は配向し、高度に延伸するについには引きのばされて β 型に配向結晶化する。

次に風乾柞蚕フィブロインフィルムは7.4Åに強い干渉環と3.7Åを中心とする幅広い amorphous halo よりなるX線図を与え、柞蚕絹糸腺内凝固フィブロインと同様フィブロイン分子は α -helix 部分を分子鎖中に含み全体としては random になっているものと思われる。これに体液が混入したり、アルコール等極性溶媒で処理すると β 型に転移する。

この論文は繊維学会 1965 年秋期研究会で発表した。

文 献

- 1) 呉 祐吉, 平林 深, 近藤慶之; 繊維誌, 23, No. 5, 199 (1967)
- 2) L. Brown, I. F. Trotter; *Trans. Faraday Soc.*, 52, 537 (1956)
- 3) 桐村二郎他, 蚕試報, 17, 536 (1962)
- 4) 呉 祐吉他; 高分子学会年次大会で発表 (1967. 5. 28)