

# 絹フィブロインの構造とその凝固機構に関する研究

## (予報) 後部絹糸腺内容物の性状に就て

呉 祐吉\*・高木春郎\*\*・小泉孝雄\*

Yukichi Go, Haruro TAKAGI and Takao KOIZUMI: On the Structure and the Coagulation Mechanism of Silk Fibroin, (Preliminary Report) On the Behaviour of Silk Gland Fibroin from Posterior Division.

(1955年12月10日受理)

### 緒 言

天然並びに人造繊維がフィブリル乃至マイクロフィブリル構造を持ち、繊維の性質に対して重要な意義を有する事はよく知られているが、そのフィブリル構造が繊維が凝固して繊維形態を形成する時に如何にして発生するか、又その繊維を構成する高分子化合物の化学構造と如何なる関係に在るか、に就ては殆んど解明されていない。フィブリル構造は牽引凝固によつて繊維形態を発生するような、絹及び人造繊維の場合に於ても亦、生体組織の自然成長によつて形成される綿、麻或は羊毛の様な天然繊維の場合に於ても見出される。

家蚕体内絹糸腺が繊維状に凝固する場合には一般に牽引力が必要とされているが、Mercer<sup>1)</sup>は最近絹糸腺溶液を自然に放置する丈でも電子顕微鏡によりフィブリルの形成が見られる事を報告している。この様な自然凝固によつて形成されるフィブリルと牽引力によつて凝固形成される絹繊維のフィブリルとが同じ構造を持つていると考へて差つかえないものであろうか?

又 Mercer は再生絹糸水溶液の場合は自然放置によるフィブリルの生成は見られないと報告しているが、後藤氏等<sup>2)</sup>は同様の実験に於て絹糸腺水溶液と同様のミセル乃至ミセルリングが見られると報告している。

次に最近成田氏<sup>3)</sup>は再生絹糸水溶液のリバノール分離乃至電気泳動的研究から絹フィブロインはフィブリン(結晶性)並びにプラスチック(非結晶性)の二成分からなり、後者が前者の保護コロイド的役割を演じているものと推定した。

著者等は再生絹糸水溶液と、絹糸腺内容物の分散液にとりて、はたしてフィブロインが同じ化学的乃至コロ

イド化学構造を有するか否か、又電子顕微鏡下に見られる自然凝固によつて発生するフィブリル構造と、牽引凝固によつて発生するフィブリル構造とは果して同じであるかどうか、若し異なるものとすればその発生機構並びに構造の差異が何処に存在するかを明らかにしようとしてこの研究を行つた。

これらの疑問に対して決定的な結論を得る迄には到達して居らないが現在迄の研究結果を報告する。

### 実験及び実験結果

#### 1) 試料の調製及びその一般性状

熟蚕に近い数十頭の家蚕の後部絹糸腺をとり蒸留水で洗滌後蒸留水中にて切断し極めて静かに攪拌しながらフィブロインを溶出し、30分後遠心分離(4000r.p.m)をなし透明粘潤なフィブロイン溶液(以下これを Fsol. と略記する)を作り実験に供した。

Fsol. は中部絹糸腺内容物(フィブロイン及びセリシン)に比し蒸留水中への分散は速やかであり、又分散液もかなり安定である。

家蚕と同時に本邦有明柞蚕についても同様後部絹糸腺内容物の分散液を作り一部の実験に供した。(以下この液を T Fsol. と略記する。)

後部絹糸腺はフィブロインのみでセリシンを含まないと言われているが<sup>4)</sup>、上の如く調製された Fsol. 及び T Fsol. は、絹糸腺外皮細胞中の可溶物質等或る程度の不純物の混在はまぬがれぬと考へられ、T Fsol. は明瞭なタンニンの反応を示した。

#### 2) 自然放置による凝固

##### a) 肉眼的観察

Fsol. を数種の条件下に放置した場合、その凝固を肉眼的に観察した結果は第一表の如くである。

\* 信州大学繊維学部 繊維物理学研究室

\*\* 同上 製糸学研究室

第1表

放置条件 \ 放置時間	25hr	100hr	170hr
室内室温	—	+	+
CO <sub>2</sub> なし室温	—	—	+
CO <sub>2</sub> , 光なし室温	—	+	+
60°C	—	—	±

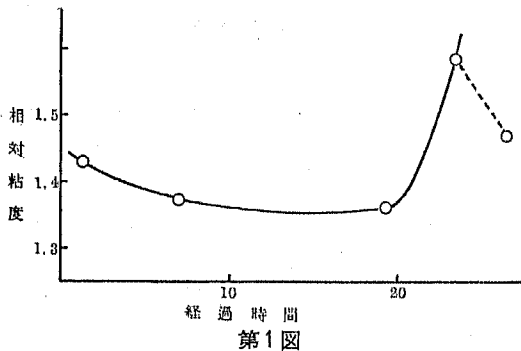
備考 +:凝固, ±:白濁, -:わずかに白濁(始めと殆んど同じ)

以上の結果からではCO<sub>2</sub>や光の影響は明瞭でないが何れの場合に於ても室温に放置すれば自然に凝固することは確実である。しかし60°Cに保つ場合は170時間放置しても凝固しない事が認められた。

尙 Fsol は90°Cに加熱しても何等変化を受けなければ T Fsol は直ちにゲル化を起す。家蚕と柞蚕の相異として興味ある事実と考えられる。

#### b) 粘度の変化

室温に放置した Fsol の粘度の時間的变化を測定した結果は第1図の如くである。



第1図

粘度の測定は Ostwald 粘度計を用いた。第1図の結果を見ると粘度は放置後約20時間経過する迄は徐々に下り以後急激に増大して白濁するが凝固物の分離と共に低下する。

#### c) 電子顕微鏡的観察

上記粘度の測定を行いつつ各段階のものを電子顕微鏡(JEM3型)により観察を行った。試料をメッシュに採る際微小な流動は除き得ず、又電子顕微鏡にかける前に熱乾燥されるので必ずしも分散状態そのものを示すとは考えられないけれども、この観察の結果をみると溶解直後のものには径80m $\mu$ 程度の長い糸状のもの或は更に大きな粒子が見られ、20時間放置すると大部分は10~20m $\mu$ 程度の球状のものに移行し、更に以後のものに於て

はこれ等の粒子が再び連なつたと思われる糸状或は網状のものが見られた。

### 3) イオンによる凝固

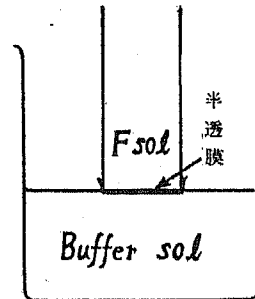
#### a) pHと凝固との関係

Fsol は蛋白質溶液であるからpHにより凝固性の異なる事は当然と考えられる。緩衝液としてpH 8, (Sürersen: 磷酸塩) pH 5.6, 3.6 (Walpole: 酢酸塩) 及び pH 1.6 (Clark-Lubs: HCl, KCl) の4種を調製しそれぞれをFsol に注加した。pH 8の緩衝液とは安定に混合するが、他の3種の場合は如何に静かに注入しても緩衝液の流れに沿つて凝固が起き、等電点より酸性側へ一番離れていると推定される pH 1.6の場合に最も著しい凝固が観察された。

なお Fsol は上記の如く pH 8の緩衝液と安定に混合するが、緩衝液の濃度が或る濃度を越えると凝固を起し、又この沈澱は稀釈により可逆的に溶解することが観察された。

#### b) 半透膜によるイオン濃度の調節

上記の如く酸性側の緩衝液の場合には極めて静かに注入しても Fsol は凝固を起す。然し乍らこの場合に於ても尙お注加流動による剪断力が完全に除かれているとは言いが得ない。力学的外力を皆無にしても果して凝固が起るか否かを検討するため第2図の如き操作により実験を試みた。



第2図

一例として pH 4.6 Walpole 緩衝液と接触させた際に観察された状況を第2表に示す。

以上の結果より外力を全然加えなくても Fsol は酸性側の緩衝液により凝固を起す事が認められた。

然し再生絹糸水溶液の場合には pH 8の場合のみでなく酸性側(pH 3.6に至る迄)に於ても安定な混合液が得らる事が報告されている。この相異は再生されたフィブリンと生体内フィブリンの構造上の差異に基くも

第2表

経過時間 (hr)	状 況
0	Fsol. は殆んど透明
0.5	膜面近く僅かに白濁を生ず
1.0	膜面全体に白濁を生ず
1.5	液 (Fsol.) 全体に白濁
7.0	下部にゲル状物生成
11.0	下部及び壁面にゲル化が起き上部は透明になり Fsol. の特性を失う

のと思われる。

c) 凝固物のX線の観察

上のb)の実験により得られたゲル状凝固物の湿潤状態のもの(試料A)と之を真空乾燥したもの(試料B)とのX線廻折図形を撮影した。デバインシラー環から計算されたdの値は夫々第3表の如くである。

第3表

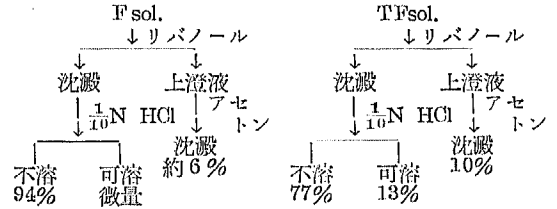
		d	l <sub>0</sub> (強度)	清水氏 <sup>1)</sup>
試料A (湿潤)	I	7.69	f (強い)	R <sub>1</sub> 7.5
	II	4.55	pp(非常に弱い)	R <sub>2</sub> 4.5
	III	3.28	f	R <sub>0</sub> 3.2
試料B (乾燥)	I	9.54	mf (やや強い)	R <sub>1</sub> 9.7
	II	4.40	mf	R <sub>2</sub> 4.6
	III	4.22	ff (非常に強い)	R <sub>3</sub> 4.3
	IV	3.89	pp	
	V	3.72	pp	R <sub>4</sub> 3.6

以上より試料Aは清水氏のα型に相当し試料Bはβ型に相当すると見なす事が出来る。

4) リバノールによる分離

成田氏<sup>7)</sup>はリバノールを用いて再生絹糸水溶液よりフィブロインをフィブリンとプラスチンに分離する事に成功した。著者等は Fsol, TFsol. に対して同氏と平行的な実験を試みた。濃度約1%の Fsol. 及び TFsol. に対し1%のリバノール一滴を加えると Fsol. は液面近くに餅状の凝固物を生じ, TFsol. は液全体が混濁する。何れもリバノール添加量約5%迄は沈澱を生じそれ以上では沈澱の増減が見られない。かくして大部分のF及びTFは沈澱し残液にアセトンを加えて沈澱する量はわづかであり又リバノールによる沈澱は 1/10N HCl に殆んど不溶である。即ち第4表の如くである。

第4表



上記実験条件は成田氏の場合と厳格には一致してはいないが、リバノールを加えた時の沈澱量と上澄液にアセトンを加えた際に生ずる沈澱量の割合が成田氏の場合には15~20 : 75~80であるのに対し Fsol の場合には逆で94 : 6となり非常に異相が認められる。

5) 電気泳動による観察

島津製 Tiselius 電気泳動装置を用い Fsol. 及び TFsol. の電気泳動の実験を試みた。イオン強度0.1の緩衝液中の Fsol, TFsol. の濃度を1%程度にする事の困難性並びに Cell. に試料液を、凝固を起さずに、注入する事の困難等のために結局安定な pH 域 (pH 8 及び pH 10) に於いてのみ実験を行い得た。

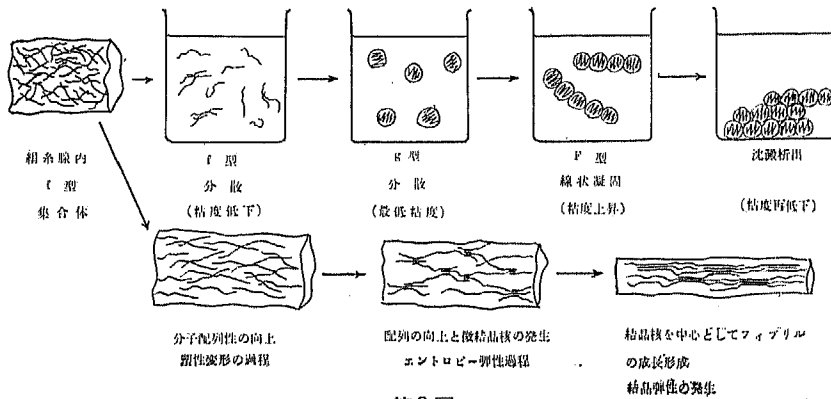
この結果得られた電気泳動図は成田氏の場合の如く明瞭な二成分を示さず、非常に強度の強い一つのピークの裾に微小な数成分を現わす泳動図が得られた。

然しながらこれ等微弱の山が実際に液状フィブロインの成分に起因するか或は Fsol. 調製の際に混入した後部絹糸腺外皮細胞中の可溶物質に起因するものであるかは本実験の結果のみからは断定する事が出来ない。

考 察

本実験は家蚕及び柞蚕の後部絹糸腺内容物の水溶液についてのみ行つたものである。従つて絹糸腺内に存在する時の絹フィブロインの構造並びにその吐糸に際しての凝固機構についての直接的な知識を吾々に提供するものではないけれども、今回の実験結果から推測される二三の点に就て考察を加える事にする。

a) 家蚕後部絹糸腺の内容物(フィブロイン)の水溶液は、これを静かに放置する事により自然に凝固する。然も水に分散してから凝固する迄の各段階に就て、粘度の変化を測定し、又分散粒子の形態の変化を電子顕微鏡下に観察すれば、フィブロインは一度基本的の粒子に迄分散し、それが更に一次的に凝固してフィブリル状を呈するものと思われる。絹糸腺の伸長に対する弾性的性質からの考察<sup>8)</sup>又 G ≠ F, g と f 転換に関する最近の理



第3図

論<sup>9)</sup>等を参照して、この現象の説明を試みれば次の様な一つの可能性が考えられる。フィブロイン分子は絹糸腺内に於てはむしろ折り畳まれていない“f型”としてからみ合った集合体として存在する。これを水に分散すると次第に単分子へ分離し、尚、ポリペプチド鎖は折り畳まれてf→g転換を行い溶液の粘度は minimum に到達する。かくして出来た“g型”の単位粒子は再び一次的に凝集してg→F転換を行い微細なフィブリル状凝集物となる。

この過程と絹糸腺内率引凝固に於けるフィブリル形成過程とを比較して図示すれば第3図の如くである。然しながらこの可能性の考察は、さらに直接的な研究手段、即ち光散乱法、X線小角散乱法等によつて絹糸腺をそのまま或はコロイド溶液に何等機械的作用を及ぼすことなしにその分子形態或は凝集状態を測定する事によつて始めてその妥当性が検討される。

b) 次に、後部絹糸腺の水溶液中のフィブロインは酸性側の緩衝液により外力を全然加えなくても凝固を起し、リボールの添加によりその大部分が沈澱し、又電気泳動により明瞭に2成分に分離しない事実から考えて、再生絹糸溶液中のフィブロインとは異つた構造を持つものと考えなければならない。即ち再生絹糸溶液からリボール添加によつて分離されるフィブリン及びプラスチンの二成分は銅エチレンジアミンによる溶解反応によつて始めて分れたものの如く、絹糸腺中に於ては何等かの結合によつて一体となつて存在しているものと考えられる。

この推定も亦更に絹糸腺水溶液と再生絹糸水溶液との同条件下に於ける平行的実験の遂行によつて検討されなければならない。

c) 柞蚕、後部絹糸腺フィブロイン水溶液は90°Cに於てゲル化する事が認められたが、家蚕の場合とは明瞭に異なる点である。言うまでもなく柞蚕糸フィブロインはアミノ酸組成に於ても家蚕絹糸フィブロインとは異なり、そのX線図形もポリエーラニンと殆ど相似の図形を示すことが知られている<sup>10)</sup>。家蚕及び柞蚕フィブロインの構造並びに性状の相異は今後の系統的比較研究にまたなければならぬ。

終りに臨みこの実験のために貴重な試料を提供して下さつた長野県蚕業試験場松木支場長山崎寿氏、電気泳動装置の使用に關し多大の便宜と助力を賜つた本学医学部細菌学教室田崎忠勝教授並びに勝又昭司助手、及び電子顕微鏡的觀察に對しての当学部沢路雅夫助手の努力に對し深甚の謝意を表するものである。

## 文 献

- 1) E. H. MEROER : Australian J. of Scientific Research, Series B 5, 366 (1952)
- 2) 後藤四男・小林恵之助 : 日蚕誌 23, 214 (1954)
- 3) 成田 耕造 : 日化 75, 1005, 1008 etc. (1954)
- 4) 荻原 清治 : 蚕繭学 60頁 (1951)
- 5) 成田 耕造 : 日化 75, 1005 (1954)
- 6) 清水正徳・呉祐吉 : X線纖維構造論 76頁 (1944)
- 7) 成田耕造 : 日化 75, 1008 (1954)
- 8) 岡小天・佐藤良泰 : 絹を中心とする蛋白質, 高分子に關するシンポジウム講演集 (日蚕中部) 10頁 (1955)
- 9) 大沢文夫 : 同上シンポジウムに於いて講演(未発表)
- 10) E. J. AMBROSE, C. H. BAMFORD, A. ELLIOT, & E. HANBY : Nature 167, 264 (1951)