

絹フィブロイン結晶性分画試料より Silk I 型結晶を得るための透析条件

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者	中島, 靖 高梨, 克弘 奥山, 健二 平林, 潔
巻/号	56巻1号
掲載ページ	p. 83-84
発行年月	1987年2月

絹フィブロイン結晶性分画試料より Silk I 型結晶を得るための透析条件

中島 靖・高梨克弘・奥山健二・平林 潔

小金井市中町・東京農工大学工学部 (〒 184)
(1986年6月28日 受領)

YASUSHI NAKAJIMA, KATSUHIRO TAKANASHI,
KENJI OKUYAMA and KIYOSHI HIRABAYASHI :
Dialysis condition for obtaining Silk I modification
from crystalline fraction of silk fibroin

清水 (1941) は家蚕絹フィブロインの結晶形態について、液状絹フィブロインの乾燥固化条件の違いによって特徴的な2つの結晶形態をみつけ、それぞれ α 型, β 型と名づけた。その後, Kratky *et al.*

(1950) もこれらに対応する2つの結晶形態を見つけ準安定型を Silk I 型 (α), 安定型を Silk II 型 (β) と名づけた (本論文では α -ヘリックスとの混同を避けるため, Kratky *et al.* の Silk I 型, Silk II 型の名称を用いる)。一方, 絹フィブロインの α -キモトリプシン分解により得られた結晶性部分 (Cp 分画) においても同様な2つの結晶形態の存在が確認されている (小西ら, 1967)。絹フィブロインにおいては Silk I, Silk II 型構造の他, 結晶化条件によっては非晶性構造も生じるが, Cp 分画においては非晶性構造は得られず, 結晶構造の研究には結晶性のよい Cp 分画試料を用いる方が有利である。

著者らは Silk I 型結晶構造の解明を目指して, この Cp 分画試料から Silk I 型結晶を調整し, X線, 電子線回折によって, その構造研究を行うことにした。しかし, 試料調整において定常的には Silk I 型結晶が得られないと云う問題が生じた。関連する文献を調べた結果, 絹フィブロイン水溶液は pH 9 以上で製膜すると Silk I 型となる (Magoshi *et al.*, 1983), Cp 分画の銅エチレンジアミン水溶液では弱酸性から pH 11 程度で I 型となる (Lotz *et al.*, 1982), Cp 分画の臭化リチウム水溶液では, 結晶形態は試料濃度に依存する (小西, 1980), また pH 5 以上では I 型となる (馬越, 1985) 等の

報告があったが, 詳細な結晶化条件についての記述はなく, 再現性よく Silk I 型結晶を得ることが出来なかった。そこで本論文では Cp 分画の臭化リチウム水溶液から, 透析法により Silk I 型結晶を得るための結晶化条件を系統的に調べた結果について報告する。

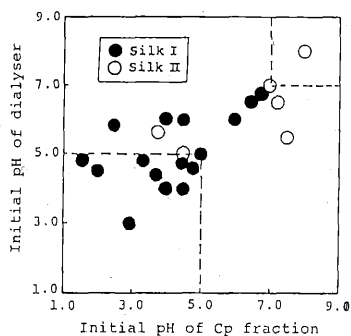
材料と方法: (1) Cp 分画試料の調整: 繭層を精練して得た絹フィブロイン 3g を, 精製 8M 臭化リチウム水溶液 60 ml に 40°C にて約3時間溶解, 同量の蒸留水にて希釈した後, 不溶解物をガラスフィルターで除いた。ろ液をセルロースチューブに入れ, pH 7 に調整した水に対して透析した。得られたフィブロイン水溶液の濃度を約 1% とし, 0.2M リン酸バッファーをフィブロイン水溶液と同量に加え, pH を 7.8 に調整した。試料溶液を 37°C に加温後, 塩化カルシウム結晶約 0.1g と α -キモトリプシン 30 mg を加え, インキュベーターで24時間酵素分解を行った。得られた白色沈殿物を水, メタノールで洗った後, エーテル, クロロホルムにて脱脂した。この試料をさらにメタノール, 水で洗った後, 凍結乾燥により Cp 分画試料を得た (収率 ca. 40%)。

(2) 透析: i) Cp 分画試料を 8M 臭化リチウム水溶液に 1% 溶解し, pH 3, 4, 5, 6, 6.5, 6.8, 7, 8 の8種の試料溶液を調整した。これらの溶液を, 試料溶液と同じ pH に調整した水に対して透析を行なった。また, 水の pH が 4~7 の範囲で試料溶液の pH を種々変えて透析を行った。

ii) 試料濃度を 0.1, 1.0, 5.0% とした 8M 臭化リチウム水溶液を水に対して透析した。なお, 透析内液, 外液共にそれぞれ pH 4, 5, 6, 7, 8 に調整し, 透析温度は 20°C とした。濃度 1% の試料については, 結晶形態が変わる境界領域の pH 6.5, 6.8 及び pH 9.0 でも透析を行った。また, 濃度 1% の試料について 3°C でも透析を行った。

透析時の pH 調整には酢酸とアンモニア水を用いた。透析により得られた沈殿物は分離, 乾燥し, X線回折により結晶形態を調べた。X線回折には, Ni ろ過した Cu-K α 線を用い, 平板カメラにより回折像を撮影した。

結果と考察: 図1に Cp 分画溶液の初期 pH と透析外液の初期 pH が分画試料の結晶形態に及ぼす影



第1図 透析初期 pH の結晶形態に及ぼす影響

響について示した。試料溶液の pH と透析外液の pH が等しい時(図1の対角線上)には、pH7 を境にして、それ以上では Silk II 型、以下では I 型が得られた。このことは、試料の結晶形態は結晶化時における pH と直接に関係しており、その境界が pH7 付近であることを示している。しかし、バッチの異なる試料については、酵素分解の微妙な違いによるのであろうか、外液の初期 pH が5~7の透析において4試料でII型が得られている。そこで、確実に望みの結晶形態を得るためには、Silk I 型では透析内液、外液のいずれの pH も 5.0 以下の酸性側で、Silk II 型では 7.0 以上のアルカリ側で透析すれば安全である。一方、絹フィブロイン水溶液からは製膜 (Magoshi *et al.*, 1983) からでも透析法によってもアルカリ側で I 型構造が得られる。これは絹フィブロインの非晶部分が結晶化時に強い影響を与え

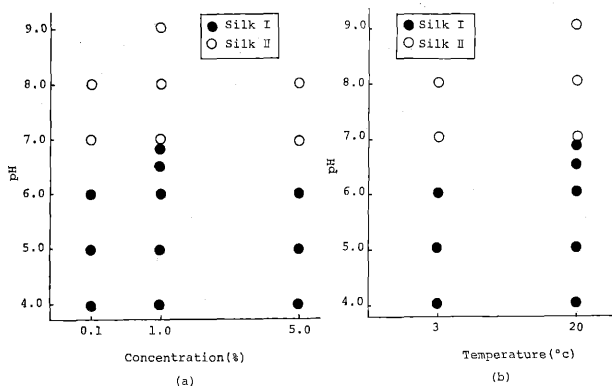
ているためであろう。

次に溶解濃度と、透析温度の影響について示す。

図2-(a) は Cp 分画試料の溶解濃度と透析初期 pH の関係について、2-(b) 図は透析温度と透析初期 pH の関係について示したものである。これらの結果から、いずれの場合も測定範囲内では試料濃度、温度ともに結晶形態に影響しないことが明らかとなった。Cp 分画試料から Silk I 型結晶を得る場合、通常試料濃度範囲、実験温度では透析時の水素イオン濃度のみが結晶形態に影響し、Silk I 型構造は pH5 以下の酸性側で再現性よく得られることがわかった。

文 献

- 小西 孝 (1980) : 統絹糸の構造, 259 pp., 信大繊維学部, 長野.
 小西 孝・近藤宗夫・黒川昌孝 (1967) : 織学誌, 23, 64-69.
 KRATKY, O., SCHAUNSTEIN, E. and SEKORA, A. (1950) : Nature, 165, 319-335.
 LOTZ, B., GONTHIER-VASSAL, A., BRACK, A. and MAGOSHI, J. (1982) : J. Mol. Biol., 156, 345-357.
 馬越 淳 (1985) : 高分子, 34, 98-101.
 MAGOSHI, J., MAGOSHI, Y. and NAKAMURA, S. (1983) : U. S.-Japan Seminar on Polymer Liquid Crystal, 299-318.
 SHIMIZU, M. (1941) : Bull. Imp. Seric. Exp. Sta., Japan, 10, 475-494.



第2図 透析初期 pH と試料濃度 (a), 透析温度 (b) の結晶形態に及ぼす影響