

## 絹フィブロインの構造と赤外スペクトル

黒 岩 清 石 黒 昌 孝 荒 木 光 子

遠赤外領域にて Polyglycine, Poly - L - alanine などの基本構造を基礎として、家蚕糸と野蚕糸の骨格振動を検討した結果、両者とも 型構造を有し、型でない事が解つた。スペクトルに両者の差が認められるのは側鎖間又は側鎖と主鎖間の相互作用による結果であることが認められた。又両者の鑑別は遠赤外領域を比較検討する事によつて更に容易になる。

### 1. 緒 言

我々は家蚕糸と野蚕糸の赤外スペクトル(4000 ~ 600 $\text{cm}^{-1}$ )による簡易鑑別法についてすでに報告してきた。<sup>(1-3)</sup>即ち、絹フィブロインの主成分は、アラニンとグリシンでありそれらの含有率による赤外スペクトルの相異によつて、家蚕糸と野蚕糸との区別は容易になつた。今回は今迄の報告とその後の研究(遠赤外による main chain の分子形態)及び調査した結果を報告する。

### 2. 方 法

使用した絹及び poly - L - alanine は蚕糸試験所から提供された試料を精製して用いた。赤外分光器は日立 225, grating, 日本分光 IR - S を用い、特に 700 ~ 200 $\text{cm}^{-1}$ の遠赤外領域を詳細に検討した。

各試料はトリフルオール酢酸(TFA)に%溶解し、ポリエチレンフィルム上でフィルムを作り、セロハン状試料として測定した。フィルムと共にメタノール処理したフィルムも用い、分子構造の変化を追究した。

### 3. 結 果 と 考 察

絹フィブロインはアラニンとグリシンが主成分のため

その赤外スペクトルも殆んど両者の混合物のような吸収を示す。そこで絹フィブロインの赤外スペクトルを解析するにさきだつて、polyglycine, poly - L - alanine 及びそれらの混合物と共重合体の構造と赤外スペクトルを検討する。

#### A. polyglycine :

polyglycine の構造は  $\{-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{NH}\}_n$  で polypeptides の基本的なもので、今迄かなり研究されている。

polyglycine には二つの異なつた構造があり、TFA 溶液、DCA 溶液(ジクロール酢酸)から得られたフィルム状物質は B 型(Extended)即ち polyglycine と名付けられ、LiBr の飽和水溶液から分別沈澱して得られた粉末は 3 回ラセン構造を有し polyglycine と呼ばれている。<sup>4)</sup> この polyglycine 構造は最近注目の的となつており、コラーゲン、ゼラチンに見られる構造のものと類似している<sup>5)</sup>。更に昨年、著者<sup>6)</sup>らは polyglycine 構造中に  $\text{OH}\cdots\text{O}=\text{C}$  水素結合が存在していることを明らかにした。このように polyglycine 型と型の構造

## 絹フィブロインの構造と赤外スペクトル

polyglycine I	polyglycine II	Assignment
3295 $\text{cm}^{-1}$	3290 $\text{cm}^{-1}$	Amide A
<u>3075</u> "	3090"	Amide B
	2977"	CH <sub>2</sub> ····O Bonded CH <sub>2</sub> str
2920"	2935"	CH <sub>2</sub> str
<u>2850</u> "	2850"	"
	2805"	CH <sub>2</sub> ····O Bonded CH <sub>2</sub> str
1625"	1640"	アミド I
1520"	1550"	アミド II
<u>1432</u> "	1432"	CH <sub>2</sub> Bend
	1414	CH <sub>2</sub> ····O Bonded CH <sub>2</sub> Bend
<u>1015</u> "	1027	-(C <sub>n</sub> ) <sub>n</sub> skelt
	905	(?)
708"	750	アミド V
	698	
	573	
217"	363	
136"	265	

の違いはX線、赤外スペクトル(遠赤外領域も含む<sup>7)</sup>)などによって容易に区別することが出来るようになった polyglycine 型、型の赤外スペクトルの主な吸収位置及び各々の帰属は表1の如くである。

なほメタノール処理しても、polyglycine の分子構造には全く変化がみられない。

## B・poly-L-alanine

poly-L-alanine は  $\text{[CO-CH(CH}_3\text{)-NH]}_n$  の構造式を有し、polyglycine よりも炭素の数が一つ多いこの poly-L-alanine には  $\alpha$ -helix 型と B 型 (Extended) の二つの型が知られている。更に chainvibration の検討から Right-handed  $\alpha$ -helical form であって left-handed  $\alpha$ -helical form ではない事も証明された<sup>8)</sup>。

表2は poly-L-alanine の低波数領域の吸収位置を示している。このように  $\alpha$  型、B 型の赤外スペクトル上の違いは  $924\text{cm}^{-1}$ ,  $966\text{cm}^{-1}$  として遠赤外領域にて明らかに区別される。Elliott<sup>9)</sup>らはこの  $924, 966\text{cm}^{-1}$  の吸収を重大視し、絹フィブロイン構造の解明にこの二つの吸収バンドを利用した。

## C・polyglycine と poly-L-alanine の Mixture (1:1) と Co-polymer (1:1)

混合物の赤外スペクトルは各々の吸収の Mixture で、お互になんの interaction も起していない。即ち、polyglycine は  $\alpha$  型 (Extended), poly-L-alanine は  $\alpha$  型となっている。

しかし Co-polymer はその構造を少し異にし、グルタミン部分は polyglycine 型、アラニン部分は poly-L-alanine の  $\alpha$  型構造を示している。

これは各々が余り重合度の大きくないブロック重合を起しているものと考えられる、又各々の吸収に帰属されない吸収は、ブロック重合の接合点及び交互に配列したような非常に小さい Segment による構造のくずれと考えられる (Fig1 参照)

## D・家蚕系の赤外スペクトル

表3は家蚕系の低波数領域の吸収位置を示した。

このように家蚕系の構造は  $\alpha$ -poly-L-alanine、B-poly-L-alanine、polyglycine となどに帰属される混合スペクトルとして認められ、必らず

表2 Poly-L-alanine の a 型と b 型の赤外吸収位置

型		B 型	
290 $cm^{-1}$	(M)	244 $cm^{-1}$	} 宮沢ら 8) のデータによる
330"	(M)	298"	
375"	(S)	305"	
528"	(S)	425"	
615"	(Br. s)	437"	
657"	(S)	579"	
690"	(W)	605"	
772"	(W)	662"	
890"	(M)	688"	
905"	(M)	741"	
1048"	(S)	830"	} 注 ○印は特長な吸収バンド S } 吸収の強・弱を意味する M } W }
1105"	(M)	890"	
1165"	(S)	905"	
1270"	(S)	924"	
1305"	(S)	966"	
		1047"	
		1105"	
		1165"	
		1220"	
		1270"	
		1305"	Br } 幅広い

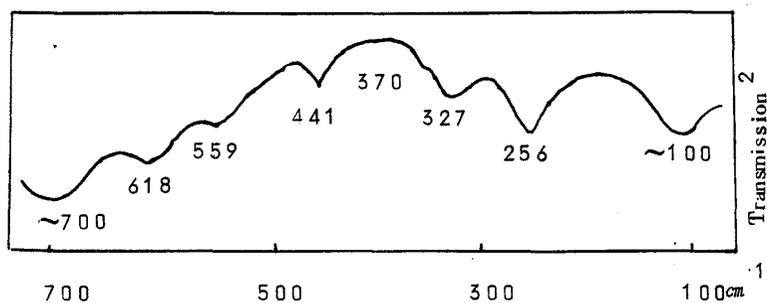


Fig1 Copolymer (gly:L-alan 1:1)  
From ACN solution<sup>10)</sup>

## 絹フィブロインの構造と赤外スペクトル

しも一つの構造（又は）に帰属されない。しかしランダム構造に帰属することも出来ない、なぜならば、家蚕糸はX線研究によつて明らかに結晶性を有しているからである。

それ故、amorphousな部分と結晶性部分が共存し、結晶部分ではなんらかの型で規則性のある配列をしていなければならない。この原因の一つとして考えられることは家蚕糸のアミノ酸組成中<sup>11)</sup>Try, Ser が各々10%含まれ野蚕糸の含有率より多く含まれていることである。

そのためにMain chain conformationが見つけれないものと考えられる。

(Fig. 参照)

表3 家蚕糸の赤外吸収位置

240cm (W)	930cm(W)
265 " (W)	975cm(W)
335 " (M)	1015cm(M)
550 " (S)	1065 " (S)
650 " (S,Br)	1130 " (M)
720 " (S)	1170 " (M)
800 " (M)	1200 " (S)
830 " (M)	1230 " (S)
905 " (W)	1330 " (S)

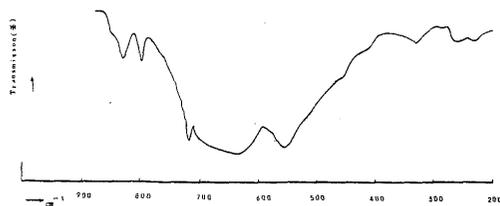


Fig 2 家蚕糸の遠赤外吸収スペクトル(Film)  
Far in frared spectra of  
Bombyx mori

## E. 野蚕糸の赤外スペクトル

Fig3 と表 4 に示したように野蚕糸の赤外スペクトルはほとんど poly-L-alanine に類似しているそしてメタノール処理をすると骨格振動領域は変化しない（型）にも拘らず  $924,966\text{cm}^{-1}$  に全く新しいバンドが現れる。しかし Elliott らが帰属したようにこの二つの新しいバンドが型に帰因するとは考え難い若しメタノール処理によって型に変化したのなら、遠赤外領域においても同様に、主鎖の変角、ねじれ振動及び CO...NH 水素結合の伸縮と変角に寄与される振動が型にならなければならない。又、polyglycinepoly-L-alanine がメタノール処理によつて、何等の変化も受けないことから考えても野蚕糸だけがそのMain chainを変化させるとは考え難い。

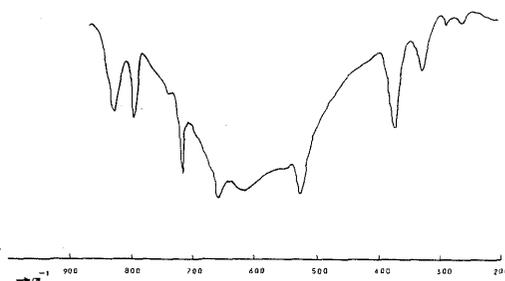


Fig 3 野蚕糸の遠赤外吸収スペクトル  
(Film) Far infrared spectra  
of Wildsilk

表4 野蚕糸の赤外吸収位置

270cm	905cm
290 "	1048 "
330 "	1105 "
377 "	1130 "
528 "	1170 "
620 "	1200 "
660 "	1265 "
720 "	1330 "
800 "	1380 "
890 "	

## 4. 結 論

絹フィブロインのように各種アミノ酸(約15種)を含有している構造がどのような形をとるかという事は、その結晶部分と非常結晶部分とに寄与するアミノ酸の種類、又それらの配列順序によつて或る程度決定される。すでに多くの人々によつてアミノ酸の配列を色々に変化させたポリマーが合成され、それらの Conformation もかなり報告されている、例えば  $\left(\text{Gly-L-poly-L-Hyp r} \rightarrow \text{n}, \left(\text{Gly-pro-Gly} \rightarrow \text{n}, \left(\text{Gly-pro-Ala} \rightarrow \text{n}\right.\right.\right.$  等の構造を有する poly triple peptides はコラーゲンの如き Triple chain helix を有すると報告されている<sup>12)</sup>。しかしこれでも三種のアミノ酸が規則正しく配列されているが故にその構造は解明し易い、しかし絹フィブロインのように数多くのアミノ酸が含まれた構造はアミノ酸の規則ある配列、side chain 間の interaction がより複雑となる。

絹フィブロイン骨格はどんな種類のアミノ酸であろうとも C-O-N のくり返し構造をとる。( Fig 4 )

このように Main chain は単一アミノ酸のポリマーと同じであるが、side chain の大きさ、水素結合 side chain - Main chain 間の interaction がそれぞれの赤外スペクトルに大きく影響する結果複雑になるものと考えられる。

野蚕糸、家蚕糸の結晶構造についての報告はかなり以前から研究され、野蚕糸フィブロインの結晶構造は赤外スペクトルと同様に家蚕糸と全く異なっている。Warwicker<sup>14)</sup> は絹フィブロインの X 線研究により Bombyx wori (家蚕糸) Athera mylitta Anaphemoloneyi の三つのタイプの結晶形を区別し、いずれも斜方晶形に属するが、単位胞の3つのデイメンジヨンのうち二つは共通の大きさを持ち、他の一つは3群独特のものであると説明している。これは、チロシン、その他の大きなアミノ酸基が C 軸方向に広がり格子の乱れも同時に起す可能性があると考えられる。この C 軸方向の乱れは、当然家蚕糸と野蚕糸では異なり野蚕糸の方がよい小さいものと推定される。

野蚕糸の構造は側鎖に簡単なアルキル基 (CH<sub>3</sub> - ,

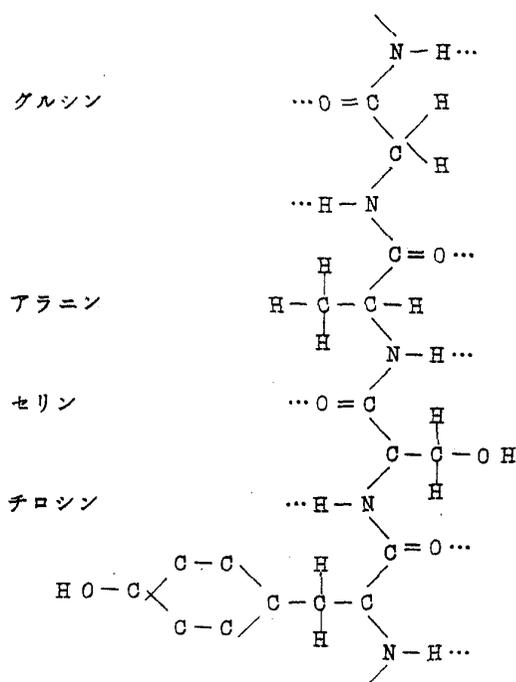


Fig 4  
structure  
silk fibroin

## 絹フィブロインの構造と赤外スペクトル

$\text{CH}_3\text{CH}_2-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ,  $\text{CH}_3-\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{OH}}{\text{C}}}-\text{CH}_2-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ,  $\text{CH}_3-\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{OH}}{\text{C}}}-$ を持つ一連のポリ-L-及びポリ-DL- $\alpha$ -アミノ酸のポリマーの如く、 $\alpha$ -helix構造を有している。そしてメタノール処理によつて、 $1650\text{cm}^{-1}$ ,  $966\text{cm}^{-1}$ の吸収バンド及びその他のかすかの波数シフトは poly-L-alanine の  $\beta$ 型構造に帰因するものでなく、side chain の interaction に帰因するものと考えられる。勿論、side chain 間の interaction はアミノ酸の配列順序によつて起る場合と起らない場合とが考えられるが、 $t(\overset{\cdot}{\text{C}}-\text{N})$ ,  $t(\overset{\cdot}{\text{O}}-\text{N})$ ,  $t(\overset{\cdot}{\text{C}}-\overset{\cdot}{\text{C}})$  の内部回転は考え難い。

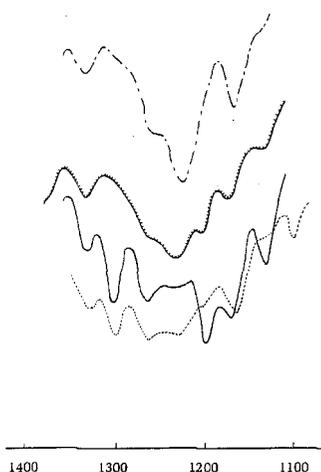


Fig.5. Amide Band of Bombyx mori and wild silk

— Wild silk (Film)  
 - - - Wild silk (Methanol treatment)  
 ····· Bombyx mori (Film)  
 - · - · Bombyx mori (Methanol treatment)

野蚕糸と家蚕糸はフィルム状態では  $12000\text{cm}^{-1}$  に吸収が認められる (Fig4)。この吸収はメタノール処理をすることによつて  $1230\text{cm}^{-1}$  の高波数側にシフトする。これは Main chain が変化した結果でなく、野蚕糸、家蚕糸の遠赤外領域はメタノール処理によつて全く変化を受けない side chain interaction が変化した結果シフトしたものである。野蚕糸(型)と家蚕糸の典型的構造の違いは、side chain の Interaction, side chain - Main chain の interaction, 水素結合、アミノ酸の配列順序などによつて side group の dipol が異なり、平行、逆平行の比率が異なる程度であつて、家蚕糸も同様に Main chain は型を有するものと考えられる。

最後に本研究に多大な御指示下さいましたミシガン大学 Kr imw 教授、東大・島内教授、伊藤紘一氏(東大島内研)及び試料を御提供下さいました蚕糸試験所の小松計七氏に感謝します。

## 参 照 文 献

1. 黒岩 清、石黒昌考、荒木光子：税関分析発表会、1967
2. 黒岩 清、石黒昌考、荒木光子：関税中央分析所報 No.5.11.1967
3. 黒岩 清、石黒昌考、荒木光子：第13回高分子研発表会(神戸)1967
4. Bamford, C.H. et "Nature" 176 396 (1955)
5. Ramachandran, G.N. et "Biochim, biophys. Acta" 109, 314 (1965)
6. 黒岩 清、S. Krimm, and, T. ReBane "International Synposium of Conformation of Biopolymer (1967, Madras, india). " conformation of Biopolymers" Academic press 1967 Vol 2.439

## 黒 岩 石 黒 荒 木

- 7 . 黒岩 清、S.Kr imm,Seventh international  
Congress of Biochemistry (東京) 1967  
Kiyoshi,Kuroiwa  
Masataka.Ishiruro
- 8 . 宮沢辰雄 et."Conformation of Biopolymer"  
Vol.2.557.1967  
Mitsuko.Araki  
Central Customs Laboratory,  
531.IWASE,MATSUDO,CHIBA
- 9 . Elliott.A.and B.R.Malcoïn "Trans,far,Soc"  
52.528 (1955)  
Laboratory of Tokyo - customs  
SHINAGAWA.TOKYO
- 10 . 島内武彦、伊藤紘一 et 蛋白質構造討論会  
1967
- 11 . 桐村二郎、農芸化学会 1956 東京  
(Received 31 Jan 1968)
- 12 . Andrreva.N.S.et International Synposium  
on Conformation of Biopolymers.1967.Madras
- 13 . Goodman.M.特別講演会、東大島内研究室  
1968
- 14 . Warwicker.J.O "Trans Faraday,soc."  
554 (1956)

## Far infrared studies of silk

## fibroin

The far infrared spectra of polyglycine, poly - L - alanine,poly - glycine - poly - L - alanine mix and copolymer.hombyx mori,and wild silk fibroin were measured in the region below  $800\text{cm}^{-1}$ As a result, far infrared region indicates that two fibroin,that is,bombyx mori and wild silk fibroins,have also - helicalcomformatioin, in spite of infrared spectra's difference between bombyx mori and silk. which can very reasonalle be as singned to interaction of side chain groups.