

## ノート

# カイコの液状絹の熱分析

## - 家蚕，セリシン蚕および野蚕の液状絹について -

田中稔久，馬越芳子，馬越 淳

(受取日：2003年3月5日，受理日：2003年5月16日)

### Thermal Properties of the Liquid Silk for Silkworms - Domestic and Mutant Domestic and Wild Silkworm -

Toshihisa Tanaka, Yoshiko Magoshi, and Jun Magoshi

(Received March 5, 2003; Accepted May 16, 2003)

The thermal properties of liquid silk obtained from the domesticated silkworm (*Bombyx mori*), the mutant domesticated silkworm (Sericin cocoon silkworm, *Nd-s*), and four wild silkworms (*Samia cynthia ricini*, *Dictyoploca japonica*, *Antheraea pernyi* and *Antheraea yamamai*) were investigated by differential scanning calorimetry (DSC).

The weak endothermic peak in the DSC curves for the liquid silk of the domestic silkworm corresponded to the breaking of hydrogen bonds in the  $\alpha$ -form of fibroin. The process of crystallization of the liquid silk differed between domestic and wild silkworm. The starting temperature of transition for the liquid silk of the domestic silkworm was calculated.

### 1. はじめに

カイコは、幼虫から成虫への変態の時、自身を守るために繭を形成する。繭の絹糸は、桑の葉より摂取したアミノ酸から合成したタンパク質で構成されている。このタンパク質は、フィブロインとセリシンの2種類のタンパク質からなり、カイコ体内では、高い粘性を持った高濃度のゲル状態であり、これは液状絹と呼ばれている。

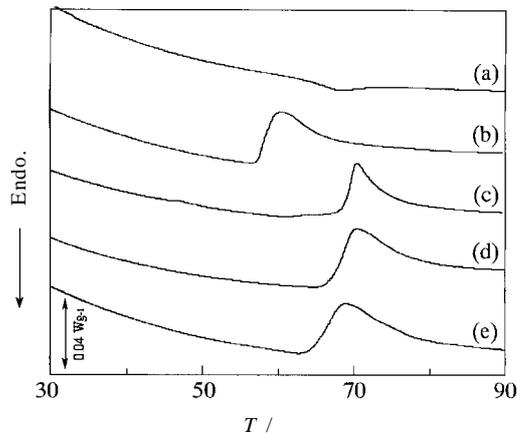
家蚕と野蚕のフィブロインの明確な差は、アミノ酸組成と配列の違いである。<sup>1)</sup> 家蚕のアミノ酸組成の75%以上はグリシン，アラニン，セリンからなる。両者の違いは、結晶化や熱的性質に大いに関係していることが考えられる。

カイコの熱分析は数多く報告されており、家蚕，セリシン蚕，および野蚕の絹糸，フィブロインのフィルムなどの熱分析は数多く行われている。<sup>2-7)</sup> しかし、液状絹について

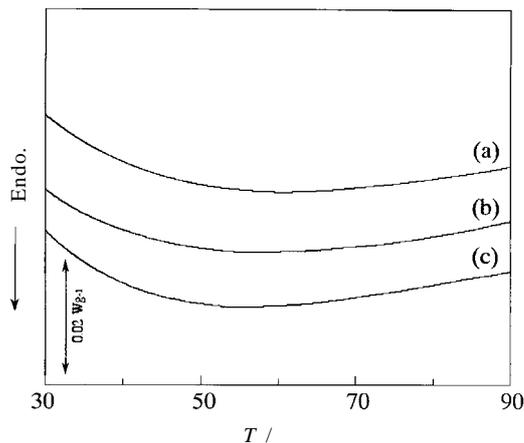
の詳細な熱分析の報告は、まだ少ない。本研究では、前報での家蚕や野蚕の液状絹における熱分析の実験結果<sup>8)</sup>を示すと共に、フィブロインタンパク質の分泌が少ない、家蚕の突然変異種であるセリシン蚕の液状絹を用いた実験結果との比較を行った。さらに家蚕および野蚕の液状絹について前報より未発表の実験結果を報告する。

### 2. 実験試料

カイコが繭を形成する前の熟蚕から絹糸腺を摘出し、組織膜を除去した液状絹を試料として用いた。家蚕 (*Bombyx mori*) と、家蚕の突然変異種であるセリシン蚕 (Sericin cocoon silkworm; *Nd-s*)、また4種類の野蚕 (エリ蚕; *Samia cynthia ricini*、クス蚕; *Dictyoploca japonica*、柞蚕; *Antheraea pernyi*、天蚕; *Antheraea yamamai*) の合計6種類のカイコを用いた。

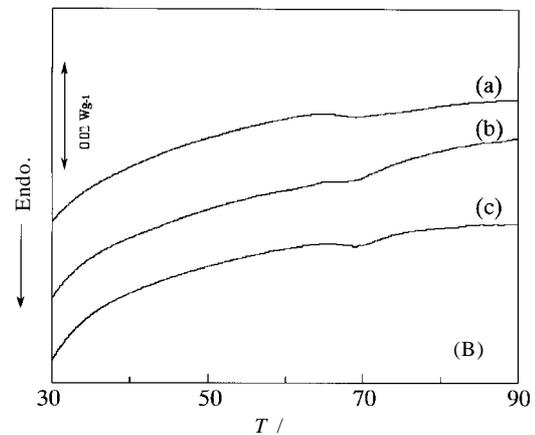
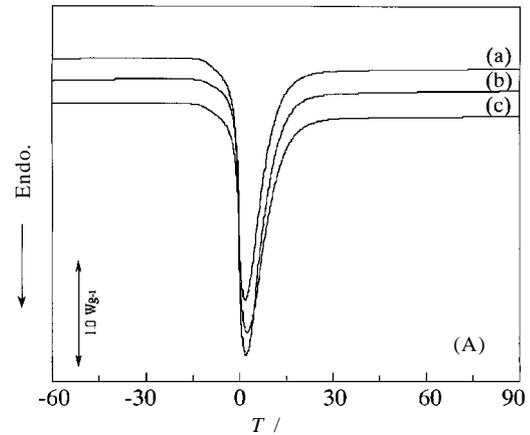


**Fig.1** DSC curves of the liquid silk from the normal domestic and wild silkworms: (a) *Bombyx mori*, (b) *Samia cynthia ricini*, (c) *Dictyoploca japonica*, (d) *Antheraea pernyi*, (e) *Antheraea yamamai*.



**Fig.2** DSC curves of the liquid silk from the mutant domestic silkworm (Sericin cocoon silkworm; *Nd-s*): (a) Anterior part (MA), (b) Middle part (MM), and (c) Posterior part (MP) in Middle division (Md) of silk gland.

カイコの絹糸腺は、紡糸口から前部 (Ad), 中部 (Md), 後部 (Pd) 絹糸腺の三つの部分からなっている。家蚕, セリシン蚕の液状絹において, 中部絹糸腺 (Md) から, 前区 (MA), 中区 (MM), 後区 (MP) の三つの部分に分けて, 測定に用いた。野蚕の液状絹において, 中部 (Md), 後部絹糸腺 (Pd) の二つの部分に分けて, 測定に用いた。示差走査熱量測定 (DSC) は, Seiko DSC 6100 で行い,



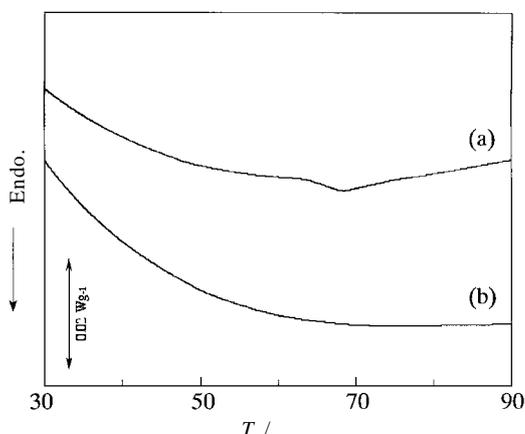
**Fig.3** DSC curves of the liquid silk from the normal domestic silkworm, *Bombyx mori*; (a) Anterior part (MA), (b) Middle part (MM), and (c) Posterior part (MP) in Middle division (Md) of silk gland. The temperature range of measurement was from -140 to 120 .

特に記述がないかぎり測定条件は, 昇温速度が  $5 \text{ min}^{-1}$  で, 測定温度範囲が  $0$  から  $120$  で, 銀製の密閉試料容器 (最大容積  $70 \mu\text{l}$ ) を用いた。

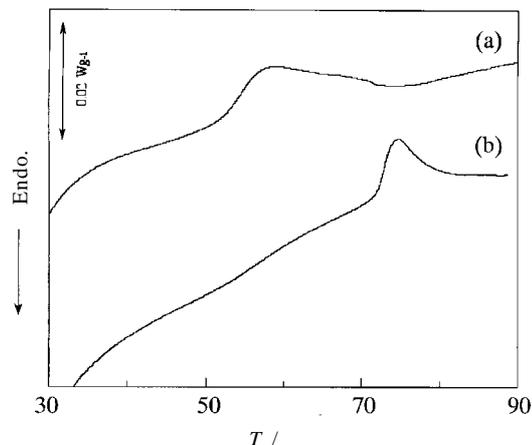
### 3. 測定結果

家蚕と野蚕の液状絹におけるDSC曲線をFig.1に示す。家蚕の液状絹におけるDSC曲線には, 弱い吸熱ピーク (約  $68$  ) が見られた。家蚕の絹糸腺の各部位による違いは見られず, ほぼ同じような吸熱ピーク温度であった。<sup>8)</sup>

家蚕の突然変異種であるセリシン蚕の液状絹におけるDSC曲線には, 絹糸腺のどの部位においても何のピークも認められなかった (Fig.2) セリシン蚕の液状絹の主成分



**Fig.4** DSC curves of the liquid silk from the normal domestic silkworm of Anterior part in Middle division (Md) of silk gland, *Bombyx mori*; (a) First scanning (0 ~ 120 °C), (b) Second scanning (0 ~ 120 °C).



**Fig.5** DSC curves of the liquid silk from the wild silkworm in the Posterior division (Pd); (a) *Dictyoploca japonica*, (b) *Antheraea pernyi*. The temperature range of measurement was from - 140 to 120 °C.

であるセリシンは、CD スペクトル測定より溶液状態でランダムコイル構造を有していること<sup>9)</sup> また、家蚕の繭から調整したセリシゲルは、物理的な架橋によって、ランダムコイルと $\beta$ 型の可逆的な構造転移をする<sup>10)</sup>ことが報告されている。つまり、セリシンが何らかの構造を有し、熱によって転移をしているのであれば、ピークとして現れるはずである。セリシン蚕の液状絹はランダムコイル構造であるため、Fig.2 に示すように、この測定では変化が認められず、Fig.1 に見られるような家蚕の液状絹の吸熱ピークは、フィブロインに起因したものであることが明確となった。

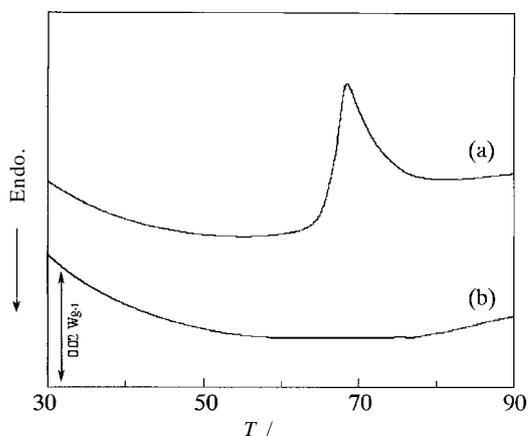
- 140 から 120 °C までの温度範囲での家蚕の液状絹の DSC 曲線には、液状絹中の水分の融解ピークが 0 °C 付近に明確に認められ (Fig.3(A)), 70 °C 付近の吸熱ピークは不明瞭であった (Fig.3(B))。家蚕の液状絹の熱的挙動は、水の凍結によって影響を受けやすいことを示している。一般的に高分子ゲルでは低温にすると物理架橋の絡み合いが増加する。吸熱ピークがこの絡み合いに起因しているのであれば、ピークが明確になるはずである。つまり、水の凍結によって液状絹中の一部の $\alpha$ 型の水素結合が切断され、フィブロイン分子はランダムコイル構造をとっていると考えられる。また、家蚕の液状絹における同温度範囲の連続測定では、2 回めの DSC 曲線には、何のピークも見られなかった (Fig.4)。この吸熱ピークは、熱による不可逆的な構造転移を示している。以上のことから、この吸熱ピークは、フィブロイン中の物理架橋の絡み合いの破壊に起因したピ

ークというよりは、液状絹中のフィブロインに存在する $\alpha$ 型の水素結合の切断に起因したピークではないかと考察した。

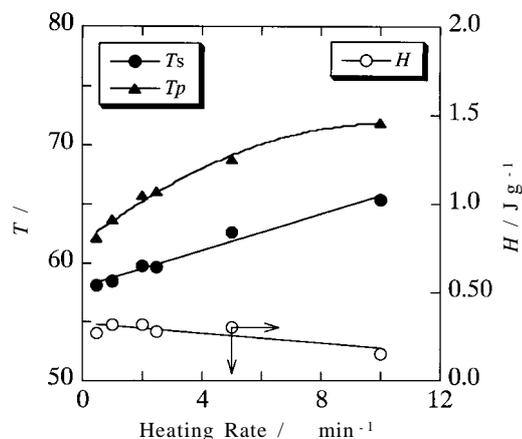
野蚕の液状絹における DSC 曲線には、家蚕の結果とは対照的に、鋭い発熱ピークが見られた (Fig.1)。発熱ピーク温度は野蚕の種類によって異なり、絹糸腺の部位によっても異なっていた。<sup>8)</sup> 合成ポリペプチド (例えばポリ- $\beta$ -ベンジル-L-アスパラギン酸) の $\alpha$ -ヘリックスから $\beta$ 型への転移として、野蚕と同程度の温度範囲で発熱ピークが報告されていること<sup>11)</sup>から、野蚕の液状絹における発熱ピークは、 $\alpha$ -ヘリックスから $\beta$ 型への転移を示していると考えられる。

- 140 °C から 120 °C までの温度範囲での野蚕の液状絹の DSC 曲線では、家蚕の結果と同様に液状絹中の水分の吸熱ピークが認められた。しかし、70 °C 付近の発熱ピークもまた明確に認められた (Fig.5)。これは、野蚕の液状絹の転移は、水の凍結の影響よりは、70 °C 以上の熱による影響が大きいことを示している。さらに同温度範囲での連続測定では、家蚕の結果と同様に 2 回めの測定の DSC 曲線には、何のピークも見られなかったことから (Fig.6)、発熱ピークは、熱による不可逆的な構造転移を示していることが分かる。以上の実験結果において、家蚕と野蚕および野蚕の種類によって熱的挙動が異なるのは、アミノ酸組成、配列に起因していると考えるのが妥当である。

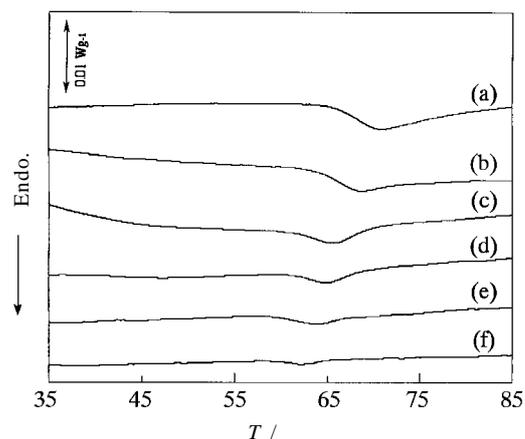
小林らの研究<sup>12)</sup>から得られる家蚕の液状絹の転移温度と、我々の研究で得られた転移温度<sup>8)</sup>とは差があった。一般的



**Fig.6** DSC curves of the liquid silk from the wild silkworm in the Posterior division (Pd), *Dictyoploca japonica*; (a) First scanning (0 ~ 120 °C), (b) Second scanning (0 ~ 120 °C).



**Fig.8** The relation between the transition temperature and heating rate.  $T_s$ ,  $T_p$ , and  $H$  represent starting temperature, peak temperature, and heat for transition peak, respectively.



**Fig.7** The change of DSC curves of the liquid silk from the normal domestic silkworm in the Middle part of Middle division (MM), *Bombyx mori* on the heating rate. The heating rate is (a) 10  $\text{min}^{-1}$ , (b) 5  $\text{min}^{-1}$ , (c) 2.5  $\text{min}^{-1}$ , (d) 2.0  $\text{min}^{-1}$ , (e) 1.0  $\text{min}^{-1}$ , (f) 0.5  $\text{min}^{-1}$ .

にDSC曲線のピーク温度は昇温速度によって変化する。従って、昇温速度の影響を無視するために、昇温速度を変化させて転移温度を求め、昇温速度を0に外挿することを試みた。Fig.7は、家蚕の液状絹における昇温速度の変化によるDSC曲線を示している。昇温速度と共に転移開始温

度と転移ピーク温度、転移熱量が変化した。それらの値をまとめると、Fig.8に示すように、転移開始温度は直線近似できたが、他の値は誤差が大きかった。転移開始温度と昇温速度の関係から、外挿して得た転移開始温度は、57.9であった。この値は、小林らの研究によるパルスNMR測定で得られた $^1\text{H}$ - $T_2$ の転移温度58<sup>12)</sup>と一致した。

#### 4. おわりに

家蚕の液状絹は、絹糸腺内での固いゲル状態を経て、結晶化して繊維となる。水の脱水、ずり応力で簡単に結晶化し、70以上の熱では結晶化というよりは、むしろ融解を起こす。野蚕の液状絹は、絹糸腺内で柔らかいゲル状態のまま結晶化して繊維となる。ずり応力では簡単に結晶化せず、70以上の温度をかけた場合は、容易に結晶化することから、両者の結晶化過程が異なることが熱分析によってより明確となった。

#### 文 献

- 1) J. Kimura, *Bull. Seric. Exp. Stn. Gov. Gen. Chosen* **17**, 447 (1962).
- 2) H. Ishikawa, K. Hirabayashi, and T. Hayakawa, *SEN-I GAKKAISHI* **25**, 425 (1969).
- 3) H. Ishikawa, M. Tsukada, I. Toizume, A. Konda, and K. Hirabayashi, *SEN-I GAKKAISHI* **28**, 91 (1972).

- 4) J. Magoshi and S. Nakamura, *J. Appl. Polym. Sci.* **19**, 1013 (1975).
- 5) J. Magoshi, M. Mizuide, Y. Magoshi, K. Takahashi, M. Kubo, and S. Nakamura, *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.* **17**, 515 (1979).
- 6) J. Magoshi, Y. Magoshi, and S. Nakamura, *J. Appl. Polym. Sci.* **21**, 2405 (1977).
- 7) M. Tsukada, *J. Appl. Polym. Sci.* **22**, 543-554 (1978).
- 8) T. Tanaka, J. Magoshi, Y. Magoshi, S. ichi Inoue, M. Kobayashi, H. Tsuda, M. A. Becker, and Sh. Nakamura, *J. Therm. Anal. Cal.* **70**, 825-832 (2002).
- 9) M. Tsukada, T. Komoto, and T. Kawai, *Polym. J.* **11**, 503-505 (1979).
- 10) L. J. Zhu, M. Arai, and K. Hirabayashi, *J. Seric. Sci. Jpn.* **65**, 270-274 (1996).
- 11) D. B. Green, F. Happey, and B. M. Watson, *European Polym. J.* **6**, 7 (1970).
- 12) M. Kobayashi, et al. *Polymer Preprints, Division of Polymer Chemistry, ACS* **43**[1], 371-372 (2002).

要 旨

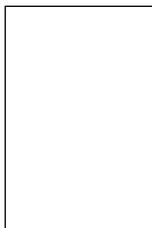
家蚕, セリシン蚕および野蚕(エリ蚕, クス蚕, 柞蚕, 天蚕)の計6種類の液状絹について, 熱分析を行った結果から, 家蚕の液状絹における吸熱ピークは, 液状絹中のフィブロインに存在する $\alpha$ 型の水素結合の切断に起因したものであること, 家蚕と野蚕の液状絹の結晶化過程が異なることを明確にし, 家蚕の液状絹の転移開始温度を決定した。



田中稔久 Toshihisa Tanaka  
 農業生物資源研究所および戦略的基礎研究推進事業, Dept. of Biopolymer, National Institute of Agrobiological Sciences, and Core Research for Evolutional Science and Technology, TEL. 029-838-7463, FAX. 029-838-7417, e-mail: toshihm@nias.affrc.go.jp  
 研究テーマ: ポリマーブレンド材料の物性の解析, 天然高分子と生分解性高分子の熱分析  
 趣味: 音楽鑑賞, 絵画



馬越芳子 Yoshiko Magoshi  
 農業生物資源研究所および戦略的基礎研究推進事業, Dept. of Biopolymer, National Institute of Agrobiological Sciences, and Core Research for Evolutional Science and Technology, TEL. 029-838-6013, FAX. 029-838-6274, e-mail: magoshi@nias.affrc.go.jp  
 研究テーマ: 絹の構造と物理的特性, 絹織物の光学的解析  
 趣味: 園芸, 読書, 旅行



馬越 淳 Jun Magoshi  
 農業生物資源研究所および戦略的基礎研究推進事業, Dept. of Biopolymer, National Institute of Agrobiological Sciences, and Core Research for Evolutional Science and Technology, TEL. 029-838-7463, FAX. 029-838-7417, e-mail: jmagoshi@nias.affrc.go.jp  
 研究テーマ: エネルギーミニマム型高分子構造形成, 植物体の熱分析, 生分解性プラスチック  
 趣味: テニス, つり, 囲碁