

家 蚕 テ グ ス の 化 学 的 研 究

古 賀 克 也・福 永 隆 生

Chemical Studies on the Silk Gut

Katsuya KOGA and Takao FUKUNAGA
(Laboratory of Sericultural Chemistry)

緒 言

絹糸形成の機構は蚕児の頭部のS字あるいは8字型反覆運動による液状蛋白質の機械的変性である。絹糸腺の液状絹とくに熟蚕のそれは人為的牽引により容易に繊維化いわゆるテグス化することができる。この繊維化過程に関する研究は数多く行なわれ絹糸化学、繊維物理学上にも大きな貢献をなしてきている。荻原は蚕児の5令経過に伴う絹糸腺内腔液の濃度増加とフィブロイン分子の聚合度増加の推定とから液状絹の熟成作用という表現を提唱し¹⁾²⁾、その基因³⁾および熟成度と絹繊維の強力、伸度との関係に言及している⁴⁾。また奥らは家蚕テグスのクロム酸分解過程からテグス内外層の polypeptide 連鎖中のチロシン量の差異を推定している⁵⁾。

著者はフィブロイン繊維の酸化崩壊研究を行なっている関係上、上述の研究の一部に疑問を生じ若干の実験を行なつた結果些さか異なる見解を得るに至つたのでここに報告したい。

材 料 並 び に 方 法

(i) 供試材料；太平×長安および日501×支502の蚕児を春期飼育し5令時雌性のみを選別して実験材料に供した。

(ii) テグスの作製；5令起蚕より上簇迄連日一定時刻（午前10時）に蚕児を解剖して絹糸腺を摘出し、0.1% CH_3COOH に常温浸漬後、人工牽引によりテグスを作成した。浸漬時間は5令5日迄の絹糸腺は5分、それ以降のものは10分とした。なんとなれば5令前半のものは浸漬時間10分では固化し延伸が非常に困難であつたから。作製テグスはマルセル石鹼-炭酸ソーダ浴で常法のごとく精練し実験には中部糸腺部位に相当する部分を使用した。なおテグス作製のほか同時に蚕体重、絹糸腺重、絹糸腺水分率も測定した。

(iii) テグスの強力および伸度；Schopper Yarn Tester を用いて測定した。測定本数は25~30である。

(iv) テグス・フィブロイン溶液の粘度測定；精練テグスを2~3cmの長さに截り電気ミキサー（日立製作所製）に入れ、その截片が充分浸漬する量の蒸溜水を加えミキサーを始動すれば数時間も経過するとテグスは濾紙パルプ状になり浮遊してくる。時折処理を中断しミキサーの過熱を防いだ。浮遊部分のみを集めてガラスフィルター(No. 2)で吸引するか、あるいは遠心分離すると恰かも濾紙片状のものが得られる。これを注意深くほぐして混在するテグス截片を除去しアルコールおよびエーテルで洗滌後風乾する。この濾紙片状フィブロインを(12-16) Cupriethylene diamine (以下Cu-Enと略す)溶液に1%濃度になるように溶解し直ちに密度とOSTWALDのviscosimeterで落下速度を測定した。測定は25°C恒温水槽中で行なつた。粘度計の使用にさいしては開管状態では溶液の密度変化を来すので両端にsoda-lime管を接続した。粘度測定は同一溶液につき30分間毎に行ない、 η_{sp}

(比粘度) = η_r (相対粘度) - 1, を求めその変化曲線を求めた. なお (12-16) Cu-En は水酸化銅 12g と ethylene diamine 16g を水で溶かし 100cc とした濃度を表わす.

(v) 全窒素, アミノ態窒素およびチロシンの定量; 精練テグスの全窒素はケールダール法, チロシンは BLOCK & BOLLING による Millon-Lugg 改良法⁶⁾により定量した. アミノ態窒素は閉管分解により得た加水分解液につき van Slyke 法により求めた.

結果並びに考察

第1表に示したごとく絹糸腺の水分率は5令の日数経過に伴い漸減し乾物は増加している. また絹糸腺重の蚕体重に対する割合すなわち, 相対成長状態も漸増していることが認められる. これらの変化傾向についての論議は荻原⁴⁾, 西村⁷⁾により詳細になされている.

Table 1. Weight of silk worm and silk gland, moisture and dry matter contents of silk gland in the fifth instar of *Bombyx mori* (Taihei × Chooan ♀)

Day in the 5th instar	Individual wt. of silk worm (g)	Silk gland (mg)	Silk gland / Silk worm × 100	Moisture (%)	Dry-matter (%)
1st	—	—	—	82.20	17.80
2nd	2.40	220	9.17	82.09	17.91
3rd	3.35	408	12.18	81.06	18.94
4th	4.52	771	17.06	77.61	22.39
5"	4.91	976	19.88	76.93	23.07
6"	5.20	1180	22.69	74.42	25.58
7"	5.45	1310	24.04	72.16	27.84
8"*	5.08	1515	29.82	71.51	28.49

* Matured worm.

テグス作製上からは次記のことが窺知された. 絹糸腺を酢酸浸漬後, 人工牽引する場合, 太平 × 長安 (♀) では5令4日目のものでもテグス化は相当困難であつたがラウジネスが少ないと通称される日 501 × 支 502 では同一条件で延伸すれば5令3日目のものですら容易に可能であつた. これらの両品種は Fig. 1 のごとく5令起蚕 (桑付) より上簇迄の経過日数は同一であるので液状絹の熟成ある

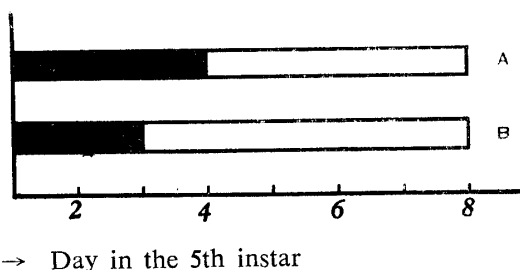


Fig. 1. Making of the gut from the silk gland of *Bombyx mori*

□; Possible A; Taihei × Chooan (♀)
 ■; Impossible B; Nichi 501 × Shi 502 (♀)

Note; Concerning A and B, 1st date of the 5th instar was 11th and 12th. May (1956) and the mounting was 20th and 21st. May (1956) respectively.

いは呉・高木らの表現するフィブリン分子の溶存形態⁸⁾が品種により異なると推定される.

上記2品種以外に 010 × 610 では5令3日目, 95 × 512 および日 112 × 支 115 では4日目がテグス化

可能限界だとされている⁹⁾。荻原は春蚕，日 115×支 108 を 5 令 4 日目より緑蚕上簇を行なわせている⁴⁾。かように品種により繊維化可能期の差異はあるがその限界は 5 令 3 日目～4 日目である。蚕児の体液中の諸酵素の作用は 5 令 3 日目～5 日目に最も活発であり¹⁰⁾，西村⁷⁾¹¹⁾によれば絹糸腺の成長曲線は 3 日目に critical point を有するし，これらの生理作用と繊維化可能期とは当然密接な関係をもつと考えられる。

精練テグスの強力および伸度の測定結果を Table 2 に示す。テグスの平均繊度は 5 令の日数経過

Table 2. Tenacity and elongation of the gut made from the silk gland of the fifth instar

Day in the 5th instar	Average size of gut (denier)	Tenacity of one gut (g)	Unit tenacity (g/d)	Elongation (%)
4th	185	447	2.42	7.4
5"	407	1204	2.96	11.2
6"	699	1970	2.88	11.0
7"	1015	2216	2.18	10.0
8"*	1080	2270	2.10	10.5

* Matured worm. Measured gut is the part corresponding to the middle division of silk gland and for the measurement Schopper yarn tester was used at R.H=75%.

とともに増大し従つて単糸の絶対強力も増加するが単位強力 (g/d) は逆に漸減している。伸度は 5 令 4 日目のものがやや小さいのみで 5 日目から熟蚕 (8 日目)迄のものではほとんど変化を認めない。この傾向は林⁹⁾の成績と同じであり原因については後述したい。

繭層フィブロイン繊維は Cu-En 溶液に常温で容易に溶解分散するし 6 分以内に稀酢酸で中和すれば分子量の低下すなわち加水分解を起さない¹²⁾。しかるにテグスは鋏で細截し Cu-En 溶液中に投入し絶えず攪拌しても溶解し難い。著者の作製テグスでは完全溶解時間は繊度の大きさに依存し約 40 分から 70 分の範囲に及んだ。従つてかかる方法によればフィブロイン分子は水解を起し，その程度が溶解時間により異なるので実験結果の考察ができないことになる。その後著者はテグス・フィブロインは電気ミキサー処理によつて繭層フィブロインと同じく Cu-En 易溶の形態になることを見出した。(実験方法—iv 参照) テグス・フィブロインの Cu-En 溶液の比粘度変化は Fig. 2 に示した通りである。1% テグス・フィブロイン—Cu-En 溶液の 25°C における比粘度は全試料ともに一致し 0.3298 であつた。この値は溶解分散後直ちに測定液を恒温水槽中に移行し温度平衡に達して測定した値であり，濾紙片状フィブロインを Cu-En 溶液に投入後 6 分～7 分を経過したものである。本測定後引続いて 30 分毎に落下速度を測定し比粘度低下を求めたところ全試料はそれぞれ一致した低下度を示した。比粘度低下は溶解後 30 分位迄が急激でその後は緩慢である。この結果は Cu-En 溶液中におけるフィブロイン分子の溶存形態および水解様式が全試料について同一であることを示しており，荻原の報告¹⁾とは趣きを異にしている。

荻原は摘出絹糸腺を乾燥後石鹼精練を行ない，銅アルカリ液に完全分散 (約 2 時間を要す) 後粘度測定を行なつている¹⁴⁾。得られた η_r の値から濃度恒数 K を求め M (分子量) = $K \cdot 10^4$ 式により M を算出し，この値を CRAMMER が述べたフィブロインの元素組成 $C_{15}H_{23}N_5O_6 = 369$ で除して分子聚合度を推定している。その結果絹糸腺内フィブロインの日数経過による粘度，分子量並びに分子聚合度の増加を指摘しており 1957 年発行の成書「絹糸の構造」にも記載している。また荻原は熟蚕繭糸の強力は未熟蚕繭糸のそれより大であり人工牽引繊維においても同様であることを示し，その基因につ

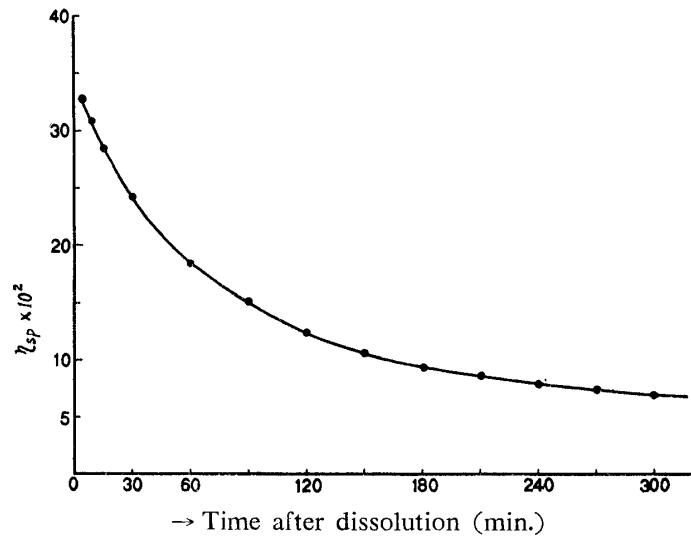


Fig. 2. Viscosity of the fibroin in (12 : 16) Cu-En solution prepared from the gut

The gut was altered to Cu-En easy-soluble form with the procedure of experimental method (iv). 1% fibroin in Cu-En solution was used for the measurement of viscosity. Above figure was just the same in the cases of all guts made from the silk gland in each day in the 5th instar.

いて「熟蚕期の吐糸繊維の強力、伸度が最強であるのは絹物質の熟成度が繊維形成に好適状態におかれているためであり、それは一般鎖状高分子化合物の強度がその重合度と密接な関係にあるという理論により同一に取扱いうる」と結語している。絹糸腺内フィブロインの分子量が日数経過により増加すると云う見解は蛋白質合成研究上にも大きな影響を及ぼすものである。

著者の実験結果ではテグスの単位強力は日数経過に伴い漸減するがそのフィブロイン溶液の粘度は全く同一であり、各試料フィブロインの分子量には差異がないことを示唆する。繭糸の強力は同一品種でも上蔟時の温湿度が高いのみで劣り¹³⁾¹⁴⁾、また巨視的結晶領域量¹⁵⁾も異なってくる¹⁶⁾。多湿時の吐糸終了に要する時間が低湿時より長いことは周知の事実であり上述の現象は営繭時における蚕児の吐糸口の運動すなわち延伸速度の差に基づく分子配列の相異によるものと考えられる。これは再生繊維および合成繊維工業でみられる現象、すなわち同一重合度の polymer 液でも紡糸時の延伸操作によつて分子配列が支配され、繊維の物理的性質が変ることと同一視できる。従つて著者はテグスの強力変化はフィブロインの重合度に基因するものでなく、酢酸固定並びに牽引により生じた分子配列様式の差異に基因するものと主張したい。また林ら⁹⁾と同様に固定、牽引作用を適当にすれば全期間を通じて単位強力をほぼ一様にすることも不可能ではないと考える。

Table 3. Total-N, amino-N and tyrosine contents in the fibroin-gut made from the silk gland of the fifth instar (*Taihei* × *Chooan* ♀)

Day in the 5th instar	Total-N in D.M. (%)	Amino-N in D.M. (%)	Tyrosine in D.M. (%)
4th	18.42	19.97	11.00
5 "	18.49	20.63	11.00
6 "	18.48	19.96	11.16
7 "	18.46	19.90	11.17
8 " *	18.40	19.93	11.16

* Matured worm. D.M.; dry matter

次にテグスの全N, チロシン含量および加水分解液のアミノ態窒素を定量したところ Table 3 のごとく全試料ともに同一値であつた。

アミノ態窒素が全窒素より多くあらわれているのは理論的には首肯できないが、これは実験誤差によるものと思われる。数回実験を繰返してもこの傾向は同じであつた。

摘出絹糸腺をアセトン中に投入固化させたものについて全窒素およびチロシン含量を定量した結果を Table 4 に示す。表示の通り絹糸腺乾物中の全窒素は日数経過には関係なく約 17% であるがチロ

Table 4. Total-N and tyrosine contents in the silk gland (*Taihei*×*Chooan* ♀)

Day in the 5th instar	3rd	4th	5th	6th	7th	8th
Total-N in D.M. (%)	17.25	17.20	17.50	17.27	17.30	17.80
Tyrosine in D.M. (%)	7.30	8.55	8.98	9.55	9.84	9.60

D.M.; dry matter

シン含量は経過に伴い増加している。後者の増加は腺内容物の組成変化すなわちフィブロイン：セリシンの比率増加によるものである。チロシン含量は熟蚕時のものでも 9.6% 程度でありテグスおよび繭層フィブロイン中の含量より少ない。

このことからテグス・フィブロイン中のチロシン含量が少ないと述べている奥の試料⁵⁾にはセリシンが混在していたためではないかと推定される。

チロシン含量についてはさらに詳細に測定した。すなわち太平×長安 (♀), 日 501×支 502 (♀) よりそれぞれ得たテグス・フィブロイン, 管繭繰糸した生糸のフィブロイン並びに繭層内外層の部位別フィブロイン中の含量を求めた。その結果は Table 5 に示した通りほとんど同一値であつた。奥

Table 5. Tyrosine content in gut fibroin, cocoon layer fibroin and reeled silk fibroin

Variety	Material	Tyrosine in D.M. (%)
<i>Nichi</i> 501× <i>Shi</i> 502 (♀)	Gut fibroin (3rd in the 5th instar)	10.80
	ibid. (4th " " ")	11.08
	ibid. (8th " " ")	11.05
	Inner cocoon layer fibroin	11.15
	Reeled silk fibroin	11.00
<i>Taihei</i> × <i>Chooan</i> (♀)	Inner cocoon layer fibroin	11.10
	Reeled silk fibroin	11.10

ら⁵⁾は家蚕テグスのチロシン含量は 7.8% で家蚕フィブロインに比し少なく両者のフィブロインは化学的構造が異なると推定しているがこのことは妥当性に乏しく著者の結果から明らかに否定される。

また家蚕テグスをクロム酸処理すれば内層部のチロシン含量が外層部のそれより少なくなることからテグスの内層部はチロシンに乏しいアミノ酸の polypeptide より成ると推察されているがこれはフィブロインの錯合性を肯定する見解である。この点を検討するためテグスの溶解とチロシン含量との関係を調べた。5令熟蚕から得た精練テグスを約 2cm の長さに細截し量比 1:50 で (8-10) Cu-En 溶液中に常温 (16.5°C) 浸漬し処定時間後、直ちにグラスフィルター (No. 3) で濾過し稀酢酸および水で洗滌し乾燥、秤量し溶解度を求めた。次いで残存テグスのチロシン含量を定量した。その結果を Table 6 に示した。

表示したごとく溶解が進行しても換言すれば内層部になるにつれてもチロシン含量は不変である。

Table 6. Relationship between the solubility of fibroin-gut and tyrosine content

Immersing time in (8:10) Cu-En soln. (min.)	0	10	15	20
Solubility (%)	0	26.5	32.3	40.1
Tyrosine in remaining gut (%)	11.2	11.2	11.3	11.3

(8:10) Cu-En soln.; Cu(OH)₂ 8g and ethylene diamine 10g were dissolved with water and then filled up to 100cc. volume. Immersing temperature was 16.5°C.

Cu-En 溶液は固状フィブロインに対しては分子連鎖間の水素結合を切断し溶解作用を及ぼすがクロム酸のごとき酸化剤は真の溶解作用を有するものではない。すなわち酸化剤処理のさいはフィブロイン繊維は分子中のチロシン残基部を主とした酸化分解次いで二次的な peptide 結合の切断を起し、短鎖長化による溶解（分解→溶解）の過程をたどる。その崩壊過程はすでに著者の 1 人古賀¹⁷⁾が報告しているごとく酸化剤の種類によつて異なるものである。従つてクロム酸処理によるチロシン含量の低下は polypeptide 連鎖がチロシン残基には酸化分解を受けながらもなお溶解する程度の短鎖長には到らないためか、あるいは連鎖間副原子価結合の切断を惹起しないためであり、著者はテグス内外層の polypeptide 連鎖のアミノ酸組成は同一であると推定する。

要 約

家蚕絹糸腺から 5 令時テグスを作製、精練してその強力、伸度、溶液粘度、全窒素、アミノ態窒素並びにチロシン含量を測定した。

(1) 平均繊度および単糸の絶対強力は 5 令の日数経過に伴い増大するが単位強力 (g/d) は逆の傾向を示す。

(2) Cu-En 溶液へのテグスの溶解分散には約 40 分から 70 分を要するが著者は繭層フィブロインと同様な Cu-En 易溶形態に変える方法を見出した。テグス・フィブロインの Cu-En 溶液の粘度およびその経時低下度は 5 令の各期日に作製したテグスについては全く同一である。従つて荻原の見解とは異なり、テグスの強力、伸度の変化はフィブロイン分子の重合度の差によるのではなく牽引による分子配列の相異に基因すると推定した。

(3) テグス中の全窒素、アミノ態窒素並びにチロシン含量はそれぞれ 5 令期を通じて同じである。絹糸腺乾物の全窒素量も同様であるがチロシン含量は漸増する。さらにテグス・フィブロイン、繭層部位別フィブロイン、繰糸生糸のフィブロインにおいてもチロシン含量は同一である。

(4) テグスを Cu-En 処理を行ない内外層のチロシン量を測定したところ変化は認められない。これらの結果から奥らの推定とは異なり、テグス内外層の polypeptide 連鎖中のチロシン残基量は同一であることが認められた。

文 献

- 1) 荻原清治：蚕糸学雑誌，**14**，99 (1943)
- 2) idem：絹糸の構造，**32** (1957) 千典会出版部
- 3) idem：日蚕誌，**14**，156 (1943)
- 4) idem：ibid.，**15**，1 (1944)
- 5) 奥 正巳・飯田一郎：ibid.，**18**，129 (1949)

- 6) R. J. BLOCK and D. BOLLING: The amino acid comp. prot. and food, 131 (1951) Charles C. Thomas. Publisher (U.S.A.)
- 7) 西村 浩: 動雑, **58**, 225 (1949)
- 8) 呉 祐吉・高木春郎: 絹糸の構造, **323** (1957)
- 9) 林 禎二郎・森 精・待田行雄: 九大農・学芸雑誌, **14**, 57 (1953)
- 10) 松村季美: 長野蚕試報告, **1** (1926) 尾崎準一著「蚕糸化学と副産物利用」p. 263 (1947) 朝倉書店発行より引用
- 11) 西村 浩: 日蚕誌, **18**, 336 (1949)
- 12) 林 勝哉: 日化, **78**, 1351 (1957)
- 13) 小原亀太郎: 日蚕誌, **6**, 105 (1935)
- 14) 中浜敏雄・西村俊一: 農化, **13**, 400 (1937)
- 15) 赤堀四郎・水島三一郎編: 蛋白質化学, **5**, 363 (1957) 共立出版社
- 16) 中西正喜: 繊維学報, **1**, 1 (1952)
- 17) 古賀克也: 鹿大農・学術報告, No. **11**, 1~97 (1962)

R é s u m e

(1) By stretching the silk gland of *Bombyx mori* after it had been soaked in dilute acetic acid, the gut was obtained. The day in which it is possible for a gut to be obtained during the fifth instar differed with the variety of the silk worm. Concerning the degummed-gut corresponding to the middle division of the silk gland, the size and tenacity of one gut were increased with growth of the silk worm, but the decrease of the unit tenacity was noticed.

(2) The gut was found to be altered to Cu-En easy-soluble form with the procedure of the experimental method (iv). Specific viscosity of the gut fibroin in Cu-En solution and its fall with time after the dissolution showed the same value in all guts made from the silk gland in each day in the fifth instar.

Consequently, it was postulated that the variation of the tenacity of gut is attributed to the difference of the arrangement of fibroin molecule and, moreover, there are no differences in the polymerization degree of fibroin between all guts.

(3) Total-N, amino-N and tyrosine contents in the fibroin-gut were not affected with the day in which the gut was obtained in the fifth instar, namely, they showed the constant value respectively.

Subsequently, regarding the total-N and tyrosine contents in the silk gland, the former did not vary with the stage in the fifth instar and the latter increased. Tyrosine contents in gut fibroin, cocoon layer fibroin and reeled silk fibroin were equal to each other.

(4) The dissolution of the fibroin-gut in Cu-En solution went on progressively with the time of soaking, but no change of tyrosine content in the remaining gut was noticed.

Therefore, differing from the presumption by OKU (1949), it was concluded that the amount of tyrosine residue in the polypeptide chain of the gut fibroin was not affected with the layer of the gut i. e. the outer and inner part.