

## クモ糸の分子構造と配向に関する偏光赤外ラマンスペクトル

<sup>1</sup>名古屋市システム自然科学, <sup>2</sup>農研機構, <sup>3</sup>日本分光  
○片山詔久<sup>1</sup>, 宮澤光博<sup>2</sup>, 副島武夫<sup>3</sup>, 湯本政昭<sup>3</sup>, 赤尾賢一<sup>3</sup>

### Polarized Infrared and Raman Spectroscopic Study on Molecular Structure and Orientation of Spider's Thread

○Norihsa Katayama\*<sup>1</sup>, Mitsuhiro Miyazawa<sup>2</sup>, Takeo Fukushima<sup>3</sup>,  
Masaaki Yumoto<sup>3</sup> and Ken-ichi Akao<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Natural Sciences, Nagoya City University, Japan

<sup>2</sup> National Agriculture and Food Research Organization, Japan

<sup>3</sup> JASCO Corporation, Japan

**【Abstract】** Spider's threads, which are fibrous silk proteins, have marvelous properties both in strength and elasticity. While the examination of the industrialization by mimic spider silk has begun in recent years, the molecular structure and functional mechanism of the silk protein is still under the discussions. Therefore, study on molecular structure of spider silks for dragline with constant spinning speed, as well as capture thread, for an oriental golden orb-web spider *Nephila clavata* has been performed by polarized microscopic FT-IR and Raman spectroscopy. In this study, it is recognized that both order structures and degree of molecular orientation in spider silks increase with respect to spinning speed. As for the spider's capture thread, it is also clarified that the molecular structure of the viscid droplets is  $\alpha$ -helix rich, while the fiber-formed protein is  $\beta$ -sheet rich.

**【序】**クモ糸は高強度としなやかさを併せ持つ繊維として知られており、クモ糸を真似た新しい機能性繊維の実用化に向けて注目を集めている。一方で、クモは縦糸や横糸などさまざまな種類の糸を使い分けることで、目的に見合った物性を利用している。牽引糸は最も丈夫であるのに対し横糸は柔軟性に優れているなど、糸の多様性は面白い。このように多様な機能性を示す物性に対する、分子構造に関する研究はあまり進んでおらず、とりわけ紡糸条件を変化させた場合のタンパク質構造の変化に関する報告例は少ない。そこで本研究では、ジョロウグモ(*Nephila clavata*)の牽引糸の吐糸速度を制御することで各試料を作成したほか、横糸などのいくつかの糸を採取し、それぞれの糸タンパク質の立体構造や配向について、顕微偏光赤外法およびラマン分光法により、分子構造や配向と吐糸速度との関係性から構造と機能の関係を考察した。

**【実験】**牽引糸の採取は、速度制御型モーターを用い、クリップを取付けたモーター軸にクモから牽引糸を巻き取った。この際に、吐糸速度が 0.5 - 100 mm/s の範囲で 13 段階になるように速度を制御して、吐糸速度が異なるそれぞれの試料を作成した。顕微赤外吸収スペクトルは、顕微ユニットを接続した Perkin Elmer 社製 FT-IR (Spectrum One) で測定した。偏光子を使用しない無偏光での赤外スペクトルの他、顕微ユニット部分に偏光子を取付け、糸軸に平行な方向を 0° とし、偏光角度 0°, 30°, 45°, 60°, 90° についての偏光赤外スペクトルを測定した。なお、測定条件は透過法・分解能 4 cm<sup>-1</sup>・積算回数を 128 回とし、測定する位置は牽引糸が一様に並ぶ部分を CCD カメラで確認して決定した。一方、偏光顕微ラマンスペクトルの測定は、日本分光製 NRS-5200 spectrometer を用いて行った。

**【結果・考察】** 図1に、各種のクモ糸の無偏光赤外吸収スペクトルを示す。(A)は粘球が存在する横糸、(B)は粘球が存在しない横糸、(C)は牽引糸である。1630 $\text{cm}^{-1}$ ならびに1540 $\text{cm}^{-1}$ 付近の大きなバンドは、糸タンパク質のそれぞれアミドIならびにアミドIIバンドに帰属されるが、これらのバンド形状が互いに異なっているほか、粘球があるものでは3300 $\text{cm}^{-1}$ および1400~1000 $\text{cm}^{-1}$ などに、特徴的なバンドが見られる。これらの比較から、粘球のマーカバンドが明らかになったほか、粘球の1655 $\text{cm}^{-1}$ に表れていることからそのタンパク質二次構造が $\alpha$ ヘリックスに富んでいること、また、横糸と牽引糸での糸タンパク質の $\beta$ シート含有量が異なることなどが、明らかとなった。

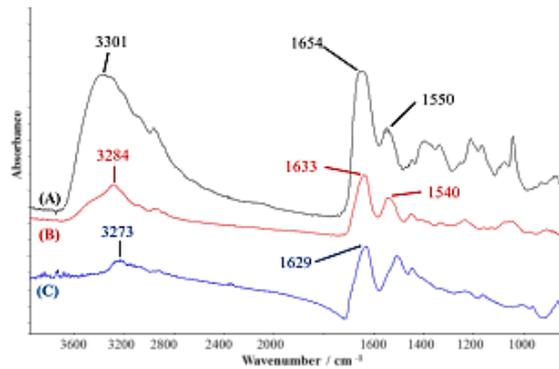


Fig. 1: The infrared spectra of capture thread covered with viscid droplets (A), without droplets (B) and dragline (C).

縦糸・横糸・牽引糸について、顕微偏光ラマンスペクトルの測定結果を図2に示す。

それぞれ、糸方向に平行な励起光で同じ偏光方向のラマン光を測定した結果 (XX) と、糸方向に平行な励起光に対し垂直な方向のラマン光を測定した結果 (XY) を並べて示してある。これらのスペクトル強度の比較から、縦糸ではタンパク質の二次構造を形成する分子配向が、おおむね秩序だって配向しているのに対し、横糸では配向秩序は低く、牽引糸では縦糸よりも配向秩序が高いことが明らかとなった。

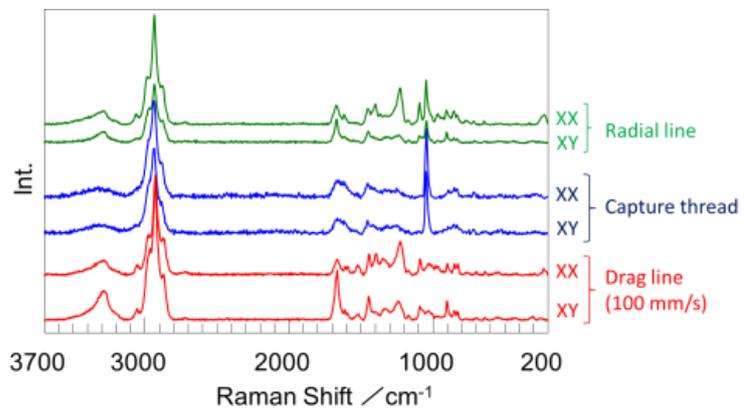


Fig. 2: Polarized Raman spectra of Radial line, Capture thread and Drag line.

図3は、吐糸速度が異なる条件で採取した牽引糸について測定した偏光ラマンスペクトルを比較したものである。偏光方向はいずれもXXである。1250 $\text{cm}^{-1}$ 付近に表れているアミドIIIのバンドの強度ならびに形状が、吐糸速度が速くなるにしたがってシャープになっていることがわかる。このバンド形状の変化ならびに他のバンドの強度などの変化から、吐糸速度が速くなることで、牽引糸を構成するタンパク質の二次構造における $\beta$ シート含有量が増加するとともに配向性も増加し、より強度の高い糸を形成していることが明らかとなった。

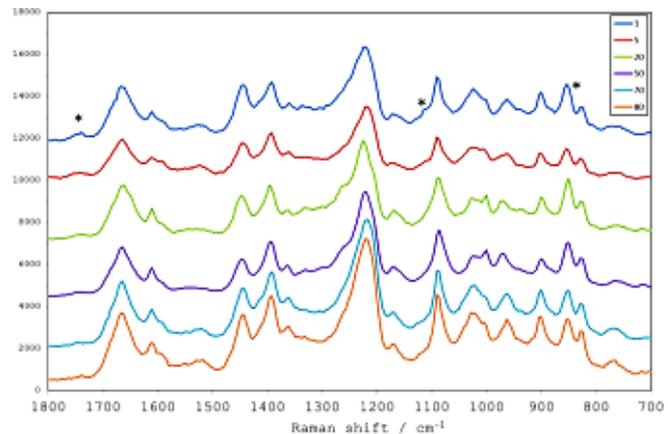


Fig. 3: The polarized Raman spectra (XX) of drag line by spinning speeds.

以上のように、顕微偏光赤外およびラマン分光法により、各種クモ糸のタンパク質分子構造と物性との関係が明らかとなり、機能発現メカニズムの解明の基礎が構築された。

**【参考文献】**

[1] A. Scott, "Spider Silk Poised For Commercial Entry," Chemical and Engineering News, 92(9), 24-27 (2014).