

[研究快报]

丝素蛋白的构象转变*

于同隐 张 胜 邵正中

(复旦大学高分子科学系和聚合物分子工程开放实验室, 上海, 200433)

关键词 丝素蛋白, 构象转变, 扫描隧道显微镜

桑蚕丝素蛋白是生丝的主要组分. 蚕在作茧时, 将体内水溶性的丝素蛋白排出体外, 成为不溶性的茧丝. 这一过程既不需要象制造化纤时所需的高温和高压, 也不需要特定的溶剂, 而是于常温和含水情况下进行的. 不少学者为了搞清蚕的吐丝机理对其进行了研究^[1,2].

蚕的丝腺体可分为后部、中部和前部三部分. 丝素蛋白在后部合成, 为12%~15%的水溶液; 向中部丝腺推进时, 水逐渐被吸收, 丝素蛋白呈胶状, 含量约30%, 储存于肥大的中部丝腺内; 蚕结茧时, 胶状的丝素蛋白通过逐渐窄狭的前部丝腺, 经吐丝口排出, 成为不溶于水的茧丝.

一般认为: 蚕吐丝的过程, 是丝素蛋白构象转变的过程. 丝素蛋白的多肽链在稀水溶液中呈无规线团; 溶液变浓时, 构象逐渐转变成 α -螺旋形式; 在吐丝时受到应力和脱水作用, 变成不溶于水的 β -片状构象^[3]. 我们在激光喇曼光谱实验中发现, 在蚕体内丝素蛋白的 β -构象是从 α -构象通过无规线团的过程而生成的^[4].

因此, 有两个问题尚待解决: (1)在一般情况下, α -螺旋在水溶液中是不稳定的^[5], 丝素蛋白多肽链的 α -螺旋构象在丝腺中如何才能稳定存在; (2) α -构象是通过怎样的机理转变成 β -构象的. 为了进一步弄清楚桑蚕在吐丝时丝素蛋白肽链构象转变的机理, 我们进行了扫描隧道显微镜(STM)的观察.

1 方法和步骤

解剖五龄熟蚕(浙12×苏1, 浙江农业大学提供), 取出丝腺, 洗去体液, 剖开中部丝腺的包膜, 取出凝胶状的丝素蛋白, 用去离子水洗去外部附着的丝胶.

由于前部丝腺和后部丝腺都很细, 不易取样, 研究以中部丝腺为对象. 样品取自靠近前部丝腺的中部前区, 靠近后部丝腺的中部后区以及中部中区, 分别铺展在新剥制的高定向石墨(HOPG)上, 进行STM观察.

仪器型号为CSTM-9000(中国科学院化学研究所).

由于实验上的需要, 所用的样品必须含有一定量的水分, 并未经过脱水处理, 且样品在HOPG上铺展开, 因此有理由认为在STM上观察到的图象在一定程度上代表了丝素蛋白在腺体中的构象情况.

2 结果与讨论

因为中部丝腺的前区和后区, 分别接近前部丝腺和后部丝腺, 其丝素蛋白的构象, 会带有前部和后部丝素蛋白构象的特征. 因此, 分别观察它们的STM图象, 可以看出蚕在吐丝时

收稿日期: 1995-09-12. 联系人及第一作者: 于同隐, 男, 77岁, 博士, 教授.

* 国家基础性研究重大项目及国家自然科学基金资助课题.

丝素蛋白结构变化的情况。

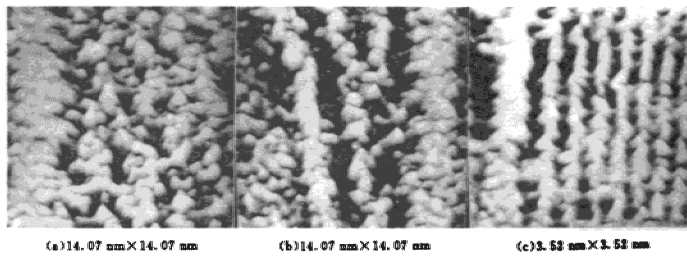


Fig. 1 STM images of silk fibroin in posterior, middle and anterior parts of middle silk gland of silkworm *Bombyx mori*
(a) Posterior part; (b) Middle part; (c) Anterior part.

图1(a)、(b)和(c)分别是中部丝腺后区、中区和前区丝素蛋白的STM图形。已知蛋白质多肽链标准的 3.6_{13} α -螺旋构象的直径为0.6 nm左右^[1],从图1可以看出,后区中丝素蛋白的构象除大量存在无规线团外,并不存在标准的 α -螺旋,而是直径 ≥ 4.9 nm的组合螺旋(Coiled-coil)^[1]。组合螺旋是几个螺旋的集合体,或称绳形结构。应用波谱分析时,组合的 α -螺旋具有单个 α -螺旋的特征峰。因此不能从波谱分析来区别它们,这是 α -螺旋在较稀的溶液中能够存在的一种形式。我们用喇曼光谱分析蚕丝蛋白^[4]的 α -螺旋构象时,特征峰就来源于这种组合螺旋。

当丝素蛋白在中部丝腺中从后区向中区推进时,水分不断地被腺体吸收,溶液变浓, α -螺旋逐渐能稳定地独立存在。从图1(b)中可以看出,组合螺旋的直径变小(2.1~3.7 nm之间),逐渐向单个的 α -螺旋过渡。从图中还可以看出,此时仍有无规线团存在。图1(c)是丝素蛋白在中部前区时的图象。此时不少丝素蛋白的分子,受到丝腺剪切应力和吸水的作用,已经呈现接近伸展链的情况。在光谱分析中,呈现出无规线团的特征峰,这是我们在前文中^[4]认为蚕吐丝时 α -螺旋先变成无规线团再变成 β -构象的原因。当这些链受应力的作用再被拉伸时,其链间距减少至0.2 nm左右,接近 β -片状构象中氢键的长度,所以通过前部丝腺吐出时,很容易生成链间的氢键而成为 β -构象。

由于STM拍摄的图片是在纳米的数量级,象其它显微镜的图象一样,可能会导致只观局部的误区。为此,在本工作中对每个样品,在不同部位拍摄了几十张图象,图1大致能定性代表其整体的形象。

根据上述讨论,蚕在吐丝时丝素蛋白的构象,从无规线团通过组合 α -螺旋的解体,最终生成 β -片状构象。其推动力主要是丝腺对水分的吸收和切变应力的增加^[3],使氢键的情况发生改变,促成构象的变化。在接近吐丝口形成液晶态^[4]时,蚕的吐丝更能顺利地进行,使原来是水溶性的丝素蛋白分子,在吐出时已成为不溶于水的固体蚕丝。

参 考 文 献

- 1 Magoshi J., Magoshi Y., Nakamura S., *J. Appl. Polym. Sci.*, 1985, 41, 187
- 2 Magoshi J., Magoshi Y., Nakamura S., *ACS Symp. Ser.*, 1994, 544, 292

- 3 Kaplan D. L., Lombardi S. L., Muller W. S. *et al.*. In *Biomaterials: Novel Materials from Biological Sources*, New York: Stockton Press, 1991: 1
- 4 YU Tong-Yin(于同隐), LI Guang-Xian(李光宪). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 1993, (4): 415
- 5 Carolyn C., Parry D. A. D.. *Trends Biochem. Sci.*, 1986, **11**: 245
- 6 LI Guang-Xian, YU Tong-Yin. *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, 1989, **10**: 387

Conformation Transition of Silk Fibroin

YU Tong-Yin*, ZHANG Sheng, SHAO Zheng-Zhong

(Department of Macromolecular Science and Laboratory of Molecular Engineering of Polymers,
Fudan University, Shanghai, 200433)

Abstract The conformation transition of silk fibroin in the silk glands of *Bombyx mori* was studied by scanning tunneling microscopy. The dilute aqueous solution of fibroin synthesized in the posterior glands is in a form of random coils, which are transformed into coiled-coil and later into individual α -helices in the middle glands. During spinning, they turned into β -strands and finally to β -sheets. The formation of liquid crystalline state aids the process of spinning. The STM images were taken dozens of time for each sample at different spots, which can represent the general nature of fibroin in the glands of silkworm. So far as we know, this is the first time to have the individual fibroin, or more specifically, the α -helix and β -sheet structure of protein, to be imaged.

Keywords Silk fibroin, Conformation transition, Scanning tunneling microscopy

(Ed.: L. A)