

실크 방사과정에서 실크 세리신의 역할에 관한 고찰

오한진, 이지영, 기창석, 박영환, 이기훈

서울대학교 바이오시스템소재학부

Role of Silk Sericin during the Silk Fiber Spinning

Hanjin Oh, Ji Young Lee, Chang Seok Ki, Young Hwan Park and Ki Hoon Lee

Department of Biosystems & Biomaterials Science and Engineering, Seoul National University, Seoul, Korea

1. 서론

누에로부터 실크 섬유가 방사되는 과정은 많은 연구자들의 연구에도 불구하고 아직까지 명확하게 밝혀지고 있지 않다. 최근의 연구보고들에 의하면 실크 피브로인이 자가조립에 의하여 안정한 마이셀을 형성하고 그로 인하여 실샘내에서 고농도의 안정한 상태를 유지한다는 것이다. 이러한 마이셀을 형성하기 위해서는 수분의 제거가 이루어져야 하며 이때 피브로인보다 친수성이 강한 세리신이 어느 정도의 역할을 하는 것으로 보고되었다. 그러나 대부분의 연구보고는 피브로인 자체에 대한 연구에 치중되어 있고, 실샘내에 함께 공존하는 세리신의 역할에 대한 심도 깊은 연구는 찾아보기 힘든 실정이다. 우리는 피브로인과 공존하는 세리신의 역할에 초점을 맞추어 이미 세리신이 피브로인의 결정화를 지연시키는 것을 확인하였다. 그러나 당시 사용한 세리신은 분자량이 저화된 세리신으로 실제 실샘내에 존재하는 세리신과 차이가 있었다. 이번 연구에서는 분자량의 저하를 최소화하는 추출법에 의하여 추출된 세리신을 이용하여 동일한 저해효과가 있는지 확인하고자 하였다.

2. 문헌연구

2.1 기존의 실크 섬유의 방사 메커니즘

실크 단백질 분자(피브로인)가 섬유로 형성되기까지는 단백질의 농도, pH, 그리고 금속이온의 농도 등이 중요한 요소로 알려져 있다 (표 1). 이들 요소 등으로 인하여 피브로인은 중간실샘에서 젤 상태를 유지하다가 방사순간 금속이온 농도가 증가하면서 네마틱 액정을 형성하고 그에 따라 유동성이 증가하여 젤-졸 전이가 일어나 좁은 토사관을 지나 섬유형태로 방사된다.

표 1. 누에실샘의 각 부위에 따른 조성변화

누에실샘	후부실샘	중부실샘			전부실샘
		후부	중부	전부	
pH	6.9	5.6	5.2	5.0	4.8
Viscosity	middle	high	high	high	low
State	gel	gel	gel	gel-sol	liquid crystal
Ca ²⁺ (10 ⁻³ %)	-	17.7	46.0	59.7	-
Water Content (Protein Content) (%)	88(12)	75(25)	74(26)	74(26)	70(30)

2.2. pH의 영향

실샘내의 pH는 방사구에 가까워질수록 떨어지는데 이는 피브로인의 pI (4.37-5.05)와 거의 일치한다.

이와 같이 실샘내의 수소이온농도 증가는 단백질의 카르복실기가 음전하를 띠는 것을 억제하여 단백질 간의 반발력을 최소화하고, 동시에 양전하와 음전하가 공존하게 하여 상호간에 보다 조밀한 구조를 갖게 한다. 또한 단백질의 각 말단인 N말단과 C말단은 서로 다른 전하를 갖는 것으로 알려져 있는데 N말단의 경우 pI가 실샘내의 pH보다 낮아 항상 음전하를 띄고, C말단의 경우 pI가 10.53으로 실샘내의 pH보다 높아 항상 양전하를 띄고 있다. 이러한 양말단의 전하차이는 단백질간 head-to-tail 결합을 유도하며, 그림 1와 같은 단백질의 폴딩을 가능하게 한다.

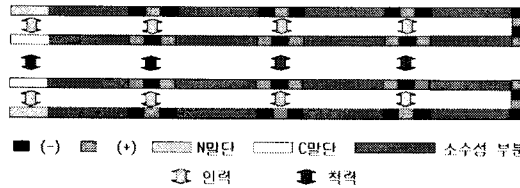


그림 1. 피브로인 분자내 및 분자간 전하에 따른 상호 관계

피브로인 단백질은 소수성 부분과 친수성 부분이 교대로 나타나는데, 친수성 부분의 경우에는 전체적으로 음전하를 띠지만 산성 아미노산과 염기성 아미노산이 일정 간격으로 분포하고 있어 분자 내에서는 단백질의 3차 구조를 안정화하는 동시에 분자간에는 인력과 척력의 균형을 잡아주는 것으로 추정된다. 즉 하나의 단백질 분자에서는 친수성 부분의 전하가 인력으로 작용하여 접힌 모양의 3차 구조를 안정적으로 유지하고, 단백질 분자와 분자사이에서는 척력으로 작용하여 분자간 응집을 억제하여 용도를 방지하는 것으로 판단하고 있다.

2.4. 이온의 영향

실샘 내에서 Ca^{2+} 이온의 농도변화는 pH의 변화와 밀접한 관계가 있을 것으로 추정되고 있다. 실샘의 앞부분에서는 전체적으로 단백질이 음전하를 띠게 되는데 Ca^{2+} 이온이 이를 안정하게 하는 것으로 보고되었다. 또한 피브로인 단백질은 방사구로 이동하면서 실샘내의 pH가 낮아져 음전하가 감소하게 되지만, 단백질 분자가 보다 조밀하게 밀집되어 음전하에 의한 반발력이 예상되는데 이때 Ca^{2+} 이온이 음전하간의 이온가교를 형성하여 조밀한 구조를 갖도록 한다. 따라서 Ca^{2+} 이온은 초기에는 피브로인이 젤을 형성할 수 있는 이온가교제의 역할을 수행하며, 피브로인이 방사구로 진행할수록 농도가 짙어지고 따라서 분자간의 간격이 줄어들어 따라 음전하에 의한 반발력을 줄여주는 안정화제의 역할을 수행하는 것으로 판단하고 있다.

2.5. 세리신의 영향

현재까지 세리신은 실크 방사에 있어 큰 영향이 없는 것으로 생각되어 왔다. 그러나 우리는 2004년 세리신의 역할에 대한 논문을 보고하였으며, 해당 논문에서 피브로인과 세리신간의 상분리에도 불구하고 그 경계에서 두 단백질간의 수소결합이 일어날 가능성을 제시하였다(그림 2). 이러한 수소결합의 결과 세리신이 피브로인의 결정화를 지연시키는 것으로 판단하였으며, 동시에 경계에서만 수소결합이 일어나므로 피브로인의 결정화를 완벽히 저해하지는 못하고 일시적으로나마 지연시키는 것으로 판단하였다.

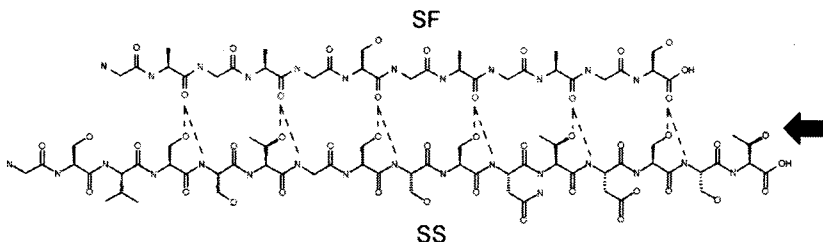


그림 2. 상분리가 일어난 피브로인과 세리신 상분리 경계면에서 가능한 수소결합

3. 재료 및 방법

3.1. 피브로인/세리신 블렌드 필름의 제조

피브로인 수용액은 비누정련법으로 세리신을 제거한 누에고치를 LiBr용액에 용해하였다. 분자량의 저하가 없는 세리신은 urea-mercaptoethanol을 이용하여 추출하였으며, 투석 후 동결건조하여 분말상으로 얻었다. 분말상의 세리신은 다시 피브로인과 같은 농도로 LiBr용액에 용해하였다. 피브로인/세리신 블렌드 필름은 각각의 LiBr 수용액을 적당한 혼합비율로 혼합한 후 투석을 거쳐 Petri dish에서 필름으로 제조하였다.

3.2. 피브로인/세리신 블렌드 필름의 구조분석

제조된 피브로인/세리신 블렌드 필름의 구조분석은, FT-IR, DSC, XRD 등을 이용하여 측정하였다. FT-IR 분석에서는 두께 10 μ m의 필름을 제조하여 측정하였다. DSC는 FT-IR 분석을 마친 시료를 이용하여 측정하였다. 승온속도는 10 $^{\circ}$ C/min이었다. XRD 분석은 WAXS로 실행하였다.

4. 결과 및 고찰

2004년 연구의 문제점을 보완하고자 urea-mercaptoethanol 수용액을 이용하여 세리신을 추출한 결과 열수추출법에 비하여 고분자량의 세리신의 추출이 가능하였다 (그림 3). 고분자 세리신 추출과정에서의 문제점은 투석과정에서 젤이 형성되어 피브로인과의 균일한 블렌드 필름의 제조가 어렵다는 것이다. 따라서 고분자 세리신은 투석 후 동결건조를 통하여 분말상으로 회수하고 이를 다시 피브로인과 같은 용매인 LiBr 수용액에 재용해 한 후 피브로인과의 블렌드를 시도하였다. LiBr 수용액에 재용해한 세리신의 분자량 저하 여부를 SDS-PAGE로 확인한 결과 분자량의 변화가 없음을 확인하였다.

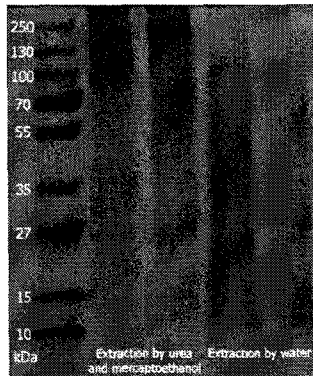


그림 3. 열수추출법과 urea-mercaptoethanol 추출법에 의해 추출된 세리신의 분자량 비교

제조한 SF 또는 SF/SS (3:1) 필름은 메탄올 처리한 것과 안 한 것으로 나누어 구조분석을 실시하였다. SF 필름에 대한 메탄올 처리는 랜덤코일의 필름 구조를 베타-시트 구조로 바꾸어준다. 따라서 세리신의 존재여부에 따라 이러한 구조전이가 어떻게 달라지는지 판단하고자 하였다. 그림 4는 메탄올 처리에 의해 FT-IR 스펙트럼 상에서 amide I peak의 변화를 살펴본 것이다. SF 필름의 경우 1650 cm^{-1} 부근의 amide I peak가 메탄올 처리(아래 스펙트럼)에 의하여 저파수대인 1620 cm^{-1} 로 이동한 것을 확인하였다. 반면 SS가 존재하는 SF/SS 블렌드 필름의 경우 메탄올 처리를 하였음에도 불구하고 SF와 같은 전이가 발생하지 않음을 알 수 있었다. 이는 2004년의 연구결과와 일치하는 것으로 SS의 존재로 인하여 동일 시간의 메탄올 처리에 의해서는 SF의 구조전이가 발생하지 않음을 재차 확인하였다.

그림 5의 WAXS 분석 결과도 위의 FT-IR 결과를 뒷받침하고 있다. SF 필름의 경우 메탄올 처리에 의하여 $2\theta=20^{\circ}$ 의 peak가 증가하게 되는데, SS의 존재로 인하여 peak의 증가가 억제된 것을 확인하였다.

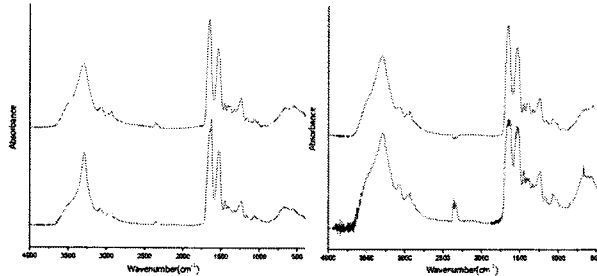


그림 4. FT-IR을 통하여 살퍼본 SS의 첨가에 따른 SF의 결정화 억제효과. (좌) SF (우) SF/SS 3:1.

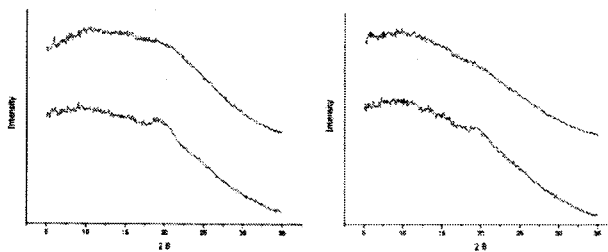


그림 5. WAXS 분석을 통한 SS의 결정화 억제효과. (좌) SF (우) SF/SS 3:1.

일반적으로 SF 필름은 메탄올 처리에 의하여 열분석시 170℃부근의 유리전이온도와 220℃부근의 재결정화 온도를 나타내는 peak가 사라진다. SS에 의하여 결정화가 억제되었다면 이들 peak가 메탄올 처리 후에도 어느 정도 남아 있을 것으로 예상된다. 그림 6의 열분석 결과를 보면 위의 가정과 일치하는 것을 확인할 수 있다.

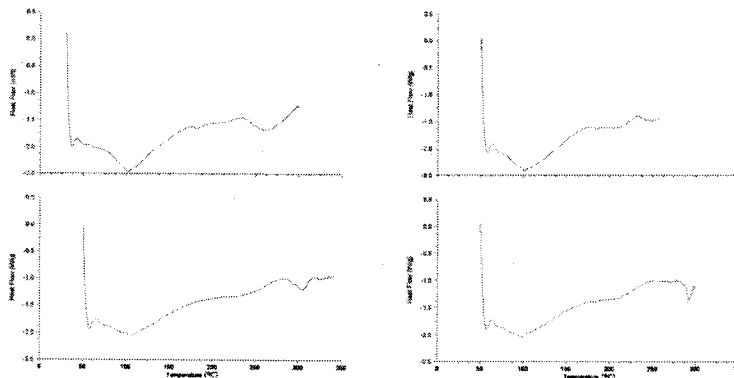


그림 6. DSC 열분석을 통한 SS의 결정화 억제효과 (좌) SF (우) SF/SS 3:1.

5. 결론

이전의 연구결과를 보완하고자 고분자의 세리신을 사용하여 동일한 실험을 행한 결과, 이전과 같은 결과를 얻을 수 있었으며, 이에 따라 실크 섬유의 방사과정에서 세리신에 대한 보다 심도 깊은 연구가 필요할 것으로 판단된다.

이 연구는 2006년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음(KRF-2006-311-D00977).