

5령 누에에 있어서 Fibroin 생합성의 특성

이인전 · 여주홍

경북대학교 농과대학

Characterization of Fibroin Biosynthesis in the 5th Instar of *Bombyx mori*

In Jeon Rhee and Joo Hong Yeo

College of Agriculture, Kyungpook National University, Daegu, Korea

Abstract

Biosynthesis tracing of the silk fibroin in *Bombyx mori* silkworm was examined *in vivo* with isotopic [$1-^{13}\text{C}$]Gly. labeling by nuclear magnetic resonance method. The [$1-^{13}\text{C}$]Gly. labeled silk fibroin yielded very sharp ^{13}C NMR signal in the posterior silk gland as well as in aqueous solution and the amount of [$1-^{13}\text{C}$]Gly. labeled signal in the silkworm increased gradually and rapidly to 5-th day of fifth instar. However, the decomposition or decrease of the [$1-^{13}\text{C}$]Gly. labeled signal occurred from 5-th to 9-th day of fifth instar unexpectedly. These findings suggest that a relative amount of α -helical portion or amorphous silk II portion was formed without any further signal from 6-th day of fifth instar to pupation. Through peak separation of orientation spectrum, between the fiber axis and the molecular bond direction, N-H bond in *Bombyx mori* silk fiber as well as the orientation distribution around the silk fibroin axis were determined and two kinds of peaks were also obtained from this orientation spectrum.

Key words : *Bombyx mori*, nuclear magnetic resonance(NMR), isotopic labeling, orientation distribution

서 론

실크는 진주빛의 우아한 광택, 부드러운 촉감 그리고 특유의 명주소리로 인하여 다른 섬유가 감히 흉내 내지 못하는 뚜렷한 특징을 가지고 있다. 예를 들어서 보온·흡수성의 우수함은 물론이고 착용하였을 때의 아름다운 드레이프성 때문에 실크로드 이래 기나긴 세월에 걸쳐 섬유의 여왕으로서 군림해 오고 있다. 실크는 의복재료로서뿐만 아니라 최근에 들어서 실크 단백질 특유의 구조와 물성으로 인한 장점을 최대한 활용하여 효소고정화 재료 및 생체적합성 재료(M. Demura *et al.*, 1989 : M. Demura & T. Asakura, 1989)로서의 사용 등으로 인하여 전망이 강력히 기대되는 미래형 Bio신소재로서 충분히 그 활용가치가 기대되어지고 있다.

실크는 누에에 의하여 만들어지는 최종 산물이라고 흔히 결론을 내리고 있고, 아울러 누에는 주로 뽕잎 및 뽕잎이 추가된 인공사료를 먹고 피브로인을 생체내에서 생합성을 하면서 자란다고 일반적으로 알고 있다. 그러나 누에 체내에서 어떠한 반응기구를 통하여 생성되고 있는지는 잘 알려져 있지 않다. 더더욱 살아있는 상태 그대로(*in vivo*)에서의 피브로인의 생성기구의 관찰은 측정하고자할 때의 어려움과 그 관찰기구의 부적합성 등으로 인하여 극히 제한되고 있는 실정이다. 때문에 *in vivo* 상태의 Living system의 추적을 시도한다는 것은 상당히 의미있는 일이라 아니할 수 없을 것이다. 실크 피브로인의 생성기구의 관찰은 伊藤(1980)의 보고 및 朝倉(1985)의 연구 예가 있으나 보다 정량적인 연구결과는 얻지 못하고 있다. 이러한 *in vivo* 상태의 Living system의 시도는 실

크 생산의 실용적인 측면의 관점에서 볼 때에도 중요한 문제라고 할 수 있겠지만, 생화학의 기본적인 측면의 관점에서 대단히 흥미로운 문제라고 아니할 수 없을 것이다.

따라서 본 논문에서는 우선 가잠 실크 피브로인이 체내에서 본격적으로 생합성되는 5령부터 추적한 결과를 소개하고자 한다. 방법은 *in vivo*의 장점을 최대한 활용할 수 있는 Nuclear Magnetic Resonance(이하 NMR)법을 사용하였다. 또한 5령 5일을 정점으로 가잠 실크 피브로인의 생합성 정도가 더 이상 증가하지 않는다는 중요한 사실에 착안하여 이것이 분자축의 각도 및 배향의 정도를 달리하는 성분에 기인함을 배향시료에 의한 고체 CP-NMR 스펙트럼의 시뮬레이션 결과로부터 확인할 수 있었다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 연구에 사용한 시료로는 $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly.부분이 라벨링된 가잠 실크의 누에고치(isotopic labeled *Bombyx mori* cocoon)를 사용하였다.

2. $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly 라벨링 및 분말시료 제조

본 연구에 사용한 가잠은 인공사료(Silk Mate 2M, Nippon Nosan Kogyo Co., Tokyo)로 사육하였다. 5령 1일째에 들어와서는 15%농도의 $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly.(99.4% ^{13}C enrichment, Isotech Co., Miamisburg, Ohio, U. S. A) 20 mg을 인공사료에 혼합 후 사육하였다. 섭취 후의 잔여 인공사료로부터 1두 당 $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly.의 섭취량은 약 10 mg으로 최종적으로 계산되어 졌다.

라벨링된 *Bombyx mori* 피브로인 분말시료의 조제로 우선 세리신을 제거하기 위한 정련을 실시하였다. 먼저, 고치내에 남아있는 번테기를 제거한 후, 고치를 약 0.5×0.5 mm 정도의 크기로 자른 다음, 육비 0.5 w/v%로 조절한 마르셀 비누 수용액으로 100°C에서 1시간 처리, 증류수로 5회 행구었다. 이 작업을 2회 실시한 후의 연감율은 평균 30%가 얻어졌다. 그 후, $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly.로 라벨링된 실크 피브로인 섬유를 3 w/v%의 9M LiBr 수용액과 함께 40°C에서 약 1시간 용해시켰다. 미리 준비한 투석 튜브에 넣어 흐르는 물에 4일간 처리, 완전히 염을 제거하였다. 얻어진 피브로인 수용액을 증발기에 넣어 5 w/v%이 되도록 농축시킨 후, 냉동건조를 하였다. 이렇게 하여 얻어진 분말은 대부분이 무정형의 구조를 가진 상태이므로 유기 용매에서 3일간 처리하여 Silk II 구조를 갖도록 유도

하였다. 실크 피브로인 분말내에 존재하는 Silk II 구조를 ^{13}C cross polarization-magnetic angle spinning(이하 CP-MAS) NMR 분광기로 확인한 결과 평균 75%의 비율을 나타내었다.

3. NMR 측정

1) Solution NMR 측정 및 Living System NMR 측정

라벨링된 5령 4-5일째 누에를 해부하여 조심스럽게 액상건을 받은 후 증류수로 2-3번 행군 후 10 w/w의 수용액 농도로 조절하였다. 그 후 D_2O 와 dioxane을 소량 넣은후 고속회전으로 인한 피브로인의 겔화(gelation)를 막기 위하여 NaOH로 수소이온 농도(pH)를 7.5로 조절하여 10 mm의 NMR 튜브에 넣어서 측정하였다. NMR 분광기는 JEOL FX-90Q를 사용하였고 ^1H 핵(核)조사(照射)에 따른 열의 발생을 막기 위하여 샘플링 시간만 ^1H 핵(核)을 조사(照射)하는 NNE법(T. Asakura *et al.*, 1985)을 사용하였다. 그 이외의 측정방법은 T. Asakura & T. Murakami(1985)의 방법에 따라서 행하였다. 또한 실크의 $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly.부분이 라벨링된 누에의 Living system의 추적은 10 mm의 NMR 튜브에 누에의 머리가 위로 가도록 한 후 후부 견사선이 NMR의 magnetic 부분에 해당되도록 조절한 후(Figure 2참조) 샘플 spinning 및 자장(磁場)rock을 하지 않은 상태에서 측정하였고, 그 이외의 조건은 위와 같은 조건으로 하여 측정하였다. 화학적 이동(이하 ppm)의 기준은 Me_4Si 를 외부기준으로 할 때 dioxane을 ppm의 기준으로 표시하였다.

2) Solid state NMR 측정

얻어진 $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly. labeled분말시료 약 1g을 double-bealing형 MAS용 로-타에 충전한 후 전용 프로브의 회전축에 삽입, 약 4 kHz의 속도로 회전하여 측정 하였다. 고체 ^{13}C CP-MAS NMR 분광기의 측정은 JEOL FX-200 분광기를 사용하여 50 MHz에서 행하였다. CP의 접촉시간(contact time)은 800- μs , 반복시간(repetition time)은 2-s로 하였다. 또한 스펙트럼의 반치폭(spectral width) 및 data point는 각각 30 kHz 및 4 K로 하였다. ppm의 기준은 tetramethylsilane을 외부기준으로 하여 benzene의 피크를 기준으로 표현하였다. 또한 얻어진 실크는 정련을 실시하여 섬유축이 일치하도록 배향시료($4.5 \times 4.5 \times 12$ mm)를 만든 후, 고체 ^{13}N CP NMR 스펙트럼을 측정하였다. 측정은 자장강도 6.3T의 JEOL EX-270 NMR 분광기를 사용하여 25°C에서 측정하였다. 고체 NMR용 프로브를 사용하여 자장방향에 대하여 섬유축(배향축)의 각도를 평행(0°)으로 정확히 고정시킨 후 평행

스펙트럼을 관측하였다. 이때의 CP 접촉시간은 7-ms, 반복시간은 7-s로 하였다. ppm의 기준은 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 의 피크를 기준으로 하는 $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ 의 피크를 0 ppm으로 표현하였다.

결과 및 고찰

1. Solution 및 solid state NMR 비교

많은 연구자들의 가잠 실크에 대한 아미노산 분석 결과에서도 알 수 있듯이 가잠 실크 피브로인의 아미노산 조성은 glycine, alanine, serine, tyrosine의 순으로 나타나 있으며 이들의 성분이 약 90%이상을 차지하고 있고 그중에서도 특히 glycine, alanine, serine이 약 85%이상을 차지하고 있다고 보고(笠井, 1980; 권해용 & 박영환, 1994)되어지고 있다. 그 중에서도 특히 glycine의 경우는 그 단순한 구조 등으로 말미암아서 β -sheet를 형성하기 쉬운 구조적 특성을 가지고 있다고 알려져 있다(권해용 & 박영환, 1994). 이와 같은 특성으로 가잠 실크 피브로인의 경우, X-선 결정 회절분석(Y. Takahashi *et al.*, 1991) 및 CP-MAS NMR 등의 분석수단(T. Asakura *et al.*, 1985)으로 밝혀진 결과로는 기본적으로 β -sheet의 구조를 형성하고 있다고 널리 알려져 있다. 이러한 가잠건의 구조적 특성을 이해한 후에 액상견으로부터의 액체 NMR 스펙트럼과 고체 NMR 스펙트럼을 비교하여 보기로 하였다. 현재, 단백질 구조해석을 필두로 각종 고분자 물질의 구조해석에 NMR법이 빈번히 이용되어지고 있다. 여기서 수용성계 시료와는 다른 분자상태의 구조가 상대적으로 속박되어져 있는 고체시료의 경우는 NMR법을 이용하여 그 스펙트럼을 측정할 경우, 수소의 높은 천연 존재비율과 농도, 그리고 핵간의 강한 쌍극자-쌍극자 결합에 기인한 광폭의 스펙트럼이 관측되어지는 것이 일반적이다. 이러한 광폭의 스펙트럼을 단순화시킨 기술이 고체 고분해능 CP-MAS법인데 현재 고체 고분자해석의 주류가 되어 빈번히 사용되어지고 있다. 이 고체 고분해능 CP-MAS법은 기본적으로 분말(powder)상의 시료를 고속회전시킴으로써 그 구조를 반영한 스펙트럼(peak)이 얻어지며 이것은 액체 NMR법과 동일한 등방성의 화학적 이동에 기반을 둔 해석이론이 적용됨은 물론이고 관측되어지는 스펙트럼은 용액 NMR스펙트럼(peak)과 같은 단순화된, 일반적으로 뾰족한 모양의 스펙트럼이 관측되어진다. Fig. 1에 실크의 $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly.부분이 라벨링된 액체시료(A)와 고체시료(B)의 각각의 NMR 스펙트럼을 실었다. A의 액체시료의 경우는 고속회전 및 등방성의 이론에 따라서 sig-

nal 과 noise의 비(S/N비)가 아주 좋은 스펙트럼이 관측되어졌다. 각각의 피크에 대한 동정을 하여 Fig. 1-A에 나타난 것과 같은 결론을 맺었다. 이와 같은 결론은 이때까지의 T. Asakura(1985)의 결과와도 일치하였다. Fig. 1-B의 silk II의 고체 고분해능 CP-MAS NMR스펙트럼의 결과는 Fig. 1-A의 액체 NMR 스펙트럼보다는 다소 차이가 있는 상대적으로 S/N비가 떨어진 결과를 얻었으나 160-180 ppm 부근의 Doublet peak가 우리가 Living system에서 추적하고자 하는 silk II형의 $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly.의 carboxyl 부분(C=O)이라고 동정하였다. 실제의 추적은 샘플 spinning 및 자장 rock을 하지않은 상태에서 액체시료의 조건에 준하여 행하였다.

2. $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly.의 추적

Fig. 2에 $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly. 부분이 라벨링된 살아있는 누에의 NMR 튜브에 들어있는 모습을 실었다. 5령에 들어가서 누에의 체적이 점점 커짐에 따라 NMR 튜브에 넣을 때의 어려움이 있었다. 수용액 상태에서 spinning을 하지않을 경우, S/N비가 상대적으로 나쁘게 관측되어지는 것이 당연하나, 라벨링 수법을 병행할 경우 특정부위의 signal만을 감지할 수 있다. 따라서 Fig. 1-B의 160-180 ppm부근의 $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly.의 carboxyl 부분과 같은 특정부위의 peak를 추적할 수 있게 된다. 그것을 추적하여 확대한 그림을 Fig. 3에 실었다. A로부터 5령 1일에서 9일째까지의 그림 즉, 고치를 짓기 전까지의 그림을 나타내고 있고 시간이 경과함에 따라서 $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly. 부분이 생성되고 있음을 스펙트럼으로써 보여 주고 있다(화살표 방향의 피크).

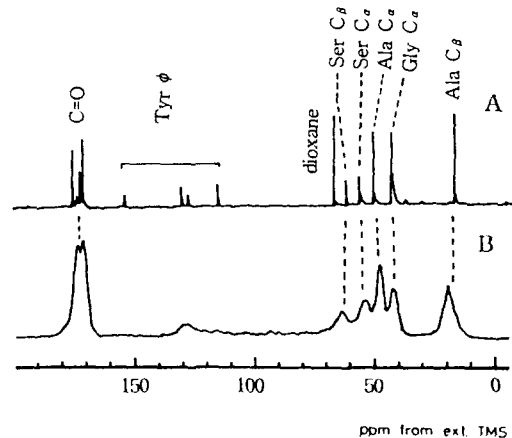


Fig. 1. ^{13}C -NMR spectra of the silk fibroin in aqueous solution(A) and in the silk fibroin powder(B).

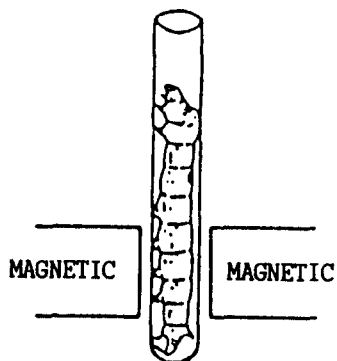


Fig. 2. Scheme of NMR glass-tube containing $[1-^{13}\text{C}]$ Gly labeled *Bombyx mori* mature larva. The silkworm's posterior silk gland was exposed to the magnetic field.

여기서 왼쪽의 Ala α 는 Silk I형의 carboxyl 피크를 나타내고 있으나 피크의 강도는 큰 변화가 없었다. 물론 실크를 구성하는 다른 부분의 아미노산을 추적하는 것도 하나의 방법이 될 수 있으리라 생각하나 처음에도 언급하였듯이 Gly가 실크를 구성하는 아미노산 중 가장 많은 비중을 차지하고 있음으로 인하여 Gly만을 추적하는 것이 가장 바람직하리라 생각되어졌다. 그러나 여기서 주목해야 할 사항으로 누에의 경우 5령으로 접어들어 점점 뽕잎 및 인공사료의 섭취량이 급격히 늘어나서 피브로인의 생산량이 많아지리라는 점과는 달리 5령 5일을 정점으로 하여 피브로인의 생합성량 및 체중의 변화는 더 이상 일어나지 않고 오히려 점점 줄어 들고 있음을 나타내었다(Fig. 4 참조). 이것은 단순히 그 외형적 혹은 섭취량만의 문제가 아니라 그 이외의 다른 요인이 있다고 생각되어졌다. 예를 들어서 가잠 실크 피브로인의 경우, 약 Gly-Ala-Ser(여기서 Gly는 Glycine, Ala는 Alanine, Ser는 Serine을 나타냄)의 아미노산 구성비가 3:2:1의 비율로 전체 아미노산의 80-90%를 차지하고 있다는 보고(志村, 1980; Y. Takahashi, 1993)를 상기시켜야 할 필요가 있으리라 생각되어진다. 이 것은 가잠 실크 피브로인의 결정부분에 관여하고 있는 아미노산이 주로 Gly., Ala., Ser.이라는 말이 되므로 그 나머지 결정 부분이 아닌 부분을 비결정, 혹은 고치를 완전히 지었을 때의 실크 피브로인(결정성 배향 상태)의 상태를 생각하여 볼 때 Silk II 구조가 아닌 다른구조가 존재하거나 5령 5일 이후에 더 많이 생성되고 있음을 나타낸다고 할 수 있을 것이다. 환언하면 액상건 상태는 구조적으로 완전 무배향의 상태이므로 결론을 내리기가

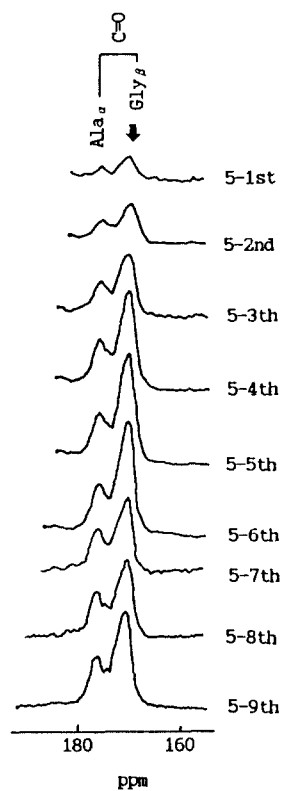


Fig. 3. Changes in carbonyl resonance of *Bombyx mori* liquid silks during the fifth larval instar.

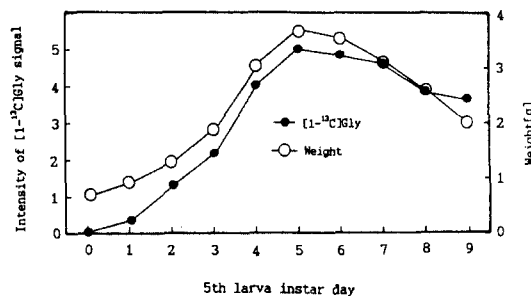


Fig. 4. Plots of $[1-^{13}\text{C}]$ Gly carbonyl signal intensity (●) and weight (○) as a function of 5th larva instar days.

불가능하나, 고치를 짓고 난 후에 그 어떤 다른 방법으로 해석을 하여 보면 알 수 있으리라 생각되어졌다. Fig. 4는 5령 1일째로부터 $[1-^{13}\text{C}]$ -Gly. 부분을 추적한 스펙트럼의 면적을 적분하여 얻은 것을 표시한 그림이다. 또한 누에의 체중변화도 같이 나타내고 있다 (○). 체중변화는 5령 5일을 기준으로 급속히 변화하

고 있음을 나타내고 있다. 여기서 Fibroin의 생산량이 5령 5일째를 정점으로하여 생합성량이 변화가 없는 이유는 다음절과 같이 생각할 수 있으리라 여겨진다.

3. 배향시료의 스펙트라 시뮬레이션

위에서 언급한대로 5령 5일을 정점으로 Silk II의 주된 결정부분을 형성하는 Gly가 더 이상 생합성 되지 않는 이유는 다음과 같이 생각할 수 있을 것이다. 첫째는 Gly를 포함하여 Silk II의 결정을 형성하는 아미노산이 생합성은 되나 결정성의 고배향 구조를 이루지 못하고 결정성의 저배향 구조를 형성하는 형태, 또 다른 하나는 Gly와는 완전히 다른 아미노산이 이때 집중적으로 생합성이 되는 형태 등으로 생각을 하여 볼 수 있을 것이다. 그러나 라벨링이 되어있지 않은 다른 아미노산은 스펙트럼의 적분강도로 구별을 할 수 없었다. 최소한 첫번째에 언급한 결정성의 저배향 구조의 해석은 본 연구의 배향시료에 의한 고체 CP-NMR 해석결과로 어떤 형태의 결론을 내릴 수가 있으므로 배향시료를 이용한 고체 CP-NMR의 스펙트럼을 관측하였다. 최종적으로 얻어진 고치로부터 배향시료를 만들어 15N-CP NMR의 측정을 하였다. 왜냐하면 15N핵에 착안하는 이유는 분자내의 수소결합에 관여하고 있기 때문이고 이 수소결합의 방향 즉, 배향된 N-H축이 정자장 방향에 강하게 의존하고 있다는 연구보고(T. Asakura *et al.*, 1993)가 있기 때문이다. 또한 이러한 결정성의 저배향 구조에 대한 형태학적 개념, 즉 실크를 포함한 배향고분자 내의 섬유상의 미세구조(microfibril)가 존재하고 있다는 일반적인 사실로도 첫번째의 예가 설득력이 있으리라 생각되어진다. 이것은 배향시료로부터 얻어진 스펙트럼은 그 섬유내의 미세구조가 섬유축을 중심으로 고유의 배향분포를 하고 있다는 결과와도 같을 것이다. 다시 말하여 견사내에 배향의 정도가 낮은 집합체 혹은 분자축(여기서는 N-H축)과 각도를 달리하는 집합체가 존재할 수 있다는 가능성을 시사하여 준다고 할 수 있다. 배향시료를 이용하여 회전을 하지 않은 상태에서 정자장과 배향축이 평행한 스펙트럼을 관측하여 얻어진 스펙트럼의 시뮬레이션을 하였다. 그 결과를 Fig. 5에 실었다. 일반적으로 배향된 상태의 긴 분자축은 섬유축(배향축)과 일치하게 된다. 또한 배향된 상태의 내부 분자각도는 여(1994 & 1996)등의 보고에 의하면 이론상 상당히 간단하게 정자장 방향에 의존하게 되어 그 스펙트럼 또한 비교적 간단한 형태로 관측되어진다. 그것은, 외부의 정자장 방향과 배향축(섬유축)의 각도를 반영한 구조정보 즉, 스펙트럼이 나타나고

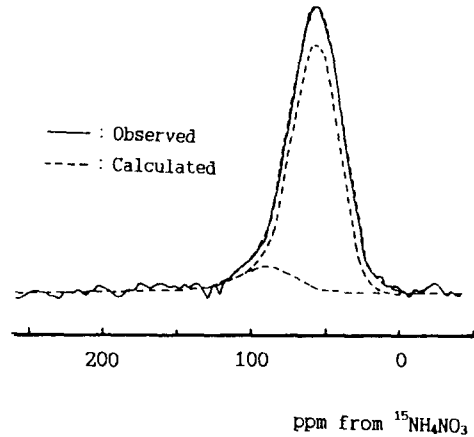


Fig. 5. Comparison of the experimental(solid line) and calculated(broken line) ^{15}N chemical shift spectra parallel to the magnetic field for Bombyx mori fibroin-oriented sample.

있는 것은 내부의 각도 정보를 반영한 스펙트럼을 의미하게 된다. 특히 배향시료에 의한 15N CP NMR 스펙트럼의 경우는 수소결합을 형성하는 N-H의 방향에 관측되어지는 스펙트럼이 민감하게 반응하므로(T. Asakura *et al.*, 1993) 만약, 스펙트럼의 분리가 가능하다면 그것은 해당 스펙트럼의 내부각도를 반영한 것이 된다. 따라서 그것으로부터 어떠한 구조를 하고 있다고 추측을 할 수 있을 것이다. 먼저 실측 스펙트럼을 기준으로 이론상의 스펙트럼을 재현할 수 있도록 프로그램을 만든 후 이 둘의 재현성 정도로써 시뮬레이션의 최종 결과로 삼았다. Fig. 5의 결과를 보면 주 스펙트럼과 작은 스펙트럼의 구성으로 실선으로 관측되어진 스펙트럼을 거의 완벽하게 재현하여 주고 있는 결과를 얻을 수 있었다(점선의 크고 작은 스펙트럼이 구성하고있는 성분). 즉, 60 ppm 부근의 크고 반치폭이 좁은 주 피크를 중심으로 90 ppm 부근의 작고 반치폭이 넓은 스펙트럼이 둘 존재하고 있음을 나타내고 있다. 이 말은 결국 N-H축의 각도 및 그 배향분포를 달리하는 2성분이 존재한다고 할 수 있는데 각각의 비율은 82%와 18%였다. 단순히 N-H의 방향에 의존한 스펙트럼만을 가지고 그 배향분포에 의한 구조를 단정지을 수는 없지만, 예를 들어서 N-H의 방향이 거의 섬유축과 일치(0°)하는 α -Helix의 경우는 그 스펙트럼의 위치가 보다 저자장측(180 ppm 부근)에 관측되어지므로 (T. Asakura, 1993) 따라서 이 작고 폭이 넓은 스펙트럼은 Silk II의 구조보다는 α -Helix의 구조에 가까운 N-H의 방향을 가졌다고 할 수 있

다. 또한 그 배향분포는 상당히 넓은 구조이기는 하나 완전한 무배향의 구조와는 다른 어느 정도의 부분적 배향성을 가진 구조가 존재함을 의미한다. 계산결과 주 스펙트럼의 N-H방향은 섬유축을 중심으로 83°를 이루면서 긴 견사축의 분자내의 microfibril의 배향분포가 18°로 존재하고 있음을 알았다. 또한 작은 스펙트럼의 N-H방향은 60°를 이루면서 배향분포는 62°로 계산되어졌다. 결론적으로 이와같은 결과는 위에서도 언급한 첫번째의 이유 즉, 5령 5일을 기준으로 Gly.를 포함하여 Silk II의 결정을 형성하는 아미노산이 생합성은 되나 결정성의 고배향 구조를 이루지 못하고 결정성의 저배향 구조를 형성하고마는 형태로 된다고 결론지었다. 이러한 결론은 고배향의 구조성분과 이것 보다는 상대적인 저배향의 성분이 존재함을 말해주는 시뮬레이션 결과와 비교할 때에도 그러한 가정을 뒷바침하여 준다고 할 수 있을 것이다.

적 요

가잠 실크 피브로인의 아미노산 조성 중 가장 많은 비율을 차지하고 있는 Glycine에 동위원소 라벨링([1-¹³C]-Gly)을 실시하여 5령 1일째부터 고치를 지을 때까지의 생합성의 상태를 NMR법을 이용하여 추적하였다. 그 결과 5령 5일을 기준으로 가잠 실크의 결정부분을 형성하는 아미노산이 형성은 되나 실크가 되었을 때 결정성의 고배향 구조를 이루지 못하고 결정성의 저배향 구조를 형성하고마는 형태로 된다고 생각되어 졌다. 이 사실은 배향시료의 고체CP-NMR 스펙트럼의 피크 분리로부터 확인할 수 있었다. 그 결과 수소결합에 관여하는 N-H의 방향이 거의 수직이라고 할 수 있는 83°의 분자축 부분이 18°의 고배향 분포를 이루면서 82%존재하고, 또 나는 N-H의 결합방향이 60°인 분자축 부분이 18%존재하면서 62°의 배향분포를 이룬다고 하는 시뮬레이션의 결과로 설명되어졌다.

감사의 글

본 연구는 1996년도 전반기 한국과학재단 국내 Post-Doc.의 연수경비로 일부 충당되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

Asakura T. and T. Murakami (1985) NMR of Silk

- Fibroin. 4. Temperature-and Urea-Induced Helix-Coil Transition of the -(Ala)_n- Sequence in *Philosamia cynthia ricini* Silk Fibroin Protein Monitored by ¹³C NMR Spectroscopy, *Macromolecules* **18** : 2614-2619
- Asakura T., A. Kuzuhara, R. Tabeta, and H. Saito (1985) Conformation Characterization of *Bombyx mori* Silk Fibroin in the Solid State by High-Frequency ¹³C Cross Polarization- Magic Angle Spinning NMR, X-Ray Diffraction, and Infrared Spectroscopy, **18** : 1841-1845
- Asakura T., J. H. Yeo, M. Demura, K. Itoh, T. Fujito, M. Imanari, L. K. Nicholson and T. A. Cross (1993) Structural Analysis of Uniaxially Aligned Polymers Using Solid State ¹⁵N NMR, *Macromolecules* **26** : 6660-6663
- Demura M. and T. Asakura (1989) Immobilization of Glucose Oxidase with *Bombyx mori* Silk Fibroin by Only Stretching Treatment and Its Application to Glucose Sensor, *Biotech. and Bioengin.*, **33** : 598-603
- Demura M., Asakura and T. Kuroo (1989) Immobilization of Biocatalysts with *Bombyx mori* Silk Fibroin by Several Kinds of Physical Treatment and Its Application to Glucose Sensors, *Biosensors* **4** : 361-372
- 伊藤智夫 (1983) 家蠶生化學, 130-169
- 笠井暢民 (1980) 續絹絲の構造(北條舒正編) 信州大學纖維學部, 271-146
- 권해용 · 박영환 (1994) 야잠사의 구조특성 및 물리적 성질, *韓蠶學誌*, **36**(2) : 138-146
- 志村憲助 · 片方陽太郎 (1980) 續絹絲の構造(北條舒正編) 信州大學纖維學部, 335-352
- Takahashi Y. (1983) Crystal Structure of Silk of *Bombyx mori*, ACS Symposium series **544**, Silk Polymers, 168-175
- 呂奏洪 · 朝倉哲郎 (1994) 固體¹⁵N NMRによる配向高分子の構造解析の理論, *高分子論文集(日本)* **51** : 43-46
- Yeo J. H., M. Demura, T. Asakura, T. Fujito, M. Imanari, L. K. Nicholson and T. A. Cross (1994) A Structural Analysis of Highly Oriented Poly(*p*-phenyleneterephthalamide) by ¹⁵N Solid State NMR **3** : 209-218
- 여주홍 · 이인전 · 박병기 (1996) 고체NMR에 의한 배향섬유의 구조해석(-견사에의 응용-), *韓國纖維工學會誌* **33**(2) : 116-124
- Yoshimizu H. and T. Asakura (1990) Preparation and Characterization of Silk Fibroin Powder and Its Application to Enzyme Immobilization, *J. Appl. Polym. Sci.*, **40** : 127-134