

İpek (*Bombyx mori*) Fibroininin Kimyasal ve Kristalin Yapısı

Gülseren YAZICIOĞLU
Prof. Dr.

Ege Üniv. Mühendislik Fak. Tekstil Müh. Bölümü, İZMİR

Bu yazıda *Bombyx mori*'nin salgı ürünü olan ipeğin esas komponentini oluşturan fibroin'in kimyasal yapısında bulunan amino asitler ile bunların kristalin yapı ile bağlantıları anlatılmıştır.

THE CHEMICAL AND CRYSTALLINE STRUCTURE OF SILK (*Bombyx mori*) FIBROIN

In this article, amino acids and their relations with the crystalline structure of fibroin, which is the basic component of Silk - a secretion product of *Bombyx mori* - are conveyed.

1. HAM İPEĞİN KİMYASAL YAPISINDA BULUNAN MADDELER

Ham ipek, yani *Bombyx mori* larvasının iki ipek salgı bezinden çıkarıp, dudağının alt kısmında yapıştırarak tek bir filament olarak meydana getirdiği lif, farklı iki proteinden oluşmuştur: Fibroin ve serisin. Fibroin esas ipek lifidir. Serisin ise bunları saran ve yapıştıran kısımdır. Ham ipekte fibroin ve serisin yanında yağlı ve mumlu maddeler, inorganik maddeler ve boyar maddeler ile su bulunur. Bu maddelerin oranları ipekböceğinin çeşit, beslenme ve bakım koşullarına göre değişebilir. Tablo 1 de, mutlak kuruya göre, ham ipekte bulunan maddelerin % oranları görülmektedir.

Tablo 1. Ham İpek Lifinin Kimyasal Yapısında Bulunan Maddelerin % Oranları (Mutlak kuruya göre)

Maddeler	En az	En çok
Fibroin	72.0	81.0
Serisin	19.0	28.0

Yağlı ve mumlu mad.	0.5	1.0
İnorganik ve boyar mad.	1.0	1.4

Kaynak: İpekböcekçiliği Araştırma Enstitüsü (1979).

1.1. Fibroinin Kimyasal Yapısı

Fibroin bir çeşit proteindir. O nedenle temelde C, H, O ve N içerir (Tablo 2). Bu elementlerin oluşturduğu amino asitler ise 18 çeşittir.

Tablo 2. Fibroinde Bulunan Elementlerin % Oranları

Maddeler	En az	En çok
Karbon	38.00	49.10
Hidrojen	6.44	6.51
Azot	17.35	18.89
Oksijen	26.00	27.90

Kaynak: Sadov ve ark. (1978).

Yünde sistin, sistein ve metionin gibi kükürt içeren amino asitler bulunduğu halde, fibroinde kükürt içeren amino asitler bazı araştırmacılara göre eser miktarda, bazılarına göre ise dikkate alınacak miktardadır. Örneğin; metionin %0.08, sistein %0.01 (Freddi ve ark. 1987), sistin %0.23 (Robson 1985) kadardır. Fibroindeki amino asitler (NH₂ - CHR - COOH) ile bunları ifade eden semboller ve R karışıklıkları Tablo 3 te gösterilmiştir.

Tablo 3: Fibroinde Bulunan Amino Asitler

Grubu	Adı	Sembolü	R
Alifatik	Glisin	Gly	-H
	Alanin	Ala	-CH ₃
	Serin	Ser	-CH ₂ OH
	Valin	Val	-CH:(CH ₃) ₂
	Treonin	Thr	-CHOH.CH ₃
	Lösin	Leu	-CH ₂ .CH:(CH ₃) ₂
Aromatik	İzolösin	Ileu	-CH(CH ₃).CH ₂ .CH ₃
	Fenilalanin	Phe	-CH ₂ .C ₆ H ₅
	Tirozin	Tyr	-CH ₂ C ₆ H ₄ OH

Heterosiklik	Triptofan	Try	<chem>NC1=CC=CC=C1C</chem>
	Prolin	Pro	<chem>OC(=O)C1CCNC1</chem>
Asidik	Aspartik asit	Asp	<chem>OC(=O)C</chem>
	Glutamik asit	Glu	<chem>OC(=O)CC</chem>
Bazik	Histidin	His	<chem>NC1=NC=CC=C1C</chem>
	Lisin	Lys	<chem>CCCCN</chem>
	Arginin	Arg	<chem>NC(=[NH2+])CCCN</chem>
Kükürt	Sistein	Cys	<chem>SCC</chem>
Çerçenler	Metionin	Met	<chem>CCSC</chem>
	Sistin	(Cys) ₂	2 sistein molekülünden redüksiyonla oluşur.

Yukarıda belirtilen amino asitlerin fibroindeki oranları ipekböceğinin çeşidine, beslenme ve ortam koşullarına göre değişir. Tablo 4'de bazı ülkelere ait fibroin amino asitlerinin oranları görülmektedir. Burada görüldüğü gibi, fibroinin %85 i glisin, alanin ve serin'dir. Bombyx mori fibroininde glisin fazla iken yabancı ipek fibroinin de alanin fazladır (Nadiger ve ark. 1985).

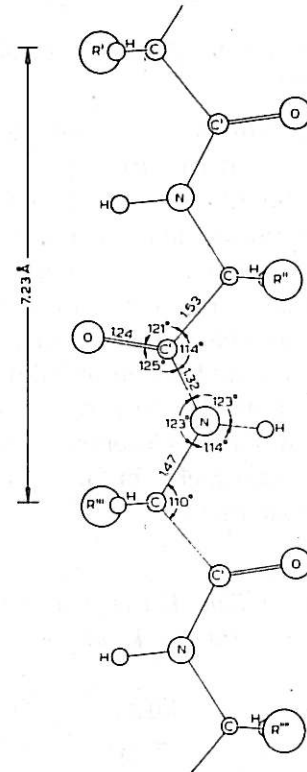
Tablo 4: Değişik Ipek Fibroininde Amino Asitlerin % Oranları

Amino Asitler	Çin Fibroini	Brezilya Fibroini	Güney Kore Fibroini
Glisin	45.24	43.63	45.50
Alanin	29.18	29.62	29.56
Lösin	0.70	0.70	0.70
İzolösin	0.51	0.56	0.63
Valin	2.16	2.21	2.03
Arginin	0.47	0.52	0.49
Histidin	0.20	0.21	0.21
Lisin	0.32	0.34	0.41
Aspartik Asit	1.63	1.74	1.70

Glutamik Asit	1.19	1.24	1.20
Serin	11.27	11.90	10.75
Treonin	0.88	0.95	0.84
Fenilalanin	0.66	0.69	0.64
Tirozin	5.14	5.27	4.85
Prolin	0.46	0.39	0.46
Metionin	0.08	0.08	0.10
Triptofan	0.03	0.03	0.03
Sistein	t.e	t.e	t.e

Kaynak: Freddi ve ark. (1987) t.e = Tayin edilmedi

Amino asitlerin fibroini oluşturması diğer proteinlerde olduğu gibi kondanzasyonla gerçekleşir. Örneğin glisin, alanin ve serinin kondanzasyonla birleştiği düşünülürse, glisilalanilserin gibi bir tripeptit meydana gelir ve su açığa çıkar. Öteki amino asitlerin bu esasa göre kondanse olduğunu düşünürsek, sonuçta polipeptit oluşur ve su açığa çıkar. Meydana gelen polipeptit zincir yumak değil lineer, yani düzdür. Fakat keratinik (yün, tiftik, angora v.b.) liflerdeki gibi zig-zag formdadır (Şekil 1). Ancak larvanın salgı deposunda iken polipeptit zincir lineer değildir. Salgı deposundaki likit fibroinin sentezlenmesi veya denaturasyonu salgılanma esnasında protein moleküllerinin kayma baskısı ve larvanın baş hareketleri nedeni ile çekme hareketi sonucunda



Şekil 1. Fibroinin Polipeptit Zinciri (Frey-Wyssling ve Mühlenthaler, 1965)

oluşan gerilmenin sağladığı reorientasyon sonucu mümkün olmaktadır. Bu oryantasyonda, bu şekildeki kuvvetlerin etkilerinin meydana getirdiği değişimler üzerinde yapılan araştırmalar, fibroin moleküllerinin açılıp düzgün bir şekilde dizilmeleri, gelişigüzel bir yapıdan düzgün bir yapı kazanması, eriyebilir halden erimez hale dönüşmesinin esası olarak ileri sürülmektedir (Robson, 1985).

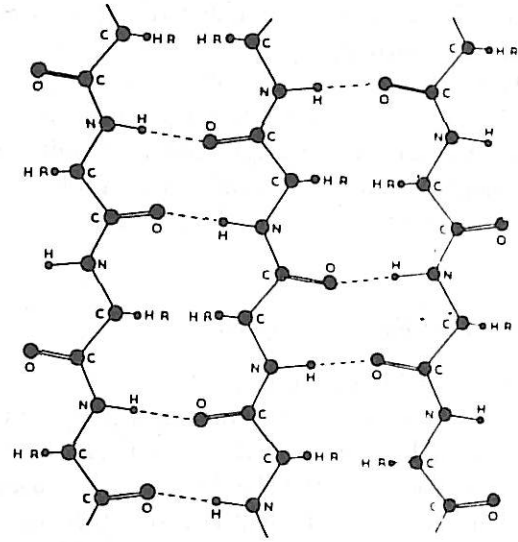
1978 yılında Kataoka lif oluşumunun iki safhada gerçekleştiğini açıklamıştır. 1. safhada likit fibroin, salgı bezinin dip kısmından orta kısmına geçerken su içeriğinin takriben %84'ten %75'e düşmesi nedeni ile kayma hareketinin hızı $2 \times 10^2 \text{ san}^{-1}$ e düşer. Salgı bezinin ön kısmına ulaşıldığında, molekül zincirlerinin akım yönüne doğru oryantasyonu ile fibronin β formu çekirdeği oluşur. 2. safhada, larvanın lifi salgıladığı ağız kısmının en dar yerinde yüksek bir baskı hareketinin ortaya çıkması ile β transformasyonu ve kristalleşme meydana gelir. Lifin oluşmasını sağlayan ağız kısmının en dar yerine gelmeden önce denatürasyonu önleyerek intramoleküler kuvvetlerin oluşmasında sıvı proteinin su içeriğinin etkili olduğu görülmektedir (Robson, 1985).

Fibroinin larva tarafından salgılanarak sentezinde ise DNA ve RNA'nın bilinen etkilerinin olduğu açıklanmıştır. Bombyx mori'nin salgı bezinin dip ve orta bölümlerindeki fibroin biyosentezinin kinetiği incelenerek, ilk 96 saatte sentezin süratlendiği, 96. saatte en yüksek düzeye ulaştığı görülmüştür. Salgı bezinin dip kısmından salgılanan DNA ve RNA'nın nükleotid kompozisyonları 1962 yılında Suzuki ve Brown 1978 yılında da Kataoka tarafından incelenerek fibroin sentezini kontrol eden mRNA'nın izole edilmesi başarılmıştır (Robson, 1985).

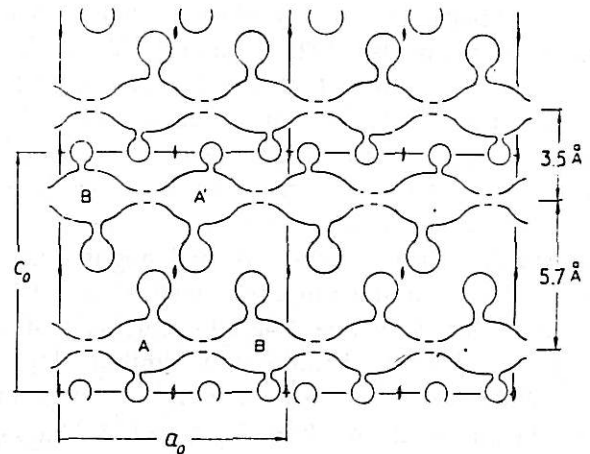
Larva tarafından sentezlenen fibroin, salgı deposunda iken, polipeptit zincirleri arasındaki -H- köprüsünü oluşturabilecek gruplar serbest halde bulunur ve sulu ortamda suyu bünyesine alarak çözünür. Fakat ağızdan salgılanıp lineer hale dönüşürken polipeptit zincirler birbirine paralel bir hal alır ve bu durum zincirler arası, özellikle -H- bağlarının oluşmasını sağlar (Peters, 1963).

Fibroinde monoaminodikarboksilli asit (asparagin asit ve glutamik asit) ve diaminomonokarboksilli asit (lisin, arginin, histidin) miktarı yünün keratini ile mukayese edildiğinde onun 1/8 i kadardır. O nedenle fibroin zincirleri arasında oluşabilecek tuz köprülerinin sayısı da yünden çok azdır. Bu durumda

ipekte kovalent bağ ve tuz bağları çok önemli rol oynamazlar. İpekte esas bağ -H- bağıdır. Bu yönü ile selülozik liflere benzer. Hidrofob çekim kuvvetleri -H- bağlarından sonra ikinci derecede rol oynar. -OH- grubu içeren tirozin ve serin, fibroinde fazla miktarda bulunduğu için -H- köprüsü oluşumu da fazladır. Diğer yandan fibroin makromoleleri CO ve NH arasındaki -H- köprüsü oluşturması olasılığı da fazladır (Brown ve Menkart, 1963). Şekil 2 de fibroinde bitişik polipeptid zincirlerdeki karşıt yönlere bulunan amino asitlerle zincirlerin bağlanması, şekil 3' de de polipeptid zincirlerin oluşturduğu topluluğun diyagramatik enine kesiti görülmektedir.



Şekil 2. Fibroinde Yan Polipeptid Zincirlerdeki Karşıt Yönlere Bulunan Amino Asitlerle Zincirlerin Bağlanması (Brown ve Menkart, 1963)



Şekil 3: Fibroinde Polipeptid Zincirlerin Oluşturduğu Topluğun Diyagramatik Enine Kesiti (Brown ve Menkart, 1963)

Fibroinde polipeptit zincirlerin helezon oluşturmaması, ipeğin uzama yüzdesinin yüne göre düşük olmasına yol açar. Fakat zincirlerin lineer oluşu yanında fazla -H- bağı içermesi kopma mukavemetini yükseltmektedir.

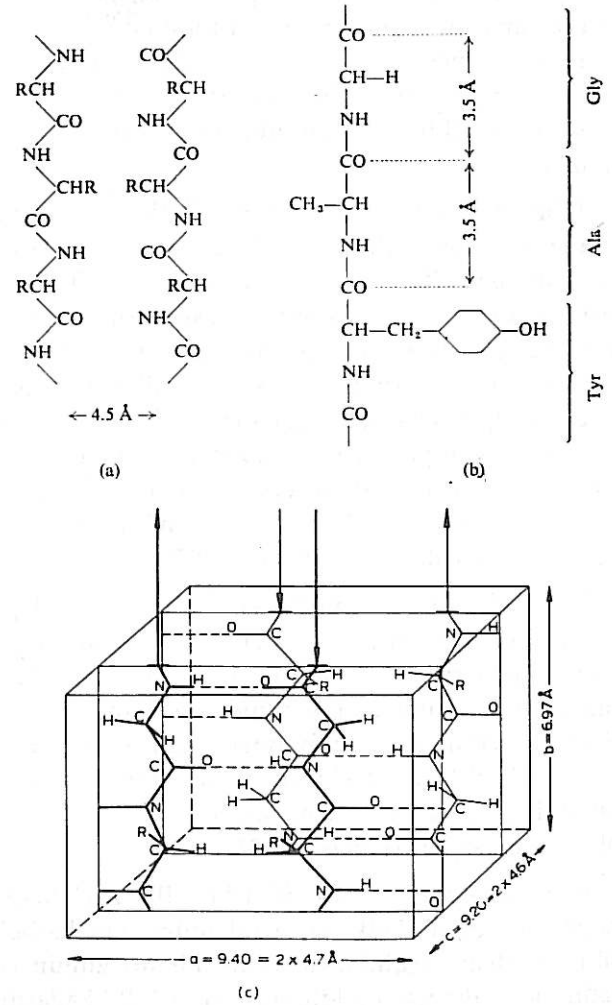
Farklı amino asitlerin fibroin polipeptit zinciri içindeki birbirini takip etme düzeni de araştırılmış, bazılarına göre Ala-Gly, Gly-Ala, Gly-Tyr, daha uzun fragmanlarda ise, Gly-Ala-Gly-Tyr ve Gly-Ser-Pro-Tyr şeklinde yerleştiği, Gly-Ala'nın 2:1 oranında olduğu, bazı araştırmacılara göre ise; X-Ala-Gly-Ala-Gly-X minimum tekrarlanan sekanslar olduğu belirtilmiştir. X diğer amino asitleri göstermektedir. Bazılarına göre (Gly-Ala-Ser-Gly-Ala-Gly)₇Tyr sekanslarının mevcudiyeti söz konusudur. Bazı araştırmacılara göre amino terminal sekansı Gly-Ala-Gly-Ala şeklinde olup, diziliş Gly-Ala-Gly-Ala-Gly [Ser-Gly-(Ala-Gly)_n]₈-Ser-Gly-Ala-Ala-Gly-Tyr dir. Görüldüğü gibi, fibroinin tekrar eden başlıca sekansları, kristalin bölgenin kompozisyonu ve strüktürü tam olarak bilinmemektedir.

1.2. Fibroinin Kristalin Yapısı

Şekil 2 ve Şekil 3'de de görüldüğü gibi, -H- bağları ile birbirine tutunmuş olan fibroinin polipeptit zincirleri, birbirleriyle irtibatlı tabakaları oluştururlar. Polipeptit zincirlerin bağlanması ile oluşan tabakaların X ışınları ile yapılan analizlerinde, 150 Å uzunluğundaki zincir boyunca kristal bölgenin bulunduğu ve bir kristal bölgeyi bir amorf bölgenin takip ettiği gözlenmiştir. Bu ilk gözlemler 1920 yılında Herzog ve Janke'ye aittir. Bu araştırmacılara göre, polipeptit zincirler lif eksenine hemen hemen paralel yerleşmiştir. 1923 yılında, Brill, lif eksenine boyunca 7.0 Å, buna dik 9.3 ve 10.4 Å mesafelerin oluşturduğu ortogonal ünitelerden söz etmiştir (Marsh, 1955). 1928 yılında Meyer ve Mark, 1931 yılında da Kratky ve Kuriyama fibroinin X ışını diyagramlarında kristalin ve amorf bölgeleri açıklamışlardır. Kratky ve Kuriyama'ya göre, kristal bölgedeki bir kristal ünite $a=9.60 \text{ Å}$, $b=6.95 \text{ Å}$, $c=9.20 \text{ Å}$ dir (Frey-Wyssling ve Mühlethaler, 1963). Buna göre, bu kristal ünite monoklinikdir. Warwick (1954) ise, ortorombik kristalden söz ederek ünite boyutlarını $a=9.29 \text{ Å}$, $b=6.95 \text{ Å}$, $c=9.44 \text{ Å}$ olarak göstermiştir. Daha detaylı açıklamalar ise Marsh ve arkadaşları (1955) tarafından belirtilmiştir. Araştırmacılara göre, ortorombik kristalin boyutları;

$a=9.40 \text{ Å}$, $b=6.97 \text{ Å}$, $c=9.20 \text{ Å}$ dur, (b kenarı lif eksenine yönüdür).

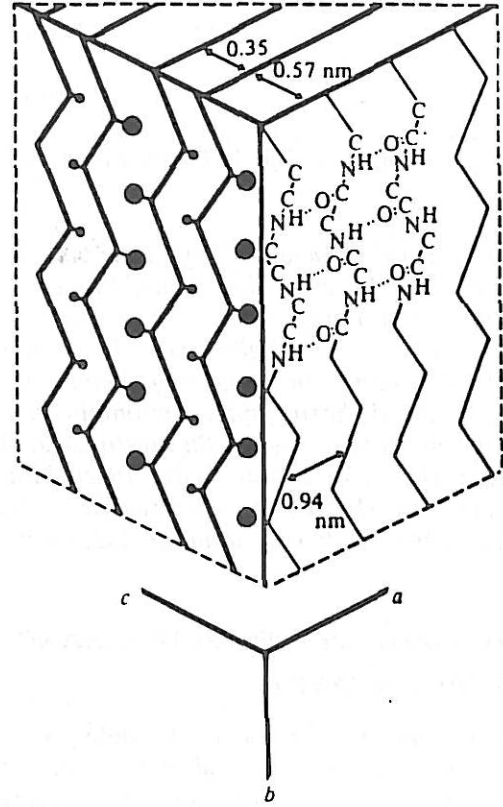
Bilindiği gibi herhangi bir kristal sistemde monoklinik ve ortorombik ünitelerdeki en belirgin özellik, her ikisinde de eşit olmayan üç eksenin bulunmasıdır. Yani $a \neq b \neq c$ dir. Fakat ortorombik kristalde açılar eşit ve dik yani $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$, monoklinikte ise; $\alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$ dir. Şekil 4'te Marsh ve arkadaşları (1955) na göre fibroinin kristal ünitesi ile (Şekil 4c), bu kristalde polipeptit zincirin profil (Şekil 4a) ve önden (Şekil 4b) görünüşü görülmektedir. Brat ve Nadiger (1980) de kristal ünite boyutlarını $a=9.44 \text{ Å}$, $b=6.95 \text{ Å}$, $c=9.20 \text{ Å}$ olarak belirtmiştir. Lif eksenine boyunca bu üniteler yaklaşık 7.0 Å luk uzunlukta ardarda tekrar ederek kristal bölgeyi oluşturur. Bu bölgede amino asitler [Ser-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly]_n şeklinde yer alır. Bir kristal bölge 150 Å dur. Bunu bir amorf bölge izler.



Şekil 4: Ipek Fibroininde a) zincir Profili b) Zincirin önden görünüşü c) Kristal Ünitesi (Marsh ve ark. 1955)

Bir kristal ünite de polipeptit zincirler arasındaki mesafe 4.5 \AA Ala ve Gly amino asitlerinin zincir içindeki mesafesi 3.5 \AA dur. Tirozin ise kristal ünite den geniştir (Şekil 4). O nedenle tirozinlerin fibroinin amorf kısmına ait olduğu veya zincir latisinin oluşumu sırasında tirozinin görüldüğü kısımlarda kristalliğin kaybolduğu farz edilmektedir (Frey-Wyssling ve Mühlethaler, 1965). Ancak polipeptit zincirlerindeki alanin, serin ile daha hacimli olan tirozin gibi yan zincirlerin kristal ünite içine yerleşmemiş olması bunların sadece kristal olmayan bölgelerde bulunduğu anlamına da gelmez. O nedenle çözümlenmemiş bazı sorular bulunmaktadır (Robson, 1985). Marsh ve arkadaşları tarafından gösterilen kristal ünite modeli, Robson (1985) tarafından, Şekil 5'te görüldüğü şekilde daha belirgin bir durumda gösterilmiştir. Bu şekilde de görüldüğü gibi, polipeptit zincirler lif eksenine paralel ve birbirlerine CO ve NH grupları arasındaki -H- bağları ile bağlanmıştır. 1 amino asit residüsünün uzunluğu 0.363 nm olduğundan, aksiyal periyodluk iki amino asit residüsüne tekabül eder. $9.40 \times 6.97 \times 9.2 \text{ \AA}$ boyutlarındaki birim hücrede (kristal ünite) 4 polipeptit zincir veya 8 amino asit residü anti paralel dizilmişlerdir. Yani geriye katlanmış şekilde aksi yönde ilerlerler. Bir çok antiparalel zincir grubu birlikte ab düzlemine paralel pileli tabakalar oluştururlar. Bu modelde daha küçük olan glisin (-H), daha geniş olan alanin (-CH₃) veya serin (-OH) yan zincirleriyle birbirini takibeder. Ancak bir zincirdeki glisin öteki tabakadaki glisinin aksi yöndedir. Tabakalar arası mesafe 0.35 ve 0.57 nm dir.

Görüldüğü gibi, fibroin polipeptit zincirinde hacimli olan tirozin gibi yan zincirlerin kristalite ilişkisi açıklanamamıştır. Ancak bunların sadece kristalin olmayan bölgelerde bulunduğunu da kesin olarak söylemek mümkün değildir.



Şekil 5. Robson (1985)'a Göre Bir Kristal Ünite de Polipeptit Zincirlerin Yerleşimi. a: Zincir arası, H köprüsü b: Lif, zincir yönü c: Tabaka arası

KAYNAKÇA

- Bhat, N.H. and Nadiger, G.S., 1980. Crystallinity in Silk Fibers: Partial and Hydrolysis and Related Studies. Journal of Applied Polymer Science. Vol. 25, 921-932.
- Brown, A.E. and Menkart J., 1963. Physical, Chemical and Mechanical Properties of Protein Fibers. Ultrastructure of Protein Fibers. Ed. Borasky Rubin. Academic Press. New-York-London.
- Freddi, G., Massafra, M.R., Colonna, G.M. and Svilokes, A.B., 1987. Caratterizzazione delle Sete da Bombyx mori di Diversa Proviienza. La Seta, Station Sperimentale per la Seta. Numero 2,
- Frey-Wyssling, A and Mühlethaler, K., 1965. Ultrastructural Plant Cytology, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, London New York.
- Howit, F.O., 1949. Protein Fibers. Fiber Science. Ed. Preston J.M. The Textile Institute. Manchester.
- İpek böcekçiliği Araştırma Enstitüsü, 1979. Koza ve İpek Teknolojisi. (Teksir) Bursa.

- Marsh, R.E., Corey, R.B. and Pauling, L., 1955. An Investigation of the Structure of Silk Fibroin. Biochem, et Biophysica Acta, Vol. 16, 1-33.
- Nadiger, G.S., Bhat, N.V. and Padhye, M.R., 1985. Investigation of Amino Acid Composition in the Crystalline Region of Silk Fibroin. Journal of Applied Polymer Science, Vol. 30, 221-225.
- Peters, R.H., 1963. Silk: Textile Chemistry. Vol. I, The Chemistry of Fibers. Chapter II. Elsevier Publishing Company. Amsterdam, London.
- Robson, M.R., 1985. Silk: Composition, Structure and Properties. Handbook of Fiber Science and Technology. Vol. IV, Fiber Chemistry. Ed. Menachem Lewin and Eli M.Pearce. Marcel Pecker Inc. New York, Basel.
- Sadov, F., Korechagin, A. and Mattetsky, A, 1978. Chemical Technology of Fibrous Materials. Translated From the Russian by N. Chernyshova. MIR, Publishers, Moscow.
- Warwicker, J.O. 1954. The Crystal Structure of Silk Fibroin. Cryst. Vol. 7, 565-573.