

CONSIDERAȚII PRIVIND MECANISMUL FORMĂRII FIBREI DE MĂTASE NATURALĂ

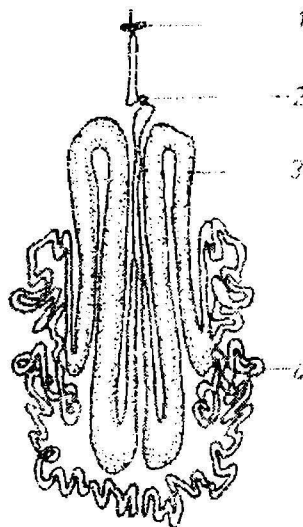
Mătasea naturală este produsă de peste 30.000 de specii de păianjeni și de mai bine de 113.000 specii de insecte din ordinul Lepidoptera. Cea mai studiată însă este cea produsă de viermele de mătase domesticit *Bombyx-mori* atât datorită istoriei sale lungi de domesticire (peste 5.000 de ani), cât și datorită calităților textile de excepție. Domesticirea speciei *Bombyx-mori* este atât de avansată încât această insectă depinde în totalitate de oameni pentru a fi hrănită și protejată. În cadrul speciei *Bombyx-mori* s-au format generic tipuri de viermi de mătase care se diferențiază mult prin anumite caracteristici cum ar fi numărul de generații produse pe an, toleranța climatică, rezistența la boli, productivitatea și proprietățile mecanice ale filamentelor produse. Prin optimizarea strategiilor de creștere și de inginerie genetică s-au obținut tipuri de viermi care produc filamente cu proprietăți determinate de caracteristicile dorite.

Sinteza proteinelor mătăsii de către viermele de mătase este un proces foarte specializat de producere a proteinei în celulele

Carmen MARIAN

glandei, în condițiile unui autocontrol bine reglat.

Glanda mătăsii e formată dintr-o pereche de canale situate simetric în corpul larvei, diferențiate în trei zone cu funcții bine conturate - posterioară, mijlocie și anterioară. Peretele epitelial al glandei e format din celule hexagonale care sintetizează fibroina și sericina mătăsii (fig.1).



Sistemul glandular al larvei Bombyx-mori

- 1 - filiera
- 2 - zona anterioară
- 3 - zona mijlocie (rezer-vorul)
- 4 - zona posterioară

În zona posterioară (4), obturată la un capăt, îngustă și foarte contorsionată, este sintetizată fibroina vâscoasă, principala proteină a mătăsii, care este apoi transferată în zona mijlocie (rezervorul) (3), cu diametrul mai mare. Pereții rezervorului generează cea de a doua proteină sub forma de soluție vâscoasă, sericina, care e depozitată în jurul fibroinei, sub forma unui strat separat. Cele două proteine înaintază împreună, fără să se amestece, prin zona anterioară (2) care devine din ce în ce mai îngustă pe măsură ce se apropie de filieră (1). Canalele glandei se unesc înaintea filierei, apropiind cele două miezuri simetrice de fibroină îmbrăcată în sericină. Filiera larvei constă dintr-o matriță, unde este adunată mătasea lichidă, și un orificiu prin care are loc extruderea filamentului. În timpul extruderii în aer, proteinele sunt convertite dintr-o soluție vâscoasă concentrată într-un filament fin și rezistent care nu mai poate fi ușor reconvertit în soluție.

Acest sistem de filare explică structura caracteristică firului de mătase: două filamente de fibroină unite prin sericină. Viermele de mătase extrude un filament pe care îl depune de la exterior spre interior sub forma unor straturi concentrice, realizând în final un ansamblu filamentar cunoscut sub numele de gogoasă.

Filarea mătăsii naturale

O trăsătură importantă a filării gogoasei este întinderea produsă prin mișcările repetate de tragere înapoi ale capului larvei, întindere care determină orientarea moleculelor fibroase lungi, în direcția tragerii.

Din forma de soluție vâscoasă până în starea solidă de fir, fibroina suferă mai multe tranziții conformaționale reprezentate schematic în figura 2.

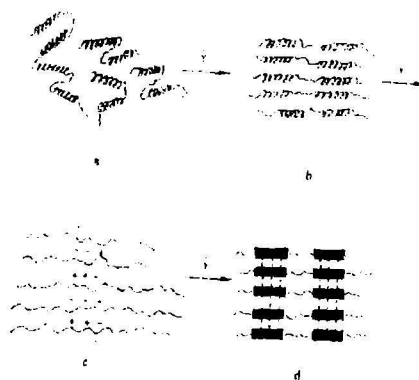


Fig. 2 Reprezentarea tranziției soluție vâscoasă - fibră în timpul filării mătăsii naturale

a) Soluția nativă de fibroină (în glande). Este reprezentată numai o parte a moleculelor, conținând două peptide cristalizabile, în configurație α helicoidală. Configurația de α helix este întâlnită la multe proteine, dar nu înglobează niciodată totalitatea lanțurilor polipeptidice, porțiuni spiralete, de lungimi diferite, alternează cu zone de răsuciri întâmplătoare, neorganizate, ale lanțurilor polipeptidice. În soluția nativă de

fibroină catenele proteinelor se găesc răsucite și pliate dezordonat, având cele mai diverse conformații.

Lanțurile macromoleculelor nu au nici o preferință spațială, fiind controlate de prezența legăturilor de hidrogen intramoleculelor.

b) Datorită acțiunii capului viermelui de mătase care generează o tragere în sensul axului longitudinal al filamentului, apare un gradient de alungire (\dot{y}) sub acțiunea căruia macromoleculele se dezrăsucesc și se paralelizează.

c) Tranziția de la forma α la forma spiralată. Datorită menținerii tragerii și alunecării prin canalele de evacuare, macromoleculele se desfac, se întind și sub acțiunea gradientului de alungire (\dot{y}) are loc o deplasare a lanțurilor, controlată de grupările încărcate electric.

d) Tranziția de la forma spiralată la structura β (reprezentată prin liniile îngroșate). Polipeptidele obligate să se apropie unele de altele se assemblează prin legături de hidrogen în cristalite.

Structura microfibrilară care a rezultat, cu regiuni cristaline alterând cu regiuni amorfe este optimă pentru cerințele textile deoarece combină tenacități cu flexibilități mari.

Fibroina-proteină predestinată să formeze fibre

Proprietățile polimerilor orientați sunt guvernate în general de structura lanțului macromolecular care poartă informații prețioase privind posibila structură supramoleculară a polimerului respectiv. Aceste informații se fixează pe lanțul macromolecular în cursul procesului de sinteză, prin natura și dispunerea mutuală a atomilor componenți, a grupelor de atomi și a unităților structurale, precum și prin masa moleculară și distribuția acesteia. De aceea această informație conținută în lanțul macromolecular, o putem considera ca o *informație configurațională* care va *predestina* proprietățile polimerilor.

În cazul biopolimerilor informația configurațională este controlată genetic și se realizează prin *autoscanare* odată cu formarea fibrei.

Proteinele în general sunt formate din lanțuri polipeptidice alcătuite din resturile a 20 de aminoacizi diferiți. În fiecare proteină individuală, numărul și secvența acestor resturi R_1, R_2, \dots, R_{20} sunt codificate prin combinații a patru baze de purine și pirimidine în AND, responsabil de stocarea directă a informației genetice și ARN, care fiind un mesager, transferă această informație celulei *loci*, unde are loc sinteza lanțurilor proteice. Cele patru baze organice din AND reprezintă de fapt cele patru litere

ale alfabetului, utilizate de codul genetic.

Structura primară a proteinelor (informația configurațională sau secvența strictă de R_i) predestinează conformațiile locale ordonate α helicoidală sau β pliată, rezultând astfel o reîmperechere și o legare a lanțurilor, necesară pentru a atinge în condițiile date cel mai scăzut nivel posibil al energiei libere. În cazul soluțiilor apoase, condițiile date sunt pH-ul, tăria ionică, temperatura și activitatea apei. În aceste condiții, conformația care rezultă este unică pentru proteina individuală și este condiționată de starea de echilibru către care tind macromoleculele.

Diagrama Fisher (fig.3) corelează informația configurațională cu energia liberă și alți parametri fizici fiind o reprezentare a mărimii și/sau a formei macromoleculei în funcție de FH (fracția resturilor hidrofobe din lanțul primar) sau m (raportul numărului de resturi nepolare și a celor polare). Aceasta este o curbă izoenergetică corespunzătoare echilibrului, adică a energiei libere minime a lui Gibbs, pentru condițiile date. Partea stângă superioară a diagramei, corespunzând conformațiilor extinse, e ocupată de proteinele fibrilare (fibroină, cheratină, collagen) iar partea inferioară dreaptă de proteinele globulare foarte compacte, cazeina ocupând o poziție intermediară. Proteinele fibrilare sunt deci predestinate să formeze fibre (valorile lui FH sau

m sunt favorabile pentru a forma conformații extinse în medii apoase).

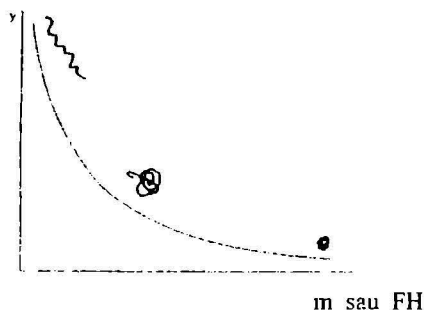


Fig.3. Diagrama Fisher - conformațiile cele mai probabile pentru câteva mase moleculare identice

În cazul fibroinei Bombyx-mori se cunoaște că lanțul de fibroină este format din patru peptide cristalizabile conținând doar patru din cei 20 de aminoacizi posibili. Acest cvartet de glicină, alanină, serină și tirozină e codificat genetic și are o semnificație specială pentru însăși reologia filării și pentru fixarea ulterioară a ordinii fibrilare optime. O astfel de polipeptidă poate lua o configurație α helicoidală, cât și o structură β în foi pliate prin implicarea legăturilor de hidrogen interlanțuri, făcând această structură practic insolubilă în apă.

Ceilalți aminoacizi care formează peptidele necristalizabile sunt de asemenea „aleși” în mod special pentru a-și juca rolul în cea de a doua etapă a filării și pentru a forma segmentele amorfe flexibile între cristalite.

În soluția apoasă de 30% din glandele viermelui de mătase, macromoleculele fibroinei se găsesc răsucite și pliate statistic, formând un ghem alcătuit din segmente α helicoidale rigide. Spre deosebire de filarea tehnologică, viermii de mătase nu elimină prin presare această soluție vâscoasă. Ei lipesc o picătură pe o frunză sau ramură și apoi prin mișcări corespunzătoare ale capului trag cantitatea necesară din lichidul ușor vâscos al glandelor. În acest mod se produce o curgere longitudinală al cărei rol este de a desface ghemul și de a orienta lanțurile flexibile de-a lungul direcției fluxului de lichid. Însă după desfacerea completă a ghemului și după paralelizare, părțile α helicoidale ale lanțurilor rămân încă sub tensiune. Acum serina și, în măsură mai mică, tirozina își joacă rolul predestinat genetic. Poliserina în general permite formarea α helixului stabil în soluții apoase, iar politirozina datorită nucleelor aromatice nu este foarte stabilă și poate suferi ușor o tranziție de la α helix la forma spirală. Acest lucru se întâmplă după desfacerea moleculelor fibroinei. Părțile slăbite ale α helixului suferă datorită întinderii o astfel de tranziție și deoarece tragerea persistă ele suferă o a doua tranziție în forma β antiparalelă formând astfel părțile cristaline rigide ale microfibrilelor primare.

Pentru a forma o fibră suficient de rezistentă și flexibilă e necesară producerea unei alunecări a lanțurilor individuale pentru a atinge o împachetare optimă a microfibrilelor. Aceasta are loc datorită interacțiunii unor grupări încărcate electric de peptidele necristaline. După ce datorită alunecării este atinsă o anumită configurație longitudinală și spațială a acestor grupări, forțele electrostatice împiedică continuarea alunecării. În timpul acestor tranziții, vâscozitatea soluției se micșorează prin eliminarea continuă a apei.

Astfel, întreg „programul” de filare (incluzând tranziția $\alpha \rightarrow \beta$ și controlul electrostatic al alunecării) și proprietățile fibrelor sunt „scrise” în structura primară a fibroinei care reprezintă de fapt informația configurațională.

În final, se formează un sistem bifazic condiționat de starea de echilibru către care tind macromoleculele în condițiile date ale filării. Părțile orientate ale fibrei (60%) conțin în principal glicină, alanină și serină (aminoacizi care au radicali R cu volum mic) putând astfel realiza o împachetare compactă prin legături de hidrogen și forțe van der Waals. Partea care conține și aminoacizi cu grupe laterale mai voluminoase prezintă o împachetare mai puțin avansată și formează zonele amorfe (fig.4).

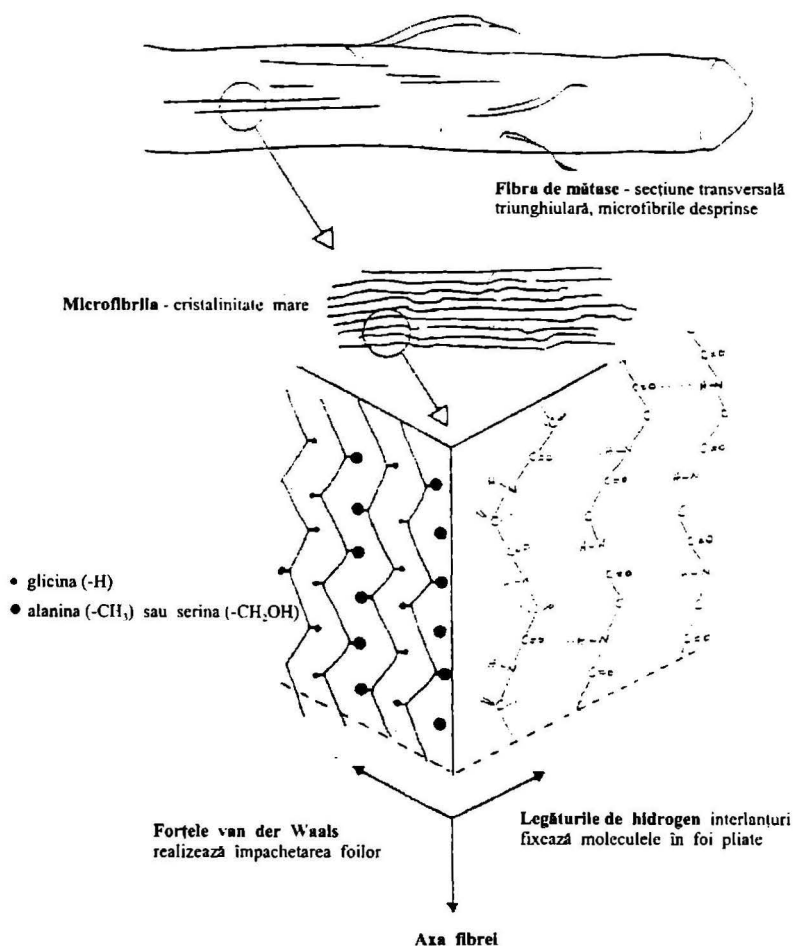


Fig.4. Structura fibrei de mătase

Larva viermelui de mătase controlează ordinea moleculară a fibrei prin mai multe tehnici sofisticate de filare (filarea gelului, filarea cristalului lichid, filarea ionică, filarea uscată, filare ce necesită un consum mic de energie). În timpul filării intervin numeroase variabile fizice și chimice care induc tranzițiile între cele patru faze cunoscute ale mătăsii: ghem încolăcit haotic, α , β și conformația β înalt ordonată.

Filarea gelului. Fibroina este sintetizată în zona posterioară

a glandei sub forma unui gel apos, cu o concentrație de 12% gelifierea fiind indusă de ioni de Ca^{2+} , Mg^{2+} și K^+ proveniți din frunzele dudului (hrana larvei).

În zona mijlocie este sintetizată sericina și se realizează concentrarea soluției de fibroină până la 25% prin migrarea apei din gelul de fibroină în cel de sericină și prin creșterea concentrației cationilor metalici. Apa din soluția de sericină este eliminată prin pereții glandei, concentrând soluția până la 7%. Pe măsură ce mătasea

lichidă se aproprie de regiunea anterioară, vâscozitatea gelului se micșorează sugerând formarea unei structuri ordonate în soluție (formarea cristalelor lichide).

Filarea cristalului lichid. Mătasea lichidă din zona anterioară a glandei serigene se află într-o stare de fază intermediară - stare lichidă cristalizată. Această mezofază întrunește atât proprietăți specifice lichidelor (capacitatea de curgere) cât și proprietăți caracteristice solidelor cristaline (anizotropie, proprietăți magnetice, electrice sau optice). Structural, cristalele lichide se caracterizează printr-o așezare mult mai ordonată a moleculelor decât faza amorfă-lichidă. Ele nu pot fi însă considerate solide datorită proprietăților mecanice.

Studiile întreprinse au evidențiat că în zona anterioară mătasea este ușor birefrigentă, fiind detectată și o anumită ordonare în direcția perpendiculară pe glanda mătăsii. Moleculele fibroinei din această zonă a glandei își asumă faza de cristal lichid liotrop și nematic și conformația forme β .

Filarea ionică (tranziția gel-sol). Concentrația ionilor metalici ai soluției vâscoase crește de la zona posterioară spre zona anterioară. Cu toate că încă mecanismul nu este pe deplin clarificat, se presupune că tranziția gel-sol este accelerată de prezența cationilor.

Filarea uscată. Viermele de mătase filează gogoșa prin procedeul uscat. În zona filierei conținutul de apă al fibrei este de 70%. Apa nu este eliminată în filieră

ci imediat după extruderea filamentului ceea ce are ca rezultat formarea porilor din structura fibrei. De aceea filarea mătăsii poate fi considerată o filare uscată și poroasă.

Supraetirarea. Mătasea lichidă este eliminată în mod constant în direcția tragerii care produce gradientul de alungire. La capătul exterior al zonei anterioare mătasea lichidă se deplasează cu o viteză de 8 mm/sec, corespunzătoare vitezei de filare a gogoșei. Având în vedere micșorarea foarte mare a diametrului glandei, putem considera filarea gogoșei ca o supraetirare.

Efectul vitezei de tragere. Experimentele făcute în laborator pe probe de mătase lichidă recoltate din zona mijlocie a glandei mătăsii au arătat că la viteze de alungire mai mici de 500 mm/min nu se evidențiază nici o modificare conformațională, iar la viteze mai mari de 500 mm/min are loc tranziția de la ghem încolăcit haotic la forma β când apare cristalizarea spre forma înalt orientată a fibroinei.

În laborator, filamentul de mătase poate fi produs prin etirarea mătăsii lichide cu viteze mai mari de 500 mm/min, la temperatura de 20°C. În natură, viermele de mătase filează gogoșa cu o viteză de 360-480 mm/min, deci mai mică decât cea din condițiile vitro, tranziția gel-sol având rol important în micșorarea vitezei de filare a viermelui de mătase.

Influența pH-ului. Experimentele efectuate în laborator au

arătat că vâscozitatea soluției apoase de fibroină regenerată din filamentele de mătase se modifică în funcție de pH. La temperatura de 20°C, la un pH = 5-6,5, efortul de curgere al soluției atinge un maxim, iar la valori mai mici ale pH-ului, efortul de curgere și vâscozitatea se micșorează. La un pH = 4.5, în laborator au fost obținute cristale cu conformația β .

În zona mijlocie a glandei pH-ul soluției de fibroină se micșorează pe măsură ce aceasta se apropie de zona anterioară, devenind 4,9 la capătul ei. În zona anterioară se presupune că pH-ul soluției este acid, acesta fiind favorabil formării conformației β .

De aceea, în filarea mătăsii micșorarea vâscozității soluției de mătase din zona anterioară este pusă pe seama scăderii pH-ului și a formării cristalelor lichide.

Zona etirării și autoetirării. În timpul filării gogoasei, viermele de mătase își mișcă capul după modelul cifrei 8, depunând filamentul extrus pe un suport exterior. Imediat după ce mătasea lichidă este eliminată din filieră, se fixează pe un suport exterior cu ajutorul sericinei - stratul exterior al filamentului. Având acest punct imobilizat, mătasea strânsă în matrița duzei este trasă afară de mișcarea capului viermelui. Aceasta este zona etirării.

În filarea gogoasei, filiera se mișcă în timp ce filamentul este fixat. Dacă mișcarea viermelui este împiedicată și filiera nu se poate deplasa în timpul filării gogoasei, viermele de mătase nu poate produce filamentul.

Viermele de mătase realizează un control foarte riguros al orientării moleculare prin metode care nu au putut fi încă imitate în totalitate de alte tehnologii artificiale de filare. Încă o dată natura ne dă o lecție ce trebuie învățată - viermii de mătase fabrică polimeri cu masă moleculară mare, în fază apoasă și în condițiile mediului ambiental. Proprietățile mecanice care rezultă sunt remarcabile având în vedere contextul condițiilor de fabricare, model în special pentru fibrele sintetice performante.

BIBLIOGRAFIE

- Asandei N., Grigoriu A. - *Chimia și structura fibrelor*. Editura Academiei, București, 1983
Kaplan D., Adams W. - *Silk: Biology, Structure, Properties and Genetics*, în **Silk Polymers**, American Chemical Society, Washington DC, 1994
S. Frenkel - *Problems of the physics of the oriented state of polymers*, în **Oriented Polymer Materials**, Oxford, 1980
Jun Magoshi, Yoshiko Magoshi - *Mechanism of fiber formation of silkworm*, în **Silk Polymers**, American Chemical Society, Washington DC, 1994

ABSTRACT

Silk protein synthesis in silkworms is a highly specialized process for protein expression under tight regulatory control in the cell.

For biopolymers, the structure of macromolecular chain is controlled genetically and is realized through "autoscanning" in the same time with the forming of the fiber.

Larvae of domestic silkworm *Bombyx-mori* control the molecular orientation of the fiber by several sophisticated spinning techniques (gel spinning, liquid crystal spinning, high speed spinning, porous spinning, ion spinning, dry spinning, low energy spinning).

The transition among the four known phases of the silk fibroin (random coil, α , β and well oriented β form conformation) are induced by numerous physical and chemical variables.