

# 三种类型蜘蛛丝的结构及生物学功能

蒋平 沈丽 杨孔 冉丹 王劫 郭聪\*

(四川大学生命科学学院 成都 610064)

**摘要:** 利用付里叶变换红外光谱仪(FTIR)对棒络新妇(*Nephila clavata*)、悦目金蛛(*Argiope amoena*)的大壶状腺丝(拖丝)、悦目金蛛的捕丝(粘性螺旋丝)和卵袋丝这3种不同类型蜘蛛丝的二级结构进行了测试研究。结果表明:蜘蛛丝同时包含无规则卷曲、 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠构象;对这3种蛛丝的红外光谱进行比较表明同一蜘蛛的不同类型蛛丝所含的这3种二级结构的比例不同,这种不同组成的二级结构就赋予了蜘蛛丝不同的特性,这种特性又与其不同的功能相适应。此外,还用扫描电镜(SEM)和光学显微镜对悦目金蛛和小悦目金蛛(*A. minuta*)的拖丝和捕丝做了形态结构观察。蜘蛛丝这种天然动物蛋白纤维所具有的特殊形态结构、蛋白质二级结构与其特殊的性能和生物学功能是高度一致的。

**关键词:** 大壶状腺丝;捕丝;卵袋丝;二级结构;生物学功能

**中图分类号:** Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2003)05-10-05

## Structure and Biological Function of Three Types of Spider Silk

JIANG Ping SHEN Li YANG Kong RAN Dan WANG Jie GUO Cong

(College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

**Abstract:** We tested the natural major ampullate silk of two orb-web spiders, *Nephila clavata* and *Argiope amoena*, the sticky capture silk (adhesive silk of spiral) of *A. amoena* and the cocoon silk of *A. amoena* with Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). Major conformational sensitive regions were assigned in the spectra. Spider silk showed secondary configuration:  $\beta$ -sheet, random coil and/or  $\alpha$ -helix. The comparison of the FTIR spectra of these four samples of spider silk demonstrates that the proportions of these three types of conformation differ in different types of silk from the same spider, contributing to the different properties and functions of silk produced by the same species. In addition, observation of the draglines of *A. amoena* by Scanning Electronic Microscope (SEM) revealed that the dragline consists of double filaments a few  $\mu\text{m}$  in diameter. Observation of the sticky capture silk of *A. amoena* by optical microscopy demonstrated that capture silk also consists of two core threads covered by viscid wet droplets. An argument can be made that these configurations of spider silk are superbly matched to their particular properties and biological functions.

**Key words:** Major ampullate silk; Capture silk; Cocoon silk; Secondary configuration; Biological functions

\* 通讯联系人;

第一作者介绍 蒋平,男,26岁,硕士研究生;研究方向:动物生态及行为;E-mail:jp412@sohu.com。

收稿日期:2002-12-01,修回日期:2003-06-30

蜘蛛是一个庞大的家族,种类繁多,不同的蜘蛛抽出不同的丝,织不同的网,其生活策略也不尽相同。通常,蜘蛛能抽出多种不同类型的丝,可用于织网、捕食、逃避和织制卵袋等。不同类型的丝是由不同丝腺、导管和纺管<sup>[1,2]</sup>产生的。如园蛛能产生7种不同的丝,各具有不同的生物学功能<sup>[1]</sup>。蜘蛛丝是一种天然的动物蛋白纤维,它由丝腺中液态的可溶性丝蛋白经由导管和纺管后变成固态不溶的丝蛋白纤维<sup>[3-6]</sup>,具有强度高、弹性高、初始模量大、断裂能大等优良的机械性能及力学性能<sup>[7]</sup>。蜘蛛丝作为一种新兴的优质材料,人们对其有较多的研究,其中研究最多的是大壶状腺丝(拖丝)。这方面国外有大量的研究报道<sup>[8,10,11,15,16]</sup>,特别是大腹园蛛(*Araneus ventricosus*)和十字园蛛(*A. diadematus*)拖丝的形态特征、氨基酸组成及序列、蛋白质二级结构、机械性能、力学性能和生物学功能等。研究表明拖牵丝包含有无规则卷曲、 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠等二级结构,其特性与其生物学功能是相对应的。然而,对与拖丝不同的捕丝和卵袋丝的研究,除 Merri 等对黑寡妇(*Latrodectus hesperus*)卵囊丝氨基酸组成的分析<sup>[8]</sup>, Barghout 等人对十字园蛛卵袋丝晶体结构的分析<sup>[19]</sup>和 Vollrath 等人对十字园蛛的捕丝形态结构的研究外<sup>[20]</sup>,对其蛋白质二级结构及功能的研究在国内外均少见报道。由于捕丝和卵袋丝与拖牵丝的功能不同,其二级结构可能因此有所不同。为此,本文对四川省具代表性的棒络新妇(*Nephila clavata*)、悦目金蛛(*Argiope amoena*)的大壶状腺丝、悦目金蛛的捕丝和卵袋丝这3种不同类型蜘蛛丝的形态结构和蛋白质二级结构做了比较分析。在此基础上,本文还探讨了蜘蛛丝结构与其生物学功能之间的关系。

## 1 材料与方法

**1.1 蜘蛛和蜘蛛丝样品的制备** 实验所用的蜘蛛采自于米易县安宁河旁的公园(东经102.06°,北纬26.88°)。采回后在室内条件下(25℃),用家蝇和蚊虫喂养,并让其在实验室内自由结网。分析用的拖丝以1 cm/s的速度(与

蜘蛛织网时的自然抽丝速度相当<sup>[2]</sup>)抽出,并卷在一个直径为4.5 cm的圆柱筒上。蜘蛛在抽丝前用电子天平称重。悦目金蛛的捕丝收集于其网,其卵丝是取自卵袋的内层。所获得的这3种不同类型的丝束分别存放于培养皿中。在几天内测试。

**1.2 蜘蛛丝伸长率的测量** 计算方法:伸长率 =  $(L - L_0) / L_0 \times 100\%$ ,  $L_0$ : 初始长度;  $L$ : 断裂长度。

**1.3 捕捉丝的光学显微镜观察** 将培养皿慢慢靠近一张完整的悦目金蛛网,网的一部分粘于培养皿皿口的边缘,然后用剪刀轻轻地将丝在皿口边缘处剪断。丝在 Olympus C-35AD 型光学显微镜下放大20倍观察。

**1.4 拖丝的扫描显微镜观察** 分别将5小段悦目金蛛和小悦目金蛛(*Argiope minuta*)的拖丝固定于 S-450 Hitachi Japan 型扫描显微镜的样品台上(不施加任何外力),样品台表面用金粉喷镀5 min后直接用于观察。丝纤维的直径通过在扫描电镜下放大4000倍左右的照片来测定<sup>[21]</sup>。每个个体的拖丝直径测定都至少重复5次,取平均值。

**1.5 红外光谱分析** 采用固体制样的研究方法,蜘蛛丝大约为1~2 mg。用于测试的有4个样丝:棒络新妇拖丝、悦目金蛛拖丝、悦目金蛛卵袋丝和悦目金蛛捕丝。用 Nicole 公司生产的170SX型红外光谱仪在4000~400  $\text{cm}^{-1}$ 范围内对样品进行测定。

## 2 结果

**2.1 捕捉丝的光学显微镜观察** 在光学显微镜下的观察表明,捕丝是由2根核心丝构成,但其表面覆盖了一层水溶性的粘性物质,上面还排列着大小不均的小液滴(图1)。

**2.2 蜘蛛丝直径和体重** 扫描电镜照片表明,蜘蛛的拖丝也是由2根细丝纤维构成(图2),直径在2~3.5  $\mu\text{m}$ 之间,并且蜘蛛拖牵丝的直径大小与其体重没有相关关系(表1)。

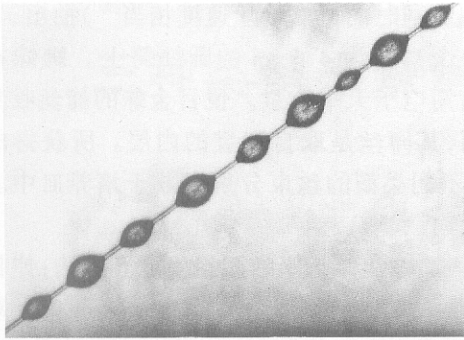


图1 悦目金蛛捕丝放大20倍的光学显微镜照片

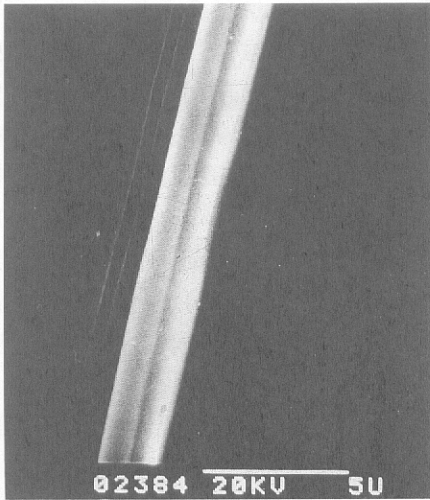


图2 悦目金蛛拖丝放大4200倍的扫描电镜照片

表1 悦目金蛛和小悦目金蛛的直径与体重

	体重(mg)	直径( $\mu\text{m}$ ) $\bar{X} \pm SE$
A 1	667	2.5 $\pm$ 0.2
A 2	202	2.8 $\pm$ 0.1
A 3	175	3.0 $\pm$ 0.3
A 4	396	3.3 $\pm$ 0.1
A 5	132	2.1 $\pm$ 0.1
Am 1	553	2.0 $\pm$ 0.2
Am 2	336	3.0 $\pm$ 0.2
Am 3	293	3.2 $\pm$ 0.1
Am 4	63	2.2 $\pm$ 0.2
Am 5	240	2.3 $\pm$ 0.1

A:悦目金蛛; Am:小悦目金蛛

**2.3 红外光谱数据及图谱** 3种类型蜘蛛丝的红外光谱见图3~6。图谱结果表明,4个样丝至少有3个不同的特征谱带:酰胺Ⅰ特征谱带 $1645\text{ cm}^{-1}$ ,酰胺Ⅱ特征谱带 $1520\text{ cm}^{-1}$ ,酰胺

Ⅲ特征谱带 $1230\text{ cm}^{-1}$ 。另外,还有酰胺Ⅴ特征谱带 $700\text{ cm}^{-1}$ 和 $600\text{ cm}^{-1}$ , $\text{CH}_2$ 折叠特征谱带约在 $1450\text{ cm}^{-1}$ ,多聚丙氨酸特征谱带 $965\text{ cm}^{-1}$ (表2)。各样丝的各特征谱带的红外光吸收率也不尽相同。

表2 4个样丝的红外光谱数据( $\text{cm}^{-1}$ )

	1	2	3	4
酰胺Ⅰ特征带	1642	1643	1647	1647
酰胺Ⅱ特征带	1515	1520	1521	1529
$\text{CH}_2$ 特征带	1451	1451	1451	1452
酰胺Ⅲ特征带	1230	1229	1241	1241
多聚丙氨酸特征带	968	965	961	963
酰胺Ⅴ特征带	683/617	692/594	688/596	679/592

1.棒络新妇牵丝; 2.悦目金蛛牵丝; 3.悦目金蛛卵袋丝; 4.悦目金蛛捕捉丝

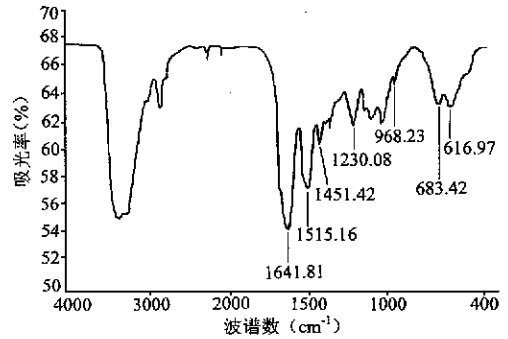


图3 棒络新妇拖丝红外光谱

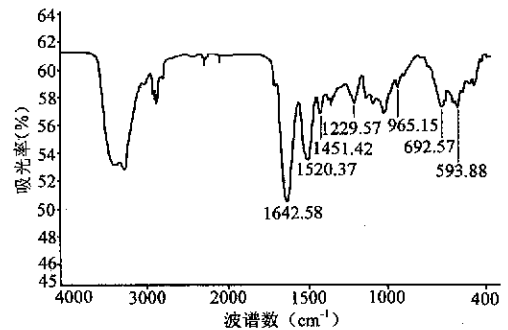


图4 悦目金蛛拖丝红外光谱

### 3 讨论

通常认为波谱数为 $(1650 \pm 5)\text{ cm}^{-1}$ 表明被测物分子含有自由卷曲结构,而波谱数为 $(1645 \pm 5)\text{ cm}^{-1}$ 则表明含有 $\alpha$ -螺旋结构。这两

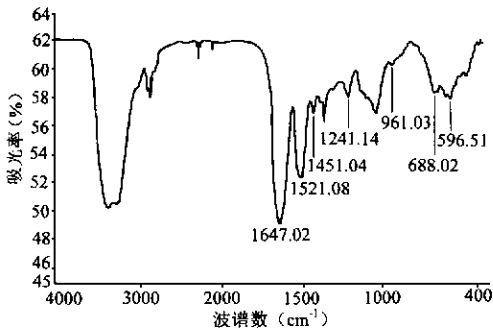


图5 悦目金蛛卵袋丝红外光谱

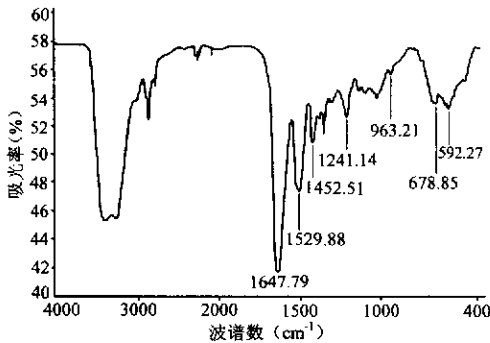


图6 悦目金蛛捕丝红外光谱

种结构形成非结晶区(无定型区域),这种非结晶结构赋予了丝纤维的延展性(extensibility)。波谱数为 $1230\text{ cm}^{-1}$ 谱带则与 $\beta$ 折叠结构有关,这种结构形成结晶区,这种结晶结构赋予了丝纤维的高强度和 high 弹力<sup>[15,16]</sup>(high stiffness and tensile strength)。

4个样丝红外光谱中的 $1642\text{ cm}^{-1}$ , $1643\text{ cm}^{-1}$ , $1647\text{ cm}^{-1}$ , $1647\text{ cm}^{-1}$ 处的波带表明,蜘蛛丝含有 $\alpha$ -螺旋结构和/或自由卷曲结构的存在。 $\beta$ 折叠分子的酰胺V特征谱带<sup>[22]</sup>约在 $700$

$\text{cm}^{-1}$ 处,而 $\alpha$ -螺旋分子的酰胺V特征谱带约在 $600\text{ cm}^{-1}$ 。而这4个样丝的酰胺V特征谱带分别位于 $683\text{ cm}^{-1}/617\text{ cm}^{-1}$ , $692\text{ cm}^{-1}/594\text{ cm}^{-1}$ , $688\text{ cm}^{-1}/596\text{ cm}^{-1}$ 和 $679\text{ cm}^{-1}/592\text{ cm}^{-1}$ ,这些结果都表明棒络新妇、悦目金蛛拖丝和悦目金蛛的卵袋丝、捕丝同时具有自由卷曲、 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ 片层结构。同时这些二级结构赋予了它们不同的特性。

从4个样丝图谱比较分析可得出,在悦目金蛛的捕丝和卵袋丝的图谱中出现 $1241\text{ cm}^{-1}$ 谱带而不是 $1230\text{ cm}^{-1}$ 谱带,表明这两种丝的二级结构含有比棒络新妇和悦目金蛛拖丝更多的无规则卷曲和 $\alpha$ -螺旋结构,这也使悦目金蛛的捕丝较其拖丝(酰胺III特征谱带 $1229\text{ cm}^{-1}$ )柔软且具有更大的延伸率,使其卵袋丝更柔软,以适应它们不同的生物学功能:捕丝和半径丝共同作用可以吸收在空中高速飞行的昆虫的动能并粘住猎物;卵袋内层丝用于包裹和保护蜘蛛卵粒,与中外层丝一同作用使卵粒免受外界的伤害。而拖丝则含有较多的 $\beta$ 折叠,其硬度大、强度高、不易断裂,以适应其对网的支持稳固、捕食、逃避敌害等特有的生物学功能。这些结果表明这3种二级结构在同一蜘蛛的不同类型丝中的含量不同,以赋予蛛丝不同的性能,适应其织网、捕食、逃避敌害、保护卵粒等不同的生物学功能(表3)。

此外,实验结果表明,蜘蛛拖丝的直径大小与其体重没有相关关系。但同一个体的幼蛛拖丝直径显然比其成体的拖丝直径小,这似乎是相互矛盾的。作者认为同种蜘蛛的不同个体拖

表3 悦目金蛛3种类型蜘蛛丝的结构、性能与生物学功能的比较

丝腺及丝名	形态结构	二级结构	特殊性能	用途及功能
大壶状腺拖牵丝	2根细纤维,白色	含相对多的 $\beta$ 折叠	硬度大,断裂能高,延伸率小(47.2%)	构成网的框丝、辐射半径丝、拖丝或救命丝,用于织网、捕食或逃避捕食者
葡萄腺、集合腺、粘性捕捉丝	2根核心丝表面覆盖有大小不均的小液滴,白色	含相对多的无规则卷曲和 $\alpha$ 螺旋	柔软、延伸率大(398.5%)	粘住及包裹昆虫等猎物
管状腺、卵袋内层丝	浅棕色或棕色	含相对多的无规则卷曲和 $\alpha$ 螺旋	柔软	包裹卵,织制卵袋

丝的力学性能的差异比较大,因此,体重大的蜘蛛拖丝的直径不一定就比体重小的同种蜘蛛拖丝的直径大。蜘蛛丝的直径是否与其不同的生活策略有关,还有待进一步研究。另外,将蜘蛛拖丝的其中一根细丝剪断,发现另外一根细丝仍然能承受蜘蛛自身的体重,考虑到蜘蛛捕获的猎物重量,因此可以推断出拖牵丝至少能承受蜘蛛自身的2倍体重。

由上述分析得知,与拖丝相比,捕丝有着不尽相同的二级结构,以适应其特殊的生物学功能。此外,其形态结构也有所不同,捕丝表面覆着的一层水溶性的粘性物质,并排列着大小不均的小液滴,其主要成分是一些神经递质的衍生物或水解产物<sup>[23]</sup>。这种水溶性的粘性物质能使蜘蛛丝适应空气湿度的变化,同时还可能破坏猎物的神经系统<sup>[7]</sup>。

综上所述,蜘蛛丝这种天然的动物蛋白纤维所具有的特殊形态结构、蛋白质二级结构及其特殊的性能与其生物学功能是高度一致的。

## 参 考 文 献

- [1] 尹长民等编著. 动物志 蛛形纲 蛛形目 园蛛科. 北京: 科学出版社, 1997. 15.
- [2] Vollrath F. Biology of spider silk. *Biological Macromolecules*, 1999, **24**:81 ~ 88.
- [3] Kerkam K, Christopher V, David K, et al. Liquid crystallinity of natural silk secretions. *Nature*, 1991, **349**:596 ~ 598.
- [4] Vollrath F, Knight D P, Hu X W. Silk production in a spider involves acid bath treatment. *Proc R Soc, Lond, Ser B; Biol Sci*, 1998, **265**: 817 ~ 820.
- [5] Vollrath F, Knight D P. Structure and function of the silk production pathway in the Spider *Nephila edulis*. *Biological Macromolecules*, 1999, **24**:243 ~ 249.
- [6] Knight D P, Knight M M, Vollrath F. Beta transition and stress-induced phase separation in the spinning of spider dragline silk. *Biological Macromolecules*, 2000, **27**:205 ~ 210.
- [7] Vollrath F. Strength and structure of spider's silks. *Biological Macromolecules*, 2000, **74**:67 ~ 83.
- [8] Dianna T, Merri L C, Kelly H. Protein and amino acid composition of silks from the cob weaver black widow. *Biological Macromolecules*, 1999, **24**:103 ~ 108.
- [9] Gatesy J, Hayashi C, Motriuk D. Extreme diversity, conservation, and convergence of spider silk fibroin sequences. *Science*, 2001, **291**:2 603 ~ 2 605.
- [10] Dong Z, Lewis R V, Middaugh C R. Molecular mechanism of spider silk elasticity. *Archives of Biochemistry and Biophysics Jan*, 1991, **284**(1):53 ~ 57.
- [11] Osaki S G Y S. Is the mechanical strength of spider's draglines reasonable as lifeline. *Biological Macromolecules*, 1999, **24**:283 ~ 287.
- [12] Yasumasa Fukushima. Secondary structural analysis in the solid state for analogous sequential polypeptides of glycine-rich sequence of spider dragline silk. *Polymer Bulletin*, 2000, **45**: 237 ~ 244.
- [13] Madsen B, Shao Z Z, Vollrath F. Variability in the mechanical properties of spider silks on three levels: interspecific, intraspecific and intraindividual. *Biological Macromolecules*, 1999, **24**:301 ~ 306.
- [14] Riekel C, Vollrath F. Spider silk fibre extrusion: combined wide- and small-angle X-ray microdiffraction experiments. *Biological Macromolecules*, 2001, **29**:203 ~ 210.
- [15] Young R J, Shao Z Z, Vollrath F. The effect of solvents on spider silk studied by mechanical testing and single-fiber Raman spectroscopy. *Biological Macromolecules*, 1999, **24**:295 ~ 300.
- [16] Shao Z Z, Vollrath F, Sirichaisit J. Analysis of spider silk in native and supercontracted states using Raman spectroscopy. *Polymer*, 1999, **40**:2 493 ~ 2 500.
- [17] Madsen B, Vollrath F. Mechanics and morphology of silk drawn from anesthetized spiders. *Naturwissenschaften*, 2000, **87**:148 ~ 153.
- [18] Shao Z Z, Hu X W, Frische S. Heterogeneous morphology of *Nephila edulis* spider silk and its significance for mechanical properties. *Polymer*, 1999, **40**: 4 709 ~ 4 711.
- [19] Barghout T, et al. Spider(*A. diadematus*) cocoon silk: a case of non-periodic lattice crystals with atwist? *Biological Macromolecules*, 1999, **24**: 211 ~ 217.
- [20] Vollrath F. General properties of spider silk. *Washington, Silk Polymers*, 1994, **19**:17 ~ 28.
- [21] Sirichaisit J, Young R J, Vollrath F. Molecular deformation in spider dragline subjected to stress. *Polymer*, 2000, **41**: 1 223 ~ 1 227.
- [22] 张炜新等. 蓖麻蚕蚕丝的丝素组成、结构与性能研究. *丝绸*, 1999, **10**: 11 ~ 14.
- [23] Vollrath F, et al. Compounds in the droplets of the orb spider's viscid spiral. *Nature*, 1990, **345**: 526 ~ 528.