技術動向

酵素で可溶化したコラーゲンからの 紡糸について

宇 津 尾 明

1. ま え が き

コラーゲンは哺乳動物から下等動物に到るまで広く動物界に分布する水に不溶性の繊維状蛋白質である。コラーゲンを例えば熱水抽出すると、ゼラチンが抽出される事は古くから知られて居た所であり、種々の目的の実用に供されてきたが、ゼラチンから良質の繊維を紡糸する事は非常にむずかしい事であった。

40 年程前からコラーゲン中には極く僅かではあるが、希酸に可溶の成分のある事が見出されては居たが、その量が非常に少ないために工業的な利用及び用途の積極的な開発には至らなかった。此の酸可溶性コラーゲン及び不溶性のコラーゲン繊維についての広範な基礎的な研究の結果、コラーゲンの分子は分子量約 30 万で長さ 2800 Å, 太さ 15 Å の比較的可たい棒状のものであり、それは更に 3 本のポリ・ペプチド鎖の 2 重らせん構造から成り立つ事が明らかになり、それは又各種の蛋白質に広く存在する事が認められている α -ヘリックスや β 型のいずれにも属さない特殊のコンホメーションを持つものである事、及びこのコラーゲン分子（トロポ・コラーゲン）が長さ方向に 1/4 づつ位相ををづらせながら規則的に配列重合して、分子間に架橋的結合の生成する事により不溶性の巨視的な天然のコラーゲン繊維を生成するものであるらしい事等が次第に明らかにされてきた。

約 10 年程前、この不溶性コラーゲンを適当な蛋白質分解酵素、例えばトリプシン、ペプシン、プロナーゼ、或は、プロクターゼ等で適当に処理すると、上述のコラーゲンの分子形態を保ったまま高収率で可溶化できる事が見出された。この物は一般の水溶性高分子物質と同様にフィルム状に成形し得る事は勿論であるが、又湿式紡糸方法によって比較的容易にかなり良質の繊維に成形し得る事が明らかになった。この酵素可溶化コラーゲンは

上述のように特殊な分子構造を持っているので、この物での紡糸を従来詳細にその様子の知られている各種高分子物質の紡糸と比較してみる事は、それ自身非常に興味深いものがあるのみならず、又得られた繊維はそれなりに独特の性質を持つ事も考えられ、従ってそれなりに新しい用途もあるものと思われる。又コラーゲンは本質的に生体的に不活性な物質であり、かつ動物体内に広く分布して居る蛋白質であるので、このようにして得られた繊維は医療用材料としても又ユニークな意義を持つものと期待される。

2. 酵素で可溶化されたコラーゲンについて

コラーゲンは前述のようは最近では、かなり良く知られた蛋白質に属し、その性質及び構造についてはすぐれた多く総説がある¹⁾。酵素で可溶化したコラーゲンの溶解状態を紹介するためには、やはりここで、簡単にコラーゲンの分子構造に関して一瞥しておく事が必要である。

まえがきで一すふれたように、コラーゲン分子—トロポ・コラーゲン—は分子量約 30 万、長さ 2,800 Å, 太さ 15 Å の棒状の分子で、実はそれは第 1 図に示すように、3 本のポリ・ペプチド鎖から成り、各々の鎖は左まきの“らせん”をまきながら、全体として右まきの“らせん”をまき、2 重らせん構造をとり、繊維軸に直角方向に夫々のペプチド結合間に $\text{>C=O}\cdots\text{H-N<}$ の水素結合を生成して、その形態を安定化して居るものと考えられて居る。

この 3 本のポリ・ペプチド鎖中のアミノ酸組成は他の蛋白質にくらべて非常に特徴的で、グリシンが全体の 1/3、プロリンとヒドロキシ・プロリンが 1/4 近くある事である。又シスチンを全く含まぬ事も特徴である。ポリ・ペプチド鎖の種々の分解切片の検討結果等から（グリシン G+プロリン又はヒドロキシ・プロリン P+他のアミノ酸 1 ケ R）という 3 ケのアミノ酸の配列の一群が、その構造の単位となっているであろう事が古くから考えられており、更にこの（G-P-R）という規則正しい

Spinning of Solubilized Collagen by Enzymic Treatment

AKIRA UTSUO

日本皮革（株）研究所室長

第1図 コラーゲン分子の構造

コラーゲン分子は左に2本で示したようなポリペプチド鎖が右のように合わさった形であり。更に各鎖間に点線で示したような水素結合が出来て、その形を安定化しているものと考えられている。

シーケンスが5ヶ結合して結晶性部分を形作り、次にアミノ酸組成の多少乱れた非晶性部分が同程度つながらり、その交互配列によって、全体として3本のポリ・ペプチド鎖の2重らせん構造が形作られているものと考えられて居る。更に結晶性部分でRは殆んどアラニンとオキシ・プロリンであり、このようにピロリジン環を持つイミノ酸が2ヶ連続結合することによって、分子の立体的に可能な構造は大きな制限を受け、今一つのアミノ酸が側鎖のない非常に小さなグリシンである事と合まってコラーゲンが、 α ・ヘリックス又は β 型のいずれにも属さない独特のコンホメーションをとるものと理解される。

今、例えば酸可溶性コラーゲンの水溶液を温度を上昇しながら旋光度の変化を追跡して行くと、 $36\sim 37^{\circ}\text{C}$ 前後の狭い温度範囲で急激な低下の起る事が観察される。

これはコラーゲンの熱変性と呼ばれる現象であって、前述の3本のポリ・ペプチド鎖の2重らせん構造が解消して、糸まり状のランダム・コイルの状態に変化する事によるもので、一次の相転移として理解されており、旋光度のみならず、固有粘度の変化にも、又その他のメカ

ニカルな性質の変化にも認められる。この熱変性した状態は広い意味でのゼラチンである。

コラーゲンの分子について考える場合に、この外にも多くの重要な問題があるが、今一つここで重要な事はコラーゲン分子の末端にはその固有のらせん構造からつき出したテロ・ペプチドと呼ばれる部分があって、そのアミノ酸組成は前述のコラーゲン本体とかなり異って居て、チロシン、フェニル・アラニン、酸性アミノ酸、等が多く、逆にグリシンが少く、オキシ・プロリンや、オキシ・リジンはない。この部分は後程述べるコラーゲン分子の特徴的な繊維再生時に極めて重要な役割をはたしているものと考えられる。

この酸可溶性コラーゲンから、どのような経過をへて不溶性のコラーゲン繊維が生成して行くかは極めて興味深い又重要な問題であり、此は本来生化学的な問題過程であらうけれども、考えようでは一種の結晶化の問題と

第2図 ステアー・ハイドからのコラーゲン繊維の電子顕微鏡写真 15,000 倍
700 Å の周期の特徴的な横紋構造がよく見られる

トロポコラーゲン

天然のコラーゲン繊維

第3図 トロポコラーゲンと天然のコラーゲン繊維の構造との関係
トロポコラーゲンが繊維軸方向に1/4づつ位相をずらして平行に配列重合して天然のコラーゲン繊維が生成するものと考えられる。このようにして第2図の700 Å の特徴的な繊維周期が説明される。

しても取り上げ得る性格のものでもある。それはさておき、天然のコラーゲン繊維を例えば、パラジウムやクロムでシャドウィングしたり、又、燐タンゲステン酸で染色して電子顕微鏡で観察すると、第2図に示すような特徴的な $700 \text{ \AA}$ の横紋構造の存在がみられるのであるが、これは前述のプロトコラーゲン形態の知見との対比から次のように考えられて居る。即ちプロトコラーゲンは第3図に示すように元来非対称な構造を持ち、頭と尾を区別する事が出来、その理由は現在の所未だ詳細ではないが、図のように互に $1/4$ ずつ位相をずらせながら平行に配列して天然のコラーゲン繊維が形成されているものとする。このようにして作られたモデルでは、電子顕微鏡的に認められる $700 \text{ \AA}$ 以下のより細かい特徴的な周期もコラーゲン分子中の結晶性部分及び非晶性部分の交互配列構造と対比させて理解する事が本質的に可能となる。

このようにトロポコラーゲンの規則的な配列・生長一重合によって生成したコラーゲン繊維中でコラーゲン分子間に、主として末端間に、何らかの結合が生じ、次第に不溶化して行くものと考えられている。このようにしてできた不溶コラーゲンを適当に酵素で処理することによって、そのコラーゲン分子間に生成した結合部分を選択的に破壊・消化することにより、コラーゲン繊維を可溶化する事が可能なものと理解出来る。酵素可溶化の詳細は文献²⁾にゆずり、かくて得られた酵素可溶化コラーゲンの諸性質をまとめて第1表に示す。表中には比較のために酸可溶性コラーゲンについての値も合せ示した。

以上の結果から酵素可溶化コラーゲンには、多少はダ

第1表 酵素可溶化コラーゲンの諸性質と酸可溶性コラーゲンのそれとの比較

	酵素可溶化 コラーゲン	酸可溶性 コラーゲン
$[\eta]$ dl/g 0.15 M クエン酸カリ緩衝液 pH 3.7 $20 \pm 0.01^\circ\text{C}$	22~27	11.5~14.5
$[\alpha]_D^\circ$ 同上	-410~-420	-415
変性温度 $^\circ\text{C}$ 同上	35~40	36~37
変性後の $[\eta]$ 同上	0.6	0.54
変性後の $[\alpha]_D$ 同上	-135	-135
流動複屈折から求めた 分子長 $\text{\AA}$	3300~3400	3000~3300*
沈降定数と粘度から求めた 分子量	$3.3 \sim 4.1 \times 10^5$	$3.3 \sim 3.5 \times 10^5$

* 流動複屈折的にはこのような値が得られるが、電子顕微鏡的には $2800 \text{ \AA}$ の長さが確認される³⁾。

第4図 酵素可溶化コラーゲンから再生された横紋構造のある繊維の電子顕微鏡写真。15,000 倍

イマー（或はそれ以上のもの）が混在しているようであるが、大部分は上述のコラーゲン分子の状態に分散されているものと考えて良さそうである。なお、溶解されたコラーゲン溶液中には消化された低分子量のペプチドが存在し、そのアミノ酸組成はペロペプチドの組成とよく一致する事から、分子の末端結合のつなぎ目部分が酵素で消化され、本質的にコラーゲン分子の形態を保ったまま可溶化された事が裏付けられる。

この溶液を適当な条件で処理すると繊維状物質の再生が認められ、それを電子顕微鏡で天然のコラーゲン繊維の場合と同様に観察すると、多少形態は異なるが、第4図に示すように、前述の天然のものに特徴的な $700 \text{ \AA}$ の横紋構造のある繊維が生成している事が認められる。従って酵素で可溶化した場合にでも尚コラーゲン分子の本質的な特性が保持されている事が明らかである。

3. 酵素可溶化コラーゲンからの紡糸及びその繊維について

コラーゲン分子は前述のように細長いかつ比較的まがりにくい棒状の構造をしているために、その水溶液は非常に粘度が高く、濃度 2~3% ですでに数 10 ボイズの粘性を示し、10% 前後では数 100 ボイズとなり、殆んど流動性を示さず、且つ著しい構造粘性を示す。従って一般のポリマーについての湿式紡糸の場合に見られるような 10 数%或はそれ以上の濃度の紡糸原液を調整する事は非常に困難である。普通ポリマーの可紡性の良否を判定するのに所謂曳糸性のテストがよく行なわれるが、コラーゲン溶液はそれらに見られるような著しい曳糸性は殆んど示さない。然しながら PVA の湿式紡糸の場合と原則的に同様の紡糸装置を用いて湿式紡糸する事が可能であった。その詳細に関しては、すでに幾つかの紹介がなされている⁴⁾のでそれらを参照していただくことにしてここには簡単に紡糸条件を述べるに止める。

例えば pH を 2~3 に調節した酵素可溶化コラーゲン水溶液を、pH 10~12 に調節した 25℃ の 16% 芒硝水溶液中に常法によってノズルから紡出する。30℃ 以上では前に述べたようにコラーゲン本来の分子の構造の破壊の起るおそれがあるので注意する必要がある。次に特に pH の調節は行なわない同じく 16% 芒硝水溶液を第 2 浴として、ここで湿潤延伸を行なう。ドラフトは原液濃度によって多少異なるが 100~200% かける事ができる。所が一度凝固した繊維の延伸は一般の合成高分子の場合のように何倍もかけられるというものではなくて、せいぜい 50% を越す事はなかった。これは現状ではあくまでも推定であるけれどもコラーゲン分子が本質的に比較的にかたい細長い分子であるために、凝固繊維中で一般の高分子物質の場合のように所謂糸まり状になっている訳ではなく、又そのような糸に考えられる程強くからまっている事もないためによるものではないかと思われる。このようにして紡糸された繊維はそのままでは水溶性であるので、一般の目的のためには不溶化する事が必要である。このためには従来各種の再生蛋白繊維について行なわれて来たと同様に普通ホルムアルデヒド等のアルデヒドで処理したり、クロムの錯塩で処理する事が行なわれる。一般にこのような化学処理は鞣製工業では“なめし”と呼ばれて居るが、反応の形式こそちがうが、PVA 繊維の場合に用いられるホルマル化と全く同質のものと考えられる。即ち系中の親水性の極性基に反応し、疎水化し同時に適当に架橋的に結合するものと考えられる。さてこの点はコラーゲン紡糸繊維の大きな欠点の一つにもなる訳であるが、ホルムアルデヒドで処理した場合繊維の水中之での収縮温度は高々 80℃ であり、クロム錯塩で処理した場合には一応 100℃ の熱水に耐えるものは得られるが、この場合にはクロム錯塩の特徴的な青緑色がつく。淡色で耐熱水性の優れたものを作るのはかなりむずかしい問題である。次にこのようにして得られたコラーゲン紡糸繊維の一般的な性質を示す。

表から明らかなように、引張り強度の大きさは羊毛の約 2 倍もあり、従来得られた各種の再生蛋白繊維の 2~4 倍にも達する。蛋白繊維としては絹につぐものと云える。ただ伸びがやや小さいくらいがある。このように強く伸びが少い性質は原料となるコラーゲン分子の形態に係るものとして非常に興味深い。第 5 図に得られた繊維の広角 X 線回折図を示すが、この回折図は本質的に天然のコラーゲン繊維のものと同一であって、紡糸繊維中での分子の配列はかなり高い事が推定される。ヤング率が割合に低いのは伸張による弾性回復率の高い事及びこの X 線回折図の結果も考慮すると、やはりコラーゲンの 2 重らせん構造の分子形態が反映されているのでは

第 2 表 酵素可溶化コラーゲン単独紡糸繊維の一般的性質

性 質			数 値 範 囲
織 度	de		1~ 5
強 度	g/de		2~ 4
伸 度	%		15~ 20
ヤ ン グ 率	kg/mm ²		300~500
3%伸張弾性回復率	%		90~100
吸 湿 率	%		20~ 25
乾 湿 強 度 比	%		65~ 75
乾 湿 伸 度 比	%		75~ 85
結 節 強 度 比	%		55~ 70
染 色 性			極めて良好、各種染料で容易に染色出来る

第 5 図 酵素可溶化コラーゲンから紡糸された繊維の広角 X 線回折図
天然のコラーゲン繊維のものと本質的に同一である。

ないかとも考えられる。又吸湿性が例えば羊毛のそれよりも著しく高い事は実用的な立場からも興味深いものと云えそうである。染色性の良好な事は蛋白質の本質上言うまでもない事といえよう。

以上のように得られた繊維の諸性質中にはコラーゲン分子の特異性にもとづくと考えられるいくつかの興味深いものがみられるが、この外にコラーゲンは他の蛋白質にくらべて抗体を作る能力即ち抗原性が著しく低いものである事が知られており、更に蛋白質加水分解酵素でその分子中からラテロペプチドが除去されると更に抗原性の低下も認められているので、この方法によって得られた紡糸繊維は最近活発に開発研究の行なわれている医用高分子材料としてもユニークなものとして期待される。

4. む す び

以上蛋白質加水分解酵素で処理する事によってコラー

ゲン本来の分子形態を保ったまま可溶化されたコラーゲン溶液からの紡糸に関して大体の様子を説明してきた。コラーゲン繊維の特徴を少しでも解っていただければと思って、少々コラーゲン自体の説明が多すぎて或は蛇足気味だった事をお詫びする。実際に紡糸実験を進めるに当ってまだまだ未解決の点、検討を要する問題等々山積するのが実情であるが、唯原料的にも非常に特徴ある物でもあるので、それなりの用途も開発され得るのではないと思われる。紙面の都合で PVA との混合紡糸の問題、及び変性コラーゲン関係の問題にふれ得なかったが、別の機会にゆずらせていただく事にする。

最後に何分にも特殊の分野の問題なので或は誤った解釈想像或は独断的な点も多々あるかと思われる。大方の諸賢のご指摘ご教示いただければ幸いです。

文 献

- 1) 野田春彦; 生化学, 31, 657 (1959), 西原富男; タンパク質, 核酸, 酵素, 5, 387(1960), コラーゲン特集; 高分子, 11, 1249 (1962), 船越浩海;

生体高分子 II 生物物理学講座, 5, 39 (1966), 吉岡書店, 御橋広真; 生物物理, 8, 205 (1968), 宮田暉夫; 高分子, 19, 355 (1970)

N. Ramanathan; "Collagen" Interscience Pub. (1960), W. F. Harrington, P. H. von Hippel; "Advances in Protein Chemistry", 16, 1(1961) Academic Press, G. N. Ramachandran; "Aspects of Protein Structure" Academic Press (1963) Arthur Veis; "The Macromolecular Chemistry of Gelatin" Academic Press(1964), S. Seifter, P. M. Gallop; "The Protein" (ed. by H. Neurath) 4 (1966) Academic Press, G. N. Ramachandran (General Editor) 1 "Treatise on Collagen" 1 "Chemistry of Collagen" (1967) 2 A, B, "Biology of Collagen" (1968)

- 2) 日特公 昭 37-14426, 同昭 44-11037
- 3) 例へば A. J. Hodge and F. O. Schmitt; *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 46, 186 (1960)
- 4) 日特公 昭 40-9062, 同 昭 41-15258, 同 昭 41-15259, 同 昭 41-15260, 谷口政勝; 高分子, 12, 608 (1963)

道路の寿命を長くする重合体

綿リントから作った重合体はハイウェイ路床のバインダとして使用できる。ハイウェイ表面下のソイルセメント混合物中の 0.5~1% 重合体は、ソイルセメント混合物の強さを約 4 倍にする。

重合体の組成物の詳細は、特許出願中のため明らかにされていない。

この重合体はルイジアナ州立大学の Clayton D. Callihan らが開発したもので、アルカリ溶液に可溶であるが、中性溶液にはほとんど不溶である。その結果、セメントと良く混合した重合体は、ソイルセメント混合物に耐水性を与え、道路の寿命を長くする。

B 249 *Chem. Eng. News.* 48 [2] 49 (1970)

(「海外技術ハイライト」Vol. 4, No. 2 より転載)