生物の接着

山本浩之*・塚本博一**

1. はじめに

種々の生物が付着、接着する現象は海水系、陸水系、大気系、あるいは生体内で多様に観察される。その中で古くから興味を引いて来た生き物は(1)恒常的な潮や波の水力学的な力に抗して岩や防波堤などの人工構造物に付着しているイガイ、フジツボ、カキなど海の大形付着生物、(2)淡水系における俗称ザザ虫などの毛翅目幼虫、(3)気系におけるクモ、蚕、ミノ虫などであり、各種動物の生態系の維持に重要な位置をしめる。細胞系を含めて、生物が生きているということには多かれ少なかれ接着・付着を伴っており、上記の動物、昆虫はいずれも付着・接着に失敗すれば死に至る。

自然界における不思議な合目的性のある付着・接着への学究的な興味とは別に、接着物質の取り組み方には全く異なる二通りのアプローチがある。その一つは接着力へのネガティブな評価で、舟の運航効率など深刻な経済的損失を与える存在である海洋付着生物(海草類、無脊椎動物類)を各種の手段により防御しようとする観点である。二つ目は積極的に接着物質から学ぼうとする観点であり、遠からず来る石油枯渇後の接着剤として各種生物由来の天然物接着剤を分子レベルで見直し、高付加価値素材として医用などのバイオ接着剤に利用しようとする立場である。本総説中では生物学徒の立場に加えて、生物化学および高分子化学の観点から各種動物に由来する生接着物質、特にタンパク質による接着現象に重点を置き俯瞰し、今後のこの分野の研究の一助としたい。なお、以前に接着物質の化学に重点をおいた総説があり部分的には重複するが¹⁾、最近のこの分野の進歩は速く、視点を少し変えた続報と理解していただければ幸いである。

2. 付着・接着生物

2.1 海水系

舟などの人工構造物が海中に浸漬されると、その表面に海中に棲息するバクテリアが最初に付着する。次いで植物性の珪藻類が付着し、柔らかいフィルムが形成される。このフィルムは珪藻の出す多糖類を粘結物質としているが、この中には海中に浮遊する有機物質と無機物質が含まれ、一般にスライムと呼ばれている²⁾。スライムは岩盤などの表面に海洋性細菌が付着し、その上にデトライタスが集まったフィルム状態のものである。初期のスライム層の形成に続いて海洋無脊椎動物の幼生が付着しはじめる。付着生物にはフジツボやイガイがよく知られているが、このほかにも海綿類、ヒドロ虫類、管棲多毛類、苔虫類、ホヤなどがある。フジツボやイガイなどの大形の付着生物は船舶の航行に影響を与えたり、工場の取排水の妨げとなるために汚損生物ともいわれている。

2.1.1) フジツボの付着³⁾⁻⁷⁾ 海洋無脊椎動物のうち生態研究が最も進んでいるのはムラサキイガイ(*Mytilus edulis*)とフジツボである⁸⁾。ここでは紙幅の関係で代表として二例について記す。一例目は液滴分泌型のフジツボの付着で瀬戸内海に広く生息しているタテジマフジツボ(*Balanus amphitrite*)の生活史とその付着とセメントの分泌について記述する。タテジマフジツボは節足動物蔓脚類で、須磨海岸においては年間27回にわたってノープリウスを産出した。放出時期は水温の比較的高い5月から10月までである。このノープリウスは10日前後でI期からVI期まで成長する。ノープリウスの間は連続的な泳ぎをするが、キプリスに変態してからは体の前面にある一対の胸肢で付着に適当な箇所を探しながら移動する生活をする。

*Hiroyuki YAMAMOTO, 信州大学繊維学部(〒386 上田市常田3-15-1)

**Hiroichi TUKAMOTO, 神戸市立須磨海浜水族園(〒654 神戸市須磨区若宮町1-3-5)

図1 フジツボの接着の様子三態 a 人工飼育下で成長したタテジマフジツボ；b セメント物質を分泌しているアメリカフジツボ；c シロスジフジツボのセメント物質の組織断面図（ヘマトキシリン・エオシン染色）

キプリスの間は摂餌は無く、数日間で付着変態して成体型となる。変態直後は、体を取りまく殻は透明で内部が見えるが、その後、色素の沈着がはじまり2-3日後には不透明になる。以後、蔓脚でプランクトンを摂る。口径が5-7 mmの個体でノープリウスの放出を確認したが、自然では口径2.5 mm以下の個体で受精卵を確認されており、生物的最小形は3 mm前後であろう。このように、キプリスで付着を始めて以来、成体となってから成長していく間に底部からセメントを分泌して基盤への固着をより強固なものにしていく。成体のフジツボは交尾針を近くの個体の体内に挿入して受精する。図1 aは人工飼育下でノープリウス、キプリス、そして付着変態後、成体型となったタテジマフジツボである。

2.1.2) フジツボの接着物質(セメント)の分泌 キプリスは一時的な付着を繰り返し、付着に適した箇所が見つかった場合には付着肢の先端からセメントを分泌して付着する。付着器管はNottら⁹⁾

によるとキプリスの付着肢の第3節にある絨毛に覆われた円盤状のものであり、中にセメント管を備えている。付着に適した箇所はスライムフィルムが形成されるところであるが、飼育実験下ではスライムの存在が付着変態に必ずしも必要ではない。

成長に伴い、殻底上部にあるセメント分泌腺で作られたセメントが分泌され接着力を強める。図1 bは液滴のセメントを分泌しているアメリカフジツボ(*Balanus eburneus*)である(塚本飼育下)。液滴分泌の様子が明瞭に分かる。セメントの分泌速度は種類により異なりシロスジフジツボ(*Balanus albicostatus*)やアメリカフジツボは速く、タテジマフジツボは遅い。また、分泌速度や分泌量に同種中での個体差が著しいが、これは被着基盤表面から取り外したときの状況によると考えられる。

なお、シロスジフジツボのように自然では海中のロープなどに付着しているものは、底部が凹凸になっておりセメントの分泌しやすい箇所とそうでない箇所とがあるのに対し、生きたムラサキガイの殻

図2 アコヤ貝の接着の様子三態

a 円内；足と足溝（白い小円形部分が接着円盤になる）；b ガラス板への接着の様子；c 足糸先端接着円盤の御影石への接着

など比較的平滑な面に付着しているアメリカフジツボは底部全面からの分泌が見られた。これは接着物質の分泌腺の配置の違いではなくて、環境への適応の違いであろうと推定される。シロスジフジツボのある個体ではほぼ1週間で、セメントの分泌物の大きさは直径1mm、長さ4mmであった。そのセメントの組織断面図が図1cである。この写真からフジツボのセメントが同心円状に数度にわたって分泌されていることが初めて分かった。

2.1.3) セメント腺 フジツボのセメント腺はキブリスの段階になって初めて現れる。キブリスの腹側のやや前方に1対のセメント腺があり、付着肢の第3節の先端までセメント管が伸びている⁹⁾。このセメント腺はタンパク質、フェノール化合物、チロシナーゼなどを産出している¹⁰⁾。セメント腺は付着変態後、殻底部の上部に位置を変える。フジツボの成長に伴い殻底部が大きくなると接着にはより多くのセメントが必要となるために新しいセメント腺が周期的に発達し、それが結合して外套のそれぞれの側に房を形成する。セメント腺からの管路は同心円状の網目構造をしている¹¹⁾。

2.1.4) 付着防止と忌避¹²⁾ フジツボなどの

付着を防止するために、古くから銅含有物などの毒性を使用してきた。また、最近まで有機スズ化合物を使って生物付着防除を行ってきた。しかし、有害物質が海中へ溶出し、環境を汚染することがはつきりし、他の付着防止の方法が考えられつつある。例えば、天然物由来の付着忌避物質の利用が図られ^{13, 14)}、また、ある種のサンゴの抽出物質が有効であると報告されている¹⁵⁾。

フジツボ類の付着基盤に対する色の選択性の知見がある。セルロイドの色板を使った安田¹⁶⁾のタテジマフジツボの丹生浦湾における付着実験では付着量（個体数）が黒>赤>緑>白の順で、暗色系に多く、明色系に少なく、白色板は極めて少なかった。別の広島湾における4段階の明度の赤、黄、緑、青の塗料を使った試験板垂下実験においても、タテジマフジツボのキブリスは、低明度に引きつけられるとの報告がある¹⁷⁾。これらからフジツボは黒や赤などのしかも暗色系の基盤を好み付着すると判断される。また、フジツボの付着力を調べた Becka らによると、テフロンが基盤の場合には他の素材に比べて剥がれ易いと報告されている¹⁸⁾。

2.1.5) アコヤ貝 二例目として足糸付着型のアコヤ貝を取り上げる。わが国では付着防止の実用研究が盛んであるのに比して、海洋無脊椎動物の付着生態および接着物質に関する分子レベルでの重要な基礎知見の多くはアメリカおよびイギリスにおいて報告され、日本沿岸での生物に基づくものは皆無と言ってよいほどである。この現状を残念に思い、日本沿岸におけるいくつかの海洋接着関連タンパク質の接着物質の研究を始めた。アコヤ貝 (*Pinctada fucata*) は本州以南、インド・太平洋海域に分布する二枚貝であり、真珠養殖に永く利用され、血統の

表1 生物の接着強度

動物種		引っ張り接着強度 (基盤) (Kgf/cm ²)		
イガイ	<i>M. edulis</i>	全体	200-2000	
		disc	4-9	(ガラス, スレート, 外殻層, 貝殻)
	<i>Mytilopsis sallei</i>	全体	0.1	(パラフィン)
			70-90	(ガラス, スレート)
フジツボ	<i>B. balanoides</i>	幼生期	20-30	(有機ガラス, テフロン)
		成長後	2	(スレート)
カキ	<i>B. amphitrite</i>	全体	2-18	(スレート)
		全体	1140	
アコヤ貝	<i>Crassostrea cuculata</i>	全体	350	
		全体	530-730	(テフロン, ガラス)
	<i>Pinctada fucata</i>	全体	1600-1700	(ポリアミド, 御影石)
		disc	2-5	(ポリアミド, 御影石)
クモ	<i>Nephila clavata</i>	棒糸	10000	
		粘着物	10000	
蚕	<i>Bombyx mori</i>	フィブロイン	12 (鉄)	3 (アルミナ)
ザザ虫	<i>Stenopsyche griseipennis</i>	絹糸腺	14 (鉄)	4 (アルミナ)

そろったわが国を代表する貝である。かつて国立の研究所などにより養殖、生態、飼育、遺伝などを含む多岐にわたる研究報告があるが、いかに良質の真珠を得るかに研究の重点が置かれ分子レベルの知見には至っていないため、同じく主力輸出品であった絹に比べて周辺科学分野への寄与および波及効果は少なかったと判断される。

アコヤ貝は、収足筋に囲まれた分泌腺より分泌した足糸の先端の粘着円盤で周囲の物体に接着する。分泌された複数の足糸は図2 a-cに示したように基盤に接着し、貝の本体を固定する。アコヤ貝が足糸1本を分泌する速さは、足を出して基盤表面を探り始めてから約5-9分である(人工海水)。アコヤ貝は基盤への好みがあり、御影石に対しては好んで接着する(足糸数~9本)。またアコヤ貝のテフロン(TF)とポリカーボネート(PC)に対する付着挙動を比べると、テフロンは好まず、固定しておかなければテフロン板上から逃げてしまい、固定しておいても分泌された足糸数は少なかった(1-2本)。他の接着基盤に対しての分泌足糸数は、御影石とテフロンの中間であった。テフロンは一般に接着剤が接着し難い高分子材料の一つであるのは周知の通りであるが、アコヤ貝がテフロンを好まず逃避する事は興味深い。アコヤ貝をガラス、御影石、TF、PC、ポリアミド(PA)の基盤表面に分泌した足糸タンパク質により接着させ、引っ張り試験を行った。表1に各種基盤についての引っ張り接着強度の平均値および最高値を示した。粘着円盤の接着強度の平均値お

よび最高値は共に御影石に対するものが最も大きく、PAが二番であり、TFはガラスを上回った。これらの接着強度は接着面積を粘着円盤と等しく見積もっているが、真の接着強度は表1の値よりはるかに大きいと判断される。一方、足糸の直径は約0.12mmであり、この径に基いて算出した引っ張り接着(切断)強度は730-1700kgf/cm²であり、古くからムラサキイガイ(全体)の引っ張り接着強度²⁰⁾として報告されている200-2000kgf/cm²とはほぼ似た強い接着性をしめし、ムラサキイガイの接着タンパク質同様の良好なバイオ接着剤になる可能性が期待される。

外観上アコヤ貝とイガイの足糸形成パターンは酷似している。イガイの接着円盤(discまたはpad)の形成の機構は足の巧みな陰圧の利用とされているが²¹⁾、むしろ水中の表面の水の一時的な排除が主であると考えの方が自然であり、新しい実験系の開発を含めて更に検討と考察を要する問題である。

フジツボは液滴が分泌され土台に接着し、アコヤ貝では暗所で足糸を形成し接着する。このように甲殻類フジツボと二枚貝であるアコヤ貝やイガイ類の付着の仕方は同じ海洋無脊椎動物の接着でも全く異なっている。無脊椎動物が分泌腺から接着タンパク質を分泌して基盤表面に付着・不溶化する際、なぜこのようになるかについては不明な点が多く、種々のモデルタンパク質の水溶液について接触角と表面張力を測定し表面エネルギーとの関係で水系タンパク質の接着・不溶化現象を考察しようとする試みがある^{22, 23)}。

表2 蜘蛛 (*Araneus diadematus*) および 蚕 (*Bombyx mori*) の絹糸腺分泌物のアミノ酸組成

アミノ酸	蜘蛛							蚕	
	大嚢状腺	小嚢状腺	管状腺	鞭毛状腺	聚状腺	葡萄状腺	梨状腺	フィブロイン	セリシン
Asp	1.0	1.9	6.3	2.7	9.2	8.0	10.5	1.5	16.7
Thr	0.9	1.4	3.4	2.5	7.6	8.7	4.4	0.8	9.7
Ser	7.4	5.1	27.6	3.1	6.8	15.0	14.8	11.1	33.4
Glu	11.5	1.6	8.2	2.9	9.8	7.2	10.4	1.1	4.4
Pro	15.8	trace	0.6	20.5	10.8	3.0	7.8	0.3	0.7
Gly	37.2	42.8	8.6	44.2	14.5	13.9	7.8	44.5	13.5
Ala	17.6	36.8	24.4	8.3	6.2	11.3	9.9	29.5	6.0
Val	1.2	1.7	6.0	6.7	5.8	7.4	5.4	2.2	2.8
Ile	0.6	0.7	1.7	1.0	4.7	4.3	3.7	0.6	0.7
Leu	1.3	1.0	5.7	1.4	5.5	10.1	5.4	0.5	1.1
Tyr	3.9	4.7	1.0	2.6	2.2	2.0	2.2	4.9	2.6
Phe	0.5	0.4	3.2	1.1	3.8	2.8	2.3	0.6	0.5
Lys	0.5	0.4	1.8	1.4	7.4	1.9	9.0	0.3	3.3
His	trace	trace	trace	0.7	2.4	0.3	2.8	0.2	1.3
Arg	0.6	1.7	1.5	1.1	3.4	4.1	3.6	0.4	3.1
Cys	-	-	-	-	-	-	-	trace	0.2
Met	-	-	-	-	-	-	-	trace	trace
NH ₃	6.7	1.4	6.0	2.6	8.7	6.5	7.6		

2.2 淡水系

内陸の淡水中にもユニークな接着により生態系を維持している生物がいる。毛翅目 (Trichoptera) は世界に一万種、日本に300種分布し、その幼虫は清流中で体内の絹糸腺から糸を吐き、岩、小石、砂粒、葉片などを接着し、造網し、美しくデザインされた種々の筒巣を作成する^{24) - 26)}。これら造網型の毛翅目幼虫は発電水路の内壁に付着営巣して流量を減少せしめ、発電所の出力を減退するため発電害虫と呼ばれ駆除の対象にされている。この毛翅目幼虫のうち体長の大きい(成熟幼虫4-5 cm)ヒゲナガカワトビケラ (*Stenopsyche griseipennis*) の幼虫(俗称ザザ虫)の淡水系の接着タンパク質のアミノ酸組成は約30モル%含まれている Gly 以外は Ala, Val, Ser, Tyr, Asp, Glu, His, Arg が5-10モル%, Leu, Ile, Phe, Lys, Thr が2-5モル%と各種アミノ酸がバランス良く含まれ、造網型であるのに Ala すら8-9モル%しか含まれていないのは注目に値し、水中での糸形成と後述の大気系(2.3節)での糸とはアミノ酸組成は大きく異なり異なる紡糸機構の可能性を示唆している。

ヒゲナガカワトビケラ幼虫を解剖し絹糸腺を摘出し調製したタンパク質溶液はさらさらした溶液で、家蚕フィブロイン溶液で顕著に見られるズリ応力による繊維形成能はまったくなく、曳糸性もほとんどないのに流水中で接着する。このザザ虫の絹糸腺か

らのタンパク質溶液の基盤への引っ張り接着強度は表1に示してある²⁴⁾。

2.3 大気系

大気系における代表的な接着タンパク質は蚕およびクモである。蚕は人工の昆虫であり、クモは世界中に約三万種、日本に千種生息しその約半数は巣を作成し食餌している。クモの巣は七種異なるタンパク質から作られている。

2.3.1) 蚕 繭を作る直前の蚕は絹繊維を構成する二種類のタンパク質が左右一対の絹糸腺に蓄えられる。後部絹糸腺で作られたフィブロインが繊維の軸になり体の中ほどにある圧糸部で粘着物質セリシンの皮を被せられ、頭部の吐糸管で左右が合体し、“8”の字型に首を振りながら一匹で1000メートルを超す絹を切れ目なく吐き出し、繭を作る。糸が機構通りに作られても、繭になるかどうかの最後の関門は接着にある。つまり、最初に吐いた糸を周囲の壁(木、紙、藁など)に付着・接着できなければ熟蚕のまま死を迎える。従来、生糸産業および絹の科学は主に糸の本体フィブロインにその努力のほとんどを傾けて来たが、蚕に断りなく煮捨てられ放置されてきた接着物質セリシンこそ蚕の世代交代の鍵を握っていると言えなくも無い。“接着なくて生命無し”と言い続けている所以の一例である。

蚕は巧みに接着により自己組織を修復する。例え

ば6本の足の内1-6本を切断すると、蚕は体液が失われても、裂傷部を接着補修し、約30分程度で完全に自己保全を果たし、桑を食べ生長を続ける。繭を作る寸前の五令の蚕の場合、体液が約半量滴り失われても生きながらえ、大きさは約半分ほどの完全な繭を作り、もちろん子孫の保存を全うする。このプロセスは全く驚異的で、魅力的な自己修復機能である。

2.3.2) 蜘蛛 蜘蛛と巧みにデザインされた網巣は身近な自然の不思議の一つであるが、糸と粘着物質のマテリアルについて分子レベルでは余り研究されて来なかった。コガネグモ科の蜘蛛の七種の分泌腺は、大嚢状腺、小嚢状腺、管状腺、聚状腺、鞭毛状腺、葡萄状腺、梨状腺と呼ばれ、それぞれの腺から異なる機能とアミノ酸組成を持つタンパク質が分泌される。大小嚢状腺からは粹糸、放射糸を作るタンパク質が分泌され、Ala および Gly に富んでいる。鞭毛状腺の分泌物は Gly と Pro に富み、4 倍にまで伸び縮みする弾性を示す。聚状腺と梨状腺は粘着・接着物質を分泌し、酸性アミノ酸(Glu, Asp)およびオキシアミノ酸(Ser, Thr)を相対的に多く含む。蜘蛛は雨を予感しつつ、晴天時に巣を掛け、葡萄状腺から糸を出し餌になる昆虫類を捕え生長し、卵繭を作り、次世代へと種の保存を図る。表2に家蚕(*Bombyx mori*)の絹糸腺から分泌される二種のタンパク質とコガネグモ科のミカドオニクモ(*Araneus diadematus*)の七種の分泌腺からのタンパク質のアミノ酸分析値を文献から引用した^{27, 28)}。絹糸フィブロインでは Gly と Ala で85モル%を占め、クモの糸では Gly と Ala で55-80モル%を占めている。他方、絹の接着タンパク質セリシンでは Ser が総量の約1/3を占め、クモの粘着タンパク質では Gly および Ser の各15モル%, Pro, Asp, Glu の各約10モル%が目立つ程度であり、はっきりと糸とは機能分離が出来ていると理解される。夏の雌ジョロウグモ(コガネグモ科 *Nephila clavata*)の牽引糸のアミノ酸組成でも Gly (41モル%), Ala (28モル%), Glu (10モル%)で約8割を占め²⁸⁾、絹フィブロインに似た糸であると言えるであろう。これら分析値はそれぞれの目的で生合成された糸と接着物質の生体高分子としての一つの傾向を示している。人間により桑を与えられ生きている蚕の分泌腺が一つであるのに比べ、生きた昆虫を自力で捕食する蜘蛛が七種の分泌腺を必要とするのはある程度分かる気がするが、繭 → 次世代のプロセスが蜘蛛と蚕が

酷似しているのは何故であろうか。蚕およびクモの接着強度も表1に示してあるが、クモの糸は最強の強度を示している。このクモの巣の特性に注目し、高弾性新素材を開発しようとする試みが英国で有る。

3. 接着特性

今までに報告されている生物の代表的な引っ張り接着強度を表1に示してある。最強の接着性はクモの粘着物の10tonf/cm²であり、上記のアコヤ貝の接着強度もかなり強い接着性を示している。10⁴倍も異なるこれら天然タンパク質の接着強度は自然界における接着性の大小の目安を示しているが、実際には被接着土台の材質や表面処理、乾湿など資料の状況および測定条件が一定でなく生物の接着性の測定とその表示は難しい問題である。ここで興味深いのはイガイ類で、TF やポリプロピレンの様な通常接着し難いとされる高分子材質に水中で数 kgf/cm²接着することである。一方、アコヤガイはPCを好みTF板を忌避する。最近の特許には、ムラサキイガイのフェノール分泌腺から精製された接着タンパク質は水中で木、鉄、骨、歯、ガラス、スレートなどに21-70kgf/cm²の強度で接着し水系で何年間も恒久性があると記載されている²⁹⁾。

4. 接着物質の一次構造および二次構造

生物由来の接着タンパクのアミノ酸組成および配列は現状では統一的に把握することは出来ない。現時点で接着タンパク質を分類すると(a)無規則(未決定)型、(b)コラーゲン型、(c)ほぼ規則配列型、(d)完全規則配列型のように分類される。接着タンパク質は上のa-cに分類される非特異的な表面への接着であり、分類dの生体内における細胞接着タンパク質フィブロネクチンなどが確立した一次構造のごく限られた活性ドメイン(Arg-Gly-Asp)部位によりレセプターの識別により特異的に結合(接着)するのとは異なる。この差異は大部分の接着タンパク質を物質として認識する時には有利な点で、被着基盤の材質を設定すれば接着可能なタンパク質を化学的に提供出来る可能性を示唆している。

分類aに属する淡水系および気系の接着物質の化学については上の2.2および2.3節に略述したので、ここでは液滴分泌型のフジツボの接着タンパク質の最近の知見について記す。各種フジツボのアミノ酸組成とヒメフジツボ *Balanus balanoides* (1976年以降 *Semibalanus balanoides* と分類改訂)

表3 接着タンパク質の一次構造

種	分子量 ($\times 10^{-3}$)	アミノ酸配列
ムラサキイガイ (<i>M. edulis</i>)	130	Ala-Lys-Pro-Ser-Dopa-Hyp-Hyp-Thr-Dopa-Lys ^a
カリフォルニアイガイ (<i>M. californianus</i>)	85	Hyp-Lys- Y -Thr-Dopa-Hyp-Hyp-Thr-Dopa-Lys Arg-Lys-Pro-Ser-Dopa-Hyp-Hyp-Thr-Dopa-Lys
ヒバリガイ (<i>Geukensia demmisa</i>)	130	X - Thr-Gly-Dopa - Y - Z - Gly-Dopa-Lys
チリイガイ (<i>Choromytilus chorus</i>)	100	Ala-Gly-Dopa-Gly-Gly - Y - Lys ^a
イシサンゴ	35	Val-Gly-Gly-Dopa-Gly-Gly-Dopa-Gly-Ala-Lys
ゴカイ (<i>Nereis japonica</i>)	1500	Ala-Gly-Glu-Hyp-Gly-Gly ^{a, b} Hyp-Gly-Gly-Glu-Ala-Gly ^{a, b}
肝吸虫 (<i>Fasciola hepatica</i>)	31	Gly-Gly-Gly-Dopa-Gly-Gly-Dopa-Gly-Lys ^a Gly-Gly-Gly-Dopa-Asp-Ser-Dopa-Gly-Lys
フィブロネクチン (レセプター認識配列)		- Arg-Gly-Asp -
X = アミド, Y = 疎水性アミノ酸, Z = イミノ酸		

a 著者 (H.Y.) により合成された接着タンパク質

b 詳細は文献46参照

の外皮に存在し、接着の本体と目されアースロポディンと名づけられたタンパク質の物理化学的分析についての報告がある³⁰⁾。その後の研究によりフジツボの接着タンパク質は含硫アミノ酸の含有量により二系列に大別されるようであるが³¹⁾、種によるばらつきが大きく特徴的に多量に存在するアミノ酸も共通には見い出せない。また、フジツボの付着・接着にはフェロモンが関与しているとの報告もあるが³²⁾、慎重な判断を要し、今後の研究課題であろう。わが国でもフジツボの研究会が昨年10月に発足したので、未だ試みの段階にあると判断されるフジツボの接着タンパク質の定量的な精製法および分析法の進歩が望まれる。また、一般に分類a型のクモの粘着物、絹セリシン、納豆の粘りなど粘着性の強いタンパク質には酸性アミノ酸のGlu, Aspが相対的に多く存在する。

分類bは部分的に繰り返し配列を持つコラーゲン型のタンパク質であり、絹フィブロイン、ゴカイ (*Nereis japonica*) のクチクラコラーゲンなど主に構造タンパク質に特徴的な一次構造である³³⁾。コラーゲンは加水分解あるいは酵素コラゲナーゼにより部分開裂を受けゼラチンになり、膠などの各種工業用あるいは医用の接着用途に使われている。

表3にまとめた分類cは分子レベルでの研究が最も進んでいる。まず、足糸接着型のイガイ類の接着タンパク質は3、4-ジヒドロキシフェニルアラニン(Dopa), Hypなどのオキシアミノ酸を多量に含む単純タンパク質であることが見い出された。次いで、1983年にWaiteによりムラサキイガイの接着

タンパク質の繰り返しデカペプチド(Ala-Lys-Pro-Ser-Dopa-Hyp-Hyp-Thr-Dopa-Lys)の。のアミノ酸配列とその重合度(n)約80が報告された。その後、このタンパク質は酵素のような単一次構造をもたず生合成の曖昧な構造タンパク質と理解され、頓出(consensus)ペプチドという概念でアミノ酸配列が把握されている^{35, 36)}。musselと総称されているイガイ類の種と接着タンパク質のアミノ酸配列についてはムラサキイガイの近縁種であるカリフォルニアイガイ(*Mytilus californianus*)の接着タンパク質はHyp-Lys-Y-Thr-Dopa-Hyp-Hyp-Thr-Dopa-Lysなどの類似デカペプチド配列であり、チリイガイ(*Choromytilus chorus*)はAla-Gly-Dopa-Gly-Gly-Y-Lys(Y, 疎水性アミノ酸)のヘプタペプチド配列である。また、腔腸動物門イシサンゴ類や肝蛭(肝吸虫)卵殻の接着硬化タンパク質ではDopa, Lysおよび数種の疎水性アミノ酸(Gly, Ala, Val)から成る極めて単純なアミノ酸配列を有している。上記のどの接着タンパク質にも共通にDopaとLysとGlyが含まれていることは注目に値する。

アミノ酸配列以外に接着タンパク質における重要な因子は分子の全体的な三次元構造である。例えば、アコヤ貝の接着タンパク質の円偏光二色性(CD)スペクトルは著しい塩濃度依存性を示す。このCDスペクトルを検討するとアコヤ貝の接着タンパク質は純水中で分子主鎖は約50%ほど α -ラセン構造を取っているが、海水程度まで水の塩濃度を増すと215nmでの二色性バンドから特徴付けられる β -構造へと立体構造の転移を起こす^{19, 37)}。ムラサキイガイの接

図3 酸化酵素による水溶性タンパク質の不溶化および硬化の機構 E: チロシナーゼ

着タンパク質は中性塩を含む水溶液中で20%以下の β -構造を含む不規則構造を取っているので³⁸⁾、海中での生物由来の接着タンパク質分子の立体構造が β -構造であることには合目的性があるのかもしれない。

5. 不溶化・接着機構

5.1) 分子レベルでの不溶化反応 水溶性タンパク質が不溶化し接着する機構については投錨効果を初めとする物理的、化学的な諸因子が単独にまた複合的に考えられて来た。ガラスなどの表面に対して水は分散力に加えて水素結合、双極子、誘起双極子により強く相互作用しているので通常概念では水溶性の接着タンパク質(の前駆体)は水を押し退け基盤表面に接着することが出来ない。しかしながら、実際アコヤ貝の足糸は図2cのようにガラスの表面に接着する。分泌腺から接着タンパク質を分泌して基盤表面に付着・不溶化する際なぜこのようになるかについては不明な点が多い。海洋無脊椎動物に由来するタンパク質はイミノ酸に富み、また水酸基、アミノ基などの親水基を側鎖に持つアミノ酸が多く含まれるのが特徴であり、親水基が9割におよぶ場合がある。この親水基を介して接着タンパク質は水不溶化する。基盤表面での不溶化を直接担うのは表面との物理的な親和力(相互作用)であるが、接着タンパク質自身を凝集し易くする主役は酸化作用と重合反応であり、無脊椎動物の体内では酸化酵素による生化学的な機構である。チロシナーゼの作用をう

けアミノ酸TyrがDopaへ、さらに連続的に o -キノンへと酸化され、その間にタンパク質のアミノ基と共有結合を形成する過程はキノン架橋として知られている¹²⁾。タンパク質中のTyr残基も基本的には同じ過程で酸化されDopaを経て架橋すると考えられている。チロシナーゼの作用をうけてタンパク質分子内および分子間で架橋し分子間重合し、この分子間で架橋した巨大分子は水中あるいは湿潤環境においてジッパーを閉めるように基盤表面上に並び不溶化しつつ接着物質あるいは硬化タンパク質スクレロチンとして機能する(図3)³⁹⁾。実際には、この架橋反応は複雑な連続反応で各素反応は明確でなく、天然抽出物を用いる方向と合成モデル化合物を用いる方向からの知見があるが、詳細については最近の成書に譲る⁴⁰⁾。さらに、水溶性タンパク質が不溶化、接着する反応が酸化酵素による架橋であることは動かしがたいが、加えて生体高分子に特有の水素結合、金属-リガンド結合、電荷移動複合体、電荷斥力・引力、疎水結合などの相互作用が総合的に寄与している。

生漆のラッカーゼによる接着・固化の機作も生物の接着を分子レベルで考察する上で示唆に富んでいる。漆液は油(ウルシオール)の中に水が乳化し安定し、生漆の固化は水系における酵素ラッカーゼによる反応と溶存酸素によるウルシオールの酸化反応であり、水が無ければ、接着・固化しない。素反応はカテコールの脱水素であるが、キノン核の付加反応により、分子量100万程度にまで重合し、塗膜をつ

図4 細胞内外における接着タンパク質の接着模式図

くる³⁹⁾。

5.2) 細胞レベル 昆虫や海洋無脊椎動物の接着タンパク質はその前駆体として細胞内で生合成され蓄えられ(図4), 接着の必要時にプレフェノールオキシダーゼ(チモーゲン)と共に分泌され, 上皮細胞中の活性化因子(アクチベーター)によりチモーゲンは酵素チロシナーゼへと変換され(4b), 体表あるいは基盤表面で図4の機構で不溶化し, 接着固化する(4c)。模式的にこの様子を描いたのが図4である。

生物接着物質は動植物細胞内で生合成される時, 水に囲まれている。細胞外に分泌された直後のタンパク質, あるいは発生期のセルロースなども水系の環境下において, 接着機構を高分子物理化学の観点から述べると, ゾル → ゾル/ゲル → ゲル/固相 → 乾固のプロセスを経る。蚕の繭中のさなぎが成虫になると逆のプロセスで唾液で乾固した生接着剤をゲル → ゾル化し繭に穴を明け蛾として飛び立つ。この生命のゾル-ゲル-乾燥糊の可逆性を蚕は → 方向に, 蛾は ← 向きに利用する。

5.3) 生分解 生物の接着と生分解は写真のポジとネガの関係に似ている。生物(バイオ)という科学用語は夢に溢れているが, 唯一悲しいのは老化であり, 万物流転という鉄則を生き物は逃れられない。例えば, ムラサキイガイの足糸先端 disc の接着タンパク質はやがて亀裂が入り, 母体を支え切れなくなる。この足糸や接着円盤および蜘蛛の巣, さらに物質としての接着タンパクは分解され再び海山に戻る。生物に由来する接着物質は常に生分解する輪廻材料である。

6. 接着タンパク質の合成

接着タンパク質の合成には, 遺伝子工学と高分子合成化学の立場からのアプローチがあるが, 著者は

(H.Y.)後者の化学合成を行って来た。上述の接着タンパク質分類の内, a 型のアミノ酸配列を有しているタンパク質であるフジツボ, ザザ虫の接着タンパク質などのモデルタンパク質は配列のあいまいさのため常にモデルとしての評価は水かけ論になり勝ちである⁴⁰⁾。分類bおよびcの部分規則配列型はモデル化合物の合成に適し材料化学の見地からは最も魅力的な対象となり, 1976年来の Dopa の合成化学を基に⁴¹⁾, ムラサキイガイの接着タンパク質の合成を1987年に報告し, 続いてチリ産イガイ(*Choromytilus chorus*)の接着タンパク質および日本近海のゴカイ(*Nereis japonica*)のクチクラコラーゲンの規則配列モデルタンパク質を合成した。アコヤ貝についてはその最終的な一次構造の確立に至っていないが, 予想配列に基づく接着タンパク質モデルを合成し, その他有機架橋剤による不溶化・ゲル化の基礎研究を行った。遺伝子工学による合成についても文献を挙げるに止めるので, 必要に応じて原報を見て欲しい。

7. その他

他の接着物質として(a)多糖(デンプン, コンニャクマンナン, アラビア糊など), (b)タンパク質(膠, カゼインなど), (c)油脂(ロジン, 乳香, とり糞など), (d)その他(ウルシオール, 麩など)があり, いずれも生物の接着を担い歴史的にも重要な物質であるが, 接着物質としての化学的な記述が重くなり本誌の趣旨から外れるので触れない。

さらに, 別の生物系として細胞接着系がある。細胞接着は細胞-細胞あるいは細胞-細胞外マトリックスの相互作用に分けられ, 両者の接着機構は異なる。後者に関連した接着タンパク質としてフィブロネクチン, コラーゲンなどのレセプター認識による細胞接着について多くの研究成果が報告されている。こ

れも生物の接着であるが、ここでは触れない。

8. 結び

生物の接着物質に関し、分子レベルでデザインされた新素材を目指す諸外国におけるアプローチについて触れずにおくのは片手落ちであろう。公表されているプロジェクトは主に海洋接着タンパク質のテクノロジーに重点を置いているが(アメリカ, チリ, イギリス, 日本), 蜘蛛(イギリス)などもその対象になっており(生理活性物質は除く), 今後の展開が注目される。

人類は生物(動植物)の接着現象太古から興味を抱き, 接着物質を日常生活に利用して来た。この時の重みを改めて考えてみる必要を感じる。1938年ナイロンの発明により石油化学の時代が開き, 人類は生物の接着との接点を変えた。海の生物接着については1684年の Antonine von Heide と18世紀初期に接着タンパク質(足糸)を正確に観察・記述した Reaumur 以来300年におよぶ長い生態研究史があるが, ここ半世紀は石油化学系接着剤の隆盛のため, 現象にも物質にも人類の関心が薄れた。しかし, いくつかの世でも生物の接着は不思議で面白い^{49, 50)}。最近の生物の接着への関心は従来の巨視的な生態・形態学的なものではなく分子レベルでの展開であり, 例えばマリンテクノロジーと深く関わっている。最後に, 今後原油は次々と枯渇し, 最後の中東原油も56年後に枯渇すると予想されている。遠からざる他日, 人類は再び生物の接着の世界に帰らざるをえない。

以上, 生物の接着と分子レベルでの知見について最近の経緯をまとめた。上述の生物の接着についての最近の知見と考察にはかなりの進歩が認められるが, 特に海洋無脊椎動物に関して判明した知見はほんの僅かであり, 分析生化学上の多岐にわたる今後の新知見により部分的には修正を要するであろう。

紙幅が限られていることもあり(特に図表の制限のため), ビジュアルで分かり易くとの著者らの意図がどの程度実現できたか心もとないが, 本稿が生物の接着についての現状紹介と将来への幾分かの問題提起になっていれば幸いである。

文 献

- 1) 山本浩之: 日本接着協会誌, 25, 187-193 (1989)
- 2) 梶原 武: 海洋科学, 16, 128-133 (1984)
- 3) 塚本博一: 付着生物研究, 4, 5-8 (1982)
- 4) 塚本博一: 付着生物研究, 5, 13-16 (1985)
- 5) 塚本博一: 付着生物研究, 7, 19-22 (1988)
- 6) 塚本博一: 付着生物研究, 8, 47-50 (1990)
- 7) 加戸隆介: 海洋生物の付着機構, p85-100, 恒星社厚生閣 (1991)
- 8) Crisp, D.J., Walker, G., Young, G. & Yule, B.A.: J. Colloid Interface Sci., 104, 40-50 (1985)
- 9) Nott, J.A. & Foster, B.A.: Phil. Trans. R. Soc. (B) 256, 115-134 (1969)
- 10) Walker, G.: Marine Biol., 9, 205-212 (1971)
- 11) Lindner, E.: Marine Biodeterioration: An Interdisciplinary Study, Naval Institute Press, p183-201 (1984)
- 12) Crisp, D.J.: Proc. 3rd Inter. Congress on Marine Corrosion and Fouling, National Bureau of Standards, p691-708 (1973)
- 13) Harada, A., Sakata, K., Ina, H. & Ina, K.: Agric. Biol. Chem., 49, 1887-1888 (1985)
- 14) Ina, K., Takasawa, R., Yagi, A., Etoh, H. & Sakata, K.: Agric. Biol. Chem., 53, 3323-3325 (1989)
- 15) Rittschof, D., Hooper, I.R. & Costlow, J.D.: Bull. Marine Sci., 39, 376-382 (1986)
- 16) 安田 徹: 日本生態学会誌, 18, 27-31 (1968)
- 17) Taki, Y., Ogasawara, Y., Ido, Y. & Yokoyama, N.: Bull. Japan Soc. Sci. Fish., 46, 133-138 (1980)
- 18) Becka, A. & Loeb, G.: Biotechnology & Bioengineering, 26, 1245-1251 (1984)
- 19) 山本浩之, 池田健吾, 山内 茂: 日本接着学会誌, 27, 55-58 (1991)
- 20) Smeathers, J.E. & Vincent, J.F.V.: J. moll. Stud., 45, 219-230 (1979)
- 21) Waite, J.H.: Int. J. Adhesion & Adhesives, 7, 9-14 (1987)
- 22) 山本浩之, 大原伸一, 谷所 始: 日本化学会62秋季年会講演予稿集, 920 (1991); 第41回高分子年次大会予稿集, IIW-05 (1992)
- 23) Sikes, C.S. & Wheeler, A.P. Surface reactive peptides and polymers, American Chemical Society (1991)
- 24) 山本浩之, 岡田 隆, 永井 朗, 西田綾子: 日本化学会誌, 1988, 1771-1773

- 25) Yamamoto, H., Nagai, A., Okada, T., Nishida, A. & Yamamoto, T.: Trends in Polymer Science, p1-7, Research Trends Pub., (1990)
- 26) 川合禎二編：日本産水生昆虫探索図鑑，東海大学出版会 (1985)
- 27) Anderson, S.O.: Comp. Biochem. Physiol., 35, 705-711 (1970)
- 28) 大崎茂芳：有機合成化学協会誌，43, 828-835 (1985)；第35回高分子年次大会予稿集，II-11-12 (1986)
- 29) Waite, J.H.: US Patent 4585585 (1986)
- 30) Larman, V.N., Gabbott, P.A. & East, J.: Comp. Biochem. Physiol. 72B, 329-338 (1982)
- 31) Vincent, J.F.V.: private communication
- 32) Tegtmeier, K. & Rittschof, D.: Peptides, 9, 1403-1406 (1989)
- 33) Kimura, S.: J. Biol. Chem., 252, 8018-8022 (1977)；Biochem., 16, 2554-2560 (1977)
- 34) Waite, J.H.: J. Biol. Chem., 258, 2911-2915 (1983)
- 35) Waite, J.H. & Rice-Ficht, A.C.: Biochem., 26, 7819-7825 (1987)
- 36) Waite, J.H. In: Abstracts New Material 88 Japan, 132-139 (1988)
- 37) Yamamoto, H., Nishida, A. & Ikeda, K.: submitted
- 38) Williams, T., Marumo, K., Waite, J.H. & Henkens, R.W.: Arch. Biochem. Biophys., 269, 415-422 (1989)
- 39) 山本浩之：日本接着学会誌，28, 印刷中 (1992)
- 40) 梶原 武監修：海洋生物の付着機構，恒星社厚生閣 (1991) p180-190 (山本浩之分担) および，p190-198 (伊奈和夫分担)
- 41) Ohnishi, E., Dohke, K. & Ashida, M.: Arch. Biochem. Biophys., 139, 143-148 (1970)
- 42) Yamamoto, H. & Nagai, A.: Marine Chem., 26, 331-338 (1989)；Marine Chem., 37, 131-143 (1992)
- 43) Yamamoto, H. & Hayakawa, T.: Macromolecules, 9, 532-534 (1976)
- 44) Yamamoto, H.: J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 613-618 (1987)
- 45) 山本浩之，山内 茂，池田健吾：高分子論文集，48, 257-259 (1991)
- 46) Yamamoto, H. & Takimoto, T.: J. Material Chem., 947-954 (1991)
- 47) Yamamoto, H. *et al.*: J. Adhesion Sci. Tech., 1, 177-183 (1987)；Int. J. Biol. Macromol., 12, 305-310 (1990)；Int. J. Biol. Macromol., 14, 66-72 (1992)
- 48) Benedict, C.V. & Picciano, P.T. Adhesives from renewable resources, p465-483 American Chemical Society (1989)
- 49) Manly, R.S. Adhesion in Biological Systems, Academic Press (1970)
- 50) Young, G. & Crisp, D.J.: Adhesion 6, p19-39, Applied Sci. & Pub (1982)