

氏 名	つちやはじめ 土 屋 肇
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 105 号
学位授与の日付	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科・専 攻	工芸科学研究科機能科学専攻
学 位 論 文 題 目	コラーゲン繊維の階層構造とその形成機構及び力学物性に関する研究
審 査 委 員	(主査) 教 授 小 西 孝 教 授 塩 尻 詢 教 授 木 村 良 晴 教 授 熊 尾 章 宏 助教授 伊 藤 孝

論 文 内 容 の 要 旨

緒言： コラーゲンは多細胞動物のみに存在する硬タンパク質であり、進化の過程において様々な構造と機能の分化を果たしてきた。例えば、高等動物の腱、皮膚、骨、血管及び角膜といった種々の組織を構成しており、動物の生命活動に重要な役割を果たしている。コラーゲンの構造研究には50年以上の歴史があり、従って、報告例も膨大な数に上るが、高次構造とその機能に関しては未知の領域が残されている。

本研究では透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察や X 線構造解析から、各組織におけるコラーゲンの高次構造を、TEM 像の定量的解析手法を検討しながら明らかにし、アミノ酸配列を用いた微細バンドのシミュレーションやエネルギー計算により、その凝集機構を解析することを目的とし、また応力存在下のフィブリルの挙動についても検討を加えた。

実験材料ならびに方法： ネズミ、ウサギなどから摘出した腱 (RTT)、皮膚 (RS)、角膜 (RC) などを用いた。構造解析はコラーゲン繊維・組織を一次構造から高次構造に至るまで行ない、解析手段としては TEM 観察と X 線構造解析 (主に小角 X 線散乱 (SAXS)) を用いた。

結果と考察： native RTT のバンド周期は 67nm であり、自然乾燥もしくは固定・脱水により収縮し、SAXS から求めた値より TEM 観察結果の方が収縮が大きいことが確認された。TEM 観察より、自然乾燥試料ではバンド周期は一樣に収縮しているのに対して、固定を行うと OR (overlap region) の著しい収縮が確認され、試料調製時や観察時の電子線照射によりバンド周期内に構造変化が発生していることが明らかになった。また試料の電子線にたいする吸収係数が電子密度に比例するという過程のもとに、自然乾燥試料の TEM 像をフーリエ変換し SAXS 像との対応を試みたところ、定量的な一致が見られ、C 末端側のテロペプチド部分が大きく収縮していることが明らかになった。

native RS のバンド周期長は 65nm であり RTT よりも短く、FE 法による TEM 像と SAXS 像の解析より、native 状態のバンド周期は 2 相モデルで近似でき、RTT では OR:GR=47:53, RS では OR:GR=49:51 あるいは 51:49 であり両者で差異が確認された。両者の違いはらせんピッチや隣接するトロポコラーゲン分子鎖のずれ量では説明できなかった。そこでアミノ酸の一次構造を用いて Hodge-Petruska モデルに基づきシミュレーションを行い、自然乾燥 RTT の TEM 像と比較を行った結果、乾燥した場合ずれる量はアミノ酸残基数にして 235 個となり、トロポコラーゲン分子がサブフィブリル単位で繊維方向にたいして 15 度前後の角度でゆるいらせんを形成していると考えればバンド周期の収縮を矛盾なく説明できる。バンド周期が短い RS の場合は、トロポコラーゲンが 10 本単位で集合し前述したらせんを形成していることが判明した。

論文審査の結果の要旨

コラーゲンについては世界中でさまざまな構造が提出され議論のあるところである。この研究は現在提起されている問題点を解決するために、哺乳動物であるネズミとウサギの腱、皮膚及び角膜からコラーゲンを摘出し研究材料とし研究を進めた。基本的には native RTT のバンド周期は 67nm であるが、自然乾燥もしくは固定脱水によって収縮し、SAXS 測定結果よりも試料を化学固定する TEM 観察結果の方が収縮が大きいことが確認された。RTT と RS の微細組織の差異については、native RS のバンド周期は 65nm であり、化学固定を行なうとバンド周期は一様に収縮していることが確認された。また、native コラーゲンは引っ張ると変形するが、可逆的に元に回復する範囲の張力で摘出した後引っ張り応力を加えて直接観察するとバンド構造が変化することを突き止めた。研究方法については透過型電子顕微鏡による striation などの微細組織観察と小角 X 線散乱によるバンド幅の測定およびそれらの比較対応など、生体組織にたいして困難な実験を克服している。研究方法ならびに議論は詳細であり、考察、結論もうまくまとめられ説明されている。