「羊毛—なぜ羊毛なのか」特集

羊毛タンパクのバイオリアクターとしての機能

中村良治・堀 照夫

1. はじめに

日本の羊毛工業はその百年祭から早や十年を経過しようとしている。この間、21世紀の幕明けを控え各分野に於ける工業技術は大きな様替りを見せ始めた。羊毛工業に於てもその例外ではない。ただ、いわゆる scrap and build 的ではなく、高度経済成長下の高級化指向に支えられた羊毛製品生産の好調さの中で、羊毛の新機能性材料としての活用ないしは見直しが模索されてきたようである。因みに、羊毛に関する最近の総説を見てもこれまでは埋もれていたウールの機能性の再発見そして新たな機能の賦与に多くの視線が注がれている^{1,2)}。

なお、染色加工の基礎となる羊毛の構造と物性については多くの総説が見られるので、その所在の一部を挙げ記述の重複を避けたい。基礎構造と物性では宮本³⁾の、表皮層の微細構造については中村⁴⁾の、また羊毛表面の界面化学的性質⁵⁾、コロイド化学的性質⁶⁾についての解説があり、工業的立場からは梅原⁷⁾の総説などが参考となる。その他、第7回国際羊毛会議に於ける坂本の特別講演では日本の羊毛研究の足跡が丹念に紹介されている⁸⁾。

2. 羊毛の微細構造と染色加工性

羊毛は本体を構成する紡錘形のコレテックス細胞(CX)の集積とこれを保護的に取り巻く扁平なクチクル細胞(CU)の重積からなる。メリノー種のCXは架橋密度に差のあるオルソ・パラの2相の張り合せ構造をとり捲縮をつくる⁹⁾。一方、CUは高シスチン含量のエクソクチクル(exo)とその下部の低シスチン含量のエンドクチクル(endo)成分がバイメタル状に張り合わされ、一つの

細胞は薄膜状のエピクチクル(epi)で包まれている¹⁰⁾。そのため羊毛が酸又はアルカリ水溶液に浸たされると捲縮半径が変化し、又CUもendo成分の易膨潤性による異方膨潤を起し、スケールエッジの立ちあがりて誘発されるフェルト現象を生じる^{11,7)}。このように羊毛はCX、CU共に異方膨潤性の二相構造をとっているのが特徴である。

次に、細胞間接合域はCX-CX、CX-CUおよびCU-CUに分けられる。前2域の充填物はケラチン質を一部含み、CXの細胞膜を構成する脂質二重層は乱れた形をとっている¹²⁾。一方、CUの疎水性細胞膜 β 層は乱れがなく、CU-CU域の重金属で染まる充填物 δ_{CU} と明確に分画されている。なお、1枚のCUの裏側の β 層に当る下部膜には点々と穴があいており、 δ_{CU} とendo成分とが直接連結しキヤナルが形成されている(図1)¹³⁾。人髪の δ_{CU} は耐酵素性があるが¹⁴⁾、羊毛の δ_{CU} も同様に耐酵素性である。

なお、Bradburyらは羊毛のギ酸処理によりCXの細

図1 表皮細胞間の接合様式

中村良治氏

堀 照夫氏

Role of Wool Protein as Bioreactors

筆者紹介 YOSHIHARU NAKAMURA and TERUO HORI, Fukui University, 福井大学工学部

中村氏は福井大学工学部教授、工学博士、専門は繊維化学・界面電気化学であり、昭55年には羊毛の微細構造に関する研究で繊維学会賞を受賞されている。

堀氏は福井大学工学部助教授、工学博士、専門は色染化学・膜機能論であり、昭61年には染色加工における拡散機構のテーマでAATCCから授賞されている。

本稿では著者らの経験を含め、羊毛の染色性に関する考察から、羊毛タンパクをバイオリアクターとしてとらえた全く新しい観点からの紹介をして頂いた。

胞膜は直ちに抽出されるが CU のそれは不変であることを示した¹⁶⁾。CX 細胞膜の疎水性 β 層はリン脂質からなるが CU のそれは通常のものとは全く異なる。epi 膜からのシトルシンの検出により CU の β 層は架橋された脂質タンパクからなるとされている¹⁶⁾。この差が耐酸性の違いをもたらしている。この結果 CX-CX 接合域は境界を失ったように見え、CU-CU 間是不変に見える。しかしその報告¹⁶⁾の写真を見る限り δ_{CU} の像は胃酸処理によりかなり淡くなっている（これは著者らも確認¹⁷⁾）。また、胃酸抽出成分は耐酵素性も示す¹⁷⁾。したがって δ_{CU} の一部は胃酸に可溶であるといえる。

δ_{CU} を構成するタンパクは胃酸で抽出される疎水性の δ_L とその後の熱酢酸水溶液で抽出される親水性 δ_H の 2 成分からなり、難水溶性かつ耐酵素性である前者が後者を保護し、これにより δ_{CU} 全体が安定化する¹⁷⁾。 δ_{CU} は

図2 表皮細胞の模式図と染料の拡散様式¹⁸⁾

図3 染料の拡散径路(ウラニル染料, 90℃)
(a) 5 min, (b) 60 min

前記キヤナルを介して endo と、細胞膜錯合体を介して CX 内成分と連結していることで導水管機能を発現する。このことを染料の拡散径路の追跡により直接立証したのが Leeder である¹⁸⁾。図2はその問題提起をアピールしたイラストである。電子線を反射しうる重金属を用いて含金属染料を合成したことで電顕観察のための電子染色が省け、試料作成時の染料移行を防止したのがこの研究の特長である。Leeder より恵贈された TEM 写真を図3に示す。ウラニル系の含金属染料で 90℃ で染色された試料で染色部位の時間的変化が観察される。最初の 5 分間染色(a)では δ_{CU} および endo 域のコントラストが強く、時間の経過につれ染料が exo 域さらには CX 内部に移行しているのがわかる(b)。プラチナ系の含金属染料でも同様の結果が得られており、 δ_{CU} の役割が立証された。なお、CU を包む薄膜は上部の epi 膜も、裏側の下部膜も共に疎水性であるが、なぜ下部膜からの染料浸入が容易かについてはふれられていない。前記 δ_{CU} と endo を結ぶキヤナルがこのことに大きく関与している。

2.1 微細構造と染色性

図3に示すように、染料の拡散径路には2通り考えられる。染料分子は epi 膜を通り、CU を通過して繊維内部に浸入するという細胞内拡散 (transcellular diffusion) と細胞間拡散 (intercellular diffusion) の2種である。

損傷羊毛や表面処理羊毛の染色速度が早いことから、Medley らや¹⁹⁾、現在では細胞間拡散機構を支持している Leeder らも¹⁸⁾当初は細胞内拡散機構で説明していた。その後、Nakamura ら¹⁸⁾、および Zahn²⁰⁾によって染料分子は CU-CU 間の接合域を通り、細胞膜錯合体に沿って拡散が進むという新しい機構が提案されたが、上述のように、Leeder ら¹⁸⁾がこれをみごとに直接的に立証した。

羊毛は主に酸性染料、金属錯塩染料、反応染料で染色されるが、これらの染料は細胞間拡散により繊維内部に侵入するのは図3の電顕写真から明らかである。しかし、飽和の C_{21} の脂肪酸が含まれ²¹⁾、疎水性 epi 層が除去されれば²²⁾ CU を通過する細胞内拡散も可能となる。

羊毛の構造と染色性に関する上甲、古賀らの一連の研究^{22~24)}は興味深い。彼らは延伸羊毛の酸性染料の平衡染色量は延伸倍率の増加につれ増大することを見出し、この現象を延伸による $\alpha \rightarrow \beta$ 相転移に伴う繊維内部の構造変化に関連づけた²⁴⁾。また、初期染色速度も延伸倍率の増加とともに著しく増加し、SEM 観察から CU-CU 間隙の広がりや CU 先端の著しいそり上がりが認められたことから、延伸による初期染色速度の増大は CU-CU 接合域の形態変化にともなう染料浸透の容易化のためと

考察した²⁸⁾。

繊維内への染料拡散は主に細孔モデル、自由体積モデルあるいは両者の混合モデルによって説明されている²⁶⁾。Hori らは種々の染色系について混合モデルによる検討を行い²⁶⁾、セルロース<多孔性アクリル<レギュラーアクリル<ポリアミド<ポリエステル順で自由体積モデルに基づく拡散の寄与が増加することを示したが、羊毛はその構造の複雑さゆえにどちらの機構に基づく拡散が優先的であるか不明であった。最近、Hori らは Wortmann らが示した羊毛の含水率とガラス転移温度変化との関係²⁶⁾を利用し、羊毛では自由体積モデルに基づく拡散が優先的となっていることを明らかにした²⁷⁾。すなわち、羊毛の場合には飽和含水率までの範囲にわたって Fox 式が成り立つことから、羊毛内部の水はほとんどマトリックスと相互作用しており bulk-like 水は存在しないと考えられ、主に bulk-like 水で満たされた“孔”を染料分子が拡散するとする細孔モデルは羊毛の場合には適さないと結論している。

2.2 微細構造と加工性

第6回国際羊毛会議に於る特別講演でケラチンの化学で著名な Zahn が一転して羊毛の物性に対する非ケラチンタンパク(NK)の寄与の重要性を説かれ²⁹⁾、羊毛研究者に少なからぬ反省と以後の研究への多くの示唆を与えた。その寄与が如実に示されている例がある。梅原らは人工クリンプ研究の一環として試料羊毛をギ酸で処理し一見セットには無関係と見られる NK を脱離するとクリンプ形成能がかなり低下することを示した²⁸⁾。その理由については明確にされていないが単純に説明の付くものではなく、今後多方面から検討されるものと思われる。ここで NK は細胞接合域のみならず、endo 域、CX 細胞内のマクロフィブリル間隙にも存在し、羊毛の全重量の 20% 近くにも達する³⁰⁾。したがって、NK の脱落防止が羊毛の加工工程および着用に際しての物性低下阻止に極めて有効で今後の研究課題ともなりうる。

NK の流出口は当然スケールエッジ近辺の CU-CU 接合域である。それでこの周辺のみを加工することで流出を抑制できれば羊毛本体の物性を損うこともない。CU-CU 域は極めてハク難され易い。その原因は δ_{CU} とその下にある CU の epi 膜との直接的接合がないことによる¹³⁾。CU-CU 域の加工に対する注意点として、①繊維表面にある epi 膜への加工剤の付着の防止、② endo 成分の流動性を抑制し異方膨潤を抑える、③新たに形成された充填物が導水管機能を損わぬことなどが挙げられる。著者らは一例として親水性鎖を幹とするウレタン系プレポリマーを CU-CU 域で重合させスケールエッジの固定化を試みた²⁹⁾。プレポリマーが親水性であるので epi 表

面での重合は抑えられるとの予期に反し、スケールマスキング型の処理効果を得た。なお、このプレポリマーの官能基はイソシアネート基で δ_{CU} のポリペプチド塩基性側鎖と反応していたことをアミノ酸分析で確かめた。また、柴田ら³⁰⁾はエポキシ加工を上記同様の意図で行っているが、かなりの防縮効果が得られており今後に期待がもてる。

一方、exo 域の架橋密度を低下させフェルト性を抑制する方法もある。著者らは羊毛のフェルト機構をコロイド化学的に検討した Stigter の報告³¹⁾をトレースしたところ興味ある結果を得た。Stigter は試料の一つである S-カルボキシメチル(SCM)化羊毛のアルカリ媒液中での防縮性は繊維間の静電反撥によるものと解釈した。著者らはアルカリ液に浸した SCM 化羊毛の SEM 観察を行ったところスケールエッジがむしる繊維内へ向けてくい込んでいる像を得た³²⁾。これは高硫黄含量の exo 部分の架橋の開裂と SCM 基の導入により、COOH 基含量が endo と exo とで逆転したことによる。静電反撥はむしる exo 域内のポリペプチド間で大きく働いていると解釈される。

現在、工業的規模での脱スケール加工に成功している日本での例が 2 件知られている。ヴァンチアン加工(新潟ハイスピナー)と最近発表されたフェルマリーノ加工(倉紡)である。前者は塩素化反応、後者は酵素反応と一見異質の基盤に立つ工程であるが一つの共通点がある。前者の加工は確かに通常の反応に基づく。しかしその反応が爆発的に進行する³³⁾のは羊毛のバイオリクターとしての機能を利用したことによる。北條の報告³³⁾を詳細に検討すると δ_{CU} のポリペプチドが遷移金属と錯体を形成し、これが酸化反応の触媒として機能していると解釈される。一方、後者の加工ではタンパク加水分解酵素を用いているので³⁴⁾こちらもバイオ技術である。共に省エネルギー的反応で今後の羊毛工業のあり方に一つの指針を与えている。強いて相違点を挙げると、フェルマリーノ加工では CU 上部から、ヴァンチアン加工では CU の下部から反応の始まる点である。前者に対する判断は CU 下部からの酵素反応では高分子量の酵素の拡散に時間を要する点、そしてスケール表面の軽い前損傷で酵素反応に期待される速度で進行するという解釈に基づいている。

3. ケラチンタンパクの擬酵素機能

酵素の触媒機能はそれを構成するタンパクの特定の立体構造が作る“鍵穴”に基質が相補的に取り込まれることで発現される。ケラチンはその機能を発揮しうる基本条件のいくつかを具備している。即ち、酵素タンパクの

構成要素の一つである α -ヘリックス構造、立体構造の安定化に要求される架橋素子としてのシスチン残基として酸化還元酵素 (oxidoreductase, E_{redox}) の活性拠点となりうる SH 基を含有している。具体的にケラチンタンパクについて実現された擬 E_{redox} 反応の例を紹介する。

E_{redox} は加水分解酵素とは異なり電子とプロトンの授受に直接関与する補酵素 (coenzyme, E_{co}) とアポ酵素 (apoenzyme, E_{apo}) が結合してはじめて酵素として機能する。 E_{apo} はタンパクから構成され、 E_{co} にはニコチンアミド系の DAD^+ および NADP^+ あるいはフラビン系の FMN や FAD などがある。電子とプロトンの授受は前者の系ではニコチンアミド基が後者ではイソアロキサジン核が司る。

高橋らは³⁵⁾人髪を還元開裂して得た還元態ケラチン (RK) が E_{apo} として E_{co} FAD を取り込みデヒドロゲナーゼ的にコハク酸を脱水素しフマル酸を生成することを見出し、この反応が Michaelis-Menten の動力学に従うことを示した。反応経路は下式のように FAD のリ

サイクル過程を含み、活性至適 pH は 7.6 近辺である。このようにケラチンのバイオリクターとしての機能が思わぬ形で発掘された訳であるが、技術的には再現性ある RK (分子量 4500) の調製が問題となる。

同じ研究グループは更にこの RK が NAD^+ を E_{co} としグリセルアルデヒド (GCHO) をグリセリン酸 (GCOOH) に酸化することを見出した³⁶⁾。反応経路は上例に類似するが、 FADH_2 に対応する NADH の明確な生成・脱離はなく複合体 $\text{NAD}^+ \cdot \text{RK} \cdot \text{GCHO}$ に直接 O_2 が反応し、生成した GCOOH の脱離と NAD^+ の再生が同時に起る、即ち、この場合の $\text{KR} \cdot \text{NAD}^+$ は擬似オキシダーゼ機能をもつとの見方をとっている。

4. 細胞間充満物の電子移動担体機能

δ_{Cu} の導水管機能の確認のため、著者らは未処理羊毛とギ酸処理羊毛の N_2 気流中での Methylene Blue (MB) による染色速度の比較を行ったところ、未処理羊毛の場合には染色中 MB の還元脱色が見られたが、ギ酸処理で δ_{L} 成分を失った羊毛ではそれが見られないという極めて興味ある現象を観察した¹⁷⁾。抽出された δ_{L} には銅イオンがかなり含まれることおよび羊毛の SH 基のモデル

としてのチオグリコール酸 (TGA) とする MB の脱色が銅イオンにより触媒されること³⁷⁾ などから図 4 に示される機構、即ち δ_{Cu} が MB の還元に要する SH 基からの電子移動を媒介するという考えを提案した。

この考えはその後 Leuco Naphtazarin で羊毛を染色するとそれが酸化され、ギ酸処理羊毛ではその反応が見られないというこれ又興味をひく現象を古賀ら³⁸⁾が発見したことで企及も立証されることとなった。この場合は上記 MB の場合とは逆向きの反応が起り細胞内の SH 基含量が増加することになる³⁹⁾。

図 4 δ 層の電子移動担体機能

次に、細胞内 SH 基の酸化即ちケラチン化は毛根の下部より約 1/3 上の辺から始まるが、この過程が δ 層の上記電子移動担体機能と密接に関与している。図 5 で MB を空気中の O_2 に置き換えるとケラチン化の説明もできる。この説明には CX-CX 間の充満物もまた電子移動担体として機能することが前提となる。この域の充満物には前述のようにケラチン質が一部含まれるので Sanger の提案した disulfide exchange reaction⁴⁰⁾ により電子伝達が可能となる。

このケラチン化過程の考察に併せ、充満物のバイオリクター機能の利用をはかるため、著者らは δ_{Cu} および CX-CX 間充満物の代替としての RK をそれぞれ包括したウレタン膜を調製し、この膜を介しての MB の TGA による還元、即ち共役酸化還元反応を試みたところこれら充満物が担体としてよく機能することを確認した³⁷⁾。更に、担体包括膜の左右の浴にデヒドロゲナーゼとレダクターゼを別々に添加、それぞれの基質を加えた系で共通 E_{co} をリサイクルさせ下らの共役酸化還元反応を駆動させることに成功した⁴¹⁾。このような膜系システムはクリーンな反応を可能とする。

5. おわりに

折しも建国200年祭を迎えたオーストラリアの羊毛生産は上昇中と伝え聞く。神の叡知の産物とされるこのウールが単なる衣料材料としてだけでなく、人類の幸せに寄与しうるバイオ素材として見直されつつある。羊毛の加工性を検討する中で隠されていた機能性が発見されたり、羊毛の染色性の理論的考察から逆にバイオ材料として具備すべきタンパクの立体構造の検討も可能となる。

このような研究の蓄積がこれから先も新たな機能の発見を生むと確信する。著者らの眼に止まらなかった既知のバイオ機能も多々ある筈であり、またSH化合物が放射線スキヤベンジャーとして機能する⁴²⁾など他分野の研究成果を応用してこれからの思いがけぬウールタンパクの見直しがなされそうである。

文 献

- 1) 古賀城一, 染色工業, **34**, 586 (1986).
- 2) 北條博史, *ibid.*, **34**, 602 (1986).
- 3) 宮本武明・坂部 寛, *ibid.*, **32**, 523 (1984).
- 4) 中村良治, *ibid.*, **21**, 66 (1973).
- 5) 中村良治, 表面, **9**, 519 (1971).
- 6) 中村良治, 繊維と工業, **35**, P-205, P-248 (1979).
- 7) 梅原 亮, *ibid.*, **35**, P-155 (1979).
- 8) M. Sakamoto, Proc. 7th Int. Wool Text. Res. Conf., Tokyo, **1**, 1 (1985).
- 9) M. Horio and T. Kondo, *Text. Res. J.*, **23**, 373 (1953).
- 10) J. D. Leeder et al., *Nature*, **218**, 694 (1968).
- 11) 中村良治ら, 昭和54年度繊維学会年次大会要旨集, p.88 (1979).
- 12) G. E. Rogers, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **83**, 378 (1959).
- 13) Y. Nakamura et al., Proc. 5th Int. Wool Text. Res. Conf., Aachen, **2**, 23 (1975).
- 14) J. A. Swift et al., *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **27**, 289 (1976).
- 15) D. E. Peters et al., *Aust. J. Biol. Sci.*, **29**, 43 (1976).
- 16) N. L. R. King and J. H. Bradbury, *ibid.*, **21**, 375 (1968).
- 17) Y. Nakamura et al., Proc. 7th Int. Wool Text. Res. Conf., Tokyo, **2**, 171 (1985).
- 18) J. D. Leeder et al., *ibid.*, **5**, 99 (1985).
- 19) J. A. Medley et al., *Text. Res. J.*, **29**, 398 (1959).
- 20) H. Zahn, Plenary Lecture in Proc. 6th Int. Wool Text. Res. Conf., Pretoria (1980).
- 21) D. J. Evans et al., Proc. 7th Int. Wool Text. Res. Conf., Tokyo, **1**, 135 (1985).
- 22) K. Joko et al., *ibid.*, **5**, 23 (1985).
- 23) J. Koga et al., *ibid.*, **5**, 15 (1985).
- 24) K. Joko et al., *Sen-i Gakkaishi*, **39**, T-198 (1983).
- 25) 例えば T. Hori and H. Zollinger, *Text. Chem. Colorists*, **18** (10), 19 (1986).
- 26) F. J. Wortmann et al., *Text. Res. J.*, **54**, 6 (1984).
- 27) T. Hori and H. Zollinger, *Melliand Textilber.*, **68**, 675 (1987).
- 28) R. Umehara et al., *Text. Res. J.*, **58**, 22 (1988).
- 29) 陸 必泰ら, 繊維学会62年度年次大会要旨集, p.64 (1987).
- 30) 柴田 豊ら, 繊維学会予稿集, **1988**, S-79.
- 31) D. Stigter, *Text. Res. J.*, **42**, 657 (1972).
- 32) 中村良治, “図説繊維の形態”, 朝倉, p.124 (1982).
- 33) H. Hojo, Proc. 7th Int. Wool Text. Res. Conf., Tokyo, **4**, 322 (1985).
- 34) 近土, 坂井, 唐川, 日本特許出願 58-144105.
- 35) F. Takahashi et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **49**, 1130 (1976).
- 36) M. Hirano et al., *ibid.*, **50**, 1125 (1977).
- 37) Y. Nakamura et al., *J. Polymer Sci.*, submitted.
- 38) 古賀城一ら, 繊維学会62年度年次大会要旨集, p.193 (1987).
- 39) 古賀城一ら, 第30回染色討論会要旨集, p.66 (1988).
- 40) F. Sanger, *Nature*, **171**, 1025 (1953).
- 41) 中村良治ら, 繊維学会シンポジウム予稿集, **1988**, C-12.
- 42) 田中敬正, 化学と工業, **39**, 681 (1986).

(昭和63年7月25日受理)