毛髪 の 化学 的 研究 (第 5 報)*

毛髪蛋白質と酸(塩酸)及び塩基(苛性ソーダ)との結合について

船津 軍 喜, 船津 勝 (九州大学農学部生物化学教室)

昭和 32 年 8 月 14 日 受 理

緒 言

我々はさきに黒色毛髪は Leucokeratin と Melanoprotein とから成る複合蛋白である事を推論した⁽¹⁾。即ち毛髪を濃硫酸又は苛性ソーダによって処理すると Leucokeratin が除去され Melanoprotein が得られるが、他方過酸化水素によって処理するとメラニンが分解され毛髪は原形を保ったまま残存する。この脱色毛髪が Leucokeratin で Melanoprotein を含まぬかどうかは明白ではないが、約 30,000 の分子量を有する事⁽²⁾から、過酸化水素によって毛髪蛋白質に著しい崩解が起っていない事がわかる。従って過酸化水素酸化により最も分解し易いシスチン、メチオニン等の硫黄結合以外の結合乃ちペプチド結合の酸化切断は殆んど起っていないと考えられる。然るに毛髪を過酸化水素で処理した場合にペプチド及びアミノ酸が離脱して来る事は、加水分解が起っている事を示すものであり、これに対する説明として我々はシスチンの酸化により生じた硫酸基が二次的に毛髪蛋白質に加水分解的に働くものであらうと推論した⁽³⁾。ここでは過酸化水素処理毛髪中の酸性基の増加を知る為に、未処理毛髪と処理毛髪とについて酸及び塩基結合量を定量比較し、明らかに酸性基の増加を認め、上記推論の可能性を強くした。更に過酸化水素処理毛髪はその塩基性アミノ酸の量比から Leucokeratin がその主成分であらう事を推論した。

実 験 方 法

I. 材料 男の黒い毛髪及びその 30% 過酸化水素処理毛髪(30° で 24 時間処理)を既報⁽¹⁾の如く脱脂後、水道水で 1 日透析、蒸留水で数回洗滌した後風乾する。毛髪蛋白質の水分含量は 105° で乾燥して求めた。ここに示した値は全て乾燥毛髪 1g に対して結合した酸及び塩基の量である。

II. 酸との結合 風乾毛髪 2g (乾燥毛髪にして 1.7034g) を各 pH の塩酸溶液 100 cc 中に浸し、時々攪拌しつつ 5° に放置し平衡に達せしめる。平衡に達した後直ちに三角フラスコに濾過し、コルク栓で密栓し濾液が室温になるのを待ち結合量を測定した。即ち原塩酸溶液及び毛髪と平衡に達した溶液とを一定量採り、ブロームクレゾール・パープルを指示薬として苛性ソーダ溶液にて滴定した。この滴定値の差と毛髪の重量とから乾燥毛髪 1g と結合した塩酸の量を算出した。過酸化水素処理毛髪の場合も同様であるが、処理毛髪は未処理毛髪に比べて溶解し易く、水に浸すと速かに膨潤する。従って平衡に達する時間は未処理毛髪より短い。

III. 塩基との結合 アルカリ溶液では毛髪蛋白質の分解が起り幾分の誤差を生ずるので浸漬の時間及び温度をなるべく分解を最少にする様選ぶ事が望ましい。予備実験として毛髪 2g を N/10 苛性ソーダ溶液 100cc に浸し、2° に放置 30 分毎に処理液を採り N/10 硫酸溶液で滴定した所、未処理毛髪では 2 時間、過酸化水素処理毛髪では 30 分で既に平衡に達する事がわかった。従って各 pH の苛性ソーダ溶液につき、塩酸の場合と同様にしてブロームクレゾール・パープルを指示薬として硫酸溶液にて滴定し、乾燥毛髪 1g と結合した苛性ソーダの量を求めた。

IV. pH の測定 塩酸及び苛性ソーダ溶液の pH の測定は島津製のガラス電極によった。尚 pH 12 以上の苛性ソーダ溶液の pH は水素電極を用いて測定した。

V. 過酸化水素処理毛髪中の塩基性アミノ酸の定量 過酸化水素処理毛髪を 20% 塩酸と封管中にて 115° で 24 時間加水分解して後、既報⁽¹⁾と同様 Amberlite XE-64 を用いて塩基性アミノ酸を定量した。

実 験 結 果 及 び 考 察

以上の実験条件を要約すれば第 1 表の如くである。これは予備実験の結果得られた条件であるが、特にアルカリ溶液ではアルカリは単に毛髪蛋白質中の遊離の酸性基と反応するのみならず、蛋白質中のシスチンの硫黄結合

* Chemical Studies on Hair. Part V. Combination of Hair Protein with Acid (hydrochloric acid) and Base (sodium hydroxide).

By Gunki FUNATSU and Masaru FUNATSU (Biochemical Laboratory, Faculty of Agriculture, Kyushu University)

第 1 表 酸・塩基結合の実験条件

	重量	溶 液	温度	時間
未処理毛髪	2 g	塩 酸 溶 液	100cc 5°	22時間
H ₂ O ₂ 処理毛髪	2 g	塩 酸 溶 液	100cc 2°	4
未処理毛髪	2 g	苛性ソーダ溶液	100cc 2°	2
H ₂ O ₂ 処理毛髪	2 g	苛性ソーダ溶液	100cc 2°	0.5

第 1 図 pH と塩酸, 苛性ソーダ結合量の関係
●——● 未処理毛髪, ×——× 過酸化水素処理毛髪 第 2 図 毛髪と卵アルブミンの酸結合量
曲線の比較
×——× 卵アルブミン, ●——● 毛髪第 2 表 毛髪中の酸性・塩基性アミノ酸の
含量⁽⁴⁾

アミノ酸	%	mM/g
(1) Asp.	7.8	0.586
(2) Glu.	14.8	1.007
(3) Amide N	1.11	0.800
(1)+(2)-(3)		0.793
(4) Arg.	10.0	0.565
(5) Lys.	3.0	0.206
(6) His.	1.0	0.065
(4)+(5)+(6)		0.836

=0.037:1:3 であり, Lys. と Arg. の比は Leucokeratin のそれとよく一致している。しかし His. が著しく少ないのは恐らく His. が過酸化水素により分解したと考えられるが元々原毛髪中の His. 量は 0.065 mM にす

とも反応し, その解裂及びそれに伴う毛髪蛋白質の溶解等によりアルカリの結合量に誤差を生じて来る。これはアルカリの濃度が高い程著しく, 従って pH 13 以上での結合量は外挿によって求めた。

各 pH に於ける塩酸及び苛性ソーダとの結合量は第 1 図に示す如くであるが, 毛髪蛋白質は可溶性蛋白質と異り pH 4~8 の範囲では酸及び塩基を吸着せず, 等電点の状態に留る。即ち毛髪と毛髪によく似たアミノ酸組成 (アスパラギン酸, グルタミン酸及びヒスチジンに関して) を有する卵アルブミンとについてその滴定曲線を比較してみると第 2 図の様になる。

卵アルブミンの曲線に対し毛髪の曲線は特徴ある sigmoid 型をしている所が全く異っている。これは毛髪のような不溶性蛋白質に於いては蛋白質粒子の周りが電氣的に二重層になっていて Donnan 膜効果が生じている為であると説明されている。

次に結合量についてみると, 未処理毛髪の場合最大酸結合量は 0.84 mM, 最大塩基結合量は約 0.8 mM である。毛髪中の酸性アミノ酸及び塩基性アミノ酸含量は第 2 表の如くであり, 酸結合量は塩基性アミノ酸の量に支配され, よく一致した値を示している。これに対し過酸化水素処理毛髪では最大酸結合量は 0.55 mM,

最大塩基結合量は約 1.4 mM であり, 第 1 図からわかるように等電点は 6 から 5 に下がり滴定曲線は全体として pH の低い方へ移行する。これらの事実は明らかに毛髪蛋白質中の酸性基の増加を示すものであるが, 過酸化水素処理毛髪は既報⁽²⁾の如く約 30,000 の分子量を有しており過酸化水素酸化により著しい崩壊を蒙っていない事から考えて, 処理毛髪中の酸性基はペプチド結合及びチロシン等の酸化分解等により生じた -COOH と考えるより, 酸化に対して最も反応性の強いシスチンの硫黄結合の酸化分解により生じた -SO₃H であると考えた方が妥当のように思われる。毛髪中のシスチン含量を 16.3% とすれば 1 g の毛髪中に 0.678 mM のシスチンが存在する事になる。過酸化水素酸化により増加した酸性基を計算により求めると 1.4 mM-0.8 mM=0.6 mM となる。毛髪中のシスチンが全部硫酸基になったと仮定した場合は 0.678 mM×2=1.356 mM の酸性基の増加を示すはずである。故にこの場合約 44% のシスチンが酸化を受けている事になる。勿論シスチン以外の含硫アミノ酸もシスチン同様酸化により硫酸基を生成するし, 又酸化毛髪は最大塩基結合量が外挿により求めた近似値である事から, この値は概算に過ぎないものである。

酸結合量の減少即ち 0.84 mM より 0.55 mM への減少の原因については未だ精査していないが, 過酸化水素処理毛髪中の塩基性アミノ酸の量比は第 3 図及び第 3 表の如く His. : Lys. : Arg.

第 3 図 過酸化水素処理毛髪中の塩基性アミノ酸の定量 (Amberlite XE-64 (0.7×35 cm) による)
温度: 室温 (25~30°). 溶離液は拘縮酸ソーダ緩衝液 2 容, 磷酸緩衝液 1 容の混合液, pH 6.0, 1 ml/30 min. の速度で溶出する.

第 3 表 塩基性アミノ酸の量比

蛋白質の種類	His.	Lys.	Arg.	文献
未処理毛髪	0.33	1	3.3	(4)
H ₂ O ₂ 処理毛髪	0.037	1	3	
毛髪メラニン蛋白	0	1	2	(1)
Leucokeratin	0.25	1	3	(5)
Pseudokeratin		1	1	(5)

要 約

30%過酸化水素処理毛髪の塩酸及び苛性ソーダとの結合量を未処理毛髪のそれと比較した。その結果処理毛髪では苛性ソーダとの結合が著しく増加し、明らかに酸性基の増加を認めた。処理毛髪の分子量が 30,000 で著しい崩解を受けていないことから、この酸性基は恐らくシスチン酸化により生じた硫酸基である事を推定し、硫酸基が二次的に毛髪蛋白質に加水分解的に働く事を推論した。

終りに臨み終始御懇篤な御指導を賜った大島康義教授に深甚の謝意を表します。

(1) 船津 勝, 船津軍喜: 本誌, 31, 221 (1957).	(4) R. J. Block: The amino acid composition of proteins and foods, 489 (1951).
(2) 船津軍喜, 船津 勝: 本誌, 投稿中.	(5) R. J. Block, D. Bolling: J. Biol. Chem., 127, 685 (1939).
(3) 船津 勝, 船津軍喜, 今丸康博, 長岡 驍: 本誌, 投稿中.	

Na-*p*-Aminosalicylate (PAS) による蛋白質の変性に関する研究 (第 7 報)*

単分子膜法による卵アルブミンと PAS との結合に対する検討

船 津 勝 (九州大学農学部生物化学教室)

昭和 32 年 8 月 14 日 受理

緒 言

濃厚 PAS 溶液中に於て蛋白質が変性を蒙る事、又この変性は PAS と蛋白質との結合、就中水素結合に支配されるものである事は既に明らかにした処であるが、更に本報に於ては PAS 変性卵アルブミンを水面上に展開して得られる単分子膜の性質を検討する事によって PAS と卵アルブミンとの結合の性質を明らかにした。

* Studies on the Denaturation of Proteins with Sodium-*p*-aminosalicylate (PAS). Part VII. An Examination of the Properties of PAS Binding by Ovalbumin by a Surface Chemical Method.

By Masaru FUNATSU (Laboratory of Biochemistry, Faculty of Agriculture, Kyushu University)