獣毛繊維の鑑別に関する研究 一獣毛繊維の特性評価 —

三輪幸弘、坂川 登

要 旨

獣毛の鑑別法について、そのアミノ酸の組成とタンパク質の電気泳動による鑑別法への応用を検 討した。各獣毛のアミノ酸の組成からは、個々のアミノ酸の含有量は僅かながら差はあるものの、 著しい差は認められなかった。しかし、各獣毛のタンパク質の電気泳動からは、アンゴラとアルパ カはその泳動パターンに羊毛と差が認められ、山羊毛(カシミヤ、モヘヤ)も羊毛と僅かながら差 が認められた。このことから、獣毛の鑑別法への応用の可能性が示唆された。

1. はじめに

獣毛ーカシミヤ (カシミヤ山羊毛)、モヘヤ (アンゴラ山羊毛)、アンゴラ (アンゴラ兎毛) などーは、羊毛と混紡されることが多いので、これらの2つのグループが区別できる方法が必要となる。現状では、光学顕微鏡 (LM) 法が用いられている。しかし、LM法は観察者の経験と熟練を必要とする。そこで、獣毛にどんなアミノ酸が多く含まれているか (アミノ酸の組成)、どんな大きさのタンパク質が含まれているか (タンパク質の電気泳動) による鑑別 (識別・同定) 法への応用の可能性を検討したので、報告する。

2. 実験

2. 1 試料

試料は5種類の獣毛のトップを用いた(表1)。 各試料は、ジエチルエーテルでソックスレー 抽出し、エタノールと蒸留水でそれぞれ洗浄 し、脱水、乾燥した。

表1 試料

試	料	平均機維直径 (μm)	備考
羊	毛	20.5	オーストラリア産、メリノ種
カシ	ミヤ	15.2	中国産
モノ	ヤ	31.6	南アフリカ産
アン	ゴラ	13.5	中国産
アル	パカ	31.6	ペルー産

2. 2 アミノ酸の組成

アミノ酸の組成は、各試料5mgを加水分解 管に入れ、6M (mol/L) 塩酸2mLを加え、 減圧封管して加水分解 (110℃、22時間) さ せ、減圧乾固後、0.02M塩酸10mLで再溶解 し、アミノ酸分析装置 (日立835-50型) で 測定した。ただし、この測定法では、トリプ トファンは壊れ、グルタミンとアスパラギン は、グルタミン酸とアスパラギン酸、そして アンモニアに変わる。

2. 3 タンパク質の電気泳動

タンパク質 (ケラチン) の抽出は、還元ミ

セル抽出法^{11,2)}で行った。各試料0.5gと可溶 化剤 [ドデシル硫酸ナトリウム (SDS)、2-メルカプトエタノール (0.1M)、尿素 (7M)] 10mLとの混合水溶液 (pH6-8) を50℃、6 時間振盪後、濾別、透析し、ケラチン (ケラ テイン) 水溶液を調製した。

タンパク質の電気泳動は、SDSーポリアクリルアミドゲル電気泳動法(SDS-PAGE)³⁾ により行った。泳動は、15%スラブゲルを用い、15mA定電流で行い、泳動後のタンパク質の検出は、クマシーブリリアントブルーR-250による染色法で行った。

3. 結果と考察

3. 1 アミノ酸の組成

得られた各獣毛のアミノ酸の組成(質量%)を表2に示した。各獣毛の構成アミノ酸の約10%がシステイン残基であることが特徴的である。最もよく用いられ、また最も役に立つ標準アミノ酸(タンパク質を構成する20種類のアミノ酸)の分類は側鎖の極性に基づ

くものであり、グリシン、アラニンなどの非極性 (疎水性) 側鎖をもつアミノ酸と、セリン、リシンなどの極性 (親水性) 側鎖をもつアミノ酸とに分ける (表3)4。そこで、非極

表 3 標準アミノ酸の分類

側鎖の極性	アミノ酸
非極性(疎水性)	グリシン (Gly) アラニン (Ala) バリン (Val) ロイシン (Leu) イソロイシン (Ile) メチオニン (Met) プロリン (Pro) フェニルアラニン (Phe) トリプトファン (Trp)
極性(親水性)無電荷	セリン (Ser) トレオニン (Thr) アスパラギン (Asn) グルタミン (Gln) チロシン (Tyr) システイン (Cys)
電荷	リシン(Lys) アルギニン(Arg) ヒスチジン(His) アスパラギン酸(Asp) グルタミン酸(Glu)

表 2 獣毛のアミノ酸組成

(質量%)

	SY E BY CANA CANADAM				(34.25.70)
アミノ酸	羊 毛	カシミヤ	モヘヤ	アンゴラ	アルパカ
グリシン (Gly)	5.10	4.95	4.51	4.23	4.32
アラニン (Ala)	3.86	3.87	4.06	3.50	3.74
バリン (Val)	5.49	5.50	5.59	5.24	5.50
ロイシン (Leu)	7.92	7.91	8.31	6.58	7.72
イソロイシン (Ile)	3.31	3.40	3.57	2.93	3.20
メチオニン (Met)	0.75	0.72	0.60	1.10	0.62
プロリン (Pro)	6.09	6.21	5.40	7.73	5.80
フェニルアラニン (Phe)	3.67	3.69	3.64	2.88	3.50
トリプトファン (Trp)	_	_	_	_	_
セリン (Ser)	8.13	8.42	8.10	8.04	7.68
トレオニン (Thr)	5.65	5.99	5.77	5.54	5.55
チロシン (Tyr)	5.49	4.88	4.41	3.49	3.18
システイン (Cys)	9.00	8.64	8.53	13.77	10.40
リシン (Lys)	3.29	2.99	3.33	3.13	3.01
アルギニン (Arg)	9.31	9.49	9.69	9.05	10.04
ヒスチジン (His)	1.04	0.98	0.94	1.66	1.04
アスパラギン酸 (Asp)	6.63	6.67	7.25	5.58	6.94
グルタミン酸 (Glu)	13.60	13.91	14.56	13.83	15.80
アンモニア (NH3)	1.66	1.78	1.75	1.74	1.96

					1.0
アミノ酸	羊 毛	カシミヤ	モヘヤ	アンゴラ	アルパカ
側鎖の極性が小さい アミノ酸(An)	36.19	36.25	35.68	34.19	34.40
側鎖の極性が大きい アミノ酸(Ap)	60.48	60.19	60.83	62.35	61.68
比 (Ap/An)	1.67	1.66	1.70	1.82	1.79

表 5 獣毛の側鎖の大きさによるアミノ酸組成

(質量%)

羊 毛	カシミヤ	モヘヤ	アンゴラ	アルバカ
22.74	23.23	22.44	21.31	21.29
73.93	73.21	74.07	75.23	74.79
3.25	3.15	3.30	3.53	3.51
	22.74 73.93	22.74 23.23 73.93 73.21	22.74 23.23 22.44 73.93 73.21 74.07	22.74 23.23 22.44 21.31 73.93 73.21 74.07 75.23

注) SC: グリシン、アラニン、セリン、トレオニン。

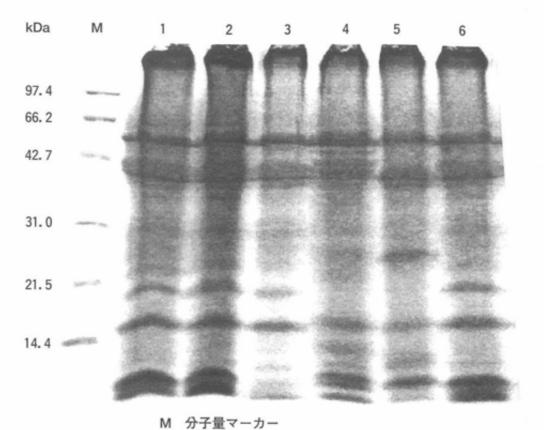
LC:その他のアミノ酸。

性側鎖をもつ (側鎖の極性が小さい) アミノ酸残基 (An) と、極性側鎖をもつ (側鎖の極性が大きい) アミノ酸残基 (Ap) との比 (Ap/An) を求めた (表4)50.60。しかし、各獣毛に僅かながら差はあるものの、著しい差は認められなかった。また、異なる観点として、標準アミノ酸の内、グリシン、アラニン、セリン、トレオニンを側鎖の小さいアミノ酸残基とした総量 (SC) と、その他のアミノ酸を側鎖の大きいアミノ酸残基とした総量 (LC) との比 (SC/LC) を求めた (表5)50.60。しかし、この観点からも、各獣毛に著しい差は認められなかった。

3. 2 タンパク質の電気泳動

タンパク質 (ケラチン) の抽出は、還元ミ セル抽出法で行った。界面活性剤 (SDS) の 共存下で、還元剤と尿素などのタンパク質変 性剤により抽出すると、抽出速度が大きくな るばかりでなく、界面活性剤が還元ケラチン 分子と会合して巨大ミセル (と考えられる) を形成する。ミセルは静電的反発により互いに分離して、還元ケラチン分子の凝集と隣接したチオール基 (-SH)の酸化 [ジスルフィド結合 (-S-S-)の形成] とを抑制するため、長期にわたり安定なケラチン水溶液が得られる^{1),2)}。

得られた各獣毛のタンパク質のSDS-PAGEの結果を図1に示した。分子質量が約40-60kDa(キロダルトン)のバンドは中間(径)フィラメントタンパク質と呼ばれ、低硫黄成分からなるミクロフィブリルに由来する。また、分子質量が約10-30kDaのバンドは中間(径)フィラメント関連タンパク質と呼ばれ、高硫黄成分からなる非晶性のマトリックスに由来する^{71.81}。泳動パターンで、アンゴラとアルパカには約20kDaのバンドがなく、アルパカには約25kDaの濃いバンドがあり、羊毛と差が認められた。また、山羊毛(カシミヤ、モヘヤ)と羊毛も約22-23kDaに僅かに差が認められた(図1、2)。このことから、獣毛の鑑別法への応用の可能性が示唆された。



羊毛 1

2 カシミヤ

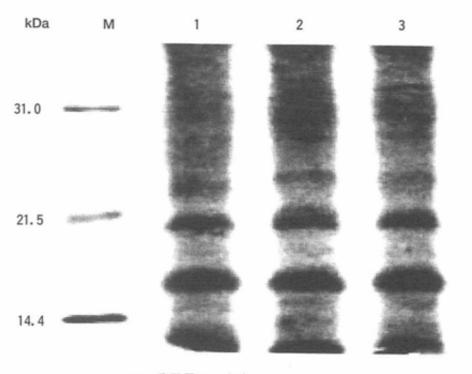
モヘヤ

4 アンゴラ

5 アルパカ

6 カシミヤ/羊毛 (50/50)

図1 獣毛のSDS-PAGE



M 分子量マーカー

- 1 羊毛
- カシミヤモヘヤ 2
- 3

図 2 獣毛のSDS-PAGE

しかし、羊毛/カシミヤ (50/50) の試料と 羊毛とに明確な差が認められず (図1)、SDS -PAGEでは、分析の精度に限界がある。こ のため、高感度な検出ができる、例えば、キャピラリーゲル電気泳動法 (CGE) のような 分析法の検討が必要と考える。また、漂白、 防縮などの化学加工による影響についても検 討する必要がある。

4. おわりに

タンパク質の組成は鑑別法には有用である と思う。しかし、タンパク質の組成は同一の ロットでも偏差があるので、混用率測定法(毛 の間の許容範囲±5%)への応用は困難であ ると考える。

羊毛とその他の獣毛との形状の最大の相違は、他の獣毛のスケールは平滑であることである。この理由は、羊毛のスケール端の高さは0.6µm以上であるが、他の獣毛では0.5µm以下であるためである。現在、走査型電子顕微鏡(SEM)でスケール端の高さを測定して、羊毛と他の獣毛とを識別する混用率測定法が、国際羊毛繊維機構(IWTO)、国際標準化機構(ISO)の試験法として採用が検討されている%。しかし、SEM法も時間と労力を

必要とするので、今後、その自動化が課題と なる。

謝辞

タンパク質の電気泳動では、県食品工業技 術センター発酵技術部の北本則行主任研究員 に御協力いただいたことに感謝の意を表する。

猫文

- 山内清;「髪,羊毛を溶かす:ケラチン 高分子」,高分子加工,43,14-19(1994).
- K.Yamauchi, et al.; J.Biomed.Mat.Res., 31, 439-449 (1996).
- U.K.Laemmli; Nature, 227, 680 685 (1970).
- 4) 「ヴォート生化学(上)第2版」;東京 化学同人,48-51 (1996).
- 5) 小松計一;「続絹糸の構造」,北條舒正編, 信州大学繊維学部,353-415 (1980).
- 6) 小林計一;「昆虫利用の科学シリーズ8 シルクへの招待,サイエンスハウス,45 -94 (1998).
- 7) 新井幸三; 繊学誌,45,P512-516 (1989).
- 8) 新井幸三;「繊維便覧 第2版」,繊維学会編, 丸善, 87-90 (1994).
- IWTO DRAFT TM-58-97.