

(様式第5号)

## 自己集合により作製された毛髪ケラチンフィルムの X 線構造解析 X-rays structural analysis of hair keratins film prepared by a self-assembly

川副 智行、藤井 敏弘、猪股 良平  
Tomoyuki Kawasoe, Toshihiro Fujii, Ryohei Inomata

資生堂 リサーチセンター、信州大学 繊維学部  
Shiseido Research Center,  
Faculty of Textile Science and Technology Shinshu University

- ※1 先端創生利用（長期タイプ、長期トライアルユース、長期産学連携ユース）課題は、実施課題名の末尾に期を表す（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）を追記してください。
- ※2 利用情報の公開が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後2年以内に研究成果公開（論文（査読付）の発表又は研究センターの研究成果公報で公表）が必要です。（トライアルユース、及び産学連携ユースを除く）

### 1. 概要（注：結論を含めて下さい）

ケラチンフィルムは、毛髪と同様にケラチンタンパクを主成分としている。しかし、その詳細な構造は不明であった。毛髪のケラチンタンパクは、らせん型の $\alpha$ ヘリックスを主体とする構造体から構成されている。フィルムも同様の構造を有するか、分子配向性を保持しているかを X 線解析により検討した。本実験より、ケラチンフィルムの代替毛髪としての科学的な納得性向上とマテリアルとしての機能解析ができると考えた。

BL15 を用いた広角回折により、 $\alpha$ ヘリックス由来とみられる  $20^\circ$ 付近のピークが観察された。BL11 を用いた小角散乱では明確な散乱ピークは観察されなかった。従って、フィルムにおけるケラチン分子は配向性を持たないことが示唆された。

### (English)

Keratin film is mainly composed of keratin protein. However, the detailed structure is not clear. Keratin protein of human hair forms  $\alpha$ -helix structure. It was a purpose to evaluate a functional as biomaterial to clarify structure of the protein in keratin film by X-rays analysis.

From these examinations, the following results were obtained. (1) The peak of around 20 degrees which shows  $\alpha$ -helix was observed by wide angle diffraction using BL15. (2) The clear dispersion peak was not observed by the small angle scattering using BL11. Therefore, it was suggested that the keratin molecules of the film have no orientation.

### 2. 背景と目的

毛髪タンパク質の自己集合により形成されるケラチンフィルムは各種ヘアダメージによる化学変化を高感度で検出できることから、ヘアケア製品の評価デバイスとして美容領域を中心に産業活用が広がってきている。このフィルムは毛髪と同様にジスルフィド結合を有する長期間安定に保存できる生体素材である。高濃度で抽出したケラチンタンパク溶液を貧溶媒に接触させ自己集合を誘発して作製する。貧溶媒への接触方法や、種類を変えることで様々な外観や特性のフィルムを作製可能である。一方、タンパク質の構造に関する知見は繊維状構造と顆粒組織を有していることが走査型電子顕微鏡観察で確認されたのみであった。羊毛や毛髪のタンパク質構造はらせん型の $\alpha$ ヘリックス主体であり、一部が平行型の $\beta$ シートであることが X 線解析により報告されている。従って、ケラチンフィルムの X 線解析を行い、毛髪と同様の規則構造を持つか、 $\alpha$ ヘリックスのピッチ長(5.1Å、9.8Å)に由来する回折パターンを得られるか検討することで、代替毛髪としての科学的な納得性の向上が可能であると考えた。

またケラチンフィルムは、還元剤との接触によりフィルムの微細構造の消失と透明フィルムへの変化が生じる。この変化はジスルフィド結合に関連したタンパク構造の変化によるものと思われるが、本実験を進めることで解明できると考えた。

### 3. 実験内容 (試料、実験方法、解析方法の説明)

実験に用いたフィルムはそれぞれ製法の異なるPre-cast型、貧溶媒が高酢酸タイプのPre-cast型、Soft post-cast型の3種とした。BL15は平板に試料を固定する必要があるため、シリコンウェハー支持体上に製膜したフィルムを用いた。BL11は透過法で測定を行うため、支持体を使用しない自立型フィルムを用いた。測定試料は化学処理を施さない未処理型に加え、それぞれに還元処理を施した3種を合わせた計6種とした。



Fig. 1 Image of keratin film prepared by Pre-cast method  
(a) Silicon wafer type (b) Free standing type

#### ■X線広角回折(BL15)

平板状の試料を試料ステージに取り付け、多軸回折計Smart Labを使用して測定を行った。検出器は2θアームに設置したシンチレーションカウンター、X線エネルギーは8 keVとした。入射角、測定時間、受光光学系は適宜変更し、最適な条件を検討した。

#### ■X線小角散乱(BL11)

試料ホルダーにフィルムを重ねて貼り付け、透過法にて測定を行った。フィルムの厚さは約400 μmとした。検出器はフォトダイオード、X線エネルギーは8 keV、カメラ長は150 mmとした。なお、コントロールとして毛髪試料も測定した。

### 4. 実験結果と考察

#### ■X線広角回折(BL15)

Pre-cast型フィルムの回折パターンを算出したところ、 $2\theta=8^\circ$ 、 $20^\circ$ 付近にピークが確認された(Fig. 2)。 $20^\circ$ 付近の明確なピークは $\alpha$ ヘリックス由来であると考えられた。製法の異なる3種のフィルムとも類似した波形を示した。また、還元処理を施した場合は $20^\circ$ 付近のピーク強度が低下していた。従って、還元反応による $\alpha$ ヘリックスの減少が示唆された。一方、 $8^\circ$ 以下の低角領域の回折パターンは処理前後で大きく変化していた。これが $\beta$ シート由来であるかは不明瞭であり、今後の詳細な分析が必要であると考えた。

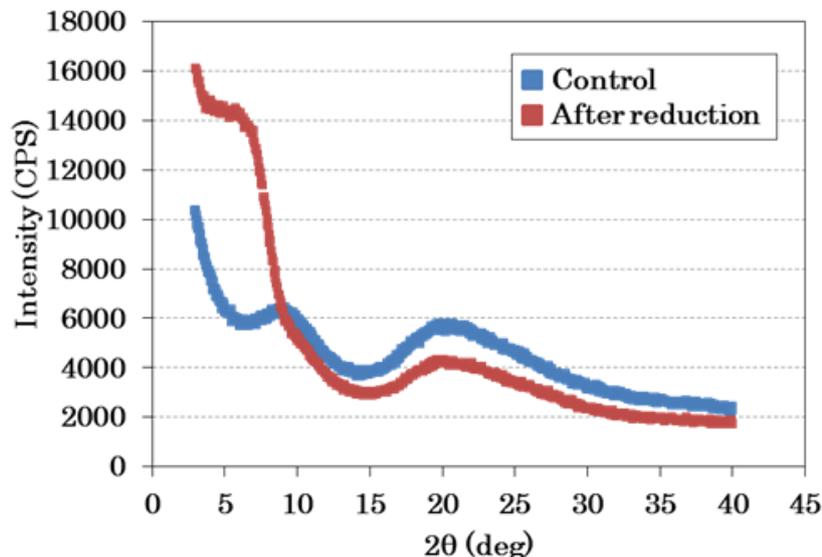


Fig. 2 Wide angle X-ray diffraction of keratin film prepared by Pre-cast method

### ■X線小角散乱(BL11)

毛髪では小角領域に強い散乱がみられるのに対し、フィルムでは環状の散乱が確認された。従って、ケラチンフィルムは分子配向性を持たないが、規則的な構造を有していることが明らかとなった。一方、広角領域の2つの散乱(Fig. 3 赤矢印)はBL15で確認された $8^\circ$ 、 $20^\circ$ 付近の2つのピークを示していた。

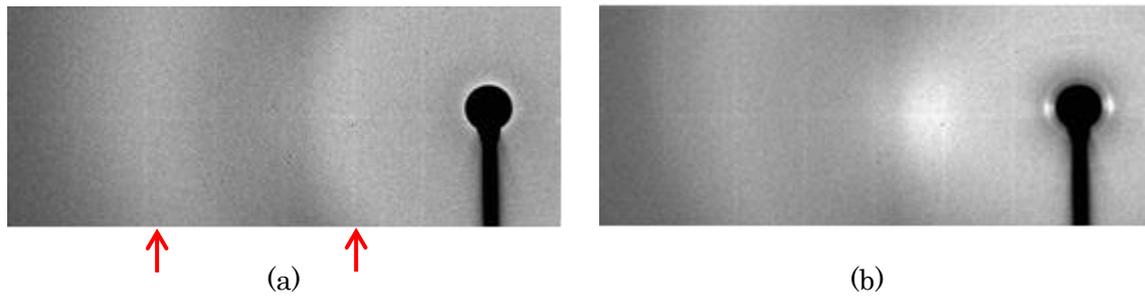


Fig. 3 X-ray diffraction photographs : (a) Keratin film prepared by Pre-cast method  
(b) Human hair

### ■まとめ

ケラチンフィルムが $\alpha$ ヘリックス構造を有し、還元処理によってその割合が減少することが明確となった。従って、このフィルムは還元に対応した構造変化を起こす材料であることが明らかとなった。これらの分子挙動は毛髪と類似しているため、代替毛髪としての科学的納得性の向上が図れると考えた。

フィルムにおける小角領域の環状散乱より、ケラチンフィルムを構成しているマイクロフィブリル構造は規則的な構造であることが明らかとなった。毛髪と比較して配向性は存在しないものの、分子均質性は保持していると考えられた。

### 5. 今後の課題

本実験でケラチンフィルムが $\alpha$ ヘリックスを主体とする構造を持つことが明らかとなったが、 $\beta$ シートの存在や含有割合は断定できなかった。還元処理後に $8^\circ$ 以下の低角領域の波形が大きく変化していた要因として、 $\beta$ シート構造が関わっている可能性があるため、詳細に分析する必要があると考えた。また、分子の側鎖情報とタンパク構造の関連性を調べるために XAFS を用いたケラチン分子内のジスルフィド結合やチオール基の定量分析を検討している。

### 6. 参考文献

- 1) 福田光完、河合弘迪 (1988) 「X線回折法による羊毛繊維の結晶化度の評価」『兵庫教育大学紀要 第3分冊 自然系教育・生活・健康系教育9』 pp.271-284
- 2) 小川聡、藤井一樹、金山勝美、新井幸三、上甲恭平 (2000) 「永久毛髪矯正の理論とその応用」『J.Soc. Cosmet. Chem. Japan. Vol.34, No.1』 pp.63-71

### 7. 論文発表・特許 (注：本課題に関連するこれまでの代表的な成果)

### 8. キーワード (注：試料及び実験方法を特定する用語を2～3)

ケラチン、広角回折、小角散乱

### 9. 謝辞

本研究を進めるにあたりご尽力いただいた所長の平井様を始め、岡島様、瀬戸山様、河本様、隅谷様に厚く御礼申し上げます。