

赤外顕微鏡による熱ダメージ毛髪タンパク質二次構造解析 Secondary Structure Analysis of Proteins in Heat-damaged Hair Using Infrared Microspectroscopy

木村 洋則, 鈴田 和之, 小林 和樹, 藤原 暢之, 河野 ゆか子, 山本 晃大, 岸本 愛加, 伊藤 廉
Hironori Kimura, Kazuyuki Suzuta, Kazuki Kobayashi, Nobuyuki Fujiwara, Yukako Kono,
Kota Yamamoto, Aika Kishimoto, Len Ito

(株)ミルボン
Milbon Co. Ltd.

多くの消費者が日常的に利用しているヘアアイロンやコテは、毛髪形状を美しく整える一方、毛髪への熱ダメージも同時に発生および進行させる。熱ダメージによる毛髪タンパク質の構造変化を明らかにし、効果的なダメージ補修技術を構築することを目的として、顕微 IR マッピング測定により、タンパク質二次構造のダメージ挙動を分析した。その結果、毛髪の熱ダメージ進行において、まず IFAP の架橋構造変化が引き起こされて α -ヘリックス構造の安定性が低下した後に、 α -ヘリックス構造自体の崩壊が進むことが示唆された。

キーワード： 毛髪、赤外分光法

背景と研究目的：

多くの消費者が、美しいヘアデザインを求め、毛髪形状を簡便に変化させることが可能なヘアアイロンやコテを利用している。しかし、これらの美容機器を使用する際には、熱付加による毛髪強度低下などのダメージも発生することが広く知られている。また、得られる毛髪形状は洗髪などで失われるような一時的なものであるため、これらの美容機器は日常的に繰り返し使用され、毛髪の熱ダメージが日々進行していく。このような熱ダメージを補修し、髪的美しさを保つ製品開発ニーズに応えるべく、熱ダメージ機構解明のための研究が多く進められている。

毛髪のダメージ研究において、毛髪の約 85%を構成し、毛髪の力学物性に大きく寄与するタンパク質の構造が注目されることが多い。例えば、毛髪タンパク質、特に中間径フィラメント (IF) が豊富に有している α -ヘリックス構造は、毛髪タンパク質の結晶構造およびその結晶弾性を生み出し、毛髪の 2%程度の延伸に対する抵抗力を意味する初期弾性率に寄与すると考えられている [1]。そこで我々は、熱付加による毛髪の力学物性と毛髪タンパク質構造の変化を捉えるため、特に α -ヘリックス構造に着眼して継続的に研究を行ってきた。まずは、毛髪の強伸度曲線を解析し、熱付加により初期弾性率が低下することを確認した。次に、熱付加による毛髪中のタンパク質二次構造の変化を捉えるため、BL43IR の顕微 IR における毛髪の IR スペクトル測定、およびスペクトルのピークフィッティングによるタンパク質の二次構造解析を行ったところ、熱付加によって α -ヘリックス構造に由来するシグナルが減少する傾向が見出され、毛髪の初期弾性率の低下との関連性が確認された (2021B1758)。しかし、これらの研究においては、熱付加前後のみを観察対象としており、実際の消費者行動における熱付加の繰り返しによる毛髪の熱ダメージの進行挙動を捉えるには至っていない。そこで本研究では、熱付加の繰り返しによる毛髪の力学物性およびタンパク質二次構造の変化メカニズムを解明し、その関連性を調べることを目的とし、熱付加処理回数の異なる毛髪中の α -ヘリックス構造について解析を行った。

実験：

化学処理を受けていない毛髪に対し、180°Cのヘアアイロンで 3 秒間加熱する熱付加処理を 0、5、10、および 30 回施し、その後各毛髪をマイクロトームで 3 μm の厚さで切片化することで毛髪断面サンプルを調整した。このように調製した毛髪切片について、あらかじめ切片厚と平滑性を 3D 顕微鏡にて測定した。その後、切片を赤外透過材料であるフッ化バリウム板にのせ、赤外顕微鏡 XY 試料ステージ上で透過測定を行った。赤外光は、アパーチャーにて領域を 5.0 μm \times 5.0 μm に

制限して照射した。MCT 検出器を用い、測定波数範囲は $4000 - 700 \text{ cm}^{-1}$ 、積算回数は 64 として、赤外吸収スペクトルを取得した。文献[2,3]に従い、 $1700 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ に含まれる複数のアミド I 振動子をカーブフィッティング解析にてピーク分離することでタンパク質の二次構造情報を解析した。分離ピークの中で α -ヘリックス構造に由来するピークの面積をアミド I バンド ($1700 - 1600 \text{ cm}^{-1}$) の総面積に対する相対値として求め、タンパク質二次構造のイメージマッピング図 (Fig. 1) を作成した。さらに、毛髪断面における α -ヘリックス構造の割合の平均値を算出した (Fig. 2)。

結果および考察：

Fig. 1 および Fig. 2 に示した通り、熱付加処理回数に伴い α -ヘリックス構造が減少する傾向が見られた。しかし、処理回数に対する単調減少ではなく、5 回以内の処理では α -ヘリックス構造は比較的保たれており、10 回処理にかけて大きく減少し、30 回処理にかけて減少の程度はやや小さくなる挙動を示した。 α -ヘリックス構造を豊富に含有する IF の結晶構造は中間径フィラメント結合タンパク質 (IFAP) に囲まれて存在し、結晶構造の安定性はその結晶の完全性だけでなく IFAP の架橋密度にも依存することが報告されている[4]。このことから、i) 熱付加処理 5 回までは α -ヘリックス構造自体の変化は少ないものの、IFAP における架橋密度などの構造変化が主に進行することで結晶構造の安定性が低下する、ii) その後の熱付加処理 10 回にかけては結晶構造の崩壊が進行するとともにタンパク質二次構造の変性が促進される、ことが示唆される。熱付加処理 10-30 回において α -ヘリックス構造の減少の程度はやや小さくなる挙動については、今回の測定結果だけでは十分な考察には至らず、今後、熱付加回数に伴う挙動をより詳細に調べる必要があると考えている。

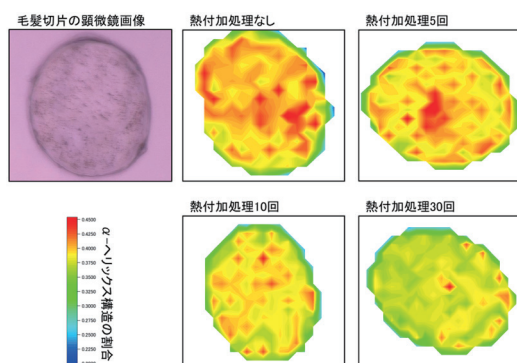


Fig. 1 毛髪切片における α -ヘリックス構造のイメージマッピング図.

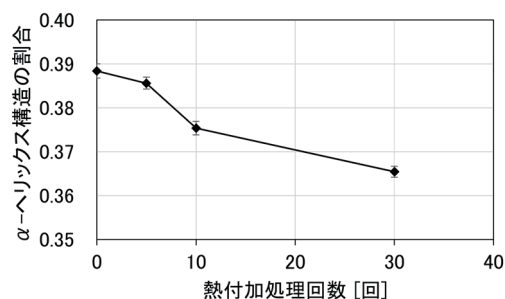


Fig. 2 熱付加処理回数による α -ヘリックス構造の割合変化.

今後の課題：

本研究にて示された、熱付加の繰り返しによるタンパク質二次構造の変化挙動の理解を深めるため、来期以降さらに検討を進めていく予定である。

参考文献：

- [1] C. R. Robbins, Chemical and physical behavior of human hair (4th ed.), Springer-Verlag, New York, 2002.
- [2] 古田ら, 第 19 回日本蛋白質科学会年会, 2P161 (2019).
- [3] H. Yang, et al., *Nat. Protoc.*, **10**, 382-396 (2015).
- [4] F. J. Wortmann, C. Springob, and G. Sendelbach, *J., Cosmet., Sci.*, **53**(4), 219 (2002).