

# 14. タンパク質の定性反応

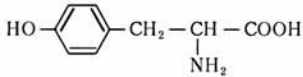
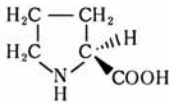
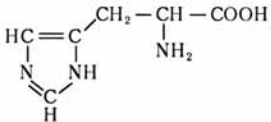
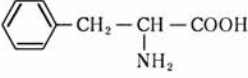
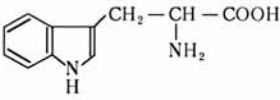
【目的】 呈色，沈殿，凝固反応を通して，タンパク質の性質や構成アミノ酸の反応性を知る。

【解説】

タンパク質はアミノ酸が脱水縮合してできた，分子量1万以上の高分子である。アミノ酸とは，アミノ基（-NH<sub>2</sub>）とカルボキシル基（-COOH）とをもつ分子の総称であり，同一の炭素原子にその両方が結合しているものをα-アミノ酸と呼ぶ。その一般式は R-CH(NH<sub>2</sub>)-COOH と書ける。置換基RがH（つまりグリシン）の場合を除き，α-アミノ酸は不斉炭素原子をもち，光学異性体が存在する。生体に含まれるものは，そのほとんどがL型のα-アミノ酸である。タンパク質を構成するアミノ酸は20種類あるが，その構造を下の表に示した。生体内でもアミノ酸が合成されるが，全部の種類のアミノ酸が合成されるわけではない。生体外から補給する必要のあるアミノ酸を特に必須アミノ酸と呼ぶ。

カルボキシル基とアミノ基とが脱水縮合してできた結合（-CO-NH-）を，一般にアミド結合と呼ぶ。ただし，タンパク質やポリペプチドに限っては，ペプチド結合とも呼ばれる。

表 タンパク質を構成するアミノ酸

グリシン	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	L-チロシン	
L-アラニン	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	L-プロリン	
○ L-バリン	$\text{CH}_3-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	L-グルタミン酸	$\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
○ L-ロイシン	$\text{CH}_3-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	L-アスパラギン酸	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
○ L-イソロイシン	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	L-グルタミン	$\text{O}=\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}-(\text{CH}_2)_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
L-セリン	$\text{HO}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	L-アスパラギン	$\text{O}=\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
○ L-トレオニン	$\text{CH}_3-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	○ L-リシン	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
L-システイン	$\text{HS}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	L-アルギニン	$\text{HN}=\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
○ L-メチオニン	$\text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	L-ヒスチジン	
○ L-フェニルアラニン			
○ L-トリプトファン			

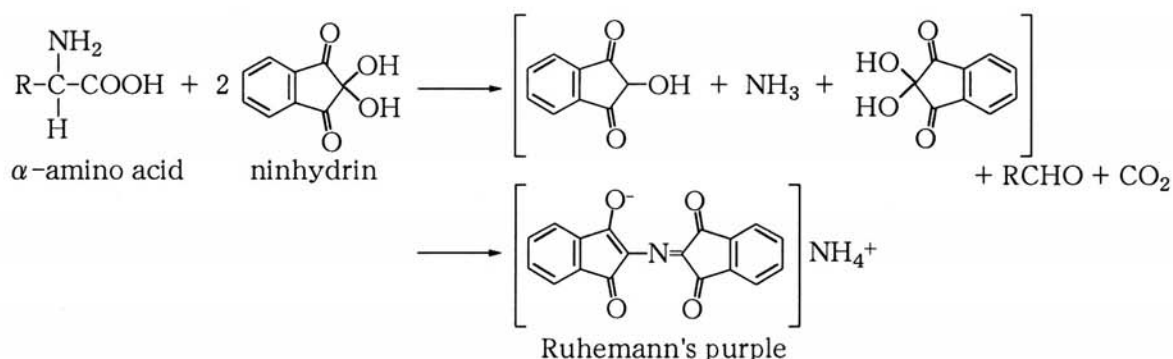
1. ○印はヒトの場合の必須アミノ酸を示す。

2. システインは不安定なため，空気によって酸化され，2分子がS-Sで結合してシスチンとなる。



## 6) ニンヒドリン反応 (Ninhydrin reaction)

Abderhalden's reaction (アブデルハルデン反応) ともいう。ニンヒドリン試薬を数滴加えて加熱すると青紫色になる。アミノ酸の呈色反応であり、ニンヒドリンとアミノ酸の縮合生成物 (Ruhemann's purple) に基づくものと考えられている。



### (参考) ミロン反応 (Millon's reaction)

ミロン試薬 (水銀を発煙硝酸に加熱溶解させ、その上澄みを水で希釈したもの) を数滴加えると白濁するが、加熱により沈殿は赤褐色に変わる。これはフェノール性水酸基 (OH) に特有の反応であり、構成アミノ酸にチロシンが存在することを示す。

## (B) 沈殿反応

タンパク質は分子の形状から繊維状タンパク質 (ケラチン, コラーゲンなど) と球状タンパク質とに分類される。試料の卵白アルブミンなど、一般の水溶性タンパク質は、球状タンパク質である。これは、アミノ酸が連なったポリペプチド鎖がらせん構造をつくり、それがさらに折れ曲がって球状になっている。以下に示すような試薬を加えると、その立体構造が変化したり、電荷が中和されたりするため、凝析する。

(濃硝酸) 濃硝酸を 2~3 ml 入れた試験管を傾けて持ち、試料を約 1 ml 静かに加えると、2 液の界面にタンパク質が凝固する。液を振り混ぜると全体に白濁する。

(有機溶媒) 水とよく混和する有機溶媒 (メタノール, アセトン等) を加えると沈殿する。低温での沈殿は直ちに分離した後、再び水を加えると溶解する。しかし、室温以上で沈殿したものは不可逆変性により難溶性となる。

(重金属塩) 重金属塩類 ( $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  等) の水溶液を 1~2 滴加えると沈殿する。この反応は、中性~弱酸性において鋭敏であり、強酸性では沈殿しない場合がある。

(有機酸) タンニン酸, ピクリン酸, スルフォサリチル酸等により沈殿する。

(無機酸) リンモリブデン酸, リンタングステン酸等により沈殿する。

(塩析) 多量の塩化ナトリウム等により沈殿する。

## (C) 凝固反応

タンパク質はそれぞれ一定の凝固温度をもち、熱変性を受ける。このときの凝固物は、中性の溶媒に不溶性である。試料の卵白アルブミンの凝固温度は、60~70℃である。