

◆生活文化・エネルギー◆ スラブ光導波路を用いて美白効果を検証

シミやソバカスの原因であるメラニン色素の生成は、酵素によるL-ドーパの酸化反応が引き金となる。この酵素を阻害すると美白効果が得られる。そこで酵素阻害能を少量の試料で評価するため高感度なスラブ光導波路分光法を用いた。導波路表面を化学的に改質し、ここに酵素、L-ドーパ及び阻害剤を滴下し混合すると、従来法の1/10の試薬量で、同等の感度で阻害能の評価ができた。また2枚のガラス板の一方に酵素を、もう一方にアミノ基を固定化し、サンドイッチ型にして反応させると、L-ドーパの反応による色素の生成を吸光度上昇により検出できた。

【C2011】

スラブ光導波路法によるメラニン色素生成の阻害能評価

(神奈川大理、ウテナ¹⁾) ○武井尊也・佐藤 真・佐藤康博・小瀬善幸・杉谷嘉則・影島一己¹

[連絡者：武井尊也、電話：0463-59-4111, E-mail：takaya@kanagawa-u.ac.jp]

スラブ光導波路分光法は、導波路内を光が全反射を繰り返しながら伝播する際に生じるエバネッセント波が、試料に吸収される過程を計測する手法である。通常の吸光光度法と比較すると、エバネッセント波は導波路表面の極近傍にしか存在しないため、導波路表面近傍に存在する分子のみが測定対象となること、全反射回数が多いことにより高感度計測が可能となるなどの特徴を有している。シミやソバカスの原因であるメラニン生成は、酵素（チロシナーゼ）によるL-ドーパの酸化反応が引き金となり進行する。このため、この酵素反応を阻害することで美白効果が得られるため、種々の阻害能評価が進められている。本研究では、この反応を抑制する阻害剤の効果を、少量のサンプル量で高感度計測が可能なスラブ光導波路分光法により検討した。またあわせて測定法上の工夫を試みたことを報告する。

スラブ光導波路分光法によるチロシナーゼ阻害活性評価法として、(1) チロシナーゼおよびL-ドーパを導波路上で直接混合する滴下法、(2) 酵素を固定化したガラス板と導波路間に試料を挟んで測定するサンドイッチ型法について検討を行った。(1)では、導波路表面の化学修飾による感度への影響について、(2)では反応と検出の場を分けた形での色素生成反応の検出が可能か否かについて検討を行った。

(1) 滴下法：導波路表面をシランカップリング剤で改質することで、効率よく生成物の捕集することが可能となった。 β -アルブチンなどの阻害剤を共存させると吸光度が減少し、阻害能評価が可能であった。その結果は通常の吸光光度法の結果と同等であり、且つ試薬使用量を1/10とすることができた。(2) サンドイッチ型法：二枚のガラス板の一方に酵素、もう一方にアミノ基を固定化し、それぞれを反応場、検出場として測定する方法について検討を行った。原理をFig. 1に示す。このようなシステムを用いて測定を行ったところ、色素生成に伴う吸光度上昇の検出に成功した。

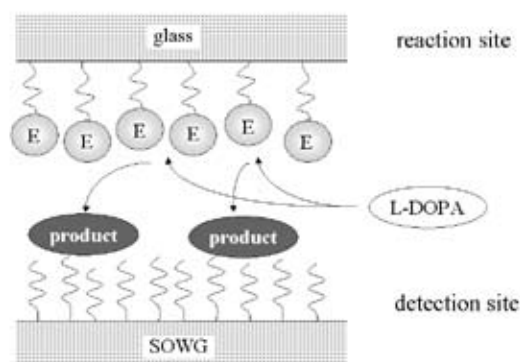


Fig. 1 サンドイッチ型の原理