

1Lp11 麹菌チロシナーゼで製造したメラニン前駆体による新規染毛料の開発 (1) - 酵素反応を用いたメラニン前駆体の蓄積 -

○山中 寛之¹, 中村 幸宏¹, 東田 克也¹, 秦 洋二¹, 斉藤 芳紀², 小池 謙造²
(¹月桂冠・総研, ²花王・BC研)

【背景・目的】麹菌のチロシナーゼは清酒醸造分野において、酒粕中にメラニン色素を生じさせる原因酵素として知られている。今回我々は、この麹菌チロシナーゼのフェノール酸化活性を利用して、有用物質であるメラニン前駆体の生産を試みた。

【実験方法・結果】チロシン、DOPA、若しくはそれらの類縁化合物に麹菌チロシナーゼを作用させると、メラニン色素が得られる。しかし反応条件を調整することで、メラニン色素の末重合物質であるメラニン前駆体を得ることが可能となった。すなわち、チロシナーゼが触媒する酸化反応でドーパクロムを蓄積させ、その後経路である非酵素反応条件を制御することで、ドーパクロムを5,6-ジヒドロキシインドールあるいは5,6-ジヒドロキシインドール-2-カルボン酸を蓄積することが可能になった。

Development of the Novel Hair Coloring System Using Melanin Precursors Produced by *Aspergillus oryzae* Tyrosinase. I. Enzymatic Production of Melanin Precursors.

○Hiroyuki YAMANAKA¹, Yukihiro NAKAMURA¹, Katsuya HIGASHIDA¹, Yoji HATA¹, Yoshinori SAITOU², Kenzo KOIKE²
(¹Res. Inst., Gekkeikan Sake Co., ²Beauty Res. Center, Kao Corp.)

Key words Tyrosinase, *Aspergillus oryzae*, Melanin, Precursor

1Lp13 麹菌チロシナーゼで製造したメラニン前駆体による新規染毛料の開発 (3) - メラニン前駆体を用いた新規染毛料の開発 -

江波戸 厚子¹, ○小池 謙造¹, 斉藤 芳紀¹, 岡田 一廣¹, 宮武 良和¹, 渡邊 高明¹, 東田 克也², 秦 洋二²
(¹花王・BC研, ²月桂冠・総研)

【背景・目的】本来、アジア人の毛髪は、ユーメラニンにより黒色を呈している。しかし、老化により生じる白髪ではメラニンが欠失している。今回、自然界と同様にメラニンによって白髪を簡便に染毛する技術を開発するために研究を行った。

【実験方法・結果】天然原料である豆由来のDOPAを麹由来チロシナーゼで処理することにより、染毛性能の高いメラニン前駆体の工業レベルでの高効率な製造が可能となった。そのメラニン前駆体 (ジヒドロキシインドール) を利用して、酸化防止剤、添加剤等を加え、処方最適化し、従来にない簡便な1剤式の染毛料を開発した。さらに、毛髪における染毛・浸透部位などを解析した。

Development of the Novel Hair Coloring System Using Melanin Precursors Produced by *Aspergillus oryzae* Tyrosinase. III. Development of the Novel Hair Coloring Products Using Dihydroxyindole.

Atsuko EBATO¹, ○Kenzo KOIKE¹, Yoshinori SAITOU¹, Kazuhiro OKADA¹, Yoshikazu MIYATAKE¹, Taka-aki Watanabe¹, Katsuya HIGASHIDA², Yoji HATA²
(¹Beauty Res. Center, Kao Corp., ²Res. Inst., Gekkeikan Sake Co.)

Key words Hair, Dye, Melanin, Precursor

1Lp12 麹菌チロシナーゼで製造したメラニン前駆体による新規染毛料の開発 (2) - メラニン前駆体の工業生産技術開発 -

山中 寛之¹, 福田 克治¹, ○中村 幸宏¹, 松村 憲吾¹, 東田 克也¹, 秦 洋二¹, 渡邊 高明², 小池 謙造²
(¹月桂冠・総研, ²花王・BC研)

【背景・目的】チロシナーゼを用いたメラニン前駆体蓄積反応は、生成経路の特性上、短時間にチロシナーゼによる酸化反応を完結させることが求められる。そこで我々は、メラニン前駆体製造の工業化に向けた生産プロセスの開発を検討した。併せて得られたメラニン前駆体を安定保存する研究も行った。

【実験方法・結果】メラニン前駆体を蓄積させる手法として、バッチ式反応と連続式カラム反応との比較を行った。その結果、バッチ式反応の方が反応液の濃度を高くすることができ、工業生産方法としては優れていた。次に一般的な工業用通気攪拌槽での利用を想定して、ジャーファーメンターを用いたプロセス設計を行った。まずチロシナーゼの酵素酸化反応によりドーパクロムを蓄積し、その後の非酵素的反応によりに5,6-ジヒドロキシインドールに変換することにより、大量のメラニン前駆体を蓄積できることが明らかとなった。また生成した前駆体を安定的に長期保存するための検討も行った。

Development of the Novel Hair Coloring System Using Melanin Precursors Produced by *Aspergillus oryzae* Tyrosinase. II. Development of the Technologies for Industrial Production of Melanin Precursors.

Hiroyuki YAMANAKA¹, Katsuharu FUKUDA¹, ○Yukihiro NAKAMURA¹, Kengo MATSUMURA¹, Katsuya HIGASHIDA¹, Yoji HATA¹, Taka-aki WATANABE², Kenzo KOIKE²
(¹Res. Inst., Gekkeikan Sake Co., ²Beauty Res. Center, Kao Corp.)

Key words Tyrosinase, *Aspergillus oryzae*, Melanin, Precursor

1Lp14 接合菌からのチロシナーゼ阻害物質の検索とその特性評価

○三田 悠紀子, 高野 真希, 星野 一宏
(富山大院・理工)

【目的】接合菌は、乳酸などの有機酸やレンニンなどの有用な酵素を生産できる。しかし、生理活性物質の生産に関する報告は極めて少ない。一方、美白化粧品に添加されているチロシナーゼ阻害物質には、arbutin や cysteine などがある。近年では、美肌効果だけではなく食品や化粧品などに対して安全性が求められており、新たな起源を検索し利用していくことが望まれている。そこで本研究では、新たな起源として接合菌に着目し、チロシナーゼ阻害物質などを分泌する株の検索を行い、その特性を評価した。

【実験方法・結果】本研究では、*Mucor*属および*Rhizomucor*属の82株を使用した。まず、全ての接合菌の培養液の中からチロシナーゼ阻害物質を分泌する菌株の検索を行った。その結果、*M. subtilissimus*の数株がチロシナーゼ阻害物を多く分泌することがわかった。この培養液のモノフェノラーゼ活性はコントロール189 sに対して1620 sと阻害能力が非常に高く、ジフェノラーゼ活性では、チロシナーゼ活性を21.8%阻害することがわかった。そこで、培養液を回収し各種精製を行い精製物を得た。得られた精製物のジフェノラーゼ活性に対する阻害定数 K_i を調べたところ 0.35 g/L であり、Troxolに匹敵するほど高い阻害能力があることがわかった。さらに、*in vivo* でその阻害機構について検討するため、マウス由来B16メラノーマ細胞を用いたメラニン合成抑制試験および細胞毒性試験を行った結果、メラニンの合成を10 mg/Lの濃度で37%抑制することができ、細胞に対する毒性は認められなかった。さらに、コラゲナーゼ活性では、若干の阻害効果が認められた。

Screening and characterization of novel tyrosinase inhibitor from Zygomycota

○Yukiko MITA, Maki TAKANO, Kazuhiro HOSHINO
(Grad. Sch. Sci. Eng., Univ. Toyama)

Key words tyrosinase, collagenase, tyrosinase inhibitor, Zygomycota