

酵母を利用した和漢薬の薬理作用の解析 および測定デバイスの開発

電子技術課 堀井雅恵^{*}、高田耕児、浅田峯夫、横山義之、藤城敏史 機械システム課 鍋澤浩文^{***}
工業技術センター 谷野克巳^{***} 若い研究者を育てる会 立山マシン(株) 日出嶋宗一

1. 緒言

和漢薬は自然物に由来し、多数の化学成分が混在しているため、詳細な薬理効果が明らかになっていないものが多い。これまで、和漢薬の薬効を評価するためには動物実験が行なわれていたが、評価に多大な時間と労力を要する上に、動物実験は禁止される方向にあり、これに代わる和漢薬の評価方法が必要である。そこで、小動物の代わりとして、真核生物のモデルとしてよく研究されている酵母に着目し、和漢薬が酵母の活性に及ぼす影響を、特別な前処理のいらぬ迅速な測定法である交流インピーダンス法によって捉えることを検討した。

2. 実験方法

酵母(サッカロマイセス・セレビシエ)をYM液体培地で前培養した後、新鮮なYM液体培地で1000倍希釈し、24℃で振盪培養したものを測定液とした。電極チップ(図1)上に液滴保持用ホルダーを設置し、電極面積1.4mm²の1対の金電極上に、測定液を12μL滴下する。5分後に10mMのK₃[Fe(CN)₆] / K₄[Fe(CN)₆]を3μL添加し、Solartron社製1260/1287型を使用し、印加電圧50mV、周波数10Hz-600kHzで測定した。複素インピーダンス・プロットから電極界面での電子授受の起こりにくさを示す電荷移動抵抗(Rct)を求めた。

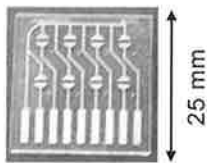


図1 電極チップ

3. 実験結果及び考察

図2は、培養開始後36時間までの培養液のRctおよび酵母の数を反映する値である波長600nmにおける吸光度を示す。培養液のRctは、培養開始後22時間までは上昇し、吸光度の変化と同様の傾向を示した。培養開始後24時間以降は、吸光度は一定になり、酵母数は飽和に達しているが、Rctは不安定になり、吸光度と傾向が一致しなかった。これは、Rctの値が測定限界を超えたためと考えられ、今後の検討が必要である。

Rct上昇の原因については、遠心分離で酵母を除いた上澄みを測定した場合でも、培養液と同様の高いRctの値が得られたことから、電極上の酵母数の増加による

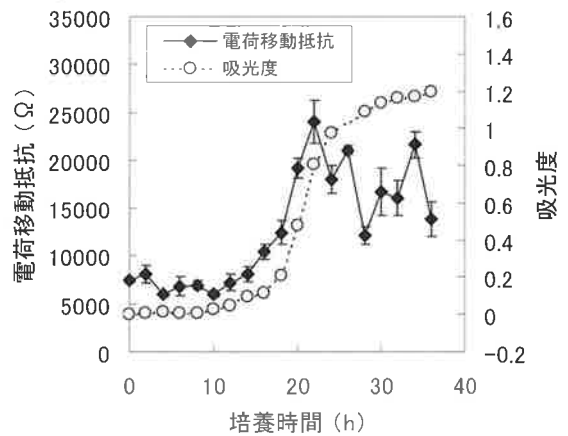


図2 酵母の増殖過程におけるRctの変化

ものではなく、酵母の増殖に伴って代謝物が増加し、電極に吸着したことによるものと考えられた。そこで、電極への吸着物を赤外分光分析(RAS法)により分析したところ、アミド結合を示すピークが見られ、アミノ酸または蛋白質が吸着することでRctが上昇したのと考えられた。

次に、カンゾウ、オウレンエキスを培養液に添加(0.2mg/mL)して培養した結果を図3に示す。和漢薬を含まない培地では培養開始後20時間でRctが上昇したのに対し、カンゾウを添加した培地では36時間後まで、オウレンにおいては、48時間後でもRctの上昇が抑えられていた。この結果から、本測定法により和漢薬が酵母の増殖に及ぼす影響を測定できることがわかった。

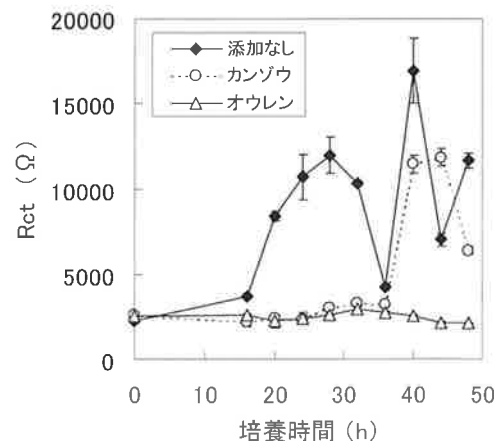


図3 和漢薬が酵母の増殖に及ぼす影響

(詳細は平成20年度若い研究者を育てる会「研究論文集」p31~36参照)

^{*}現 富山大学 ^{**}現 中央研究所 ^{***}現 谷野技術士事務所