

メラニンの吸収スペクトル -理論と実験結果の比較

Innovene, the University of San Antonio, the University of California, Irvine, およびBIOVIA株式会社の研究者たちは、MS Modeling DMol³, VAMP, Discover のコードを用いて、凝集や酸化がユーメラニンのオリゴマーシートの光吸収に対して及ぼす効果について研究してきました。オリゴマー仮説は、dihydroxyindole(DHI)の自動酸化または電気化学的酸化によって生成した合成ユーメラニンの原子間力顕微鏡 (AFM) によるキャラクタライゼーションによって支持されています。予測した吸収スペクトルを観測スペクトルと比較すると、ユーメラニンの酸化およびスタッキング(積み重ね)によって吸収がレッドシフトすることがわかり、また理論結果の正当性も確認できます。この研究によって、より効果的な日焼け止め関連製品の開発が可能になり、皮膚がんの予防に役立つことができます。

メラニンは、自然界におけるほとんどの着色の原因となるバイオポリマーです^{1, 2}。人間の場合は、髪の毛、皮膚や目の色に影響を与えます。さらに、これらの色に対応した光吸収スペクトルには共通点、すなわち広帯域にわたる非構造的な曲線で、単調に増加していくエネルギー関数であるという特徴があります³。

メラニンの吸収スペクトルの形はまた、ある一面で皮膚がんにも関係していると考えられます⁴。髪の毛が赤い人たちは、日光にさらされると皮膚がんにかかる危険性が高くなります。したがって、メラニンの吸収スペクトルの形状を知ることが、人間がかかる主要な病気の予防という点で有効です。

含まれる分子のサイズや、メラニンの全体構造が解明されてということのために、メラニンとその前駆分子と思われる物質に関して行われた理論的研究は比較的わずかです。これまでの研究ではモノマーのモデルについての密度汎関数理論 (DFT) による予測が実施されました⁵。最適化した構造から、吸収スペクトルが計算されました。その結果は初期の理論的研究⁶だけでなく、公表されている実験的研究⁷とも一致しました。

その後、ポリキノンを層を想定した特別の構造モデルを用いて、メラニンの光学スペクトルが予測されました⁸。この研究により、メラニンの光吸収が、すべての構成要素についての吸収を重ね合わせることで容易に得られると提案されました。

以前の研究で用いられた構造モデルは、オリゴマーの単層に限られていました。本研究⁹では、さまざまな酸化状態の変化についてだけでなく、オリゴマー層の集合体についてもシミュレーションを行っています。これらは、いくつかの理由で重要な検討材料であるといえます。さまざまな実験的研究は、オリゴマー状のユーメラニンが高度にスタッキングしていることを指摘しています¹⁰。

サブユニットの酸化状態の変化が関連していますが、これはメラニンの黒化や脱色が従来から酸化/還元反応に関連付けられており、メラニンの自然な生理的機能において本質的であると考えられているためです¹¹。したがって、メラニンのモデルをさまざまな酸化状態のオリゴマー層について光学特性をシミュレートすることで評価し、得られたスペクトルを実験データと比較することは大変興味深く思われます

予測結果

従来の研究では、メラニンの全酸化型⁸を用いて、ユーメラニンのオリゴマーモデルが作られました。ここでは、この化

Organization

Innovene

University of San Antonio University of California, Irvin

BIOVIA

Products

BIOVIA Materials Studio DMol³

BIOVIA Materials Studio VAMP

BIOVIA Materials Studio Discover

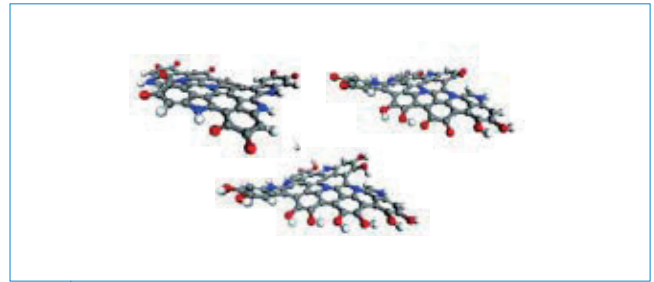


図1 DFTで最適化した六量体のDHIメラニン構造(a)酸化型, (b)半還元型, (c)全還元型。炭素原子はグレー、酸素原子は赤、窒素原子は青、水素原子は白で示されています。

学モデルを、酸化型だけでなく半還元型や全還元型の前駆分子にまで広げています。図1は、エネルギーを最適化した六量体を、3種類の酸化状態についてモデル化したものです。

図2は、単層構造の場合の吸収スペクトルを予測したものです。還元型の吸収極大値は、酸化型と比較するとレッドシフトしています。また還元型の場合は、スペクトルの赤色の部分で予想される吸収が弱くなっています。半還元型の吸収スペクトルの場合は、酸化型と還元型の間中間的な挙動を示し、広範囲の波長にわたって吸収帯があります。

考えられる多くの水素結合の相互作用によって、還元型および半還元型における層状構造の簡単なエネルギーの最小化は妨げられ、したがって分子力学のクエンチングテクニックを応用して、積層オリゴマーに対して低エネルギー構造の多様体を作成しました。酸化型構造に対しては層間のみ水素結合が期待でき、その結果クエンチング プロシージャによって、低エネルギー構造(ここでは、個々の層が多少ずれるようにして積層構造が作られている)を明確に定義できました。酸化型の六量体については、単層のものから3層積層したもので光学スペクトルを予測し、その結果を図3に示しています。

全体として、スペクトルは層の数が増えるとレッドシフトし、なだらかになります。

実験結果

DHIから得たメラニンサンプルを、自動酸化と電気化学析出の両方の方法で作成しました。DHIの電気化学的酸化によって堆積したサブモノレイヤーのユーメラニンについて、AFM画像と粒子サイズ分布を示しました。分析の結果、平均的な粒子の高さが27.93 Åであることがわかりました。比較すると、DHIの自動酸化によって調整したコロイド状のメラニンについてのAFM画像によって、粒子の高さは7~22 Åであり、これよりも大きい粒子(35 Å以下)はほとんど見られません。(図4)

厚いDHLメラニンフィルムの種々のポテンシャルでの電気分解によって得られる吸収スペクトルを図5に示します。フィルムのポテンシャルを-300mVの全還元状態から変化させた場合、ポテンシャルの増加に伴い、吸収は400nm以上で増えます。-300mVと50mVの間では、およそ417nmで等吸収点が維持され、安定な種の単純な相互交換を示しています。嫌気性の状況下では、この吸収の変化は可逆であり、複数回繰り返すことができます。+50mVから+300mVの範囲のポテンシャルでは、500nmで特有の増加を示しますが、可逆性は失われ、化学組成に変化が現れます。

考察

DHIメラニンのAFM画像に表れるものは、すべてがナノスケールの粒子であり、コロイド状サンプルの平均的な粒子の高さは13.8Åです。電気化学的に堆積した粒子の平均的な高さは27.9Åであり、これは6-7層積層したものに相当し、さらに、本研究で予測した~2ナノメートルのサイズの分子構造にほぼ一致します。電気化学的に堆積した粒子は自動酸化したものに比べると構造が大きく、これは重合化の状態に差が生じたためと考えられます。

単層のオリゴマ(図2)の場合、還元型の紫外部の吸収スペクトルは、酸化型と比較するとレッドシフトし、スペクトルの赤外部の吸収は弱くなっています。単層の半還元型の吸収スペクトルは、中間的な挙動を示し、波長の全体にわたりピークを示します。

スタッキングにより、スペクトルの赤い端の部分の吸収が強くなり、吸収スペクトルはなだらかになります(図3)。半還元型の場合、積層モデルでは、紫外スペクトルの吸収が弱くなり、スペクトルの赤い端の部分での吸収は強くなります。全還元型の場合、積層すると還元型の吸収スペクトルの範囲が300-500nmの範囲に狭められます。

DHLメラニンの吸収に対する酸化の効果が、分光電気化学的測定によって明らかになり、その結果サンプルの酸化還元状態を適切にコントロールできるようになりました。

一般的に、予測した光吸収スペクトルによって、メラニンがより高い酸化状態にあるとスペクトルの赤い端の部分での吸収が強くなるという傾向が示されます。したがって、一般的には予測は実験結果と一致します。しかしこれは、この予測に用いた特定の分子構造が特異的なもので、他の構造のものは高い酸化状態でも同様にレッドシフトしない、ということの意味しているわけではありません。ただ、メラニンの電気化学的酸化によって影響を受けるスペクトルの範囲が、これらの構造について理論的に予測した範囲(300-700nm)に類似していることは注目する必要があります。これによって、最も含まれていそうな分子構造が、本研究で検討されたものと大きさや結合度が類似していることがわかります。

全体的な積層の効果は酸化の効果と同様であり、六量体ユーメラニンのモデルシステムの吸収スペクトルがレッドシフトすることです。これによって、天然のメラニンの広い吸収帯が赤外近くまで広がっていることを説明できます。このような積層がない場合は、フェオメラニン(赤毛やブロンドの髪の毛をもつ人々の皮膚に見られる)のスペクトルを説明できます。フェオメラニンには、L-ドーパの酸化重合中に多くのシステインが組み込まれ、X線散乱ではユーメラニンのように平均的な層間の距離が3.4Åであるとはいえません。同様に、フェオメラニンの吸光度は500nmを過ぎると急激に減少し、酸化率の高いDHLメラニンの吸光度と同様になります。

このような非積層の効果は、図5に見られるような高波長で

の著しい脱色の原因になると考えられます。特定の範囲では、DHLメラニンの酸化は化学的に可逆ですが、100mVを超えると、スペクトルの変化は不可逆になり、酸化的分解反応が現れます。DHLオリゴマの開環分割を行うと、有効な結合が減少し、また立体構造および溶解性が増すために積層する傾向も弱まっていきます。

参考文献

1. Zeise, L. in *Melanin: Its Role in Human Photoprotection*, Zeise, L.; Chedekel M. R.; Fitzpatrick T. B. (Eds.), Kansas Valdenmar Publishing Organization, Overland Park, 1995, pp.65-79.
2. Sarna, T.; Swartz, H. M., in: *The pigmentary system: physiology and pathophysiology*, Nordlund, J. J.; Boissy, R.E.; King, R. A.; Ortone, J. P. (Eds.), Oxford University Press. New York, 1998, pp. 333-358.
3. Crippa, P. R.; Cristofolletti, V.; Romeo, N., *Biochim. Biophys. Acta* 1978, 538, 164.
4. D'Ischia, M.; Napolitano, A.; Prola, G. *Gazz. Chim. Ital.* 1996, 126, 783.
5. Stark, K. B.; Gallas, J. M.; Zajac, G. W.; Eisner, M.; Golab, J. T., *J. Phys. Chem. B*, 2003, 107, 3061.
6. Bolivar-Martinez, L.E.; Galvao, D. S.; Caldas, M. J., *J. Phys. Chem. B* 1999, 103, 2993.
7. Zhang, X.; Erb, C.; Flammer, J.; Nau, W.M., *Photochem. Photobiol.*, 2000, 71, 524.
8. Stark, K. B.; Gallas, J. M.; Zajac, G. W.; Eisner, M.; Golab, J. T., *J. Phys. Chem. B*, 2003, 107, 11558.
9. Stark, K. B.; Gallas, J. M.; Zajac, G. W.; ; Golab, J. T.; Gidanian, Sh., McIntire, Th. And Framer, P. J.; *J. Phys. Chem. B*; 2005; 109, 1970.
10. Zajac, G. W.; Gallas, J. M.; Cheng, J.; Eisner, M.; Moss, S. C., Alvarado Swaisgood, A. E., *Biochimica et Biophysica Acta*, 1994, 1199, 271.
11. Korytowski, W.; Sarna, T., *J. Biol. Chem.*, 1990, 265, 12410.