

3B01 直接電子移動型酵素電極反応に与える界面活性剤の影響に関する一考察

(*京大院農, **山口大院農) ○河井翔太^{かわいしょうた}・薬師寿治^{やくしとしはる}・松下一信^{まつしたかずのぶ}・北隅優希^{きたぐみゆうき}・白井理^{しらいおさむ}・加納健司^{かのうけんじ}

【緒言】

生物はエネルギー獲得のために多くの酸化還元反応を行っている。これら反応の触媒として働く酸化還元酵素の中には基質として電極を選択できるものがある。このように電極反応と酵素反応を直接共役させることを直接電子移動型酵素電極 (DET) 反応と呼ぶ。これまで当研究室では DET 反応を行う酵素を発見、報告してきた。これら酵素のうち電子受容体を電極とする酵素の多くが膜酵素であった。そのため膜酵素であることが DET 反応において何らかの利点を得ている可能性が示唆される。しかしながら、膜酵素は精製の過程で界面活性剤を必要とし、これは DET 反応を阻害する可能性もあった。そこで、本研究では DET 反応を行う *Gluconobacter* sp.由来のフルクトース脱水素酵素(FDH)を用いて、界面活性剤が DET 反応に及ぼす影響を考察することを目的とした。

【実験方法】

FDHに含まれる界面活性剤の除去はカラムクロマトグラフィーによって行った。また、FDHの膜結合領域と予想される領域の欠損体 (Δ CHR_FDH) の発現系をfusion PCRによって構築した。FDH活性はPrussian blueを電子受容体とする吸光度変化から求めた。電気化学測定には作用電極としてグラッシーカーボン(GC)あるいはAu電極、参照電極として銀/塩化銀、対極として白金を用い、McIlvaine緩衝液中にて掃引速度5 mV s⁻¹で行った。

【結果と考察】

推定構造から Δ CHR_FDHは可溶性となることが予測された。可溶性画分、膜画分両方のフルクトース酸化活性を調べた結果、予想通り可溶性画分に活性が確認されたが、膜画分にもかなりのフルクトース酸化活性が確認された。これは Δ CHR_FDHとなることで、新たに疎水的な領域が構成されたためと判断した。

界面活性剤を除去したFDHにてサイクリックボルタモグラムの測定した結果、DET反応が観測されたが、その電流密度は除去前に比べ小さくなった。その後、FDH溶液を添加しても電流値が減少することはなかったが、界面活性剤を添加すると電流密度は減少した。界面活性剤の除去による電流値の減少は、FDHが凝集し配向性が悪くなったためだと推測した。