

### 3D08 酵素分子の揺動性と配向性を考慮した高性能バイオアノードの設計

(福井大院・工) ○末 信一郎、鈴木治人、高村映一郎、坂元博昭、里村武範

【緒言】 バイオ電池は再生エネルギーとして注目されているが、酵素の長期安定性や出力密度など実用化への問題も大きい。本研究室では高い安定性を有する超高熱性アーキア由来の色素依存性 L-プロリン脱水素酵素 (LPDH) に着目してアノードを構築してきた。出力増大のアプローチとして、酵素を電極上に電子伝達が円滑となるように配向固定することを検討してきた。しかし、LPDH は触媒部位近傍に電子授受に関わる FAD が存在しており、酵素分子内に触媒部位と酸化還元部位が別れて存在するような構造ではないため、FAD を電極から遠ざけると電子の授受が、電極に近づけると基質との接触が円滑に進まず、配向固定のみで電流密度を上げることは限界があると考えられる。そこで酵素分子の揺動性を考慮し N 末端に His-tag を導入した LPDH をメディエータであるフェロセンと共に電極上の多層カーボンナノチューブ (MWCNT) へ配向固定し、酵素分子密度を制御して酵素の揺動性を増大させ、電極に酵素が近づいたときにメディエータとの電子の授受が、電極から酵素が離れた際に基質との接触が起こすことで、電流密度の増大を目指した。さらに、カーボンナノチューブ表面に修飾する酵素間にスペーサーを導入することで、カーボンナノチューブ表面の酵素分子密度を制御し、酵素の揺動性を向上させることによって、基質との反応効率を促進した電極材料の作製を目指した (Fig.1)。

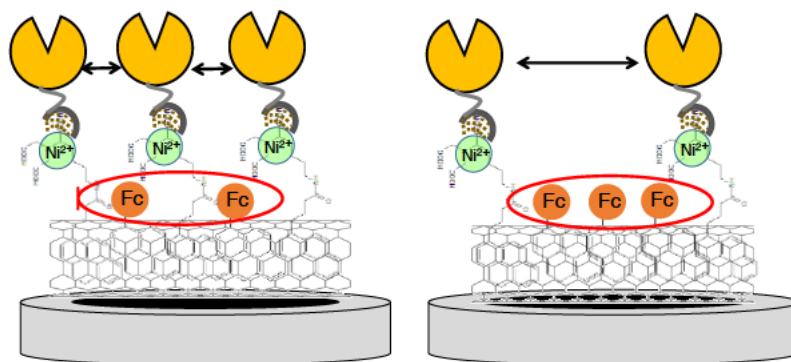


Fig. 1 Control of enzyme fluctuation on the electrode

【実験】 MWCNT を GC 電極上に固定化した後、PBSE 溶液に電極を浸漬させ、電極上の MWCNT 上に PBSE を固定化した。さらに AB-NTA 溶液に電極を浸漬させてリンカーを形成し、 $\text{NiCl}_2$  溶液に電極を浸漬させてリンカーに Ni 原子を配位させ、His-tag を介して LPDH を配向固定化した。この時、PBSE とアミノピレンの混合液に電極を浸漬し、アミノピレンにメディエータであるフェロセンカルボン酸を、PBSE に LPDH を配向固定化することで酵素分子間の密度を制御した電極を構築した。

【結果と考察】 構築した電極の触媒電流密度は、アミノピレンと PBSE を 6:1 の濃度比で混合した反応液を用いて構築した場合に最大の触媒電流密度を示した。これは電極上に酵素が配向固定されており、アミノピレンの濃度比が 6:1 よりも少ない場合は酵素が密に固定化されて揺動性が抑制され、6:1 よりも多い場合は電極上の酵素分子数の絶対数が減少するため 6:1 の濃度比で構築した電極において最大の触媒電流密度を示したものと考えられる。

---

Construction of high performance bioanode by orientated immobilization of thermostable enzyme in consideration of molecular fluctuation. Shin-ichiro SUYE, Haruto Suzuki, Ei-ichiro TAKAMURA, Hiroaki SAKAMOTO, Takenori SATOMURA, Haruhiko SAKURABA, Toshihisa OHSHIMA :Graduate School of Engineering, University of Fukui, 3-9-1, Bunkyo, Fukui 910-8507, Japan, Tel: 0776-27-8914, E-mail: suyebl0@u-fukui.ac.jp