

高性能バイオデバイスのための酵素-電極間の効率的な電子授受を可能とする連携層の構築に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-10-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 森, 早紀 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10098/00028795

博士論文内容の要旨

氏名 森 早紀

1 論文題目（英文の場合は、和訳を付記すること）

高性能バイオデバイスのための酵素-電極間の効率的な電子授受を可能とする
連携層の構築に関する研究

2 要旨（和文 2,000 字程度又は英文 800 語程度にまとめること。）

バイオセンサやバイオ電池は医療分野や環境分野において広く利用されており、今後は IoT 分野においての利用も期待されている。分子識別素子として酵素を用いたバイオセンサやバイオ電池では、酵素と電極間で電子授受が行われており、これらの性能向上のためには、この電子授受をより効率的に行う必要がある。本研究では、酵素電極の酵素と電極間の電子授受をより効率的に行うために、酵素と電極の間の界面の働きに着目した。本研究では、この界面を「連携層」とし、酵素と電極間の効率的な電子授受を行う連携層の研究を行った。

まず、電極上での酵素の立体構造保持について検討した。酵素はその立体構造によって基質特異性を持ち活性を示すが、熱や pH 等の様々な外的要因によって容易に変性し失活する。一般的に電極表面上で酵素の立体構造は崩れやすく、これは酵素が電極上に吸着する原動力となる疎水性相互作用や静電相互作用が酵素に過剰に働くことが要因であると考えられている。近年、酵素と酵素が吸着する材料表面との接触面積をナノサイズに制御することで酵素の立体構造変化が小さくなる研究結果が報告された。そこで、本研究では、金ナノ粒子(AuNP)を用いて、酵素と電極との接触面積を小さくし、酵素の立体構造を保持できる連携層の構築を検討した。本研究では評価モデル酵素として、ピロロキノリンキノン依存型グルコース脱水素酵素(PQQ-GDH)を使用した。酵素の立体構造保持のための連携層は、電極上に 6-アミノヘキサチオールによって形成された自己組織化単分子膜と、この単分子膜と静電相互作用によって吸着する AuNP によって作製した。電極上の酵素分子層は、この AuNP と酵素の静電相互作用によって作製し、粒径が 5、20、40 nm の AuNP を使い、それぞれの電極で電気化学評価を行った。電気化学測定の結果

	氏名	森 早紀
<p>果、20 nm の AuNP を用いた電極が最も高い電流密度 $26.4 \pm 5.75 \text{ A/cm}^2$ を示した。さらに、QCM によって、それぞれの酵素電極上の PQQ-GDH の定量測定を行った結果、電気化学測定の結果が、電極上に保持された酵素量の差によるものではないことが示された。また、5、20、40 nm の AuNP を用いて PQQ-GDH-AuNP 複合体を作製し、複合体の活性評価を行った結果、20 nm の AuNP を用いた複合体を用いることで、電気化学評価と同様に高い比活性が確認された。これらのことから、20 nm の AuNP が PQQ-GDH の立体構造を保持し、高い電流応答を示したと考えられる。</p>		
<p>本研究では酵素と電極間の電子授受のさらなる効率化のために、酵素の配向性に着目した。電極上の酵素の活性部位がバルク側を向き、基質を取り込みやすい状態を維持することで、電子伝達が効率的に行われる。これまでに、アフィニティ結合を利用することによって、酵素に配向性をもたせた電極の報告がなされている。しかし、それらの報告では、酵素と電極間に特異的な結合を複数組み合わせていることが多く、酵素と電極間の距離が広がってしまう。酵素と電極間の電子授受には、酵素と電極間の距離が重要であり、この距離は短ければ短い程よいと考えられる。そのため、本研究では、アフィニティ結合の一つであるヒスチジンタグ(His-tag)と遷移金属のみで形成された連携層を作製し、酵素の配向を制御する連携層の構築についても検討した。</p>		
<p>酵素の配向性を制御する連携層の検討では、遷移金属である銅を電極表面に電析によって直接修飾し、この銅と PQQ-GDH の遺伝子改変によって導入した His-tag によって連携層を形成した。比較として、EDC(カルボジイミド)を用いて PQQ-GDH の無配向電極を作製し、それぞれの電極で電気化学評価を行った。その結果、His-tag と銅を用いた電極は、EDC を用いた電極と比較して 90 倍高い電流密度を示した。また、His-tag と銅を用いた酵素電極をイミダゾール溶液に浸漬すると、浸漬後の電流密度が大きく減少した。この結果から、PQQ-GDH が持つ His-tag と電極表面に電析した銅によって連携層が形成されていると考えられた。</p>		
<p>これらの結果から、AuNP を用いて酵素の立体構造を保持する連携層の作製が可能であり、酵素電極の作製において、酵素と連携層の接触面積が酵素電極の性能に大きく影響することがわかった。また、His-tag と銅のアフィニティ結合で形成された連携層は、電極に対する酵素の配向性を制御することができ、効率的な電子伝達を可能としたと考えられる。これは、電極上の酵素が効率的に基質を取り込むことができたことと、連携層が His-tag と銅のみで形成されているため、酵素と電極間の距離が短くなったことが、電子伝達の効率化に資したと考えられる。</p>		
<p>本研究で得られた知見は、バイオデバイスの酵素と電極間の効率的な電子伝達を可能とする連携層の構築に関して大きな寄与となると考えられる。</p>		