

Title	有機溶媒中におけるガラクトースオキシダーゼの電気化学的特性
Author(s)	川田, 学
Citation	
Issue Date	1996-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/2308
Rights	
Description	材料科学研究科, 修士

有機溶媒中におけるガラクトースオキシダーゼの 電気化学的特性

川田 学 (横山研究室)

【目的】

生体内では、電子伝達に関与する多くの酸化還元酵素が存在し、生体内の情報伝達やエネルギー変換機構に寄与している。酸化還元酵素のカタリティック電気化学反応について水溶液中では調べられているが、有機溶媒中ではほとんど行われていない。そこで本研究では基質特異性が低く、種々のアルコールの酸化反応を触媒するガラクトースオキシダーゼ(GAO)にポリエチレングリコール(PEG)による化学修飾を行い、有機溶媒中においてメディエーターを介したカタリティック電気化学反応を調べた。さらに、各種有機溶媒を用いた場合の電気化学的反応性の違いについて調べた。

【実験】

モノメトキシポリエチレングリコールを塩化シアヌルと反応させて活性化PEGを合成し、これとGAOのアミノ基を反応させ、PEG修飾GAOを調製した。次に、未反応の活性化PEGを限外ろ過により除去し、PEG修飾GAOを濃縮して、精製を行った。電気化学測定は酸素を除去した溶液中でグラッシーカーボンを用いたサイクリックボルタノメトリーにて行った。電解液にGAOとメディエーターを加え、基質はGAOに対して過剰となるように加えた。メディエーターはフェロセンジメタノール等のフェロセン誘導体を使用した。有機溶媒はアセトニトリル、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)、ジメチルスルホキシド(DMSO)などを用いた。

【結果と考察】

水溶液中でPEG修飾GAOとベンジルアルコールのカタリティック電気化学反応について調べた。その結果、非修飾GAOと同様にカタリティック電流が測定された。種々の有機溶媒におけるPEG修飾GAOの電気化学的性質にもついて調べた。アセトニトリル中及びDMF中でもカタリティック電流が測定され、酵素反応が進行したと考えられる。さらに溶媒としてN,N-ジメチルアセトアミド、DMSOを用いた場合でもカタリティック電流が得られた。しかし、ホルムアミドを用いた場合ではカタリティック電流は測定されなかった。すなわち、極めて極性が高い有機溶媒中では酵素はすぐに失活したものと考えられる。次に、各種溶媒でのカタリティック電流の時間経過について調べた。その結果、アセトニトリルやDMF中では、最初の i_k/i_d は高いが、時間経過とともに反応性が低下した。しかし、DMSO中では、時間変化における反応性についてほとんど変化がなかった。すなわちDMSO中では酵素がほとんど活性を失わなかったと考えられる。さらに、PEG修飾GAOのメディエーター選択性について調べた。水溶液中では正電荷を有するフェロセン誘導体が良好な反応性を示したのに対し、有機溶媒中では電荷のないフェロセン誘導体が良好な反応性を示した。このことはメディエーター固有の酸化還元電位や活性中心付近のアミノ酸残基の疎水性が大きく影響しているものと考えられた。

keywords

酵素電解反応、有機溶媒、ガラクトースオキシダーゼ、フェロセン誘導体