

Title	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドの有機溶媒系電気化学反応と脱水素酵素反応
Author(s)	斉藤, 郁雄
Citation	
Issue Date	1997-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/2389
Rights	
Description	Supervisor:横山 憲二, 材料科学研究科, 修士

ニコチンアミド アデニンジヌクレオチドの 有機溶媒系電気化学反応と脱水素酵素反応

斉藤 郁雄 (横山研究室)

【目的】

これまでに多くの NAD^+ 依存性脱水素酵素について報告されているが、有機溶媒系での電気化学反応を用いた応用例は全くなく、脱水素酵素反応を有機溶媒中で電気化学的に制御することができれば、疎水性物質に対するバイオセンサーやバイオリアクターなどに応用できると考えられる。本研究では電気化学的に NADH や NAD^+ を有機溶媒中で酵素に有用な形にそれぞれ酸化、還元できる系を確立し、さらに脱水素酵素の有機溶媒系での電気化学的特性についても検討することを目的としている。

【実験】

○有機溶媒中での NADH の電気化学的酸化反応

電気化学的評価はサイクリックボルタンメトリー (CV) により行い、電極と NADH 間の電子伝達メディエーターとして Meldola's Blue や 1-Methoxy PMS のような酸化還元色素を用い、ジメチルスルホキシド (DMSO) 中で測定を行なった。

○有機溶媒中での NAD^+ 依存性脱水素酵素のキャタリティック電気化学反応

電気化学的酸化による NAD^+ 生成に伴う有機溶媒中での脱水素酵素酸化反応を試みた。L-乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) のアミノ基に塩化シアヌルを介してポリエチレングリコール (PEG) を修飾し有機溶媒に可溶な酵素を調製した。次に PEG-LDH と L-乳酸を上記の NADH 酸化反応系に添加し、CV により脱水素酵素酸化反応を調べた。

○有機溶媒中での NAD^+ の電気化学的還元反応

DMSO と水の混合溶媒を用い、メディエーターとしてメチルビオロゲンを選択した。同様に CV により電気化学的評価を行なった。

【結果と考察】

DMSO 中において酸化還元色素による NADH のキャタリティック電気化学酸化反応を検討した結果、0.2mM のメディエーターにより得られる酸化電流値に対して 1mM の NADH を添加することで約 10 倍の酸化電流値の増加がみられた。また DMSO と水の混合溶媒中では、含水率を増加させると NADH を添加したときに得られる酸化電流値は減少する傾向にあり約 50% 以上ではキャタリティック電流は確認されなかった。これは含水率が上昇するとメディエーターの電極への吸着が顕著になり NADH の酸化効率を低下させているためと考えられる。これらのメディエーターによる NADH の酸化反応は水溶液中よりもむしろ DMSO 中で行なった方が効率良く行なえと考えられる。次に脱水素酵素酸化反応を試みた結果、メディエーター、 NADH 、PEG-LDH、L-乳酸を添加した反応系では種々のコントロールの反応系に対してさらに酸化電流値の増幅が得られた。すなわち酵素、メディエーター反応系が機能した結果であると考えられる。一方メチルビオロゲンによる NAD^+ のキャタリティックな還元反応を検討した結果、DMSO と水の割合が 9:1 の混合溶媒中で反応系に添加する NAD^+ の濃度に依存した還元電流値の増幅がみられた。

keywords

NADH , NAD^+ , 有機溶媒, L-乳酸デヒドロゲナーゼ, メディエーター