

イオン結合を利用した固定化酵素薄膜の形成

簡便な固定化酵素膜の形成に成功

固定化酵素の簡便な作製法を開発することは、工業的に酵素を利用する上で重要である。我々は、これまで種々の固定化酵素作製法を開発し、それを高感度分析に適用してきた。数年前から、我々のグループは、ポリイオン複合膜作製法を利用すると、極めて簡便にかつ迅速に固定化酵素層を得られることを見出した。この方法では、ポリカチオンとポリアニオンと酵素の3溶液を基板上に滴下し乾燥させるだけで、簡便に酵素固定化膜が得られる。

しかし、このポリイオン複合膜の方法では、薄い固定化酵素層を得ることは難しい。そこで、この方法を元に新たな固定化方法を開発した。その概念を図1に示す。金基板上へSH基を持つ分子が自己集積化することはよく知られている現象である。そこで、先ずSH基を持つ分子のシステアミンを用い、自己集積化層を形成する。この層では表面にアミノ基が並ぶ(A;赤丸はアミノ基)。続いてポリグルタミン酸を添加するとアミノ基(正に荷電)とポリグルタミン酸のカルボキシル基

(負に荷電)の結合によりポリグルタミン酸が固定化される(B;青四角はカルボキシル基)。さらに、予めポリグルタミン酸が結合した酵素を作り、これをシステアミンで処理した金基板上に添加すると、ポリグルタミン酸に伴い酵素が固定化される(C;黄丸は酵素)。以上の手順により、簡便に酵素薄膜が形成される。例として、酵素にブドウ糖酸化酵素を選び、図1(C)に示す酵素薄膜を作製した。

酵素薄膜が形成されたかを調べるため、基板に酵素により生成する過酸化水素を酸化する電位を設定し、ブドウ糖を添加してみた。未修飾の酵素を用いると当然ながら酵素はほとんど固定化されないため、電流は流れない。一方ポリグルタミン酸結合酵素を用いた電極では、大きな酸化電流が観察された(図2)。酵素層が薄いため、応答は速く、簡便に酵素固定化層が作製できた。

本方法は、単に酵素薄膜層を作製するだけではなく、酵素を用いた素子(バイオセンサ等の)の高集積化にも応用が可能であると考えられ、現在、さらなる研究を進めている。

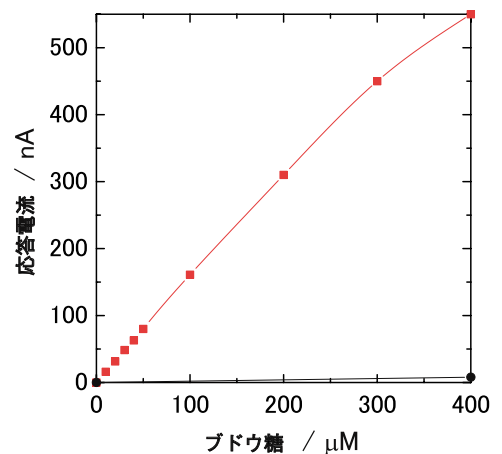
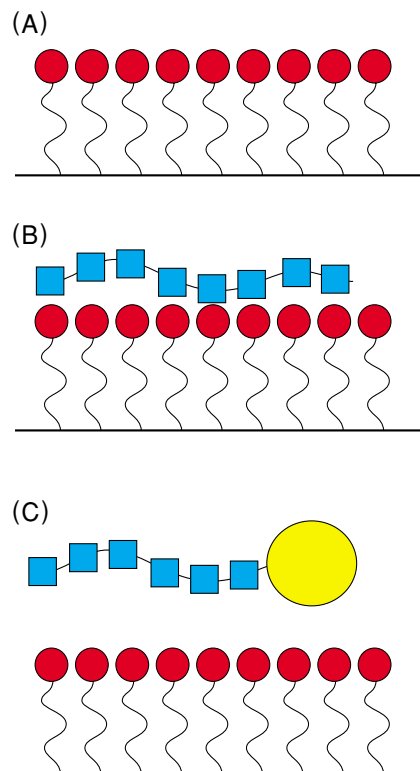


図1(左) 金基板への酵素固定化

図2(上) ブドウ糖の校正曲線
酵素のみを用いた電極を利用した場合(●)、および、ポリグルタミン酸が結合した酵素を用いた電極を利用した場合(■)。



やぶき そういち
矢吹聡一
s.yabuki@aist.go.jp
生物遺伝子資源研究部門