

酵素耐熱性向上を可能とするメソポーラスジルコニアへの固定化と 粒子間細孔構造がもたらす触媒担体としての可能性

(愛知工業大学¹・九州大学²・産業技術総合研究所³)

○増田雄一^{1,3}、釘宮禎一¹、林灯²、加藤且也^{1,3}

【諸言】

我々は酵素のさらなる工業化に向けた固定化担体の研究開発を行ってきた。今日では、熱帯・亜熱帯など高温地域へ日本から酵素製剤を輸出するというニーズが増大しており、酵素の熱安定性を高める固定化担体の高機能化が、強く望まれている。しかし、従来のメソポーラスシリカ(MPS)やメソポーラスアルミナでは、高い熱安定性は得られなかった。そこで、我々は低熱伝導性を有するジルコニアに着目した。本研究では、酵素のサイズに最適化されたメソポーラスジルコニア(MPZ)上に熱に対して不安定なホルムアルデヒドデヒドロゲナーゼ(FDH)を固定化し、その触媒特性と安定性向上の効果について明らかとした。

また、上記の研究結果から、MPZに固定化された酵素は高い活性効率を示すことが確認された。我々はその原因を細孔構造によるものだと考えた。本発表では従来のシリンダー状細孔構造を有するMPSと粒子間細孔構造を有するMPS(IPMPS)を作製後、比活性を比較した結果も報告する。

【実験方法】

MPZの作製方法はゾル・ゲル法を用いて作製した。初めに Pluronic P123 1 g, 蒸留水 26 mL, 0.011 mol アンモニア水を加え、室温下で 2 時間攪拌した。その溶液に 0.03 mol ジルコニウムプロポキシド, 0.017 mol アセチルアセトン, 0.17 mol エタノールをあらかじめ混合した溶液を添加し、室温下で 3 時間攪拌した。その後、90 °Cで 48 時間攪拌し、ろ過後 500 °Cで焼結することにより作製した。固定化方法は MPZ 3 mg, 50 mM リン酸緩衝液 (pH=7.0) 700 μL, そして FDH(0.3 mg/100 μL) 100 μLを混合し、4 °Cで一晩攪拌することで酵素-MPZ ハイブリット触媒を調製した。調製した触媒にホルムアルデヒド(20 μL/25 mL)溶液 800 μL, NAD(4 mg/1 mL)溶液 100 μL 及びリン酸緩衝液 100 μL を加え、室温下で 10 分間反応させた。その後、UV-vis 分光光度計 (340 nm) により、生成物である NADH の定量を測定することで酵素の活性評価を行った。

【結果と考察】

MPS 及び MPZ に固定化された FDH を 40 °C下で 50 分間静置後、酵素活性を測定した(Fig.1)。その結果、それぞれ 33.3 %, 71.2 %であることから、MPZ 固定化酵素は、耐熱性が向上したことが確認された。また、MPS 及び IPMPS に固定化された FDH を上記の実験方法を用いて、比活性を測定した(Fig.2)。その結果、IPMPS は少量の吸着にも関わらず、高い比活性を示すことが確認できた。

今日の触媒業界において、低コスト化と高機能化は非常に課題とされている中、少量の触媒で高い活性が得られる IPMPS はその問題点を打開できる材料であると示唆された。

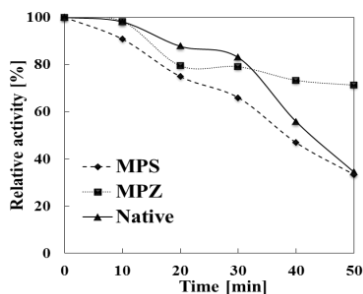


Fig.1 Thermal stability of the native and FDHs immobilized on MPS and MPZ at 40 °C.

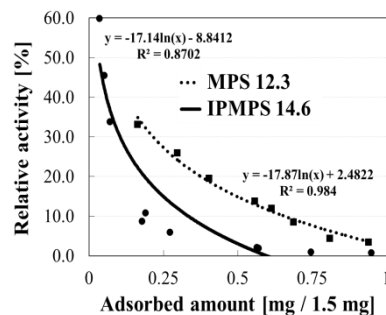


Fig.2 Comparison of the enzyme activity by the pore structure