

1. はじめに

近年，地球環境に優しい環境技術構築の一環として酵素利用技術が着目されている。酵素は常温での反応性や反応特異性が優れており理想的な触媒であるが，元々生物体内で働く様に設計されているため，環境技術に使用するためにはその反応場に応じた有機溶媒中での反応性や耐熱性向上などの高機能化が必要である。一方，酵素分子は2-20nm程度のサイズを有するものが多くこれはメソ多孔体の細孔径とほぼ一致する。そこで当所で開発したメソ多孔体であるFSM-16 (Folded Sheet Mesoporous Material) に酵素を固定化することにより高機能化することを試みた。

2. 方法

FSM-16は膨張剤を用いて各種細孔径をもつものを合成した。酵素は西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) の水溶液を用いてFSM-16と4°Cで混和し固定化した。有機溶媒中での反応性はトルエン中でのジアミノベンゼンの酸化活性を測定し，熱安定性は酵素水溶液を70°Cで加熱処理後に残存するフェノールの重合反応活性でモニターした。

3. 結果

Fig. 1に各種細孔径を有するFSM-16および他の多孔体で固定化したHRPの有機溶媒中での活性測定を行った結果を示す。酵素そのままではすぐに活性が低下し

てしまうのに対して固定化したHRPは高い酵素活性を示し，特に酵素のサイズ (Fig. 2-a) よりわずかに大きい約5nmの細孔径を有するFSM-16 (Fig. 2-c) に固定化した場合に最大の活性を示し，シリカゲルなどの従来の固定化法で固定化した場合より大幅に高い反応性を示した。熱安定性試験においても同様に酵素分子の直径よりわずかに大きい細孔径を有するFSM-16に固定化した場合に最も優れた安定性を示した。さらに陽イオン性の界面活性剤を鋳型として合成したFSM-16やMCM-41に酵素はよく吸着されるが，非イオン性の界面活性剤を鋳型としたSBA-15ではこの1/10以下しか吸着されないことが明らかになった。

酵素より少し大きいFSM-16に固定化した場合にはそのシラノール基と酵素のアミノ酸残基との非共有結合により強固に酵素が固定化されるために優れた安定性を示すものと考えられる。またFSM-16の細孔径が約3nmで酵素の分子サイズに比して小さすぎる場合 (Fig. 2-b) や約9nmで大きすぎる場合 (Fig. 2-d) にも固定が不十分で外部環境の変化に影響されやすいと考えられる。

4. まとめ

酵素をその分子サイズに合致した細孔径を有するFSM-16に固定化することにより有機溶媒中での反応性や熱安定性が大幅に向上した。この技術と進化分子工学の技術¹⁾を組み合わせることによりパルプのバイオ漂白や難分解性物質の分解などの21世紀に向けた新規なグリーンケミストリー手法を世の中に提案できるものとする。

参考文献

- 1) Miyazaki, C. et al. : Protein Engng., 12-5(1999), 407
(2000年5月24日原稿受付)

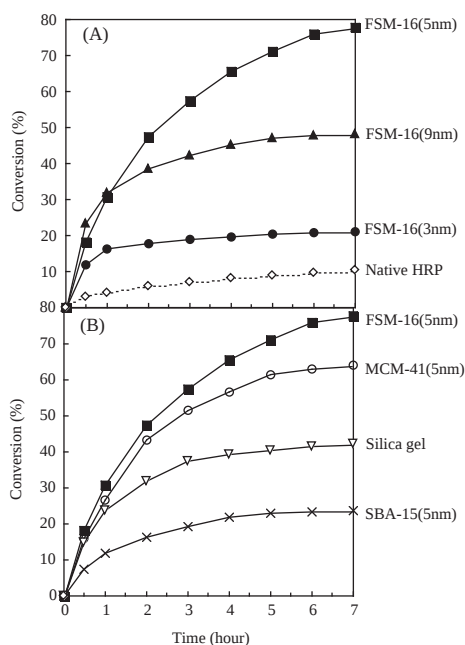


Fig. 1 Catalytic activity of HRP immobilized in FSM-16 with various pore sizes(A), and that of HRP immobilized in various porous silica materials with the same pore size(B).

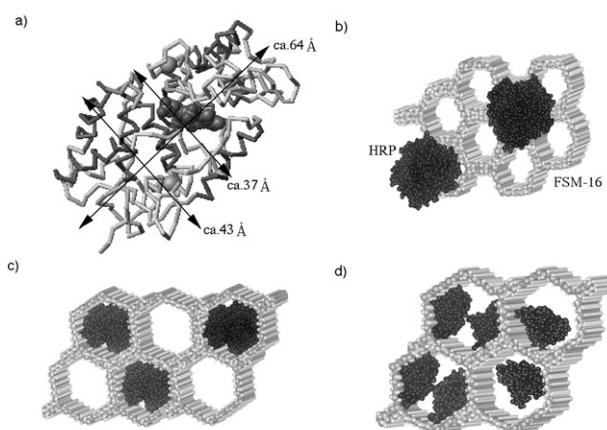


Fig. 2 Structural model of HRP molecule (a) and image models of immobilized HRP in FSM-16 with various pore sizes (b-d) using a computer schematic model.