

## D107

## イオン液体を素材とした固定化酵素の調製とその触媒特性

(九大院工)○(学)井野圭志朗・(正)神谷典穂・(正)後藤雅宏・(九大院工) M. Moniruzzaman

## 【緒言】

近年、バイオプロセスにおける有機溶媒の代替溶媒としてイオン液体(IL)が注目されている。ILは、イオンのみからなる熔融塩であり、常温付近で液体として存在する。その最大の特徴は、物性のチューニングが可能であるという点である。イオンの組み合わせにより、疎水性ILを調製することが可能であり、微量の水分を加えることでIL中に分子集合体の形成が可能となる。また、ILに重合性の官能基を導入することで、ポリマー化することも可能となる<sup>1</sup>。

一般に、酵素をILに直接溶解することはできないため、IL中では十分な活性を得ることはできない。しかし、water-in-IL(w/IL)マイクロエマルジョンを形成し、そのウォータープール内に酵素を封入することで、この問題を克服し、触媒活性を保つことができる。さらに、ILそのものをポリマー化することで、w/ILマイクロエマルジョン内に封入した酵素を安定に保護することができる。そこで本研究では、重合性ILを素材とした固定化酵素を調製し、その触媒活性について評価を行った。

## 【実験】

## 重合性ILによる酵素固定化ILポリマーゲルの調製

重合開始剤2,2'-Azobis(2,4-dimethylvaleronitrile)を図1に示す重合性ILに溶解させ、界面活性剤Tween20を添加・混合した。この混合溶液に*Candida rugosa*由来リパーゼ水溶液(2mg/ml)を加え、10min 攪拌することでw/ILマイクロエマルジョンを形成した。次に、架橋剤Trimethylolpropane Trimethacrylateを添加し、室温で10min 攪拌することでILの重合を行った。その後、窒素雰囲気下において室温で3h 静置することで酵素固定化ILポリマーゲルを得た。

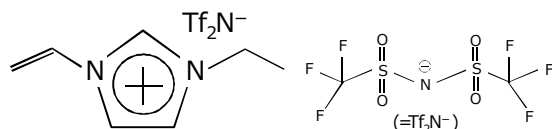


図1 今回検討した重合性ILの構造

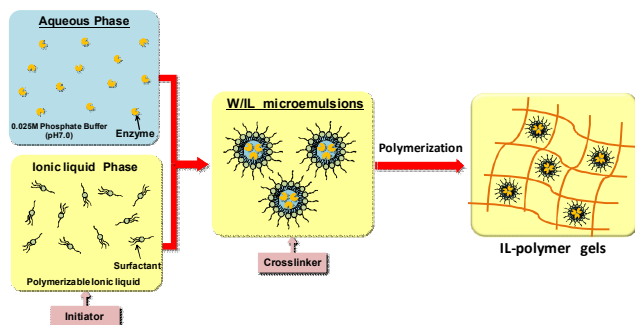


図2 酵素固定化ILポリマーゲルの概念図

## 酵素固定化ILポリマーゲルの触媒活性測定

酵素固定化ILポリマーゲル1mgを0.025Mリン酸緩衝液(pH7.0)990 $\mu$ l中に加え、基質溶液としてp-ニトロフェニル酪酸のイソプロパノール溶液(200mM)10 $\mu$ lを添加した。40 $^{\circ}$ Cで酵素反応を開始し、加水分解反応により生成されるp-ニトロフェノールの吸光度(410nm)を追跡することで触媒特性を評価した。

## 【結果及び考察】

## 酵素固定化ILポリマーゲルの調製

調製した酵素固定化ILポリマーゲルの形態観察写真及びSEM観察写真を図3に示す。酵素を封入したw/ILマイクロエマルジョン形成後、架橋剤を加えることでIL相を重合することに成功した。

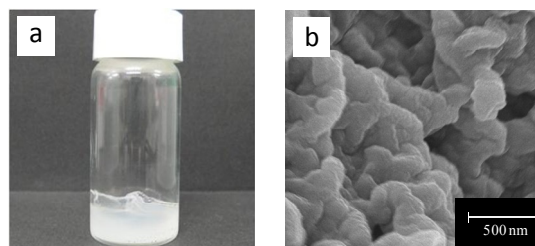


図3 酵素固定化ILポリマーゲル (a)調製後の形態観察写真; (b)SEM観察写真

## 酵素固定化ILポリマーゲルの活性評価

調製した酵素固定化ILポリマーゲルは、酵素非固定化ILポリマーゲルと比較して、高い触媒活性を得られた。このことから、ILポリマーゲル内に酵素が固定化されていることが分かった。また、架橋剤濃度が増加すると酵素活性が増加することが分かった。これは、架橋剤の増加によりポリマー間の網目構造が密になり、調製過程での酵素の漏出が減少したためであると考えられる。

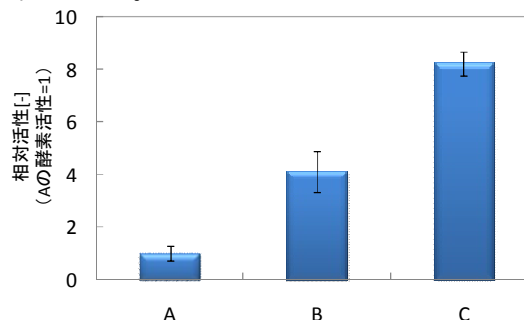


図4 酵素固定化ILポリマーゲルの酵素活性 (A)酵素非固定化ILポリマーゲル; (B)架橋剤 (5wt%); (C)架橋剤 (10wt%)

## 【結言】

重合性イオン液体を素材とした新規固定化酵素の調製に成功した。

## 【参考文献】

1 K.Nakashima *et al*, *Org.Biomol.Chem.*, 7,2353-2358(2009)