

D108

水溶性イオン液体添加による酵素の流動ストレス耐性の向上と

その解析

(崇城大応生命)○(正)林修平*・小西教之・大島香里・木下章裕・(正)山本進二郎・
(関東学院大工総研)(正)古崎新太郎・(崇城大応生命)(正)塩谷捨明

【緒言】

従来の化学反応プロセスに対して生体触媒等を利用することで、反応段階の減少・スケールダウン・エネルギー消費の削減といったことを実現しようとする、グリーンバイオテクノロジーと呼ばれる研究が行われている。その研究の一つとして、反応液としてイオン液体を用いる研究が行われている。イオン液体中で酵素活性が増大したという報告があることから、酵素が流動ストレスに対しても強くなっているのではないかと考え、水溶性イオン液体が酵素の流動ストレス耐性を向上させるか検討を行ってきた。その結果、ラッカーゼに対して流動ストレス耐性を向上させる効果を見出した。本研究では、他の酵素に対しても同様の効果があるのか検討を行うと共に、イオン液体による溶液の粘度変化の影響について実験を行い、イオン液体の添加効果について考察した。

【実験方法】

実験材料は、酵素としてラッカーゼ(大和化成製)とアスコルビン酸オキシダーゼ(Sigma社製)を使用した。水溶性イオン液体は9種類使用した。ラッカーゼの酵素活性は、フェノールと4-アミノアンチピリンの反応により合成されるキノンイミンの505 nmの吸光度の増加量を測定することで評価した。アスコルビン酸オキシダーゼの酵素活性は、酵素がアスコルビン酸を酸化することでアスコルビン酸の245 nmにおける吸光度の減少量を測定することで評価した。流動ストレスは、1.5 mL容のエッペンドルフチューブに酵素溶液を500 μ L入れ、攪拌振盪機に固定して25 $^{\circ}$ C、240 rpmで振盪することで与えた。粘度はウベローデ粘度計を用いて測定を行った。

【実験結果】

ラッカーゼの場合、イオン液体を添加しない場合は25 $^{\circ}$ C、240 rpmで30分振盪することで酵素活性をほとんど失う(Fig. 1)。一方、イオン液体として1-butyl-3-methylimidazolium trifluoromethanesulfonate ([BMIM][Tf]) や 1-ethyl-3-methylimidazolium trifluoromethanesulfonate ([EMIM][Tf])を10%(v/v)添加した場合、酵素活性を失うどころか、むしろ高くなっていることがわかった(Fig. 1)。

アスコルビン酸オキシダーゼの場合、イオン液体を添加しない場合は25 $^{\circ}$ C、240 rpmで60分振盪することで酵素活性をほとんど失う(Fig. 2)。一方、イオン液体として1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ([BMIM][BF₄])を0.1%(v/v)添加した場合、酵素活性を

失わないことがわかった(Fig. 2)。

ラッカーゼに対して効果のあった[BMIM][Tf]や[EMIM][Tf]を含む溶液の粘度を測定し、それらと同様な粘度を示すグリセリン溶液を作成し、流動ストレスを与えたところ、イオン液体の効果が粘度によるものだけではないことがわかった。

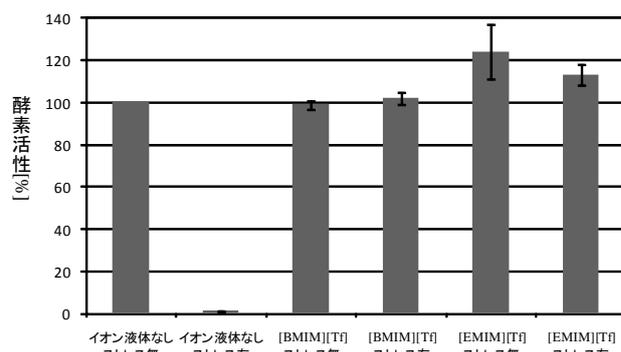


Fig. 1 イオン液体添加によるラッカーゼの流動ストレス耐性の変化
イオン液体無添加・流動ストレス無の酵素活性を100%としている。

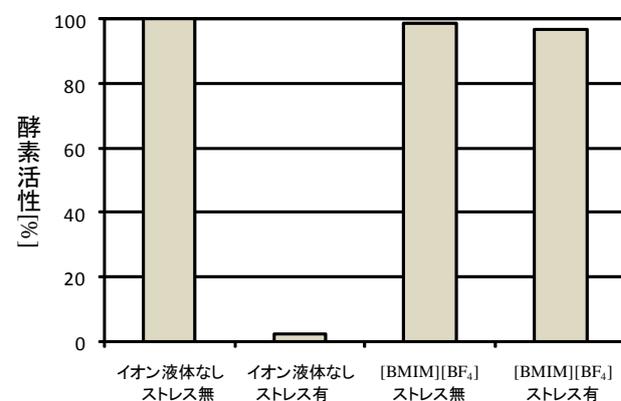


Fig. 2 イオン液体添加によるアスコルビン酸オキシダーゼの流動ストレス耐性の変化
イオン液体無添加・流動ストレス無の酵素活性を100%としている。

【結言】

それぞれの酵素にとって、流動ストレス耐性を示す最適なイオン液体とその割合を示すことができた。これらの結果から、イオン液体の陽イオンとして[BMIM]が効果を発揮していると考えられる。また、この効果が溶液の粘度変化によるものだけではないことがわかり、イオン液体の化学的な影響が大きいと考えられる。

※TEL: 096-326-4176, FAX: 096-323-1331

E-mail: shayashi@life.sojo-u.ac.jp