

28PE-pm002

酵素固定化法による生体物質の活性評価

○秋本 真友子¹, 関 俊哲¹, 豊岡 利正¹, 稲垣 真輔¹, 福島 健¹, 加藤 大²(¹静岡
県大薬, ²東大院工)

【目的】生体内で酵素は極めて選択的かつ効率的に反応するが、一般的な化学触媒と比較して高価であり、不活性化しやすい。しかしながら、このような酵素を固定化できれば、安定性が向上し、繰り返し利用が可能となり、体外の薬物代謝のスクリーニングにおいて理想的な触媒となりうる。これまでに本研究室では、酵素固定化法として高含水である安価なシリカを用いた Single ゲル、シリカとアクリルアミド(AAm)を用いたダブルネットワークゲル(DN ゲル)の開発を行ってきた。しかし、酵素の活性は十分満足できるものではなかった。そこで本研究では、高強度を持つ DN ゲルの組成を検討し、シトクロム P450、trypsin などの酵素を用いてこれらの固定化法が酵素活性に及ぼす影響を調べた。また、機能的磁気微粒子への酵素固定化を行い酵素活性の比較を行った。

【方法】Single ゲルは、ケイ酸ナトリウムとコロイダルシリカを混合し塩酸で中和したシリカゲル溶液に酵素溶液を添加することにより調製し、DN ゲルは、AAm、N,N-methylene-bis(acrylamide)、ammonium peroxodisulfate により調製した AAm 溶液とシリカゲル溶液を混合し酵素溶液を添加することにより調製した。また、機能的磁気微粒子の酵素固定化は、アミノ基を持つ磁気微粒子に Glutaraldehyde を架橋して酵素を結合させることにより行った。

【結果および考察】Single ゲルでは数種類の酵素が固定され酵素活性が確認できた。DN ゲルでは AAm や酸化剤である ammonium peroxodisulfate により多くの酵素活性が阻害されることが明らかになったが、trypsin においてはゲルの再利用度や酵素活性の再現性を向上させることができた。また、機能的磁気微粒子においても数種類の酵素が固定され酵素活性が確認できた。