

バイオエレクトロカタリシスの基礎と応用の新展開



筑波大学数理物質系 辻村清也

はじめに

生体内でのエネルギー変換や物質代謝等において重要な役割を担っている酸化還元酵素の触媒機能（あるいはそれを含む微生物の代謝機能）と電極反応を共役させる“バイオエレクトロカタリシス”（図1）を基盤とする新バイオデバイスの創出が、環境、エネルギー、情報通信、ヘルスケアなどの分野で注目を集める。しかし、バイオエレクトロカタリシス反応を高度に制御する手法は確立されておらず、その産業利用も未だ限定的である。筆者は、バイオエレクトロカタリシス系の合理的設計指針を明らかにし、それに基づく電極製法および材料を開発してきた。すなわち、電極触媒としての酸化還元酵素の基本特性評価、酵素の修飾方法、メディエータ分子および多孔質炭素電極の開発に取り組んできた。また、本講演ではこうした基礎研究をベースにしたエネルギー変換デバイス（バイオ燃料電池）、センサ、物質変換デバイスの開発について紹介する。

1. 酸化還元酵素の特性評価

酸化還元酵素の酸化還元電位は、電極触媒性能を特徴づける重要な因子である。しかし、電極反応によるその直接的な測定は一般に困難である。そこで電解による溶液電位制御法をもとにした酵素の酸化還元電位測定法を開発した。これにより、ピリルビンオキシダーゼやフルクトースデヒドロゲナーゼなど銅や鉄をレドックス部位に持つ酸化還元酵素の電位を評価した。酵素の構造と機能の関係、生体内での役割などの理解が進んだ。

2. 酵素-電極間直接電子移動に関する研究

酵素と電極間の直接電子移動（図1左）に基づく電気化学応答（電位と電流の関係）に関する理論式を導いた。糖などの酸化を行う酵素（フルクトースデヒドロゲナーゼ、グルコン酸デヒドロゲナーゼ）あるいは酵素の還元反応を行う酵素（ピリルビンオキシダーゼ、ラッカーゼなど）の直接電子移動反応応答を速度論および熱力学的観点から定量的に評価することが可能となった。このことにより、新たに開発された酵素や変異酵素の触媒機能や酸化還元電位を定量的に比較することが可能となった。さらに、推定される電極界面での酵素-電極間界面電子移動メカニズム（分子と表面との相互作用、配向制御など）をもとに、電極表面に様々な修飾を施すことで電極での酵素反応を制御し、その触媒効率を向上させることに成功した。

3. 電子伝達メディエータを利用した酵素機能電極に関する研究

酵素電極反応のうち、電子伝達メディエータを用いた電子移動系（図1右）における酵素とメディエータ間の反応速度に、酸化還元酵素反応の駆動力（=酸化還元酵素と電子伝達メディエータとの酸化還元電位差）のみならず、電子移動距離に関わる分子間相互作用や立体障害などが影響することを明らかにした。後述のセンサや電池など様々なデバイスに適した電子伝達メディエータの選択指針を与えた。また、用途に応じて、酵素特性を考慮した新規レドックスメディエータを設計し、合成した。

酸化還元メディエータを酵素とともに酵素の反応性を損なうことなく電極表面に固定化することができれば、デバイスの連続使用など用途が広がる。そこで様々な用途への応用を考慮し、電極表面上へ共有結合によるメディエータの修飾、ポリマー結合型メディエータを用いた交互積層系や超薄膜系など修飾方法および評価法を開発した。酵素修飾電極の応答電流に影響を及ぼす諸因子、例えば、酵素修飾膜の厚みなどを理論と実験の両面から検討し、応答電流の定量的な解析を目指した。

4. ナノマテリアル・多孔質炭素電極における酵素電極反応の高度化・高機能化：酵素電極反応の基本原理解に基づいた材料開発

酵素の本来持っている力を十分に発揮できるかどうかは反応場の設計にかかっている。高い導電性と安定性を有する炭素材料に注目し、電極性能向上にむけたマクロ-メソ-ミクロの3次元的な階層構造制御を検討した。マクロ孔は、反応物（生成物）および電解質イオンの物質輸送、および炭素材料中の酵素の分布・担持量に関わってくる。例えば、炭素粒子を導電性基板上へ電析することによりマクロスケールの構造制御に成功した。メソ孔構造は酵素の担持量、担持された酵素の安定性および酵素の電気化学活性に影響する。各種酵素、修飾方法および反応に適した細孔構造が制御されたテラーメイド型多孔性炭素（カーボンゲル（図2左）、酸化マグネシウム鑄型炭素（図2右））を開発した。酵素と電極間の界面電子移動速度の向上のためにはナノレベルでの炭素表面修飾が有効である。こうしたデザインされた微小空間に酵素を担持することで、電極触媒効

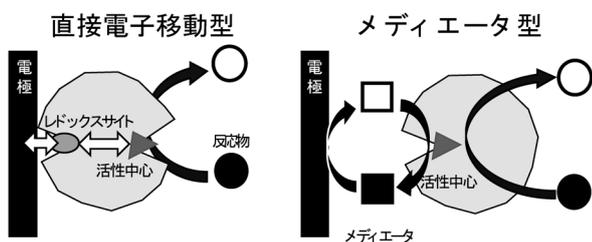


図1. 酵素型バイオエレクトロカタリシス反応

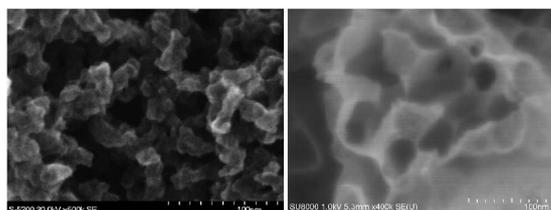


図2. 細孔サイズが制御された多孔質炭素材料（左 カーボンゲル、右 MgO鑄型炭素）

率の向上と安定性の安定性を実現した。例えば、グルコースデヒドロゲナーゼと酸化還元ポリマーを架橋したハイドロゲルを数十ナノメートルスケールの細孔内に修飾することで、25°Cで100 mA cm⁻²という非常に大きなグルコース酸化電流を得ることに成功した。基礎研究をもとに目的に応じた性能を発揮する電極系のデザインが可能になってきたが、その制御技術のさらなる向上・機構の学理解明は今後の課題である。

また、連結酵素系に向けた基礎研究を行い、それを担持するために、ミセルやリポソームなどのソフトナノ材料を酵素保持担体および反応場とする新規酵素電極反応系(特に多段階酵素反応を組み合わせた人工細胞型反応系)を検討した。

5. 微生物代謝の電気化学的制御とデバイスへの応用：生きた細胞の電子移動パスおよび酸化還元状態の制御

微生物菌体内代謝反応と電極間の電子移動反応における電子伝達物質(メディエータ)の果たす役割に注目し、電気化学反応と共役した菌体内レドックス制御技術の検討した。この原理に基づき、微生物の増殖促進(抑制)や代謝産物を電気化学的に制御する方法を考案した。目的に応じて適切な人工メディエータを選択することで、菌体内の特定の酵素反応や代謝反応系を電極反応と結びつけることができ、水素や有機酸を燃料として発電する微生物電池、ラン藻を用いた光合成をもとにした太陽電池、微生物センサ等への応用に結び付けた。一方で、微生物が菌体外に放出するフラビンやキノンなどの天然の酸化還元分子を利用することで環境に優しい(=人工化合物を外部から添加しない)持続可能な微生物電気化学デバイスを考案した。この概念は人工のメディエータを外部から添加する従来の系からの転換を促し、すでに廃水処理を目的とした微生物燃料電池分野では広く受け入れられ、研究開発の飛躍的な進展に結びついている。

6. 酵素をベースとしたバイオセンサの高性能化に関する研究

酵素を電極触媒とする自己診断用血糖センサにはこれまでグルコースオキシダーゼが用いられてきた。しかし、メディエータと酸素の競合反応はしばしば測定誤差を引き起こす。そこで、血糖センサに適した新規フラビンアデニンジスクレオチド型のグルコースデヒドロゲナーゼの開発に携わり、高い精度での計測を可能とする新型血糖センサの実用化に貢献した。この新しく発見された酵素の特性をいかした検量線が必要としない高精度高性能センサシステムを考案した。

7. 環境にやさしいエネルギー変換デバイスの創生：酵素バイオ燃料電池、微生物燃料電池の基礎研究と応用展開

酵素を電極触媒に利用したバイオ燃料電池(図3左)において、電池の製作、作動原理確認、酵素反応速度論および電気化学的見地からみた電池の出力決定因子の解析などの研究基盤を確立した。また、世界初のマルチ銅酸化酵素を用いた中性付近での白金をはるかに上回る高効率電気化学的酸素還元を実現したことが、本研究の進展に拍車をかけた。正極と負極に高性能生体触媒電極を用いた中性で作動するグルコースや水素を燃料

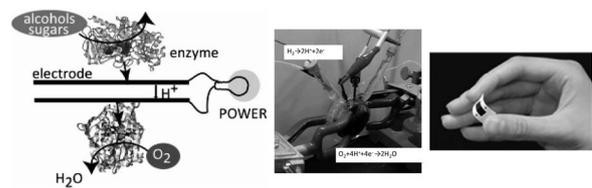


図3. バイオ燃料電池
(左から、電池のしくみ、水素-酸素電池、印刷型グルコース-酸素電池)

とするバイオ燃料電池(図3中)を発表した。先述の電極設計を適切に行うことで、反応物となる酸素の供給が電池性能を決めるまでに性能が向上した。この問題に対して、電極構造内の疎水性を制御したガス拡散型酵素電極を開発することで、電池性能を飛躍的に向上させた。現在、印刷技術を応用したウェアラブル型電池(図3右)や生体内での作動を可能とするインプラント型電池の開発を進めている。

おわりに

合理的なバイオエレクトロニクス系構築、すなわち、酵素の特性を理解した上での、生物電気化学的な理論に基づいた反応系の設計と材料開発は、飛躍的な酵素電極の活性を高めることが可能になった。それはセンサの感度や精度向上や酵素電池の出力向上につながり、エレクトロニクスなどの技術との機能的融合はイノベーションに結びつくことが期待される。一方で、一連のバイオエレクトロカタリシス反応の研究を通して、生体触媒を生体環境と異なる反応場に導入することで、特にナノ空間における酵素、あるいは高塩濃度溶液中においては生体とは異なった特性を示すことが分かってきた。こうした生体とかけ離れた新奇反応場のデザインは、酵素の活性あるいは安定性の飛躍的な向上、あるいは潜在的な能力を引き出すことができるなど、無限の可能性を秘めている。今後は、そうした反応環境因子の特異的な作用の学理を解明し、酵素機能の解明、酵素をモデルとした無機触媒の開発に新しい方法論を提供しつつ、酵素のさらなる可能性を追求していきたい。

謝辞 本研究は、京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻生体機能化学研究室、および筑波大学数理物質科学研究科物性・分子工学専攻生物電気化学研究室で行われたものです。本研究の機会を与えていただき、ご指導、ご支援を賜りました京都大学・池田篤治名誉教授、加納健司教授に心より御礼申し上げます。また、様々な面から御支援いただきました研究室の諸先輩方、卒業生、在学生、大学および企業の共同研究者の方々に深く感謝いたします。また、現所属への着任以降、ご支援いただいている東京理科大学・四反田功先生、筑波大学・小林達彦先生に感謝申し上げます。最後に、本奨励賞にご推薦いただきました京都大学・白井理准教授に厚く御礼申し上げます。