

目的別テーマ：生体材料を用いたバイオミメティック材料の開発

15年度研究テーマ

15-3-14: テーマ名 カーボンナノファイバーへのヘムタンパク質の固定化による新規バイオセンサーの作製

ABSTRACT

Cytochrome P450 (CYP) is a heme-protein and plays important biochemical roles, such as drug metabolism, steroid hormone biosynthesis, and so on. Therefore, CYP is very useful for sensing and reacting to important materials as related to the physiological function, but it is difficult to apply as such as a biosensor, because it is unstable against temperature. While carbon nanofibers (CNF) are molecular wires that exhibit interesting structural, mechanical, electrical and electrochemical properties. The purpose of the present study is that the CNF are to use a matrix for immobilizing heme-protein for aiming at new biosensor. The CNF was immobilized on glassy carbon electrode (GCE), and the GCE/CNT showed a good electron transfer to heme-protein, cytochrome C (Cyt.C). When carboxyl groups were introduced in the CNF surface, the electron transfer between GCE and Cyt.C were enhanced.

研究目的

シトクロム P450 (CYP) は、ヘムタンパク質の中でもステロイドの生合成や解毒に関与している生理的に重要な酵素である。しかし、安定性に乏しい点がセンサー等のバイオマテリアルとしての活用への障壁となっている。一方、カーボンナノファイバー (CNF) は優れた導電性を有するため、バイオセンシングデバイスのマトリクスとしての活用が期待されている。そこで、本研究では、CYP をはじめとするヘムタンパク質の固定化担体として CNF を活用することを試みた。

一年間の研究内容と成果

CNF は、直径 50~200 Å と 500 Å の 2 種類を使用した。また、既報に従って CNT を硫酸：硝酸=3：1 で酸処理することで、CNF にはカルボキシル基を導入した。FAD 溶液の電極応答は、グラッシーカーボン電極 (GCE) に CNF を固定化することで著しく向上した (図 1)。また、固定化する CNF 濃度を変えると、濃度の増加に伴って FAD 溶液の電極応答は増大した。FAD の代わりに Cyt.C 溶液を用いた結果、CNF の固定化でわずかに電極応答が増大した (図 2)。これに対して、酸処理した CNT を固定化すると、Cyt.C 溶液の電極応答は著しく増大した。しかし、酸処理した CNF では、FAD 溶液は反応しなくなった。これらの結果は FAD、Cyt.C とともに CNF の存在により物理的に電極応答する面積が増大したために電極応答が増大したものと考えられる。しかも、カルボキシル基の導入により Cyt.C は静電吸着しやすくなったものと思われる。次に、直径の異なる CNF を用いて FAD 及び Cyt.C 溶液を測定した結果、FAD では顕著な差異がなかったのに対し、Cyt.C では、50~200 Å の CNF の方が良い電極応答を示した。これは、Cyt.C の分子サイズが関与している可能性を示しており、CNF の固定化マトリクスとしての有用性が示唆された。

展望

これまでの研究で、CNF がヘムタンパク質の電極応答を促進できることが見いだされた。しかも、CNF にカルボキシル基を導入することで、さらに向上させることが示された。今後、この導入した官能基を用いて、共有結合で CYP や Cyt.C を CNF に固定化することで、新規なバイオセンサーの開発へと発展させたい。また、CNF の口径の違いによるヘムタンパク質の電極応答の差異は非常に興味深く、具体的にどのようにヘムタンパク質が CNF に吸着されているのかを明らかにしていく予定である。

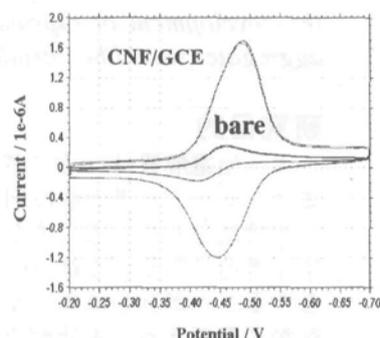


図1 CNF 固定化による FAD 溶液の電極活性の向上

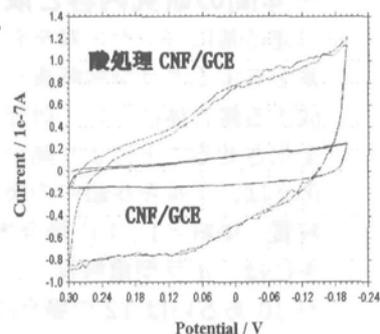


図2 酸処理 CNF/GCE による Cyt.C 溶液の電極活性の向上