

## 高効率発電酵素電池を目指した酵素電極の開発

研究代表者： 里村 武範（工学部・准教授）

共同研究者： 末 信一郎（工学部・教授）

概 要	本申請では次世代エネルギー生産システムとして期待されている酵素電池を構成する新規酵素アノード電極を開発することを目的とする。 特に、酵素電池用電極の現在における課題となっている短寿命、低電子抽出効率という二つの要素を克服するため、我々が見出した高い安定性を有する好熱菌 <i>Aeropyrum pernix</i> 由来色素依存性 L-プロリン脱水素酵素を用いて電極への酵素の配向固定化方法を検討し高効率な酵素電池用アノード電極を開発することを目的として研究を進めた。本酵素の電極への配向固定を行うために色素依存性 L-プロリン脱水素酵素内にシステインを導入することによって本酵素にチオール基を導入した。その結果、本酵素1分子当たり1つのチオール基の導入に成功した。現在、本酵素と電極の配向固定化条件の検討を進めている。
関連キーワード	超好熱菌、色素依存性 L-プロリン脱水素酵素、 <i>Aeropyrum pernix</i> 、酵素電池

### 研究の背景および目的

酵素電池とは、酸化還元酵素を用いてアミノ酸、糖などの有機化合物が持つ化学エネルギーを電気エネルギーに変換する発電デバイスである。現在、一般的に利用されている電池は水銀、鉛、カドニウムなど有害な化学物質を多く含有しているため廃棄物処理が社会問題となっている。一方、酵素電池は、構成成分、エネルギー源のほとんどが生物由来であることから低環境負荷型次世代エネルギーシステムとして期待されている。しかしながら、これまでに研究開発が行われている酵素電池に利用されている酵素は電池として利用する常温域において変性失活しやすいため電池としての寿命が非常に短いことが解決すべき課題である。しかも、酵素電池は、従来利用されている電池に比べて発電効率が悪いことも酵素電池実用化の課題となっている。現在までに我々の研究グループでは、高い安定性を有する超好熱菌由来酸化還元

酵素を酵素電池用電極素子として用いることによって、これまでの酵素電池開発の課題であった短寿命を克服した長期間安定的に作動可能な酵素電極の開発に成功している。そこで、本申請では、酵素電池の実用化におけるもう一つの課題である発電効率を向上させることを目的として、酵素の電池電極上での配向固定化法の検討を行うこととした。酵素電池の発電効率は電極基板上の酵素の配向性が大きく影響することが明らかになっている。そこで、本研究では、我々が見出した超好熱菌 *Aeropyrum pernix* 由来色素依存性 L-プロリン脱水素酵素 (ApeLPDH) を用いて、高効率なバイオ電池用アノード電極を開発するために、本酵素の電極への効率的な配向固定化本能検討を行った。

### 研究の内容および成果

ApeLPDH の電極への配向固定を行うために、  
1) ApeLPDH をコードする遺伝子に変異を導入し、酵素内のアミノ酸をシステイン (Cys) に置換することによるチオール基の導入、2) 導入した酵素内チオール基と、チオール基との架橋反応を行うことが可能な二価性試薬である N-(6-Maleimidocaproyloxy)succinimide (EMCS) と反応させることによる ApeLPDH-EMCS 複合体の作製、3) 金電極にアミノ基を導入した 4-aminothiophenol-Au 電極と ApeLPDH-EMCS

の架橋化を行った (図1)。まず、ApeLPDH 内にシステイン残基を導入する位置の検討を行った。ApeLPDH は既にタンパク質の立体構造が明らかとなっている。ApeLPDH の立体構造を詳細に検討したところ、47番目のセリン(Ser) 残基が、本酵素の電子伝達に重要な役割を果たしていることが判明した。そこで、47番目のセリンをコードするコドン[TCT]を Cys をコードするコドンである [TGT]に変換したオープンリーディングフレームを作成し大腸菌タンパク質発現系の構築を行った。

さらに、本酵素の N 末端に Cys を導入した大腸菌タンパク質発現系の構築も行った。その結果、ApeLPDH47 番目の Ser セリンを Cys に変換した組換えタンパク質 (ApeLPDHS47C)、ApeLPDH の N 末端に Cys を導入した組換えタンパク質 (ApeLPDHNC) の取得に成功した。これらの組換えタンパク質について精製を行ったところ、三段階の精製方法で ApeLPDHS47C については 0.197 units/mg、

ApeLPDHNC については 0.304 units /mg のタンパク質を得ることに成功した。

現在、これら組換えタンパク質と電極への配向固定を行っている。今後、電極上に配向固定を行った ApeLPDHS47C と ApeLPDHNC との電流応答の比較を行うことで高効率なアノード電極の作製を行っていく予定である。

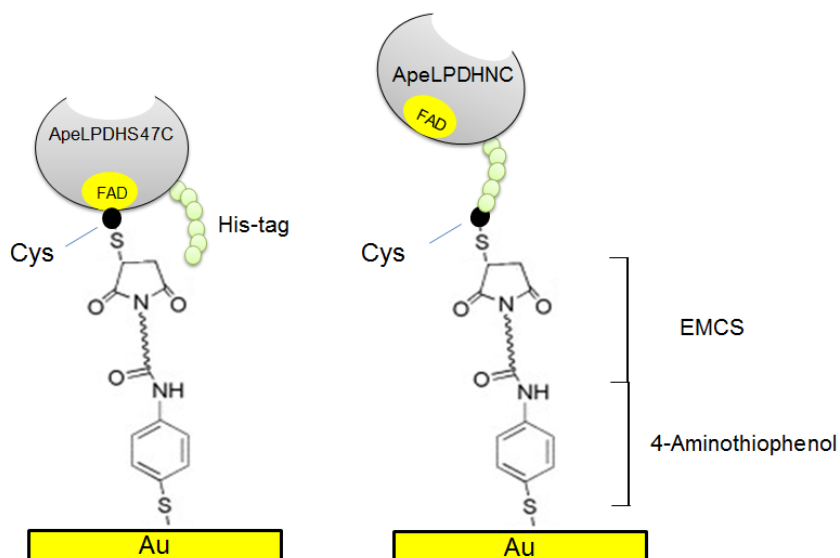


図1 ApeLPDHS47C と ApeLPDHNC の金電極への配向固定

### 本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

#### 「主な発表論文等」

「タンパク質バイオマスを原料とした酵素燃料電池用素子の開発」里村武範、坂元博昭、櫻庭春彦、大島敏久、末信一郎  
日本農芸化学会 2014 年度大会 明治大学 平成 26 年度 3 月 28 日

#### 「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

公益財団法人 日揮・実吉奨学会、研究助成金、1 年間、代表、採択