アミノ基で表面修飾されたシリカナノ粒子集合体のメソ空間への酵素の固定化

（阪市大院工[1]・阪市大人工光合成セ[2]）○大島 滉主[1]・田部 博康[1,2]・山田 裕介[1,2]
Immobilization of Various Enzymes in Mesospaces of Silica Nanoparticles Assembly Modified with Amino Groups ([1]*Graduate School of Engineering and* [2]*Research Center for Artificial Photosynthesis, Osaka City University)* ○ Hiroyuki Oshima,[1] Hiroyasu Tabe,[1,2] Yusuke Yamada[1, 2]

Enzymes are often immobilized on a support to be used as heterogeneous catalysts for repetitive use. Positively charged enzymes can be easily immobilized on an assembly of silica nanoparticles assembly (SiO_2NPA) by evaporating a solution containing enzymes and colloidal silica nanoparticles, because the silica surfaces are negatively charged under neutral pH conditions. However, negatively charged enzymes are hardly immobilized on SiO_2NPA due to the electrostatic repulsion. Such negatively charged enzymes can be stably supported on SiO_2NPA modified with 3-aminopropyltriethoxysilane possessing positively charged surfaces (SiO_2NPA-NH_2). We report herein stable immobilization of acid phosphatase that is a negatively charged enzyme in SiO_2NPA-NH_2 during the hydrolysis of *p*-nitrophenylphosphate at pH 6.0.
Keywords: Surface Modification; Bottom-up; Electrostatic Interaction; Mesopore

常温常圧で高い活性と選択性を有する酵素の工業利用が進められている。これらの酵素を反応後に回収、再利用するには、酵素を担体に固定化し不均一系触媒として利用する必要がある。担体としてよく用いられる多孔性シリカは、広い pH 範囲で負の表面電荷を持つため、表面が負に帯電した酵素を安定に担持することは難しい。そこで、シリカ表面を 3-アミノプロピルトリエトキシシラン（APTES）で修飾し（SiO_2NPA-NH_2）、表面電荷が負の酵素の固定化を試みた。至適 pH 付近（pH 5–6）で負の表面電荷を有する酸性ホスファターゼ（AcP, p*I*: 4.5–5.0）を SiO_2NPA-NH_2 に固定化し（AcP/SiO_2NPA-NH_2）、pH 6.0 の緩衝溶液中での *p*-ニトロフェニルリン酸（*p*-NPP）加水分解を行った。反応開始から 0.5 時間後に遠心分離により触媒を除去したところ、反応が停止した（Fig. 1、●）。このことから、AcP/SiO_2NPA-NH_2 から AcP の溶出はないことが分かった。一方、AcP を APTES による表面修飾を行っていない SiO_2NPA に固定した場合（AcP/SiO_2NPA）は、溶出した AcP による反応が観察された（Fig. 1、■）。

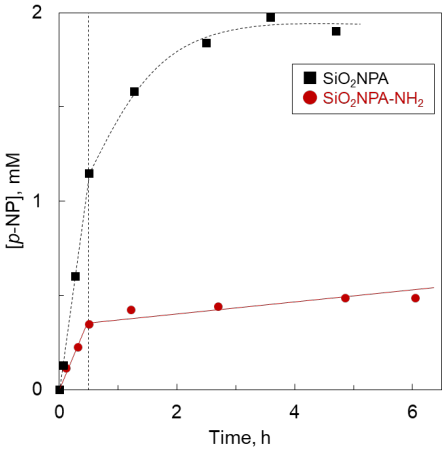

Fig. 1 Time courses of *p*-nitrophenol (*p*-NP) formation by the catalytic hydrolysis of *p*-nitrophenyl phosphate (*p*-NPP, 2.0 mM) in a phthalate buffer solution (0.1 M, 2.0 mL, 35 °C, pH 6.0) containing acid phosphatase (AcP) immobilized in a silica-nanoparticles assembly (AcP/SiO_2NPA, 10.0 mg, [AcP] = 1.9 μM, ■, broken line) and immobilized in a SiO_2NPA modified with 3-aminopropyltriethoxysilane (AcP/SiO_2NPA-NH_2, 10.0 mg, [AcP] = 1.9 μM, ●, solid line). The catalysts were removed from the solutions after the reaction for 0.5 h.