

バイオと電気化学の接点*

加納 健司**

生物と電気化学

電気化学は、1791年に出された L. Galvani の動物電気仮説に端を発すると言われるように、生命と密接な関係がある。また、生命力を電気エネルギーとして取り出す試みはずっと以前から続けられてきた。20世紀初頭には、呼吸や炭酸同化のような生命現象を電流や電圧変化として観測できることも報告されている。しかし、当時の生化学や電極反応の理解は十分ではなく、バイオ燃料電池 (biofuel cell) といえるものまでには至らなかった。生化学反応の詳細がしだいに明らかになるにつれて、代謝、呼吸、光合成、神経伝達、イオンチャンネル等々、多くの生命現象は電気化学現象に密接に関連していることが分子レベルでわかってきた。こうした背景のもと生命現象を電気化学的に利用する試みがさらに加速し、現在も、バイオセンサやバイオ電池等に関する研究は活発に行われている。筆者の所属する研究グループは、生体電子移動反応に着目し、生物の電気化学的利用という応用的側面と、生命現象の電気化学的理解という基礎的側面から研究を行ってきた。本稿ではその一部を紹介する。

バイオセンサ

1967年にいわゆる“酵素電極”（第一世代バイオセンサ）が発表されて以来、バイオセンサへの関心が高まった。1980年代中ごろから、適当な電子伝達メディータを介した酸化還元酵素反応と電極反応との共役系（第二世代バイオセンサ）、すなわちメディータ型酵素触媒電極反応（バイオエレクトロカタリシス反応）に関する研究が池田らにより大きく進展させられた。この酵素機能触

媒電極反応はバイオセンサ、バイオ電池あるいはバイオ電解の基礎概念であり、市販されている使い捨てタイプのグルコースセンサ等にもこの原理が用いられている。最近ではメディータを使わない直接電子移動型酵素触媒電極反応（第三世代バイオセンサ）の研究も開始されている。

ペルオキシダーゼ(POD)が触媒となる H_2O_2 の酵素機能触媒還元反応は、 H_2O_2 の高感度高選択的アンペロメトリックセンサに利用できる。さらに、これを各種の酸化酵素系を組み合わせることにより、多種多様なバイオセンサができる。POD（および酸化酵素）を利用した H_2O_2 の分光光度法は、生化学・臨床・食品分析にも多く使われているが、POD と酸化酵素の交差反応や還元性共存物質による定量妨害の影響を非常に受けやすい本質的欠点がある。これに対して界面反応をうまく利用するバイオセンサではこの問題を解決できる。一例として、この H_2O_2 バイオセンサを用いた茶飲料水中のカテキンの自動酸化反応に関する研究を紹介した。

一方、こうしたアンペロメトリックバイオセンサは、物質移動特性や酵素活性の変動がそのまま信号強度に反映されるてしまう。この欠点を克服するひとつの手法として、酵素反応とクーロメトリーを共役させたバイオクーロメトリーを提言した。これは酵素機能触媒電極反応により目的物質を全電解し、その電気量から絶対微量分析するものである。

バイオ電池

酵素機能触媒電極反応のもうひとつの応用として、バイオ電池が考えられる。生体は、食物の酸

* 第150回京都化学者クラブ例会（2002年12月7日）講演

** 京都大学農学研究科応用生命科学専攻

化反応を利用して ATP を生成し、これを“生体エネルギーの通貨”として利用している。電子の出口は好気性生物では酸素である。このような生体エネルギー代謝を模して、それに関するあるいは類似する酸化還元反応系を電極系に組み込み、ATP 生成ではなく電気エネルギーとして取り出す装置がバイオ電池である。これまで、水素・酸素バイオ燃料電池、グルコース・酸素バイオ電池、NADH・酸素バイオ電池、光呼吸バイオ電池等のプロトタイプの実成を手がけてきた。このようなバイオ電池特性は、ボルタンメトリーの観点からうまく説明できるが、その詳細は省略させていただく。

水素・酸素バイオ燃料電池では、例えばアノードにヒドロゲナーゼを、カソードにピルビン酸オキシダーゼを利用する。つまり、通常の燃料電池の白金触媒を生体触媒に置き換えたものである。このような触媒の機能特性の違いは、そのまま電池機能に反映される。例えばバイオ燃料電池における電子供与体としては、水素のほか、糖類・アルコール類、アミン類・有機酸等、生物が利用するエネルギー源はすべて利用できる。また、カソードでの電子受容体としても、酸素のみならず、硝酸イオンや硫酸イオン等、生物が利用するものは原理上すべて利用できる。一方で、生体触媒は金属触媒に比べて脆弱であり耐久性に欠ける。このためバイオ電池の寿命は生体触媒の耐久性に大きく左右される。また、出力（電流密度と電圧）を決める因子としては、触媒である酵素の反応速度だけでなく、メディエータ自体の酸化還元電位や電極反応速度、および液抵抗が重要になる。この水素・酸素バイオ電池の起電力は 1.17 V と理論値 (1.23 V) に近く、通常の燃料電池以上の性能である。ただし、電流密度は、現状では通常の燃料電池に比べ 2 ケタほど小さい。出力（特に電流密度）を向上するためのひとつの鍵は電極修飾を含めた電極構造であり、その特性評価は、やはりボルタンメトリーの解釈が非常に有用である。

バイオ電解

バイオ電池で用いたバイオ電極素子は、バイオセンサの場合と同様、生体関連物質の電解にも利用できる。ここではこれをバイオ電解ということにする。この方法を用いると、有機合成反応では非常に困難な位置選択的酸化・還元等も可能でありリアクタとして利用できるほか、環境浄化等にも適用できる可能性がある。バイオ電解には、京大理学部の研究グループが開発したカラム電解法が好都合である。一方、2 電極電解を用いる場合には、適当な酸化剤と還元剤の組み合わせで、印加電圧を非常に小さくすることができる。たとえば、水素製造法のひとつに水の電気分解があるが、これには 2.5 V 程度の印加電圧が必要であるのに対し、アルコールのバイオ酸化とプロトンのバイオ還元を組み合わせると、0.4 V 程度にまで軽減して、水素（+有機酸）製を実現できる。この方法をバイオ電池と組み合わせると、有機物から水素への自発的変換装置となる。この反応は全体としては、ある種の微生物が行う反応と酷似している上、今後は環境問題を考える上でも興味ある方法になると考えている。

代謝制御

生物エネルギー代謝を考える上では、還元剤としての食物のみならず、酸化剤としての末端電子受容体も重要である。嫌気性条件下で微生物代謝の中には、酵母やピフィズス菌あるいは乳酸菌のように、代謝中間体であるピルビン酸を末端電子受容体とするものがある。このような系に外部電子受容体への電子リーク経路を組み込むことによりピルビン酸を消費することなく、ATP 生成ができると考えられる。2-Amino-3-carboxy-naphthoquinone (ACNQ)はこの電子移動経路の有効な電子伝達メディエータとなることを明らかにした。実際、ピフィズス菌に ACNQ を加えると増殖促進効果が認められる。同様の増殖促進の効果は

1,4-dihydroxy-naphtoic acid (DHNA)にも認められるので、これを ACNQ 前駆体と考え、DHNA から ACNQ の生成を証明した。こうした単一細胞種の代謝研究過程で、その目的に添った各種バイオセンサを活用することは非常に有効であることを示すことができたが、今後は、生態系全体を視野に入れた酸化還元反応の動的解析が必要になると考え、そうしたアプローチへと発展させていく必要があると考えている。

キノプロテインの電気化学と生化学（生化学への電気化学的アプローチ）

地球上の窒素サイクルの1過程として、微生物による有機体窒素からのアンモニア生成反応（有機物の無機化）がある。以前は、たとえば土壌特性等は、関連窒素化合物の（静的）濃度で評価されていたが、ごく最近の研究では、この無機化過程の動的解析の重要性が指摘されている。こうした観点から、脱窒菌や放線菌のアミン代謝について着目している。その過程で、脱窒菌から新規キノヘモプロテインアミン脱水素酵素を発見し、そ

の活性中心が新規キノコファクター・システムトリプトフィルキノンであることも見出した。本酵素あるいは放線菌のヒスタミン脱水素酵素の構造解析、平衡論的・速度論的解析等を行う過程で、既存の分離分析手法やプロテオーム解析法（AA・DNA シークエンス解析、ESI-MS 等）も汎用してきたが、これらに加えタンパク質の酸化還元電位評価法や分子間電子移動速度解析解析法等、新規なプロテオーム解析法の開発も行ってきた。いずれも厳密な電気化学理論に基づいた手法である。詳細は省かせていただくが、こうした新しい電気化学手法により、これまでの生化学的手法では得られない情報を提供することができると考えている。

現時点では主に生体電子移動に着目しているが、ほかにも、イオン移動反応、あるいは ATP 生成反応と膜電位の関係等々、電気化学に携わるものが正面から向き合うべき課題は多いと思われる。このように、バイオと電気化学の境界領域には大変興味深い問題が山積しており、大変やりがいのある研究領域であると考えている。