

導電性ポリマー修飾電極を検出器とするタンパク質とアミノ酸のFIA

埼玉工業大学工学部 内山 俊一

導電性ポリマーを被覆した化学修飾電極は電子移動過程の研究とともにセンサーを中心とした分析化学的な幅広い応用に用いられている。電極とポリマーの間で電子移動が生じる場合、ポリマーの電気的中性を保つために導電性ポリマーの酸化還元反応に付随して対イオンが膜内に可逆的に拡散し電解電流を律速することを利用した対イオンの測定もその一つである。また、金属キレート配位子や電極触媒及び抗体や酵素などを導電性高分子に組み込むことによって様々な化学種の測定が可能となり、フローインジェクション分析法の検出原理として利用されている。

これらの導電性ポリマー被覆電極を検出器として用いるFIA法の分野で最近の注目される研究の一つとして酸化還元活性を有するタンパク（チトクロームC）の検出に関する研究があげられる¹⁾。これは導電性ポリマー中にヘキサシアノ鉄酸(III)イオンを電子メディエーターとして組み込むことによってチトクロームCの電流検出を可能にしたものであり、Wallaceらのグループによって行われた。チトクロームCはヘキサシアノ鉄酸(III)イオンをメディエーターとして組み込んだポリピロール(PPy)膜電極で明瞭な酸化還元波を示すことが示され、白金板を下地電極としたセンサーによる $100\mu\text{M}$ 以下のチトクロームCのFIA応答が詳しく述べられており、検出限界が $0.1\mu\text{M}$ と求められている。

一方、電気化学的に不活性なタンパクも酸化還元色素を組み込んだ導電性ポリマー被覆電極により達成された²⁾。このセンサーの作製はピロールなどの電解重合用モノマーとメチルオレンジやプリリアントブルーなどの酸化還元色素を溶解した水溶液中で白金電極による電解重合を行う方法で行われた。検出の原理はスルホン酸基を有する色素にタンパクが結合することによって生じる色素の酸化還元反応の量的変化を導電性ポリマーの電流変化として捉えることに基づいている。従って、色素とタンパクの結合定数が選択性を決定する因子であると述べられており、タンパクの側から見ると等電点の違いが選択性や感度に大きく影響すると述べている。

また、同グループによって導電性ポリマー中に塩化物イオンやドデシル硫酸イオンなどの様々な対アニオンを組み込んだポリマー電極を検出器とするフローインジェクション分析法が各種アミノ酸の測定に応用され、用いる電極をサイズによって、マクロ電極（直径3mmの白金線）³⁾とマイクロ電極（直径10ミクロンの白金線）⁴⁾に分けて発表してい

る。センサーの作製は0.05 Mの対イオンを溶解した0.2~0.5 Mピロール溶液の定電流電解(1~2 mA/cm²程度)を行うことにより行われた。この研究で測定されたアミノ酸の種類は非極性(L-アラニン)、極性を有するが無電荷(L-セリン)、酸性(アスパラギン酸)、塩基性(L-アルギニン)の4つのカテゴリーに及んでおり、それぞれの選択性がポリマー中に組み込む対イオンの種類を変えることによって実現できることを明らかにしている。各種アミノ酸の応答パターンが棒グラフによって表されており、それぞれのアミノ酸の感度比較が行われている。そして、マクロ電極では(PPy)/3-スルホ安息香酸ナトリウム(SBA)被覆膜電極でアスパラギン酸に対して最も選択性の高い応答が得られるとしている。マイクロ電極の検量線の直線性は(PPy)/(1S)-(+)-10 Camphorsulfonic acid(CSA)のセンサーでアスパラギン酸とグルタミン酸に対して 7.5×10^{-6} M- 1×10^{-4} M、検出限界は 3×10^{-6} Mであることが示された。典型的なFIA応答をFig. 1に示す。

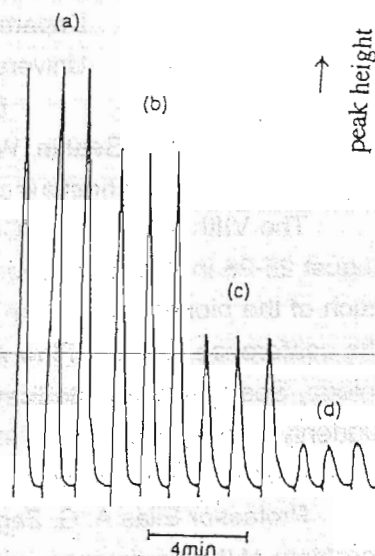


Fig. 1 Typical responses obtained for aspartic acid using Ppy/CSA electrode. Flow rate: 1 ml/min. [Aspartic acid]; (a) 6×10^{-5} M, (b) 4.5×10^{-5} M, (c) 3×10^{-5} M, (d) 1.5×10^{-5} M

以上、通常の電解では直接電解が困難なタンパク質やアミノ酸を電流検出することの可能な導電性ポリマー電極はFIAの検出器として有用性が示されただけでなく、他の電気化学的不活性物質の測定に応用できるものと考えられ、今後の進歩が楽しみな研究として紹介させて頂いた。

- 1) W.Liu, H. Zhao, G.G.Wallace, *Electroanalysis* **8**, 248 (1996)
- 2) W.Liu, G.G.Wallace, *Electroanalysis* **9**, 454 (1997)
- 3) P. Akhtar, C.O. Too, G.G.Wallace, *Anal. Chim. Acta*, **339**, 201 (1997)
- 4) P. Akhtar, C.O. Too, G.G.Wallace, *Anal. Chim. Acta*, **339**, 211 (1997)