

カロリメトリックバイオセンシングとFIA

神奈川工科大学 工学部 応用化学科 佐藤生男

あらゆる酵素反応には、量の多少は別にして熱量変化が伴う。簡易にして、操作性に優れた、高感度熱量計測デバイスがあれば、酵素触媒反応のモニタリングが容易に果たされる。この際、酵素の固定化物と組み合わせれば、例え多成分からなる試料液でも、識別素子としての酵素の特性に基づき、特定の成分（検体）を選択的かつ特異的に、繰り返し、計測できることになる。このような計測システムにFIA系を導入すれば、汎用性に富んだ計測が現実のものとなる。「酵素サーミスター」と名付けられたアナライザーが、固定化酵素粒子を充填したミニカラムと準断熱式のフローカロリメーターとを構成要素として1970年代に、スウェーデンのルンド大学化学センターで開発されていた。当時、血清脂質の酵素分析に携わっていた筆者は、この計測法（言葉の定義上から、筆者は「フローインジェクションカロリメトリー」と呼ぶことを提唱している）に魅せられ、以来現在に至るまで関わることになった。

何よりも計測原理が明快で、どのような酵素反応にも適用できることが面白く、基質のバイオセンシングに限らず、酵素の分離、精製プロセスにおける酵素活性の検出などへの応用も、ことごとく達成することができた。そのうちに、カロリメトリーならではの特長と酵素分析法の特質を合わせ持つ、新規計測法（カロリメトリックバイオセンシング）を開発できないものかと考えた。ヒントは血清トリグリセリドの微量計測を検討している内に得られた。酵素触媒反応の活性化現象に直面し、この「活性化」に着目した新たな計測法の考案につながった。重金属イオンやヌクレオチド類を補因子（コファクター）とする酵素では、触媒活性の発現にこれらコファクターが酵素タンパク質の活性部位、特に触媒部位に配位することが必須である。つまり、活性の発現をコファクターの酵素タンパク質（通常、アポ酵素と呼ばれる）の触媒部位への可逆的な結合・解離反応で制御できることになる。逆に、触媒活性のモニタリングを通じて固有のコファクターの検出、定量も可能となる。数種類の金属酵素について試みた結果、酸化、加水分解と反応の種類にかかわらず、すべてカロリメトリーで反応の追跡を行うことができ、微量の銅(II)、亜鉛(II)、コバルト(II)各イオンを定量できることを報告した。

この様に、フローインジェクションカロリメトリーを通じ、従来、顧みられなかった酵素触媒特有の機能を駆使した新たな計測法の創案には格別の味わいがあり、その醍醐味を堪能しつつ、実用化までを目指せたらと期待するものである。