

ラクターゼを固定化したコアシェル不織布の開発

(名工大院) ○水野 稔久*, 石黒 泰良、谷川 雄治、井戸 祐也

＜緒言＞酵素固定化担体の開発に関しては膨大な先行開発があるが、我々は適切な方法を用いれば、担体となる樹脂内部に酵素を固定化した状態でも酵素機能を十分発揮できるのではないかと考え、これまでこの検討を進めてきた。具体的には、親水性の後架橋可能な高分子を酵素内包のためのベース樹脂として用い、さらにこれをナノ繊維の集積体である不織布に電界紡糸法にて成形する方法を検討した。電界紡糸過程にある「溶媒の蒸発→ポリマーナノ繊維の形成」の過程に着目し、脱水反応により高分子鎖同士を架橋できる反応を、電界紡糸で溶媒が蒸発されつつ繊維が形成される過程で行うことで、水に溶ける前駆体ポリマー溶液から、酵素を保持したまま、紡糸後に水に溶けない不織布を作製できるという原理 (*in-Situ* Crosslinking during Electro-Spinning (SCES) method) を考案した (Langmuir 2016)。さらに実用化を考えたときに問題となる、親水性高分子からなる不織布の持つ乾燥時の脆さや、水溶媒中での長期不安定性は、上記不織布ナノ繊維表面を疎水性樹脂で薄くコートすることで改善可能ということも明らかとした (Bull Chem Soc Jpn, 2020、このようなタイプの不織布は「コアシェル不織布」と呼ばれる)。本研究では、後架橋可能な親水性高分子として polyacrylamide-co-poly(diacetone acrylamide) (poly(AM/DAAM))、この架橋剤として adipic dihydrazide (ADH)、また表面コートする疎水性高分子として PCL、nylon 6、酢酸セルロース (AcCel) を用いた酵素固定化コアシェル不織布を作成し、ラクターゼを固定化したものについて機能評価を行った。

＜実験手順と結果＞各不織布は、対応する前駆体溶液を用いた Co-axial spinneret による電解紡糸により作製した。ラクターゼの固定化は、コア繊維前駆体溶液に 5wt%の濃度で添加することで行った。得られた不織布の TEM、SEM 測定から、いずれも均一な繊維径からなるナノ繊維により構成され、さらに各繊維内部への二層構造の形成が確認された。

作製された各不織布を 50mM リン酸バッファー (pH=7)に浸漬し、ラクトースの疑似基質となる 2-ニトロ-β-D-ガラクトピラノシド (5.3 mM) を添加し反応させることで、酵素活性の評価を行った (37℃、20 分の反応)。その結果 PCL、Nylon 6 をシェル用いた不織布では、同量の酵素をバッファー溶液に溶解した場合と同程度 (101 %)、あるいは若干向上した (114 %) 酵素活性が見られた (Table 1)。引き続き再利用性の評価を行うため、溶液から不織布を引きあげ洗浄後、次の反応に用いる操作を 10 回繰り返した評価も行った。その結果 10 回の繰り返し利用後も、これら不織布についてはほぼ 100%の酵素活性維持され、酵素固定化担体としての優れた特性を有していることが確認された。

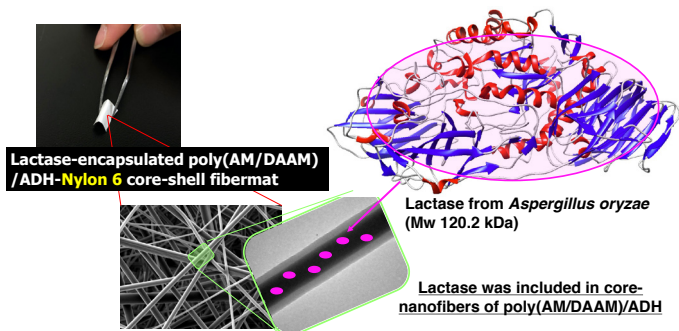


Fig. 1 Lactase-encapsulated core-shell fibermat, consisting of poly(AM/DAAM)/ADH (for core nanofiber) and nylon 6 (for shell layer)

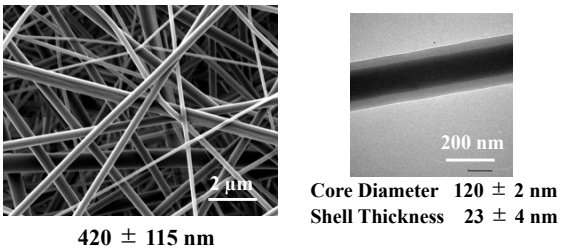


Fig. 2 SEM (left) image of the lactase-encapsulated core-shell fibermat and TEM image (right) of single nanofiber of the fibermat.

Table 1 Comparison of lactase enzymatic activities upon encapsulating in the series of core-shell fibermats and in a buffer solution (control).

	Enzymatic activity (nmol min ⁻¹ mg ⁻¹)	Ratio to enzymatic activity of control (%)
Control (Free Enzyme)	3580 ± 160	---
Poly(AM/DAAM)/ADH-PCL fibermat	3610 ± 90	101
Poly(AM/DAAM)/ADH-Nylon6 fibermat	4080 ± 90	114
Poly(AM/DAAM)/ADH-AcCel fibermat	1480 ± 50	41

Development of the lactase-immobilized core-shell fibermats, ○Toshihisa MIZUNO, Taira ISHIGURO, Yuji TANIKAWA and Yuya IDO: Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology, Gokiso-cho, Showa-ku, Nagoya, Aichi 466-8555 Japan, 3-9-1, Tel: +81-52-735-5237, E-mail: toshitcm@nitech.ac.jp