

## 2.3.9 研究分野：生体機能化学

構成員：	教授	加納 健司
	准教授	白井 理
	助教	辻村 清也
	大学院博士後期課程	2名
	大学院修士課程	9名
	専攻4回生	4名
	博士研究員 (PD)	1名
	研究員	2名

### A. 研究活動 (2009.4~2010.3)

#### A-1. 研究概要

a) 電子移動反応、酸化還元反応に関わる生物現象の細胞レベル、分子レベルでの研究  
放線菌のヒスタミン脱水素酵素の構造と機能 (遺伝子クローニング、活性中心構造、熱力学特性、速度論的特性など)。マルチ銅オキシダーゼの部位特異的変異と機能解析。酵素と各種電極材の相互作用の解明。

b) 生体エネルギー変換システムの解明とバイオ電池への応用

マルチ銅オキシダーゼを触媒とする酸素の水への生物電気化学還元 (メディエータ型および直接電子移動型によるバイオエレクトロカタリシス)。糖関連脱水素酵素を触媒とする糖類の生物電気化学還元 (メディエータ型および直接電子移動型によるバイオエレクトロカタリシス)。クエン酸回路を利用した多電子酸化反応系の検討。新規メディエータ固定化電極の作製と評価。構造規制炭素電極での酵素電子移動の基礎検討。酵素および微生物を用いた生物燃料電池の開発。

c) バイオセンシングシステムの構築

マイクロ電解クーロメトリの多面的展開。ヒスタミンセンサの開発。

d) 抗酸化剤の酸化還元

鉄化合物を含む系でのカテキン類の自動酸化の機構解明。ポリフェノールの酸化還元。

e) 生体膜を介した電荷移動反応についての電気化学解析法の開発と基礎特性の解明

イオノフォア添加時の平面脂質二分子膜を介したイオン透過についての電気化学

的解明。平面脂質二分子膜を用いたイオンチャネルの機能解析（共存イオンの影響、促進剤及び阻害剤の作用機構）。グルコースの膜透過とイオン透過の相互作用の解明。酵素等を利用した電子伝達系とイオン透過の共役機構の解明。膜修飾電極上でのメディエータおよび酵素による電子移動の基礎検討。電気化学的視点による神経伝達機構の再構築。

#### f) 神経伝達機構の解明

液膜型セルを用いた膜電位変化の伝達機構の解明。物質輸送と膜電位変化の関係の解明。

## A-2. 研究業績（国内・国外含む）

### a) 成果刊行

#### 著書

- ・辻村清也、加納健司：バイオ電池-産業酵素の応用技術と最新動向-、pp. 246-256、シーエムシー出版（東京）、2009
- ・辻村清也、加納健司：バイオ燃料電池-電気化学測定/解析 テクニック&事例集 電池/キャパシタ/メッキ/腐食/センサー-、pp. 391-400、情報機構（東京）2009
- ・逢坂哲彌、跡部真人、石渡佐敏、加納健司、桑畑 進、立間 徹、門間聰之：Q&A で理解する電気化学の測定法、医学評論社（東京）、2009
- ・藤波真紀、岡田哲男、加納健司、久本秀明、豊田太郎、基礎から理解する化学3「分析化学」、医学評論社（東京）、2009
- ・辻村清也、加納健司：酵素の酵素電気化学的特性評価，酵素利用技術体系-基礎・解析から改変・高機能化・産業利用まで-、pp. 106-111、エス・ティー・エス出版（東京）、2009

#### 原著論文（査読付）

- ・Tsutsumi, M., S. Tsujimura, O. Shirai and K. Kano: Direct electrochemistry of histamine dehydrogenase from *Nocardioides simplex*. *J Electroanal Chem* 625; 144-148, 2009
- ・Sakai, H., T. Nakagawa, A. Sato, T. Tomita, Y. Tokita, T. Hatazawa, T. Ikeda, S. Tsujimura and K. Kano: A High-power Glucose/oxygen Biofuel Cell Operating under Quiescent Conditions. *Energy Environ Sci* 2; 133-138, 2009
- ・Miura, Y., S. Tsujimura, K. Kurose, Y. Kamitaka, K. Kataoka, T. Sakurai and K. Kano: Direct Electrochemistry of CueO and Its Mutants at Residues to and near Type I Cu for Oxygen-Reducing Biocathode. *Fuel Cells* 9; 70-78, 2009

- Kubota, S., S. Ozaki, J. Onishi, K. Kano and O. Shirai: Selectivity on Ion Transport across Bilayer Lipid Membranes in the Presence of Gramicidin A. *Anal Sci* 25; 189–193, 2009
- Fujieda, N., M. Mori, T. Ikeda and K. Kano: Silent Form of Quinohemoprotein Amine Dehydrogenase from *Paracoccus denitrificans*. *Biosci Biotechnol Biochem* 73; 524–529, 2009
- Kurose, S., K. Kataoka, N. Shinohara, Y. Miura, M. Tsutsumi, S. Tsujimura, K. Kano and T. Sakurai.: Modification of Spectroscopic Properties and Catalytic Activity of *Escherichia coli* CueO by Mutations of Methionine 510, the Axial Ligand to the Type I Cu. *Bull Chem Soc Jpn* 82; 504–508, 2009
- Nagai, T., A. Uehara, T. Fujii, O. Shirai, M. Myochin, H. Yamana: Redox Equilibria of Pu<sup>4+</sup>/Pu<sup>3+</sup> and PuO<sub>2</sub><sup>2+</sup>/Pu<sup>4+</sup> Couples in Molten NaCl–CsCl Eutectic as Measured by Absorption Spectrophotometry. *Radiochim. Acta*, 97, 209–212 (2009).
- Uehara, U., O. Shirai, T. Nagai, T. Fujii, H. Yamana: Electrochemical Redox Reactions of Chromium and Iron Ions in Molten NaCl–2CsCl Eutectic for Pyro-reprocessing of Nuclear Fuels. *J. Appl. Electrochem.*, 39, 827–835 (2009).
- Kontani. R., S. Tsujimura, K. Kano: Air Diffusion Biocathode with CueO as Electrocatalyst Adsorbed on Carbon Particle Modified Electrodes. *Bioelectrochemistry*, 76 (1/2), 10–13 (2009).
- Freguia, S., M. Masuda, S. Tsujimura, K. Kano: *Lactococcus lactis* Catalyses Electricity Generation at Microbial Fuel Cell Anodes via Excretion of a Soluble Quinone. *Bioelectrochemistry*, 76 (1/2), 14–18 (2009).
- Shirai, O., S. Ozaki, J. Onishi, N. Kozai, T. Ohnuki and K. Kano: Ion Transport Across a Bilayer Lipid Membrane in the Presence of Hydrophobic Ions. *Chem. Lett.*, 38 (11), 1038–1039 (2009).
- Tsujimura, S., Nishina, A., Kamitaka, Y., and Kano, K.: Coulometric D-fructose biosensor based on direct electron transfer using D-fructose dehydrogenase. *Anal. Chem.*, 81, 9383–9387 (2009).
- Freguia, S., S. Tsujimura, K. Kano: Electron Transfer Pathways in Microbial Oxygen Biocathodes. *Electrochimica Acta*, 55 (3), 813–818 (2010).
- Masuda, M., S. Freguia, Y.-F. Wang, S. Tsujimura, K. Kano: Flavins Contained in Yeast Extract are Exploited for Anodic Electron Transfer by *Lactococcus lactis*. *Bioelectrochemistry*, 78 (2), 173–175 (2010).

- Tsutsumi, M., N. Tsuse, N. Fujieda, K. Kano: Site-directed Mutation at Residues near the Catalytic Site of Histamine Dehydrogenase from *Nocardioides simplex* and Its Effects on Substrate Inhibition. *J. Biochem.*, 147(2), 257-264 (2010)
- Onishi, J., O. Shirai, K. Kano: Electrochemical Elucidation of the Facilitated Ion Transport across a Bilayer Lipid Membrane in the Presence of Neutral Carrier Compounds. *Electroanalysis*, 22 (11), 1229-1238 (2010).
- Tsujimura, S., A. Nishina, Y. Hamano, K. Kano, S. Shiraishi: Electrochemical Reaction of Fructose Dehydrogenase on Carbon Cryogel Electrodes with Controlled Pore Sizes. *Electrochem. Commun.*, 12 (3), 446-449 (2010).
- Tsutsumi, M., S. Tsujimura, O. Shirai, K. Kano: Stopped-flow Kinetic Studies on Reductive Half-reaction of Histamine Dehydrogenase from *Nocardioides simplex* with Histamine. *J. Biochem.*, in press.
- Noda, T., K. Hamamoto, M. Tsutsumi, S. Tsujimura, O. Shirai, K. Kano: Bioelectrocatalytic Endpoint Assays Based on Steady-state Diffusion Current at Microelectrode Array. *Electrochem. Commun.*, 12 (8), 839-842 (2010).
- Li, S.-L., S. Freguia, S.-M. Liu, S.-S. Cheng, S. Tsujimura, O. Shirai, K. Kano: Effects of Oxygen on *Shewanella decolorationis* NTOU1 Electron Transfer to Carbon Felt Electrodes. *Biosens. Bioelectron.*, in press.
- Mizutani, K., M. Toyoda, K. Sagara, N. Takahashi, A. Sato, Y. Kamitaka, S. Tsujimura, Y. Nakanishi, T. Sugiura, S. Yamaguchi, K. Kano, B. Mikami: X-ray Crystal Analysis of Bilirubin Oxidase from *Myrothecium verrucaria* at 2.3 Å Resolution using a Twin Crystal. *Acta Crystallogr. F*, in press.

## 総説

- 辻村清也、加納健司: 酵素を使った燃料電池用電極. *機能材料* 29 (9) ; 44-57, 2009
- 辻村清也、加納健司: マルチ銅酵素を基軸とするカソード触媒. *燃料電池* 9 (1) ; 62-71, 2009
- 辻村清也: バイオ燃料電池の研究開発. *化学工業* 61 (2) ; 9-14, 2010
- 加納健司、松本伯夫、石井正治: 電子志向型バイオテクノロジー「e-バイオ」の可能性. *OHM*; 2010 (5); 8-9, 2010
- 辻村清也、白井 理: 使える解析テクニック! 具体例で説明する電気化学測定法 分極曲線・サイクリックボルタンメトリー (5) *生物電気化学、Electrochemistry* 77 (6) ; 486-492, 2009

## b) 学会発表

- ・第 49 回電気化学セミナー「次世代電池」：1 件
- ・第 39 回電気化学講習会「サイクリックボルタンメトリー」：1 件
- ・第 45 回境界領域における電気化学セミナー「電気化学とバイオテクノロジーとの学際領域」：1 件
- ・触媒学会燃料電池関連触媒研究会：1 件
- ・第 12 回基礎電気化学フォーラム：1 件
- ・日本農芸化学会 2010 年度大会：4 件
- ・日本化学会第 90 春季年会：1 件
- ・日本化学会化学電池材料研究会第 25 回講演会：1 件
- ・電気化学会第 77 回大会：5 件
- ・電気化学会 2009 年度秋季大会：7 件
- ・第 36 回炭素材料学会年会：1 件
- ・第 6 回基礎分析化学講習会：1 件
- ・日本分析化学会第 70 回分析化学討論会プレシンポジウム：1 件
- ・日本分析化学会第 70 回分析化学討論会：5 件
- ・第 55 回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会：3 件
- ・第 42 回 Heyrovsky Discussion: 1 件
- ・Dr. George Wilson's 70th Birthday Symposium: 1 件
- ・The 216th Annual Meeting of Electrochemical Society: 1 件
- ・The 217th Annual Meeting of Electrochemical Society: 2 件
- ・JBA 公開セミナー「e-バイオの幕開け」：1 件
- ・東海コンファレンスイン信州：1 件
- ・CPC 研究会：1 件

### A-3. 国内における学会活動など

#### 所属学会等（役割）

- ・加納健司：日本分析化学会（代議員、役員選考委員、近畿支部幹事）、日本農芸化学会（理事、全国評議員、関西支部評議員）、電気化学会（関西支部支部長、第 76 回大会実行委員長、中長期計画実施委員会委員、生物工学研究会幹事、有機電気化学研究会幹事、電気化学便覧第 6 版 編集幹事）、日本ポーラログラフ学会（理事、評議員、編集参与）
- ・白井 理：日本分析化学会（近畿支部幹事）、電気化学会（関西支部事務局長、第

76 回大会実行委員会総務)、日本ポーラログラフ学会(会計理事、評議員、事務局)

- ・辻村清也:日本ポーラログラフ学会(評議員)

#### 競争的資金等獲得状況

##### ①科学研究費補助金

・基盤研究 B:加納健司:エネルギー変換のための生体触媒—電極接合系の創成と反応解析

・基盤研究 C:白井 理:イオンチャネルを介した膜透過についての新規解析法の構築

##### ②その他の競争的資金

・NEDO:加納健司:固体高分子形燃料電池実用化戦略的技術開発/次世代燃料電池技術開発/ マルチ銅酵素を基軸とする新規カソード触媒の研究開発

・優秀若手研究者海外派遣事業:辻村清也:酸化還元高分子修飾多孔質酵素機能電極の開発とバイオ燃料電池への応用

#### **A-4. 国際交流・海外活動**

##### 所属学会等(役割)

・加納健司:The Electrochemical Society (Member)、Analytical Biochemistry (Executive Editor)、Journal of Electroanalytical Chemistry (Editorial Board)

- ・辻村清也:The Electrochemical Society (Member)

##### 国際会議・研究集会等(国、役割)

・加納健司:The 42nd Heyrovský Discussion (Czech Republic, Invited Lecture)、George Wilson's 70th Birthday Symposium U.S.A., (Keynote Lecture)、The 216th ECS Meeting (Austria, Contributed)

##### 外国人研究者の受入

- ・博士研究員 1名 (イタリア)
- ・研究員 1名 (台湾)

#### **B. 教育活動(2009.4~2010.3)**

##### **B-1. 学内活動**

###### a) 開講授業科目(担当教員)

- ・学部: 生物物理化学 I (加納)、生物物理化学 II (加納)、分析化学(白井)、分析化学実験および実験法(白井、辻村)、生物物理化学実験および実

験法（白井、辻村）、農学の新戦略（加納他）、応用生命科学（加納他）、農学概論Ⅱ（加納他）

- ・大学院： 生体機能物理化学（加納、白井）、生体機能物理化学演習（加納、白井、辻村）、生体機能物理化学専攻実験（加納、白井、辻村）

## B-2. 学外における教育活動

### 学外非常勤講師

- ・加納健司：徳島大学工学部（化学応用工学特別講義2）、大阪大学 Global COE Program: Dynamics of Biological Systems

## C. その他

- ・加納健司：独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター新技術開発部基礎研究課・技術開発課 イノベーション創出基礎的研究推進事業第一次書類審査員、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）「生物機能活用技術分野」個別研究開発課題調査委員、独立行政法人科学技術振興機構（JST）「総括実施型研究に関する業務」