

氏名	EI EI HTWE		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	工学		
学位授与番号	博甲第	5613	号
学位授与の日付	平成29年 9月29日		
学位授与の要件	自然科学研究科 化学生命工学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Impact of external electric field on protein adsorption onto metal surface and the application to enzymatic cleaning (金属表面へのタンパク質吸着に対する外部電場の影響とその酵素洗浄への応用)		
論文審査委員	教授 今村 維克	教授 早川 聡	准教授 二見淳一郎

学位論文内容の概要

The adsorption of protein to a solid surface often plays a vital role in various industrial fields. According to findings obtained so far, the adsorption of protein onto a metal (oxide) surface may possibly be controlled by controlling the surface electric potential. Hence, in this study, the impact of an external electric potential on the protein adsorption onto metal (oxide) surface was first explored. Actually, the adsorption behavior of a protein to a base metal surface in the presence of external electric field was investigated, using fifteen types of proteins and six types of base metal plates as the protein and adsorption surface, respectively. Proteins were allowed to adsorb on the surface under different conditions, which was monitored using an ellipsometer. A comprehensive consideration of the obtained results suggests that two modes of interactions, namely the electric force by an external electric field and electrostatic interactions with ionized surface hydroxyl groups, act on the protein molecules and determine the extent of suppression of protein adsorption. Furthermore, it was found that the relationship among the protein adsorption, the surface electric potential, and pH strongly depends on the balance of acidic and basic amino acid residues. All these findings appear to support the view that a base metal surface can be controlled for the affinity to a protein by manipulating the surface electric potential as has been reported on some electrode materials.

On the other hand, in the enzymatic cleaning the surface fouled with protein, the binding of hydrolytic enzyme with surface-adhering protein initiates the hydrolysis of proteinaceous soilings into soluble fragments. Therefore, the control of adsorption of hydrolytic enzyme by an external electric potential may possibly increase the effectiveness of the enzymatic cleaning. Hence, in this study, the influence of an external electric potential on the cleaning characteristics of protease was investigated. The model fouling protein (bovine serum albumin (BSA) or lysozyme (LSZ)) was prepared on a stainless steel (St) surface, and the resulting surface subjected to enzymatic cleaning with an electric potential being applied to the St sample plate. Trypsin, α -chymotrypsin, and thermolysin were used as model proteases. In the case for BSA fouling, the cleaning efficacy of the protease tended to increase at more negative applied potentials. On the other hand, there was an optimum applied potential for removing of the LSZ fouling.

論文審査結果の要旨

固体表面に対するタンパク質の吸着は、生命活動の維持から工業プロセスに至るまで広範な分野で重要な役割を担っており、人工生体材料の生体適合性の付与やバイオセンサーにおける酵素の固定化、食品製造プロセスにおけるタンパク質汚れの発生など、様々な局面で固体表面に対するタンパク質吸着のコントロールが求められている。本研究では、外部電場によるタンパク質吸着の制御の可能性を探るため、金属材料表面に対するタンパク質の吸着特性を異なる表面電位のもとで測定・比較した。タンパク質としては等電点 (pI) が異なる 15 種類のものを用い、金属表面としてはステンレスなど 6 種類を用いた。タンパク質の吸着過程はポテンシオスタットシステムを装備したエリプソメータを用いて *in situ* で計測した。その結果、金属表面に対するタンパク質吸着量の表面電位依存性はタンパク質の pI によって三つに分類することができた：(i)酸性～中性タンパク質の吸着量は表面電位の上昇とともに増加し、(ii)弱塩基性タンパク質は表面電位によらずほぼ一定の吸着量を示し、(iii)塩基性のタンパク質は表面電位が高いほど吸着量が減少した。また、pH および金属の種類によって吸着が顕著になる表面電位が変化したが、それらの変化傾向はタンパク質の pI および金属表面上の水酸基のイオン化状態により説明することができた。以上より、外部電場によってタンパク質の吸着特性を制御できることを明らかにした。さらに、外部電場を利用して、金属表面の酵素洗浄の効率化を試みた。モデル汚れ(タンパク質)が吸着したステンレス表面に種々の電位を印加し、その状態でプロテアーゼ処理を施した。その結果、塩基性のプロテアーゼである *trypsin* を用いて洗浄する場合、*trypsin* だけではモデルタンパク質汚れを完全に除去することができなかったが、金属表面に微弱な負電位を印加することで完全に洗浄することができた。酵素洗浄過程におけるモデル汚れの性状を原子間力顕微鏡により観察した結果、金属表面上の微細な溝に吸着したタンパク質が負電位の印加により顕著に洗浄除去されることが明らかとなった。また、中性および塩基性のプロテアーゼを用いた場合にも表面電位の制御による洗浄効果の改善が見られた。

以上、外部電場の制御により、タンパク質吸着の低減や酵素洗浄の効率化につながることを明らかにしたことから、学位審査最終試験の結果を合と判断した。