

## 生物電気分析化学への道のり



池田 篤 治

## 1 はじめに

1924年プラハのカレル大学において、J. Heyrovskyと留学中の志方益三が電流-電圧曲線の自動記録装置、ポーラログラフを完成した（Heyrovskyは1959年ノーベル化学賞受賞）。これによって、それまで半日かかっていた測定が10分に短縮され、いろいろな化合物の電流-電圧曲線（ポーログラム）が容易に測定できるようになった。志方は、帰国後京都大学農学部教授として館 勇博士とともに有機化合物を中心に研究を進め、1929年にはすでにヘモグロビンのようなタンパク質のポーラログラフ測定も行っている。研究の集大成として有機物の還元に関する‘陰性律’を確立するとともに、高感度かつ迅速な機器分析法としての研究展開を行った{千田 貢, 化学史研究, 29(1), 16-30 (2002)}。戦後、ポーラログラフ法はビタミン類や $\gamma$ -BHCの定量、缶詰の中の銅や錫の定量など実分析に広く用いられるようになり、私が初めてポーラログラフに触れた1964年には自動機器分析装置として分析化学の分野に大きな位置を占めるようになっていた（志方 館は1956年学士院恩賜賞受賞）。卒業論文研究で希望した京都大学農学部農芸化学科林産化学研究室（現在は応用生命化学科生体機能化学研究室）は、1964年当時館 勇先生がすでに退官されており、スタッフは千田 貢先生と技官の向山和子さん（のちに滋賀女子短期大学教授）だけであった。にもかかわらず、研究室は留学帰りの千田先生の生き生きとした若々しい雰囲気が漂っており、勉学の意欲を掻き立てるに十分であった。翌年の秋には、同じ構内の理学部化学教室新館で藤永太郎先生のお世話による第12回ポーラログラフ討論会が開かれ、私の発表に東北大学の田中信行先生から質問とコメントをいただいた記憶が残っている。修士2年の1966年秋には、新築された京都国際会館でポーラログラフ国際会議（日本ポー

My Research Life : The Way to Bioelectroanalytical Chemistry.



著者近影

ラログラフ学会との共催）が開かれ、文献や参考書に出てくるA. N. Frumkin, J. Korytaなど外国の著名な先生方に接することができ、大きな刺激を受けた。

## 2 水銀電極から固体電極へ

私の最初の研究論文は、1970年の日本化学雑誌（日本化学会発行、1972年に日本工業雑誌と統合して日本化学会誌となり2002年に休刊）に‘ $\gamma$ -BHCのジメチルホルムアミド中のポーラログラフィー’という題目で掲載された。当時非水溶媒を用いる電気分析化学の研究に多くの研究者が参加しており、その流れに沿ったものであった。また学位論文はポーラログラフ法によるD-Xyloseの変旋光速度に関する研究で、振り返ってみればこの研究で学んだ反応電流、反応層の概念が以後の私の研究を通しての軸となっている。研究室に助手として採用していただいたからは、農芸化学科の他の研究室の人たちに教えてもらいながら植物や微生物からタンパク質（フェレドキシン、フラビン酵素など）を精製し、わくわくしながらポーラログラフ測定を試みた。しかし、残念ながら期待したようなすっきりしたポーラログラムは得られなかった。いずれのタンパク質も水銀電極への強い吸着を示すポーラログラムを与えたのである。これらの研究は必ずしも生化学に有用な知見を与えるものではなかったが、このとき学んだ吸着挙動の定量的解析法は、1970年代半ばに長 哲郎先生（当時東北大学）、T. Kuwana（当時オハイオ州立大学）、R. Murray（ノースカロライナ大学）らによって始められた化学修飾電極の研究においても大変有用であることが後になってわかった。1970年代はシトクロムやフェレドキシンといった酸化還元タンパク質の電気化学測定が行われ始めた時期であるが、故仁木克己先生（当時横浜国大）が1976年に発表されたシトクロム $c_3$ の例を除いて、一般に、水銀電極への吸着が測定結果の解釈を不明瞭なものとしていた。

1977年にT. Kuwanaがインジウムオキシド電極で、またM. J. EddowsとH. A. O. Hill（オックスフォード大学）が4,4'-ビピリジル溶存下の金電極で、いずれもシトクロムcが可逆なサイクリックボルタンモグラムを与えることを示したことが契機となって、固体電極への関心が高まってきた。日本においては1970年ころ水銀公害が深刻な問題となり、水銀の使用がはばかれるといった状況も重なって水銀電極から固体電極へと移行していくことになる。谷口 功氏（現熊本大学学長）らは1982年にビス(4-ピリジル)ジスルフィドが金電極に強く吸着して4,4'-ビピリジルと同様なプロモータ機能を示すことを見いだされた。分子内の硫黄原子と金電極との強い相互作用は、その後の金電極における自己組織化膜研究のさきがけとなる知見といえよう。ところでこの時期、演算増幅器を用いた電気化学測定装置が市販されるようになり、サイクリックボルタンメトリー、パルスポーラログラフィーなど現在汎用<sup>はんよう</sup>されている測定法がようやく一般化し始めた。さらに1980年代にはパーソナルコンピュータの導入が進み、現在では、必要な実験データの取得とその解析に要する労力が当時に比べて著しく軽減されている。なお、ポーラログラムという呼び方は現在では滴水銀電極を用いる場合に限定され、他の電極での電流-電圧曲線はボルタンモグラムと呼ばれている。

### 3 酵素機能電極

1972年京都で開かれたICACでアミノ酸電極というタイトルの発表があった。興味をおぼえて関連文献をたどると、S. J. UpdikeとG. P. HicksによるThe Enzyme Electrode {*Nature*, **214**, 986-988 (1967)} にたどりついた。ポーラログラフ型酸素電極の上にグルコースオキシダーゼを含むポリアクリルアミドゲル層（厚さ25~50 μm）を形成したもので、ゲル層での酵素反応で酸素が消費されるので電流が減少する。この減少から溶液中のグルコースの定量ができる。分析化学の立場からは大変有用で、その後のバイオセンサー研究の端緒となった論文である。ただ、私自身はなぜかこのような研究に興味を持てなかった。1980年11月文部省在外研究員として先述のMurray先生のところで化学修飾電極研究の実際を経験する機会を得た（図1）。ルテニウム錯体修飾電極を用いて、酸化還元電位の異なる一連のルテニウム錯体の対流ボルタンモグラムをアセトニトリル中で測定し、修飾錯体と溶存錯体との電子移動反応速度を測りたいとのことであった。測定してみると、ダウンヒル方向の電子移動速度は拡散過程よりも速くて測定できないことがわかった。試しにアップヒル方向の組み合わせでやってみると測定でき、しかもきれいな解析ができた。Murray先生はサバティカルでスタンフォード大学に滞在されていたが、この結果に大変喜ばれたことが思い出される。私にとっては楽しい10ヶ月間であり、ま



図1 1981年夏、自宅で開かれたバーベキューパーティでのMurray先生

た、以後の研究展開に貴重な経験となった。

1981年秋に帰国後、日本でも化学修飾電極の研究に関心が高まってきたこともあり、酵素を修飾して電極を作ろうということになった。電極が酵素反応の電子受容体もしくは電子供与体として働くようにするので、これを酵素機能電極（バイオカタリスト電極）と呼ぶことにした。酵素機能電極を実現するという机上の計画は魅力的であったが、いざ実際に取り掛かってみるとはかばかしい展開は見られず、化学修飾法は暗中模索の状態であった。研究が進んだのは1984年初め、たまたまT. Kuwana先生の論文（*Anal. Chem.*, 1964年）が目にとまって以後である。難溶性のフェロセンやアンスラキノン<sup>アントラキノン</sup>を練りこんだカーボンペーストを電極に用いると、水溶液中でそれぞれの酸化/還元に対応する明瞭なサイクリックボルタンモグラムが得られる、というものであった。これをヒントに私は図2Aのような電極を作った。市販の流動パラフィンと日本黒鉛からいただいたグラファイト粉とを乳鉢に入れ、ベンゾキノンを加えてペースト状に練り込んだ。このペーストを内径3 mm程度のガラス管に端から5 mm程度詰め込んで表面を葉包紙でこすって滑らかにした。その表面にグルコースオキシダーゼ溶液を5~20 μL滴下して溶媒を蒸発させた後、その上に透析膜を置き、さらにその上にガラス管より大きめの円形に切り抜いたストッキングを置いてガラス管の下方へ引っ張りながらパラフィルムで固定した。簡単な構造にもかかわらず、思いのほかきれいなボルタンモグラム（図2B）がとれて感激した。溶液にグルコースを加えて、今度はどきどきしながらサイクリックボルタンモグラム測定を始めた。正方向に電位が移行するにつれて、びっくりするほど大きな酸化電流（図2C）が現

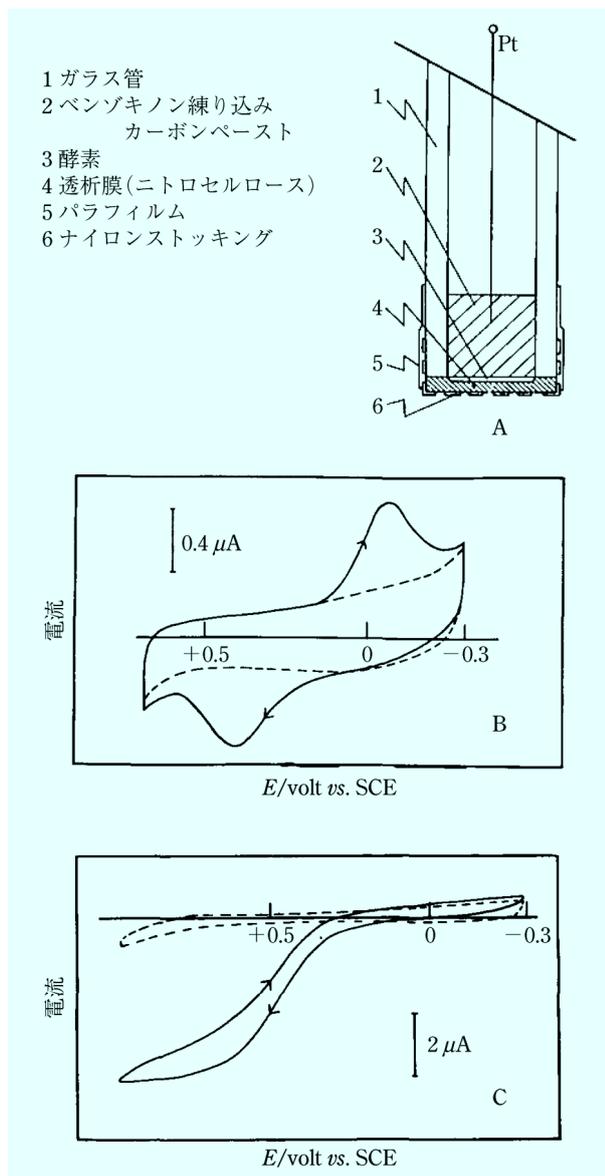


図2 A: メディエーター練り込み酵素固定カーボンペースト電極: 酵素機能電極, B: 緩衝液 (pH 5.0) および C: グルコースを含む緩衝液中のサイクリックボルタンモグラム (破線はベンゾキノンを含まない電極での結果)

れたのでさらに感激した。ベンゾキノンが電極反応と酵素反応の電子伝達メディエーターとして働いて、電極酸化反応で消費されたヒドロキノンが酵素触媒反応で再生される (バイオエレクトロカタリシス) ので、酵素触媒の反応速度に依存して電流が増加する。得られた酵素触媒電流が定量的に解析できることがわかり三たび感激した。溶存酸素や妨害物質の影響、ダイナミックレンジなどを調べ、グルコース定量に適していることも確認した。ところが、何ヶ月か後に図書室で *Anal. Chem.* の最新号を見て、Hill らの論文 [*Anal. Chem.*, **56**, 667 (1984)] が目にとまった。フェロセンをグラファイト上にデポジットさせ、固定化した酵素をポリカーボネート膜で覆うなど、構成が非常によく似ていた。この電極でのボルタンモグラムは示されておらず、正電位ではデポジットフェロセンの酸化による大きなブランク電流が

予想されたので、グルコース定量には私の電極のほうが優れていると思った。しかし基本構成が同じなので大変がっかりした。そのあと、ともかく急いで論文にまとめ 1985 年 1 月に掲載された [*Agri. Biol. Chem.*, **49**, 541 (1985)]。引き続いて、この電極で得られる触媒電流について酵素反応速度式を考慮した定量的な解析法を提出した。この電極は実験室レベルで大変有用で、以後の私の研究の原点となった。費用がかからず誰でもどこでも手軽につくられてセンサーとして働いてくれる。酵素以外に微生物やオルガネラなどを用いることもできる。透析膜が物質移動過程の制御に重要な働きをしていることも重要であり、このような構成の電極は対流ボルタンメトリなど多様な用途に有用である。

#### 4 バイオセンサー

1980 年代後半、酵素機能電極は新しいタイプの酵素電極 (メディエーター型酵素電極) として注目され始め、バイオセンサー志向の研究が飛躍的に増えていった。私自身も 1995 年ころまでに三木功次郎氏 (現奈良高専准教授) らと共同で多数の化合物についてその検出を目的とする電極を作製した。この過程で 1988 年に、電極と直接電子のやり取りをするような酵素がいくつか見つかり [*Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2655 (1988)]、直接電子移動型バイオセンサー (メディエーターレス酵素機能電極) としてフルクトース電極などを作製した。酵素の直接電子移動反応は最近注目を集め、電極表面の物理的・化学的性質と酵素の高次構造に関する知見をふまえた研究展開が進行中である。木下英明氏 (前活水女子大教授) を中心に進められた酵素活性測定用センサー (透析膜を被覆した電極) の研究では、実サンプルの血液を用いて 11 種類の血中酵素の活性測定に成功している。また近藤徹弥氏 (愛知食品工業センター) が中心となって、酵素の代わりに微生物を固定した電極が微生物代謝活性測定に利用できることを報告した。なおこの時期、1992 年に千田先生が退官され、私は新しく研究室を立ち上げることとなった。1994 年に加納健司氏 (当時岐阜薬科大学) を助教授として迎え、それ以後の研究成果の多くは加納氏との忌憚のない議論に依るところが大きい。加納氏、山崎眞一氏 (現産業総合研究所) 中心に進められた解糖系振動現象における  $NAD^+/NADH$  比の役割や、2-アミノ-3-カルボキシ-1-4-ナフトキノンがピフィズス菌増殖因子としてはたらくメカニズムの研究においても自作のピルビン酸電極、膜被覆電極が使われた。

同時代には水谷文雄 (当時産業総合研究所、現兵庫県立大教授)、八尾俊男 (前大阪府立大学教授)、本仲純子 (前徳島大学教授)、内山俊一 (埼玉工大教授) らの諸先生や、海外の H. A. O. Hill, J. Wang (ニューメキシコ州立大学)、J. Wilson (カンザス大学)、F. Sheller (ポツダム大学)、A. Heller (テキサス大学)、Lo Gorton (ロンドン大学) ら、多くの研究者によってバイオセンサーの

研究が進められた。鈴木周一、相沢益男、軽部征夫（当時東京工業大学）諸先生らのグループはバイオセンサーという呼び方を提唱し、分子識別素子とトランスデューサーの組み合わせという概念で整理、分子識別素子には酵素以外に抗原-抗体、ホルモン-レセプター、オルガネラ、細胞を、トランスデューサーには広く電気化学以外の検出法も含めて多方面への研究展開を進められた。メディエーター型グルコースセンサーは1990年代初めH. A. O. Hillらによって血糖計として実用化され、続いてA. Hellerがオスミウム錯体ポリマー {*Anal. Chem.*, **62**, 258 (1990)} をメディエーターとするグルコースセンサーの実用化研究を行った。この電極はフリースタイルという名前の血糖計として現在アボット社から市販されている。日本においては、松下電器産業（現パナソニック）が1980年代から独自に基礎研究を進め、1991年にいち早く自己測定用のメディエーター型血糖センサーを市販した。その後2003、2006年と改良型が出されて現在に至っており、複数の商品名で世界中に市販されている。2006年の開発過程において研究開発グループの方々や関連する人たちと親しく交流を持つことができ、開発現場のきびしくも充実した雰囲気を実感することができた。2007年には、特許庁がバイオセンサー（酵素・微生物を利用した電気化学計測）に関する特許出願技術動向調査を行うこととなり、早出広司氏（東京農工大教授）、南海史朗氏（松下電器産業参事）、丹羽修氏（産総研バイオセンシング技術研グループリーダー）、林 隆造氏（王子計測機器取締役）、橋本宗明氏（日経バイオテク編集長）の協力のもとに委員会を開催し、三菱化学テクニカ研究所の検討結果に基づいて報告書作成のアドバイスをを行った。バイオセンサーについて、私が特に感慨深いのは血糖計がポーラログラフ反応電流の原理に基づいていることである。酸素電極（ポーラログラフ拡散電流の原理に基づいている）について、ポーラログラフ法に基礎をおく分析法が広く利用されるようになった。

## 5 微生物触媒電流

1992年、酵素を微生物から精製することに失敗し、苦し紛れに微生物をそのまま用いてメディエーター型酵素電極を作製したところ、意外にも電流応答が得られた。*Gluconobacter industrius* という細菌を用いると、グルコースに対して酵素を用いたときに匹敵するほど大きな触媒電流が得られた {*J. Electroanal. Chem.*, **356**, 295 (1993)}。グラム陰性菌には細胞壁と細胞膜の間にペリプラズムという空間があり、ここに酸化還元酵素が存在する可能性があること、また、細胞膜にはエネルギー代謝系の酵素が存在することを後で知った。細胞壁にはポリンというタンパク質の穴があいており、分子量300以下の分子は自由に通れることもわかった。そうであれば、細胞は基質（酵素と反応する化合物）が自由に通れ

る酵素の袋と考えることができる。その後、*Pseudomonas fluorescens*, *Acetobacter aceti*, *Escherichia coli* で、それぞれニコチン酸、エタノール、グルコースに対して大きな触媒電流が得られ、微生物触媒の反応スキームを実証するいろいろ興味深い実験を行うことができた。たとえば、大腸菌、*Escherichia coli* K-2が持っているグルコース脱水素酵素は不活性型（触媒中心のピロロキノリンキノン（PQQ）を欠く）なので、この菌を固定した電極はグルコース触媒電流を与えない。しかし、溶液にPQQを添加するとグルコース触媒電流が徐々に増加してくる。PQQが細胞内に輸送され酵素に結合して活性型に変化していく過程が追跡できるのである {*Biochem. J.*, **350**, 917 (2000)}。このように、微生物触媒電流を用いると通常の生化学実験法では困難なユニークな生化学、応用微生物学の研究が可能になる。

## 6 バイオ電池

嫌気性微生物 *Desulfovibrio vulgaris* がヒドロゲナーゼを持っていることを知り、1996年垣内 隆氏（当時横浜国立大学；現京都大学工学部教授）から保存菌株を送ってもらった。メチルピオローゲンをメディエーターとした場合、pH 7.0で非常に大きな水素発生触媒電流（還元触媒電流）を与え、電極から気泡が発生するのが見えた。同じpH 7.0でビタミンK<sub>3</sub>をメディエーターにした場合、水素飽和溶液中で大きな水素消費触媒電流（酸化触媒電流）が得られた。また、杉尾 剛氏（岡山大学教授）より戴いた好気性鉄酸化細菌 *Thiobacillus ferrooxidans* はヘキサシアノ鉄酸イオンをメディエーターとしてO<sub>2</sub>のH<sub>2</sub>Oへの4電子還元触媒電流を与えることを見いだした。この反応は酸性領域でのみ大きな電流を与えたのであるが、生体触媒による水素酸素燃料電池の可能性が見えてきたとして、1996年学会で発表した。これが注目されてバイオ電池という見出しで新聞報道された。以来バイオ電池という呼び方を使わせてもらっている。1999年清水 昌先生（前京都大学教授、現日本農芸化学会会長）から戴いたビリルビンオキシダーゼ（BOD）はpH 7.0でO<sub>2</sub>のH<sub>2</sub>Oへの還元を触媒し、0.6 V (vs. SHE) という正電位で非常に大きな触媒電流を与えた {*J. Electroanal. Chem.*, **496**, 69 (2001)}。このBODをカソード触媒に、*Desulfovibrio vulgaris* をアノード触媒とすることによって、中性で働く水素酸素バイオ電池の作成に成功した {*Phys. Chem. Chem. Phys.*, **3**, 1331 (2001)}。また同年には光合成-呼吸型バイオ電池として光エネルギーを利用するバイオ電池も作製した {*Enz. Microb. Tech.*, **29**, 225 (2001)}。2002年には鉄シアノ錯体をBODのメディエーターとするとO<sub>2</sub>の拡散律速触媒電流が得られることを見いだした {*Chem. Lett.*, **32**, 54 (2003)}。同様な方法でグルコースやエタノールに対するバイオ電池の研究を進め、2-アミノ-3-カルボキシ-1-4-ナフトキノンをジアホラーゼと共に

固定した電極が NADH の拡散律速酸化触媒電流を与えることを見いだした {*Chem. Lett.*, **32**, 54 (2003)}。これらの研究は加納氏、巽 広輔氏 (現信州大学助教)、辻村清也氏 (京都大学助教) 中川貴昭氏 (現ソニー) らの協力のもとに進められた。また、2000 年には電解水素製造のアイデアも浮かんだ。グルコース (エタノール) 触媒電極をアノード、水素触媒 (ヒドロゲナーゼ) 電極をカソードとしてわずかの電圧を加えると、グルコース (エタノール) を犠牲試薬として少しの電力で水素の電解製造ができるというものである。

予期しなかったことであるが、時を同じくして国の内外でバイオ電池関連の研究が見られるようになり、関係論文が急激に増加した。2003 年にはアメリカ電気化学会の秋の国際会議 (オランダ) でバイオ電池のシンポジウムが行われ、私も組織委員として参加した。私たちの発表が大きな注目を集め、また Heller 教授の体内保持型マイクロバイオ電池についての熱のこもった講演があった。2004 年にはマイクロバイオ電池の総説が出されている {*Chem. Rev.*, **104**, 4867 (2004)}。2001 年にはソニーの研究グループが私達の研究に興味を持たれ、実用化を目指す技術開発を進められることとなった。現在、おもちゃ用電源など実用に耐え得る性能のバイオ電池が実現しており、更なる開発が進められている。また、Heller 教授、谷口 功氏、西澤松彦氏 (東北大学教授) から国の内外の研究グループによっても活発な研究が進められている。同時期にまた、特殊な微生物を用いる微生物燃料電池が発表され、バイオマス有効利用を趣旨とする研究が国の内外で進められている。一般に、生物電池の発想は決して新しいものではなく、1911 年にはすでに植物学者 M. C. Potter がグルコース培地で増殖中の酵母から電気を取り出す実験を行っており {*Proc. Roy. Soc. London, Ser. B*, **84**, 260 (1911)}、その後もこの種の実験は断続的に行われてきた {*ACS Symp. Ser.*, **566**, 271 (1994)}。今の時期にあらためて微生物燃料電池が注目された理由は、微生物が電極と直接電子移動をするとして微生物ナノワイヤーという新規な言葉が用いられたため {*Science*, **295**, 483 (2002), *Nature Biotech.*, **21**, 1229 (2003)} で、その真偽を明らかにする基礎研究の必要性が認識されだしている。

## 7 生化学研究へ

電気分析化学の手法を用いて生化学の研究を行いたいという希望は以前からあったが、この種の研究に本格的に取り組めるようになったのは、1994 年加納氏が助教授として研究に加わってからのことである。溶液中の酵素反応に基づくポーラログラフ触媒電流 (バイオエレクトロカタリシス) について、ミハエリス-メンテン式を考慮した定常状態反応電流の式を導き、ミハエリス定数と触媒定数を実験データから求める方法を確立した {*J. Electroanal. Chem.*, **535**, 37 (2002)}。この方法を用い

て、通常分光法では困難なジアホラーゼ (生体内代謝の鍵化合物である NADH の酸化反応を触媒する酵素) 反応の詳細な解析 {*J. Electroanal. Chem.*, **445**, 211 (1998)} を行い、BOD など諸種の酸化還元酵素の酵素反応速度解析を行った。この方法は微生物懸濁液にも適用でき、酢酸菌のような細菌の触媒能を測定することもできた。

信頼できるタンパク質酸化還元電位の値を得るのは結構難しい。低分子メディエーター化合物存在下での分光-電位差滴定法、薄層分光電気化学法など通常用いられる方法においてはメディエーターとタンパク質のお互いの吸収スペクトルの重なり、電極とタンパク質との間の酸化還元平衡達成の不確かさなどが伴う。これらの問題を解決する方法として、加納氏らが中心となってフローカラム電解分光電気化学法を開発した {*Anal. Chem.*, **70**, 4690 (1998)}。藤永先生らによって開発されたカラム電解法を基本としたもので、数種のメディエーターを電位規制カラム電極中に流してレドックスバッファーとし、目的タンパク質をフローインジェクションの要領でカラム電極に移動させて、酸化還元平衡に達したカラム電極の出口で吸収スペクトルデータを得る。この方法によればスペクトルの再現性が非常に高く、メディエーターの吸収に重なったタンパク質の小さな吸収を抽出することができる。加納氏は、また学生の話にヒントを得て通常分光器用セルを用いる簡便なバルク電解法も考案した {*Anal. Biochem.*, **337**, 325 (2005)}。光路と平行なセル壁に貼り付けた白金メッシュを作用電極に、先端をわずかに液中に入れた白金線を対極にして銀/塩化銀電極を参照電極とする三電極バルク電解を行う方法である。この話を聞いたとき私はクロノポテンシオメトリーの状況が思い浮かんだ。大面積の作用電極に流れるのと同じ電流が小さな面積の対極に流れなければならないので、対極は溶媒もしくは支持電解質が電解できる電位に達し、電解生成物の対極での再電解は無視できる程度になる。

1994 年当時大学院生であった高木一好氏 (現立命館大学准教授) によって *Paracoccus denitrificans* から未知のアミン脱水素酵素が精製された。その構造、物性、機能の生化学的研究において、この酵素がもつ新規なキノンコファクター (システイントリプトフィルキノン) と二つのヘム c それぞれの酸化還元電位の決定、細胞内電子受容体の同定などにおいて上記の電気分析化学法が不可欠の手法となった {*Biochemistry*, **28**, 6935 (1999)}。2005 年福井県立大学に移ってからは酵素安定性の研究を始めた。バイオエレクトロカタリシスにおいては酵素触媒の反応速度が定常電流として測定でき、酵素の活性が時間とともに低下すると、それに伴って電流が減少する。このような活性の経時変化は通常分光法では測定不可能である。実際に、BOD の活性が 70°C で経時的に減少していく過程の連続測定に成功し、一次反応の速度

式で解析することができた {*Anal. Sci.*, **24**, 237 (2008)}。このような速度情報は、構造情報とともに、酵素の安定性向上に必要な因子の解明につながる基礎データを与えると考えている。

## 8 おわりに

電気分析化学の研究は、1970年代半ばころ水銀電極から固体電極へとその軸足を移していった。それに伴って酵素の触媒能に基礎を置く分析法が大きく展開していった。特に、酵素に依拠したポーログラフ反応電流（バイオエレクトロカタリシス：酵素触媒電流）は、生体関連物質の電気分析化学法に画期的な変革をもたらした。私の研究はこのような過程に深くかかわってきたが、その基盤となったのは学位論文研究で学んだポーログラフ反応電流の概念である。千田研究室において基礎となる事柄の勉学機会に恵まれ、前述の木下、垣内、加納、三木の諸氏および大塚利行氏（現神戸大学）を含めた多くの学友と緊張した雰囲気のもとで共に学び、楽しく過ごすことができたのは幸いであった。数多くの実験を行い、経験を重ねるうちに電流-電圧曲線の形を見て溶液内の状況が脳裏に浮かぶようになった。実験結果の解釈や新しい研究テーマの発想は経験に基づく感の働きによるところが大きいように思う。1980年代後半からは木原壮林氏（元京都工芸繊維大学教授）、堀智孝氏（前京都大学教授）、姫野貞之氏（前神戸大学教授）ら藤永研究室出身の方々与分析化学会近畿支部の会合などでお会いする機会を得た。これら諸氏とのまじめな無駄話は楽しく、かつ研究推進の上で大きな糧となった。

2000年3月京都で21世紀における生物電気化学の展望という国際ミニシンポジウムを関係諸氏の協力を得て主催し、海外の主要な電気分析化学者（R. Corn, H. H. Girault, Lo Gorton, W. R. Heineman, W. Knoll, R. W. Murray, Z. Samec, A. W. Scheller, J. Wang, R. M. Wightman, G. S. Wilson）の参加を得た（図3）。学術的には特にインパクトがあったわけではないが、我々の研究の意義を国際レベルで確認することができた。また、このシンポジウムで改めて農芸化学（現在は応用生命科学）という私の研究環境の特殊性に思い至った。生物機能の有効利用という目的意識が強くもされた学科の研究雰囲気が、無意識のうちに私の研究に方向性を与えたように思う。また、研究結果に対しても応用生化学の視点からの暗黙の批評、評価を受けることとなった。このような研究環境が私の生物電気分析化学研究の下支えとなっている。研究の概要は二つの総説 {*J. Biosci. Bioeng.*, **92**, 9 (2001), *The Chem. Rec.*, **4**, 192 (2004)} で、また、その実用展開については、バイオ電気化学の実際（CMC出版、2007）で述べ、関係領域の先生方にも執筆をお願いした。私の研究は生物電気分析化学のほんの一部に触れたに過ぎない。高村喜代子（前東京薬科大学教授）、楠文代（東京薬科大学教授）のお二人は



図3 2000年3月京都で開催の国際シンポジウムでのMurray先生（左）と筆者（右）

薬学の視点から生体関連分子の生物電気分析化学について、谷口功氏はフェレドキシンやヘムタンパク質の電気分析化学に関して、また梅澤喜夫氏（前東京大学教授）、末永智一氏（東北大学教授）はそれぞれ細胞の電気分析化学において、独自の方法を展開されている。一個の微生物細胞を見るとき、そこではイオン移動、電子移動、エネルギー変換（酸化還元）、物質拡散が時間的、空間的な整合性を保って進行している。生命活動に電気化学現象が深くかかわっていることを実感するとともに、生物電気分析化学が多様な生物機能の化学的本質に迫る強力な方法論の一つであると確信している。

一般に、どの分野でも研究の最前線では既存の分析法では測れない場合に遭遇するので、研究者自らが分析法を工夫する。いろんな分野におけるこのような研究者と分析化学者との交流はお互いに大変有意義であろう。科学研究全体の流れの中で分析化学の位置と方向性を考えてみることも大切なように思う。研究に対しては、心のゆとりを持って取り組むことができ、興味にかられて熱中できるような状況が必要だろう。また時には、毎日のくらしや社会状況とのかかわりについて研究活動を考えてみることも必要かと思う。

謝辞 本文中に記述した諸氏のほかにも当時の学生諸氏を含む多くの人たちの協力のもとに研究を進めることができた。記して感謝の意を表します。

池田篤治 (Tokuji IKEDA)

京都大学大学院農学研究科修士課程修了。農学博士。《現在の研究テーマ》酵素の安定性に関する速度論。《主な著書》“バイオ電気化学の実際—バイオセンサ・バイオ電池の実用展開—”（シーエムシー出版）。《趣味》水彩画観賞。  
E-mail: tiked@fpu.ac.jp