

# 進化する 電子メディエーター

高い安定性 : 1-Methoxy PMS / 1-Methoxy PES

標識可能 : Amine-reactive PES / Thiol-reactive PES

メディエーター 同仁

検索

電子メディエーター(キャリアー)は、他の分子から電子を受け取り、また別の分子に電子を移動させる化学物質であり、様々な検出技術に応用されています。特に、NADH-テトラゾリウム色素による比色検出や酵素-電極によるバイオセンサーなど、高感度かつ迅速な検出技術には欠かせない化合物です。小社では、用途に応じた電子メディエーターを取り揃えています。

## 目的に応じた電子メディエーターを選択

電子メディエーターとして、PMS(フェナジンメトサルフェート)やメルドラブルーが以前より利用されていますが、これらは溶液中での安定性に課題がありました。小社では、光安定性を向上した 1-Methoxy PMS をはじめ、中性~アルカリ環境下で安定な 1-Methoxy PES、更にはバイオセンサー分野での使用が期待される酵素へ標識可能な電子メディエーターを取り揃えています。

製品名	PMS	1-Methoxy PMS	1-Methoxy PES	Amine-reactive PES	Thiol-reactive PES
製品コード	取扱いございません	M003	M470	A543	T509
水溶性	○	○	○	○	○
光安定性 (水溶液中)	×	○	○	○	○
pH 安定性 (水溶液中)	△	△	○	○	○
標識	×	×	×	NH <sub>2</sub> 基	SH 基
酸化還元電位	-	168.0 mV	169.5 mV	173.0 mV	162.5 mV

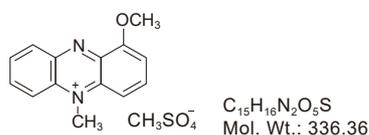
酸化還元電位は、標準水素電極基準に換算したものを記載しています。

<酸化還元電位の測定条件>

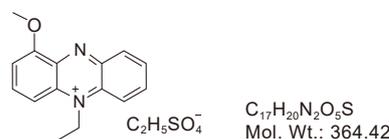
電子メディエーター濃度：1 mmol/L 溶媒：0.1 mol/L LiCl/DMSO 作用電極：GC(φ 3 mm x 55 mm) 参照電極：Ag/AgCl(3 mol/L NaCl)  
対極：Pt(φ 0.5 mm x 50 mm) 開始電圧：400 mV 最大掃引電圧：400 mV 最小掃引電圧：-400 mV 掃引速度：100 mV/sec

## 電子メディエーターの構造式

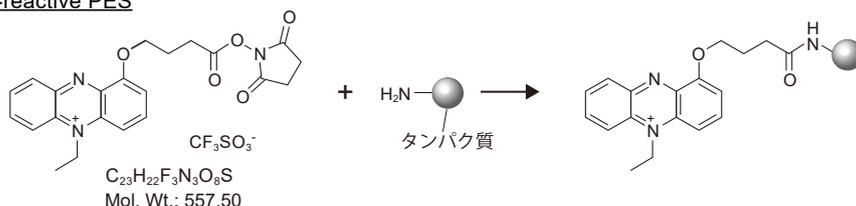
### 1-Methoxy PMS



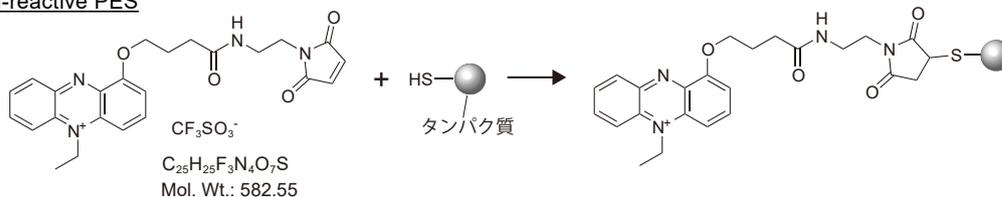
### 1-Methoxy PES



### Amine-reactive PES

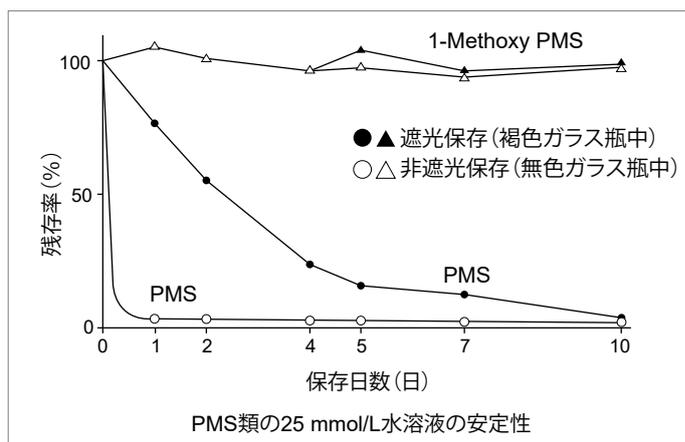


### Thiol-reactive PES



## 1-Methoxy PMS

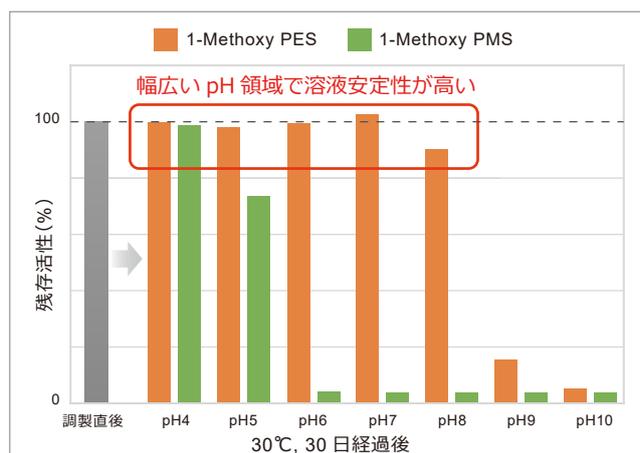
電子メディエーターとして知られる PMS (フェナジンメトサルフェート)は、光に対して非常に不安定であり、溶液中での保存が困難でした。これに対し、1-Methoxy PMS は、光に対する安定性が向上し、更には水やアルコール類に容易に溶けるため、溶液中での長期保存が可能になりました。



## 1-Methoxy PES

1-Methoxy PES は、1-Methoxy PMS に比べ中性～アルカリ性領域での安定性を高めた電子メディエーターです。また本品は安定な低分子化合物であるため、NADH を利用した反応系で汎用される酵素(ジアホラーゼ)と同等以上の溶液安定性を示します。

### 幅広い pH 領域で安定 1-Methoxy PMS との比較



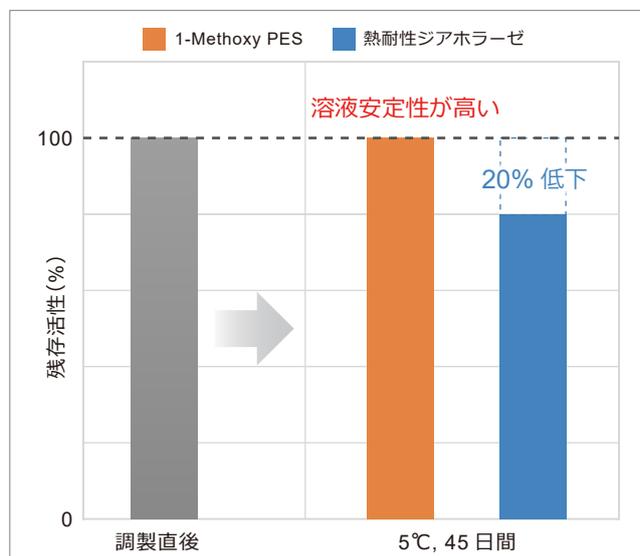
### 操作

メディエーター溶液を調製後、30°Cで30日間保存した後、メディエーターの残存活性として WST-8 及び NADH と混合し、発色反応にて評価を行った。

### 結果

1-Methoxy PMS は pH6 以上になると溶液の安定性は顕著に下がった。一方、1-Methoxy PES においては、pH8 付近の溶液でも活性は維持される結果となった。

### 溶液状態で安定 ジアホラーゼとの比較



### 操作

1 mmol/L WST-8, 1% Triton X-100 の 50 mmol/L HEPES buffer (pH7.0)溶液に、1-Methoxy PES(終濃度2 μmol/L)またはジアホラーゼ(終濃度0.05 U/mL)を加えたメディエーター溶液を調製した。各メディエーター溶液 100 μL に 200 μmol/L NADH (50 mmol/L HEPES buffer pH7.0) 100 μL を加え、37°Cで20分反応後の WST ホルマザン由来の吸光度(450 nm)を測定した。調製直後および調製後5°Cで45日間保存した溶液を用いて測定し、吸光度の値からメディエーターの残存活性として安定性を比較した。

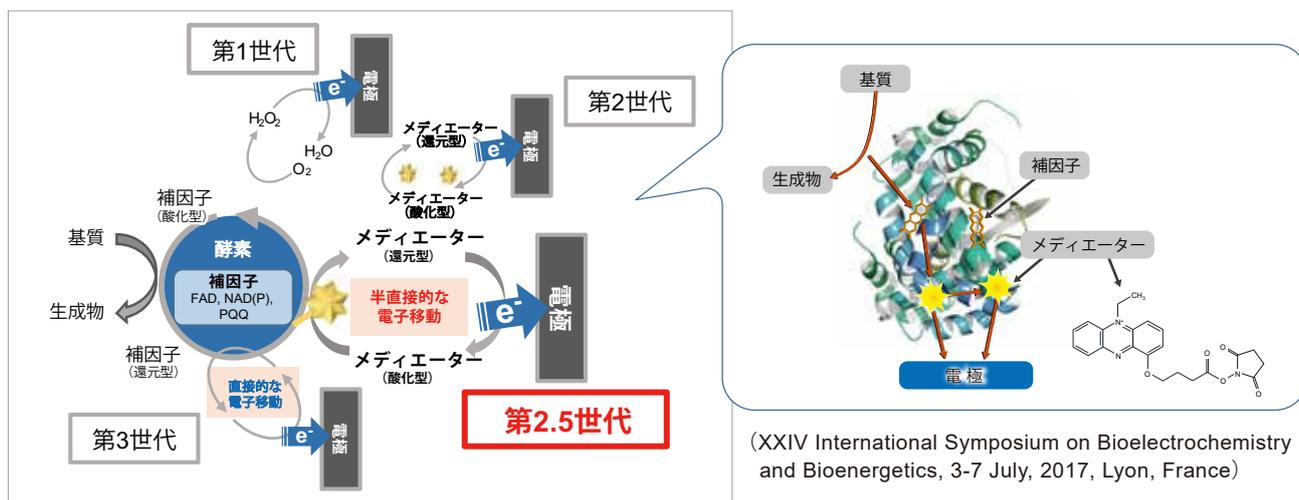
### 結果

ジアホラーゼにおいては、45日間保存後に約20%の低下がみられた。一方、1-Methoxy PES は調製直後と同等の活性を示した。

Amine-reactive PES はアミノ基反応性を、Thiol-reactive PES はチオール反応性を有する新規電子メディエーターです。バイオセンサーで使用される酸化還元酵素へ結合することにより、次世代バイオセンサーへの応用が期待されます。本製品を用いた修飾酵素については、特許出願中です。

## 新世代の電子メディエーター

各種酵素に修飾した電子メディエーターは、酵素の働きを維持して電極に電子を受け渡しできることが報告されました。高価な金属錯体を置き換えることや電極からの電子メディエーターの漏出抑制等の効果が期待されます。

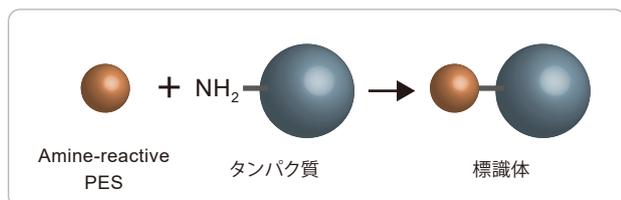


## 参考文献

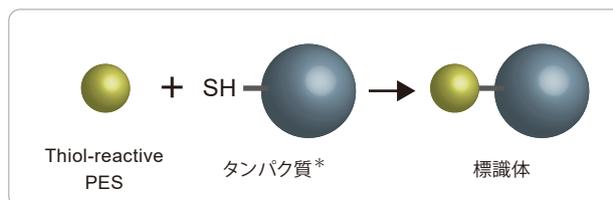
Stefano Ferri, Katsuhiko Kojima and Koji Sode, "Review of Glucose Oxidases and Glucose Dehydrogenases: A Bird's Eye View of Glucose Sensing Enzymes". *Journal of Diabetes Science and Technology*, 2011, 5(5),1068

## タンパク質への標識

アミノ基への標識



チオールへの標識



\* 一般的なタンパク質表面構造にはフリーのチオール (SH) は存在しないため、組み換えタンパク質などを用いる必要があります。Thiol-reactive PES を使用の際には、タンパク質構造を確認の上ご使用ください。

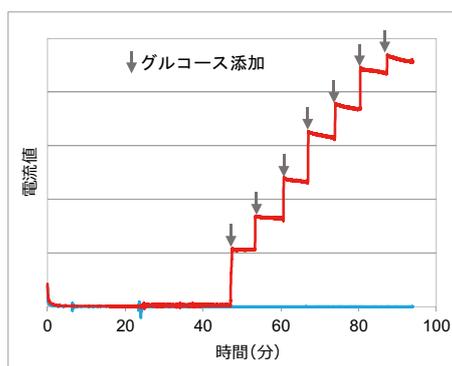
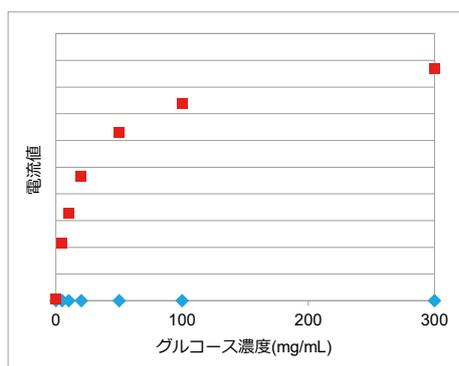
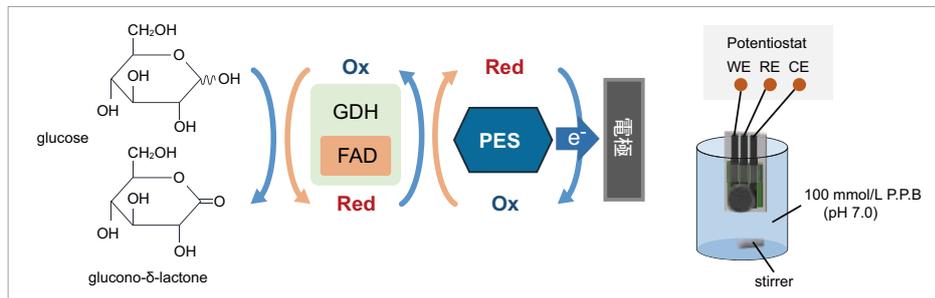
## Amine-reactive PES の酵素修飾手順

酵素と Amine-reactive PES を混ぜるだけの簡単な操作で修飾することができます。



## 測定例 Amine-reactive PES を標識した FAD-GDH を用いたグルコース測定

クロノアンペロメトリー (0 mV vs Ag/AgCl)



— 未標識 FAD-GDH  
— PES 標識 FAD-GDH

FAD: フラビンアデニンジヌクレオチド  
GDH: グルコース脱水素酵素

電子メディエーター修飾 GDH を用いることで未修飾 GDH では不可能なグルコース濃度の定量及びモニタリング測定が可能です。

## GDH 以外にも電子の受渡しが可能

下記酸化還元酵素でも Amine-reactive PES を標識した実績があります。

- 乳酸酸化酵素 (LOx)
- フルクトシルアミノ酸酸化酵素 (FAOx)
- コレステロール酸化酵素 (ChOx)
- ピラノース酸化酵素 (PyOx)

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
1-Methoxy PMS	100 mg	¥ 7,500-	345-04001	M003
	1 g	¥ 46,800-	341-04003	
1-Methoxy PES	50 mg	¥ 20,000-	349-09261	M470
Amine-reactive PES	10 mg	¥ 52,500-	340-09311	A543
Thiol-reactive PES	2 mg	¥ 32,000-	343-09541	T509

1) 記載価格は本体価格のみで、消費税等は含まれておりません。

2) 記載価格はこのパンフレット編集時(2019年2月)における希望納入価格です。予告なしに変更する場合がございますのでご注意ください。

3) 試験・研究用のみに使用するものです。医療用その他の目的には使用できません。

国内販売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

URL : ffwk.fujifilm.co.jp

Free Dial : 0120-052099

Free Fax : 0120-052806

取扱店

製造元・国内問合せ先

株式会社 同仁化学研究所

URL : www.dojindo.co.jp

E-mail : info@dojindo.co.jp

Free Dial : 0120-489548

Tel : 096-286-1515(代表)

受付時間 9:00-17:00(土日祝日を除く)

ドージン・イースト(東京)

Tel : 03-3578-965(代表)