



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ホモステイン修飾Au(111)単結晶電極におけるキラル分子のエナント選択的吸着と電子移動反応の活性化 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	岡, 紗雪
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第15726号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91895
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Sayuki_0ka_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士 (環境科学)

氏 名 岡 紗 雪

学 位 論 文 題 名

ホモシステイン修飾 Au(111)単結晶電極におけるキラル分子のエナンチオ選択的吸着と
電子移動反応の活性化

(Enantioselective adsorption of chiral molecules and activation of electron transfer reactions
at homocysteine-modified Au(111) single crystal electrodes)

キラリティ (対掌性) をもつ分子同士では, その組み合わせによって分子間相互作用 (エナンチオ相互作用) に差が生じることが知られている. キラル分子を表面修飾した電極上において, 別のキラルな酸化還元種の反応では, そのキラル認識に応じて酸化還元電流値が変化する. この変化は, 電極表面と酸化還元種のキラリティの組み合わせによる電子移動速度や電極表面への吸着量変化などに依るものと予想されるが, その起源の詳細は明らかになっていない. また, 酸化還元種の分子サイズが大きくなると, 表面被覆率が低下すると同時に電極表面と酸化還元中心との距離が長くなり, 酸化還元電流値が低下することが知られている. このような電流値の変化が金属タンパク質のような比較的大型なキラル酸化還元種に対しても成り立つのかは不明である.

本研究では, Au (111)およびAu(100)単結晶表面にキラルアミノ酸であるホモシステイン (Hcy) を修飾した電極において, Hcyとキラル中心を持つフェロセン (キラルFc, 直径約 0.8 nm) とのエナンチオ相互作用が酸化還元反応に及ぼす影響を調べた. また, キラル認識に応じた酸化還元電流値の変化の起源を明らかにするために, Hcy修飾Au電極の表面構造を観察した. 次に, キラル酸化還元種のエナンチオ選択的応答性に対する分子サイズの影響を調べるために, Hcyを修飾したAu(111)およびAu(100)単結晶電極を用いて, 生体分子であるシトクロムc (Cyt c, 直径約3 nm) の酸化還元応答やシトクロムc酸化酵素 (CcO, 直径約14 nm) および一酸化窒素還元酵素 (NOR, 直径7 nm)の酵素活性とHcyのキラリティとの相関性を調べた.

Chapter 3では, Hcy修飾Au単結晶電極上でのキラルFcのエナンチオ選択的酸化還元反応における表面原子配列の依存性を調べた. Hcy/Au(111)単結晶電極における電気化学測定したところ, HcyとキラルFcとのキラリティの組み合わせに応じて, エナンチオ選択的な酸化還元ピーク電流の増減が観測された. D-Hcy/Au(111)電極に対するR(+)-FcおよびL-Hcy/Au(111)電極に対するS(-)-Fcのピーク電流密度は, D-またはL-Hcy/Au(111)電極における他方のキラルFcの電流密度よりも増大した. さらに, DL-Hcy/Au(111)およびHcy/Au(100)単結晶電極における酸化還元ピーク電流密度はいずれのキラルFcにおいても同等であった. これらの結果から, Au(111)とAu(100)のAu原子配列の違いが電極界面でのエナンチオ選択的な酸化還元反応に大きな影響を与えたことが示唆される. キラルFcのHcy/Au(111)表面へのエナンチオ選択的な吸着を電気化学測定により評価すると, キラルFcの吸着量は, Au(111)におけるD-またはL-HcyとR(+)-またはS(-)-Fcそれぞれのキラリティの組み合わせによって異なる結果が得られ, キラリティの組み合わせによるキラルFcの吸着量の違いにより, 電極表面の酸化還元

活性部位の表面積が変化し、酸化還元ピーク電流密度が増減したものと考えられる。

Chapter 4では、キラルFcでの結果を踏まえて、Hcy修飾Au単結晶電極において、生体分子Cyt cのエナンチオ選択的酸化還元反応を調べた。分子サイズがキラルFcより大きい生体分子Cyt cにおいても、エナンチオ選択的な酸化還元応答が観測された。D-Hcy/Au(111)電極ではL-Hcy/Au(111)電極におけるCyt cの酸化還元ピーク電流密度よりも増大し、Cyt cにおいても酸化還元ピーク電流密度がHcyのキラリティによって異なることが明らかになった。アキラルな4-mercaptopyridineはタンパク質-電極間の電子移動を促進させるプロモーター分子として知られているが、D-Hcy/Au(111)電極における酸化還元ピーク電流密度は4-mercaptopyridine修飾Au(111)電極よりも約2倍増大した。D-またはL-Hcy/Au(111)表面におけるCyt cの吸着をSTM観察した結果、L-Hcy/Au(111)表面に比べ、D-Hcy/Au(111)表面でのCyt cの吸着量が非常に多いことから、吸着量の違いがエナンチオ選択的な酸化還元反応に影響していることが明らかになった。

Chapter 5では、エナンチオ選択的酸化還元反応におけるHcy修飾Au単結晶電極の表面構造を調べた。Hcyを修飾したAu(111)およびAu(100)単結晶表面において、ストリッピングボルタモグラムのギャップモードを利用した表面増強ラマン散乱測定によりHcyの被覆率および吸着サイトを決定した。Au(111)およびAu(100)表面におけるHcyの被覆率および吸着サイトが表面原子配列によって異なることが示唆された。さらにHcy/Au表面における電気化学走査型トンネル顕微鏡 (EC-STM) による*in situ*観察の結果、Au(111)表面ではHcyが二次元ネットワークを形成しているのに対し、Au(100)表面では分子配列しているものの、二次元ネットワークは観察されなかった。表面原子配列に基づくHcy吸着構造の違いから、Au(111)表面における二次元ネットワークがエナンチオ選択的な酸化還元反応に寄与しているものと考えられる。

Chapter 6では、CcO固定化Hcy修飾Au(111)単結晶電極におけるエナンチオ選択的酸化還元反応および酵素活性への影響を調べた。膜タンパク質CcOにおいてもHcy末端に固定化して電気化学計測したところ、CcOの補因子の酸化還元によるピーク電流密度がHcyのキラリティに応じて異なることがわかった。さらにCcOはO₂をH₂Oへと還元する酸素還元電流が観測でき、L-Hcy/Au(111)電極ではD-やDL-Hcy/Au(111)電極よりもCcOの酸素還元活性が向上した。また、CcOのL-Hcy/Au(111)電極上での酸素還元活性は、COO末端とOH末端のアルカンチオール混合物で修飾したAu(111)電極上での活性よりも高かった。これら酸素還元電流密度の違いはCcOの吸着量に由来することが明らかになった。

Chapter 7では、CcO以外の酵素を固定化したHcy修飾Au(111)単結晶電極におけるエナンチオ選択的酸化還元反応および酵素活性への影響を調べた。例えば、膜タンパク質である一酸化窒素還元酵素 (cNOR) を静電相互作用によりHcyに固定化し、電気化学計測すると、D-Hcy/Au(111)電極ではcNORの補因子に由来する複数の酸化還元電流ピークが観測された一方、L-Hcy/Au(111)電極では単一の酸化還元電流ピークしか観測されず、Hcyのキラリティに応じてピーク電流密度が異なることもわかった。さらにNOをN₂Oに還元する一酸化窒素還元(NOR)電流を測定したところ、cNOR-D-Hcy/Au(111)電極ではcNOR-L-Hcy/Au(111)電極よりもNOR活性が大幅に向上した。

結論として、本研究の結果から、電極表面にエナンチオ選択的にキラル酸化還元種が吸着し、その吸着量の違いによってキラルFcやCyt c、膜タンパク質CcOやNORの酸化還元電流値が増大することが明らかになった。Au(111)表面にキラリティを持つ分子を修飾した電極を用いることで、今まで困難であった様々なタンパク質の酸化還元波の直接観測が可能になるだけでなく、タンパク質-電極間の電子移動反応を活性化させることができ、高活性な酵素修飾電極やバイオ燃料電池への応用が期待できる。