



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チオ選択的吸着と電子移動反応の活性化 [全文の要約]
Author(s)	岡, 紗雪
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
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/2115/91896
Type	doctoral thesis
File Information	Sayuki_Oka_summary.pdf



学位論文内容の要約

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よ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) がキラリティの組み合わせによって酸化還元挙動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(111)およびAu(100)電極の表面構造を観察した。

次に、酸化還元種の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。

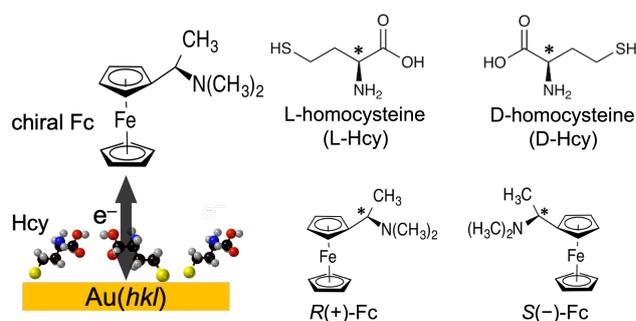


Figure 1. Hcy修飾Au(111)およびAu(100)電極におけるキラルFcの反応系

Chapter 3では、Hcy修飾Au単結晶電極上での表面原子配列がキラルFcの酸化還元挙動に及ぼす影響を調べた (Figure 1). Hcy/Au(111)単結晶電極において、キラルFcを含む電解質溶液中で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、酸化還元ピーク電流密度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 (Figure 2). 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原子配列によるHcyの吸着構造の違いが電極界面でのキラル認識による酸化還元挙動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)表面への吸着量を評価するために、キラルFcの電気化学測定後にキラルFcを含まない電解質溶液中で電気化学測定すると、吸着したキラルFcの酸化還元ピークが観測された (Figure 3). 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ピーク電流密度が異なり、キラルFc含む電解質溶液中での酸化還元挙動の傾向と一致している. HcyとキラルFcのキラル認識によるキラルFcの吸着量の違いによって、電極表面の酸化還元活性サイトの表面積を変化し、ピーク電流密度が増減した. さらに、Hcy/Au(111)表面に吸着したキラルFcの吸着種は、拡散してきたキラルFcへの電子移動をメディエートするものと考えられる. したがって、Hcy/Au(111)とキラルFcとのキラル認識による酸化還元挙動は、R(+)-またはS(-)-Fcの電極上への吸着量に由来しているものと考えられる.

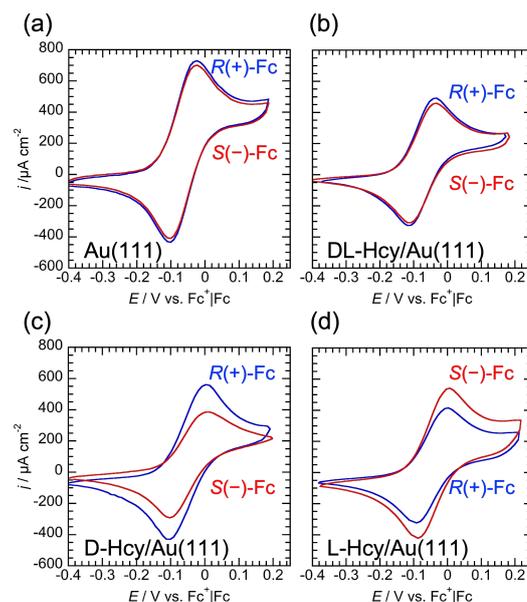


Figure 2. (a) 未修飾Au(111), (b) DL-Hcy, (c) D-Hcyおよび(d) L-Hcy修飾Au(111)電極におけるキラルFcの酸化還元挙動

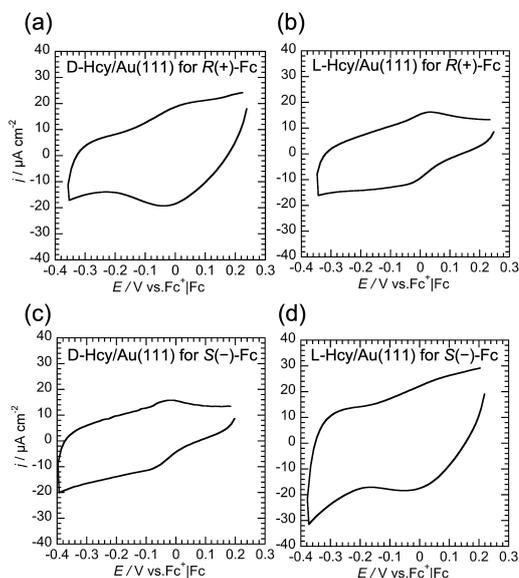


Figure 3. R(+)-Fcの電気化学測定後の(a) D-Hcy/Au(111)および (b) L-Hcy/Au(111)電極、S(-)-Fcの電気化学測定後の(c) D-Hcy/Au(111)および (d) L-Hcy/Au(111)電極における電気化学挙動

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のキラル認識による酸化還元挙動を調べた。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、Hcyのキラリティに応じた酸化還元挙動が観測された。D-Hcy/Au(111)電極では、DL-Hcy/Au(111)電極や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。キラリティによる影響を調べるためにアキラルな4-mercaptobutyric acid (4-MBA)をAu(111)表面に修飾した電極とD-Hcy/Au(111)電極におけるCyt cの酸化還元ピーク電流密度を比較すると、D-Hcy/Au(111)電極の方が電流密度が約3倍増幅した。さらに、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。Cyt cにおいてもD-またはL-Hcy/Au(111), DL-Hcy/Au(111), 4-MBA/Au(111)電極表面におけるCyt cの吸着量の違いを評価するために、Cyt cの電気化学測定後にCyt cを含まない電解質溶液で電気化学測定すると、D-Hcy/Au(111), DL-Hcy/Au(111), 4-MBA/Au(111)電極においては、吸着したCyt cの酸化還元ピークが観測された。還元ピーク電流量からCyt cの吸着量を見積もると、D-Hcy/Au(111)>DL-Hcy/Au(111)>4-MBA/Au(111)の順に異なっていることがわかった。Cyt cの酸化還元応答を計測後のCyt cの吸着量の傾向は、Cyt cを含む電解質溶液中での酸化還元挙動の傾向と一致している。さらに、Cyt cを吸着させたD-およびL-Hcy/Au(111)表面を電気化学走査型トンネル顕微鏡 (EC-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2.6倍多いことがわかった。したがって、Hcy/Au(111)電極においてキラル認識によるCyt cの酸化還元挙動は、D-またはL-Hcy/Au(111)表面の吸着量の違いが影響していることが明らかになった。Cyt cにおいても、Hcy/Au(111)とCyt cのキラル認識によって、電極表面におけるCyt cの吸着量が異なり、Cyt cの吸着種が拡散してきたCyt cの電子移動をメデイエートすることによって酸化還元ピーク電流密度が増幅しているものと考えられる。

Chapter 5では、キラル認識による酸化還元挙動における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および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

さらにD-Hcy/Au表面においてEC-STMによる*in situ*観察の結果、D-Hcy/Au(111)では、Au(111)テラス上にエッチングピットを伴う小さな秩序化したドメインが形成され、Hcyの二次元ネットワーク構造が観察された (Figure 4a)。D-Hcy/Au(100)においては、D-Hcy分子の吸着は特徴的なストライプを形成し、二次元ネットワーク構造は観察されなかった (Figure 4b)。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

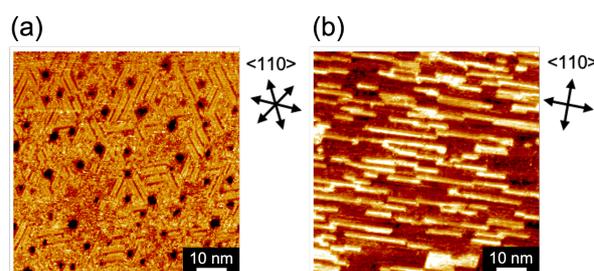


Figure 4. (a) Au(111)と (b)Au(100)表面におけるD-Hcyの吸着構造

ットワークがキラル認識による酸化還元挙動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キラル認識による酸化還元挙動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由来す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 O_2 を H_2O へと還元する酸素還元電流が観測された。これら酸素還元電流密度の違いはCcOの吸着量が関係しているものと考えられる。

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キラル認識による酸化還元挙動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に固定化して電気化学計測すると、Hcyのキラリティに応じてcNORの補因子の酸化還元と考えられるピーク電流密度が変化した。さらにNOを N_2O に還元する一酸化窒素還元(NOR)電流を測定したところ、Hcy/Au(111)とcNORのキラル認識によってNO還元活性が異なることが明らかになった。

結論として、本研究の結果から、Hcy/Au(111)電極表面では、キラル認識によって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の酸化還元ピーク電流密度が増幅することが明らかになった。さらに、膜タンパク質CcOやNORにおいても、Hcy/Au(111)とのキラル認識によって補因子の酸化還元由来するピーク電流値や酵素活性が変化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。