

シトクロム *c* 酸化酵素修飾電極における擬似生体膜の構築および シトクロム *c* 会合のその場観察

○佐野 綾哉¹, 吉田 生未¹, 加藤 優^{1,2}, 八木 一三^{1,2}

¹北海道大学大学院環境科学院, ²北海道大学大学院地球環境科学研究院

In Situ Observation of Lipid Bilayer Construction and Cytochrome *c* Binding on Cytochrome *c* Oxidase Modified Electrode

○Ryoya Sano¹, Narumi Yoshida¹, Masaru Kato^{1,2}, Ichizo Yagi^{1,2*}

¹Grad. School Environ. Sci., Hokkaido Univ., ²Fac. Environ. Earth Sci., Hokkaido Univ.,

1. 緒言

タンパク質は他のタンパク質や生体高分子との相互作用によってその機能を発揮するものも多く存在する。シトクロム *c* 酸化酵素 (CcO) もその一つであり、酸素呼吸生物の主なエネルギー生産過程である呼吸鎖の末端に位置し、シトクロム *c* (Cyt *c*) から電子を供給されることで酸素を還元して水に変換し、呼吸鎖電子伝達系を終結させる重要な役割を果たしている。しかしながら、タンパク質同士の相互作用は完全に解き明かされているわけではなく、新薬や生体模倣触媒開発などの観点からその原理解明が求められている。

表面増強赤外吸収 (SEIRA) 分光計測には表面選択律が存在し、電極表面と垂直な方向に振動する分子を選択的に捉えられる。CcO のような膜タンパク質の場合、膜貫通部位に見られる α -ヘリックス構造由来のアミド I/II バンドのピーク強度比から、表面配向の議論が可能である。そのため、固定化した CcO の配向が Cyt *c* との会合にどのような影響を与えるのか測定することができる。本研究では、自己組織化単分子膜 (SAM) を介して金電極表面に CcO を固定化し、脂質二分子膜 (BLM) 中における Cyt *c* との会合過程を SEIRA 分光計測によって追跡した。

2. 実験

無電解めっき法により Si prism 表面に作製した金薄膜に SAM を形成した。SAM は 3-mercaptopropionic acid (MPA) または 3-mercapto-1-propanol (MPL) のアルカンチオールを用いて、MPA と MPL の比率の異なる混合 SAM を調製した¹⁾。アミド結合形成試薬を用いてカルボキシ基末端に CcO を固定化し、1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DMPC) をリン脂質とした

BLM を構築した²⁾。BLM 構築した電極表面に対し、Cyt *c* をキャストし、CcO との会合過程を SEIRA 分光計測により追跡した。

3. 結果

Cyt *c* と CcO の会合過程を追跡した結果、Cyt *c* 由来の 1650 cm⁻¹ および 1450 cm⁻¹ に観測されるアミド I, II のバンド強度がそれぞれ正方向に増大した (Fig. 1)。このことから、BLM を構築した電極上に対する Cyt *c* の吸着が示唆された。しかしながら、最終的なアミド I, II のバンド強度は SAM の組成比に大きく依存した。カルボキシ基末端の多い MPA:MPL=3:1 の SAM を用いた際に CcO の Cyt *c* 吸着サイトが溶液側に露出していることが示唆された。また、BLM を構築した CcO 固定電極を用いて酸素雰囲気下において電気化学計測を行うと、酸素還元電流が観察され、Cyt *c* と会合させることで酸素還元電流が増加した。

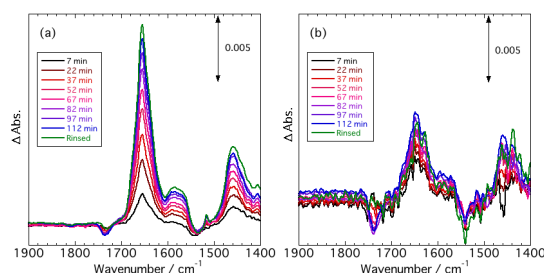


Fig. 1. (a) MPA:MPL=3:1 および(b) 3:1 の SAM に固定化された CcO に対する Cyt *c* 会合過程の SEIRA 差スペクトルの経時変化。Cyt *c* キャスト時刻を $t = 0$ min として測定、バックグラウンド : Cyt *c* キャスト前のスペクトル。

文 献

- 1) M. Kato *et al*, *J. Phys. Chem. Lett.*, **9**, 5196 (2018).
- 2) M. Kato *et al*, *Electrochim. Acta*, **373**, 137888 (2021).

*E-mail: iyagi@ees.hokudai.ac.jp