

Title	化学修飾チトクロム C の有機溶媒系酸化還元反応
Author(s)	小出, 哲
Citation	
Issue Date	1996-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/2260
Rights	
Description	材料科学研究科, 修士

化学修飾チトクロム c の有機溶媒系酸化還元反応

小出 哲 (横山研究室)

【目的】

タンパク質などの生体分子を電気化学的に酸化還元することができれば、酵素電解合成反応やバイオエレクトロニクス素子などに応用することができる。この電気化学的手法による不均一系酸化還元反応は、現在までにチトクロム c などの電子伝達タンパク質で実現しているが、有機溶媒中での電子伝達機構についてはあまり研究されていない。そこで本研究ではチトクロム c をポリエチレングリコール (PEG) によって化学修飾し、水溶液中及び有機溶媒中における電気化学特性及び電極の違いによる電気化学特性について調べた。また、有機溶媒中での酸化還元反応について分光学的な測定によって確認した。

【実験】

1. PEG 修飾チトクロム c の調製

モノメトキシポリエチレングリコールを塩化シアヌルと反応させ活性化 PEG を合成し、チトクロム c のリジン残基と反応させた。未反応のチトクロム c 及び活性化 PEG を除去後、凍結乾燥により粉末状の PEG 修飾チトクロム c を得た。

2. 化学修飾チトクロム c の電気化学特性

電気化学測定は、ポテンショスタットを使用した三電極法のサイクリックボルタンメトリーにより行った。作用極としてグラッシーカーボン、PFC (Plastic Formed Carbon) 金、白金電極を用い、ファラデーケージによりセルを静電シールドして行った。

3. 化学修飾チトクロム c の酸化還元反応

分光測定は波長を 600nm から 350nm までスキャンさせ、未修飾、PEG 修飾チトクロム c の酸化体及び還元剤の吸光度変化を測定した。各還元剤の濃度は 100mM で行い、チトクロム c の濃度は未修飾、PEG 修飾チトクロム c とともに 1.6mM で行った。

CD 測定は、波長を酸化還元反応では 600nm から 240nm まで、 α ヘリックス構造変化の確認では 240nm から 180nm までをスキャンさせ、未修飾、PEG 修飾チトクロム c の酸化体及び還元剤添加後の CD スペクトル変化について測定した。各還元剤の濃度は 100mM で行い、チトクロム c の濃度は未修飾、PEG 修飾チトクロム c とともに 4mM で行った。

【結果および考察】

1. 化学修飾チトクロム c の電気化学特性

水溶液中での PEG 修飾チトクロム c は、未修飾チトクロム c と同様に種々の電極との間で直接電子移動反応を行うことが明らかとなった。また、PEG 修飾チトクロム c は未修飾チトクロム c に比べ金属電極での DE_p が狭くなり、PEG 修飾チトクロム c の方が金属電極において反応速度が速くなったと考えられる。水-ジメチルスルホキシド混合溶液中での PEG 修飾チトクロム c は、含有有機溶媒率が 40 % まで酸化還元反応が確認された。また、エチレングリコール中では、還元反応のみ確認することができた。

2. 化学修飾チトクロム c の酸化還元反応

水溶液中での PEG 修飾チトクロム c の酸化体及び還元剤添加後の吸光度変化は、未修飾チトクロム c ものと比較してほぼ同じ結果となった。これは、PEG 修飾チトクロム c が還元剤によって還元されたことを意味する。同様に CD スペクトル変化でも還元したことは確認できたが、PEG 修飾による若干の立体構造変化がみられた。しかし、CD 測定による α ヘリックスの構造変化はみられなかった。トルエン中での PEG 修飾チトクロム c の吸光度変化は、水溶液中での結果と比較してほぼ同じものとなり、PEG 修飾チトクロム c が還元剤によって還元されたことが明らかとなった。また、電気化学測定と同様に吸光度変化でも水-エタノール混合溶液中では、含有有機溶媒率が 40 % まで還元されたことが明らかとなった。

keywords

direct electrochemistry, cytochrome c, organic solvent, redox reaction