

[NiFe]ヒドロゲナーゼ固定化電極をプローブとして利用した酵素基質複合体の電子移動測定

(東京科学大学 生命理工¹) ○池田 琉人¹・山本 大地¹・下古立 晋¹・朝倉 則行¹
 Measurement of electron transfer of enzyme-substrate complex using [NiFe]hydrogenase immobilized electrode as a probe (Institute of Science Tokyo¹) ○Ruto Ikeda¹, Taichi Yamamoto¹, Shin Shimohurutachi¹, Noriyuki Asakura¹

Cytochrome c_3 is a redox protein containing four hemes in one molecule and a substrate for [NiFe]hydrogenase. [NiFe]hydrogenase accepts and donates electrons via [4Fe-4S] cluster located on the surface of the molecule, catalyzing both hydrogen evolution and uptake. During hydrogen uptake, the [4Fe-4S] cluster is probably close to Heme I of cytochrome c_3 . In this study, the electron transfer between [NiFe]hydrogenase and cytochrome c_3 was directly measured. [NiFe]hydrogenase-immobilized microelectrode was used as a probe electrode and cytochrome c_3 were immobilized on substrate electrode so that Heme I faced the solution side. In order to make [NiFe]hydrogenase contact with cytochrome c_3 , the probe electrode was close to the substrate electrode, by nano meter, and electrochemical measurement was performed.

Keyword: [NiFe]hydrogenase, cytochrome c_3 , electron transfer, scanning electrochemical microscopy, redox protein

シトクロム c_3 は分子内に 4 つのヘムを有する酸化還元タンパク質であり、生体内で[NiFe]ヒドロゲナーゼの電子伝達体として働いている。[NiFe]ヒドロゲナーゼは水素発生反応、水素吸収反応を触媒し、分子表面にある[4Fe-4S]クラスターが電子授受を行っている。水素吸収反応では、Heme Iが[4Fe-4S]クラスターに近接した際に電子移動が進行すると予想される。本研究ではシトクロム c_3 と[NiFe]ヒドロゲナーゼ間の電子移動を直接測定し、電子移動特性を調べることを目的とした。この測定のために[NiFe]ヒドロゲナーゼ固定化微小電極をプローブとして用いた。Fig.1 のようにシトクロム c_3 固定化基盤電極にプローブ電極をナノメートルスケールで接近させ、分子同士を接触させた状態で電気化学測定を行った。[4Fe-4S]クラスターを Heme Iに近接させるために、Heme Iが溶液側となる配向でシトクロム c_3 を固定化した。Fig.2 では基盤電極に 0.04 V を印加し、シトクロム c_3 を酸化型にして微小電極のサイクリックボルタメトリーを行った。 -0.20 V より低電位でカソード電流が増加した。[NiFe]クラスターの酸化還元電位の -0.16 V よりも低い範囲でカソード電流が流れたことから[NiFe]ヒドロゲナーゼからシトクロム c_3 への電子移動が進行することが分かった。

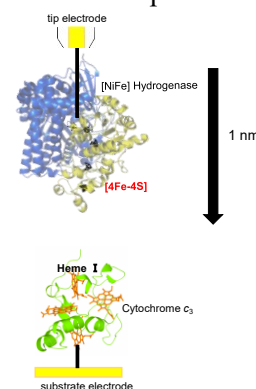


Fig. 1 Schematic representation of tip electrode and substrate electrode.

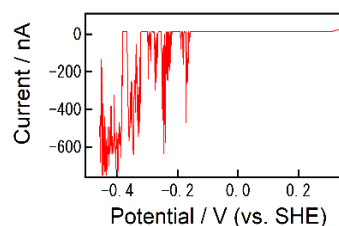


Fig. 2. Cyclic voltammogram of tip electrode. Substrate electrode potential is held at 0.04V