

化学修飾ヘムタンパク質の光ダイナミクスに関する研究

Photophysical property of chemically-modified hemoprotein

塚原 敬一¹⁾ 高島 弘¹⁾ 村上 洋²⁾

Keiichi TSUKAHARA Hiroshi TAKASHIMA Hiroshi MURAKAMI

¹⁾奈良女子大学 ²⁾原子力機構

ヘムタンパク質の補因子であるポルフィリンに着目し、金属錯体を化学修飾した亜鉛ポルフィリン、および亜鉛ポルフィリンをアポミオグロビンに再構成して得られる、亜鉛ミオグロビンについて蛍光寿命測定を行い、種々の金属錯体形成に伴う消光反応ダイナミクスを明らかにした。

キーワード：ヘムタンパク質、光電子移動、蛍光寿命、金属錯体、亜鉛ポルフィリン

1. 目的 本研究の最終的な目的は、ヘムタンパク質表面への金属錯体化学修飾反応によってヘムタンパク質-DNA 複合体を形成させ、その複体内光誘起電子移動反応・エネルギー移動反応特性を詳細に検討することである。本研究課題における具体的実験は、平成 18 年 12 月以降に開始したが、これまでに金属錯体修飾ヘムタンパク質の蛍光寿命測定における最適な測定条件（レーザー、観測波長、時間領域、試料濃度等）を決定するため、ヘムタンパク質の補因子であるポルフィリンに着目し、金属錯体を化学修飾した亜鉛ポルフィリンを用いた蛍光寿命測定を行った。本期間の実験では、亜鉛ポルフィリンをアポミオグロビンに再構成して得られる、亜鉛ミオグロビン(ZnMb)について蛍光寿命測定を行った。

2. 方法 ヘムタンパク質の補因子となる亜鉛ポルフィリンのプロピオン酸末端に金属イオンキレート剤であるエチレンジアミン四酢酸(EDTA)を導入した化合物(ZnP(EDTA))は、容易に水に溶解し、アポミオグロビンへ再構成された。この再構成ミオグロビン(ZnMb(EDTA))は、水溶液中 600-700nm の領域に励起一重項由来の強い蛍光を示す。この蛍光は、EDTA と銅、コバルトの様な二価遷移金属イオンとの選択的な錯形成により消光される。そこでこの消光過程ダイナミクスについて、光量子施設内フェムト秒レーザーシステム(CPA1000)を用いた蛍光寿命測定を行った。

3. 研究成果 上記の測定より、ZnMb(EDTA)の蛍光寿命は 1.3 ns (25%)、2.5 ns (75%)の値が得られ、これまでに測定した亜鉛ポルフィリン(ZnP(EDTA))系と比較すると長寿命であることがわかり、また ZnMb 本来の蛍光寿命 2.2 ns と比較して短寿命成分が見出されたことから、EDTA 側鎖の導入によって ZnMb の蛍光が消光されることがわかった。さらに、銅、コバルト等による金属錯体の形成によって、それぞれの金属イオンに依存した消光反応速度定数(銅： $2.0 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ 、コバルト： $0.16 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$)を与えることが明らかとなった。

4. 結論・考察 金属イオン存在下、不在下における ZnMb(EDTA)の蛍光寿命測定結果は、ZnMb の蛍光スペクトル測定から見積もられた EDTA と金属イオンの親和性にほぼ対応することがわかり、興味深い知見を得た。またそれらの分子内消光反応速度定数は、亜鉛ポルフィリン(ZnP(EDTA))のもの($0.19\text{-}5.2 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$)よりやや小さい値が得られ、ZnMb(EDTA)ではドナー-アクセプター間の距離が実際には長くなっているものと考えられる。現在、ヘムタンパク質-DNA 複合体の構築にあたり、白金錯体を化学修飾したシトクロム c について、その蛍光寿命測定をあわせて進めている。

5. 引用(参照)文献等

Synthesis and Photophysical Property of Zinc Myoglobin Appending An Ethidium Ion as A DNA Intercalator

Hiroshi Takashima, Yukiko Matsushima, Yasuyuki Araki, Osamu Ito, Keiichi Tsukahara, *J. Biol. Inorg. Chem.*, in press.