化学修飾ヘムタンパク質の光ダイナミックスに関する研究

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ッ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、その複合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。本研究課題においては、随時申請のため、具体的実験は平成 18 年 12 月以降に開始した。そこでまず、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い、その後、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(ZnPL)は、水溶液中 600-700nm の領域に亜鉛ポルフィリン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錯形成により消光される。そこでこの消光過程ダイナミックスについて、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。この結果を基に、ZnPL をアポミオグロビンに再構成した ZnMb(EDTA)についても測定を行った。

３．研究成果　上記の測定より、ZnPL の蛍光寿命は 1.0 ns (31%)、2.5 ns (69%)と 2 成分解析され、EDTA 側鎖の導入によって亜鉛ポルフィリンの蛍光が消光されることがわかった。また、銅、コバルト等 6 種類に及ぶ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(0.19-5.2 x 10^9 s^{-1})を与えることが明らかとなった。また ZnMb(EDTA)については 1.3 ns (25%)、2.5 ns (75%)の蛍光寿命が得られ、亜鉛ミオグロビン(ZnMb)の蛍光寿命 2.2 ns と比較して短寿命成分の存在が明らかとなった。

４．結論・考察　種々の遷移金属イオン存在下における ZnPL の蛍光寿命測定結果は、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。また再構成亜鉛ミオグロビンにおいては、EDTA の導入により、亜鉛ミオグロビンの蛍光消光が起こることが分かった。現在、EDTA 部位に金属錯体を形成させた亜鉛ミオグロビンの蛍光寿命測定を継続して行っており、その電子移動・エネルギー移動消光反応機構の解明を行っている。
また、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* についても、蛍光寿命測定をあわせて進めている。

５．引用(参照)文献等

Photoinduced Intramolecular Electron-Transfer Reactions of Reconstituted Met- and Zinc-Myoglobins Appending Acridine and Methylacridinium Ion as DNA-Binders
Hiroshi Takashima, Chisako Tara, Sachiko Namikawa, Tomoko Kato, Yasuyuki Araki, Osamu Ito, Keiichi Tsukahara, *J. Phys. Chem. B*, **2006**, *110*, 26413-26423.