

平成 21 年 5 月 11 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007-2008

課題番号：19550064

研究課題名 (和文) 金属錯体および化学修飾金属蛋白質の光誘起電子移動

研究課題名 (英文) PHOTOINDUCED ELECTRON TRANSFER OF METAL COMPLEXES AND CHEMICALLY MODIFIED METALLOPROTEINS

研究代表者

塚原 敬一 (TSUKAHARA KEIICHI)

奈良女子大学・理学部・教授

研究者番号：70112117

研究成果の概要：

本研究では、光機能素子としての亜鉛ポルフィリンやルテニウム(II)・イリジウム(III)錯体及び電子伝達可能なビオローゲン・アクリジン等の有機化合物の複合体を合成・開発し、これらを材料としてミオグロビンやカルボニックアンヒドラーゼ等の金属蛋白質へ組み入れた半人工蛋白質を合成した。また、これらの複合体を DNA に組み入れた超分子複合体の構築に成功し、光電子移動反応及びエネルギー移動反応機構を解明した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学・無機化学

キーワード：ヘム蛋白質、エチレンジアミン四酢酸、電子移動反応、エネルギー移動反応、イリジウム(III)錯体、DNA、アクリジン、ビオローゲン

1. 研究開始当初の背景

電子移動反応は電子供与体と受容体が長距離でも情報伝達を行う重要な化学反応の一つである。特に、生体内における電子移動反応は、呼吸・代謝など生命を維持する重要な化学反応を司っており、その反応機構の解明は重要な研究課題である。生体内では複数の蛋白質を含む大きなマトリックス内に電子供与体と電子受容体が配向と距離を固定されて配置されており、これらは巨大な一分子を形成することによって高効率な

電子移動反応系を構築している。特に、活性中心にヘム(鉄(II)ポルフィリン錯体)を含むヘム蛋白質は生体内電子伝達系で重要な役割を担っており、たとえばシトクロム *c* などの一部のヘム蛋白質は、膜表面を移動して電子移動のパートナーを立体選択的に認識して蛋白質複合体を形成し電子移動を行っている。そのため、これまでヘム蛋白質を利用した数多くの生体内電子移動モデル反応系が国内外で構築され、電子移動反応速度を支配する要因が検討されてきた。我々は、

ミオグロビンやシトクロム *c* などのヘム蛋白質の活性中心であるヘムや蛋白質表面を化学修飾した修飾蛋白質を利用し、生体類似電子移動反応のモデルを構築することにより、電子移動反応速度に及ぼす電子供与体と電子受容体間の配向と距離依存性の解明を行ってきた。また、ヘム蛋白質は、その中心金属を鉄から亜鉛やマグネシウムに置換することにより、光機能活性なヘム蛋白質へと機能変換できることに着目し、金属置換ミオグロビンの光誘起電子移動反応についても詳細に検討を行っている。

2. 研究の目的

本研究では、我々がこれまでに確立した錯体化学の研究手法を基盤として、光機能素子としての金属ポルフィリンや金属錯体、あるいは電子伝達可能な有機化合物の複合体を合成・開発し、これらを材料として蛋白質へ組み入れた半人工蛋白質の合成、及びこれを DNA に組み入れた超分子複合体の構築と電子移動機構を解明することを目的としている。さらに、その反応機構を速度論的にアプローチすることによって、金属蛋白質の人工的光機能化や機構解明について詳細に検討する。このような活性中心に金属錯体を含む蛋白質の電子移動は、活性中心の配位構造変化がきわめて重要であり、錯体化学からのアプローチが必要である。

3. 研究の方法

具体的な金属錯体や化学修飾ヘム蛋白質の設計指針は次の3点である。

(1) 配位化合物の特性を生かしたヘム蛋白質複合体の構築と光特性

配位化合物の多様な配位様式と立体化学に着目してその特性を生かした化学修飾金属蛋白質複合体の構築と構造制御を行い、複体内電子移動反応を含んだ光特性について検討する。具体的には、種々の金属イオンを活性中心近傍に取り込めるようにデザインした金属キレート剤(エチレンジアミン四酢酸 EDTA など)を結合させたヘムや発光性のルテニウム(II)・イリジウム(III)錯体の合成とミオグロビンへの再構成を行い、複体内電子移動反応を検討する。

(2) ヘム蛋白質-DNA 複合体の電子移動

ミオグロビンやシトクロム *c* の表面に白金(II)錯体を化学修飾し、次に、DNA と白金(II)錯体との結合を利用してヘム蛋白質-DNA 複合体の構築を行う。蛋白質への組み入れの第2の方法としてDNAへ結合可能なアクリジンなどのインター

カレーターや共有結合できる白金(II)錯体をポルフィリンに結合させたダイアッドの合成を行う。次いで、金属ポルフィリンへ変換後、金属ポルフィリンをアポミオグロビンに再構成させて化学修飾ミオグロビンを合成し、最後に、インターカレーター部位とDNAとの結合による複合体の構築を行う。金属の交換により熱及び光誘起電子移動反応の検討を行う。

(3) ヘム蛋白質の電子移動反応特性を生かした分子情報伝達

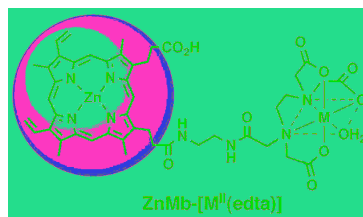
ヘム蛋白質表面の不斉場を認識するキラルな電子キャリアーとして光学活性アクリジン、キノリン誘導体、及びビオローゲン合成し、電子移動反応に対する立体選択性を検討する。

4. 研究成果

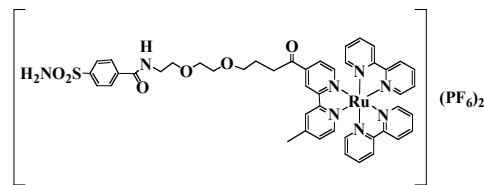
本研究では、光機能素子としての金属ポルフィリンや金属錯体、あるいは電子伝達可能な有機化合物の複合体を合成・開発し、これらを材料として蛋白質へ組み入れた半人工蛋白質の合成、及びこれをDNAに組み入れた超分子複合体の構築と電子移動機構を解明することを目的とし、次の3項目に関する知見を得た。

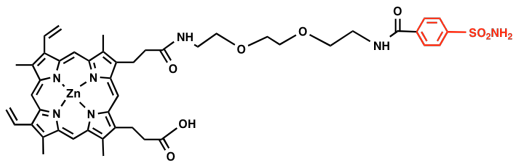
(1) 配位化合物の特性を生かしたヘム蛋白質複合体の構築と光特性

金属キレート剤(エチレンジアミン四酢酸)を結合させたヘムを合成し、これを再構成した亜鉛ミオグロビン複合体のMn(II)、Co(II)、Ni(II)、Cu(II)イオン共存下における電子移動反応及びエネルギー移動反応の機構を高速光反応測定システムを用いて解明した(論文④⑤、学会発表⑱⑳)。



また、炭酸脱水酵素であるカルボニックアンヒドラーゼ(CA)の阻害剤として亜鉛(II)ポルフィリンを含むスルホンアミド誘導体を合成し、亜鉛ミオグロビン-CA複合体を新規に構築した(学会発表①②⑨⑭)。



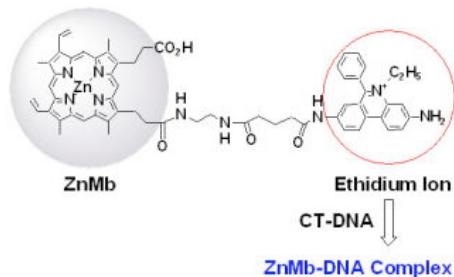


酸化還元性の生体関連物質であるアスコルビン酸を基質として結合能力を持つヘム酵素であるアスコルビン酸ペルオキシダーゼのモデル蛋白質として、グアニジニウム基を結合させた金属ポルフィリンを新規に合成し、これを再構成させた化学修飾ミオグロビンを構築した (学会発表⑥⑮)。

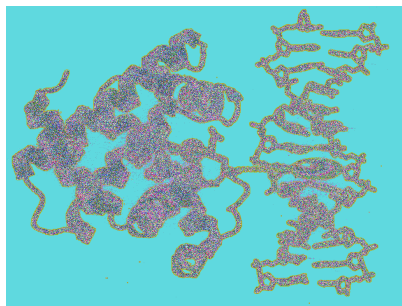
さらに、発光性イリジウム(III)及びルテニウム(II)錯体を合成し、そのX線結晶構造解析による構造とDFTによる理論計算との比較により、その発光特性を解明した (論文①②③⑧、学会発表④⑧⑬⑰⑳㉑)。これらの発光性金属錯体を金属蛋白質へ組込むことにより、新規発光性人工蛋白質を構築することが可能である。

(2)ヘム蛋白質-DNA複合体の電子移動

ヘム蛋白質であるミオグロビンやシトクロムcの表面及び活性中心に白金(II)錯体やエチジウム誘導体を化学修飾し、これらの修飾体とDNAとの結合を利用してヘム蛋白質-DNA複合体の構築を行った。

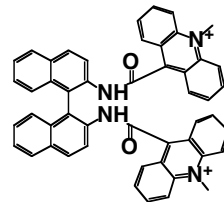


また、これらの複体内での光誘起電子移動反応及びエネルギー移動反応機構について蛍光分光法により解明した (論文⑥⑦、学会発表⑤⑦⑪⑫⑱㉒)。



(3)ヘム蛋白質の電子移動反応特性を生かした分子情報伝達

ヘム蛋白質表面の不斉場を認識するキラルな電子キャリアーとして光学活性アクリジン及びビオローゲンを合成し、ミオグロビンの活性中心のヘム鉄を亜鉛に置換した亜鉛ミオグロビンの光励起三重項との光誘起電子移動反応の機構及び立体選択性の原因を解明した (学会発表③⑩⑯)。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

①N. Yoshikawa, S. Yamabe, N. Kanehisa, T. Inoue, H. Takashima, K. Tsukahara, Detailed description of the metal-to-ligand charge-transfer state in monoterpyridine Ir^{III} complexes, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2009**, 2067-2073, 査読有

②N. Yoshikawa, S. Yamabe, N. Kanehisa, H. Takashima, K. Tsukahara, A metal free blue emission by the protonated 2,2':6',2''-terpyridine hexafluorophosphate, *J. Phys. Org. Chem.*, **22**, 410-417 (2009), 査読有

③N. Yoshikawa, S. Yamabe, N. Kanehisa, Y. Kai, H. Takashima, K. Tsukahara, Structures of polypyridine mononuclear Ir^{III} complexes in the ground state and the lowest triplet state, *Inorg. Chim. Acta*, **362**, 361-371 (2009), 査読有

④H. Takashima, H. Kawahara, M. Kitano, S. Shibata, H. Murakami, K. Tsukahara, Metal ion dependent fluorescent dynamics of photoexcited zinc-porphyrin and zinc-myoglobin modified with ethylenediaminetetraacetic acid, *J. Phys. Chem., B*, **112**, 15493-15502 (2008), 査読有

⑤高島弘, 川原裕恵, 北野美穂, 塚原敬二, 村上洋, エチレンジアミン四酢酸を修飾した亜鉛ミオグロビンの光ダイナミクス, 第8回光量子科学研究シンポ

ジウム論文集, 69-72 (2008), 査読無
⑥ H. Takashima, E. Fujimoto, C. Hirai, K. Tsukahara, Synthesis and spectroscopic properties of reconstituted zinc-myoglobin appending a DNA-binding platinum(II) complex, *Chem. Biodiv.*, **5**, 2101-2112 (2008), 査読有
⑦ H. Takashima, Y. Matsushima, Y. Araki, O. Ito, K. Tsukahara, Synthesis and photophysical properties of zinc myoglobins appending an ethidium ion as a DNA intercalator, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **13**, 171-181 (2008), 査読有
⑧ N. Yoshikawa, S. Yamabe, N. Kanehisa, Y. Kai, H. Takashima, K. Tsukahara, Synthesis, characterization, and DFT investigation of Ir^{III} tolylterpyridine complexes, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2007**, 1911-1919, 査読有

[学会発表] (計 23 件)

① 福田美紗, 中垣芙美恵, 尾形知子, 高島弘, 塚原敬一, トリスビビリジン型ルテニウム(II)錯体を導入したカルボニックアンヒドラーゼ阻害剤による活性制御, 日本化学会第 89 春季年会, 2009 年 3 月 28 日, 船橋
② 中川麻美, 高島弘, 塚原敬一, ベンゼンスルホンアミドを修飾した亜鉛ポルフィリンの合成と性質, 日本化学会第 89 春季年会, 2009 年 3 月 28 日, 船橋
③ 柴田早斗未, 関口由佳, 齋藤薫, 山田薫, 高島弘, 塚原敬一, 光学活性アクリジニウムイオンと亜鉛ミオグロビンとの光誘起電子移動反応, 日本化学会第 89 春季年会, 2009 年 3 月 28 日, 船橋
④ 吉川直和, 山邊信一, 金久展子, 井上豪, 高島弘, 塚原敬一, ターピリジン配位子を有するイリジウム(III)錯体の MLCT 状態の実験及び理論的検討, 日本化学会第 89 春季年会, 2009 年 3 月 27 日, 船橋
⑤ H. Takashima, M. Kitano, C. Hirai, H. Murakami, K. Tsukahara, Photophysical and DNA-binding properties of cytochrome *c* modified with a platinum(II) complex, The IUMRS International Conference in Asia 2008, 2008 年 12 月 11 日, 名古屋
⑥ 瀬川智帆, 加藤智子, 高島弘, 塚原敬一, グアニジニウム基を活性部位に修飾した再構成ミオグロビンの調製と性質, 第 58 回錯体化学討論会, 2008 年 9 月 22 日, 金沢
⑦ 高島弘, 北野美穂, 平井千晴, 村上洋, 塚原敬一, 白金(II)錯体修飾シトクロム *c* の光特性および DNA 結合評価, 第 3 回バ

イオ関連化学合同シンポジウム, 2008 年 9 月 19 日, 東京
⑧ N. Yoshikawa, S. Yamabe, N. Kanehisa, Y. Kai, H. Takashima, K. Tsukahara, Syntheses, characterizations and DFT investigations of iridium complexes and diprotonated terpyridines, 21st Congress of International Union of Crystallography, 2008 年 8 月 24 日, 大阪
⑨ 高島弘, 福田美紗, 中垣芙美恵, 尾形知子, 塚原敬一, トリス型ビビリジンルテニウム錯体を有するカルボニックアンヒドラーゼ阻害剤の開発と光特性, 第 21 回配位化合物の光化学討論会, 2008 年 8 月 7 日, 相模原
⑩ 柴田早斗未, 関口由佳, 齋藤薫, 山田薫, 今井喜胤, 高島弘, 塚原敬一, 光学活性ビオローゲン・アクリジニウムイオンの開発と亜鉛ミオグロビンとの立体選択的光誘起電子移動反応, 第 21 回配位化合物の光化学討論会, 2008 年 8 月 6 日, 相模原
⑪ K. Tsukahara, Y. Matsushima, E. Fujimoto, C. Tara, H. Takashima, Photophysical and photochemical properties of zinc myoglobins appending DNA intercalators, The 5th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines, 2008 年 7 月 10 日, Moscow
⑫ 高島弘, 北野美穂, 平井千晴, 塚原敬一, 白金(II)錯体を修飾したシトクロム *c* の光特性および DNA 結合評価, 日本化学会第 88 春季年会, 2008 年 3 月 30 日, 東京
⑬ 吉川直和, 山邊信一, 金久展子, 甲斐泰, 高島弘, 塚原敬一, ターピリジンのプロトン付加体の合成, X 線結晶構造解析と DFT 計算, 日本結晶学会 2007 年度年会, 2007 年 12 月 1 日, 東京
⑭ 中垣芙美恵, 尾形知子, 高島弘, 塚原敬一, 酸化還元活性部位を有するカルボニックアンヒドラーゼ阻害剤の合成と性質, 第 40 回酸化反応討論会, 2007 年 11 月 18 日, 奈良
⑮ 瀬川智帆, 加藤智子, 高島弘, 塚原敬一, アスコルビン酸ペルオキシダーゼの活性中心モデルの合成と性質, 第 40 回酸化反応討論会, 2007 年 11 月 18 日, 奈良
⑯ 柴田早斗未, 山田薫, 齋藤薫, 関口由佳, 今井喜胤, 高島弘, 塚原敬一, 亜鉛ミオグロビンと光学活性ビオローゲン・アクリジニウムイオンとの立体選択的光誘起電子移動反応, 第 40 回酸化反応討論会, 2007 年 11 月 18 日, 奈良
⑰ N. Yoshikawa, S. Yamabe, N. Kanehisa,

Y. Kai, H. Takashima, K. Tsukahara, Structures of polypyridine mononuclear iridium(III) complexes in the closed-shell singlet and triplet states, The 8th Conference of the Asian Crystallographic Association, 2007年11月5日, Taipei

⑱北野美穂, 平井千晴, 高島弘, 塚原敬二, 平面型白金(II)錯体を修飾したシトクロム *c* の DNA 結合評価, 第22回生体機能関連化学シンポジウム, 2007年9月28日, 仙台

⑲高島弘, 川原裕恵, 北野美穂, 柴田早斗未, 村上洋, 塚原敬一, エチレンジアミン四酢酸を修飾した亜鉛ポルフィリン・亜鉛ミオグロビンの光ダイナミクス, 第57回錯体化学討論会, 2007年9月26日, 名古屋

⑳吉川直和, 山邊信一, 金久展子, 甲斐泰, 高島弘, 塚原敬一, トリルターピリジンおよびポリピリジン配位子を有する新規なイリジウム(III)錯体の合成・性質およびDFT計算, 第20回配位化合物の光化学討論会, 2007年8月8日, 舞子

㉑K. Tsukahara, M. Kitano, C. Hirai, H. Takashima, Intramolecular energy transfer in cytochrome *c* modified with a DNA-responsive Pt(II) complex, 13th International Conference on Bioinorganic Chemistry, 2007年7月18日, Vienna

㉒高島弘, 川原裕恵, 北野美穂, 塚原敬二, 村上洋, エチレンジアミン四酢酸を修飾した亜鉛ミオグロビンの光ダイナミクス, 第8回光量子科学研究シンポジウム, 2007年6月4日, 木津

㉓N. Yoshikawa, S. Yamabe, N. Kanehisa, Y. Kai, H. Takashima, K. Tsukahara, Syntheses, characterization, and DFT investigations of mononuclear iridium(III) and binuclear iridium(III)-ruthenium(II) terpyridine complexes, The 21st International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry, 2007年6月4日, Smolenice

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塚原 敬一 (TSUKAHARA KEIICHI)
奈良女子大学・理学部・教授
研究者番号: 70112117

(2) 研究分担者

高島 弘 (TAKASHIMA HIROSHI)
奈良女子大学・理学部・助教
研究者番号: 80335471

(3) 連携研究者

なし