

水溶性ポルフィリンとポリ-L-リジンの複合体形成における配位金属の効果

日大生産工(院) ○大川 綾子

日大生産工 高橋 大輔
廣橋 亮・和泉 剛

【1.緒言】

ヘムタンパク質は、pH、温度、光などの外部環境に応答して形態を自在に変化させることにより特異的な機能を発揮し、生命活動において重要な役割を果たしている。このようなヘムタンパク質は、機能発現に有効な特定構造を形成するタンパク質部位と活性中心を担う色素部位からなる複合体であり、色素の持つ機能性と多様な高分子構造の組み合わせが高選択性に影響を及ぼしていると考えられている。そこで、血液中のヘモグロビンにおける酸素の吸脱着や運搬などに寄与し、光合成系において高効率な光エネルギー移動を担う環状に並んだ「会合体」を形成することが可能なポルフィリン誘導体を含むタンパク質-色素複合体に着目した。本研究では、このような複合体の形成機構や機能発現に関する要因について、タンパク質モデルとして外部環境によって形態変化が可能なポリペプチドと機能性色素であるポルフィリン誘導体を用いたモデル系において検討を行ってきた。本報では、ポリ-L-リジンと水溶性ポルフィリン誘導体間に働く相互作用の検討および複合化に伴う主鎖構造変化とポルフィリン会合挙動について報告する。

【2.実験】

2.1 試料

ポルフィリン誘導体は、meso-tetra(4-sulfonatophenyl)porphyrin (TPPS), meso-tetra(4-carboxyphenyl)porphyrin (TPPC), Fe(III)meso-tetra(4-sulfonatophenyl)porphyrin (FeTPPS), Fe(III)meso-tetra(4-carboxyphenyl)porphyrin (FeTPPC),

Zn(II)meso-tetra(4-sulfonatophenyl)porphyrin (ZnTPPS), Zn(II)meso-tetra(4-carboxyphenyl)porphyrin (ZnTPPC)を選択した。ZnTPPSおよびZnTPPCは、TPPSおよびTPPCを酢酸亜鉛とともにDMF中にて還流することで得た。そして、クロロホルム：メタノール(体積比7:3)を展開溶媒とした薄層クロマトグラフィーによって分離した¹⁾²⁾。

また、ポリペプチドはpoly-L-lysine hydrobromide(PLL)を選択した。ポルフィリン水溶液およびPLL水溶液のpHは、NaOHまたはHClにより調整した。

2.2 実験

ポルフィリン水溶液およびPLL水溶液を用いて、[PLL]/[porphyrin]比の異なる複合溶液を調製し、吸収・蛍光・CDスペクトル測定により複合体の分光特性に関して検討を行った。

【3.結果および考察】

3.1 ICDシグナルの色素構造依存性

Figure 1にTPPSおよびTPPCの吸収領域におけるCDスペクトルを示す。複合化に伴い、全ての系において誘起CD(ICD)が観察されたがPLL-TPPC系のICDシグナルは非常に弱かった。また、ポルフィリンの会合に由来すると考えられている500nm付近(J-band領域)にもpositive型のICDが見られた。そのため、色素だけでは会合できない条件下においてもPLLの存在によって色素会合体の形成が促進される可能性が示唆された。Figure 2にJ-band領域におけるポルフィリン濃度に対するICD強度の変化を示す。PLL-TPPS系では

Effect of coordination metal on complex formation of water-soluble porphyrin with poly-L-lysine

Ayako OHKAWA

Daisuke TAKAHASHI, Ryo HIROHASHI and Tsuyoshi IZUMI

濃度依存性がみられ、しだいに正負のシグナル強度が強くなっていく様子が観察された。一方、PLL-TPPC系のICDシグナル強度はPLL-TPPS系に対して非常に弱く、TPPC濃度が増加しても大きな変化が見られなかった。よって、PLL-TPPC系では配向性が低いため会合体を形成しにくいことがわかった。

したがって、キラリティーの発現および強度に色素構造が関与していることが確認された。

3.2 主鎖形態に及ぼす中心金属の影響

これまでの研究で、複合化に伴う主鎖形態変化には色素構造が関与していることが報告されている。そこで、色素構造のほかにも主鎖形態変化に影響を及ぼす可能性があるポルフィリン配位金属の効果を検討した。Figure 3に複合化におけるPLL主鎖の形態変化を示す。全ての系において、ポルフィリン濃度の増加に伴いヘリックス含有率の上昇がみられた。PLL-TPPS系の場合、ポルフィリン濃度に対するヘリックス含有率の変化は曲線的であるが、配位金属錯体のFeTPPSおよびZnTPPSを用いた場合には直線的な変化を示した。また、配位金属としてFeよりもZnのほうがヘリックス含有率の値が全体的に高いことから、主鎖構造変化におよぼす配位金属の効果が確認された。さらに、pH3においても、全ての系のヘリックス含有率変化が同じ挙動を示したことから、PLL主鎖の形態変化には、溶液のpHよりも複合するポルフィリンの置換基と中心金属が関与し、PLL主鎖の形態変化が誘導された後にポルフィリンの会合体が形成されていることが示唆された。

【4. 参考文献】

- 1) R. F. Pasternack, L. Francesconi, D. Raff, E. Spiro, *Inorg. Chem.*, **12**(11), 2606 (1973)
- 2) A. D. Adler, F. R. Longo, V. Varadi, *Inorg. Synth.*, **16**, 213 (1975)

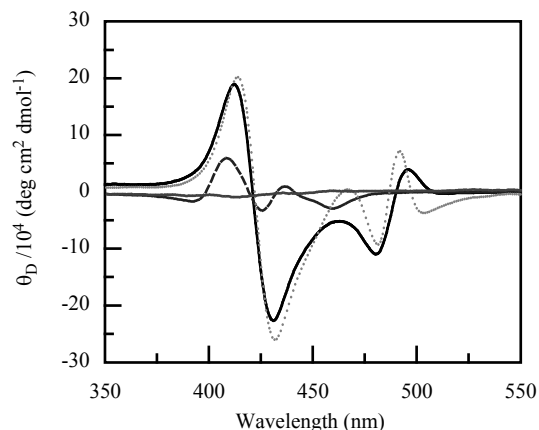


Figure 1. CD spectra of PLL-porphyrin complex solutions. [PLL]=20 μ unitM, [porphyrin]=8 μ M. PLL-TPPS system at (—) pH 4 and (---) pH 3; PLL-TPPC system at (- -) pH 4 and (- · -) pH 3.

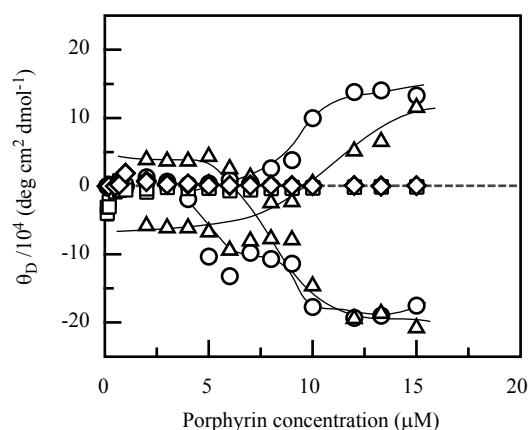


Figure 2. Changes in molar ellipticity of PLL-porphyrin complex solutions with various porphyrin concentration at J-band. [PLL]=20 μ unitM const, PLL-TPPS system at (○) pH4 and (△) pH 3; PLL-TPPC system at (□) pH4 and (◇) pH 3.

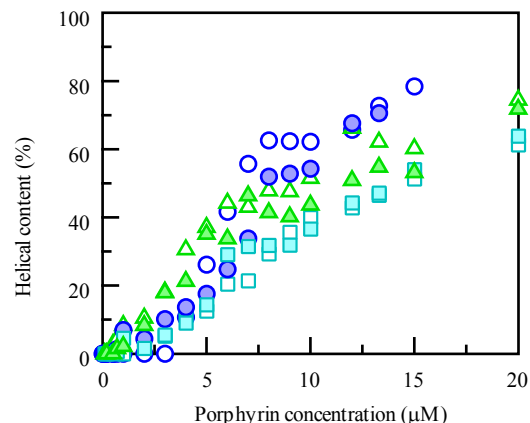


Figure 3. Changes in helical content of PLL-porphyrin complex solutions with porphyrin concentration. [PLL]=20 μ unitM const, (○) PLL-TPPS, (□) PLL-FeTPPS and (△) PLL-ZnTPPS at pH4; (●) PLL-TPPS, (■) PLL-FeTPPS and (▲) PLL-ZnTPPS at pH3.