

# 水溶性ポルフィリンとポリペプチドとの相互作用に関する研究

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】

光合成における光捕集アンテナ色素のクロロフィル誘導体や血液中のヘモグロビンやミオグロビン中に存在するポルフィリン誘導体は、生命活動において重要な役割を果たしている機能性色素である<sup>1)</sup>。また、この色素はマイクロ環境の変化によって自己会合し、規則性のあるJ会合体などの組織ナノ構造体を形成することから、生体模倣工学をはじめ工業的利用や医療分野など多面的な展開がなされている。

このような機能性色素をほかの機能分子と組み合わせると、アキラルな色素分子がキラリティーを発現し、キラルな複合体<sup>2)</sup>となる特徴的な性質がある。特に生体系では、タンパク質とポルフィリン分子が距離と配向を精密に制御されたキラル複合体を形成し、光合成など複雑な電子伝達および機能発現に寄与している。この構造や機構をモデル的に検討することは、ポルフィリンハイブリットの生体機能を解明するうえで有意義であるとともに、超分子化学を用いた機能性ナノ分子デバイスへのアプローチにつながると考えられる。

そこで本研究では、ポリペプチドを用いた最も簡単なキラル複合体モデルにおける機能と構造の関係に着目し、その基礎研究として、ポルフィリンとポリペプチド間の複合体形成に関して検討を行っている。今回は、水溶性のポルフィリンを用いたキラル複合体モデルにおいて、複合体形成に寄与するポリペプチドとの相互作用と分光特性の関係およびキラリティー発現の最適条件について検討した。

## 【2.実験】

### 2.1 試料

ポルフィリン誘導体(Fig.1a)としては、汎用

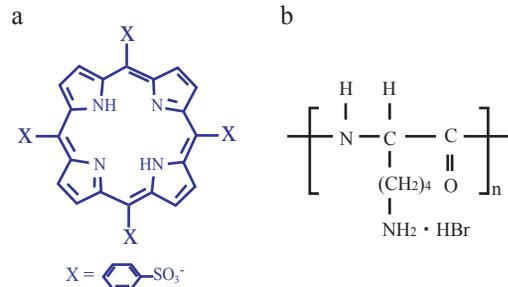


Fig.1 Structure of TSPP (a) and PLL (b)

性の高いフリーベースのポルフィリンである tetrasodium - meso - tetra (4-sulfonatophenyl) porphyrin dodecahydrate(以下TSPP)を選択し、市販品をそのまま使用した。TSPPを純水に溶解させ、NaOHまたはHClで所定のpHに調整した色素溶液のモル吸光係数 $\epsilon$ は $4.412 \times 10^5$  [ $\text{m}^2 \text{mol}^{-1}$ ]であった。

外部環境によってタンパク質を形成する3つの基本構造(random coil構造, helix構造, sheet構造)に転移可能な性質を持つポリペプチド(Fig.1b)のpoly-L-lysine hydrobromide(以下PLL)を選択した。PLL溶液は、PLLを純水に溶解させた後、NaOHまたはHClでpHを調整した。

### 2.2 分光測定

TSPP溶液とPLL溶液を混合して複合比の異なる[PLL]/[TSPP]複合体を調製した。これらを分光学的手法(吸収・蛍光・円二色性スペクトル測定)を用いて解析し、複合体の分光特性に関する知見を得た。

## 【3.結果および考察】

### 3.1 ポルフィリン濃度と複合比の関係

水溶液中におけるTSPPとPLLとの複合体形成挙動の色素濃度依存性について検討するために吸収スペクトル測定を行った。その結果をFig.2に示す。PLLと複合化することにより、

Study on the interaction between water-soluble porphyrin and polypeptide

Ayako OHKAWA

Daisuke TAKAHASHI, Ryo HIROHASHI and Tsuyoshi IZUMI

413nmのTSPPモノマーに由来するピークよりも短波長側の399nmに複合体に由来するピークが現れた。そこで、モノマー(413nm)と複合体(399nm)のピークにおける吸光度変化を追跡したところ、TSPPの添加に伴い $[PLL]/[TSPP]=4$ 付近に屈曲点を示した。さらにTSPPを加えたところ、吸光度は直線的に変化した。また、屈曲点がみられた濃度より高い濃度領域での直線的な吸光度変化は、TSPPだけの場合と類似していた。このことからTSPPとPLLは見かけ上1:4の複合体を形成し、過剰なTSPPは複合体に関与せずモノマーとして遊離していることが示唆された。

### 3.2 キラリティーのTSPP濃度依存性

複合化によるキラリティー発現の有無を円二色性(CD)スペクトル測定から検討した。Fig.3に示すように、PLLとの複合化により吸収領域に誘起CD(ICD)が観察された。ICDは分子のキラリティーを反映するひとつの指標である。よってPLLの存在下において、キラリティーを発現する複合体の形成が確認された。このICDは典型的な分裂型コットン効果であるため、色素間の相互作用が働く距離にTSPP分子が配向していると考えられる。また、一般的にICDシグナルの強度が高いほど色素分子間の距離が短いとされている<sup>3)</sup>ことから、色素の配向性とICDシグナルの強度には相関性があると考えられる。そこで、PLL濃度を一定としたICDスペクトル変化から濃度依存性について検討を行った。その結果、 $[TSPP]=0.5 \times 10^{-5} M$  ( $[PLL]/[TSPP]=4$ )まではTSPP濃度の上昇に伴ってICDシグナルが強くなったが、それ以上の濃度範囲においてシグナルは弱くなった。よって、この複合体にはTSPP濃度依存性があり、キラリティーを発現する最適条件が存在することが示唆された。

#### 【4. 参考文献】

- 1) 中嶋 直敏, 超分子科学, 化学同人, 243 (2004)
- 2) S.Ikeda, T,Nezu, and G.Ebert, *Biopolymers*, **31**, 1257(1991)
- 3) 原田 宣之, 有機合成化学, **41**, 914(1983)

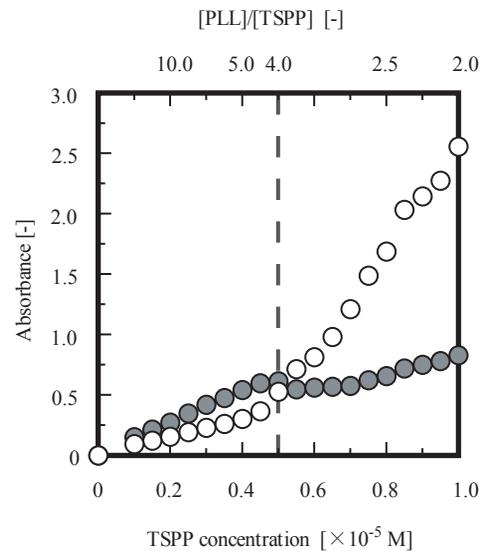


Fig.2 Changes in absorbance of TSPP solution in the presence of PLL with TSPP concentration.  $[PLL]=2.0 \times 10^{-5} M$  pH 7.0  
 (○) 413nm TSPP monomer (TSPP-PLL); (●) 399nm complex.

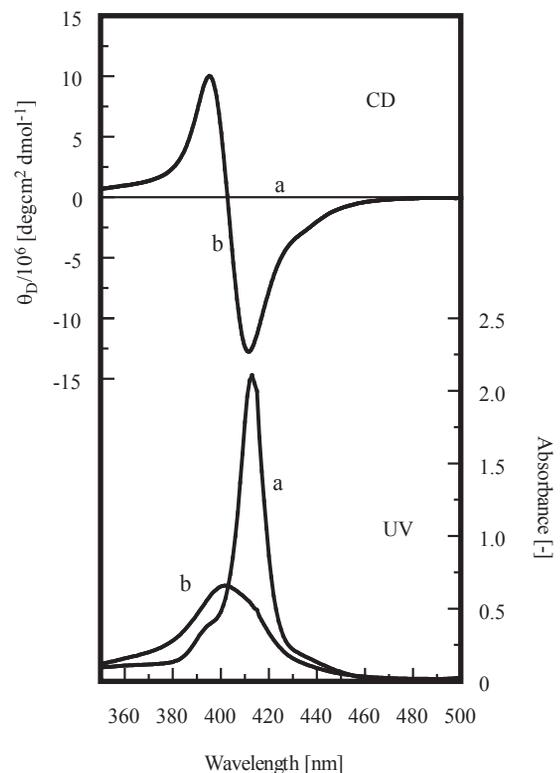


Fig.3 Circular dichroism and absorption spectra of TSPP aqueous solutions in the absence (a) and in the presence (b) of PLL at pH 7.0.  $[PLL]=2.0 \times 10^{-5} M$ ,  $[TSPP]=0.5 \times 10^{-5} M$ .