

金属タンパク質と籠状配位子をもつ金属錯体との電子移動反応に対する 不斉, 溶液状態, および加圧の効果

Electron Transfer between Metalloprotein and Metal Complex in Solution - Effect of Chirality, Solution Environment, and Pressure on the Rate -

永澤 明 (大学院理工学研究科・教授)

Akira Nagasawa

(Graduate School of Science and Engineering, Professor)

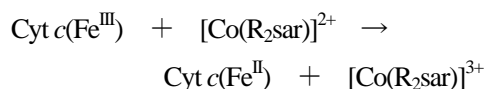
はじめに 球状の形態のタンパク質は、その表面上に様々な官能基(残基という)が結合しており、その特性と分布状態がタンパク質または表面部分の固有の特性を支配している(図1)。タンパク質の関与する反応にはその表面の状態が大きな影響を与え、タンパク質の反応特異性の原因となっている。

金属原子を内部に含む金属タンパク質は、ポリペプチドを配位子とする金属錯体とみることができる。生体内の電子伝達系などでは、これらの金属タンパク質同士が電子移動反応し、内部にある金属イオンの酸化数が変化する。その際、表面に接触した物質から電子を取り込んだり、表面を通して電子を与えたりすることになるので、金属タンパク質表面の相手と接触する部位の影響が大きい。このため電子移動速度には、水溶液内に共存するイオンの種類や濃度、pHなどが影響を与える。

本研究のねらい 金属タンパク質の機能を単純化した、サイズがはるかに小さいモデルである人工的に合成した籠状の金属錯体を探針として金属タンパク質に接触させて、反応をみようとするものである。この反応は、金属タンパク質を単なる酸化剤または還元剤としてみると、反応を通常の溶液内の無機化学反応の速度

論で扱うことができる^{1,2)}。

本研究では、生体内で各種の機能をもつ含鉄金属タンパク質(シトクロームc, 以下Cyt c)とそれを模倣した合成籠状配位子をもつ金属錯体([Co(R₂Sar)]²⁺, 以下金属錯体)との水溶液内での以下の電子移動反応の速度を調べた。



このとき、(1) 金属錯体が不斉構造をもつとどうなるか、金属タンパク質は不斉点が数多くあるから、不斉選択的の反応として速度に差が出るか、(2) 溶液条件、すなわち共存する各種イオンの濃度や溶液の酸性度(pH)の効果の反応速度に対する影響はどのようなものか、に着目した。

探針となる金属錯体には、籠状の形をしたコバルト錯体[Co(diRsar)]^{m+}(diRsar = 1,8-二置換-3,6,10,13,16,19-ヘキサアザビシクロ[6,6,6]エイコサン)と[Co(sep)]^{m+}(sep = 1,3,6,8,10,13,16,19-オクタアザビシクロ[6,6,6]エイコサン)を用いた(図2)。反応速度を調べ、錯体の置換基Rの反応速度への影響を明らかにした。

また、金属タンパク質の表面の各種の残基は、酸性・塩基性

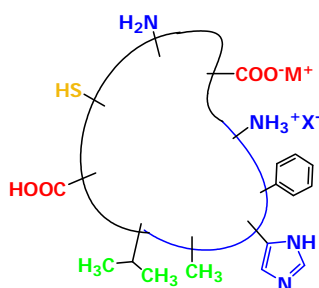


図1 球状のタンパク質の概念図

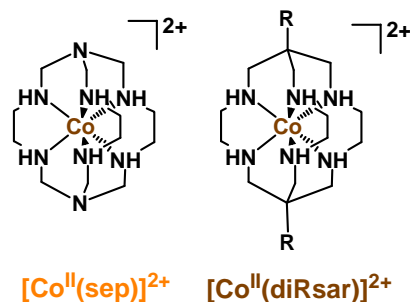


図2 籠状金属錯体 R = H, NO₂, NH₃⁺, Cl

や親水性・疎水性のほかには不斉な配位子表面とみることができるので、光学活性な金属錯体と間の電子移動では、光学異性体間で反応速度に差が出ると考え、その違いを調べた。

実験 シトクローム *c* (Cyt *c*) をヘキサシアノ鉄(III)イオン $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ で酸化し、 Fe^{III} を含む酸化型にした。還元剤となる金属錯体は八面体型の $[\text{Co}(\text{sep})]^{2+}$ および $[\text{Co}(\text{diNOsar})]^{2+}$ を既知の方法で合成し³⁾、光学分割した。いずれの系も、還元剤過剰の擬一次条件とし、金属タンパク質に特有な吸収極大波長の吸光度変化をストップフロー分光光度法により追跡した。溶液の条件は、 $\text{pH} = 4.9\text{--}7.0$ 、イオン濃度 $I = 0.05\text{--}2.0 \text{ M}$ ($\text{Na}^+\text{CH}_3\text{COO}^-$)、温度 $T = 278\text{--}308 \text{ K}$ 、圧力 $P = 0.1\text{--}80 \text{ MPa}$ 。さらにタンパク質表面の電荷の影響を考え、温度、圧力を変化させて速度を求め、活性化エンタルピー ΔH^\ddagger 、活性化エントロピー ΔS^\ddagger 、活性化体積 ΔV^\ddagger を算出した。

結果 この系において電子移動反応における逆反応はみられず、速度定数 $k = 2.7 \times 10^2 \text{ s}^{-1}$ (298 K) で活性化エンタルピー $\Delta H^\ddagger = 18 \text{ kJ mol}^{-1}$ 、活性化エントロピー $\Delta S^\ddagger = -140 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ である。光学異性体間 $\Delta(-)_D\text{-}[\text{Co}(\text{diNOsar})]^{2+}$ が 7% 速い。イオン濃度が増加するとその差（速度定数の比）は小さくなった。反応速度は、置換基の違いにより $\text{R} = \text{Cl} > \text{NH}_3^+ \sim \text{NO}_2$ の順になった。また速度には、溶液のイオン強度だけでなく、直接反応に関与しない緩衝剤の陰イオンの種類が影響を与えることがわかった。酢酸緩衝溶液の対イオンを Na^+ から K^+ に換えても、速度に大きな差はみられない。

考察 会合の前平衡を含む電子移動反応機構やイオン濃度依存性から、置換基の電子的影響

と錯体全体の電荷の影響が考えられる。光学異性体間（図 3）を明らかにした。活性化パラメータの速度差は活性化エンタルピーの差に由来する。活性錯合体形成のときに対陰イオン（酢酸イオン）効果が、また電子移動過程そのものに不斉選択性がみられる。

共同研究者 本研究は、京増昌幸修士、廣瀬麻由修士、塩地絵里修士、関口雄介学士（合成および反応速度測定を担当）、および藤原隆司准教授（科学分析支援センター、錯体の構造解析を担当）との共同研究である。

成果発表 これらの成果は、学会で発表した。論文の投稿を準備している。

- (1) “金属錯体と金属タンパク質との電子移動反応に対する不斉と溶液環境の影響—速度論からの考察—”, 永澤 明, 京増昌幸, 廣瀬麻由, 藤原隆司, 第 57 回錯体化学討論会, 名古屋 (名古屋工業大学), 平成 19 年 9 月 25~27 日 (2007) シンポジウム「錯体化学の成長と発展を支える基礎化学としての錯体化学反応論」開催責任者: 石原浩二 (早稲田大学), 高木秀夫 (名古屋大学) での依頼講演 (S5-7, 9 月 25 日)
- (2) “籠状コバルト錯体と金属タンパク質シトクローム *c* との水溶液内電子移動反応の速度論”, 塩地絵里, 関口雄介, 藤原隆司, 永澤 明, 第 57 回錯体化学討論会, 名古屋 (名古屋工業大学), 平成 19 年 9 月 25~27 日 (2007) (2PC-016).

文献

- 1) Itaya, A.; Sugawara, H.; Nakakomi, M.; Nagasawa, A.; Kohzuma, T.; Suzuki, S. *J. Inorg. Biochem.*, **1997**, 67, 404.
- 2) Nagasawa, A.; Kyomasu, M.; Kohzuma, T. *26th Internatl. Conf. Solution Chem.*, **1999**, 1M3-07.
- 3) Sargeson, A. M. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 5478; **1994**, 47, 143.

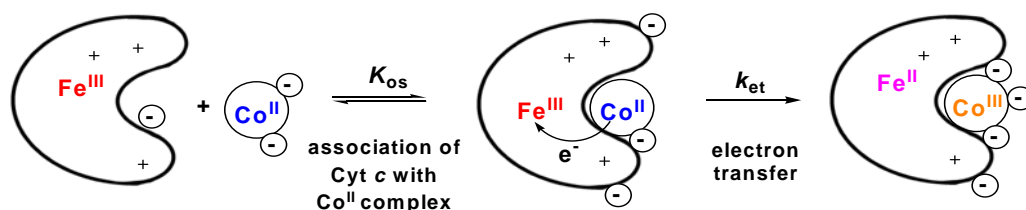


図 3 反応機構の概念図：金属タンパク質と錯体の会合とそれに続く電子の移動過程