

金属錯体を複合した蛋白質への IR-FEL 照射と構造変化

秋津貴城 (東理大理)

ヒト血清アルブミン(HSA)を、シッフ塩基金属亜鉛錯体と複合化させて赤外線自由電子レーザー(IR-FEL)を照射すると、蛋白質分子の折りたたみ構造の変化により、蛋白質の構造変化が促進される現象を見出した。例えば病因となる重金属イオンの蓄積や異常な構造を有する蛋白質を標的として、適切に設計した金属錯体を結合させることで壊すなど、医学的な応用も期待される。

以前研究した紫外線(UVA)吸収効果を持つシッフ塩基金属錯体[1]と同様に、赤外線は強度によっては皮膚のコラーゲンにダメージを与えるなど有害な場合があるので、赤外線を吸収する金属錯体が創製できれば有用であろうとの着想のもと、赤外線吸収がはっきりした金属錯体を種々の蛋白質に複合して IR-FEL 照射を試みた。金属錯体と複合化させた蛋白質については、IR-FEL 照射研究は、これまでほとんど行われてこなかった。

合成した亜鉛錯体と HSA の複合化の確認は、混合した溶液について UV-vis、CD、蛍光スペクトルの測定で行った。具体的には、UV-vis では錯体単独の場合に現れる電子遷移のスペクトルが一部消失したこと、CD では HSA 単独の場合のスペクトル形状に変化があり HSA の二次構造に(錯体を吸着したため)変化があると考えられること、そして蛍光では蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)と呼ばれる、分子同士が結合しているなど非常に接近した場合でない起こらない現象が起きたことから複合化したと判断した。

FELTUS における IR-FEL の照射は、複合体の溶液から溶媒である水を蒸発させて複合体のキャスト膜を作製し、そこに照射した。照射した赤外線の波長は、シッフ塩基亜鉛錯体に含まれる炭素-窒素二重(イミン)結合(C=N)が吸収する波

長(波数 = 1622 cm^{-1})、HSA 中のアミド結合の炭素-酸素二重結合(C=O)が吸収する波長(波数 = 1652 cm^{-1})、HSA 中のアミド結合の窒素-水素単結合(N-H)が吸収する波長(波数 = 1537 cm^{-1})の3種類を用いた。照射時間を 0、5、10、20、30 の5通りとし、それぞれの照射後に FTIR 測定を行い、アミド結合の C=O、N-H 各スペクトルピークを波形分離することで、 α -ヘリックス構造、 β -シート構造の割合を検討した。結果として、波数 1622 cm^{-1} の赤外線照射は影響を与えなかった。一方、HSA 中のアミド結合にエネルギーを与える波数 1652 、 1537 cm^{-1} のほうは、HSA 単独の場合には二次構造の構成には概して変化はなかったものの、亜鉛錯体との複合体のほうには赤外線照射時間に伴って α -ヘリックス構造、 β -シート構造の割合に変化が見られた。すなわち、亜鉛錯体との複合化の結果、IR-FEL 照射による HSA の二次構造変化の促進が確認された[2]。

さらに詳しく検討するために、金属錯体のアミド結合の有/無[3]や、他の蛋白質(卵白リゾチーム、IL-6 [4])についても実験を行っている。

[1] N. Yoshida, T. Shimada, H. Hiroki, M. Takase, T. Akitsu, *J. Inorg. Chem.*, **1**, 6 (2016).

[2] Y. Onami, R. Koya, T. Kawasaki, H. Aizawa, R. Nakagame, Y. Miyagawa, T. Haraguchi, T. Akitsu, K. Tsukiyama, M. A. Palafox, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 2846 (2019).

[3] Y. Onami, T. Kawasaki, H. Aizawa, T. Haraguchi, T. Akitsu, K. Tsukiyama, M. A. Palafox, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 874 (2020).

[4] N. Fujisawa, Y. Onami, T. Kawasaki, T. Haraguchi, T. Akitsu, K. Tsukiyama, *Trends in Peptide and Protein Science*, in press.