

## ホタル生物発光関連分子の励起状態の理論的研究

(東大物性研<sup>1</sup>、名大院・情報科学<sup>2</sup>)○樋山みやび<sup>1</sup>、秋山英文<sup>1</sup>、古賀伸明<sup>2</sup>

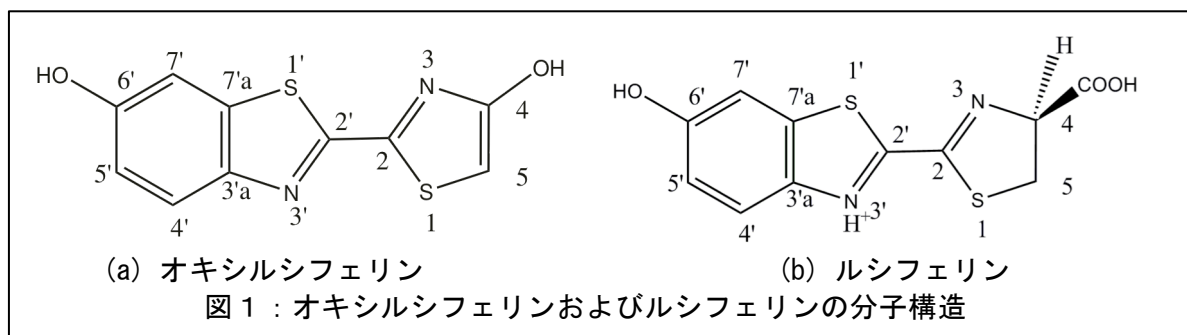
## Theoretical study for excited states of firefly-bioluminescence-related molecules

(1ISSP, Univ. Tokyo, 2Nagoya Univ.)

○Miyabi Hiyama<sup>1</sup>, Hidefumi Akiyama<sup>1</sup>, Nobuaki Koga<sup>2</sup>

【序論】ホタル生物発光では、ホタルルシフェリン（以下、ルシフェリンと呼ぶ）がタンパク質中で酸化され生成したオキシルシフェリンが発光を起こす。ホタル生物発光の理解のため、発光起源であるオキシルシフェリンの分光的性質にも古くから興味を持たれ研究されてきた[1]が、オキシルシフェリンは水溶液中で不安定であるため、吸収スペクトルの帰属はまだ十分に明らかにされていない。そこで本研究では、オキシルシフェリンの吸収スペクトルの帰属をおこない、吸収過程を明らかにすることを目的とした。

【方法】図1に示すようにオキシルシフェリンとルシフェリンは一部の置換基を除いて同じ構造をもつため、ルシフェリンの吸収過程とオキシルシフェリンの吸収過程には類似性があると考えられている。ルシフェリンについては水溶液中で安定に存在するため、分光学的研究が盛んに行われている[2]。その吸収スペクトルに現れるピークは電子状態計算から得られるエネルギー準位から帰属されている。そこで、ルシフェリンの吸収スペクトルを解析し、その帰属を理解したうえで、オキシルシフェリンの吸収スペクトルの帰属を行った。



基底状態の  $pK_a$  を得るため、ルシフェリンおよびオキシルシフェリンとそれらの共役酸・塩基について密度汎関数法 (CAM-B3LYP/aug-cc-pVTZ/PCM(water)) を用いて得られた基底状態と励起状態 (TD-DFT) それぞれの安定構造における振動解析を行った。振動解析の計算から得ら

れる Gibbs の自由エネルギーを用いて、それぞれの化学種の基底状態における  $pK_a$  を見積った。さらに、実験値を利用することにより  $pK_a$  の補正を行い、溶媒の pH ごとにそれぞれの化学種の濃度を見積もった。励起エネルギー、振動子強度、および pH ごとの濃度を考慮することにより、理論吸収強度を評価した。

【結果】 pH に依存するルシフェリンの理論吸収強度を図 2 に示す。実験スペクトルと比べて長波長側へシフトしているものの、実験吸収スペクトルとこの理論吸収スペクトルの形状はよく一致している。さらに、スペクトル形状の再現だけではなく、各 pH においてルシフェリンとその共役酸・塩基のいずれが光吸収をおこなっているかを明らかにした。すなわち、実験吸収スペクトルに見られる 400 nm 付近のピークはジアニオンの吸収で、pH が小さくなるとアニオンのピークにシフトする状況を明確に示すことができた。また、pH の小さいところで、400nm 付近にアニオンの N 原子にプロトン付加した化学種の吸収によるピークが現れることも示すことができた。

ルシフェリンの吸収スペクトルの解析に成功したので、ルシフェリンの  $pK_a$  補正を参考に、同様の手続きによりオキシルシフェリンの吸収強度を計算した結果を図 3 に示す。ルシフェリンの場合と同様に、オキシルシフェリンの場合も pH の変化により、存在する化学種が変わり、吸収強度のピークが変化することが明らかになった。オキシルシフェリンの場合は、440nm 付近のピークには複数の化学種の吸収過程による影響が現れている。

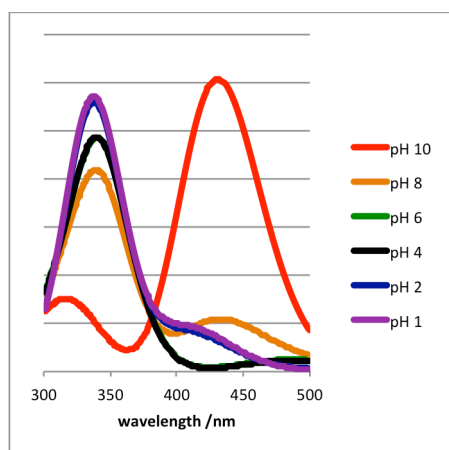


図 2 : ルシフェリンの理論吸収強度

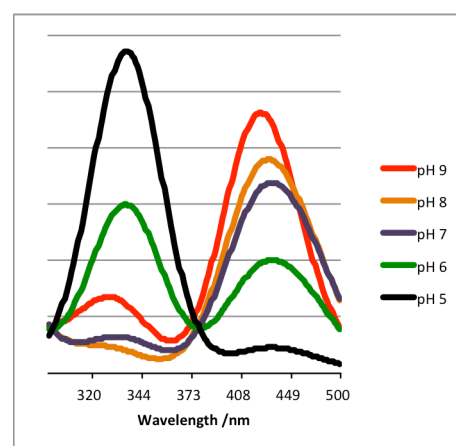


図 3 : オキシルシフェリンの理論吸収強度

#### 参考文献

- [1] Seliger et al. (1960) *Arch. Biochem. Biophys.* **88**, 136.
- [2] Seliger et al. (1961) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **47**, 1129, Morton et al. (1969) *Biochemistry* **8**, 1598, Gandelman et al. (1993) *J. Photochem. Photobiol.* **B19**, 187, Ando et al. (2010) *Jpn. J. Appl. Phys.* **49**, 117002, Hiyama et al. (2012) *Photochem. Photobiol.* **88**, 889