

### 3A10

## ホタル生物発光関連分子の光ルミネッセンスの理論的研究

(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 photoluminescence of firefly-bioluminescence-related molecules

(<sup>1</sup>ISSP, Univ. Tokyo, <sup>2</sup>Nagoya Univ.)

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

【序論】ホタル生物発光の理解のため、基質であるホタルルシフェリン（以下、ルシフェリンとする）の分光的性質にも古くから興味が持たれ研究されてきた[1-7]。近年、ルシフェリンの分光的性質が反映されていると考えられる光ルミネッセンスの詳細な実験スペクトルが報告された[6]。光ルミネッセンスとは、励起光エネルギーにより基底状態にある分子が励起され、励起状態で緩和がおき、発光する過程である。ルシフェリンのように水溶液中での緩和が起きる場合、図1に示すように複数の分子種の励起状態を経由する可能性があるため、その経路はわかっていない。そこで本研究では、ルシフェリンの光ルミネッセンス過程の解明を目的とした。ルシフェリンとその共役酸・塩基の理論吸収強度および励起状態における自由エネルギーを用いた蛍光スペクトルの解析方法を提唱し、典型的な 350 nm の励起光エネルギーによる光ルミネッセンス経路とその pH 依存性を検証する。

【方法】基底状態 ( $S_0$ ) と第一励起状態 ( $S_1$ ) のルシフェリンとその共役酸・塩基の  $pK_a$  を得るために、密度汎関数法を用いて  $S_0$  と  $S_1$  状態それぞれの安定構造の振動解析を行った。振動解析計算から得られる酸解離反応の Gibbs 自由エネルギー変化から  $pK_a$  を見積った。さらに、 $pK_a$  の値が実験的に知られた分子において  $pK_a$  の計算値がもつ誤差を利用して、 $pK_a$  の補正を行った。 $S_0$  状態の補正された  $pK_a$  から得られるモル分率と振動子強度を用いて、350 nm の励起光エネルギーによる理論吸収強度を見積もった。

$S_1$  状態の相対自由エネルギーは、 $S_1$  状態における  $pK_a$  から得たモル分率を用いて求めた。こうして、理論吸収強度と  $S_1$  状態の相対自由エネルギーを用いて、350 nm の励起光エネルギーによる吸収・発光経路を解析した。ただし、 $S_1$  状態では 1 個のプロトン付加・脱離がおきる可能性がある、と仮定した。

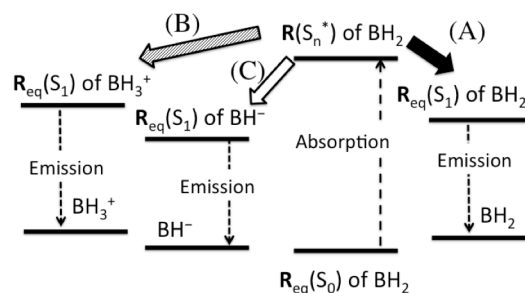


図1：光ルミネッセンス過程の概念図

【結果】 $S_1$ 状態におけるフェノール型アニオンのプロトン脱離に対する $pK_a$ 値は2.0となった。この値はMortonら[3]により報告されている-1.0より大きい値になっている。Mortonらは吸収エネルギーのみを考慮したFösterサイクル[8, 9]を仮定して $pK_a$ 値を見積もっているが、本方法では吸収エネルギーだけでなく、 $S_1$ 状態における緩和エネルギーも考慮しているため、Mortonらの結果と本結果とのずれは、この緩和エネルギーに起因している。

図2に350 nm光励起による理論吸収強度を、図3に $S_1$ 状態での相対自由エネルギーを示す。これまで550 nm付近の緑色の蛍光スペクトルはpHの値によらずジアニオン( $L^{2-}$ )の発光であると考えられていた[1-6]。しかし、図2に示すように、 $pH < 3$ では中性ルシフェリン( $LH_2$ )の吸収強度が大きい。図3より、 $S_1$ 状態では $LH_2$ の相対自由エネルギーよりもプロトン脱離したフェノレート型アニオン(Phenolate- $LH^-$ )の相対自由エネルギーが低い。また、Phenolate- $LH^-$ の $S_1$ 状態からの発光色は緑である[7]。以上のことから、 $pH < 3$ の発光は、 $L^{2-}$ ではなくPhenolate- $LH^-$ の発光であり、「 $LH_2$ の $S_0 \rightarrow S_1^* \rightarrow$ Phenolate- $LH^-$ の $S_1$ 平衡構造 $\rightarrow$ 発光」という経路で起きていることがわかった。

□

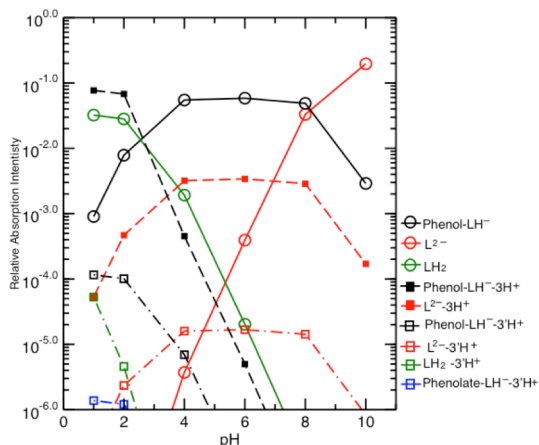


図2：理論相対吸収強度

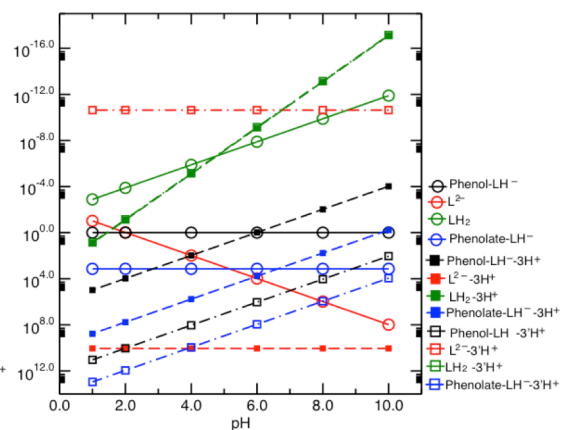


図3： $S_1$ における相対自由エネルギー

## 参考文献

- [1] Seliger, H. H. and E. W. McElroy (1960) Arch. Biochem. Biophys. 88, 136.
- [2] Seliger, H. H. et al. (1961) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 47, 1129.
- [3] Morton, R. A. et al. (1969) Biochem. 8, 1598.
- [4] Jung, J. et al. (1976) J. Am. Chem. Soc. 98, 3949.
- [5] Gandelman, O. A. et al. (1993) J. Photochem. Photobio. B: Biol. 19, 187.
- [6] Ando, Y. and H. Akiyama (2010) Jpn. J. Appl. Phys. 49, 117002.
- [7] Hiyama, M. et al. (2012) Photochem. Photobio. 88, 889, 89, 571., 90, 35., 90, 820.
- [8] Föster V. T. (1950) Z. Elektrochem. 54, 42.
- [9] Jaffè H. H. et al., (1964) J. Am. Chem. Soc. 86, 2932.