



Title	Construction of a Photoinduced Electron Transfer System Using Porphyrin-Antibody Complexes
Author(s)	陰地, 威史
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47658
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	おん じ たけ し 陰 地 威 史
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 20892 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科高分子科学専攻
学 位 論 文 名	Construction of a Photoinduced Electron Transfer System Using Porphyrin-Antibody Complexes (ポルフィリン-抗体錯体を用いた光誘起電子移動システムの構築)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 原 田 明 (副査) 教 授 奥 山 健二 助教授 山 本 仁

論 文 内 容 の 要 旨

抗体は生体内で免疫を担うタンパク質であり、その抗原結合部位の構造の多様性から様々な抗原に対して選択的に結合することができる。抗体を電子ドナーに対するタンパク質マトリックスとして使用することで、均一系の溶液中では実現不可能な電子アクセプターへの光誘起電子移動が可能であると考えた。電子ドナーであるポルフィリンに対して、抗体を特殊反応場として使い、ポルフィリンから電子アクセプターへの電子移動システムの構築を行なった。さらに電荷分離によって得られた生成物（電子）を使用し、水素の発生を行なうことで、光エネルギーの化学エネルギーへの変換を試みた。

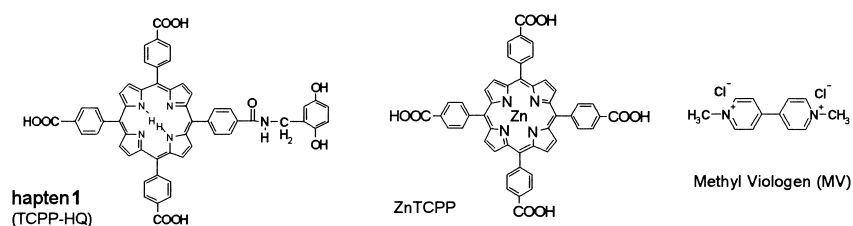


Fig. 1 Structures of hapten 1, ZnTCPP, and Methyl Viologen.

meso-Tetrakis (4-carboxyphenyl) porphyrin (TCPP) と hydroquinone の共有結合化合物 (hapten 1) に対して作製したモノクローナル抗体 (抗体 2B6) は、TCPP の亜鉛錯体 (Zn-TCPP) に対して非常に強く結合することがわかった。また、抗体 2B6 の存在下において ZnTCPP の励起寿命の長寿命化 (一重項状態: 1.7 ns→2.1 ns, 三重項状態: 1.2 ms→3.5 ms) が確認された。ZnTCPP の溶液に対して、電子アクセプターとしてメチルビオロゲン (MV^{2+}) を添加したところ、抗体の存在下では ZnTCPP の励起一重項状態から MV^{2+} への電子移動が促進されることがわかった (Fig. 2)。

Hapten 1 には MV^{2+} に相当する部分がないため、抗体 2B6 には MV^{2+} に対する結合部位は無いと考えられる。負電荷をもつ 1,4-Naphthoquinone-2-sulfonate potassium salt ($NQSK^-$) を電子アクセプターとして使用した場合には、Zn-TCPP から MV への電子移動の促進が観測されなかったことから、抗体表面の負電荷と MV^{2+} の正電荷との

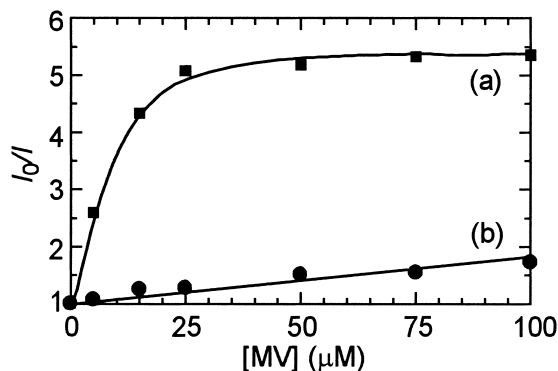


Fig. 2 Stern-Volmer plots for the quenching of the emission from the Soret band of Zn-TCPP by MV^{2+} (a) with and (b) without antibody 2B6, I_0 and I are the fluorescence intensities of Zn-TCPP at 605 nm in the absence and presence of MV^{2+} , respectively. $[Zn-TCPP] = 2.5 \times 10^{-7}$ M, $[antibody\ 2B6\ (binding\ site)] = 5.0 \times 10^{-7}$ M (a) and 0 M (b), and $[EDTA-4Na] = 1.25 \times 10^{-3}$ M.

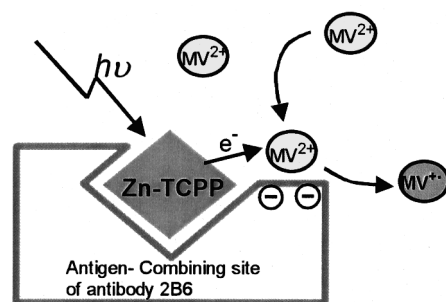


Fig. 3 Schematic diagrams of the enhancement of the photoinduced electron transfer from Zn-TCPP to MV^{2+} by the binding of antibody 2B6.

間の静電相互作用によって MV^{2+} が抗体の結合部位中の Zn-TCPP 近傍に濃縮され、Zn-TCPP から MV^{2+} への電子移動が促進されたと考えられる (Fig. 3)。

さらに、抗体 2B6 の存在下、犠牲酸化剤として Ethylenediaminetetraacetic acid tetrasodium salt (EDTA-4Na) を添加した ZnTCPP と MV^{2+} の混合溶液に光照射を行なうことで 1 電子還元された MV^{2+} ($MV^{+•}$) が生成し、15 分の半減期を有しそれは安定であった (Fig. 4)。抗体の非存在下では $MV^{+•}$ の生成は見られなかった。この結果より、抗体が $MV^{+•}$ から ZnTCPP への逆電子移動を抑制したために、安定な $MV^{+•}$ が生成したと考えられる。

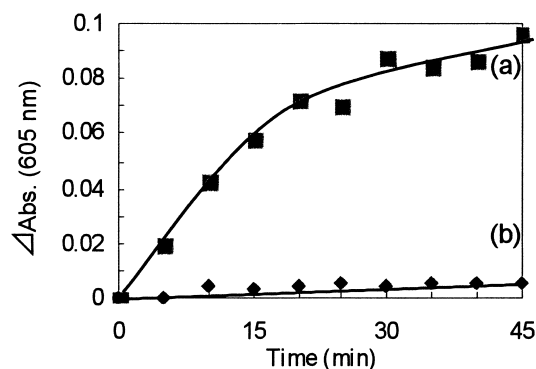
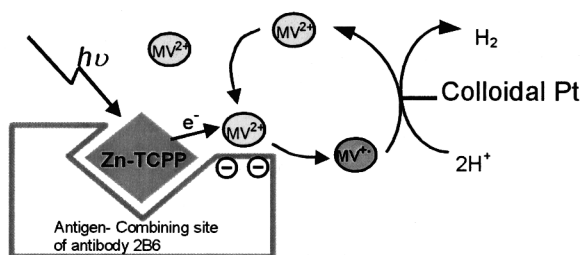


Fig. 4 Change of absorbance at 605 nm of the solutions of Zn-TCPP and MV^{2+} with antibody 2B6 (a), without antibody 2B6 (b). $[Zn-TCPP] = 2.5 \times 10^{-7}$ M, $[antibody\ 2B6\ (binding\ site)] = 5.0 \times 10^{-7}$ M (a) and 0 M (b), $[MV^{2+}] = 1.0 \times 10^{-4}$ M and $[EDTA-4Na] = 1.0 \times 10^{-2}$ M.

生成した $MV^{+•}$ の電子によってプロトン還元し水素発生を行なうための触媒として白金コロイドを用いた (Scheme 1)。抗体と ZnTCPP、 MV^{2+} 、EDTA-4Na、白金コロイドの溶液に対して光照射 (≥ 410 nm) を行ったところ、溶液中の溶存水素濃度の増加が確認された (Fig. 5)。抗体を添加しなかった場合には水素濃度の増加は確認されなかった。抗体を添加することによって ZnTCPP から MV^{2+} への光誘起電子移動によって $MV^{+•}$ が効率的に生成し、その電子によって白金コロイドがプロトン還元し水素が発生したと考えられる。

以上から、抗体を ZnTCPP から MV^{2+} への光誘起電子移動反応における特殊反応場として構築した電子移動系による電子移動の制御が実現された。さらに、この電子移動システムによって得られた電子による水素発生から、光エネルギーの化学エネルギーへの変換システムの構築についても実現した。



Scheme 1. A hydrogen evolution system consisted of antibody-porphyrin complex, methyl viologen and colloidal Pt.

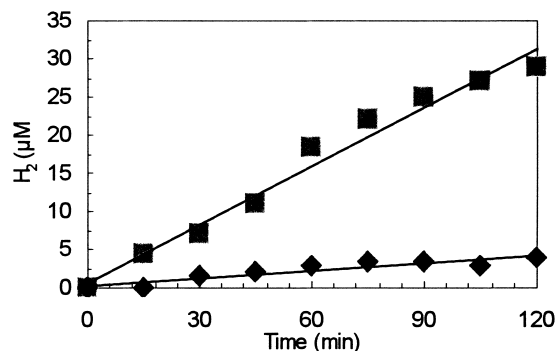


Fig. 5 Concentration of hydrogen under steady-state irradiation with visible light (wavelength > 400 nm) with antibody 2B6 (■) and without antibody (◆). [Zn-TCPP] = 1.0×10^{-6} M, [antibody (binding site)] = 2.0×10^{-6} M (■) and 0 M (◆), [MV²⁺] = 5.0×10^{-4} M, [colloidal Pt] = 1.2×10^{-6} M and [EDTA·4Na] = 1.0×10^{-2} M.

論文審査の結果の要旨

本研究では、抗体をテイラーメイドのタンパク質として用いることで、新規の機能性材料の創生を行なった。抗体を電子ドナーであるポルフィリンに対する特殊反応場として用い、ポルフィリンから電子アクセプターへの電子移動システムを構築した。さらに電荷分離によって得られた生成物（電子）を使用し、水素の発生を行なうことで、光エネルギーの化学エネルギーへの変換を試みた。

テトラカルボキシフェニルポルフィリン（TCPP）とヒドロキノンの共有結合化合物に対して作製したモノクローナル抗体は、TCPP の亜鉛錯体（ZnTCPP）に対して非常に強く結合することがわかった。その抗体の存在下において ZnTCPP の励起状態が安定化されることがわかった。ZnTCPP の溶液に対して、電子アクセプターとしてメチルビオロゲン（MV²⁺）を添加したところ、抗体の存在下では ZnTCPP の励起一重項状態から MV²⁺ への電子移動が促進されることがわかった。抗体 2B6 の存在下、ZnTCPP と MV²⁺ の溶液に光照射を行なうことで 1 電子還元された MV²⁺（MV^{•+}）が生成した。抗体の非存在下では MV^{•+} の生成は見られなかった。抗体によるドナーとアクセプター間の位置を制御したことによって、安定な MV^{•+} が生成したと考えられる。

光誘起電子移動によって生成した MV^{•+} の電子によって水素発生を行なうための触媒として白金コロイドを用い、抗体と ZnTCPP、MV²⁺、EDTA·4Na、白金コロイドの溶液に対して光照射を行ったところ、溶液中の溶存水素濃度の増加がみられ抗体の添加により大幅な水素発生量の増加がみられた。抗体を添加することによって ZnTCPP から MV²⁺ への光誘起電子移動によって MV^{•+} が効率的に生成し、その電子によって白金コロイドがプロトンを還元し水素が発生したと考えられる。

以上の結果から、抗体を ZnTCPP から MV²⁺ への光誘起電子移動反応における特殊反応場として構築した電子移動系による電子移動の制御が実現された。この電子移動システムを用いた水素発生から、光エネルギーの化学エネルギーへの変換システムの構築についても実現した。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。