

フルボ酸鉄錯体と Desferrioxamine B のリガンド交換反応に 二価金属イオンが与える影響の解明

東北大学 学生会員 ○伊藤 紘晃
東北大学 正会員 藤井 学
東北大学 正会員 大村 達夫

1. 目的

海洋性植物プランクトンにとって、微量必須栄養素である鉄は、実海域においてその生長を制限する重要な因子であることが認識されている。沿岸域においては、陸域を起源とする自然由来有機物質(Natural Organic Matter: NOM)が鉄と共に比較的高濃度で供給されるため、溶存鉄濃度が外洋よりもはるかに高い。しかしながら、海洋性植物プランクトンがすみやかに体内へ取り込める形態の鉄は、水中に多量に存在する Fe(III)-NOM 錯体ではなく、わずかに存在する溶解性の無機鉄(Fe')または、自らが細胞外に放出した Fe(III) と特異的に親和性のある有機リガンド(シデロフォア)と結合している鉄である。シアノバクテリアや真核藻類の中には、鉄欠乏条件下において、シデロフォアを外部環境間との鉄輸送物質として利用するものが存在する。シデロフォアが鉄と錯形成する過程はリガンド交換反応にあたる¹⁾。

海水中においては、高濃度で存在する Ca^{2+} や Mg^{2+} などの二価金属イオンが、その錯形成能によりリガンド交換反応速度に大きく関わると推測される²⁾。本研究では、競合リガンド法を用いて、フルボ酸鉄錯体と菌類由来シデロフォア desferrioxamine B(DFB)のリガンド交換反応について、2 価金属イオンが与える影響を調べた。

2. 方法

2. 1 実験方法

DFA と鉄の錯体の存在する溶液に DFB を添加し、形成された Fe(III)-DFB 錯体濃度を測定した。Fe(III)-DFB 錯体は波長 429 nm で最大吸光を示す。比色分析法と 10 cm セル分光器システムを組み合わせ、波長 429 nm の吸光度を観察することで鉄濃度を測定した。

リガンド交換反応のバックグラウンド溶液として、NaCl 0.5 M および NaHCO_3 0.2 mM から構成される溶液(pH 8)と、これらにさらに CaCl_2 または MgCl_2 を 1, 10, 25, 35, 50 mM 含む溶液(pH 8)を使用した。バツ

クグラウンド溶液中に、Fe(III)濃度を 250 nM, DFA 濃度を 2 mg/L から 8 mg/L となるよう加え、Fe(III)-DFA 錯体溶液を作成した。この溶液に DFB 濃度を 250 nM となるよう添加し、波長 429nm において Fe(III)-DFB 濃度の時間変化を観測した。DFA 濃度は既知の分子量 2,400 Da を用いて換算した(0.8 μM から 3.3 μM)。実験は 25°C の恒温室で行った。

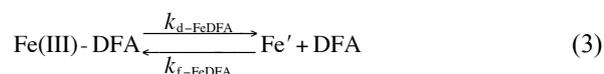
2. 2 リガンド交換反応モデル

Fe(III)-DFA と DFB から Fe(III)-DFB が生成される全体の反応式と反応速度式は、速度定数 $k_{\text{overall}}(\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$ を用いて次のように表される。

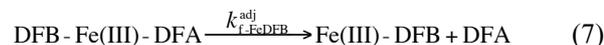
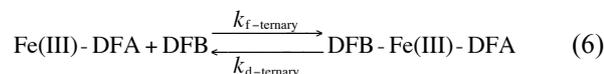


$$\frac{d[\text{Fe(III)-DFB}]}{dt} = k_{\text{overall}} [\text{Fe(III)-DFA}][\text{DFB}] \quad (2)$$

リガンド交換反応には、初期の有機錯体から金属イオンが解離し、その遊離金属イオンと競合リガンドが結合する経路(disjunctive 経路)と、競合リガンドが直接的に初期の有機錯体と結合し、錯体を解離させる経路(adjunctive 経路)が存在する³⁾。disjunctive 経路における Fe(III)-DFB の生成反応は、次の反応式で表される。



ここで、 $k_{\text{d-FeDFA}}$ は disjunctive 経路における Fe(III)-DFA の解離速度定数(s^{-1})、 $k_{\text{f-FeDFA}}$ は Fe' と DFA の錯形成速度定数($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)、Me は二価金属イオン、 $k_{\text{f-FeDFA}}^{\text{Me}}$ は Fe' と Me-DFA から Fe(III)-DFA が生成される反応の速度定数($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)、 $k_{\text{f-FeDFB}}^{\text{disj}}$ は Fe' と DFB の錯形成速度定数($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)を表す。adjunctive 経路は、次の反応式で表される。



ここで、 $k_{\text{f-ternary}}$ は Fe(III)-DFA と DFB の反応による 3 元錯体 DFB-Fe(III)-DFA の生成速度定数($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)、 $k_{\text{d-ternary}}$

は 3 元錯体が Fe(III)-DFA と DFB に解離する速度定数 (s^{-1}), $k_{f-FeDFB}^{adj}$ は 3 元錯体が DFA と Fe(III)-DFB に解離する速度定数 (s^{-1}) である。中間生成物について定常状態を仮定すると, $k_{overall}$ は次のように表される。ここで, 第 1 項と第 2 項はそれぞれ disjunctive と adjunctive 経路の速度定数にあたる。

$$k_{overall} = k_{disj-slope} \frac{1}{[DFA]_T} + k_{adj} \quad (8)$$

$$k_{disj-slope} = \frac{k_{d-FeDFA} k_{f-FeDFB}^{disj}}{k_{f-FeDFA} [DFA]/[DFA]_T + k_{f-FeDFA}^{Me} [Me-DFA]/[DFA]_T} \quad (9)$$

$$k_{adj} = \frac{k_{f-ternary} k_{f-FeDFB}^{adj}}{k_{d-ternary} + k_{f-FeDFB}^{adj}} \quad (10)$$

これより, 縦軸を $k_{overall}$, 横軸を $1/[DFA]_T$ とする回帰直線を描き, 傾きを $k_{disj-slope-o}$, 切片を k_{adj-o} として得た。一方で, 反応モデルの評価のため, 式 9 に, 報告されている速度定数及び安定度定数を適用して $k_{disj-slope}$ を算出し, これを推定値 $k_{disj-slope-m}$ とした^{4,5)}。また, 式 8 に $k_{disj-slope-m}$ と測定された $k_{overall}$ を適用して k_{adj} を算出し, これを推定値 k_{adj-m} とした。

3. 結果及び考察

Fig. 1 に [Me] と $k_{disj-slope}$ の関係を示した。測定値 $k_{disj-slope-o}$ と推定値 $k_{disj-slope-m}$ は同様の傾向をとっており, モデル式と用いられた反応速度定数の妥当が示された。disjunctive 経路においてリガンド交換反応が促進された要因は, モデル式から, Me が DFA 錯形成し, Fe(III)-DFA 生成速度を低下させたためと説明できる。

Fig. 2 は, [Me] と k_{adj} の関係を示している。Ca については, [Ca]=25 mM における一部の結果を除き, 測定値 k_{adj-o} と推定値 k_{adj-m} はモデル同様の値を示した。動力学モデルで想定したとおり, Ca による k_{adj} への影響は見られなかったが, 一方で, Mg 存在下では [Mg] が上昇するにしたがい, k_{adj} が上昇する傾向が見られた。また, Fig. 2 における DFA 濃度と k_{adj-m} との関係について, DFA 濃度の減少に伴い k_{adj-m} が上昇する傾向が見られた。そこで, k_{adj-m} と [Mg]/[DFA] との関係調べたところ, Fig. 3 に示すように線形性が確認された。このような傾向は, 伊藤ら⁶⁾による Fe(III)-クエン酸錯体と DFB とのリガンド交換反応においても確認されており, 初期の錯体に Me が付加する三元錯体を考えることで, この反応を説明している。本研究においても同様の反応メカニズムが働いていたものと思われる。

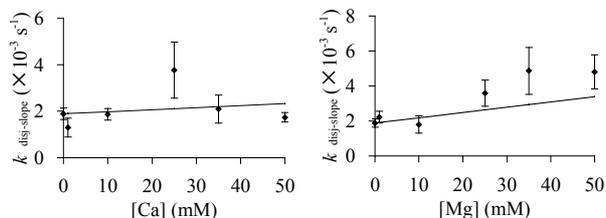


Fig. 1 Effect of divalent cations on $k_{disj-slope}$. Symbols and error bars indicate observed data from eq. 9 and 95% confidence intervals. A solid line is the line of model fit.

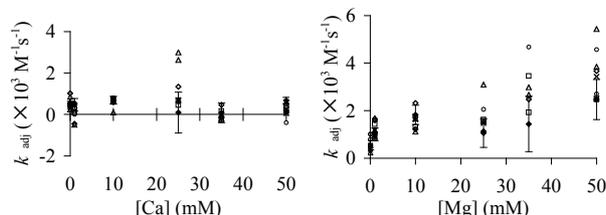


Fig. 2 Effect of divalent cations on k_{adj} . \blacklozenge and error bars indicate observed data from eq. 8 and 95% confidence intervals. \circ , \diamond , \triangle , \square , \times are the estimated value from eq. 8 (and eq. 9), each symbols indicate $[DFA]_T = 2, 2.4, 3.2, 4.8, 8$ mg/L, respectively.

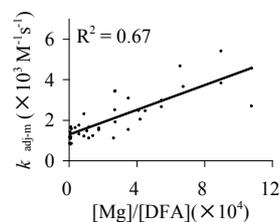


Fig. 3 k_{adj-m} for [Mg]/[DFA]. Symbols indicate k_{adj-m} . Solid lines are the model fit of eq. 8.

4. まとめ

本研究では, フルボ酸鉄錯体と DFB のリガンド交換動力学に二価金属イオンが与える影響を調べた。二価金属イオンは, フルボ酸と錯形成することで, リガンド交換反応を促進させることが示された。本研究は, 沿岸域における植物プランクトンの鉄摂取を評価する際に有用な知見になると考えられる。

謝辞

本研究は日本学術振興会科学研究費特別研究員奨励費(04725)によって行われたことを報告する。

参考文献

- 1) Sunda (2002) In the Biogeochemistry of Iron in Seawater. Turner, D. R., Hunter, K. A., Eds.; Wiley: New York, Ch. 3, pp 41-84.
- 2) Hering and Morel (1988) *Env. Sci. & Tech.* **22**, 1469-1478.
- 3) Celso et al. (2001) *Env. Sci. & Tech.* **35**, 1084-1089.
- 4) Garg et al. (2007) *Env. Sci. & Tech.* **41**, 3205-3212.
- 5) Fujii et al. (2008) *Geochim. et Cosmochim. Acta*, doi:10.1016/j.gca.2007.12.017.
- 6) 伊藤ら(2007)環境工学研究論文集 **44**, 115-125.