

## レーザー脱離・超音速ジェット法による3残基ペプチド Z-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>の電子・振動スペクトル —気相中の安定なコンフォメーションの構造決定

(東工大・資源研<sup>1</sup>, 東理大・理<sup>2</sup>)

○山田 浩平<sup>1</sup>, 浅川 稔朗<sup>1</sup>, 石川 純<sup>1</sup>, 石内 俊一<sup>1</sup>, 築山 光一<sup>2</sup>, 藤井 正明<sup>1</sup>

**【序】**近年 DNA 2重らせんに代表される生体内の超分子の機能を気相での精密構造に基づき解明する試みが盛んになっている。特に神経伝達における神経伝達物質の分子認識過程は薬学、生理学の分野だけでなく分子科学的にも非常に興味深いテーマである。分子認識過程では分子の立体的な違いにより相手を精密に認識しており、その過程を精密に理解するためには構造化学的なアプローチが不可欠である。

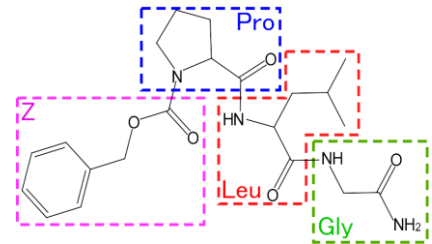


Fig.1 Z-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>の構造

本研究で取り上げる3残基ペプチドPro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>は代表的な神経ペプチドであるオキシトシンの部分構造であり、分子認識部位として重要である。部分ペプチドの構造を調べる上で、極性を持つアミノ基やカルボキシ基の存在はペプチド主鎖の水素結合ネットワークの環境を乱す[1][2]。従って部分ペプチド固有の正確な構造を得るためには、部分的に切り出す前と同じ環境に近づけるよう末端の処理を適切に行う必要がある。そのため、N末端側をギ酸ベンジル (Z-基) でキャップしたZ-ペプチド(Z-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>, Fig.1 参照)を用いた。このペプチドにレーザー脱離・超音速ジェット法を適用して、極低温孤立気相状態で共鳴多光子イオン化(REMPI)スペクトル, UV-UV ホールバーニング(HB)スペクトル, IR dip スペクトルを測定した。分子動力学計算及び量子化学計算を用いて安定なコンフォメーションとその理論赤外スペクトルを求め、実験結果と比較することにより、観測されたコンフォメーションの帰属を行った。

**【実験】**Z-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>は不揮発性・熱分解性であるためレーザー脱離法を用いた。マトリクスとしてグラファイト粉末を混合した試料をグラファイトディスク側面に塗布し、そこにNd<sup>3+</sup>:YAG レーザーの基本波 1064 nm を照射し、脱離・気化させた。これをパルス状に噴射した Ar ガス(よどみ圧: 20 bar)で押し流し、超音速ジェット流を得た。ジェット中の極低温 Z-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> に紫外レーザーを照射し、REMPI 分光法により電子スペ

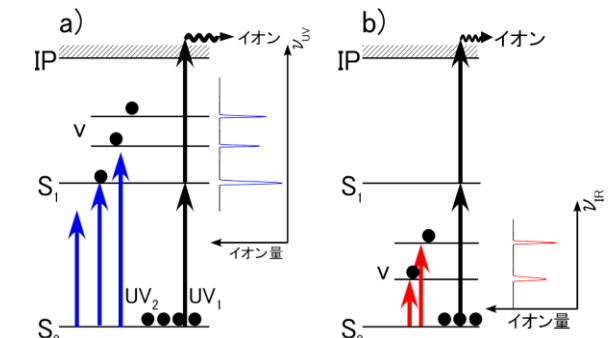


Fig.2 a) HB 分光法および b) IR dip 分光法の原理

クトルを測定した。この方法では共存するコンフォマーの電子遷移が同時に観測されるため、HB 分光法を用いてこれらを区別した(Fig.2a)。第1の紫外レーザー(UV<sub>1</sub>)を特定のコンフォマーの電子遷移エネルギーに固定することで特定のコンフォマーのみを選択的にイオン化する。このイオン量をモニターしながら第2の紫外レーザー(UV<sub>2</sub>)を UV<sub>1</sub> よりも前に照射し波長掃引すると、UV<sub>2</sub> が電子遷移エネルギーに一致した際に、電子励起によって基底状態の分子数が減少するため、モニターしているイオン量が減少する。従って、UV<sub>1</sub> によって生じるイオンを UV<sub>2</sub> の波数に対してプロットすることにより、UV<sub>1</sub> で選択した特定のコンフォマーの電子遷移をイオン量の減少として抽出することが出来る。次に、区別したコンフォマーに対して IR dip 分光法を適用し赤外スペクトルを測定した(Fig.2b)。原理は HB 分光法と同様で、UV<sub>2</sub> の代わりに波長可変赤外レーザーを使用することで赤外吸収をイオン量の減少として観測する。実測の赤外スペクトルと量子化学計算で得られる理論赤外スペクトルを比較することでコンフォマーの構造を決定した。

**【結果・考察】** Z-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> のオリジン領域における S<sub>1</sub>-S<sub>0</sub> REMPI スペクトルを Fig.3a に示す。約 150 cm<sup>-1</sup> の範囲に 5 本の鋭いバンドが観測された。複数コンフォマーの共存の有無を確認するために HB 分光法を適用した。Fig.3b にはプローブ光を 37448cm<sup>-1</sup> に固定して測定した HB スペクトルを示す。REMPI スペクトルで観測された 5 本のバンドのうち、最も強度が高い 3 本のバンドが 1 つのコンフォマーに由来することが分かった。これらのバンドはオリジンバンドから～数十 cm<sup>-1</sup> 以内にあるため、ペプチド骨格のねじれによる低振動モードの振電バンドであると帰属した。また REMPI スペクトルの強度比から、1 つの安定コンフォマーに分布が集中することが分かった。続いてこのメインコンフォマーに対して IR dip 分光法を適用した (Fig.4a)。NH 伸縮領域に 5 本のバンドが観測されたが、Z-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> は NH 基を 4 個もつため、4 本のバンドしか観測されないはずである。1 本多く観測された原因は Fermi 共鳴による分裂と考えられる。

Mons らによると、ペプチド中の水素結合しない NH 伸縮振動は約 3490cm<sup>-1</sup> に観測されることが報告されており [3]、Gly 並びに Leu 中の NH は分子内水素結合を形成していることが分かった。Fig.5, 4b) に量子化学計算で得られた最安定構造とその理論赤外スペクトルを示す。構造最適化並びに振動数計算は B3LYP/6-31G(d,p) レベルで行った。Gly の NH が大きく低波数側にシフトしているため、ギ酸ベンジル基のカルボニル酸素と強い分子内水素結合をしていることが示唆される。この C=O 伸縮振動数の計算値は 1667cm<sup>-1</sup> であるので、NH 伸縮振動基音と C=O 伸縮振動 2 倍音の間で Fermi 共鳴を起こしている可能性がある。今後これを検証するために、モード間のカップリングを考慮した非調和振動計算を行う予定である。

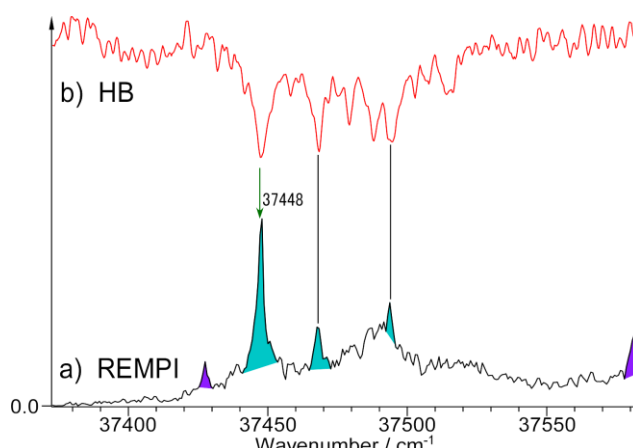


Fig.3 a)REMPI スペクトル b)HB スペクトル

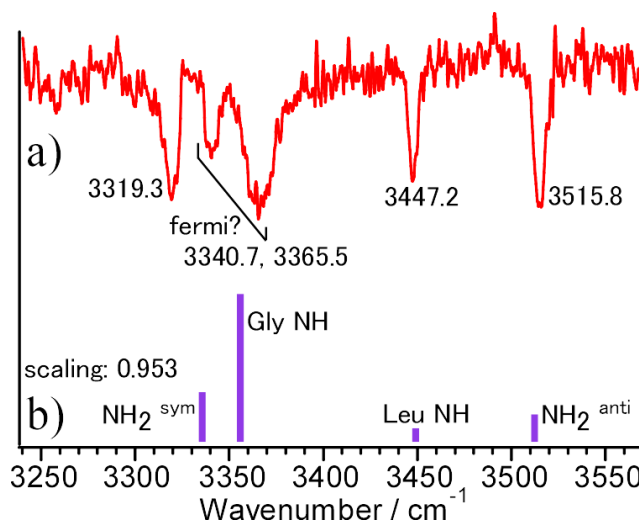


Fig.4 Z-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> の a)IR dip スペクトル、及び b)B3LYP/6-31G(d,p) レベルで得られた理論 IR スペクトル

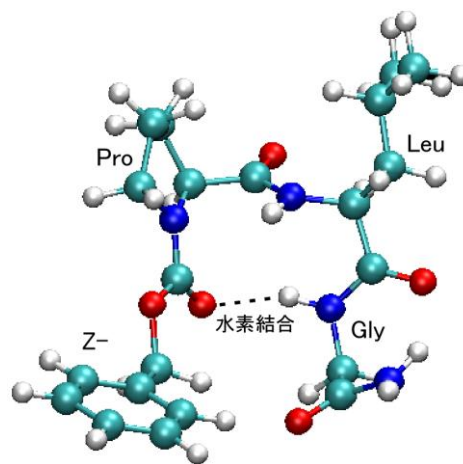


Fig.5 理論計算により得られた最安定構造

[1] I. Hunig, K. A. Seefeld and K. Kleinermanns, *Chem. Phys. Lett.*, 2003, 369, 173.

[2] A. G. Abo-Riziq, J. E. Bushnell, B. Crews, M. P. Callahan, L. Grace and M. S. De Vries, *Int. J. Quantum Chem.*, 2005, 105, 437.

[3] W. Chin, F. Piuze, I. Dimicoli and M. Mons, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2006, 8, 1033.