

レーザー脱離超音速ジェット法による GWP トリペプチドの気相レーザー分光

(東工大・資源研) ○青木 拓馬, 孫 雲龍, 石内 俊一, 藤井 正明

Gas phase spectroscopy of tripeptide GWP by laser desorption supersonic jet technique

(Chemical Resources Lab., Tokyo Tech.)

○Takuma Aoki, Woon Yong Sohn, Shun-ichi Ishiuchi, Masaaki Fujii

【緒言】励起状態ダイナミクスは分子構造や周りの環境に大きく影響を受ける。従って、ペプチドの様に複数のコンフォメーションを取り得る柔軟な分子では、コンフォメーション毎に異なる励起状態ダイナミクスを持つと考えられる。また、コンフォメーションはアミノ酸配列に依存するので、励起状態ダイナミクスは間接的にはあるがアミノ酸配列に依存するとも言える。本研究では芳香族アミノ酸の1つであるトリプトファンを含むペプチドに注目した。当研究室では以前に分子認識メカニズムへの興味から、植物の成長ホルモンであるオキシトシンのレセプタータンパク質の結合部位部分ペプチド Gly-Trp-Pro-Pro-Val (GWPPV) に対してレーザー脱離・超音速ジェット法を適用し、気相中の電子スペクトルを測定した。その結果、構造のないブロードな吸収が観測され、速い緩和過程の存在が示唆された。一方、Trp 単体や GW ではシャープな電子スペクトルが観測される[1-3]。そこで、GWP ではどうなるのかを明らかにするのが本研究の目的である。両末端の水素結合構造への影響を抑えるために C-末端をアセチル化、N-末端をアミド化した Ac-Gly-Trp-Pro-NH₂(Fig. 1) に対して、レーザー脱離、超音速ジェット法を適用し、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)スペクトル及び IR dip スペクトルを測定した。

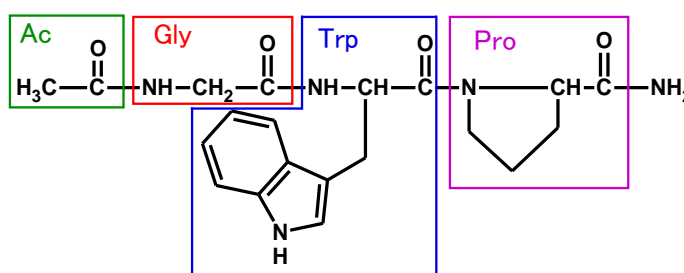
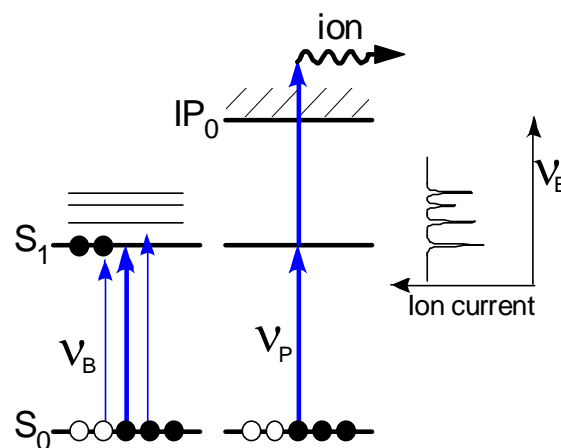
Fig.1 Ac-Gly-Trp-Pro-NH₂

Fig.2 UV-UV Hole burning spectroscopy

【実験】固相合成法により GWP を合成し、凍結乾燥法を用いてペプチド微粉末を得た。これに同質量のカーボンブラック粉末を加え十分に混合した後、グラファイト製ディスク側面に塗布した。ここに脱離レーザー(1064 nm)を照射して試料を脱離・気化させ、パルスバルブより噴射した高圧 Ar ガス(75 bar)でジェット冷却した。これをスキマーで分子線に切り出し、波長可変紫外レーザーを照射して GWP をイオン化し、飛行時間型質量分析装置によって検出した。GWP の質量をモニターしながら紫外レーザーを波長掃引し、REMPI スペクトルを測定した。REMPI スペクトルには複数のコンフォマーの電子遷移が同時に観測されるため、これらを区別するために HB 分光法を行った(Fig.2)。REMPI スペクトルに観測された特定のバンドに第1の紫外レーザー ν_P を固定し、得られるイオン量をモニターする。このイオン量は ν_P で選択されているコンフォマーの基底状態の分子数に比例する。ここに第2の紫外レーザー ν_B を照射し、波長掃引する。 ν_B がモニターしているコンフォマーの電子遷移に共鳴すると、その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も減少する。従って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。また、 ν_B に紫外レーザーの代わりに波長可変赤外レーザーを用いれば、特定のコンフォマーの赤外スペクトルを測定することが出来る(IR dip 分光法)。

【結果・考察】GWPのREMPIスペクトルをFig.3 a)に示す。ブロードな吸収の上いくつかのシャープなバンドが観測された。これらが同一のコンフォマーに由来するものか否かを明らかにするため、図中の矢印(34943cm^{-1})に ν_P を固定してHBスペクトルを測定した(Fig. 3b)。ブロードな吸収が観測されないことから、REMPIスペクトルに観測されたブロードな吸収は別のコンフォマーに由来することがわかった。

Fig. 4に矢印のバンドをモニターして測定したIR dip スペクトルを示す。 3200cm^{-1} から 3550cm^{-1} の範囲に4本のバンドが観測された。

3523cm^{-1} のシャープなバンドはトリプトファンのフリーなインドールNH伸縮振動($3521\sim 3524\text{cm}^{-1}$ [1])とよく一致することから、フリーなインドールNH伸縮振動と帰属した。 3502cm^{-1} のシャープなバンドはその振動数から水素結合したC末端アミドの NH_2 逆対称伸縮振動と帰属できる。この振動数から NH_2 対称伸縮振動は 3300cm^{-1} 付近に観測されるものと予測でき[4]、 3308cm^{-1} のブロードなバンドを水素結合した NH_2 対称伸縮振動と帰属した。振動数からC7-typeの水素結合(7員環を形成する水素結合)を形成していると考えられる[4]。同様に、 3340cm^{-1} のブロードなバンドもC7-typeの水素結合を形成したNH伸縮振動であると帰属できる。C7-typeの水素結合は上記以外ではTrpのN-HとGlyのC=Oの間でしか形成できないので、 3340cm^{-1} のブロードなバンドはTrpのアミノ酸主鎖のNH伸縮振動と帰属できる。残るGlyのN-Hも水素結合を形成していると予想されるが、配列上C5-typeの水素結合しか形成できない。その場合 $3420\sim 3450\text{cm}^{-1}$ 付近に観測されるはずであるが、スペクトルのS/N比が低く、同定するには至っていない。以上の帰属から予測される水素結合の模式図をFig. 5に示す。

これらの帰属を基に、量子化学計算を用いてより詳細な構造について現在検討中である。今後はブロードな吸収を示すコンフォマーについてもIR dip スペクトルを測定し、構造と励起状態の速い緩和過程の相関について議論する予定である。

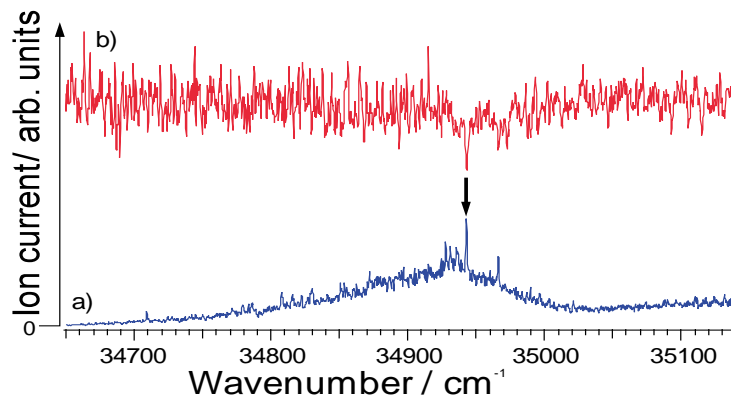


Fig. 3 a) REMPI and b) HB spectrum of GWP

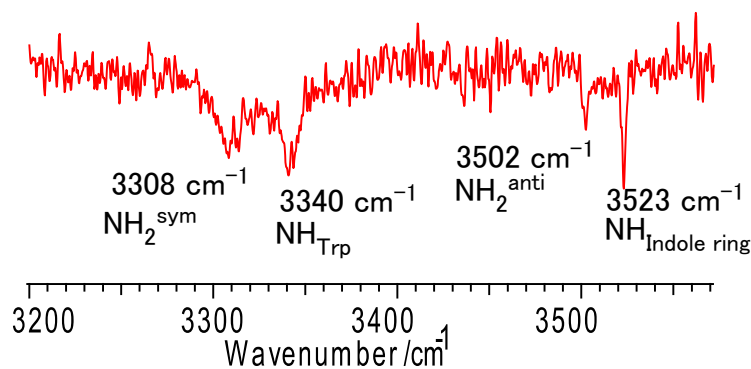


Fig.4 IR dip spectrum of GWP

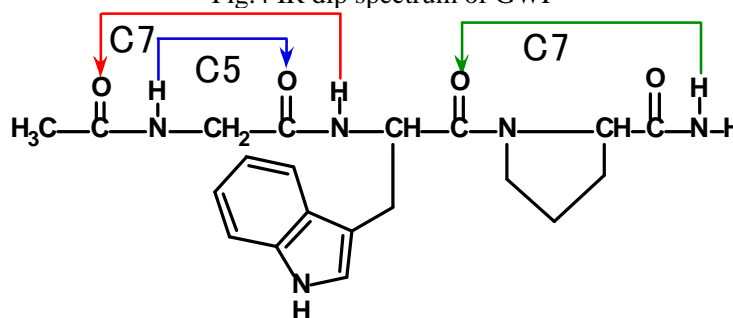


Fig. 5 H-bonding scheme of GWP

【参考文献】

- [1] L. C. Snoek, et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **3**, 1819, (2001)
- [2] I. Hünig, et al., *Chem. Phys. Lett.*, **369**, 173 (2003)
- [3] I. Hünig, K. Kleiner, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6**, 2650 (2004).
- [4] W. Chin, et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8**, 1033, (2006)