3P015

レーザー脱離超音速ジェット分光法を用いた GYG ペプチドの電子スペクトル

(東工大・資源研) ○篠原 潤平, 孫 雲龍, 石内 俊一, 藤井 正明

Electronic spectra of GYG peptide by laser desorption supersonic jet spectroscopy

(Chemical Resources Lab., Tokyo Tech.)
○Junpei Shinohara, Woon Yong Sohn, Shun-ichi Ishiuchi, Masaaki Fujii

【緒言】フェニルアラニンを含むペプチドの励起状態ダイナミクスは、コンフォメーションに強く依存することが報告されており[1, 2]、他のペプチドでも同様なコンフォメーション依存性が存在するか興味が持たれる。当研究室では以前にモデルペプチドとして、両末端を保護(C-末端をアセチル化、N-末端をアミド 化)したチロシンの電子スペクトルを測定した[3]。その結果、５つのコンフォマーが観測され、そのうち２つがブロードな電子スペクトルを与える事を見出した。そこで、さらにペプチド鎖を伸長するとどうなるかに興味をもち、チロシンの両末端をグリシンと結合させた末端保護トリペプチド Ac-Gly-Tyr-Gly-NH_2(以降 GYG)に着目した。類似ペプチドとして YG、YGG は既に報告されており[4]、これらを比較することで、励起状態ダイナミクスのペプチド鎖長依存性やアミノ酸配列依存性に関する知見が得られると期待される。本研究ではまずこの第一歩として GYG にレーザー脱離・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 スペクトルを測定することで、コンフォマーの数と各コンフォマーの構造決定を試みた。

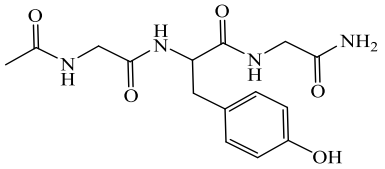

Fig.1 Structure of GYG

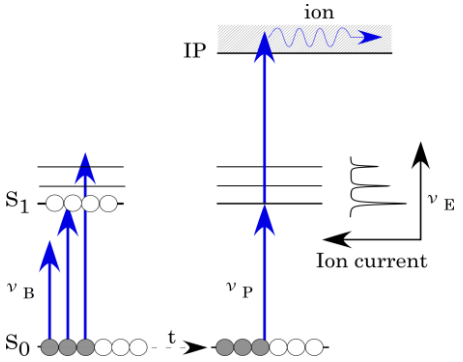

Fig.2 UV-UV Hole burning spectroscopy

【実験】リンクアミドレジンを用いた固相合成法により GYG を合成し、凍結乾燥法を用いてペプチド微粉末サンプルを得た。このサンプルに等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)を照射しサンプルを脱離させ、80 bar の超音速ジェットにより極低温状態に冷却した。スキマーを用いて分子線に切り出し、波長可変紫外レーザーを照射して GYG をイオン化した。生成したイオンを飛行時間型質量分析装置によって検出した。同時に複数のコンフォマーの電子遷移が REMPI スペクトル上で観測されるため、これらを区別できる HB 分光法を適用した(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 ν_p より前に第 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観測することができる。また、紫外レーザーの代わりに波長可変赤外レーザ

ーを ν_B に用いれば、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できる(IR dip 分光法)。

【結果・考察】GYG の REMPI スペクトルを Fig.3a に示す。末端保護されたチロシンに見られたブロードなバンドは観測されなかった。複数のコンフォマーが共存しているのか否かを明らかにするために、HB スペクトルを測定した(Fig.3b)。異なる 2 本の HB スペクトルが観測され(Fig.3b-A, B)、2 つのコンフォマーが共存する事が明らかになった。それぞれの 0-0 遷移を 35431, 35494 cm^{-1} と決定した。それぞれのバンドをモニターして測定した OH, NH 伸縮振動領域の IR dip スペクトルを Fig.4 に示す。2 つの IR スペクトルは類似しているため 2 つのコンフォマーの主鎖の水素結合パターンは類似していると考えられる。最も高波数側に観測された 3660 cm^{-1} 付近のシャープなバンドはその振動数からチロシン残基の水素結合していないフェノール OH 伸縮振動に帰属できる。したがって残りの 5 つのバンドは NH 伸縮振動に帰属できる。まず、NH 伸縮振動の中で最も高波数側に観測されたバンドは、その振動数から C-末端 NH_2 の逆対称伸縮振動に帰属できる。これに付随する対称伸縮振動は、逆対称伸縮振動とのデカップリングによりその振動数を推定することができ、過去の報告[5]を基に 3380 cm^{-1} 付近の最も低波数側に観測されたバンドを NH_2 対称伸縮振動に帰属した。この対称伸縮振動は大きくレッドシフトしており、その振動数から C_7-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。残りの 3 つの NH バンドも過去の報告[5]との比較により帰属でき、3400 cm^{-1} 付近のバンドを C_{10}-type の水素結合、3425 cm^{-1} 付近のバンドを C_5-type の水素結合、3490 cm^{-1} 付近のバンドを水素結合を形成していない(あるいは NH-π 水素結合)NH 伸縮振動と帰属できる。以上の帰属を基にペプチド主鎖の水素結合パターンを考えると、可能なパターンは一通りしかない(Fig.5)。原理的にはチロシン残基のフェノール OH 基の配向の違いによりシス・トランス回転異性体のペアが共存するはずであるが、今回観測した 2 つのコンフォマーがそれに対応するか否かを結論するためには、量子化学計算による詳細な構造決定が必要であり、現在進行中である。

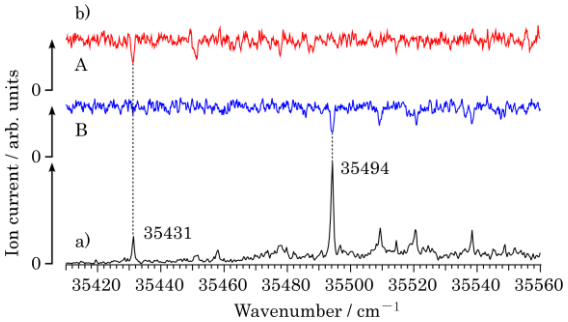

Fig.3 a) REMPI and b) HB spectra

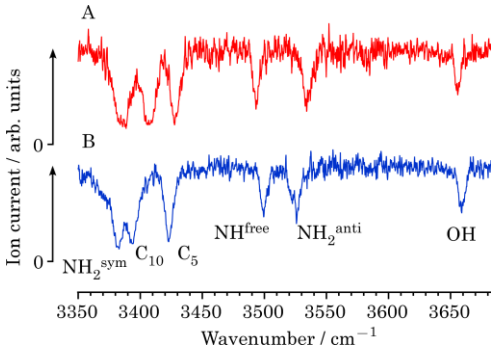

Fig.4 IR dip spectra

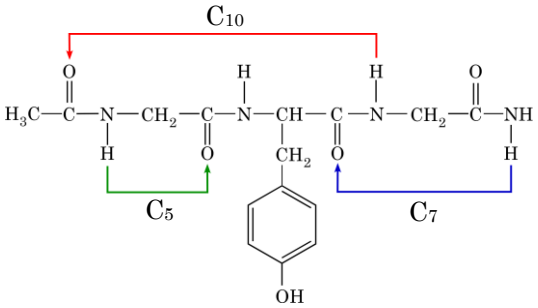

Fig.5 H-bonding scheme of GYG

【参考文献】

[1] M. Mališ, Y. Loquais, E. Gloaguen, H. S. Biswal, F. Piuzzi, B. Tardivel, V. Brenner, M. Broquier, C. Jouvet, M. Mons, N. Došlić, I. Ljubić., *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 20340 (2012). [2] W. Domcke, A. L. Sobolewski., *Nature Chem.*, **5**, 257 (2013). [3] W. Y. Sohn, Y. Shimozono, P. Çarçabal, S. Isiuchi, M. Fujii., 第 7 回分子科学討論会, **1A07** (2013). [4] A. Abo-Riziq, L. Grace, B. Crews, M. P. Callahan, T. van Mourik, M. S. de Vries., *J. Phys. Chem. A,* **115**, 6077 (2011). [5] W. Chin, F. Piuzzi, I. Dimicoli, M. Mons., *Phys. Chem. Chem. Phy.*, **8**, 1033 (2006).