

Step-Scan FT-IR を用いた電場赤外吸収測定システムによる 溶液状態での脂肪酸の分子情報解析

¹東北大院薬, ²台湾交通大

○小林祐輝¹, 蓮沼直樹¹, 平松弘嗣², 黒井邦巧¹, 中林孝和¹

Molecular information analysis of fatty acids in solution state by IR electroabsorption system using Step-Scan FT-IR

○Yuki Kobayashi¹, Naoki Hasunuma¹, Hirotsugu Hiramatsu², Kuroi Kunisato¹, Takakazu Nakabayashi¹

¹ Graduate School of Pharmaceutical Science, Tohoku Univ, Japan

² National Chiao Tung Univ, Taiwan

【Abstract】 Effects of nanosecond pulsed electric fields to biological systems have been investigated to be applied to medical and pharmaceutical sciences. However, the mechanism of effects of electric fields still remains unresolved. In this study, we have developed the step-scan FT-IR system applicable under external electric fields. We applied the constructed system to oleic acid and nonanoic acid and measured field-induced changes in their IR spectra (IR electroabsorption (IR-EA) spectrum). We examined the electric field effects on the C=O stretching and C-H stretching bands of these molecules, and succeeded in observing the absorbance changes on the order of 10^{-6} . We also obtained information on anharmonic constants of these vibrational modes from the analysis of the IR-EA spectra. In conclusion, the constructed IR-EA system can be applicable to measure electric field effects on a variety of molecules and provides information on anharmonicity of a vibrational mode.

【序】 メカノバイオロジーの一つとして、ナノ秒パルス電場の印加に対する細胞や生体分子の応答機構の研究が進められている。最近ではパルス電場の印加によるタンパク質の機能や構造の制御なども報告されている[1,2]。しかし、タンパク質の電場応答機構の詳細は不明であり、医薬学へ展開するためには、電場応答機構の解明が必須である。赤外分光法は、X線結晶構造解析やNMRでは検出できない微小な構造変化を検出することができる。我々は、タンパク質の電場効果を赤外分光法から検出することを目的として、電場変調赤外吸収(IR-electroabsorption, IR-EA)測定システムを構築している[3]。本研究では、このシステムを脂肪酸であるオレイン酸とノナン酸に適用し、電場によるスペクトル変化を検討した。

【方法 (実験・理論)】 赤外分光器として、真空型 step-scan FT-IR (Bruker)を用い、窓板兼電極セルとしてシリコン板を使用した。試料液体をシリコン板間に挟み、液膜状態の試料に電場を印加しながら測定を行った。外部電場が ON のスペクトルから OFF のスペクトルを引いた差スペクトル (IR-EA スペクトル) の測定は、SNIFTIRS 方式を用いた。この方法では 100 μs ごとに電場 ON、OFF を切り替え、step-scan 方式で各時間における透過赤外光の強度を取得する。ON と OFF の透過光強度の比から、IR-EA スペクトルを得ることができる。この方法ではバックグラウンドの測定が必要なく、S/N 比を向上させることができる。IR-EA スペクトル($\Delta A(\tilde{\nu})$)は、(1)式のように元の赤外吸収スペクトル($A(\tilde{\nu})$)の 0、1、2 次微分の線形結合で表せられる。

$$\Delta A(\tilde{\nu}) = (fF)^2 [A' A(\tilde{\nu}) + B' \tilde{\nu} \{d(A(\tilde{\nu})/\tilde{\nu})/d\tilde{\nu}\} + C' \tilde{\nu} \{d^2(A(\tilde{\nu})/\tilde{\nu})/d^2\tilde{\nu}\}] \quad (1)$$

F は印加電場、 f は内部電場補正項を表す。0 次微分の係数 A' は分子配向の変化、1 次微分および 2 次微分の係数である B' と C' は、振動励起に伴う分極率および双極子モーメントの変化に起因する。IR-EA を、これら 3 つの項の線形結合として再現し、 A' 、 B' 、 C' の値を得た。

【結果・考察】 Fig. 1 にノナン酸の C-H 伸縮振動バンド領域の結果を示す。C-H 伸縮振動バンドは、複数の C-H 伸縮振動バンドの重ね合わせからなる。そのために、赤外吸収スペクトルのバンド分解を行い (Fig. 1A)、その後各バンドの微分形から実測値の再現を行った。得られた IR-EA スペクトルは、主に 2854 cm^{-1} の CH_2 対称伸縮バンドの 1 次微分形、 2926 cm^{-1} の CH_2 逆対称伸縮バンドの 2 次微分形で再現することができた。また、 $\text{C}=\text{O}$ 伸縮振動バンドについても、赤外吸収バンドの 2 次微分形で再現することができた[3]。

ノナン酸、オレイン酸それぞれにおいて、 CH_2 逆伸縮振動、 $\text{C}=\text{O}$ 伸縮振動バンドの IR-EA スペクトルの電場強度依存性を測定し、電場強度の二乗に対してプロットした (Fig. 2)。(1) 式から予想されるように、信号強度は電場強度の二乗に対して比例関係となり、結果の妥当性を確認した。

2 次微分の係数 C' から振動基底状態と振動励起状態の双極子モーメントの差 $|\Delta\mu|$ を見積もることができた (Table 1)。各振動での $\Delta\mu$ の値は二つの脂肪酸ではほぼ一致しているが、 $\text{C}=\text{O}$ 伸縮振動と CH_2 逆対称伸縮振動の間では有意な差が生じている。 $\Delta\mu$ は振動の非調和性を表しており、 CH_2 逆対称伸縮振動と $\text{C}=\text{O}$ 伸縮振動で、振動の非調和性が違うことが分かる。

本研究から、製作したシステムは 10^{-6} の微小変化まで観測可能であり、電場による生体分子が受ける摂動も鋭敏に検出可能であると期待できる。また、電場による摂動を通じて、分子振動の非調和性を検出することが分かった。振動の非調和性は分子構造の変化に鋭敏であるために、新しい分子構造の解析手法になりえると考えている。

	Oleic acid	Nonanoic acid
$ \Delta\mu_{\text{CH}_2} $ (D/f)	2.1×10^{-2}	2.8×10^{-2}
$ \Delta\mu_{\text{C}=\text{O}} $ (D/f)	3.7×10^{-2}	4.9×10^{-2}

Table 1. Difference in the dipole moment at each vibration.

【参考文献】

- [1] D. R. Hekstra *et al.* *Nature* **540**, 400 (2016).
 [2] K. Wei *et al.* *Sci. Rep.* **83**, 18781 (2016).
 [3] 小林, 蓮沼, 平松, 中林, 第10回分子科学討論会, 3P093 (2016).

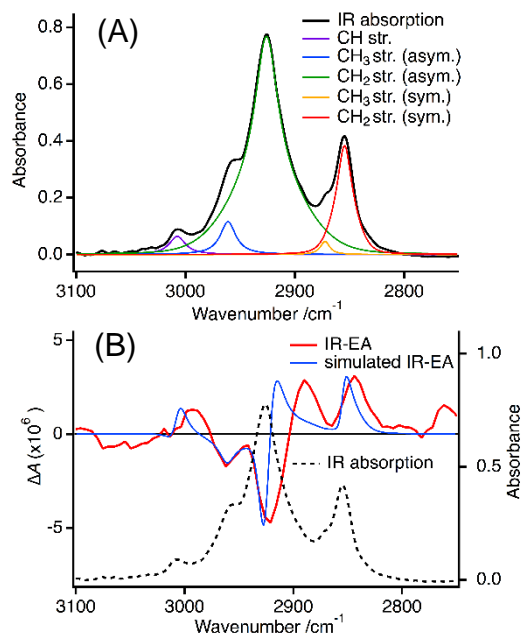


Fig. 1. (A) IR absorption spectrum of oleic acid in the C-H stretching band region. The result of the band decomposition is also shown in the same figure. (B) IR-EA spectrum (red line) of oleic acid, together with the simulated one (blue line) and the IR absorption spectrum (dotted line).

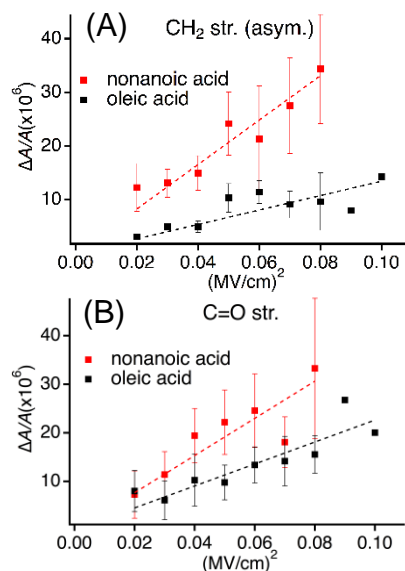


Fig. 2. Plots of the field-induced change in the IR absorption intensity of nonanoic acid (red) and oleic acid (black) as a function of the square of applied field strength at CH_2 asymmetry stretching (A) and $\text{C}=\text{O}$ stretching (B) bands.