

## ヘテロダイン検出振動和周波発生分光法による 抗菌ペプチドグラミシジンのL膜およびLB単分子膜の構造の研究

筑波大院・数理物質

○鍛冶美里, 奥野将成, 石橋孝章

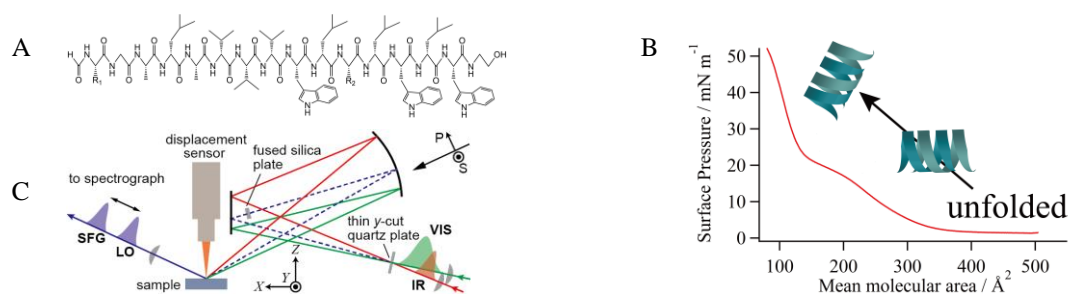
### Heterodyne-detected vibrational sum frequency generation studies on molecular structures of antimicrobial peptide gramicidin Langmuir and Langmuir-Blodgett monolayers

○Misato Kaji, Masanari Okuno, Taka-aki Ishibashi

Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba

**【Abstract】** We used heterodyne-detected VSG (HD-VSG) spectroscopy to investigate the details of the molecular structure of antimicrobial peptide gramicidin at interfaces. Gramicidin is composed of 15 hydrophobic amino acids in D- and L- alternate conformers, and forms a unique  $\beta$ -helix. It was suggested that gramicidin changes its secondary structure as a function of its surface pressure by tracking the amide I peak using PM-IRRAS, while no changes of the  $|\chi^{(2)}|^2$  spectra was reported in the CH stretching region by homodyne-detected VSG. In this study, we measured  $\chi^{(2)}$  spectra at air/water and air/solid interfaces in the amide I region for the first time. The results suggested that we observed A species around  $1640\text{ cm}^{-1}$  in the SPS polarization and  $E_1$  species around  $1670\text{ cm}^{-1}$  in the SSP polarization. The dependences of their band amplitudes on the surface pressures are consistent with the orientational change proposed by the PM-IRRAS study. Furthermore, from  $\chi^{(2)}$  spectrum in the CH and OH stretching region, the molecular orientations of methyl groups and water molecules were clarified.

**【序】** グラミシジンはL体とD体が交互に配列した15個の疎水性アミノ酸から成る抗菌ペプチドである (Figure 1A)。PM-IRRASを用いたアミドI領域の赤外スペクトルの測定から、グラミシジンの水上単分子膜 (Langmuir膜: L膜) は表面圧に依存してその構造を変化させることが示唆されている[1] (Figure 1B)。しかし、ホモダイン検出SFG分光法を用いたCH伸縮振動領域の測定では配向変化に伴う $|\chi^{(2)}|^2$ スペクトルのバンドやピーク波数の変化は確認されていない[2]。また、アミドI領域の測定は行われていないため、グラミシジン単分子膜の構造の詳細は未解明である。本研究で



**Figure 1.** (A) Molecular structure and (B)  $\pi$ -A isotherm of a gramicidin molecular at the air/water interfaces. (C) Schematics of HD-VSG setup.

は、ヘテロダイナ検出振動和周波発生 (heterodyne-detected vibrational SFG : HD-VSFG) HD-VSFG) 分光法を用いてグラミシジンの L 膜とシリカ基板上的の単分子膜 (Langmuir-Blodgett 膜 : LB 膜) についてアミド I 領域および CH、OH 伸縮振動領域における  $\chi^{(2)}$  スペクトルの変化を検討した。

【実験】HD-VSFG 分光法は界面選択的な手法である。また、得られる複素量  $\chi^{(2)}$  は分子超分極率の配向平均であり、その符号から絶対的な分子配向を決定することが出来る。本研究では、試料として超純水表面にグラミシジンのクロロホルム溶液を展開して L 膜を、それをシリカ基板の上に累積した LB 単分子膜を測定した。HD-VSFG 測定では、試料からの SFG 光と y-cut 水晶からの SFG 光との干渉光を測定して  $\chi^{(2)}$  スペクトルを得た。ただし、 $\chi^{(2)}$  は単位分子数あたりに規格化して評価した。

【結果・考察】LB 単分子膜のアミド I 領域における  $\chi^{(2)}$  スペクトルを Figure 2 に示す。偏光条件 SPS (前から SFG 光, 可視光, 赤外光の偏光方向を示す) と SSP の測定では、それぞれ  $\sim 1640 \text{ cm}^{-1}$  と  $\sim 1670 \text{ cm}^{-1}$  に正のバンドが観測された。このように偏光条件に依存してバンドの位置が大きく変化したのは、分子の配向を反映し、偏光条件によって複数あるアミド I の振動モードのうち VSFG の強度が大きいモードが異なっている結果であると考えられる。まず、SPS 偏光配置と SSP 偏光配置の赤外光はそれぞれ S 偏光、P 偏光であるため、前者は界面に平行なモードの強度が、後者は界面に垂直なモードの強度が大きくなる傾向がある。また、グラミシジンは圧縮に伴い  $\beta^{5,6}$  ヘリックスを形成し、表面圧の大きな領域ではヘリックス軸が界面内にあるが、更なる圧縮に伴ってヘリックス軸が界面の法線方向に傾くことが PM-IRRAS を用いた先行研究により示唆されている。本研究で得られた結果は、SPS 偏光配置ではアミド I モードのうち A モードを、SSP 偏光配置では  $E_1$  モードを観測したとすると、PM-IRRAS の先行研究で示唆されたヘリックスの形成およびその配向変化を用いて表面圧の上昇に伴うそれぞれのバンドの振幅の減少を説明できる。さらに、キラル敏感な PSP 偏光配置を用いた測定も試みたが、キラル VSFG 信号は微弱なため、それをもとに配向を議論することは出来なかった。発表では、CH および OH 伸縮振動領域の  $\chi^{(2)}$  スペクトルから、側鎖のメチル基と L 膜の下層液の水分子の配向についても議論する。

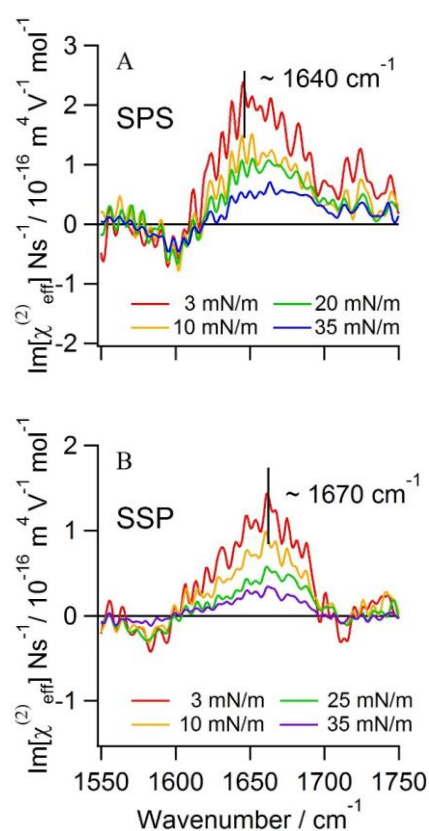


Figure 2. HD-VSFG spectra of amide I bands of gramicidin at the air/fused silica interfaces. (A) In the SPS (S-polarized SFG, P-polarized Vis, S-polarized IR,) polarization and (B) SSP polarization combination.

### 【参考文献】

- [1] H. Lavoie, D. Blaudez, D. Vaknin, B. Desbat, B. M. Ocko, and C. Salesse, *Biophys. J.*, **83**, 3558 (2002).  
 [2] Kim G., Guray M., and Cremer P., *J. Phys. Chem B.*, **107**, 1403 (2003).