

既知の二次構造を持つモデルペプチド界面のHD-キラルVSFG分光

筑波大院・数理物質

○板垣信人, 奥野将成, 石橋孝章

HD-chiral VSFG spectroscopy of model polypeptides with known secondary structures at interface

○Makoto Itagaki, Masanari Okuno, Taka-aki Ishibashi

Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba

【Abstract】 Chiral vibrational sum frequency generation (VSFG) spectroscopy can detect molecular chirality with high sensitivity. The secondary structures of proteins and polypeptides, which have chirality, may sensitively reflect chiral VSFG signal. Actually, the correlation between the secondary structures and the NH stretching or amide I signal has been proposed on the basis of homodyne detected chiral VSFG spectra that are the square of the second order nonlinear susceptibility, $|\chi^{(2)}|^2$ [1]. Moreover, chiral VSFG signals with positive sign are obtained from several proteins at air/water interfaces by heterodyne detected (HD) chiral VSFG spectroscopy which can determine the phase of the $\chi^{(2)}$ [2]. In this study, we examined monolayers of model peptides (poly- γ -benzyl-L-glutamate and K(LK)₇) whose structures are known by other methods, focusing on the correlation between their secondary structures and the intensities and signs of the HD-chiral VSFG bands.

【序】 試料に可視光と赤外光を時間的・空間的に重ね合わせて入射すると、二次の非線形光学効果によってそれらの和の振動数を持った和周波光 (SFG 光) が発生する。キラル振動和周波発生 (VSFG) 分光法は、界面の分子のキラリティーを高感度に検出することができる振動分光法である[2]。タンパク質やペプチドの二次構造はキラリティーを持つため、キラル VSFG 分光法によって二次構造を区別・検出できる可能性がある。これまでに系の二次非線形感受率 ($\chi^{(2)}$) の絶対値二乗を得ることが出来るホモダイン検出キラル VSFG 分光法によるいくつかのモデルペプチドの測定結果に基づいて、二次構造に敏感な振動バンドである NH 伸縮振動バンドとアミド I バンドの信号と二次構造の相関が提案されている[1](表 1)。また、位相を含めて $\chi^{(2)}$ を得ることができるヘテロダイン検出 (HD) キラル VSFG 分光法によっていくつかのタンパク質から正の符号を持った信号が得られている[2]。本研究では、タンパク質より構造が単純で、二次構造が他の手法によって提案されているモデルペプチド界面について、符号を含めた HD-キラル VSFG 信号と二次構造の相関を検討した。

Table 1. Proposed rule on the correlation between secondary structures and chiral VSFG signals [1]

| Secondary structure | Amide I | NH stretch |
|-----------------------------|---------|------------|
| Disordered | × | × |
| α -helix | × | ○ |
| Antiparallel β -Sheet | ○ | ○ |

【実験】 モデルペプチドとして気水界面上で α -ヘリックスをとることが提案されている poly- γ -benzyl-L-glutamate (PBLG) [3] と逆平行 β -シートをとることが提案されている K(LK)₇[3] について検討した。水面上単分子膜 (Langmuir 膜:L 膜) とそれをシリカ基板上に移した単分子膜 (Langmuir-Blodgett 膜:LB 膜) について測定した。HD-VSFG 分光測定では、y-cut quartz から発生させた SFG 光を LO 光として使用し、試料由来の SFG 光と干渉

させた。偏光配置はキラリティーを選択的に検出できる PSP 偏光 (SFG 光:P 偏光, Vis 光:S 偏光, IR 光:P 偏光) とし、二次構造に敏感な NH 伸縮振動領域とアミド I 領域の測定を行った。可視光の波長は 630 nm、赤外光の波長は NH 伸縮振動領域では 2800 nm、アミド I 領域では 5700 nm とした。また、z-cut quartz を参照試料として用いることでスペクトルの強度と位相を規格化し、試料の $\chi^{(2)}$ を得た。

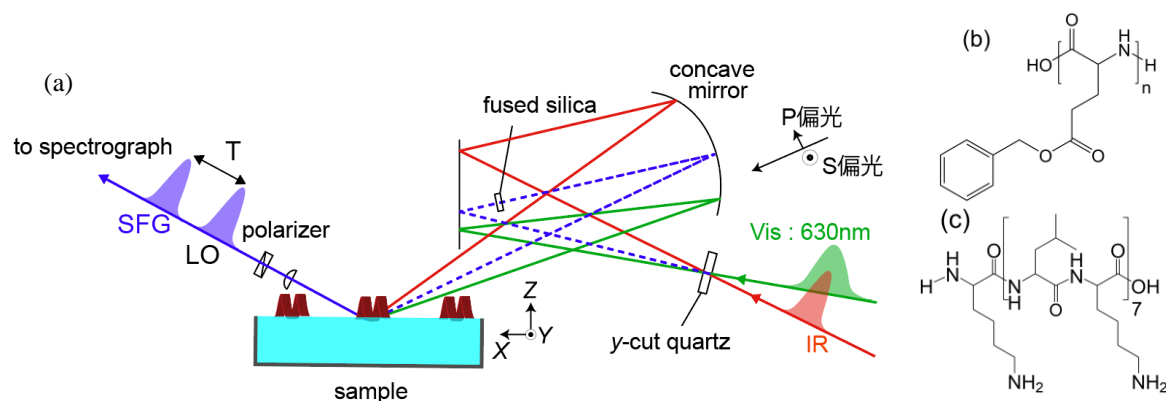


Fig. 1. (a) Schematic of HD-VSFG setup, (b) molecular structures of PBLG and (c) of K(LK)₇.

【結果・考察】PBLG と K(LK)₇ の L 膜の NH 伸縮振動領域とアミド I 領域の $\chi^{(2)}$ スペクトルを図 2 に示す。NH 伸縮振動領域では、PBLG からは 3330 cm⁻¹、K(LK)₇ からは 3275 cm⁻¹ に正の NH 伸縮振動バンドが観測された。アミド I 領域では、PBLG からは振動バンドが観測されず、K(LK)₇ からは 1622 cm⁻¹ に正のアミド I バンドが観測された。界面におけるモデルペプチドの二次構造とキラル VSFG 信号の有無の関係は、Yan らの提案した規則 [1](表 1)と一致し、モデルペプチドの二次構造と HD-キラル VSFG 信号の有無には相関があることが示唆された。また、本研究で得られた HD-キラル VSFG 信号の正の符号は、タンパク質についての先行研究[2]と符号が一致したため、PBLG と K(LK)₇ と既報のタンパク質で気水界面における二次構造の配向が類似していることが示唆された。さらに、PSP 偏光配置と SPP 偏光配置のスペクトルを比較することで、HD-キラル VSFG 信号がバルク由来ではなく界面由来であることを確認した。また、HD-アキラル VSFG 測定(偏光配置:SSP 偏光)も併せて行い、信号と二次構造の相関および側鎖や下層水の配向を検討した。今後は、HD-キラル VSFG 信号の振幅や符号が二次構造のどのような配向を反映しているのかを検討する。

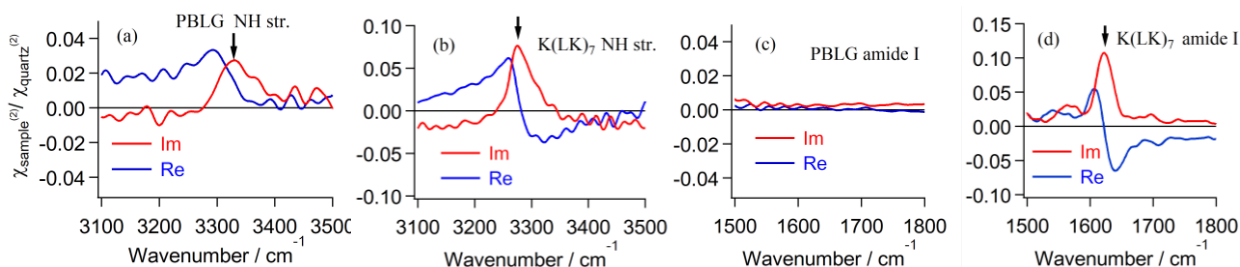


Fig. 2. Chiral (PSP) complex $\chi^{(2)}$ spectra (red : imaginary part, blue : real part) of (a) PBLG in the NH stretching region, (b) K(LK)₇ in the NH stretching region, (c) PBLG in the amide region, and (d) K(LK)₇ in the amide region.

【参考文献】

- [1] Fu, Liu, Yan, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 8094 (2011). [2] Okuno, Ishibashi, *J. Phys. Chem. C*, **119**, 9947 (2015). [3] Buffeteau, et al., *J. Phys. Chem. B*, **104**, 4537 (2000).