

未来社会創造事業 探索加速型  
「共通基盤」領域  
終了報告書(探索研究)

令和2年度 終了報告書
----------------

平成30年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：佐藤 久子]

[愛媛大学 大学院理工学研究科 教授]

[研究開発課題名：多次元赤外円二色性分光法の開発]

実施期間：平成30年11月15日～令和3年3月31日

## § 1. 研究実施体制

- (1)「多次元 VCD 測定開発」グループ(愛媛大学)
  - ① 研究開発代表者:佐藤 久子(愛媛大学大学院理工学研究科、教授)
  - ② 研究項目
    - ・多次元 VCD の測定法の開発
    - ・VCD 解析アルゴリズム
  
- (2)「顕微 VCD の製作」グループ(日本分光株式会社)
  - ① 主たる共同研究者:小勝負 純(日本分光株式会社、工場担当部長)
  - ② 研究項目
    - ・顕微 VCD 装置の試作
    - ・顕微 VCD 装置の特性評価
  
- (3)「D-アミノ酸を含むペプチドの合成」グループ(横浜国立大学)
  - ① 主たる共同研究者:川村 出(横浜国立大学大学院工学研究院、准教授)
  - ② 研究項目
    - ・D-アミノ酸を含むペプチドの合成
  
- (4)「顕微 VCD 法の検証」グループ(北里大学)
  - ① 主たる共同研究者:吉田 純(北里大学理学部化学科、講師)
  - ② 研究項目
    - ・顕微 VCD のための液晶性超分子の合成

## § 2. 研究実施の概要

生体機能の正常な発現には、いくつかの条件を満たす必要がある。酵素等のタンパク質が正しく折り畳まれていることもその一つである。間違っ折れ畳まれたタンパク質は正しく機能せず、ある場合には疾病等の異常を引き起こすこともある。最近、このようなことの起こる原因として、タンパク質中の L-アミノ酸残基の D-アミノ酸への変換(DL 変換)が注目されている。例えば、アルツハイマー病の原因とされるアミロイドペプチドでは、その会合状況が DL 変換によって影響されることが報告されている。このような分子キラリティの変異がタンパク質の高次構造にどのような影響を与えるかは重要な問題となりつつあり、その解析には新しい分光学的手段の出現が望まれる。特に、ペプチド中の高次キラリティの検出・追跡には、種々の手法を組み合わせたマルチモーダルな手法が必要と考えられる。

赤外円二色性分光法は、キラリティの検出手法としてアミノ酸、糖、タンパク質など紫外可視部に吸収のない物質にも適用可能であるという利点から注目されてきた。しかし、この手法にはシグナルが微弱、水溶媒での測定困難、固体での測定には種々の注意が必要というボトルネックがあり、汎用化への道はまだ遠いのが実情である。

本研究では、生体中に見られるタンパク質会合体の不斉構造の解明のために、これまでの波数軸にさらに時間軸と空間軸を追加した多次元赤外円二色性分光システムの開発を推進してきた。高強度の赤外光を発する

量子カスケードレーザーを光源とし、自動ステージを組み込んだ多次元赤外円二色性分光システムの開発に成功した。その結果、これまでに、水溶媒の影響をうけるために測定困難であったアミドI, II領域において、種々の試料形態に対応できる顕微技術の開発に成功した。具体的な例としては以下である。

高濃度試料の迅速測定として、 $1500\text{-}1740\text{ cm}^{-1}$  の波長範囲における高速測定を可能にした。特に、有機溶媒中のアミノ酸誘導体の高吸収試料(吸光度 4 程度)に対しても良好なスペクトルを得ることができた。さらに水溶媒中のジペプチドへの適用を行った。これまでの熱光源での測定では水の吸収に隠れていたシグナル検出は困難であったが、今回初めてアミド II シグナルの検出が可能となった。

溶液と比較して測定が困難であるとされる固体サンプルに関しては、ジペプチドの固体状態において、高信頼性のシグナル検出が可能となった。その結果、分子間会合によるシグナルの増大現象を見出し、アミド I 領域をはじめとして、多くのシグナルを検出・同定することができた。興味あることとして、ジペプチド中のアキラルなグリシル部分のキラル誘導も確認できた。また、熱光源測定と比較して測定時間も短縮できた。さらに、二次元スキャン測定により、サンプル面内の異なるキラリティの違いを検出することも実現した。例として、D-セリンと L-アラニンの混合固体系において、アミド I 領域に現れる特定波数のシグナルに注目し、このシグナルの空間分布から各成分の 2 次元分布を導くことができた。

以上、多次元赤外円二色性分光システムの開発によって、これまでの熱光源装置では測定困難であった高濃度試料中のアミド由来のピークの検出、それらの高速測定などを実現した。加えて、自動ステージによるスキャン方式を用いて空間マッピングをおこない、D-アミノ酸の二次元分布の検出手法を確立した。並行してアミノ酸のデータベース化やトリペプチドにおける高次構造予測、ドラッグデリバリーシステムへの応用を推進した。

1. Multidimensional Vibrational Circular Dichroism Apparatus Equipped with Quantum Cascade Laser and its Use for Investigating Some Peptide Systems Containing d-Amino Acids  
Hisako Sato, Masaru Shimizu, Keisuke Watanabe, Jun Yoshida, Izuru Kawamura, Jun Koshoubu,  
*Anal. Chem.*2021, 93, 2742-2748.
2. A new horizon for vibrational circular dichroism spectroscopy: a challenge for supramolecular chirality  
Hisako Sato  
*Phys. Chem. Chem. Phys. (Perspective)* 2020, 22, 7671-7679.
3. Self-assembly of tripeptides into  $\gamma$ -turn nanostructures  
Yumi Ozawa, Hisako Sato, Yohei, Kawano, Nana Yamaki, Yuichiro Izato, Atsumi Miyake, Akira Naito, Izuru Kawamura  
*Phys. Chem. Chem. Phys. (communication)*, 2019, 21, 10879-10883.