

令和3年1月29日  
愛媛大学  
科学技術振興機構(JST)

## ペプチド中の D-アミノ酸の検出を可能にする 世界初の多次元赤外円二色性分光装置を開発

愛媛大学大学院理工学研究科 佐藤久子教授の研究グループは、日本分光株式会社 小勝負純部長、横浜国立大学大学院工学研究院 川村出准教授、北里大学理学部 吉田純講師との共同で、量子カスケードレーザーを用いたスキャン機能型の多次元赤外円二色性分光装置の開発に成功しました。

アミノ酸は、同一の化学式であっても L 体と D 体という左右対称な立体化学のものが存在する、キラリティ<sup>1)</sup>という性質を有しています。タンパク質は、通常 L 体のアミノ酸 (L-アミノ酸) が多数結合した生体高分子ですが、そのうちの 1 つが D 体のアミノ酸 (D-アミノ酸) に変異した場合に、それがタンパク質の構造や性質に与える影響については、生物物理学・医学分野で非常に重要なテーマになっています。例えば、これはアルツハイマー病の原因物質であるアミロイド線維の生成メカニズムの解明にもつながっています。佐藤教授らは、こうしたキラリティの解析を迅速かつ生体試料のままで行うためには新しい分光学的手段が必要との観点から、今回、“多次元赤外円二色性分光法<sup>2)</sup>”と呼ばれる測定装置を開発しました。従来型の装置では赤外波の波数に対してキラリティを測定していたものに、今回の装置ではさらに時間軸と空間軸を追加することに成功しました。

今後、この顕微スキャン技術を駆使して、従来手法では水溶媒の影響をうけて測定困難だったアミド I、II 領域<sup>3)</sup>のシグナルを検出することで、種々の試料形態におけるキラリティ解析手法を確立することを目指しています。

なお、本研究の成果は、アメリカ化学会の *Analytical Chemistry* に 2021 年 1 月 29 日 (金) (日本時間) に掲載される予定です。

掲載誌: *Analytical Chemistry*

DOI: 10.1021/acs.analchem.0c02990

研究タイトル: Multidimensional Vibrational Circular Dichroism Apparatus Equipped with Quantum Cascade Laser and Its Use for Investigating Some Peptide Systems Containing D-Amino Acids

著者: Hisako Sato, Masaru Shimizu, Keisuke Watanabe, Jun Yoshida, Izuru Kawamura and Jun Koshoubu

責任著: 佐藤久子 (愛媛大学)、小勝負純 (日本分光株式会社)

## 発表のポイント

- キラリティ検出のために波数軸に加えてさらに時間軸と空間軸を追加した多次元赤外円二色性システム（熱光源と量子カスケードレーザーの切り替え可能なコンカレントシステム）を開発しました。
- 水溶媒の影響をうけるアミド 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ました。
- ジペプチドの固体状態においても高信頼性のシグナル検出ができるようになりました。アミド I 領域をはじめとして、シグナルの増大を見出し、アキラル部分のキラリティ誘導を確認しました。熱光源測定と比較して、測定時間も短縮できました。
- 自動ステージ機能により空間をスキャンさせる測定手法を開発し、サンプル内の異なる位置でのキラリティの違いを検出することも可能となりました。

## 概要

アミノ酸は、同一の化学式であっても L 体と D 体という左右対称な立体化学のものが存在する、キラリティという性質を有しています。タンパク質は通常 L-アミノ酸が多数結合した生体高分子ですが、その一つが D 体に変異した場合に、それがタンパク質の構造や性質に与える影響については、生物物理学・医学分野で非常に重要なテーマになっています。例えば、これはアルツハイマー病の原因物質であるアミロイド線維の生成メカニズムの解明にもつながっています。佐藤教授らは、こうしたキラリティ解析を迅速かつ生体試料のままで行うためには新しい分光学的手段が必要との観点から、今回、“多次元赤外円二色性分光法”と呼ばれる測定装置を開発しました。従来型の装置では赤外波の波数に対してキラリティを測定していたものに、今回の装置ではさらに時間軸と空間軸を追加することに成功しました。今後、この顕微スキャン技術を駆使して、従来手法では水溶媒の影響をうけて測定困難だったアミド I, II 領域のシグナルを検出することで、種々の試料形態におけるキラリティ解析手法を確立することを目指しています。

## 背景

生体機能発現においては、タンパク質の正しい折り畳みが不可欠です。間違った折り畳みでは正しく機能せず、生体内で異常を引き起こすこと可能性があります。その原因として、例えばタンパク質中のある L-アミノ酸が D-アミノ酸に変異した場合など分子のキラリティの変化に起因するものが挙げられます。その例として、アルツハイマー病のアミロイドペプチドの会合体への影響などが報告されています。D-アミノ酸への変異が高次構造にどのような影響を与えるかの解析には新しい分光学的手段が望まれています。特にペプチド中のキラリティの検出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です。

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、熱光源を用いた赤外円二色性分光法が有効であると言われてきました。しかしながら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す。

上記課題を解決するために、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装置の開発を推進してきました。特に、D-アミノ酸を含むペプチドの高次キラリティ解析手法の確立を目指しています。

## 研究成果

量子カスケードレーザーと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ました（図 1）。量子カスケードレーザーを用いることにより、水溶媒の影響をうけるアミド I, II 領域においても種々の試料形態に対応できる顕微技術の開発に成功しました。特にこれまで、熱光源を用いた測定では水の吸収に隠れていたジペプチドサンプルのシグナル検出は困難でしたが、アミド II シグナルの検出が可能となりました。

ジペプチドの固体状態においては、高信頼性のシグナル検出が可能となりました。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することができました。特にアキラルなグリシル部分のキラリ誘導も確認できました。また、熱光源測定（3 時間程度の測定）と比較して、40 分程度の測定へと測定時間も短縮できました。

さらに、空間をスキャンさせて測定することでサンプル内の異なるキラリティの違いを検出することも可能となりました。例として D-セリンと L-アラニンの系においてアミド I 領域(1600  $\text{cm}^{-1}$  付近)に現れるある波数のシグナルに注目し、このシグナルの空間分布からアミノ酸検出が可能となりました (図 2)。

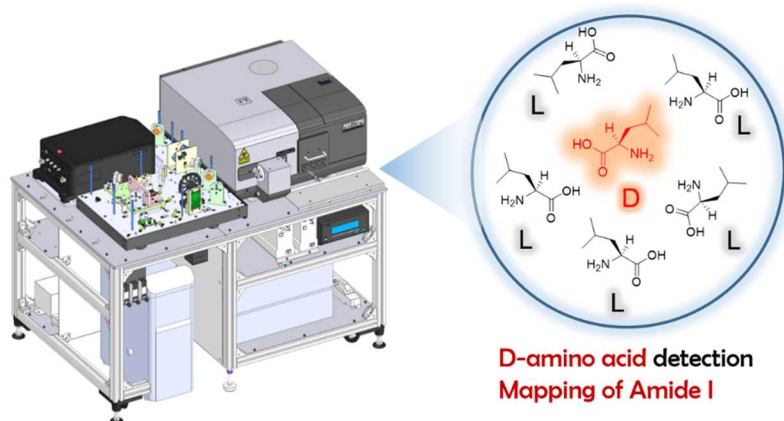


図1 装置の概略図:開発した多次元赤外円二色性分光システムの外観及び概要

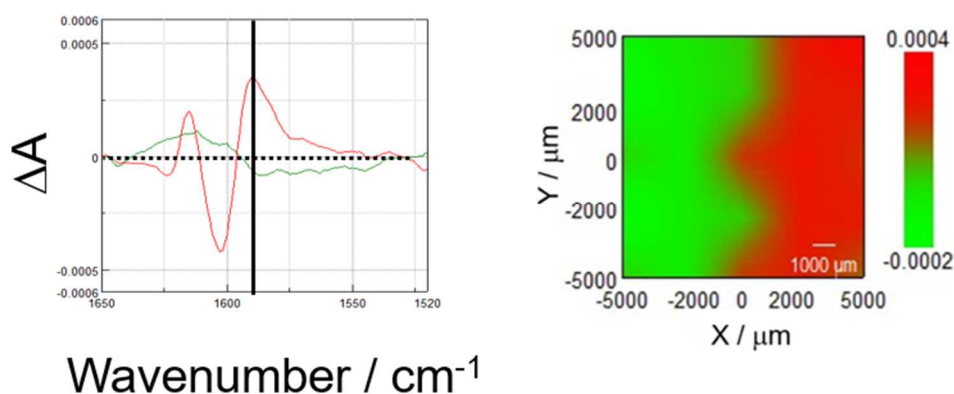


図2 (左)1次元のシグナルの例(緑色D-セリン、赤色 L-アラニン)、アミド I のシグナルから2次元分布を作成 (右)サンプル内の2次元分布:D-セリンと L-アラニンの識別の例(緑色D-セリン、赤色 L-アラニン)

### 今後の展開と一般へのアピールポイント

今後、顕微スキャン技術を駆使して、従来手法では水溶媒の影響をうけて測定困難なアミド I, II 領域のシグナルを検出することで種々の試料形態におけるキラリティ解析手法を確立することを目指しています。例えば生体組織のサンプルに関して分解能 100 マイクロメートルの顕微赤外円二色性分光法の適用が考えられます。また、このシステムは創薬分野における医薬品の品質管理などの産業応用も期待されます。

本研究は、愛媛大学、日本分光株式会社、横浜国立大学、北里大学との共同で、国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) 未来社会創造事業 探索加速型「共通基盤」領域の研究開発課題「多次元赤外円二色性分光法の開発」(研究開発代表者: 佐藤久子) (JPMJMI18GC) の支援を受けて行いました。

## 用語解説

### 1) キラリティ

右手、左手の鏡像関係を表す対称性はキラリティと呼ばれ、自然界にも多く存在する。キラリティは超分子構造の構築など機能発現のために不可欠な要素となっている。キラリティを有する物質をキラル、有しない物質をアキラルという。

### 2) 赤外円二色性分光法

振動領域の左及び右円偏光の差を利用して、紫外可視部に吸収のないキラル物質すべてに適用ができる方法。

### 3) アミド I, II 領域

1500~1700 $\text{cm}^{-1}$  付近の赤外振動領域。アミド I はペプチド結合の C=O 伸縮振動、アミド II は主に N-H 変角振動である。

#### <本件に関する問い合わせ先>

愛媛大学大学院理工学研究科

教授 佐藤 久子 (サトウ ヒサコ)

TEL : 089-927-9599

Mail : sato.hisako.my[at]ehime-u.ac.jp

#### <J S T 事業に関する問い合わせ先>

科学技術振興機構 未来創造研究開発推進部

水田 寿雄 (ミズタ ヒサオ)

TEL : 03-6272-4004 FAX : 03-6268-9412

Mail : kaikaku\_mirai[at]jst.go.jp