

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		先端的振動和周波発生分光法による脂質膜の酸化・抗酸化メカニズムの研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Oxidation and antioxidant mechanism of lipid membranes studied by advanced vibrational SFG spectroscopy			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)イシバシ	名)タカアキ	研究期間 B	2013 ~ 2014 年
	漢字 CB	石橋	孝章	報告年度 YR	2015 年
	ローマ字 CZ	Ishibashi	Taka-aki	研究機関名	筑波大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		筑波大学・教授			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。) 振動和周波発生分光(振動 SFG 分光)は二次の非線形光学過程に基づく手法であり、反転対称性が破れる界面の振動スペクトルを選択的に得ることができる。研究期間中に、まず高感度なヘテロダイン検出マルチプレックス振動 SFG 分光装置を実装し、空気-水溶液界面における分子膜(脂質、タンパク質)の静的および動的構造を研究した。脂質膜の酸化過程自身の測定は今後の課題として残されたが、そのための確かな基礎技術の開発することができた。 開発した装置の特徴は、局所発振器として水晶薄膜結晶を試料部分の前に直列に配置した点にある。これまでの先行研究で使用されてきた金基板を反射配置で使用する局所発振器と比較して、薄膜水晶を使用する方式は広い範囲の入射プローブパワーが利用可能であり、局所発振器の出力の大きさと偏光方向についても高い自由度が獲得できる。特に、偏光に関する自由度を活用することで、従来型の界面振動 SFG 分光だけではなく、キラルな試料を選択的に検出できるヘテロダイン検出キラル振動 SFG 分光(HD キラル振動 SFG)も実現した。我々の装置は、信号の利用効率が高いマルチプレックス方式で HD キラル振動 SFG 分光を実現した世界的に見ても最初の例である。 作製した装置を使用して、基本的な脂質である DPPC の水上単分子膜(L 膜)を測定した。CH 伸縮振動領域のスペクトルの表面圧依存性を検討することで、ゴーシュ形を多く含む構造から全トランス形へとアルキル鎖のコンフォメーションが変化する様子を定量的に扱えることを確認した。これは脂質膜の酸化過程を解析する為の重要な参照データである。さらに、気液界面の表面過剰タンパク質(キモトリプシン)について、アミド部分の振動(NH 伸縮振動領域およびアミド I 領域)のキラル VSFG スペクトルの気液界面形成後の時間変化を 5 分間隔で測定し、界面形成後約 30 分程度の時間で吸着時点の反平行 β シート構造がアンフォールディングしていく過程を実時間観測することができた。同様の測定を様々な脂質、活性酸素種(ROS)、抗酸化物質の組み合わせに対して行うことで、酸化・抗酸化メカニズムに対する有用な知見が得られると期待できる。					
キーワード FA	振動和周波分光	気水界面	生体分子	タンパク質	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Chirality Discriminated by Heterodyne-detected Vibrational Sum Frequency Generation							
	著者名 ^{GA}	Masanari Okuno and Taka-aki Ishibashi*	雑誌名 ^{GC}	<i>Journal of Physical Chemistry Letters</i>					
	ページ ^{GF}	2874~2878	発行年 ^{GE}	2	0	1	4	巻号 ^{GD}	5
雑誌	論文標題 ^{GB}	Heterodyne-detected Achiral and Chiral Vibrational Sum Frequency Generation of Proteins at Air/Water Interface							
	著者名 ^{GA}	Masanari Okuno and Taka-aki Ishibashi*	雑誌名 ^{GC}	<i>Journal of Physical Chemistry C</i>					
	ページ ^{GF}	9947~9954	発行年 ^{GE}	2	0	1	5	巻号 ^{GD}	119
雑誌	論文標題 ^{GB}	Salt-induced water orientation at a surface of non-ionic surfactant in relation to a mechanism of Hofmeister effect							
	著者名 ^{GA}	Mafumi Hishida, Yohei Kaneko, Masanari Okuno, Yasuhisa Yamamura, Taka-aki Ishibashi, and Kazuya Saito*					雑誌名 ^{GC}	<i>Journal of Chemical Physics</i>	
	ページ ^{GF}	171101 (5 pages)	発行年 ^{GE}	2	0	1	5	巻号 ^{GD}	142
雑誌	論文標題 ^{GB}	Intensity Enhancement of Vibrational Sum Frequency Generation by Gap-mode Plasmon Resonance							
	著者名 ^{GA}	Masanari Okuno, Taichi Tokimoto, Miharuru Eguchi, Hideaki Kano, and Taka-aki Ishibashi*					雑誌名 ^{GC}	<i>Chemical Physics Letters</i>	
	ページ ^{GF}	83~87	発行年 ^{HD}	2	0	1	5	巻号 ^{GD}	639
雑誌	論文標題 ^{GB}	Sensitive and Quantitative Probe of Molecular Chirality with Heterodyne-detected Doubly-Resonant SFG Spectroscopy							
	著者名 ^{GA}	Masanari Okuno and Taka-aki Ishibashi*	雑誌名 ^{GC}	<i>Analytical Chemistry</i>					
	ページ ^{GF}	DOI:10.1021/acs.analchem.5b02787	発行年 ^{HD}	2	0	1	5	巻号 ^{GD}	

欧文概要 EZ

Vibrational Sum-Frequency Generation (SFG) spectroscopy is a powerful method by which vibrational spectra of interface species can be selectively obtained. During the period of this project, first we developed a sensitive multiplex heterodyne-detected vibrational SFG spectrometer, and then study the static and dynamic structures of molecular layers (lipids, proteins) on water with the developed apparatus. Through the project, we have successfully established a firm foundation for studying molecular layers on water though the study of oxidation processes of lipid layers remains as future tasks.

The most important feature of the developed machine is that it employs a very thin quartz crystal in transmission geometry as the medium for generating a local oscillator. Our local oscillator has considerable degrees of freedom in the input probe energy and power and polarization of the output as compared to the conventional medium, gold substrate in reflection geometry. In particular, exploiting the freedom of the oscillator's polarization, we realized heterodyne-detected chiral vibrational SFG spectroscopy that can selectively detect chiral species. Our spectrometer is the first heterodyne-detected chiral vibrational spectrometer that employs a multiplex detection scheme.

With the spectrometer, we measured spectra of a monolayer of DPPC, one of the most basic lipids, on water. We examined surface-pressure-dependent spectra in the CH stretching region, and confirmed that they nicely reflected conformational changes of the lipid from gauche-contained disordered form to all-trans form and, therefore, can be used a quantitative measure of the lipid order. The result will be useful to analyze oxidation processes of lipids. We also conducted time-lapse observations of chiral amide stretching bands (amide I and NH stretching) for self-formed layer of chymotrypsin on water, by recording spectra every five minutes after the air-aqueous solution interface was formed. The observed decrease of the band intensities within 30 minutes was interpreted as an unfolding process of anti-parallel β -sheet structure of the protein.