

# ラマン円偏光二色性分光を用いた生体関連分子の構造解析

(佐賀大院工学) ○海野雅司

Exploring the Structures of Biomolecules by Raman Optical Activity

(Saga Univ.) Masashi Unno

Near-infrared excited Raman optical activity (ROA) can be applied to photoreceptor proteins to elucidate the chromophore structures within a protein environment. We have applied the near-infrared ROA to photoactive yellow protein that contains *p*-coumaric acid chromophore. The observed Raman and ROA spectra are analyzed by quantum chemical calculations to obtain detailed structural information, such as data about out-of-plane distortions of the chromophore.

分子構造を解析する強力な手法としてラマン分光や赤外吸収分光などの振動分光があり、これらは分子構造や分子の周辺環境に関する有用な情報を与えてくれる。しかし、我々はこれらの“通常の”振動分光よりも更に詳細な構造情報が期待できる手法として、ラマン円偏光二色性分光またはラマン光学活性分光 (Raman Optical Activity、ROA) と呼ばれる手法に注目した。ROA は右回りと左回りに円偏光した励起光により測定したラマン散乱光の強度差が鏡像異性体では異なる点を用いた分光法である。ROA スペクトルの信号強度はただでさえ微弱なラマン散乱光より数桁 ( $10^{-3}$  以下) も小さいためその測定は容易ではない。しかし、タンパク質をはじめとした生体分子の多くは光学活性であり、格好の応用例である。実際、最近の技術的な進展によってタンパク質などの生体分子への応用例が報告されるようになってきた。しかし、本手法の生体分子への応用は未だ限定的なものとなっている。その理由の一つは蛍光を発する試料には適用できない点である。これはラマン分光全般に当てはまる問題であるが、試料自身または試料に含まれる微量の夾雑物が励起レーザー光を吸収してそのエネルギーを蛍光として放出すると微弱なラマンスペクトルを覆い隠してしまい測定が不可能となる。このため従来の可視光を励起光とした ROA 分光では可視域に吸収のある試料には適用できず、例えばヘムタンパク質や光受容タンパク質などのような活性中心として色素分子を含んだタンパク質などへの応用はなかった。そこで、我々は上記の問題を克服してさまざまな生体分子への応用を実現するため、可視光励起に加え近赤外励起の ROA 分光装置を独自に開発した [1, 2]。また開発した装置を用いて、いくつかの光受容タンパク質 (光駆動イオンポンプのバクテリオロドプシンと青色光センサーの Photoactive Yellow Protein) に応用した。その結果、ROA スペクトルは発色団の面外方向への歪みなど、発色団の構造に極めて鋭敏であることがわかった [1, 3, 4]。

[1] Unno, M., Kikukawa, T., Kumauchi, M., Kamo, N. *J. Phys. Chem. B* 117, 1321–1325 (2013)

[2] Urago, H., Suga, T., Hirata, T., Kodama, H., Unno, M. *J. Phys. Chem. B* 118, 6767–6774 (2014)

[3] Shingae, T., Kubota, K., Kumauchi, M., Tokunaga, F. Unno, M. *J. Phys. Chem. Lett.* 4, 1322–1327 (2013)

[4] Kubota, K., Shingae, T., Foster, N. D., Kumauchi, M., Hoff, W. D. Unno, M. *J. Phys. Chem. Lett.* 4, 3031–3038 (2013).