

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26246037

研究課題名(和文) テラヘルツ・ラマン円偏光二色性分光による高分子キラル高次構造の解明と対掌性の操作

研究課題名(英文) Terahertz-Raman circular dichroic spectroscopy for chiral higher order conformation of macromolecules, and its manipulation by intense terahertz wave

研究代表者

保科 宏道 (Hoshina, Hiromichi)

国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究領域・上級研究員

研究者番号：10419004

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高分子の高次構造のキラル分子振動を検出するため、テラヘルツ振動円二色性分光(THz-VCD)装置と極低波数ラマン光学活性分光(ROA)装置を開発した。ROAを用いた実験では2-フェニルプロピオン酸やポリアラニンなど不斉分子の測定を行ない、低周波数に現れる信号の観測に成功した。さらに、量子化学計算を行い、低波数領域には分子全体の振動運動による振動キラリティが強く現れることを明らかにした。また、高強度THz光照射によるキラリティ制御の可能性を探るため、自由電子レーザーで発生したTHz光を高分子溶液に照射したところ、分子の高次構造が変化することを発見した。

研究成果の概要(英文)：In this research, terahertz (THz) vibrational circular dichroism (VCD) and very low frequency Raman optical activity (ROA) were developed for studying chiral vibrations of higher order conformation of macromolecules. Low-frequency ROA spectra of chiral molecules such as 2-phenyl-propion acid and poly-alanine were measured and compared with the result of quantum calculation, which reveals that the chiral vibration of whole molecular motion appears in the low frequency region. Also, aiming to control the chirality of macromolecules, high-power THz wave was irradiated for polymer solution. The conformational change of polymer sample was observed after irradiating high-power THz wave generated by THz free electron laser.

研究分野：分光学

キーワード：テラヘルツ分光 低周波数ラマン分光 円偏光二色性分光 対掌性 キラリティ 高分子 高次構造

### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質など生体分子の高次構造の観測には小角 X 線散乱や NMR が使われるが、ヘリックスの巻き方向など構造のキラリティを観測するためには、キラル分光法が用いられる。最近の研究では、赤外円偏光二色性分光(VCD)が局所的なキラル構造だけでなく、二次構造にも鋭敏であることが明らかにされている。THz 領域の振動スペクトルは赤外領域よりもさらに広範囲の高次構造を反映するため、そのキラル分光法が実現すれば二次構造の三次元的分布などの巨視的な高次構造を観測できる可能性がある。

また、近年の非線形光学技術の発展により、実験室で高強度 THz 光の発生が可能になった。THz 光のエネルギーは十分弱いため、高分子の分子構造を破壊することなく構造のみを制御可能だと考えられる。THz 光による構造制御が成功すれば、新しい機能性材料の開発が可能になる。

### 2. 研究の目的

本研究ではテラヘルツ振動円二色性分光 (THz-VCD) 装置と極低波数ラマン光学活性分光 (VLF-ROA) 装置を開発し、高分子の高次構造のキラル分子振動を検出する。互いに相補的な THz-VCD と VLF-ROA 両スペクトルの情報を比較しながら、さらに分子断片化法を用いた量子力学計算手法を開発し、ヘリックス構造の巻き方向や規則性、多数のヘリックスの集合状態など高分子二次・三次構造を解明する。また、高強度円偏光 THz パルス光源を開発し、ポリアセチレン誘導体などの動的らせん高分子に照射する。ヘリックス構造のキラル磁気双極子と高強度円偏光 THz 光との相互作用によって、ヘリックス構造をもつ高分子のキラリティの操作に挑戦する。

### 3. 研究の方法

#### 低波数円偏光二色性分光法の開発

THz 時間領域分光法の原理を応用した THz-VCD 装置を開発する。また極低周波数ラマン分光光学系による VLF-ROA を構築する。開発した測定系を用いて有機溶媒中でヘリックス構造を取るポリ乳酸、ポリアラニンなどの THz-VCD および VLF-ROA を測定し、その高次構造のキラリティの検出を試みる。THz スペクトルとラマンスペクトルは振動の選択側が異なるが、両者を比較することで相補的にスペクトルを解釈でき、振動モードの空間反転対称性を決定する事ができる。さらに、THz-VCD、VLF-ROA スペクトル解析のためのシミュレーション手法を開発する。

#### 高強度 THz 光による高分子構造の操作

円偏光 THz パルスを用いたキラリティの制御に挑戦する。ガスプラズマ中の 3 次の非線形光学効果によって生成した高強度直線偏光 THz 光を高抵抗シリコン製の菱形プリズムに入射し、円偏光に変換する。動的らせん高分子の一種であるポリアセチレンおよ

びポリシランを有機溶媒中に溶解し、THz 円偏光を照射する。円偏光 THz 電磁波によって誘起されるらせん構造の反転を THz-VCD で観測する。

### 4. 研究成果

#### (1) THz-VCD 光学系の構築と VCD 測定

THz-VCD の実現のため、テラヘルツ時間領域分光法(THz-TDS)の原理を利用した光学実験系を構築した(図1)。本予算で購入したフェムト秒モードロックレーザーを半導体素子に照射して直線偏光のパルス THz 光を発生させる。直線偏光は右円偏光と左円偏光の和として表されるため、吸収にキラリティが存在する場合、試料通過後の THz 光は楕円偏光になる。試料後にクロスニコル配置で置かれた偏光子を通過した THz 光を観測する。THz シグナル光はプローブパルス光とともに ZnTe 結晶に集光され、電気光学効果によってシグナル光の電場振幅を得る。THz 時間波形はプローブ光を時間掃引することで得られる。右回りと左回りの VCD 信号では時間波形の正負が反転するため、フーリエ変換後の実部と虚部の比較から円偏光二色性スペクトルが得られる。

図1. テラヘルツ VCD 光学系

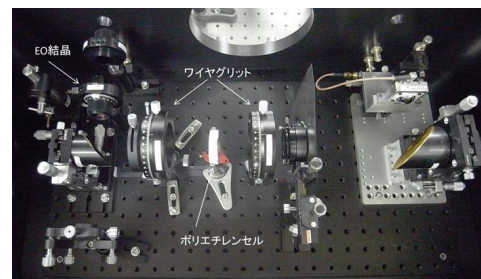


図2に構築した THz-TDS で取得されたスペクトルを示す。偏光子(ワイヤグリッド)を平衡配置とクロスニコル配置にした際の THz 光強度の比は  $10^7$  程度であったため、1THz においてスペクトル強度の  $10^{-6}$  程度の円偏光二色性は検出可能である。

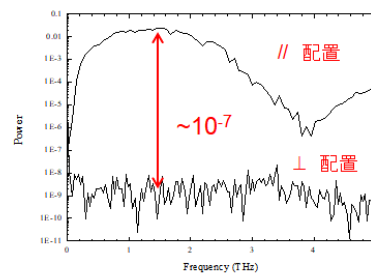


図2. テラヘルツ VCD 光学系のスペクトル

THz-VCD 装置の検出能を検討するため、キラル構造を持った導電性物質をサンプルとしてテラヘルツ周波数帯の強い電子応答を測定した。具体的には Spirulina と呼ばれる  $\mu\text{m}$  サイズの藻類をテンプレートとし、コイル状に銅をコーティングしたサンプルをパラフ

イン中にランダムな配向で固定した試料 ( $\mu$  コイル) を用いた. (Sci. Rep. 4, 4919 (2014)) 図3に試料を透過したテラヘルツ光の時間波形を示す. 平行配置とクロスニコル配置で全く異なるテラヘルツ時間波形が得られており, 試料を通過したテラヘルツ光が楕円偏光になっていることがわかる.

- Cu coil (2wt%)  
Random Orientation

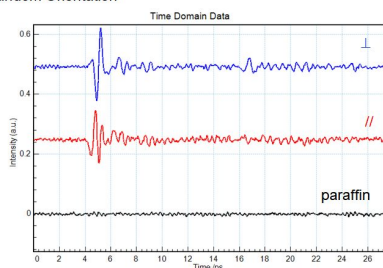


図3.  $\mu$  コイルのテラヘルツ VCD 波形

以上のように, THz-VCD の研究のために必要な性能を満たした測定装置が完成した. そこで, 有機溶液やポリマーなど, 分子系を対象とした振動円偏光二色性分光を行った. 例えばポリマー試料では, ポリ乳酸のクロロホルム溶液 (D 体および L 体) を測定し, テラヘルツ光の旋光性が検出されるか試みた. 溶液試料はポリエチレン製のセルに封入された状態で透過テラヘルツ波形を測定した.

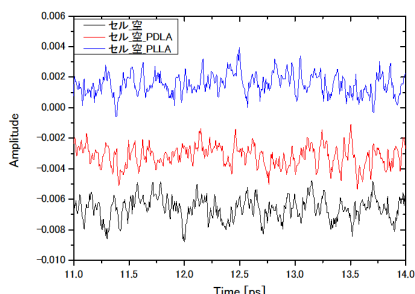


図4. PLA のテラヘルツ VCD 波形

図4にD体とL体のPLA溶液のTHz偏光スペクトル(クロスニコル配置)を示す. D体もL体も時間波形にピークが見られないことから, 円偏光成分が極めて弱くVCD信号がノイズレベル以下であることが分かった.

これらの実験結果から, 一般的な有機分子の振動円偏光二色性強度が $10^{-6}$ 以下程度であることがわかった. 当初の計画では赤外VCDとの比較から期待される円偏光二色性は吸収スペクトル強度の $10^{-4}$ 程度であると予想していたが, 実際はそれよりも2桁以上低い強度である事が判明した. そのため, THz-VCD信号を検出するためには作成した装置よりも2桁以上高感度である事が要求されるが, 本研究で計画, 製作した実験系では難しい.

## (2)VLF-ROA 実験系の構築と ROA 測定

VLF-ROA 装置を図5に従って開発した. 約 $60\text{ cm}^{-1}$ にカットオフ波長を持つVLFエッ

ジフィルタを用いて, レイリー散乱およびレーザーの反射光を削除することで, VLF-ROA スペクトルの測定を可能とした. この装置により,  $2\text{--}72\text{ THz}$  ( $60\text{--}2400\text{ cm}^{-1}$ )の領域のROAおよびラマンスペクトルを同時測定することが可能となった. この装置はラマン散乱光の左右円偏光成分を同時測定するものであり, レーザー強度や CCD 感度のゆらぎ, さらには試料自体の不均一性を効果的に削減できる. さらに, 自作の回転半波長板などを含んだ補正光学系を組み込むことで, 偽信号によるスペクトルの歪み・背景を抑えた. もって, 微弱な VLF-ROA スペクトルを再現性良く高感度に測定することが可能となった. 以下の段落に装置の詳細を示す.

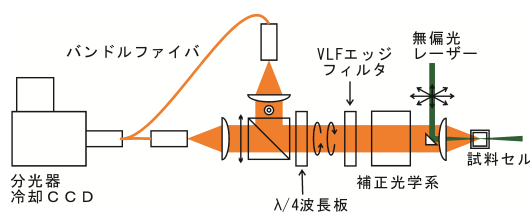


図5. 極低周波ラマン光学活性装置

直線偏光レーザー ( $532\text{ nm}$ ) を, 自作の半波長板高速回転装置 ( $12000\text{ rpm}$ ) に通過させ, 時間的に無偏光なレーザー光を作り出した. これを試料に照射し, 試料からのラマン散乱光を後方散乱配置で集光した. ラマン散乱光の左右円偏光成分を,  $\lambda/4$  波長板と偏光ビームスプリッタにて2つの直線偏光に変換分離し, 特注バンドルファイバによって自作のレンズ式分光器に導きペルチェ素子冷却 CCD により検出した. VLF エッジフィルタにてレイリー散乱およびレーザーの反射光を削除した. 装置由来の誤差を補正するために, 回転半波長板および電気制御の液晶波長板を用いた. これら補正光学系によって, 微弱な VLF-ROA スペクトルの測定が可能となった.

本研究において用いた VLF エッジフィルタとは別に, 初期検討として,  $0.3\text{ THz}$  (約  $10\text{ cm}^{-1}$ ) にカットオフ波長を持つノッチフィルタを2枚用いることも試みたが, ノッチフィルタの回折格子構造に起因すると思われる偽信号発生のために, このノッチフィルタを適用することはできなかった.

構築した装置を用い, 2-フェニルプロピオン酸の2つの鏡像体について ROA 測定を行ったところ,  $60\text{ cm}^{-1}$  付近まで鏡像の VLF-ROA スペクトルが得られた. このことは, 我々の開発した VLF-ROA 測定装置が低端数側を正しく測定できることを示している. これまで測定不可能であった  $180\text{ cm}^{-1}$  以下に強い ROA 信号が観測された. その強度は, 従来測定されていた高波数ピークの 2-3 倍に達した. 低端数領域には強いキラリティを示す振動モードが存在することが明らかとなった. 量子力学スペクトル計算と実験スペクトルとの比較から, 強い VLF-ROA ピー

クの一つは 2-フェニルプロピオン酸の水素結合を直接反映し、かつ分子会合体が全体として振動するモードであることが分かった。分子会合体全体の振動運動がキラリティを増強している可能性があり、非常に興味深い。

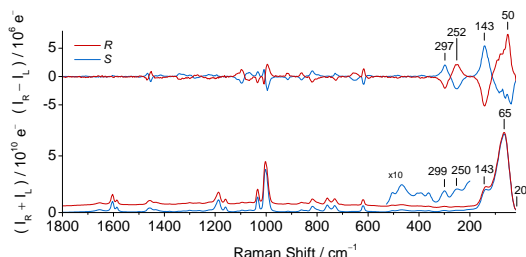


図 6. 2-フェニルプロピオン酸の実験 VLF-ROA スペクトル

さらに、キラル高分子の典型例として、 $\alpha$ ヘリックス 2 次構造をとるポリ-L-アラニン溶液の測定を行った。やはり  $180 \text{ cm}^{-1}$  以下に、高波数側ピークと比べて約 5 倍強いピークが観測された。現在のところ高強度 VLF-ROA の発生原因は不明であるが、これまでのラマン分光に関する研究から、この高強度 VLF-ROA ピークは水素結合由来と予想される。分子全体の振動運動とキラリティ強度の関係性、2 次構造と VLF-ROA ピークとの関連については今後の検討課題である。

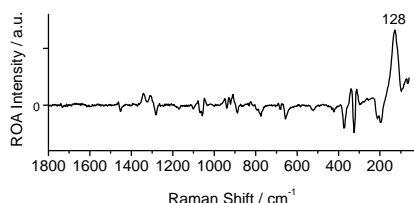


図 7. ポリ-L-アラニン溶液の実験 VLF-ROA スペクトル

以上の実験から、VLF-ROA スペクトルには高波数側には観測されない強いキラル信号が観測されることが明らかとなった。その原因としては水素結合の関与する分子全体のキラルな振動運動が予想される。このような高強度振動キラリティの測定結果は世界初であり、意義深い。

### (3)量子化学計算による THz スペクトルシミュレーション

THz-VCD および VLF-ROA スペクトルには、分子の全体振動におけるキラリティの情報が見られるが、実験スペクトルを詳細に帰属し解釈するには密度汎関数法 (DFT) など量子化学計算によるスペクトルの再現が非常に有効である。我々は上記実験において測定可能であった 2-フェニルプロピオン酸について THz-VCD および VLF-ROA スペクトルを

量子力学により計算した (図 8)。その結果、実験 VLF-ROA および VLF-ラマンスペクトルの傾向を良く再現する結果を得た。すなわち、 $180 \text{ cm}^{-1}$  以下に高波数側より強い VLF-ROA ピークが計算され、それに対応するラマンピークについても実験との対応を確認できた。この計算結果より、上記 VLF-ROA ピークの帰属が可能となった。ここで興味深いのは、計算 VLF-ROA ピークの相対強度が実験値よりも強く計算されていることである。計算においては安定な立体配座しか考慮されていないが、実験においては分子構造が安定構造の周りを揺らいている。その構造揺らぎのために、キラル信号が平均化され、計算と比べて“弱い”実験値が見られたのだろう。このことは、低温条件下での VLF-ROA 信号の増強の可能性を示すものであり、今後の研究課題として興味深い。

計算の詳細を以下に示す。これまでの酸純液体に関する研究から、2-フェニルプロピオン酸は二量体として存在する確率が高いと予想される。そこで可能な二量体の構造モデルを計算機上で作成し、その真空中での安定構造およびギブス自由エネルギーを計算した。さらに安定構造についてスペクトル計算を行った。計算にはすべて Gaussian09 を使い、B3LYP/6-311++G\*\* の理論を適用した。得られた相対エネルギーから個々の構造の存在確率を計算し、計算スペクトルを加重平均した。実験スペクトルと比較するために、Bose-Einstein 補正を行った。

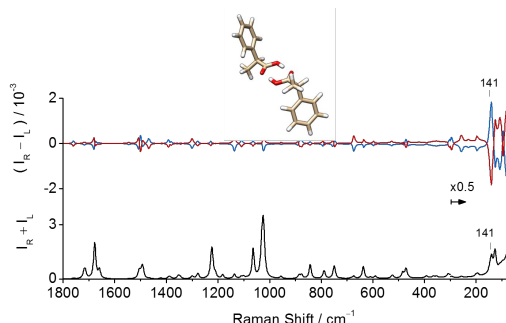


図 8. 2-フェニルプロピオン酸の計算 VLF-ROA スペクトル

### (4)キラル高次構造操作の挑戦

発展的研究として、高強度テラヘルツ円偏光によるキラル分子制御に挑戦した。当初計画ではらせん高分子をサンプルとして、高強度 THz 円偏光の照射による巻き方向制御に挑戦する予定であった。しかし、そもそも高強度テラヘルツ光を分子系に照射し、室温での分子構造に変化を与えることに成功した事例そのものがまだ無かった。そのため、まずはどの程度の強度の THz 光が、分子構造を破壊すること無く、構造変化をもたらすのか、検証する必要があった。

そこで、高強度の THz 光源であるテラヘルツ自由電子レーザーを用いた研究を行った。実験ではポリヒドロキシ酪酸 (PHB) のクロ

口ホルム溶液に、自由電子レーザーの出力光である周波数 3~8THz のパルス光を照射しながら溶媒を蒸発させ、ポリマー膜を作製した。(図9)

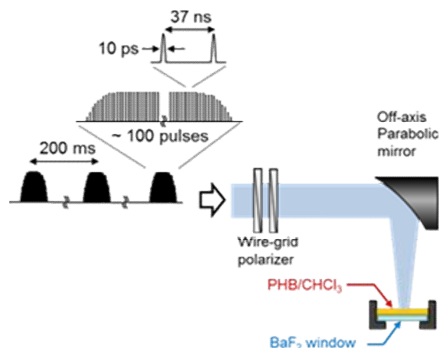


図9：自由電子レーザーによる高強度 THz 光照射光学系

得られたポリマー膜の構造は、レーザー共焦点顕微鏡と赤外分光によって観測された。顕微鏡画像によると、THz 光を照射していないサンプルではほとんど大きな結晶構造が見られなかったのに対し、THz 光を照射した試料では数  $\mu\text{m}$  サイズの非常に大きな結晶が成長していた。さらに赤外吸収スペクトルから結晶化度を求めたところ、THz 光の照射により、約 20% の結晶化度の向上がみられた。(図10)

このような結晶構造の変化は、単純に試料の温度を上げるだけでは起こらないため、パルス THz 光によって誘起された過渡的な現象に起因すると考えられる。一つの可能性として、瞬間的な分子間運動の励起によって衝撃波が発生し、高分子の結晶化が誘起されるとも考えられるが、メカニズムはまだ明らかになっていない。本研究で照射された THz 光は数十  $\text{MW}/\text{cm}^2$  と弱いですが、分子間振動に直接作用していると考えられ、効率的に分子間の運動状態を励起したのではないかと推測される。

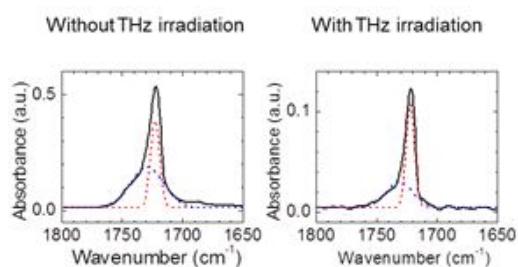


図10. THz 光非照射(左)および照射(右)で成膜した PHB 薄膜の赤外スペクトル

このように、本研究では THz 光を使って高分子構造を操作する事に世界で初めて成功した。この研究をさらに発展させ、より複雑な分子や生体分子の構造操作が可能になれば、様々な応用が広がると期待される。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文](計 7 件)

1. Chihiro Funaki, Shigeki Yamamoto, Hiromichi Hoshina, Yukihiro Ozaki, and Harumi Sato, "Three different kinds of weak C-H...O=C inter- and intramolecular interactions in poly( $\epsilon$ -caprolactone) studied by using terahertz spectroscopy, infrared spectroscopy and quantum chemical calculations", *Polymer*, **137**, pp.245-254, (2018) 査読有
2. Chihiro Funaki, Shigeki Yamamoto, Hiromichi Hoshina, Yukihiro Ozaki, and Harumi Sato, "Three different kinds of weak C-H...O=C inter- and intramolecular interactions in poly( $\epsilon$ -caprolactone) studied by using terahertz spectroscopy, infrared spectroscopy and quantum chemical calculations", *Polymer*, **137**, 245-254, (2018) 査読有
3. Shigeki Yamamoto, Mai Miyada, Harumi Sato, Hiromichi Hoshina, Yukihiro Ozaki "Low-Frequency Vibrational Modes of Poly(glycolic acid) and Thermal Expansion of Crystal Lattice Assigned Based on DFT-Spectral Simulation Aided with a Fragment Method" *The Journal of Physical Chemistry Part B*, **121**, pp.1128-1138 (2017). 査読有
4. 保科宏道「テラヘルツ光照射で誘起される高分子構造の変化」*化学工業* 68号 pp.195-201 (2017) 査読無
5. Jiří Kessler, Shigeki Yamamoto, and Petr Bouř, "Establishing the Link between Fibril Formation and Raman Optical Activity Spectra of Insulin", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, RSC, **19**, 13614-13621, 2017 査読有
6. Hiromichi Hoshina, Hal Suzuki, Chiko Otani, Masaya Nagai, Keigo Kawase, Akinori Irizawa, Goro Isoyama "Polymer Morphological Change Induced by Terahertz Irradiation" *Scientific Reports*, **6**, 27180 (2016) 査読有
7. Harumi Sato, Mai Miyada, Shigeki Yamamoto, Kummetha Raghunatha Reddy, and Yukihiro Ozaki, "CH...O (ether) Hydrogen Bonding along the (110) Direction in Polyglycolic Acid Studied by Infrared Spectroscopy, Wide-Angle X-Ray Diffraction, Quantum Chemical Calculations and Natural Bond Orbital Calculations", *RSC Adv.*, RSC, **6**, 16817-16823, 2016 査読有

[学会発表](計 16 件)

1. 保科宏道「テラヘルツ分光によるポリマー結合水のダイナミクスの解明」第5回

- 光量子工学研究, 仙台市中小企業活性化センター, 仙台市, 2017年11月29 - 30
2. H. Hoshina “Macromolecular Structures Investigated by Terahertz Waves” MTSA2017, Okayama Convention Center, Okayama, Japan, 19-23 Nov. 2017
  3. Hiromichi Hoshina and Chiko Otani “Observation and manipulation of polymer structures by terahertz wave” RJUSE TeraTech-201), RENSSELAER POLYTECHNIC INSTITUTE, TROY NY, USA, 2-6 Oct. 2017
  4. H. Hoshina “Application of Terahertz Waves for Polymer Science” The 6th International Symposium on Organic and Inorganic Electronic Materials and Related Nanotechnologies (EM-NANO 2017) AOSSA, Fukui, Japan, 18-21, June 2017
  5. H. Hoshina “Potential of THz waves for manipulating macromolecular structure” THz Mansion Meeting The Vandervilt Grace Hotel, Newport, RI, USA, 22-25 May, 2017
  6. 山本茂樹「量子力学計算による結晶性ポリエステル低周波振動と高次構造相関」日本分光学会年次講演会, 早稲田大学, 2017年5月23日, 招待
  7. 保科宏道「テラヘルツ光による高分子構造の解明と操作」 応用物理学会・量子エレクトロニクス研究会「光-物質相互制御 ~ 制御技術の進展と新しい物理の探求 ~」 上智大学軽井沢セミナーハウス, 長野県北佐久郡軽井沢町, 2016年12月8日(木) ~ 12月10日(土)
  8. Hiromichi Hoshina “Application of Terahertz Wave for Polymer Science” JTMSIS (Japan-Taiwan Medical Spectroscopy International Symposium), Awaji Island, Japan, 4-7 Dec. 2016
  9. 保科宏道「テラヘルツ光による高分子高次構造の解明と操作」 シンポジウム「テラヘルツ科学の最先端 III」, 三国観光ホテル, 福井県坂井市, 2016年11月23 - 25日
  10. 保科宏道「テラヘルツ光による高分子構造の解明と操作」 第4回「光量子工学研究」 埼玉県和光市, 2016年11月1日
  11. Hiromichi Hoshina “Application of terahertz waves for polymer science” SPIE Photonics Asia 2016, Beijing International Convention Center, Beijing, China, 12-14 October (2016)
  12. Hiromichi Hoshina “Observation and Manipulation of Macromolecules by Terahertz Waves” 第77回応用物理学会秋季学術講演会, 朱鷺メッセ, 新潟市, 2016年9月15日
  13. Hiromichi. Hoshina, Hal Suzuki, Chiko Otani, Shigeki Yamamoto, Harumi Sato, Yukihiro Ozaki “Intermolecular Conformation and Macromolecular Properties Studied by Terahertz Spectroscopy” EMN Meeting on Terahertz 2016, San Sebastian, Spain, May.14-18 (2016)
  14. Shigeki Yamamoto, “Peptide Conformations and Solvent Environments Obtained from Raman Optical Activity”, 8<sup>th</sup> International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy (ICAVS8), WEPL1, Vienna, Austria, 15<sup>th</sup> Jul. 2015, *Plenary*
  15. Shigeki Yamamoto, “Low-Frequency Vibrational Spectra of Polymers Deciphered by Quantum Mechanical Simulation”, Frontier of Terahertz Science, Okinawa, Japan, 6<sup>th</sup> Aug. 2014, *Invited*
  16. 山本茂樹, “Raman Optical Activity Spectroscopy and Quantum Mechanical Calculation on Protein Structures in Solutions”, 日本分光学会年次講演会, 和光, 2014年5月26日, 奨励賞受賞講演
- 〔図書〕(計 1 件)
1. Shigeki Yamamoto and Petr Bouř, “Calculation of Vibrational Spectra of Large Molecules from Their Fragments” in *Frontiers of Quantum Chemistry*, Eds. M. J. Wójcik, H. Nakatsuji, B. Kartman, Y. Ozaki, Springer, p181-197, 2018
6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
保科 宏道 (HOSHINA, Hiromichi)  
国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究領域・上級研究員  
研究者番号: 10419004
  - (2) 研究分担者  
山本 茂樹 (YAMAMOTO, Shigeki)  
大阪大学・理学研究科・助教  
研究者番号: 60552784
  - (3) 連携研究者  
鈴木 晴 (SUZIKI, Hal)  
国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究領域・研究員  
研究者番号: 50633559