

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05362

研究課題名(和文)ヘテロダイン検出振動SFG分光による脂質二重膜中の膜タンパクの構造と配向の研究

研究課題名(英文)Study on structures and orientations of proteins in lipid bilayers by heterodyne-detected vibrational SFG spectroscopy

研究代表者

石橋 孝章 (Ishibashi, Taka-aki)

筑波大学・数理物質系・教授

研究者番号：70232337

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：基板支持脂質二重膜を生体膜のモデル系としてヘテロダイン検出振動和周波発生(HD-VSFG)分光と全内部反射ラマン(TR-Raman)分光を用いて、基板支持脂質二重膜とペプチドや小分子との相互作用を研究した。膜と相互作用する分子として、コレステロール、細胞膜染色色素AP3、グラミシジン、アラメチシンなどを取り上げた。特に、TR-Raman分光について、測定装置の改良の結果、初めてラマン分光によって基板支持脂質二重膜とペプチドとの相互作用を捉えることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、脂質二分子膜やペプチドの静的・動的構造の關係に着目し、分子構造に関して豊富な情報を与える界面振動分光法を駆使した研究を進めた。二分子膜のモデルとしてSLBを用い、HD-VSFGとTIRラマン分光測定による研究を行なった。その結果、両分光法によってSLB膜中のタンパク質の振動スペクトルを捉えることができた。特にラマン分光法によるSLBと相互作用したペプチド分子の観測は初めての例である。一方で、膜相互作用性ペプチドの膜への侵入挙動や、膜のフリップフロップ速度などに関して、SLBのいくつかの問題点が見出され、今後、接触型SLBの改良や繋留型SLBなどの検討の必要性が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Heterodyne-detected vibrational sum frequency generation (HD-VSFG) spectroscopy and total internal reflection Raman (TR-Raman) spectroscopy were used to study the interaction of substrate-supported lipid bilayers (SLBs) with peptides and small molecules. Cholesterol, the cell membrane staining dye AP3, gramicidin, and alamethicin were examined as molecules that interact with the membrane. In particular, the interaction between SBLs and peptides was captured for the first time by Raman spectroscopy using TR-Raman spectroscopy, as a result of the improvement of the measurement system.

研究分野：振動分光学

キーワード：振動分光法 全内部反射ラマン分光法 振動和周波発生分光 ペプチド 脂質膜

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生体膜は、脂質二重膜とそこに埋め込まれた膜タンパクからなり、細胞質との間で物質やエネルギーのやりとりを司っている。このような機能には、タンパクの構造と膜に対する配向が重要である。しかし、X線回折で得られる情報は界面活性剤で可溶化後の構造であり、膜中の構造の詳細は明らかではない。そのため、生体膜の本質的な部分をモデル化した基板支持脂質二重膜(supported lipid bilayer, 以下SLB, 図1)とペプチド・タンパクを組み合わせた試料を対象に、生体膜中のタンパクの構造と配向を研究が行われている。生体膜の構造や運動性を明らかにするため、これまでSLBをモデル系とした振動和周波発生(VSFG)分光の研究が行われてきた。その結果、SLB中の脂質分子のフリップフロップ運動やSLB-ポリペプチド複合試料についてのポリペプチドの二次構造の配向などに関して、基礎的な事項が明らかになりつつある。しかし、情報量と感度を向上させたヘテロダイン検出VSFG(HD-VSFG)分光法や、さらに感度向上が期待できる全内部反射配置でのHD-VSFG(HD-TIR-VSFG)分光法による研究は行われていなかった。これらの脂質二重膜とポリペプチドからなる複雑なモデル系の静的・動的な相互作用の詳細な情報を得るために有効だと期待される。

### 2. 研究の目的

本研究では、脂質二重膜やペプチドの静的・動的構造の解明を目指し、SLB-ペプチド複合系を対象とし、分子構造に関して豊富な情報を与える界面振動分光法を適用する。具体的には、配向性が高い試料について高い界面選択性を持ち分子の配向情報を絶対的な向きを含めて与えることができるHD-VSFG分光と、配向性が悪い資料からもスペクトルが得られる全内部反射ラマン分光法を使用する。どちらの手法についても、SLB-ペプチド複合系への応用例はないため、分光システムや試料製作から取り組み、脂質分子とペプチド等の膜と相互作用する小分子の分子構造と配向を明らかにすることを目標とする。

### 3. 研究の方法

#### 3-1 HD-VSFG 測定装置

測定はチタンサファイア再生増幅器(Legend Elite, Coherent, 波長 800 nm, 時間幅 100 fs, パルスエネルギー 3.0 mJ, 繰り返し周波数 1 kHz)を光源として構築された、マルチプレックスHD-VSFG分光装置を用いて行った。光源の出力の2/3(2 mJ)から、狭帯域倍波発生装置(SHBC, Coherent, 波長 400 nm, 時間幅 5 ps, 波数幅  $10\text{ cm}^{-1}$ )とピコ秒光パラメトリック増幅器(OPA:Optical Parametric Amplifier)(TOPAS-400, Coherent)により狭帯域の可視光(波長 600, 630 nm)を発生させた。光源の残りの1/3から、フェムト秒OPA(TOPAS-800, Coherent)と差周波発生結晶( $\text{AgGaS}_2$ )により広帯域赤外光(中心波長 $\sim 3200\text{ nm}$ )を発生させた。可視光と赤外光はy-cut水晶板(厚さ 10  $\mu\text{m}$ )中で集光し、発生したSFG光をLO光として用いた。y-cut水晶板を透過した両プローブは凹面鏡によって試料表面で再度集光する。(図1b)ここで発生した試料由来のSFG光はLO光と同軸を伝播するが、LO光のみ熔融シリカ板(厚さ 1.5 mm)を通過させることで時間的に遅延させている。これらの光はプリズムポリクロメータ(CT25-UV, JASCO, 焦点距離: 250 mm, 分散素子: シリカプリズム)を通した後、ポリクロメータ(TRIAX550, Horida Jovin Yvon, 焦点距離: 550 mm, 分散素子: 回折格子, 刻線数: 1200 grooves/mm)で分光した。分光した光はCCD検出器(LN/CCD-1340/400-EB, Roper Scientific)で検出した。

[当初は、感度向上のために全内部反射(TIR)配置を採用する予定であった。しかし、研究期間の初年度に、予想していなかったVSFG分光装置の基幹部分であるチタンサファイアレーザーの出力低下が始まった。検討の結果、TIR配置でのヘテロダイン検出VSFGの測定は、測定可能な装置のアラインメントの許容幅が非常に狭いため、レーザー装置の安定性が必ずしも高くない状況では、通常の内反射配置での測定の方が現実的であることがわかった。そこで、測定を通常の内反射配置を行なうこと

に方針を変更した.]

### 3-2 TIR-Raman 分光装置

波長 532 nm の励起光をシリカ製等脚台形柱プリズム(底面 28 mm×20 mm, 高さ 6 mm, 台形の底角 45°)の斜面から, 底面に対して平行に入射させた際に, 底面で全反射条件を満たすよう設計した. 試料はプリズム底面に準備し, プリズム側に生じたラマン散乱光を対物レンズ(開口数 0.45, 作動距離 6.9-8.2 mm, Nikon CFI S Plan Flour FLWD)で測光する. 入射光は s 偏光とした. 二重膜の構築と測定の手順の概要は以下のものである. まず, プリズムに脂質単分子膜を Langmuir-Blodgett 法で準備し, 試料部に固定した後, 光軸調整を行う. 次に, プリズム下部に設置したテフロン製トラフに水を満たし, 水上単分子膜を準備する. トラフを並進ステージで上方に移動し, プリズム上の単分子膜に重ねて二重膜を作製する. 膜からのラマン光強度を観ながら光軸を微調整し, ペプチド添加前のスペクトルを得る. その後, 溶液相にペプチド溶液をシリンジで注入し, 添加後のスペクトルを得る. このように, 本装置では, プリズムを装置に固定したままで, 二重膜の作製や溶液相にペプチドを添加することができる. ペプチド添加前後で装置調整の必要を一切なくしたことで, 精度よいスペクトル測定を実現した.

## 4. 研究成果

膜と相互作用する分子として, コレステロール, 細胞膜染色色素 AP3, グラミシジン, アラメチシンについて研究を行った. そのうち本報告書では, 脂質膜-グラミシジン系の HD-VSFG 分光と脂質膜-アラメチシンの TIR-Raman 分光について述べる.

### 4-1 脂質膜-グラミシジン系の HD-VSFG 分光

【内部反射配置 HD-VSFG 分光法】まず, CaF<sub>2</sub> 平行平面基板/水界面に作製した脂質二重膜の  $\chi^{(2)}$  スペクトルを正しく測定できることを確かめた. 基板側の第一層に表面圧 30 mN/m の 1,2-distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DSPC), 水層側の第二層に表面圧 23 mN/m の 1,2-distearoyl-*d70*-*sn*-glycero-3-phosphocholine (d-DSPC) をもつ非対称な脂質二重膜を Langmuir-Blodgett/Langmuir-Schaefer (LB/LS) 法で作製した. CD 伸縮振動領域には d-DSPC 分子, CH 伸縮振動領域には DSPC 分子の炭化水素鎖の末端メチル基の対称伸縮振動モードに由来するバンドが強く観測された. それらのバンドの符号は CD<sub>3</sub> 基を空気側に, CH<sub>3</sub> 基を水層側に向けて配向していることをそれぞれ示している. この結果は想定される脂質の配向と一致したことから, 内部反射配置で正しく測定が行えることが確認された. 次に, メチル基の対称伸縮振動モードのバンド強度の時間変化を測定した. バンド強度は各層の分子数の差に比例するため, フリップ-フロップ運動の進行とともに減衰する. 各層のフリップ-フロップ運動の速度が等しいと仮定すると, 各時間のバンド強度は以下の式に従う.

$$I_{\text{CH}_3\text{orCD}_3}(t) = I_{\text{max}}e^{-2kt} + I_{\text{min}}$$

実験で得られたバンド強度の時間依存性を図 1c に示す. 各バンドから求められるフリップ-フロップ運動の速度定数は  $k = 5.6 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  (CD<sub>3</sub> ss) と  $k = 6.4 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  (CH<sub>3</sub> ss) であり, 2 つの層ではほぼ等しい時間変化を示したが, 先行研究の値  $k = 7.3 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$  [1] に比べて大きかった. これは, 測定温度, および第一層と第二層の表面圧の違いに起因すると考えている.

【脂質膜に添加した抗菌ペプチド-グラミシジンの HD-VSFG 測定】グラミシジン(図 1a)が脂質膜に埋め込まれる過程での構造の変化を調べるため, d-DSPC の水上単分子膜の下層液にグラミシジンのメタノール溶液を添加して時間分解測定を行った(図 1d). 時間経過に伴ってグラミシジンの側鎖の CH<sub>3</sub> 基由来のピークのバンド強度が増大した. CH 伸縮振動領域のスペクトルの概形が一定であることから, 脂質膜に吸着してから膜内で安定化する過程において, CH<sub>3</sub> 基と Trp 残基の配向角は変化しないことが示唆された. バンド強度の増加は, 単分子膜に侵入するグラミシジンの分子数が時間とともに増加していることを反映している. また, d-DSPC 分子由来の振動モードにバンド強度の変化はなく, グラミシジンによって d-DSPC 分子の配向に大きな変化が起こっていないことが示唆された.

次に, チャンネルの形成過程での構造の変化を調べるために, d-DSPC/d-DSPC 二重膜の下層液にグラミシジン溶液を添加して時間分解測定を行ったが, 添加前後で  $\chi^{(2)}$  スペクトルに変化はなかった. グラミシジン由来のバンドが現れなかったことは, 本測定の時間分解能(300 s)より短い時間内に, SFG 不活

性な構造をもつチャンネルを形成したことを反映していると考えられる。また、使用した dDSPC/dDSPC 二重膜は反転対称性をもつため SFG 不活性である。グラミシジンの添加後も二重膜の構造を保っているため信号は現れなかったと解釈した。これは、グラミシジンの添加によって脂質の炭化水素鎖のゴーシユ型の割合が増加するという IR 分光法を用いた先行研究<sup>[2]</sup>とは対照的な結果である。先行研究とは試料の調製方法が異なるため、グラミシジンの添加による脂質膜の構造の変化について、最終的に結論を出す状況ではないと考えられる。脂質の種類や脂質膜の作製方法を含めて更なる検討が必要である。

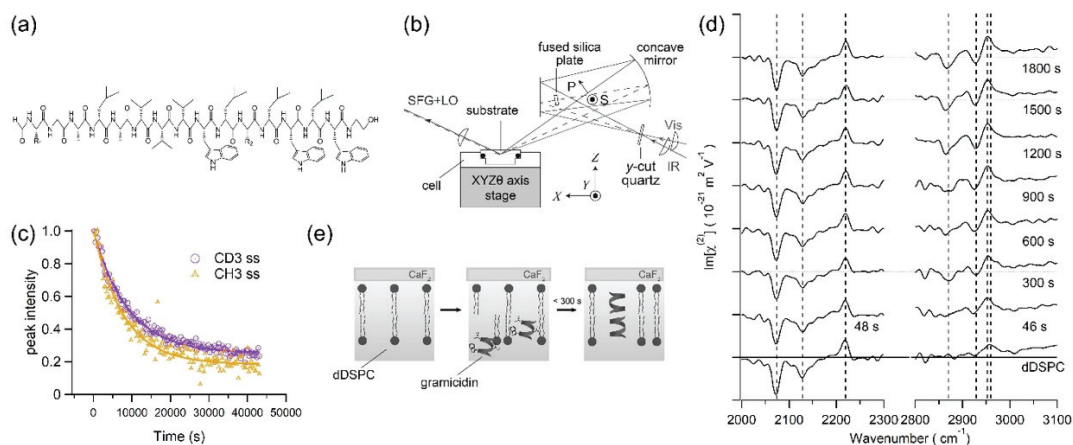


図 1. (a) グラミシジンの構造式. (b) 内部反射配置 HD-VSFG 測定の様式図. (c) DSPC/d-DSPC 二重膜の CD<sub>3</sub> ss モードと CH<sub>3</sub> ss モードのバンド強度の時間依存性(測定温度:27°C). (d) d-DSPC の L 膜の下層液にグラミシジンを添加したときの Im[ $\chi^{(2)}$ ] スペクトルの時間変化. グラミシジンの終濃度が 2  $\mu$ M になるように注入した. 注入終了時を  $t = 0$  とした. (e) グラミシジンが d-DSPC/d-DSPC 二重膜でチャンネルを形成する様式図.

[1] F. Wu, *et al.*, *J. Phys. Chem. C*, 2014, **118**, 17538-17548. [2] M. Davies, *et al.*, *BBRC*, 1990, **168**, 1, 85-90.

#### 4-2 脂質膜-アラメチシンの TIR-Raman 分光

構築した装置で、脂質二重膜とアラメチシン(ALM)のスペクトル測定を行った。まず、3-2の手順で、シリカプリズムと水の界面にリン脂質 DPPC の二重膜を表面圧 $\sim$ 30 mN/m の条件で作製した。その TIR ラマンスペクトルを図 2a(黒)に示す。2849, 2883  $\text{cm}^{-1}$  のピークは、それぞれ CH<sub>2</sub> の対称、逆対称伸縮振動バンドに、2930  $\text{cm}^{-1}$  付近の肩は脂質鎖の CH<sub>3</sub> 対称伸縮と CH<sub>2</sub> 変角振動の倍音とのフェルミ共鳴に帰属される<sup>[1][2]</sup>。この系の溶液相(6.4 mL)に ALM のジメチルスルホキシド(DMSO)溶液(2 mM)を 2, 20, 40  $\mu$ L 添加後のスペクトルを図 2a(青, 黄, 赤)に示す。溶液相の ALM の濃度は、それぞれ 0.6, 6.1, 12.2  $\mu$ M に対応する。ALM 濃度の増加に伴って 2848, 2883, 2928  $\text{cm}^{-1}$  のバンド強度が増大し、3016  $\text{cm}^{-1}$  に新たなバンドが現れた。参照実験として、DPPC 二重膜に DMSO だけを加えた実験を行った結果を図 2b に示す。この参照実験でも、2928, 3015  $\text{cm}^{-1}$  のバンド強度の増大が観測されたことから、ALM の添加実験(図 2a)で観られたスペクトル変化のうち、これらの波数での変化には DMSO の影響が含まれていることが分かった。一方、残りのバンドは、ALM を加えた影響である。

図 2a のスペクトルには、ALM の影響に加え、DPPC や DMSO の影響が含まれている。ここから ALM の影響だけを取り出すために、次の操作を行った。まず、図 2a の ALM 添加後のスペクトル(青, 緑, 赤)から添加前のスペクトル(黒)を引き、ALM と DMSO の影響だけを反映したスペクトルを得た。次に、図 2b に示した DMSO 添加実験の結果から、同様の操作で DMSO の影響だけを含まないスペクトルを得た。最後に、これらの差スペクトルの差スペクトルを取り、ALM の影響だけを含まないスペクトルを得た(図 2c)。得られたスペクトルからは、DMSO 由来の 2928, 3015  $\text{cm}^{-1}$  のバンドは消失し、ALM の影響のみを反映したと考えられるスペクトルを得ることができた。

ALM を加えた際のスペクトルへの影響には、ALM の振動バンドの寄与のほか、ALM との相互作用により膜の構造に由来する膜の振動バンドの変化が考えられる。これらの影響の度合いを調べるため、ア

ルキル鎖を重水素化した DPPC (d-DPPC) への ALM 添加実験を行った。この実験では、ALM の振動バンドは CH 領域に、脂質アルキル鎖の構造変化の影響は CD 領域に現れる。ALM 添加前後の d-DPPC 膜のスペクトルを図 2d に示す。CH 領域では、DPPC のときと同様、2848, 2882, 2930  $\text{cm}^{-1}$  付近のバンド強度が増大し、3016  $\text{cm}^{-1}$  に新たなバンドが現れた。その一方、CD 領域には大きなスペクトル変化は見られなかった。このことは、ALM を加えた際のスペクトル変化(図 2c)が脂質アルキル鎖の構造変化ではなく、ALM の振動バンドが現れたことに由来することを示している。

今回の実験と同様に、固液界面の二重膜の溶液相に ALM を加える実験が、振動和周波発生分光でも行われている<sup>[3]</sup>。この先行研究では、溶液相の ALM 濃度が 10.8  $\mu\text{M}$  のとき、ALM は流動相の膜には入るが、ゲル相の脂質膜には入らずに、膜表面に横たわっている状態であることが提案されている。上記の実験では、室温(24°C)でゲル相を形成する DPPC を用いた。また、ALM の最大濃度は 12.2  $\mu\text{M}$  であった。このため、これまでに得た ALM スペクトルは膜表面に横たわった状態のものであると考えられる。そこで、ALM が膜を貫通するときのラマンスペクトルを得るための実験を行った。この実験では、d-DPPC 膜の表面圧を 5 mN/m にして流動相の膜を作製し、ここに ALM を添加したときのスペクトルを測定した。その結果、この流動相の膜に ALM を加えた実験でも、ゲル相の膜に加えたとき(図 2d)と同様の傾向のスペクトル変化が観られた。図 2e(黒)は、この実験で得た ALM 濃度 12.2  $\mu\text{M}$  のときの ALM

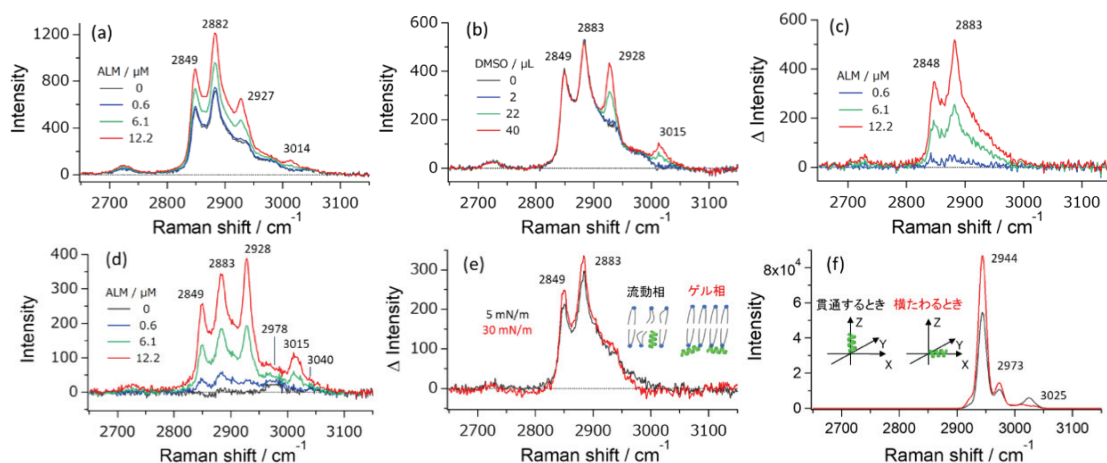


図 2. TIR ラマンスペクトル。(a) ALM の DMSO 溶液を添加前後の DPPC 二重膜。(b) DMSO を添加前後の DPPC 二重膜。(c) ALM の影響のみを抽出したスペクトル。(d) ALM の DMSO 溶液を添加前後の d-DPPC 二重膜。(e) 各表面圧の d-DPPC 二重膜における ALM (ALM 濃度 12.2  $\mu\text{M}$ )。 (f) モデルペプチドの計算ラマンスペクトル。

スペクトルである。比較のため、この図には、表面圧 30 mN/m (ゲル相) のときのもの(赤)も表示している。どちらの実験で得たスペクトルも、2849, 2883  $\text{cm}^{-1}$  にバンドを示していた。ゲル相のときのほうが流動相のときよりもわずかに強度が増大したが、スペクトル形はほぼ変わらなかった。このことは、ALM が膜表面に横たわっているときと膜を貫通しているときで、ラマンスペクトルの形が変わらないということを示唆している。

この解釈の妥当性を調べるために、ラマンスペクトル計算を行った。計算のモデルペプチドとして、18 残基のポリアラニンからなる  $\alpha$  ヘリックスを用いた。B3LYP/6-31G(d)レベルの DFT 計算を行い、最適化構造とそのラマンテンソルを得た。本研究の実験配置では、ラマンスペクトルの強度は、直交座標系の Z 軸をプリズム底面の法線方向としたときのラマンテンソルの XY と YY 成分の二乗の和で表される。モデルペプチドが膜を貫通するときと膜に横たわるときの二つの配向について、ラマンスペクトルを計算した(図 2f)。計算スペクトルの形には、配向による大きな違いは現れなかった。一方、2944  $\text{cm}^{-1}$  の強度を比較すると、横たわった配向の方が貫通している配向のものよりも高い値を示していた。これらの傾向は、実験スペクトルのもの(図 2e)と一致していた。このことから、実験スペクトルに観られた強度の違いは、ALM の配向の違いを示唆していると考えられる。

[1] C. Lee, C. D. Bain, *Biochim. Biophys. Acta*, **1711**, 59(2005). [2] R. G. Snyder et al, *Spectrochim. Acta*, **34A**, 395(1978). [3] P. Yang et al, *J. Phys. Chem. C*, **117**, 3358(2013).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Lin Wang, Wataru Mori, Akihiro Morita*, Masato Kondoh, Masanari Okuno, and Taka-aki Ishibashi*	4. 巻 11
2. 論文標題 Quadrupole Contribution of C=O Vibrational Band in Sum Frequency Generation Spectra of Organic Carbonates	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 8527-8531
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcllett.0c02453	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Masato Kondoh, Hidekazu Moritani, and Taka-aki Ishibashi*	4. 巻 93
2. 論文標題 Observation of translational diffusion in a planer supported lipid bilayer membrane by total internal reflection-transient grating method	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bulletin of Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 671-675
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20200019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Masato Kondoh, Akira Sakuta, Kazuki Okazawa, Dai Akase, Misako Aida, and Taka-aki Ishibashi*	4. 巻 123
2. 論文標題 Photo-Induced Ring-Opening Reaction of Flav-3-en-2-ol Monitored 2 by Time-Resolved Infrared Spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 8499-850
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpccb.9b0710	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Masanari Okuno, Osamu Homma, An-Tsung Kuo, Shingo Urata, Ryohei Koguchi, Tatsuya Miyajima, and Taka-aki Ishibashi*	4. 巻 22
2. 論文標題 Molecular orientations and conformations of air/fluoroalkyl acrylate polymer interfaces studied by heterodyne-detected vibrational sum frequency generation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Macromolecules	6. 最初と最後の頁 8705-8712
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.macromol.9b00541	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masato Kondoh, Chinatsu Takizawa, Kazuki Okazawa, Dai Akase, Misako Aida, Taka-aki Ishibashi*	4. 巻 389
2. 論文標題 Time-resolved infrared study of photo-induced ring-closure reaction of trans-2-hydroxychalcone	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry	6. 最初と最後の頁 112280 (5 p)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphotochem.2019.112280	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masanari Okuno, Shuhei Yamada, Tatsuhiko Ohto*, Hirokazu Tada, Waka Nakanishi, Katsuhiko Ariga, Taka-aki Ishibashi*	4. 巻 11
2. 論文標題 Hydrogen Bonds and Molecular Orientations of Supramolecular Structure between Barbituric Acid and Melamine Derivative at the Air/Water Interface Revealed by Heterodyne-Detected Vibrational Sum Frequency Generation Spectroscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 2422-2429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcllett.0c00329	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mari Okuno, Makoto Itagaki, Taka-aki Ishibashi, and Yohko F. Yano*	4. 巻 37
2. 論文標題 Visualization of the Orientation of Amphipathic Peptides at the Air-Water Interface by X-Ray Reflectometry	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1505-1509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.21P068	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masato Kondoh, Hayato Honda, Kei Togasaki, Yoshinobu Nishimura, Tatsuro Arai, Taka-aki Ishibashi*	4. 巻 126
2. 論文標題 Time-resolved infrared spectroscopy with multivariate analysis on photoinduced proton transfer in aromatic urea-acetate anion complex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 912-921
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpccb.1c09526	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shan-Shan. Li, Zi-Hao Li, Li Wu, Taka-aki Ishibashi* and Xiu-E Jiang*	4. 巻 49
2. 論文標題 Recent progress of vibrational spectroscopic study on the interfacial structure of biomimetic membranes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chinese Journal of Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cjac.2021.06.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計25件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 近藤正人, 田島優衣, 永山弘季, 石橋孝章
2. 発表標題 非光反応性タンパク質水溶液の紫外光励起過渡回折格子信号
3. 学会等名 日本分光学会年次講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田周平, 有賀克彦, 石橋孝章
2. 発表標題 メラミン誘導体とチミンがつくる気水界面超分子構造のHD-VSFG分光
3. 学会等名 日本分光学会年次講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中島晃希, 近藤正人, 新井達郎, 石橋孝章
2. 発表標題 HD-VSFG分光法で観るSHGプローブ色素AP3と水上脂質単分子膜の相互作用
3. 学会等名 日本分光学会年次講演会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 佐野有里紗, 近藤正人, 江波静夏, 石橋孝章
2. 発表標題 リン脂質/コレステロール混合二重膜の全内部反射ラマン分光
3. 学会等名 日本分光学会年次講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 筑波標, 近藤正人, 石橋孝章
2. 発表標題 HD-VSFG分光で観る脂質二重膜の構造に対するコレステロールの影響
3. 学会等名 日本分光学会年次講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 板垣信人, 奥野将成, 石橋孝章
2. 発表標題 HD-キラルVSFG分光法を用いた既知の二次構造を持つモデルペプチド界面の分子配向の研究
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木伸一, 奥野将成, 石山達也, 森田明弘, 石橋孝章
2. 発表標題 空気 / 陽・陰イオン性混合界面活性剤水溶液界面の水分子のHD-VSFG分光
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 近藤 正人, 本多 駿斗, 東ヶ崎 慶, 西村 賢宣, 新井 達郎, 石橋 孝章
2. 発表標題 芳香族ウレア - 酢酸イオン会合体の光誘起プロトン移動の時間分解赤外分光と多変量解析
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森谷英和, 近藤正人, 石橋孝章
2. 発表標題 全内部反射過渡回折格子法による脂質二重膜中の分子拡散係数の測定
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中島晃希, 近藤正人, 新井達郎, 石橋孝章
2. 発表標題 水上脂質単分子膜中におけるSHGプローブ色素AP3のHD-VSFG測定
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石橋孝章
2. 発表標題 表面における赤外分光法, ラマン分光法
3. 学会等名 表面真空学会基礎講座 (招待講演)
4. 発表年 2019年 ~ 2021年

1. 発表者名 石橋孝章・奥野将成
2. 発表標題 振動SFG分光による高感度キラリティ検出
3. 学会等名 第23回HiSOR研究会~分子キラリティの計測・理論技術の革新から迫る生命機能研究の新展開~ (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永山弘季・近藤正人・田島優衣・石橋孝章
2. 発表標題 非光反応性タンパク質の紫外光励起過渡回折格子信号とその起源の検討
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田周平・有賀克彦・石橋孝章
2. 発表標題 VSFG分光法とDFT計算によるメラミン誘導体とチミンがつくる超分子構造の研究
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野嶋優妃・李正林・石橋孝章
2. 発表標題 鎖長が異なる脂肪酸Gibbs膜のHD-VSFG分光
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐野有里紗・近藤正人・川村出・石橋孝章
2. 発表標題 固液界面におけるリン脂質二重膜と膜透過ペプチドの全内部反射ラマンスペクトル測定
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近藤正人・中島晃希・新井達郎・石橋孝章
2. 発表標題 VSFG分光で観るSHG活性色素Ap3の平面支持脂質二重膜への吸脱着過程
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西山湧貴・野嶋優妃・秋根茂久・有賀克彦・石橋孝章
2. 発表標題 表面圧で構造変化するらせん型Ni(salen)錯体Langmuir膜のHD-VSFG分光
3. 学会等名 日本分光学会年次講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐野有里紗・近藤正人・川村出・石橋孝章
2. 発表標題 全内部反射ラマン分光による固液界面リン脂質二重膜とアラメチシンの相互作用観測の試み
3. 学会等名 日本分光学会年次講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田周平・有賀克彦・石橋孝章
2. 発表標題 バルビツール酸水溶液上のジドデシルメラミン超分子単分子膜のHD-VSFGスペクトルの下層液濃度依存性
3. 学会等名 日本分光学会年次講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田周平・有賀克彦・石橋孝章
2. 発表標題 振動和周波発生分光法によるチミン水溶液上のジドデシルメラミンの Langmuir 膜がつくる水素結合ネットワークの研究
3. 学会等名 第 72 回コロイドおよび界面化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shuheii Yamada, Katsuhiko Ariga, Taka-aki Ishibashi
2. 発表標題 Interfacial Supramolecular Structure of Didodecylmelamine on Thymine Aqueous Solutions Probed by HD-VSFG Spectroscopy
3. 学会等名 MANA International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masato Kondoh and Taka-aki Ishibashi
2. 発表標題 Time-resolved IR spectroscopy of photo-induced ring opening and closure reactions between 2-hydroxychalcone and flav-3-en-2-ol
3. 学会等名 The Pacificchem 2021 meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taka-aki Ishibashi and Masanari Okuno
2. 発表標題 Highly sensitive chiral discrimination of bulk and interface samples by heterodyne-detected vibrational SFG spectroscopy
3. 学会等名 The Pacificchem 2021 meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taka-aki Ishibashi
2. 発表標題 Supramolecular structures at air/water interfaces with strong hydrogen bond networks studied by heterodyne-detected VSFG spectroscopy
3. 学会等名 The Pacificchem 2021 meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Taka-aki Ishibashi, Masanari Okuno	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 706 (Chapter 9, 34 pages)
3. 書名 Molecular and Laser Spectroscopy Volume 2 (Chapter 9 Heterodyne-detected chiral vibrational sum frequency generation spectroscopy of bulk and interfacial samples)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	近藤 正人  (Kondoh Masato)  (20611221)	筑波大学・数理物質系・助教   (12102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------