

## 論文の内容の要旨

# Universal Chiroptical Spectrophotometer の

## 開発及び固体試料測定

広域科学専攻 基礎生命科学系 黒田研

学籍番号 97721 原田 拓典

これまでに少数であるが、固体、ゲル、フィルム等つまり非液体状態におけるキラル測定<sup>1-9</sup>が行われており、さまざまな議論がされてきた。非液体状態でのキラル CD(Circular Dichroism), CB(Circular Birefringence = ORD; Optical Rotatory Dispersion)測定は、溶液では得られない情報を得ることができ、特に生体系試料の場合、溶液での測定よりもむしろ *in vivo* に近い状態での測定が望まれ、より多くの情報を得ることができると考えられる。これまでなぜ少数の実験しか行われていないかの理由は、主たる原因は溶液状態とは異なる巨視的異方性が非溶液状態には特別な例外を除いて存在しており、それと避けられることのできない装置の非理想性がこれら非溶液状態のキラル測定を困難にしてきたためである。

従って非溶液状態でのキラル測定は多くの研究者たちが切望してきたが、その大きな巨視的異方性のためにあきらめざるを得なかった。そこで我々は、サンプルの *chiral sense* に由来するシグナルのみを得ることができるようにするため、分光計により検出されたシグナルから、非溶液状態に存在する巨視的異方性が寄与する見かけのシグナル (*parasitic signal*) を取り除くことができる装置と解析法を開発した。

開発には大きな2本の柱がある。まず装置の性能、つまりサンプルのもつ巨視的異方性と、キラル測定に用いられる偏光変調分光計の各光学素子の非理想性とのカップリング効果(これが求める真のキラル測定の邪魔をしている)を最小限に抑えられる装置を作ること。なぜなら現実問題として理想的な光学素子は存在しないからである。

もう一方は、できる限りの光学素子の厳選を行った装置で測定されたシグナルから、残留している巨視的異方性によるシグナル(*parasitic signal*)だけを取り除く解析法の考案である。これは *Storks-Mueller matrix analysis* を用い、装置の非理想性も考慮に入れた計算を行い、検出されるシグナルにはどのようなサンプル及び、光学素子のシグナルが含まれているかを熟知した上で、解析を行う。そこで、キラル測定以外にも同じ測定装置で同時に巨視的異方性を測定できる装置が必要であることがわかった。そこで我々は2台のロッ

クインアンプとアナライザーを分光計に導入してすべての偏光現象を測定可能な Universal Chiroptical Spectrophotometer (UCS : J-800KCM) を構築した。さらにこの装置には固体測定用に特別にサンプルを入射光に対して垂直な面で 360°高精度で回転できるサンプル回転ホルダーと、固体専用サンプルホルダーを装備している。

本実験においては、測定装置から得られたシグナルの解析には、Mueller 行列解析法<sup>10-15</sup>を用いている。Figure 1 に示してある我々の測定装置は、アナライザーを挿入しない場合、50kHz、100kHz で、それぞれ CD、LD(Linear Dichroism)、アナライザーを挿入した場合、それぞれ LB(Linear Birefringence)、CB が測定され、検出されるシグナルは以下のように示される。

Without an analyzer

$$\text{Signal}_{50\text{kHz}} = G_1(P_x^2 + P_y^2)[CD + 1/2(LD'LB - LDLB')] + G_1(P_x^2 - P_y^2)\sin 2a(-LB\cos 2\theta + LB'\sin 2\theta). \quad \text{-----(1)}$$

$$\text{Signal}_{100\text{kHz}} = G_2(P_x^2 + P_y^2)(LD'\sin 2\theta - LD\cos 2\theta) + G_2(P_x^2 - P_y^2)\sin 2a\{-CB + 1/2(LD^2 + LB^2 - LD'^2 - LB'^2)\sin 4\theta + (LD'LD + LB'LB)\cos 4\theta\}. \quad \text{-----(2)}$$

With an analyzer

$$\text{Signal}_{50\text{kHz}} = G_3\{CD + 1/2(LD'LB - LDLB') - LB\cos 2\theta + LB'\sin 2\theta\}, \quad \text{-----(3)}$$

$$\text{Signal}_{100\text{kHz}} = G_4\{-LD'\sin 2\theta + LD\cos 2\theta + CB - 1/2(LD^2 + LB^2 - LD'^2 - LB'^2)\sin 4\theta - (LDDL' + LBLB')\cos 4\theta\} \quad \text{-----(4)}$$

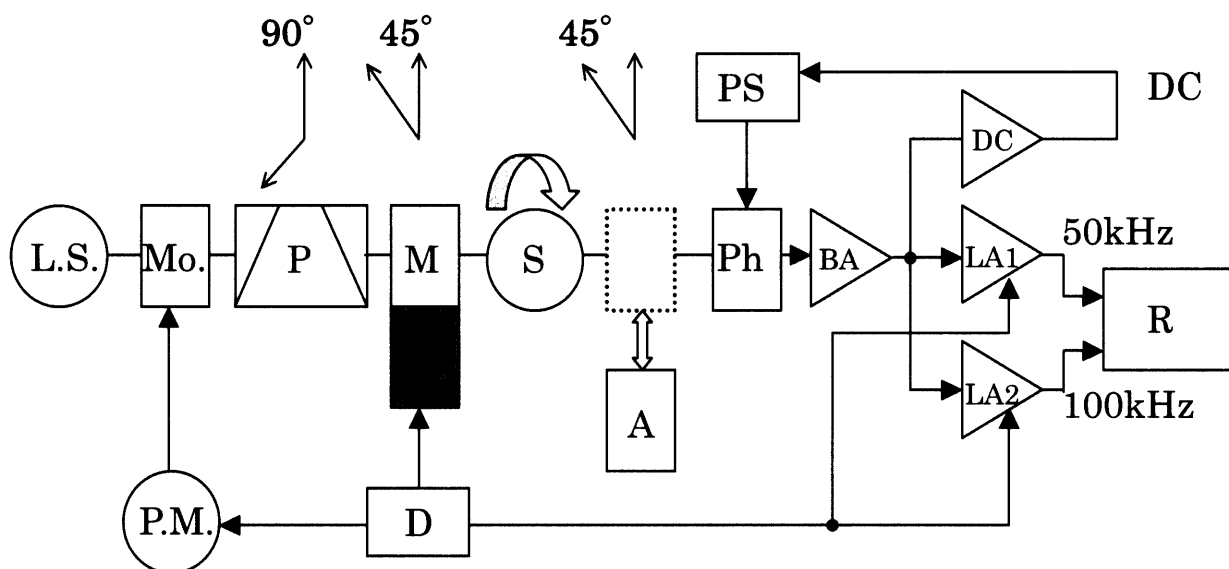


Figure 1 Block diagram of a Universal Chiroptical Spectrophotometer(J-800KCM)

L.S.: Xe-lamp	Mo.: Monochromator	P: Polarizer	Ph: Photomultiplier
M: Photoelastic modulator	S: Rotatory Sample Holder	D: PEM driver	BA: Buffer Amplifier
PS: Photomul Power Supply	A: Analyzer(Glan-Taylor, Rochon)	DC: dc Amplifier	
LA1: 50kHz Lock-in Amplifier	P.M.: Pulse motor	R: Recorder (SEKONIC SS-250F)	LA2:100kHz Lock-in Amplifier

ここで、LD'、LB'は 45°方向直線 2 色性、45°方向直線複屈折である。また  $P_x^2$ 、 $P_y^2$  はそれ

ぞれ、x、y 軸にたいする光電子増倍管 (PM) の透過率で、‘a’は x 軸に関する PM の方位角である。θはサンプルの回転角。G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, アナライザーを用いない場合と用いる場合の 50kHz、100kHz それぞれの装置定数である。

(1)(4)式が示すように、溶液の場合は、巨視的異方性がないためそれぞれ検出されるシグナルは、CD, CB になるが、固体状態ではキラル sense によるシグナルに加えて巨視的異方性による項が含まれている。従って固体試料の場合のキラル測定は、これらの項をいかにして取り除きキラル sense 由来のシグナルだけを抽出するかが鍵となる。そこで我々は Mueller matrix 法を駆使し考案した固体状態における真の CD 及び CB シグナルを求める解析法を用い固体試料の測定を行った。結果、我々の開発した UCS と解析法により、これまでは測定が困難であった巨視的異方性を持つ固体試料 (有機、無機単結晶、高分子フィルム、生体高分子フィルム) のキラル測定も可能になり、また試料が光学的に均一なのか不均一なのかの光学的性質まで知ることができた。Figure 2 は高度に延伸した PVA フィルムを Congo Red で染めたサンプルの真の CD スペクトルと巨視的異方性による見掛けのスペクトルを示している。巨視的異方性に起因する見かけのシグナルを除去し真の CD シグナルを得ることができた。

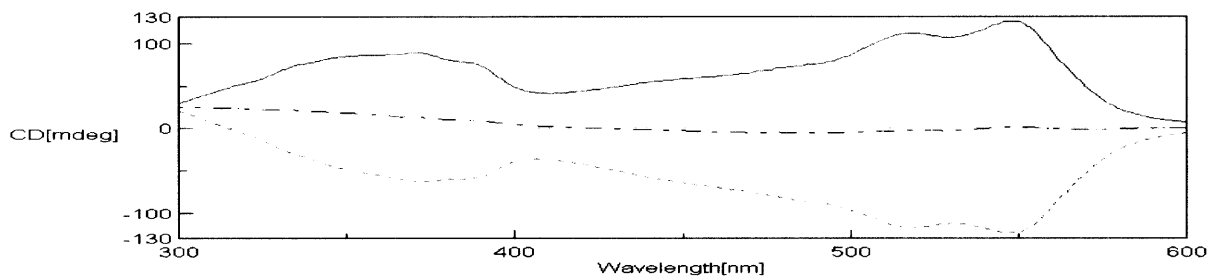


Figure 2 Solid line: appCD spectrum of PVA-Congo Red stretched film (face); Dotted line: appCD spectrum of PVA-Congo Red stretched film (back); Broken line: CD<sub>true</sub> spectrum derived from analysis using of the Mueller matrix method

今後さらにさまざまな知見を与えてくれるだろう、この装置及び解析法について更なる開発を進めていく。

## References

- 1 R. Kuroda, Y. Saito, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **49**, 433-436 (1976)
- 2 M. J. B. Tunis-Schneider, M. F. Maestre, *J. Mol. Biol.*, **52**, 521(1970)
- 3 J. Safar, P. P. Roller, G. C. Ruben, D. C. Gajdusek, C. J. Gibbs, Jr. *Biopolymers*, **33**, 1461 (1993)
- 4 H. Hu, Q. Li, H. Cheng, H. Du, *Biopolymers*, **62**, 15 (2001)
- 5 J. Lang, M. Liu, *J. Phys. Chem. B*, **103**, 11393 (1999)
- 6 S. Stepanka, Z. Karel, S. Jaroslav, B. Karel, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **43**, 2341 (1978)
- 7 P. Biscarini, R. Kuroda, *Inorg. Chim. Acta*, **154**, 209-214 (1988)
- 8 Y. Shindo, M. Nishio, S. Maeda, *Biopolymers*, **30**, 405-413 (1990)
- 9 R. Kuroda, *Circular dichroism: Principles and applications*, Second Edition, edited by N. Berova, K. Nakanishi, R. Woody; *Solid-state CD: Application to Inorganic and Organic Chemistry*, 159 (2000) and references therein.
- 10 H. Mueller, *J. Opt. Soc. Am.*, **38**, 661 (1948)
- 11 N. Go, *J. Phys. Soc. Jap.*, **23**, 88 (1967)
- 12 H. P. Jensen, J. A. Schellman, T. Troxell, *Appl. Spectrosc.*, **32**, 192 (1978)
- 13 J. A. Schellman, H. P. Jensen, *Chem. Reve.*, **87**, 1359-1399 (1987)
- 14 A. Schonhofer, H. G. Kuball, C. Puebla, *Chemical Physics*, **76**, 453-467(1983)
- 15 Y. Shindo, *Optical Engineering*, **34**(12), 3369-3384(1995)