

酪氨酸的太赫兹频谱研究

马士华, 施宇蕾, 严伟, 徐新龙, 杨玉平, 汪力*

中国科学院物理研究所, 北京 100080

摘要 利用太赫兹时域光谱技术探测了室温条件下的酪氨酸样品的频谱响应, 获得了酪氨酸的太赫兹频谱。实验结果表明, 酪氨酸在太赫兹波段存在特征频谱响应, 可以用来探测分子的结构和振动情况。在获得的太赫兹频谱中, 首次观察到 0.23 和 2.46 THz 附近存在的吸收峰。用 HF 方法和 DFT 计算了酪氨酸单分子和酪氨酸二聚体的太赫兹频谱, 对理论计算和实验测量的偏离进行了详细的分析。在 0.23 THz 处的吸收峰, 初步标定为氢键连接的 2 个酪氨酸分子的面外摇摆振动。

关键词 太赫兹; 时域光谱技术; 酪氨酸; 集体振动

中图分类号: O433.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2007)09-1665-04

引言

生物分子(如氨基酸、蛋白质、DNA 与 RNA 等)的功能与分子的结构和所处的环境有着紧密的联系, 而分子的低频集体振动模式则反映了分子结构中较大尺度里的原子排列, 即分子的构型和构象特征, 这使得对分子的低频集体振动研究成为一个非常重要的课题^[1-8]。实验观察和理论分析表明, 生物分子对太赫兹辐射的响应主要来自于分子的低频集体振动模式, 这些振动模式的位置和强度不仅与分子的结构密切相关, 还对分子的构象、所处的环境以及分子间的作用等高度敏感^[9]。生物分子的整体结构与它们在太赫兹波段光谱性质的这种高度相关性, 使得近年来新发展起来的太赫兹时域光谱技术(terahertz time-domain spectroscopy, THz-TDS)受到广泛关注^[5-8, 10-14]。

氨基酸作为组成蛋白质等生物大分子的基本结构单元, 在生物分子的结构和功能研究中有重要的作用。酪氨酸是一种重要的芳香族氨基酸, 是生物体内很多分泌物的母体化合物, 同时它还与黑色素的形成有关。黑色素可以防止紫外线损伤, 它的含量与人们的皮肤、毛发、虹膜等颜色密切相关, 对酪氨酸的研究可能会对白癜风、白化病等病症的治疗有重要的价值。Ramaekers 等^[15]在 2005 年用密度泛函理论(density functional theory, DFT)研究过酪氨酸分子的振动频谱, 但是他们只关注了酪氨酸的中红外光谱。此外, Miyamaru、岳伟伟等^[16, 17]也曾报道过酪氨酸分子的太赫兹频谱, 这里我们所测得的频谱与他们的结果有一致也有不同。本文结合

量子化学计算, 获得了中性酪氨酸分子和氢键连接的两性离子形式的酪氨酸二聚体的低频集体振动频谱, 与测量得到的太赫兹频谱进行了对比分析, 对进一步研究生物大分子的太赫兹频谱有指导意义。

1 实验

1.1 实验装置

研究使用的酪氨酸样品是从北京科宏达生物技术公司购买的, 纯度为 99%。将样品研磨后与聚乙烯粉末以 1:10 的比例均匀混合, 用压片机在 20 MPa 左右的压强下压制成直径为 10 mm, 厚度为 1 mm 左右的圆盘状薄片。聚乙烯在太赫兹波段几乎是透明的, 因此在 THz-TDS 测量中是一种很好的基底材料。

实验中所采用的 THz-TDS 测量系统光路如图 1 所示, 由钛蓝宝石激光器产生的中心波长为 800 nm、重复频率为 82 MHz、脉宽为 100 fs 的激光脉冲分为两束。一束通过一个计算机控制的可变时间延迟线激发 GaAs(110)晶体, 由光整流机制产生 THz 探测脉冲, 经过两块离轴抛物面镜聚焦到待测样品的表面, 随后再经收集、聚焦以后到达 THz 探测元件(2 mm 厚的 ZnTe 晶体)上; 另一束作为取样光, 经过合适的光程安排在 ZnTe 晶体上与 THz 脉冲汇合并共线通过, 用行波光电取样的方法探测 THz 信号的时域波形。测量过程中为了避免空气中水蒸汽的影响, 整个 THz 信号产生和探测的光路被密封在真空环境中。实验测量的有效光谱范围为 0.2~2.8 THz。

收稿日期: 2006-05-15, 修订日期: 2006-07-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(10390160, 39890390)资助

作者简介: 马士华, 女, 1972 年生, 中国科学院物理研究所博士研究生

*通讯联系人 e-mail: wangli@aphy.iphy.ac.cn

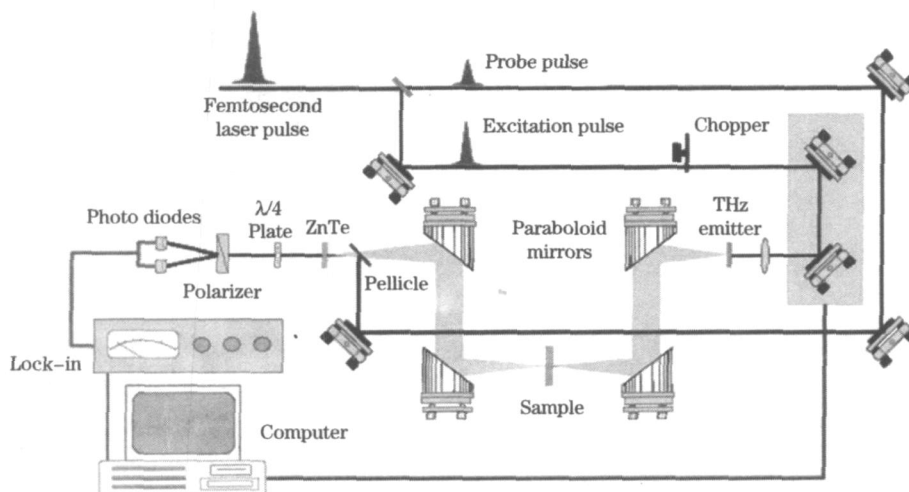


Fig 1 Schematic diagram of the experimental setup for THz-TDS

1.2 数据处理

由于样品的吸收和色散, THz 脉冲经过样品前后的信号会发生改变, 携带了样品频率响应的振幅和位相信息。利用测量得到的无样品时太赫兹参考信号和有样品时的太赫兹信号时域波形, 经过傅里叶变换后就可以得到太赫兹电场的复振幅谱 E_s 和 E_r 。根据下式即可以获得被测样品的吸收系数和折射率

$$E_s/E_r = T(n) \exp(-d/2 + in d/c) \quad (1)$$

其中 E_s 和 E_r 分别为有样品和无样品时的太赫兹复振幅谱, $T(n)$ 为样品表面反射的损耗因子, $n(\omega)$ 和 $k(\omega)$ 为样品的吸收系数和折射率, ω 为辐射频率, d 为样品厚度。

2 计算方法

本文借用 Gaussian03 程序包^[18]选用了 HF 和 DFT 两种方法计算了中性酪氨酸分子和两性离子形式的酪氨酸二聚体的太赫兹频谱。这两种方法是量子化学计算方法中比较经典的方法^[19-24]。对于 DFT 计算, 选用了 B3LYP 型的杂化泛函, 很多实践证明这种泛函是 DFT 的各种泛函当中准确度非常高的一种泛函^[19, 20]。对中性酪氨酸分子和两性离子形式的酪氨酸二聚体都进行了优化, 计算结果没有虚频产生, 说明获得的是稳定构象。计算结果没有使用标度因子修正。

3 结果和讨论

酪氨酸分子的结构如图 2 所示。分子的支链是由 1 个甲基、1 个苯环和 1 个羧基组成, 是蛋白质氨基酸中的 3 个芳香族氨基酸之一。酪氨酸分子在 20 个蛋白质氨基酸中属于较大的分子, 一共有 24 个原子组成, 其中重原子占一半以上。

实验测得的酪氨酸样品的太赫兹频谱在图 3 中给出。从图 3 中可以看到, 酪氨酸样品在实验测量的有效范围内共有 6 处明显吸收峰, 分别位于 0.23, 0.977, 1.91, 2.07, 2.46

和 2.73 THz。表 1 给出了我们的实验结果和前人结果。从表 1 可以看到, 本实验测量结果包含了 Miyamaru^[16]在 2003 年所报道的在 0.1 ~ 3.5 THz 内全部 4 个吸收峰: 0.96, 1.91, 2.08 和 2.70 THz, 而且位置都很接近, 但是我们的实验测量结果显示在 0.23 和 2.46 THz 处有 2 个没有报道过的吸收峰。岳伟伟等^[17]在 2005 年报道了他们在 0.2 ~ 1.6 THz 内发现的 0.976 THz 处的吸收峰, 也没有探测到 0.23 THz 处的吸收峰。

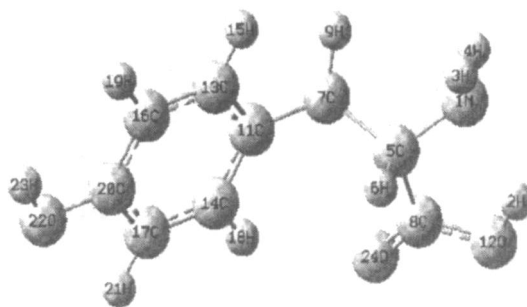


Fig 2 The molecular structure of tyrosine

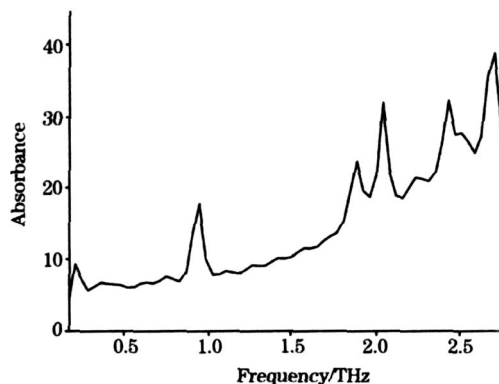


Fig 3 THz spectrum of tyrosine obtained by THz-TDS

Table 1 Comparison of experimental spectra between this study and the other works (THz)

	此次实验	Miyamaru ^[16]	岳伟伟 ^[17]
1	0.23		
2	0.977	0.96	0.976
3	1.91	1.91	
4	2.07	2.08	
5	2.46		
6	2.73	2.70	

图4给出了用DFT在B3LYP/6-311G(d,p)基组水平上和HF/3-21g两种方法计算得到的中性酪氨酸分子的低频频谱和实验获得的太赫兹频谱对比,其中强度都进行了归一化处理。从图4中可以看到理论计算在实验测量有效范围内得到了3个峰,两种方法所获得的频谱波形与实验有一定程度的符合,位置上有或大或小的差别:DFT方法所得结果比实验值偏小,而HF方法所得的结果比实验值偏大。这主要是由这两种方法对电子相关处理上的不同所造成的。DFT相对于HF方法的优势在于考虑了电子相关。电子相关表现为体系电子由于电子间相互作用而不能无限地靠近对方所占的空间。而HF方法仅仅考虑了泡利原理所要求的自旋相同的电子之间的相关作用,但是DFT不能很好地去除电子自相关作用,容易修正过度。由于实验样品是多晶粉末,理论计算所用的是中性酪氨酸单分子,而没有考虑包括氢键在内的分子间相互作用力,所以理论和实验之间的误差不仅要考虑理论处理方法,还要考虑分子状态。

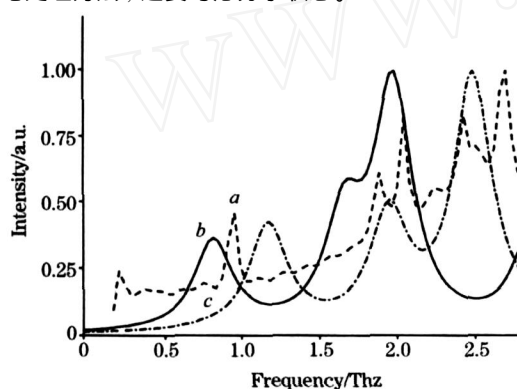


Fig 4 Comparison of the experimental THz spectrum (a) with the theoretical results obtained by DFT (b) and HF (c) for tyrosine

为了进一步确定理论值和实验值之间偏差的来源,本文用DFT在B3LYP/6-311G(d,p)基组水平上和HF/3-21g两种方法计算了酪氨酸分子的二聚体。二聚体由于分子间氢键的形成,导致分子呈现两性离子状态,分子结构如图5所示。从图5中可以看到2个酪氨酸分子通过1个酪氨酸分子的氧原子(13O)与另1个酪氨酸分子的氮原子(34N)和氢原子(47H)形成了分子间氢键,其夹角大约为170°,键长约为0.28 nm。

图6给出了通过B3LYP/6-311G(d,p)和HF/3-21g方法

分别计算两性离子形式的酪氨酸二聚体所得到的低频频谱和实验所获得的酪氨酸样品的太赫兹频谱对比。从图6中可以看出,在0.23 THz附近出现了较弱的吸收峰,证明这个吸收峰是由包括分子间氢键在内的分子间相互作用的存在所导致的。根据计算结果分析,发现这个频率是由于整个分子(组成分子的所有原子都同步)做面外摇摆振动产生的。分子间的氢键和其他分子间的相互作用导致了整个分子做协同运动,这时整个分子的协同性是非常高的,表现为非常明显的集体振动特征。

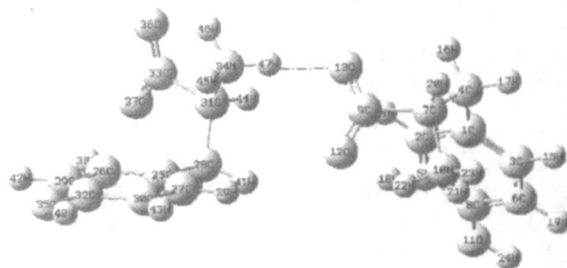


Fig 5 Tyrosine dimer linked by intermolecular hydrogen bond

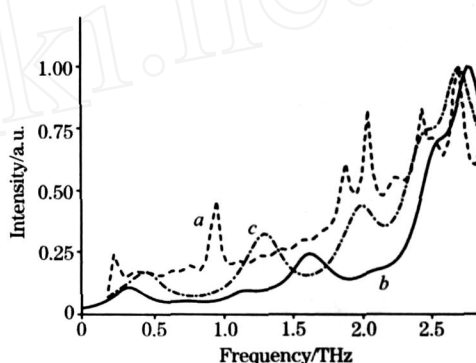


Fig 6 Comparison of the experimental THz spectrum (a) with the theoretical results obtained by DFT (b) and HF (c) for tyrosine dimer

从图6和图4的比较中还可以看到,用HF方法计算酪氨酸二聚体所得到的频谱无论是峰的位置还是谱形都比单分子的结果更与实验接近,而DFT整体来说表现变差。主要原因是由于DFT方法没有精确的交换相关势,其函数在离核较远处的渐近行为不好以及DFT过多地考虑了芳香族分子的电子离域,而导致交换和相关势不能很好地消除自相互作用有关。HF方法没有考虑的自旋相反的电子相关作用在电子离域的情况下也很重要,本文选用的较小基组(3-21g)对计算结果所造成的影响,一定程度上抵消了没有包含电子相关效应的计算误差。

4 结论

利用太赫兹时域光谱技术探测了酪氨酸样品,获得了酪氨酸的太赫兹频谱,报道了其他人没有发现的0.23和2.46

THz 的吸收峰。用密度泛函 B3LYP/6-311G(d, p) 方法和 HF/3-21g 方法分别计算了酪氨酸单分子和二聚体的太赫兹频谱, 并和实验所获得的太赫兹频谱进行了对比, 分析了实验观察和计算结果产生偏离的原因。确定了在 0.23 THz 附

近的吸收峰是由于包括分子间氢键在内的分子间相互作用所导致的集体振动频率。同时对 DFT 和 HF 方法在计算低频集体振动频谱方面进行了有益的分析 and 探讨。

参 考 文 献

- [1] Dovbeshko G, Berezhinsky L. J. Mol. Struct. , 1998 , 450 : 121.
- [2] Cao Z W, Chen X, Chen Y Z. J. Mol. Graph. Model. , 2003 , 21 : 309.
- [3] Kutteruf M R, Brown C M, Iwaki L K, et al. Chem. Phys. Lett. 2003 , 375 : 337.
- [4] Markelza A G, Roitberg A, Heilweil E J. Chem. Phys. Lett. , 2000 , 320 : 42.
- [5] Walther M, Fischer B, Schall M, et al. Chem. Phys. Lett. , 2000 , 332 : 389.
- [6] Johnston M B, Herz L M, Khan A L T, et al. Chem. Phys. Lett. , 2003 , 377 : 256.
- [7] Walther M, Plochocka P, Fischer B, et al. Biopolymers , 2002 , 67 : 310.
- [8] XU Xin-long, WANG Xi-min, LI Fu-li, et al(徐新龙, 王秀敏, 李福利, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004 , 24(10) : 1153.
- [9] WANG Li, XU Xin-long, WANG Xi-min, et al(汪力, 徐新龙, 王秀敏, 等). Life Sciences(生命科学), 2003 , 15(2) : 108.
- [10] Ferguson B, ZHANG Xi-cheng(Ferguson B, 张希成). Physics(物理), 2003 , 32(5) : 286.
- [11] GE Min, ZHAO Hong-wei, JI Te, et al(葛敏, 赵红卫, 吉特, 等). Acta Phys. Chim. Sin.(物理化学学报), 2005 , 21 : 1063.
- [12] Okumura K, Tanimura Y. Chem. Phys. Lett. , 1998 , 295 : 298.
- [13] Matthew C B, Gordon M T, Charles A S. J. Phys. Chem. B, 2002 , 106 : 7146.
- [14] Gervasio F L, Cardini G, Salvi P R, et al. J. Phys. Chem. A, 1998 , 102 : 2131.
- [15] Ramaekers R, Joanna P, Rospenk M, et al. Spectrochimica Acta A, 2005 , 61 : 1347.
- [16] Miyamaru F, Yamaguchi M, Tani M, et al. Conference on Lasers and Electro-Optics (CLEO) (IEEE Cat. No. CH37419-TBR). 2003. 2.
- [17] YUE Wei-wei, WANG Wei-ning, ZHAO Guo-zhong, et al(岳伟伟, 王卫宁, 赵国忠, 等). Acta Physica Sinica(物理学报), 2005 , 54(7) : 3094.
- [18] Frisch M J, Trucks G W, Schlegel H B, et al. Gaussian03, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003.
- [19] Wong M W. Chem. Phys. Lett. , 1996 , 256 : 391.
- [20] WU Wen-jing, LU Rui-hua, SHI Yan-ping(巫文静, 鲁润华, 师彦平). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006 , 26(4) : 658.
- [21] Georgieva M K. J. Mol. Struct. , 2004 , 691 : 71.
- [22] Yilmaz A, Akyuz S. J. Mol. Struct. , 2005 , 744 : 951.
- [23] HU Jie-han, YE Jin-xing, CHENG Guo-bao, et al(胡皆汉, 叶金星, 程国宝, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2001 , 21(2) : 163.
- [24] WU Xiao-yuan, ZHANG Han-hui, HUANG Chang-cang, et al(吴小园, 张汉辉, 黄长沧, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004 , 24(6) : 694.

Study on the THz Spectra of Tyrosine

MA Shi-hua, SHI Yu-lei, YAN Wei, XU Xin-long, YANG Yu-ping, WANG Li*
Institute of Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China

Abstract Terahertz time-domain spectroscopy (TDS) has been used to study the spectral properties of tyrosine at room temperature. The terahertz spectra of sample were observed. The result shows that the sample has the spectral response in terahertz spectral range, a fact demonstrating that the terahertz spectra of tyrosine could be used to study the molecular structure and vibration of sample. Two absorption peaks were found at 0.23 and 2.46 THz respectively for the first time. The corresponding theoretical spectra were given by using HF and DFT methods for both tyrosine monomer and dimer. The difference between the theoretical and experimental results was analyzed in detail. The origin of the observed absorption at 0.23 THz was assigned to the wagging of the two tyrosine molecules linked by hydrogen bond.

Keywords THz; TDS; Tyrosine; Collective vibration

* Corresponding author

(Received May 15, 2006; accepted Jul. 28, 2006)