

[C₂W]

Vakblad voor chemie en life sciences

Grip op eiwitten

De vele gezichten van terahertz-spectroscopie

#6

Jaargang 116
juni
2020

Voor leden van
de KNCV, KVCV,
NBV en NVBMB

Thema Spectroscopie

De Matrix Sublimator prepareert razendsnel samples voor MALDI-MS. Verder aandacht voor de ontluikende technologie van THz-spectroscopie.

► Pagina 10 t/m 15

Sabine Van Doorslaer

De chemisch fysisch heeft zich gespecialiseerd in elektronenspin-resonantie: 'Relevant voor chemische katalyse én enzymkatalyse.'

► Pagina 10

Nanomotortjes

Ben Feringa's moleculaire motortjes blijken toepasbaar in *tissue engineering*: ze doen stamcellen differentiëren tot botcellen.

► Pagina 21

Twee onderzoekers, twee vormen van THz-spectroscopie

Geen beweging meer verborgen

Terahertz-spectroscopie is een jonge technologie die je zeer breed kunt toepassen; van douanehulpmiddel tot eiwitvisualisatie. ‘Je laat het hele molecuul trillen.’

‘In het frequentiespectrum valt terahertz (THz)-spectroscopie tussen ver-infraroodlicht en microgolven’, vertelt Anouk Rijs, universitair hoofddocent molecular structure and dynamics aan de Radboud Universiteit. ‘Bij THz-spectroscopie trilt het hele molecuul tegelijkertijd, in tegenstelling tot infraroodspectroscopie, waarbij slechts een specifieke groep beweegt. Je kunt THz-straling echt voor van alles en nog wat gebruiken’, verklaart ze. ‘Je ziet bijvoorbeeld toepassingen in chemische analyses, maar ook traceert de douane er drugs of explosieven mee. Bij inspecties in fabrieken kun je haar zelfs inzetten om te kijken of er genoeg chocoladerepen in een doos zitten, zonder dat je die open hoeft te maken.’

Aggregatie

Begin 2020 ontving Rijs een Vici-beurs waarmee ze onderzoek gaat doen aan ziektes zoals parkinson en alzheimer. Ze gebruikt daarvoor een combinatie van THz- en IR-spectroscopie en massaspectrometrie (MS) om de structuur van peptides en peptideaggregaten te karakteriseren die te maken hebben met zulke ziektes. Een voordeel van THz-spectroscopie ten opzichte van IR-spectroscopie is dat het peptideaggregatie beter visualiseert. ‘Bij ziektes als parkinson gaan steeds meer van dezelfde peptides aan elkaar zitten’, zegt Rijs. ‘Omdat THz kijkt naar de vibraties van hele moleculen, laat de techniek een goede vingerafdruk zien van zo’n verzame-

ling opeengepakte peptides.’

Een bijkomend voordeel is dat Rijs en haar collega’s de peptides in de massaspectrometer met laserdesorptie in de gasfase brengen. Rijs: ‘Doordat de substraten zich in de gasfase bevinden, kun je direct naar de structuur van de peptides zelf kijken, en heb je geen last van achtergrondsignalen door bijvoorbeeld water, wat THz-straling extreem goed opneemt.’

Maar om THz-spectroscopie te doen in de gasfase heb je een sterke laser nodig. In Nijmegen beschikt de groep van Rijs daarom over de IR- en THz-vrije-elektronenlasers van het FELIX Laboratory, waarbij FELIX staat voor Free Electron Lasers for Infrared eXperiments. ‘De FELIX-laser kan sterke en intense bundels van alle kleuren IR- en THz-licht uitzenden, ideaal voor actiespectroscopie’, legt Rijs verder uit. ‘Daarbij kijk je naar de effecten van THz-licht op moleculen. De peptides kunnen bijvoorbeeld fragmenteren, waarna je de gefragmenteerde stukken in de MS meet als lichtere massa’s. Je krijgt dan een plot met heel veel lijnen,

‘THz toont een goede vingerafdruk van een verzameling opeengepakte peptides’

waaruit je de structuur van het molecuul kunt afleiden met behulp van theoretische berekeningen.’

Hoewel er veel onderzoek plaatsvindt aan peptideaggregatie, is Rijs op dit gebied de enige met deze aanpak. ‘Het is uniek doordat we een combinatie van vier verschillende methodes gebruiken (kinetiek, *ion mobility*, MS en THz- en/of IR-spectroscopie, red.) in een experiment om de eerste stappen van het samenklonteringsproces te kunnen ophelderen. Als je dit namelijk in oplossing zou bekijken, zoals anderen doen, kun je de soep van structuren die aan elkaar gaan zitten niet uit elkaar halen en kun je niet zien wat er precies mee gebeurt.’

Dipoolmoment

Huib Bakker, afdelingshoofd van de groep ultrafast spectroscopy aan het FOM-instituut AMOLF in Amsterdam, kijkt vooral naar de respons van water op THz-golven. Hij is echter ook geïnteresseerd in de interacties van water met eiwitten. ‘Datgene wat Anouk wil voorkomen, namelijk water in je sample, is precies wat wij gebruiken’, lacht Bakker. ‘De eigenschap dat water het THz-licht zo goed opneemt, zetten wij in om indirect naar eiwitten te kijken.’ Om die eiwitten te bestuderen, gebruikt Bakker een techniek die *time-domain*-THz-spectroscopie heet. ‘Bij THz-spectroscopie heb je vaak last van ruis in de vorm van warmtestraling dat in hetzelfde golfgebied zit’, verklaart Bakker. ‘Daarom gebruiken





De infrarood- en THz-lasers van FELIX op de campus van de Radboud Universiteit Nijmegen.

we extreem korte THz-lichtpulsjes van enkele picosecondes, die je in hetzelfde tijdsbestek weer detecteert. Dat elimineert de ruis.' Eiwitten zijn redelijk complexe systemen om te analyseren, dus legt Bakker zijn methode uit aan de hand van een eenvoudiger model. 'Puur water heeft bepaalde interacties met zichzelf. Maar kijk je naar water in een natriumzoutoplossing, dan zie je de interactie veranderen. Het dipoolmoment van de watermoleculen oriënteert zich naar de positieve natriumionen. Die watermoleculen verdwijnen dan uit het THz-spectrum; het water uit de oplossing absorbeert zo minder THz-licht dan puur water.'

Ongeveer hetzelfde fenomeen vind je ook bij eiwitten, maar dan in de interactie van hydrofobe en hydrofiele aminozuren met water. Zo kun je eiwitontvouwing bestuderen. 'Bij ontvouwing krijgt het eiwit een andere structuur, waardoor de meer hydrofobe delen bloot komen te liggen. Met THz-spectroscopie zie je dat als een verandering van de wisselwerking tussen water en het eiwit', vertelt Bakker.

Verschillen

Hoewel vergelijkbaar, hebben de methodes van Rijs en Bakker elk hun eigen ster-

'In ons waterige systeem meet je heel gevoelig interacties tussen eiwitten en watermoleculen'

ke en zwakke punten. Bakker: 'In ons waterige systeem kun je heel gevoelig interacties tussen eiwitten en watermoleculen meten. Maar ik krijg wel heel brede spectra, waarbij de pieken elkaar vaak overlappen en de uitkomst minder duidelijk is.' Rijs bevestigt het verschil tussen de gas- en vloeistofmethodes. 'In de gasfase krijg je veel scherpere lijnen in vergelijking met een vloeibare oplossing, juist door de afwezigheid van water.' Wanneer je een mengsel van verschillende eiwitten in een oplossing hebt, kan het te complex worden voor time domain-THz-spectroscopie, aldus Bakker. 'Je kunt dan nog wel het totale effect van de eiwitten op water zien, maar niet de verschillende eiwitten onderscheiden.' Overigens is de grootte van een eiwit op zichzelf geen

► THz-spectroscopie en 5G

Er doen nogal wat verhalen de ronde over 5G; dat zou schadelijk zijn voor de gezondheid. Op internet passeren verschillende complottheorieën de revue. '5G maakt eigenlijk gebruik van een heel lage THz-frequentie, in wezen is het een hoogfrequente radiogolf', licht Huib Bakker toe. 'Je kunt het effect zien als dat van een heel grote, maar zwakke magnetron. Net als bij een magnetron is het enige effect van 5G op een molecuul dat het ietsje sneller gaat bewegen en dus misschien een duizendste van een graad warmer wordt.' Bakker vertelt verder dat de 5G-straling, net als THz-licht, niet energetisch genoeg is om bindingen kapot te maken. 'Uv-licht is wat dat betreft veel gevaarlijker, omdat dat direct effect heeft op de elektronen van een molecuul.'

probleem. 'Je hebt dan gewoon grotere effecten op het water.'

Zo rond 2010 kwam het gebruik van THz-spectroscopie opzetten en sindsdien is de techniek ver gekomen. 'Ze is een stuk volwassener geworden', meent Rijs. 'Ze heeft altijd al veel potentie gehad, omdat ze unieke informatie geeft. Maar zo'n tien jaar geleden was de intensiteit van de laser niet hoog genoeg en de lichtbronnen niet sterk genoeg.' Rijs ziet het gebruik wel toenemen, maar het is nog lang niet zo mainstream als normale IR-spectroscopie. 'Maar er zijn veel groepen, zowel nationaal als internationaal die van FELIX gebruik willen maken. Zo draagt onze afdeling bij aan de verspreiding.'

Bakker ziet een interessante toekomst tegemoet. 'THz-spectroscopie is op dit moment vooral een vorm van lineaire spectroscopie', legt hij uit. 'Maar als je de intensiteit van de THz-pulsjes verhoogt, kun je veranderingen teweegbrengen in het systeem dat je bestudeert, dus niet-lineaire spectroscopie met THz-licht. Ik weet van groepen die faseovergangen proberen te laten plaatsvinden in bijvoorbeeld kristallen met THz-licht.' Rijs beaamt: 'Er is nog veel terrein te winnen en te ontdekken.' ●