

業績紹介： $\chi^{(4)}$ ラマン分光の開発と埋もれた界面への応用

山口祥一 (理研・計画研究分担者)

田原太平 (理研・計画研究代表者)

論文題目：“ $\chi^{(4)}$ Raman Spectroscopy for Buried Water Interfaces”

著者：Shoichi Yamaguchi and Tahei Tahara

雑誌巻号：Angew. Chem. Int. Ed. **46**, 7609-7612 (2007)

界面の研究手段として、偶数次非線形レーザー分光法は重要な位置を占めている。この方法の界面選択性は、偶数次非線形感受率 $\chi^{(2n)}$ が等方的なバルクにおいてはゼロになるのに対して、界面ではその法線方向の異方性のために $\chi^{(2n)}$ がゼロでない値を取り得る、という原理に基づいている。これによって、単分子層程度の厚みの界面を選択的かつ高感度に観測することが可能となっている。これまでに、第二高調波発生 (SHG) 分光法と赤外-可視振動和周波発生 (VSFG) 分光法が考案され、界面研究に用いられてきた。

我々は、まず SHG に代わる新しい方法として、電子和周波発生 (ESFG) 分光法を開発した[1]。ESFG によって、SHG とは比較にならないほど高い信号雑音比と密な波長データ点を有する界面電子スペクトルを得ることが可能となった。さらに我々は、ESFG を基に、周波数領域の四次非線形 ($\chi^{(4)}$) ラマン分光法を開発した。 $\chi^{(4)}$ ラマンは、可視・近赤外光のみを用いるので、VSFG を適用できない“埋もれた”界面にも適用できる。さらに、帯域の広いレーザー光が利用可能なため、時間領域の四次ラマン分光[2,3]では困難な高波数領域の振動スペクトルも得られる。

図 1(a)は、空気/水界面のローダミン 800 (R800) の ESFG スペクトルである。挟帯域レーザー光のパルスエネルギーを 36 倍に増大して同じ測定を行うと、(b) のスペクトルが得られる。(b)には、(a)には無い鋭いピークが現れている。これらのピークは四次の非線形信号であり、この四次信号は ESFG の二次信号と同じ光子エネルギーを持つため、二次信号を局部発振器として四次信号がヘテロダイン検出される。従って、(a)を(b)で割り算することで(c)の $\chi^{(4)}$ ラマンスペクトルが得られる。このような広い波数範囲で界面選択的振動スペクトルを与えるのは、 $\chi^{(4)}$ ラマンだけである。

界面とバルクの振動スペクトルを比較した結果、CN 三重結合の伸縮振動数が R800 の周囲の環境を鋭敏に

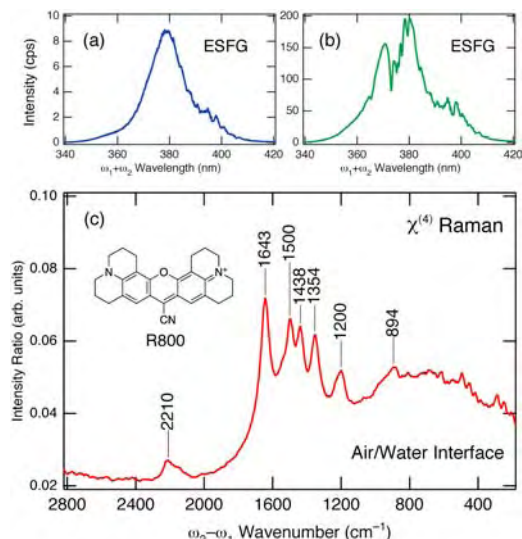


図 1. (a), (b) 空気/水界面の R800 の ESFG スペクトル。挟帯域レーザー光のパルスエネルギーは、(a) 0.7 μJ , (b) 25 μJ . (c) 空気/水界面の R800 の $\chi^{(4)}$ ラマンスペクトル。挿入図は R800 の構造式。

反映することを見出した。CN 伸縮振動数は、粉末に対して、空気/水界面では 14 cm^{-1} 低く、ガラス/水界面では 53 cm^{-1} 低い。このような低波数シフトはバルクでは見られない現象で、実際にバルク水中では粉末よりも 8 cm^{-1} 高くなる。このことは、CN 基と OH 基との水素結合が、界面とバルクで全く異なることを意味している。密度汎関数法による量子化学計算との比較により、バルク水中では R800 は多数の水分子に囲まれて、CN 基と OH 基との水素結合は σ 型になるのに対し、界面では R800 は少数の水分子と相互作用して π 型水素結合を形成している、という結論を得た。 π 型水素結合は、これまで気相でしか見つかっていなかったもので、界面での発見は予想外のことであった。このことは、界面には我々の知らない現象や分子種が数多くあり、新しい計測法を適用することによって新しい発見があることを端的に示している。

引用文献

- [1] S. Yamaguchi and T. Tahara, *J. Phys. Chem. B* **108**, 19079-19082 (2004); *J. Chem. Phys.* **125**, 194711 (2006).
- [2] S. Fujiyoshi, T. Ishibashi, and H. Onishi, *J. Phys. Chem. B* **108**, 10636-10639 (2004).
- [3] T. Nomoto and H. Onishi, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **9**, 5515-5521 (2007).

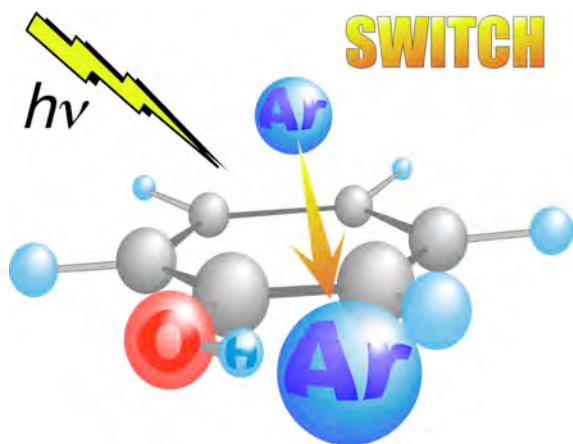
業績紹介：イオン化に伴う溶媒結合サイトのスイッチングを実時間観測

石内俊一 (東工大資源研・計画研究分担者)
 酒井 誠 (東工大資源研・計画研究分担者)
 藤井正明 (東工大資源研・計画研究代表者)

論文題目：" IR signature of the photoionization-induced hydrophobic → hydrophilic site switching in phenol-Ar_n clusters"

著者：Shun-ichi Ishiuchi, Makoto Sakai, Yuji Tsuchida, Akihiro Takeda, Yasutake Kawashima, Otto Dopfer, Klaus Müller-Dethlefs, and Masaaki Fujii

雑誌巻号：J. Chem. Phys., **127**, 114307-114317 (2007)



フェノール・Ar₂ クラスタに対して UV-UV-IR ピコ秒時間分解赤外分光法を適用し、イオン化により芳香環上に結合していた Ar 原子が OH 基に 7 ピコ秒で移動して水素結合する過程を初めて直接測定することに成功した。

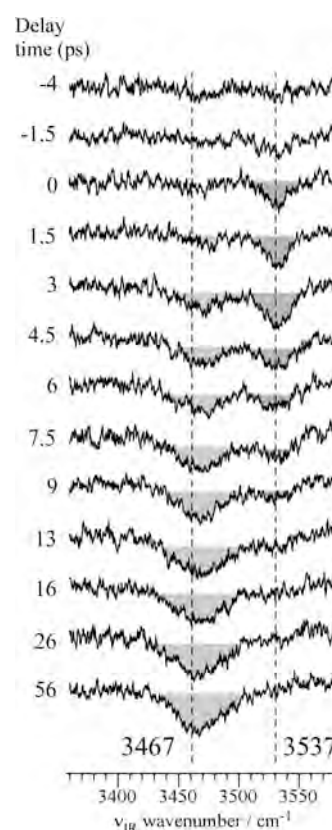
分子間相互作用は分子認識での基本過程であり、高度な機能を発揮する分子認識システムの理解と制御の基礎として重要である。分子認識の代表例は DNA における核酸塩基対 ATGC の形成であるが、分子間相互作用としては水素結合が主に注目されてきた。一方、近年の量子化学計算と気相分光の進歩に伴い、核酸塩基対のような複数の水素結合を有する系でも芳香環同士の分散力 (stacking interaction) が水素結合と拮抗する強度を有する事が判ってきた [1,2]。このため水素結合と stacking interaction の競合が注目を集めている。

本研究で取り上げたフェノール分子は OH による水素結合と芳香環による stacking interaction が共に可能であるため、フェノール/Ar 分子間錯体は両者の競合

を研究する上で最も小さな基本系と言える。中性状態では分散力がフェノールと Ar の主たる相互作用であり、2 個の Ar 原子は共に芳香環上に結合している。一方、フェノールカチオンでは OH 基による水素結合強度が増大し、Ar 原子が OH 基の先端に結合した構造が再安定構造であることが分かってきた [3,4]。これらの構造変化を最も鋭敏に反映するのは赤外スペクトルに現れる OH 伸縮振動である。カチオンの場合、Ar が芳香環と π-bonding していれば OH 基が自由なのでフェノール単体と同じ 3537cm⁻¹ に OH 伸縮振動が出現する。一方、Ar が OH 基の先に移動すると水素結合により OH 伸縮振動は 3467cm⁻¹ に低下する。本研究はイオン化から 1.5 ピコ秒間隔でクラスタの赤外スペクトルを測定してイオン化による結合サイトのスイッチングを明らかにした (下図)。即ち、フェノール・Ar₂ クラスタを光イオン化すると Franck-Condon 原理により Ar 原子が芳香環上に結合したままの准安定カチオンクラスタが生成するが、7 ピコ秒の寿命で再安定構造である水素結合体に変換することを明らかにした。これは互いに競合している芳香環によるスタッキング相互作用 (π-bonding) と OH 基による水素結合 (H-bonding) の強度がイオン化によりスイッチングすることが原因でありイオン化誘起サイトスイッチングという分子間相互作用の制御の可能性を示唆するものである。

引用文献

- [1] P. Jurecka, P. Hobza, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 15608-15613 (2003).
 [2] M. Saeki, S. Ishiuchi, M. Sakai and M. Fujii, *J. Phys. Chem. A.*, **111**, 1001 -1005 (2007).
 [3] N. Solcà and O. Dopfer, *Chem. Phys. Lett.* **325**, 354 (2000).



業績紹介：ライン走査 2 光子励起蛍光スペクトル顕微鏡の開発と ラン藻細胞内光合成膜スペクトル変化規則性の発見

熊崎茂一（京大院理・計画研究代表者）

論文題目：" A Line-Scanning Semiconfocal Multiphoton Fluorescence Microscope with a Simultaneous Broadband Spectral Acquisition and its Application to the Study of the Thylakoid Membrane of a Cyanobacterium *Anabaena PCC7120*"

著者：Shigeichi Kumazaki*, Makoto Hasegawa, Mohammad Ghoneim, Yugo Shimizu, Kenji Okamoto, Masayoshi Nishiyama, Hirozo Oh-oka, Masahide Terazima (*=corresponding author)

雑誌巻号：J. Microsc. 228, 240 - 254 (2007)

植物細胞中の葉緑体中のチラコイド膜は水を電子供給源として光エネルギーから化学エネルギーを生産する酸素発生型光合成の明反応を担う実体である。葉緑体はもともとラン藻（シアノバクテリア）が他の細胞内で取り込まれ、宿主細胞と共生関係になったことが起源と考えられている。ラン藻チラコイド膜もやはり酸素発生型光合成を行う上に、構造が比較的単純であるため、しばしば酸素発生型光合成の反応機構の研究対象とされる。

ラン藻チラコイド膜中の色素タンパク複合体に結合して光合成反応に電子励起エネルギーを供給する色素には大別して、フィコビルン、カロテノイド、クロロフィルがある。フィコビルンはフィコビリゾームに含まれ、カロテノイドとクロロフィルは光化学系 I と光化学系 II に含まれる。そしてチラコイド膜は通常の光環境下の生育では中心部ではなく細胞外縁部に多く存在することが電子顕微鏡や光学顕微鏡で確認されてきた。しかし、細胞内でのチラコイド膜上の細かな違い、例えば中心部と外縁部でチラコイド膜が異なる特性を持つか等という事には関心が払われてこなかった。

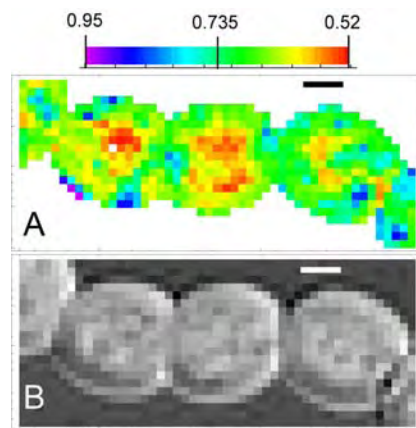
光学顕微鏡でスペクトルを得ることは古くから行われてきているはずだが、私が調べた限り、細胞内部のチラコイド膜蛍光スペクトルの細かな差異等に関しての記述は非常に乏しい。確かに散乱や再吸収効果により、蛍光強度（スペクトル）のみによる議論は信頼性が低いと言う側面も確かにある。かといって蛍光減衰曲線を多数の波長に対して得るのは現時点では巨額

の投資を必要とし、かつ照射レーザー光量も非常に大きくなる。試料から出てくる蛍光を無駄なく収集するという意味において、蛍光スペクトルを 1 回の露光時間で得ることは、試料損傷を最小にせねばならない生物学において非常に理に適う。しかし、スペクトルに分散させて検出することは非常に長い画像取得時間を要するので、走査時間を短縮する工夫が必要となる。

このような考えに基づき、共鳴振動ミラー (7.9kHz) を利用して線状領域を近赤外フェムト秒パルスレーザーで照射し、その領域全体の蛍光スペクトルをイメージング分光器を通して一度の CCD カメラ露光で任意の波長範囲に渡って取得できる“ライン走査 2 光子励起蛍光スペクトル顕微鏡”を製作した。全ての歪みを除去するソフトウェア処理後、685nm の蛍光の点像分布関数の FWHM で、0.39 μm (スリット平行), 0.33 μm (スリット直交), 0.59 μm (奥行) を得た。

この新造顕微分光装置でシアノバクテリアのチラコイド膜構造を調べ、フィコビルン蛍光とクロロフィル蛍光の比率を画像にしたのが下図 (A, scale bar = 2.0 μm , クロロフィル/フィコビルン) である。中心部ほどクロロフィル蛍光の比率が小さくなっている。同じ焦点位置で、ハロゲンランプ照明光をプローブ光として透過率の絶対値スペクトル (B が透過率平均値画像) も各点で求めたが、再吸収・散乱によるスペクトル変形の影響では説明できない。

この現象の分子メカニズムや出現条件の詳細にはさらに追求する余地がある。しかし、定量的な顕微分光法の適用で生細胞という非平衡な反応場が見せる不思議な秩序の一例が明らかになったとは言えよう。



田原グループの研究分担者である竹内佐年先任研究員が

「第 1 回分子科学会奨励賞」を受賞

田原 太平 (理研・A02 計画班 班長)

田原グループ (A02 班、計画研究) の研究分担者である竹内佐年先任研究員が、「極短パルス光を用いた反応性励起状態分子の実時間構造追跡」に関する研究によって「平成19年度分子科学会奨励賞」を受賞した。竹内氏はこれまで極限的短パルスレーザーを用いて分子の過渡状態の一瞬一瞬を時間の経過に沿って分光学的に調べる「時間分解分光」の手法を用いて、主として溶液中の分子の励起ダイナミクス、構造変化、および反応機構に関する基礎的研究を行ってきた。竹内氏の主たる業績の概要は以下のとおりである。

7-アザインドール二量体は DNA 塩基対モデルとして知られ、紫外光照射による塩基対の不安定過渡種の生成と遺伝子突然変異との関連から詳しく研究されてきた。竹内氏は紫外・可視全領域でのフェムト秒蛍光分光を行い、反応前駆体の蛍光をはじめ時間分解観測することに成功した。さらに蛍光状態のエネルギー、振動子強度、遷移モーメントに関する定量的解析の結果、この二量体が光励起後、励起一重項内での電子緩和を経て約1ピコ秒で二重プロトン移動を起こす、と結論した。この研究が引き金となって、この基本反応について2つのプロトンの移動が同時か、(1つずつ)段階的か、反応機構に関する世界的な激しい論争が繰り広げられた。竹内氏は蛍光ダイナミクスの励起波長依存性に着目した精緻な実験をさらにを行い、反応前駆体が消滅する時間と生成物が生じる時間がともに約1ピコ秒と一致することを示して 10 年来の論争に決着をつけた。

10 フェムト秒級の極短パルス光は広いエネルギー帯域をもつため、光励起の際に複数の振動固有状態をコヒーレントに励起する。この結果生じる“重ね合わせ状態”の時間発展に伴って核の位置は確率的に振動し、それが時間分解信号上のビート成分となって観測される。これはいわば核の動き(振動)を実時間で観測していることに相当し、核波束運動の観測、と呼ばれる。竹内氏は 10 フェムト秒パルスを発生させる2台の非同軸光パラメトリック増幅器を自作し、世界的にトップレベルの時間分解能(30 fs)と検出感度(10^{-5} OD)で紫外励起二色波長可変ポンプ・プローブ分光によって、電子励起状態分子の核波束運動観測の研究を展開した。まずトランススチルベンの S_1 吸収を時間分解測定し、面内変形振動モード(ν_{25} , 200 cm^{-1})による核波束運動の観測に成功した。振動モード選択性およびビート成分強度について定量的な考察を行

い、この種の分光実験で観測されるビート成分は、ポンプ、プローブ両遷移で共に Franck-Condon 活性な振動に由来するというを明らかにした。

液相分子の振動位相緩和時間はおおよそ数ピコ秒であるため、これより短いフェムト秒領域で進行する超高速反応では励起光で作られた振動のコヒーレンスが反応の間保たれている可能性がある。そこで、竹内氏はコヒーレントな核の動きと反応に伴う分子の構造変化(反応座標)との関連を調べるために、基本的な超高速反応における核波束運動の観測に進んだ。10-ヒドロキシベンゾキノリンの分子内プロトン移動では低波数領域(200~700 cm^{-1})の複数のコヒーレント振動が反応後も明瞭に観測されることを見いだした。これと量子化学計算結果との比較から、プロトンの供与基と受容基との距離を大きく変化させる面内骨格変形振動がプロトン移動を補助する形で反応が進行することを示した。一方、シス-スチルベンの光異性化では異性化時間(1.2 ps)に比べて大幅に短い0.2 ps 程度で核波束運動が消滅することを実験的に示し、振動のコヒーレンスが消えた後にシススチルベンは異性化することを明らかにした。竹内氏のこれらの研究は多原子分子の反応座標の理解に向かおうとするものであり、その学術的意義は高い。

分子科学会奨励賞は、新しく設立された分子科学会が目玉の一つとして設けた賞であり、これからの分子科学を担う若手研究者に授与される。竹内佐年氏が本賞の第一回受賞者に選ばれたことは、氏の傑出した能力と、今後のさらなる活躍への高い期待を示すものであり、共同して研究を行って来た私からも心からお祝いを申し上げたい。



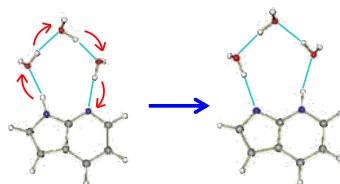
関谷グループの研究分担者である迫田憲治助教が

「平成19年度分子科学討論会(仙台)優秀講演賞」を受賞

関谷 博 (九大院理・A01 計画班 班長)

関谷グループ (A01 班、計画研究) の研究分担者である迫田憲治助教は、9 月に仙台で開催された第 1 回分子科学討論会において、「7-アザインドール溶媒和クラスターの多重プロトンリレー2-水ネットワークを介したプロトンリレーの発見」のタイトルで口頭講演を行い、「平成 19 年度分子科学討論会(仙台)優秀講演賞」を受賞した。本講演は、特定領域研究計画課題に密接に関係している成果である。講演概要について紹介したい。

酵素などの生体分子において、水分子のネットワークが基質のプロトン供与基と受容基に結合することにより、2つの官能基間のプロトン移動反応において触媒的な役割を果たしている例が報告されている。このような現象は非常に興味深い、系が複雑なために、反応メカニズムの詳細な解明は容易でない。そこで、プロトン供与基と受容基をもつ溶質分子に水分子が結合した水素結合クラスターのモデル系のプロトン移動について分光学的研究と理論的研究が行われている。7-アザインドール・水クラスター[7AI(H₂O)]は、核酸塩基と水分子の溶媒和クラスター内プロトン移動反応の代表的なモデル系である。これまで、溶液中の7AI(H₂O)の電子スペクトルの測定から、1:1クラスターにおいて励起状態プロトン移動(ESPT)が生じることが示されている。孤立気相状態における7AI(H₂O)のESPTについては、国内外の数グループが分光学的な研究および量子化学計算による研究を行っている。しかしながら、これまでの研究では、ESPTが生じるかどうかについて矛盾した結論が報告されている。また、反応メカニズムの解明において必要不可欠なデータは乏しい。



Normal form Tautomer
図1 7AI(H₂O)₃のESQPT/HT

最近、迫田らは蛍光分光法、共鳴多光子イオン化(REMPI)分光、ホールバーニング分光を用いて孤立気相状態の7AI(CH₃OH)₂において、励起状態3重プロトン/水素原子移動(ESTPT/HT)が生じることを示す明確な証拠を得た。今回、同様な分光法を7AI(H₂O)_n(n=2,3)クラス

ターに適用することにより、以下の新規な結果を得た。(1) 7AI(H₂O)₂において振動モード選択的なESTPT/HTが生じる。(2) 7AI(H₂O)₃のS₀状態から約33300 cm⁻¹以上のエネルギー領域の振電バンドを励起すると、励起状態4重プロトン移動または水素原子移動(ESQPT/HT)が観測される(図1)。しかしながら、33300 cm⁻¹以下のエネルギー領域ではESQPT/HTが観測されない。(2) 7AI(H₂O)₃のNormal型分子のS₁状態のゼロ点準位から163cm⁻¹より高エネルギーの振電バンドを励起して得られた分散蛍光スペクトルにおいては、共鳴蛍光のピークから約20 nm レッドした位置に新たなピークが観測される。(3) 量子化学計算によると、7AIのNormal構造において、¹L_a状態は¹L_b状態よりエネルギー的に不安定である。しかしながら、¹L_a状態は水分子数の増加に伴って次第に安定化し、7AI(H₂O)₃では、¹L_a状態と¹L_b状態(図2)は殆ど縮退する。また、電子分布の計算から¹L_a状態においては5員環から6員環へ分子内電荷移動(CT)が生じることが示唆された。(2)、(3)の結果から、7AI(H₂O)₃の低エネルギー領域では速いCTが生じるためにESQPT/HTが観測されないが、内部エネルギーが増加すると反応障壁が低下し、ESQPT/HT速度がCT速度と比べて大きくなるので、ESQPT/HTが生じることが分かった。

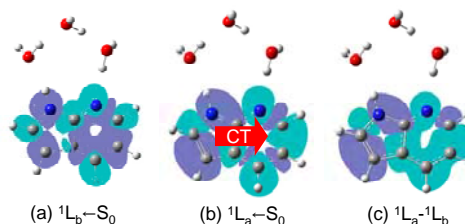


図2 CASSCF計算による¹L_b、¹L_aとS₀、¹L_aと¹L_bの差電子密度分布。水色と紫色はそれぞれ電荷が負と正の分布を示す。¹L_aでは5員環から6員環へのCTが起こる。

本研究から、7AI(H₂O)_{2,3}クラスターにおいて、水ネットワークを介した励起状態多重プロトン/水素原子移動が生じるということが明らかになっただけでなく、CT反応が7AI(H₂O)₃クラスターの励起状態ダイナミクスにおいて重要な役割を果たしていることが初めて示された。

受賞報告

藤井朱鳥 (東北大院理・A01 計画班)

平成 19 年 9 月 17 日 (月) - 20 日 (木) にかけて行われた第 1 回分子科学討論会 (東北大学川内北キャンパス) において、関連する研究発表が表彰を受けましたので、以下に報告します。

優秀ポスター賞

1P036 水瀬賢太 (東北大院理)

「巨大サイズプロトン付加水クラスター: $H^+(H_2O)_{15-100}$ の赤外分光 ～水の大規模水素結合ネットワークに対する余剰プロトンの影響～」

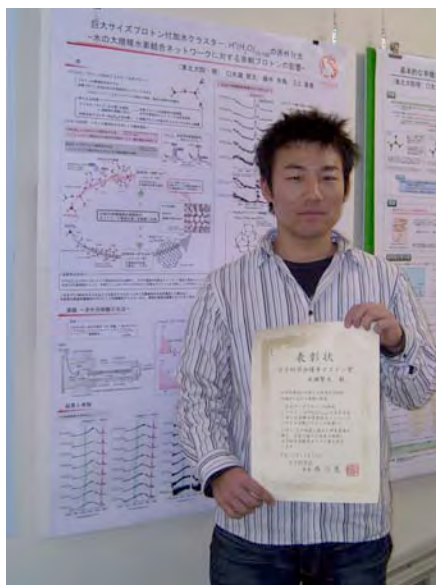
水の水素結合ネットワーク構造は 20 世紀初頭に水素結合の概念が提出されて以来の永きに渡る問題ですが、現在でも毎月のように新たな論文が発表され、多くの研究者が最前線の課題として取り組んでいます。最も身近な化学物質でありながら極めて奥深い謎を秘めた水は、化学者を魅了して止まない自然界の聖杯とも言えるかもしれません。

分子間相互作用の解明を課題とする気相分子クラスター研究においても、水の水素結合構造の解明は非常に重要な問題であり、究極のゴールのひとつに数えられます。水素結合構造研究においては、赤外分光法が強力な武器となります。特にクラスターに対しては有限サイズであるため非経験的量子計算が直接に適用できるので、可能な水素結合構造に対応した赤外スペクトルを予測し、これを実測と比較することより確度の高い構造決定が行えます。これまで、この方法によりクラスターサイズ (構成分子数) と共に基本的な水素結合様式がどのように形成されて行くかが調べられました。これは非結晶の水の分子間構造を決定した点で極めて大きな一歩であり、水を考える上で不可欠な情報をもたらしました。しかし、サイズ選択や解析の困難さから対象となるクラスターサイズが 1 桁台に留まっていたため、凝集相の水との大きな乖離を指摘する声もまた多くあります。

私たちの研究室ではプロトン付加水クラスター ($H^+(H_2O)_n$) を対象として赤外分光を行い、その水素結合ネットワーク構造を調べてきました。プロトン付加水クラスターは、プロトン水合 (電離した水) のモデルであり、プロトン移動機構を調べるためにも盛ん

に研究が行われています。しかしそれ以上に、私たちはプロトンの正電荷によりクラスターサイズ選択が自在に行えることに注目しています。私たちはまず 27 個というサイズ選別されたクラスターでは異例に大きなサイズまで赤外分光を行い、自由 OH 伸縮振動が配位数を敏感に反映することを利用して、有名な魔法数クラスター (21 量体) が本当に水素結合による籠構造を取ることを実証しました。

今回受賞の対象となった水瀬君の研究は、この結果を更に発展させて、質的に一段上といえる領域に踏み込んだものです。新たな質量分析装置を組み、プロトン付加水クラスターの 100 量体という空前のサイズまで赤外分光を成し遂げました。1 個の余剰プロトンが周囲の水素結合構造を大きく変え、その影響が 100 分子にまで及ぶことがはっきりと示されました。また、これまで水クラスターの赤外分光では観測されなかったことのない 4 配位の水に起因すると見られる水素結合 OH 伸縮振動バンドが 90 量体付近から現れ始めました。この結果は、理論計算との比較を進めることにより、過去に極めて多くの議論がなされてきた水の水素結合 OH 伸縮バンドの帰属に決定的な結論をもたらすことが出来ると期待されます。気相と凝集相の実験を統合して解釈することは長年クラスター分光の夢の一つでしたが、水瀬君の研究はその扉をついに開いたものと言えます。



受賞ポスターを前にして表彰状を掲げる水瀬賢太君 (東北大院理 M2)

受賞報告

藤野竜也 (首都大院理工・A02 計画班)

平成 19 年 9 月 27 (木) から 28 日 (金) にかけて行われた日本化学会第 1 回関東支部大会 (於首都大学東京南大沢キャンパス) において、関連する二つの発表が表彰を受けたので、以下に報告します。

1) 優秀ポスター賞 1P-002

「MALDI 法における脱離・イオン化機構の解明研究」
(首都大院理工)

受賞者：山口惣太

マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI 法) は飛躍的な発展を遂げ、現在最も高分子領域まで測定可能なイオン化法として、タンパク質解析や合成高分子の構造解析などに広く普及している。MALDI 法のメカニズムとしては、レーザー照射後の系の温度上昇に伴い、試料の脱離・イオン化が起こるとされており、これまで機構解明へ向け多くの研究が成されてきた。例えば、H. Ehring らの研究によれば有効なマトリックスは、吸収した励起エネルギーの大部分を無輻射過程により緩和し、そのエネルギー散逸過程が脱離・イオン化機構に重要であるとしている。しかし、機構モデルは未だ確立されておらず、さらには光励起後、どのようなダイナミクスにより熱が放出され、かつイオン化が起きるのかという実際の分子の時間スケールでの考察及びマスペクトルとの相関の議論をしていく研究はこれまで皆無であった。本研究では MALDI 機構解明を目的とし、光励起後のマトリックス結晶の挙動の分光学的観測、及び MALDI-TOF-MS スペクトルとの比較により脱離・イオン化機構の考察を行った。

1) 優秀講演賞 2A1-43

「ポリアクリルアミド系ナノ微粒子の溶媒和構造」

(首都大院理工・理研田原分子分光)

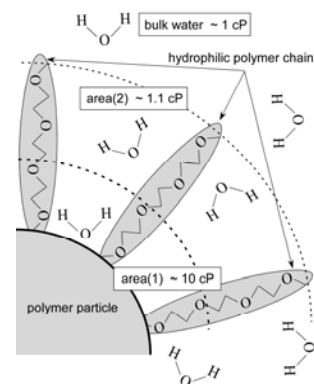
受賞者：藤野竜也

親水性高分子ナノ微粒子は、表面積が高く、多様なモノマーの組み合わせにより様々な機能を持たせることができるため、医薬や化粧品、塗料など幅広い分野で利用されている。しかしながら生体や環境への影響

については未解明な点が多く、親水性高分子ナノ微粒子の物理化学的性質を解明することが必要不可欠となっている。本研究では蛍光プローブ分子を用いた時間分解蛍光測定を行い、微粒子周辺の溶媒和構造を詳細に検討した。ポリアクリルアミド分散水溶液の溶媒和ダイナミクス、偏光異方性のどちらの観測結果からも二成分の緩和過程が得られた。このことからポリアクリルアミド表面付近の水和層中には異なる二つの分子環境が存在することが分かった。回転相関時間を用いた粘度計算の結果、室温付近の水が示す値よりもわずかに高い粘度 (1.1 cP) と、非常に高い粘度 (10 cP) が得られたことから、二つの分子環境はそれぞれ、バルクと水和層の境界付近の分子環境、及び親水性高分子のネットワークが非常に強い水和層内の分子環境を反映していると帰属した。



写真：首都大(M2)の山口惣太君、ポスター前で



図：ポリアクリルアミドナノ微粒子周辺の溶媒和構造

田原グループの Sobhan Sen 氏が優秀発表賞を受賞

石井邦彦（理研・計画研究分担者）

平成 19 年 10 月 26 日に東京大学で開催された平成 19 年度日本分光学会顕微分光部会シンポジウム「分子イメージングに向けた分光技術の展開～電子・振動からみる生命機能モニタリングにむけて～」において、田原グループ（A02 班、計画研究）の Sobhan Sen 氏が優秀発表賞を受賞した。この賞は、本シンポジウムにおいて優れたポスター発表を行った個人に与えられるものである。

氏の発表は”Site-specific picosecond dynamics in single lipid vesicle studied by fluorescence microscopy”と題され、時間相関光子計数法を利用した蛍光寿命イメージングの技術を、混合脂質二重膜中の不均一性の検出に応用した研究に関するものであった。本研究で氏は、蛍光スペクトルの動的ストークスシフトなど、均一溶液系の溶媒和ダイナミクスの研究ですでに確立されている手法を、顕微鏡下で脂質ドメインの不均一分布を調べるための分析手段として応用できることを示した。

氏は 10 月に日本学術振興会の外国人特別研究員と

しての 2 年間の任期を終え、現在インドの Jawaharlal Nehru 大学で新しい研究室の立ち上げに奮闘中である。本受賞は離日のわずか 3 日前の出来事であり、本人にとって日本滞在のまたとない良い思い出となった。外国人研究者の氏にとって、日本で学会に参加することには言葉の問題という困難さがあったが、本シンポジウムでは日本分光学会の関係者の皆様に温かく迎えていただき、大きな収穫を得ることができた。共同研究者として本人に代わり厚く御礼申し上げたい。

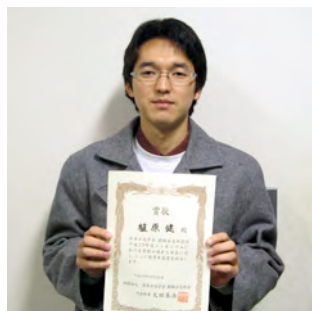


藤井(正)グループの植原健君が

「日本分光学会顕微分光部会優秀講演賞」を受賞

酒井 誠 (東工大資源研・A01 計画班)

藤井(正)グループ(A01班、計画研究)の大学院生である植原健君が、去る10月26日に東京で開催された平成19年度日本分光学会顕微分光部会シンポジウムにおいて、「2波長ピコ秒赤外超解像顕微鏡法による溶媒の振動共鳴条件下におけるローダミン6Gの振動緩和の観測」というタイトルでポスター講演を行い、「平成19年度日本分光学会顕微分光部会優秀講演賞」を受賞した。本シンポジウムでは、分光学という共通のキーワードを通して、最先端のイメージング技術に関連した装置開発と、それにより開拓される新しい科学及びその応用等を披露するとともに、生命機能のモニターリングをはじめ生命科学の発展に貢献する萌芽の話題が数多く紹介された。その中でも、植原君の発表は、学生や若手研究者の中では、非常に高い評価を得ることとなり受賞とあいなった。共同で行っている私からも、植原君へは心から「おめでとう」とお祝いするとともに、今後のますますの活躍を願いたい。



講演内容は、特定領域研究計画課題に密接に関連している成果であり、以下、その概要について紹介する。

赤外分光法は分子の赤外吸収スペクトルをもとに、その構造や環境などを詳細に調べることができる手法であるが、近年生物の細胞など微小領域における分子の振動情報を得ることが他方面で求められている。その中で藤井(正)グループでは過渡蛍光検出赤外分光法を顕微分光に応用することによって、赤外光の波長によって一意に決まる空間分解能以下で赤外吸収および分子の振動についての情報を得ることが可能な赤外超解像顕微鏡の開発に成功した。また、ローダミン6G色素で染色したシロイヌナズナの根毛細胞に赤外超解像顕微鏡法を適用し、細胞内部では振動励起されたローダミン6G分子の振動エネルギーは50 ps という非常に長い時間が経過しても完全に散逸し

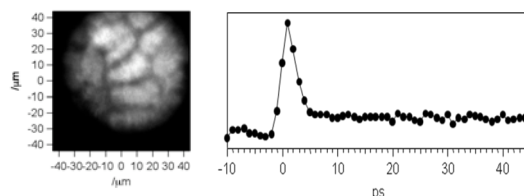


図1. ローダミン6G色素で染色されたシロイヌナズナの過渡蛍光像と過渡蛍光強度の時間発展

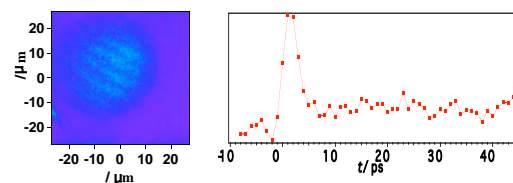


図2. 水溶液中のローダミン6G色素の過渡蛍光像と過渡蛍光信号の強度の時間発展

ないことを見いだした(図1)。この結果は、従来の溶液系の研究から予想されるものとは全く異なるものであった。

植原君らは、細胞中の水分子に着目し、色素分子と水分子との相互作用から、このような特異的な振動緩和ダイナミクスが生じたのではないかと考え、水溶液中のローダミン6Gの振動緩和過程の観測を試みた。水溶液中での溶質分子の赤外分光測定で問題となるのが、水分子の赤外吸収であり、吸収の強いところでは20マイクロメートル程度しか赤外光が透過しない。植原君らは先に開発した赤外超解像顕微鏡法を水溶液中の赤外分光測定(振動緩和測定)に応用することで水分子の赤外吸収による妨害を回避し、セル表面近傍数マイクロメートルからの信号のみを抽出することに成功した。図2に水溶液中のローダミン6G色素の過渡蛍光信号とその強度の時間発展を示す。赤外超解像顕微鏡法では、赤外吸収情報を可視蛍光に変換した過渡蛍光信号として検出される。図中では、50 psを超えてローダミン6G分子に振動エネルギーが残っていることが分かる。これは細胞内部で見られた特異な振動緩和現象と同様な結果であり、細胞内部では水の存在が振動緩和ダイナミクスに大きく関わっていることが示唆された。赤外波長依存測定や溶媒として重水やメタノールを用いた測定を行うことで、細胞内部の特異な振動緩和ダイナミクスについてさらなる議論ができることを期待したい。

第 67 回岡崎コンファレンス 開催報告

水谷泰久 (阪大院理・総括班)

平成 19 年 11 月 10 日から 12 日までの 3 日間、岡崎コンファレンスセンターにて、第 67 回岡崎コンファレンス「Molecular Science and Chemical Biology of Biomolecular Function (分子科学とケミカルバイオロジーによる生体機能の理解)」を開催した。岡崎コンファレンスは、分子科学研究所の公式的な国際会議として研究所設立時から開催されているもので、2000 年度から 2005 年度までの間ブランクがあったものの、昨年度から再開された。今回のコンファレンスは再開後 2 回目のもとなる。コンファレンスの企画には、水谷が提案代表者となっているほか、本特定領域のコアメンバーが深く関与しているため、特定領域ニュースレターにて、コンファレンスの開催趣旨と内容についての報告を述べることにする。

分子科学は、化学と物理学の境界領域として誕生し、発展してきた。その拡大したフロンティアのひとつとして、生体機能に代表される自己組織化した分子システムの理解と制御があげられる。他方、化学と生物学との境界領域では、これまでに生化学、生物無機化学などの融合分野が発展してきた。これらは今日ケミカルバイオロジーとして統合的に呼ばれている。分子科学とケミカルバイオロジーはアプローチを異にするものの、そのゴールは「生体機能の理解」という共通のものである。そこで、それぞれの研究の最前線を紹介し、それらに対する議論を行うためのフォーラムとしてこのコンファレンスを企画した。分子科学からのトピックスでは、個々のタンパク質の各論ではなく、水素結合ネットワークおよびソフトな界面という生体機能発現にかかわる根源的な問題に焦点を当てた。また、生体機能の理解に向けた先端的計測法についても議論を行った。ケミカルバイオロジーからは、タンパク質の構造-機能相関、活性部位のモデル化合物および人工設計、細胞での恒常性維持機構など、生体機能についての具体的なトピックスが提供された。

コンファレンスでは、合計 31 件の招待講演からなる 5 つのオーラルセッションとポスターセッションを設けた。ポスター発表には幸い 53 件と多くの発表申込があり、特に大学院生や博士研究員の若い世代から、これらの分野の今後の発展を期待させる元気な発表が



目立った。そのほかの参加者も含め全体として 120 名もの参加者があり、盛会であった。参加され議論を盛り上げてくださった方々に感謝したい。以下、セッションごとにコンファレンスの概要を報告する。なお、コンファレンスの招待講演者を本稿の最後に示す。

セッション 1 では、水素結合ネットワーク、プロトン移動に関する討論が行われた。まず、最大 100 個の水分子からなるサイズ選別された大規模水クラスターに関する研究発表があり、赤外分光法を使って水素結合ネットワークのトポロジーを詳細に調べた成果が述べられた。つづいて、分子間水素原子およびプロトン移動のダイナミクスに関する発表が行われ、移動過程の協奏性やメカニズムが議論された。これら分子系の研究に加え、タンパク質内の水素結合ネットワークと機能発現との相関に関する研究成果も報告された。

セッション 2 では、ソフトな界面を観測する新しい計測法に関する討論が主に行われた。非線形効果を利用した界面選択的な種々の新規分光手法の特色とそれらを用いて明らかになった界面特有の物性に関する研究成果が紹介された。ソフトな界面は、膜という生体機能における重要な場と密接な関係をもつ。このセッションでは膜構造を利用した機能性分子システムの構築についての発表も行われた。

セッション 3 は分光法や結晶構造解析を中心とした構造化学に基づいたタンパク質および生細胞の研究に関する討論が行われた。前半では、新規な研究手法の開発とそれらを用いた最近の研究成果が発表された。単一分子分光法を用いたタンパク質の揺らぎと不均一性に関する研究、コヒーレント分光法および時間分解

偏光赤外分光法を用いたタンパク質ダイナミクスの研究、蛍光およびラマン散乱光をプローブとする生細胞ダイナミクスの顕微分光研究を中心として、生体分子研究の新しい方法論について議論した。セッション 3 の後半では、鉄イオンを含む金属タンパク質に関する講演が行われた。チトクロム P450、ヘム含有型一酸化炭素センサータンパク質、ヘムをエフェクターとするヘムセンサータンパク質、および非ヘム鉄タンパク質の構造機能相関に関して議論された。

セッション 4 では、チトクロム P450、チロシナーゼ、ヘモシアニンの活性部位のモデル化合物および人工設計による機能変換や反応機構解明の研究成果が報告された。また、モデル系以外にも、新規機能性タンパク質の創製、人工光合成系の創製に関する講演も行われた。

セッション 5 では、細胞を舞台とした化学、すなわち細胞中での恒常性維持機構解明やエネルギーおよび物質代謝ネットワーク解明に関する講演が行われた。濃度の恒常性維持に関与する種々の遷移金属イオンセンサータンパク質に関する成果のほか、植物内でのエネルギーおよび物質代謝ネットワークに関する成果について議論された。

今回の岡崎コンファレンスは、水谷を提案代表者、青野重利(岡崎統合バイオ)を分子研所内対応者とし、このほか藤井正明(東工大資源研・総括班)、関谷博(九大院理・総括班)、田原太平(理研・総括班)、石森浩一郎(北大院理)、齋藤正男(東北大多元研)の合計7名で組織した。開催にあたっては、これらの研究室のスタッフ、大学院生にさまざまな面でお手伝いをいただいた。深く感謝する。



招待講演者

Session 1. Hydrogen bonding network and proton transfer

Asuka Fujii (Tohoku Univ.)
Masaaki Fujii (Tokyo Inst. Tech.)
Hiroshi Sekiya (Kyushu Univ.)
Rainer Weinkauff (Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf, Germany)
Hideki Kandori (Nagoya Inst. Tech.)

Session 2. Properties and dynamics of soft interface

Robert A. Walker (Univ. Maryland, U.S.A.)
Tahei Tahara (RIKEN)
Taka-aki Ishibashi (Hiroshima Univ.)
Hiroshi Onishi (Kobe Univ.)
Mamoru Nango (Nagoya Inst. Tech.)

Session 3. Protein structure and dynamics: spectroscopy and crystallography

Michio Matsushita (Tokyo Inst. Tech.)
Paul M. Champion (Northeastern Univ., U.S.A.)
Manho Lim (Pusan National Univ., Korea)
Shigeichi Kuamazaki (Kyoto Univ.)
Hiro-o Hamaguchi (Univ. Tokyo)
Takashi Ogura (Univ. of Hyogo)
Boi Hanh Vincent Huynh (Emory Univ., U.S.A.)
Michael T. Green (Penn State Univ., U.S.A.)
Koichiro Ishimori (Hokkaido Univ.)
Shigetoshi Aono (Okazaki Institute for
Integrative Bioscience)
Yoshitugu Shiro (RIKEN)
Masao Ikeda-Saito (Tohoku Univ.)

Session 4. Design of active sites of proteins and model complexes

Takashi Hayashi (Osaka Univ.)
Shinobu Itoh (Osaka City Univ.)
Yoshihito Watanabe (Nagoya Univ.)
Masatatsu Suzuki (Kanazawa Univ.)
Shunichi Fukuzumi (Osaka Univ.)

Session 5. Biomolecular function: from molecules to cells

David P. Giedroc (Indiana Univ., U.S.A.)
Toshiharu Hase (Osaka Univ.)
Kazuhiro Iwai (Osaka City Univ.)
Makoto Suematsu (Keio Univ.)