

業績紹介：新規中赤外波長可変レーザーによる超音速ジェット中の指紋領域赤外分 光：芳香族アミド分子

宮崎充彦 (東工大資源研・研究協力者)
藤井正明 (東工大資源研・計画研究代表者)

論文題目: "Isomer Selective Infrared Spectroscopy of Supersonically Cooled *cis*- and *trans*-*N*-phenylamides in the Region from Amide Band to NH Stretching Vibration"

著者: Mitsuhiro Miyazaki, Jiro Saikawa, Hideki Ishizuki, Takunori Taira, and Masaaki Fujii

雑誌巻号: *Physical Chemistry Chemical Physics*, **11**, 6098, (2009)

超音速ジェット中での分光測定は、溶媒分子や熱ゆらぎの影響を排除した観測を行なうことができるため、複雑な反応系の反応中心部分を抽出した詳細な情報を得ることが出来る。従って、これらの情報を凝集相中の観測と比較することで、反応系の分子論に基づく素過程的理解をもたらすものと期待される。特に赤外分光は分子の結合に関する情報を直接与えることから、その構造や反応の解明に広く用いられており、このような比較に適した分光法と考えることが出来る。

ところが、これまで超音速ジェット中の分子に対する赤外分光は X-H 伸縮振動が現れる 3 μm 領域にほぼ限定されていた。これは主として、極めて希薄な超音速ジェット中の分子の赤外分光を可能にするだけの強力なコヒーレント光源の入手が困難であったことに起因する。しかし、凝集相における赤外スペクトルとの比較を考えた場合には、2000 cm^{-1} 以下 (5 μm 以上) の中赤外領域に現れる骨格振動の測定が不可欠である。例えば、赤外分光が最もその威力を発揮していると考えられるペプチドやタンパク質の構造論においては、アミドバンドと呼ばれる 1700 ~ 1200 cm^{-1} に現れるペプチド結合に特徴的なバンドのわずかな変化を手がかりとして、その二次構造についての議論がなされる。そのため、中赤外領域における波長可変コヒーレント光源の開発が長い間求められてきた。

我々のグループでは、マイクロドメイン構造制御の進展により可能となった大口径擬位相整合 (QPM) 素子を利用した高効率な光波長変換による高出力波長可変中赤外光源の開発を行なってきた[1]。本論文では、この光源を利用した、超音速ジェット冷却した芳香族アミド分子の赤外分光へ応用した結果を報告した。

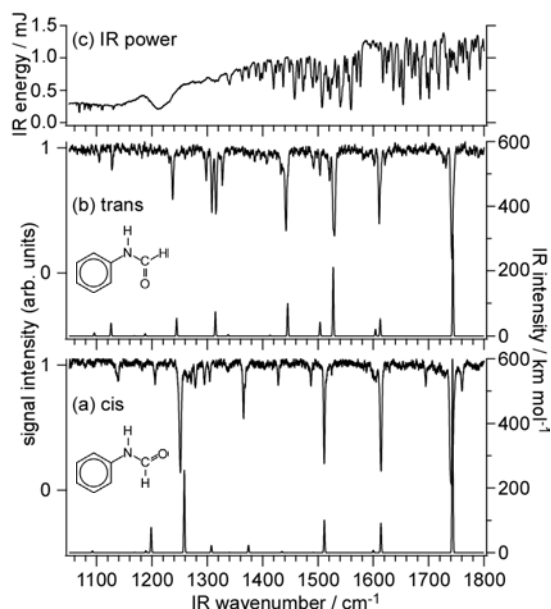


Fig. 1 超音速ジェット冷却したホルムアニリドの赤外スペクトル。

Fig. 1 (a)および(b)に今回測定したシス体およびトランス体のホルムアニリドの中赤外領域の赤外スペクトルを DFT 計算による理論スペクトルと合わせて示した。Fig. 1 (c)は測定時の中赤外光の強度である。多くの振動遷移がシャープに観測されており、開発した中赤外光源が超音速ジェット冷却した分子の多重共鳴赤外分光に適用可能であることがわかる。また、アミド結合の回転によるシス、トランス両異性体を厳密に区別した中赤外領域の赤外スペクトルはこれまで報告されていなかった。この結果は、アミドバンドをはじめとした、アミド結合に由来する振動解析の基礎的データとして重要であると考えられる。

1500 cm^{-1} より高波数側に現れている三つの強い吸収は、C=O 伸縮振動 (アミド I バンド)、C=C 伸縮振動、N-H 変角振動 (アミド II バンド) と帰属できる。これらは、シス体、トランス体でほぼ一致している。一方、1500 cm^{-1} 以下の領域については、両者のスペクトルパターンが異なっている。特に吸収帯の強度分布に違いが見られ、シス体、トランス体で互いに吸収強度の大きさが入れ替わる傾向があることがわかった。

引用文献

[1] J. Saikawa, M. Miyazaki, M. Fujii, H. Ishizuki and T. Taira, *Opt. Lett.*, **33**, 1699 (2008).

業績紹介：赤外顕微鏡で回折限界を超えたサブミクロンの空間分解能を達成

井上圭一 (東工大資源研・計画研究連携者)
小暮 聡 (東工大資源研・大学院生)
藤井正明 (東工大資源研・計画研究代表者)
酒井 誠 (東工大資源研・計画研究分担者)

論文題目: "Two-point-separation in a sub-micron non-scanning IR super-resolution microscope based on transient fluorescence detected IR spectroscopy"

著者: Keiichi Inoue, Nándor Bokor, Satoshi Kogure, Masaaki Fujii, Makoto Sakai,

雑誌: OPTICS EXPRESS, No. 14, Vol. 17 12013 (2009)

最近、細胞生物学やナノ工業など様々な分野において、顕微鏡により極微小試料の赤外スペクトルを測定しようとする要求が高まってきている。赤外顕微鏡は試料に対して直接赤外吸収を測定することで、この要求を達成できる有用なツールである。しかしながら、光の波長に比例する回折限界の制約により、通常の赤外顕微鏡では空間分解能を数 μm よりも小さくすることができない。著者らはこの問題を打破するために、2波長レーザー分光法のひとつである過渡蛍光検出赤外分光法を顕微鏡技術に応用した赤外ファーフィールド超解像顕微鏡の開発を行った^{1,2)}。開発した赤外顕微鏡は、赤外吸収を可視蛍光に変換して検出するため赤外の回折限界よりも一桁小さい可視の空間分解能で赤外イメージングを行うことが可能であり、これまでに、蛍光色素染色を施した植物細胞の赤外超解像イメージングに成功している^{1,2)}。

本論文では、 $1\mu\text{m}$ 径の蛍光ビーズを用いて、開発した赤外顕微鏡の空間分解能および2点分解能に関する性能評価を行った。Fig. 1 に $1\mu\text{m}$ 蛍光ビーズに対して赤外超解像顕微鏡を適用した結果を示した。Fig. 1(a) で示したように可視光: 610nm と赤外光: $3.3\mu\text{m}$ を

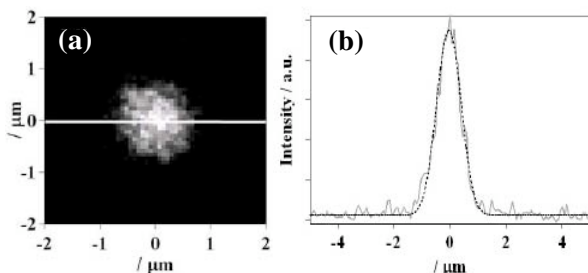


Fig. 1 (a) $1\mu\text{m}$ 径の蛍光ビーズの過渡蛍光像
(b) (a)で示した白線に沿った断面のプロファイル

同時に入射した場合には過渡蛍光像が明瞭に観測された。この過渡蛍光像は可視光のみ、もしくは赤外光のみを入射した場合には観測されない。さらに、赤外波長を蛍光ビーズにドープされた蛍光色素の赤外吸収がない波長に変えたところ、過渡蛍光が消失したことから、過渡蛍光像は色素の赤外吸収を反映した赤外像であることが分かる。Fig. 1(a)の白線に沿った断面のプロファイルを Fig. 1(b)に示した。プロファイルの点像分布関数によって求められた半値幅から、空間分解能は 880nm であることが分かった。以上の事実は、開発した赤外顕微鏡が、サブミクロンレベルの空間分解能で赤外吸収によるイメージングを行うことが可能であることを示している。

次に、赤外顕微鏡の2点分解能を評価するために二つ隣り合った $1\mu\text{m}$ ビーズの過渡蛍光像を測定した。Fig. 2 (a) に示したように、直径 $1\mu\text{m}$ の隣り合ったビーズを区別することができた。Fig. 2 (b)には、Fig. 2 (a)の白線に沿った断面のプロファイルを示した。そこから評価される赤外顕微鏡の2点分解能は $1.4\mu\text{m}$ であった。これは赤外波長: $3.3\mu\text{m}$ から計算される回折限界 ($3.4\mu\text{m}$) よりも遥かに小さな値であり、回折限界を大きく突破した性能が示されている。

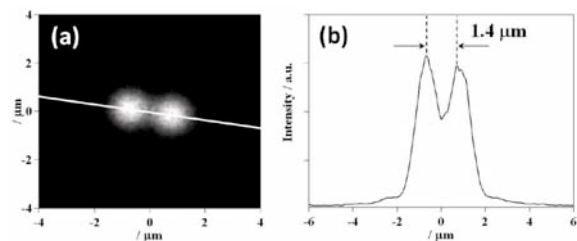


Fig. 2 (a) 隣接したビーズの赤外超解像イメージ
(b) (a)で示した白線に沿った断面のプロファイル

これらの結果から、本研究で開発した赤外超解像顕微鏡は、細胞生物学やナノスケール工業におけるサブミクロンレベルのターゲットに適用することで、新しい見識をもたらすことができると期待される。

引用文献

- 1) M. Sakai, Y. Kawashima, A. Takeda, T. Ohmori, and M. Fujii, *Chem. Phys. Lett.* 439, 171-176 (2007).
- 2) M. Sakai, T. Ohmori, M. Kinjo, N. Ohta, and M. Fujii *Chem. Lett.* 36, 1380-1381 (2007).

業績紹介：なぜ N-H...O=C 結合は N-H...O-H 結合より強いのか？

迫田憲治 (九大院理・計画班分担者)

関谷 博 (九大院理・計画班代表者)

論文題目：Formation of a dual hydrogen bond in the N-H...C=O moiety in the indole-*N*-methyl acetamide₁ cluster revealed by IR-dip spectroscopy with natural bond orbital analysis

著者：Kenji Sakota, Yuiga Shimazaki, and Hiroshi Sekiya
雑誌：The Journal of Chemical Physics (Communication),
130, 231105 (4 pages) (2009).

タンパク質など生体分子の構造の安定化において、N-H...O=C 水素結合や N-H...O-H 水素結合は重要な役割を果たしている。生体分子においては、様々な分子間相互作用が存在するため、N-H...O=C 水素結合と N-H...O-H 水素結合の強度を微視的な観点から調べることは困難である。気相分子クラスターの赤外分光は、分子間水素結合について詳細に調査するための有力な手段である。本研究では、上記の水素結合のモデル系であるインドール-*N*メチルアセトアミド (Ind-NMA)、及び Ind-H₂O 1:1 クラスターを孤立気相中に生成し、IR-dip スペクトルの測定と NBO (Natural Bond Orbital) 解析を行うことによって、N-H...O=C と N-H...O-H 水素結合にどのような違いがあるかについて微視的な観点から調査した。

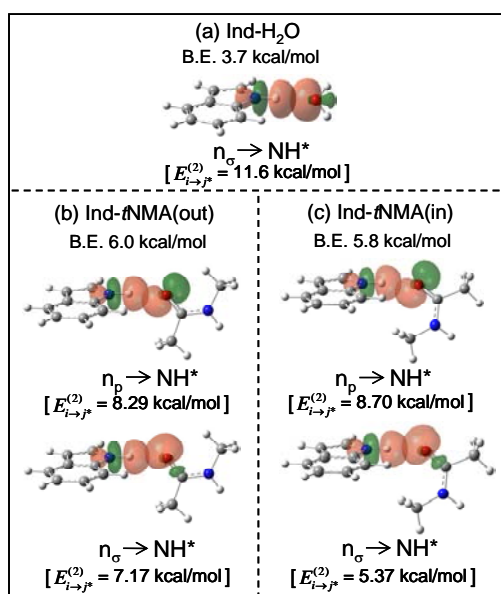


Fig. 1 Ind-H₂O/*N*MMA の構造と振動エネルギー

Fig. 1 に B3LYP/6-31++G** 計算から得られた Ind-H₂O および Ind-*t*NMA(out)、Ind-*t*NMA(in) の 2 つの異性体の安定構造を示した。記号 *t* は trans 構造、out と in はそれぞれ NMA の CN 結合の方向がインドール分子面にはほぼ平行と垂直な配向を示す。Fig. 2 に Ind-H₂O、Ind-NMA の IR-dip スペクトルと理論計算から得られた NH 振動領域の赤外スペクトルを示した。これらの IR スペクトルの比較から、異性体 Ind-*t*NMA(out) と Ind-*t*NMA(in) が観測されていることが分かった。NBO モデルでは、A-H...B 系の水

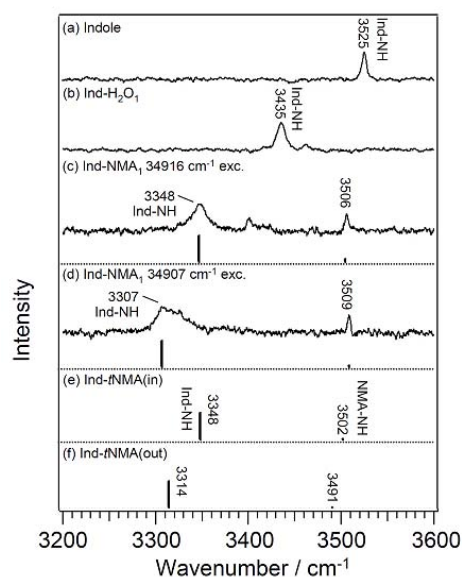


Fig.2 IR スペクトル[(a)~(d) : 実験、(e)、(f) : 計算]

素結合相互作用は、B の孤立電子対軌道 (*i*) から σ^* (A-H)反結合性軌道軌道 (*j*) への電子の非局在化で表される。電子の非局在化の度合いを 2 次の摂動エネルギー $E_{i,j}^{(2)}$ の計算値 (Fig. 1 に値を示した) をもとに検討した。Ind-NMA の N-H...O=C 結合においては、O 原子の n_p と n_σ の 2 つの孤立電子対軌道から σ^* (N-H) 軌道への電子の非局在化が生じる。一方、Ind-H₂O の N-H...O-H 結合においては、O 原子の n_σ 軌道から σ^* (N-H) 軌道への非局在化が支配的である。N-H...O=C 結合の 2 つの $E_{i,j}^{(2)}$ 値の和は、N-H...O-H 結合の $E_{i,j}^{(2)}$ 値と比べて明らかに大きい。本研究から、N-H...O=C 結合が N-H...O-H 結合より強い理由は、前者の水素結合が 2 重水素結合的な性質 (N-H...O=C) をもつためであることが明らかにされた。

業績紹介：水素結合系における赤外バンドのブロードニング機構を探る — 振動共鳴の役割

八木 清 (山梨大・公募班 A01 研究代表者)

論文題目: "First-principles Quantum Calculations on the Infrared Spectrum and Vibrational Dynamics of the Guanine-Cytosine Base Pair"

著者: Kiyoshi Yagi,* Hideyuki Karasawa, So Hirata, and Kimihiko Hirao

雑誌巻号: *ChemPhysChem* (Communication) **10**, 1442-1444 (2009).

水素結合系の赤外吸収スペクトルでは, OH/NH 伸縮バンドが数百 cm^{-1} に渡る大きな red shift とブロード化を伴うことがよく知られている. この現象は非調和性が起源であるとよく説明されるが, それ以上踏み込んだ議論は未だ十分なされていない. 我々はブロードニングの物理的意味を理論的に解明することを目的として研究を進めている. 本研究ではグアニン・シトシン (GC) ペアの水素伸縮振動バンドを解析することでブロードニングの機構を探った.

図 1(a)上に de Vries ら[1]による GC ペアの IR スペクトルを示す. 3400 cm^{-1} 以上に鋭いピークが 5 本, 3000 cm^{-1} 付近にブロードなピークが観測されている. この異性体は調和振動計算との比較から enol 体シトシンと N_7 に水素を持つ keto 体グアニンのクラスターであることが分かっている. しかし, 調和近似では 3000 cm^{-1} 付近に Q_{74} と Q_{76} [図 1(b)]に相当する 2 本の鋭いピークしか得られず, ブロードニングを全く説明できない.

最近, 我々是非調和ポテンシャルを効率的に作成する Multiresolution 法[2]と振動 Schrödinger 方程式の一般的解法である振動擬縮退摂動論[3]を開発した. これらの方法を GC ペアへ応用した結果を図 1(a)下に示す. 一見して明らかなように, 我々の非調和計算は高振動数領域の鋭いピークと 3000 cm^{-1} 付近のブロードな特徴を共に再現した. 3000 cm^{-1} 付近のピーク群のうち最も強い強度を持つ 2 つの状態は

$$\Psi_1 = 0.6 (62_2) - 0.4 (58,64_1) + 0.3 (76_1) + 0.3 (74_1),$$

$$\Psi_2 = 0.4 (13,56_2) - 0.3 (6,53,68_1) - 0.2 (76_1),$$

という波動関数で表される. 62_2 , $58,64_1$ などはそれぞれ 62 番目のモードの倍音, $58,64$ 番目のモードの結合音を意味する. Ψ_1 は 2:1Fermi 共鳴状態, Ψ_2 は 3:1 共鳴であるが, ピーク群には他にも様々な共鳴状態が含

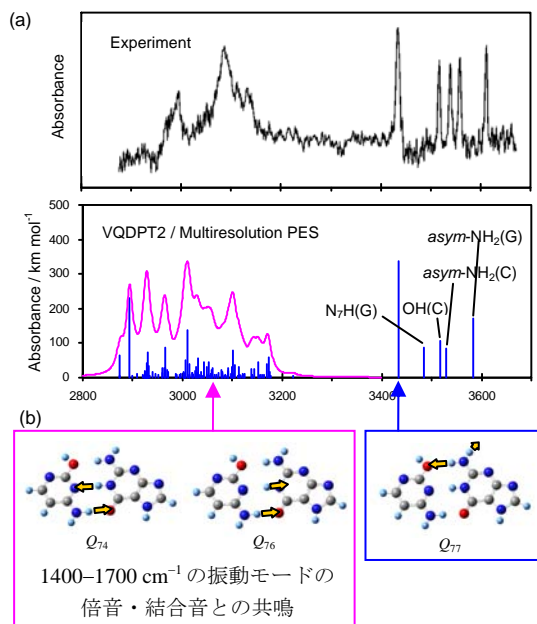


図 1. (a) 実験[1]と計算による GC ペアの振動スペクトルの比較, (b)バンドの帰属.

まれる. これらの状態は 76_1 , 74_1 を通して吸収強度を持つため, 各ピークの重ねあわせによりスペクトル全体はブロード化する.

詳細な解析から, 共鳴に強く関与するのは $1400-1700 \text{ cm}^{-1}$ の振動数を持つ NH 変角振動に由来する振動モードであることが分かる. それらの倍音・結合音は, 分子間振動などの低振動数モードを調整役にするすることで, 3000 cm^{-1} 付近でちょうど良く振動数がマッチし, 強い共鳴を引き起こす. 一方, 3400 cm^{-1} 以上では振動数がマッチせず, 共鳴が抑制されるため, 鋭いピークが得られる. 図 1(b)の Q_{77} は水素結合モードでありながら, red shift が十分でないため, 鋭いピークのままである. 水素結合モードが必ずしもブロードなバンドを持つわけではない事は興味深い.

紙面の都合上ここで紹介できなかった時間依存の側面も論文では簡単に議論している. 非調和計算により, 振動エネルギー緩和の全貌, すなわち, 時間スケールやモード選択性を明らかに出来る可能性が出てきた.

引用文献

- [1] A. Abo-Riziq *et al.*, *PNAS. USA* **102**, 20-23 (2005).
- [2] K. Yagi *et al.*, *TCA*. **118**, 681-691 (2007).
- [3] K. Yagi, *et al.*, *PCCP*. **10**, 1781-1788 (2008).

藤井正明氏らの研究成果が新聞に掲載される

藤井正明氏 (A01班・計画研究) らが開発した赤外線超解像顕微鏡が、生きた細胞の分子観察をする事が可能な高機能顕微鏡として日経産業新聞に掲載されました。

日経産業新聞 2009年 5月 27日

日経産業新聞 2009・5・27

先端技術

【第三者影響物認可】

2030年への挑戦

次世代産業技術

ミクロの世界をのぞく赤外線顕微鏡を開発した。赤外線を使うと物質の構造を分子や原子のレベルで細かく観察することが、特殊なビームやレーザーを観察したい対象物質に当てて反射した光などを解析する手法を調節したりレンズを工夫したりすること、赤外線と可視光を同時に照射、光を当てる角度を調節したりすること、ハ

ミクロの世界をのぞく赤外線顕微鏡を開発した。赤外線を使うと物質の構造を分子や原子のレベルで細かく観察することが、特殊なビームやレーザーを観察したい対象物質に当てて反射した光などを解析する手法を調節したりレンズを工夫したりすること、赤外線と可視光を同時に照射、光を当てる角度を調節したりすること、ハ

ミクロの世界をのぞく赤外線顕微鏡を開発した。赤外線を使うと物質の構造を分子や原子のレベルで細かく観察することが、特殊なビームやレーザーを観察したい対象物質に当てて反射した光などを解析する手法を調節したりレンズを工夫したりすること、赤外線と可視光を同時に照射、光を当てる角度を調節したりすること、ハ

高機能顕微鏡

生きた細胞の分子観察

東大の小宮山教授らが開発を進める顕微鏡。簡状の部分にはテラヘルツ波の検出器などが入っている

最先端をいくのが昨年極の顕微鏡といえる。ただし施設が大型にならなければならない。電磁波を当てて分子構造を観察する顕微鏡が研究されている。東大の小宮山教授らは、生きた細胞や組織から出てくる「テラヘルツ波」と呼ぶ電磁波を観察して画像化する顕微鏡を開発している。

「PARCはいわば、究極の顕微鏡といえる。た細胞から出てくる微弱な電磁波を当てて分子構造を観察する顕微鏡が研究されている。東大の小宮山教授らは、生きた細胞や組織から出てくる「テラヘルツ波」と呼ぶ電磁波を観察して画像化する顕微鏡を開発している。」

「PARCはいわば、究極の顕微鏡といえる。た細胞から出てくる微弱な電磁波を当てて分子構造を観察する顕微鏡が研究されている。東大の小宮山教授らは、生きた細胞や組織から出てくる「テラヘルツ波」と呼ぶ電磁波を観察して画像化する顕微鏡を開発している。」



《実用化の将来像》

総技術と10倍の分解能を実現する。分子の構造を原子レベルで観察できる。低コストで、使いやすくなる。東大の小宮山教授らが開発を進める顕微鏡。簡状の部分にはテラヘルツ波の検出器などが入っている

5