

業績紹介：アザ核酸塩基の励起状態とその緩和過程  
～超高速項間交差の機構解明に向けて～

鈴木 正 (東工大院理工・A01 班連携研究者)

論文題目：“Excited State Characteristics of Aza-analogue of Uracil: Drastically Different Excited State Dynamics of 6-Azauracil in Acetonitrile from Uracil”

著者：Takashi Kobayashi, Yosuke Harada, Tadashi Suzuki, Teijiro Ichimura

雑誌巻号：J. Phys. Chem. A **112**, 13308–13315 (2008)

論文題目：“Intersystem Crossing to Excited Triplet State of Aza Analogues of Nucleic Acid Bases in Acetonitrile”

著者：Takashi Kobayashi, Hikaru Kuramochi, Yosuke Harada, Tadashi Suzuki, Teijiro Ichimura

雑誌巻号：J. Phys. Chem. A **113**, 12088–12093 (2009)

DNA/RNA は、生物にとって生命維持に最も重要な生体高分子である。しかし、紫外線 (UVB) に曝されることで、結果的に細胞機能の異常や細胞死を招いてしまうことがある。DNA 中でチミンのようなピリジン塩基のシクロブタン型ピリジンダイマーや (6+4) 光生成物がよく知られている。しかし、核酸塩基自身の励起寿命の寿命はきわめて短く (<1 ps)、そのおもな緩和過程は基底状態への内部変換である。

通常核酸塩基の一部を他の元素で置き換えた置換核酸塩基にはユニークな特徴がある[1]。例えば、核酸塩基のカルボニル酸素を硫黄原子で置換したチオ核酸塩基は、通常の核酸が吸収しない UVA 領域 (320~400 nm) に強い吸収帯を持ち項間交差の量子収率が極めて高いことから、光線力学的療法への応用が検討されている[2]。

アザ置換核酸塩基である 6-アザウラシル (ウラシルの C6 を N 原子に置換したもの、6AU、図 1) の緩和過程について調べた。非常に高い項間交差収率をもち、更に励起波長効果があることも分かった。6AU の分子軌道を図 2 に示す。最低励起状態は  $^1n\pi^*$  状態であり、N 原子の非共有電子対がかかわる HOMO-1 から LUMO への遷移に対応する。ブライトな  $^1\pi\pi^*$

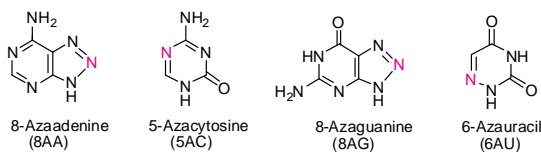


図 1. アザ置換核酸塩基

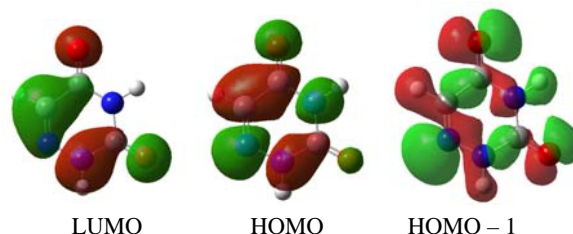


図 2. 6AU の分子軌道

状態からダークな  $^1n\pi^*$  状態へ、またホットな  $^1n\pi^*$  状態の振動緩和と、それと競争する励起三重項  $^3\pi\pi^*$  状態への項間交差が起きているものと考えられる (図 3)。また、N 置換によって CH=CH より CH=N の結合およびねじれ振動エネルギーが高くなる。その結果、チミン、ウラシルで予想されているような面外の大きなねじれが関与する励起状態と基底状態のポテンシャル曲面の CI に大きな影響を与え、緩和ダイナミクスを大きく変えているものと考えられる。

他のアザ置換核酸塩基について励起状態緩和ダイナミクスを調べたところ、項間交差が高い量子収率でおこるもの (Type A) と項間交差をほとんど起こさないもの (Type B) があることが分かった (図 3)。すなわち、 $^1n\pi^*$  状態と  $^1\pi\pi^*$  状態のエネルギー関係によって、ダイナミクスが大きく異なることが明らかとなった。

以上の結果から電子状態のキャラクター、特に置換原子が及ぼす電子状態への影響と緩和過程に明確な関連が見いだされた。現在、励起三重項状態への CI について、量子化学計算を用いた検討を行っており、これらの知見が核酸塩基類の特異な緩和過程の理解につながるものと期待している。

参考文献

- [1] 鈴木 正, 光化学 **39**, 66-71 (2008).  
[2] Y. Harada, T. Suzuki, T. Ichimura, Y.-Z. Xu, J. Phys. Chem. B **111**, 5518 (2007).

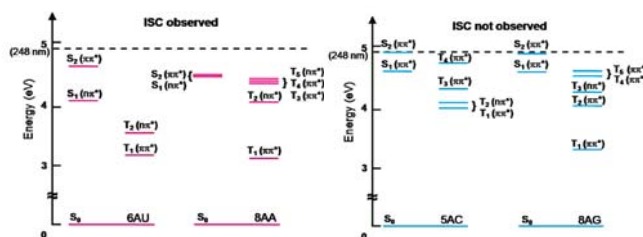


図 3. アザ核酸塩基の電子状態とおもな緩和過程。Type A (左) : 8AA and 6AU, type B (右) : 5AC and 8AG

## 業績紹介：クラウンエーテルの超音速ジェットレーザー分光 —水和に伴うコンフォメーション最適化の発見—

江幡孝之 (広大院理・公募班 A01 研究代表者)

論文題目: "Water-mediated conformer optimization in benzo-18-crown-6-ether/water system" 著者: Ryoji Kusaka, Yoshiya Inokuchi, and Takayuki Ebata\*

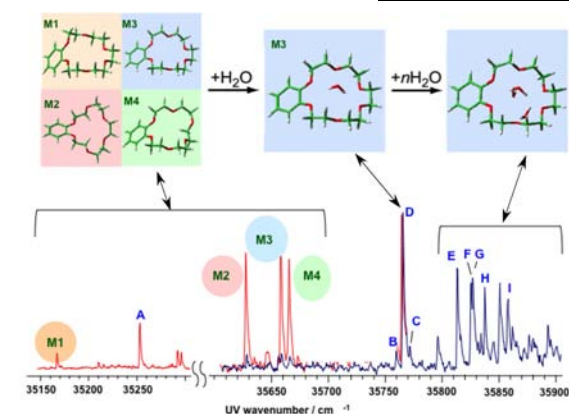
雑誌巻号: *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 11, 9132-9140 (2009)

我々の研究グループは、「超音速分子線レーザー分光による包接化合物の分子取り込み機構の解明」というタイトルで研究を進めている。本論文は、エーテル酸素を環状に結び、ゲスト分子を内包できるクラウンエーテルの超音速ジェットレーザー分光の第3報目の論文であり、*Phys. Chem. Chem. Phys.*の第11巻9132頁に掲載された。具体的内容は、ベンゾ-18-クラウン-6-エーテル(B18C6)の水分子包接実験および包接に伴うコンフォメーション変化を調べた研究である。

B18C6 は前回報告したジベンゾ-18-クラウン-6-エーテル (DB18C6)<sup>1)</sup>よりもエーテル環がたわみやすいので、より多くのコンフォマーの存在が予想された。また、水分子が水素結合できるサイトが多いために、このような系を常温バルク条件で包接構造や包接機構を解明することは容易ではない。我々はこの困難を超音速分子線による分子冷却と種々のレーザー分光を用いることで解決した。また、分子量が大きいB18C6の超音速分子線生成には、我々が独自開発した高温パルスノズルをもちいた。<sup>2)</sup>

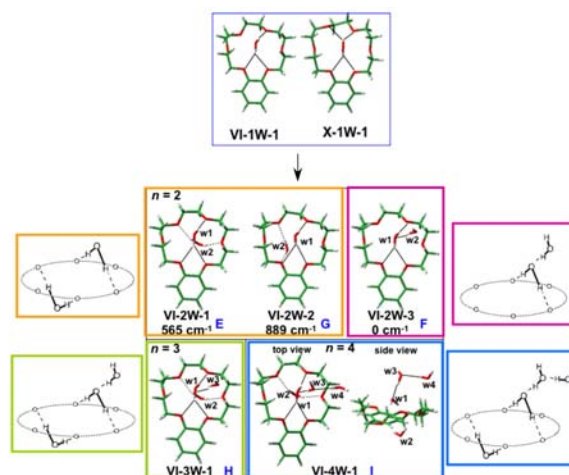
実験は、超音速分子線中に生成したB18C6とその水和クラスターB18C6-(H<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>をコンフォマーや異性体を選別して電子スペクトルや赤外スペクトルを観測し、得られた結果を量子化学計算で予想される構造、電子遷移エネルギー、赤外スペクトルと比較することで構造決定を行った。電子スペクトル、UV-UVホールバーニング(HB)スペクトル測定結果、ジェット中には少なくとも4つのB18C6単量体コンフォマーが存在することが分かった。並行して密度汎関数法(DFT)および時間依存密度汎関数法を用いた計算(TD-DFT)から4つ単量体コンフォマーの特定を行った。興味もたれるのは、B18C6が水分子を内包すると4つあ

たコンフォマー(M1,M2,M3,M4)が1つのコンフォマー(M3)に収束することである。つまりB18C6は単



(Upper) Change of conformation of B18C6 upon the encapsulation of water molecules  
(Lower) LIF spectrum of B18C6 and B18C6-(H<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>

体では多くのコンフォマーが存在するが、水分子を内包する際に、内包しやすい形を持ったコンフォマーに形を変形する。また内包構造の特徴は、最初の水分子は、OH基がベンゼン環の隣り合う2つのエーテル酸素の中心を向いた構造で水素結合することである。さらに赤外スペクトルと量子化学計算の解析結果、大きなサイズのクラスターは、この1個目の水分子がついた構造が核となって、水素結合ネットワーク構造が延びて成長することを明らかにすることができた。



[引用文献]

- [1] R. Kusaka, Y. Inokuchi, and T. Ebata, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 10, 6238 (2008)  
[2] T. Ebata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 82, 127 (2009)

## 業績紹介：グアノシンと 2'-デオキシグアノシンの微視的水和構造の違い

三枝洋之（横浜市立大院・生命ナノシステム科学研究科・公募研究代表者）

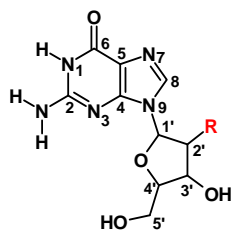
論文題目："Hydration structures of 2'-deoxyguanosine studied by IR-UV double resonance spectroscopy: Comparison with guanosine"

著者：Hiroya Asami, Shu-hei Urashima, Hiroyuki Saigusa, 雑誌巻号：Phys. Chem. Chem. Phys. **11**, 10466-10472 (2009).

DNA は水和により構造が変化することが知られており、その理由の一つとして 2'-OH 基がないため 2'-デオキシリボース基へ水和しにくいことがあげられる。我々は既に、リボース基を N9 位に持つグアノシン(Gs、図 1)では、2'-OH 基が関与した特異的に安定な二水和物構造が存在することを報告した[1]。そこで本研究では、2'-デオキシグアノシン

(2'-dGs)の水和クラスターをレーザー脱離・超音速ジェット法により生成し、その構造を赤外-紫外 2 重共鳴分光法と量子化学計算を用いて決定した。その結果から、Gs と 2'-dGs の微視的水和構造の違いを検討した。

2'-dGs の一水和物にはいくつかの構造異性体が観測されたが、いずれも Gs の場合と本質的な違いはないことが明らかとなった。一方、図 2 に示した二水和物(2'-dGsW<sub>2</sub>)の赤外スペクトルには、Gs と 2'-dGs で顕著な違いがみられる。特に、(b)に示した 2'-dGsW<sub>2</sub>の場合、(a)の Gs の二水和物(GsW<sub>2</sub>)に見られるエノール OH 伸縮振動(3587 cm<sup>-1</sup>)による吸収が観測されない。また、3'-OH の伸縮振動は、2'-dGsW<sub>2</sub>では強く現れる(3662 cm<sup>-1</sup>)が、GsW<sub>2</sub>では 3605 cm<sup>-1</sup>に弱く観測される。このことから、2'-dGsW<sub>2</sub>では、3'-OH 基は水和に関与していないことがわかる。量子化学計算により得られた赤外スペクトルとの比較から、この二水和物は(b)に示すようなケト体の N1H と O6 に水二量体が架橋した構造であると帰属した。この塩基に水和した構造は計算で得られた最安定構造であり、2'-デオキシリボース基をメチル基で置換した 9-methylguanine でも観測される。



R=OH: guanosine  
R=H: 2'-deoxyguanosine

図 1. Gs と 2'-dGs のアミノ-ケト構造。

GsW<sub>2</sub>の場合、3'-OH と 5'-OH の間に水二量体が架橋し、更に 2'-OH が 3'-OH に結合し、塩基も含めた水素結合ネットワーク(水和殻)が形成されるため(a)の構造が最安定となる。従って (a)の赤外スペクトルはこのような糖に水和した構造を持つケト体とそのエノール互異性体が共存しているとして説明できる [1]。一方、2'-OH が存在しない 2'-dGs では、塩基に水和した(b)の二水和構造の方が安定となり優先的に観測されたと考えられる。また実際の DNA 中では、N1H と O6 位はシトシンとのワトソン-クリック型水素結合形成に用いられ水和することができない。そこで現在、このような塩基対の水和クラスターを生成しその構造を決定することを試みている。

もう一つ注目すべきことは、図 1 に示したアミノ-ケト体の単量体は、本研究で用いたナノ秒レーザーによる 2 光子共鳴イオン化(R2PI)法では観測されていない。これは、電子励起状態から基底状態への超高速緩和過程が存在し効率よくイオン化できないためとされている。しかし、図 2 に示したようなアミノ-ケト体の水和物は同じ手法で観測できることから、水和が電子励起状態の緩和過程に大きく影響していることが示唆される。またこのアミノ-ケト体は、シトシンと塩基対を形成するとナノ秒レーザー R2PI 法でも観測できるようになり、水和や塩基対生成が励起状態ダイナミクスに及ぼす影響についても興味を持たれる。

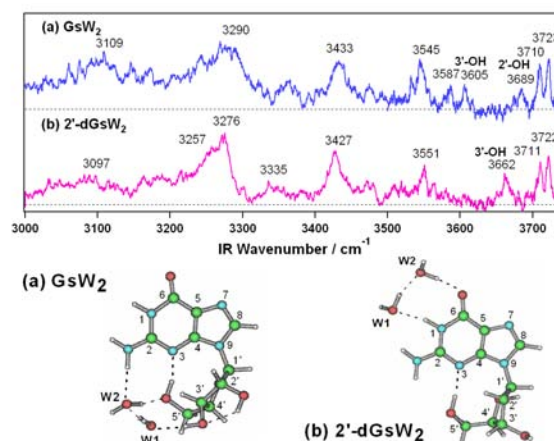


図 2. (a) Gs 二水和物と(b) 2'-dGs 二水和物の赤外スペクトル(上)と帰属された水和構造(下)。

[1] H. Saigusa, S. Urashima, H. Asami, *J. Phys. Chem. A* **113**, 3455-3462 (2009).



## 大西グループの野本知理博士と木村建次郎講師が分子科学会優秀講演賞を受賞

大西洋 (神戸大院理・A02 班)

A02 班計画研究の分担者である野本知理博士(神戸大自然科学)と木村建次郎講師(神戸大院理)がそれぞれ分子科学会から優秀講演賞を授与された。分子科学討論会 2009 における講演「N3 色素吸着 TiO<sub>2</sub>(110) 表面の 4 次ラマン応答と電子励起ダイナミクス」と「液中ダイナミックモード原子間力顕微鏡による局所溶媒和の構造解析」が評価された。

野本博士は、代表的な増感色素である N3 をルチル TiO<sub>2</sub>(110)単結晶面に吸着させて、4 次の光学応答を観測した。4 次コヒーレントラマン分光法は、ポンプ光が誘起した振動コヒーレンスを、プローブ光第 2 高調波の強度変動として検出して時間領域信号を得る手法である。測定した第 2 高調波強度の時間領域信号には、振動コヒーレンスに由来する成分と、ポンプ光により光励起された分子の電子状態変化による応答の両方が含まれる。野本博士は N3 から TiO<sub>2</sub>(110)表面への電子注入による過渡応答と共に、N3 分子内振動モードに由来する量子ビートを検出した。量子ビートをフーリエ変換した周波数スペクトルには色素の分子内振動に帰属できないピークも観測された。同波数に TiO<sub>2</sub> のラマン活性モードが存在するが N3 を吸着させていない表面では観測されなかった。ゆえに、この振動バンドは、色素から TiO<sub>2</sub> への電子注入に共鳴して、吸着 N3 近傍の TiO<sub>2</sub> 格子振動が励起されたものと考えられる。

これらの結果は、色素増感電極モデルの分子構造や電子注入過程の解明に非線形界面分光を活用する方法論を提示しており、分子系の高次機能を解析する本特定領域の研究ベクトルと軌を一にする研究成果である。

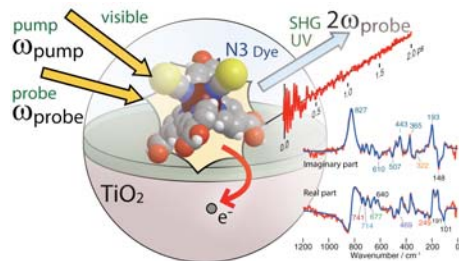


図 1 N3/TiO<sub>2</sub> 界面の 4 次コヒーレントラマン分光。

木村講師は、本特定領域研究の一環として、固液界面の溶液構造を周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM) で実験的に計測する方法を開発している。生体高分子や電極界面における溶媒構造は、高次構造の安定性や反応メカニズムの分子論的理解に不可欠である。ところが、局所的溶媒構造の解析は、分子動力学法や積分方程式理論などの理論計算に大きく頼っている。木村講師は、固液界面に形成される溶媒和構造を FM-AFM を用いて原子分子スケールで可視化する手法を開発し、固液界面における固体と溶液の構造相関を実験および理論の両面から解明することをめざした研究を活発に展開している。

一例として、純水中で壁開した雲母を濃度 1M の KCl 水溶液に浸漬し、FM-AFM で計測した結果を図 2 に示す。顕微鏡探針が水溶液中で受けた力を濃淡図として (a) にあらわした。図の縦軸は雲母表面に垂直な方位、横軸は表面に平行な方位である。(b) は Reference Interaction Site Model (RISM) を用いて計算予測した水分子の存在確率密度分布を同じ縮尺で表示した図である。FM-AFM 探針にはたらく力の強弱分布は、RISM 予測した密度分布と定性的に一致している。さまざまな金属酸化物や自己組織化単分子膜に接触した溶液の構造を FM-AFM 計測することを通して、存在確率密度分布と探針に作用する力との定量的関係を定式化することが次の課題となる。

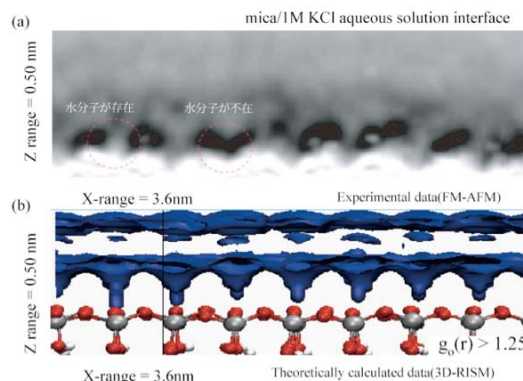


図 2 水溶液-雲母界面の溶液構造。

## 水谷グループの藤井直樹君が第 3 回分子科学討論会優秀ポスター賞を受賞

水谷泰久（阪大院理・計画研究代表者）

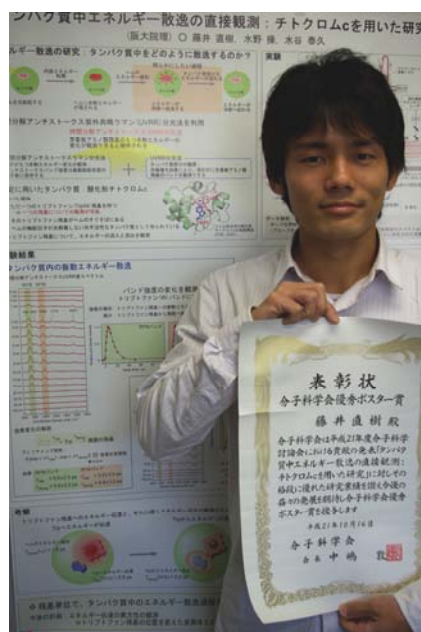
当研究室の大学院生、藤井直樹君（博士前期課程 1 年生）が、平成 21 年 9 月、名古屋大学で開催された第 3 回分子科学討論会において、優秀ポスター賞を受賞した。

藤井君の受賞対象となったポスター発表は、「タンパク質中エネルギー散逸の直接観測：チトクロム c を用いた研究」で、タンパク質のエネルギー散逸をアミノ酸残基単位で調べたものである。

振動エネルギー緩和は、凝縮相の化学反応を理解するうえで非常に重要である。タンパク質についても、ヘムタンパク質を中心として、エネルギー緩和がよく研究されている。ヘムを光励起すると、サブピコ秒の内部転換を経て、多くのエネルギーが振動エネルギーとしてヘムに残される。このエネルギーは、ヘムから周囲のタンパク質部分を通り、溶媒へと散逸していく。これまでに、ヘム振動冷却過程および溶媒の温度上昇には観測例があるが、タンパク質内のエネルギー移動を直接観測した例はなかった。これは、タンパク質内のエネルギー散逸過程を直接観測する手法がなかったためである。藤井君らは時間分解アンチストークス紫外共鳴ラマン（UVR）分光法を用いて、エネルギー散逸機構を直接観測することを試みた。UVR スペクトルでは、共鳴効果によって、トリプトファン、チロシン、フェニルアラニンなど芳香族アミノ酸残基のラマンバンドが選択的に観測される。一方、アンチストークスラマンバンド強度は、振動励起状態の分布を反映する。したがって、アンチストークス UVR スペクトルを時間分解測定することによって、芳香族アミノ酸残基のもつエネルギーを直接観測することができると考えられる。そこで藤井君らは、ヘムタンパク質のひとつであるチトクロム c を用いて、タンパク質中エネルギー散逸の直接観測を試みた。その結果、アミノ酸残基単位で、タンパク質中のエネルギーの流れをとらえることに初めて成功した。これまで、タンパク質内のエネルギー散逸の詳細は不明であったが、本研究の知見は、その解明のための第一歩になると考えられる。

この研究で用いた酸化形チトクロム c は、光反応に対して安定と言われていたが、実験データを詳細に解析すると、少ない割合ではあるが光反応によってヘムの還元が起こり、測定中に試料溶液に還元形チトクロム c が蓄積してしまうことが明らかになった。藤井君はこの問題を解決するために、さまざまな酸化剤を試した。結局、チトクロム c の生理的な酸化タンパク質であるチトクロム c 酸化酵素を、試料溶液に 1/1000 等量加えることによって、還元形チトクロム c の蓄積を無視できる程度に抑えることができることを見出し、問題を解決した（なお、チトクロム c 酸化酵素の試料は、本特定領域研究の A03 班公募研究代表者である小倉尚志教授（兵庫県立大）からご提供いただいた）。

藤井君は、今年 8 月には、本学の大学院教育改革支援プログラムの支援を受け、アメリカ Northeastern University の Paul Champion 教授（本特定領域外国人評価委員）の研究室に 2 週間滞在し、セミナーにて研究発表をするなど、研究交流を行った。現在は、変異体タンパク質を使って、さらに発展した実験を行っている。今後の益々の成長が大変楽しみである。



受賞ポスターの前で