

業績紹介：フェムト秒時間分解電子和周波発生による空気／水界面の粘性測定

山口祥一 (理研・A02 計画研究分担者)
田原太平 (理研・A02 計画研究代表者)

論文題目: "Ultrafast dynamics of malachite green at the air/water interface studied by femtosecond time-resolved electronic sum frequency generation (TR-ESFG): an indicator for local viscosity"

著者: Pratik Sen, Shoichi Yamaguchi, and Tahei Tahara
雑誌巻号: *Faraday Discuss.* **145**, 411 (2010)

極性、pH、粘性といった液体の基本的な性質が、バルクと界面でどう異なるのかを調べるにはどうしたらよいか。指示薬の分光測定でバルクでの性質を決定することは広く容易に行われている。そこで、界面活性指示薬と界面選択的非線形分光法を組み合わせれば、同じように界面での性質を決定できると期待される。極性や pH の指示薬は多く知られているが、“粘性指示薬”というものは一般には知られていない。我々は、代表的なトリフェニルメタン色素であるマラカイトグリーン (MG) の緩和時定数が、溶媒の粘性と大変良い相関を示すことに着目した。図 1 は、光励起された MG の基底状態の回復過程の二つの時定数 (τ_1 , τ_2) のバルク粘性依存性である。フェムト秒時間分解吸収分光によって得られたこのデータは、図 1 の直線を粘性の“検量線”とすることができることを示している。図 2 は、空気／水界面に吸着した MG のフェムト秒時間分解電子和周波発生 (TR-ESFG) スペクトルである。負の信号は基底状態の分布数の減少を意味し、時間とともにこの信号が小さくなっていくのは基底状態の回復過程を表す。バルクの時間分解吸収スペクトルと全く遜色のない信号雑音比を有するこの TR-ESFG

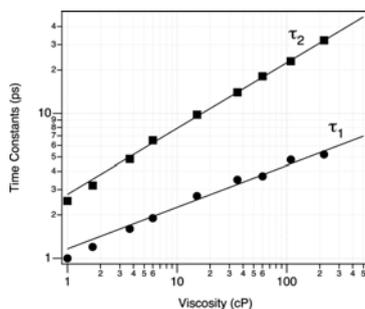


図 1. MG の基底状態の回復過程の二つの時定数 (τ_1 , τ_2) のバルク粘性依存性。

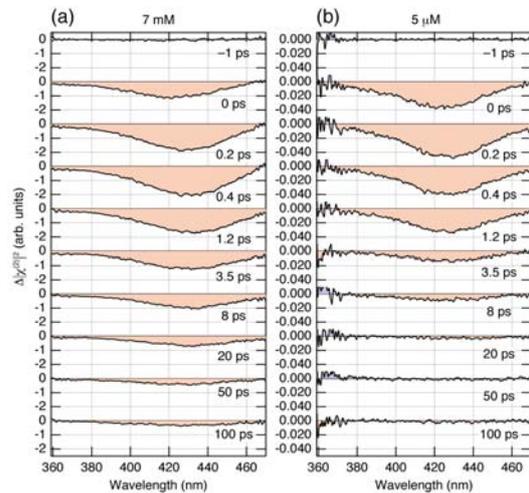


図 2. 空気／水界面の MG の TR-ESFG スペクトル。MG の濃度は (a) 7 mM, (b) 5 μ M。

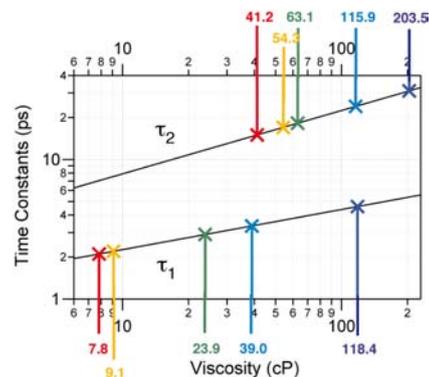


図 3. 粘性-時定数検量線上にプロットした界面の時定数。紫、青、緑、橙、赤は溶液の温度 2 $^{\circ}$ C, 10 $^{\circ}$ C, 20 $^{\circ}$ C, 26 $^{\circ}$ C, 30 $^{\circ}$ C に対応。

クトルから、界面の MG の緩和時定数を得ることができる。界面での時定数を検量線にプロットした結果を図 3 に示す。いずれの温度においても、検量線上のプロットから得られる界面の粘性は、バルクの粘性よりも 10 倍以上大きな値となった。これは、界面での MG の緩和過程が、バルクでのそれよりも大幅に遅くなったために得られた結果である。このことは、そのまま単純に界面の粘性が非常に高いことを意味する可能性がある一方で、バルクと界面の環境の違いによる、MG の緩和過程の内在的な変化の可能性も十分にあることを示唆している。この問題は、指示薬を界面に適用する際に必ず考えなければならない一般的な問題である。

業績紹介：近赤外レーザーと光合成色素の意外な相互作用の発見 —常温で葉緑体の光化学系 I 蛍光を容易に観測する新手法—

熊崎茂一 (京大院理・計画研究代表者)

論文題目：” Selective Excitation of Photosystems in Chloroplasts Inside Plant Leaves Observed by Near-Infrared Laser-Based Fluorescence Spectral Microscopy”

著者： Makoto Hasegawa, Takashi Shiina, Masahide Terazima, and Shigeichi Kumazaki

雑誌巻号: *Plant Cell Physiol.* **51**, 225-238 (2010)

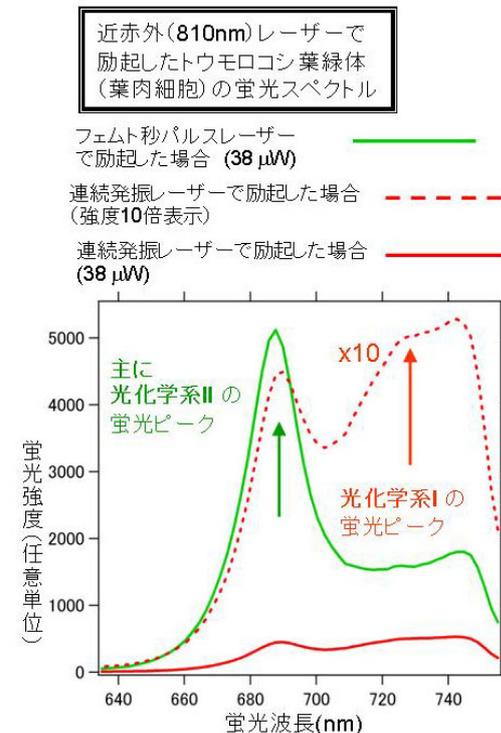
植物などの葉緑体のクロロフィル自家蛍光は、常温で測定する限り光化学系 II (系 II) の蛍光が支配的で、光化学系 I (系 I) の蛍光を観測するには液体窒素温度を用いることが一般的に行われてきた。我々は近赤外レーザー(中心波長は主に 800 - 830 nm)を用いた顕微鏡蛍光スペクトル顕微鏡によって植物の葉緑体を調べるうちに、モードロックパルスでは 2 光子励起によって系 II 蛍光(約 690nm) が強く観測されることは通常の可視光線励起と同様だが、連続発振(CW)させたレーザーでも蛍光(約 730 nm)が観測され、その蛍光では系 I 蛍光が異常に強いことを発見した。「比較的強い系 II 蛍光に比べると、常温では系 I 蛍光が見えない(非常に見えにくい)」という葉緑体研究の常識を覆すことができたことになる。

系 I を選択励起するためとして通常用いられてきた光の波長はせいぜい 740nm であり、それ以上の長波長側では 1 光子励起による吸収は全く考慮されてこなかった。当初、我々自身も 800nm では 2 光子励起のみを想定してきた。我々の CW レーザーではモードロック発振状態に比べ、同じ平均パワーでの 2 光子励起確率はおよそ 4 桁低いと計算されるが、蛍光強度は 1 桁しか違ってない上にスペクトル形は全く異なる。蛍光強度が近赤外 CW レーザーの平均パワーに依存する様子を調べたところ、パワーの一次に比例していた。レーザーの散乱が蛍光スペクトルに含まれている可能性も排除できた。用いた試料のトウモロコシは C₄ 植物であり、維管束鞘細胞の葉緑体では系 II 量が少ない。一方、葉肉細胞の葉緑体は系 II が多い。この葉緑体の分化の様子は我々のモードロック励起と CW 励起の切替で特に強調され、CW レーザーで系 I 励起の割合が異常に高いという法則性はどちらの葉緑体でも成り

立っていた。葉緑体中での系 I と系 II のスペクトル形状も統一的に決定できた。

このように、近赤外 CW レーザーによる励起は葉緑体の系 I 量を常温で知る新分析手法として有望である。我々は葉緑体中の系 II と系 I の蛍光スペクトルを得たので、葉緑体内部の全ての点で系 I・系 II へのスペクトル分解を行い、系 I と系 II の分布の違いを示すことができた。そこでは光合成膜の重層構造(グラナ)とその他の領域の蛍光スペクトルの違いも見えている。しかし、再吸収効果によって蛍光スペクトル形状は変形を受けるので、その点の改良が今後の課題である。現在、他の植物、緑藻の葉緑体やシアノバクテリアの場合の近赤外 2 光子励起・1 光子励起の蛍光スペクトルの違いを通じて各生物の色素タンパク質機能の差異を理解する研究に広く応用しようと試みている。

この論文の中では、CW 近赤外レーザーによる光合成色素の励起をアンチストークス蛍光と呼んでいる。調べた限り、アンチストークス蛍光の観測例は溶液中などで数例あるが、それを生体イメージングに有効に適用した例はこれが世界初であろう。



第 8 回 ミニ公開シンポジウム (国際ミニシンポジウム) 報告

藤井 正明 (東工大資源研・総括班)

本特定領域研究の第 8 回ミニ公開シンポジウムが、平成 22 年 1 月 15 日 (土) に、東京工業大学すずかけ台キャンパス J2 棟 (横浜市緑区) で開催された。本領域のミニ公開シンポジウムは特定のトピックスに内容を絞って討論を行い、共同研究の発展に寄与する意図で行ってきたものである。本領域の独自のアイデアとして現在まで 7 回開催してきた。今回は新たなチャレンジとしてミニ公開シンポジウムを英語での講演・討論で行う小型の国際シンポジウムとして開催した。本特定領域では領域主催の国際シンポジウムを既に開催し (平成 21 年 6 月)、班員による国際会議主催の奨励、8 名の外国人評価委員によるレビューも行っており、高次系分子科学の国際発信を目指している。ミニ公開シンポジウムも国際化することで高次系分子科学という新領域の情報発信力も一層向上すると期待される。また、領域全体での国際シンポジウムの場合、発表スケジュールの制約から講演は研究代表者を主体とせざるを得ず、各研究グループの中で活発に研究している若手に対して国際シンポジウムでの口頭講演の機会を与えて若手育成を進める意味でもミニ国際シンポジウムは良い機会と考えられる。本領域の外国人評価委員をお願いしているソウル国立大学の S. K. Kim 先生と高次系分子科学の国際発信/若手育成に関して討論したところ、強く賛同してくださり、一回目は日韓の若手中心で企画してはどうか、と御提案頂き開催に至った次第である。

シンポジウムでは、最初に私より経緯と意図を紹介し、Kim 先生に基調講演をお願いした。Kim 先生は気相クラスターの研究者であると同時に新たな FRET 法の開拓など御自身が気相から生体へのブリッジを進めつつある研究者であり、韓国の世界研究拠点の責任者でもある。講演では、近年発見され注目されている DNA 酵素 10-23 deoxyribozyme の反応性について、新規 FRET 法による最近の研究を中心に御紹介いただいた。若手研究者の講演では、液相および気相における反応メカニズムの最新の話が提供され、熱心な議論がなされた。以下にプログラムを簡単に紹介する。

10:10 "Guessing and observing molecular motion in solvent migration and enzymatic reaction"

Seong Keun Kim (Seoul National Univ.)

10:55 "Tracking continuous structural change of reacting molecules by femtosecond time-domain Raman and computational approach"

Satoshi Takeuchi (Riken)

11:25 "Primary protein dynamics of Rhodopsins"

Misao Mizuno (Osaka Univ.)

13:30 "REMPI and IR-UV double resonance spectroscopy of aminophenol-ammonia clusters"

Hyuk Kang (Ajou Univ.)

14:00 "Mechanism of excited state hydrogen transfer studied by ps time resolved infrared spectroscopy -Does electron move together with proton?-"

Mitsuhiko Miyazaki (Tokyo Tech.)

14:30 "Photoelectron spectroscopy of aromatic cluster anions"

Jae Kyu Song (Kyung Hee Univ.)

15:30 "UV Photodepletion spectroscopy of dibenzo-18-crown-6-ether complexes with various metal cations"

Nam Joon Kim (Chungbuk National Univ.)

16:00 "Photo-induced migration of a water molecule in solvated acetanilide cluster"

Kenji Sakota (Kyushu Univ.)

シンポジウムには研究者、大学院生、合わせて 34 名の参加があり、韓国の若手研究者との交流を深めるよいきっかけとなった。

末筆ながら、年度末にも関わらず開催に至ったのは資源化学研究所のご支援によるものであり、心より感謝申し上げます。合わせて、シンポジウムの開催、進行をお手伝いいただいた、東工大藤井研究室のスタッフ、秘書、大学院生のみなさんに深く感謝する。

