

業績紹介： 7-アザインドール・水 1 : 3 クラスターの 水素結合ネットワークの異性化反応

関谷 博 (九大院理・計画班代表者)
迫田憲治 (九大院理・計画班分担者)
論文題目：Photon induced isomerization in the first excited state of the 7-azaindole-(H₂O)₃ cluster
著者：Gustavo A. Pino, Ivan Alata, Claude Dedonder, Christophe Jouvét, Kenji Sakota, Hiroshi Sekiya
雑誌巻号：Physical Chemistry Chemical Physics, 13, 6325-6311(2011)

酵素反応において、触媒的な役割を果たす水分子ネットワークを介した多重プロトン移動が観測されている。このような反応のモデル系として、気相における溶媒和クラスターの励起状態多重プロトン移動(Excited-State Multiple Proton Transfer: ESMT)の研究が行われている。しかしながら、生体において重要な水分子ネットワークを介した ESMT が起こることを明確に示した例は、筆者らが最近報告した 7-アザインドール・水 1:2 クラスタ [7AI (H₂O)₂] に限られている。さらにサイズの大きな 7AI (H₂O)₃ において励起状態 4 重プロトン移動が起こるかどうかについて、長年に渡り興味もたれてきたが、これまで未解明であった。今回、Pino らとの共同研究を行い、ピコ秒ポンプ&プローブ分光を用いて 7AI (H₂O)_{2,3} の ESMT について調査し、新奇な結果を得た。

図 1 に 7AI (H₂O)_{2,3} の S₁ 状態の寿命の内部エネルギー一依存性を示す。7AI (H₂O)₂ においては、寿命の長い

振動と寿命の短い振動が交互に観測されている。これは、ESMPT を促進させる分子間対称伸縮振動モード (σ(1)) と ESMPT を妨げる分子間非対称伸縮振動モード (σ(2)) が存在し、σ(1) を含む振動を励起すると寿命が短くなり、σ(2) を含む振動を励起すると寿命が長くなるためである。

7AI (H₂O)₃ の S₁ 状態のゼロ点振動準位の寿命は >10 ns である。ところが、振動エネルギーが 161 cm⁻¹ のバンドを励起すると、ゼロ点準位の約 10 分の 1 に寿命が減少する。744 cm⁻¹ のバンドを励起すると、寿命は 15 ps となる。この結果は、振動エネルギーの増加に伴い、無輻射遷移速度が著しく増加することを示唆している。161 cm⁻¹ より高エネルギーのバンドを励起すると、0-0 遷移を励起した場合よりも 30 nm ピーク波長がレッドシフトした分散蛍光スペクトルが観測された。このレッドシフトは、蛍光寿命の変化に対応している。そこで、レッドシフトした蛍光スペクトルを与えるクラスターの構造について TD-DFT 計算を用いて調査した。S₁ 状態に光励起されたクラスターは平面架橋 (bridged-planar) 構造であるが、この構造より 2400 cm⁻¹ 安定な非平面環状 (nonplanar-cyclic) 構造が得られた (図 2)。161 cm⁻¹ より高エネルギーのバンドを励起した場合、bridged-planar 構造から nonplanar-cyclic 構造への異性化反応が起こると考えると、実験結果と計算結果を矛盾なく説明できる。

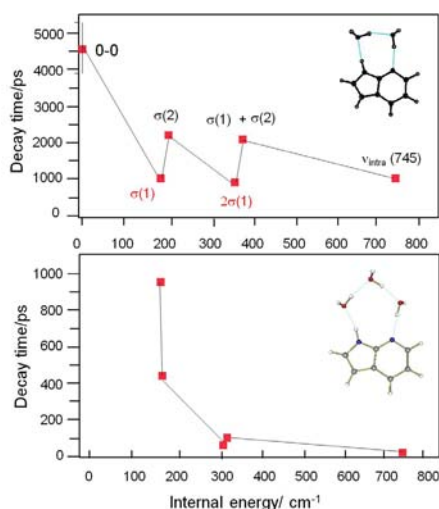


図 1 7AI (H₂O)_{2,3} の寿命の内部エネルギー依存性。7AI (H₂O)₂ (上図) と 7AI (H₂O)₃ (下図)。

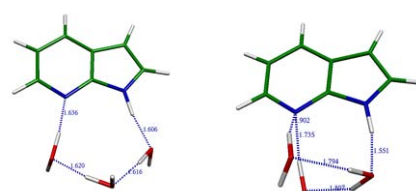


図 2 7AI (H₂O)₃ の bridged-planar 構造 (左) と nonplanar-cyclic 構造 (右)。

可視光を検出して得られた蛍光励起スペクトルにおいては、744 cm⁻¹ より高エネルギーの振電バンドが観測された。この結果は、励起エネルギーが 744 cm⁻¹ 以上において 7AI (H₂O)₃ の互変異性体が生成することを示している。すなわち、クラスターの内部エネルギーが増加すると ESMT が non-planar cyclic 構造を経由して起こることが初めて示唆された。

本研究のように、中性状態のクラスターにおける水ネットワークの異性化および異性化を経由する ESMPT が観測されたケースは極めて稀である。

業績紹介：PhOH-Ar₃ クラスターの光イオン化誘起 π→H スwitching ダイナミクス

石内俊一 (東工大資源研・研究分担者)
宮崎充彦 (東工大資源研・研究協力者)
酒井誠 (東工大資源研・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: "Ionization-induced π → H site switching dynamics in phenol-Ar₃"

著者: Shun-ichi Ishiuchi, Mitsuhiro Miyazaki, Makoto Sakai, Masaaki Fujii, Matthias Schmies, and Otto Dopfer
雑誌巻号: *Physical Chemistry Chemical Physics*, **13**(6), 2409 (2011)

超音速ジェット中に生成する溶媒和クラスターは、分子間相互作用を実験的に調べる理想的な系である。その中でもフェノール・希ガスクラスターは中性状態とイオン状態で主要相互作用が変化する興味深い系であり、分子認識機構の制御の基礎モデルと成り得る。中性状態では分散相互作用により芳香環との結合が優勢であるが、イオン状態では OH 基の強い分極に誘起され OH 基との水素結合が卓越する。そのため中性状態では希ガス原子は π 電子雲上に位置する π 型、イオン状態では OH 基の先端に位置する H 型構造が安定構造である。これらに加え、相互作用の優先度は溶媒和の程度にも左右されるはずである。

本論文ではフェノール・Ar_n クラスター (PhOH-Ar_n) の溶媒和構造と S₁-S₀ オリジンバンドのシフトとの間の規則と、光イオン化に伴う PhOH-Ar₃ の相互作用スイッチングダイナミクスの観測を報告した。

図 1 および図 2 に PhOH-Ar_n の REMPI スペクトルと S₁-S₀ オリジンバンドシフトのサイズ依存性を示す。これまで 1:3 クラスターの構造は芳香環の両側に Ar 結合する (2|1) 構造が想定されていた。しかし、オリジンシフト値の関係と照らすと実際には 3 つの Ar が片側に結合した (3|0) 構造を取っていることが明らかとなった。また、これまで発見されていなかった (2|0) 構造のクラスターもわずかであるが存在する可能性があることが見出された。さらに図 3 に示した PhOH-Ar₃ の OH 伸縮振動のピコ秒時間分解赤外スペクトルを測定した。イオン化直後 (Δt ~0) から 3460 cm⁻¹ 付近の H 型構造のバンドが現れることがわかり、Ar 原子が OH 基近傍に位置していることがわかった。これも結果も (3|0) 構造を支持している。

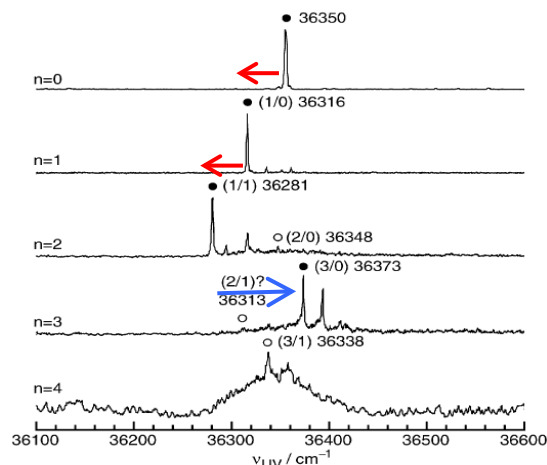


Fig. 1 PhOH-Ar_n の REMPI スペクトル。

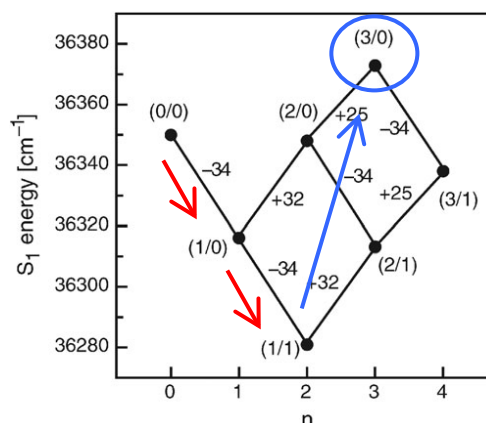


Fig. 2 PhOH-Ar_n クラスターの S₁-S₀ オリジンバンドシフトのクラスターサイズ依存性。

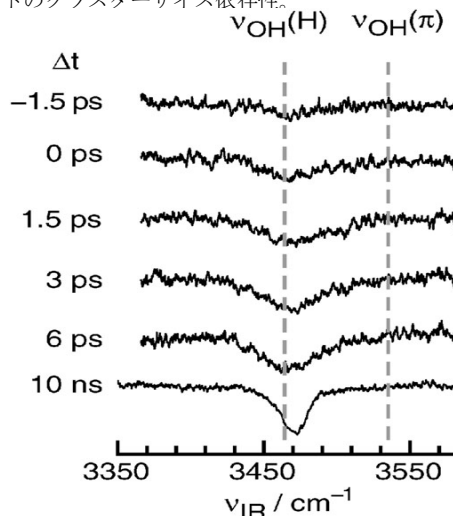


Fig. 3 PhOH-Ar₃ クラスターのピコ秒時間分解赤外スペクトル。

業績紹介 : PhOH-Kr クラスターの光イオン化誘起異性化反応の実時間観測 : Kr 原子振り子の観測

宮崎充彦 (東工大資源研・研究協力者)
石内俊一 (東工大資源研・研究分担者)
酒井誠 (東工大資源研・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 : "Photoionization-induced large-amplitude pendular motion in phenol⁺-Kr"

著者 : Mitsuhiko Miyazaki, Akihiro Takeda, Shun-ichi Ishiuchi, Makoto Sakai, Otto Dopfer, and Masaaki Fujii

雑誌巻号 : *Physical Chemistry Chemical Physics*, **13**(7), 2744 (2011)

超音速ジェット中に生成する溶媒和クラスターに対する分光測定は、二体間に働く分子間相互作用を実験的に調べる最も直接的な手段を与える。このようなモデル系における分子間相互作用の微視的理解はより大きな高次分子系の運動メカニズムを理解するうえでの基礎を与えると考えられる。フェノールと希ガス間に形成される分子クラスターは、中性状態では希ガスと π 電子雲との分散相互作用が優勢であるが、イオン状態では OH 基の強い分極に誘起される静電相互作用のために OH 基との水素結合が卓越する。そのため中性状態では希ガス原子は π 電子雲上に位置する π 型、イオン状態に H 型構造が安定構造である。これをイオン化に誘起される疎水性から親水性への分子間相互作用変化とみなせば、まさに分子認識の調整機構を理解するモデルと考えることが出来るはずである。

本論文では、希ガスとして Kr を用いたフェノール・Kr クラスター (PhOH-Kr) の光イオン化に伴う Kr 原子の運動をピコ秒時間分解分光により実時間で捉えることに成功したので報告する。

図 1 に得られたフェノールの OH 伸縮振動のピコ秒時間分解赤外スペクトルを示す。イオン化直後 ($\Delta t < \sim 0$) においては π 型構造に由来する 3535 cm^{-1} の ν_{π} バンドのみが観測されるが、イオン化後時間が経過するに従って、 3450 cm^{-1} 付近に H 型構造に由来する ν_{H} バンドが現れることがわかる。これは π 電子雲上にあった Kr 原子が光イオン化後 OH 基へと異動してゆく様子を明確に捉えている。これら ν_{π} 、 ν_{H} バンドに赤外波長を固定して遅延時間を変化させると図 2 に示した時間発展が得られる。時間発展は $\sim 30\text{ ps}$ において平衡に達

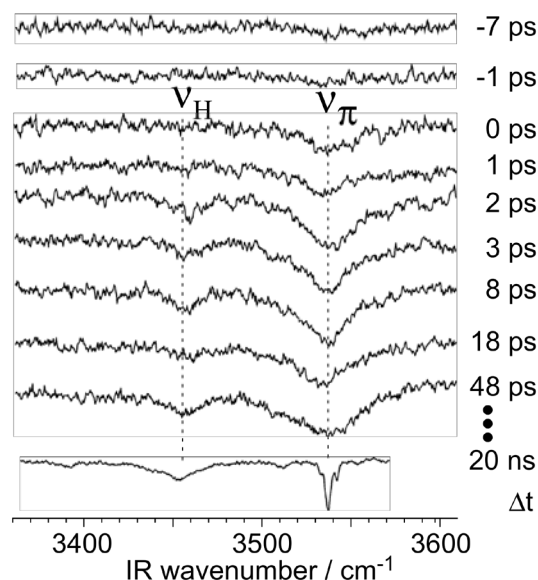


Fig. 1 PhOH⁺-Kr のピコ秒時間分解赤外スペクトル。

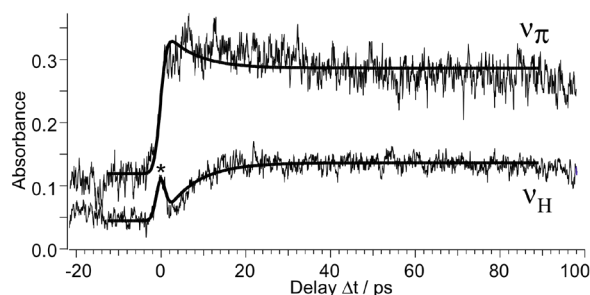


Fig. 2 ν_{π} および ν_{H} バンド強度の時間発展。

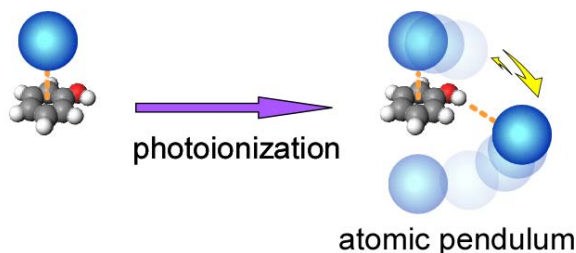


Fig. 3 Kr 原子の振り子運動のイメージ図。

しており Kr 原子の戻り反応の存在を示している。今、芳香環の上下は等価であるため、この戻り反応は図 3 に描いたような OH 基を中心とした振り子運動とみなせる。また、時間発展の解析からこの反応の時定数はおよそ 20 ps であった。今回の結果は光吸収による溶媒再配向などの初期課程の研究につながると期待される。

業績紹介：界面の溶媒と環境の不均一性

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: "Molecules at the Air/Water Interface Experience More Inhomogeneous Solvation Environment than in Bulk Solvents: A Quantitative Bandshape Analysis of Interfacial Electronic Spectra Obtained by HD-ESFG"

著者: Sudip Kumar Mondal, Shoichi Yamaguchi, and Tahei Tahara

雑誌巻号: *J. Phys. Chem. C* **115**, 3083 (2011)

空気/水界面に吸着した溶質分子は、バルクの水よりも実効的に低い溶媒極性を感じるということが知られている。これまでに我々は、界面の低い溶媒極性は水が溶質分子を不十分に取り囲んだいわば“半分の”水和構造に起因していること[1]や、界面の溶媒極性は溶質分子の配向に相関があること[2]を、電子と周波発生分光法などを用いて明らかにしてきた。今回我々は、空気/水界面に吸着した溶質分子が感じる溶媒と環境の不均一性を、ヘテロダイナミック電子と周波発生(HD-ESFG)分光法を用いて研究した。

溶媒と環境の不均一性は、溶質分子の電子スペクトルのバンド幅によって評価することができる。空気/水界面の溶質分子の電子スペクトルはHD-ESFGを用いて測定した。バルク溶媒中の電子スペクトルは紫外可視吸収によって測定した。溶媒極性を表す E_T^N 値が0.006のシクロヘキサンを溶媒と見なし、シクロヘキサン中での電子スペクトルを基準スペクトルとした。ある溶媒と環境での電子スペクトルを基準スペクトルでデコンボリューションすることによって、前者が後者よりどれだけシフトしどれだけ幅が広がったかを決定することができる。シフトはその環境の溶媒極性を表し、幅の広がり不均一性を表す。図1に3種類の溶質分子(C110, C6H, C314T)について空気/水界面と各種バルク溶媒中でのシフトと幅の広がり関係を示す。バルク溶媒中ではシフトと幅の広がり間に直線的な関係が成り立っている。すなわちシフトが大きい(=極性が高い)ほど幅が広い(=不均一性が大きい)。これは線型溶媒と理論から期待される通りの関係である。空気/水界面はバルクの水(白抜き丸12番)よりも小さなシフトを示している。これは界面の実効的溶媒極性がバルクの水よりも低いとい

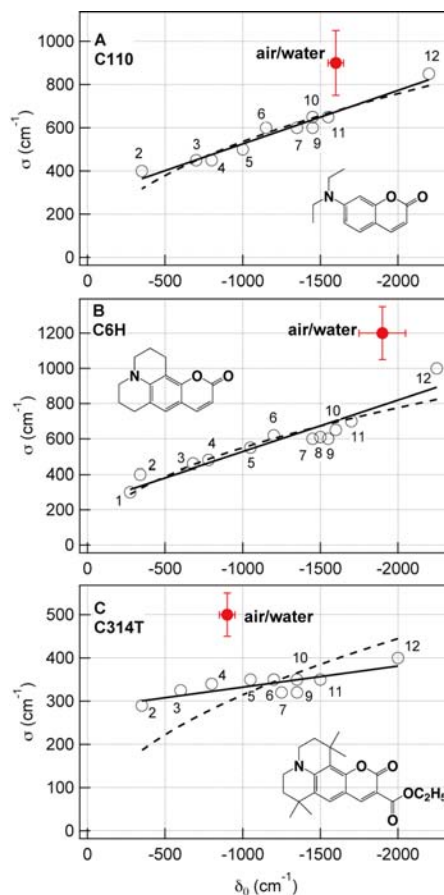


図1. 3種類のクマリン (A: C110, B: C6H, C: C314T) の空気/水界面 (赤丸) と各種溶媒 (白抜き丸, 1: butyl ether, 2: ethyl ether, 3: dioxane, 4: THF, 5: acetone, 6: acetonitrile, 7: isopropanol, 8: hexanol, 9: butanol, 10: ethanol, 11: methanol, 12: water) での電子スペクトルのシフト δ_0 (横軸) と幅の広がり σ (縦軸) の関係。破線は理論曲線、実線はeye guide。

う既知の事実と整合している。C110にとっては界面はメタノールとほぼ同等の溶媒極性で、C314TにとってはTHFと同等である。これも文献[2]で明らかにしたことと整合している。今回初めて決定することができた界面での幅の広がり、どの溶質分子についてもバルクの水よりも大きいか同等である。界面と同等の極性を有するバルク溶媒での幅の広がりよりも、界面でのそれは有意に大きい。この結果は、界面はバルクよりも不均一な溶媒と環境であることを意味している。

参考文献

[1] H. Watanabe *et al.* *J. Chem. Phys.* **132** (2010) 144701.

[2] S. Sen *et al.* *Angew. Chem. Int. Ed.* **48** (2009) 6439.

業績紹介：界面の酸塩基平衡

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: "Acid-Base Equilibrium at an Aqueous Interface: pH Spectrometry by Heterodyne-Detected Electronic Sum Frequency Generation"

著者: Shoichi Yamaguchi, Kankan Bhattacharyya, and Tahei Tahara

雑誌巻号: *J. Phys. Chem. C.* **115**, 4168 (2011)

液体界面の化学を理解する上で局所的なpHとpKaの情報は不可欠である。しかし液体界面の酸塩基平衡はまだほとんど解明されていない。界面のpHとpKaの測定にこれまでよく用いられてきたのは第二高調波発生(SHG)法である。SHG光は界面分子の電子共鳴により増大する。従ってpH指示薬の紫外可視吸光度からバルク水溶液のpHを決定するルーチン測定と等価なことを、SHGによって界面について行うことが原理的に可能である。具体的には、界面活性な指示薬からのSHG光強度のpH依存性のある一波長について測定して界面の指示薬のpKaを決めるという方法が採られていた。これはバルクの場合で言えばある1波長での吸光度のpH依存性を測定することに相当する。しかしそのような方法では信頼のおけるpKaは得られない。通常は吸収スペクトルを複数のpHにおいて測定することが必須である。pHの増加と共に指示薬の酸と共役塩基の吸収バンドが各々減少、増大する様子を観測し、かつ両吸収バンドの間に等吸収点を認めることで、得られるpKaの信頼性が担保される。しかし、そのような実験は界面についてはこれまで全く行われていない。それは、スペクトルを得ることと分子種の濃度に比例する信号を得ることという2点がSHG法では実験的に困難であったためである。

今回我々は、界面の分子種の濃度に比例する界面選択的電子スペクトルの測定を可能にするヘテロダイン検出電子和周波発生(HD-ESFG)分光法を水界面の酸塩基平衡の研究に適用した。図1は空気/正帯電界面活性剤CTAB/水界面に吸着したpH指示薬アリザリンイエロー-R (AYR)のHD-ESFGスペクトルである。バルクpHが11以下のときに390 nmに見られるバンドは酸であるAYRのアニオンによるものである。バルクpHが高くなるにつれてアニオンの寄与は減少し、460 nm付

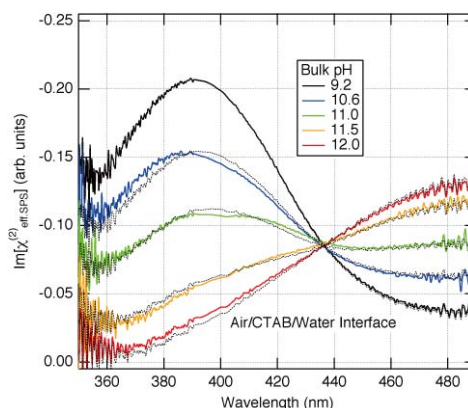


図1. 空気/CTAB/水界面のpH指示薬AYRのHD-ESFGスペクトル。実線は実験データで点線はフィット。

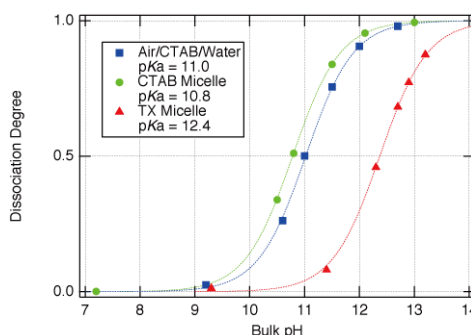


図2. 空気/CTAB/水界面(青色), CTABミセル溶液(緑色), TX-100ミセル溶液(赤色)のAYRの解離度。

近に共役塩基のジアニオンの寄与が見られるようになる。436 nmには等吸収点が認められる。この図1のデータはバルクの紫外可視吸収スペクトルの場合と全く同じように解析することが可能で、pKaをフィッティングパラメータとして各バルクpHでのHD-ESFGスペクトルを点線のように良く再現することができる。AYRの総濃度に占めるジアニオンの割合として定義される解離度を図2に示す。空気/CTAB/水界面のAYRのpKaは11.0となった。しかしこの界面と等価な溶媒と環境である中性界面活性剤TX-100ミセル溶液中のAYRのpKaは12.4であり、これがAYRの本来のpKaである。界面でpKaが11.0となったのは、解離度をバルクpHに対してプロットしたためである。すなわちバルクpHが11.0のとき実は界面pHは12.4であり、界面の方がバルクよりもpHが1.4高い。これは界面活性剤の親水基が正に帯電している、プロトンが界面から遠ざげられることと整合している。

業績紹介：緑色光受容体・センサリーロドプシン I の吸収波長制御機構

須藤雄気（名大院理・公募研究代表者）

①論文題目："Spectral tuning in sensory rhodopsin I from *Salinibacter ruber*"

著者：Yuki Sudo, Yasufumi Yuasa, Jun Shibata, Daisuke Suzuki, and Michio Homma

雑誌巻号：J. Biol. Chem. **286**, 11328-11336 (2011)

②論文題目："Spectroscopic studies of a sensory rhodopsin I homologue from the archaeon *Haloarcula vallismortis*"

著者：Jin Yagasaki, Daisuke Suzuki, Kunio Ihara, Keiichi Inoue, Takashi Kikukawa, Makoto Sakai, Masaaki Fujii, Michio Homma, Hideki Kandori, and Yuki Sudo

雑誌巻号：Biochemistry **49**, 1183-1190 (2010)

植物園で色とりどりの花を見て心豊かになり、美術館で色彩豊かな絵に感動し、スーパーで色づきの良い果物を購入する。色覚は、聴覚・味覚などとともに、生物本来の営みに重要な感覚応答である。それではどのように“色”を見分けるのだろうか？色受容体は、タンパク質+レチナール色素(ビタミンAのアルデヒド型:だからビタミンAが目が良いと言われる)からなり、ヒトは青・緑・赤(いわゆる3原色)の光を吸収する3種類のタンパク質により、丁度絵の具の混じり合わせのように“色”を見分ける。

1984年に微生物も青・緑色を認識していることが明らかとなった。この受容体も、色素としてレチナールを持ち、タンパク質部分が7回膜貫通型 α ヘリックスからなるなど、ヒトなどの動物型ロドプシンと共通の特徴を持っている。これら色素タンパク質は総称してロドプシン類と呼ばれる[1]。私たちは、様々な色を持つロドプシン類を様々な微生物から単離・精製するとともに(図1)、青色光受容体(SRII)を材料に、色認識や信号伝達の解析を行っている[2,3]。2008年に、本特定領域研究の援助を受け、これまで不安定で解析の難しかった緑色光受容体(SRI)を、スペインの塩湖に生息する細菌(*Salinibacter ruber*)から単離すること



図1. 我々が保持する様々なロドプシンタンパク質

レチナール(中央の黄色分子)という共通の発色団を持ちながら、様々な色彩を呈するロドプシン分子を眺めると時間が経つのを忘れる。

に成功し、*SrSRI* と名付けた[4]。この極めて安定な分子により、これまで難しかった1)脱塩下での実験、2)変異体での実験が可能となった。実際、1)により、SRIの色認識にCl⁻イオンが関わることやタンパク質の構造変化を明らかにすることが出来た[5,6]。本研究では、SRIとSRIIのそれぞれで保存されたアミノ酸をピックアップし、2)の利点を生かし、様々なSRI及びSRII変異体を作成した。これらの吸収極大波長(色)を比較することで、わずか3つのアミノ酸残基が、青色(SRII)-緑色(SRI)受容体間の色の違いに約50%寄与することがわかった(図2)(論文1)。他の微生物から見出した新規SRI分子(論文2)も組み合わせながら、SRIの色制御機構についてさらに解析を進めるとともに、他の微生物から見出したロドプシン分子(図1)に解析対象を広げ、広くロドプシンタンパク質の色制御機構を明らかにしていきたい。

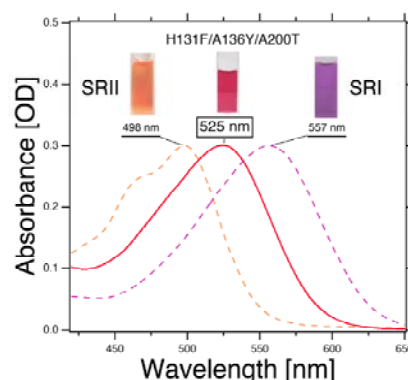


図2. SRIの3重変異体の吸収スペクトル

引用文献

- [1] D. Suzuki, H. Irieda, M. Homma, I. Kawagishi, and Y. Sudo, *Sensors* **10**, 4010-4039. (2010)
- [2] Y. Sudo, and J. L. Spudich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 16129-16134. (2006)
- [3] Y. Sudo, Y. Furutani, A. Wada, M. Ito, N. Kamo, and H. Kandori, *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 16036-16037. (2005)
- [4] T. Kitajima-Ihara, Y. Furutani, D. Suzuki, K. Ihara, H. Kandori, M. Homma, and Y. Sudo, *J. Biol. Chem.* **283**, 23533-23541. (2008)
- [5] D. Suzuki, Y. Sudo, Y. Furutani, H. Takahashi, M. Homma, and H. Kandori, *Biochemistry* **47**, 12750-12759. (2008)
- [6] D. Suzuki, Y. Furutani, K. Inoue, T. Kikukawa, M. Sakai, M. Fujii, H. Kandori, M. Homma, and Y. Sudo, *J. Mol. Biol.* **392**, 48-62. (2009)