

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19056009

研究課題名（和文）極限的分光計測による複雑系高次分子機能の研究

研究課題名（英文）Study of Supra Functional Systems by Advanced Molecular Spectroscopy

研究代表者

田原 太平 (Tahara Tahei)

独立行政法人理化学研究所・田原分子分光研究室・主任研究員

研究者番号：60217164

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学・物理化学

キーワード：凝縮相、ダイナミクス、超高速分光、非線形分光、時空間分光計測、相関分光、分子複雑系、生体関連分子

### 1. 研究計画の概要

溶液をはじめとする凝縮相の分子科学研究においては、これまで単純分子系の研究によって蓄積した深い知識と高い技術を、いかに新しい問題の解明に向けるかが重要な課題である。そのターゲットの一つは、間違いなく生体系を頂点とする複雑系における分子の性質と機能の理解と制御である。本研究では、世界的にみてトップレベルにあるわれわれの分光計測技術を発展させ、さらに新しい極限的分光計測方法論の開発を行うとともに、高次構造を有する複雑分子系の研究を行う。具体的には以下の3つを骨子とする。

- (1) 超高速分光を用いた生体分子系のダイナミクスの解明と機能発現機構の解明、
- (2) 界面選択的な新規非線形分光の開発とそれを用いた生体モデル系界面の分光計測、
- (3) 極限的時空間分光計測法の開発と細胞を含む複雑系における分子ダイナミクスの実測。

### 2. 研究の進捗状況

3つの課題に関して代表的な成果を述べる。

- (1) 超高速分光を用いた生体分子系のダイナミクスの解明と機能発現機構の解明

生物分野でのイメージング研究に必須な蛍光タンパク質 (GFP) の発光機構を理解するために典型的な GFP について、マルチプレックス二光子吸収分光法により二光子吸収スペクトルを測定し、GFP の発色団のアニオン種には  $S_1$  状態近傍に隠れた電子励起状態が存在していることを指摘した。ハロロドプシンの反応初期過程を 10 フェムト秒パルスを用いた極限的なポンププローブ分光を用いて研究し、反応初期ダイナミクスを司

るポテンシャル曲面について新しいモデルを提出した。多原子分子の反応座標の理解を深化させるために、約 1 ps の時定数で光異性化を起こすシス-スチルベンの構造変化を研究し、時間分解フェムト秒インパルスラマン分光法と量子化学計算を併用してその多次元の反応座標を明示的に示した。

- (2) 界面選択的な新規非線形分光の開発とそれを用いた生体膜モデル界面の分光計測

われわれが開発したマルチプレックス電子と周波 (ESFG) 分光測定をヘテロダイン検出へ発展させた。これによって、界面分子の電子スペクトル測定の高感度化が達成されたのみならず、二次非線形感受率の実部と虚部を別々に決定できるようになった。

- (3) 時空間分解分光計測法の開発と細胞を含む複雑系の分子ダイナミクスの実測

核酸、タンパク質などの生体高分子に特有のダイナミクスは、低分子には見られない遅い時間スケールの運動で特徴づけられ、それが機能発現において本質的に重要であると考えられる。ナノ秒からミリ秒の広範な時間領域での複雑分子のダイナミクスを追跡する手段として、蛍光寿命の情報を取り込んだ新しいタイプの蛍光相関分光を開発した。

### 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

本研究において推進した3つの課題は平成21年度までに大きな成果を上げ、超高速分光、界面選択的非線形分光、いずれにおいても世界トップで研究が展開できている。特に、偶数次の非線形分光による研究では、われわれが世界で初めて実現した ESFG 分光を基盤として研究を展開することができた。この測

定法は未だわれわれの研究室でしか実行できないことから、世界においてオンリーワンの状況である。さらに、特定領域研究の最大の長所である連携研究も進んだ。例えば、ハロドプシンの反応初期過程の研究は、ロドプシン研究の権威である A03 班の神取教授の研究グループとの共同研究であり、本特定領域研究によって可能になった有機的連携によるものである。

#### 4. 今後の研究の推進方策

さらに高次分子系を強く意識して研究を推進する。超高速分光による研究では、新たにフェムト秒の白色光を用いた時間分解誘導ラマン分光の装置を製作する。これはわれわれが用いてきた時間分解インパルスラマン分光と相補的な計測法で、両者を組み合わせることによってフェムト秒領域で構造変化する分子のラマンスペクトルを  $0\text{ cm}^{-1}\sim 3500\text{ cm}^{-1}$  の全振動数領域で測定可能になる。偶数次非線形分光計測では、特に、新たに開発したヘテロダイン ESFG (HD-ESFG) 分光の最大の長所を利用した研究を展開する。界面の酸-塩基平衡など界面の基本的性質を明らかにする。また、フェムト秒レーザーを光源に採用し開発した新しい蛍光相関分光によって、複雑分子系の不均一さを検出することを試みる。最終年度には、5年間の研究を総括するとともに、特に意識して国際研究集会などを通じて世界へ発信する。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 22 件)

- ① H. Hosoi, S. Yamaguchi, H. Mizuno, A. Miyawaki, and T. Tahara “Hidden electronic state of enhanced green fluorescent protein,” *J. Phys. Chem. B*, 112, 2761-2763 (2008) 査読有.
- ② S. Yamaguchi and T. Tahara, “Heterodyne-detected electronic sum frequency generation: “Up” vs. “down” alignment of interfacial molecules,” *J. Chem. Phys.*, 129, 101102/1-101102/4 (2008) 査読有.
- ③ T. Nakamura, S. Takeuchi, M. Shibata, M. Demra, H. Kandori, and T. Tahara, “Ultrafast pump-probe study of primary photoreaction dynamics in *pharaonis* halorhodopsin: Halide-ion dependence and isomerization dynamics,” *J. Phys. Chem. B*, 112, 12795-12800 (2008) 査読有.
- ④ S. Takeuchi, S. Ruhman, T. Tsuneda, M. Chiba, T. Taketsugu, and T. Tahara,

“Spectroscopic tracking of structural evolution in ultrafast stilbene photoisomerization,” *Science*, 322, 1073-1077 (2008) 査読有.

- ⑤ K. Ishii, S. Takeuchi and T. Tahara, “Infrared-induced coherent vibration of a hydrogen-bonded system: Effects of mechanical and electrical anharmonic couplings,” *J. Chem. Phys.*, 131, 044512/1-044512/9 (2009) 査読有.

[学会発表] (計 51 件)

- ① T. Tahara (招待講演), “Looking for the reaction coordinate of photoisomerization of *cis*-stilbene,” Gordon Conference on Vibrational Spectroscopy, August 3-8, 2008, South Hadley, MA, USA.
- ② T. Tahara (招待講演), “New interface-selective electronic nonlinear spectroscopy and its relevance to two-dimensional spectroscopy,” 4<sup>th</sup> International Conference on Coherent Multidimensional Spectroscopy, August 3-8 (2008), Kyoto, Japan.
- ③ T. Tahara (招待講演), “Ultrafast Photochemical Dynamics Studied by Femtosecond Time-Resolved Fluorescence Spectroscopy,” Fluorescence 2009, March 16-19 (2009), Mumbai, India.
- ④ T. Tahara (招待講演), “Observing structural evolution of reacting molecules: ultrafast photoisomerization of *cis*-stilbene,” Femtochemistry IX, August 8-13 (2009), Beijing, China.
- ⑤ T. Tahara (招待講演), “Development of New Interface-Selective Nonlinear Spectroscopy and Its Application,” Second Asian Spectroscopy Conference, Nov. 31- Dec. 2, 2009. Seoul, Korea.

[図書] (計 1 件)

- ① T. Fujino and T. Tahara, CRC Press, “Ultrafast Fluorescence Microscope,” In *Biochemical Application of Nonlinear Optical Spectroscopy*, 2009, Chapter 3, 20 pages (p. 53 - 72).

[その他]

ホームページ

<http://www.riken.go.jp/lab-www/spectroscopy>