

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25248009

研究課題名(和文) 光受容蛋白質の初期分子ダイナミクス可視化をめざしたフェムト秒構造化学研究

研究課題名(英文) Femtosecond Structural Study for Visualization of the Primary Dynamics of Photoreceptor Proteins

研究代表者

竹内 佐年 (Takeuchi, Satoshi)

国立研究開発法人理化学研究所・田原分子分光研究室・専任研究員

研究者番号：50280582

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 36,800,000円

研究成果の概要(和文)：極限まで高度化した独自のフェムト秒時間領域ラマン分光により、光受容タンパク質の初期の分子過程を生理条件のもとに観測し、解明した。特にイエロープロテインでは、励起状態の低波数ラマン信号の振舞いを初めて観測し、光吸収後の100 fsで発色団と隣接するアミノ酸残基との間の水素結合が弱くなることを示した。また、発色団が励起状態の間は初期のトランス型構造を保持するのに対し、最初の基底状態中間体では捩れたシス型に異性化していることを明らかにした。さらに、新規の2次元フェムト秒ラマン励起プロフィール分光を開発し、超高速異性化に伴う励起分子の振舞いを構造の観点から可視化することに成功した。

研究成果の概要(英文)：We elucidated the initial events of photoreceptor proteins at the molecular level using femtosecond time domain Raman spectroscopy that has been graded up to the ultimate level. The data obtained from photoactive yellow protein showed ultrafast changes in the low-frequency Raman signals, indicating that the hydrogen bond between the chromophore and adjacent amino acid residue is weakened in 100 fs after photoabsorption. It was also shown that the chromophore retains its initial trans conformation during the excited state lifetime, whereas it has a distorted cis conformation in the first ground state intermediate. In addition, we developed a new method, two dimensional femtosecond Raman excitation profile spectroscopy, and succeeded in visualizing the structural evolution of excited state molecules in ultrafast photoisomerization.

研究分野：分子光学

キーワード：時間分解分光 ラマン散乱 光受容タンパク質 フェムト秒 水素結合 光異性化

## 1. 研究開始当初の背景

光受容タンパク質は、生物が光を吸収しそれを生体信号やエネルギーに変換する機能のセンサー部分に相当し、生命活動の維持に重要な役割を果たしている。光を吸収した発色団分子に何が起こり、それがいかにして機能の発現につながるかを知るために、これまで赤外吸収、ラマン、NMR、X線回折など、様々な実験手法により多くの研究が行われてきた。例えば、紅色光合成細菌の負の走光性(光から遠ざかる性質)をつかさどるイエロープロテイン(PYP)では、発色団である trans-p-クマル酸が青色光を吸収して trans-cis 異性化を起こし、それがタンパク質全体の構造変化を引き起こす、という機構が提案されている。しかし実験上の困難から、従来の研究は100ピコ秒より遅い時間領域に現れる電子基底状態の中間種に関するものが中心であり、光吸収直後の構造情報は十分とは言えなかった。つまり、光受容タンパク質がいかにして機能発現に向けた一連の動作を開始するか、ほとんど分かっていない状況であった。光吸収後のフェムト秒領域にはすでに、発色団の変化(光化学反応)は始まっていると考えられる。従って、フェムト~ピコ秒領域で(i)発色団がどのような構造変化を起こし、(ii)それが発色団-タンパク質間の相互作用にどのような変化を引き起こすのかを解明することは、光受容タンパク質の「機能のはじまり」を理解するうえで極めて重要であると言える。

研究開始の当初、我々は10フェムト秒級の極短パルス光を用いた独自の時間領域分光により、それまで困難であったフェムト秒領域でのラマン測定を可能とし、それにより cis-trans 光異性化を起こす最も基本的なモデル分子であるスチルベンの構造変化の可視化に成功していた。また、独自の紫外共鳴フェムト秒誘導ラマン分光を用いて trans-p-クマル酸(PYP発色団)の構造ダイナミクスを緩衝水溶液中で調べ、(i)フェムト秒領域ですばやい面内変形が起こるが、(ii)電子励起状態の間は trans 形が保たれている、という結論をすでに得ていた。この研究により、発色団分子の初期過程に関する基礎的な知見を得ることができたとともに、我々の先端的な分光手法がタンパク質にも適用可能であるという感触を得た。よって、我々が培ってきた独自の先端分光手法を光受容タンパク質に適用すれば、光励起された発色団分子の構造をフェムト秒時間スケールで追跡すると同時に、周辺アミノ酸残基との相互作用の変化を明らかにすることができ、それはタンパク質の動作機序の理解に向けた新たな展開をもたらすと期待されていた。

## 2. 研究の目的

本研究では、光受容タンパク質の機能発現における最初の分子過程を観測し、可視化し、解明することを目標とする。特に、(i)近赤外

光を用いた二次元フェムト秒誘導ラマン分光を開発し、それにより励起分子のすばやい構造発展と電子緩和を観測する。これにより、発色団分子が光を吸収した後に起こす反応や内部転換等のダイナミクスを構造の観点から追跡する方法論を確立する。また、(ii)我々の独自のフェムト秒時間領域ラマン分光を極限まで高度化し、それを光受容タンパク質に適用することにより、発色団およびその周辺アミノ酸残基の構造ダイナミクスを初めてフェムト秒スケールで観測する。これらの構造データにもとづいて、発色団からタンパク質部位への構造変化の伝播経路と時間スケールを明らかにする。これにより、タンパク質が機能を発現し始める精巧な分子メカニズムと動作機序を分子科学に立脚して深く理解するとともに、新規機能を有するタンパク質設計等、タンパク質科学の新たな方向性の創出をめざす。

## 3. 研究の方法

本研究では、複数の極短パルス光を用いた二次元フェムト秒誘導ラマン分光(FSRS)および広帯域フェムト秒時間分解インパルスラマン分光(TR-ISRS)のための分光装置を開発、最適化し、これらを駆使したフェムト秒構造化学研究を推進した。

二次元 FSRS による研究では、チタンサファイア再生増幅器の出力光(800 nm, 80 fs, 1 mJ, 1 kHz)を光源として用い、測定に必要な励起光(Ex光)、ラマン励起光(Rp光)、プローブ光(Pr光)を発生させた。まず、基本波の一部(0.2 mJ)で非同軸光パラメトリック増幅器(NOPA)を励起し、その出力をプリズム対によりパルス圧縮し、Ex光(610 nm, 20 fs)を得た。残りの基本波で同軸光パラメトリック増幅器(OPA)を励起し、そのシグナルまたはアイドラー出力を第二高調波に変換することにより、600~1200 nmで波長可変なフェムト秒パルスを得た。そのスペクトル幅を回折格子(600 gr/mm)、レンズ( $f = 300$  mm)、可変スリットから成る4f光学系により $20\text{ cm}^{-1}$ 程度にまで狭帯域化し、それをRp光として使用した。上記のシグナルまたはアイドラー出力の一部をサファイア板(厚み3 mm)に集光し、発生したフェムト秒白色光をPr光として用いた。上記のEx光、Rp光、Pr光をフローセル中の同一点に集光し、Rp光のON/OFFによるPr光スペクトル強度の変化を分光器とInGaAs多チャンネル検出器で検出し、誘導ラマンスペクトルを得た。

TR-ISRS分光による研究では、上記と同じチタンサファイア再生増幅器を光源として用いて2つのNOPAを励起し、独立に波長可変の2つパルス光を発生させた。一方のNOPA出力を波長450 nmの励起光(P1)として用いた。光励起の過程で生じる振動コヒーレンスの影響を調べるため、P1光をプリズム対で30 fs程度までパルス圧縮する、または、4f光学系でスペクトル幅を狭帯域化しパルス

幅を 300 fs 程度まで伸長できる光学配置とした。他方の NOPA 出力(520~700 nm の広帯域光)はインパルスラマン測定のためのラマン励起光(P2)およびプローブ光(P3)として用いるため、極限的な短パルス化が実験上の鍵となる。そこでまず、前置プリズム対を用いて 15 fs 程度まで圧縮した後、それを回折格子、凹面鏡、可変形鏡から構成される 4f 光学系に導入し、群遅延分散を高次項まで補償した。圧縮後のパルス幅や位相構造は、試料位置において自己回折方式の周波数分解光ゲート測定により評価した。この評価信号をフィードバックし、いわゆる遺伝アルゴリズムを用いたプログラムにより可変形鏡の形状を最適化した。この方法によりフーリエ変換限界に近い 6 fs へのパルス圧縮を実現した。P1-P2 および P2-P3 間の遅延時間をモーター駆動ステージおよびピエゾ駆動ステージで調整したのち、これら 3 つのパルス光を試料のフローセルに集光した。試料を透過した P3 光の強度をフォトダイオードで検出し、P2 光の ON/OFF による変化分からインパルスラマン信号を求めた。

#### 4. 研究成果

##### (1) 近赤外 FSRS による構造追跡

光励起された発色団分子のすばやい電子緩和とそれに伴う構造ダイナミクスの解明は、光受容タンパク質による機能発現の始まりを理解する上で非常に重要である。特にフェムト~ピコ秒領域で基底状態に失活する分子の場合、円錐交差点やポテンシャル funnel 領域を経由したすばやい緩和過程の解明が鍵といえる。このような分子では緩和とともに  $S_1$ 、 $S_0$  状態のポテンシャル曲面が接近するため、両者の間の遷移エネルギーが小さくなる。そこで、光子エネルギーの小さい近赤外光を用いたフェムト秒時間分解吸収および FSRS による研究を強く推進し、超高速光異性化を起こす代表的なモデル分子であるシアニンに対する実験を進めた。

まず、シアニン分子を 610 nm 光で  $S_1$  状態に光励起し、400~1300 nm で時間分解吸収スペクトルを測定したところ、600 nm 付近の基底状態吸収の褪色に加えて、650~800 nm 領域の誘導放出および 400、950 nm 付近の励起状態吸収が観測された。この誘導放出バンドは 1 ps にかけて 1200 nm 領域まで長波長シフトを示した。これは、 $S_1$  分子がポテンシャルの近接領域に近づくことに対応していると考えられる。

次に、 $S_1$  分子の構造ダイナミクスを調べるために、1100 nm のラマン励起光を用いた FSRS 測定を行った。この波長は誘導放出帯の長波長端に相当するため、ポテンシャル funnel 領域近傍の  $S_1$  分子を選択的に共鳴増強して観測することができると考えられる。光励起の直後(0.1 ps)、指紋領域にいくつかのバンドが観測された。中でもキノリン環の伸縮の寄与を多く含む 1570  $\text{cm}^{-1}$  バンドは、

0.6 ps にかけて 1600  $\text{cm}^{-1}$  まで高波数シフトを示すことから、異性化に伴う構造変化の良い指標であると考えられる。

一方、励起直後のフランクコンドン状態近傍の  $S_1$  分子を選択的に共鳴増強できると考えられる 740 nm のラマン励起光を用いた測定では、このマーカースバンドは 1555  $\text{cm}^{-1}$  に観測された。この振動数は 1100 nm ラマン励起の場合の初期値(1570  $\text{cm}^{-1}$ )よりも低波数であることから、擦れがより小さい  $S_1$  分子が観測されていることを裏付けている。このラマン信号は  $S_1$  状態の寿命(1.3 ps)よりも早く消えることから、異性化に伴う構造変化が ~100 fs の時間スケールで進み、フランクコンドン状態近傍の  $S_1$  分子が速やかに消えることを示していると考えられる。このことは、1100 nm ラマン励起で観測された擦れた  $S_1$  分子の信号が 0.1 ps にはすでに立ち上がっていることにも対応している。

そこで、異性化によって擦れる  $S_1$  分子の構造ダイナミクスを追跡するために、誘導放出帯の全域にわたりラマン励起波長を 740, 780, 836, 902, 983, 1100 nm と変えて FSRS 信号を測定し、各時刻においてラマンスペクトル vs ラマン励起波長の二次元プロットを得た。これは二次元フェムト秒ラマン励起プロフィール分光と呼べる新規の分光方式であり、ポテンシャル曲面上の  $S_1$  分子の振舞いを構造の観点から直感的に理解することのできる新しい表現といえる。この測定により、シアニン分子は光励起後 ~100 fs の時間スケールですばやく擦れ座標にそった異性化を起こし、その一部はポテンシャル funnel 領域に達することが分かった。また、異性化座標にそって構造分布が広がり、その重心が時間とともに funnel 領域に近づくダイナミクスの可視化に成功したといえる。

##### (2) 時間領域ラマン分光装置の性能極限化 広帯域 TR-ISRS による研究では、装置性能を大幅に向上させることに成功し、それにより光受容タンパク質に対するフェムト秒ラマン分光を実現した。

まず、可変形鏡を組み込んだ 4f 光学系を導入することにより、ラマン励起光(P2)およびプローブ光(P3)をフーリエ変換限界に近い約 6 fs まで圧縮することに成功した。この結果、時間領域ラマン分光が本来得意とする低波数(THz)領域だけでなく、指紋領域、さらには 3000  $\text{cm}^{-1}$  の高波数領域の振動の検出を可能とした。つまり、ほぼすべてのラマン活性な振動基音を時間領域で直接的に捉えることが可能となった。これに加えて、レーザー光源の更なる安定化により数  $\mu\text{OD}$  レベルまで検出限界を下げたこと、試料循環方式の工夫により周期的なノイズ源を除去したこと、長作動距離ピエゾ素子を使って光学遅延を精密に掃引することにより時間領域分光の周波数の偏差を 1  $\text{cm}^{-1}$  以下に抑えたことなど、多くの点で性能の向上を達成した。

これにより、この TR-ISRS 分光は時間分解能、観測波数領域幅、検出感度などの重要な点においてほぼ究極の時間分解ラマン分光計といえるレベルに達したと考えている。この分光装置の開発、性能向上に関する成果は Rev. Sci. Instrum. に報告済みである。

### (3) PYP の初期構造ダイナミクス

イエロープロテイン (Photoactive Yellow Protein; PYP) は紅色光合成細菌 (*Halorhodospira halophila*) が有する光受容タンパク質であり、その負の走光性を担っていると考えられている。このタンパク質では、Cys69 残基に繋がれた発色団分子 trans-p-クマル酸が青色光を吸収して trans-cis 異性化を起こし、それが、いくつかの中間体を含む光サイクル反応を通してタンパク質全体の構造変化を引き起こし、機能発現に繋がると理解されてきた。これまで PYP の機能発現機構を分子レベルで理解するために様々な実験手法による研究が行われ、ナノ秒より遅い時間領域に現れる中間体 (pR, pB) については発色団構造やプロトン化状態などの詳細が明らかにされてきた。しかし、光励起状態 ( $pG^*$ ) や最初の基底状態中間体 ( $I_0$  状態) については、その後の光サイクル反応を引き起こす重要な初期過程であるにもかかわらず、実験上の困難により構造変化の知見が得られていなかった。そこで我々は TR-ISRS 分光による PYP の光反応初期構造ダイナミクスの研究を行った。

実験では、450 nm の P1 光で PYP (緩衝溶液中、pH7) を光励起した後、様々な遅延時刻 ( $\Delta T$ ) に P2 光を導入し、それにより誘起されたコヒーレントな核運動を P3 光の吸収の変化として時間領域で観測した。この時間領域で観測された信号 (振動成分) をフーリエ変換することで各遅延時刻におけるラマンスペクトルを得た。この測定で使用した P2 光および P3 光のスペクトル (520 ~ 700 nm) は PYP 基底状態の吸収とは重なりを持たないが、励起状態 ( $pG^*$ ) や最初の基底状態中間体 ( $I_0$ ) の吸収とは重なる。この共鳴条件のため、得られたラマン信号は  $pG^*$  および  $I_0$  状態に帰属することができる。

実験の結果、光励起直後のラマンスペクトルには 1160、751、538、310、135  $cm^{-1}$  に主要なバンドが観測された。これらは光励起とともに現れ、10 ps までにほぼ消滅した。このラマンスペクトルは PYP 基底状態 (pG) のスペクトルとは明確に異なる一方、20 fs ポンプ・7 fs プローブ実験で観測された励起状態の振動スペクトルとはよく似たパターンを示した。このことから、TR-ISRS 分光で得られた光励起直後のラマンスペクトルを PYP の励起状態 ( $pG^*$ ) に帰属した。この測定の結果、指紋領域の  $pG^*$  スペクトルは励起状態の寿命の間、大きな変化を示さないことが分かった。従って、発色団分子 pCA は励起状態の間、初期のトランス型の構造を保持している

と考えられる。

しかし、スペクトルを詳細に調べた結果、135  $cm^{-1}$  の低波数バンドだけが他には見られない約 100 fs のすばやい減衰を示すことが分かった。この低波数バンドは、報告されているフェムト秒蛍光分光や分子動力学シミュレーションの結果から、発色団分子と直接的に水素結合するアミノ酸残基 (Glu46 と Tyr42) との間の分子間の動きを含む振動であると考えられている。従って、この観測結果は光励起直後の 100 fs 以内に発色団周辺の水素結合構造が変化することを示唆する。

この初期ダイナミクスを理解するため、46 位のグルタミン酸をグルタミンに交換した変異体 (E46Q) に対する測定も行った。この結果、野生種で光励起直後に強く観測される 135  $cm^{-1}$  のラマン信号が変異体では弱いこと、また、数百フェムト秒以降では両試料がよく似たスペクトルを示すことが分かった。これは、野生種において光励起後の約 100 fs 以内に、発色団分子と 46 位グルタミン酸との間の水素結合が弱くなることを示している。

PYP 基底状態 (pG) における発色団周辺の水素結合構造は中性子回折により調べられており、発色団と Glu46 との間の結合はいわゆる低障壁水素結合と呼ばれる、通常より強い水素結合だと報告されている [1]。一方、ピコ秒紫外共鳴ラマン分光で周辺アミノ酸残基の振動を観測した研究によると、この結合は光励起後 3 ps の時点ですでに通常の水素結合であると報告されている [2]。従って、我々が観測したフェムト秒ラマン信号の変化は、発色団と Glu46 との間の結合が低障壁型から通常強度の水素結合への変化によるものと理解することができる。このような水素原子位置のわずかな変位を伴う結合変化は、光励起された発色団分子の中での電荷分布の変化とそれによる結合サイトでの酸性度の変化によってすばやく引き起こされると考えられ、このことが、発色団による光吸収を周辺アミノ酸残基の構造変化へと伝えるための機構だと考えることができる。

### (4) $I_0$ 中間体の構造

PYP の励起状態 ( $pG^*$ ) が寿命 2.4 ps で減衰した後、最初の基底状態中間体 ( $I_0$  状態) が生じる。この  $I_0$  状態は PYP の機能発現のいわば出発点と呼べる状態であり、その構造に興味を持たれている。我々はこの  $I_0$  状態の構造を調べるため、遅延時刻  $\Delta T$  を 60 ps に固定して TR-ISRS 信号を測定し、観測された振動成分をフーリエ変換することで  $I_0$  状態のラマンスペクトルを得ることに成功した。測定の結果、 $I_0$  状態のラマン信号は 45、630  $cm^{-1}$  付近に強いバンドをもつ特異なスペクトルパターンを示した。また、これらの主要なバンドに比べて一桁ほど弱い、指紋領域全体にわたり多くの重要なバンドも確認することができた。この  $I_0$  スペクトルは基底状態 pG や遅い時間領域に現れる pR 中間体のスペク

トルとは明確に異なることから、 $I_0$  状態の特徴的な構造を示すものと考えられる。

$I_0$  状態のラマン信号から得られる重要な構造情報の1つは、発色団の C=O 基とタンパク質骨格との間の水素結合状態に関するものである。実際、 $1600\text{ cm}^{-1}$  領域に観測される C=O 伸縮振動バンドはその良いマーカーとして知られ、水素結合を有する pG 状態では  $1628\text{ cm}^{-1}$  に観測され、一方、発色団が異性化し水素結合が切れた pR 状態では  $1666\text{ cm}^{-1}$  まで高波数シフトする。 $I_0$  状態においてこの C=O 伸縮振動バンドは  $1634\text{ cm}^{-1}$  に観測され、この振動数は pG 状態における値に近い。従って、 $I_0$  状態では発色団の C=O 基はタンパク質骨格と水素結合していると結論した。

さらに、 $I_0$  状態における発色団分子の骨格構造を明らかにするために、量子化学計算にもとづくスペクトルとの比較を行った。これまで PYP の最初の基底状態中間体については、X 線構造解析にもとづいた結晶相での構造が精力的に研究され、2 つの異なる構造 ( $pR_0$ [3] および  $I_T$ [4]) が提案されている。これらの構造では、発色団分子の C=C 結合まわりの二面角がそれぞれ  $33^\circ$ 、 $81^\circ$  と明確に異なり、両者をめぐる論争が続いている。そこで我々は、発色団分子および隣接する3つの重要なアミノ酸残基 (Try42, Glu46, Cys69) からなるモデル系を用意し、その構造を、結晶構造を初期値として使用した密度汎関数計算により最適化した。この最適化構造に対して振動解析を行い、ラマンスペクトルを計算した結果、 $I_T$  構造よりも  $pR_0$  構造にもとづく計算スペクトルの方が実験で得られた  $I_0$  スペクトルによく似ていることが分かった。これにより、生理条件下で生じる最初の基底状態中間体 ( $I_0$  状態) では、発色団分子がやや捻れたシス型構造をとっていると結論した。 $I_0$  スペクトルで強く観測された  $630\text{ cm}^{-1}$  付近のバンドはいわゆる HOOP (hydrogen out of plane) モードに帰属できる振動であり、この振動が強く観測されることは分子骨格が捻れていることによると理解できる。

上記のとおり、PYP の初期過程ではまず、光励起された発色団分子 (pCA) の電子分布の変化を反映する形で、隣接する Glu46 との間の水素結合が  $100\text{ fs}$  程度で弱くなり、周辺の水素結合構造が変化する。pCA の骨格構造そのものは励起状態の寿命の間、初期のトランス型が保持されているが、最初の基底状態中間体 ( $I_0$  状態) が生成する過程で異性化が進行し、捻れたシス型となる。この捻れた骨格はタンパク質の環境で実現される特徴的な構造であり、その歪みに蓄えられたエネルギーがその後の光サイクル反応を引き起こす原動力になっていると考えられる。

#### 参考文献

[1] S. Yamaguchi et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 106, 440 (2009). [2] M. Mizuno et al, J. Phys. Chem. B 115, 9306 (2011). [3] F. Schotte, et al. Proc. Natl. Acad.

Sci. USA. 109, 19256 (2012). [4] Y. Jung, et al, Nat. Chem. 5, 212 (2013).

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計10件)

(1) T. Fujisawa, H. Kuramochi, H. Hosoi, S. Takeuchi, T. Tahara, "Role of Coherent Low Frequency Motion in Excited-State Proton Transfer of Green Fluorescent Protein Studied by Time-Resolved Impulsive Stimulated Raman Spectroscopy", Journal of American Chemical Society, 138, 3942 - 3945 (2016). DOI: 10.1021/jacs.5b11038 (査読有り)

(2) M. Iwamura, R. Wakabayashi, J. Maeba, K. Nozaki, S. Takeuchi, T. Tahara, "Coherent vibration and ultrafast dynamics upon bond formation in excited dimers of Au(I) complex", Physical Chemistry Chemical Physics, 18, 5103 - 5107 (2016). DOI: 10.1039/c5cp06651d (査読有り)

(3) S. Tahara, S. Takeuchi, R. Abe-Yoshizumi, K. Inoue, H. Ohtani, H. Kandori, T. Tahara, "Ultrafast Photoreaction Dynamics of a Light-driven Sodium-ion-pumping Retinal Protein from *Krokinobacter eikastus* Revealed by Femtosecond Time-resolved Absorption Spectroscopy", Journal of Physical Chemistry Letters, 6, 4481 - 4486 (2015). DOI: 10.1021/acs.jpcclett.5b01994 (査読有り)

(4) M. Yamashina, M. M. Sartin, Y. Sei, M. Akita, S. Takeuchi, T. Tahara, M. Yoshizawa, "Preparation of Highly Fluorescent Host-Guest Complexes with Tunable Color upon Encapsulation", Journal of American Chemical Society, 137, 9266 - 9269 (2015). DOI: 10.1021/jacs.5b06195 (査読有り)

(5) H. Hosoi, R. Tayama, S. Takeuchi, T. Tahara, "Solvent Dependence of Two-photon Absorption Spectra of the Enhanced Green Fluorescent Protein (eGFP) Chromophore", Chemical Physics Letters, 630, 32 - 36 (2015). DOI: 10.1016/j.cplett.2015.04.028 (査読有り)

(6) M. Iwamura, S. Takeuchi, T. Tahara, "Ultrafast Excited-State Dynamics of Copper (I) Complexes", Accounts of Chemical Research, 48, 782 - 791 (2015). DOI: 10.1021/ar500353h (査読有り)

(7) L. Hua, M. Iwamura, S. Takeuchi, T. Tahara, "The substituent effect on the MLCT excited state dynamics of Cu(I) complexes studied by femtosecond time-resolved absorption and observation of coherent nuclear wavepacket motion", Physical Chemistry Chemical Physics, 17, 2067 - 2077 (2015). DOI: 10.1039/c4cp03843f (査読有り)

(8) T. Fujisawa, S. Takeuchi, S. Masuda, T. Tahara, "Signaling-State Formation Mechanism of a BLUF Protein PapB from the Purple Bacterium *Rhodospseudomonas palustris* Studied

by Femtosecond Time-resolved Absorption Spectroscopy", Journal of Physical Chemistry B, 118, 14761 - 14773 (2014). DOI: 10.1021/jp5076252 (査読有り)

(9) Y. Sudo, M. Mizuno, Z. Wei, S. Takeuchi, T. Tahara, Y. Mizutani, "The Early Steps in the Photocycle of a Photosensor Protein Sensory Rhodopsin I from *Salinibacter ruber*", Journal of Physical Chemistry B, 118, 1510 - 1518 (2014). DOI: 10.1021/jp4112662 (査読有り)

(10) M. Iwamura, S. Takeuchi, T. Tahara, "Substituent Effect on the Photoinduced Structural Change of Cu(I) Complexes Observed by Femtosecond Emission Spectroscopy", Physical Chemistry Chemical Physics, 16, 4143-4154 (2014). DOI: 10.1039/c3cp54322f (査読有り)

〔学会発表〕(計 79 件)

《招待講演》(計 14 件)

(1) S. Takeuchi, "Primary structural dynamics of photo-responsive proteins probed by ultrafast time-domain Raman spectroscopy", 9th Asian Conference on Ultrafast Phenomena, Quezon (Philippines), February 22-24, 2016.

(2) S. Takeuchi, "Ultimate time-domain Raman approach to reveal ultrafast nuclear motions in photoreception", 13th Trombay Symposium on Radiation and Photochemistry, Mumbai (India), January 5-9, 2016.

(3) S. Takeuchi, "Probing ultrafast structural dynamics in reacting polyatomic molecules by time-domain Raman spectroscopy", ICP 2015 Satellite Meeting, Seoul (Korea), July 4-5, 2015.

(4) S. Takeuchi, "Ultimate Time-Domain Raman Study of Ultrafast Structural Dynamics in Photoreception", 27th ICP 2015, Jeju (Korea), June 28-July 3, 2015.

(5) 竹内佐年、「究極の超高速時間領域ラマンで観る光受容蛋白質の振舞い」、新学術領域研究 柔らかな分子系 第 8 回ワークショップ、岡山いこいの村(岡山県・瀬戸内市) 2015 年 1 月 24-25 日。

(6) 竹内佐年、「極短パルス光で探る分子の形と動きと反応」、東京理科大学理工学部物理学科 連携大学院セミナー、東京理科大学(千葉県・野田市) 2014 年 12 月 19 日。

(7) 竹内佐年、「極限的に短いレーザー光で探る分子の形と動きと反応」、筑波大学数理物質科学研究科 化学セミナー、筑波大学(茨城県・つくば市) 2014 年 12 月 11 日。

(8) 竹内佐年、倉持 光、田原太平、「超高速時間領域ラマンによる化学結合ダイナミクスの観測と解明」、第 2 回光量子工学研究領域シンポジウム、情報産業プラザ(宮城県・仙台市) 2014 年 11 月 25-26 日。

(9) 竹内佐年、「時間分解インパルスラマン分光で探る銅錯体の光誘起構造ダイナミクス」、錯体化学会 第 64 回討論会、中央大学、(東京都・文京区) 2014 年 9 月 18-20 日。

(10) S. Takeuchi, T. Tahara, "Monitoring continuous structural evolutions in reacting molecules by multi-pulse ultrafast spectroscopy", International workshop on "Over the Barriers of Transition Paths", Tokyo Institute of Technology, Yokohama (Japan), June 28, 2014.

(11) S. Takeuchi, "Probing nuclear and structural dynamics in reacting molecules by femtosecond time-domain Raman spectroscopy", International Symposium on "The Forefront of Ultrafast Spectroscopy", RIKEN, Wako (Japan), May 26-28, 2014.

(12) S. Takeuchi, T. Tahara, "Femtosecond Raman study of structural evolution in reacting molecules", 8th Asian International Conference on Ultrafast Phenomena, Kobe (Japan), January 19-22, 2014.

(13) S. Takeuchi, H. Kuramochi, H. Kamikubo, M. Kataoka, T. Tahara, "Femtosecond Raman Tracking of Initial Structural Evolution in Photoreceptor Protein", 7th ICAVS, Kobe (Japan), August 25-30, 2013.

(14) S. Takeuchi, "Femtosecond Raman tracking of initial structural evolution in reacting molecules", IMS Workshop on "Hierarchical Molecular Dynamics", Okazaki (Japan), May 25-26, 2013.

《その他の発表》国内 47 件、海外 18 件

〔図書〕(計 2 件)

(1) S. Takeuchi, H. Kuramochi, T. Tahara, "Ultrafast Time-domain Raman study to visualize large-amplitude distortions in copper complexes", *Proceedings of the 19th International Conference on Ultrafast Phenomena*, Springer Proceedings in Physics 162, 495-498 (2015), Springer. DOI: 10.1007/978-3-319-13242-6

(2) S. Takeuchi, T. Tahara, "Femtosecond structural study of reacting excited-state molecules through observation of nuclear wavepacket motions", Chapter 3, 111-162, *Advances in Multi-Photon Processes and Spectroscopy*, Vol. 22, 2014, World Scientific (Singapore). ISBN: 978-981-4619-03-5

〔その他〕

ホームページ等

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

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

竹内 佐年 (TAKEUCHI, Satoshi)

国立研究開発法人理化学研究所 田原分子分光研究室・専任研究員(研究者番号: 50280582)

### (2) 研究分担者 なし

### (3) 連携研究者

上久保 裕生 (KAMIKUBO, Hironari)

奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科・准教授(研究者番号: 20311128)