

田原分子分光研究室

主任研究員 田原 太平(D.Sci.)



(0) 研究分野

分科会: 化学

キーワード: 超高速分光、非線形分光、一分子分光

(1) 研究背景と研究目標

分光計測は21世紀の科学の「目」であり、物理～化学～工学～生物学にわたるきわめて広い科学・技術の基盤となっている。我々は分光計測の新しい可能性を拓くために、極限的な分子分光計測法を開発、それを駆使して複雑分子系に対する分子科学の基礎研究を推進している。複雑系における多種多様なダイナミクスを解明するためには、その電子状態や振動状態、周辺場の応答、さらにそれらの背景にあるエネルギーの揺動や散逸を分子レベルで総合的に理解することが必要である。これを念頭におき、最も先端的な線形・非線形分光計測法を用い、問題に本質的な時間・空間スケールを選択して研究を進めている。具体的には、超短パルスレーザー技術を基に、(1)超高速分光による反応ダイナミクスの研究、(2)界面選択的非線形分光による柔らかな界面の研究、(3)一分子分光による生体高分子の構造ダイナミクスの研究、を行っている。

(2) 2021年度成果と今後の研究計画

(A) 超高速分光による研究

これまで開発を行ってきた先端的なフェムト秒時間分解分光手法を、分子科学的に重要ないくつかの系の研究に応用した。まず、周波数および時間領域のフェムト秒時間分解ラマン分光法である、理研で開発した時間分解紫外誘導ラマン分光法と時間分解インパルス誘導ラマン分光法をそれぞれ用いて、光受容タンパク質であるPYPとバイオイメージングで注目されている蛍光タンパク質であるLSSmOrangeの超高速ダイナミクスに関する研究を行なった。得られたラマンスペクトルに含まれる詳細な構造情報を解釈することで、タンパク質中に存在する場合にはPYP発色団は電子励起状態で大きな構造変化が起きないこと、またLSSmOrangeの複雑な励起状態ダイナミクスは基底状態においてシスとトランスの異性体が混在しているためと考えられること、を報告した。次に、分子マシンの一種であるロタキサン分子シャトルと、光受容タンパク質であるBLUFおよびロドプシンについて、フェムト秒時間分解吸収分光法による研究を行ない、分子シャトルのシャトル動作の初期過程およびBLUFとロドプシンの超高速ダイナミクスに関する情報を得た。特にロドプシンについては、様々なロドプシンが示す多様な励起状態ダイナミクスがレチナール発色団近傍のアミノ酸残基のプロトン化状態の違いという観点で統一的に理解できるという、分子科学的に大きな意義のある知見を得た。これらの超高速分子ダイナミクスに関する研究に加え、量子もつれ光を光源として用いた新しい超高感度吸収分光法を開発を行なった。

今後の計画 反応する分子の励起状態ポテンシャル曲面の情報を得ることのできるさらに新しい超高速分光の開発を行い、複雑分子系の超高速ダイナミクスとその機能発現の機構の研究を進める。

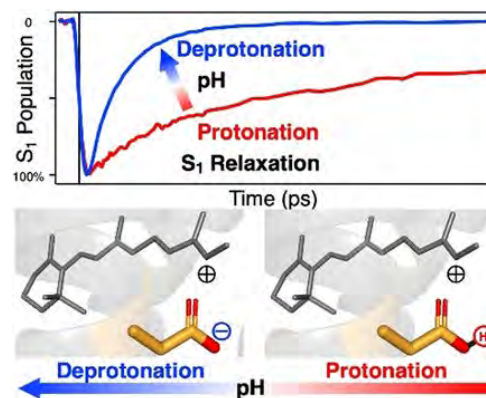


図1. ロドプシンの電子励起状態ダイナミクス。発色団近傍のアミノ酸残基のプロトン化/脱プロトン化状態によって励起状態の緩和ダイナミクスは鋭敏に変化する。異なるロドプシンの示す多様な励起状態ダイナミクスはこの観点で統一的に理解することができる(論文2より許可を得て転載)。

(B) 界面選択的非線形分光による研究

理研で開発した界面選択的非線形分光法であるヘテロダイン検出振動和周波発生(HD-VSFG)分光

とその時間分解発展型である時間分解(TR-)HD-VSFGおよび二次元(2D-)HD-VSFG分光法を用いて種々の液体界面の研究を推進している。2021年度は、HD-VSFGを用いて脂質単分子膜/DNAバッファ溶液界面における水の配向を観測することで、DNAの脂質界面への吸着に関する新しい知見を得た(図2)。この研究から得られたDNA-脂質結合に関する分子レベルの情報は今後のドラッグデリバリー等の細胞内物質輸送の研究に役立つと期待される。また、液体表面のダイナミクスの研究では、干渉型2D HD-VSFG装置を用いて世界最高の時間分解能(約90 fs)で空気/水界面の二次元スペクトル測定を実現した。これにより界面水のスペクトル拡散ダイナミクスの初期過程を観測することが可能になった。さらに、固液界面についても、シリカ/水界面の水のスペクトルをバルクのpHと塩濃度を変えながら高い精度で測定することに成功し、これを解析することによりpHに依存したシリカ表面の変化に伴う電気二重層内の水と界面最近傍の水の変化を明らかにした。

今後の計画 二次元HD-VSFG分光を用いて最も基本的な液体界面である空気/水界面の超高速振動ダイナミクスの全貌を明らかにする。また、溶液中において最先端の超高速赤外分光で精力的に研究されているプロトンの存在形態(Zundel/Eigen構造)について、HD-VSFG分光法を用いて界面での状態を明らかにする。さらに、酸化物/水界面、高分子薄膜/溶液界面、電極/電解質界面など、応用上重要な埋もれた界面における基礎的分子過程の研究を進める。

(C)一分子分光による研究

理研で開発した一分子蛍光計測である二次元蛍光寿命相関分光(2D-FLCS)をベースに生体高分子の構造不均一性およびダイナミクスの研究を推進した。まず2D-FLCSを用いて、リボスイッチのリガンド結合機構を研究した。その結果、構造変化が数ミリ秒より速い変化を含む二段階で起こることを発見し、さらにリガンドの結合が構造変化を加速する誘導適合機構で起こることを突き止めた。今回発見された速い構造変化が転写過程を制御している可能性を指摘し、その機構を提唱した。この成果は2D-FLCSを用いた生体機能発現メカニズム解明の最初の例となった。さらに2D-FLCSの観測時間拡張を目的として、走査型二次元蛍光寿命相関分光法の開発を行った。溶液中を自由拡散する分子を測定する方法に代え、分子を基板上に固定して計測する方法を採用することにより、約1ミリ秒であった測定可能時間の上限を数百ミリ秒まで延長した。これを応用して、DNAホリデイジャンクション(HJ)の構造異性化ダイナミクスの計測を行った。これにより、①一部のHJが長寿命の状態に捕捉されダイナミクスの不均一性が生じること、②HJの二重鎖間の角度が揺らいでいること、③高Mg²⁺濃度ではHJの二重鎖間の角度が小さくなるとともに二重鎖結合部周りの柔軟性が失われること、を明らかにした。

今後の計画 生体分子ダイナミクスの不均一性・階層性・協同性の問題や、酵素反応を始めとする非平衡ダイナミクスの問題に対して、2D-FLCSを応用した研究をさらに推進する。また、2D-FLCSを基盤として多変量解析の手法を取り入れた新しい一分子蛍光計測手法の開発を行う。これらの研究を通して、2D-FLCS法を広い一般性をもった一分子分光法に発展させる。

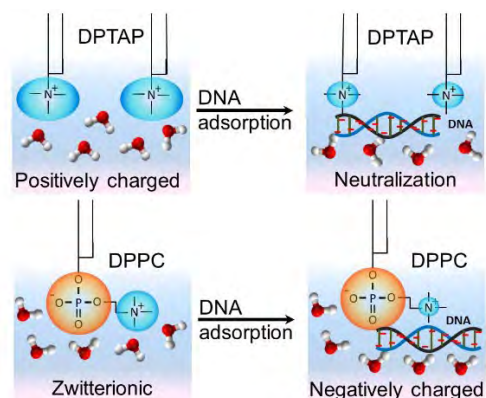


図2. DNAが吸着した脂質膜/水界面。カチオン性脂質DPTAP界面(上)においてはDNAの吸着は電荷を中性化して界面水の配向性を著しく低下させる。一方、双イオン性脂質DPPC界面(下)においてはDNAの吸着により界面が負に帯電し界面水の上向き配向を増加させる(論文3より許可を得て転載)。

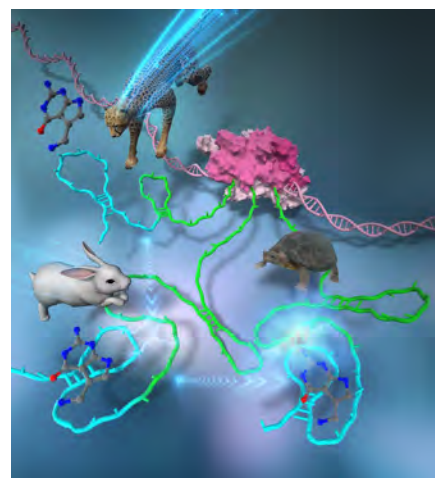


図3. 2D-FLCSにより観測されたリボスイッチのマイクロ秒構造変化が転写の制御に本質的な役割を果たす機構を提案した。

(3) 研究室メンバー

(2021年度)

(主任研究員)

田原 太平

(専任研究員)

石井 邦彦, 二本柳 聡史

(研究員)

松崎 維信, Ahmed MOHAMMED,

Bidyut SARKAR,

(協力研究員)

Feng Wei

(基礎科学特別研究員)

高梨 司

(特別研究員)

Pardeep KUMAR, Woongmo SUNG, Li LIU,

Wooseok HEO, Chun-Fu CHANG,

(テクニカルスタッフ I)

Subhadip ROY

(国際プログラム・アソシエイト)

Sandeep YADAV

(アシスタント)

加藤 智子

(4) 発表論文等

1. “Excited-state proton transfer dynamics in LSSmOrange studied by time-resolved impulsive stimulated Raman spectroscopy”, P. Kumar, E. Fron, H. Hosoi, H. Kuramochi, S. Takeuchi, H. Mizuno, T. Tahara, **J. Phys. Chem. Lett.** 12, 7466-7473 (2021).
2. “A unified view on varied ultrafast dynamics of the primary process in microbial rhodopsin”, C.-F. Chang, H. Kuramochi, M. Singh, R. Abe-Yoshizumi, T. Tsukuda, H. Kandori, T. Tahara, **Angew. Chem. Int. Ed.** 61, e202111930/1-9 (2021).
3. “DNA-induced reorganization of water at model membrane interfaces investigated by heterodyne-detected vibrational sum frequency generation spectroscopy”, P. C. Singh, M. Ahmed, S. Nihonyanagi, S. Yamaguchi, T. Tahara, **J. Phys. Chem. B**, 126, 840–846 (2022).
4. “Microsecond folding of preQ₁ riboswitch and its biological significance revealed by two-dimensional fluorescence lifetime correlation spectroscopy”, B. Sarkar, K. Ishii, T. Tahara, **J. Am. Chem. Soc.** 143, 7968-7978 (2021).
5. “Scanning two-dimensional fluorescence lifetime correlation spectroscopy: Conformational dynamics of DNA Holliday-junction from microsecond to sub-second”, W. Heo, K. Hasegawa, K. Okamoto, Y. Sako, K. Ishii, T. Tahara, **J. Phys. Chem. Lett.** 13, 1249-1257 (2022).

Supplementary



Group photo of RIKEN Molecular Spectroscopy Laboratory (MSL)

Laboratory Homepage

https://www.riken.jp/research/labs/chief/mol_spectro/index.html

<https://spectroscopy.riken.jp/>