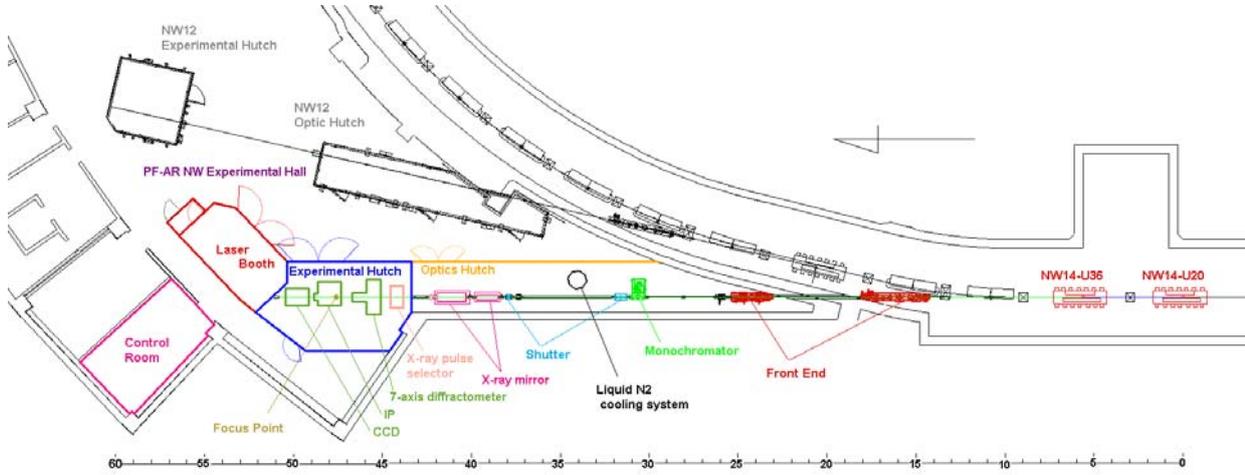


# 物質・生命科学における実時間構造ダイナミクス研究

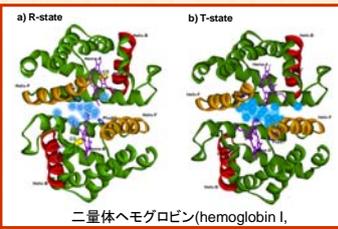
高エネルギー加速器研究機構放射光施設のPF-ARのビームラインNW14Aでは、物質科学・生命科学分野における「実時間構造ダイナミクス研究」を共通のテーマとして、単結晶、粉末結晶、溶液、タンパク質結晶など、様々な試料への時間分解放射光X線測定法の適用を目指しています。これまでの研究成果について報告します。



## 水溶液中の二量体ヘモグロビンの光誘起R-T構造転移

**時間分解溶液散乱の測定条件**  
 X線エネルギー範囲: 15 keV  
 繰り返し周波数: 10 Hz  
 励起レーザー波長: 532 nm  
 試料形状: 溶液 (キャピラリー封入)

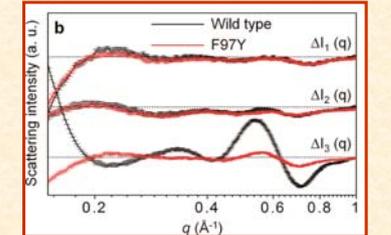
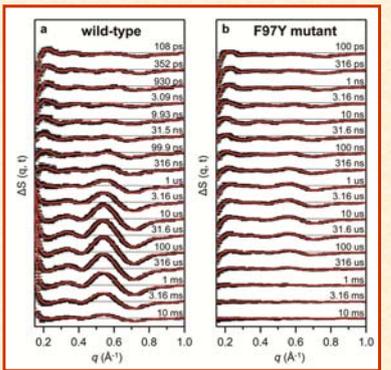
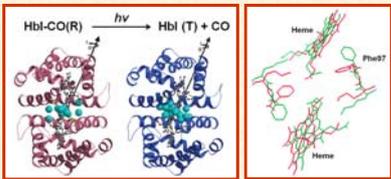
二量体ヘモグロビン (hemoglobin I, HbI) は、ヘム (鉄ポルフィリン錯体) への配位子の可逆的な結合により四次構造変化を示し、配位子親和性を制御するアロステリックタンパク質である。配位子として一酸化炭素 (CO) を用いることにより、時間分解X線溶液散乱法で、光誘起R-T構造転移の観測を試みている。



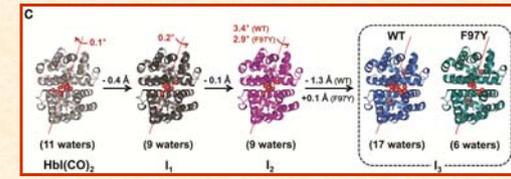
1. Structural transitions (R-T) upon ligand release (Red → Green).
2. Phe97 flipping, rearrangements of water molecules and heme movements facilitates R to T transition.
3. The allosteric changes are tightly coupled with tertiary structural changes not by quaternary changes.

HbIの溶液散乱パターン  
の光励起後の時間変化

光励起前の初期状態である一酸化炭素結合型の二量体ヘモグロビン (HbI(CO)) はR型の四次構造をとる。光励起後、100ピコ秒から、マイクロ秒、ミリ秒オーダーに渡って、溶液散乱パターンの変化が観測されている。この変化は、一酸化炭素の光解離によって引き起こされる三次構造変化と、それに引き続くT型の四次構造変化に由来すると考えられる。



特異値分解 (SVD) による散乱曲線とその時間変化の抽出

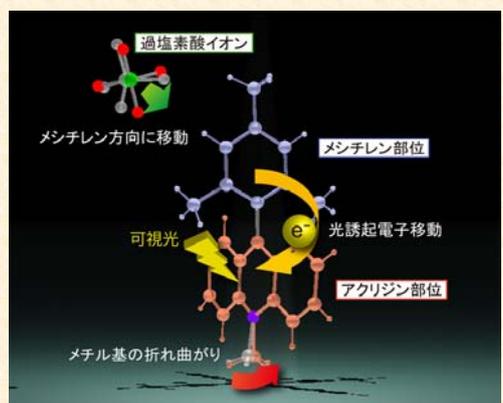
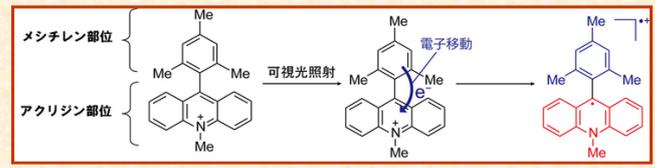


構造精密化によって得られた反応中間体の分子構造

## 光合成機能をもつ有機分子が働く瞬間を直接観察 (KEKプレスリリース(2012年3月1日))

**時間分解X線回折測定の条件**  
 X線エネルギー範囲: 18 keV  
 繰り返し周波数: 1 kHz  
 励起レーザー波長範囲: 475 nm  
 試料形状: 分子性結晶 (~250 μm)

本研究では、9-メチル-10-メチルアクリジニウムイオンの光誘起分子内電子移動に伴う過渡的な励起状態の分子構造変化を捉えるため、KEKの放射光科学研究施設 (PF-AR) の時間分解X線ビームライン NW14Aにおいて、ポンププローブX線回折法を用いて行った。



光励起状態の精密分子構造解析

レーザー光の照射前後の結晶構造を精密に比較・解析した結果、9-メチル-10-メチルアクリジニウムイオンは光を吸収するとアクリジン部位に対してメチル基が折れ曲がる構造変化を起こし、加えて結晶中に共存する過塩素酸イオンがメチレン部位に近づくように配置を変化させていることがわかった。光誘起電子移動によってアクリジン部位が電子を受容すると、窒素原子上の電子配置が変化して周辺原子との結合様式が平面型からピラミッド型に変化することが予想される。本研究によって観察されたメチル基の折れ曲がりには窒素原子周辺の配置が平面型からピラミッド型に変化することに相当するため、アクリジン部位が確かに電子を1つ受容したことを反映する構造変化であると考えられる。一方、過塩素酸イオンの配置変化はメチレン部位が電子を1つ供与して正電荷を増したため両者の間の静電的な引力が強まったことを明確に反映している。よって本成果は、9-メチル-10-メチルアクリジニウムイオンの効率的なエネルギー変換は分子設計の狙いどおりメチレン部位からアクリジン部位への光誘起電子移動が関係していることを直接的に初めて証明したものである。

**Determination of the Structural Features of a Long-Lived Electron-Transfer State of 9-Mesityl-10-methylacridinium Ion**  
 Manabu Hoshino, Hidehiro Uekusa, Ayana Tomita, Shin-ya Koshihara, Takushi Sato, Shunsuke Nozawa, Shin-ichi Adachi, Kei Ohkubo, Hiroaki Kotani, and Shunichi Fukuzumi  
*J. Am. Chem. Soc.* (2012) in press, DOI: 10.1021/ja300602h