

研究報告書

「時間分解 X 線構造解析法による光エネルギー変換機構の分子動画観測」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成21年10月～平成25年3月

研究者: 足立 伸一

1. 研究のねらい

本研究の狙いは、「光エネルギー変換プロセスを分子の動画として観測すること」である。光化学反応中に過渡的に生成・消滅する光反応中間体を測定対象とし、シンクロトロン放射光（以下、放射光）X 線のピコ秒パルス特性を利用することにより、その短寿命反応中間体の分子構造を直接観察するための方法論を開拓することを目指して研究を進めた。

「百聞は一見に如かず」の言葉の通り、化学反応中の分子構造を、直接つぶさに観察することは、化学者の夢である。これまで光化学研究において主要な地位を占めてきた赤外・可視・紫外域での時間分解吸収・発光分光法は、分子の振動構造と電子状態について詳細な知見を与えるものの、反応の分子設計に必須な反応中間体の分子構造に関する情報に関しては、間接的・限定的な情報しか与えることができない。もし反応経路に現れる反応中間体構造を直接捉えることが可能になれば、得られた反応中間体分子構造を基にした理論計算とのコラボレーションや系統的な物質合成などとの緊密な連携により、これまでの試行錯誤的な研究手法の限界を越えて、より合目的的で高効率な光エネルギー変換プロセスの分子設計が可能となるであろう。このような時間分解分子構造解析を実現するために、放射光 X 線のパルス性を生かしたピコ秒オーダーの動画観測手法を開発した。この手法は、X 線構造解析法の特長である原子レベル構造の可視化能力を最大限に生かし、光エネルギー変換プロセスにおいて過渡的に生成・消滅する短寿命化学種を測定対象として、エネルギー変換効率向上の鍵となる過渡的な短寿命化学種の構造そのものの直接観察を目指すものである。

2. 研究成果

(1) 概要

放射光 X 線を用いた構造解析法は、分子の三次元構造を決定する上で極めて有効な手法である。X 線は原子間距離と同程度の波長を持ち、原子・分子の回折、散乱、内殻吸収現象を利用することにより、分子構造そのものを検出するのに適している。例えば X 線回折法は、単結晶試料の構造解析法として確立した手法であり、また溶液など規則性を持たない系については、X 線溶液散乱法や X 線吸収微細構造 (XAFS) 法を利用することにより、溶液内の分子構造に関する情報を得ることができる。放射光 X 線はピコ秒時間幅を持つパルス光であるため、本研究では放射光のパルス性をフルに利用することにより光エネルギー変換システムにおいて過渡的に生成する分子の構造解析を実現した。具体的には、以下の研究テーマについて取り組みを進めた。

(1) 時間分解 XAFS 法による溶液中の金属錯体の短寿命反応中間体の分子構造解析

金属錯体の光誘起電子移動反応を対象として、光反応中に生成する短寿命化学種の構造を時間分解 XAFS 法により明らかにした。色素増感太陽電池や均一系光触媒を構成する光増感

分子として広く知られているトリスビピリジンルテニウム錯体 ($\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})_3$) を試料とし、その光反応で生成する 3 重項励起状態の構造解析に適用した。

(2) 時間分解X線溶液散乱法によるタンパク質分子の反応中間体構造解析

光合成や視覚など、光によって活性が制御される生体機能について、その活性制御のメカニズムには、タンパク質分子構造の過渡的な変化や活性中心の電子状態の変化が深く関与している。本研究では、比較的シンプルな光反応性タンパク質として二量体ヘモグロビンを取り上げ、その反応中間体構造解析に成功した。

(2) 詳細

研究テーマ1 「ルテニウム錯体の溶液光反応の時間分解X線吸収微細構造 (XAFS) 解析」

色素増感太陽電池や均一系光触媒を構成する光増感分子として広く知られているトリスビピリジンルテニウム錯体 ($\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})_3$) を試料として、時間分解X線吸収微細構造 (XAFS) 測定法を適用した。 $\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})_3$ の MLCT バンド (400nm) の励起により、数百ナノ秒オーダーで生成する三重項 MLCT ($^3\text{MLCT}$) 状態の分子構造解析を行った (図 1)。入射X線のエネルギーを、ルテニウムK殻吸収端の 22.1keV 付近に設定し、励起レーザー光と放射光の遅延時間を一定に保ちながら、入射エネルギーをスキャンする測定と、入射エネルギーを最も変化率の大きなエネルギーに固定した状態で、遅延時間をスキャンする測定を行った。前者の測定で

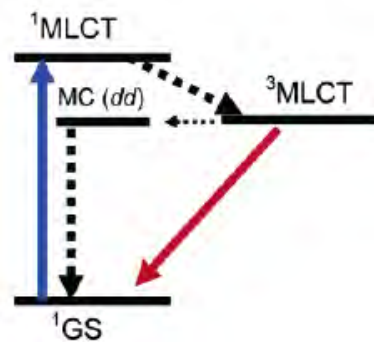


図 1: トリスビピリジン Ru (II) 錯体の光励起反応のエネルギーダイアグラム

は、MLCT励起に伴ってRuの価数変化に対応して、吸収端がより高エネルギー側にシフトすることが明瞭に観測された。またEXAFS領域の解析 (図 2) から、励起直後にRu-N間の平均距離が 2.06Å から 2.02Å へと 0.04 Å だけ短くなることが明らかとなり、その電子状態との関連について議論した。後者の測定では、三重項励起状態の寿命が約 150 ナノ秒と見積もられた (図 3、原著論文 1、プレスリリース 1)。

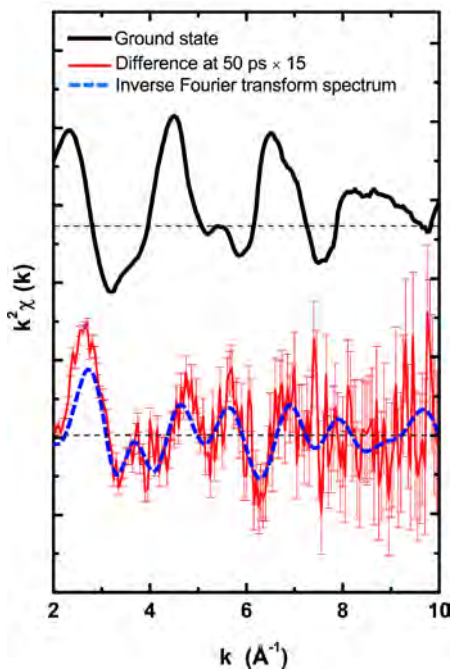


図 2: Ru(II)トリスビピリジン錯体の基底状態の EXAFS スペクトルと、励起状態との差分スペクトル

図 2: Ru(II)トリスビピリジン錯体の基底状態の EXAFS スペクトルと、励起状態との差分スペクトル

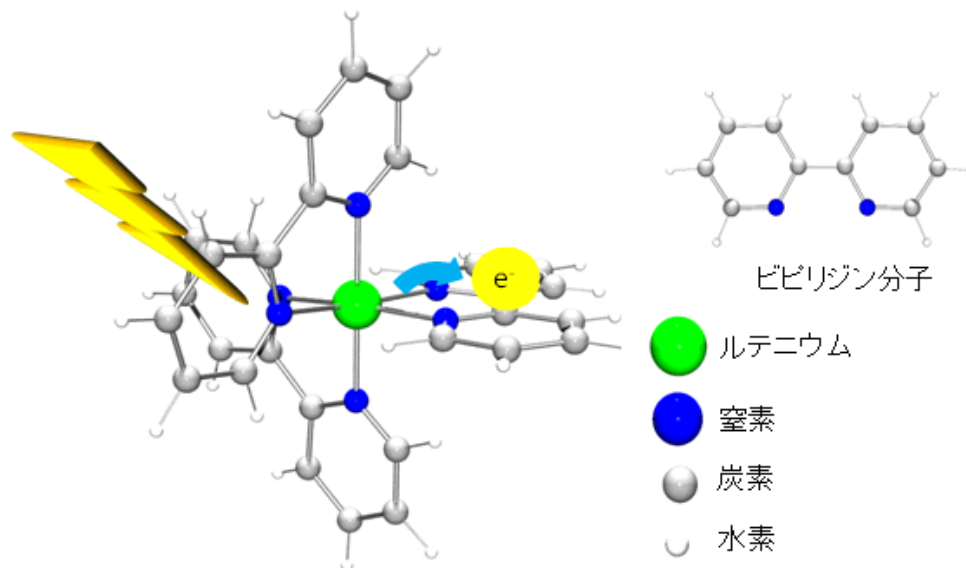


図 3: トリスビピリジンルテニウム錯体 ($\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})_3$) を波長 400 ナノメートルのフェムト秒パルスレーザー光で励起し、数百ナノ秒の寿命で溶液中に過渡的に生成する三重項励起状態の構造を、100 ピコ秒 (100 億分の 1 秒) の時間分解能で X 線吸収微細構造 (XAFS) 法により直接観測した。励起直後に Ru-N 間の平均距離が 2.06 Å から 2.02 Å へと 0.04 Å だけ短くなることが明らかとなった。(原著論文 1、プレスリリース 1)

研究テーマ2 「時間分解X線溶液散乱法による二量体ヘモグロビン分子の光誘起ダイナミクスに関する研究」

光反応性を有するタンパク質溶液を用いて、溶液中での中間体構造を捉える試みを進めた。一酸化炭素結合型の二量体ヘモグロビン分子にパルスレーザー光を照射し、照射後に進行するタンパク質の分子構造変化を、ポンプ・プローブ X 線溶液散乱法により追跡した。レーザー照射による一酸化炭素分子の光解離をトリガーとして、二量体ヘモグロビン分子が 100 ピコ秒から 10 ミリ秒程度の時間内に徐々に構造変化し、二つのユニット間の距離が短くなるとともに、二つのユニットが相対的にねじれる運動により、分子全体の配置が変化する様子が分子動画として直接観測された (原著論文 2、プレスリリース 2)。この手法は、生体環境に極めて近い室温の水溶液中で、タンパク質分子が機能する姿を捉えることを可能とする方法として有力な手法であり、さきがけ終了後も継続して開発を進めてゆく予定である。

3. 今後の展開

本研究で開発した時間分解分子構造解析法を用いて、領域内の他研究者との積極的な共同研究を開始しており、均一系および不均一系光触媒反応のメカニズムの解析に向けて、今後さらなる共同研究を進めてゆきたいと考えている。また本研究で開発した時間分解分子構造解析法は、溶液、固体、結晶など試料の形態に依存せず、その応用範囲は極めて広範である。均一系および不均一系光触媒反応のメカニズムの解析のみならず、例えば有機 EL 分子の高効率発光に向けた分子構造解析からのアプローチ、膜タンパク質である光合成反応中心の電子移動反応に伴う金属原子周辺の配位構造変化の直接観測など、様々な光反応系が分子動画観測の測定対象となりうる。これらの測定によって得られる知見は、将来の高

機能光触媒や人工光合成システムの開発などを通して、新たな光エネルギー変換反応の実現に活かされると期待される。

また一方で、次世代高輝度 X 線光源である X 線自由電子レーザーやエネルギー回収型リニアックなどの登場により、フェムト秒パルス X 線がすでに実現しつつあり、現在の超高速分光測定で観測されているような光誘起電荷分離・再結合に伴う超高速分子運動が、分子構造の時間発展として直接観測できる可能性がある。これは光触媒反応機構の解明に対してさらに大きなインパクトを与えることが期待される。

4. 自己評価

「光エネルギーと物質変換」は、光触媒化学反応もしくは光生体機能を利用して、再生可能エネルギーである太陽光エネルギーを貯蔵の容易な化学エネルギーに変換することにより、持続可能な社会を実現することを目指す極めて野心的で重要な研究テーマである。この研究テーマに対して、従来の確立した観測手法ではなく、敢えてチャレンジングで新規の観測手法である「時間分解 X 線分子構造解析」を武器として切り込むことにより、これまでにない切り口で光反応の姿を明らかにすることを目指して研究を進めてきた。このさきがけ研究の中で、光励起によって過渡的に生成する三重項励起状態の分子構造を直接観測することを実現することができ、関連分野の研究者に強いインパクトを与えることができたと自負している。しかし一方で、三重項励起状態の分子構造の次には、励起状態が引き起こす光触媒反応の全体像の直接観測が望まれており、更なる測定の高精度化が今後の課題であることは言うまでもない。このさきがけ研究の成果を踏まえて、今後さらに測定法を高度化することにより、真のグリーンイノベーションに資する時間分解 X 線分子構造解析法の実現を目指して、研究を進めたい。

またこのさきがけ研究のアウトリーチ活動の一環として、サイエンスカフェ「身近な水が再生可能エネルギーになる!?人工光合成が拓く未来」をつくば市内で開催し、数十名の一般参加者の方と交流したことは大変印象深く、改めて今後の研究活動と一般社会との関わりを考え直す機会となった。このような機会を与えてくださった井上研究総括とアドバイザーの先生方に深く感謝したい。

5. 研究総括の見解

自然現象の観測では、観測行為(アクション)に対する応答(リアクション)情報や間接情報を多面的に集積して全体像を推論している。もし、動画の一コマ一コマをリアルタイムに直接見るように、現象の推移する時間領域で「瞬間を見る」ことができれば、観測としては最も信頼性の高いものと言えよう。足立博士は、所属する高エネルギー研究所フotonファクトリーのシンクロtron放射光を用いた時間分解 X 線吸収微細構造(XAFS)法により人工光合成研究における代表的な金属錯体分子の動的構造変化を100ピコ秒の時間精度で動画を直接見るように光励起直後(励起三重項状態)の構造変化を明らかにした。同時に EXFS 法により、第一配位圏にある原子との結合距離の変化を捉えることにも成功している。これまで推測していた現象を直接証明する画期的な研究成果といえる。また、人工光合成系ではないが、光反応性を有する蛋白質の動的構造変化を捉えることにも成功しており、時間分解 XAFS 法がリアルタイムでの分子構造変化を解明する強力な手段であることを実証した。さきがけ採択に当たって



は、領域の他研究者との積極的な共同研究による相乗効果を期待したが、実際に複数の共同研究が進行中であり、今後の大きい研究進展が望まれる。また、近い将来には時間分解能がさらに上昇した解析も可能になることが予測されており、一層の研究進展を期待している。

6. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. K. H. Kim, J. H. Lee, J. Kim, S. Nozawa, T. Sato, A. Tomita, K. Ichianagi, H. Ki, J. Kim, S. Adachi, H. Ihee: "Solvent-dependent molecular structure of ionic species directly measured by ultrafast X-ray solution scattering", Phys. Rev. Lett. (2013) in press.
2. T. Sato, S. Nozawa, A. Tomita, M. Hoshino, S. Koshihara, H. Fujii, and S. Adachi: "Coordination and Electronic Structure of Ruthenium(II)-tris-2,2'-bipyridine in the Triplet Metal-to-Ligand Charge-Transfer Excited State Observed by Picosecond Time-Resolved Ru K-Edge XAFS", J. Phys. Chem. C, (2012) 116, 14232-14236.
3. K. H. Kim, S. Muniyappan, K. Y. Oang, J. G. Kim, S. Nozawa, T. Sato, S. Koshihara, R. Henning, I. Kosheleva, H. Ki, Y. Kim, T. W. Kim, J. Kim, S. Adachi, and H. Ihee: "Direct Observation of Cooperative Protein Structural Dynamics of Homodimeric Hemoglobin from 100 ps to 10 ms with Pump-Probe X-ray Solution Scattering", J. Am. Chem. Soc., (2012) 134, 7001.
4. M. Hoshino, H. Uekusa, A. Tomita, S. Koshihara, T. Sato, S. Nozawa, S. Adachi, K. Ohkubo, H. Kotani and S. Fukuzumi: "Determination of the Structural Features of a Long-Lived Electron-Transfer State of 9-Mesityl-10-methylacridinium Ion", J. Am. Chem. Soc., (2012) 134, 4569.

(2) 特許出願

研究期間累積件数:0件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

プレスリリース(3件)

1. 「100億分の1秒で光増感分子の動きを観測
～太陽電池や光触媒の機能をつかさどる光励起構造を解明～」(2012年6月)
<http://www.jst.go.jp/pr/announce/20120629/index.html>
2. 「水中のタンパク質分子のねじれ運動を動画として観測することに成功」(2012年4月)
<http://www.kek.jp/ja/NewsRoom/Release/20120410140000/>
3. 「光合成機能を持つ有機分子が働く瞬間を直接観察」(2012年3月)
<http://www.jst.go.jp/pr/announce/20120301/index.html>

