

分子システム研究

平成 26 年度 成果報告書

独立行政法人 理化学研究所

新領域開拓課題

平成 27 年 3 月

平成 27 年 4 月

はじめに

物質は階層構造をなします。この物質階層構造においては高次の層へ行くに従い系はより多くの分子を含むようになりますが、これらはただ数として集まるのではなく、互いに連動・協奏・相互作用して低次の系には見られない高い機能を実現しています。この高次の階層に位置する物質系の性質と機能を解明し、制御し、利用することは物質科学の大命題です。理化学研究所ではこのような問題意識を共有する研究者が連合し、平成24～28年度の5年間のプロジェクトとして「分子システム研究」を推進しています。この研究プロジェクトでは、分子集合体や生体分子系など“単一の性質を示す分子単体あるいは分子部分が集まり、他と連動・協奏・作用し合うことによって個々では発現できない構造・性質・機能を発現する物質系”を「分子システム」と定義し、これが実現する高い機能を解明、制御、利用するために、物理・化学・生物・工学のアクティビティを集結した総合研究を行います。自然科学の総合研究所である理研の強みを最大限に生かして分野横断的な研究体制を組み、分子集合体や生体分子系を主たる対象に物質合成・創製と計測・理論の両面から研究を強力に推進します。具体的には、（１）観測と理論によって分子システムの基礎過程を“理解する”解析チーム、（２）分子集合体の構築と評価を通して分子システムを“操る”制御チーム、（３）生理的に重要なタンパク質を中心に生体分子系の構造・機能を研究することによって分子システムを“学ぶ”生体チーム、（４）それらから得られる知見や戦略を融合して新規な人工的分子システムを創成して“利用する”融合チームの4つのチームで研究を推進し、相互に関連しながら新しい物質科学を開拓します。またわれわれは、理研において研究を強力に推進するだけでなく、同時に全国の研究者と結んで研究ネットワークの形成をはかることが重要だと考えています。そのため、分子システム研究には6つの大学・研究機関の高いアクティビティをもつ研究者にも参加していただいています。その意味で、この「分子システム研究」は、基礎学術から応用基礎までを縦断的に結んだ融合研究によって物質科学研究の新しい潮流を生み出そうとする研究プロジェクトと言えます。

このたびこのプロジェクトの3年目にあたる平成 26 年度の研究報告書を作成しました。本報告をご高覧の上、ご指導ならびにご助言をいただければ幸いです。

新領域開拓研究「分子システム研究」研究グループ代表者
理化学研究所 主任研究員

田原太平

目 次

I.	メンバーリスト・・・・・・・・・・	1
II.	シンポジウム・セミナー・・・・・・・・	9
III.	研究成果・・・・・・・・・・	25
IV.	業績リスト・・・・・・・・・・	177
V.	解説・記事等・・・・・・・・・・	209

I. メンバーリスト

分子システム研究グループ

メンバーリスト

(平成 27 年 1 月現在)

分子システム解析チーム (チームリーダー：田原 太平)

田原 太平	主任研究員	(田原分子分光研究室)
大澤 正久	専任研究員	(田原分子分光研究室)
竹内 佐年	専任研究員	(田原分子分光研究室)
石井 邦彦	専任研究員	(田原分子分光研究室)
二本柳 聡史	研究員	(田原分子分光研究室)
乙須 拓洋	基礎科学特別研究員	(田原分子分光研究室)
藤澤 知績	基礎科学特別研究員	(田原分子分光研究室)
倉持 光	基礎科学特別研究員	(田原分子分光研究室)
日下 良二	基礎科学特別研究員	(田原分子分光研究室)
CHENG, Chao-Han	特別研究員	(田原分子分光研究室)
井上 賢一	特別研究員	(田原分子分光研究室)
ADHIKARI, Aniruddha	特別研究員	(田原分子分光研究室)
浦島 周平	特別研究員	(田原分子分光研究室)
坂口 美幸	特別研究員	(田原分子分光研究室)
SARKAR, Bidyut	特別研究員	(田原分子分光研究室)
MYALITSIN, Anton	国際特別研究員	(田原分子分光研究室)
SARTIN, Matthew Mccullough	国際特別研究員	(田原分子分光研究室)
KUNDU, Achintya	テクニカルスタッフ I	(田原分子分光研究室)
HENDERSON, Cassandra Joan	テクニカルスタッフ II	(田原分子分光研究室)
田原 進也	大学院生リサーチアシスト	(田原分子分光研究室)

杉田 有治	主任研究員	(杉田理論分子科学研究室)
李 秀栄	研究員	(杉田理論分子科学研究室)
八木 清	研究員	(杉田理論分子科学研究室)
森 貴治	研究員	(杉田理論分子科学研究室)
優 乙石	研究員	(杉田理論分子科学研究室)
PO-HUNG, Wang	特別研究員	(杉田理論分子科学研究室)
PAI-CHI, Li	特別研究員	(杉田理論分子科学研究室)
RAIMONDAS, Galvelis	特別研究員	(杉田理論分子科学研究室)
BO, Thomsen	特別研究員	(杉田理論分子科学研究室)
二島 涉	特別研究員	(杉田理論分子科学研究室)
水上 涉	基礎科学特別研究員	(杉田理論分子科学研究室)
大滝 大樹	基礎科学特別研究員	(杉田理論分子科学研究室)
小室 靖明	研修生	(杉田理論分子科学研究室)

金 有洙	准主任研究員	(Kim 表面界面科学研究室)
安 東秀	研究員	(Kim 表面界面科学研究室)
今田 裕	特別研究員	(Kim 表面界面科学研究室)
JUNG, Jaehoon	国際特別研究員	(Kim 表面界面科学研究室)
OH, Junepyo	基礎科学特別研究員	(Kim 表面界面科学研究室)
数間 恵弥子	訪問研究員	(Kim 表面界面科学研究室)
	日本学術振興会 特別研究員 SPD	
三輪 邦之	特別研究員	(Kim 表面界面科学研究室)
YANG, Hyun Jin	特別研究員	(Kim 表面界面科学研究室)
大宮 拓馬	国際プログラムアソシエイト	(Kim 表面界面科学研究室)

今井 みやび	実習生	(Kim 表面界面科学研究室)
上治 寛	実習生	(Kim 表面界面科学研究室)
TIKA, Kusbandiah	国際プログラムアソシエイト	(Kim 表面界面科学研究室)
WALEN, Holly	国際プログラムアソシエイト	(Kim 表面界面科学研究室)
OUYANG, Chun	国際プログラムアソシエイト	(Kim 表面界面科学研究室)
河原 祥太	実習生	(Kim 表面界面科学研究室)
木村 謙介	実習生	(Kim 表面界面科学研究室)

柚木 清司	准主任研究員	(柚木計算物性物理研究室)
白川 知功	基礎科学特別研究員	(柚木計算物性物理研究室)
佐藤 年裕	基礎科学特別研究員	(柚木計算物性物理研究室)
関 和弘	基礎科学特別研究員	(柚木計算物性物理研究室)
西口 和孝	特別研究員	(柚木計算物性物理研究室)
Xie, Qing	国際プログラムアソシエイト	(柚木計算物性物理研究室)
新城 一也	大学院生リサーチアソシエイト	(柚木計算物性物理研究室)

分子システム制御チーム (チームリーダー：加藤 礼三)

加藤 礼三	主任研究員	(加藤分子物性研究室)
藤山 茂樹	専任研究員	(加藤分子物性研究室)
大島 勇吾	専任研究員	(加藤分子物性研究室)
崔 亨波	研究員	(加藤分子物性研究室)
川相 義高	研究員	(加藤分子物性研究室)
岩瀬 文達	協力研究員	(加藤分子物性研究室)
上田 康平	特別研究員	(加藤分子物性研究室)
圓谷 貴夫	特別研究員	(加藤分子物性研究室)
佐藤 慶明	特別研究員	(加藤分子物性研究室)
山本 浩史	客員主幹研究員	(分子科学研究所)
田嶋 尚也	客員主幹研究員	(東邦大学)
須田 理行	客員研究員	(分子科学研究所)

高田 昌樹	主任研究員	(高田構造科学研究室)
加藤 健一	専任研究員	(高田構造科学研究室)
大隅 寛幸	専任研究員	(高田構造科学研究室)
水野 伸宏	客員研究員	(高田構造科学研究室)

分子システム生体チーム (チームリーダー：城 宜嗣)

城 宜嗣	主任研究員	(城生体金属科学研究室)
中村 寛夫	専任研究員	(城生体金属科学研究室)
久野 玉雄	専任研究員	(城生体金属科学研究室)
杉本 宏	専任研究員	(城生体金属科学研究室)
久保 稔	専任研究員	(城生体金属科学研究室)
當舎 武彦	専任研究員	(城生体金属科学研究室)
木村 哲就	研究員	(城生体金属科学研究室)
富樫 ひろ美	特別研究員	(城生体金属科学研究室)
野村 高志	特別研究員	(城生体金属科学研究室)
石井 頌子	研修生	(城生体金属科学研究室)
大畠 海人	研修生	(城生体金属科学研究室)
中村 希	研修生	(城生体金属科学研究室)
松本 喜慎	研修生	(城生体金属科学研究室)
山際 来佳	研修生	(城生体金属科学研究室)
GANASEN, Menega	研修生	(城生体金属科学研究室)
RAHMAN, Md. Mahfurzur	研修生	(城生体金属科学研究室)

井上 雅	研修生	(城生体金属科学研究室)
倉智 彩夢	研修生	(城生体金属科学研究室)
佐伯 茜子	研修生	(城生体金属科学研究室)
武田 英恵	研修生	(城生体金属科学研究室)
西田 拓真	研修生	(城生体金属科学研究室)
結城 力	研修生	(城生体金属科学研究室)
村本 和優	協力研究員	(兵庫県立大・理学部)
澤井 仁美	協力研究員	(兵庫県立大・理学部)

米倉 功治	准主任研究員	(米倉生体機構研究室)
眞木 さおり	研究員	(生物試料基盤グループ)
高山 裕貴	基礎科学特別研究員	(米倉生体機構研究室)
田中 麻衣子	技官	(米倉生体機構研究室)
岩薮 文恵	技官	(米倉生体機構研究室)
仲村 純子	技官	(米倉生体機構研究室)

分子システム融合チーム (チームリーダー：前田 瑞夫)

前田 瑞夫	主任研究員	(前田バイオ工学研究室)
尾笹 一成	専任研究員	(前田バイオ工学研究室)
細川 和生	専任研究員	(前田バイオ工学研究室)
宝田 徹	専任研究員	(前田バイオ工学研究室)
座古 保	専任研究員	(前田バイオ工学研究室)
藤田 雅弘	専任研究員	(前田バイオ工学研究室)
金山 直樹	研究員	(前田バイオ工学研究室)
武政 誠	客員研究員	(前田バイオ工学研究室)
秋山 好嗣	協力研究員	(前田バイオ工学研究室)
王 国慶	特別研究員	(前田バイオ工学研究室)
Tong Bu	国際プログラムアソシエイト	(前田バイオ工学研究室)
白石 翔大	研修生	(前田バイオ工学研究室)
酒井 光太郎	研修生	(前田バイオ工学研究室)

田中 克典	准主任研究員	(田中生体機能合成化学研究室)
Ambara Rachmat Pradipta	特別研究員	(田中生体機能合成化学研究室)
筒井 歩	特別研究員	(田中生体機能合成化学研究室)
小椋 章弘	特別研究員	(田中生体機能合成化学研究室)
泰地 美沙子	特別研究員	(田中生体機能合成化学研究室)
Kenward VONG	訪問研究員	(田中生体機能合成化学研究室)
岩田 隆幸	研修生	(田中生体機能合成化学研究室)
坪倉 一輝	研修生	(田中生体機能合成化学研究室)
高松 正之	大学院生リサーチアソシエイト	(田中生体機能合成化学研究室)

外部研究機関

KEK 物質構造科学研究所 (グループリーダー：熊井 玲児)

熊井 玲児	教授	(KEK 物構研)
村上 洋一	教授	(KEK 物構研)
中尾 裕則	准教授	(KEK 物構研)
佐賀山 基	准教授	(KEK 物構研)
小林 賢介	特任助教	(KEK 物構研)
中尾 朗子	副主任研究員	(総合科学研究機構)

分子科学研究所 (グループリーダー：小杉 信博)

小杉 信博	教授	(光分子科学第三研究部門)
長坂 将成	助教	(光分子科学第三研究部門)
山根 宏之	助教	(光分子科学第三研究部門)
大東 琢治	助教	(極端紫外光研究施設)
湯沢 勇人	日本学術振興会 P D	(光分子科学第三研究部門)
王 玉 富	特別共同利用研究員(院生)	(台湾・淡江大学)
初井 宇記	客員准教授	(理研放射光科学総合研究センター)
Emad F. Aziz	客員教授	(HZB, ベルリン自由大学)
Eckart Rühl	国際協力研究員	(ベルリン自由大学)
Adam P. Hitchcock	国際協力研究員	(カナダ McMaster 大学)
廉 罕雄	国際協力研究員	(韓国 POSTECH)
近藤 寛	協力研究員	(慶應大学理工学部)
吉田 真明	協力研究員	(慶應大学理工学部)

京都大学グループ (グループリーダー：時任 宣博)

a) 有機元素化学サブグループ

時任 宣博	教授	(有機元素化学研究領域)
笹森 貴裕	准教授	(有機元素化学研究領域)
水畑 吉行	助教	(有機元素化学研究領域)
吾郷 友宏	助教	(有機元素化学研究領域)
江川 康暢	大学院学生	(有機元素化学研究領域)
和佐野 達也	大学院学生	(有機元素化学研究領域)
長田 浩一	大学院学生	(有機元素化学研究領域)
平野 晃基	大学院学生	(有機元素化学研究領域)
鈴木 裕子	大学院学生	(有機元素化学研究領域)
菅原 知紘	大学院学生	(有機元素化学研究領域)
藤森 詩織	大学院学生	(有機元素化学研究領域)

b) 構造有機化学サブグループ

村田 靖次郎	教授	(構造有機化学研究領域)
若宮 淳志	准教授	(構造有機化学研究領域)
村田 理尚	助教	(構造有機化学研究領域)
遠藤 克	研究員	(構造有機化学研究領域)
西村 秀隆	大学院学生	(構造有機化学研究領域)
Chaolumen	大学院学生	(構造有機化学研究領域)
下河 広幸	大学院学生	(構造有機化学研究領域)
二子石 師	大学院学生	(構造有機化学研究領域)
張 鋭	大学院学生	(構造有機化学研究領域)
佐藤 基	大学院学生	(構造有機化学研究領域)
橋川 祥史	大学院学生	(構造有機化学研究領域)

東京工業大学グループ (グループリーダー：藤井 正明)

藤井 正明	教授	(資源化学研究所分光化学部門)
石内 俊一	助教	(資源化学研究所分光化学部門)
宮崎 充彦	助教	(資源化学研究所分光化学部門)
SOHN Woon Yong	JSPS 博士課程特別研究員	(資源化学研究所分光化学部門)
大場 妃香里	修士課程 2 年	(資源化学研究所分光化学部門)
青木 拓馬	修士課程 2 年	(資源化学研究所分光化学部門)
加藤 大智	修士課程 1 年	(資源化学研究所分光化学部門)
篠原 潤平	修士課程 1 年	(資源化学研究所分光化学部門)
藁科 太一	修士課程 1 年	(資源化学研究所分光化学部門)

大阪大学グループ (グループリーダー：水谷 泰久)

水谷 泰久	教授	(阪大院理水谷研究室)
石川 春人	講師	(阪大院理水谷研究室)
水野 操	助教	(阪大院理水谷研究室)
近藤 正人	博士研究員	(阪大院理水谷研究室)
Shanyan Chang	大学院生	(阪大院理水谷研究室)
加来 祥太郎	大学院生	(阪大院理水谷研究室)
中嶋 亜侑美	大学院生	(阪大院理水谷研究室)
山脇 竹生	大学院生	(阪大院理水谷研究室)
黒川 貴司	大学院生	(阪大院理水谷研究室)
田畑 博章	大学院生	(阪大院理水谷研究室)
松本 和之	大学院生	(阪大院理水谷研究室)
荒谷 利修	学部生	(阪大院理水谷研究室)
石川 恵理	学部生	(阪大院理水谷研究室)
久保田 真司	学部生	(阪大院理水谷研究室)
坂本 圭輔	学部生	(阪大院理水谷研究室)
西村 尚	学部生	(阪大院理水谷研究室)

東北大学グループ (グループリーダー：山下 正廣)

山下 正廣	教授	(東北大学大学院理学研究科化学専攻)
加藤 恵一	助教	(東北大学大学院理学研究科科学専攻)
守田 峻海	博士 1 年	(東北大学大学院理学研究科科学専攻)
堀井 洋司	修士 2 年	(東北大学大学院理学研究科科学専攻)
吉田 健文	修士 2 年	(東北大学大学院理学研究科科学専攻)
米田 忠弘	教授	(東北大学多元物質科学研究所)

Ⅱ．シンポジウム・セミナー

平成 26 年度
「分子システム研究」第 3 回春季研究会

日程：平成 26 年 4 月 24 日（木）～25 日（金）

会場：滋賀県彦根市 かんぽの宿彦根

主催：独立行政法人 理化学研究所



「分子システム研究」第3回春季研究会 平成26年4月24-25日 かんぽの宿彦根

分子システム研究第3回春季研究会 プログラム

日程：平成26年4月24日（木）～25日（金）

会場：かんぽの宿彦根

4月24日（木）

12:10 ～ 12:50	受付
12:50 ～ 13:00	事務連絡
13:00 ～ 13:10	開会挨拶
13:10 ～ 13:35	O-1 杉本 宏（理研 城研）
13:35 ～ 14:00	O-2 木村 哲就（理研 城研）
14:00 ～ 14:25	O-3 李 秀栄（理研 杉田研）
コーヒーブレイク（20分）	
14:45 ～ 15:10	O-4 石内 俊一（東工大 資源研）
15:10 ～ 15:35	O-5 笠井 秀隆（理研 高田研）
15:35 ～ 16:00	O-6 長坂 将成（分子研 光分子）
16:00 ～ 17:30	ポスター会場設置、チェックイン、入浴、自由討論
17:30 ～ 19:30	夕食
19:30 ～ 21:00	ポスターセッション

4月25日（金）

7:00 ～ 8:30	朝食
8:30 ～ 8:50	ポスター撤去、会場再設置
8:50 ～ 9:50	O-7 金 有洙（理研 Kim 研）
9:50 ～ 10:15	O-8 高山 裕貴（理研 米倉研）
コーヒーブレイク（20分）	
10:35 ～ 11:00	O-9 秋山 好嗣（理研 前田研）
11:00 ～ 11:25	O-10 二子石 師（化研 村田研）
11:25 ～ 11:50	O-11 今田 裕（理研 Kim 研）
11:50 ～ 13:00	写真撮影 & 昼食
13:00 ～ 13:25	O-12 藤澤 知績（理研 田原研）
13:25 ～ 13:50	O-13 ケンワード ヴォング（理研 田中研）
13:50 ～ 14:15	O-14 圓谷 貴夫（理研 加藤研）
14:15 ～ 14:40	O-15 佐藤 年裕（理研 柚木研）
14:40 ～ 14:50	閉会挨拶

平成 26 年度
「分子システム研究」研究報告会

日程：平成 27 年 2 月 24 日（火）～25 日（水）
会場：理化学研究所(和光) 鈴木梅太郎ホール
主催：独立行政法人 理化学研究所

平成 26 年度「分子システム研究」研究報告会 プログラム
平成 27 年 2 月 24 日 (火) - 25 日 (水) 於 理化学研究所 鈴木梅太郎ホール

***** 第一日目 2 月 24 日 (火) *****

12:30-12:50 受付

12:50-13:00 開会挨拶 川合 眞紀 (理事)

13:00-13:10 概要説明 田原 太平 (理研・田原分子分光研究室)

13:10-13:55 **I-1** 大岩 和弘 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所)
「真核生物鞭毛の運動機構解明に向けたボトムアップ的アプローチ」

13:55-14:20 **O-1** 城 宜嗣 (【生体】理研・城生体金属科学研究室)
「生体分子システム ―生体内反応の短寿命反応中間体解析―」

14:20-14:45 **O-2** 米倉 功治 (【生体】理研・米倉生体機構研究室)
「低温電子顕微鏡法による三次元結晶と単粒子構造解析」

休憩 (15 分)

15:00-15:25 **O-3** 田原 太平 (【解析】理研・田原分子分光研究室)
「界面選択的非線形分光による生体関連水界面の性質の解明」

15:25-15:50 **O-4** 水谷 泰久 (大阪大学大学院理学研究科)
「タンパク質機能をうみだすアロステリック機構の解明」

15:50-16:15 **O-5** 藤井 正明 (東京工業大学 資源化学研究所)
「分子認識に関わる生体分子の水素結合構造の解明」

休憩 (15 分)

16:30-17:15 **I-2** 多田 博一 (大阪大学基礎工学研究科)
「単一分子の電気伝導度計測」

17:15-17:40 **O-6** 金 有洙 (【解析】理研・Kim 表面界面科学研究室)
「分子システムにおける界面形成と物性制御」

18:00－ 20:00 意見交換会 於 広沢クラブ

******* 第二日目 2月25日(水) *******

【午前の部】

9:10－ 9:55 **I-3** 森 初果（東京大学 物性研究所）
「プロトンと電子が協奏する純有機物質の新機能開拓」

9:55－10:20 **O-7** 加藤 礼三（【制御】理研・加藤分子物性研究室）
「単一成分分子性導体におけるディラックコーン構造」

10:20－10:45 **O-8** 山下 正廣（東北大学大学院理学研究科）
「単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクス創成」

休憩（15分）

11:00－11:25 **O-9** 高田 昌樹（【制御】理研・高田構造化学研究室）
「放射光を用いた静電相互作用可視化による機能発現機構解析」

11:25－11:50 **O-10** 小杉 信博（自然科学研究機構 分子科学研究所）
「軟X線透過吸収の溶液化学、電気化学への応用及び顕微分光への展開」

11:50－12:15 **O-11** 熊井 玲児（高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所）
「量子ビームを使った分子システムの結晶構造・電子構造評価」

昼食（12:15－13:20）

【午後の部】

13:20－14:05 **I-4** 浅沼 浩之（名古屋大学大学院工学研究科）
「カートリッジ型核酸アナログを用いた光応答性 DNA の設計と、その光駆動型 DNA ナノマシンおよびトランスデューサーへの展開」

14:05－14:30 **O-12** 前田 瑞夫（【融合】理研・前田バイオ工学研究室）
「DNA 修飾金ナノ粒子の一次元アレイ化と構造制御」

休憩（15分）

14:45－15:10 **O-13** 田中 克典（【融合】理研・田中生体機能合成化学研究室）
「「当たり前である」が「気付かなかった」アジドの反応性：有機反応に基づく酸化ストレス条件下でのアクロレイン検出」

15:10－15:35 **O-14** 時任 宣博（京都大学 化学研究所）
「新規な典型元素クラスター化合物の合成とその構造・物性の解明」

休憩 (15 分)

- 15:50－16:15 **O-15** 杉田 有治 (【解析】理研・杉田理論分子科学研究室)
「理論・計算化学に基づく生体分子系のダイナミクス解析」
- 16:15－16:40 **O-16** 柚木 清司 (【解析】理研・柚木計算物性物理研究室)
「磁性不純物問題に対する新しい密度行列繰り込み群法の開発とその応用」
- 16:40－16:50 閉会の辞

セミナーリスト

【解析チーム・田原】

1. “A preview of my research activities on Raman spectroscopy and Surface-enhanced Raman spectroscopy, and future aspects of plasmon-based physical chemistry”
Dr. Yuko Yamamoto (JSPS Postdoctoral Fellow, Dept. of Engineering, Kagawa University)
平成 26 年 4 月 8 日
2. “Probing the structure and dynamics of molecular ions in gas-phase: some recent examples”
Prof. Manfred Kappes (Professor, Physical Chemistry and Nanotechnology, KIT, Karlsruhe, Germany)
平成 26 年 4 月 9 日
3. “High resolution molecular spectroscopies with an optical frequency comb”
Ms. Akiko Nishiyama (Ph. D student, Fukuoka University)
平成 26 年 4 月 10 日
4. “Generation of ultrashort optical pulses via four-wave mixing in a gas”
貴田 祐一郎 博士 (九州大学大学院工学研究院 応用化学部門 (機能) 助教)
平成 26 年 6 月 16 日
5. “IR spectroscopy of hydrogen bond dynamics: from acid-base complexes to complexing DNA base pairs”
Prof. Erik T. J. Nibbering (Professor, Max Born Institut für Nichtlineare Optik und ultraspektroskopie, Germany)
平成 26 年 7 月 4 日
6. “Time-resolved photoluminescence spectroscopy of linked gold-semiconductor nanoparticles: Exciton-plasmon coupling and the necessity for pump-probe techniques”
Prof. Holger Lange (Professor, University of Hamburg, Germany)
平成 26 年 7 月 14 日
7. “Phase-modulation two-dimensional fluorescence spectroscopy of bacterial light harvesting system 2”
Dr. Atsunori Sakurai (Postdoctoral Fellow, Dept of Chemical Physics, Lund University, Sweden)
平成 26 年 9 月 19 日
8. “New insights into ultrafast exciton dynamics in doped and pristine nano-crystals”
Prof. Sanford Ruhman (Professor, The Institute of Chemistry and the Farkas Center for Light-Induced Processes, Hebrew Univ. of Jerusalem, Israel)
平成 26 年 10 月 3 日
9. “Seeing things in a new light”
Prof. Vladislav V. Yakovlev (Professor, Department of Biomedical Engineering & Department of Physics and Astronomy, Texas A&M University, USA)
平成 26 年 12 月 17 日
10. “Ultrafast studies of reactive dynamics by 1 and 2D spectroscopy”
Prof. Stephen R. Meech (Professor, School of Chemistry, University of East Anglia, UK)
平成 27 年 3 月 24 日

【解析チーム・杉田】

1. “Protein Structure Modelling by Global Optimization using Sparse and Ambiguous NOE restraints”
Prof. Jooyoung Lee (Center for In Silico Protein Science, Korea Institute for Advanced Study, Korea, Professor)
平成 26 年 11 月 5 日

【解析チーム・金】

1. “Graphene growth and electronic structure of graphene and graphene-based nanostructures”
Dr. Suklyun Hong (Department of Physics, Sejong University, Korea, Professor)
平成 26 年 6 月 4 日
2. “Dynamics and pattern formation of arene molecules on Cu(111)”
Dr. Daeho Kim (Samsung Electronics Co., Ltd., Korea, Senior Research Scientist)
平成 26 年 6 月 20 日

3. “Synthesis and structure of MoSx”
Dr. Ludwig Bartels (Department of Chemistry, University of California, Riverside, USA, Professor)
平成 26 年 6 月 27 日
4. “Selective fluorescence and fluorescence-free single-molecule detection techniques & applications”
Dr. Seong Ho Kang (Department of Chemistry, Kyung Hee University, Korea, Professor)
平成 26 年 7 月 14 日
5. “Direct cellular delivery of human proteasomes to delay tau aggregation”
Dr. Min Jae Lee (Department of Chemistry, Kyung Hee University, Korea, Assistant Professor)
平成 26 年 6 月 4 日
6. “Atomic and molecular contacts: spins, forces, photons, noise”
Dr. Richard Berndt (Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Germany, Professor)
平成 26 年 11 月 7 日
7. “Surface chemistry with porphyrins”
Dr. Hans-Peter Steinrück (Physikalische Chemie, Universität Erlangen-Nürnberg, Germany, Professor)
平成 26 年 11 月 11 日
8. “Chemical structures and mechanical properties of molecules studied by high-resolution force microscopy”
Dr. Shigeki Kawai (Department of Physics, University of Basel, Switzerland, Senior Researcher)
平成 26 年 11 月 20 日
9. “Controlling a chemical reaction on a surface: application for scanning tunneling microscopy”
Dr. Sylvain Clair (CNRS, Aix-Marseille University, IM2NP, France, Senior Research Scientist)
平成 26 年 11 月 11 日

【解析チーム・柚木】

1. 「1 次元フェルミ粒子系のダイナミクスにおける多体効果」
尾崎 順一 氏（京都大学大学院 理学系研究科 博士過程）
平成 26 年 4 月 18 日
2. “Ultrafast optical response in the one-dimensional half-filled Hubbard model”
Dr. Hantao Lu (Lanzhou University, China, Associate Professor)
平成 26 年 7 月 31 日
3. “Magnetic excitations in relativistic Mott insulators”
Dr. Beom Hyun Kim (Pohang University of Science and Technology, Korea, Post-doctoral Researcher)
平成 26 年 9 月 29 日
4. “The kernel polynomial method and its applications”
Dr. Alexander Weisse (Max Planck Institute for Mathematics, Germany, Researcher)
平成 26 年 12 月 15 日

【制御チーム・加藤】

1. 「熱物性測定による有機導体の研究」
鴻池 貴子 博士（独立行政法人 物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点 (MANA) 独立研究者）
平成 26 年 5 月 22 日
2. 「電界効果を用いた新しい機能性素子」
竹延 大志 博士（早稲田大学 先進理工学部 応用物理学科 竹延研究室 教授）
平成 26 年 6 月 19 日
3. 「フラストレート量子スピン系におけるマルチフェロイクス」
紙屋 佳知 博士（理化学研究所 古崎物性理論研究室）
平成 26 年 10 月 16 日

【制御チーム・高田】

1. “First spin resolved density maps: a joint X-ray neutron and polarized neutron refinement”
Dr. Claude Lecomte (CRM2, CNRS-Université de Lorraine, France, Professor)
平成 26 年 6 月 25 日

2. “New experimental techniques for exploring the properties of solid”
Dr. Kenneth D. M. Harris (Cardiff University, UK, Professor)
平成 26 年 7 月 15 日

【生体チーム・城】

1. “Novel IR Spectroscopies to Study Biological Membranes and Membrane Proteins”
Joachim Heberle 教授 (ドイツ ベルリン自由大学)
平成 26 年 10 月 16 日
2. 「ヘモグロビンの酸素親和性調節における遷移状態 (The "Caged" State) の提案」
米谷 隆教授 (米国 ペンシルベニア大学)
平成 26 年 12 月 3 日

【生体チーム・米倉】

1. 「CXDI における金コロイド粒子を利用した回折シグナル増幅及び位相決定法の開発」
高山 裕貴 博士 (理化学研究所 基礎科学特別研究員)
平成 26 年 9 月 22 日
2. 「Patterson 解析法を利用したサブミクロン粒子集団のコヒーレント X 線回折イメージング」
高山 裕貴 博士 (理化学研究所 基礎科学特別研究員)
平成 27 年 1 月 6 日

【融合チーム・前田、田中】

1. “A novel manufacturing approach for micro-to nanoporous high-performance polymer membranes”
Dr. Christoph M. Schumacher (ETH, Zurich, Postdoc researcher)
平成 26 年 8 月 5 日
2. “Catalysis Inspired Bioconjugation”
Dr. Man-kin Wong (The Hong Kong Polytechnic University, Professor)
平成 26 年 11 月 4 日

外部研究機関

【KEK 物質構造科学研究所グループ】

1. 「心理学的アプローチによるプロジェクト活性化」
森 勇介 (阪大)
平成 26 年 6 月 5 日 物構研コロキウム
2. 「高温 μ SR への期待」
幸田 章宏 (KEK 物構研)
平成 26 年 10 月 10 日 物構研談話会
3. 「加速器をつかった分子動画のつくりかた」
野澤 俊介 (KEK 物構研)
平成 26 年 12 月 18 日 物構研コロキウム
4. 「ペロブスカイト酸化物におけるエネルギー機能発現：太陽燃料製造および燃料電池を例として」
山崎 仁丈 (カリフォルニア工科大学)
平成 26 年 5 月 26 日 物構研談話会
5. 「元々真空のバンドにフェルミ面を光生成するには何秒かかるか？」
那須 奎一郎 (KEK 物構研)
平成 26 年 5 月 26 日 物構研談話会
6. 「物性物理学の課題-理論からの視点」
倉本 義夫 (東北大学大学院理学研究科)
平成 27 年 1 月 13 日 物構研談話会

【京都大学グループ】

有機元素化学サブグループ

1. “From Reactive Intermediates to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons”
Prof. Dr. Holger Bettinger (Universität Tübingen, Germany)
平成 26 年 4 月 8 日
2. “Sydnones, Nitrile imines, Carbodiimides and 1*H*-Diazenes”
Prof. Dr. Curt Wentrup (The University of Queensland, Australia)
平成 26 年 4 月 30 日
3. “Highly-Reactive Phosphorus Building Blocks–New Concepts in Synthesis–”
Prof. Dr. Jan J. Weigand (Technische Universität Dresden, Germany)
平成 26 年 7 月 19 日
4. “Perfluoroarylborane catalyzed frustrated Lewis pair hydrosilations: mechanism, applications and scope”
Prof. Dr. Warren E. Piers (University of Calgary, Canada)
平成 26 年 10 月 22 日

構造有機化学サブグループ

1. “Synthesis and Electroluminescence Properties of Highly Efficient Blue Fluorescence Emitters Using Dual Core Chromophores”
Prof. Jongwook Park (The Catholic University of Korea, South Korea)
平成 26 年 1 月 15 日
2. “Fullerenes Functionalization through Metal-Catalyzed C-H Bond Activation and Phosphine-Catalysis: From Methodology to Application”
Prof. John Shih-Ching Chuang (National Chiao Tung University, Taiwan)
平成 26 年 7 月 12 日
3. “The Synthesis of Acenes and Their Semiconducting Properties”
Prof. Tahsin J. Chow (Academia Sinica Institute of Chemistry, Taiwan)
平成 26 年 10 月 6 日
4. “Organophosphorus Avenues Toward Powerful Electron Acceptors and Self-Assembled Nanomaterials”
Prof. Thomas Baumgartner (University of Calgary, Canada)
平成 26 年 11 月 6 日

【東京工業大学グループ】

1. “Properties of a Novel Ultra-cold Quantum Degenerate Plasma”
Prof. Klaus Müller - Dethlefs (Photon Science Institute, The University of Manchester)
平成 26 年 5 月 12 日
2. “電子励起分子の構造とダイナミクスへの電場効果”
太田 信廣 教授 (北海道大学電子科学研究所)
平成 26 年 9 月 2 日
3. “Geometric and Electronic Structure of Silicon- and Carbon- containing Aggregates”
Prof. Dr. Otto Dopfer (Institut für Optik und Atomare Physik, Technische Universität Berlin)
平成 26 年 10 月 9 日
4. “Recent development on Laser double resonance spectroscopy with cold ion trap ”
Prof. Christophe Jouvét (Aix-Marseille Université)
平成 26 年 10 月 15 日
5. “Combining Infrared Photodissociation Spectroscopy with Density Functional Theory-Molecular Dynamics; A Marriage of Experiment and Theory to Address Intermolecular Interactions Relevant to Solvation”
Prof. James M. Lisy (University of Illinois at Urbana-Champaign)
平成 26 年 11 月 13 日
6. “界面 SFG 分光の理論計算”

森田 明弘 教授 (東北大学大学院理学研究科)

平成 27 年 1 月 19 日

【大阪大学グループ】

1. 「フェムト秒時間領域ラマン分光法で観るイエロープロテインにおける超高速構造ダイナミクス」
倉持 光 博士 (理化学研究所 田原分子分光研究室 基礎科学特別研究員)
平成 26 年 5 月 16 日
2. 「数Kのタンパク質 1 分子解析を目指して：クライオ反射型蛍光顕微システム開発物語」
藤芳 暁 博士 (東京工業大学大学院理工学研究科 物性物理学専攻 助教)
平成 27 年 2 月 13 日

【東北大学グループ】

1. “Simulation of bistable molecules and devices from ab initio calculations”
Professor Mikael Kepenekian (Universite Joseph Fourier)
平成 26 年 10 月 30 日
2. “Phosphorus-rich metal complexes as precursors for the formation of nanostructures metal phosphides”
Professor Santiago Gomez-Ruiz (Rey Juan Carlos University)
平成 27 年 1 月 15 日
3. “Ultrafast excited-state dynamics of d-d transition states on extended metal atom chains”
Dr. Chao-Han Cheng (National Tsing Hua University, Taiwan, Associate Professor)
平成 26 年 4 月 19 日
4. 「インタラクティブな細孔を有する配位高分子錯体の構築と応用」
焼山 有美 博士 (POSTECH)
平成 26 年 9 月 6 日

Ⅲ. 研究成果

分子システム解析チーム

(チームリーダー：田原 太平)

二次元蛍光寿命相関分光法による シトクロム *c* のマイクロ秒構造ダイナミクス解析

乙須拓洋, 石井邦彦, 田原太平

理研・田原分子分光

蛋白質のダイナミクスにはピコ秒から秒に至る幅広い時間階層性があり、その本質的な理解には各時間領域での構造ダイナミクスの定量的な解析が重要である。特にマイクロ秒領域は蛋白質折れ畳みの初期過程に対応しており、また MD シミュレーションと実験の直接比較が可能であることから、分子レベルでのダイナミクス理解において重要な時間領域である[1]。しかしながら、現在普及している解析手法である一分子計測の時間分解能は 100 マイクロ秒程度であり、マイクロ秒領域での詳細な解析はこれまで研究が進んでいなかった。

我々の研究室では最近、マイクロ秒の時間分解能で定量的な解析を可能とする二次元蛍光寿命相関分光法 (2D-FLCS) を開発した[2]。本手法は共焦点顕微鏡の焦点領域から検出さ

れた一分子由来の蛍光光子について、光子間の蛍光寿命の相関を解析する手法であり、構造に敏感な蛍光寿命を通して蛋白質の構造不均一性や構造間ダイナミクスを理解することができる (図 1)。本研究では、2D-FLCS の蛋白質研究への初めての応用として、酸性条件下でのシトクロム *c* の構造ダイナミクスを解析した[3]。

本研究に際し、シトクロム *c* の C 端領域に蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) のドナーとなる色素を付与し、シトクロム *c* に内在するヘム鉄への FRET に由来するドナー蛍光寿命の変化を、シトクロム *c* 構造変化のプロブとして解析した。まず始めに異なる pH 条件での蛍光寿命解析を行い、ドナーの蛍光寿命がシトクロム *c* の酸変性過程に伴う構造変化を反映していることを確認した。そこで変性中点である pH3.5 において 2D-FLCS による測定・解析を行った結果、複数の蛍光寿命成分が観測された (図 2 a)。それらのうち 70 ps, 280 ps の 2 つの成分の間のクロスピークは、 $\Delta T = 0.2\text{--}4\text{ }\mu\text{s}$ の二次元マップには見られなかったのに対し、 $\Delta T = 8\text{--}12\text{ }\mu\text{s}$ のマップにおいてははっきりと確認された。クロスピークは関与する二つの蛍光寿命成分間の交換が ΔT の間に起こっていることを意味する。つまりこの結果は 70 ps 成分と 280 ps 成分の間の交換が約 $5\text{ }\mu\text{s}$ 程度の時定数で起こっていることを強く示唆する。別に行った蛍光寿命解析の結果、短寿命成分がシトクロム *c* の天然状態に帰属されたことから、本解析の結果はシトクロム *c* の天然状態と変性中間状態間の構造転移ダイナミクスが約 $5\text{ }\mu\text{s}$ で起こっていることを意味する。シトクロム *c* は古くから調べられている折れ畳み研究のモデル蛋白質であるが、2D-FLCS を用いた本研究により初めてマイクロ秒領域

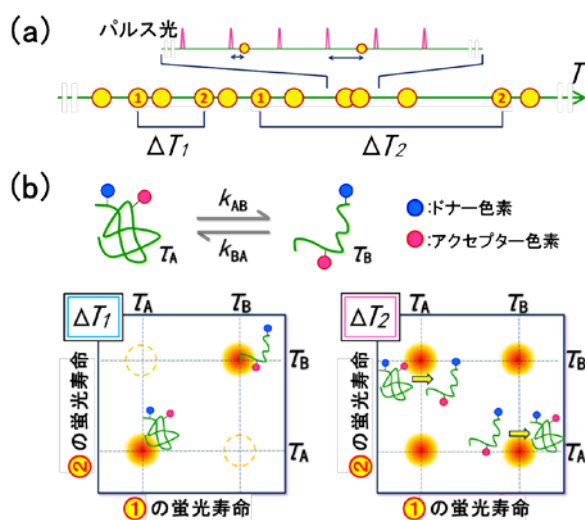


図 1. 2D FLCS の概要。(a) 検出される蛍光光子の模式図。パルス光から蛍光検出までの遅延時間が蛍光寿命の情報を与える。(b) 二つの構造間でのダイナミクスがあるときに期待される結果。二つの光子間の時間差(ΔT)が構造間ダイナミクスの時定数より長い場合、構造間転移が二次元マップ上のクロスピークとして表れる(ΔT_2)。

の天然状態構造のダイナミクスを観測することができた。その他のピークについても考慮すると、3つの変性中間体 (I_1 , I_2 , I_3) を含むシトクロムcの複雑な折れ畳みモデル (図2b) が示唆される。

本研究ではさらに、2D-FLCSをさまざまな ΔT で行い、検出された各ピーク (= 準安定構造) の相関関数を抽出した。得られた相関関数について理論関数によるフィッティングを行った結果、新たに変性中間状態 (I_2+I_3)、ならびに変性状態 (U) のマイクロ秒ダイナミクスを検出することに成功した (図3a)。二次元マップ上にクロスピークが検出されなかったのは、これらが蛍光寿命の非常に短い (本測定的时间分解能以下) 成分との間でのダイナミクスであるためであることが他の実験より示唆された。以上の結果、最終的に図3bのような折れ畳みモデルを提案した。本解析より、シトクロムcの非常に複雑な構造転移機構が初めて明らかとなった。

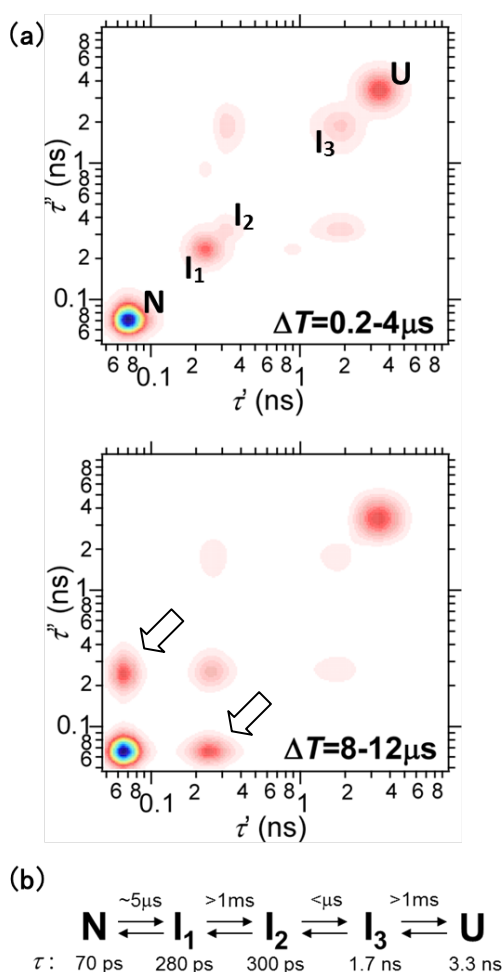


図2. (a) 異なる ΔT で得られたシトクロム c の蛍光寿命相関マップ。検出された天然状態と変性中間体間のクロスピークを矢印で示している。(b) 蛍光寿命相関マップのピークパターン解析より示唆されたシトクロム c の構造転移スキーム。

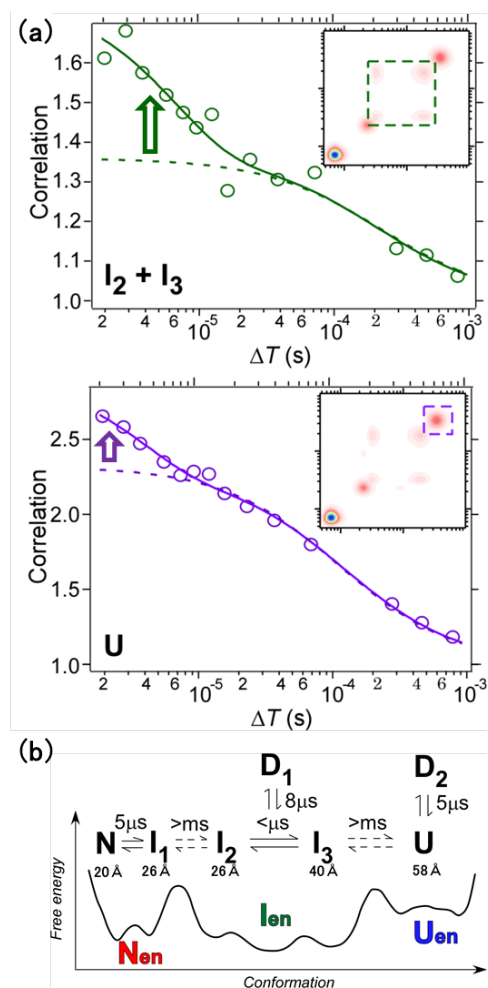


図3. (a) 変性中間状態 (I_2+I_3) ならびに変性状態 (U) の蛍光強度の自己相関。マイクロ秒のダイナミクスに起因する相関振幅を矢印で強調している。(b) 最終的に提案したシトクロム c の構造転移スキームと自由エネルギー地形。

【参考文献】

- [1] Shaw, D.E., et al. *Science* **2010**, 330, 341. [2] Ishii, K.; Tahara, T. *J. Phys. Chem. B* **2013**, 117, 11414.& 11423. [3] Otsu, T; Ishii, K; Tahara, T. *submitted*.

蛍光相関分光におけるアフターパルス効果の補正法の開発

石井邦彦, 田原太平

理研・田原分子分光

蛍光相関分光法 (Fluorescence Correlation Spectroscopy, FCS) は生体分子のマイクロ秒オーダーの自発的な揺らぎを観測する有力な手段であり、我々はこれを利用した新しい分光法の開発と応用を進めている[1,2]。FCSを数マイクロ秒の時間領域で応用する際に問題となる点の一つは、光子検出器として用いられるアバランシェフォトダイオード (APD) のアフターパルス効果である。アフターパルスは本来の光子信号パルスが発生してからある遅延時間 (数マイクロ秒以下) 経った後に、偽のパルス信号が確率的に発生する現象である。この影響で、数マイクロ秒までの時間領域で蛍光相関信号が大きく歪むことが知られている。これを避けるため、通常はAPDを2台用いてそれらの相互相関信号のみを利用するのが一般的である。しかし、この方式では得られた光子対の半分が使用されず非効率であるだけでなく、蛍光相関計測の多チャンネル化[3]や多色化[4]など分子ダイナミクス計測の高度化を目指す際には光学配置が煩雑になるという問題が無視できなくなる。従って、より簡便に蛍光相関信号に対するアフターパルスの影響を評価し、分離することが重要である。

我々は光子信号の解析においてアフターパルス効果を補正するために、相関信号の時間反転対称性を用いる方法を検討した[5]。この方法では、試料溶液をパルス励起し、発生した蛍光光子の励起 - 検出遅延時間を時間相関光子計数法 (TCSPC) で計測する。蛍光プローブ分子からの蛍光は一般に指数関数的に減衰する遅延時間特性を示すが、アフターパルスは通常蛍光よりはるかに長い時間領域で発生するため、蛍光寿命の時間スケールでは遅延時間の分布はほぼ平坦になる。そこで各光子の遅延時間のデータを用いて相関信号を展開した二次元蛍光遅延時間相関マップ[1,2]を作成し、このマップの対称性を調べる。真の蛍光信号のみからなるマップは、系が平衡状態にある場合、詳細釣り合いの原理から、対角線を挟んで対称な形になると予測される (図 1 a)。一方アフターパルス効果による偽の光子信号は、必ず別の光子信号の後に発生するため、時間反転対称性が破れ、二次元マップが非対称な形になる (図 1 b)。そこでこの非対称性を定量的に評価することで、アフターパルスの発生確率を求め、その寄与を相関信号から差し引くことができる。

この方法の有効性を確かめるため、蛍光色素分子を用いて検証実験を行った。図 2 はテトラメチルローダミン (TMR) の蛍光相関信号である。黒点線は2台のAPDを用いた従来法により得られた相互相関信号、青線はその内1台の出力のみから計算した自己相関信号である。自己相関信号のサブマイクロ秒領域に顕著に見られる減衰成分がアフターパルスの効果である。(ただし 10^{-7} sでの相関信号の消失はTCSPCの不感

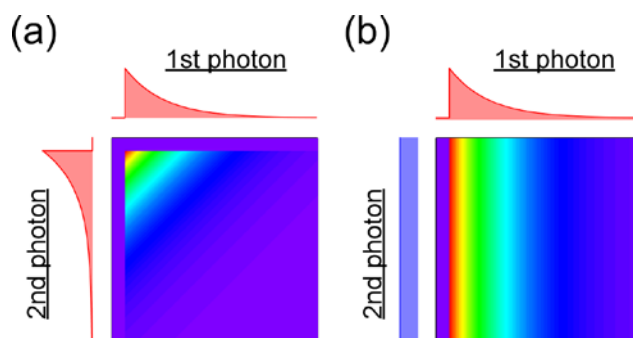


図 1. 予想される二次元蛍光遅延時間相関マップの形状。(a)真の蛍光信号。(b)アフターパルス効果。

時間によるものである。) この自己相関信号から上記の方法でアフターパルスの寄与を差し引いたもの(赤線)はほぼ完全に相互相関信号の形を再現しており、アフターパルスの影響を取り除けていることが確認できる。

図3はTMRとCy3の2種類の蛍光色素を混合した試料の蛍光相関信号である。これらの色素は大きく異なる蛍光寿命(TMR:2.4 ns, Cy3:0.18 ns)をもつが、この場合でも今回の方法でアフターパルスの影響を取り除くことができている。緑点線で示したのは発光遅延時間を利用した別のアフターパルス補正法[6]を適用した結果であるが、相互相関信号と比較すると、系統的に相関強度を低く評価していることが分かる。これは試料分子の蛍光寿命の不均一性に起因するものであるが、一方で時間反転対称性の情報を取り入れた今回の方法はこのような不均一性が存在する場合でも有効であることが示された。

以上のように、本手法によりサブマイクロ秒までの時間領域において単一の検出器のみを用いて正確な蛍光相関関数を計測することが可能となった。この方法は我々が独自に開発した二次元蛍光寿命相関分光法(2D-FLCS) [1,2]と組み合わせて使うことができる。これにより2D-FLCSの多色化・多点化などの拡張が容易になり、生体分子のマイクロ秒領域の自発揺らぎをより精度良く調べることができるようになると期待される。

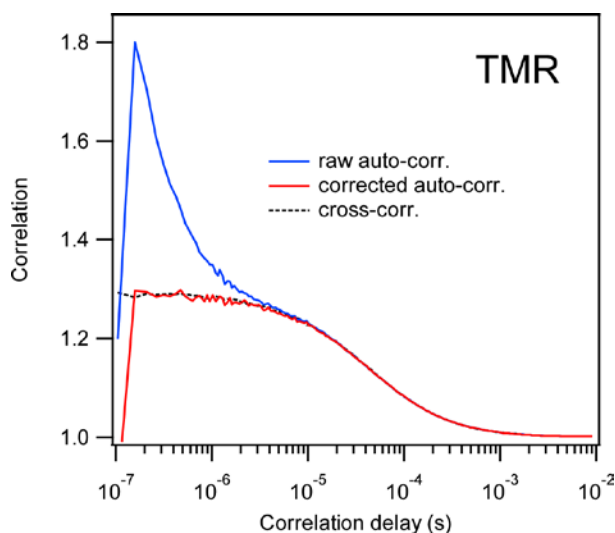


図2. TMRの蛍光相関信号。

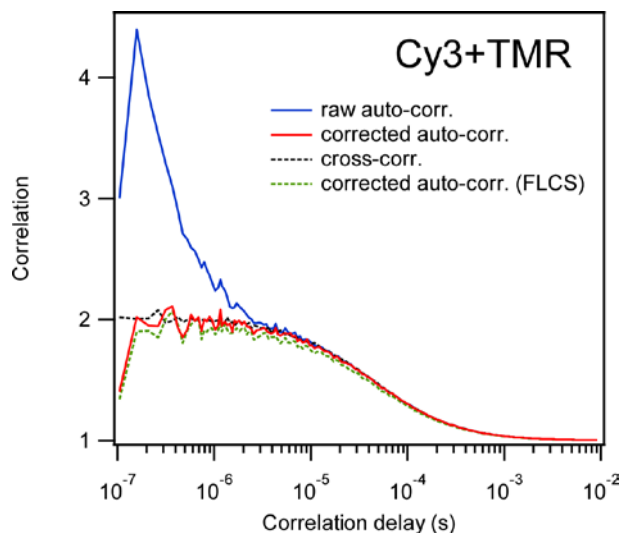


図3. TMRとCy3の混合試料の蛍光相関信号。

【参考文献】

- [1] Ishii, K.; Tahara, T. *J. Phys. Chem. B* **2013**, 117, 11414.
- [2] Ishii, K.; Tahara, T. *J. Phys. Chem. B* **2013**, 117, 11423.
- [3] 乙須拓洋・石井邦彦・田原太平, 第7回分子科学討論会, 2013, 2D21.
- [4] 石井邦彦・Chao-Han Cheng・田原太平, 第7回分子科学討論会, 2013, 2D20.
- [5] 石井邦彦・田原太平, 第6回分子科学討論会, 2012, 1P086.
- [6] Enderlein, J.; Gregor, I. *Rev. Sci. Instrum.* **2005**, 76, 033102.

蛍光相関分光法の測定時間短縮に向けた 多焦点共焦点顕微鏡システムの開発

乙須拓洋, 石井邦彦, 田原太平

理研・田原分子分光

我々が最近開発した二次元蛍光寿命相関分光法 (2D-FLCS) は、蛋白質をはじめとする生体高分子の複雑なダイナミクスを、高い時間分解能で定量的に解析することができる新しい手法である [1]。我々はこれまでヘアピン DNA [1] やシトクロム c [2] をサンプルとして用い、それらのマイクロ秒構造転移ダイナミクスの解析を行うことにより、本手法の有用性を示してきた。しかしながら、原理的に本手法ではきわめて多くの光子データとそのための長時間測定が必要とされる。実際我々が行ったシトクロム c の解析においては、データ取得に 6 日間の信号積算を要した。この点を克服すべく本研究では多焦点共焦点顕微鏡の開発を行い、同等の光子データを複数の焦点領域から同時取得することにより測定時間の短縮を試みた。

本研究では対物レンズの無限遠補正光学系を利用した多焦点形成を行った。無限遠系の対物レンズの焦点面上の点光源から発せられる光は対物レンズを通過することで平行光として伝播する (図 1)。点光源が二つであった場合これらに由来する平行光は光軸との角度が異なっており、これらを適切なフォーカスレンズ (対物レンズによって定められており、図では $f = 200 \text{ mm}$) で結像させると対物レンズの倍率に従った像が得られる (図 1 a)。一方でフォーカスレンズがない状況では、これら二つの平行光の中心間距離は対物レンズからの距離に伴い広がっていき、図 1 に示すような 100 倍対物レンズでは、点光源間の距離が $10 \mu\text{m}$ であった場合、 200 mm 地点で 1 mm 、 2 m 地点では 10 mm となる。このことは逆に、 2 m 地点で 10 mm の中心間距離を有する二つの平行光を対物レンズの瞳に入射することにより、 $10 \mu\text{m}$ 離れた二つの焦点を形成できることを意味している (図 1 b)。

図 2 に無限遠系を利用した多焦点共焦点顕微鏡の概略図を示す。チタンサファイアレーザーのパルス光出力 (800 nm 、 100 fs 、 80 MHz) をフォトニック結晶ファイバーに集光して白色光を発生させ、バンドパスフィルターで目的の波長の光を取り出し、蛍光励起光とした。励起光は 7 つの台形ビームスプリッターを用いて 8 つに分け、そのうちの 7 つを使用した。マルチミラー (M2) を用いて個別に角度を調整した 7 つの励起光を 5 m 程度の長い光路を経て対物レンズ ($60\times$, water immersion) の瞳に入射した。これにより、マルチミラー上での各励起光の中心間距離とミラーから対物レンズまでの距離に依存した相対空間配置を有する 7 つの焦点を試料上に形成することが可能となる (図 2 b)。各焦点から発せられる蛍光はバンドパスフィルターを通過させた後、集光レンズを用いてファイバーバンドルの端面上に結像させた。ファイバーバンドルは 7 本のファイバーを結像されるイメージに対応するように束ねたもので

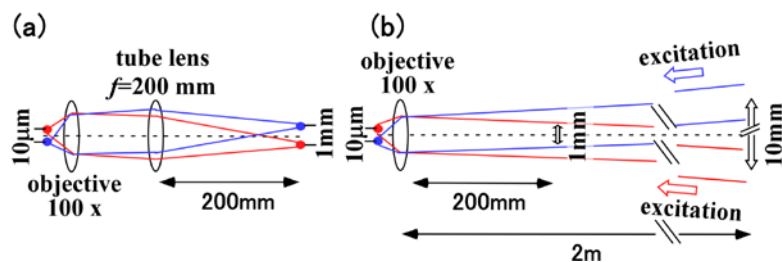


図 1. 無限遠補正光学系を利用した多焦点形成の概略図。

あり、ファイバーそれぞれが対応する焦点領域からの蛍光を収集する。収集された蛍光光子は単一光子アヴァランシェフォトダイオード (SPAD) で検出し、時間相関単一光子計数ボードで解析した。

まず始めに本装置を用いて通常の蛍光相関解析を行った。測定にはローダミン 6G のエチレングリコール (EG) 溶液 (2.5 nM) を用いた。通常、単一 SPAD を用いた相関解析では計数率に依存する時間原点のシフトやアフターパルスの影響が問題となるが、これらについては我々が開発した補正法により取り除いた[3,4]。その結果、図 3 に示すようにすべての焦点からほぼ同等の相関関数を得ることができた。

次に同じ試料を用いて蛍光寿命測定

定を行った。各焦点から得られた蛍光減衰カーブには、EG からのラマン散乱、ならびに他の励起光によるバックグラウンド蛍光 (クロストーク) が検出された (図 4 矢印)。しかしながら、これらの寄与については 2D-FLCS により相関成分の蛍光減衰カーブを抽出することで完全に除去することができた (図 4 青線)。この結果は、クロストークが完全に無相関であることを示すとともに、本装置を用いて 7 つの焦点からクロストークフリーの相関成分を抽出可能、すなわち 2D-FLCS によるさらなる解析が可能であることを示している。これにより、本装置を用いることで 2D-FLCS の測定時間を単焦点系の 1/7 に短縮することが可能となった[5]。

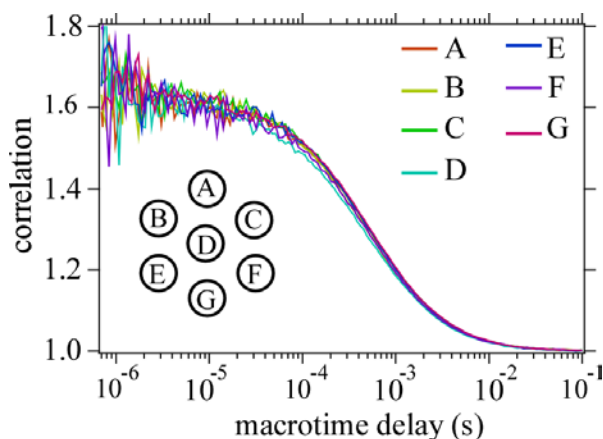


図 3. 本装置を用いて各焦点から得た相関関数。

【参考文献】

- [1] Ishii, K.; Tahara, T. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 11414.& 11423. [2] Otsu, T; Ishii, K; Tahara, T. submitted. [3] Otsu, T; Ishii K.; Tahara, T. *Rev. Sci. Instrum.* **2013**, *84*, 036105. [4] Ishii, K.; Tahara, T. to be submitted. [5] Otsu, T; Ishii, K; Tahara, T. to be submitted.

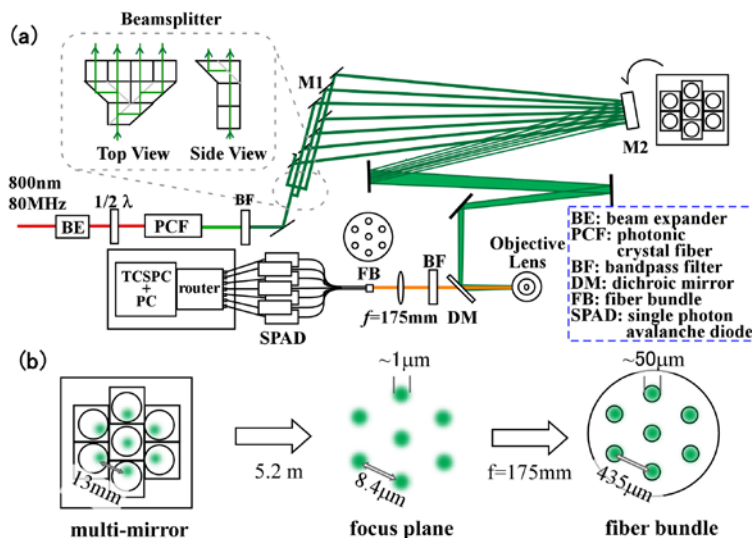


図 2. (a) 開発した多焦点共焦点顕微鏡の概略図。(b) マルチミラー、焦点、ファイバーバンドル端面での励起光、または結像イメージ。

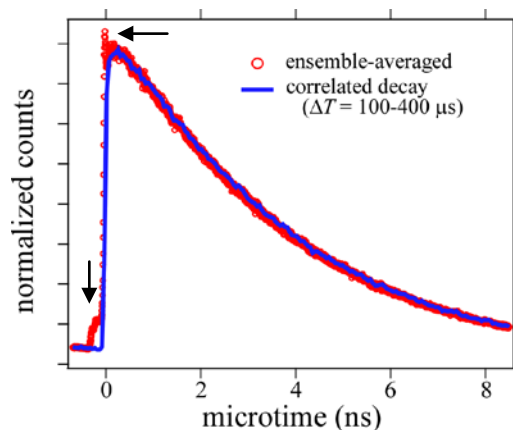


図 4. 本装置により得られた蛍光減衰カーブ (赤丸) と 2 D FLCS により抽出した相関成分の蛍光減衰カーブ (青線)。

帯電界面における水の構造とホフマイスター対イオン効果

二本柳聡史, 山口祥一, 田原太平

理研・田原分子分光

たんぱく質の溶解度に及ぼす塩効果の序列はホフマイスター系列として知られている(図 1)。この系列はたんぱく質の塩析のみならず、酵素活性のような複雑な生体機能から界面活性剤の臨界ミセル濃度のような単純な物性にいたるまで非常に多くの溶質の多様な物性に共通している。そのためホフマイスター系列を理解することは生物物理および物理化学の広範な学問領域において非常に重要である。しかしながら、その重要性にもかかわらず、その微視的なメカニズムについてはよくわかっていない。ホフマイスター塩効果は微視的には界面(たんぱく質/水溶液、界面活性剤/水溶液)の問題として捉えることができる。従って、溶質分子と共存イオンおよび溶媒である水の三者がなす界面の構造とそこでの相互作用を理解することがホフマイスター塩効果の理解にとって本質的に重要である。

我々が開発したマルチプレックスヘテロダイン検出振動和周波発生(HD-VSFG)分光法を用いると、非線形感受率($\chi^{(2)}$)の二乗を計測する従来法と異なり、 $\chi^{(2)}$ に対して線形なスペクトルを直接かつ比較的短時間で測定することができる¹。特に $\chi^{(2)}$ スペクトルの虚部($\text{Im}\chi^{(2)}$)は振動共鳴を直接反映し、さらに二乗による変形がないため、複雑な水のスペクトルの解析をする上で特に有利である。今回、我々はHD-VSFG分光法を用いて、正および負に帯電したイオン性界面活性剤単分子膜と種々の塩水溶液の界面における水の構造とホフマイスター系列との関係を調べた²。

図 2 にカチオン性の Cetyltrimethylammonium(CTA⁺)単分子膜と種々のナトリウム塩を含む同位体希釈水溶液界面における OH 伸縮領域の $\text{Im}\chi^{(2)}$ を示す。図2の $\text{Im}\chi^{(2)}$ スペクトルは 3100 から 3600 cm^{-1} の広範囲に渡って負のブロードな OH バンドを示す。バンドが負符号を持つのは信号

を与えている界面の水分子が平均して水素を下向きに配向していることに由来する。こ

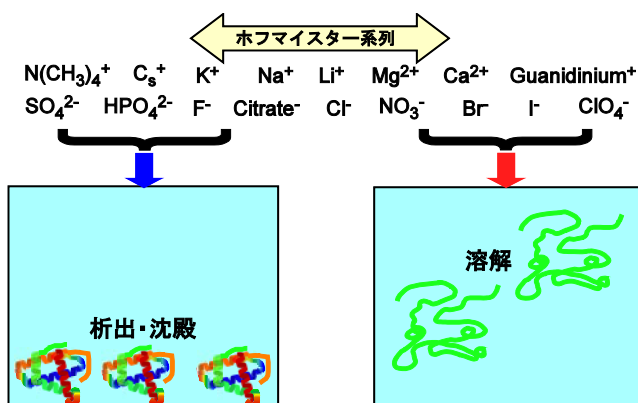


図 1. 上部に示すイオンのうち左側に示すイオンはタンパク質を析出・沈殿させる。中央に位置するイオンでは塩析の効果が小さくなり、右側のイオンは逆にタンパク質の溶解度を上げる働きをする。このようにイオンを加えた時に水溶液の性質がどれだけ変化するかは序列はホフマイスター系列と呼ばれ、非常に多くの溶質の多様な物性に共通してみられる。

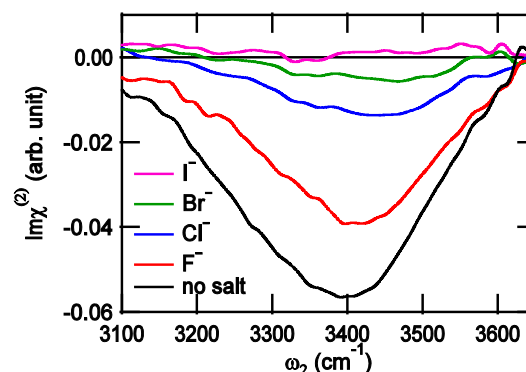


図 2. CTA⁺単分子膜/0.5M ナトリウム塩水溶液界面の $\text{Im}\chi^{(2)}$ スペクトル。(赤線) NaF、(青) NaCl、(緑) NaBr、(紫) NaI。参考のため塩を加えない場合のスペクトルを黒線で示す。

のような帯電界面では電気二重層内で配向している水が $\chi^{(2)}$ 活性となるので、信号強度は電気二重層の厚みに依存すると考えられる。実際、電気二重層が最も厚いと考えれる過剰塩を加えていない場合において最も強い OH バンドが観測されている(黒線)。塩を加えると二重層が圧縮されることにより OH バンドの強度は減少する。その中で、バンドの強度は F^- を含むものが一番大きく、 Cl^- , Br^- , I^- の順で小さくなる。これはサイズの大きなハロゲンイオンほど CTA⁺ 界面によく吸着し電気二重層を薄くするためと考えられる。特に I^- を含む場合は水の OH バンドがほとんど強度を持たず、この界面におけるイオンの吸着が主として接触吸着であることを示唆している。また、CTA⁺ 界面の OH バンド強度に見られるハロゲンの序列はホフマイスター系列と完全に一致している。従って、アニオンのホフマイスター系列は CTA⁺ 界面におけるアニオンの吸着力に起因すると考えられる。この結論は Cremer らが行った従来型の VSFG の研究結果と一致している³。

一方、図 3 に示す負に帯電した Dodecylsulfate (DS^-) 単分子膜界面におけるカチオンの効果は上述のアニオン効果とは異なる。ここで、図 3 の OH バンドが正の符号を持つのは負に帯電した界面において水分子が水素を上向きに配向していることを示す。重要な実験事実として、OH バンドの強度はカチオンのホフマイスター系列と一致しない。また、いずれのカチオンに対しても OH バンドが観測されたため、 DS^- 単分子膜界面におけるカチオンの吸着は非接触であると考えられる。従って、カチオンのホフマイスター系列の起源は界面とカチオンの接触吸着による直接的な相互作用ではありえない。一方、OH バンドの中央値を求めると Tetramethylammonium⁺ (TMA^+), Cs^+ , Li^+ , Mg^{2+} の順に高波数にシフトし、界面の水の水素結合強度の低下を示した。この序列は陽イオンのホフマイスター系列と一致する。従って、 DS^- 界面における水の水素結合構造とホフマイスター系列には相関があることが示唆された。以上から、ホフマイスター系列は、①界面とイオンが接触吸着する場合はその吸着力(会合定数)、②界面とイオンが接触吸着しない場合は、界面の水の水素結合構造、これら 2 つの因子により決定されていると考えられる。

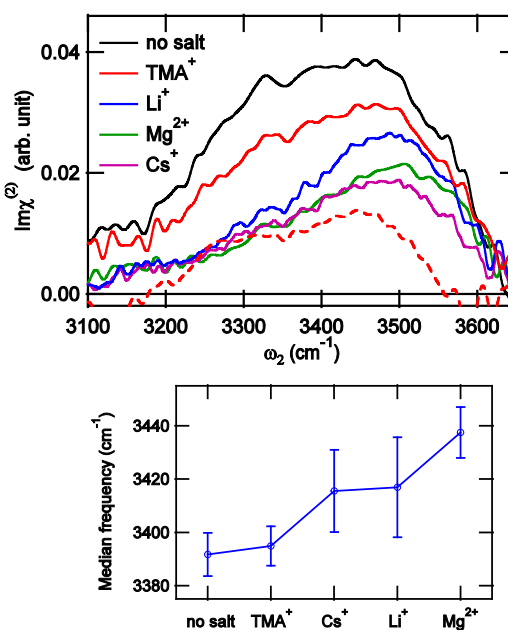


図 3. (上) DS^- 単分子膜/0.5M MCl_n 界面の $Im\chi^{(2)}$ スペクトル。(赤線) TMA^+ 、(青) Li^+ 、(緑) Mg^{2+} 、(紫) Cs^+ 。参考のため塩を加えない場合のスペクトルを黒線で示す。(下) OH バンドの中央値振動数とカチオンのホフマイスター系列の関係。

【参考文献】

- ¹ S. Nihonyanagi, S. Yamaguchi, and T. Tahara, J. Chem. Phys. **130** (2009) 204704.
- ² S. Nihonyanagi, S. Yamaguchi, and T. Tahara, J. Am. Chem. Soc. **136** (2014) 6155.
- ³ X. Chen, S. C. Flores, S.-M. Lim, Y. Zhang, T. Yang, J. Kherb, and P. S. Cremer, Langmuir **26** (2010) 16447.

Evaluation of pH at Neutral Lipid/Water Interfaces by Heterodyne-detected Electronic Sum Frequency Generation

Achintya Kundu, Shoichi Yamaguchi, Tahei Tahara
Molecular Spectroscopy Laboratory, RIKEN

The biological membrane is the boundary of a biological cell. One of the main structural components of the biological membrane is neutral lipid. The pH at the biological membrane is important for the formation of the membrane and the functional activity of the membrane. Therefore, it is essentially important to know the interface pH at the biological membrane.

We evaluated the interface pH at the lipid/water interfaces which mimic the biological membrane. The lipid/water interfaces were formed with lipids adsorbed at the air/water interface with their hydrophobic acyl chains pointing up towards the air and their hydrophilic head groups pointing down towards the bulk water.¹ pH spectrometry was applied to the lipid/water interfaces to evaluate the pH at the lipid interfaces using heterodyne-detected electronic sum frequency generation (HD-ESFG) and a pH indicator.^{2,3} The pH indicator was coadsorbed at the lipid/water interfaces with its alkyl chain aligned with the lipid acyl chains and its chromophore facing towards interfacial water. Figure 1 shows the lipid/water interface and the schematic representation of the experimental configuration.

We chose a surface active pH indicator, 4-heptadecyl-7-hydroxycoumarin (HHC). Figure 2a shows the acid-base equilibrium of the pH indicator. Studies were performed at the water interface with each of two neutral model lipids, shown in Figure 2b, 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycerol (DPG, nonionic) 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DPPC, zwitterionic).

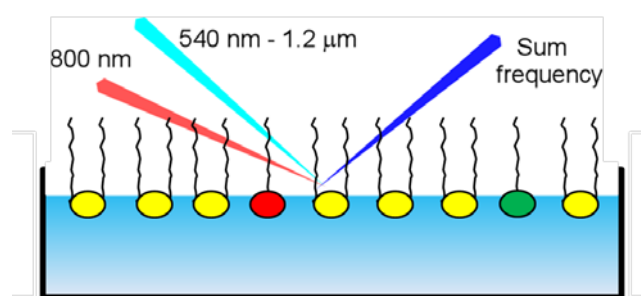


Fig. 1 Sketch of the lipid/water interface with pH indicator and the experimental configuration.

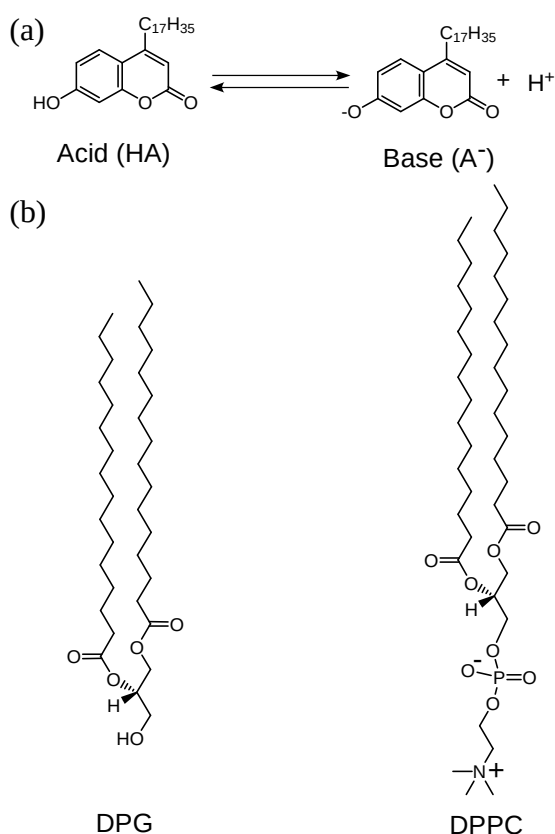


Fig. 2 (a) Acid-base equilibrium of the pH indicator, HHC. (b) Chemical structure of the two model lipids: DPG (nonionic) and DPPC (zwitterionic).

Figures 3a and 3b shows the interface selective electronic $\chi^{(2)}$ spectra of the pH indicator at the nonionic DPG/water interface. $\text{Im}\chi^{(2)}$ spectra (imaginary part of the $\chi^{(2)}$ spectra) exhibit an absorptive spectral feature, and these can be interpreted in the same way as UV-visible absorption spectra under the present two-photon resonant and one-photon nonresonant conditions.² The $\text{Im}\chi^{(2)}$ and $\text{Re}\chi^{(2)}$ (real part of the $\chi^{(2)}$ spectra) spectra exhibit isosbestic points approximately at 350 nm and 380 nm, which indicate only the acid-base equilibrium at the lipid/water interface.

By analyzing the bulk-pH dependence of the $\chi^{(2)}$ spectra, the bulk pH at which $[\text{HA}] = [\text{A}^-]$ is determined as 9.3. Generally, the pH is equal to the pK_a (negative logarithm of the acid dissociation constant) when $[\text{HA}] = [\text{A}^-]$. However, this bulk pH at which $[\text{HA}] = [\text{A}^-]$ is not the pK_a of the pH indicator at the DPG/water interface, because the pH is measured in the bulk. Assuming interfacial $\text{pH} = \text{bulk pH} + \Delta$, pK_a is obtained as $9.3 + \Delta$.

The pK_a is equal to the standard reaction Gibbs energy of $\text{HA} \rightarrow \text{H}^+ + \text{A}^-$ divided by $RT \ln 10$.

The standard reaction Gibbs energy is given as a function of the effective relative dielectric constant of the surrounding medium which can be estimated by the solvatochromism of A^- . The peak wavelength of the $\text{Im}\chi^{(2)}$ spectrum of A^- in Figure 3a allows us to estimate the effective relative dielectric constant of the DPG/water interface as 25. From this effective relative dielectric constant, the pK_a of the pH indicator at the DPG/water interface is evaluated as 10.1. Because this pK_a should be equal to $9.3 + \Delta$, Δ is obtained as +0.8. Similarly, we also estimate the pH at the zwitterionic lipid DPPC/water interface and find it to be lower than bulk by 0.6 pH units.

Although, both DPG and DPPC are neutral lipids, the pH at the DPG/water interface is higher than that in bulk whereas the pH at the DPPC/water is lower than that in bulk. This work clearly shows that the interface pH is substantially deviated from the bulk pH and that it changes largely depending on the head group of the lipids.

References

- (1) Mondal, J. A.; Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7842.
- (2) Kundu, A.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, 762.
- (3) Yamaguchi, S.; Kundu, A.; Sen, P.; Tahara, T. *J. Chem. Phys.* **2012**, *137*, 151101.

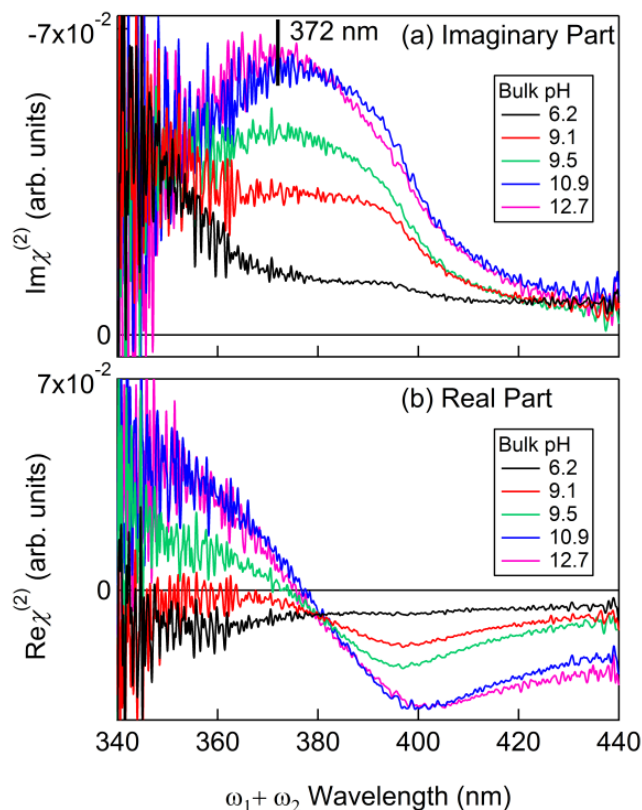


Fig. 3 (a) Imaginary and (b) real parts of the $\chi^{(2)}$ spectra of the pH indicator at the DPG/water interface. Black, red, green, blue, and pink lines represent spectra obtained at bulk pH 6.2, 9.1, 9.5, 10.9, and 12.7, respectively.

Water Structure at Nonionic Lipid/Water Interfaces Revealed by Heterodyne-Detected Vibrational Sum Frequency Generation Spectroscopy

Aniruddha Adhikari, Satoshi Nihonyanagi, Shoichi Yamaguchi, Tahei Tahara

Molecular Spectroscopy Laboratory, RIKEN

Despite its presence in nature and importance in many processes of biological relevance, our knowledge about lipid/water interfaces remains rather limited. This is chiefly due to difficulties in experimentally detecting such interfaces with sufficient molecular level sensitivity. Heterodyne-Detected Vibrational Sum Frequency Generation (HD-VSFG) is a novel nonlinear spectroscopic tool which allows us to overcome these difficulties and gain useful insights into lipid/water interfaces. The HD-VSFG experiment is capable of determining the complex second order nonlinear susceptibility ($\chi^{(2)}$) spectrum of a given interface. The imaginary part of $\chi^{(2)}$ ($\text{Im}\chi^{(2)}$) spectrum is a interface analogue of absorption spectrum in bulk hence it provides rich information about interfacial molecules. Furthermore, the sign of a resonance band in an $\text{Im}\chi^{(2)}$ spectrum provides a direct information about whether the interfacial molecule is oriented with its dipole pointing towards or away from the interface. Using HD-VSFG, we have previously studied interfaces between water and anionic, cationic and zwitterionic lipids and clarified the orientation and hydrogen-bond structure of water at these ionic lipid/water interfaces.^{1,2} In these ionic lipid interfaces, the overall orientation of interfacial water molecules was found to be governed by the charge or the local charge distribution present on headgroup moieties. In this work, we extend our HD-VSFG study of lipid/water interfaces and study the structure of water at a nonionic lipid/water interface.

Figure 1 shows the chemical structure of the nonionic lipids and amphiphiles chosen for investigation.

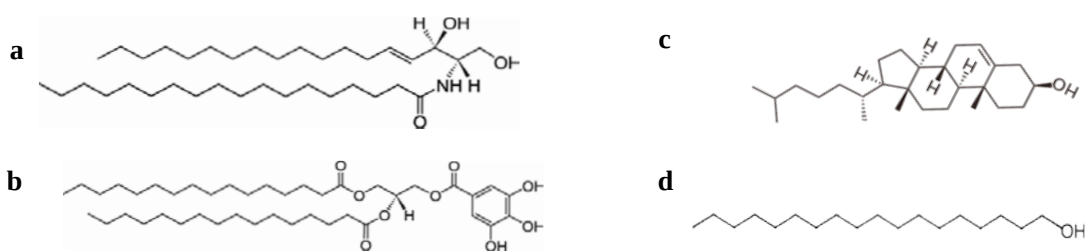


Figure 1. Chemical structures of a) C18-Ceramide; b) 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-galloyl; c) Cholesterol; d) Octadecanol

We used isotopically diluted water in our studies to minimize the effect of intra/intermolecular couplings in the $\text{Im}\chi^{(2)}$ spectra and thus allow a straightforward interpretation of the spectrum.

Figure 2 shows the $\text{Im}\chi^{(2)}$ spectra of water (HOD) surface covered by a monolayer of the lipid or amphiphile in the OH stretch region. The positive sign of the OH band indicates that the water at the interface of such nonionic species adopts net H-up orientation despite the absence of a charge on the lipid or amphiphile headgroup. The trend is observed to be common for all the four molecules studied despite substantial differences in chemical structure. Positive sign for the OH band was obtained in all the cases.

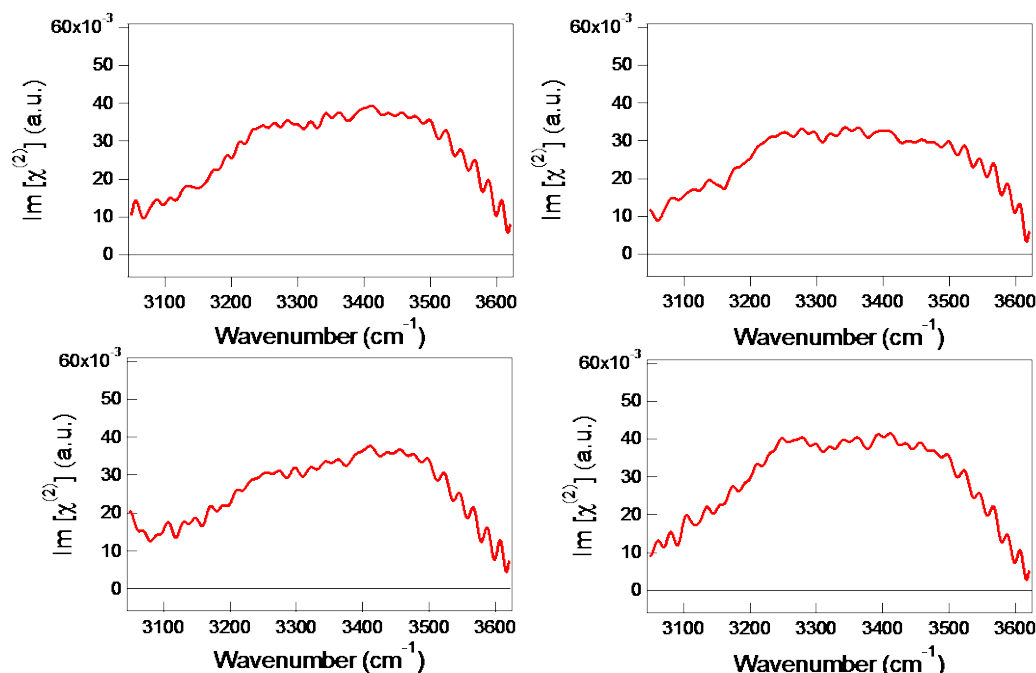


Figure 2. $\text{Im}\chi^{(2)}$ spectra of a) C18-Ceramide; b) 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-galloyl; c) Cholesterol; d) Octadecanol monolayers on 20% HOD-D₂O at air/water interface. All measurements in s-,s-,p- configuration.

All the molecules studied in this work bear headgroups that contain the hydroxyl functional group. The results in Figure 2 suggest that the hydroxyl oxygen in the headgroup is capable of behaving as an acceptor of hydrogen bond from the interfacial water molecules thus rendering their H atoms directed towards the headgroup's oxygen (thus favoring a net "H-up" orientation). It is concluded that the orientation and structure of interfacial water molecules in the vicinity of nonionic lipids is governed by scope of hydrogen bonding and is very different from that of zwitterionic lipids.

[References]

1. Mondal, J. A.; Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 10656.
2. Mondal, J. A.; Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7842.

フェムト秒過渡吸収法による BLUFタンパク質のシグナル状態生成機構の研究

藤澤知績¹, 竹内佐年¹, 増田真二², 田原太平¹

理研・田原分子分光¹, 東工大・バイオ研究基盤支援総合セ²

BLUF(Blue Light sensing Using FAD)タンパク質はフラビン発色団FAD(flavin adenine dinucleotide)を持つバクテリアの青色光センサーの一種である。BLUFタンパク質内でFADが光を吸収すると、FADの光反応を経由してタンパク質に構造変化が起こり、その構造変化は光感知シグナルとして下流に伝わる。シグナル伝達が可能な状態(シグナル状態)では、光感知前の暗状態に対してFADの吸収スペクトルに約10nmのレッドシフトが観測されるのが特徴である。

BLUFタンパク質のシグナル状態にみられる吸収スペクトルのレッドシフトは、シグナル状態の生成がFAD自体の化学変化ではなく、FAD周りの水素結合の変化によって起こることを意味する。FADの近くにはグルタミン(Gln)とチロシン(Tyr)がどのBLUFタンパク質でも保存されており、これまでの研究からFAD-Gln-Tyr間の水素結合ネットワークの変化によってシグナル状態が生成することが分かってきた。しかし、FADの光反応によって水素結合が変化する仕組みも、その具体的な水素結合の構造も、諸説紛々として不明である。

昨年度、我々はBLUFタンパク質PapB(紅色細菌*Rhodospseudomonas palustris*由来)を対象としたフェムト秒過渡吸収測定を行い、PapBの暗状態からシグナル状態への状態変化はFADHラジカル(FADH•)を経由して起こることを示した。本年度は新たにPapBのシグナル状態の光反応を測定し、昨年度に得た暗状態の光反応と比較をした。一般にフラビン発色団の光反応は周囲の水素結合環境を反映して変化しやすい。そのため、シグナル状態と暗状態の光反応を比較することで、両者の間でFAD周りの水素結合状態の変化を検討し、シグナル状態の生成機構を考察した。

図1は450nmでPapBのシグナル状態を励起して得られる過渡吸収スペクトル(時間分解能:0.1ps)である。測定において、試料を非常に遅い速度でフローすることで励起体積内にシグナル状態を蓄積させてシグナル状態の過渡吸収スペクトルを得た。

光励起直後に現れるスペクトル(赤、0.7 ps)は第一励起状態(S_1 状態)の生成に由来し、可視領域のブロードな S_1 状態の吸収成分に加えて、暗状態のブリーチ(~450nm)と S_1 状態からの誘導放出(~550nm)による負のバンドが観測される。 S_1 状態の減衰に伴って、600nm付近に反応中間体の生成による吸収成分(青、78 ps)が現れた後、最終的には新たな光生成物は生じず、ゼロ付近で平らなオフセット様のスペクトル(緑、693 ps)が残る。このことはシグナル状態を光励起した場合、 S_1 状態や反応中間体は元のシグナル状態に戻ることを意味している。

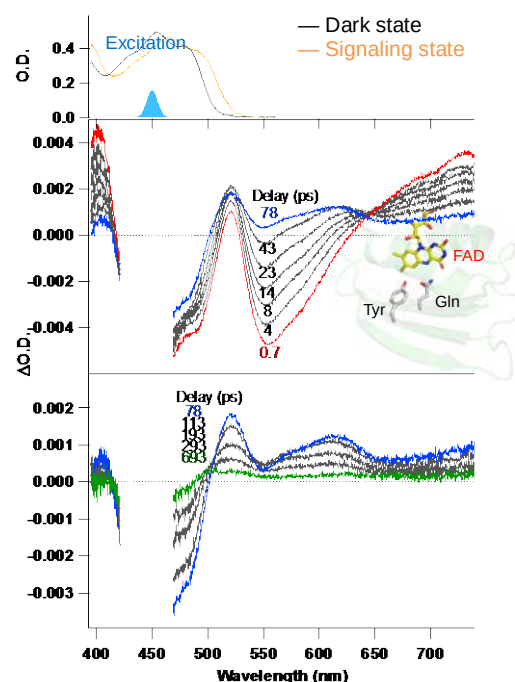


Figure 1. Absorption spectra of PapB and transient absorption spectra of the signaling state

図 2 は特異値分解を利用して行った遅延時間 73ps でのスペクトル分割の例である。図 2 の様に、どの遅延時間においても過渡吸収スペクトルは S_1 状態、反応中間体、および長寿命のオフセットの 3 つのスペクトル成分で構成することができ、得られたスペクトル形状から反応中間体は $FADH\cdot$ に同定された。このことは、PapB のシグナル状態を励起しても、暗状態の場合と同様に、FAD にプロトン共役電子移動が起こることを意味する。

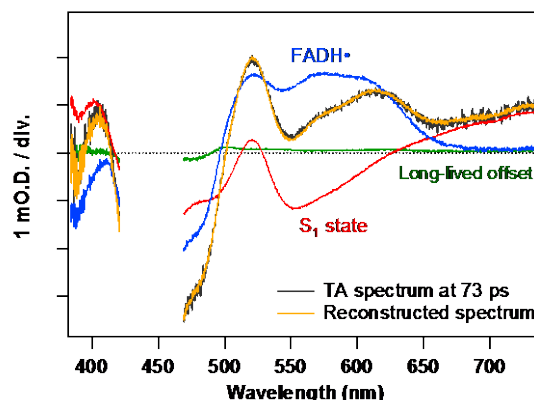


Figure 2. Decomposition of transient absorption spectrum

スペクトル分割から得られた S_1 状態と $FADH\cdot$ の時間プロファイルを図 3A に示す。 S_1 状態は 2 つの減衰成分を持ち、このうち早い減衰を示す S_1 状態から $FADH\cdot$ が生成することが分かる。フィッティング解析から得られる S_1 状態の寿命は 24 ps (65%) と 136 ps (35%)、 $FADH\cdot$ の寿命は 135 ps である。

今回得られたシグナル状態の光反応を昨年度に報告した暗状態の光反応と統一して図 3B に示した。暗状態とシグナル状態のどちらの光反応にも $FADH\cdot$ が観測される。その $FADH\cdot$ の生成・減衰にはフラビン結合部位のプロトン移動が関与するため、 $FADH\cdot$ のキネティクスはフラビン発色団まわりの水素結合構造を反映する観測量である。図 3A において、 $FADH\cdot$ のキネティクスを暗状態とシグナル状態の間で比較すると両者は区別できないほど類似していることが分かった。

これまで、 $FADH\cdot$ が生成した後に発色団周りの水素結合ネットワークの変化が誘起されて BLUF タンパク質はシグナル状態になると提案されてきた[1]。この提案が正しい場合、 $FADH\cdot$ のキネティクスはシグナル状態生成に伴う発色団周りの水素結合変化によって変わるはずである。しかし、実際にはシグナル状態になっても $FADH\cdot$ のキネティクスには変化が見られない。そのため PapB の結果は、シグナル状態になるための水素結合の変化が $FADH\cdot$ の生成後に起こる従来の提案を支持していない。PapB の結果は $FADH\cdot$ の生成前（あるいは生成中）に水素結合変化が起こる新しいシグナル状態生成機構を示唆している。

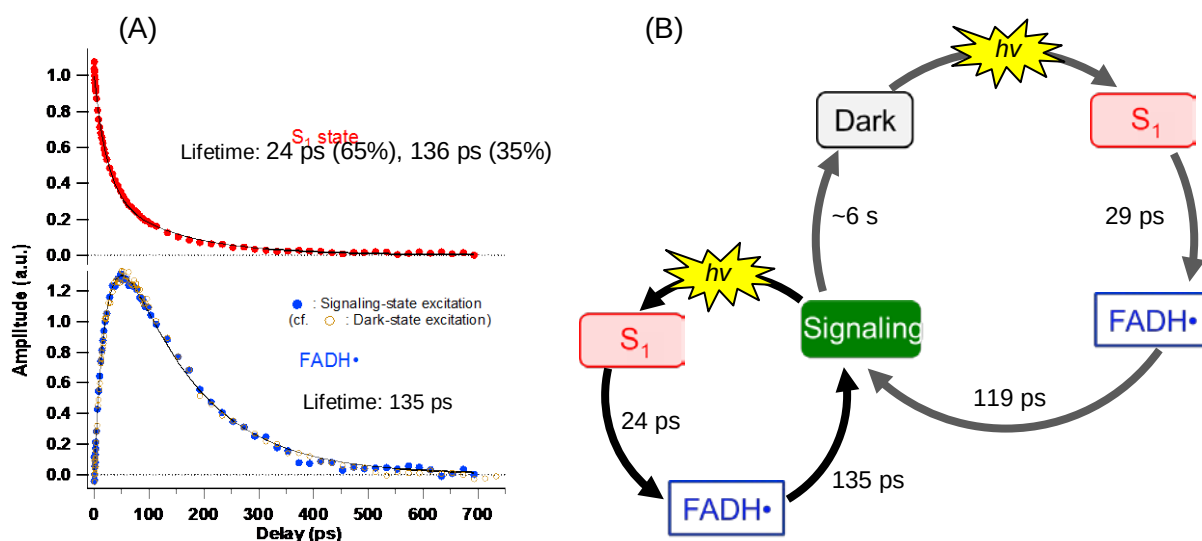


Figure 3. (A) Temporal profiles of S_1 state (●) and $FADH\cdot$ (●) obtained with signaling-state excitation and the fit curves (solid line). $FADH\cdot$ kinetics (○) obtained by dark-state excitation is plotted for comparison. (B) Illustration of combined photoreactions of the dark and signaling states of PapB.

[1] M. Gauden et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 10895.

アナベナセンサリーロドプシンのフェムト秒カーゲート蛍光分光

田原 進也^{1,2}, Wei Zhengrong¹, 竹内 佐年¹, 大谷 弘之², 田原 太平¹

理研・田原分子分光¹、東工大・生命理工²

【序】レチナール蛋白質は7回膜貫通型蛋白質であり、その内部に、リジン残基のアミノ基とプロトン化シッフ塩基結合したレチナール発色団を持つ。レチナール蛋白質はナノ秒から秒の時間領域で様々な生理機能を発揮するが、これらの生理機能は、フェムトからピコ秒の時間領域における発色団の光異性化によって発現する。この光異性化反応は完全に部位特異的に起こり、しかもその量子収率は0.6と高く、有機溶媒中の約3倍にも達する。このような蛋白質中における高い反応部位特異性と量子収率を実現するメカニズムは興味深い。

レチナール蛋白質の中でも古細菌型ロドプシンは、*all-trans*レチナールを有する*all-trans*体と、*13-cis*レチナールを有する*13-cis*体の混合物である。ところがBacteriorhodopsinのような従来の古細菌型ロドプシンにおいては、*13-cis*体から*all-trans*体への一方向のみの光変換が起こるため、明順応状態(光定常状態)において*all-trans*体がほぼ100%を占め、*13-cis*体はわずかしかな存在しない。そのため、古細菌型ロドプシンにおいて、*all-trans*体の光反応過程や生理機能はよく理解されているが、*13-cis*体については光異性化とそれに続く光反応が起こることは知られているものの、その詳細は明らかにされていない。

ところが、近年発見された*Anabaena* sensory rhodopsin(ASR)では、*all-trans*体と*13-cis*体との間で光相互変換反応が起こり、明順応状態において60~80%の蛋白質が*13-cis*体として存在する(Fig. 1)[1]。したがってASRはこれまで困難であった*13-cis*体レチナール蛋白質の光反応の研究にとって最適な系といえる。

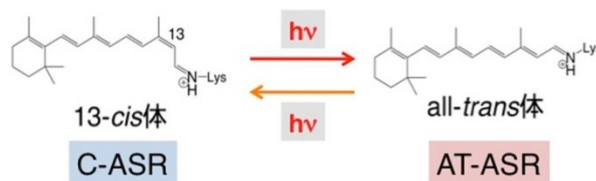


Figure 1. *Anabaena* sensory rhodopsin の発色団構造。

そこで、我々はフェムト秒時間分解カーゲート蛍光分光装置を構築し(Fig. 2)、それを用いてASRの超高速蛍光ダイナミクスを研究した。この種の時間分解測定で高繰り返し光源を用いた場合、寿命の長い光反応中間体が再度励起され、その結果、光反応中間体の蛍光が観測されてしまう可能性がある。そこで我々の測定では1 kHz励起光源と試料の循環装置を用い、再励起の問題を除いた。これにより、ASRの励起状態ダイナミクスを明らかにすることができたので、その詳細を以下にまとめる。

【実験】ASRを大腸菌に発現させ、n-dodecyl-β-D-maltosideによって可溶化後、Ni²⁺-NTAカラムにより精製した。試料の光学濃度ならびに体積はそれぞれ4 OD₅₅₀/cm, 50 mLであった。励起光の繰り返し、中心波長およびパルスエネルギーはそれぞれ1 kHz, 550 nm, 40 nJ/pulseであった。カー媒

質にはブロモベンゼンを用いた。ゲート光は 1100 nm, 15 $\mu\text{J}/\text{pulse}$ とした。装置応答関数の半値全幅は250 fsであった。

【結果および考察】

all-*trans* 体(AT-ASR)と 13-*cis* 体(C-ASR)の時間分解蛍光スペクトルを Figure 3 に示す。これらのスペクトルを波長 620 nm から 760 nm まで積分し、その強度を遅延時間に対してプロットした(Fig. 4)。

AT-ASR の時間トレースをフィッティング解析したところ、2 成分の指数関数の和でフィッティングすることができた。各成分の時定数はそれぞれ 700 fs および 1.8 ps であった。このことは、基底状態の AT-ASR が二種類存在するか、あるいは励起状態に 2 つの過渡種が存在するかのどちらかであることを示唆する。

一方で C-ASR の時間トレースは 1 成分の指数関数でフィッティングでき、その時定数は 250 fs であった。したがって C-ASR の S_1 状態の寿命は 250 fs であることがわかる。この励起状態寿命は、光異性化が起こる二重結合を軸としたねじれ運動の周期 200 fs と同程度である。このことは S_1 状態の C-ASR はねじれ運動を繰り返すことなく基底状態に緩和し、光生成物を与えることを意味する。すなわち C-ASR の S_1 ポテンシャル曲面は、反応座標に沿って無障壁であることが示唆される。

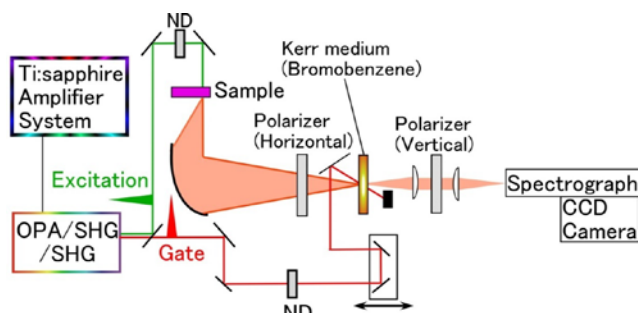


Figure 2. フェムト秒カーゲート蛍光分光装置。

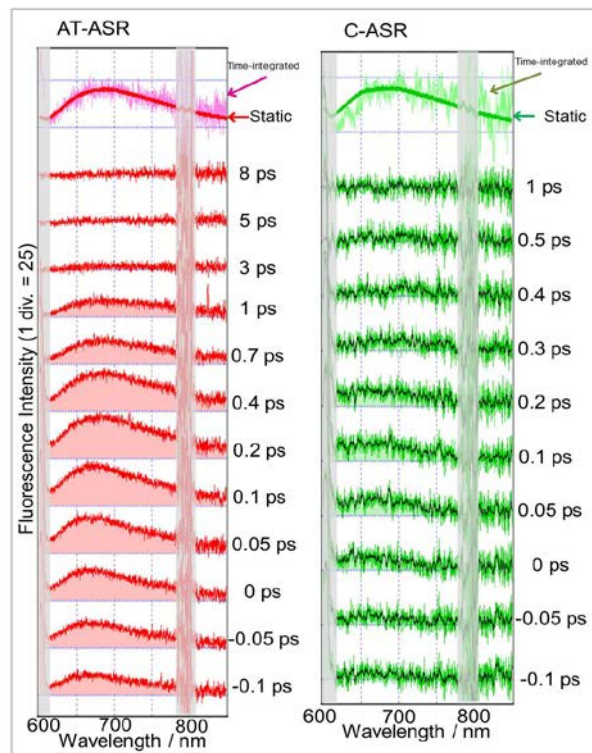


Figure 3. 時間分解蛍光スペクトル。

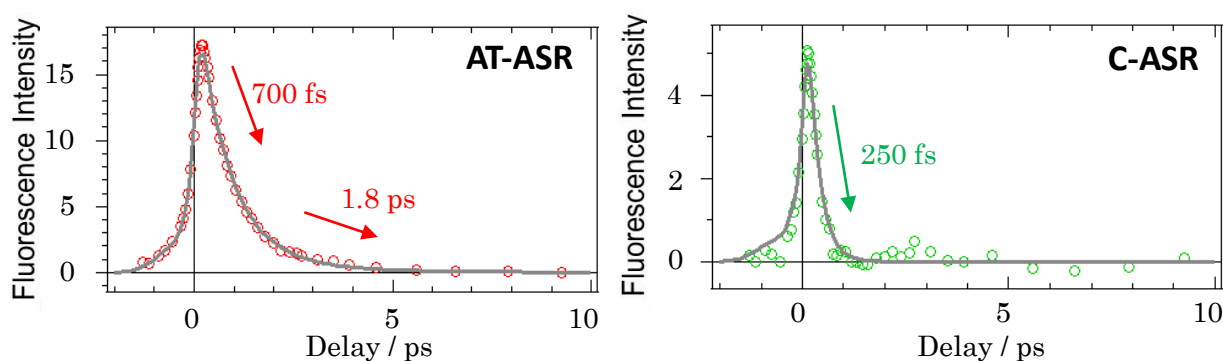


Figure 4. 蛍光強度時間トレース。

【参考文献】

- [1] A. Kawanabe et. al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 8644-8649.

Substituent effect on the MLCT excited-state dynamics of Cu(I) complexes studied by femtosecond time-resolved absorption spectroscopy

Linqiang Hua, Munetaka Iwamura, Satoshi Takeuchi, Tahei Tahara

Molecular Spectroscopy Laboratory, RIKEN

Bis-diimine Cu(I) complexes have been attracting a great deal of attention from the viewpoints of both fundamental science and applications. The photophysical/photochemical properties of the Cu(I) complex are closely related to the flattening distortion occurring in the MLCT excited state, and are

significantly affected by substituents introduced at the 2-, and 9-positions of the ligands. Previously, we investigated the excited-state dynamics of three Cu(I) complexes with different substituents, $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$, $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$, and $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ (Figure 1), by femtosecond time-resolved emission spectroscopy, and revealed that the flattening distortion becomes slower for the complex having bulkier substituents [1]. However, the substituent effect on the ultrafast dynamics of the bis-diimine Cu(I) complexes has not yet fully clarified, because the femtosecond emission spectroscopy can detect only emissive states. In fact, the relaxation pathway of $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ has remained unsolved, since no emission was observed from transient states after the flattening distortion. Therefore, it is highly desirable to examine and compare the MLCT excited-state dynamics of the three Cu(I) complexes by complementary femtosecond time-resolved absorption spectroscopy for full understanding of the substituent effect. In this study [2], we carried out femtosecond time-resolved absorption measurements of the three Cu(I) complexes with the $S_1 \leftarrow S_0$ photoexcitation. Unlike the data reported so far, the direct $S_1 \leftarrow S_0$ excitation in our measurement made the observation simpler and interpretation straightforward. Furthermore, we also performed time-resolved absorption spectroscopy with 35-fs time resolution to observe the coherent nuclear dynamics in the MLCT states, which clarifies the vibrational dephasing in the initial excited state.

As shown in Figure 2, the transient absorption of $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ in dichloromethane exhibited a positive band at 570 nm due to the S_1 absorption immediately after the $S_1 \leftarrow S_0$ photoexcitation. The 570-nm band showed a slight intensity increase with a time constant of 0.2 ps, reflecting the flattening distortion in the S_1 state.

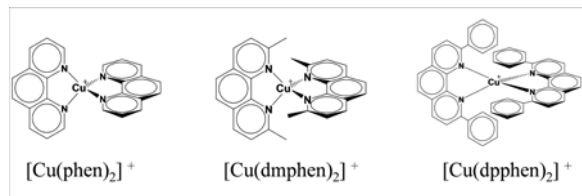


Figure 1. Molecular structures of three bis-phenanthroline Cu(I) complexes.

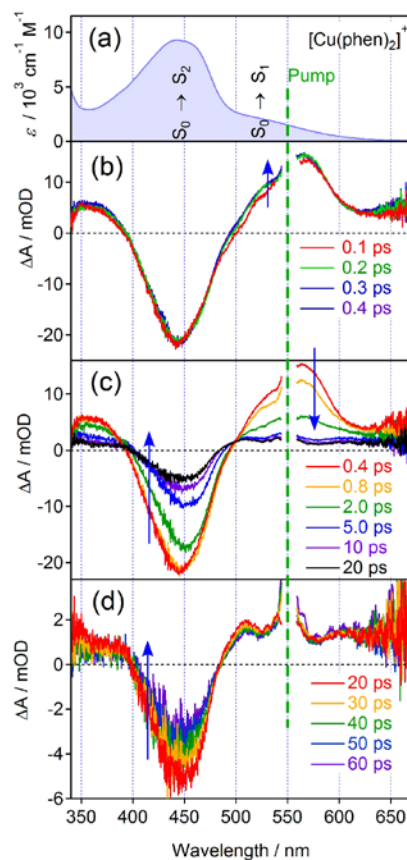


Figure 2. (a) Steady-state and (b-d) femtosecond time-resolved absorption spectra of $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ in dichloromethane (550 nm excitation, 2 mM).

The transient absorption of the flattened S_1 state was clearly observed, although its fluorescence was not observed in our previous femtosecond up-conversion measurement in the visible region. The transient absorption due to the flattened S_1 state decayed with a time constant of 1.8 ps, and the bleaching of the S_0 state recovered accordingly. This observation clarifies that the S_1 state of $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ is predominantly relaxed to the S_0 state by internal conversion. On the other hand, the transient absorption of $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ showed a 0.9-ps intensity increase of the S_1 absorption due to the flattening distortion, and then exhibited a 11-ps spectral change due to the intersystem crossing. This excited-state dynamics of $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ is very similar to that of $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$. In the ultrafast pump-probe measurements with 35 fs time resolution, $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ and $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ exhibited oscillation due to the nuclear wavepacket motions of the initial S_1 state, as observed before for $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$ (Figure 3). It was found that the dephasing time of the oscillation agrees well with the time constant of the flattening distortion in each complex. This result indicates that the initial S_1 states have well-defined vibrational structures and that the vibrational coherence is retained in their short lifetimes.

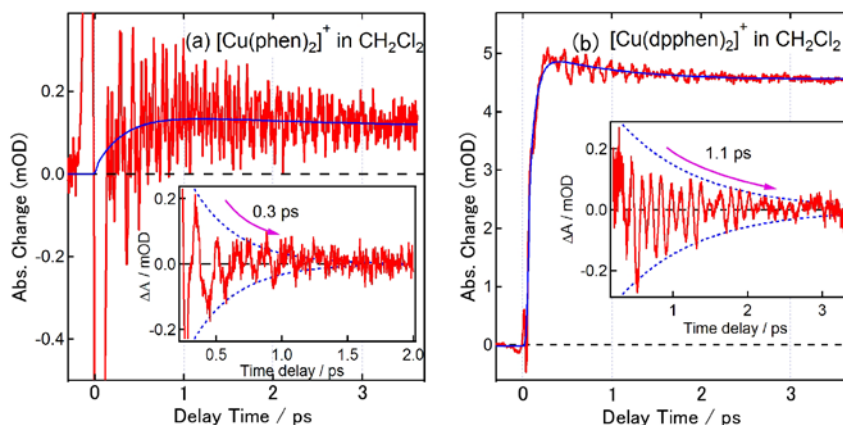


Figure 3. Pump-probe traces of (a) $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ and (b) $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ in dichloromethane (pump: 550 nm, probe: 1000 nm).

The obtained time-resolved data revealed that the relaxation scheme of $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ is significantly different from those of the other two complexes. We consider that the difference arises from different magnitudes of the structural change occurring in the S_1 state. Since $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ has no substituents, it can undergo a large structural change, becoming close to the square-planar structure. As a result, the S_0 and S_1 potential energy surfaces get energetically close at the flattened structure, which significantly accelerates the $S_1 \rightarrow S_0$ internal conversion over other competing relaxation pathways such as intersystem crossing to the T_1 state. In the other $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ and $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$, such an extensive flattening distortion is prohibited by the steric hindrance due to the substituents at the 2- and 9-positions of the ligands. Thus, the internal conversion rate is much smaller than the rate of intersystem crossing, so that the flattened S_1 state relaxes predominantly to the T_1 state. The present study accounts for the difference in the relaxation pathways of the three Cu(I) complexes depending on the substituents, and provides a unified view for the substituent effect on the ultrafast dynamics of the MLCT excited state.

[1] M. Iwamura, S. Takeuchi, T. Tahara, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **16**, 4143 (2014).

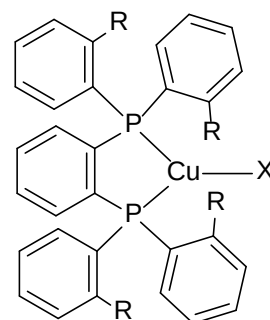
[2] L. Hua, M. Iwamura, S. Takeuchi, T. Tahara, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **17**, 2067 (2015).

熱励起型遅延蛍光性三配位銅錯体の構造と光特性

大澤 正久, 田原 太平

理研・田原分子分光

イリジウム (Ir) を中心金属とする重金属錯体が有機エレクトロルミネッセンス (EL) の燐光型発光材料として報告され、蛍光型発光材料に対する優位性が認められている。しかしながら、これらの高効率燐光材料の多くは希土類及び貴金属を含むものに限られておりコスト面で問題があった。我々は次世代燐光材料として、安価でかつ豊富な埋蔵量が見込まれる銅 (Cu) に注目し発光材料の開発を行ってきた。図 1 に示すような三配位強発光性銅一価錯体を使用したプロトタイプデバイスを製作し、実用レベルの外部量子収率を達成した[1]。この材料の特徴は、ビスホスフィン配位子の二つのリン配位原子にリンクしたアリール基のオルト位に導入した置換基(R)にある。この置換基が4つめの配位座をブロックすることで、特異な三配位錯体を安定化している。また励起状態の計算から、この錯体の発光遷移は $(\sigma+X) \rightarrow \pi^*$ に基づくこと、及び一重項励起状態と三重項励起状態のエネルギー差が極めて小さいことが判明した。前者は、多くの四面体型銅錯体に見られる金属→配位子 (MLCT) タイプの遷移とは異なることを示している。



R = Me; X = Cl(1), Br (2) and I(3)
R = Et; X = Br(4)
R = iPr; X = Br(5)

図 1. 三配位銅錯体の構造。

最高被占軌道(HOMO) が金属の軌道だけでなくリン配位子の軌道も含んでいること、また X (ハロゲン配位子) $\rightarrow \pi^*$ (配位子) つまり LLCT 的な遷移も併せ持つことを示唆しており、そのため錯体の発光特性が配位子の性質に大きく依存することになる。後者はこの発光が熱励起型遅延蛍光であることを意味している。励起一重項状態と三重項状態のエネルギー差が極めて小さいと室温付近で両者は熱平衡に達する。励起三重項状態から熱励起され励起一重項状態になり、この状態からの発光が遅延蛍光となる。この場合も原理的にはイリジウムのリン光材料と同等の 100%の内部量子収率が期待できる。今回、二座ホスフィン配位子を含めた三配位錯体の発光特性の詳細を検討した。

ビスホスフィン配位子は溶液状態では、ごく弱い発光しか示さないが固体状態では緑色に発光する。図 2 にビスホスフィン配位子の吸収・発光スペクトルを示した。アリールホスフィンに特徴的な大きなストークスシフト(～ 14,000 cm^{-1})が観測された。このことは、配位子の発光がリン原子上のローンペアから配位子の π^* への CT 的遷移に基づくことを示唆しており、ストークスシフトは励起状態でのリン原子回りの構造変化(平面化)によって説明される。また

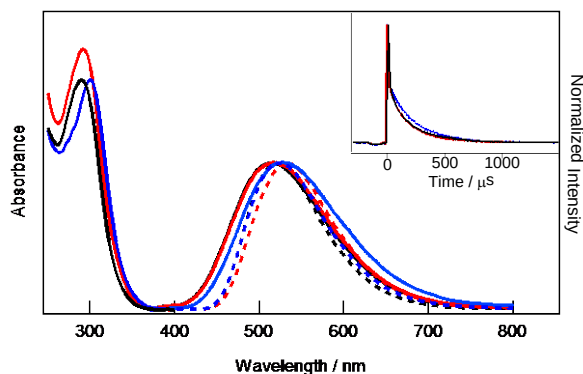


図 2. 配位子の吸収・発光スペクトル (固体状態)
R = Me (黒), Et (赤), and iPr (青)、室温は実線、77Kは破線。
右上には発光寿命測定のプロファイルを示した。

置換基の電子供与能が増してもそのスペクトルの差はわずかなものであった。サイクリックボルタンメトリーの測定から配位子の酸化電位はハメット則に従い低下していることが判明し、この事実から置換基の電子的効果は HOMO だけでなく LUMO にも作用していることがわかる。そのため結果としてバンドギャップはほとんど変化しなかったと理解できる。

発光寿命の測定において短い成分 (< 20 ns) と長い成分 (~ 200 μs) が同時に観測されたこと (図 2、右上)、77 K においては 10 ms を超える長寿命となり、発光極大が長波長化し、量子収率も大きく上昇すること、以上の事実は室温での長寿命成分が熱励起型遅延蛍光であることを強く示唆している。77 K における長寿命化と発光極大の長波長化は発光が遅延蛍光 (室温) から燐光へと変化したと説明できる。

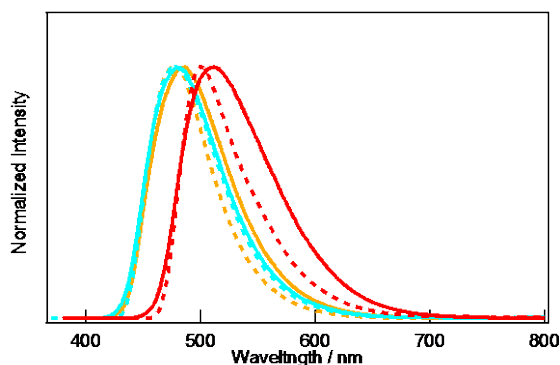


図 3. 錯体 **2** (赤)、**4** (オレンジ)、**5** (水色) の発光スペクトル (固体状態)。実線は室温、破線は 77 K。

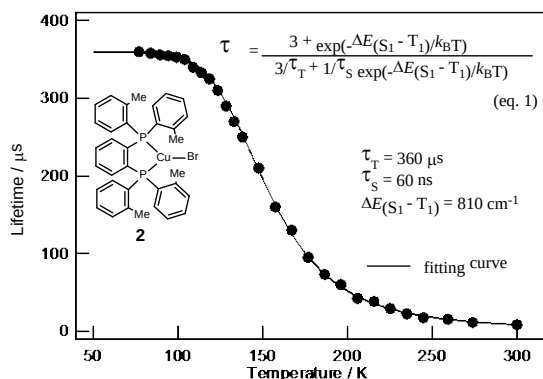


図 4. 錯体 **2** の発光寿命の温度依存性。図中のフィッティング曲線は eq. 1 によるもの。

図 3 に錯体 **2**、**4**、**5** の発光スペクトルを示す。室温から 77 K へと変化させると錯体 **2** の半値幅はかなり減少し、非発光プロセスの原因となる励起状態での構造変化が抑制されていることがわかる。一方、錯体 **4**、**5** においてはほとんど変化しないことから置換基が大きくなると室温においても十分構造変化が抑制できることを示唆している。実際、室温での発光量子収率は $2 < 4 < 5$ の順であった。また室温で数 μs であった発光寿命は 77 K では数百倍と長寿命化し、発光量子収率も向上していることから室温の発光が遅延蛍光であることが示唆された。図 4 に錯体 **2** の発光寿命の温度依存性の測定結果を示した。これらの測定値を eq. 1 によってフィッティングすることで一重項励起状態と三重項励起状態間のエネルギー差 $\Delta E(S_1 - T_1)$ を求めることができる。 τ_T として 100 K 以下ではほぼ一定になった 360 μs を使用し、最小二乗法によって $\Delta E(S_1 - T_1) = 810 \text{ cm}^{-1}$ と決定された。同様に測定を行ったところいずれの錯体においてもエネルギー差は 1000 cm^{-1} 以下となり遅延蛍光性が支持された[2]。つまり、これら三配位型銅錯体の強発光性は遅延蛍光によるものと結論できる。また今回の結果はこの錯体の発光特性が配位子の遅延蛍光性に由来していることを明らかにするとともに [3]、錯体の発光色をチューニングするためには配位子の分子設計が鍵となることを示している。

【参考文献】

- [1] Hashimoto, M.; Igawa, S.; Yashima, M.; Kawata, I.; Hoshino, M.; Osawa, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 10318. [2] Osawa, M. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 1801. [3] Osawa, M.; et al. *Dalton. Trans.* **2015**, in press.

スフィンゴミエリン脂質二重膜のアミドバンドに対する 理論的解析

八木清¹, Pai-Chi Li¹, 城田幸一郎², 小林俊秀², 杉田有治¹

理研・杉田理論分子科学¹, 理研・小林脂質生物学²

【背景】生体膜には、機能を持った膜タンパク質や糖鎖などが集積した分子群が細胞内外の物質輸送に重要な役割を果たしており、脂質膜に浮かぶ筏という意味で「ラフト」と呼ばれている。しかし、ラフト構造は極めて動的であり、生体膜中にどのように存在しているのか、その描像を明らかにする計測手法は限られており、従って、その存在も含め、未だ多くの論争が続いている[1]。スフィンゴミエリン (SM) はラフトを構成する主要な脂質分子の一つであり、図1のようにheadとtail groupをつなぐ中間部位に、スフィンゴシン由来のアミド骨格とOH基を持つ。これらの極性基が水素結合したSMクラスターがラフト生成に関わっていると考えられるが、生体膜におけるクラスターの動態は未だに明らかでない。

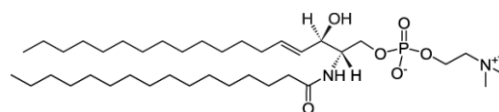


図 1. SM の化学式

最近、城田と小林は、ラマン分光法によりSMリポソームの振動スペクトルを取得し、SMのアミドI (C=O伸縮振動) と思われる強いピークを1645 cm⁻¹に観測した。興味深いことに、この振動バンドはSM/DOPC混合膜にも観測されるが、SM/DPPC混合膜では消失する。SMはDOPCでは分散しないが、DPPCでは分散することが知られており[2]、従って、この振動バンドはSMクラスターの生成を示すマーカバンドとなることが示唆された。しかし、過去の文献では、この領域に弱いバンドしか観測されておらず、その強度の弱さから水の変角振動と考えられていた。

本研究では、観測されたラマンバンドの帰属を明らかにするため、分子動力学法 (MD) と量子化学計算によりSM二重膜のラマンバンドを計算した。

【SM二重膜に対するMD計算】Venableら[3]により開発されたSM用の古典力場を用いてSM二重膜に対するMD計算を実施した。ユニットセルに128個のSM分子と5012個の水分子を含む系を用意し、温度・圧力一定のMD計算を100 ns実行した。圧力は1 atm, 温度は23°Cと50°Cの2つで計算した。プログラムはNAMDを用いた。

図2にMD計算により得られたSM二重膜の構造を示す。SM二重膜は転移温度が38°C付近にあり、23°Cではゲル相、50°Cでは液晶相となる。図2から、50°Cの結果はtailグループが乱雑になっているのに対し、23°Cの結果はtailグループが綺麗に配列しており、相が異なっていることが明らかである。また、液晶相ではゲル相よりも膜内部に多くの水分子が入っていることが分かった。液晶相とゲル相では、1個のSM分子当たり平均して水分子は3.9個と2.1個だった。

得られたトラジェクトリーに対して、アミド基の水素結合ネットワークの解析を行った。その結果、アミド基は、液晶相ではほとんど単独で存在するのに対し、ゲル相では2量体が主と

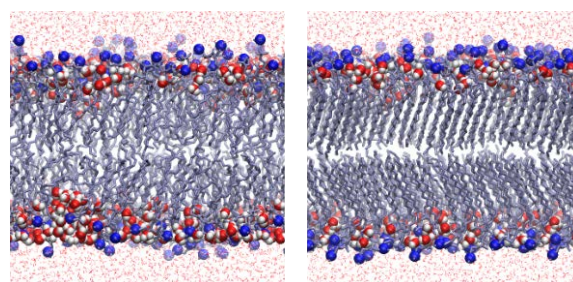


図 2. MD 計算で得られた SM 二重膜の構造。温度が 50°C (左) と 23°C (右) ではそれぞれ液晶相、ゲル相となる。コリンの窒素 (青) の平均位置より内側に入っている水分子がハイライトされている。

なることが分かった。これは、液晶相では、水分子が膜内部に多く入り込むため、アミド基と水の水素結合が構築され、アミド基同士の水素結合が妨げられるためである。

【SMクラスターに対する量子化学計算】図3に示すSMのモデル分子を用いて、トラジェクトリーからSMクラスターを取り出し、量子化学計算により構造最適化とラマンスペクトルの計算を行った。図3のモデル分子に対し、4次の非調和性まで考慮したポテンシャルを生成し、VMP2法により振動数を求めた。得られた調和と非調和振動数の比により得られる非調和補正係数を用いて、SMクラスターの調和振動数を補正した。計算レベルにはB3LYP/6-31++G(d,p)、プログラムはGaussian09を用いた。得られたスペクトルをSMクラスターに対する重み平均を取ることで、全スペクトルを計算した。

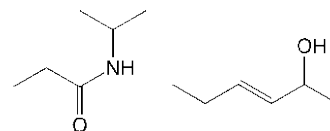


図 3. 量子化学計算に用いた SM のモデル分子。

計算されたスペクトルを、実験結果とともに図4に示す。液晶相とゲル相の結果を比較すると、ゲル相の方がアミド基の2量体が増えることを反映し、赤線で示す2量体のアミドIバンドが低波数側に広がっているのが分かる。ゲル相の計算結果は、リポソームを溶液から取り出してから1時間後の実験結果（実線）とよく一致する。実験では、このスペクトルは時間とともに変化し、48時間後に定常化する。そのスペクトル（点線）には、1645 cm^{-1} に明瞭なピークがあり、1665 cm^{-1} 付近に肩バンドがある。リポソームが試料台に置かれている間の変化は、リポソームが乾燥し、SM二重膜から水分が失われた時の変化に相当する。従って、1645 cm^{-1} のピークは、水を失うことで、2量体（あるいはさらに大きい多量体）が生成したことを示唆している。一方、水素結合ネットワークから孤立した単量体は、水分量の変化に影響を受けずに残るため、1665 cm^{-1} のピークは相対的に突出してくると思われる。

【まとめ】本研究では、SM二重膜に対するMD計算と量子化学計算を実施し、アミドバンドのラマンスペクトルを計算した。計算結果は実験スペクトルを良好に再現し、帰属が不明確であった1645 cm^{-1} のピークはアミドIバンドであることを決定できた。

振動分光実験と理論計算を組み合わせることで、動的に複雑な構造を持つ分子系の解析技術を確立し、柔らかな構造を持つ分子系の動的構造を明らかにすることができた。

【参考文献】

1. 鈴木健一, 楠見明弘, 生物物理 **53**, 295 (2013).
2. P. R. Maulik, G. G. Shipley, Biophys. J. **70**, 2256 (1996); C. Yuan, J. Furlong, P. Burgos, L. J. Johnston, Biophys. J. **82**, 2526 (2002).
3. R. M. Venable et al., Biophys. J. **107**, 134 (2014).

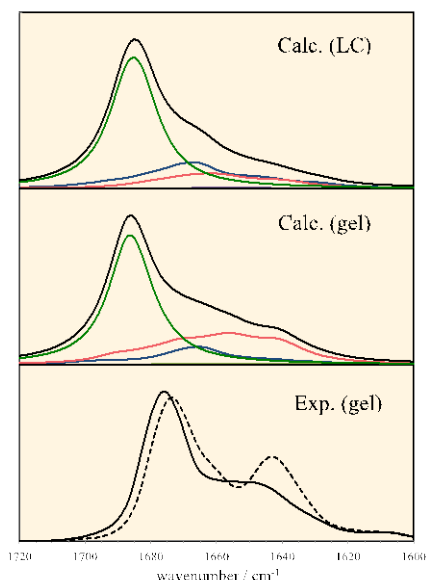


図 4. SM 二重膜のラマンスペクトル。計算による液晶相（上）とゲル相（中）のスペクトル。緑線は CC 伸縮振動、赤線と青線は、それぞれ、単量体と二量体のアミド I バンド。（下）実験スペクトル。実線と点線は、それぞれ、リポソームを溶液から資料台へ取り出してから 1 時間と 48 時間後のスペクトル。

ATP分子力場の改善とイオンポンプのATP結合状態への適用

小室靖明^{1, 2}, 李秀榮¹, 小林千草³, 宗行英朗², 杉田有治¹

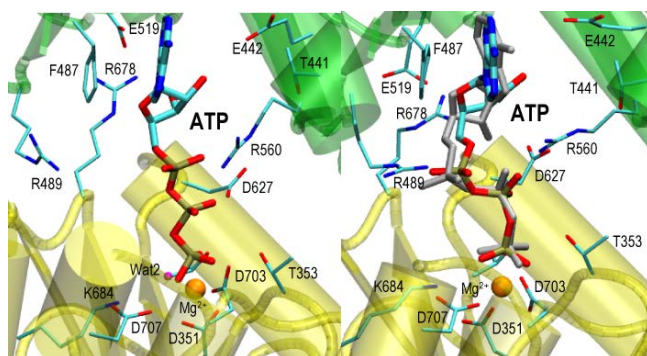
¹理研・杉田理論分子科学研究室、²中央大学物理学科、³理研・計算科学研究機構

ATPは細胞内での生体エネルギー源として非常に重要な分子である。実際、糖代謝、筋肉の収縮や弛緩、イオン能動輸送など非常に多くの生命現象において、ATP加水分解によって生じる化学エネルギーが力学エネルギーに変換され、タンパク質の大きな構造変化等を生み出している。分子モーターを始めとするATPをエネルギー源とするタンパク質等の構造と機能の相関を詳しく分子動力学法などの理論的な手法を用いて調べようとするならば、溶液中のATP分子やタンパク質活性部位に結合したATP分子の正確な分子力場ポテンシャル関数が必要になる。我々は、ATP分子のリン酸部位に関する新しい分子力場ポテンシャル関数を開発することを目指した研究を行った。ATPのリン酸部位をモデル化する化合物としてmethyl triphosphateを用いて、高い精度の第一原理量子化学計算を実行し、CHARMM力場に必要のパラメータを決定した。

従来のCHARMM力場に含まれるATP分子のパラメタ (C27) をそのまま使った分子動力学計算と今回開発されたパラメタ (mod-C27) を使った計算結果を比較することで、モデルの精度を検証することにした。まず、生体膜に存在し、 Ca^{2+} の濃度勾配に逆らって Ca^{2+} を能動輸送するカルシウムイオンポンプ (SR Ca^{2+} -ATPase) のATP結合型について短い分子動力学計算を実施した。C27を用いた場合には図1に示すようにリン酸部分の構造が全てトランス型に変化し、結晶構造とは大きくことなる分布を示した。一方で、mod-C27を用いた場

合にはX線結晶構造中の活性部位の構造を維持することができた。同じような傾向は、4つのATP結合タンパク質 (PDBに含まれる中で解像度が1.5 Åよりも高いもの。(a) Histidine permease (PDB: 1b0u), (b) RNA editing ligase MP52 (PDB entry: 1xdn), (c) Phosphoribosylamidoimidazole-succinocarboxamide synthase (PDB entry: 1obd), and (d) α -skeletal muscle Actin (PDB entry: 2fxu)) においても見られた (図2)。

さらに、溶液中でのATP分子の構造がC27とmod-C27を用いた場合にどのくらい変化するかを正確に見積もるためにレプリカ交換分子動力学法 (REMD) を用いたシミュレーションを実施した。その結果、図3に示すようにmod-C27を用いた計算では300Kのリン酸部位の構造分布 (自由エネルギーランドスケープ) がはるかに広がっており、様々な構造を探索できていることがわかった。それに対して、C27を用いた場合には水中のATP分子ですらトランス型にバイアスがかかっており、狭い構造空間のみを探索できることが示された。これらの結果は、今回開発されたATP分子の力場パラメータが、分子モーターを始めとする様々なATP結合タンパク質の構造と機能の関係



Original CHARMM27 for ATP Modified force field for ATP

図1. MD計算 (5ns) 後のイオンポンプの活性部位のスナップショット。(a) C27、(b) mod-C27をATP分子の力場として用いたもの。

を解明するためのシミュレーション研究に広く使える可能性を示している。今後の研究課題としては、ATP分子に結合する Mg^{2+} などの2価イオンとATPおよびタンパク質の相互作用を正しく見積もることである。

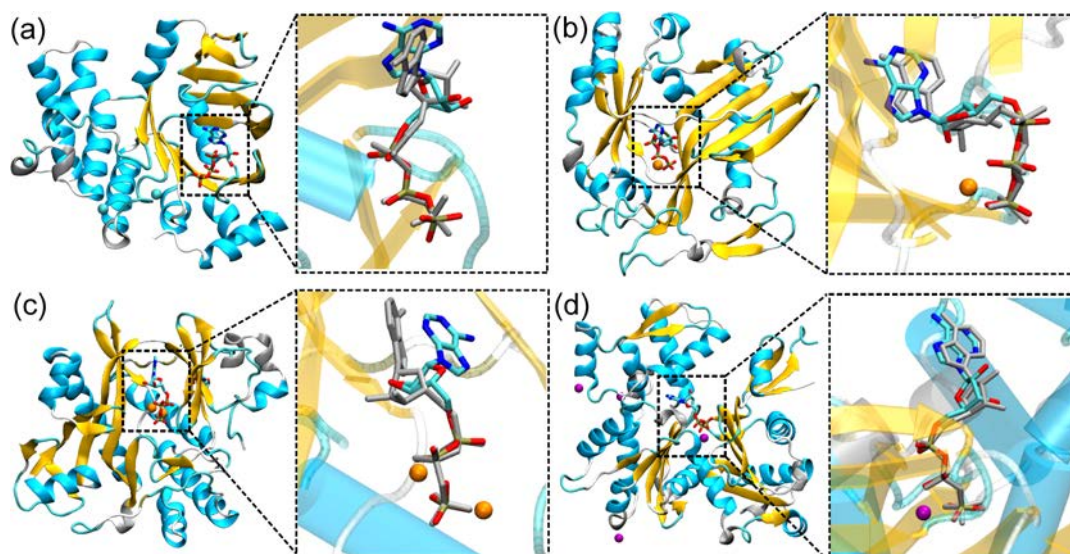


図 2. 4 つの ATP 結合タンパク質の分子動力学計算前後の ATP 分子の構造変化

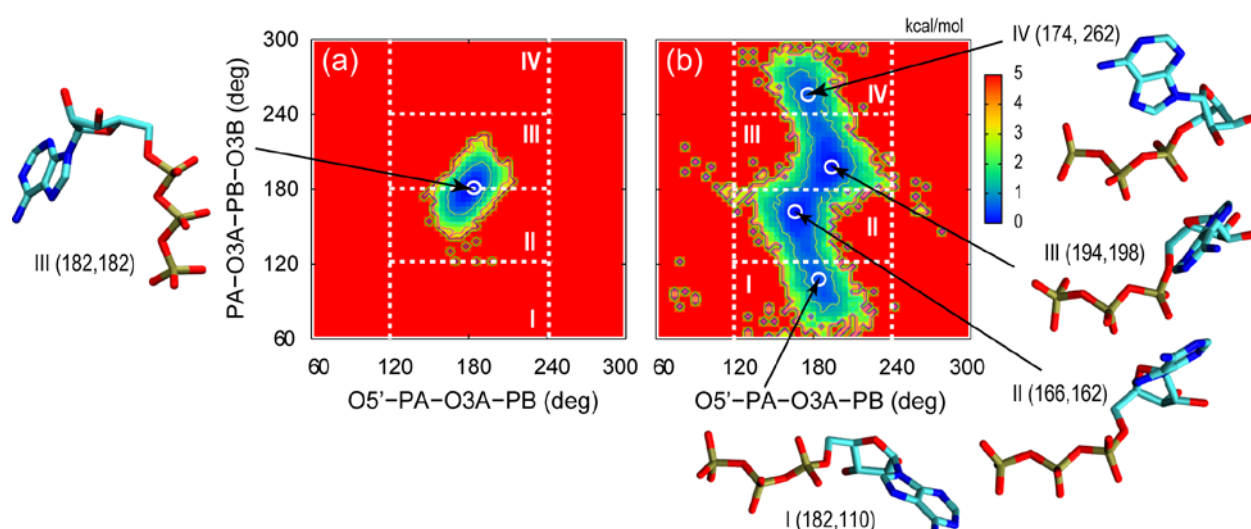


図 3. (a) C27、(b) mod-C27 を用いた水溶液中の ATP 分子の自由エネルギーランドスケープ

【参考文献】

Y. Komuro, S. Re, C. Kobayashi, E. Muneyuki and Y. Sugita: “CHARMM Force-Fields with Modified Polyphosphate Parameters Allow Stable Simulation of the ATP-bound Structure of Ca^{2+} -ATPase”, *J. Chem. Theory. Comput.* **10**, 4133-4142 (2014).

Direct observation of adsorption geometry for the van der Waals adsorption of a single π -conjugated hydrocarbon molecule on Au(111)

Ju-Hyung Kim,^{1,2} Jaehoon Jung,² Kazukuni Tahara,³ Yoshito Tobe,³ Yousoo Kim,² and Maki Kawai¹

¹Department of Advanced Materials Science, The University of Tokyo

²Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

Understanding the interfacial interaction between π -conjugated hydrocarbon (π -CHC) molecules and metal surfaces is of great importance not only in the field of fundamental surface science but also other application areas such as organic electronics [1-4]. Indeed, π -CHC molecules and gold (Au) as an electrode are receiving much attention as promising materials due to high charge-carrier mobility and a low hole-injection barrier, respectively. Extensive efforts, therefore, have been devoted to study the interfacial interaction with various π -CHC molecules, such as benzene, pentacene, perylene, and coronene, on the noble Au(111) surface which is the most chemically inert and most densely packed facet of Au. Photoemission studies have observed their weak van der Waals (vdW) adsorption characters, where the molecular π -states are preserved and accompanied with molecular level broadening, and have suggested that the pillow effect (i.e., electron density polarization at the interface) mainly contributes to the formation of interface dipole [3,4]. Nevertheless, the detailed interfacial electronic structures and precise adsorption geometries at the atomic scale have not yet been clarified for the vdW adsorption process of a π -CHC molecule onto the noble metal surface. It is because a vdW potential minimum of the process has been considered too shallow to determine a specific adsorption configuration of a π -CHC molecule on the noble metal surface.

Single-molecule studies using scanning tunneling microscopy/spectroscopy (STM/STS) have contributed to revealing interfacial electronic and geometric structures at organic-metal contacts in detail. However, in the case of the vdW adsorption of a single π -CHC molecule on Au(111), only few STM/STS studies have been reported, and the correlation between adsorption geometry and interfacial electronic structures has still been veiled due to the weak adsorption characters. As a representative example, although Soe et al. successfully observed the interfacial electronic structures of the single pentacene molecule on a relatively reactive elbow site of herringbone reconstructed Au(111), a precise adsorption configuration could not be discussed due to an undefined local surface structure at the elbow site [5].

In this work, we provide a first direct observation of adsorption geometry of a well-designed π -CHC molecule, i.e., dehydrobenzo[12]annulene (DBA), on Au(111) using an atomically-resolved STM study combined with vdW density functional (vdW-DF) methodology. Our observations on an atomically-resolved scale clearly indicate that the DBA molecule has only one adsorption configuration on Au(111) (see Fig. 1(a) and (b)), even though the weak vdW adsorption characteristics of DBA/Au(111) were examined by means of STS and vdW-DF calculations. Based on the precisely determined adsorption geometry of DBA/Au(111), the

vdW-DF calculation results imply that even a very small contribution of the orbital interaction at the organic-metal interface can constrain adsorption structure even for the weak vdW adsorption (see Fig. 1(c)). The importance of orbital interaction involved in the adsorption of a π -CHC molecule on Au(111) emerges as a clear correlation between the relative stabilities of local minimum structures and their order of density of states (DOS) broadening, which results from the weak electronic coupling of the molecular π -state with the Au d state.

In conclusion, our combined study using STM/STS and vdW-DF calculations provides a comprehensive description of the interfacial geometric and electronic structures of the π -CHC molecule adsorbed on the noble Au surface at the single-molecule level, specifically selecting the well-designed system of DBA/Au(111) for this purpose. Our observations of the weak vdW adsorption system clearly indicate that a π -CHC molecule can have a specific adsorption configuration, even on the noble Au surface. Based on the precisely determined adsorption geometry of DBA/Au(111), the vdW-DF calculations provide improved knowledge of orbital interactions at the interface between a π -CHC molecule and the Au(111) surface. Such interfacial orbital interaction originates from the weak electronic coupling between the molecular π -state and the electronic states of the Au surface, which can play a decisive role in constraining adsorption geometry even in the archetypal vdW adsorption system. Our study provides not only deeper insight into the formation of interfacial electronic structures at organic-metal contacts beyond the vdW scheme, but also new perspectives to organic electronics using π -CHC molecules on the Au surface.

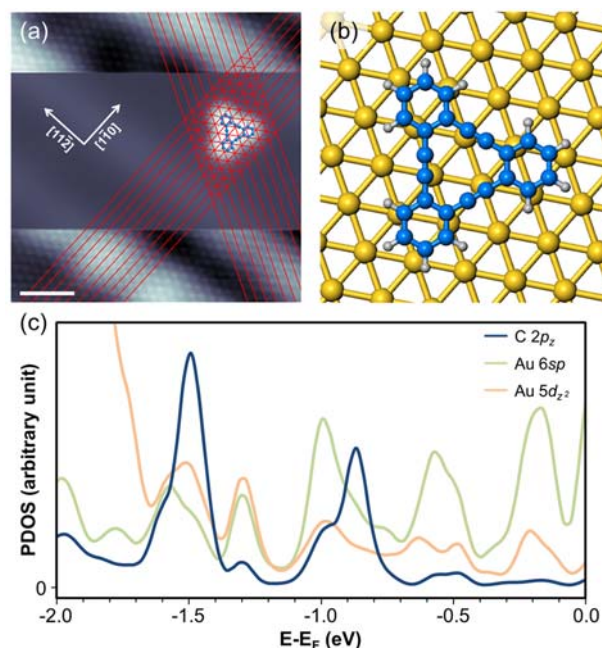


Figure 1. (a) STM image of isolated DBA molecule on Au(111) obtained by spatially varying the tunneling conditions (top and bottom: $V_s = -2$ mV, $I_t = 9.0$ nA, Scale bar (S) = 1.5 nm; middle: $V_s = -500$ mV, $I_t = 0.4$ nA). (b) Optimized structure of DBA/Au(111) by vdW-DF calculation (C, blue; H, grey; Au, yellow). (c) PDOS diagrams for the occupied π -states (C $2p_z$), the HOMO and the doubly degenerated HOMO-1 states, of DBA/Au(111), with the $5d_{z^2}$ and $6sp$ states of Au(111).

[Reference]

1. S. R. Forrest, *Chem. Rev.* **97**, 1793 (1997).
2. M. Eremtchenko, J. A. Schaefer, and F. S. Tautz, *Nature* **425**, 602 (2003).
3. H. Ishii, K. Sugiyama, E. Ito, and K. Seki, *Adv. Mater.* **11**, 605 (1999).
4. A. Kahn, N. Koch, and W. Gao, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.* **41**, 2529 (2003).
5. W.-H. Soe, C. Manzano, A. De Sarkar, N. Chandrasekhar, and C. Joachim, *Phys. Rev. Lett.* **102**, 176102 (2009).

* This work has been published in *J. Chem. Phys.* **140**, 074709 (2014)

Functionalization of Graphene Grown on Metal Substrate with Atomic Oxygen: Enolate vs. Epoxide

Jaehoon Jung, Hyunseob Lim, Junepyo Oh, and Yousoo Kim

Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

Functionalization of graphene has attracted great scientific interest not only in controlling the physical properties of graphene, such as opening band gap to achieve semiconducting nature, but also in improving chemical adaptability to integrate graphene as a building block into a variety of functional devices. Due to the great simplicity of atomic species, atomic functionalization on the basal plane of graphene with covalent bonds has been considered one of the promising ways to maximize the utilizability of graphene [1], in which hydrogen, fluorine and oxygen have been extensively studied as a key species in order to induce symmetry breaking of graphene composed of sp^2 hybridized carbons. In particular, atomic oxidation allows compositional expandability through additional chemical reactions. At the limit of low coverage, whereas hydrogen or fluorine makes a single covalent bond with carbon atom, i.e., ontop configuration, on the basal plane of a graphene sheet, the attachment of atomic oxygen to graphene results in graphene epoxide, i.e., bridge configuration, in which an oxygen atom covalently interacts with two adjacent carbon atoms. Other possibility except epoxy group on the basal plane of graphene has been excluded, and thus it leads to the narrow choice of a chemical route not only for further functionalization but also for the development of graphene-based catalysts.

Recently, using periodic density functional theory (DFT) calculations, we first suggested that the atomic oxidation of graphene grown on a metal substrate results in the formation of graphene enolate, i.e., negatively charged oxygen adsorbed at ontop position on its basal plane, which is strikingly different from the formation of epoxy groups on free-standing graphene and on graphite [2]. Whereas the enolate is the transition state between two nearest epoxides on graphene and on graphite, we revealed that the enolate group forms on epitaxial graphene on a metal substrate exists as a local minimum, and further becomes more stable than the epoxide.

Figure 1 shows the (4×4) supercell structures employed in this study. Whereas free-standing graphene has only one type of ontop site for the atomic oxidation on its basal plane (Figure 1a), there are two different ontop configurations (OT1 and OT2, red and yellow dots, respectively), i.e., corresponding to the formation of graphene enolate, on graphite (Figure 1b) and Gr/Cu(111) (Figure 1c). The C atoms adjacent to the oxidized C atom locate on ontop and hollow sites of underneath graphite or metal layers for OT1

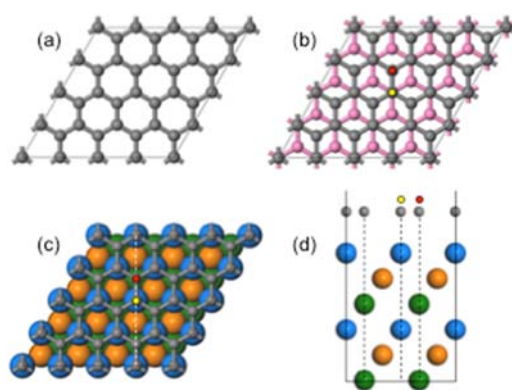


Figure 1. Simulated (4×4) supercell structures for (a) free-standing graphene, (b) graphite, and (c, d) graphene grown on Cu(111) substrate. Red and yellow dots indicate two different ontop configurations, OT1 and OT2, respectively, for atomic O adsorbate.

and OT2, respectively. Bridge configurations (BR), i.e., corresponding to the formation of graphene epoxide, are all identical in each system.

We examined the detailed potential energy surface for the migration of O adsorbate between the ontop and bridge sites on the graphene sheet. Figure 2 obviously shows the existence of OT1 (and OT2) as a local minimum on the Gr/Cu(111). Whereas the formation of BR is most favorable on both graphene and graphite compared with the adsorption at ontop sites (by ~ 0.9 eV), the adsorption site preference dramatically changes on the epitaxial graphene grown on Cu(111) substrates. On Gr/Cu(111), OT1 becomes more stable than BR by 0.10 eV, although OT2 is still less favorable than BR by 0.07 eV. These results imply that the interfacial interaction between graphene and metal substrate is crucial in accounting for the stability of O adsorbate.

Figure 3 shows the band diagrams of bare and OT1 Gr/Cu(111), and corresponding partial charge density plots at **K**-point. Figure 3c,d shows the partial charge density for degenerated electronic states at Dirac conical point, which indicates that the C 2p states of graphene are isolated from the electronic states of Cu(111). However, Figure 3f,g clearly shows that the 2p states of C atoms strongly interact with 3d states of underlying Cu atoms at the interface.

To summarize, our computational results strongly suggest that the atomic oxidation of graphene grown on metal substrate can provide an opportunity to extend graphene chemistry with the newly suggested functional group, i.e., enolate, on the basal plane of graphene. The interfacial interaction between graphene and metal substrate plays a crucial role not only in the formation of enolate as a local minimum but also in stabilizing it over the epoxide. Our computational study is expected to trigger experimental attempts to find the existence of graphene enolate on metal substrates and to design new chemical pathways utilizing it.

[Reference]

1. J. E. Johns and M. C. Hersam, *Acc. Chem. Res.* **46**, 77 (2013).
2. J. Jung, H. Lim, J. Oh, and Y. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **136**, 8528 (2014).

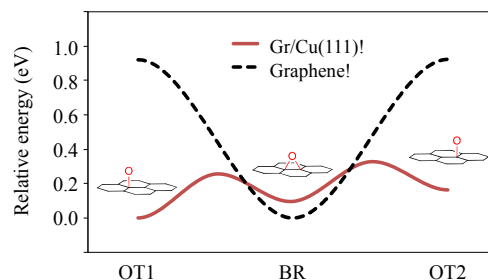


Figure 2. Potential energy surfaces for the oxygen migration between ontop (enolate) and bridge (epoxide) sites on free-standing graphene and Gr/Cu(111). The relative energy was used in constructing a potential energy surface

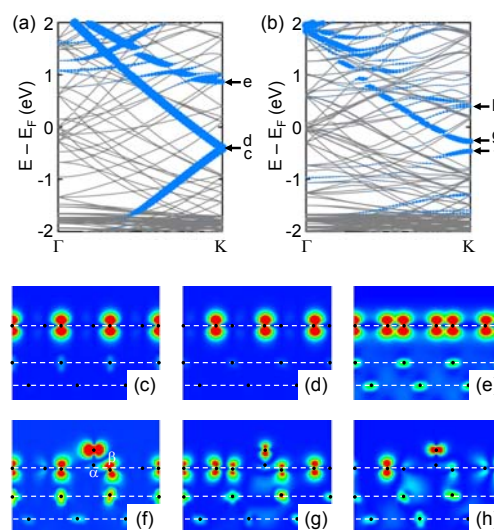


Figure 3. Band diagrams of (a) bare and (b) OT1 Gr/Cu(111). (c-h) The partial charge density plots for selected electronic states at **K**, for which energies are marked by black arrows in (a) and (b).

A New Sulfur-Metal Complex on Cu(111)

Holly Walen,^a Da-Jiang Liu,^b Junepyo Oh,^c Hyunseob Lim,^{c,†} J. W. Evans,^{b,d} Christine Aikens,^e
Yousoo Kim,^c and P. A. Thiel^{a,b,f}

^aDepartment of Chemistry, Iowa State University, Ames, Iowa 50011 USA

^bAmes Laboratory of the USDOE, Ames, Iowa 50011 USA

^cRIKEN Surface and Interface Science Laboratory, Wako, Saitama 351-0198, Japan

^dDepartment of Physics & Astronomy, Iowa State University, Ames, Iowa 50011 USA

^eKansas State University, Department of Chemistry, Manhattan, Kansas 66506 USA

^fDepartment of Materials Science & Engineering, Iowa State University, Ames, Iowa 50011 USA

It has been proposed that metal-adsorbate complexes can greatly accelerate rearrangements of metal nanostructures and surfaces. This issue is of importance for stability of catalysts or nanostructures, and has been the subject of prolonged speculation given that the complexity of such systems typically precludes definitive analysis.¹ Nonetheless, evidence continues to accumulate supporting the presence of mobile complexes on surfaces and, by implication, their role in metal transport. Adsorbates that form mobile surface complexes with metals include hydrogen, oxygen, alkylsulfides, and—the subject of this study—sulfur. The soft metals Cu, Ag, and Au, which are of great interest because of their catalytic and plasmonic properties, are expected to be particularly susceptible to this effect.

We studied a S-Cu complex which we later identified as Cu₂S₃ on the Cu(111) surface using scanning tunneling microscopy (STM). Experiments were performed with a low-temperature STM (Omicron) under ultrahigh vacuum. Sulfur was exposed to the surface from an electrochemical source, where S₂ is the dominant species, while the sample was held at room temperature. The sample temperature during deposition is notable for promoting sulfur dissociation on the surface. After deposition the sample was cooled to the observation temperature, around 5 K. We report sulfur coverage on the terraces rather than total sulfur coverage (which includes step decoration).

Figure 1 shows the heart-shaped Cu₂S₃ clusters on a Cu(111) terrace. They adopt three different orientations, rotated by 120°, in equal abundance. These orientations are such that the lobes of the heart align with three of the six close-packed directions of the Cu(111) surface.

We have used density functional theory (DFT) to check whether this assignment is reasonable in terms of stability, shape, orientation, and density. A variety of possible clusters, with optimized configurations, are

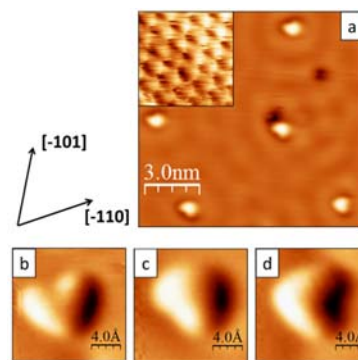


FIG. 1. STM images of Cu₂S₃ on Cu(111). **a)** Several Cu₂S₃ hearts on the terrace at low sulfur coverage, inset: atomic resolution of clean Cu(111). **b)-d)** Derivative images of the three orientations of the hearts.

represented in Fig. 2. The chemical potential of S (μ_S) and the cluster diffusion barrier (E_d) appear at the top of each panel. The Cu_2S_3 complex in Fig. 2(a) has lower μ_S (and lower formation energy) than any others we have found.

Second, we have simulated the shape of the complexes using the Tersoff-Hamman method. The heart shape is evident for Cu_2S_3 and is compatible with the data. Furthermore, the area of the simulated Cu_2S_3 complex is $0.40\text{-}0.42\text{ nm}^2$, in good agreement with the experimental result ($0.39 \pm 0.04\text{ nm}^2$).

Third, to assess orientation, consider the two Cu_2S_3 complexes shown in Fig. 2(a-b). Both can have 3 energetically-equivalent orientations. Considering the pair of Cu atoms as a one-dimensional step edge, one S atom lies along an A-step, and the others (comprising the lobes) are along a B-step. This is exactly the experimental observation. In short, the stability of complex (a) can be rationalized by the presence of one S atom in a p4fh site, whereas (b) has none.

Finally, we examined Cu_2S_3 role in copper mass transport and compared to the complexes shown in Fig 2, as well as the Cu adatom. As previously mentioned, the formation of the Cu_2S_3 is lower than the other complexes, as well as the Cu adatom. The diffusion energy for this complex is also the lowest of these complexes. Both of these factors suggest that the Cu_2S_3 complex is responsible for mass transport in this system.

In summary, the predominant S-induced features on the Cu(111) terraces, at very low S coverages, are heart-shaped protrusions. DFT supports their assignment as Cu_2S_3 clusters. These clusters are always oriented in a way that allows one S atom in the cluster to bond at a p4fh site. This is different than any type of metal-sulfur surface complex observed previously, to our knowledge. Kinetic analysis shows that Cu_2S_3 is an important species for mass transport in this system.

[References]

1. P. A. Thiel, M. Shen, D.-J. Liu, and J. W. Evans, *J. Vac. Sci. Technol. A* **28**, 1285 (2010).

*This work has been accepted for publication in *J. Phys. Chem. C*

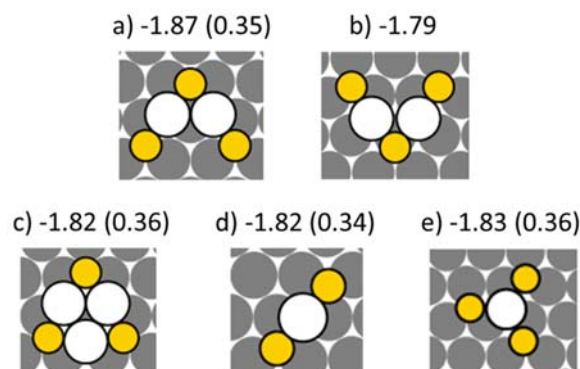


FIG. 2. Cu-S clusters on Cu(111) with lowest chemical potentials. Values of μ_S are given in eV. Diffusion barriers, E_d , are given in parentheses, also in eV. White circles represent Cu adatoms, small yellow are S adatoms, and gray are Cu atoms in the Cu(111) surface. Panels (a) and (b) are different configurations of Cu_2S_3 , (c) is Cu_3S_3 , (d) CuS_2 , and (e) CuS_3 .

Scanning Tunneling Luminescence and Theoretical Studies of Electron Energy Dissipation at a *p*-type GaAs(110) Surface

H. Imada,¹ K. Miwa,¹ J. Jung,¹ T. K. Shimizu,^{1,†} N. Yamamoto,² and Y. Kim¹

¹Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

²Department of Condensed Matter Physics, Tokyo Institute of Technology

[†]Current address: National Institute for Materials Science

Electron injection from the tip of a scanning tunneling microscope into a *p*-type GaAs(110) surface has been used to induce luminescence. Atomically-resolved photon maps revealed a significant reduction in luminescence intensity at surface states localized near Ga atoms. Quantitative analysis based on first principles calculations and a rate equation approach was performed to describe the perspective of electron energy dissipation at the surface. Our study reveals that non-radiative recombination through the surface states is a dominant process for the electron energy dissipation at the surface, which is suggestive of the fast scattering of injected electrons into the surface states.

Energy dissipation of electrons, such as recombination and scattering, plays a significant role in current electronic technologies. In particular, recombination at surfaces is one of the principal processes responsible for reducing the operational efficiency of (opto)electronic devices and (photo)catalytic systems. However, thus far, it has not been feasible to obtain quantitative information about surface recombination at the atomic-scale, mainly because of technical limitations.

We investigated energy dissipation at a *p*-type GaAs(110) surface with atomic-resolution using scanning tunneling luminescence (STL) spectroscopy (Fig. 1(a)). The experimental data were theoretically analyzed using first principles calculations and a rate equation approach.

Figure 1(b) shows STL spectra measured at various sample voltages and a photoluminescence (PL) spectrum as a reference. Luminescence in STL was observed only at positive sample bias voltages within a range of $|V_s| \leq 2$ V, and the spectrum shape does not depend on the bias voltage. The shape of the STL spectra is almost identical to that of PL. Because the luminescence in PL occurs mainly inside the bulk, it is concluded that the light emission in STL also occurs inside the bulk.

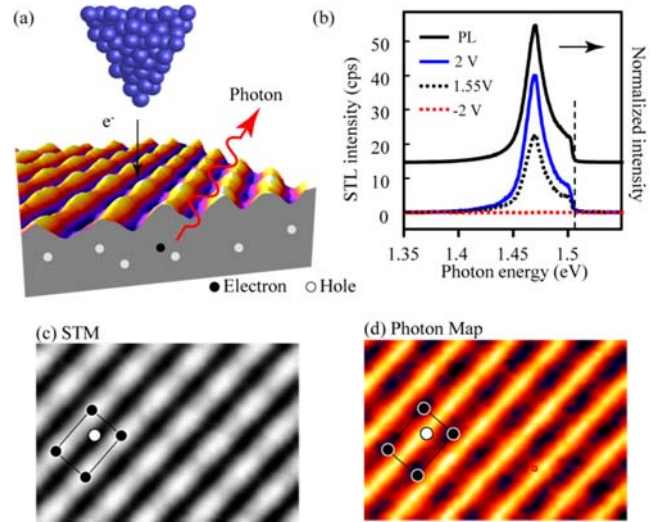


FIG. 1 (a) A schematic drawing of STL measurement of *p*-doped GaAs. Luminescence inside the bulk is induced by electron injection with an STM tip. (b) STL spectra at various voltages and PL spectrum measured on the same sample. (c) An atomically resolved STM image and (d) an STL photon map of GaAs(110) ($V = 1.8$ V). A unit cell at identical positions is shown (black: Ga, white: As).

An atomically-resolved STM image and STL photon map measured at a sample voltage of 1.8 V are shown in Fig. 1(c) and (d). The atomic rows in the STM image apparently run in the [001]. STL photon maps show similar stripe-like patterns running in the [001] direction. However, opposite to the STM, which shows bright spots at Ga sites, dark spots were observed at Ga sites in the photon map.

Local variation of the photon intensity in STL (Fig. 1(d)) can be analyzed by considering local electron-injection into the electronic states distributed on the GaAs(110) surface and dynamic processes of the electrons at the surface. We investigated the electronic structure of GaAs(110) using density functional theory (DFT) calculations. Figure 2(a) shows the band structure of the GaAs(110) surface, in which the bulk band structure is also projected for comparison. Figures 2(b)-(d) show spatial distribution of charge densities of the electronic states in the lowest unoccupied band at Γ - and X -points which dominantly contribute to electron tunneling in our experimental condition. Figure 2(b) clearly displays that $|\Psi_{1,\Gamma}|^2$ penetrates into the bulk whereas $|\Psi_{1,X}|^2$ is localized at the surface. Figure 2(c) shows a relatively uniform distribution of $|\Psi_{1,\Gamma}|^2$ on the surface. In contrast, $|\Psi_{1,X}|^2$ is strongly localized around the surface Ga atoms (Fig. 2(d)).

Next, we consider dynamics of the electrons injected into the surface states. We assume that electrons are injected into either Γ - or X -points, and the radiative recombination takes place only at the Γ -point. It is noteworthy that the bottoms of Γ - and X -valleys of the C_3 band are close in energy and the electrons can be scattered between these valleys. By solving rate equations regarding the number of electron in Γ - and X -points, we found that 99.99% of the electrons injected into the Γ -point are scattered into the X -point via $\Gamma \rightarrow X$ intervalley scattering, and 53% of the electron in X -point go through non-radiative recombination at the surface.

In conclusion, we have investigated electron energy dissipation at the p -type GaAs(110) surface based on atomically resolved STL observations and theoretical analysis. Tunneling electrons injected into the surface mainly undergo non-radiative recombination through the surface states localized near surface Ga atoms. The key process should be the fast $\Gamma \rightarrow X$ intervalley scattering that prevents the injected electrons from penetrating into the bulk conduction band, which suppresses the luminescence in the bulk. Microscopic analysis of carrier injection, scattering and recombination processes with atomic spatial resolution would contribute to the fundamental understanding of carrier dynamics and energy conversion at surfaces.

[Reference]

1. P. Ebert *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **77**, 2997 (1996).
2. M. Hoshino, and N. Yamamoto, *MRS Symposium Proceeding* **738**, 149 (2002).
3. D. Fujita, K. Onishi, and N. Niori, *Nanotechnology* **15**, S355 (2004).

*This work has been submitted to *Phys. Rev. Lett.* (under review process)

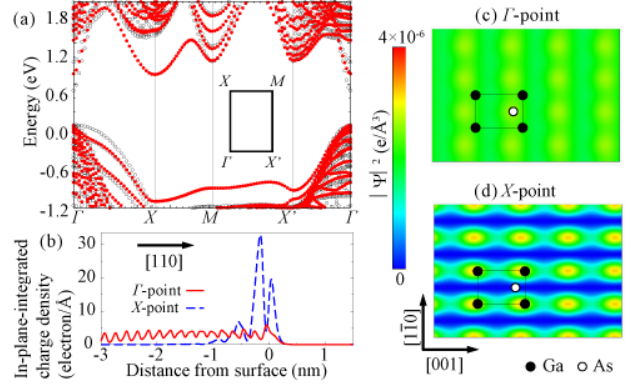


FIG. 2. (a) Band structure for GaAs(110) surface (red) and projected bulk band structure (black). (b) Charge densities $|\Psi_{1,i}|^2$ ($i = \Gamma, X$) were plotted as a function of the distance from the surface. (c), (d) Charge densities $|\Psi_{1,i}|^2$ ($i = \Gamma, X$) in a (110) plane.

Thickness dependence of electronic structures of single H₂Pc on NaCl ultrathin insulating films

Miyabi Imai^{1,2} Hiroshi Imada² Tomoko K. Shimizu^{2,†} Maki Kawai¹ and Yousoo Kim²

¹Advanced Materials Science, School of Frontier Sciences, the University of Tokyo

² Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

[†]Current address: National Institute for Materials Science

Tuning the electronic structure of organic molecules in contact with metal substrates is essential to achieve efficient charge transport in various organic devices. Ultrathin insulating films are useful in this regard because they work as buffer layers. In addition to electronically decoupling adsorbates from metal substrates, new dimensionality, *i.e.*, thickness, enables to control surface properties such as work function¹ and chemical reactivity². There have been many reports on scanning tunneling microscopy/spectroscopy (STM/STS) studies of organic molecules adsorbed on ultrathin insulating films, but correlation between film thickness and electronic structures of adsorbates has not been clarified³. In this study, we investigated the electronic structure of single metal-free phthalocyanine (H₂Pc), which is a p-type π -conjugated molecule, adsorbed on ultrathin NaCl films with various thickness on a Au(111) single crystal using low temperature STM/STS.

By depositing NaCl with the sample held at room temperature (RT), 1 and 2 ML (100)-terminated NaCl islands were observed (Fig. 1a). After a subsequent sample anneal to about 100 °C, 4 ML NaCl islands as wide as 100 nm² could be found (Fig. 1b). This enables us to use 1, 2, and 4 ML NaCl islands and bare Au(111) as substrates. H₂Pc adsorbed on all substrates as a single isolated molecule (Fig. 1c).

The dI/dV spectrum of the molecule on each substrate (Fig. 2a) shows two peaks whose origins are HOMO and quasi-degenerated LUMO and LUMO+1 but the peak positions are different by several hundred mV with the thickness of NaCl insulating films. Comparing molecular levels on different thick NaCl films, an energy diagram is useful since which refers to the vacuum level whereas the lateral axis of STS spectra refer to the Fermi levels of the substrates even though the work function of the substrates has thickness dependence.

In order to determine the differences of the work function, we measured dZ/dV spectra on 1, 2, 4 ML NaCl films (Fig. 2b). The peaks pointed by arrows are the field emission resonances whose energy shifts are related to the work function differences. The averaged peak shifts of 1, 2 and 4 ML NaCl films from bare Au(111) are 0.95 eV, 0.72 eV and 0.80 eV respectively, indicating the work function difference between them are several hundred meV and depend on the NaCl thickness.

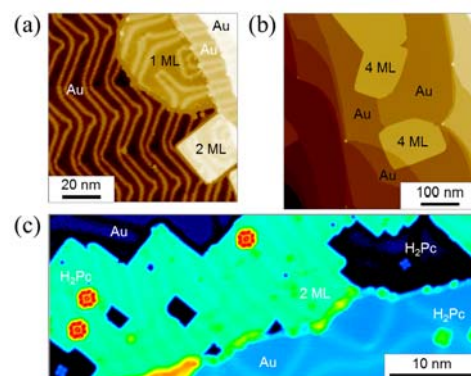


Fig.1 STM image obtained after NaCl deposition (a), after annealing (b), and after H₂Pc deposition. (a), (b) $V_b = -2.0$ V, $I_t = 4$ pA, (c) $V_b = +1.3$ V, $I_t = 4$ pA

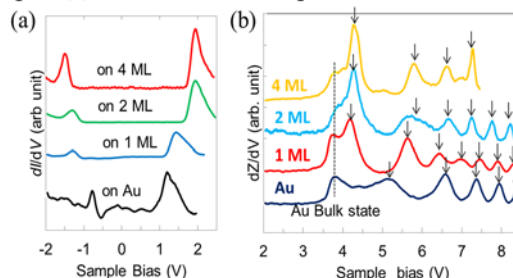


Fig.2(a) dI/dV spectra of single H₂Pc on Au(111), and 1, 2, and 4 ML NaCl islands. (b) dZ/dV spectra measured on bare Au(111), 1, 2, and 4 ML NaCl films.

We also take into account of the difference of potential drop within NaCl films with different thickness. It should be noted that on insulating films STS peak positions of HOMO and LUMOs are not equivalent to the molecular levels because of the potential drop within the films because molecules exist on NaCl films. HOMO and LUMO levels at the zero bias (E_{HOMO} , E_{LUMO}) can be determined by subtracting V_{NaCl} from their peak energies (V_{HOMO} , V_{LUMO}) in STS spectra.

$$E_{HOMO/LUMO} = V_{HOMO/LUMO} - V_{NaCl}$$

V_{NaCl} can be deduced by simple approximation, considering this junction as a capacitor partially filled with a dielectric material. From the formula in the field of classical electromagnetism, and the result that applied bias (V_{sample}) is the sum of V_{NaCl} and V_{vac} , V_{NaCl} is represented by the following equation.

$$V_{NaCl} = \frac{\frac{z\epsilon_r}{d}}{1 + \frac{z\epsilon_r}{d}} V_{sample} = \frac{z\epsilon_r}{d + z\epsilon_r} V_{sample}$$

Here, ϵ_r is relative dielectric constant of the dielectric material. From these equations, E_{LUMO} and E_{HOMO} were calculated using the parameters shown in Table1.

With the deduced values of work function differences and potential drops within NaCl films, the energy diagram was constructed (Fig. 3). From the diagram, mainly two obvious features were found: the increase of the gap with the thickness and the alignment of the gap centers within the margin error. The gap broadening is found in the previous studies on various kinds of molecule/metal systems using photo electron spectroscopies. This phenomenon is explained as a result of coulomb interaction with an image charge. The alignment of the gap suggests that the center is independent from the work function of the substrate, indicating the controllability of the energy gap between molecular levels and E_F , which is important for charge injection, solely by the work function. The fact that the gap center on Au(111) did not align is the evidence that the rule of the molecular level alignment on an ultrathin insulating film is totally different from those on a metal substrate. While the molecular level alignment on Au(111) shows the coupling with the Fermi level, those on NaCl films is explained by the model of the vacuum level alignment combined with image charge effect. These result suggest Our results show two the most important aspect on the molecular electronic structure, HOMO-LUMO gap size and the energy difference between the Fermi level of substrates and the levels of frontier orbitals, is tunable by the thickness of insulating films and work functions of the substrates. Our results suggest one way to control of molecular electronic structures with the thickness of buffer layers.

[Reference]

1. H. C. Ploigt et al., *Phys. Rev. B* **76**,195404, 2007.
2. J. Jung et al., *Phys. Rev. B* **82**, 085413, 2010.
3. J. Repp et al., *Phys. Rev. Lett.* **94**, 026803, 2005.

Table Parameters used for the calculation of potential drop. ϵ_r : dielectric constant, z : the distance between the tip and the substrate, d : the thickness of the NaCl film.

	ϵ_r	z (pm)	d (pm)
1 ML	2.0	1032	288
2 ML	3.2	841	576
4 ML	5.9	628	1152

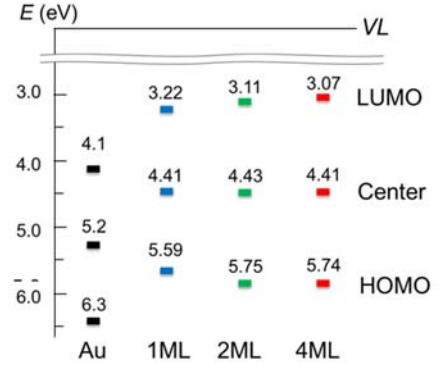


Fig. 3 the energy diagram of $H_2Pc/NaCl/Au(111)$. The levels of LUMO, HOMO and the center of HOMO and LUMO are shown.

Finding isomerization pathways for a single azobenzene derivative on the Ag(111) surface

Emiko Kazuma¹, Mina Han², Jaehoon Jung¹, Junepyo Oh¹, Takahiro Seki², and Yousoo Kim¹

¹Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

²Department of Molecular Design and Engineering Graduate School of Engineering, Nagoya University,

Azobenzene is one of the most attractive candidates for molecular switches based on the difference in conductance between *cis*- and *trans*- isomers. Although the *cis-trans* isomerization has been well studied on photochromism, the isomerization pathway has not been clarified yet. Two proposed pathways of in-plane inversion by bending NNC bond and out-of-plane rotation by torsion of two phenyl rings (Fig. 1) have been controversial.¹⁻³

Scanning tunneling microscopy (STM) provides real-space evidence of molecular motions and structure changes and has been applied to investigating the isomerization of a single azobenzene not only by imaging at single-molecule level but also by inducing the isomerization with tunneling electrons from the tip of an STM.^{2,3} If obvious different changes in molecular configuration depending on the isomerization pathways can be directly visualized with the STM, the preferential pathway would be clarified. Herein, we strategically designed and synthesized an original azobenzene derivative with asymmetric functional groups to make it easy to distinguish molecular configuration in STM images for clarifying the isomerization pathway.

We investigated isomerization pathways of a single 4-isopropoxy-3'-methoxyazobenzene (IMA) (Fig. 1) molecule adsorbed on Ag(111) surface with a cryogenic (5 K) ultra-high vacuum STM (Omicron GmbH). We observed four different IMA isomers before and after injection of tunneling electrons (Fig. 2a). The compact molecules are two different *cis*-isomers (*cis*-A and B) and the elongated molecules are two different *trans*-isomers (*trans*-A and B). To confirm this assignment, we calculated electrostatic potential (ESP) maps. The high negative density of the ESP map for a molecule weakly adsorbed on a metal surface often corresponds to protrusions in STM images obtained at low voltages². The ESP maps in Fig. 2b agree well with the STM images in Fig. 2a. Right after vacuum deposition,

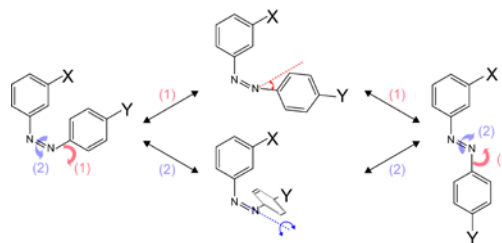


Figure 1 Two isomerization pathways of azobenzene derivatives. (1) inversion (CNN bending) and (2) rotation (CNNC torsion). Functional groups of IMA are X = OCH₃ and Y = OCH(CH₃)₂.

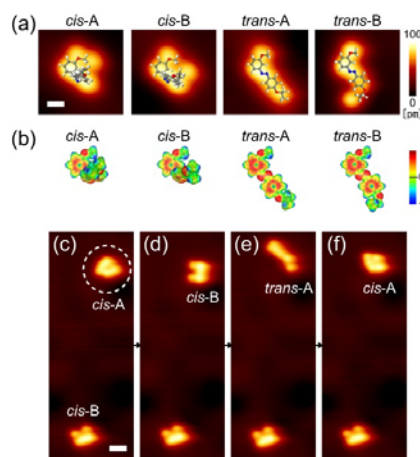


Figure 2 (a) STM images of four different IMA-isomers superimposed with ball-and-stick models as optimized in the gas phase. (b) ESP maps of the same models in (b). STM images (c) before and (d-f) after sequential injection of tunneling electrons into the molecule in the white dot circle in (c). The conditions of applied voltage pulse [tip bias(*V_t*), tunneling current (*I_t*), time (*t*)] are [0.45 V, 1.0 nA, 5 sec], [1.6 V, 1.0 pA, 5 sec], and [0.5 V, 1.0 pA, 5 sec] for (d), (e) and (f), respectively. All STM images were measured at 0.1 V and 0.1 nA. Scale bars are 0.5 nm in (a) and 1.0 in (c-f), respectively.

two different *cis*-isomers were observed and 72% was *cis*-A and 28% was *cis*-B from total of 141 molecules.

To explore isomerization behavior of a single IMA, the STM tip was placed above the N=N bond of IMA and tunneling electrons were injected. A *cis*-A molecule changed to *cis*-B (Fig. 2c→d) during applying pulse at ≥ 0.42 V and *cis*-B reverted to *cis*-A at ≥ 0.48 V. Therefore, although the reversible conformational changes between *cis*-A and B were achieved, the isomerization from *cis*- to *trans*-IMA cannot be induced by vibrational excitation at lower bias unlike the previous report.²

In contrast, under the higher bias, both *cis*-A and B isomerized to *trans*-A (Fig. 2d→e) and *cis*-B isomerized to *trans*-B. Bias dependencies of the reaction probability indicate the *cis*-A selectively isomerized to *trans*-A at ~ 1.5 V but the *cis*-B isomerized competitively to *trans*-A or B at ~ 1.5 V. On the other hand, *trans*-A reverted to rather *cis*-A than *cis*-B (Fig. 2e→f) at ~ 0.5 V, because the reaction barrier might be lower than that for isomerization from *trans*-A to *cis*-B. Reversion from *trans*-B to *cis*-B was also achieved at ~ 1.5 V although the half of them was broken. Therefore, the reversible isomerization of IMA was achieved by exciting molecules with tunneling electrons. Isomerization from *trans*-B to *cis*-A and conformational changes between *trans*-A and B were not observed.

Since *cis-trans* isomerization should occur via the in-plane inversion or the out-of-plane rotation, we can determine a preferential pathway by comparing the molecular structures from the geometrical viewpoint. From the STM images, *trans*-A has elongated structure which results from increase in the CNNC bond angle of *cis*-A. This means the isomerization pathway from *cis*-A to *trans*-A is inversion and vice versa. In contrast, two functional groups of *trans*-B are located at opposite sides across the azobenzene body, which would be possible only by rotation around the N=N bond of *cis*-B. Thus, the reversible isomerization between *cis*-B and *trans*-B is based on rotation. The suppression of the isomerization between *cis*-A and *trans*-B would be due to steric hindrance between two functional groups during rotation. Thus, the rotation pathway is forbidden for *cis*-A. As summarized in the potential energy surface in Fig. 3, only the inversion pathway is allowed for *cis*-A and *trans*-A, but on the other hand, both inversion and rotation pathways are competitive for *cis*-B. Therefore, we concluded that the isomerization pathway is different depending on the initial structure of the molecules.

In conclusion, we have clarified the isomerization pathways of IMA molecules on Ag(111) as the structure changes observed with STM at single-molecule level. The IMA molecules on Ag(111) have two stable *cis* structures (*cis*-A and B) and reversible isomerization between *cis*- and *trans*-IMA was achieved by injecting tunneling electrons. The isomerization mechanism is different depending on the initial structure of the molecules. These findings would give a guide to design azobenzene derivatives for the development of molecular switches.

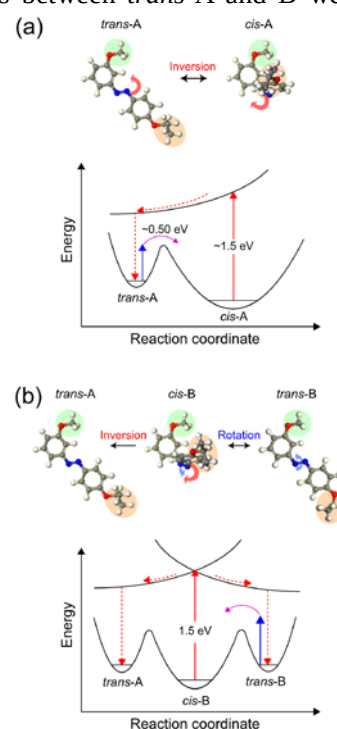


Figure 3 Schematic illustrations for the isomerization pathways and the potential energy diagrams.

- 【References】 1) H. Rau, E Lüddecke, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1616. 2) J. Henzl, et. al, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 603.
3) B.-Y. Choi, et. al, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, 96, 156106.

Lattice-Contraction-Induced Moiré Patterns in Direction-Controlled Epitaxial Graphene on Cu(111)

Hyunseob Lim, Jaehoon Jung, Hyun Jin Yang and Yousoo Kim

Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

We demonstrated the direction-selective growth of epitaxial graphene (EG) on Cu(111) for the first time. Our results imply that the synthesis of EGs with a unidirectional orientation on Cu surface is also feasible, although Cu has been well-known as a weakly interacting metal with graphene. We also developed a novel method to analyze various Moiré patterns induced by lattice contraction in EGs even with a unidirectional orientation.

Chemical vapor deposition on a Cu surface is one of the feasible methods for industrial applications, because large-area monolayer graphene film can be achieved. However, grain boundaries- and wrinkle-formation in the graphene film are known to reduce the electrical performance of graphene. One of the ideal methods to achieve the uniform graphene films with high quality is controlling orientations of each grain in graphene as an identical direction. Nevertheless, the direction-controlled growth has never been realized on Cu surface because of the weak interaction between Cu and EG. Indeed, previous STM studies only showed EGs with various $R\theta$ on Cu(111). [Gao et al., Nano Lett. 2010, 10, 3512-3516.]

This study describes the unidirectionally grown EGs by means of atomically-resolved STM imaging and the analysis of Moiré patterns. Both STM images showing EG and Cu lattices together and the atomic-resolution analysis of Moiré patterns revealed that the *zigzag* direction of EG edge is identical to the $[1\bar{1}0]$ direction of Cu(111) (0 degrees of rotational angle ($R\theta=0^\circ$)) (**Figure 1(c and d)**). Both Fourier-transformed (FT) images obtained from EG and Cu(111) regions (Figure 1e and f, respectively) also show hexagonal spot patterns with the same directions in a reciprocal space. Our observations, therefore, clearly reveal that the *zigzag* direction of EG is well-matched with the symmetric $\langle 1\bar{1}0 \rangle$ axes of the Cu(111) surface ($R\theta = R0^\circ$) (**Figure 1(e and f)**). In addition, we observed various Moiré patterns even with an identical rotational angle (all EGs in our experiments are direction-controlled) (**Figure 2**), which cannot be explained by the conventional method with rotational angle dependence. For understanding this observation, we considered the influence of “lattice contraction in

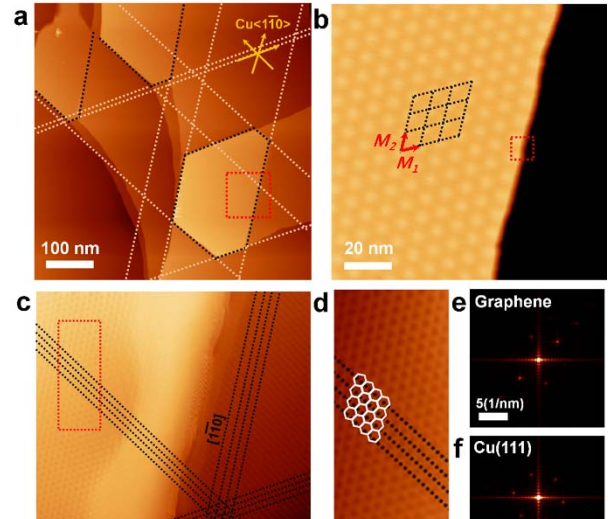


Figure 1. (a) Large area STM image of EGs. (b) STM image of Moiré pattern corresponding to red-dotted rectangle in Figure 1a. (c) STM image corresponding to red-dotted rectangle in Figure 1b. (d) Atomically-resolved STM image of the red-dotted rectangle in Figure 1c. The atomic arrangement of carbons atoms is depicted with white lines. (e and f) 2D FT images of (e) EG and (f) Cu(111), respectively.

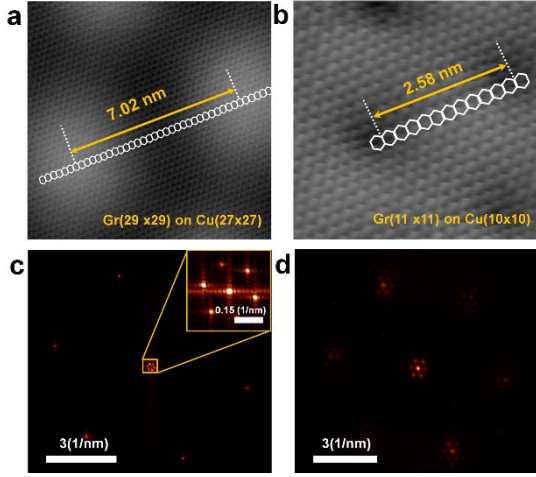


Figure 2. (a and b) Atomic-resolution STM images of Moiré patterns with (a) 7.02 nm and (b) 2.58 nm of L_M . In those STM images, (a) 29 and (b) 11 of benzene rings are counted between the closest two Moiré spots. (c and d) 2D FT images from STM images in Figure 2a and 2b, respectively. Inset image in Figure 2c corresponding to the small yellow rectangle at the center of Figure 2c.

EG”, and suggested a novel analysis method utilizing a correlation plot between the degree of EG lattice contraction and the length of the corresponding Moiré patterns. For the EGs on Cu(111) with $R0^\circ$, Moiré superstructures can be represented as $Gr(n \times n)/Cu(n' \times n')$, indicating that the primitive unit cells of the Moiré superstructures are composed of $n \times n$ and $n' \times n'$ unit cells of EG and the Cu(111) surface, respectively. Then, L_M and $\Delta \mathbf{a}_{Gr}/\mathbf{a}_{Gr}$ values can be calculated (L_M^{Cal} , $\Delta \mathbf{a}_{Gr}^{Cal}/\mathbf{a}_{Gr}$) for all possible Moiré superstructures generated by the given n and n' . Thus, L_M^{Cal} and $\Delta \mathbf{a}_{Gr}^{Cal}/\mathbf{a}_{Gr}$ for each $Gr(n \times n)/Cu(n' \times n')$ can be obtained by using Equation (3) and (4).

$$\Delta \mathbf{a}_{Gr}^{Cal}/\mathbf{a}_{Gr} = 1 - (n - k) \mathbf{a}_{Cu}/n\mathbf{a}_{Gr} \quad (k = n - n', n \neq ki, i: integer) \quad (3)$$

$$L_M^{Cal} = n \mathbf{a}_{Gr} (1 - \Delta \mathbf{a}_{Gr}^{Cal}/\mathbf{a}_{Gr})$$

Figure 3 shows a correlation plot of L_M^{Cal} versus $\Delta \mathbf{a}_{Gr}^{Cal}/\mathbf{a}_{Gr}$ (or $\Delta \mathbf{a}_{Gr}^{Cal}$) for $k = 1, 2$ and 3 , in the region of $\Delta \mathbf{a}_{Gr}/\mathbf{a}_{Gr}$ from 0 to 6% (See Supporting Information for the detailed evaluation methods). The influence of lattice

contraction on Moiré patterns with identical $R0^\circ$ was also investigated to explain various types of Moiré patterns observed in our EGs by using a correlation plot between L_M^{Cal} and $\Delta \mathbf{a}_{Gr}^{Cal}/\mathbf{a}_{Gr}$. This approach is not only reliable for our observations, but also useful in determining the precise atomic scale structure of EG on the other surfaces.

These atomic scale studies would accelerate fundamental studies for a better understanding of the interactions between graphene and a metal surface, as well as the practical development of a synthetic method for higher quality graphene films on Cu surfaces.

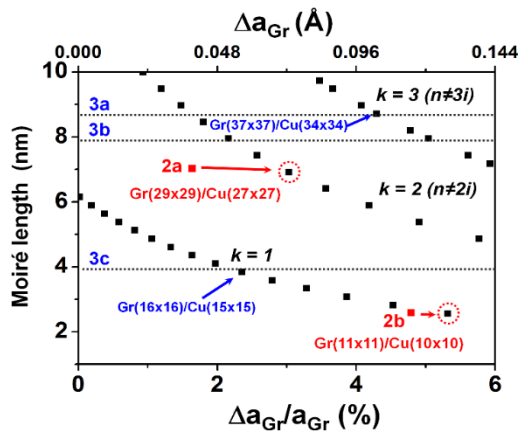


Figure 3. A correlation plot of all plausible L_M versus $\Delta \mathbf{a}_{Gr}/\mathbf{a}_{Gr}$ values depending on the n and k values, when $\rho = 0$ ($R0^\circ$). L_M^{Exp} and $\Delta \mathbf{a}_{Gr}^{Exp}/\mathbf{a}_{Gr}$ values for 2a and 2b are marked with red-filled rectangles, and L_M^{Exp} values for 3a, 3b and 3c are plotted by black dotted lines. Several L_M^{Cal} and $\Delta \mathbf{a}_{Gr}^{Cal}/\mathbf{a}_{Gr}$ values of ($Gr(n \times n)/Cu(n' \times n')$) corresponding to experimentally-observed Moiré patterns are indicated by blue arrows for convenient understanding.

*This work has been published in Adv. Mater. Interfaces 1 (2014) 1300080

Structurally-Driven One Dimensional Electron Confinement in Sub-5-nm Graphene Nanowrinkles

Hyunseob Lim and Yousoo Kim

Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

Graphene-based carbon materials such as fullerenes, carbon nanotubes, and graphenes have distinct and unique electronic properties that depend on their dimensionality and geometric structures. Graphene wrinkles with pseudo one-dimensional (1D) structures have been observed in a graphene sheet. However, their 1D electronic properties have never been observed because of their large widths. We demonstrate the unique electronic structure of graphene nanowrinkles (GNW) in a graphene sheet grown on Ni(111), the width of which was small enough (less than 5 nm) to cause 1D electron confinement. Use of spatially resolved, scanning tunneling spectroscopy revealed band-gap opening and a 1D van Hove singularity in the GNW, as well as the chemical potential distribution across the GNW. Our demonstration of 1D electron confinement in a graphene creates the novel possibility of controlling its electronic properties not by chemical modification but by “mechanical structuring in a controlled manner”.

Epitaxial graphene (EG) with GNWs was synthesized by dissociating acetylene on a clean Ni(111) surface. The rapid cooling process is necessarily required, which is the most critical step to

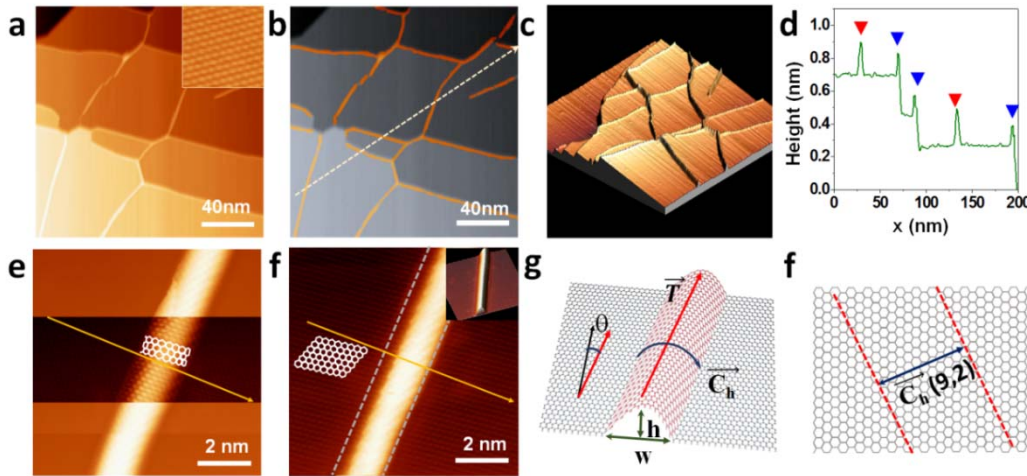


Figure 1. **a–c**, STM images of EG on Ni(111). **a**, Original image, (inset) graphene lattice on pEG region. **b**, Recolored image showing GNWs with orange color. **c**, 3D STM image of the EG and GNWs. **d**, Height profile along the white dashed arrow in **b**. Red triangles and blue triangles indicate the GNWs on the terrace of the Ni(111) surface and at step edges of the Ni(111) substrate, respectively. **e,f**, High-resolution STM images with different scanning conditions. **e**, (top and bottom) $V_s = 1$ V and $I_f = 1$ nA, (center) $V_s = 0.05$ V and $I_f = 1$ nA. Orange arrows indicate the $\vec{C}_h$ direction identified in **g**, and white hexagonal patterns indicate the carbon atoms. **f**, $V_s = 0.05$ V and $I_f = 6$ nA. **g,h**, Schematic drawings **g** to clarify the meaning of the parameters used to specify the structure of the GNWs and **h**, for the (9,2) GNW observed in **e** and **f**.

synthesize GNWs. Most of the GNWs were observed in the region where the terrace width of the underlying Ni surface was as short as several tens of nanometers (Fig. 1a–c). These GNWs have been recolored with orange in Fig. 1b, and a line profile along the white arrow in Fig. 1b is plotted in Fig. 1d, which shows that the GNWs on the terrace have larger widths and lower heights than the GNWs at the step edges.

The electronic structures of GNWs located on the terraces of the underlying Ni(111) were investigated by scanning tunneling spectroscopy (STS) and dI/dV mapping.

The dI/dV spectrum measured on the GNW (red line in Fig. 2a) by STS included four strong peaks, v_1 and v_2 for the valence band side, and c_1 and c_2 for the conduction band side, the indication being that there were discrete electronic states in the local density of states (LDOS). There was no evidence of such discrete electronic states on the pEG area (blue line in Fig. 2a). The Dirac point was not clearly apparent, even on the pEG area, because chemisorption on a Ni substrate strongly perturbs the electronic structure of graphene. The dI/dV image revealed the spatial distribution of the LDOS. The dI/dV images were obtained at various V_s voltages, including the voltages at peak positions [$V_s = -0.6$ V (v_1) and 0.5 V (c_1)] and between v_1 and c_1 ($V_s = -0.2$, 0.01 , and 0.2 V) as well. At the peak positions, the measured dI/dV intensities, which are indicative of the LDOS, were higher on the GNW area than on the pEG area. In contrast, lower LDOSs were observed on the GNW at V_s values in the energy gap between v_1 and c_1 (ΔE_g); this behavior is similar to the “band-gap opening” feature of a single-walled CNT (SWCNT). These discrete states in LDOS have never been observed in the STS previously performed on other graphene wrinkles. To examine the plausibility of the other possible mechanism, 1D electron confinement, we investigated the width dependence of 1D electron confinement. It is apparent that ΔE_g values decreased with increasing widths of the GNWs, but vHS peaks were not observed in GNWs with widths greater than 3.5 nm. We therefore suggest that 1D electron confinement is the most likely explanation for the unique states in GNWs.

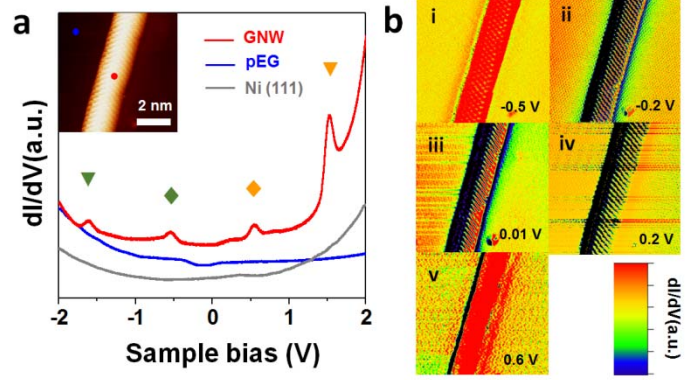


Figure 2. **a**, STS spectra on (gray line) bare Ni(111), (blue line) flat graphene, and (red line) GNW. The symbols above the peaks indicate (green diamond) v_2 , (green triangle) v_1 , (orange triangle) c_1 (from conduction band), and (orange diamond) c_2 . **b**, dI/dV mapping images of GNWs obtained at $V_s =$ (i) -0.5 V, (ii) -0.2 V, (iii) 0.01 V, (iv) 0.2 V, and (v) 0.6 V.

*This work has been submitted to Nature Nanotechnology (under review process).

Lateral hopping of a CO on Ag(110) by multiple overtone excitation

Junepyo Oh¹, Hyunseob Lim^{1, 5}, Ryuichi Arafune², Jaehoon Jung¹, Hiromu Ueba³, Maki Kawai⁴, and Yousoo Kim^{1*}

¹Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN, Japan

²International Center for Materials Nanoarchitectonics, National Institute for Materials Science, Japan

³Division of Nano and New Functional Materials Science, University of Toyama, Japan

⁴Departments of Advanced Materials Science, University of Tokyo, Japan

⁵Center for Multidimensional Carbon Materials, Institute of Basic Science, Korea.

The vibrational excitation of adsorbate on metal surface has been extensively studied as a fundamental step of various surface dynamic phenomena [1,2]. Vibration-mediated molecular dynamic behaviors on solid surface, involving molecular motion and reaction, can be induced by inelastic electron tunneling (IET) process with a scanning tunneling microscope (STM). Action spectroscopy with STM (STM-AS) [3] reveals vibrational energies of a single molecule based on the dynamic response, such as hopping, rotation, desorption and chemical reaction, to the excitation energy of inelastically tunneled electrons from the STM tip. In this study, we have investigated the lateral hopping motion of a CO molecule adsorbed on Ag(110) surface by using STM-AS method. The mobility of CO molecules adsorbed on Ag(110) surface was reported by Ho et al. [4], but there are no experimental report about the dynamics of CO on Ag(110) surface. Herein, we have investigated the lateral hopping motion of a CO molecule adsorbed on Ag(110) surface by using STM-AS method to clarify the hopping mechanism experimentally.

STM-AS measurements were then carried out for vibrationally-induced hopping motion of CO molecules on Ag(110). The hopping yield $Y(V)$ and rate $R(I)$ were estimated from the current traces as function of V and I , respectively. Action spectra reveal that $Y(V)$ provides sample bias voltages corresponding to the active vibrational modes responsible for molecular hopping motion [3,5]. $R(I)$ exhibits a power-law dependence on I and reaction order n , $R(I) \propto I^n$ [6-8], and thus describes that how many electrons are required for an event. FIG. 1 shows the action spectra obtained with a tunneling current of 20 nA (●), and 1 nA (▲). The action spectra exhibit a novel feature for the vibrationally-induced hopping motion of CO molecules on Ag(110), in which the drastic increases of $Y(V)$ were observed at four threshold voltages of ~64, ~96, ~160, and ~261 mV (marked with black arrows). The observed threshold energies are surprisingly well-matched with the first, second, third overtone value of $\nu(\text{M-C})$, and $\nu(\text{C-O})$, respectively. The current dependence of the $R(I)$ was then measured as

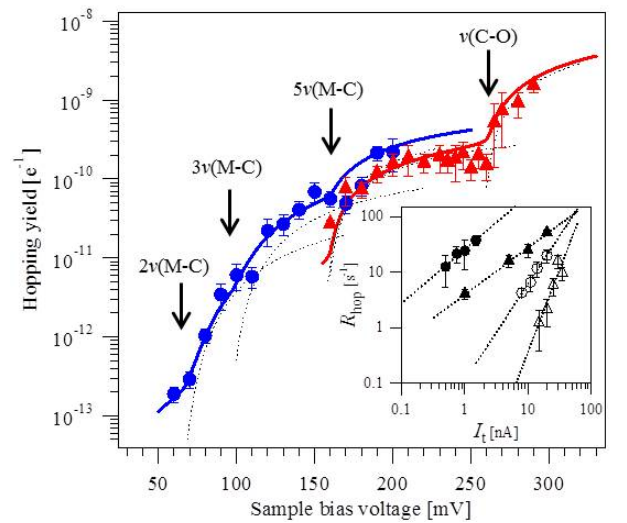


FIG. 1. Action spectra for lateral hopping of a CO molecule as a function of V . The inset shows the hopping rate (R_{hop}) of a CO molecule as a function of I for the sample bias voltages, 90 (Δ), 140 ($\circ$), 180 ($\blacktriangle$), and 280 mV ($\bullet$).

presented in the inset of FIG. 1. The estimated reaction orders n are 2.96, 1.73, 0.84, and 0.97 for the sample bias voltages, 90, 140, 180, and 280 mV, respectively. FIG. 2 shows a schematic diagram for the hopping mechanism through multi-step excitations of overtone modes of $\nu(\text{M-C})$, in which energy scale and ladder-climbing excitation features are described based on the experimentally obtained vibrational energy and reaction orders. The detailed hopping mechanism can be expressed as follows: (a) triple-step excitation of first overtone, $2\nu(\text{M-C})$, for $64 \text{ mV} < V_s < 96 \text{ mV}$, (b) double-step excitation of second overtone, $3\nu(\text{M-C})$, for $96 \text{ mV} < V_s < 160 \text{ mV}$, and (c) single-step excitation of fourth overtone, $5\nu(\text{M-C})$, for $160 \text{ mV} < V_s < 261 \text{ mV}$, respectively. These excited vibrational energies transfer to the RC mode (HT mode) by anharmonic coupling process [9], and finally CO overcomes the energy barrier (ε_B) for lateral hopping motion. The ε_B can be estimated as $128 \text{ meV} < \varepsilon_B < 160 \text{ meV}$ from FIG. 2.

In conclusion, we investigated the lateral hopping mechanism of individual CO molecules adsorbed on Ag(110) surface using action spectroscopy with low-temperature STM. We found that lateral hopping motion of a CO can be induced not only by the excitation of $\nu(\text{C-O})$ mode but also by vibrational excitations of several overtone modes of $\nu(\text{M-C})$, especially including higher overtone modes. To the best of our knowledge, our result is the first observation on the molecular motion induced by vibrational excitations of multiple overtone modes. Our results not only open a new opportunity to utilize higher overtone modes of adsorbate for triggering elementary process of surface chemistry but also stimulate further spectroscopic and theoretical investigation to gain the deep insight into underlying surface dynamics, such as energy transfer mechanism and the influence of substrate, leading to efficient excitations of multiple overtone modes.

References

- [1] J. T. Yates and T. E. Madey, *Vibrational spectroscopy of molecules on surfaces* (Plenum Press, 1987).
- [2] H. Ueba, S. G. Tikhodeev, and B. J. Persson, in *Current-Driven Phenomena in Nanoelectronics*, edited by T. Seideman (Pan Stanford Publishing, 2010).
- [3] Y. Sainoo, Y. Kim, T. Okawa, T. Komeda, H. Shigekawa, and M. Kawai, *Phys. Rev. Lett.* **95**, 246102 (2005).
- [4] H. J. Lee and W. Ho, *Science* **286**, 1719 (1999).
- [5] K. Motobayashi, Y. Kim, H. Ueba, and M. Kawai, *Phys. Rev. Lett.* **105**, 076101 (2010).
- [6] Y. Kim, T. Komeda, and M. Kawai, *Phys. Rev. Lett.* **89**, 126104 (2002).
- [7] J. I. Pascual, N. Lorente, Z. Song, H. Conrad, and H.-P. Rust, *Nature* **423**, 525 (2003).
- [8] B. C. Stipe, M. A. Rezaei, and W. Ho, *Science* **279**, 1907 (1998).
- [9] T. Komeda, Y. Kim, M. Kawai, B. N. J. Persson, and H. Ueba, *Science* **295**, 2055 (2002).

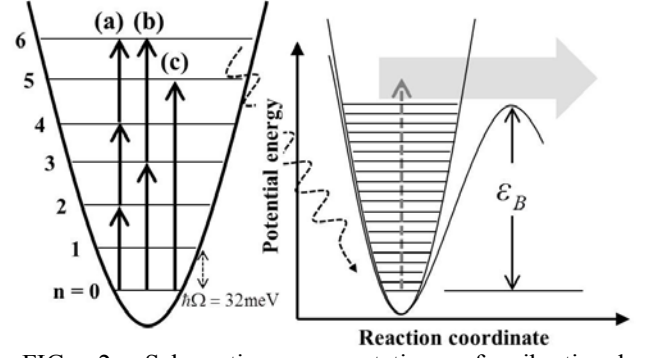


FIG. 2. Schematic representation of vibrational excitations of multiple overtone modes originated from metal-molecule stretching mode, $\nu(\text{M-C})$, 32 meV: (a) first, (b) second, and (c) fourth overtone modes.

Observation of bond weakening during photodesorption

-SFG/STM studies of CO-RuTPP/Cu(110)

Takuma Omiya,^{1,2} Heike Arnolds,² Rasmita Raval,² and Yousoo Kim¹

¹Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN ²Surface Science Research Centre, University of Liverpool

Desorption is one of the most fundamental surface dynamics, its mechanism is still in debate. Conventionally, laser desorption has been studied by two pulse correlation measurement (2PC), simply detect desorption products by mass spectrometer. 2PC allows us to study how long does desorption takes after first pulse arrives, but no detail information about before desorption. After 2000, sum frequency generation spectroscopy (SFG) has been utilized to study contribution of vibrational excitation. Several groups proposed that frustrated rotational modes are crucial to realize desorption [1-3]. Their claims are based on transient redshift of C-O stretch mode on metal surface, which generally means CO-metal bond gets stronger, an opposite of desorption. This counterintuitive results guide us to a question, either only FR mode appear in frequency shift or other mode (CO-metal bond) also contributes but not able to see due to the larger effect by FR. Moreover, we are not sure that mechanism of laser driven desorption is same with thermal desorption. Thermal desorption can be explained by electronic friction model, on the other hand, laser desorption is thought to be occurred by DIET model, desorption induced by electronic transition. Is there any vibrational excitation in DIET process as well?

For the deeper understand of desorption mechanism, we chose a unique molecular system, namely, CO on ruthenium tetraphenyl porphyrin(RuTPP) on Cu(110) surface. The porphyrin molecule is introduced to facilitate electronic transition, which expects to induce photodesorption and direct coupling between hot electron and $2\pi^*$ of CO. Indeed, we found that facile laser desorption from CO-RuTPP/Cu(110) than CO/Cu(110) although CO-RuTPP is thermally more stable. We first doubt that resonant electronic transition occurs, however, three different frequencies namely 400nm, 532nm and 800nm pump beams shows similar desorption tendency. CW laser cannot induce measureable photodesorption. Moreover, desorption rather depends on pump fluence, so the cause likely due to the hot electrons. This is same with extensive studies of CO/metal surfaces, the question is why CO-RuTPP shows much easier laser desorption.

Next, we studied electron-vibration coupling during photodesorption to understand vibrational contribution for photodesorption. Figure 1 shows time evolution of C-O stretch modes from CO/Cu(110) and CO-RuTPP/Cu(110). CO/Cu(110) exhibits frequency shift up to -9cm^{-1} just after pump beam arrives, which is known to be driven by excitation of FR mode. Note that we do not see any measurable CO desorption from Cu(110) in this experimental condition. In contrast, CO-RuTPP shows very different frequency shift. Under the low fluence (= less desorption condition), we only see the slow and small redshift. This indicates that electronic contribution or FR coupling do not appear in CO-

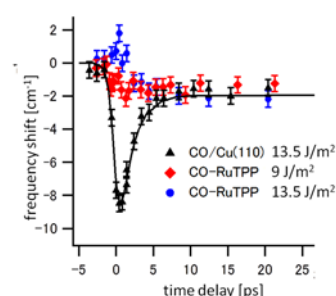


Figure 1 Transient pump induced changes in CO internal stretch frequency.

RuTPP. At the high fluence, when laser desorption become measurable, we start to see the blueshift around time zero. CO-Ru bond gets weaker. We observed similar blueshift with either 532nm or 800nm pump beam, and degree of blueshift depends on fluence.

We further investigate the origin of this blue shift. There are five possible contributions, 1) direct or 2) indirect electronic transition, 3) C-O or 4) CO-Ru vibrational excitation or 5) move to different adsorption site as a metastable state. By looking at the spectra shape during pump probe, the spectra are nicely reproduced by standard SFG equation. If hot electrons directly couples with CO $2\pi^*$, there is spectral distortion happens as observed NO/Ir(111). Moreover, we do not see the significant intensity reduction as observed in the CO/Ru(001) in desorption condition. This indicates that there is no long lived metastable state as proposed to desorption of CO/metal. We also monitors high order transition of C-O stretch mode though vibrational hot band, but do not see the significant intensity change during pump probe. Since we can eliminate four of five possibility, vibrational coupling between C-O stretch mode and CO-Ru stretch mode is most likely the origin of blue shift.

Why CO-metal excitation happens effectively on RuTPP? Direct vibrational excitation may induce desorption. To confirm this, we used scanning tunneling microscopy to perform action spectroscopy (STM-AS). STM-AS can be used to determine responsible vibrational mode of surface motion including desorption. Desorption probability against to applied voltage is plotted into figure 2-a, which indicates that low desorption probability even at 1V. This indicates that electronic transition seems required for the CO desorption. To understand electronic structure, we performed scanning tunneling spectroscopy (STS) as shown in figure 2-b, which shows several peaks after CO adsorption to RuTPP. This can be originated from ligand induced state. In the liquid phase, CO desorption from CO-RuTPP is known to trigger via $(d,2\pi^*)$ transition. This transition can be accessed from higher energy transition via thermal relaxation. This transition can alone explain the higher photodesorption probability, but no direct relation with blue shift, since we have not observed distortion of SF spectra during pump probe. So, we believe that during thermal relaxation process from higher energy electronic transition, excitation of M mode occurs to induce blueshift of C-O stretch mode.

In summary, we have observed CO desorption and blueshift of C-O stretch mode during laser irradiation. The phenomena is likely driven the $(d,2\pi^*)$ transition together with M mode excitation though the thermal relaxation from electronic transition. We report the first observation of bond weakening during photodesorption through the vibrational spectroscopy, and realize that even in the DIET process, vibrational excitation can occur.

[Reference]

1. M.Bonn *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **84**, 4653 (2000).
2. F.Fournier *et.al* *J.Chem.Phys.* **121**, 4839 (2004).
3. K.Inoue *et.al* *J.Chem.Phys.* **137**, 024704 (2012).

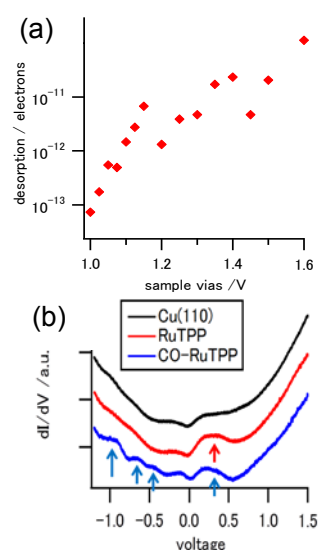


Figure 2 (a) desorption probability of CO from RuTPP/Cu(110) against to sample bias. (b) dI/dV spectra. Measurement is performed at 5K.

Supramolecular assembly through interactions between molecular dipoles and alkali metal ions

Tomoko K. Shimizu,^{1,†} Jaehoon Jung,¹ Hiroshi Imada,¹ and Yousoo Kim¹

¹Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

[†]Current address: National Institute for Materials Science

Establishing a way to fabricate well-ordered molecular structures is a necessary step towards advancement in organic optoelectronic devices. In this study, we revealed that the use of interactions between electric dipoles of molecules and alkali metal ions enables the formation of a well-developed homogeneous monolayer of diarylethene (DAE) molecules on the Cu(111) surface with the aid of NaCl co-deposition [1]. DAE has an intrinsic dipole resulting from its unique structure. It is well-known for its photochromism and thus switching properties as well as optoelectronic and optomechanical applications have been intensively studied. Homogeneous monolayers composed of DAE have so far been achieved by designing and synthesizing modified DAE molecules such as thiolated DAE for self-assembled monolayer. However, the strong intermolecular coupling may hamper control of the switching state of such individual molecules.

We used a simple DAE molecule called 1,2-bis(2,4-dimethyl-5-phenyl-3-thienyl)-3,3,4,4,5,5-hexafluoro-1-cyclopentene (FIG. 1) on the Cu(111) surface. Deposition of the closed-form isomer of DAE on the Cu(111) surface with pre-adsorbed NaCl islands under ultra-high vacuum lead to randomly distributed adsorption of the molecules on Cu(111). After annealing the sample at ~ 360 K, well-ordered molecular films, which are composed of linear molecular rows, appeared on Cu terraces (FIG. 2a). The same superstructure was also formed from deposition of the open-form isomers because the open-form isomer transforms into the closed-form isomer on Cu(111) using the thermal energy provided during annealing process. The stabilities of the two isomers are reversed on Cu(111) compared to that in solution [2]. Post-deposition of NaCl also results in the formation of the same structure, which strongly indicates the necessity of Na, Cl, or both for superstructure formation. To confirm this, we performed XPS experiments for two samples, *i.e.*, NaCl/Cu(111) and DAE + NaCl/Cu(111). The results indicate that Na bonds

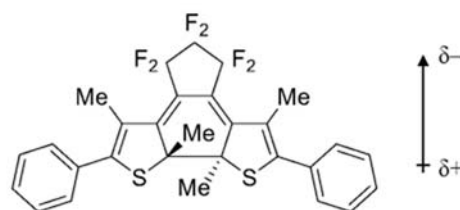


FIG. 1. Structure of the closed-form DAE used in this study and the orientation of molecular dipole moment.

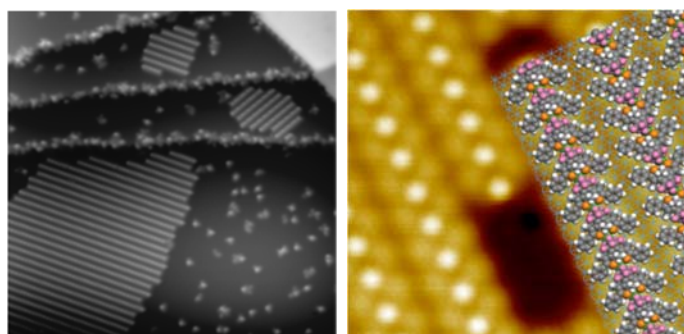


FIG. 2. a STM image ($80 \times 80 \text{ nm}^2$; -2 V , 50 pA) of closed-form DAE deposited at room temperature on Cu(111) with pre-deposited NaCl islands followed by annealing at 85°C . b Enlarged STM image ($9 \times 9 \text{ nm}^2$; $+1 \text{ V}$, 30 pA) with superstructure model.

to DAE and Cl disappears from the surface because of the penetration into the bulk.

Analysis of enlarged STM images allowed us to construct a model for the molecular superstructure (FIG 2b). Based on it, periodic DFT calculations were carried out in order to gain insight into the formation of the DAE superstructure on Cu(111); we focused on the driving force leading to the anisotropic geometric configuration of the molecular film. FIG 3a and 3b show the most stable optimized structures for the molecular rows without and with Na⁺ ions between neighboring DAE

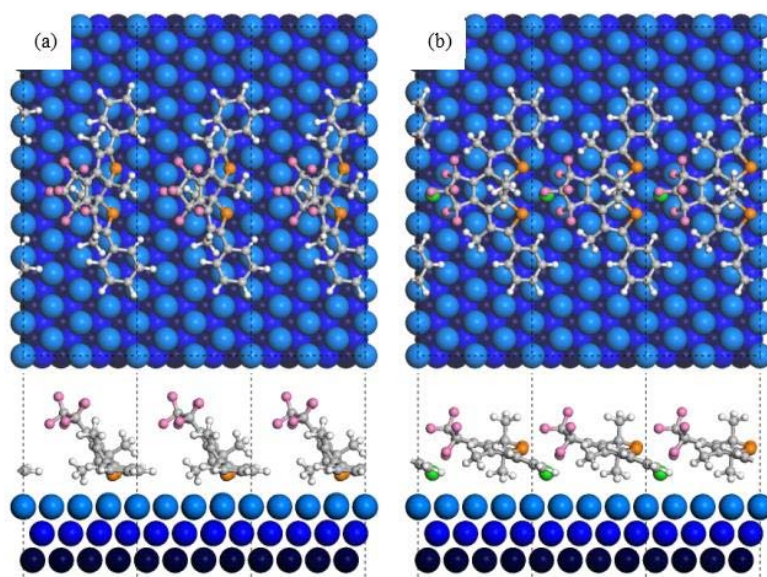


FIG. 3. Top and side views of the DFT-optimized DAE row structure without (a) and with (b) Na. C: gray, H: white, F: pink; S: orange; Na: green; Cu: blue.

molecules, respectively. In the absence of Na⁺ ions, two sulfur atoms of the DAE molecule interact mainly with the Cu substrate; this is also accompanied by van der Waals interactions between the phenyl rings and substrate. Thus, the DAE molecules should be oriented in the upright adsorption configuration. In contrast, when Na⁺ ions are inserted between neighboring DAE molecules, the adsorption orientation in the molecular row is significantly altered, in which the Na⁺ ions adsorbed on Cu(111) strongly interact with two fluorine atoms of DAE and thus draw the electronegative part of the DAE molecule closer to the substrate.

To obtain a proof of ionization of Na on the Cu(111) surface, we also extracted the charge density difference maps for the molecular row without and with Na. Depletion of the charge around Na, where its net charge is +0.77e, were found. Calculated density of states also shows Na 3s states being located in empty states away from the Fermi level. The ion–dipole interactions along the axis of the molecular row also compensate for the reduced interfacial interaction between the DAE molecules and the Cu(111) substrate.

In conclusion, we demonstrated the formation of a well-ordered superstructure of photochromic diarylethene molecules on Cu(111) by means of vacuum evaporation of either isomer with NaCl co-deposition followed by mild annealing. Na⁺ incorporation is evident from a comparison of experimental STM images with DFT calculations. The key to the superstructure formation with anisotropic geometric configuration, *i.e.*, the formation of a linear row structure, is suggested to be cation–molecular dipole interactions. Our results demonstrate a potential strategy to utilize alkali metal co-deposition to simultaneously control electronic properties and tune intermolecular interactions.

[Reference]

1. T. K. Shimizu, J. Jung, H. Imada and Y. Kim, *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 13729-13733 (2014).
2. T. K. Shimizu, J. Jung, H. Imada and Y. Kim, *Chem. Commun.* **49**, 8710-8712 (2013).

Thermally activated transition from 1D to 2D superstructure: Squaric acid on Au(111)

Kan Ueji^{1,2}, Jung Jaehoon¹, Junepyo Oh¹, Kazuo Miyamura², Kim Yousoo¹

¹Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

²Department of Chemistry, Faculty of Science, Tokyo University of Science

Polymorphs have at least two types of unit cells. Although they contain the same molecules, polymorphs with different unit cells exhibit different physical properties. Therefore, polymorphic transitions of molecular assemblies on solid surfaces have attracted great interest for applications in the development of organic-based functional devices. Polymorphic transitions of supramolecular assemblies at liquid–solid interfaces have been extensively studied so far.^[1] However, the use of ultrahigh–vacuum (UHV) conditions provides a different approach for fabricating “solvent-free molecular assemblies” and controlling their morphology and physical properties. Studying polymorphic transitions under UHV conditions, which take place without solvents and are based on molecule–substrate interactions, intermolecular interactions, or both, are important for gaining fundamental insights into the underlying mechanisms involved. Although the structural versatility afforded by such polymorphic transitions are important for designing molecular assemblies that serve as building blocks for device miniaturization, to the best of our knowledge, there have been only a few reports on polymorphic transitions under UHV conditions with focus on the dimensionality of molecular assemblies on solid surfaces, such as changing the surface coverage.^[2]

In order to achieve polymorphic transitions with dimensional variation induced solely by thermal annealing, we herein employ squaric acid (H_2SQ) as a prototype system. H_2SQ molecule has a layered structure with hydrogen bonding. The electrical properties of H_2SQ have been reported to be strongly associated with the thermally induced phase transitions, both in the molecular crystal^[3a] as well as thin film^[3b] states.

The results of the present study indicate that the H_2SQ molecules formed two types of superstructures on Au(111). A narrow 1D ribbon structure was observed after depositing the H_2SQ molecules onto Au(111) at room temperature. Subsequent thermal annealing without additional deposition of H_2SQ molecules resulted in a polymorphic transition of the 1D ribbon structure to a 2D carpet superstructure. The 1D ribbon was long and narrow, whereas the 2D carpet was a nearly square island that was several thousand square nanometers in size. The

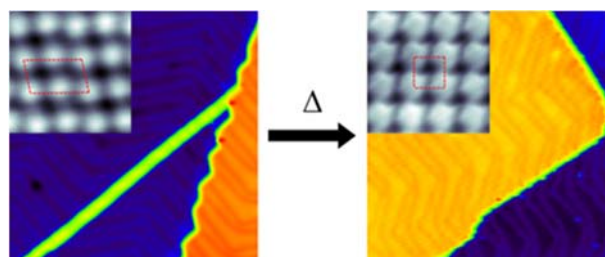


Fig. 1 STM images of (left) as-deposited 1D ribbon and (right) 2D carpet H_2SQ superstructure obtained after annealing. Inset images are at molecular resolution.

STM images of both the 1D ribbon and the 2D carpet structures indicated that they grew on large terraces without isolated molecules and small clusters, implying that there is sufficient energy for diffusion at room temperature and the H_2SQ molecules experience strong intermolecular interactions. Consequently, the polymorphic transition from the 1D ribbon to the 2D carpet structure may be strongly associated with

intermolecular interactions. In order to prove this hypothesis, molecularly resolved STM images of the ribbon and carpet with Au (resolved on an atomic-scale) were acquired. The images indicated no clear periodic coincidence of the molecular arrangement of the 1D ribbon and 2D carpet structures with the Au lattice, implying incommensurate molecular arrangements for both 1D and 2D structures on Au(111). Additionally, the experimental observations indicated that the polymorphic transitions induced by thermal annealing resulted in a change in the unit cell morphologies and dimensionalities of the molecular superstructures, on the basis of the variations in the present intermolecular interactions determined by the unit cell parameter.

To interpret the experimental results obtained by STM, we carried out extensive periodic density functional theory calculations with a variety of molecular arrangements using the DFT-D2 method, which allows full consideration of the intermolecular interactions including van der Waals forces. The calculations revealed that the first and second most stable superstructures have an energy difference of 0.12 eV per H₂SQ molecule and the calculated unit cell parameters for these superstructures show good agreement with the experimental values for 2D carpet and 1D ribbon, respectively. Therefore, the polymorphic transition from the 1D to 2D superstructure by thermal annealing observed in our STM experiments can be clearly described as a thermodynamic process. Interestingly, the component molecules of the 1D ribbon and 2D carpet structures have different isomers depending on the relative position of the two hydrogen atoms. The less stable 1D structure compared to the 2D structure consists only of ZZ isomers, which are more stable than EZ isomers. On the other hand, after annealing, the 2D structure is composed of only EZ isomers. These results indicate that different driving forces induce the formation of the two superstructures. While the initial formation of the 1D superstructure at room temperature is determined by the relative monomeric stability of the H₂SQ isomers in the gas phase, the polymorphic transition from the 1D to the 2D superstructure by annealing can be explained by a change in the overall stabilization mechanism, from the stability of individual monomers to the stability of the assembled structure.

In summary, we achieved thermally activated dimensional control *via* polymorphic transition of a H₂SQ molecular assembly on Au(111) under UHV conditions. The 1D and 2D molecular arrangements achieved depend on the stability of the conformational isomers and assembled structures.^[4]

Reference

- [1] M. O. Blunt *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 12068. [2] C. Iacovita *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2012, **18**, 14610. [3] (a) D. Semmingsen *et al.* *J. Chem. Phys.*, 1977, **66**, 4405; (b) T. Shimada, *et al.* *Jpn. J. Appl. Phys.*, 2008, **47**, 1422. [4] K. Ueji *et al.*, *Chem. Commun.*, **50**, 11230-11233. (2014)

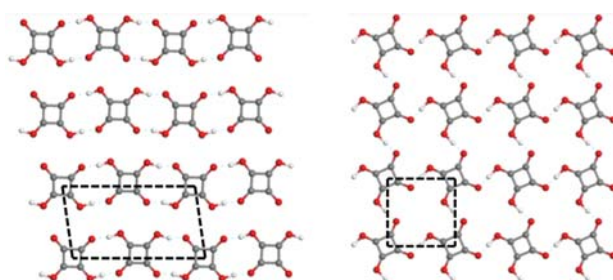


Fig. 2 Optimized superstructure of (left) 1D ribbon and (right) 2D carpet. Dotted lines indicate the unit cells.

Laterally confined dynamics of a bridge-adsorbed CO on Pt(111)

Hyun Jin Yang^{1,2}, Maki Kawai² and Yousoo Kim¹

¹Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

²Department of Advanced Materials Science, The University of Tokyo

Chemisorption of an adsorbate converts all degrees of freedom into vibrational degree of freedom, and dynamic processes of the adsorbate on a surface is described with potential energy surface (PES) in terms of one of the vibrational modes, namely reaction coordinate (RC) modes. Inelastically tunneling electron-induced processes such as lateral hopping, rotation and intramolecular switching also have been described with PES that categorized with the shape and the repetitiveness.¹⁻³ Still most cases are limited to the process of a single molecule free of any intermolecular interaction, and the role of intermolecular interaction has been not investigated yet.

Here we report a surface dynamic process which is described with a novel type double well PES confined inside a local molecular structure composed up of multiple molecules, by means of molecularly resolved imaging and single-molecule spectroscopy using scanning tunneling microscopy (STM). CO adsorbed on Pt(111), the text-book adsorption system, is well known for primary ontop-site occupation with $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})R30^\circ$ overlayer structure (near 1/3 ML), followed by $c(4 \times 2)$ domain formation that having one ontop CO (CO_T) and one bridge CO (CO_B) at 0.5 ML of surface coverage.⁴ In addition to revealed details of coverage-dependent overlayer structures,⁵ we found that the CO_B enclosed with four CO_T molecules ($c(\sqrt{3} \times 2)$ rect unit, Figure 1a-b) is the stabilized form of CO_B over a wide range of surface coverage. Moreover, the CO_B shows fluctuation of tunneling currents with increased sample bias voltage (V_s), where CO_T molecules never changes the position nor shows any current fluctuation in that V_s range. It was found that this fluctuation is due to lateral shuttling of CO_B onto adjacent ontop site (T) confined inside the $c(\sqrt{3} \times 2)$ rect unit, probed in two-level telegraph-type current in the time trace obtained at the center of $c(\sqrt{3} \times 2)$ rect unit, with $V_s = 227.5$ mV (Figure 1c).

Confinement of CO_B at the center of $c(\sqrt{3} \times 2)$ rect unit, as well as the shuttling motion of it can be described with PES scheme which includes the influence of intermolecular interaction. With assuming the fixed position of CO_T during the motion of CO_B and considering the shortest intermolecular distance confined in the $c(\sqrt{3} \times 2)$ rect unit, the intermolecular interaction imposed to the

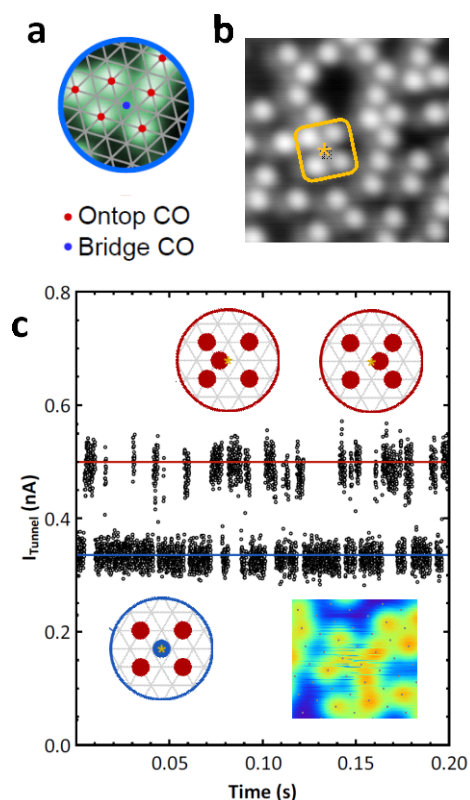


Figure 1 **a** and **b** STM images of $c(\sqrt{3} \times 2)$ rect unit, **a** with superimposed model. **c** the time trace obtained at 227.5 mV with schematic model of CO_B shuttling and a STM image with the fluctuation.

CO_B with respect to the amount of displacement can be estimated with a simple vector calculation. Resultant PES of the $c(\sqrt{3}\times 2)\text{rect}$ unit constructed by linear combination of estimated intermolecular interaction and PES of an isolated CO is shown at Figure 2a, indicating that (a) the bridge site (B) is indeed stabilized than the adjacent ontop site due to the confinement, and (b) the lateral shuttling of CO_B involves a metastable site (T^*) which is distinguished from other CO_T , in terms of the position of minimum with respect to the Pt lattice and the potential energy.

Action spectra of this shuttling motion between B and T site is obtained with time traces at various V_S , as shown in Figure 2b, with the result of numerical fitting to the established model. The threshold at 229 and 252 mV for $\text{B}\rightarrow\text{T}^*$ and $\text{T}^*\rightarrow\text{B}$ hopping coincide to the vibrational energy of C-O internal stretch (IS) mode of CO_B and CO_T , respectively. Thus, the mechanism of this motion above the threshold is considered to be anharmonic coupling of IS mode to the RC mode. Moreover, the estimated reaction constant of $\text{B}\rightarrow\text{T}^*$ hopping fits into the branching ratio with previously known parameters for CO_B , strongly supporting the anharmonic coupling scheme.

Furthermore, the action spectrum of $\text{T}^*\rightarrow\text{B}$, which has never been demonstrated nor measured, gives the first measurement of IS mode energy for a metastable CO_T^* . The threshold at 252 mV implies possibly distinguished vibrational energy of IS mode for CO_T^* , significantly differ from it of CO_T (260 meV). Also, half-order change in the motion yield at the threshold indicates the stronger contribution of lower energy modes than IS mode for $\text{T}^*\rightarrow\text{B}$ hopping, which is also reasonably explained with the suggested PES with reduced energy barrier and stiffened RC mode energy for T^* than them of T. The contribution of intermolecular interaction is considered with action spectra taken at various surface coverages and the residence time analysis. These quantitative analysis of the hopping motion of COB not only demonstrates the intermolecular interaction-driven motion, but offers new opportunities to measure spectroscopic information of previously unknown metastable state which can be resolved only with microscopic investigation.

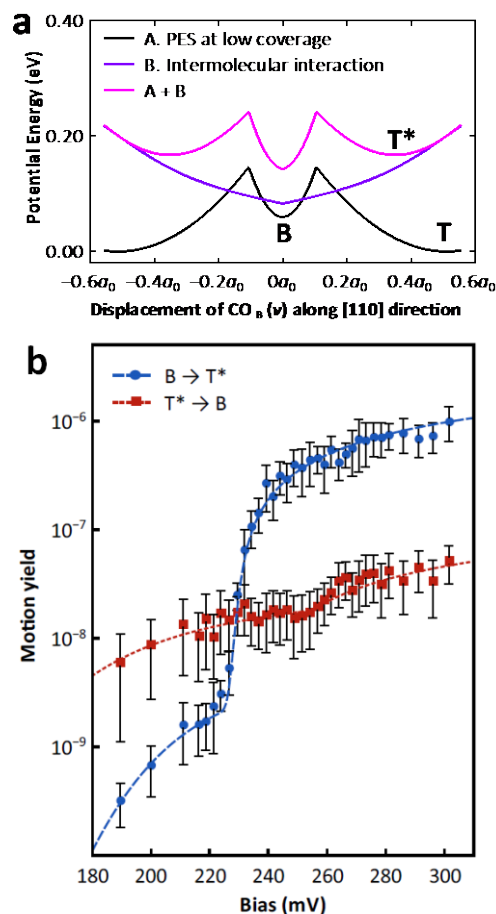


Figure 2 **a** Constructed PES for a $c(\sqrt{3}\times 2)\text{rect}$ unit, **b** the action spectra for $\text{B}\rightarrow\text{T}^*$ (blue circle) and $\text{T}^*\rightarrow\text{B}$ hopping (red square).

[References]

- ¹ T. Komeda, Y. Kim, M. Kawai, B.N.J. Persson, and H. Ueba, *Science* **295**, 2055 (2002).
- ² T. Okada, Y. Kim, M. Trenary, and M. Kawai, *J. Phys. Chem. C* **116**, 18372 (2012).
- ³ W. Auwärter, K. Seufert, F. Bischoff, D. Eciya, S. Vijayaraghavan, S. Joshi, F. Klappenberger, N. Samudrala, and J.V. Barth, *Nat Nano* **7**, 41 (2012).
- ⁴ H. Steininger, S. Lehwald, and H. Ibach, *Surf. Sci.* **123**, 264 (1982).
- ⁵ H.J. Yang, T. Minato, M. Kawai, and Y. Kim, *J. Phys. Chem. C* **117**, 16429 (2013).

Surface morphology of atomic nitrogen on Pt(111)

Zhu Liang¹, Hyun Jin Yang^{2,3}, Yousoo Kim² and Michael Trenary¹

¹Department of Chemistry, University of Illinois at Chicago

²Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

³Department of Advanced Materials Science, The University of Tokyo

Knowledge of adsorbate structure is essential to understand the surface reaction mechanisms, which provides basic understanding on the practical catalysis. Some of those reactions accompany the formation of atomic adsorbates such as atomic oxygen (O), hydrogen (H) and nitrogen (N). However, comparing to extensively-studied atomic H and O on Pt(111) surface, there are only limited number of studies for atomic N due to difficulties in producing clean N layer. For the investigation of atomic N layers, oxydehydrogenation reaction of ammonia with atomic oxygen ($3\text{O}(\text{ad}) + 2\text{NH}_3(\text{ad}) \rightarrow 2\text{N}(\text{ad}) + 3\text{H}_2\text{O}(\text{g})$) has been suggested to form ordered overlayer of N,¹ characterized with low-energy electron diffraction (LEED) with two superstructures, (2×2) and $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})\text{R}30^\circ$.²

In this study we achieved well ordered overlayer of atomic N at different surface coverages, at the atomic level with low temperature scanning tunneling microscopy (STM), by means of modified ammonia oxydehydrogenation reaction ($3\text{O}_2(\text{ad}) + 4\text{NH}_3(\text{ad}) \rightarrow 4\text{N}(\text{ad}) + 6\text{H}_2\text{O}(\text{g})$) (Figure 1a). The oxydehydrogenation reaction was achieved by annealing $\text{NH}_3\text{-O}_2$ covered surface to temperatures between 300 and 400 K, and controlling the ratio of two gases, the amount of exposure and the annealing temperature resulted in the desired overlayers with various compositions and coverages, including previously reported (2×2) and $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})\text{R}30^\circ$ structures (Figure 1b).

If the exposures were high but the amount of ammonia was not enough to remove all the oxygen from the surface, the annealing to 370 K resulted in a mixed N and O overlayer as shown in Figure 2a. Coadsorbed N and O form a mixed $(2 \times 2)\text{-N+O}$ phase, as indicated with blue circle (N) and red circle (O), with almost constant N:O ratio (0.56:0.44). Atom-resolved images with modified STM tip and the precise imaging of step edge clearly revealed that both N and O atoms occupies the face-centered-cubic hollow sites. While both atoms appear as depressions, the O atoms are deeper than the N atoms, which is in good agreement with theoretical simulations.³

Precise control of stoichiometry between ammonia and oxygen gives that pure N overlayers, from isolated

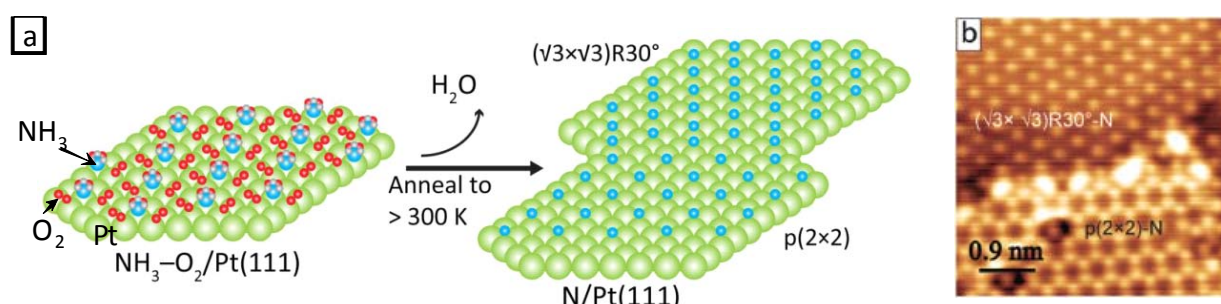


Figure 1 (a) Schematic drawing of the oxydehydrogenation reaction for atomic N on Pt(111), and (b) representative overlayer structures of atomic N, $p(2 \times 2)$ and $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})\text{R}30^\circ$.

molecules to (2×2) and $(\sqrt{3}\times\sqrt{3})R30^\circ$ phases. Isolated N atoms on Pt(111) appear as depressions in the STM images at low coverages as shown in the left part of Figure 2b, which is different from the dense N layer which appears in ordered overlayer structures (right part of Fig. 2b and Figure 3c). This is attributed to the interference effect between tunneling channels through overlapping orbitals at neighboring atoms. Fully covered, dense N islands appeared in two phases, (2×2) (Fig. 3c) and $(\sqrt{3}\times\sqrt{3})R30^\circ$ (Figure 3d), which are consistent with previous LEED studies. The determining factor for the ratio between $(\sqrt{3}\times\sqrt{3})R30^\circ$ and (2×2) phase is the annealing temperature, where $(\sqrt{3}\times\sqrt{3})R30^\circ$ phase dominates at lower (<360) temperature while (2×2) phase dominates at $T > 400$ K. This is due to a N coverage decrease associated with the onset of $N_2(g)$ desorption at 400 K, as well as the stability of (2×2) phase over $(\sqrt{3}\times\sqrt{3})R30^\circ$ structure. Detailed investigation of (2×2) phase revealed that there are two types of Pt atoms with different apparent heights, where the more brighter Pt atom is in contact with N atom while less brighter Pt is not, confirmed with STM images at various sample bias voltage. For higher-coverage $(\sqrt{3}\times\sqrt{3})R30^\circ$ structure shows uniform hexagonal lattice, with only one type of Pt atom. Most of the defects in the N overlayer are at the boundaries between the two phases or at the boundaries between domains of the same phase. Within a domain the defect density is as low as 0.8%, while domain sizes as big as $20\text{ nm} \times 20\text{ nm}$ were observed.

The establishment of the conditions for preparing pure and well-ordered layers of nitrogen on Pt(111), and the determination of the exact structure of these layers at the atomic level, paves the way for future studies by both experimental and theoretical methods of the reactivity of nitrogen with other adsorbed atoms and molecules as a way to establish mechanisms of surface chemical reactions that are of relevance to important problems in heterogeneous catalysis.

[Reference]

1. T. S. Amorelli, A. F. Carley, M. K. Rajumon, M. W. Roberts, and P. B. Wells, *Surf. Sci.* 315, L990 (1994).
2. E. Herceg, J. Jones, K. Mudiyansele, and M. Trenary, *Surf. Sci.* 600, 4563 (2006).
3. P. Sautet, *Surf. Sci.* 374, 406 (1997)

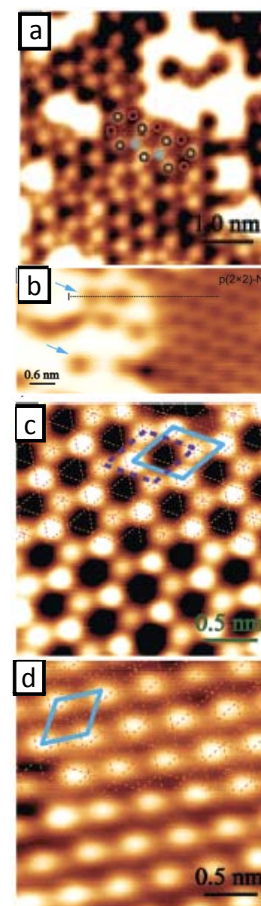


Figure 2 Various phase of overlayer structures obtained: (a) mixed (2×2) -N+O, (b) low-coverage N, (c) $p(2\times 2)$ -N and (d) $(\sqrt{3}\times\sqrt{3})R30^\circ$ phases.

磁性不純物問題に対するブロックランチョス密度行列繰り込み群法

白川知功, 柚木清司

理研・柚木計算物性物理

分子システムにおける磁性不純物問題は、グラフェンに吸着した水素や酸素などの吸着原子・分子の磁性出現の問題から、遷移金属タンパク質中の遷移金属イオンのスピン状態、例えば、ミオグロビン中の鉄のスピン状態など、非常に広範囲な対象を含んだ極めて基本的な問題のひとつである。磁性あるいはスピン出現の起源は電子間クーロン相互作用であり、したがってこれらの分子システムは典型的な強相関電子系と見ることができる。固体物質中の磁性不純物問題は、近藤問題として物性物理科学の分野では昔から知られており50年以上も研究されている。その過程で開発された理論的手法としては、近似的解析方法や一部の特殊な模型の厳密解の他に数値的繰り込み群法（NRG法）を用いた数値計算手法などがあげられる。特に、NRG法は固体物質中の近藤効果解明に重要な役割を果たした。しかしながら、NRG法をはじめこれらの手法では、上述した分子システム中の磁性不純物問題、例えば、スピン密度の空間的分布の解析や遷移金属イオンにおけるスピン多重項効果などを取り扱うには不十分である。そこで、我々は、この困難を解決するために、磁性不純物問題に対する新しい数値計算手法の開発を行っている。

そのひとつの方法として、我々はブロックランチョス密度行列繰り込み群法（BL-DMRG法）を新たに提案した[1]。密度行列繰り込み群法（DMRG法）は1992年にS. Whiteにより提案され、それ以来物性物理科学の分野では、強相関量子系を中心として非常に盛んに用いられている。DMRG法では、系を部分系と環境のふたつにわけ部分系の密度行列を少数の基底で十分精度よく表すように基底を最適化する方法で、一次元を中心とした低次元系に非常に有力な方法である。したがって、DMRG法を直接、磁性不純物問題に適用する場合、その有効性は基本的には一次元磁性不純物模型に限られる。我々は、ブロックランチョス（BL）変換を用いてまず磁性不純物模型を一次元（あるいは数レッグ梯子模型）に変換し、得られた模型に対してDMRG法を用いることを提案（BL-DMRG法）した（図1参照）。BL-DMRG法では、一次元に限らず2、3次元磁性不純物模型を取り扱うことができ、しかも複数の軌道から構成される磁性不純物に対してもそのスピン多重項効果を近似なく取り扱うことが可能である。これは、BL変換においてはじめの基底を磁性不純物サイトに選ぶことによって、磁性不純物サイト内のクーロン斥力

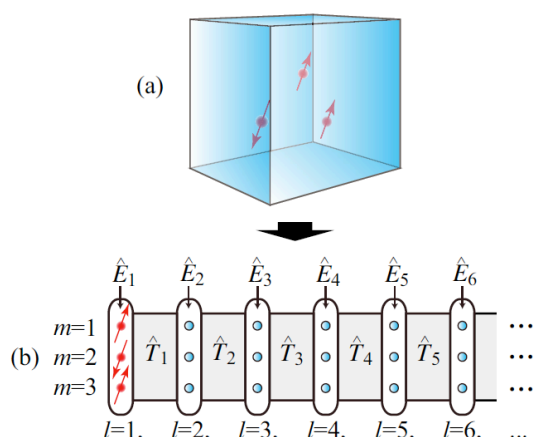


図1: 3次元伝導バンド中にある三つの磁性不純物模型(a)はBL変換により3レッグ梯子模型(b)に変換される。空間的に離れた位置に存在する三つの不純物サイト（矢印を伴った赤丸）は、BL変換によりそのまま梯子模型の一番左端（ $l=1$ ）に移される。従って、不純物サイト中のクーロン相互作用はBL変換後も局所的である。

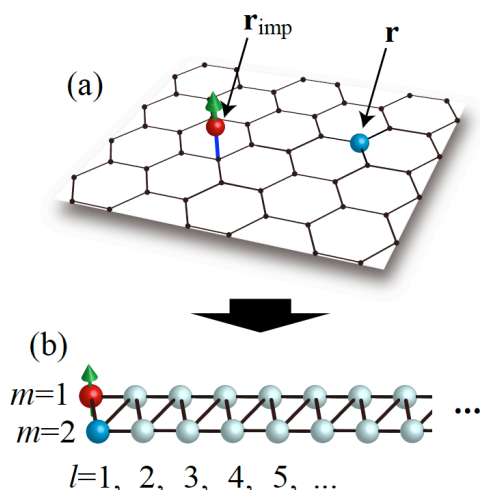


図 2: グラフェン中の磁性不純物サイト (r_{imp}) と伝導サイト (r) との実空間スピン相関関数は、BL 変換において最初の基底として磁性不純物サイトと注目する伝導サイトを選ぶことによって BL-DMRG 法により計算出来る。

磁性不純物の場合、図3より一見磁性不純物スピンの遮蔽されているように見えるが、実はそのスピンは遮蔽されていないこと、したがって、近藤効果が起きていないことを意味している。BL-DMRG法では動的相関関数も計算することができ、磁性サイトの局所状態密度および局所スピン感受率の計算結果は、近藤効果が起きていないこととコンシステントであることも確認できた。

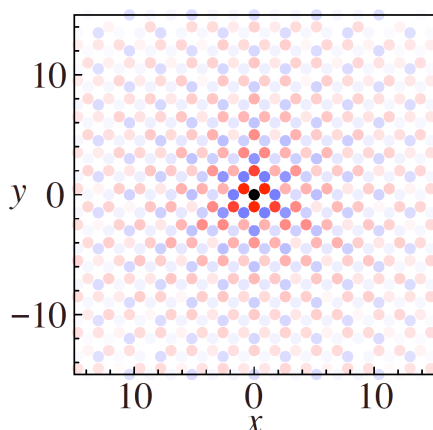


図 3: 磁性不純物-伝導電子実空間スピン相関関数 $S_i(r)$ 。磁性不純物は中心の黒丸に位置する。伝導サイトは $r=(x,y)$ に位置し、色の違い (赤: 正、青: 負) が $S_i(r)$ を示している。

が変換後得られた梯子模型でも局所的のままだからである (図1)。

BL-DMRG法の応用例として、グラフェン内の磁性不純物問題に適用した。BL-DMRG法では、従来の方法 (NRG法等) では計算が困難であった量、例えば、磁性不純物周りのスピン分布も実空間で計算が可能になった。それは、BL変換を行う際に最初の基底として磁性不純物サイトと注目しているサイトを選ぶことによってBL-DMRG法を行うことが出来る (図2)。

BL-DMRG法により計算した磁性不純物-伝導電子実空間スピン相関関数 $S_i(r)$ の一例を図3に示す。伝導電子のスピンが磁性不純物スピン (黒円で示されたサイトにひとつ存在) を遮蔽している様子が実空間で分かる。もう少し定量的に調べるために図4に $S_i(r)$ を $|r|$ の関数として示す。磁性不純物がない場合 (図で赤丸) と比べてみると、 $S_i(r)$ の遠方での振る舞い $|r|^{-\alpha}$ の冪 α が2から3へと異なっていることがわかる。つまり、この

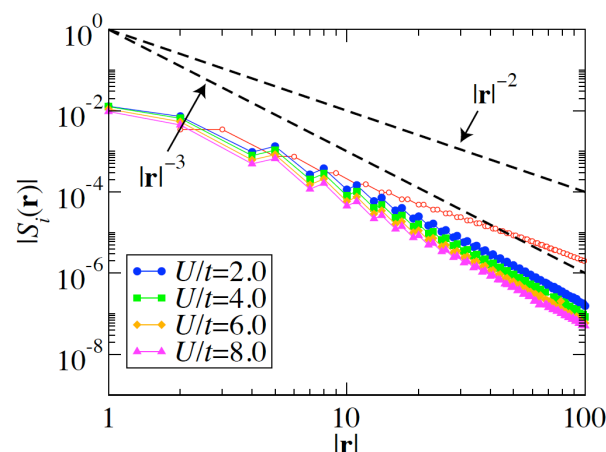


図 4: 磁性不純物-伝導電子実空間スピン相関関数 $S_i(r)$ 。 U は不純物サイトのクーロン斥力の強さを表す。赤丸はクーロン相互作用がない場合の $S_i(r)$ 。

【参考文献】

- [1] T. Shirakawa and S. Yunoki, Phys. Rev. B **90**, 195109/1-21 (2014).

Block Lanczos Density-Matrix Renormalization Group Method for General Magnetic Impurity Models

Tomonori Shirakawa, Seiji Yunoki

Computational Condensed Matter Physics Laboratory, RIKEN

Magnetic impurity problems in molecular systems include a wide range of complexes. The typical examples are the emergence of magnetic moment in adatom such as hydrogen and oxygen absorbed onto graphene, and the spin state of transition metal ion in metalloprotein such as an iron ion in myoglobin. The origin of magnetism is due to Coulomb interactions among electrons and thus these molecular systems are considered as typical strongly correlated electronic systems. The magnetic impurity problems in solid materials, known as the Kondo problem, have been studied over 50 years in the field of condensed matter physics. During the course of these studies, many theoretical approaches have been developed, including approximate analytical methods, analytically exact solutions for several special cases, and numerical methods such as numerical renormalization group (NRG) method. Specially, the NRG method has played a major role on understanding the Kondo effect in solids. However, these approaches are not enough to address the magnetic problems in the molecular systems, for example, to resolve the magnetic moment distribution around the magnetic impurity in real space and to understand the spin multiplet effects. To overcome these difficulties, we have been developing new numerical approaches for the magnetic impurity problems.

As one of the promising approaches, we have recently proposed block Lanczos density-matrix renormalization group (BL-DMRG) method [1]. The density-matrix renormalization group (DMRG) method was originally proposed in 1992 by S. White and since then it has been extensively employed to study various strongly correlated quantum systems in condensed matter physics. However, the power of this method is limited to one-dimensional (1D) systems and quasi 1D systems (i.e., a few leg ladder systems). Therefore, the direct application of DMRG method to the impurity problems in two or three dimensions is not realistic. Instead, we have shown that the block Lanczos (BL) transformation of any impurity models in any spatial dimensions can be mapped onto effective 1D or quasi-1D models with the magnetic impurity sites untouched, and thus the Coulomb interactions on the impurity sites remain local in the resulting effective models (see Fig.1). After the BL transformation, we can safely apply the DMRG method to examine the impurity properties.

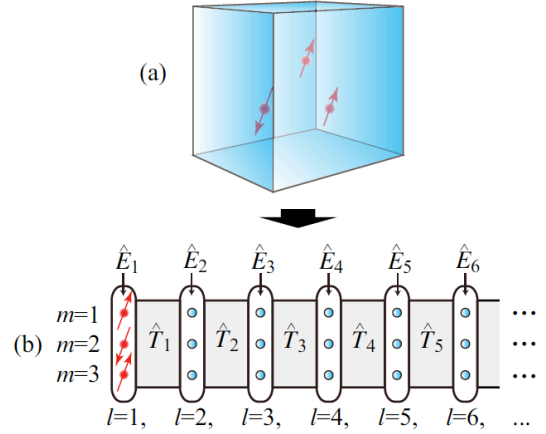


Fig.1: A magnetic impurity model with three magnetic impurities (a) is mapped exactly onto an effective three-leg ladder model (b) by the BL transformation. The three impurity sites (indicated by red circles with arrows) located separately in real space are transferred onto the three sites on the left most rung in the resulting ladder model, and thus the Coulomb interactions on the impurity sites remain local.

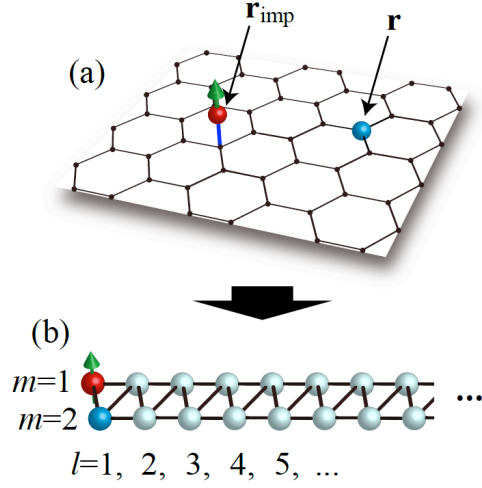


Fig.2: Spin correlation function $S_i(\mathbf{r})$ between the impurity site ($\mathbf{r}_{\text{imp}}$) and the conduction sites ($\mathbf{r}$) can be calculated by taking the impurity site and the conduction site for interest as the initial BL bases in the BL-DMRG method

surrounding conduction electrons. To quantitatively understand the behavior, Fig.4 shows $S_i(\mathbf{r})$ as a function of $|\mathbf{r}|$. Comparing the results for the case with no magnetic impurity (denoted by red circles), it is clearly observed that $S_i(\mathbf{r})$ behaves as $|\mathbf{r}|^{-\alpha}$ with $\alpha=3$ in the asymptotic reason, instead of $\alpha=2$ as in the case with no magnetic impurity. This implies that the magnetic spin is not completely screened and thus no Kondo effect occurs in this impurity model. The BL-DMRG method can also calculate dynamical quantities and we find that the results for the local magnetic susceptibility and the local density of state at the Fermi level are good qualitative agreement with the ones for $S_i(\mathbf{r})$, i.e., no Kondo screening.

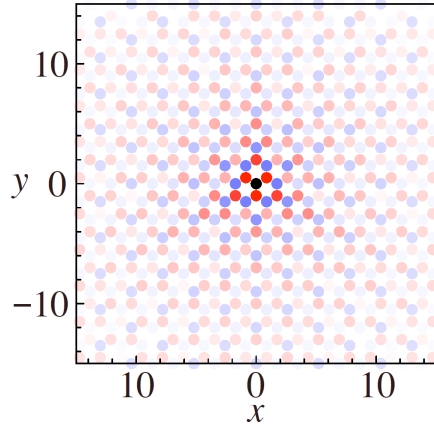


Fig.3: Spin correlation function $S_i(\mathbf{r})$ between the impurity site and the conduction site. The magnetic impurity is located at the center (indicated by a black circle). The conduction site is located at $\mathbf{r}=(x,y)$ and the color difference indicates the value of $S_i(\mathbf{r})$ (red: positive, blue: negative).

We have applied the BL-DMRG method to study the impurity problem in graphene. The BL-DMRG method allows us to calculate the spatial distribution of spins around the magnetic impurity, which is sometimes problematic in other numerical methods such as the NRG method. The reason why the BL-DMRG can calculate these spatially dependent quantities in real space is because when the BL transformation is applied we can take the impurity site and the conduction site for interest as the initial Lanczos bases so that these two sites are isolated in the resulting two-leg ladder model with the Coulomb interactions remaining local (see Fig.2).

Figure 3 shows an example of the spin correlation function $S_i(\mathbf{r})$ between the impurity site ($\mathbf{r}_{\text{imp}}$) and the conduction site ($\mathbf{r}$). It is noticed in Fig.3 that the impurity spin at the center (indicated by a black circle) is screened by the

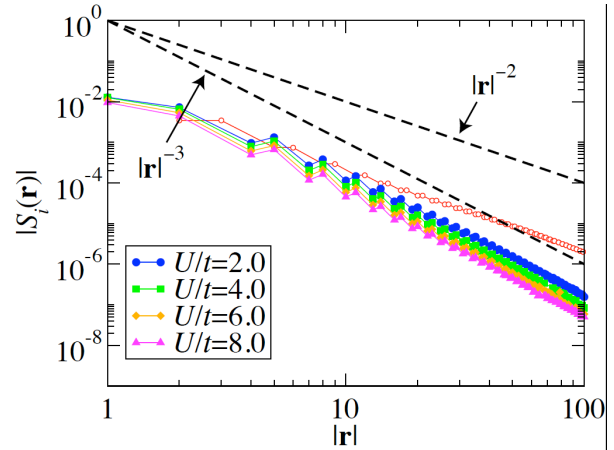


Fig.4: Spin correlation function $S_i(\mathbf{r})$ between the impurity site and the conduction site. U denotes the Coulomb interaction on the impurity site. For comparison, $S_i(\mathbf{r})$ for the non-interacting limit is also plotted by red circles.

分子システム制御チーム

(チームリーダー：加藤 礼三)

Bi-layer系分子性導体 (Me-3, 5-DIP) [Ni(dmit)₂]₂ の電子スピン共鳴およびサイクロトロン共鳴

大島勇吾¹, 崔亨波¹, 高坂洋介¹, 売市幹大², 山本浩史², 加藤礼三¹

理研・加藤分子物性研究室¹, 分子研²

局在電子と遍歴電子が相互作用する系は、巨大磁気抵抗効果や磁場誘起超伝導など、興味深い物性を示す事からこれまで多くの注目を集めてきた。特に、局在d電子と遍歴 π 電子が相互作用する λ -(BETS)₂FeCl₄ (BETS = bis(ethylenedithio)tetraselenafulvalene) ではFe³⁺(S=5/2)の3d電子の反強磁性秩序化に伴い π 電子は金属-絶縁体転移を起こすが、これに磁場を印加し3d電子スピンを偏極させると π 電子が金属化し、さらに磁場を加えると約17 Tで超伝導状態となる[1]。このように局在電子と遍歴電子が相互作用する系は多彩な電子状態を示す。

我々の研究室では、分子性物質の設計性や分子配列の自由度を活かした、Bi-layer系物質が多く開発されており[2-4]、その一つが図1の(Me-3,5-DIP)[Ni(dmit)₂]₂ (Me=methyl, DIP=diiodopyridinium, dmit=1,3-dithiole-2-thione-4,5-dithiolate)である。この物質は Me-3,5-DIPカチオンの影響を受けて、2つの異なるNi(dmit)₂層が形成され、Layer IではNi(dmit)₂分子が強く二量体化し、Layer IIではNi(dmit)₂分子同士がまたがるような構造をとる(図1)。バンド計算から、Layer IがMott絶縁層、Layer IIが2次元的な伝導層となることが予想され、NMRや磁気抵抗・量子振動の測定からも、それらを示唆する結果が得られている [5,6]。また量子振動の測定から、Layer I(絶縁層)からの内部磁場によりLayer II(金属層)のフェルミ面が分裂しているのが観測されており、局在電子と遍歴電子の強い相互作用が示唆されている[6]。一方で、局在 π 電子からなるLayer Iの磁性は未解明のままであり、NMR測定から約2 Kで反強磁性転移もしくはスピン相関の強い揺らぎが示唆されているが[5]、熱容量測定から相転移は観測されていない。そこで、我々はミクロな電子状態の最も直接的なプローブ法である、電子スピン共鳴(ESR)とサイクロトロン共鳴(CR)に着目した。(Me-3,5-DIP)[Ni(dmit)₂]₂のLayer I(絶縁層)でESRを観測し、Layer II(金属層)でCRを観測すれば、異なる物性をもつ層を区別して各々の電子状態をミクロに知ることが可能である。

(Me-3,5-DIP)[Ni(dmit)₂]₂において磁場をab面内に回転させた時のESR測定から得られた、g値の面内角度依存性を図2(a)に示す。Ni(dmit)₂分子のd軌道の混成を反映して、g値は大きな異方性を示す。また、磁場の方位によってESR信号が2つに分裂している。g値の主軸は[Ni(dmit)₂]₂

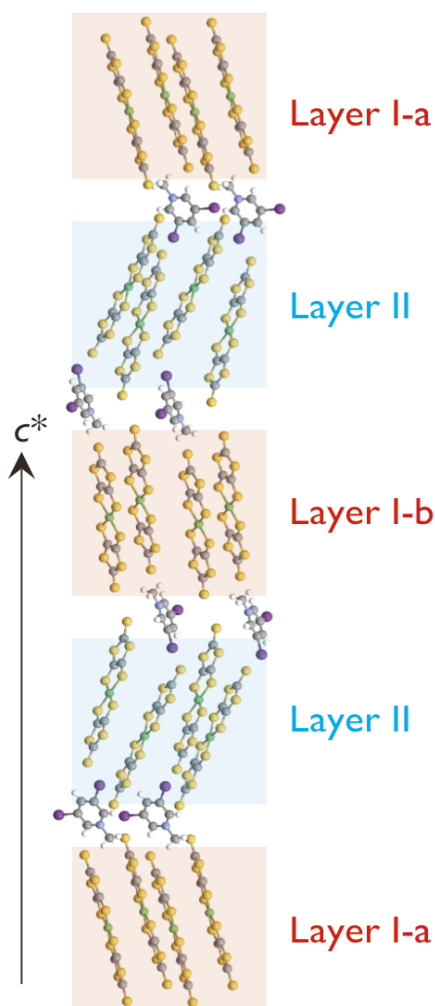


図1 (Me-3,5-DIP)[Ni(dmit)₂]₂の結晶構造。Layer I-aとI-bではダイマーのスタック方向が僅かに異なる。

ダイマーのスタック方向とその垂直方向に対応しており、2つのESR信号はダイマーのスタック方向が異なるLayer I-aとI-bに各々相当する。また、2つの絶縁層のESR信号が独立して観測されていることから、Layer I-aとI-bには相互作用がない事もわかる。一方でESR線幅の角度依存性（図2(b)）も興味深い。Layer I-aとI-bともに似たような振る舞いを示すが、どちらもb軸近傍で急激な線幅の先鋭化が見られ、通常の磁性体とは異なる線幅の振る舞いを示す。奇しくもB//b軸方向はトンネリングの運動量シフトによる異常な磁気抵抗が観測されており[6]、この急激な線幅の先鋭化はLayer IIの伝導 π 電子との相関によるものであると考えられる。この事と絶縁層Layer I-aとI-b間に相互作用がないのは一見矛盾しているように見えるが、自由な伝導 π 電子からなるLayer II（金属層）がLayer Iの局在スピンの相関方向への長距離秩序化を阻害していると考えれば説明がつく。実際、約1.6 Kまで反強磁性共鳴は観測されておらず、長距離秩序化は起こっていないと考えられる。この結果は磁気トルク測定の結果とコンシステントである[6]。

図3は(Me-3,5-DIP)[Ni(dmit)₂]₂のCR測定の結果である。磁場はB//c*軸に印加しており、線幅の狭いESR（この磁場方向では1つの信号に見える）の他にLayer II由来で広い線幅のCRが観測されている。共鳴磁場から導出される有効質量は約 $m^*=0.94m_e$ である。この結果は量子振動の結果 $m^*=6m_e$ と大きくかけ離れており、Kohnの定理より、Layer IからLayer IIへの相互作用の寄与が非常に大きいと結論付けられる。

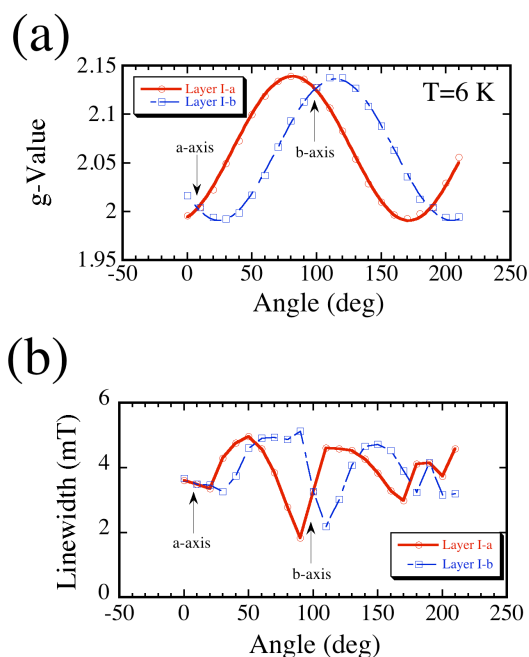


図2. ESR 信号より得られた (a) g 値と (b) 線幅の ab 面内における角度依存性。2つの ESR 信号が観測されており、各々Layer I-a と I-b に相当。

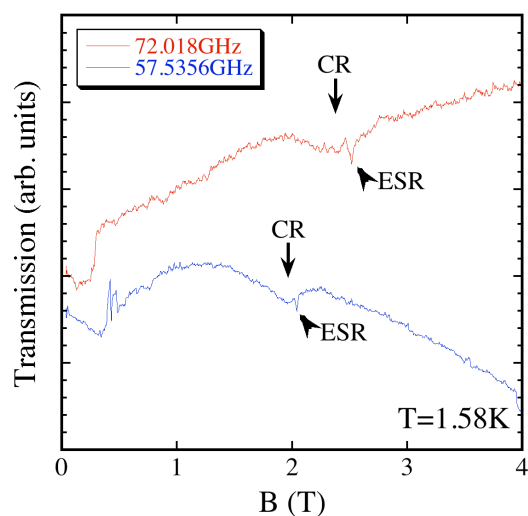


図3. B//c*におけるミリ波測定の結果。ESR と線幅がブロードなCRが観測されている。

【参考文献】

- [1] S. Uji et al., *J. Phys. Soc. Jpn.* **75**, 051014 (2006). [2] Y. Kosaka et al., *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 3054 (2007) [3] T. Kusamoto et al., *Inorg. Chem.* **51**, 11645 (2012). [4] T. Kusamoto et al., *Inorg. Chem.* **52**, 4759 (2013). [5] S. Fujiyama et al. *Phys. Rev. B* **77**, 060403(R) [6] K. Hazama et al. *Phys. Rev. B* **83**, 165129 (2011).

単一成分分子性超伝導体の発見

崔 亨波¹、小林 速男²、石橋 章司³、佐々 匡昭⁴、
岩瀬 文達¹、加藤 礼三¹、小林 昭子²

理研・加藤分子物性¹、日大²、産総研³、富士通⁴

2001 年に、初めての単一成分分子性金属である $[\text{Ni}(\text{tmdt})_2]$ が発見されて以来[1]、単一成分からなる分子性金属および超伝導体の探索が盛んに行われるようになった。従来の分子性伝導体は、二種類以上の成分から構成されるが、単一成分分子性導体は一種類の分子だけで構成されている特徴を持っている。しかし、伝導性の良い単結晶の作製が非常に難しく、常圧で低温まで金属性を示す単一成分分子性導体は $[\text{M}(\text{tmdt})_2]$ 系以外発見されていない。一方、伝導性の悪い単一成分分子性結晶は比較的大きな結晶を得易い。そのため、絶縁性結晶への超高压印加は、単一成分分子性金属の探索において非常に有効な手段である。私達は最近、ダイヤモンドアンビルセル (DAC) を用いた四端子法により、常圧では絶縁体である単一成分分子性導体 $[\text{Ni}(\text{ptdt})_2]$ 単結晶が 19 GPa で金属になることを発見した[2]。更に、小さいリガンドを持つ単一成分分子性半導体 $[\text{Ni}(\text{dmit})_2]$ 単結晶が約 16 GPa で金属状態が現れ、25.5 GPa までその金属状態が維持されることを発見した[3]。しかし、今までの研究では超伝導体の発見に至っていない。今回、常圧で絶縁体である、単一成分分子性単結晶 $[\text{Ni}(\text{hfdt})_2]$ の高压下電気伝導度を測定した結果、単一成分分子性導体では最初の超伝導体を発見した[4]。

$[\text{Ni}(\text{hfdt})_2]$ 単結晶は電解酸化法で作製した。室温電気抵抗率は約 $6 \times 10^2 \Omega \text{ cm}$ であり、活性化エネルギー (E_a) は 0.14 eV である。直径 0.7 mm の DAC を用いて、ガスケットはステンレス鋼 SUS

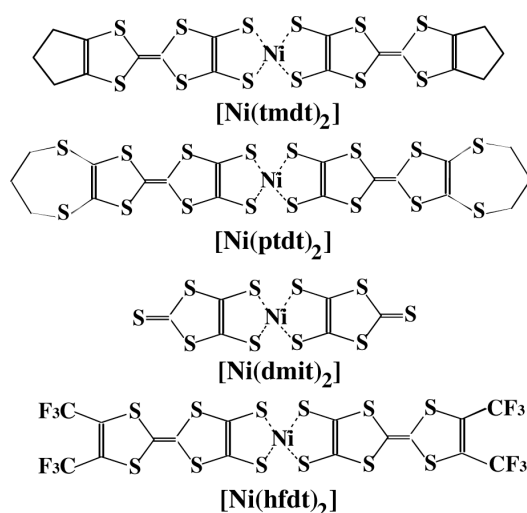


図 1. 分子構造

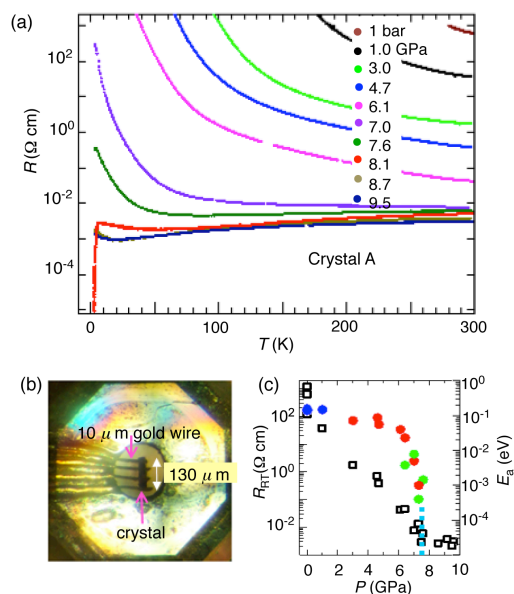


図 2 .(a)抵抗率の温度依存性 (b)サンプルの圧力下写真 (c)室温抵抗率と活性化エネルギーの圧力依存性.

301 を使用し、圧力媒体は Daphne oil 7373 を使用した。試料に 10 μm の金線と金ペイントで配線し、電気抵抗測定は直流四端子法で行った。圧力はルビー蛍光測定装置を用いて室温で R_1 ラインのシフトを測定することにより決定した。図 2 に示したように、室温電気抵抗率は圧力印加とともに急激に減少し、7.3 GPa では約 $3 \times 10^{-3} \Omega \text{ cm}$ になる。一方、活性化エネルギーは 6 GPa までゆっくり減少するが、それ以上の圧力で急激に減少し、7.5 GPa では金属状態が現れる。7.6 GPa での電気抵抗率の温度依存性測定では、室温から 85 K まで金属状態を保ち、それ以下の温度では電気抵抗率はゆっくり上昇するが、約 5 K 付近でわずかに減少する。更に高い圧力では、転移温度が少し上昇しながら、電気抵抗率の減少が鋭くなる。8.1 GPa では転移温度が 5.5 K であり、外部磁場を印加しながら電気抵抗率の測定を行った結果を図 3 に示した。電気抵抗率の転移温度は磁場が強くなるとともに低い温度へシフトし、この転移が超伝導転移であることが証明された。この超伝導転移温度は 8.1 GPa で最大値をとり、更に高い圧力では少し低温側にシフトする。8.7 GPa では完全に消失し、それ以上の圧力では超伝導状態が確認されていない。この測定結果から得られた圧力—温度相図を図 3c に示した。圧力下での電氣的性質をよく理解するため、第一原理手法を用いた圧力下でのバンド構造計算を 6~11 GPa 領域で計算を行い、その結果を図 4 に示した。計算から得られた常圧での活性化エネルギーは 0.12 eV であり、6 GPa で 0.01 eV に減少する。8 GPa ではバンドギャップが完全に消失するとともに電子とホールのかいポケットに由来する三次元的フェルミ面が現れる。更に高い圧力を印加するとフェルミ面が大きく成長し、二次元的フェルミ面が得られ、実験結果から得られた圧力下での金属化現象を良く説明できる。

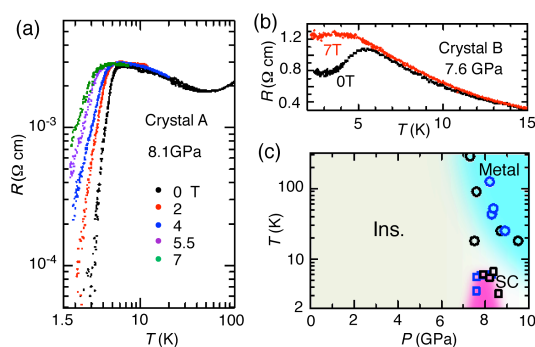


図 3. 電気抵抗率の磁場依存性(a) 8.1GPa (b) 7.8GPa (c)圧力-温度相図

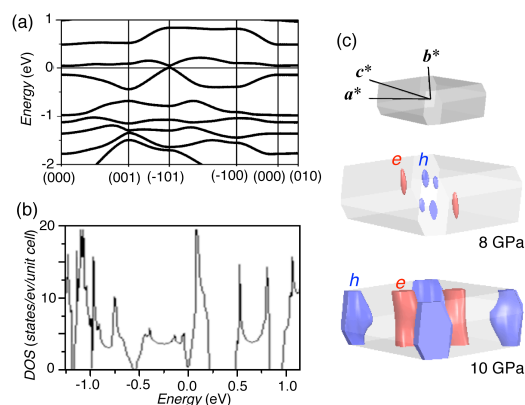


図 4. (a) 8 GPa 下での分散曲線 (b) 8 GPa 下電子状態密度 (c) 8GPa、10 GPa でのフェルミ面

【参考文献】

- [1] Tanaka, H.; Okano, Y.; Kobayashi, H.; Suzuki, W.; Kobayashi, A. *Science* **2001**, 291, 285 [2] Cui, H. B.; Brooks, J. S.; Kobayashi, A.; Kobayashi, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 6358 [3] Cui, H. B.; Tsumuraya, T.; Miyazaki, T.; Y. Okano, Y.; Kato, R. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2014**, 24, 3837 [4] Cui H. B.; Kobayashi H.; Ishibashi S.; Sasa M.; Iwase F.; Kato R.; and Kobayashi A. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 7619

高圧下における単一成分分子性結晶のディラックコーンの生成

圓谷 貴夫^{1,2}, 崔 亨波¹, 木野 日織³, 宮崎 剛², 加藤 礼三¹

¹ 理研・加藤分子物性, ² 物質・材料研究機構 理論計算科学ユニット, ³ 物質・材料研究機構 MANA

ディラックコーンとは、フェルミ準位近傍の特異点のみで接する線形なエネルギー分散をもつ特異な電子構造である。このような電子構造では、有効質量を定義できないため、高いキャリア速度を示すため、注目を集めている。これまで、グラフェン、トポロジカル絶縁体の表面状態、分子性導体（圧力下の α -(BEDT-TTF)I₃）といった物質においてディラックコーンが確認されている。

単一中性分子で構成されている分子性結晶の多くは、常圧で半導体的な性質を示す。その中でも金属ジチオレン錯体は、分子のHOMO-LUMO準位差が比較的小さく（計算値 ~ 0.6 eV）、共役が空間的に広がっている。このことにより、HOMO由来のバンドとLUMO由来のバンドの重なりによる金属化が容易に起こることが期待される。実際、Ni(tmdt)₂（tmdt = trimethylenetetraethiafulvalenedithiolate）のように分子が比較的大きい場合には、常圧においても金属状態が実現されている [1]。一方、Ni(dmit)₂（dmit = 1,3-dithiole-2-thione-4,5-dithiolate）のように分子が小さく、常圧で半導体的な性質を示す単一成分系であっても、最近、ダイヤモンドアンビルセル(DAC)を用いて25 GPa 以上の圧力下まで4端子法による電気抵抗測定を行なうことが可能となり、いくつかの単一成分分子結晶において8 GPa以上で金属化[2]、または超伝導状態[3]を実現することを報告している。しかし、このような物質の圧力下の構造と電子状態を実験のみから決定することは難しく、実験結果に依存せずにそれらを決定できる第一原理計算手法は、物性とその機構を理解する上で大変有効なアプローチとなっている。

今回、多種多様な単一成分分子性結晶の静水圧下における構造と電子状態を密度汎関数理論に基づく第一原理計算手法を用いて調べた結果、Pd(dddt)₂（dddt = 5,6-dihydro-1,4-dithiin-2,3-dithiolate）が8 GPa程度の圧力下でフェルミ準位に線形なバンド分散（ディラックコーン）をもつことがわかった。また、最近測定された電気抵抗は、11.6 GPaで室温における電気抵抗は1 Ω cmまで低下し、半金属的な性質を示している。12.6 GPaにおける温度依存性は、ほぼ温度に依存せず水平となる結果を得ている。これは、グラフェンや α -(BEDT-TTF)I₃といったディラック電子系に共通した特徴的なふるまいである[4]。結晶構造の最適化には、平面波基底とウルトラソフト擬ポテンシャル法による第一原理計算を実行し、圧力一定の下でストレステンソル（応力）を計算することによって、異方的な結晶格子を効率的に緩和した。得られた圧力下の結晶構造に対するバンド分散は、全電子フルポテンシャル線形補強平面波(FLAPW)法による第一原理計算手法を用いて求めた。

図1に常圧におけるPd(dddt)₂の結晶構造(単斜晶系; 空間群 $P2_1/n$)を示す。結晶格子の b 軸方向にPd(dddt)₂分子が積層していることに対応して、 Γ -Y方向に1次元的なバンド分散をもつことがわかった。単位胞に結晶学的に独立な2種類の分子が2つずつ存在していることから、フェルミ

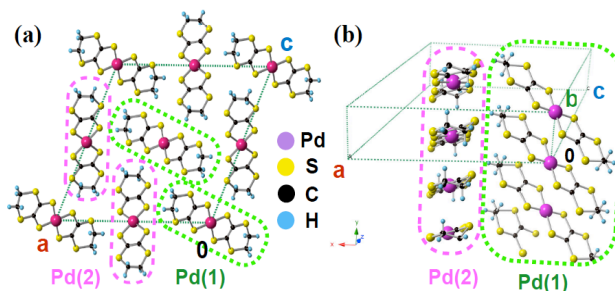


図1. Pd(dddt)₂の結晶構造 (a) a-c 面, (b) a-b

準位近傍にはHOMO由来のバンドとLUMO由来のバンドが4本ずつ現れる。(図2(a)) 加圧と共にバンド幅は広がっていき、HOMOバンドとLUMOバンドは8 GPaにおいて点で接することがわかった。ディラック点は、図3に示すような a^*+c^* 方向に近い一般的な波数ベクトル($k_y=0$)と b^* 軸上($k_x=0, k_y=\pm\pi/5, k_z=0$)の2種類が存在しており、その周りで線形なバンド分散をもつことが分かった。この圧力下でのバンドギャップはゼロとなっている。さらに 9 GPaまで加圧すると、ディラック点は消失せずに $a+c$ 方向にあるディラックコーンは運動量空間を移動し、その頂点はフェルミ準位の上に位置する、後者のコーンの頂点は、フェルミ準位の下へと位置することで、小さな電子ポケットと小さな正孔ポケットをもつ半金属的な状態となる。(図3(a)から(b))

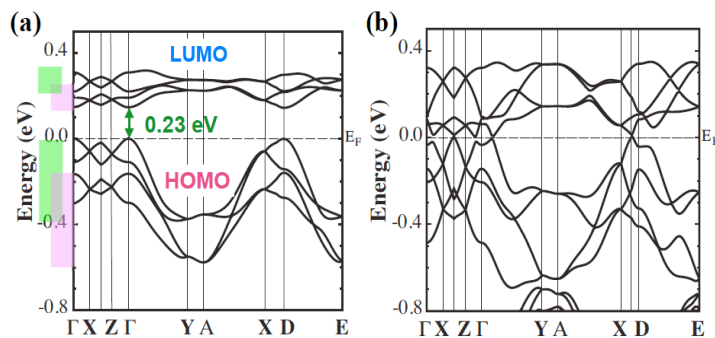


図2. (a) 常圧, (b) 8 GPa におけるバンド構造

ディラックコーンの生成機構を明らかにするために、電子状態を解析した。常圧において、価電子帯は、 $\text{Pd}(\text{dddt})_2$ 孤立分子のHOMO軌道と同様の波動関数で構成されている。8 GPaになると、このHOMOバンドに対してオフサイトの分子のLUMO軌道等と混成が強められていることがわかり、この多軌道性がディラックコーンの生成に、大きな役割を果たしていると考えられる。さらに加圧によって、系の次元性がどのように変

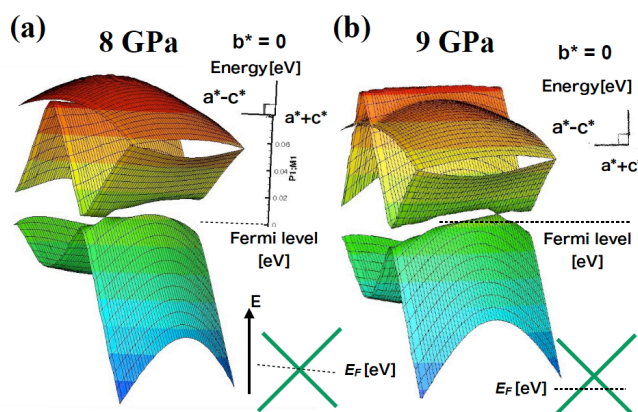


図3. 圧力下における3次元バンド構造 ($a-c$ 面内)

化したのかを理解するために、フェルミ準位の上下の低エネルギーレベルにおいて、仮想的なフェルミ面を計算した結果、 a^*+c^* と b^* 方向で擬2次元面を作っていることがわかった。これらの結果は、加圧によって分子間距離が短くなった結果、分子間の異なる軌道との混成が強まり、さらに、常圧で1次元的であった系が擬2次元的へと変化したことを示している。

第一原理計算により決定した8 GPaでの結晶構造を用いて、拡張ヒュッケル法に基づくtight-binding計算をHOMOとLUMOの重なり積分を考慮して実行した結果、概ね第一原理計算のバンド構造を再現することができた。常圧からHOMO-LUMOの重なり積分は無視できず、8 GPaにおいて、特に分子の積層方向である b 方向と $a+c$ 方向の重なり積分が顕著に増大する。また、積層方向の重なり積分が逆符号になっているために、HOMOバンドがすべて上に凸になっているのに対して、LUMOバンド (の一つ) が下に凸になっていることが、ディラックコーンの生成に重要であると考えられる。

【参考文献】

- [1] H. Tanaka, Y. Okano, H. Kobayashi, W. Suzuki, A. Kobayashi, Science, **291**, 285 (2001).
- [2] H. B. Cui, T. Tsumuraya, T. Miyazaki, Y. Okano, and R. Kato, Eur. J. Inorg. Chem, **24**, 3837 (2014).
- [3] H. B. Cui, H. Kobayashi, S. Ishibashi, M. Sasa, F. Iwase, R. Kato, and A. Kobayashi, J. Am. Chem. Soc., **136**, 7619 (2014).
- [4] N. Tajima, S. Sugawara, M. Tamura, Y. Nishio, and K. Kajita, J. Phys. Soc. Jpn. **75**, 051010 (2006).

電気二重層トランジスタを用いた 有機モット絶縁体に対する高密度キャリアドーピング

川相義高¹, 枝川祐介³, 佐藤慶明¹, 蒲江³, 竹延大志³, 山本浩史², 加藤礼三¹

理研・加藤分子物性¹, 分子研², 早大・先進理工³

ある固体が金属か、絶縁体かといった基本的な電子状態は、一体近似のバンド理論によって説明することができる。ところがモット絶縁体と呼ばれる物質群は、バンド理論では金属であると予測されるにもかかわらず、強い電子間反発のために絶縁体になっている。いわゆる高温超伝導体の母体物質がモット絶縁体であることから、モット絶縁相とその近傍の電子状態は、物性物理学の主要な研究対象のひとつで有り続けている。

モット絶縁体を金属や超伝導体にするには二つの方法が知られている。ひとつは高温超伝導体で行われているように、電子や正孔といった電荷担体(キャリア)をドーピングする方法で、もうひとつが圧力をかけて格子を縮め、電子を動きやすくする方法である。有機モット絶縁体ではその柔らかさを活かして、伝統的に後者の方法が用いられてきたが、最近、加藤Gによって電界効果トランジスタ(FET)の構造を用いたキャリアドーピングが可能であることが明らかになった[1]。これによって両方の手法を同じ物質に適用することが可能になり、電子間反発の強い系における物理の、ひいては超伝導現象の起源の解明につながると期待される。しかしながら、FETではゲート絶縁膜の耐電圧を超えると絶縁破壊が起こるため、最大でも元のキャリア数の10%程度しかドーピングできなかった。そこで、最近新たなキャリアドーピングの手法として注目されている電気二重層トランジスタ(EDLT)の構造を有機モット絶縁体に適用し、高密度のキャリアドーピングを試みた。

有機モット絶縁体 κ -(BEDT-TTF)₂Cu[N(CN)₂]Cl (略称: κ -Cl)の薄片状の単結晶を用いてFETとEDLTを作製し、それぞれの電界効果を比較すると(図1)、EDLTではFETの少なくとも4倍以上のキャリアをドーピングできることがわかった。これによって、電子ドーピングした試料は金属化、正孔

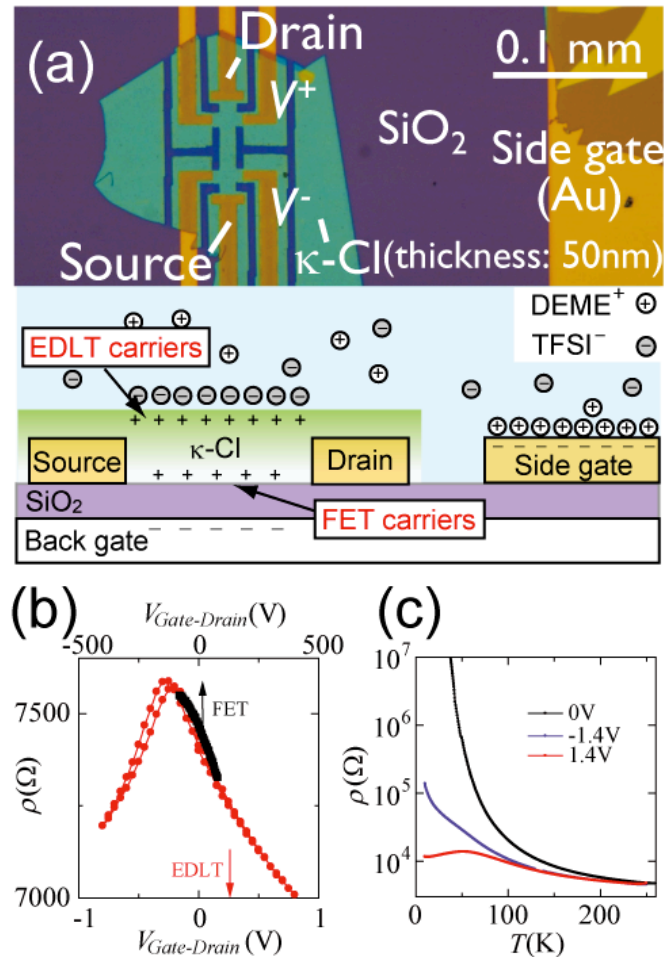


図1. (a) EDLT と FET の比較用試料の光学顕微鏡写真および断面の模式図。結晶上部に EDLT によるキャリアが、下部には FET によるキャリアがそれぞれ注入される。(b) 220K における、EDLT と FET それぞれの電界効果。(c) EDLT でドーピングした試料の電気抵抗の温度依存性。+1.4V は電子ドーピングに、-1.4V は正孔ドーピングに対応する。

ドーピング側でも数桁以上抵抗が減少し、同一試料の電子ドーピングした状態、正孔ドーピングした状態でそれぞれホール効果を測定することが可能になった。

ホール係数から見積もったキャリア数は、一般的なトランジスタではゲート電圧に比例して増加する。ところがこの試料では、図2(a)に示すように、キャリア数はサンプルやゲート電圧によらず、ほぼ一定の値を示す。この値は電子ドーピング状態で約 $4 \times 10^{14} \text{ cm}^{-2}$ であり、電子間反発がなければ動けるはずのキャリアの80~90%程度がキャリアドーピングによって動けるようになったことを示唆している。言い換えれば、電子間反発によって固体化していた電子がキャリアドーピングによって融解するというモット絶縁体に特有の著しい特徴をとらえている。

この特徴は、正孔をドーピングしたときも同様に観測されると期待される。実際に正孔ドーピング状態でもサンプルやゲート電圧によらずホール係数はほぼ一定の値を示した。しかし、驚いたことにその値は電子ドーピング側と比べ3倍程度も大きく、電子状態がモット絶縁層を挟んで明確に異なることがわかった(図2(b),(c))。この大きなホール係数(少ないキャリア数)の原因は明らかでないが、 κ -BEDT-TTF塩で理論的に予言されている擬ギャップ状態[2]を仮定すると矛盾なく説明される。つまり、電子ドーピング側は反強磁性的なスピン相関が弱く、フェルミ液体状態に近い。一方で正孔ドーピング側は反強磁性的なスピン相関が生き残り、擬ギャップ状態に対応していると考えられる。このような磁性に関する電子-正孔非対称性は理論的にも予測されており[3]、異方的な格子を持つモット絶縁体に対するキャリアドーピングの本質をとらえている可能性を示唆している。高温超伝導の舞台である銅酸化物モット絶縁体では、酸素サイトへの電荷移動、軌道自由度、ドーパントによる乱れなど複雑な要因のためか見られなかった現象であり、シンプルな電子状態を持つモデル物質としての有機モット絶縁体の優位性を示す結果である。

(BEDT-TTF = bis(ethylenedithio)tetrathiafulvalene)

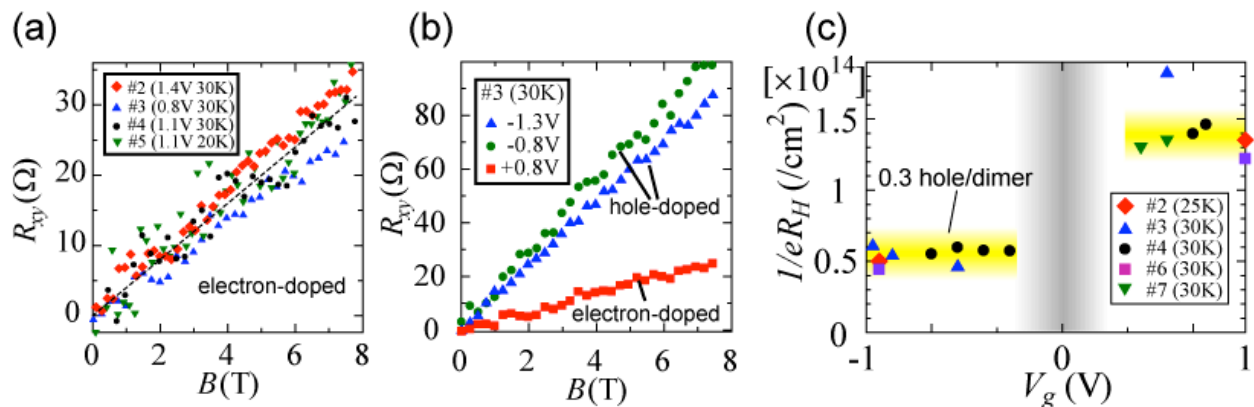


図2. EDLTでドーピングした試料におけるホール効果。(a) 複数のサンプルにおける、電子ドーピング状態のホール効果。傾きがホール係数を与える。(b) 同一サンプルにおける電子ドーピング(正のゲート電圧)と正孔ドーピング(負のゲート電圧)の比較。(c) ホール係数から見積もったキャリア数のゲート電圧依存性。

【参考文献】

- [1] Kawasugi, Y.; Yamamoto, H. M.; Hosoda, M.; Tajima, N.; Fukunaga, T.; Tsukagoshi, K.; Kato, R. *Appl. Phys. Lett.* **2008**, 92, 243508. [2] Kang, J.; Yu, S.; Xiang, T.; Li, J. *Phys. Rev. B* **2011**, 84, 064520. [3] Kyung, B. *Phys. Rev. B* **2007**, 75, 033102.

有機モットFETにおける金属絶縁体転移の臨界挙動

佐藤慶明¹, 川嶋義高¹, 須田理行^{1,2}, 山本浩史^{1,2}, 加藤礼三¹

理研・加藤分子物性¹, 分子研²

分子性導体 κ -(BEDT-TTF)₂[Cu(CN)₂]Cl (κ -Cl) は、低温では強い電子相関によりモット(Mott)絶縁体となる擬2次元強相関電子系である。これまでの研究で我々は、 κ -Clやその姉妹物質である κ -Brの薄片単結晶を用いた電界効果トランジスタ (モットFET)を作製し、電界効果を利用したキャリア注入を行うことで、分子性導体では従来困難だった電荷ドーピングによるフィリング制御型Mott相転移の実現に成功しており、その詳細について調べている。本手法は不純物の混入を伴わず、かつ精密にドーピング量を調節できるため、電子相関・乱れの効果が協同的に発現するとされる転移点近傍の物性を知る上で大変有用である。

FETでは原理上、その電子物性が基板／分子性導体チャネル界面の性質に鋭敏な影響を受けやすい。

そこで我々は、アルキル基(C₈H₁₇-)末端またはパーフルオロアルキル基(C₆F₁₃C₂H₅-)末端を有する自己組織化単分子膜(Self-Assembled Monolayer; SAM)を利用した基板界面制御を行うとともに、分子層厚(1.5 nm)のレベルで平滑な表面を有する κ -Cl薄膜単結晶 (図1挿入図) の合成手法を見出し、モットFETデバイス特性の性能 (移動度、on/offスイッチング比) を向上させることに成功した。とりわけ20–40 Kの中低温領域に着目すると、ゲート電圧 V_g の印加により金属–絶縁体(MI)転移が引き起こされることが明らかとなった (図2左)。転移点の電気伝導率は $\sigma \sim e^2/h$ 程度であるが (e :電荷素量、 h :プランク定数)、これはGaAsなど高移動度低次元半導体系で見られるものと一致し、Mott–Ioffe–Regel限界を満たすものである。一方、ホール効果の測定から、本転移はキャリア密度一定 ($\sim 10^{14}\text{cm}^{-2}$) のもとで起こることが明

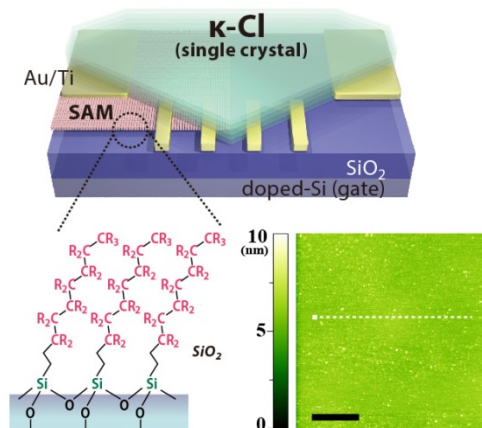


図 1. SAM 表面修飾絶縁基板を用いた有機モット FET の模式図 ($R = F, H$)。 (右挿入図) κ -Cl 単結晶表面の原子間力顕微鏡(AFM)像。スケールバー: 500 nm

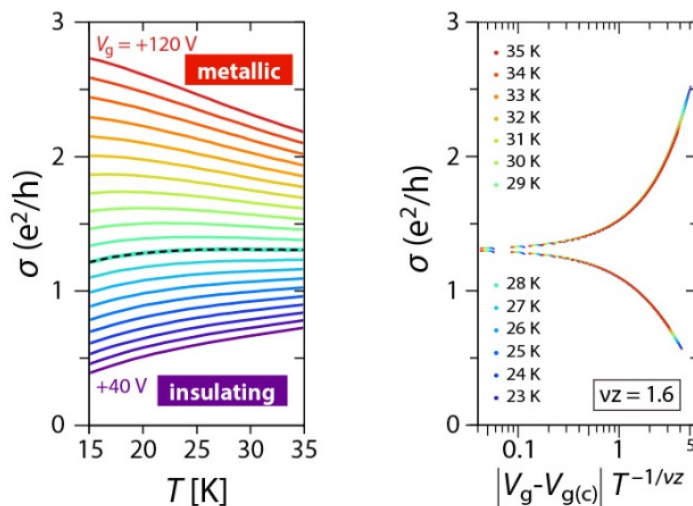


図 2. SAM 上 κ -Cl チャネルで観測された電界効果ドーピング誘起の MI 転移。(左) 電気伝導度の温度変化におけるゲート電圧依存性。破線は MI 転移境界線を示す。(右) 電気伝導度のスケールリングプロット。 $e^2/h = 38.7 \mu\text{S}$ 。

らかとなっており、強相関系特有の性質を有していることが分かる。また、本MI転移の発現には κ -Cl/基板の界面状態が強く影響することから、電子相関・構造乱れの双方が寄与するモットーアンダーソン(Anderson)転移の性質があることが示唆される。

図2右は、MI転移点近傍において様々な V_g, T における伝導度 σ に対し臨界スケーリングを行った結果を示したものである。量子相転移に関するスケーリング仮説によれば、MI転移近傍で相関長 ξ 、相関時間 τ がそれぞれ $\xi \propto |x - x_c|^{-\nu}$ 、 $\tau \propto |x - x_c|^{-z\nu}$ にしたがって発散する性質のため、臨界領域における伝導度は $\sigma(T, x) = \sigma_c \mathcal{F}(|x - x_c| T^{-1/\nu z})$ という単一の関数で表すことができる (ν, z は転移のユニバーサリティークラスに依存する臨界指数、 x はパラメーターでありここではゲート電圧に対応する)。実際、 $\nu z = 1.6$ を仮定すると、20–30 K で観測された全ての伝導度が転移点を挟んで金属側・絶縁体側に対応する2つの曲線上に乗り、本MI転移はスケーリング則に従っていることがわかる。さらに10 K以下の低温領域では、明確なMI転移が観測されなくなり、全ゲート電圧に対して $\Delta\sigma \sim (e^2/h) \log T$ に従うような絶縁体的な電子輸送特性に移行する。しかしながら磁場に対する応答に着目すると、転移点を境に磁気抵抗の反転を伴うような大きな変化が依然として見られる。干渉効果が重要になる低温では、電子間反発による局在効果に加え弱局在効果に寄与も効いてくるものと考えられ、これらが電荷ドーピング量に応じて競合した結果と解釈できる。

(BEDT-TTF = bis(ethylenedithio)tetrathiafulvalene)

放射光in situ構造可視化によるイオン伝導発現機構の解明

笠井秀隆^{1,2}, 加藤健一^{1,2}, 高田昌樹¹

理研・高田構造科学研究室¹, JST CREST²

クリーンで高効率な発電装置である燃料電池は、家庭用燃料電池や燃料電池自動車として市場投入され始めており、今後の発展が期待されている。特にアルカリ形燃料電池は、貴金属触媒が不要であり、多様な燃料を使用できるという優れた特徴がある。しかし、従来の電解液を用いたアルカリ形燃料電池においては、燃料中の炭化水素や空気中のCO₂とOH⁻が反応し、炭酸塩を生成して劣化する問題がある。この問題の解決策として、固体電解質の利用が試みられている。しかし、その電解質材料である固体のOH⁻伝導体は、プロトン伝導体に比べてキャリアが大きいことや耐アルカリ性が必要なことなどから、開発が難しく報告例が少ない。その新規OH⁻伝導体の開発に指針を与えるために、OH⁻伝導と構造の相関を明らかにすることは重要である。

Ruddlesden-Popper (RP)型層状酸化物A_{n+1}B_nO_{3n+1} (A: アルカリ金属, アルカリ土類金属, 希土類元素。B: 遷移金属や類似元素)は、酸素欠陥が存在すると、大気中の水と反応して層間にOH⁻がインターカレーションすることが知られている[1]。最近、n = 3のRP型であるLaSr₃Fe₃O₁₀において水素還元処理と水蒸気処理によってインターカレーションしたOH⁻をアルカリ形電解質のキャリアとして活用する試みが行われている [2]。この化学処理したLaSr₃Fe₃O₁₀が高いOH⁻伝導度を示したのは、その構造がOH⁻伝導に適切な伝導経路を与えたからだと考えられる。これまで、RP型酸化物におけるOH⁻のインターカレーションに関して精密に構造制御する研究は行われてこなかったが、構造制御により他のRP型酸化物もLaSr₃Fe₃O₁₀と同様に高いOH⁻伝導性を発現する可能性がある。本研究の目的は、LaSr₃Fe₃O₁₀において発現したOH⁻伝導と構造の関係を明らかにすることである。

精密に構造制御するため、粉末試料を充填したガラスキャピラリー内にガスを流しながら湿度と温度を制御することのできるセルを構築した (図 1)。それを、SPring-8 の理研物質科学ビームラインBL44B2 の Debye-Scherrer カメラに組み込み、化学処理中の放射光粉末回折実験を行った。また、構造と OH⁻伝導との関係を明らかにするため、放射光粉末回折と AC インピーダンス測定を交互に行った。得られた in situ 回折データの Rietveld 解析と最大エントロピー法 (MEM) による電子密度解析[3]を行い、OH⁻は層間に最も近い酸素 (O3 とする) の直下にインターカレーションすることがわかった。電子伝導体 LaSr₃Fe₃O_{9.34(8)}は還元処理で FeO₆ 八面体の面内に酸素欠陥が形成し (LaSr₃Fe₃O_{8.5(2)})、水蒸気処理中に O3 の一部が面内に移ることで欠損が生じ、その近傍に OH⁻がアニオン不足を補うためにインターカレーションした LaSr₃Fe₃O_{8.3(2)}(OH)_{1.91(3)}·2.00(5)H₂O になったと考えられる (図 2a)。他の RP 型酸化物において O3 が完全に欠損して OH⁻がインターカレーションする構造が報告されており [1]、LaSr₃Fe₃O₁₀において O3 と OH⁻の両方が存在することが高いイオン伝導度に寄与している可能性がある。

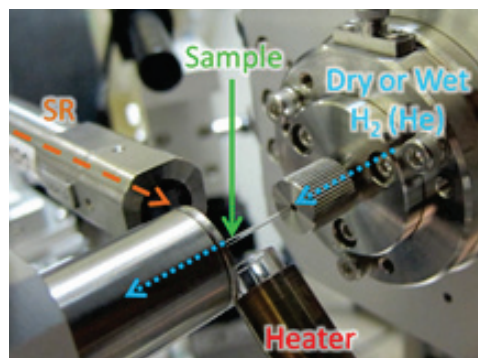


図 1: ガスフロー下湿度制御キャピラリーセル

その OH⁻伝導経路を明らかにするため、MEM によって得られた電子密度分布を用いて静電ポテン

シャルのイメージングを行った。図 2b に RT と 55 °C の OH⁻伝導体の 002 面の静電ポテンシャルを示す。OH⁻伝導体は、相対湿度 95%において RT よりも 55 °C の方が 2 桁高いイオン伝導度を示した。これらの静電ポテンシャルを比較すると、イオン伝導度が高くなるにつれて、Fe の周りの静電ポテンシャルが増加している。これは Fe の周りの電子が増加していることを示唆しており、Fe の周りの酸素欠陥を介して OH⁻が拡散していると考えられる。この拡散経路において、O3 サイトはインターカレーションサイトと Fe の周りの酸素欠陥とのパスをつなぐ役割を担っていると推測される。よって、RP 型酸化物において高い OH⁻伝導性の発現には、O3 と OH⁻が両方存在することが必要であると結論付けた。

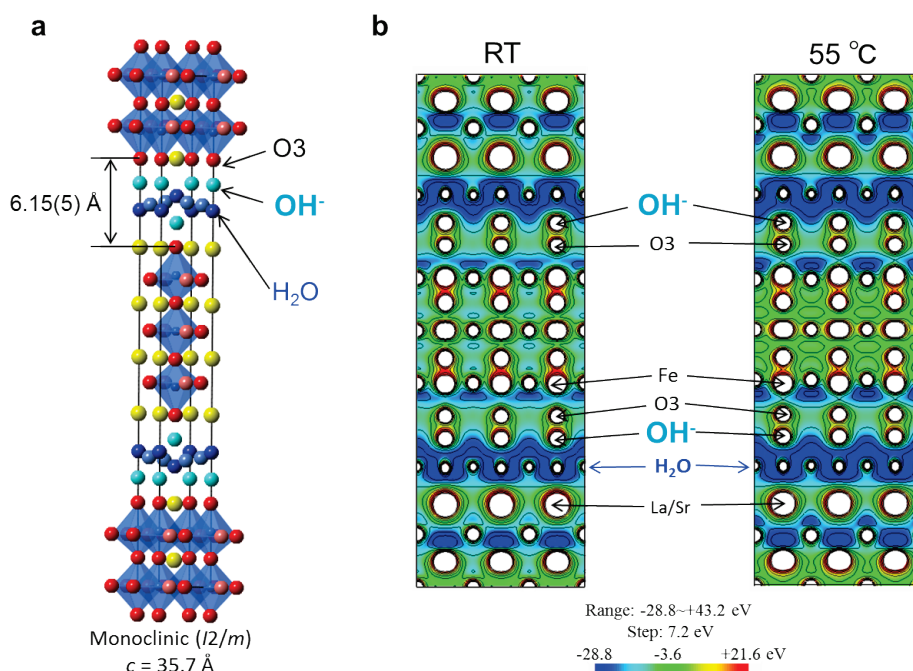


図 2: OH⁻伝導相の構造(a)と静電ポテンシャル(b)

【参考文献】

- [1] D. Pelloquin et al., *Chem. Mater.* **17**, 773 (2005).
- [2] T. Takeguchi et al., *J. Am. Chem. Soc.* **135**, 11125 (2013).
- [3] H. Tanaka et al., *J. Appl. Cryst.* **35**, 282 (2002).

偏光変調ディフラクトメトリーによる選択的構造計測

大隅寛幸, 高田昌樹

理研・高田構造科学研究室

本研究は、価電子により散乱されたX線を選択的に計測することにより、物質機能に関わる構造情報を抽出・可視化することを目的としている。X線の異常分散効果は、内殻電子の外殻状態への共鳴励起とそれに続く脱励起とに関係しており、元素選択性・電子殻選択性に優れるだけでなく、励起状態に関する情報をも含むことから恰好のプロブとなり得る。ところが、共鳴条件を満たさない電子もX線を散乱するため、入射X線のエネルギーをどのように調整しようとも、価電子の寄与だけを計測することはできない。しかし、構造因子の振幅スペクトルを測定すれば、非共鳴成分を見積もって差し引くことで、価電子からの寄与を抽出することが可能になる。

我々は、スペクトル測定せずに価電子の寄与を計測することを目指して、異常分散効果の異方性を放射光の偏光特性を活用して測定する、新しい計測技術の開発を進めている。異常分散効果の異方性は、散乱振幅テンソルの非対角項に有限の振幅を与え、対角項との間に干渉を生じさせる。このとき、右円偏光と左円偏光を切り替えると干渉項の符号が反転するので、円偏光の変調周波数に同期した回折強度変化をロックイン検出することにより、異常分散効果の高感度な検出を実現することができる。X線の偏光状態は、ダイヤモンド移相子[1]によって制御している。

この測定技術をパイロクロア酸化物 $\text{Cd}_2\text{Os}_2\text{O}_7$ で最近発見されたall-in/all-out型磁気構造[2]の計測に適用した。 $\text{Cd}_2\text{Os}_2\text{O}_7$ の結晶構造は立方晶で空間群 $Fd\bar{3}m$ に属し(図1a)、磁気構造はスピンの全て内側を向いたOs四面体と全て外側を向いたOs四面体とで構成されたall-in/all-out型になっている(図1b)。この磁気構造は時間反転対称性を破っており、特異な物性を発現すると予想され[3]、OsをIrに置き換えた $R_2\text{Ir}_2\text{O}_7$ (R : rare earth)にも大きな関心が寄せられている。ところが、Ir原子は中性子を吸収するので、中性子散乱実験が困難なため、放射光X線を用いて磁気構造の検証が進められている。その際に、all-in/all-out型磁気構造が結晶格子と同じ周期を持つために、磁気散乱と電荷散乱が重畳することが問題になっていた。新しい測定手法は、磁気散乱の選択的計測を可能にして、この問題を解決することに成功した。

一例として、新しい手法で測定した $\text{Eu}_2\text{Ir}_2\text{O}_7$ の444反射強度の左右円偏光反転比

$$R = \frac{I_{RHC} - I_{LHC}}{I_{RHC} + I_{LHC}}$$

の温度変化の様子を図2に示す。ここで、

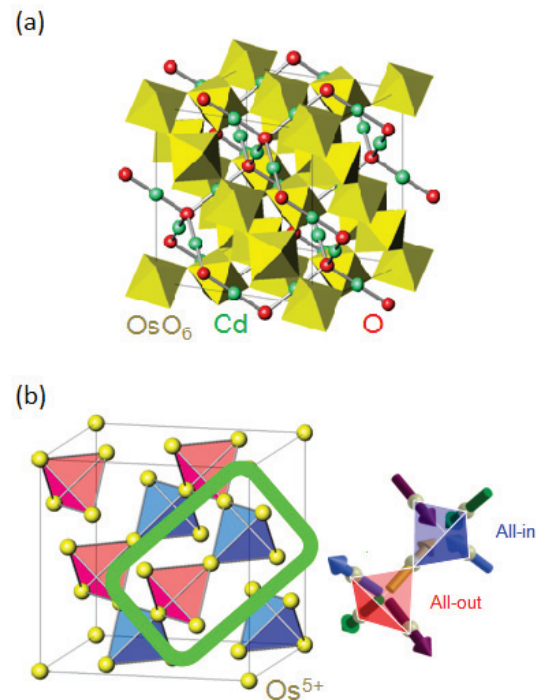


図 1: $\text{Cd}_2\text{Os}_2\text{O}_7$ の結晶構造(a)と磁気構造(b)

I_{RHC}, I_{LHC} はそれぞれ右円偏光と左円偏光を用いて測定した444反射の回折強度である。反転比は100K付近から有限の値を持ち始め、低温に向かって成長しており、秩序変数様の振る舞いから、磁気相転移したことが理解される。反転比が $R = 0.0001$ とは、構造因子テンソルの非対角項成分が対角項成分の1/10000程度であることを意味する。

現在我々は、物質中のスピン密度マッピングの実現を目指して、測定システムのさらなる高感度化に向けた研究開発を進めている。また、それと平行して、サブミクロン分解能の走査型X線顕微鏡への展開を進めており、分域構造のイメージングやオペランド測定等においても、価電子の寄与を選択的に計測することによって、物質機能に関わる分子システム構造を抽出・可視化することを目指す。

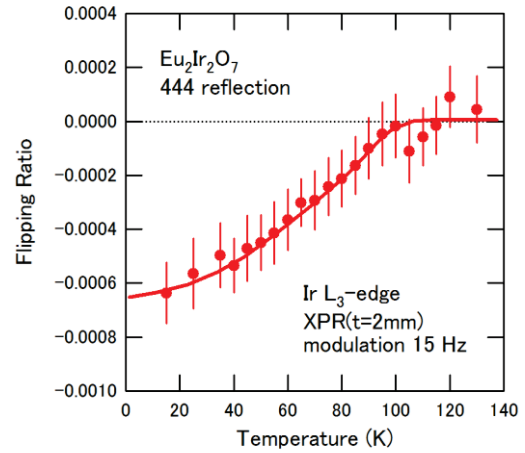


図 2: $\text{Eu}_2\text{Ir}_2\text{O}_7$ の 444 反射強度の左右円偏光反転比の温度変化

【参考文献】

- [1] K. Hirano, K. Izumi, T. Ishikawa, S. Annaka, S. Kikuta : Jpn. J. Appl. Phys. **30**, L407 (1991). [2] J. Yamaura, K. Ohgushi, H. Ohsumi, T. Hasegawa, I. Yamauchi, K. Sugimoto, S. Takeshita, A. Tokuda, M. Takata, M. Udagawa, M. Takigawa, H. Harima, T. Arima, and Z. Hiroi : Phys. Rev. Lett. **108**, 247205 (2012). [3] T. Arima : J. Phys. Soc. Jpn. **82**, 013705 (2013).

分子システム生体チーム

(チームリーダー：城 宜嗣)

生体内の一酸化窒素動態： 一酸化窒素還元酵素の分子機構を中心に

當舎武彦¹、村本和優^{1,2}、澤井仁美^{1,2}、大畠海人^{1,2}、松本喜慎^{1,2}、山際来佳^{1,2}、
井上 雅^{1,2}、杉本 宏^{1,2}、城 宜嗣^{1,2}

理研・城生体金属科学¹、兵庫県立大・理²

生体中には一酸化窒素 NO を積極的に産生するシステムが 2 種類ある。一つは、哺乳動物細胞において一酸化窒素合成酵素によってアルギニンを基質として産生され、NO 受容体（可溶性グアニル酸シクラーゼ）に受け渡される系である。この NO がシグナル分子として機能し、哺乳動物の様々な重要な生理機能に関与している。他の一つは、微生物の嫌気呼吸（酸素を使わない呼吸）の一種である脱窒過程である。脱窒は硝酸 NO_3^- 、亜硝酸 NO_2^- を逐次還元して最終的に窒素分子 N_2 まで変換する。亜硝酸還元酵素 Nir（Nitrite Reductase）は NO_2^- を還元して NO を産生する酵素であり、その強い細胞毒性を無毒化する為に、一酸化窒素還元酵素 NOR（Nitric Oxide Reductase）が NO を亜酸化窒素 N_2O に変換している。我々は、脱窒菌の NO 産生、輸送、消去の細胞システムを分子レベルで理解する事をめざしている。

1. 脱窒関連タンパク質の複合体形成と効率的連続反応場形成

昨年度までに、NO を生成する NiR と NO を分解する cNOR が複合体を形成することを X 線結晶構造解析により発見した。我々は、この複合体形成は、脱窒過程で NiR から NOR に NO を速やかに受け渡し、NO を細胞環境に拡散させずに、効率良く分解するシステムであると提案した。本年度は、NiR と cNOR が溶液中でも相互作用しているのか検討するために、プルダウンアッセイを行った。化学修飾により cNOR をビーズに固定化し、緑膿菌からの抽出液を添加したところ、NiR が cNOR と結合することがわかった（図 1）。更に、詳しく溶液条件における NiR と cNOR の相互作用を調べるために、アミノ酸置換による相互作用様式の解明を目指した。昨年度に解明した NiR-cNOR 複合体の構造をもとに、複合体形成に重要な役割を果たしているアミノ酸残基として、cNOR の Glu119 に着目し（図 2）、いくつかの変異体を調製した。今後は、それら変異体と NiR の相互作用を検討する予定であり、NiR-cNOR 複合体の機能的意義の解明を目指す。

NiR と cNOR の触媒反応には、電子供与体からの電子が必須である。NiR と cNOR が複合体を形成した際に、どのようにして電子が NiR や cNOR に供給されるのか理解するために、NiR と cNOR に電子伝達タンパク質（チトクロム c551（c551）もしくはブルー銅タンパク質アズリン（Az））を加えた三者複合体の結晶構造解析に取り組んだ。結晶化条件を検討したところ、NiR-cNOR-c551 および NiR-cNOR-Az のいずれの場合においても、結晶が得られた。BL41XU@SPRING-8 で X 線回折実験を行ったが、分解能は 10 Å 程度であり、構造決定には至って

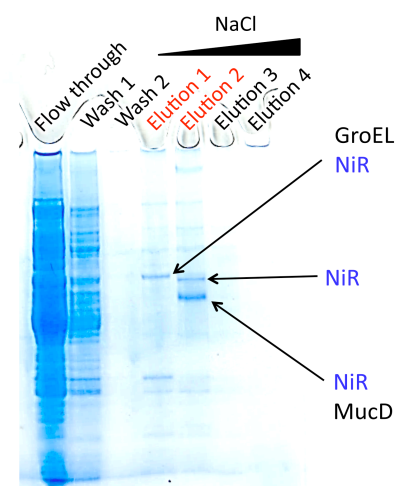


図 1 プルダウンアッセイ（NiR と cNOR の複合体形成を示す）

いない。現在、より質の良い結晶を得るために、更なる結晶化条件の検討を行っている。また、三者複合体だけでなく、NiR および cNOR 単体と電子伝達タンパク質の複合体の結晶化にも取り組んでいる。一方で、このような電子伝達複合体形成に機能的意義を評価するために、cNOR の c551 ならびにアズリン酸化活性を測定した。c551、アズリンともに好気条件下で cNOR により酸化されることが観測された。今後、電子伝達効率の詳細な解析を進めていく。

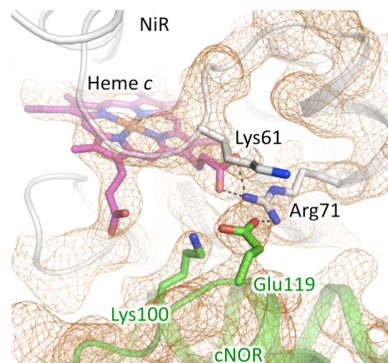


図2 NiR と NOR の接触界面

2. cNOR 変異体の調製

アミノ酸置換体を利用した機能解析が可能になるように、cNOR の大腸菌を用いた発現系の構築に取り組んできた。その結果、精製試料に脂質を添加することで活性型の cNOR 組換え体を得られるようになった。しかし、活性部位の非ヘム鉄が亜鉛に置換された不活性型 cNOR が混在していることがわかり、更なる検討が必要であることが明らかとなった。活性型の cNOR 組換え体を得るために、東京大学農学部の新井博士との共同研究として、緑膿菌を使った cNOR の発現系の構築に取り組み始めた。脱窒条件（硝酸存在下、嫌気条件）での生育実験から、緑膿菌の cNOR 破壊株に、cNOR の発現プラスミドを導入することで、組換え型 cNOR が発現することを確認できた。今後は、緑膿菌から組換え型 cNOR を単離する方法を確立するとともに、アミノ酸置換体 cNOR の発現に取り組む予定である。

3. 病原菌由来 qNOR

病原菌がヒトに感染すると、ヒトの免疫系一酸化窒素合成酵素が NO を産生し、病原菌を殺菌する。これに対し、病原菌は、NOR を利用することで、NO の無毒化し、ヒトの体内で生育をはかる。そこで、将来的な創薬の可能性も視野に入れ、病原菌由来 qNOR に注目した。昨年度は、髄膜炎菌 *Neisseria meningitidis* 由来 qNOR の発現・精製に成功し、今年度は、その機能解析を行った。ストックホルム大学 Pia Ädelroth 博士との共同研究で、*N. meningitidis* 由来 qNOR が細胞膜の内側からのプロトンを利用し NO 還元を行っている可能性が

示唆された。現在、プロトン輸送経路に存在すると予想されるアミノ酸の変異体を準備している。また、NO の輸送経路と予想される疎水性チャネルの変異体（Val489 変異体）が NO 還元活性に影響することも明らかとなった（図3）。こちらにも更なる変異体解析を進め、Val489 の役割を明らかにする。更に、本試料の X 線結晶構造解析にも着手しており、再現よく結晶が得られる条件をみつけており、低分解（6.5 Å）ではあるが電子密度が得られている。また、共鳴ラマン分光測定による活性部位の構造解析にも取り組んでいる。

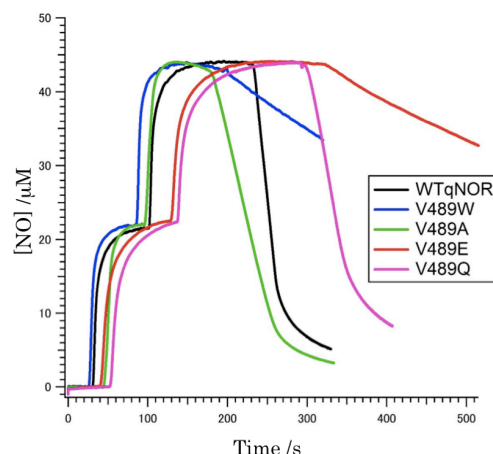


図3 Val489 変異体 qNOR の NO 還元活性測定

タンパク質の短寿命反応中間体の構造・電子状態解析： 時分割X線構造ならびに赤外分光解析基盤の確立

久保 稔¹, 木村哲就¹, 當舎武彦¹, 石井頌子^{1,2}, 西田拓真^{1,2}, 城 宜嗣^{1,2}

理研・城生体金属科学¹, 兵庫県立大・理²

生体内の化学反応を、関連するタンパク質の構造を基盤に電子・原子レベルで理解する為には、反応に伴うタンパク質の構造の時間変化（動的構造）と、反応中に超短時間だけ現れる中間体（短寿命反応中間体）の構造・電子状態の情報が必須である。これらを解析可能な装置・解析技術を開発している。

1. 時分割 X 線結晶構造解析および時分割赤外分光法の基盤開発

本研究では、XFEL（X線自由電子レーザー）を用いた時分割 X 線結晶構造解析とフェムト秒赤外レーザーを光源として用いた時分割赤外分光法を併用して、機能部位の化学反応を原子・電子レベルで追跡できる基盤技術を開発している。赤外分光は、機能部位（官能基）の電子状態・プロトン化状態の解析を可能とするため、X 線結晶

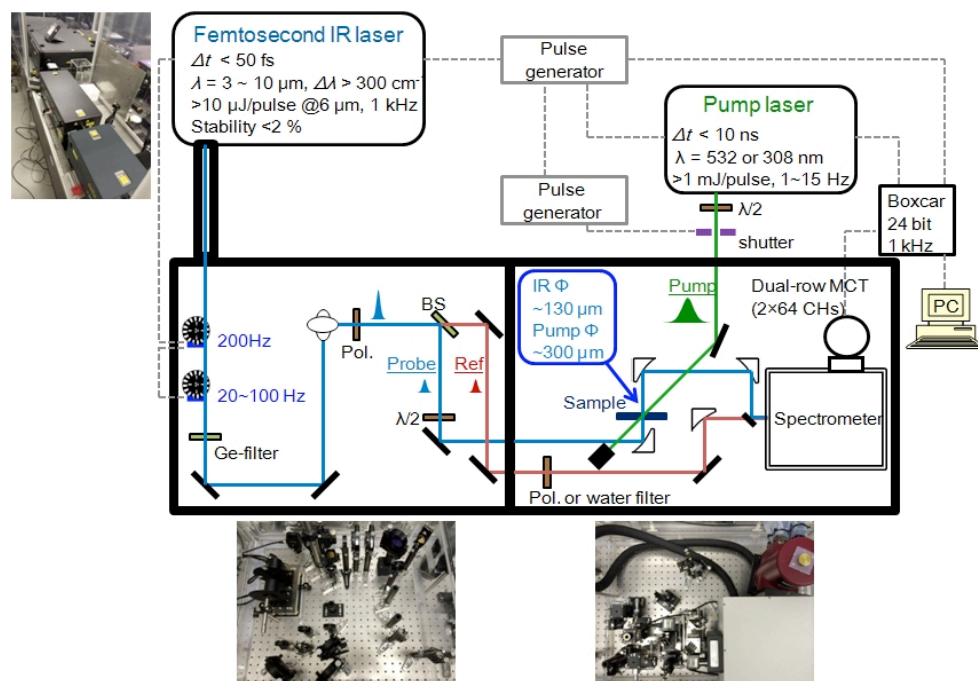


図1 時分割赤外分光装置. 時間分解能はポンプレーザーのパルス幅に依存して 10 ナノ秒. Pol: polarizer, BS: beam splitter, λ/2: half waveplate.

構造解析との相補的・協調的な利用が期待される。時分割測定では、ポンプ光の照射により試料に光反応を誘起し、その Δt 秒後にプローブ光（XFEL パルスもしくはフェムト秒赤外パルス）を照射して、反応中間体を解析する（ポンプ-プローブ法）。昨年度は、時分割 X 線結晶構造解析を実現するために、X 線回折計と共存可能なポンプ光光学系および可視吸収同時測定装置を開発した。本年度は、時分割赤外分光装置を開発した（図1）。高輝度赤外レーザー光源のビーム径は、試料上で約 100 μm であり、タンパク質水溶液試料はもちろんタンパク質単結晶へも適用可能である。任意の遅延時間における計測の自動化を自作の LabVIEW プログラミングによって実現した。

これら装置の適用例として、本年度は以下の実験および開発を行った。

(1) ナノ秒 Nd-YAG レーザー (532 nm) によって励起される、溶液状態でのミオグロビン Mb の CO 再結合反応に伴う、CO 伸縮振動の回復とタンパク質主鎖であるペプチド結合の構造変化に由来するアミド I バンドの時間変化の観察に成功した (図 2)。

(2) チトクロム酸化酵素の配位子光解離後の時分割赤外吸収スペクトルを測定し、結晶中での配位子ダイナミクスを明らかにした。時分割 X 線結晶構造解析は、2015 年 2 月に SACLA で行う計画である。

(3) タンパク質の短寿命反応中間体の構造・電子状態を解析すると同時に、その後の反応を追跡するためには、1 ms 以上の時間窓を高い分解能で計測する必要がある。昨年度までにフロー・フラッシュ法の測定装置を構築したが、市販のシリンジポンプを使用したため試料交換が連続的に起こっており、励起された試料はせいぜい 1ms までしか観察点に滞在できなかった。そこで、ポンプ光およびプローブ光の照射のタイミングと同期して溶液交換を駆動可能なステップパルス・シリンジポンプを作製した。この装置を Mb への NO 結合反応に適用し、10 ms までの時間領域での測定が可能となったことを確認した。

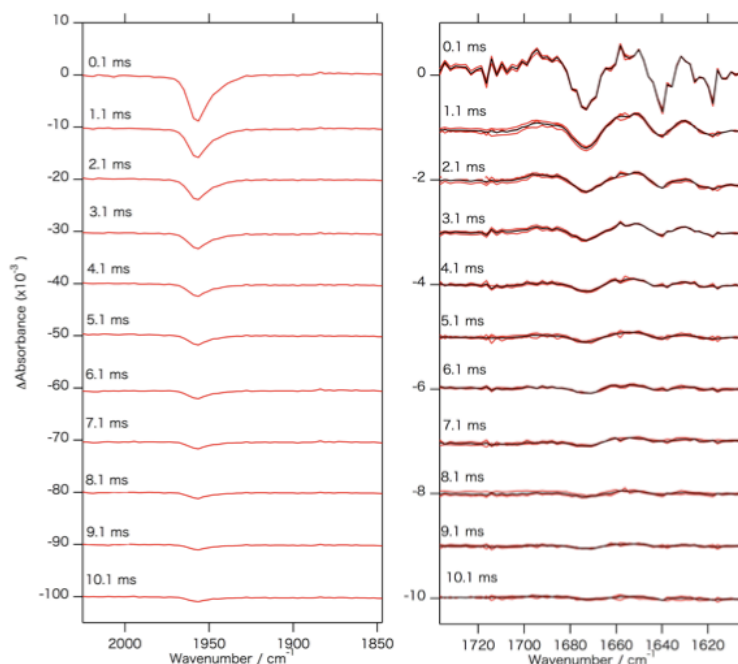


図2 ミオグロビンの CO 再結合反応における CO 伸縮振動とアミド I バンドの時間変化

2. 脱窒微生物の一酸化窒素還元酵素の反応機構解析への適用

微生物の嫌気呼吸の一種である脱窒では、鉄 Fe 含有タンパク質である一酸化窒素還元酵素 NOR が、細胞毒性の高い一酸化窒素 NO を速やかに無毒化している。その酵素反応は、N-O 結合の開裂と N-N 結合の生成を含み、その反応機構解析は化学的に非常に興味深い。その機構確立には、短寿命反応中間体の構造と電子状態の情報が必須である。

脱窒カビ由来と脱窒菌由来の 2 種類の NOR が知られている。脱窒カビ NOR の反応中間体は、 Fe^{3+} -NO 型酵素が NAD(P)H により二電子還元された $[\text{Fe}^{3+}\text{-NO}]^{2-}$ 型酵素と提案されている。本年度は、反応前 (休止状態) の酵素の 1.1 Å 分解能の結晶を得ることに成功し (図 3)、その一方で、結晶試料への NO 添加法も検討した。NO 結合型酵素の生成には、光照射により約 10 μs の時定数で NO を発生する化合物 (ケージド NO) を用い、

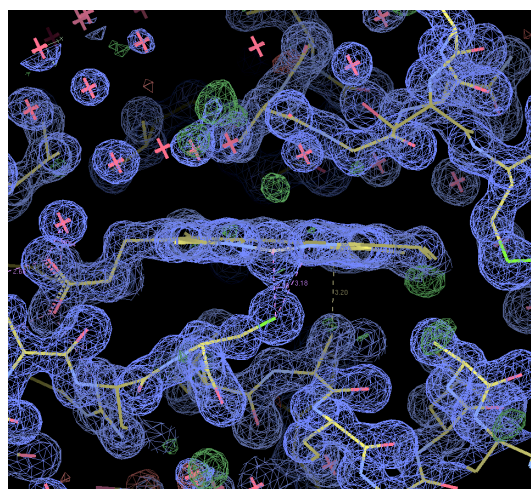


図3 脱窒カビ NOR の酸化型結晶の 1.1 Å 分解能の電子密度図 (2Fo-Fc) . SPring-8 にて回折データを収集.

この方法が常温において有用であることを可視吸収分光によって確認した。今後は、 $[\text{Fe}^{3+}\text{-NO}]^{2-}$ 型中間体の X 線結晶構造解析および赤外分光解析に先立ち、まずは XFEL を用いて $\text{Fe}^{3+}\text{-NO}$ 型の X 線結晶構造解析を行う計画である。過去に SPring-8 を用いて $\text{Fe}^{3+}\text{-NO}$ 型の構造解析がなされたが、X 線損傷の影響が疑われた。XFEL を用いれば、フェムト秒 X 線のシングルパルス照射で、X 線損傷が起こる前の回折像撮影が可能である。2015 年 2 月に SACLA で $\text{Fe}^{3+}\text{-NO}$ 型の無損傷構造解析を行う計画である。

一方の脱窒菌 NOR は、脱窒カビ酵素と同じ反応を触媒するが、構造は全く異なっており、活性中心に 2 分子の鉄を含む膜内在性の酵素である。脱窒菌 NOR の反応機構を明らかにするためには、2 分子の NO の鉄への配位様式の解明とその後にかかる反応過程の直接観察が鍵となる。しかし、NO 結合型中間体はきわめて短寿命（ミリ秒以内）であり、酵素反応のターンオーバーから推定される反応時定数は数ミリ秒であるため、これまで直接観測が困難であった。本研究ではまずは時分割赤外分光法の適用により、脱窒菌 NOR の NO 結合型中間体の配位構造解析を目指した。時分割測定ではケージド NO を用い、マイクロ流体フローで試料交換をしながらポンプ・プローブ測定を行う（フロー・フラッシュ法）。反応の速度論を解明する為にフロー・フラッシュ法を可視吸収分光に提供した結果、数マイクロ秒で NO 結合型が生成し、数十マイクロ秒およびミリ秒の 2 相で酸化型（終状態）に至ることが示唆された（pH 7、20 °C）（図 4）。現在、詳細な解析を進めると同時に、NO 結合型中間体の観測に適した実験条件（pH、温度）を検討中である。さらに、今後はケージド NO の光分解により適したエキシマレーザー（308 nm）と赤外分光装置を組み合わせ、各反応相においてどのような NO 結合型中間体が形成しているかを明らかにする。

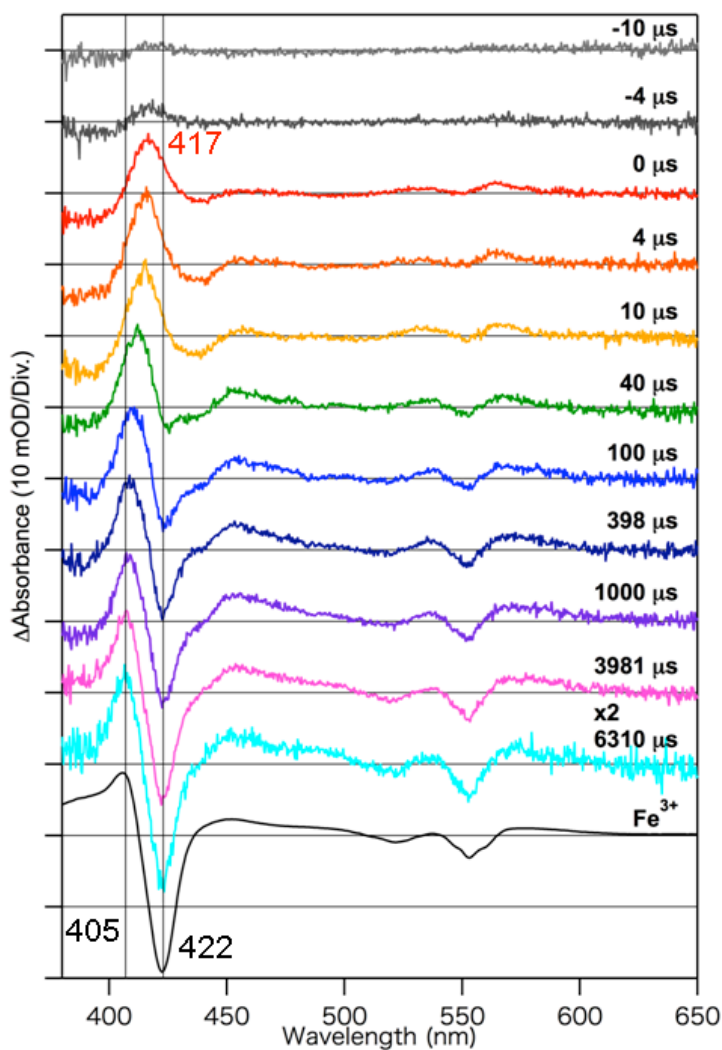


図 4 ケージド NO 光分解後の cNOR のフロー・フラッシュ時分割可視吸収スペクトル (pH 7.0, 20 °C). 還元型との差を表示. フローの流速は 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ であり、各スペクトルは 20 秒積算 (0.4 mM 濃度, 3.3 μl 体積) で取得した. ケージド NO の光分解には、337.1 nm のナノ秒パルスを用いた (3 ns, 10 Hz, 20 μJ) .

鉄の生体内動態システム

杉本 宏^{1,2}, 澤井仁美^{1,2}, 富樫ひろ美¹, 中村 希^{1,2}, 倉智彩夢^{1,2}, 武田英恵^{1,2},
結城 力^{1,2}, 久野玉雄¹, 中村寛夫¹, 城 宜嗣^{1,2}

理研・城生体金属科学¹, 兵庫県立大・理²

鉄はすべての生物の生命維持にとって、必須の微量元素である。生物は、外部から鉄を取り入れ、輸送、感知、貯蔵などの連環システム（鉄動態とよぶ）によって、例えば鉄含有タンパク質の活性中心として活用している。我々は、ヒトと病原菌の鉄動態を、関連するタンパク質（多くは膜タンパク質）の構造を基盤に理解することをめざしている。

1. 病原菌のヘム取込みトランスポーターの分子機構解明

病原菌が宿主（ヒト）へ感染してさらに増殖していくには、ヒト赤血球中のヘモグロビンからヘム（鉄ポルフィリン錯体）の形で鉄イオンを獲得することが必要となる。グラム陰性病原菌の内膜では、ABC トランスポーターに属する膜タンパク質複合体がヘムを細胞内へと膜輸送する（ヘムインポーターと呼ぶ）。本研究で研究対象とする日和見感染に関わる病原菌 *Burkholderia cenocepacia* のヘムインポーター BhuUV-T では、ペリプラズムにおいてヘム輸送を仲介する可溶性タ

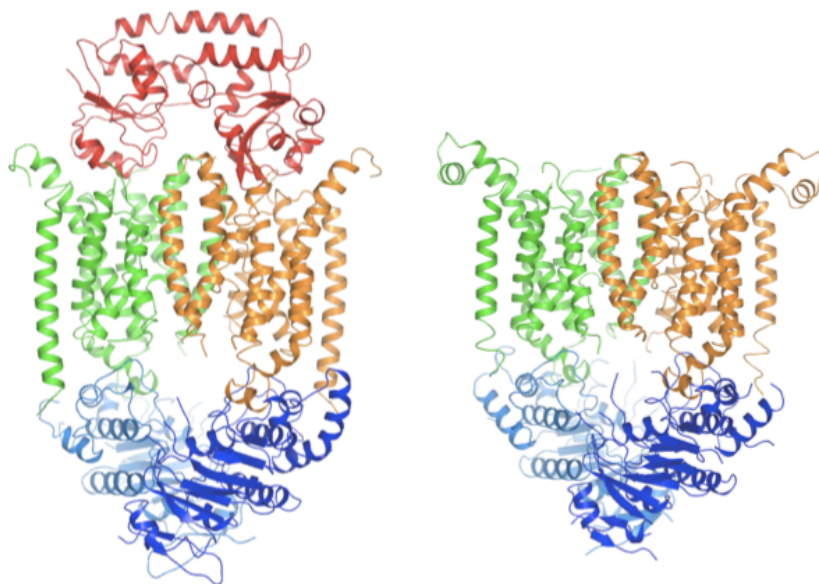


図1 ヌクレオチド非結合型のヘムインポーターの全体構造
(左) BhuUV-T (右) BhuUVの構造のリボン図

ンパク質であるペリプラズムヘム結合タンパク質（BhuT）、2つの膜貫通サブユニット（BhuU）と細胞質でATPを結合する2つのヌクレオチド結合サブユニット（BhuV）の複合体が、ヘム膜輸送を担っている。ATPの結合やその加水分解が引き起こすトランスポーターの構造変化がヘムを輸送する駆動力になっていると考えられているが、その詳細なメカニズムやヘムの認識の仕組みは明らかにされていない。我々は、生化学的な解析および輸送反応の各ステップの状態でのX線構造解析を基盤に、ヘム輸送の分子メカニズムを明らかにする事を目的にしている。

今までに、BhuT単独とヌクレオチド非結合型BhuUV-T複合体（分解能3.2 Å、R=26.8%、free-R=31.7%）の構造を決定していた。本年度は、BhuUV複合体の結晶化にも成功し、2.8 Å分解能のデータを収集した。BhuUV複合体の主鎖構造はBhuUV-T複合体のものと似ており（図1）、

いずれも膜貫通サブユニットを形成する合計 20 本のヘリックスが細胞質側に開いた状態（内向き）であった。このことは、BhuT の解離は膜貫通ヘリックスの大きな構造変化（内向き→外向き）を引き起こさない事を示している。すでにペスト菌由来のヘムインポーターが細胞外側に開いた構造であることが報告されており、これに加えて今回得られた BhuUV の構造は、ヘム輸送におけるインポーターのもう一つの休止型の構造と考えられる。今後は ATP 類縁体との複合体の立体構造解析と得られた三次元構造を基盤にした変異体実験や時間分解分光解析を計画している。

2. 病原菌のヘム排出トランスポーターの分子機構解明

遊離ヘムは細胞毒性をもつために、病原菌はインポーターで取り込んだヘムが過剰となると、ヘム特異的排出ポンプ（HrtBA エクスポーター）によってヘム毒性を解毒することが近年判明した。ヘム排出ポンプは膜貫通サブユニット HrtB と ATPase サブユニット HrtA からなる ABC トランスポーターであるが、遺伝子情報があるのみで、輸送タンパク質として構造や性状は依然不明のままである。ヘム排出ポンプ遺伝子を欠損した病原菌では外来のヘムに対して感受性になることから、細胞表層にあるタンパク質として新しい薬剤のターゲットとなる可能性を含んでいる。

本研究では細菌におけるヘム毒性とそれを回避する排出ポンプの分子を理解する目的で以下の研究をおこなった。大腸菌 K12 株は生化学、分子生物学研究のモデル細胞であるが、外膜にヘム透過能がない。そこで、大腸菌 O157 の外膜ヘムチャンネル ChuA を発現させることにより、ヘム毒性やヘム輸送を評価できるモデルシステムを構築した。このモデル大腸菌はヘムに対し感受性を示し、

HrtBA を発現させることでこれらの毒性は回避された（図 2）。このモデル大腸菌を用いて、各種金属ポルフィリンを輸送基質として用いた結果、それらはアロステリックあるいは非アロステリックな輸送基質として分類された。

この組換え大腸菌から HrtBA タンパク質を可溶化・精製した後、ATPase 活性を調べた。さらに、ATP 有無の条件下での HrtBA におけるヘムの可視吸収スペクトルの経時変化の測定結果を加えて、作業仮説として HrtBA によるヘム排出の分子機構を提案した。分子機構を確立するために X 線結晶構造解析に向け、単結晶を作製している。

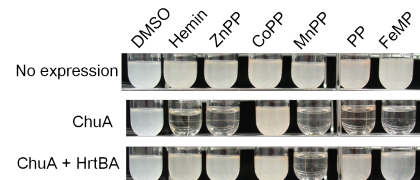


図 2 モデル大腸菌を用いたヘムおよび各種金属ポルフィリンの排出ポンプ活性測定

3. ヒト小腸での鉄の吸収に関わる鉄還元タンパク質の構造機能解析

ヒトの体内の過剰な鉄は、活性酸素産生の主要原因となり、がんや神経系の疾患を引き起こすことから、生体内での鉄の恒常性維持は重要である。しかし、鉄吸収の分子レベルでの機構解明はほとんど進んでいない。ヒトは、食餌中の鉄を十二指腸で吸収するが、その際、鉄還元タンパク質 Duodenal cytochrome *b*₅₆₁ (Dcytb) と二価の金属イオン輸送タンパク質 Divalent metal transporter (DMT-1) が関与していることは分かっている。DMT-1 は二価金属イオン特異的なトランスポーターである。しかし、食餌由来の鉄はおおむね酸化型 Fe^{3+} であるため、Dcytb が Fe^{3+} から Fe^{2+} に還元している。Dcytb は細胞膜を介した電子移動反応を行う鉄含有膜タンパク質であり、分子中に 2 つのヘムを有し、細胞内側のアスコルビン酸から電子を受け取り膜の外側の食餌由来の Fe^{3+} を

Fe²⁺に還元している。本研究では Dcytb による鉄還元機構を結晶構造解析およびストップフロー法による機能解析から明らかにする事をめざしている。

Dcytb は、種々の界面活性剤を用いて可溶化した状態での結晶化、モノクローナル抗体との複合体の結晶化、脂質メソフェーズ法 (LCP 法) を用いる結晶化などを試みているが、未だ構造解析に適した結晶は得られていない。今後はさらに結晶化条件を展開し、構造決定に適した結晶の作製をめざす。また、ストップフロー法を用いて Dcytb とアスコルビン酸の電子授受の反応速度論的解析を行った。Dcytb に対して 1 等量から 2500 等量までのアスコルビン酸との反応を測定・解析したところ、アスコルビン酸濃度依存を示す 4 つの成分が含まれていることが明らかになった (図 3)。今後は、この 4 相の意義を明らかにするために、アスコルビン酸結合部位と予想されるアミノ酸残基を変異させた変異体を用いて同様の測定を行う計画である。

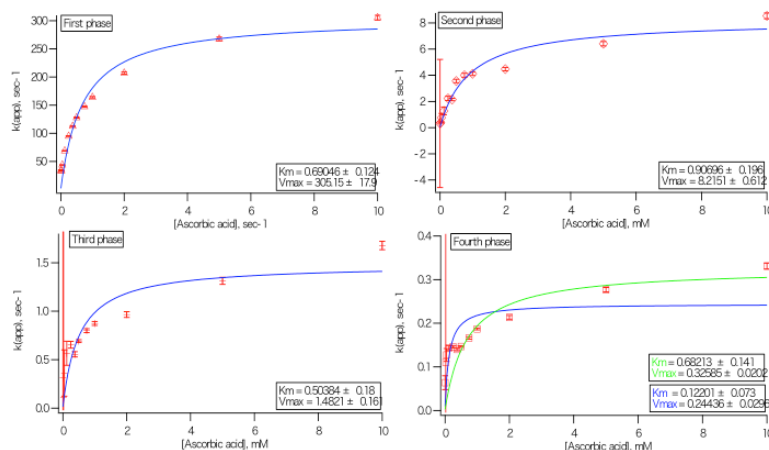


図 3 Dcytb の還元速度のアスコルビン酸濃度依存性。4 相性を示す

4. 後生動物におけるヘム輸送の分子機構解明

我々は食物から摂取したヘムや体内で生合成あるいはリサイクルしたヘムを獲得して利用している。したがって、生体内にはヘムを輸送するシステムが存在すると推定されていたが、それに関わる分子が同定されておらず、生体内ヘム動態は全く未解明のままであった。近年、後生動物の生体内ヘム動態に関わるタンパク質として HRG (heme-responsive gene) タンパク質群が、ヘム栄養要求生物である線虫 *C.elegans* の遺伝子解析により同定された。小胞中から細胞質にヘムを取り出すヘムトランスポーターHRG-1、ヘムを細胞間輸送するタンパク質 HRG-3、ヘムを細胞質に輸送するためのヘムインポーターHRG-4 などが同定されている。HRG-1 はヒトや家畜を含む脊椎動物にも存在するが、HRG-3 と HRG-4 は回虫・寄生蠕虫・寄生原虫などのヘム栄養要求生物だけに存在する。本研究では、*C. elegans* 由来 HRG-3 と HRG-4 を研究対象としている。

大腸菌組換えにより、HRG-3 を安定かつ高純度に調製する方法を確立した。ヘミン滴定実験により、HRG-3 は 2 分子あたり 1 分子の酸化型ヘムを結合することが明らかになった。CD スペクトル測定により、酸化型ヘムの結合/非結合に関わらず、HRG-3 は α ヘリックスを含有した二次構造を有していることを明らかにした。今後、還元型ヘムの結合とそれに伴う二次構造の変化について検討する。

出芽酵母 *S. cerevisiae* の遺伝子組換えにより、HRG-4 を大量かつ安定に発現させる方法を確立した。今後は、X線結晶構造解析のための結晶調製を目標に、HRG-4 を高純度に精製する方法を検討する。また、組換え HRG-4 の機能解析のために、ヘム生合成遺伝子欠損株 *hem1Δ* (*S. cerevisiae* の変異株) を用いた機能解析システムを構築した。HRG-4 によるヘム輸送の駆動力を明らかにするために、今後はこれらの *in vivo* システムを用いて変異体解析を行う予定である。

酸素センサータンパク質による 分子内および分子間シグナル伝達機構の解明

澤井仁美^{1,2}, 佐伯茜子^{1,2}, 中村寛夫¹, 城 宜嗣^{1,2}

理研・城生体金属科学¹, 兵庫県立大・理²

生物は環境中の酸素濃度に適応するために、周囲の酸素濃度を感知するシステム「酸素センサータンパク質」を有している。好気性生物にとって、酸素O₂は生体エネルギー獲得と物質変換に必要な分子である。一方で、高濃度の酸素は活性酸素種の発生源となり、細胞毒として機能する場合もあるため、環境中の酸素濃度に対応するように生理機能を調節している。また、嫌気性生物においても、酸素の有無は生存圏と生存手段の決定に強く関与している。

本研究では、マメ科植物の根に共生する根粒菌に存在する酸素センサータンパク質システム FixL/FixJ を研究対象としている。根粒菌は、大気中の窒素を還元してアンモニアを生成する (窒素固定) 反応をすることで有名であるが、FixL/FixJ は環境中の酸素濃度を識別感知し、それに伴って窒素固定酵素ニトロゲナーゼの発現を遺伝子レベルで制御することが明らかになっている。FixL/FixJ は、細菌やカビから高等植物まで普遍的に存在する細胞内情報伝達系「二成分情報伝達系」に属する酸素センサータンパク質システムである。二成分情報伝達系は、「センサーヒスチジンキナーゼHK」と「レスポンスレギュレーターRR」の2種類のタンパク質で構成され、外部刺激を識別感知するHKの「センサードメイン」が外部からの刺激 (栄養物質・酸素・ホルモン・浸透圧・光など) を識別感知して、それに応じてHK「触媒ドメイン」によるリン酸転移を通して特定の生理機能を遺伝子レベルで制御する。

根粒菌の酸素センサーシステムでは、FixL がHK、FixJ がRR に相当する。FixL センサードメインにはヘム (鉄ポルフィリン錯体) を含み、鉄への酸素の吸脱着がニトロゲナーゼの遺伝子発現を制御している。FixLおよびFixJの各ドメインの構造は明らかになっているが、FixL全体構造、FixL/FixJ複合体構造ならびにセンシング時の動的構造は明らかになっていないため、FixLにおける酸素の結合/解離が、どのように触媒ドメインに伝わるのか? (分子内情報伝達)「FixLからFixJへどのようにリン酸基が転移するのか? (分子間情報伝達)」に関しては全く情報が無い。本研究は、これらの問題を分子・原子のレベルで解明することを目的とする。今年度は、大腸菌組換えにより、ダイズ根粒菌*Bradyrhizobium japonicum*由来FixLとFixJを全てのドメインを含む全長で安定かつ大量に高純度標品を調製する方法を確立し、鉄の様々な状態 (図) でのリン酸転移活性を測定した。X線結晶構造解析による立体構造解析を行うために必要な結晶の調製を目指して、結晶化条件のスクリーニングを行い、FixLの初期微結晶を得た。さらに、FixL/FixJシステムによる酸素センシング時の動的構造変化を明らかにする目的で、X線溶液散乱測定を開始した。現在、予備的なデータ収集により、FixL精製標品がX線小角散乱測定に適していることを確認できている。今後は、X線結晶構造解析とX線溶液散乱共に、FixLのリガンド結合型、ATPアナログ結合型、さらにFixJの共存などの条件での測定を試みる。

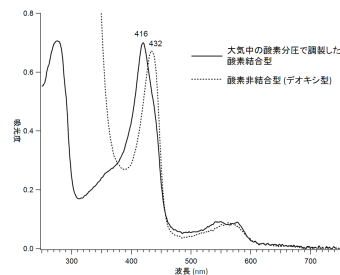


図 FixL の可視スペクトル

金コロイド粒子を利用した 生体粒子の高分解能コヒーレントX線回折イメージング法の開発

高山裕貴¹，眞木さおり²，荳口友隆³，中迫雅由³，米倉功治¹

理研 RSC・米倉生体機構研究室¹，理研 RSC・生物試料基盤グループ²，慶應大・理工²

コヒーレント X 線回折イメージング (CXDI) はレンズレスイメージング法の 1 つであり、X 線の高い透過性と短波長性により、電子線が透過しない μm サイズの試料「丸ごと」の内部構造を、レンズ収差による像のぼけや歪みも無く、光学顕微鏡より高い分解能で可視化可能である。細胞生物学においては光学顕微鏡と電子顕微鏡での観察で蓄積された知見のギャップを埋める成果が期待されている。

CXDI 法では、孤立した非結晶試料にコヒーレント X 線を照射して生じる Fraunhofer 回折パターンを、2 次元検出器上で Nyquist 周波数より細かくサンプリングして観測する(図 1)。この回折パターンに反復的位相回復法と呼ばれる計算アルゴリズムを適用することで試料の投影電子密度像を再生する。高分解能でのイメージングには、低空間周波数から高空間周波数までの広い回折角範囲で回折パターンを観測する必要があるが、回折 X 線強度は回折角が大きい程急速に減衰する。特に細胞のように炭素や窒素、酸素といった軽元素から構成される試料は、金属粒子に比べて散乱断面積が著しく低く、イメージングには非常に強いコヒーレント X 線が必要とされる。近年利用が可能となったコヒーレントパルス X 線光源である X 線自由電子レーザー(XFEL)は、フェムト秒の極短時間に光子密度 $10^{10} \sim 10^{11}/\mu\text{m}^2/\text{pulse}$ という強力な X 線の照射を可能とし、試料は原子レベルで破壊されるものの、X 線照射による損傷が生じる前の一瞬の姿を 30~60 nm の分解能で可視化することが可能となってきた。

しかし、分解能のさらなる向上には生体試料の回折能の低さが依然として大きな障壁となっていた。また、従来の位相回復法に重要な試料概形情報を有する小回折角領域は、検出器保護のために置かれるビームストップにより観測できないため、測定条件によっては安定に正しい像が再生できないという問題があった。

そこで我々は、CXDI 法の基本原理でもある X 線の干渉現象に着目し、生体試料と同時に X 線回折能の高い多数の金粒子をイメージングするという新たな測定・解析法を考案した(図 2)。このとき観測される回折パターンには、生体試料と金粒子それぞれで回折された X 線の干渉項が含まれる。金粒子の単位体積当たりの散乱断面積は生体試料の 10 倍程度高いため、生体試料由来の回折シグナルを測定可能レベルまで効果的に押し上げることができ、高分解能情報を有する大

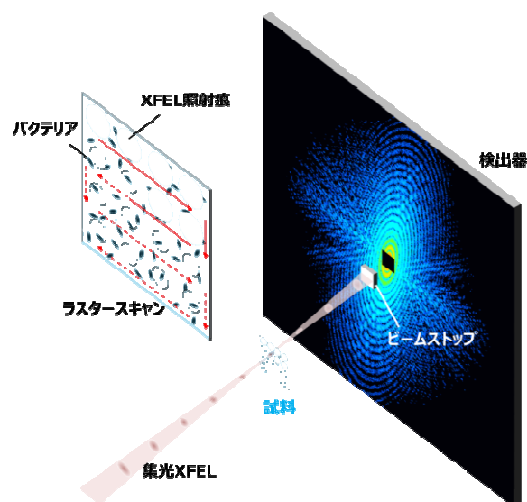


図 1 XFEL を光源とした CXDI 実験。炭素薄膜上に測定対象試料を散布した試料上に XFEL パルス照射し、回折パターンを 2 次元検出器で記録する。XFEL 被照射範囲は X 線回折後に爆散するため、試料を移動させながら回折パターンを収集する。回折パターンの極小回折角領域は試料を透過した X 線から検出器を保護するビームストップにより観測できない。

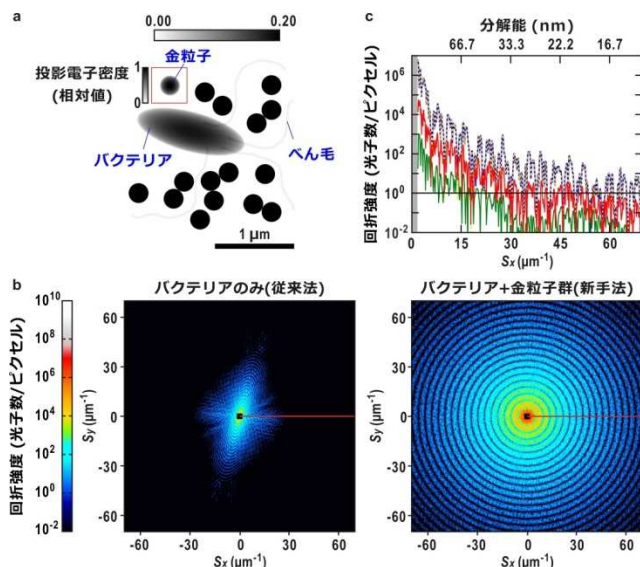


図 2 新手法の試料モデルと計算機実験で得られた回折パターン。新手法では測定対象試料(バクテリア)の周囲に金粒子を多数散布した試料(a)を作製し、XFEL を照射する。この試料から計算される回折パターン(b, 右)では、バクテリアのみ(b, 左)に比べて 2 倍以上の広い回折角で強強度の回折パターンが観測された。回折パターンは端で約 14 nm の構造情報を有している。(c)は回折パターン赤線上の回折強度をプロットしたもので、全回折シグナルを青の実線、金粒子由来を黄の破線、バクテリア由来を緑の実線、両者の干渉によるシグナル(絶対値)を赤の実線で示した。干渉効果によりバクテリアの回折シグナルがおおよそ 1 桁押し上げられたことが確認できた。

きな回折角のシグナルまで観測可能となる。また、個々の金粒子からの回折 X 線が干渉し合うことで、回折パターンには金粒子間の相対位置の情報が含まれており、その Fourier 変換で得られる投影電子密度の自己相関関数を解析することで金粒子の配置が導出される。こうした操作は、分子の構造解析法として成熟した X 線結晶構造解析法において、重原子法として広く行われている手法に類似したものである。そこで、我々は重原子法に用いられるアルゴリズムを組み込んだ独自の解析ソフトウェアを開発して、回折パターンから導出された金粒子配置を既知の試料情報として位相回復計算に利用する新たな試料像再生法を開発し、従来に比べて信頼度の高い試料像の再生を試みた。

以上の理論の実証に向けて、我々は SACLA での CXDI 実験を基に、べん毛を有するバクテリアを模した試料での計算機実験を行い、金粒子によってバクテリアの回折シグナルをおおよそ 1 桁強められることを確認した(図 2)。また、開発した新規試料像再生法を回折パターンに適用することで、従来法の 2 倍以上の分解能で投影電子密度像を再生することに成功した(図 3)。この投影電子密度像では、従来法では困難な、金粒子の僅か 1%の投影電子密度しかないバクテリアの細胞の周囲のべん毛まで再現性良く可視化することができた(図 3)。

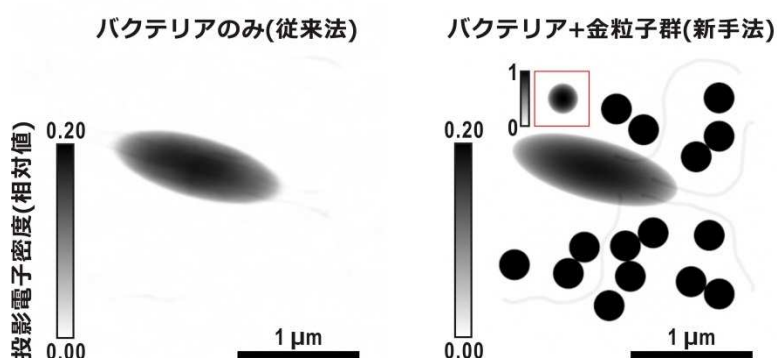


図 3 従来法と新手法で再生された投影電子密度像の比較。従来のバクテリアのみでイメージングされた投影像(左)に比べて、新手法で再生されたバクテリア投影像(右)では、バクテリア内外のべん毛まで精緻に再生されていることが分かる。新手法での再生像の分解能を計算すると 13 nm であり、従来法の 29 nm に比べて 2 倍以上の向上に成功した。

【参考文献】

- [1] Takayama et al., *Scientific Reports*, in press.

Electron crystallography of thin 3D protein crystals: atomic model with charges

Koji Yonekura¹, Kazuyuki Kato², Mitsuo Ogasawara³, Masahiro Tomita^{4,3}, Chikashi Toyoshima³

¹ Biostructural Mechanism Laboratory, RIKEN SPring-8 Center,

² Hitachi High-Tech Fielding Corporation

³ Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo

⁴ Hitachi High-Technologies Corporation

Protein atoms scatter electrons 4 - 5 orders of magnitude more strongly than they do X-rays, thus allowing individual protein molecules to be imaged by electron microscopy. Though not fully exploited so far, electron protein crystallography has great potential and indeed has yielded superb high-resolution (~ 2.0 Å resolution) atomic structures from 2D crystals. However electron crystallography of 3D crystals is problematic as stacking of even a few layers makes diffraction patterns discrete in all directions, and methods developed for conventional electron crystallography of 2D crystals are not useful. This problem can be overcome, however, by developing an electron diffractometer that allows the intensities of diffraction spots to be integrated spatially by rotating the crystal, similarly to the rotation camera used for X-rays.

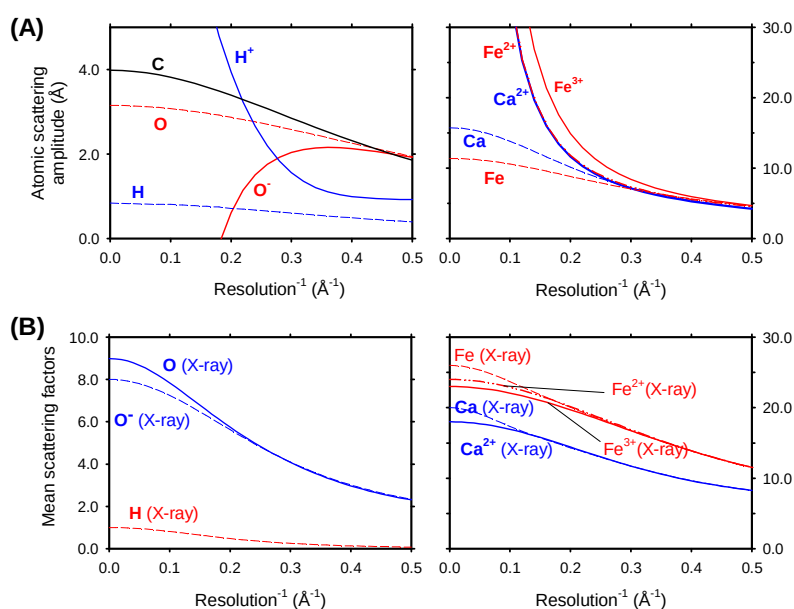


Fig. 1. Atomic scattering factors and theoretical maps. (A) Atomic scattering factors for 300 keV electrons based on values from International Tables for Crystallography. (B) Scattering factors for X-rays. Scattering factors for X-rays are much less affected by the charged state compared with those for electrons.

Another important feature of electron scattering is that the diffraction pattern formed by elastically scattered electrons is directly related to the distribution of Coulomb potential. This is in marked contrast to X-rays, which, because they are scattered by electrons, yield an electron density map. Coulomb potential maps may be more difficult to interpret, when compared with electron density maps by X-ray crystallography, as the appearance of the same residues may differ depending on their charged state, resolution and surrounding environment, but they provide unique information, not attainable by X-rays. The features of Coulomb potential maps result from the fact that atomic scattering factors for electrons vary considerably over a range of spatial frequency depending on the charged state (Fig. 1A) and can become close to zero or even negative (e.g. for O^- , Fig. 1A). An advantageous consequence is that it is possible to determine experimentally the charged states of protein residues and metals. As proteins use metals of different ionic states for many purposes, notably for catalysis and electron transfer, information on the charged state of metals and amino acid residues can be critical in understanding protein function.

We obtain the Coulomb potential maps at 3.4 Å and 3.2 Å resolution, respectively, of Ca^{2+} -ATPase and catalase obtained from ultra-thin (just a few layers thick) crystals using a new electron diffractometer. These maps demonstrate that it is indeed possible to build atomic models from such crystals and even to determine the charged states of amino acid residues in the Ca^{2+} -binding sites of Ca^{2+} -ATPase and that of the iron atom in the heme in catalase.

[Reference]

[1] Yonekura *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, accepted.

分子システム融合チーム

(チームリーダー：前田 瑞夫)

DNA鎖の局所構造揺らぎを誘起する光スイッチ機構に基づく ナノ粒子自己集合制御システム

金山直樹, 岸里美, 宝田徹, 前田瑞夫

理研・前田バイオ工学研究室

生物の遺伝情報媒体である DNA は、アデニン(A)、チミン(T)、グアニン(G)、およびシトシン(C)の4種類の核酸塩基のいずれかが結合したデオキシリボースとリン酸が交互に連結した高分子電解質、ポリアニオンである。AとT、GとCの核酸塩基の組み合わせは相補的、それ以外は非相補的(ミスマッチ)と表現され、相補的な塩基配列の DNA 鎖は Watson-Crick 塩基対(A-T, G-C)形成を介して自発的に二重鎖を形成する。タンパク質や糖鎖などと同様、水中におけるDNAの二重らせん構造は、DNA鎖のミクロブラウン運動やDNA二重鎖内部へ侵入する水分子による塩基対の局所的な開閉(ブリーディング)によって動的に揺らいでいる。このようなDNA二重らせん構造の揺らぎは、遺伝情報の転写や複製などの生命プロセスをスムーズに進行させる重要な因子と考えられている[1]。本プロジェクトにおいて我々は、生体システムの特徴である「しなやかさ」や「柔軟性」に学び、その構成要素の一つである DNA 鎖の“構造の揺らぎ”を積極的に取り入れた、動的な機能特性をもつ分子システムの構築を目指している。

固体表面に DNA 二重鎖がブラシ状に集積して形成される層を DNA ブラシ界面とよぶ。我々はこれまでに、DNA ブラシ界面で覆われたナノ粒子(以下、DNA ナノ粒子)が、表層の二重鎖構造の僅かな差を反映して水溶液中で異なるふるまいを示すことを報告してきた[2]。例えば Fig.1 に示すように、相補的塩基対(A-T あるいは G-C)を表層に提示した DNA ナノ粒子は、一定のイオン強度以上の水溶液中では自発的に集合し、粗大な凝集体を形成する。一方、表層が非相補的な構造(A-C, T-T など)の DNA ナノ粒子では、同じイオン強度の水溶液中でも粒子の集合は誘起されず、安定に分散状態を保持する。この現象は、DNA ナノ粒子間に、表層の DNA 二重鎖構造に対応した引力的・斥力的な相互作用が存在することを示唆している。この現象を手掛かりに我々は、DNA ブラシ表層で外部刺激による位置選択的な構造変化を惹起させ、DNA ナノ粒子の集合・解離挙動を制御する分子システムの構築を検討してきた[3]。昨年度より、外部刺激として光の採用を提案している。本年度は、昨年度に考案した光刺激によって DNA 二重鎖の局所構造変化を誘起する光スイッチシステムに関して、より詳細な検討を行った。

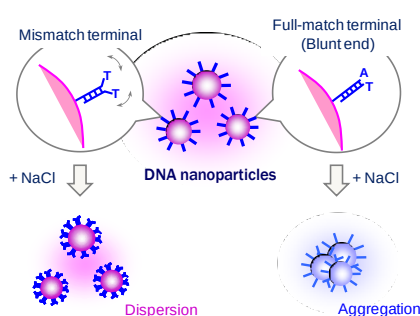


Fig.1 DNA ナノ粒子分散液における、表層塩基対に依存した特異な分散挙動。

Azobenzene は、照射波長に応じて可逆的な *trans-cis* 光異性化挙動を示すフォトクロミック化合物として知られている。オリゴ DNA 二重鎖内に、Azobenzene 部位を含む人工ヌクレオチド(Azobenzene threoninol, 以下 Azo-TN (Fig.2))を導入すると、Azo-TN が平面構造の *trans* 体の場合には Azo 部位が塩基対間にインターカレートし二重鎖構造を安定化させ、一方、Azo-TN が屈曲構造の *cis* 体の場合には立体障害により二重鎖構造を不安定化させることが Asanuma らにより報告されている[4]。我々は、この Azo-TN をオリゴ DNA 二重鎖末端近傍に 1 箇所導入することによって、全体の二重鎖構造を保持しつ

つ末端部位のみを局所的に不安定化させ、構造揺らぎを生起できるのではないかと考えた。予備検討として、Azo-TN を末端部に導入した DNA 二重鎖(16 bp)に、紫外光(350 nm)・可視光(450 nm)照射を行い、Azo 部位の *trans-cis*, *cis-trans* 光異性化の進行に伴う、DNA 二重鎖の光融解の有無を RP-HPLC で分析したところ、末端における Azo 部位の光異性化に関わらず DNA 二重鎖構造が保持されることがわかった。

これと同じ配列をもつ DNA 二重鎖を、既報に従い金ナノ粒子表面に固定化し Azo-DNA-GNP を調製した。Fig.3 に示すとおり、Azo-DNA-GNP の表層は相補的な塩基対構造が提示されている。Azo-DNA-GNP は、低イオン強度水溶液中では、単分散状態の金ナノ粒子に特有の 520 nm 付近に吸収極大を示すシャープなプラズモンピークが確認され、溶液は赤色を呈した。一方、0.5 M 以上の NaCl 共存下では、580 nm 付近に極大を示すブロードなプラズモンピークが確認され、溶液は薄紫色を呈した(Fig.4(a), 左)。これは、DNA ナノ粒子が自己集合し、凝集構造を形成したことを意味している。これらの結果は、従来、我々が報告してきた DNA ナノ粒子の分散挙動とよく一致する[2]。

高イオン強度溶液中で形成された DNA ナノ粒子集合体に、Azo 部位の *trans-cis* 光異性化を誘起する 350 nm の光を照射したところ、溶液の色が徐々に赤色へ変化し(Fig.4(a), 中央), 600 秒後には 520 nm にピークトップを有するシャープなプラズモンピークが確認された(Fig.4(b), 赤線)。このことは、紫外光照射によって Azo-DNA-GNP が凝集状態から分散状態へ転移したことを意味する。さらに、分散状態の Azo-DNA-GNP に 450 nm の可視光を照射し Azo 部位の *cis-trans* 異性化を誘起したところ、徐々に溶液の色が薄紫色へ変化し(Fig.4(a), 右), 600 秒後には表面プラズモンピークは 580 nm 付近へブルーシフトした(Fig.4(b), 青線)。このことは、Az-DNA-GNP が再び凝集状態へ戻ったことを意味する。上記の光照射による可逆的な Azo-DNA-GNP の集合—解離プロセスは、動的光散乱(DLS)測定による、DNA ナノ粒子集合体のサイズ変化測定からも確認することができた。また、この集合—解離プロセスは、5 サイクル以上繰り返し誘起することが可能であり、光刺激に応答し動的な特性変化を示す分子システムとして有望であることが示された。

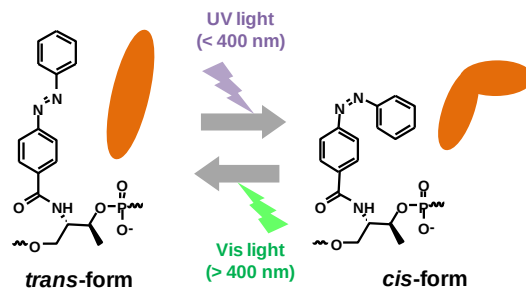


Fig.2 Azo-TN の構造と光異性化挙動



Fig.3 Azo-DNA-GNP の模式図。

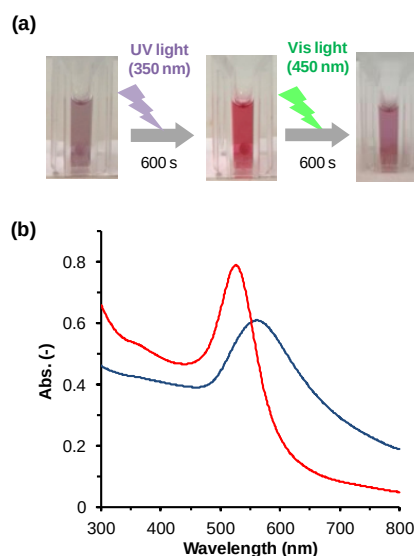


Fig.4 (a) Azo-DNA-GNP 分散液の光照射による色の変化. (b) Az-DNA-GNP 分散液の UV スペクトル (赤: 紫外光照射後, 青: 可視光照射後).

【引用文献】 [1] Ambjornsson, T.; Banik, S. K.; Krichevsky, O.; Metzler, R. *Biophysical J.* **2007**, 92, 2674. [2] (a) 金山直樹・前田瑞夫, *バイオマテリアル—生体材料*, **2014**, 32, 95. (b) Kanayama, N.; Takarada, T.; Maeda, M. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 2077. [3] Kanayama, N.; Takarada, T.; Fujita, M.; Maeda, M. *Chem. Eur. J.* **2013**, 9, 10794. [4] Asanuma H.; Liang X.; Nishioka H.; Matsunaga D.; Liu M.; Komiyama, M. *Nat. Protoc.* **2007**, 2, 203.

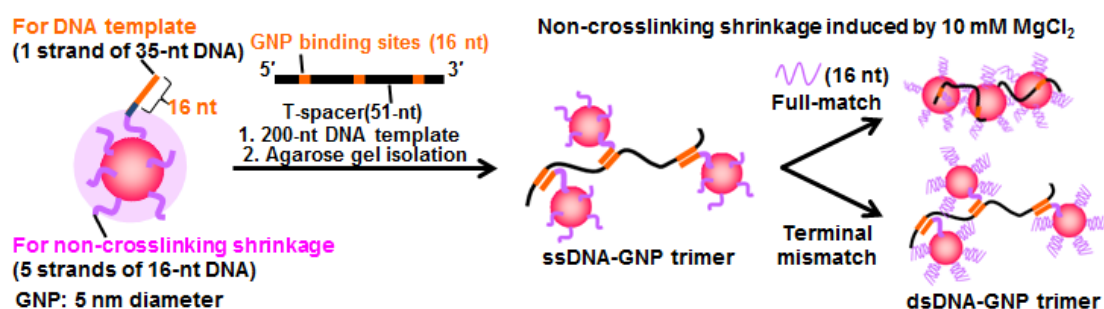
末端塩基対合で誘起されるDNA修飾金ナノ粒子オリゴマーの 粒子間距離変化

秋山好嗣¹, 白石翔大^{1,2}, 宝田徹¹, 前田瑞夫^{1,2}

理研・前田バイオ工学研究室¹, 東京理科大・理²

金属ナノ粒子の線形集合体は、孤立した粒子やバルク状態と大きく異なる物理特性を示すため、基礎と応用の両面から関心が持たれている[1]。線形集合体の簡便な作製方法の1つとして、一本鎖(ss)DNAを表面に担持した金ナノ粒子(DNA-GNP)を、鋳型となるssDNAと二重鎖形成させる方法がある[2]。この線形集合体の粒子間距離は鋳型DNAの塩基配列であらかじめ規定されるが、これを外部刺激によって自在に拡張・短縮することができれば、ナノ粒子集合体の特異物性の動的制御につながる。本研究では、鋳型DNAにDNA-GNPを等間隔に配置した糸ビーズ状の線形構造体を作製し、当研究室で見いだされた非架橋凝集[3]を利用して粒子間距離を可逆的に短縮することを試みた[4]。

鋳型DNA(200塩基)に粒径5 nmのGNPを等間隔に3つ配置して線形集合体を作製した(Scheme 1)。まず、鋳型DNAに結合するための一本鎖(ss)DNA(アンカーDNA、35塩基)をGNP 1つあたり1分子だけ固定した[5]。次に、構造変換用のssDNA(16塩基)をGNP 1つあたり複数分子(平均5分子)固定して[3]、ssDNA-GNPモノマーを得た。つづいて、0.5 × TBEバッファー(75 mM NaCl, pH 8.3)中で鋳型DNAとssDNA-GNPモノマーを混合し、室温で1日静置した。生成物をアガロースゲル電気泳動(3%アガロース, 100 V, 45分, 4°C)で分離精製して、目的とするssDNA-GNPトリマーを得た。構造体内で粒子の非架橋凝集を誘起させるために、ssDNA-GNPトリマーに16塩基の相補鎖(あるいは末端ミスマッチ鎖)をハイブリダイズさせて粒子表面の構造変換用DNAを二重鎖(ds)とし、10 mM MgCl₂を加えて室温で10分間静置した。構造体内の粒子間距離は、凍結試料を用いたcryoEM(JEM 2100F HC-STEM)観察で得られた画像をもとに算出した。



Scheme 1. Preparation of dsDNA-GNP trimers and their structural changes.

ssDNA-GNP モノマーは、鋳型 ssDNA に結合できるアンカーDNA を 1 粒子あたり 1 分子しか持たないので、多点結合による架橋体(4 粒子以上からなる構造体)が副成しえない。さらに、粒子と鋳型 DNA の間で生じる立体障害を排除するために、ssDNA-GNP のアンカーDNA(35 塩基)は構造変換用 DNA(16 塩基)より長くなるように配列設計されている。これらの利点を実

証するために、鋳型 DNA との結合配列を突出させない、短縮型のアンカーDNA (16 塩基) をもつ ssDNA-GNP モノマーを比較のために新たに作製した。結合効率の違いをアガロースゲル電気泳動から評価した結果を Figure 1 に示す。突出構造を持たない ssDNA-GNP を使用した場合は、鋳型 DNA に 1 粒子だけが結合した構造体由来するバンド (Monomer + Template) は認められたものの、トリマーのバンドは全く見られなかった。それに対して、突出構造を有する ssDNA-GNP (従来型) では、期待通りにトリマーに由来するバンドが検出された。また、このバンドの上流に出現すると考えられる、4 粒子以上からなる架橋体由来するバンドは全く認められなかった。以上の結果から、突出構造を有するアンカーDNA を 1 分子だけ固定する設計が有効であることが確認された。

次に、ssDNA-GNP トリマーの隣接粒子間で非架橋凝集を誘起させ、粒子間距離を cryoEM 画像から評価した。ssDNA-GNP トリマーに相補鎖あるいは末端一塩基ミスマッチ鎖を添加して得られた dsDNA-GNP トリマーを 10 mM MgCl₂ 存在下で静置した後にサンプルを瞬間凍結させて cryoEM 観察を行なった。相補鎖を加えて作製した dsDNA-GNP トリマーの平均粒子間距離は 22.5 ± 9.4 nm (Figure 2a)、末端ミスマッチ鎖は 26.1 ± 8.2 nm (Figure 2b) となり、末端ミスマッチをもつ構造体の方が完全相補の場合よりも粒子間距離が長くなることが明らかになった。最末端で塩基対合していないモノヌクレオチドがミクロブラウン運動することによって、粒子間のエントロピー反発が増大したためと考えられる。同様の結果は、試料作製時に乾燥工程が必要となる TEM 観察からも得られている (データ省略)。したがって今回の cryoEM 観察の結果は、DNA-GNP トリマーの構造変化が少なくとも乾燥工程だけによるのではなく、溶液中においても生じていることを強く示唆している。

参考文献

- [1] H. Kitching, M. J. Shiers, A. J. Kenyon, and I. P. Parkin, *AJ. Mater. Chem. A* **2013**, 1, 6985.
- [2] A. Kumar, J.-H. Hwang, S. Kumar, and J.-M. Nam, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 2597.
- [3] K. Sato, K. Hosokawa, and M. Maeda, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 8102.
- [4] Y. Akiyama, H. Shikagawa, N. Kanayama, T. Takarada, and M. Maeda, *submitted*.
- [5] A. P. Alivisatos, K. P. Johnsson, X. Peng, T. E. Wilson, C. J. Loweth, M. P. Bruchez, Jr., and P. G. Schultz, *Nature* **1996**, 382, 609.

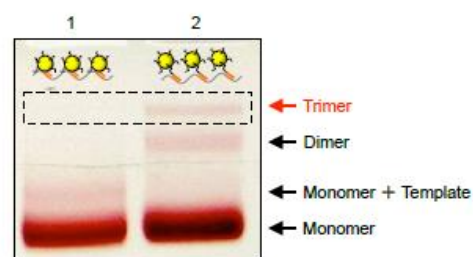


Figure 1. Agarose gel electrophoresis of the ssDNA-GNP trimer constructed from the ssDNA-GNP monomers having the truncated 16-nt anchor DNA and the 200-nt template DNA.

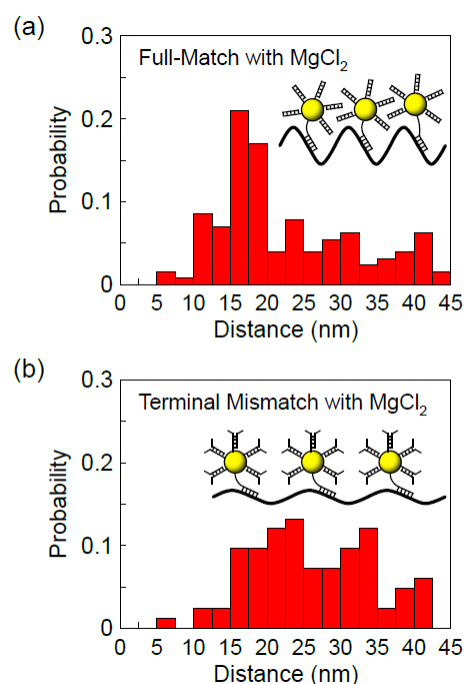


Figure 2. Interparticle distance distributions of the ssDNA-GNP trimer constructed using 200-nt template DNA. (a) With the complementary DNA in the presence of 10 mM MgCl₂. (b) With the single-base-substituted DNA in the presence of 10 mM MgCl₂.

DNA修飾金ナノ粒子の塩基数識別能を利用した遺伝子診断法の開発

秋山好嗣, 宝田徹, 前田瑞夫

理研・前田バイオ工学

遺伝子の一塩基多型 (SNP) を簡便、迅速、正確に識別する分析法の開発は、テーラーメイド医療を実現する上で重要である。その理由は、SNP 部位の塩基の種類がわかれば、副作用のない薬剤の選択や病気の発症リスクの予測が可能になるからである[1]。先行技術としてリアルタイム PCR 法やマイクロアレイ法などが開発されているが、高価な検出装置や特殊な解析法を必要とすることから、臨床現場での実用性に課題を残している[2]。当研究室はこれまでに、一本鎖 DNA で修飾された金ナノ粒子 (ssDNA-GNP) の凝集分散を利用した SNP 目視識別法を開発した[3,4]。ssDNA-GNP の分散液に相補鎖を添加して粒子表面で二重鎖 (ds) DNA を形成させると、高塩濃度下で自発的な粒子凝集が誘起され、GNP の表面プラズモン共鳴シフトにより溶液の色は赤から青紫へ変化する。

一方、dsDNA-GNP の最末端が一塩基ミスマッチの場合は分散状態を保ち、溶液は赤色を呈する。これにより、一塩基の種類の違いを目視で識別することができる。しかし、末端ミスマッチ部位が比較的安定な擬似塩基対 (たとえば G-A) を形成する場合は粒子が凝集してしまうため、完全相補 (G-C) と誤診する懸念があった[5]。昨年度までに我々は、この分析法の信頼性を高めることを目的として、塩基の種類ではなく数の違いに基づいた識別法を考案した (図 1) [6]。本研究では、報告者のひとりの毛根細胞から抽出した遺伝子サンプルを使用して、実際に遺伝子診断ができることを実証した。

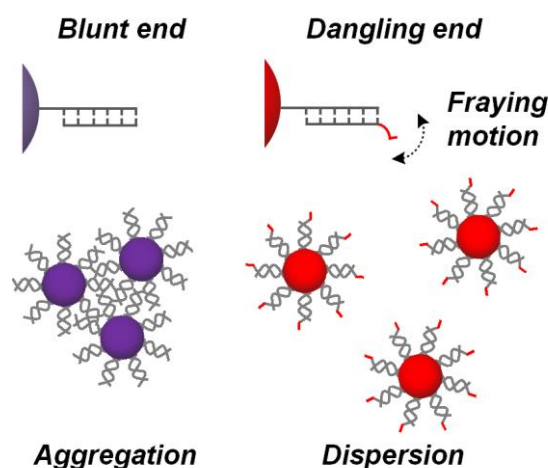


図 1. 一塩基突出構造を導入した dsDNA-AuNP の分散安定性。

SNP 識別のターゲットとして、薬剤の副作用に関連するシトクロム P450 遺伝子 (CYP2C19*2) を選択した。この 681 番目の塩基は、野生型が G、変異型が A であることが明らかになっている。市販の遺伝子抽出キット (ISOHAIR EASY) を使って毛根細胞からゲノム DNA を抽出し、PCR 法を用いてシトクロム P450 遺伝子を増幅した[7]。これを鋳型としてジデオキシヌクレオシド三リン酸 (ddNTP : N = A, G, C, T) を 1 種類ずつ別々に使ったジデオキシ鎖終結法により、プライマー (16 塩基) の一塩基伸長反応を行った。次に、この反応溶液と ssDNA-GNP 分散液 (ssDNA の塩基配列は未反応のプライマーと完全相補) を混合して室温で 10 分静置し、さらに NaCl を添加した (最終濃度 : 0.5 M)。反応溶液中での dsDNA-GNP の凝集と分散を、プラズモン共鳴シフトに基づく色調変化で判定した。

まず、化学合成した完全相補鎖 (16 塩基) または一塩基伸長鎖 (17 塩基) を任意の割合で混和した溶液を ssDNA-GNP の分散液に添加して、一塩基突出の割合が異なる dsDNA-GNP を作製した。一塩基突出の割合が 40% 以下の場合、0.5 M NaCl 共存下で迅速な凝集が生じて、数分で溶液の色が赤から青紫に変化した (図 2)。それに対して、一塩基突出の割合が 60% 以上になると、粒子は

分散状態を保ち溶液は赤色を示した。これは、一塩基伸長反応の反応率が 60%以上であれば、反応進行を目視で判断できることを示している。

次に、実際の遺伝子サンプルを使った SNP 識別を行なった。SNP 部位の 3'側隣接領域と相補するオリゴヌクレオチド (16 塩基) を化学合成し、これを診断用プライマーとした。毛根細胞から調製した遺伝子産物を鋳型として、診断用プライマー、ddNTP、および DNA ポリメラーゼを用いて一塩基伸長反応を行なった。上述の結果に基づいて、一塩基伸長反応の反応率が 60%以上になるように反応条件を設定した。反応終了後の溶液に ssDNA-GNP (ssDNA は未反応の診断用プライマーと完全相補) と NaCl を添加して、溶液の色調変化を目視判定した (図 3)。その結果、ddATP、ddGTP、ddTTP を使用した場合は青紫色を示したことから、これらの反応溶液では一塩基伸長反応は進行していないことがわかった。一方、ddCTP を使用した反応液は赤色を示した。これは、診断用プライマーが 3'末端側に一塩基 (C) 伸長されて 17 塩基となり、一塩基突出構造のために dsDNA-GNP が安定に分散していることを意味している。以上の結果から、SNP 部位の塩基の種類は C と相補の G であり、この被検者のシトクロム P450 遺伝子は、野生型 (ホモ接合体) であると判定された。

結論として、ssDNA-GNP の塩基数識別能を利用することにより、遺伝子におけるわずかに一塩基の違いを溶液の色調変化で目視判定することに成功した。本法は、簡便で迅速な SNP 識別法として、医療のみならず環境や食品などさまざまな分野で応用されることが期待できる。

【参考文献】

- [1] McCarthy, J. J.; Hilfiker, R. *Nat. Biotechnol.* **2000**, 18, 505.
- [2] Syvänen, A. C. *Nat. Rev. Genet.* **2001**, 2, 930.
- [3] Sato, K.; Hosokawa, K.; Maeda, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 8102.
- [4] Sato, K.; Hosokawa, K.; Maeda, M. *Nucleic Acids Res.* **2005**, 33, e4.
- [5] Sato, Y.; Hosokawa, K.; Maeda, M. *Colloids Surf. B* **2008**, 62, 71.
- [6] Akiyama, Y.; Shikagawa, H.; Kanayama, N.; Takarada, T.; Maeda, M. *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 17420.
- [7] de Morais, S. M. F.; Wilkinson, G. R.; Blaisdell, J.; Nakamura, K.; Meyer, U. A.; Goldstein, J. A. *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 15419.

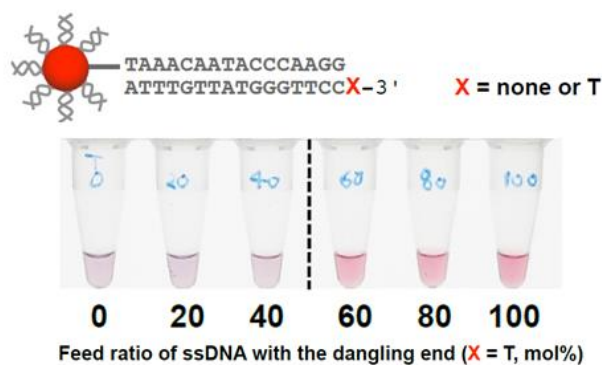


図 2. 様々な一塩基の突出割合を有する dsDNA-AuNP の分散安定性。

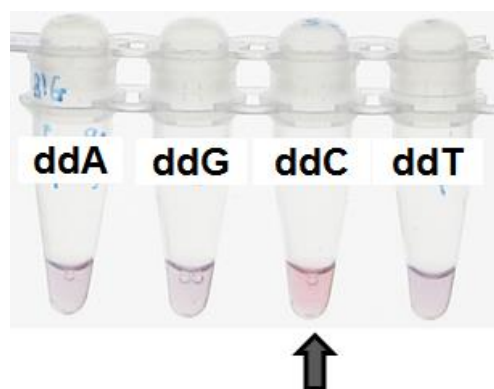


図 3. ヒト毛髪を使用したシトクロム P450 遺伝子の目視 SNP 識別。

Spontaneous Shrinkage of DNA-Functionalized Gold Nanoparticle Oligomers with Surface Plasmon Resonance Shifts

Guoqing Wang, Yoshitsugu Akiyama, Tohru Takarada, and Mizuo Maeda

Bioengineering Laboratory, RIKEN

Gold nanoparticles (GNPs) have widely been used as stimuli-responsive colorimetric reporters based upon their localized surface plasmon resonance.¹ Polyvalent single-stranded DNA–GNP conjugates (ssDNA–GNPs) further afford fast and selective recognition, with additional benefits of reliability and chemical stability in solution. Double-stranded (ds) DNA–GNPs obtained by hybridizing complementary ssDNA strands to ssDNA–GNPs undergo a dramatic reduction in their colloidal stability against ionic strength to aggregate in a non-crosslinking manner. In sharp contrast, dsDNA–GNPs obtained by hybridizing terminal-mismatch ssDNA strands to the ssDNA–GNPs can keep dispersed even at high salt concentration.² To date, the finding of non-crosslinking aggregation has enabled a number of applications in fields ranging from gene diagnostics³ to logic gates.⁴ However, precise control of the spontaneous aggregation of dsDNA–GNPs has remained to be challenged. In the present study, we prepared dsDNA–GNP oligomers with a different particle size using ssDNA–GNPs and an ssDNA template to show that the oligomers underwent a decrease in interparticle distance with regard to structural shrinkage at increased ionic strength. This work could lead to controllable structural change of GNP assemblies for developing various nano-devices, including switch, motor, and sensor.

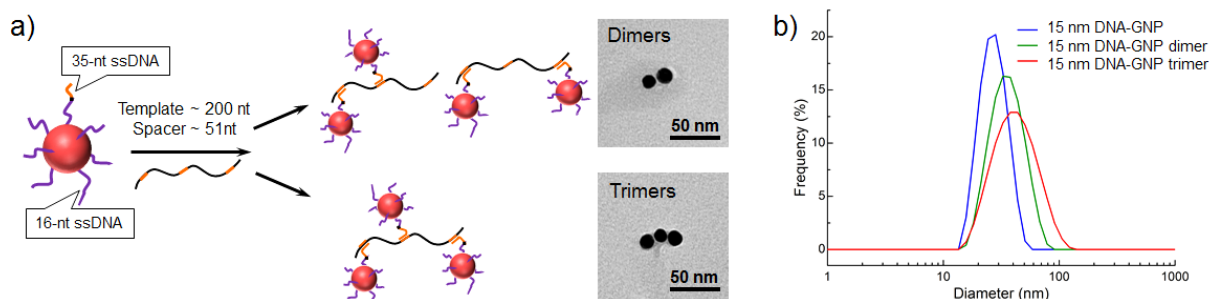


Figure 1. a) Schematic illustration of ssDNA-templated formation of ssDNA–GNP dimers and trimers. Representative TEM images of ssDNA–GNP (15 nm) dimer and trimer are also shown. b) Hydrodynamic diameter distribution of the ssDNA–GNP (15 nm) monomer, dimer, and trimer.

In our experiments, GNPs of 5 nm, 10 nm, 15 nm, and 20 nm in diameter were used to construct dsDNA–GNP oligomers. A 35-nucleotide (nt) ssDNA was firstly mono-conjugated to the surface of GNPs (Figure 1a). A number of 16-nt ssDNAs were then attached to the GNP surface to give a high-density coverage. After hybridization with an ssDNA template containing three binding sites, trimers (and dimers as by-products) were produced and purified by agarose gel electrophoresis. Transmission electron microscopy (TEM) was used to confirm the formation of dimer and trimer structures (Figure 1a). Dynamic light scattering (DLS) measurements revealed that a hydrodynamic diameter of the ssDNA–GNP monomer, dimer, and trimer increased monotonously (Figure 1b).

To demonstrate the non-crosslinking shrinkage of discrete dsDNA–GNP assemblies, a dsDNA–GNP (15 nm) dimer with a long ssDNA spacer (184 nt) was newly prepared and used as the model (Figure 2a). The dimer structure was confirmed with TEM observation. We found that the dimer in solution exhibited a plasmon resonance band centered at 522 nm. After hybridization with a full-match sequence, the plasmonic peak was red-shifted to 526 nm in the presence of 350 mM NaCl (Figure 2b, left). In contrast, no plasmonic peak shift was induced by hybridization with a terminal-mismatch sequence under the same conditions (Figure 2b, right). This result agreed well with their high colloidal stability.² Since DLS measurements revealed that no aggregation took place among the different full-match dsDNA–GNP dimers, we concluded that the observed red shift was due to the spontaneous shrinkage of the discrete dsDNA–GNP dimer.

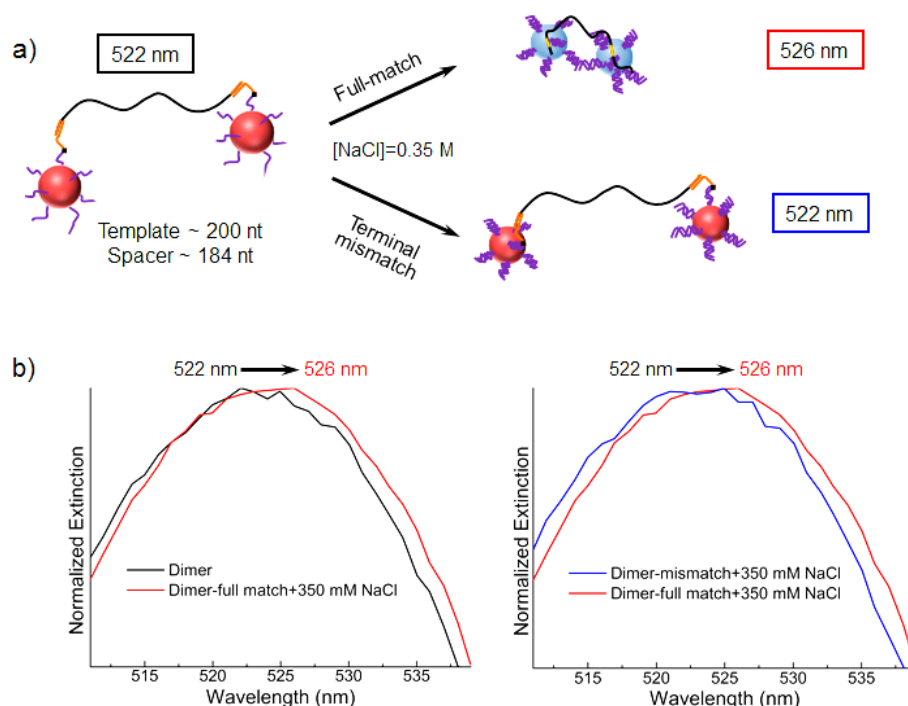


Figure 2. a) Diagram of the spontaneous shrinkage of dsDNA–GNP dimer that is accompanied with plasmonic shift. Insert numbers indicate the corresponding plasmonic peak positions. b) Salt-induced (left) and terminal base pairing-induced (right) red shift of the plasmonic peak for the dsDNA–GNP dimer.

In conclusion, ssDNA–GNP dimers and trimers with different particle sizes ranging from 5 nm to 20 nm were successfully produced through hybridization between ssDNA–GNPs and ssDNA templates. With a dimer having a 184-nt ssDNA spacer, we demonstrated the non-crosslinking shrinkage of the discrete dsDNA–GNP dimer in solution by monitoring a plasmon resonance peak shift. Simulations will be carried out in the near future to compare with the present experimental results.

[References]

- 1) G. Wang, Y. Wang, L. Chen, and J. Choo, *Biosens. Bioelectron.* **2010**, 25, 1859.
- 2) K. Sato, K. Hosokawa, and M. Maeda, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 8102.
- 3) K. Sato, K. Hosokawa, and M. Maeda, *Nucleic Acids Res.* **2005**, 33, e4; Y. Akiyama, H. Shikagawa, N. Kanayama, T. Takarada, and M. Maeda, *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 17420.
- 4) N. Kanayama, T. Takarada, and M. Maeda, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 2077; N. Kanayama, T. Takarada, M. Fujita, and M. Maeda, *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 10794.

架橋型DNA担持ポリマーミセルの創製

藤田雅弘, 森田雄耶, 前田瑞夫

理研・前田バイオ工学研究室

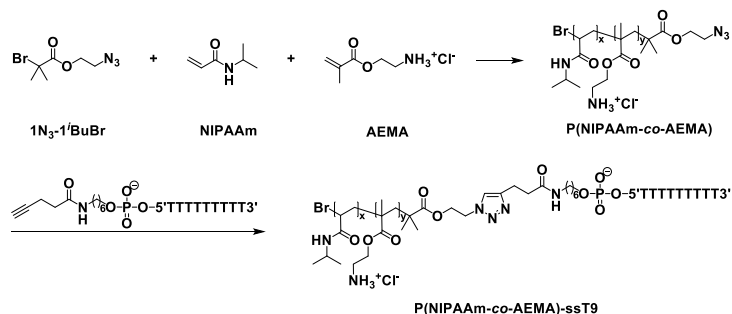
ポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAAm) は温度応答性高分子として知られ、その水溶液は32 °C付近に下限臨界溶液温度 (LCST) を有し、その温度以上で白濁する。PNIPAAmに一本鎖DNA (ssDNA) が少量グラフトされた共重合体 (PNIPAAm-g-DNA) もLCSTを有する。DNAの比率に依存するが、LCST以上で疎水性のPNIPAAmセグメントどうしが会合し、その表層に親水性のssDNA鎖が密生したようなコア・シェル型のナノミセル (DNA担持ナノ粒子) が形成される。そのナノ粒子は安定的に水中で分散するため、LCST以上でも系は無色透明のままである。

そのようなナノ粒子表層のDNAに対し、完全に相補的なDNAで二重鎖形成させると、ある塩濃度以上でナノ粒子は速やかに凝集（非架橋凝集）し、系はたちまち白濁する。一方、末端に一塩基だけ変異が導入された相補鎖と二重鎖形成させた場合には、高塩濃度でさえもナノ粒子は安定に分散状態を保ち、無色透明のままである（図1）。DNAの末端塩基対構造に鋭敏に応答して粒子のコロイド分散安定性を変化させることから、遺伝子診断材料への応用が期待さ

れている。しかしながら、PNIPAAmセグメントの疎水性相互作用による会合で形成されたミセルは、LCST以下では崩壊してしまう。そこで本研究では、一次構造の明確なPNIPAAm-DNA共重合体[1, 2]からなるミセルを化学架橋で安定化させることを試み、その架橋型DNA担持ポリマーミセルの構造や界面物性について評価した。

NIPAAmと2-aminoethyl methacrylate hydrochloride (AEMA) から成り、片末端にアジド基を有する共重合体 (P(NIPAAm-*co*-AEMA)) を原子移動ラジカル重合法 (ATRP) により合成した。アルキンを有する一本鎖オリゴDNA (9塩基) とクリック反応によりカップリングさせ、P(NIPAAm-*co*-AEMA)-ssDNAを得た (スキーム 1)。得られた共重合体を0.1 M 炭酸緩衝液 (pH 9) に溶解させた。50 °Cに加温してナノ粒子を形成させた後に、disuccinimidyl glutarate (DSG) を添加し、そのまま一定時間保持すること

で架橋反応させた。示差走査熱量計（DSC）、紫外可視分光光度計（UV-Vis）や動的光散乱法（DLS）などを用いて、得られた試料の物性評価を行った。ミセル形成や粒子内部の構造などに関する詳細は、大型放射光施設SPring-8（BL-45XU）での小角X線散乱（SAXS）法により解析した。



スキーム 1 ATRP とクリック反応による DNA コンジュゲートの合成.

完全相補型

DNA oligo

(非架橋) 凝集

末端一塩基ミスマッチ型

分散

図 1 末端塩基対形成に応答する DNA 担持ナノ粒子の分散安定性.

図2(a) に示すように、加熱によりPNIPAAm水溶液は30~35 °C付近で白濁する。一方で、 $[NIPAAm] : [AEMA] = 400 : 50$ の仕込比で得られたPNIPAAm-co-AEMAは、40 °C以上でも大きな濁度変化を示すことはなかった。LCST以上で粒径およそ80 nmほどの粒子を形成していることが確認された。DNAをカップリングさせた共重合体も同様の挙動を示すが、このミセルは塩に対して非常に安定であった。LCST以上では、会合したPNIPAAmセグメントを核とし、表層がDNAで覆われたナノ粒子（未架橋）を形成していると考えられる。DSGによる3時間ほどの架橋反応で得られた架橋型ミセルも昇温による濁度変化を示さず、粒子は安定的に分散していると考えられる。DSCにより（図2(b)）、PNIPAAmの相転移が認められることから、架橋型ミセルもLCST以上で脱水和を起こしている。一方、DLS測定からは、このLCSTを境に粒子サイズが可逆的に変化することが認められた。架橋型DNA担持ナノ粒子のサイズの可逆的な熱応答性はPNIPAAmの水和・脱水和によって促進されていると示唆された。

さらに、昇温過程における構造の変化をSAXS法により詳細に調べた。未架橋のP(NIPAAm-co-AEMA)-DNAは、LCST以上でゼロ散乱強度の急激な増大が認められた（図3a、3c）。これは見かけの分子量が増大していることを意味している。それと同時に慣性半径も増大していることから（図3c）、分子鎖の会合によりミセルが形成されたことがわかる。一方、架橋型DNA担持ナノ粒子のSAXS解析の結果では、慣性半径が昇温と共に収縮するものの、ゼロ散乱強度は温度に依らずほぼ一定であった（図3b、3d）。LCST以下でも架橋型ミセルの崩壊は起こらず、構造が保持されたままであることを強く支持している。LCST以上での分子鎖の会合やミセルどうしの凝集は生じず、ミセル内での脱水和によりサイズ変化を起こしていることが明らかになった。

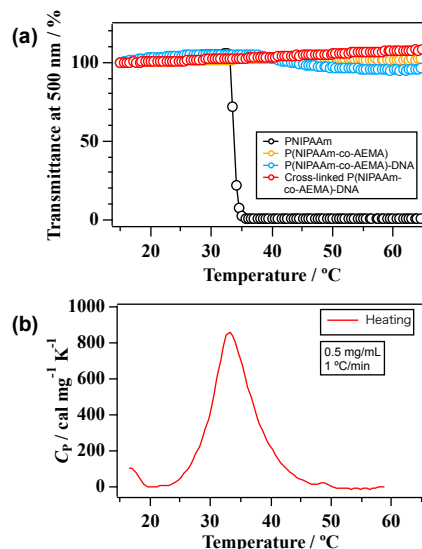


図 2 透過率の温度依存性 (a) と DSC プロファイル (b) . 赤色が DNA 担持ナノ粒子のデータを示す. 試料濃度 0.5 mg/mL で、1 °C/min で昇温した.

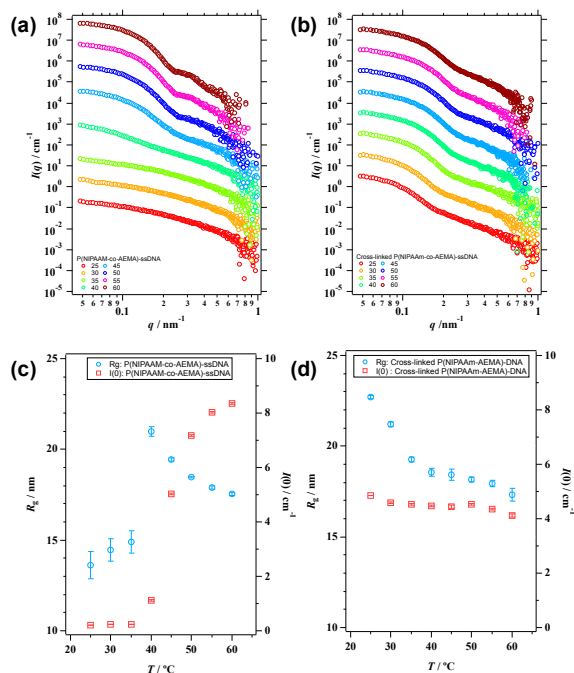


図 3 昇温過程における SAXS プロファイル、慣性半径 (R_g) とゼロ散乱強度 ($I(0)$) の温度依存性: (a, c) 架橋前、(b, d) 架橋後.

【参考文献】

- [1] Pan, P.; Fujita, M.; Ooi, W. Y.; Sudesh K.; Takarada, T.; Goto, A; Maeda, M. *Polymer* 2011, **52**, 895–900.
- [2] Pan, P.; Fujita M.; Ooi, W. Y.; Sudesh K.; Takarada, T.; Goto, A; Maeda, M. *Langmuir* 2012, **28**, 14347-14356.

Ultrasensitive dark field microscopic detection of amyloid aggregates using antibody-modified gold nanoparticles

Tong Bu, Tamotsu Zako, Mizuo Maeda

Bioengineering Laboratory, RIKEN

Protein aggregation, and amyloid formation in particular, has recently attracted considerable interest, because the associated processes are likely to be the key issues in the pathology of more than 50 types of diseases, including Alzheimer's disease (AD). These amyloids are cytotoxic, and their physiological presence and tissue deposition are associated with neurodegenerative diseases, such as AD and other types of amyloidosis. The extracellular and intracellular aggregates of Amyloid- β peptides ($A\beta$), including soluble oligomers, protofibrils, and mature amyloid fibrils, are considered to be the main cause for AD. Thus, the detection of these aggregates is of great importance for the early recognition of AD.

Previously we developed a rapid and simple method for detecting $A\beta$ aggregates using $A\beta$ antibody-conjugated gold nanoparticles (AuNPs) (Fig. 1a) [1]. AuNPs have attracted great attention due to their advantageous properties, including stability, activity, and surface chemistry. For example, the aggregation of AuNPs accompanied by a surface plasmon shift can be recognized by a pronounced colour change (from red to purple or to transparent), enabling their potential applications as sensors for DNA, heavy metal ions and protein. For the detection of $A\beta$, $A\beta$ antibody was conjugated onto the surface of AuNPs. The formation of AuNP precipitates by $A\beta$ aggregates could be confirmed by the naked eye within 1 h with LOD of about 5 μ M.

We also previously demonstrated that 100 fM of DNA could be detected by analyzing DNA-induced AuNP aggregates at the single particle level using dark field microscopy (DFM), which can detect scattered light from individual single metal nanostructures [2]. The sensitivity was much better than that obtained with conventional methods such as colour change, UV-VIS spectroscopy and DLS. In this work, in aim to achieve higher sensitivity of $A\beta$ aggregates detection, DFM was also employed to detect the $A\beta$ aggregates-induced AuNPs assembly.

For the detection of $A\beta$, $A\beta$ antibody was conjugated onto the surface of AuNPs (Ab-AuNP). Different concentration (from 0 to 5 μ M) of $A\beta$ monomer and fibrils were incubated with Ab-AuNP for 1 h. 6 μ L of the incubated samples were deposited onto glass slides and covered with cover glass. Ab-AuNPs were identified as bright orange-colored spots in DFM images and the scattered light intensity of each spot was quantified. The ratio of aggregates at each $A\beta$ aggregates concentration was estimated to calculate the LOD. The LOD was evaluated by the 3σ criterion method, where σ denotes the standard deviation of zero-concentration background data ($n=6$).

DFM images of Ab-AuNP with addition of 5 μ M $A\beta$ monomer and fibril were shown in Figure 1b. AuNP sample incubated with $A\beta$ fibrils showed much brighter spots, while AuNP sample with the monomer does not show significant difference with AuNP only sample. The Size of AuNP aggregates was estimated by the intensity of each spots in DFM images. Figure 1c shows intensity histograms of dispersed and aggregated AuNPs induced by addition of various amount of $A\beta$ fibrils. Larger aggregates were observed when an

increased amount of A β fibrils was added. As shown in Figure 1d, the ratio of aggregates increased at higher concentrations of the A β fibrils, and LOD was determined to be as low as 40 pM, which was much better than the previous sensitivity with naked eye observation (5 μ M).

In conclusion, we demonstrated that DFM could be utilized to detect the A β aggregates at the single-particle level. The detection sensitivity reached as low as pM level [3]. This study further proved the potential application of DFM in the analytical methods based on AuNP aggregations.

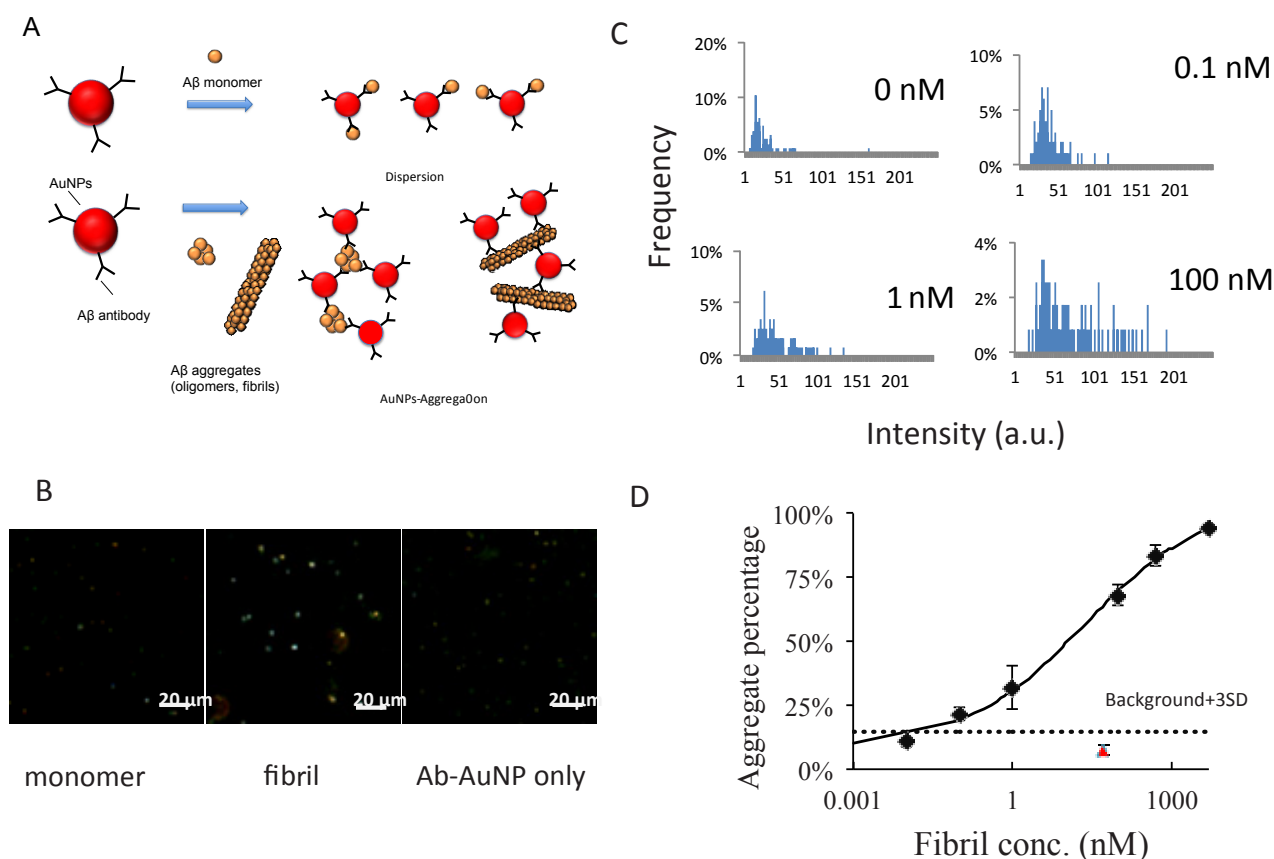


Fig.1 (a), Amyloid aggregates detection system using antibody-conjugated gold nanoparticles (AuNPs). In the presence of A β aggregates such as fibrils, AuNPs could produce precipitates via the interactions between A β aggregates and A β antibody on the surface of AuNPs, while no change in the color of AuNPs solution was observed in the presence of A β monomers (b), DFM images of AuNPs incubated with A β monomer (left), A β fibrils (middle). DFM image of AuNPs only sample was shown as a control (right). The scale bar=20 μ m. (c), Intensity histogram of AuNPs aggregates observed by DFM caused by adding different concentration of A β fibrils. (d), Ratio of aggregated AuNPs at various A β fibrils concentrations.

References

- [1] Sakono, M.; Zako, T.; Maeda, M. *Anal. Sci.* **2012**, 28, 73. [2] Bu, T.; Zako, T.; Fujita, M.; Maeda, M. *Chem. Commun.* **2013**, 49, 7531. [3] Bu, T.; Zako, T.; Maeda, M. 第 66 回日本生物工学会年会, 2014, 1P258

Adsorption and separation of amyloid beta aggregates using nanomagnets coated with charged polymer brushes

Tamotsu Zako¹, Bu Tong¹, Martin Zeltner², Wendelin Stark², Mizuo Maeda¹

Bioengineering Laboratory, RIKEN¹, Institute for Chemical and Bioengineering, ETH Zurich²

Amyloid beta (A β) protein is a 39- to 43-amino acid polypeptide that is the primary constituent of senile plaques and cerebrovascular deposits in Alzheimer's disease (AD). This amphiphilic peptide spontaneously forms fibrillar aggregates in aqueous solutions at or below the physiological pH. These A β fibrils are cytotoxic, and their physiological presence and tissue deposition are associated with AD. Recent studies also indicated that soluble oligomeric A β aggregates are more toxic and cause AD.

By virtue of their unique physical and structural properties, nanoparticles (NPs) are increasingly suggested for the adsorption and extraction of complex compounds in biomedicine, though there is limited understanding of the relationship between the physicochemical properties of nanomaterial and its interaction with target biological molecules. Magnetic NPs have attracted much attention for application as rapid separation agents to purify or remove target compounds [1]. However, not much attention has been paid to the application of NPs for the removal of toxic proteins such as A β aggregates, including oligomers and fibrils.

In this study, strongly magnetic NPs were functionalized with poly [3-(methacryloyl amino) propyl] trimethylammonium chloride (polyMAPTAC) and employed for adsorption and separation of A β aggregates. C/Co@polyMAPTAC particles are ferromagnetic carbon-coated cobalt NPs functionalized with a highly charged polymer that is prepared via surface-initiated atom-transfer radical polymerization [2]. Since these particles show unprecedented stability in buffer solutions because of the positively charged polymer immobilized on the surface, we anticipated that they could capture negatively charged A β aggregates.

The adsorption and separation of the A β fibrils by C/Co@polyMAPTAC was examined by detecting the amount of A β sample in the supernatant by dot blot assay using anti-A β (Fig. 1a) after magnetic separation of the particles. The A β sample solutions (monomers or fibrils) were incubated with 50 μ g/mL particles. After collecting the NPs using the magnet, the supernatant was applied to the nitrocellulose membranes for dot blot assay. As shown in Fig. 1b, no fibrils were left in the supernatant, indicating that the particles could successfully adsorb and separate A β fibrils. Interestingly, the amount of A β monomers did not decrease after they were mixed with the particles, suggesting selective binding of C/Co@polyMAPTAC to the fibrils.

Recent studies revealed that A β oligomers are considered to cause AD, and hence it is important to remove A β oligomers. Characterization of A β oligomer adsorption was carried out by native-PAGE/Western blot method because the prepared soluble oligomer was actually a mixture of monomers, oligomers and a small amount of fibrils. As shown in Fig. 2a, soluble oligomers were clearly removed by incubation with C/Co@polyMAPTAC, while the monomer was left in the supernatant. It is notable that fibrils, which were observed at the well of the gel, were also removed, supporting the previous result (Fig. 1). These results indicate that oligomer and fibril could be selectively extracted by the particles. TEM observation also supported the association of particles with the A β oligomers (Fig. 2b).

In this study, strongly magnetic carbon-coated cobalt NPs that were functionalized with positively charged polymers were employed to capture A β aggregates. We anticipated that the charge interaction between the particles and the negatively charged A β aggregates is important. To confirm this idea, fibril adsorption in the presence of salt was examined. Various amounts of NaCl (200, 500 and 750 mM) were added to the reaction buffer, and the amount of unbound A β fibrils in the supernatant was estimated (Fig. 3). As shown in the figure, the binding of C/Co@polyMAPTAC to the A β fibrils decreased in the presence of higher concentrations of salt, confirming that electrostatic interaction is important for adsorption.

In conclusion, we demonstrated the use of strongly magnetic few-layer graphene-coated cobalt NPs functionalized with a charged polymer, polyMAPTAC, for the adsorption and extraction of toxic A β aggregates, including fibrils and oligomers. Interestingly, the A β monomer was not captured by C/Co@polyMAPTAC, suggesting that binding of the particles to the A β molecules is toxic species-selective. We also showed that the particles reduce the cytotoxicity of the A β aggregate solutions. This study should be useful the further exploring the application of NP adsorption in mediating A β toxicity.

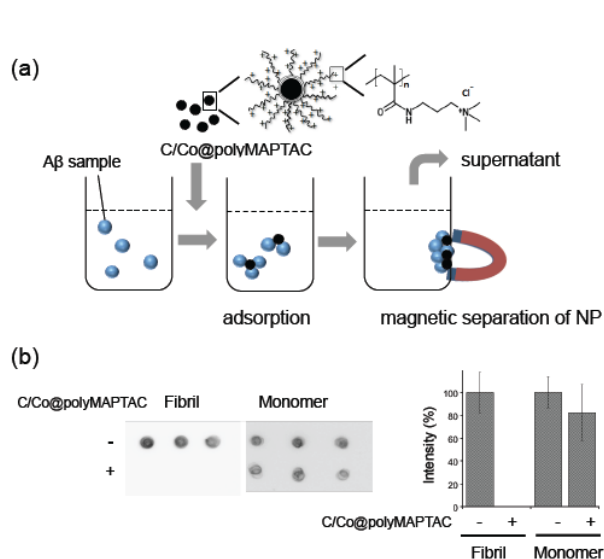


Fig.1 (a) Adsorption and separation of A β aggregates with C/Co@polyMAPTAC. (b) Dot blot assay to estimate the selective separation of the A β fibrils by C/Co@polyMAPTAC (Left). The relative intensity indicates the amount of fibrils and monomers left in the supernatant after magnetic separation (right). The intensities of the samples without particles were normalized to 100%.

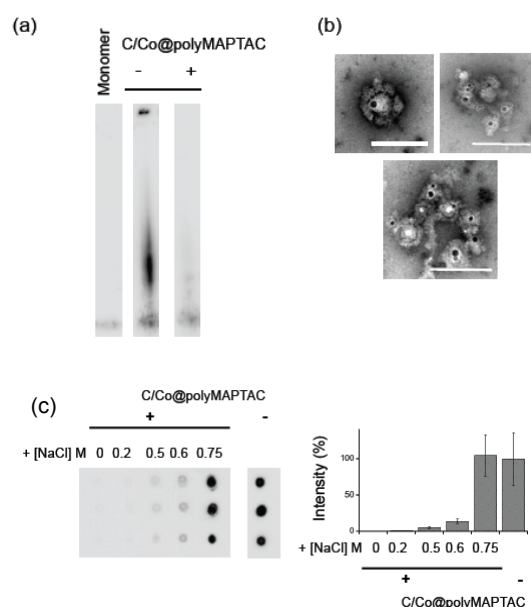


Fig.2 (a) Native PAGE/Western blot analysis of adsorption and separation of A β oligomers by C/Co@polyMAPTAC. (b) Transmission electron micrograph of A β oligomers incubated with particles (black dots). The scale bar = 200 nm. (c) Adsorption of C/Co@polyMAPTAC onto A β fibrils at different salt concentrations. The relative intensities were shown as a bar graph (right). The intensities of the samples without particles were normalized to 100%.

References

- [1] Rotzetter, A.C.C.; Schumacher, C.M.; Zako, T.; Stark, W.J.; Maeda, M. *Langmuir* **2013**, 29, 14117. [2] Zeltner, M.; Grass, R.N.; Schaetz, A.; Bubenhofer, S.B.; Luechinger, N.A.; Stark, W.J. *J. Mat. Chem.*, **2012**, 22, 12064

マイクロ流路中に閉じ込めたミドリムシの 外部化学刺激の効果の計測

尾笹一成¹, Jeessoo Lee², Simon Song², 前田瑞夫¹

理研・前田バイオ工学¹, Hanyang University・Mechanical Eng.²

ミドリムシは光合成を行う水棲の単細胞微生物（図1）で、鞭毛によって遊泳し、光合成に適当な光強度の場所に留まる光走性と環境化学物質に反応する化学走性を示す。生物の有する諸性質を化学反応の「階層構造を持つ分子システム複雑系」と見た場合、ミドリムシの走性は階層の最上層の複雑系レスポンスに位置する。具体的には、光や化学物質に反応するレセプタータンパクが刺激を受け、細胞内メタボリック信号伝達系を通じて鞭毛の運動が制御される。これまでの他グループの研究によって刺激レセプター分子は特定されつつあるが、中間信号伝達系や鞭毛運動の制御系に関与しているタンパク分子システムなどは、系の複雑さゆえにまったくわかっていない。



図1. 遊泳性光合成微生物ミドリムシ。

我々は分子システム階層の最上層の走性を利用して環境センシングマイクロデバイスなどを構築するマイクロエージェント化戦略と、酵素タンパクのノックダウンの走性への影響を調べて信号伝達系や鞭毛運動制御系に迫る走性因子解明戦略を立てて研究を行っている[1]。前者のマイクロエージェント化戦略のひとつとして、ミドリムシをマイクロスケールのセンサーおよびインジケータとして用いる研究を進めた。マイクロ流路中の完全閉空間にミドリムシ細胞群を閉じ込め、その運動をリアルタイムで計測数値化する技術を開発した。それによって計測したミドリムシのCO₂に対する化学走性を計測し、環境センサーとしての有効性を実証してきた[2]。

化学走性計測のために作製したマイクロデバイスの流路構造を図2に示す。マイクロ流路は多孔質で透明なシリコン樹脂であるPDMSで作製しており、下面はスライドガラスとなっている。16の扇形部分と中央の円形部分がミドリムシ細胞群を閉じ込めるエリアで、その周囲を2本のバイパス流路が取り囲む構造となっている。2本のバイパスにそれぞれテスト流体と比較流体を流すと流体分子はPDMSの壁を透過拡散し、中央の閉空間（マイクロアクアリウム）に濃度勾配となって現れる。その化学濃度勾配をミドリムシが感知し、テスト流体側（正の化学走性の場合）あるいは比較流体側（負の化学走性の場合）に集まる。ミドリムシの行動を定量的に捉えるために、顕微鏡に取り付けたビデオカメラからの画像をフレーム毎に差分をとり、閾値による2値化と積算を行い1.6秒おきにピクセル数として計数する（Trace Momentum, TM）。この処理によって細胞の個体識別を行わずに、

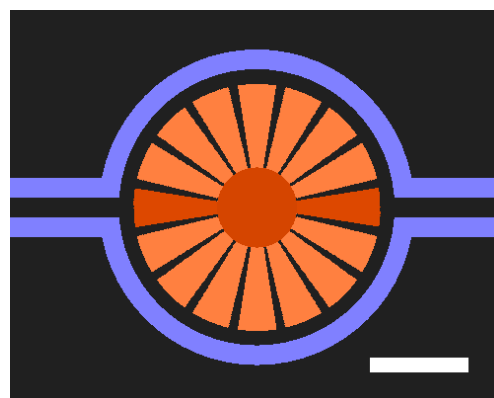


図2. 作製したマイクロデバイスの流路構造。
スケールバーは1mm。

遊泳している細胞のみを区画ごとにリアルタイムで定量計測できる。テスト流体に近い7区画のTM (s-TM) と比較流体に近い7区画のTM (r-TM) よりChemotactic reaction ratioを $(s\text{-TM} - r\text{-TM}) / (s\text{-TM} + r\text{-TM})$ で算出する。

1. 5%-H₂O₂に対するミドリムシの反応は単純な負の化学走性[2]ではなく、図3に示したように時間とともに複雑な振る舞いを示した。H₂O₂導入後にミドリムシは負の走性によって反対側に偏るが、10分程度で分布が逆転する。図4はミドリムシの運動形態の変化で、分布が逆転した状態ではミドリムシは直線的な遊泳ではなく、回転し続けている。このことより、H₂O₂の強い酸化作用によって、ミドリムシの細胞内のredox状態が攪乱され、運動の制御ができなくなっていることが推定される。多くのセルがH₂O₂サイドにトラップされ、やがて運動しなくなっていくことがわかった。

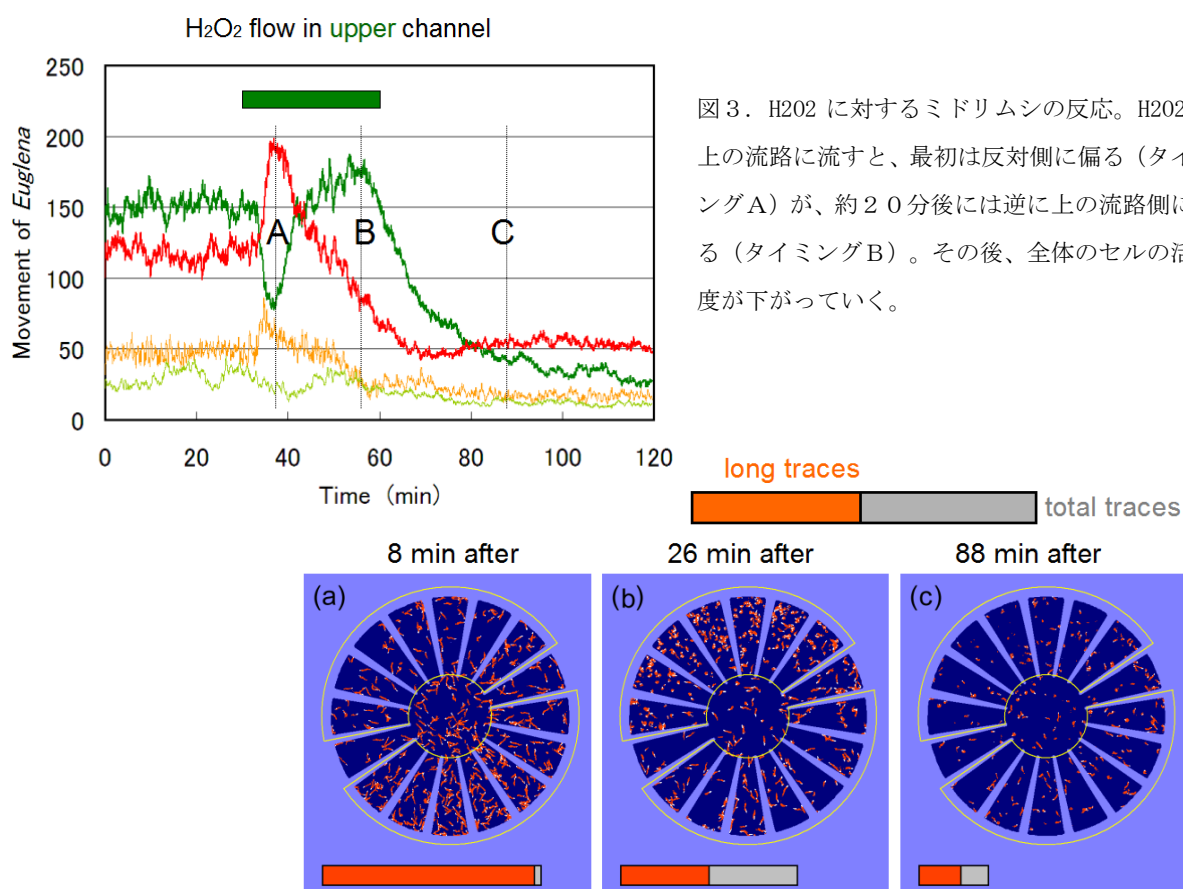


図3. H₂O₂ に対するミドリムシの反応。H₂O₂ を上の流路に流すと、最初は反対側に偏る（タイミングA）が、約20分後には逆に上の流路側に偏る（タイミングB）。その後、全体のセルの活動度が下がっていく。

図4. (a) タイミングA、ミドリムシはH₂O₂の濃度の低い所に集まっている。(b) タイミングB、ミドリムシはH₂O₂の濃度の高いところに分布しており、その運動が回転になっている。(c) タイミングC、ミドリムシの運動が低下し、観察される数が減少している。

【参考文献】

[1] K.Ozasa, J.Lee, S.Song, M.Hara, M.Maeda, LabChip, 11 (2011) 1933-1940. "Two-dimensional optical feedback control of Euglena confined in closed-type microfluidic channels". [2] K.Ozasa, J.Lee, S.Song, M.Hara, M.Maeda, LabChip, 13 (2013) 4033-4039. "Gas/liquid sensing via chemotaxis of Euglena cells confined in an isolated micro-aquarium".

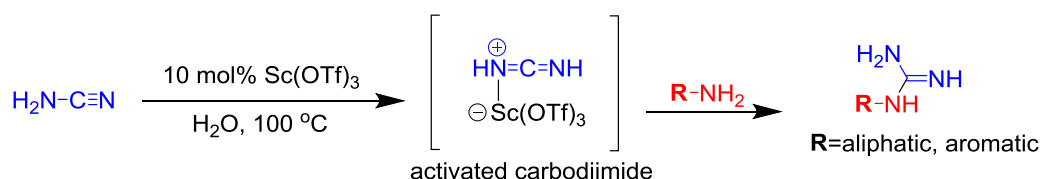
ルイス酸触媒によるアミノ基の水中での直接的グアニジン化反応

坪倉一輝^{1,2}, 岩田隆幸^{1,3}, 泰地美沙子¹, Almira Kurbangalieva⁴, 深瀬浩一³,
中尾洋一², 田中克典^{1,4,5}

理研・田中生物機能合成化学¹, 早大先進理工², 阪大・院理³,
カザン大学アレクサンドルブトローロフ研究所⁴, JST さきがけ⁵

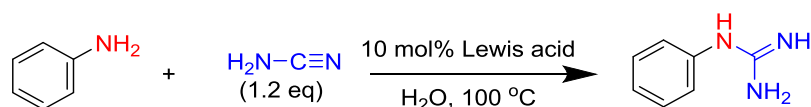
グアニジン官能基はアミノ酸のアルギニンに見られる骨格であり、リレンザをはじめとする多くの医薬品や生理活性を持つ天然物に見られ、これまで多くの合成法や試薬が開発されてきた。グアニジン官能基は、アミンから調製されることが最も直接的ではあるが、カルボジイミドといった反応試薬を予め調製する必要があるため、アミンからの直接的なグアニジン化法は少ない。また、これまでに用いられてきたグアニジン化反応は、有機溶媒でのみ使用可能といった方法が多く、水溶性の高い原料となるアミンや生成物のグアニジンに対して、その汎用性は低いといえる。

今回我々は水中でも使用可能な土類金属の $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ をシアナミドと作用させることで、カルボジイミド中間体が反応系内に生成することを見出し、これに対してアミンを作用させることで、グアニジン合成する方法を開発した(Scheme 1)。その詳細について、以下に記述する。



Scheme 1 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ を用いた新規グアニジン化反応

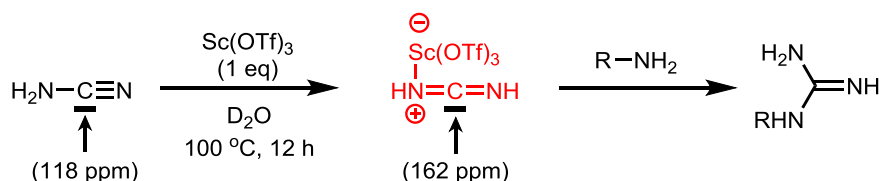
まず、我々は水中で利用可能な数種類のルイス酸を用いて、アニリンのグアニジン化反応を検討した(Figure 1)。その結果、 $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, $\text{In}(\text{OTf})_3$, $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ を用いた場合に、高い収率でグアニジン化合物が得られた。また $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ についてさらに触媒量の検討を行った結果、10 mol% の触媒を用いることで最も良い成果を得た。このように、水中グアニジン化反応において、10 mol% の $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 触媒を用いる条件を見出した。



Lewis acid	yield %	Lewis acid	yield %
$\text{Nd}(\text{OTf})_3$	5	$\text{Y}(\text{OTf})_3$	43
$\text{Zn}(\text{OTf})_2$	9	$\text{Yb}(\text{OTf})_3$	81
$\text{Cu}(\text{OTf})_2$	10	$\text{In}(\text{OTf})_3$	82
AgOTf	12	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$	95
InCl_3	16	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (5 mol%)	66
$\text{La}(\text{OTf})_3$	19	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (2 mol%)	34
$\text{Tm}(\text{OTf})_3$	24		

Figure 1 グアニジン化反応における触媒検討

本反応の中間体、反応機構を考察するために、シアナミドに対して1当量の $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ を作用させ、 $^{13}\text{CNMR}$ 測定を行った(Scheme 2)。その結果、シアナミド炭素に由良する 118 ppm のシグナルが、カルボジイミドの炭素に相当する 162 ppm のシグナルへとシフトした。以上の結果から、本反応は、まず $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ がシアナミドとカルボジイミド中間体を形成することでシアナミドとして活性化し、これに対してアミンが作用することでグアニジン化が進行するという反応機構が明らかとなった。



Scheme 2 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 共存下におけるシアナミドの $^{13}\text{CNMR}$ シグナルの変化

この結果を基に、様々なアミン(Figure 2：青色部分)を用いて、グアニジン化合物を以下の収率で合成した。本法は様々な置換基を持った芳香族アミン、複素環上のアミン、通常のアルキルアミン、二級アミン、さらにアミノ酸に対しても適用が可能であり、さらには5つのアミノ酸から構成されるペプチドについてもグアニジン化が可能であることが判明した。

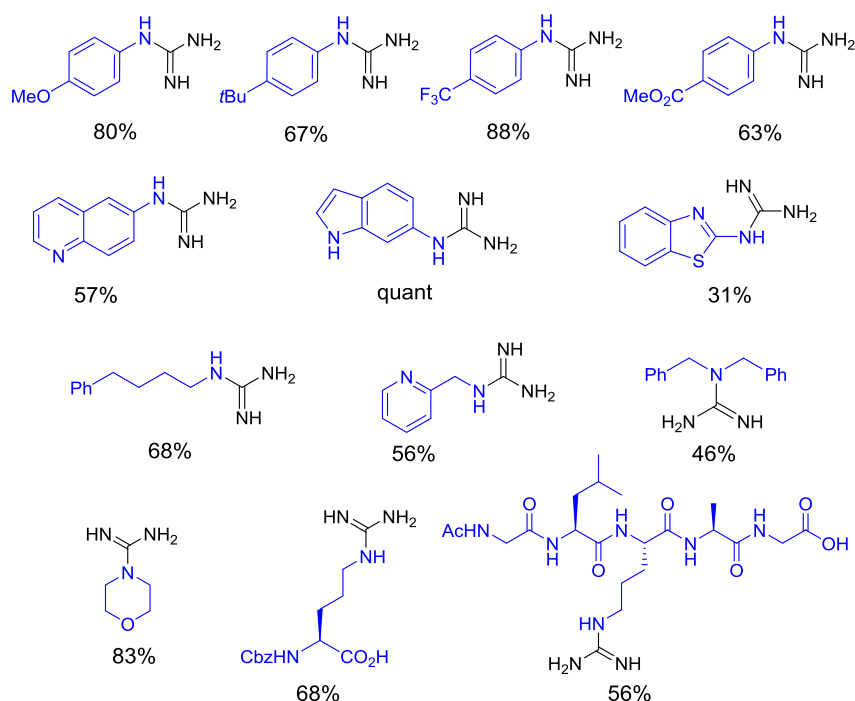


Figure 2 新規グアニジン化法の基質一般性

以上のように、我々は $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 触媒を用いて、シアナミドを系内で効率的に活性化することに成功し、これまでの方法のように予め試薬を調製することなく、水中でアミンをグアニジン化している新規な手法を開発した。

【参考文献】

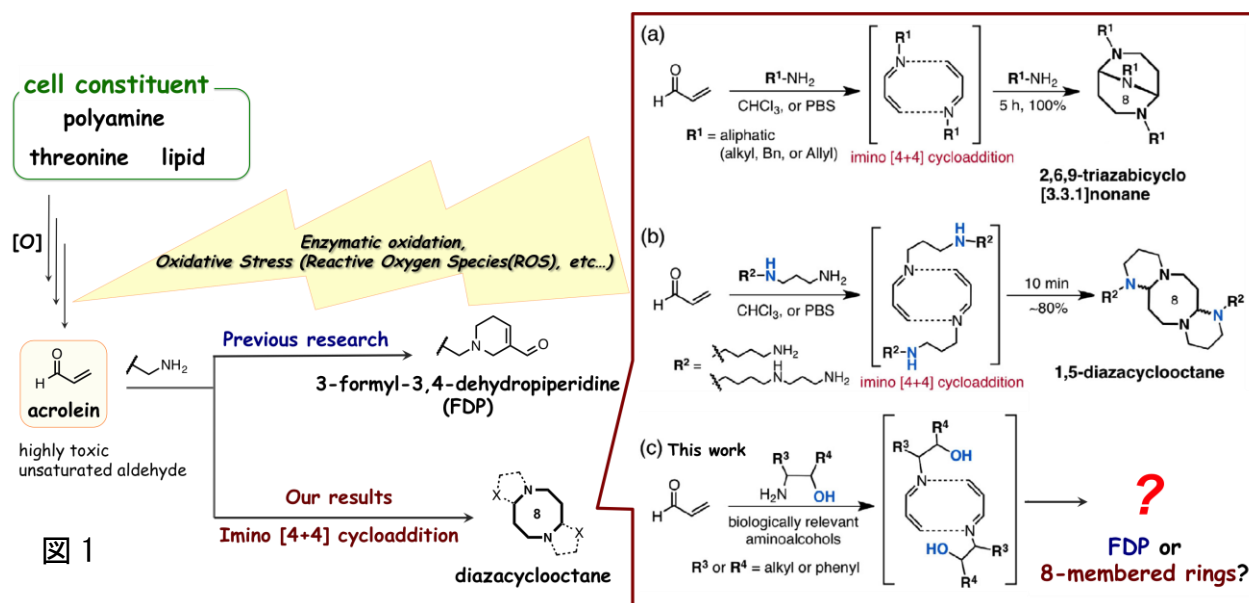
- (1) Tsubokura, K.; Iwata, T.; Taichi, T.; Kurbangalieva A.; Fukase, K.; Nakao, Y.; Tanaka, K. *Synlett* **2014**, 1302-1306.

アクロレインによる生体内での8員環化合物の生成と その酸化ストレスマーカーへの変換反応の発見

高松正之^{1,2}, 深瀬浩一², Almira Kurbangalieva³, 田中克典^{1,3,4}

理研・田中生体機能合成化学¹, 阪大・院理²,
カザン大学アレクサンドルブトローフ研究所³, JST さきがけ⁴

これまでに我々は、酸化ストレス（活性酸素生成下など）条件下で、細胞内のポリアミンや脂質より産生するアクロレイン（不飽和アルデヒド）がアミン類と速やかに反応し、イミノ [4+4] 環化反応を引き起こすことを明らかにしてきた（図1左）^{1,2,3}。すなわち、アクロレインとベンジルアミンが反応した際には架橋型の8員環化合物であるトリアザビシクロノナンを与え（図1右(a)）、一方、ポリアミンなどの分子内にアミノ基を有する分子と反応した場合には、8員環を含む縮環構造を有するジアザシクロオクタンを与えることを見出してきた（図1右(b)）。



今回我々は、図1のイミノ [4+4] 環化反応において、分子内に水酸基を含む場合でも8員環を含む縮環構造が導かれるのではないかと予想し、生体中存在しているアミノアルコールとアクロレインとの反応性を検証した（図1右(c)）。生体由来のアミノアルコールとしてスフィンゴシンおよびノルアドレナリン誘導体を選び、アクロレインと反応させた後に詳細な構造解析を行った（図2）。その結果、いずれの場合にも8員環を含む縮環化合物を定量的に与えることが明らかとなった。

さらに、生成した8員環化合物自体に関して、大変興味深い知見を得ることができた。図3上段に示

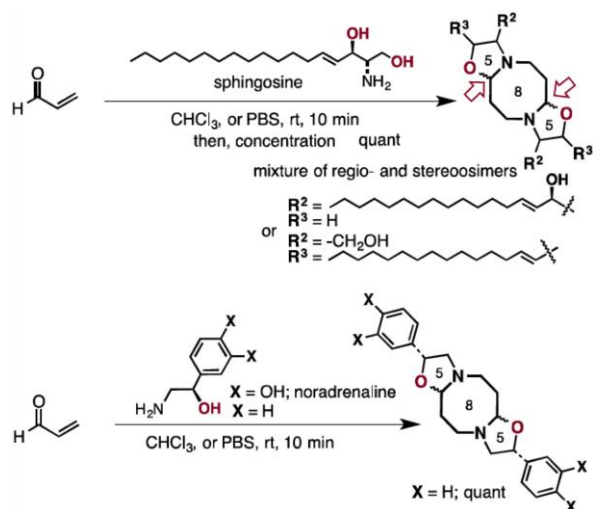


図2

す、水酸基でアセタールとして安定化された8員環化合物を室温で有機溶媒や緩衝溶液に溶解し、室温で放置しても変化はほとんどなかったが、図3中段のミノアセタールを含む8員環化合物は、わずかながら酸化ストレスマーカーとして知られている3-ホルミル-3,4-デヒドロピペリジン (FDP) へと次第に変換されることが判明した。さらに、図3下段の架橋型である8員環化合物は、2日間、室温で放置することによって、定量的にFDPのアルデヒド型およびそのイミンへと変換されることが明らかとなった。以上の結果から、8員環化合物のアミナル部位の安定化効果に従って、アクロレインとの反応によってまず得られるこれら8員環化合物が次第に酸化ストレスマーカーへと変換されることが分かった。すなわち、アセタールの8員環構造の安定性への寄与が少ない場合には、一旦、速やかに生成する8員環構造がより安定なデヒドロピペリジン構造へと変換される。

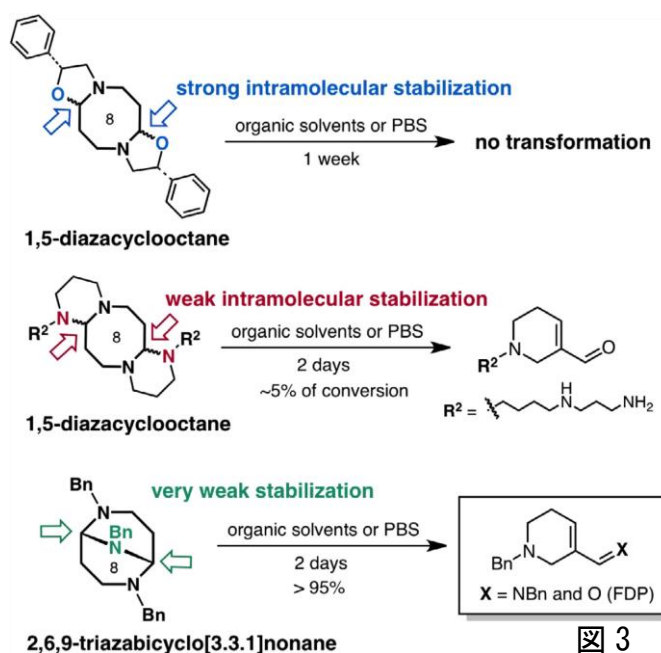


図 3

以上の結果は、我々が見出したイミノ [4+4] 環化反応によって生じる8員環化合物がアクロレインとの最初の生成物であり、これは一般的に知られている酸化ストレスマーカーの生成中間体であることを示す。これまでに酸化ストレスマーカーのFDPは、二段階のマイケル付加/アルドール反応による経路によって生成することが提案されていたが(図4、Route A)⁴、8員環を経由した本経路 (Route B) もFDPの形成に寄与していることが示唆される。一方、最終生成物であるFDPには特筆すべき生理活性が報告されていないが、我々の8員環化合物が真のアミンとの一次反応生成物であり、我々の成果を基に新たな活性が見出されることが期待される⁵。

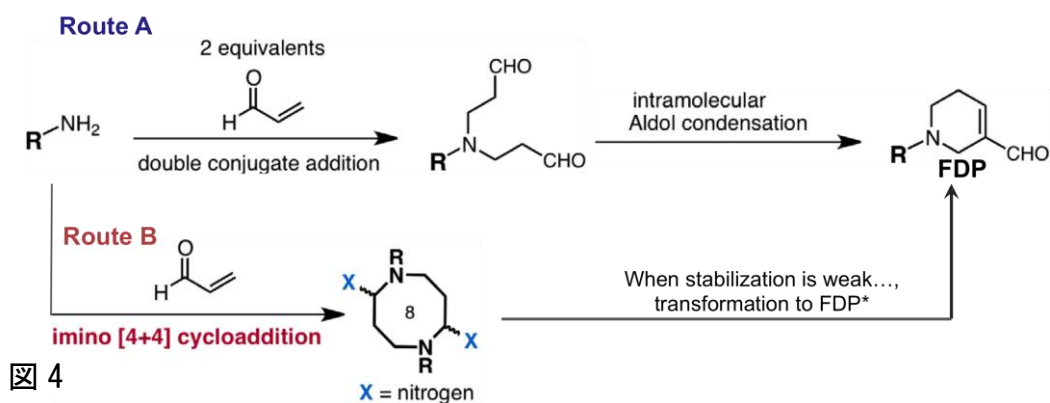


図 4

【参考文献】

- [1] Tsutsui, A.; Tanaka, K. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 7208. [2] Tanaka, K.; Matsumoto, R.; Pradipta, A. R.; Kitagawa, Y.; Okumura, M.; Manabe, Y.; Fukase, K. *Synlett* **2014**, *7*, 1026. [3] Tsutsui, A.; Pradipta, A. R.; Saigitbatalova, E.; Kurbangalieva, A.; Tanaka, K. *Med. Chem. Commun.*, **2014**, *in press*. [4] Uchida, K.; Kanematsu, M.; Morimitsu, Y.; Osawa, T.; Noguchi, N.; Niki, E. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 16058. [5] Takamatsu, M.; Fukase, K.; Kurbangalieva, A.; Tanaka, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 6380.

アルギニンの翻訳後修飾に学ぶageladine A天然物のワンポット全合成と活性リモデリング分子の創製

岩田隆幸^{1,2}、大塚悟史³、坪倉一輝^{1,3}、新井大祐³、深瀬浩一²、中尾洋一³、田中克典^{1,4,5}

理研・田中生物機能合成化学¹、阪大・院理²、早大先進理工³、
カザン大学アレクサンドルブトレロフ研究所⁴、JST さきがけ⁵

共役アルデヒドと各種アミンから得られる共役イミンは、分子内に求核部位と求電子部位の両者を有しており、多種多様な反応性を示す。これら共役イミンは、生体内でもリジンやアルギニン等を代表とする生体内アミンと脂質代謝産物から生成し、様々な機能を担っていると考えられる。従って、生体内での共役イミンの反応性を理解することは、アルカロイド天然物の新しい合成法開発のヒントとなるとともに、生体機能を制御する分子の創製に繋がる可能性を有する。我々は、アルギニン残基に対する翻訳後修飾反応を鍵として、置換2-アミノイミダゾール合成法を開発した。本法を用いて、顕著な血管新生阻害活性を持つ ageladine A の「ワンポット全合成」に成功するとともに、ageladine A を神経分化促進活性を持つ分子へと進化させ、天然物の活性をリモデリングすることに成功した。

2-アミノイミダゾール構造は多くの生理活性分子に見られるが、シンプルな構造にも関わらず、置換基導入に耐えうる一般的合成法は非常に限られている。一方で、ごく稀ではあるが、タンパク質のアルギニンが脂質代謝物である共役アルデヒドにより翻訳後修飾を受け、イミン形成と分子内共役付加を経て、2-アミノイミダゾールが生成することが報告されている(図1a)。そこで、この翻訳後修飾をヒントにして、4-置換2-アミノイミダゾール誘導体の合成法を検討した。

様々な置換基を持つグアニジンに対して、フマルアルデヒド酸メチル1をメタノール中で24時間作用させたところ(図1b)、保護アルギニンとの反応では加水分解の後、65%の収率で2-アミノイミダゾールを与えた。一方、アルギニンのモデルとして、*N*-フェニルグアニジンを用いた場合には、

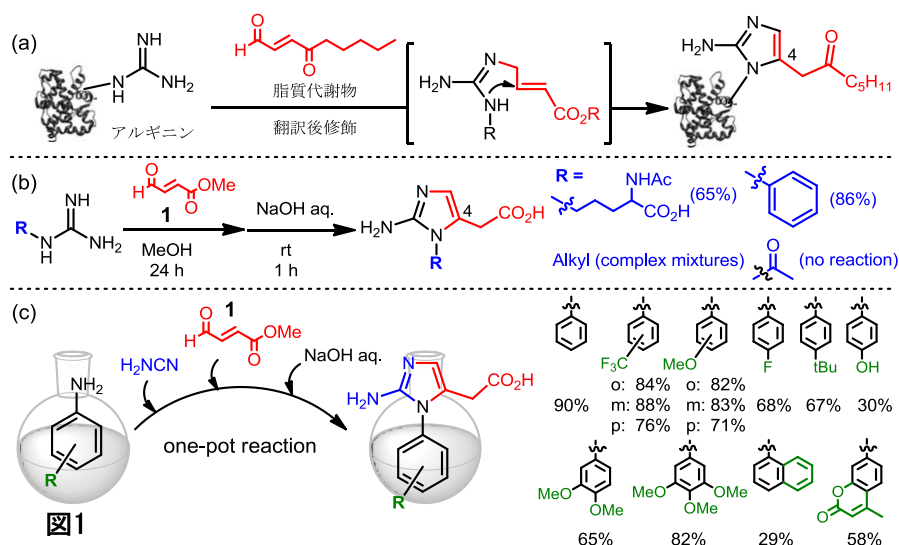


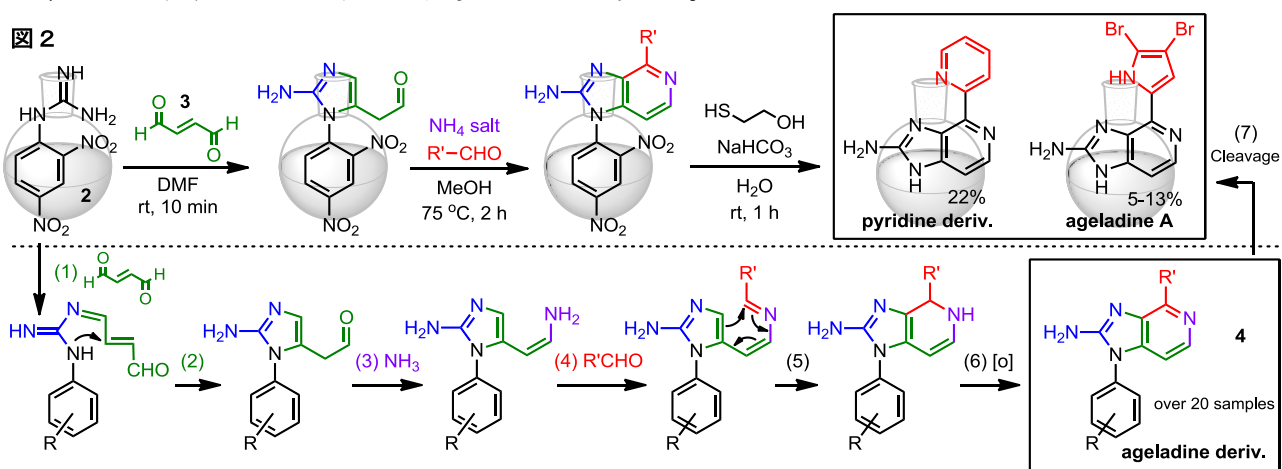
図1

86%の収率で反応が進行したが、直鎖アルキル基やベンジル基で置換されたグアニジンの場合には多くの複雑な生成物を与えた。さらに、電子求引基であるアセチル基を持つグアニジンを用いた場合には、反応は全く進行しなかった。以上の結果から、天然のアルギニンはそのアミノ酸側鎖により、うまく共役アルデヒドとの反応性を制御して翻訳後修飾を実現していることが判明した。また、我々はこれをフェニル基で模倣できることを見出した。

そこで、以上の結果を基に、置換2-アミノイミダゾール誘導体のワンポット合成を検討した(図1c)。様々な置換基を持つグアニジン誘導体に対して、まずシアナミドと反応させることで対応す

る*N*-フェニルグアニジンへと変換した後、続けて鍵反応であるイミダゾール環の形成、さらに加水分解を一つのフラスコ内で一挙に行うことで、液相ライブラリー合成を実現した。

次いで我々は、上記に確立したワンポット置換2-アミノイミダゾール合成法を利用することにより、海産天然物であり、様々な活性を示す可能性を秘めるageladine A天然物やその類縁体を「ワンポット」で合成できるのではないかと考えた。すなわち、図2に示したように、まず置換フェニル基を持つグアニジン誘導体を原料として、共役ジアルデヒドと反応させることにより、(1) イミン形成の後、(2) 分子内共役付加によりイミダゾール環を構築する。次いで、(3) アンモニアを作用させることにより、イミンを形成し、さらにエナミンへと異性化させた後、(4) 別のアルデヒドとイミン形成させた後、続けて(5) アザ電子環化反応を進行させる。生成するジヒドロピリジンは、(6) 速やかに自然酸化を受け、ピリジン環が形成された後に、最後に(7) アリール基の切断を行う。このように、適当な時間間隔でフラスコ内に試薬を導入することにより、全ての行程をワンポットで実現できると考えた。



種々反応条件を検討した結果、イミダゾール形成反応の活性化基として働くと同時に、チオリシスによって脱保護が可能なジニトロフェニル基を持つグアニジン**2**を原料として、共役ジアルデヒド**3**をDMF中で10分間、室温で作用させ、まず鍵反応であるイミダゾール環形成を行った。次いで、反応溶液中にアンモニウム塩とアルデヒド、および共溶媒としてメタノールを作用させ、75 °Cでさらに2時間撹拌した。最後に、チオエタノール、炭酸水素ナトリウム、および水を導入し、室温で1時間撹拌した。生成する混合物の中からHPLCによって分離操作を行うことにより、天然物であるageladine Aを総収率5~13%、さらにより高い活性と選択性を持つピリジン類縁体については22%という高収率でワンポットで合成することに成功した。

上記で確立した「ワンポット全合成」を用いれば、原料や反応試薬を変更するだけで様々なageladine Aの類縁体**4**を簡単に合成することが可能となる。種々置換基を持つアニリン誘導体やアルデヒドを用いて、同様のワンポット反応を実施することによって、20種類以上の類縁体を迅速に合成することに成功した。これら類縁体の活性を検討したところ、顕著な神経分化促進活性をもつ数種の類縁体を見出した。血管新生阻害活性を持つageladine Aを初期構造として、その活性を「ワンポット全合成」によりリモデリングすることに成功した。

以上のように、アルギニンの翻訳後修飾から共役イミンの新規な反応性を学び、2-アミノイミダゾール合成法へと展開した。さらに天然物であるageladine Aおよびその類縁体のワンポット全合成へと展開するとともに、天然物の血管新生阻害活性を神経分化促進活性へと進化させることに成功した。

外部研究機関

KEK 物質構造科学研究所グループ
(グループリーダー：熊井 玲児)

電荷移動錯体型誘電体における量子強誘電

熊井玲児^{1,2}, 小林賢介¹, 堀内佐智雄^{2,3}, 賀川史敬^{2,5}, 村上洋一¹, 十倉好紀^{3,4,5}

KEK 物構研 PF/CMRC¹, JST-CREST², 産総研³, 東大院工⁴, 理研 CEMS⁵

誘電性は磁性や電気伝導性と並ぶ重要な物性のひとつであり、物理的な興味はもとより、その特性を活かした応用的観点から物質探索、材料設計の一つのターゲットとしても注目されてきた。とりわけ強誘電体はその誘電率の大きさ、分極反転などを利用した電子デバイスから、圧電性による電気エネルギーと機械エネルギーの直接変換を利用した機械的デバイスへ、また光学特性を利用する光学デバイスなど、日常的に利用

する身近なデバイスへの非常に広範な応用例をもつ。有機物からなる誘電体開発は決して最近はじめられたものではなく、分子性の強誘電体の例はこれまでにいくつか知られているが、その多くはチオ尿素に代表されるように、分子自身が永久双極子をもつことが多い。対称性の低い有機分子において、分子自身が双極子をもつことは何ら特別なことではないが、それらの双極子モーメントが結晶中で打ち消し合わずに自発分極をもち、かつ外部電場によって反転可能である(=強誘電体)ことはまれであり、その発見は偶然に頼ることが多かった。近年数多く報告されている[1]多成分系の強誘電体では、分子自身のもつ双極子だけを利用するのではなく、

分子の組み合わせとその配列を利用して強誘電性を発現させるものであり、その分極起源は分子自身の形状や電子状態だけでなく、結晶中における分子の配列にある。分子の配列を利用した誘電体構築のための有用な手法として、電荷移動錯体の利用があげられる。電子供与性の TTF と電子受容性のクロラニル(CA)に代表される DA 交互積層型構造が有名であるが、この結晶では、電子型強誘電と呼ばれる新たな機構によって、その巨大な分極が説明できることが近年報告されており[2]、有機強誘電体における分極の増大のための新たなアプローチとして注目されている。クロラニル(CA)の塩素を他のハロゲンにおきかえた錯体では、TTF-CA とは異なる結晶系がいくつか出現することが知られているが、このうち、臭素とヨウ素を含む置換体(QBr_{4-n}I_n, n = 2, 3, 4)との錯体では、TTF-CA とよく似た一次元の交互積層型の 1:1 錯体を形成することがわかった。図 1 に示すように、誘電率の温度依存性の測定から、ヨウ素の数の減少に応じて、すなわち、分子体積が減少するにつれて、低温での誘電率が増大する傾向を示すことがわかった。さらにヨウ素の数の少ない QBr₃I との錯体では、異なる結晶系が出現するため、TTF-QBr₂I₂ に静水圧を印加して誘電率の挙動を確認したところ、圧力の上昇にともない、低温での誘電率がさらに増大し、0.25 GPa 以上の圧力では明確に誘電率にピークが観測され、誘電転移の存在が示唆された。誘

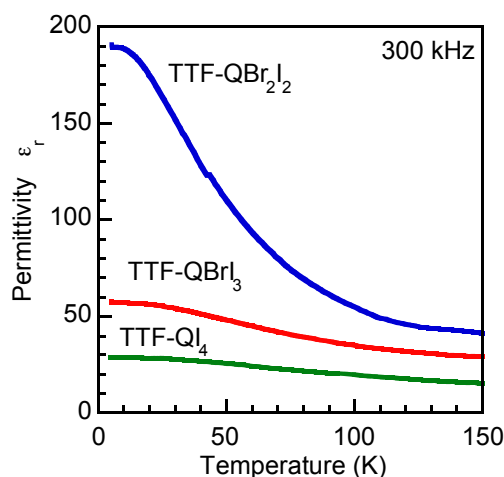


図 1. TTF-QBr_{4-n}I_n の誘電率の温度依存性

電転移を示すピークは圧力とともに高温にシフトし、1.66 GPa で室温での転移が生じることが明らかになった(図 2)。高压低温相における結晶構造の変化を明らかにするために、この領域における回折実験を行ったところ、対称性の変化を示すピークの変化や、超格子ピークなどは観測されず、室温相(triclinic P-1)と同じ対称性を有していることが明らかになった。このことは、高压相において、反強誘電的な秩序の形成が起っていないこと、すなわち TTF-CA の場合と同様に強誘電体へと転移していることを示している。図 3 に TTF-QBr₂I₂ における温度-圧力相図を示す。この図から、0.25 GPa において、量子強誘電状態が形成されていることがわかる。低温における誘電率の圧力依存性を図 4 に示す。高压下において、同じく量子臨界的な挙動を示す DMTTF-QBr₄[3]の場合と比較すると、量子臨界点(QCP)近傍における誘電率に大きな差があることがわかる。これは、DMTTF-QBr₄が高压下で反強誘電的な秩序形成を示すことに対して、TTF-QBr₂I₂では強誘電的な秩序となることの違いから生じていると考えられる。現在、低温における強誘電相の形成を明確に示すために、分極-電場履歴の測定及び低温高压における結晶構造解析を試みている。

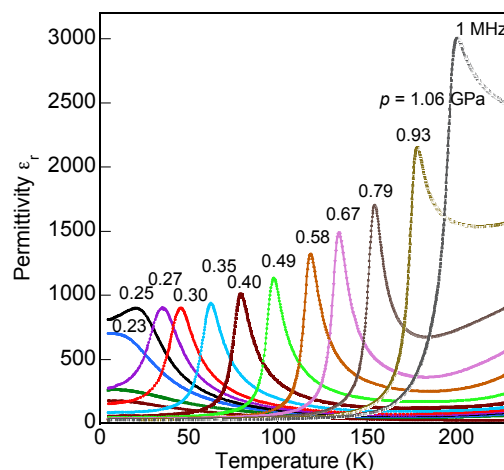


図 2. TTF-QBr₂I₂ における高压下での誘電率の温度依存性

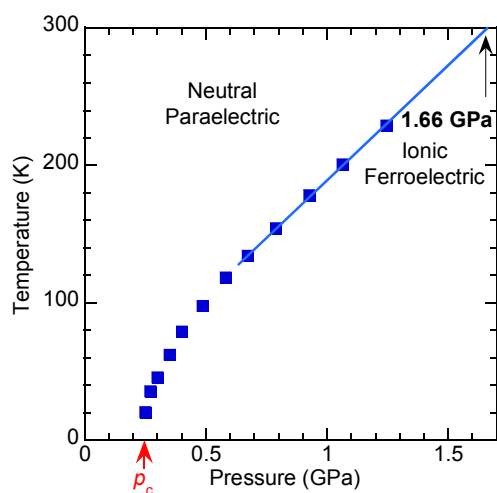


図 3. TTF-QBr₂I₂ の温度-圧力相図

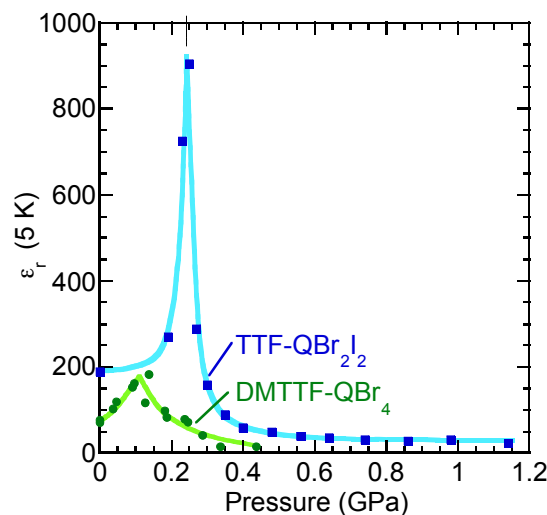


図 4. TTF-QBr₂I₂ 及び DMTTF-QBr₄ の誘電率の圧力依存性

- [1] S. Horiuchi and Y. Tokura, *Nature Materials*, **7**, 357 (2008). S. Horiuchi, R. Kumai, J. Fujioka and Y. Tokura, *Physica B*, **405**, S334 (2010).
- [2] S. Horiuchi, Y. Okimoto, R. Kumai, and Y. Tokura, *Science*, **299**, 229 (2003).
- [3] K. Kobayashi, S. Horiuchi, R. Kumai, F. Kagawa, Y. Murakami, and Y. Tokura, *Phys. Rev. Lett.*, **108**, 237601 (2012).

分子科学研究所グループ
(グループリーダー：小杉 信博)

Quantitative Penetration Profiles of Free and Nanocarrier-Bound Dexamethasone in Human Skin Studied by Soft X-Ray Spectromicroscopy

K. Yamamoto¹, T. Ohigashi², Yu-Fu Wang², S. Hedtrich³, F. Rancan⁴, R. Flesch¹, A. Klossek¹, E. Fleige¹, S. Ahlberg⁴, A. Vogt⁴, U. Blume-Peytavi⁴, P. Schrade⁵, S. Bachmann⁵, R. Haag¹, M. Schäfer-Korting³, N. Kosugi², and E. Rühl¹

¹Institute for Chemistry and Biochemistry, Freie Universität Berlin, Takustr. 3, 14195 Berlin, Germany

²UVSOR Synchrotron, Institute for Molecular Science, Okazaki 444-8585, Japan

³Institut für Pharmazie, Freie Universität Berlin, 14195 Berlin, Germany

⁴Charité Universitätsmedizin, 10117 Berlin, Germany

⁵Abteilung für Elektronenmikroskopie at CVK, 13353 Berlin, Germany

The penetration of topically applied drugs in skin is known to be enhanced by drug nanocarriers [1]. However, quantitative drug uptake studies with high spatial resolution in which the exposure time and drug formulation are systematically varied are lacking to date. We have investigated the uptake of the anti-inflammatory drug dexamethasone by human skin using soft X-ray spectromicroscopy.

Chemical selectivity of this approach is gained by excitation of the O 1s $\rightarrow\pi^*$ -transition of dexamethasone at 530.65 eV, which is suitable to suppress the background absorption of fixed human skin as well as drug nanocarriers (core-multi-shell nanocarriers (CMS)), which were loaded by 5% dexamethasone. In addition, we used two different exposure times (4 h and 16 h) and varied the drug formulation, where either ethanolic solution or HEC gel (drug concentration: 0.5%) were used, respectively. Any cross sensitivities from absorption of untreated skin were subtracted, so that exclusively the drug concentration was monitored.

The experiments were performed at the BL4U beamline at UVSOR III using a scanning X-ray microscope (STXM), similar to previous work, in which the feasibility of this approach was explored [2].

Fig. 1 shows a comparison of depth profiles of dexamethasone in different skin samples along with an optical micrograph, in which the skin regions are labeled (stratum corneum (SC), viable epidermis (VE), and dermis (D)). Fig. 2 shows the integrated drug concentration for the samples under study, which facilitates to derive quantitative information regarding the drug distribution, if the exposure time and drug formulation are varied. Specifically, Fig. 1(a) indicates that after 4 h most of the drug is found in the SC, whereas a lower fraction is found in the VE (cf. Fig. 2). No drug is observed in the dermis (D). This situation changes, when 16 h of drug exposure in HEC gel are used (cf. Fig. 1(b) and Fig. 2). The intense maximum in the SC is weaker and the drug concentration in the VE is enhanced. If drug nanocarriers in HEC gel are used instead of the neat drug (cf. Fig. 1(c)), no drug signal was observed after 16 h in the SC rather than in the VE. This underscores the expected drug transport into deeper skin layers by nanocarriers. A drop in local drug concentration is observed for all samples in the dermis (D). This indicates that in this region rapid clearance is possible, so that no enhanced drug concentration is observed.

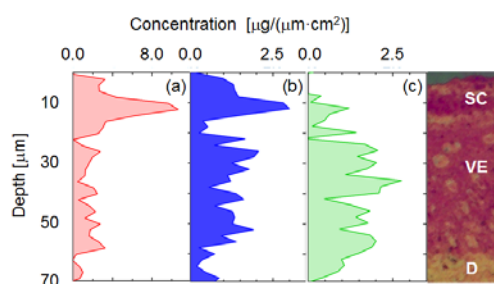


Fig. 1. Distribution of dexamethasone in the top skin layers (right hand side: typical optical micrograph, see text for details): (a) dexamethasone in ethanol: exposure time: 4 h; (b) dexamethasone in HEC gel: exposure time: 16 h; (c) CMS nanocarriers in HEC gel, exposure time: 16 h.

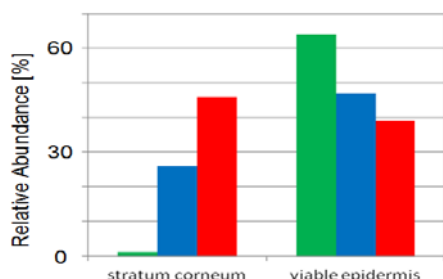


Fig. 2. Relative abundance of dexamethasone in the stratum corneum and viable epidermis (green: drug- loaded CMS nanocarriers in HEC gel, exposure time: 16 h; blue: dexamethasone in HEC gel: exposure time: 16 h; red: dexamethasone in ethanol: exposure time: 4 h) compared to the dose applied to skin.

References

- [1] N. Alnasif, C. Zoschke, E. Fleige, R. Brodwolf, A. Boreham, E. Rühl, K.-M. Eckl, H.- F. Merk, H.-C. Hennies, U. Alexiev, R. Haag, S. Küchler, M. Schäfer-Korting, J. Control. Rel. **185** (2014) 45.
- [2] R. Flesch et al., UVSOR Activity Report 2013, **41** (2014) 156.

The effect of carbon bombardment of ZnO probed by scanning transmission x-ray microscopy

Y. F. Wang¹, S. H. Hsieh¹, J. W. Chiou², W. F. Pong¹, T. Ohgashi³ and N. Kosugi³

¹Department of Physics, Tamkang University, Tamsui 251, Taiwan

²Department of Applied Physics, National University of Kaohsiung, Kaohsiung 811, Taiwan

³UVSOR Synchrotron, Institute for Molecular Science, Okazaki 444-8585, Japan

In the present work, the effect of carbon bombardment of ZnO nanowires (NW) and nanocactus (NC) has been studied using X-ray-based microscopic and spectroscopic techniques. Figures 1(a-d) display the O *K*-edge scanning transmission X-ray microscopy (STXM) stack mappings of randomly selected sample regions of ZnO NW and NC before and after carbon bombardment (C:NW and C:NC). The stack mappings are decomposed into blue, yellow, red and green maps (right panels), which correspond to the regions that are associated with different thickness and spectroscopic variations of the samples. Overall, the divisions of the mappings into thick (green), thin (red), carbon lacing (yellow) and background (blue) regions were generated via principle component analysis (PCA) for cluster analysis based on spectroscopic differences. The O *K*-edge STXM-XANES (X-ray Absorption Near-Edge Structure) spectra in the Figs. 1(e) and 1(f) are the sum of the corresponding XANES spectra of the thick (green) and thin (red) regions of ZnO NW and NC before and after C bombardment, respectively.

As displayed in Figs. 1(e) and 1(f), according to the dipole-transition selection rule, the near features at ~535-550 eV in the O *K*-edge STXM-XANES spectra are attributed to the electron excitations from O 1s-derived states to $2p_{\sigma}$ -derived (along the bilayer) and O $2p_{\pi}$ -derived (along the *c* axis) states, which are approximately proportional to the density of the unoccupied O $2p$ -derived states. The O *K*-edge STXM-XANES spectra clearly reveal that the intensities of near features in the thin regions are higher than those in the thick regions of ZnO NC/NW and C:NC/C:NW. The enhanced intensities of the near features in the O *K*-edge STXM-XANES spectra can result in a higher population of defects in the thin or surface/edge regions because of the non-stoichiometric chemical composition or dangling bonds.^[1]

Additionally, the intensities of near features of ZnO C:NC/C:NW samples (after C bombardment) are also higher than those in ZnO NC/NW samples (before C bombardment), further suggesting that the bombarding C atoms may play an important role to enhance density of the unoccupied O $2p$ -derived states.

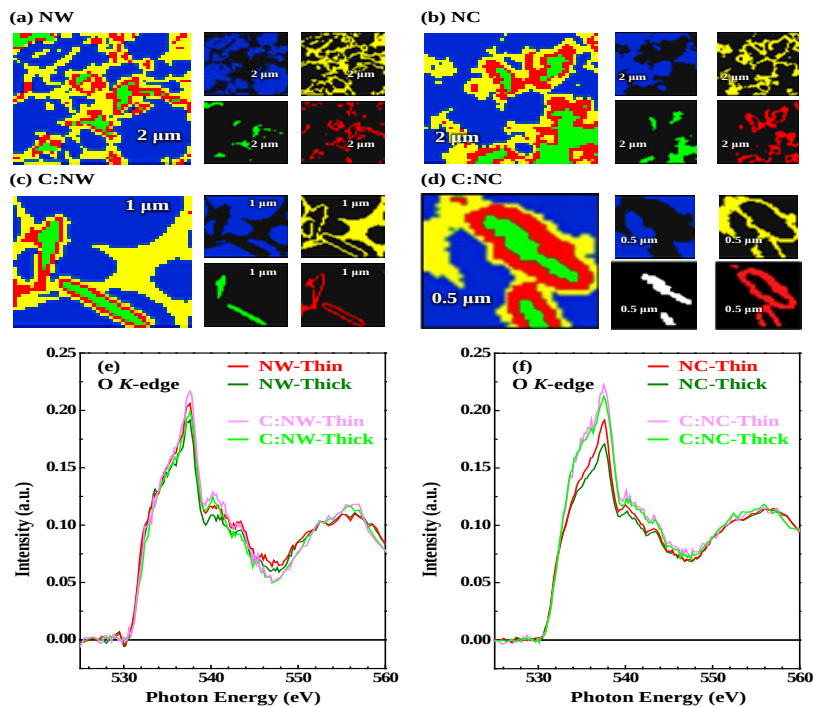


Fig. 1 (a)-(d): O *K*-edge scanning transmission X-ray microscopy (STXM) stack mappings of randomly selected sample regions of ZnO NW and NC before and after carbon bombardment (C:NW and C:NC). The spatial distribution of background (blue), carbon lacing (yellow), thick (green) and thin (red) regions of samples. (e) and (f): The O *K*-edge STXM-XANES spectra are the sum of the corresponding XANES spectra between the thin (red) and thick (green) regions of ZnO NW and NC before and after C bombardment, respectively.

References

[1] Shashi B. Singh *et al.*, *Nanoscale* (2014). 6, 9166.

Observation of Morphology of Functional Polymers by Using a Humidity Control Sample Cell for STXM

T. Ohigashi^{1, 2}, Y-F. Wang¹, Y. Inagaki¹, T. Horigome¹ and N. Kosugi^{1, 2}

¹ UVSOR Synchrotron, Institute for Molecular Science, Okazaki 444-8585, Japan

² The Graduate University for Advanced Studies (SOKENDAI), Okazaki 444-8585, Japan

One of the advantages of a scanning transmission X-ray microscopy (STXM) is tolerance for atmosphere of a sample. Due to high transmittance of the X-ray, the STXM does not require vacuum condition and enables to observe the samples in air pressure or in water. Moreover, a focusing optical element of the STXM, a Fresnel zone plate, has long working distance and long focal depth. These features enable to perform *in-situ* observation, which is impossible for an electron microscopy, so that various sample cells are developed widely [1]. Then, control of humid atmosphere around the sample is a promising *in-situ* observation method [2]. For example, as an application, a fuel cell works under high humid atmosphere and high temperature. In this study, we have developed the humidity control sample cell and performed a test measurement.

The humidity control sample cell (shown in Fig. 1) is a small chamber consisted of two silicon nitride membranes (thickness of 100 nm) as windows. A small sensor to measure humidity and temperature (SHT7x, Sensirion AG) is set inside of the chamber. The cell has three ports for inlet/outlet of gas flowing and two of them were used in this study. The inlet and outlet were connected to a feedthrough of the STXM chamber with stainless tubes and dry/humid helium gas is flowed into the cell to control the humidity. Humidity in the gas is added by bubbling pure water in a bottle and its flow rate is controlled by using a needle valve manually. Then, the inside of the STXM chamber was transferred by helium gas until air pressure. As a performance test, we could change the humidity for from 16.1 to 80.4% at 29°C, where the temperature inside of the STXM chamber was higher than RT.

As test observation by using the cell, morphological change of thin sections of a functional polymer fixed on Formvar membrane was used as a sample. 2-dimensional distributions of fluorine in the polymer were obtained by using K-absorption edge of fluorine (687 eV). X-ray transmission images of below and above of the edge (682 and 692 eV) were obtained. After conversion to optical density images, the distribution of fluorine was obtained by subtracting these images. The distribution of fluorine of the humidity at 16% and 8% are shown in Fig. 2. In these images, bright area shows high concentration of fluorine and dark area like a crack is seen on the center. By changing the humidity from 16% to 80%, 11% of the dark area decreased. This change of the area was caused by swelling of water vapor of the polymer.

As a further application of this humid cell, observation of living biological samples, such as cells and bacteria, will soon be performed. The temperature control and auto-control (i.e. feedback of the humidity and temperature) systems are now under consideration.

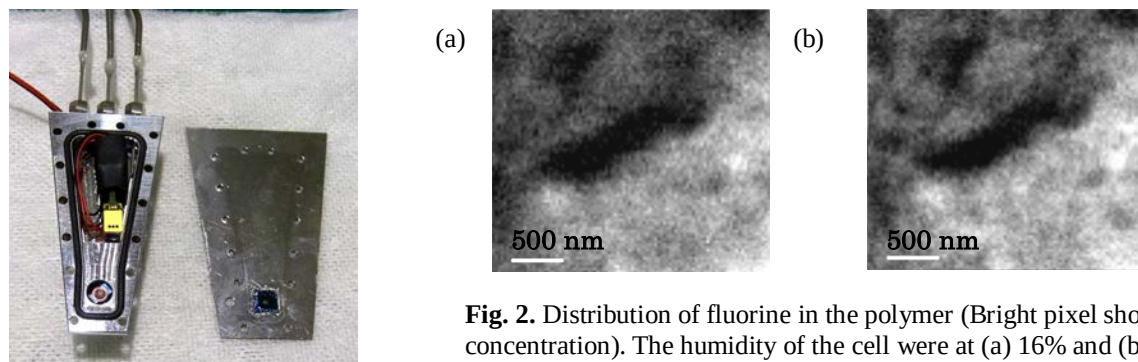


Fig. 2. Distribution of fluorine in the polymer (Bright pixel shows high concentration). The humidity of the cell were at (a) 16% and (b) 80%.

Fig. 1. Photo of the main chamber (inside) and the base plate of the humidity control sample cell.

References

- [1] X. H. Zhu, *et al.*, UVSOR Activity Report **41** (2014), 72.
- [2] V. Berejnov, *et al.*, ECS Transactions **41** (2011), 395-402.

京都大学グループ
(グループリーダー：時任 宣博)

有機アルミニウムクラスター化合物の合成とその構造・物性の解明

吾郷友宏, 和佐野達也, 長田浩一, 笹森貴裕, 時任宣博

京大化研

かさ高い置換基を活用した有機アルミニウムクラスター化合物の合成

我々はかさ高いアリール基を用いて、低配位状態のアルミニウム化学種であるジアルメン $\text{ArAl}=\text{AlAr}$ に関する研究を行っており、最近、ジアルメン $\text{BbpAl}=\text{AlBbp}$ とベンゼンとの形式的[2+4]付加体である化合物 **1** の性質について報告した^[1]。化合物 **1** は、ナフタレンやアントラセンに対し $\text{BbpAl}=\text{AlBbp}$ の等価体としての反応性を示す。今回、**1** と遷移金属錯体やアルキン類との反応から得られた興味深い結果について報告する。

アルミレン白金錯体の合成

ジアルメン金属錯体の合成を目的として、化合物 **1** と白金錯体 $[\text{Pt}(\text{PCy}_3)_2]$ (Cy = cyclohexyl) との反応を検討したところ、当初の予想に反してアルミニウム一価化学種であるアルミレン BbpAl が白金に配位した錯体 **2** が生成した (Scheme 1)。錯体 **2** は、**1** の前駆体である 1,2-ジブromoジアルマン **3**^[2] を $[\text{Pt}(\text{PCy}_3)_2]$ 存在下で還元することによっても得られた。錯体 **2** は、**1** からのベンゼンの解離、または **3** の還元的脱臭素化で発生した $\text{BbpAl}=\text{AlBbp}$ が $\text{BbpAl}:\text{Pt}$ と解離した後、 $[\text{Pt}(\text{PCy}_3)_2]$ で捕捉されることで生成したものと考えられる。DFT計算から、 $\text{BbpAl}=\text{AlBbp}$ と $\text{BbpAl}:\text{Pt}$ のエネルギー差は約 10 kcal mol⁻¹ と見積もられており、溶液中で $\text{BbpAl}=\text{AlBbp}$ から $\text{BbpAl}:\text{Pt}$ への解離は十分に可能と考えられる。

錯体 **2** は、二配位状態のアルミニウムという特異な構造を有しており、アルミニウム周りはほぼ直線型であった (Figure 1)。Al–Pt結合長は 2.2857(18) Å であり、これまでに知られている Al–Pt 結合長の中でも最も短い値であったことから、Al–Pt間に強い結合性相互作用の存在が示唆される。DFT計算により錯体 **2** の電子状態について検討したところ、Al→Pt配位結合に由来する σ 結合に加え、2つの Pt→Al逆供与に対応する π 型の軌道が見出されたことから、錯体 **2** は Al–Pt 三重結合を有しているものと考えられる^[3]。

Scheme 1

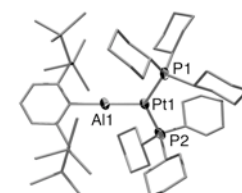
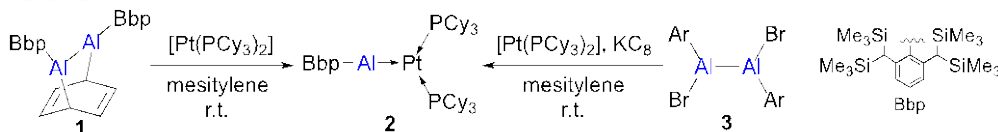


Figure 1. Crystal structure of **2**.

nido構造の有機アルミニウムクラスターの合成

筆者らは化合物 **1** とアルキン類との反応性について報告しており^[1]、本研究では **1** とジフェニルアセチレンとの反応を検討したところ、 $\text{BbpAl}=\text{AlBbp}$ とアルキンの[2+2]付加生成物である **4** に加え、ジアルメンに対し二分子のアルキンが反応した形式の化合物

5 の生成が見られた (Scheme 2)。化合物 **5** は、テトラカルバ-nido-ヘキサアルマン骨格を持つ初めての有機アルミニウム化合物であり、中心の nido- Al_2C_4 部位には二つのアルミニウムと 4 つの炭素の間に多中心結合が存在することが示唆された (Figure 2)^[4]。

Scheme 2

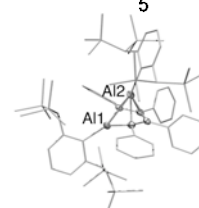
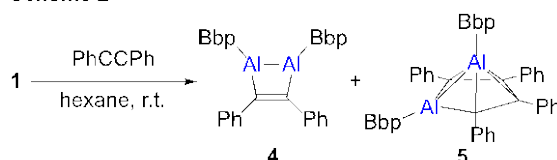
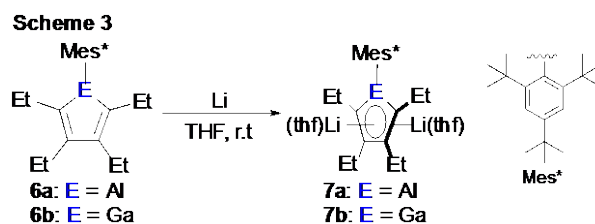


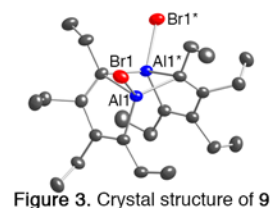
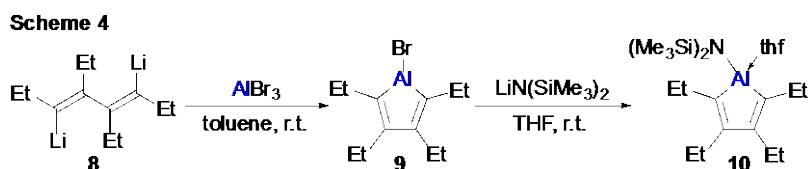
Figure 2. Crystal structure of **5**.

安定なアルモールの合成と反応性の解明

13 族元素は空のp軌道を有するため、13 族元素を導入した π 共役化合物ではp- π^* 共役により LUMO準位が低下し、これに起因してユニークな物性・反応性が期待される。近年、含ホウ素 4 π 共役分子であるボロール（ボラシクロペンタジエン）において、興味深い光物性や反応が種々報告されている。一方、ボロールの高周期元素類縁体に関する研究例は限定的であり、特に含アルミニウム π 共役分子であるアルモールについては、安定な化合物としての合成単離すらなされておらず、その構造や性質に関しては分かっていなかった。我々はかさ高い置換基としてMes*基を活用することで、安定なアルモール **6a**の合成に成功しており、さらに **6a**に対しリチウムを作用させることでアルモール環が二電子還元されたジアニオン **7a**が生成することを明らかにした（Scheme 3）^[5]。同様の手法によって、ガリウム類縁体 **6b**および **7b**についても合成と構造を報告しており、高周期 13 族元素が π 共役系と相互作用することで電子受容性が向上することを明らかにした^[6]。本研究では、アルモールの反応性開拓と、多様な官能基を有するアルモール合成への展開を目的として、反応性官能基としてハロゲノ基を導入したアルモールの合成を検討した。



ジリチオブタジエン誘導体 **8** に対し三臭化アルミニウムを作用させることで、1-ブロモアルモール **9** の合成に成功した（Scheme 4）^[6]。固体状態では、アルモール **9** は α -位炭素原子がアルミニウム原子間を架橋した二量体構造を取っていたのに対し（Figure 3）、溶液中では単量体と二量体の平衡状態にあることが示唆された。アルモール **9** のアルミニウム部位は求核置換反応に対し活性であり、Mes*Liとの反応ではMes*置換アルモール **6a**が生成した。また、かさ高い金属アミドであるLiN(SiMe₃)₂をTHF中で作用させることで、アミノアルモールTHF錯体 **10** を定量的に得ることに成功した^[8]。新規アルモール **9** および **10** の反応性についても併せて検討した。



【参考文献】

- [1] Agou, T.; Nagata, K.; Tokitoh, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 10818.
- [2] Agou, T.; Nagata, K.; Sakai, H.; Furukawa, Y.; Tokitoh, N. *Organometallics* **2012**, 31, 3806.
- [3] Nagata, K.; Agou, T.; Tokitoh, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 3881.
- [4] Agou, T.; Nagata, K.; Sasamori, T.; Tokitoh, N. *Chem. Asian J.* **2014**, 9, 3099.
- [5] Agou, T.; Wasano, T.; Jin, P.; Nagase, S.; Tokitoh, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 10031.
- [6] Agou, T.; Wasano, T.; Sasamori, T.; Tokitoh, N. *J. Phys. Org. Chem.* *in press*.
- [7] Wasano, T.; Agou, T.; Sasamori, T.; Tokitoh, N. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 8148.
- [8] Agou, T.; Wasano, T.; Sasamori, T.; Tokitoh, N. *Organometallics* **2014**, 33, 6963.

開口チアフラレン誘導体の合成

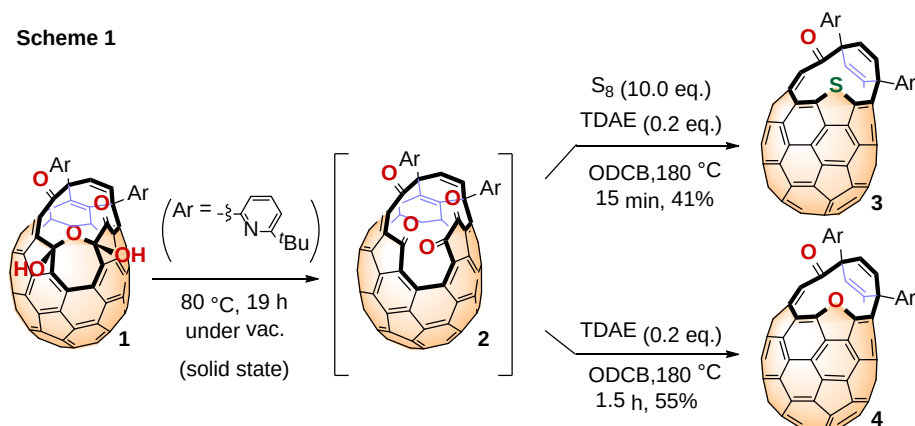
張銳¹, 二子石師¹, 村田理尚¹, 若宮淳志¹, 村田靖次郎^{1,2}

京大化研¹, JSTさきがけ²

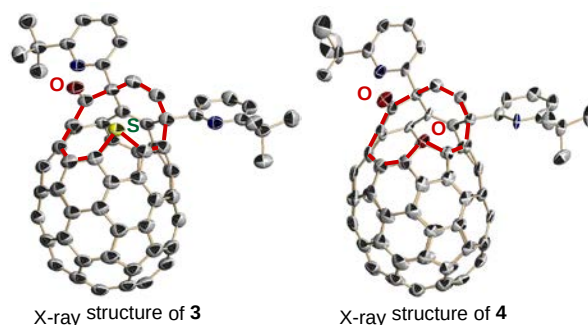
フラレン骨格の炭素原子がヘテロ原子に置き換わったヘテロフラレンは元のフラレンと全く異なる物性を示すことが期待されるが、その有機化学的な合成例はアザフラレン ($C_{59}N$, $C_{69}N$) に限られている¹。開口フラレンはその前駆体として有用であり、事実アザフラレンは開口 C_{60} ケトラクタム誘導体の脱カルボニル化を経由して合成される²。新たな開口フラレンならびにヘテロフラレンを合成するには、フラレンの炭素結合を切断する反応の開拓が必要である。しかし、シンプルなフラレンの外側への付加反応に比べてそのような反応例は極めて少ない。本研究では、特に例の少ない開口フラレン C_{70} の合成に取り組み、フラレン骨格上の炭素原子を硫黄原子および酸素原子に置き変える新規骨格変換反応を見出した。

まず、開口 C_{60} 誘導体の合成法³を基に、開口 C_{70} のビスヘミアセタール体 **1** を合成した⁴。次に、**1** の粉末を真空下で加熱して開口部から水分子を脱離させることにより、テトラケトン体 **2** を発生させた後、ODCB中で π 電子供

Scheme 1



与体であるテトラキスジメチルアミノエチレン (TDAE) 存在下、単体硫黄との熱反応⁵を検討した (Scheme 1)。その結果、12員環開口部をもち、フラレン骨格上の炭素原子の一つが硫黄原子に置き換わったチアフラレン $C_{69}S$ 誘導体 **3** が収率41%で生成し、その構造はX線結晶構造解析より明らかとなった⁴。一方、この反応を硫黄を用いずに検討したところ、**3** の硫黄原子と同様の位置に酸素原子が埋め込まれた、オキサフラレン $C_{69}O$ 誘導体 **4** が生成し、その構造は予備的なX線結晶構造解析より明らかとなった。



【参考文献】

- [1] Vostrowsky, O.; Hirsch, A. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 5191. [2] Hummelen, J. C.; Knight, B.; Pavlovich, J.; Gonzalez, R.; Wudl, F. *Science*, **1995**, *269*, 1554. [3] Kurotobi, K.; Murata, M. *Science*, **2011**, *333*, 613. [4] Zhang, R.; Futagoishi, T.; Murata, M.; Wakamiya, A.; Murata, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 8193. [5] Futagoishi, T.; Murata, M.; Wakamiya, A.; Sasamori, T.; Murata, Y. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 2750.

Synthesis of Open-cage Thiafullerene Derivative

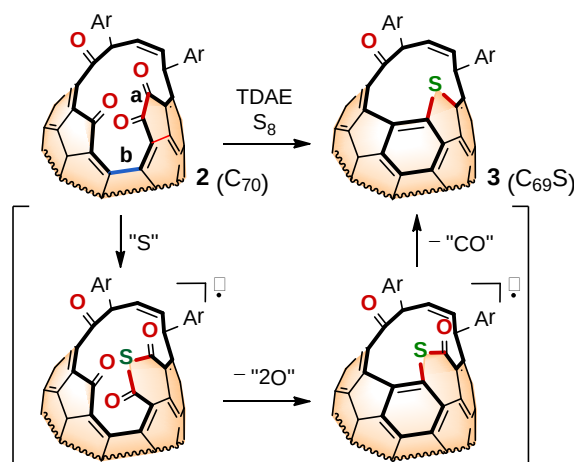
Rui Zhang, Tsukasa Futagoishi, Michihisa Murata, Atsushi Wakamiya, Yasujiro Murata

ICR, Kyoto University and JST PRESTO

Heterofullerenes, where at least one carbon atom of the fullerene cage is replaced by other atoms such as boron, nitrogen or oxygen, are very interesting compounds as their chemical reactivity, photophysical properties and solid-state characteristics can be tuned relative to the original carbon-cage fullerenes and are expected to be very exciting and even unprecedented. In order to synthesize heterofullerenes in a controlled fashion under mild reaction conditions, open-cage C_{60} and C_{70} derivatives should be promising precursors.

The insertion of sulfur on the rim of the opening has been reported as an effective procedure to expand the cage opening. In these reactions, a sulfur atom is inserted into the C-C single bond of the conjugated butadiene units, where the coefficients of the LUMO indicate relatively high degrees of localization. Since the open-cage C_{70} tetraketone **2** shares a similar opening motif with the C_{60} analogue, we expected a similar reaction product from a simple insertion reaction with sulfur. However, when tetraketone **2** was subjected to similar reaction conditions as that of C_{60} analogue, we observed an unprecedented reaction. Dehydration of bis(hemiacetal)-diketone **1** at 80 °C for 16 h resulted in the generation of **2**, which was dissolved in *o*-dichlorobenzene (ODCB) and heated to 180 °C for 15 min in the presence of one equivalent of elemental sulfur and 0.2 equivalents of tetrakis(dimethylamino)ethylene (TDAE). After column chromatography on silica gel, followed by recycling HPLC separation using Buckyprep columns, the unexpected open-cage $C_{69}S$ thiafullerene **3** was isolated in 41% yield, whereas the expected product with a 17-membered ring opening could not be observed. A possible explanation for the formation of **3** is outlined in Scheme 1. As previously mentioned, the LUMO of the C_{60} analogue is localized to a relatively high degree on the conjugated butadiene unit. The LUMO of the C_{70} derivative **2**, however, is not observed at the corresponding C-C bond “b” (blue), thus explaining the absence of the expected product. Instead, sulfur should insert into the more reactive C(O)-C(C) bond “a” (red), probably during the anion radical state, which is generated by an electron transfer from TDAE to **2** under the reaction conditions applied. The insertion of sulfur should be followed by a carbonyl coupling reaction under concomitant loss of two oxygen atoms. A subsequent decarbonylation should then afford **3** after a transfer of one electron to the starting material **2**, which is more electronegative than **3**. Thiafullerene **3** is the first example of a heterofullerene with an open-cage $C_{69}S$ structure.

Scheme 1



東京工業大学グループ
(グループリーダー：藤井 正明)

アドレナリン受容体部分ペプチドの 末端修飾によるコンフォメーション制御

石内俊一, 大場妃香里, 藤井正明

東工大・資源研

神経伝達物質と受容体タンパク質は「鍵と鍵穴」の関係に例えられ、受容体は特定の神経伝達物質を認識し結合して細胞内へシグナルを伝達する。この分子認識機構を分子レベルで理解するために、神経伝達物質と受容体の結合構造の解明は極めて重要である。アドレナリン受容体タンパクはGタンパク質共役受容体と呼ばれる膜タンパクの一つで、アミ

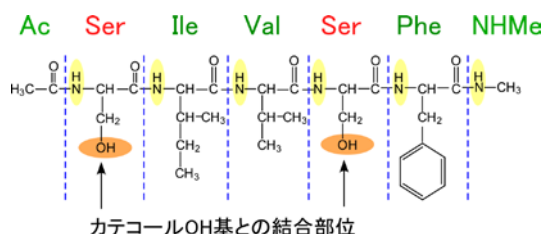


図1 Ac-SIVSF-NHMe

ノ酸 413 残基からなる巨大分子であるが、神経伝達物質との相互作用はその局所的な部分で起ることが知られている。生化学的な手法により、アドレナリン受容体では細胞膜内の α -ヘリックス鎖に存在する2つのSerがリガンド結合部位であることが示唆されており[1]、これらSer側鎖のOH基がカテコールOH基と水素結合を形成すると考えられている[2]。そこで、この分子認識部位を含むアドレナリン受容体の部分配列である5残基ペプチド (Ser-Ile-Val-Ser-Phe-NH₂: SIVSF-NH₂) の構造を気相分光の手法を適用して調べた。ところが、受容体部分ペプチドの末端構造としてNH₂基を選択したため、本来、相互作用しないはずの末端のNH₂基がSer側鎖のOH基と水素結合を形成し、細胞膜内でアドレナリン受容体が形成しているはずの α -ヘリックス鎖に由来する構造が全く見いだされなかった。そこで本研究では、N末端をアセチル化、C末端をメチルアミド化により保護したペプチド Ac-SIVSF-NHMe (図1) を取り上げ、末端修飾による主鎖構造への影響を調べた。Ac-SIVSF-NHMe に対し、レーザー脱離超音速ジェット分光法を適用し、共鳴多光子イオン化 (REMPI) スペクトル、IR dip スペクトルを測定した。

Methylamide Sieber レジンをを用いた固相合成法により Ac-SIVSF-NHMe を合成した。これを凍結乾燥した後、カーボンブラックと混合してグラファイト製ディスクに塗布した。ここに脱離レーザー (1064 nm) を照射して脱離・気化させた。これをArガス (よどみ圧: 80 bar) のパルスジェットで押し流し、スキマーで分子線に切り出した。波長可変紫外レーザーを照射して生成したイオンを飛行時間型質量分析器で検出した。Ac-SIVSF-NHMe の質量をモニター

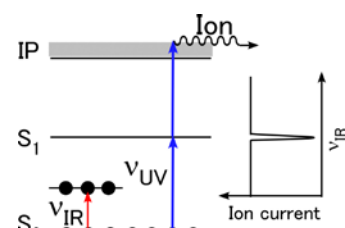


図2 IR dip 分光法の原理

しながら紫外レーザーを波長掃引し、電子スペクトルに相当する REMPI スペクトルを得た。次に、REMPI スペクトルに観測された特定のバンドに紫外レーザー v_{UV} を固定し、生成するイオン量をモニターしながら、波長可変赤外レーザー v_{IR} を照射し波長掃引した (図2)。このとき生成するイオン量は特定のコンフォマーの基底状態の分子数に比例する。 v_{IR} が特定のコンフォマーの振動遷移エネルギーに一致すると、赤外励起によって基底状態の分子数が減少するため、モニターしているイオン量が減少する。したがって、 v_{UV} で選択した特定のコンフォマーの赤外スペクトルをイオン量の減少として測定できる (IR dip 分光法)。

図3に Ac-SIVSF-NHMe の REMPI スペクトルを示す。37536 cm^{-1} から高波数側 530 cm^{-1} の範囲に複数のバンドが観測された。REMPI スペクトル中のバンド a~c に ν_{UV} を固定して IR dip スペクトルを測定したところ、バンド a、c に固定した場合とバンド b に固定した場合では異なる赤外スペクトルが得られ (図4 a, b)、2つの異なるコンフォーマー a, b が共存している事が分かった。今回の結果を SIVSF-NH₂ の赤外スペクトル (図4 c) と比較したところ、大きく異なっており、末端修飾によりペプチド構造が大きく変化したことが示唆された。

Ac-SIVSF-NHMe の2つのコンフォーマーを比較するとコンフォーマーbでは3400-3470 cm^{-1} に複数のバンドが観測された。一方、コンフォーマーaではこの領域にバンドは見られず、3372 cm^{-1} より低波数側にレッドシフトした NH 伸縮振動が観測された。これよりコンフォーマーaはコンフォーマーb よりも強固な水素結合を形成していることが示唆される。コンフォーマーbの3472 cm^{-1} 付近のバンドは、振動数に基づき自由な NH 伸縮振動と帰属した。また、3401 cm^{-1} 及び 3435 cm^{-1} のバンドは、これまでの研究結果より [3]、C₁₀ 構造 (数字は NH...O=C 間の水素結合により形成されるサイクル (cycle) の原子数を示す[4]) の水素結合を形成した NH 伸縮振動と暫定的に帰属した。一方、コンフォーマーaではコンフォーマーbと異なり、3344 cm^{-1} 付近にブロードなバンドが観測された。このバンドは、C₁₃ 構造 (α -ヘリックスに相当) の NH 伸縮振動が 3320-3350 cm^{-1} に現れることより [3]、 α -ヘリックスに由来する α -ターン構造の水素結合を形成した NH 伸縮振動と帰属した。SIVSF-NH₂ では α -ターン構造が観測されなかったが、この結果はペプチド末端の保護によりコンフォメーションが本来の α -ヘリックス構造に近づいた事を示している。詳細な構造を明らかにするため、分子動力学シミュレーション及び量子化学計算により構造の探索と理論赤外スペクトルの計算を理化学研究所杉田グループと共同で進めている。

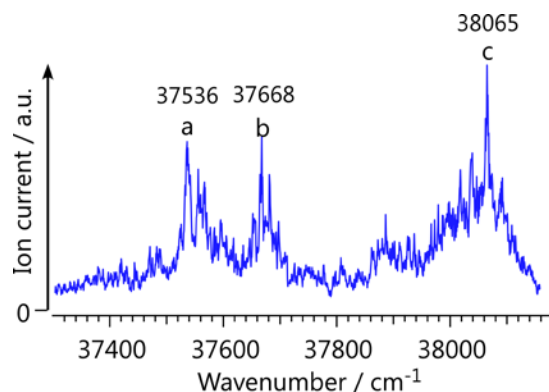


図3 Ac-SIVSF-NHMe の REMPI スペクトル

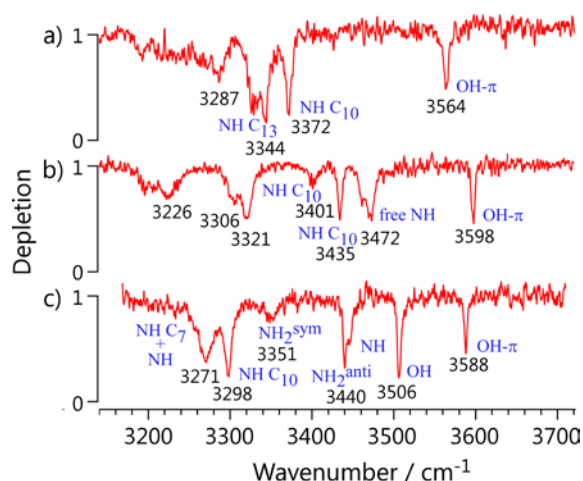


図4 Ac-SIVSF-NHMe (a, b)及び
SIVSF-NH₂ (c)の IR dip スペクトル

【参考文献】 [1] A. D. Strosberg, Protein Science, **2**, 1198 (1993). [2] J. Ostrowski, Annu Rev Pharmacol Toxicol, **32**, 167 (1992). [3] J. A. Stearns et al., Phys. Chem. Chem. Phys., **11**, 125, (2009). [4] Wutharath Chin et al., Phys. Chem. Chem. Phys., **8**, 1033, (2006).

キャップチロシンの励起状態ダイナミクスの コンフォメーション依存性

石内俊一, 篠原潤平, 藁科太一, 孫雲龍, 藤井正明

東工大・資源研

生体関連分子の様なフレキシブルな分子、すなわち複数のコンフォメーションをとり得る分子ではコンフォメーションによって異なる励起状態ダイナミクスを有することがしばしばある。Jouvet らは Phe を含むペプチドのモデル分子としてキャップフェニルアラニン (Ac-Phe-NH_2) に対し超音速ジェット分光を適用し、コンフォマーの構造とそれらの励起状態寿命を測定した。その結果、C7 構造 (図 1) が他の構造に比べて 1 桁程度単寿命であることを見いだした[1]。Domcke らは理論計算により、C7 構造における電荷移動状態でのプロトン移動反応が S_1 状態から S_0 状態への無輻射緩和を加速するという説を唱えている[2]。C7 構造における速い緩和過程はキャプトリプトファン (Ac-Trp-NHCH_3) でも示唆されており[3]、C7 構造が一般的に速い緩和過程を誘起する可能性がある。残るキャップチロシンについては報告例がなく、構造と励起状態緩和過程の相関に興味を持たれる。そこで、本研究ではキャップチロシン (Ac-Tyr-NHCH_3) にレーザー脱離超音速ジェット法を適用し、コン

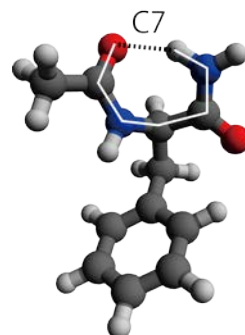


図 1 Ac-Phe-NH_2 の C7 構造
N-H $\cdots$ O=C 水素結合が 7 員環を巻いている。

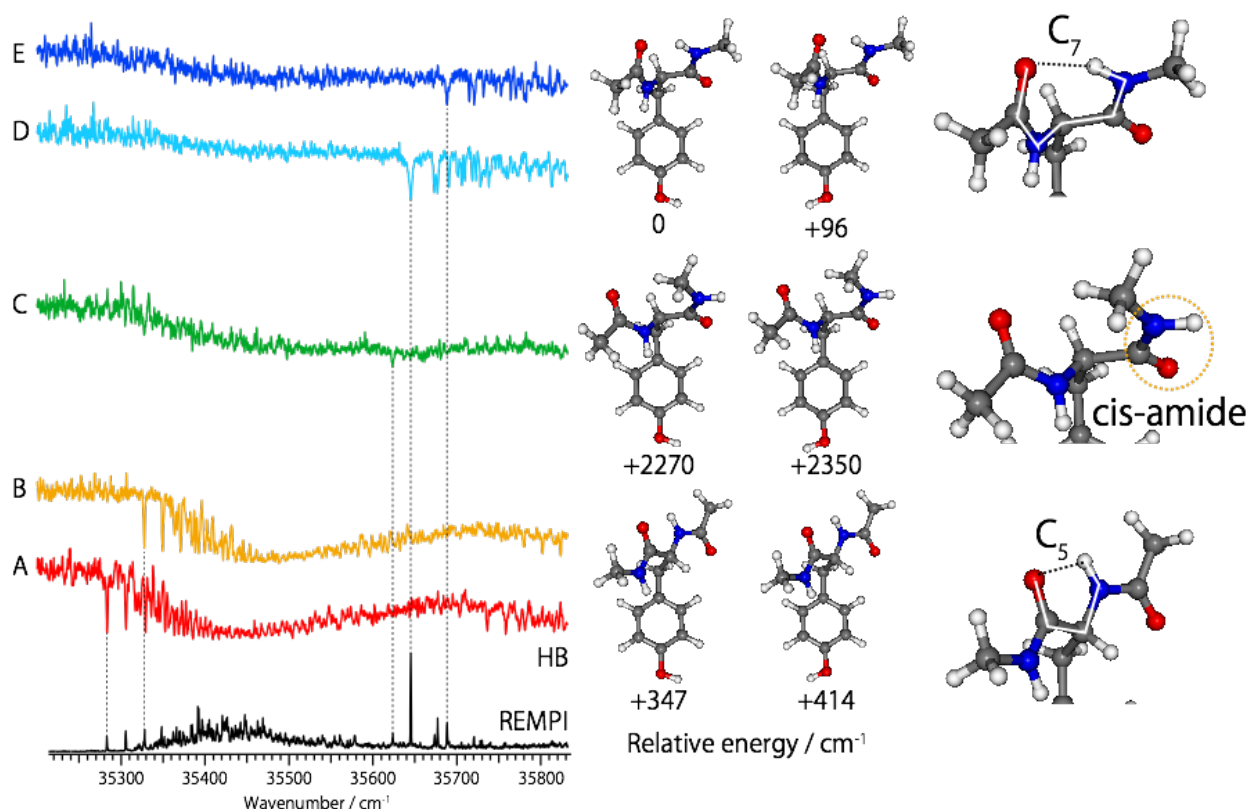


図 2 Ac-Tyr-NHCH_3 の REMPI 及び HB スペクトルと構造帰属

フォーマー毎の電子スペクトル及び赤外スペクトルを測定し、構造と励起状態緩和過程の相関を明らかにすることを目的とした。

昨年、Ac-Tyr-NHCH₃ の共鳴多光子イオン化 (REMPI) スペクトル及び UV-UV ホールバーニング (HB) スペクトルを測定し、5つのコンフォーマー (A~E) が共存することを見出した。その内2つのコンフォーマー (A, B) の電子スペクトルにはブロードな吸収が観測され、速い電子励起状態緩和過程を有する可能性が示唆された。これらの構造を明らかにするため、IR dip 分光法を用いて各コンフォーマーの赤外スペクトルを測定し、量子化学計算の結果と比較した。その結果、コンフォーマーA, BはC5構造に、コンフォーマーD, EはC7構造に帰属された。他のアミノ酸と同様にC7コンフォーマーで速い緩和過程が存在するとすれば、ブロードな電子遷移を与えるコンフォーマーA, BがC7構造となるはずであるが、この結果はそのような予想とは相反している。

電子遷移のブロードニング

は必ずしも速い緩和だけで起こるものではなく、電子遷移に伴う大きな構造変化による多数の振電バンドの出現の可能性もある。従って、励起状態寿命を明確に議論するためにはポンプ-プローブ法による寿命測定が必要である。2台の紫外ピコ秒レーザーを用いて寿命測定した結果を図3に示す。1台目の紫外レーザーを REMPI スペクトルに観測された各コンフォーマーのバンドに合わせ (Cは信号強度が弱く測定できなかった)、それ

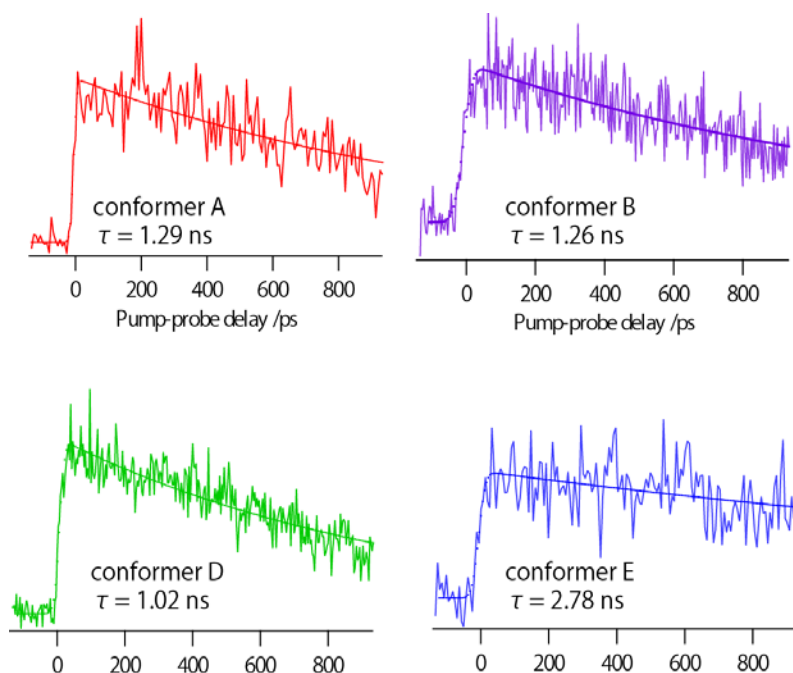


図3 ポンプ-プローブ法によるコンフォーマーごとのS₁寿命測定

それをS₁状態に励起し、遅延時間 (図3横軸) の後に2台目の紫外レーザー (280 nm) でイオン化した。結果としてはコンフォーマーの違いによる寿命の有意な差は観測されず、いずれのコンフォーマーでもおよそ1 nsであった。このことから、コンフォーマーA, Bで観測されたブロードな電子遷移は短い寿命を反映したものではなく、バンドのたて混みによるものであることが示唆された。ここで、興味深いのはフェニルアラニンで観測された励起状態寿命のコンフォーマー依存性が、なぜチロシンでは観測されないかということである。フェノールのS₁の寿命は2 nsほどであり[4]、今回観測された寿命とほぼ同じである。一方、フェニルアラニンの場合は励起状態緩和が加速されたとしても最も寿命が短いもので1.5 nsほどである[1]。従って、ペプチド鎖のコンフォーマーシヨンの違いが異なる緩和過程を誘起する可能性はあったとしても、フェノール発色団が本来持っている励起状態緩和過程の方が速いため、コンフォーマーシヨンによる差が観測されなかったものと考えられる。

【参考文献】 [1] M. Malis, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 20340. [2] W. Domecke and A. L. Sobolewski, *Nat. Chem.*, **2013**, *5*, 257. [3] B. C. Dian, et al., *J. Chem. Phys.*, **2002**, *117*, 10688. [4] R. J. Lipert, et al., *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 380.

エレクトロスプレー・冷却イオントラップ法による プロトン付加カテコールアミンの紫外光解離分光

石内俊一，加藤大智，大場妃香里，藤井正明

東工大・資源研

ドーパ及びドーパミンはカテコールアミン神経伝達物質の1つであり、2個のフェノール OH 基とアミノ酸鎖、エチルアミン鎖を 1, 2, 4-位にもつベンゼン置換体である。我々はこれらの中性状態に関してはレーザー脱離・超音速ジェット法によりコンフォーマの個数やそれぞれの構造について既に研究しており、観測されるコンフォーマが特異的に少ない事を見出している[1]。アミンは生体内ではほとんどプロトン化していると考えられているため、これらのプロトン付加体の研究は不可欠である。プロトン付加ドーパミンの気相中での赤外多光子解離 (IRMPD) スペクトルは既に Dopfer らによって報告されているが[2]、室温での測定でありコンフォーマを選別していないので、構造の帰属にはかなりの任意性がある。これらの構造を正確に帰属するためには、冷却イオントラップを用いた IR-UV 2 重共鳴分光が不可欠である。本研究ではまずその第一歩として、紫外光解離分光法により冷却イオントラップ中のプロトン化ドーパ及びドーパミンの電子スペクトルを測定する事を目的とした。

プロトン付加体でもう一つ興味深いのはその励起状態ダイナミクスである。トリプトファンではプロトン化により励起状態ダイナミクスが大きく変化する事が知られている[3]。本研究で取り上げるドーパ及びドーパミンはカテコールが発色団であるが、カテコール自体の S_1 状態の寿命は 7 ps と短かく（電子遷移はシャープであるが）、速い無輻射緩和過程の存在が示唆されている。また、これはカテコール OH 基の面外変角と強く相関しており、O-H 結合の反結合性軌道が関与する $\pi\sigma^*$ 状態への内部転換が速い無輻射緩和の原因であると考えられている[4]。カテコールアミンの場合、プロトン化はアミノ基で起こると考えられるが、電荷の存在がカテコール OH 基の配向に影響を及ぼしたり、あるいはプロトン化アミノ基が直接ベンゼン環に相互作用するなどして、励起状態ダイナミクスが中性状態とは大きく異なる可能性があり、その点を明らかにすることも本研究の目的である。

図 1 に本研究で用いたエレクトロスプレー (ESI) ・冷却イオントラップ装置の模式図を示す。水・メタノール 1:1 混合溶媒に試料を溶かし酢酸を 1 滴加えた溶液をシリンジポンプで高電圧を印加したキャピラリーに送液し、エレクトロスプレーを得た。これを加熱キャピラリーに通すことで脱溶媒させ、オクタポールイオンガイドを用いて高真空中に導入した。イオンはパルス電圧

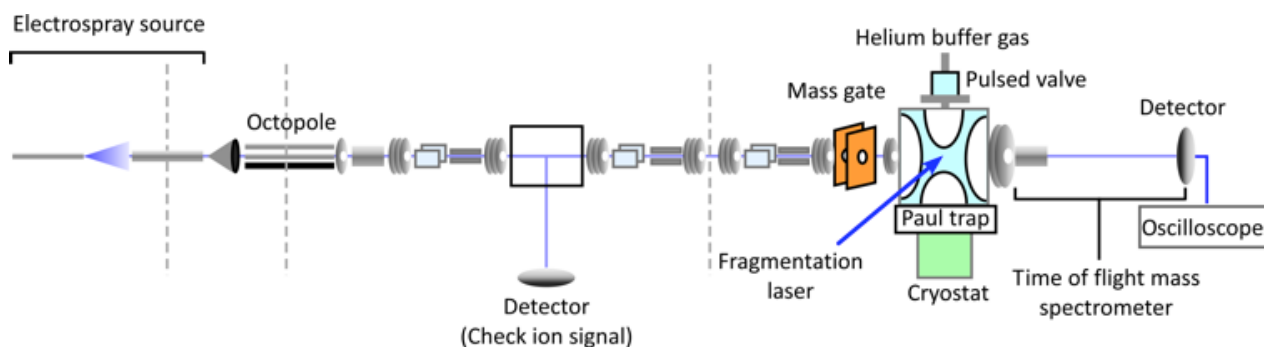


図 1 ESI・冷却イオントラップ装置

を印加したイオンレンズによりバンチングされ、マスゲートにより特定の飛行時間、すなわち質量のイオンのみを選択して、クライオスタットで数 K に冷却した四重極イオントラップに導入した。ここにはイオン導入の前にあらかじめパルスバルブを通じて He ガスを導入し、冷えた He ガスで満たしておく。イオンは冷えた He ガスと衝突することで冷却される。ここに波長可変紫外レーザーを導入し、波長掃引する。紫外レーザーが電子遷移に共鳴しイオンが電子励起されると、前期解離によりフラグメントが生成する。これを後段の飛行時間型質量分析器で検出することにより、電子遷移をフラグメント量の増加として測定することができる。

図 2 にプロトン付加ドーパ及びドーパミンの紫外光解離スペクトルを示す。比較のためにプロトン付加チロシンの紫外光解離スペクトルも併せて示す。ドーパ及びチロシンは $\text{C00H}+\text{H}$ loss チャンネルを、ドーパミンは NH_3 loss チャンネルをモニターした。チロシンでは過去に報告されている様にシャープな構造が観測されたのに対して[5]、ドーパ、ドーパミンではプログレッションらしき構造は観測されるものの、シャープな振電バンドは観測されず、ブロードなスペクトルが観測された。冒頭で述べた様に、トリプトファンはプロトン付加により S_1 状態の寿命が劇的に短くなり、380 fs と報告されている[6]。このとき、紫外光解離スペクトルにはプロトン付加ドーパやドーパミンで観測される様なプログレッション構造は見られず、非常にブロードなものとなる[3]。一方、シャープな構造が観測されるプロトン付加チロシンの寿命は 22.3 ps と報告されている[6]。従って、プロトン付加ドーパ及びドーパミンの S_1 状態の寿命はサブピコ秒～ピコ秒一桁台であると予想される。

上述のように中性のカテコールも S_1 状態の寿命は短く、 S_2 状態である $\pi\sigma^*$ 状態が S_1 ($\pi\pi^*$) に接近してくることが原因であると考えられている[4]。プロトン付加体でも同様のことが起こるかを量子化学計算で調べたところ (RI-CC2/aug-cc-pVDZ)、ドーパミンでは S_1 - S_2 の S_0 最安定構造におけるエネルギー差は 0.15 eV であるのに対して、ドーパミンよりフェノール OH 基を 1 個及び 2 個少ないチラミン、フェニルエチルアミンでは 0.37, 0.70 eV となり、カテコールアミンの短寿命化は $\pi\sigma^*$ 状態の安定化が原因であることが示唆された。

【参考文献】 [1] H. Mitsuda, et al., *J. Phys. Chem. Lett.*, **2010**, 1, 1130., S. Ishiuchi, et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2011**, 13, 7812. [2] A. Lagutschenkov, et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2011**, 13, 2815. [3] S. R. Mercier, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 16938. [4] M. Weiler, et al., *J. Phys. Chem. Lett.* **2013**, 4, 3819. [5] O. V. Boyarkin, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 2816. [6] H. Kang, et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2005**, 7, 394.

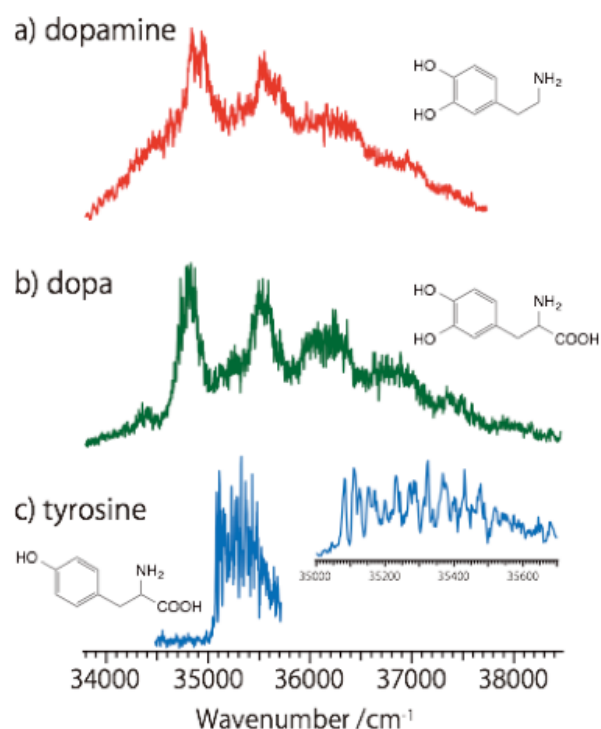


図 2 プロトン付加ドーパミン(a), ドーパ(b)及びチロシン(c)の紫外光解離スペクトル
c)のインセットはチロシンのスペクトルの横軸を拡大したもの。

大阪大学グループ
(グループリーダー：水谷 泰久)

時間分解共鳴ラマン分光法によるグロイオバクターロドプシンの

プロトン輸送機構の研究

中嶋亜侑美¹, 水野操¹, 神取秀樹², 水谷泰久¹

阪大院理¹, 名工大院工²

【序】グロイオバクターロドプシン (GR) は、光エネルギーを利用してプロトンを細胞内から細胞外へと輸送する。定常状態の GR が光を吸収すると、レチナール発色団は全トランス形から 13-シス形へと異性化する。光異性化後、タンパク質は複数の中間体 (K, L, M, N および O 中間体) を経由し、定常状態に戻る光サイクル反応 (図 1) を示す。プロトン輸送機構を理解するためには、各中間体における発色団の構造を明らかにすることが重要である。本研究では、定常状態、K, L, M および N 中間体について、共鳴ラマン分光法を用いて、ナノ秒からミリ秒領域におけるレチナール発色団の構造および周辺残基との相互作用を調べた。

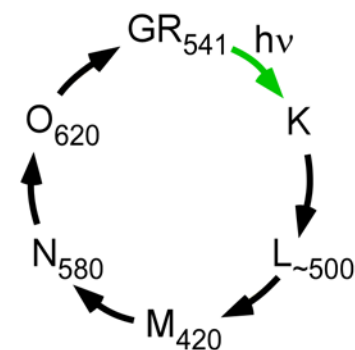


図 1. グロイオバクターロドプシンの光サイクル反応

【実験】GR は大腸菌系で発現させ、界面活性剤により可溶化し、カラムクロマトグラフィーを用いて精製した。時間分解共鳴ラマンスpekトルの測定は、ポンプ - プロブ法を用いて行った。ポンプ光には 532 nm および 561 nm、プロブ光には 400 nm, 475 nm および 532 nm の波長の光を用いた。ラマン散乱光は、前置分光器を通してレイリー散乱光を取り除いた後、シングル分光器で分散し液体窒素冷却型 CCD 検出器で検出した。

【結果・考察】475 nm をプロブ光波長とした時間分解共鳴ラマンスpekトルでは、2 本の C=C 伸縮振動[$\nu(\text{C}=\text{C})$]および 2 本の C=N 伸縮振動[$\nu(\text{C}=\text{N})$]バンドが観測された。遅延時間 10 μs にかけて、いずれのバンドも相対強度が変化した。これは、この時間帯に 2 種類の中間体が存在することを示している。過去の過渡吸収測定の結果から、この時間帯では L 中間体が観測されている。このため、GR には 2 種類の L 中間体が存在することがわかった。これらを L_{fast} , L_{slow} 中間体と名付けた。さらに、遅延時間 5 ms にかけて、新たな $\nu(\text{C}=\text{C})$ および $\nu(\text{C}=\text{N})$ バンドが観測された。バンドが出現した時間帯から、これらは N 中間体に由来すると帰属した。また、532 nm および 400 nm のプロブ光を用いて、それぞれ K および M 中間体のラマンスpekトルを観測した (図 2)。

各中間体について、軽水および重水中でのspekトルを観測し、同位体効果を調べた。図 3 に示すように、M 中間体の $\nu(\text{C}=\text{N})$ バンドは重水素置換による波数シフトを示さなかったが、その他の中間体では低波数シフトが観測された。これらから、レチナール発色団のシッフ塩基は M 中間体で脱プロトン化状態となり、N 中間体で再プロトン化状態となることがわかった。さらに、M 中間体の生成速度、減衰速度はともに重水中では軽水中に比べて遅くなり (図 4)、これらの過程でプロトン移動が起きていることを示した。

$\nu(\text{C}=\text{N})$ モードは、NH 変角振動モードとカップルしているため、その振動数はプロトン化シッフ塩基の水素結合の強さを反映する。図 3 に示した軽水中の $\nu(\text{C}=\text{N})$ バンドの振動数および同位体効果

の大きさから、 L_{slow} 中間体でシッフ塩基とカウンターイオンとの水素結合が最も強くなることがわかった。また、 L_{slow} および M 中間体のバンド強度の時間変化から、これらの中間体は速やかに平衡関係に達することが示唆された。以上の結果から、 L_{slow} 中間体生成の過程でカウンターイオンがシッフ塩基に近づき、プロトン移動のエネルギー障壁を低くしているという仮説を提案した。

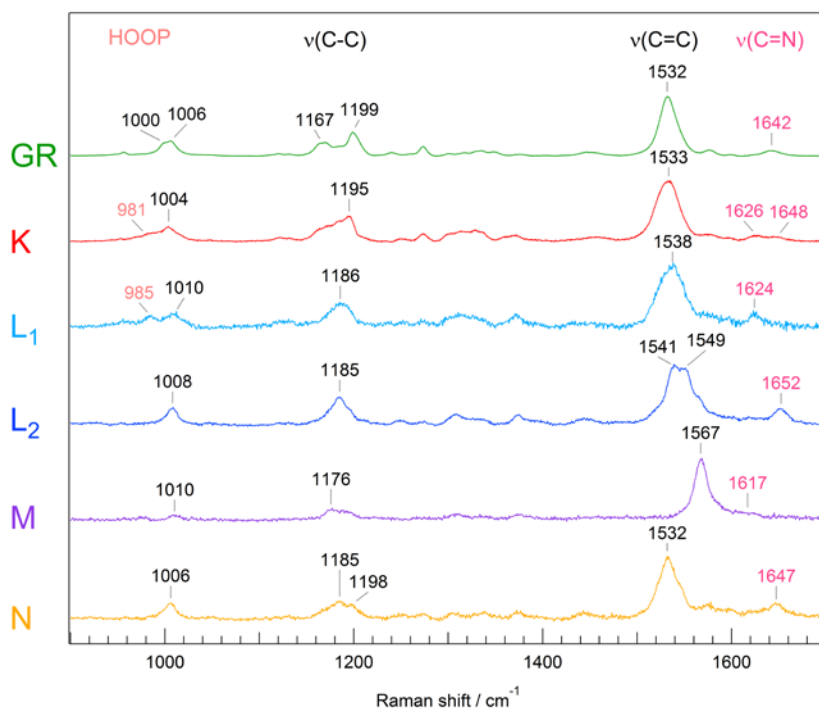


図 2. グロイオバクターロドプシン反応中間体の共鳴ラマンスペクトル

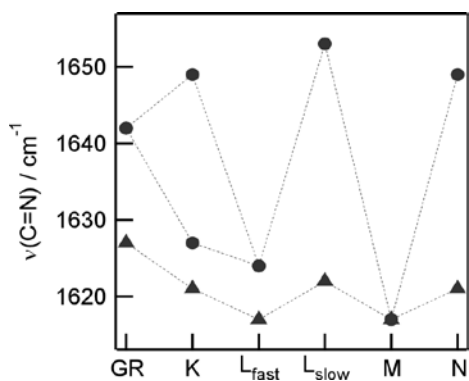


図 3. 定常状態および各中間体の $\nu(\text{C}=\text{N})$ バンドの振動数およびその同位体効果。軽水中 (●)、重水中 (▲) の値。

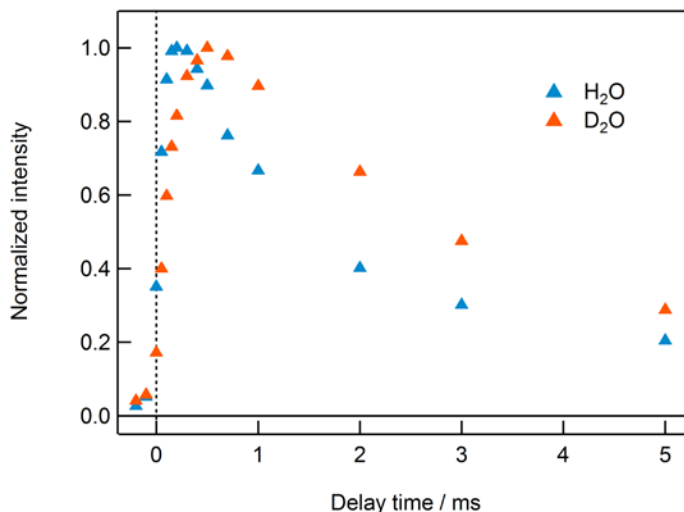


図 4. M 各中間体の $\nu(\text{C}=\text{C})$ バンド強度の時間変化。軽水中 (青)、重水中 (橙) の値。

酸素センサータンパク質 FixL の構造変化に基づく活性制御機構の研究

山脇竹生¹, 石川春人¹, 水野操¹, 中村寛夫², 城宜嗣², 水谷泰久¹

阪大院理¹, 理研・城生体金属科学²

【はじめに】FixL はマメ科植物と共生する根粒菌に含まれる酸素センサータンパク質で、細胞内酸素濃度を感知する。低酸素下ではリン酸化酵素活性を持ち、高酸素下では活性を抑制することで窒素固定系遺伝子の発現調節を担う。FixL はガス分子と結合するヘムを含むセンサードメインと、リン酸化を触媒する酵素ドメインで構成されており、ガス分子の結合に伴う構造変化がドメイン間を伝達することで活性の制御を行うと考えられている。しかし、酵素ドメインの結晶構造は報告例がなく、構造変化による活性制御を直接観測した例はいまだかつてない。本研究では、紫外共鳴ラマン分光法による全長 FixL の構造変化の観測に加え、リン酸化活性測定を行うことで、活性制御に重要な残基の構造変化をとらえることに成功した。

【実験】試料は大腸菌発現したものをカラムクロマトグラフィーで精製し、調製した。時間分解測定は、ポンプ光に波長 532 nm、プローブ光に波長 233 nm のパルス光をもちいて行った。リン酸化活性測定は、リン酸基と相互作用をする Mn^{2+} 錯体である phos-tag 試薬をゲルに混合し、SDS-PAGE を行った。FixL がもつ 7 つのチロシン(Tyr)残基のうち、いずれか 1 残基をフェニルアラニン(Phe)残基に置換した変異体を 7 種作製した。

【結果・考察】図 2 は FixL およびその変異体の酸素結合前後のスペクトル変化を示している。野生型(WT)の Tyr および Phe 残基由来のバンドに変化が見られたことから、酸素の結合に伴う FixL の構造変化をスペクトル変化として観測することができた。変異体における酸素の結合に伴うスペクトル変化は、WT の変化と比べると、変化量が異なっており、特に Tyr201 変異体で違いが大きかったことから、スペクトル変化は Tyr201 の寄与が大きいことを明らかにした。Tyr201 変異体についてリン酸化活性測定をした結果、WT では酸素の添加により活性が抑制された一方、変異体では抑制がほとんど見られなかった(図 3)。このことか

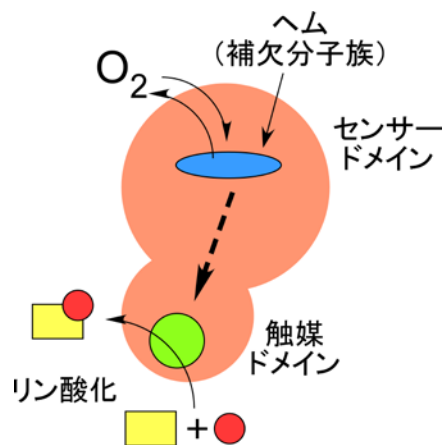


図 1. 酸素センサータンパク質 FixL の作動機構

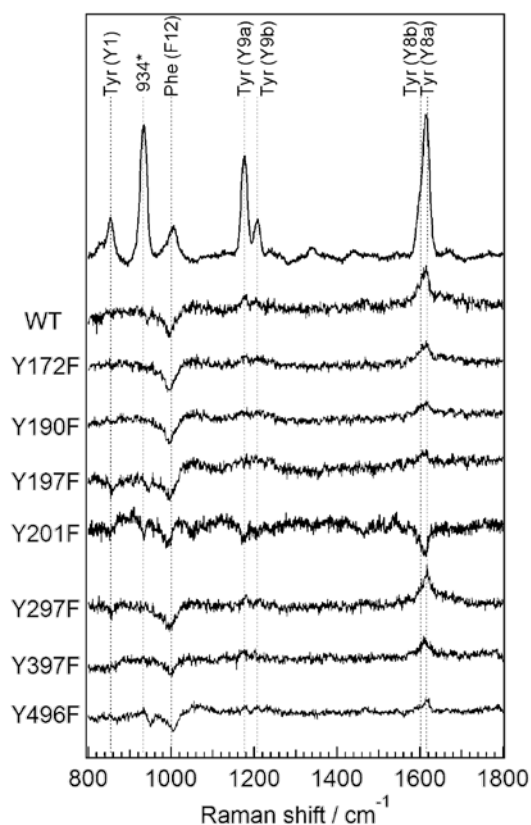


図 2. FixL WT および変異体の紫外共鳴ラマンスペクトル: 酸素結合に伴うスペクトル変化を、(酸素結合形) - (非結合形) の差スペクトルとして示す。また、最上段には比較のため酸素結合形 FixL のスペクトルを示す。

ら Tyr201 が活性制御に重要な残基であることが明らかになった。Y8a バンドの強度増大は Tyr の水素結合が強くなったことを反映しており、酸素の結合に伴い、Tyr201 の水素結合が強まり、活性が抑制されたと考えられる。Phe 変異体では水素結合を形成できないことから、抑制がみられなくなったと考えられる。以上のことから、Tyr201 の水素結合強度変化が活性制御に重要であることを明らかにした。

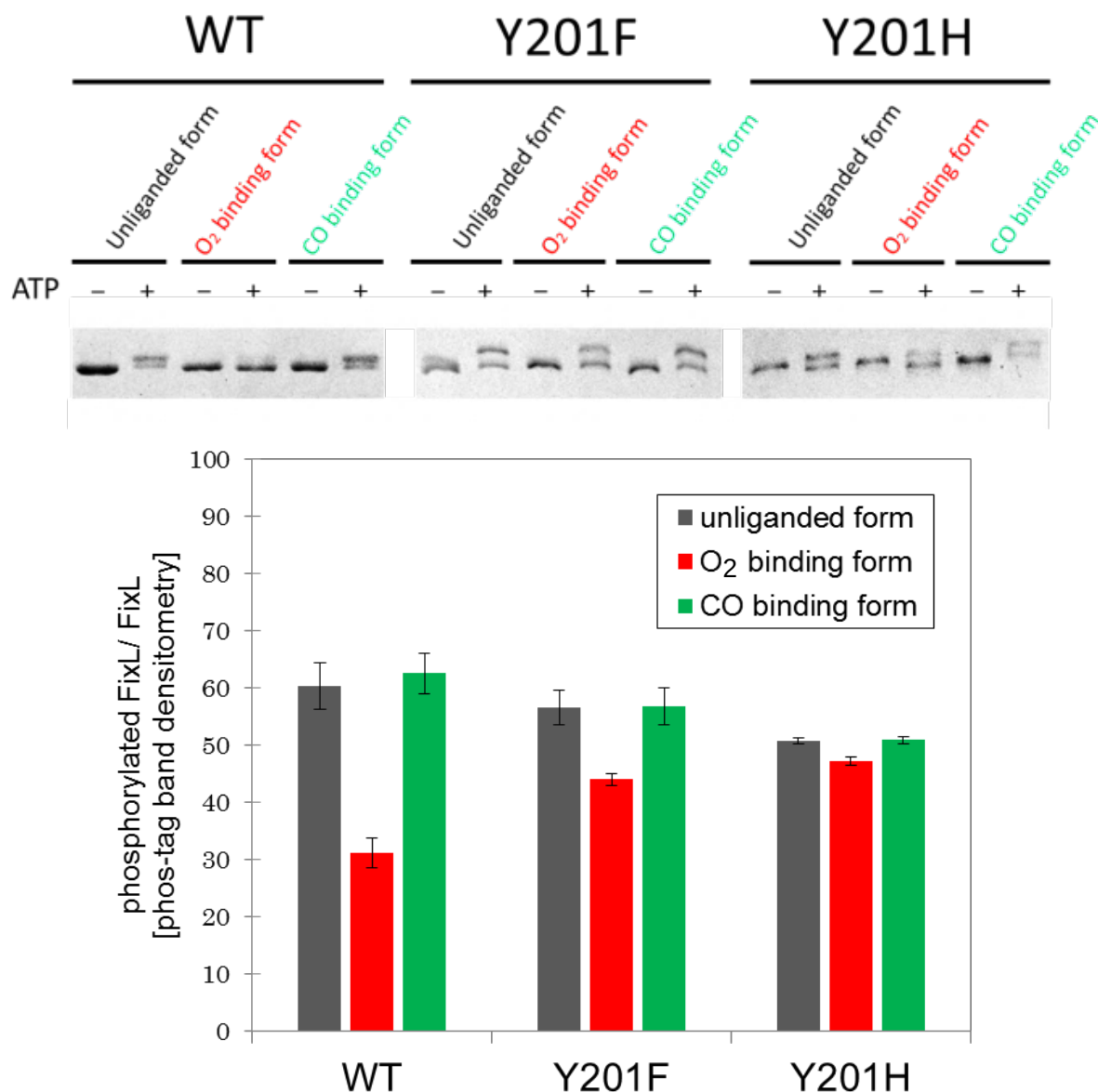


図 3. Phos-tag SDS-PAGE によるリン酸化活性の定量。(A) 電気泳動のゲル写真、(B) ゲルのバンド定量に基づいて得られたリン酸化タンパク質の割合。

【参考文献】

- (1) Hiruma, Y. Kikuchi, A.; Tanaka, A.; Shiro, Y.; Mizutani, Y. *Biochemistry* **2007**, 46, 6086-6096.
- (2) Yoshida, Y.; Ishikawa, H.; Aono, S.; Mizutani, Y.; *Biochim. Biophys. Acta - Proteins and Proteomics* **2012**, 1824, 866-872.
- (3) Yano, S.; Ishikawa, H.; Mizuno, M.; Nakamura, H.; Shiro, Y.; Mizutani, Y.; *J. Phys. Chem. B* **2013**, 117, 15786-15791.

東北大学グループ
(グループリーダー：山下 正廣)

単分子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの創成

山下正廣¹, 加藤恵一¹, 米田忠弘²

東北大院理¹, 東北大多元研²

我々はフォトクロミック分子やスピントロニクスオーバー錯体で架橋された単分子磁石 (SMM) に可視光や紫外光を照射することにより、前者では開環⇌閉環、後者では高スピン⇌低スピン間の変化が起こり、単分子磁石間に磁気的な相互作用が可逆的にON⇌OFFすることを利用して、単分子磁石⇌古典磁石間の光スイッチング機能を持つ素子を開発することを目指している。今回我々は、Dyイオンを carboxylate 修飾したフォトクロミック分子 1,2-bis(5-carboxy-1-(2-methyl-3-thienyl)perfluorocyclopentene) (dae²⁻)を用いて錯体を合成した[1]。この dae²⁻は図 1a に示すように、光で可逆的に開環と閉環構造をとることが可能である。

得られた錯体は、 $[(\text{Dy}^{\text{III}}_2(\text{dae})_3(\text{DMSO})_3(\text{MeOH})) \cdot 10\text{MeOH}]_n$ (1a) の組成を持つDy二核錯体であり、dae²⁻が Dy³⁺イオンに配位した二次元層構造となっていることが単結晶X線構造解析から明らかとなった(図 1b-c)。

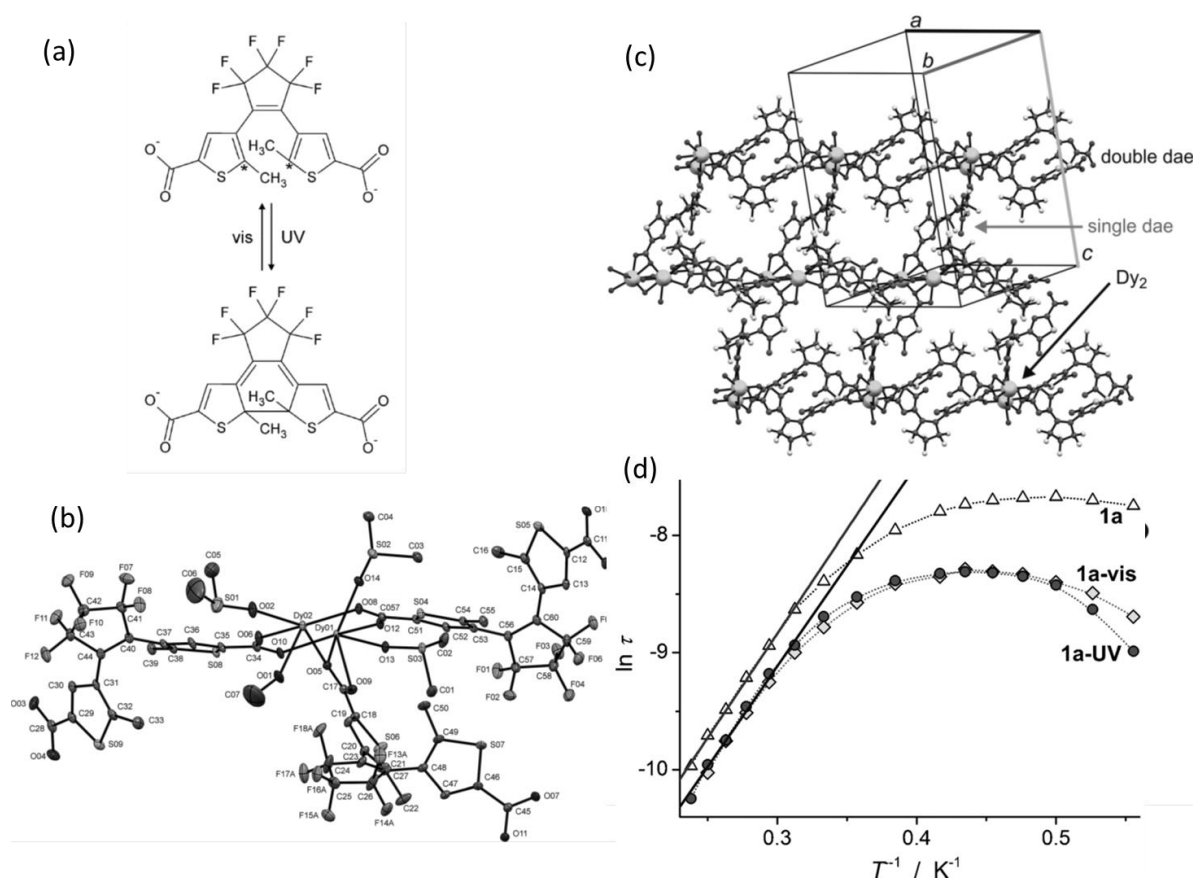


図 1. (a) 光に対する dae²⁻の開環・閉環反応. (b) 1a の単結晶 X 線構造解析と (c) 1a のパッキング図. (d) 各温度での交流磁化率の周波数依存性から求めた磁化緩和時間 (τ) と温度の逆数から作成したアレニウスプロット. 1a: 開環状態、1a-UV: 350 nm 照射後の閉環状態、1a-vis: 480 nm 照射後の開環状態.

1aの単結晶に350 nmの光を照射したところ、無色から濃い青色へ変色が観測された。そこで**1a**の固体サンプルの光照射測定を行ったところ可逆的フォトスイッチング(**1a**-UV $\leftrightarrow$ **1a**-vis)を示すことを明らかにした。また、交流磁化率の結果、**1a**は0 Oeでは、明確な周波数依存性は示さなかったが、磁場を1500 Oe印加したところ明確な周波数を示したことから、磁場誘起型のSMMであることがわかった。さらに、光照射前後でのSMM挙動を詳細に調べたところ、 dae^{2-} の開環・閉環に伴うSMM特性の変化が観測された(図1d)。特に低温における量子トンネルに伴う磁化緩和時間(τ)が、開環状態である**1a**とUV(350 nm)照射後の**1a**-UVとで顕著な差を観測した。これは、開環状態と閉環状態で、Dyイオンの配位環境が変化することで磁化容易軸が変化したことや、 dae^{2-} 配位子の π 共役が変化することでDyイオン間の磁気双極子相互作用に影響が現れたと考えられる。さらに、可視光(480 nm)照射後の**1a**-visでは完全に開環状態である**1a**には戻らなかった。この点に関しては今後の課題として分子設計も考慮し、可逆なフォトクロミックSMMスイッチング分子の合成を目指していきたいと考えている。

また、我々はAu(111)面上に吸着したビス(フタロシアニナト)テルビウム(III)錯体 TbPc_2 の電子構造をSTM/STSを用いて調べている(図2)。 TbPc_2 分子膜に対して得られたSTSスペクトルでは、フェルミ準位での近藤共鳴に加えて、占有状態由来の急激かつ強いピークAを観察した[2]。ピークAは、フィルム中の分子について観察されたが、孤立分子には存在しない。さらに測定位置を8つのローブ上に変えながら測定すると、ピークAの位置は、周期的に数百ミリボルトだけシフトした。フェルミ準位の鋭いピークとして検出された近藤共鳴も、ピーク幅および強度の周期的な変化を示している。

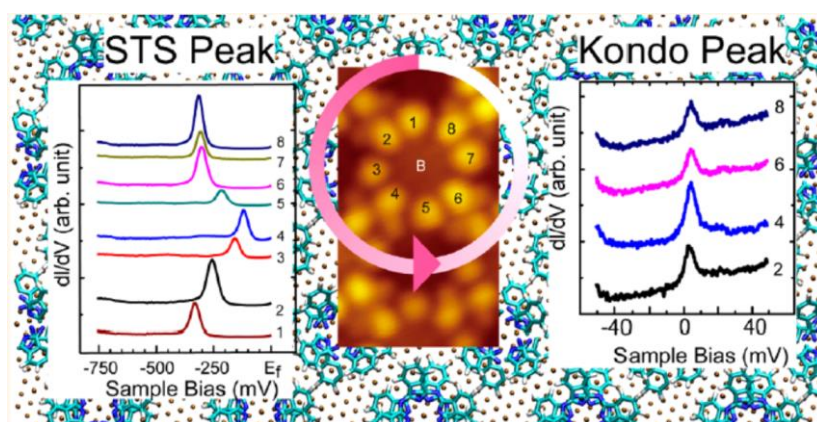


図2. 測定位置を8つのローブ上に変えながらSTS測定すると、ピークAの位置は周期的に数百ミリボルトだけシフトする。フェルミ準位の鋭いピークとして検出された近藤共鳴も、ピーク幅および強度の周期的な変化を示している。

ピークAの位置は、周期的に数百ミリボルトだけシフトした。フェルミ準位の鋭いピークとして検出された近藤共鳴も、ピーク幅および強度の周期的な変化を示している。ピークAは E_F に近づくと、近藤温度(T_K)が増加する。ピークAはSOMO状態に由来しており、分子と基板間の化学吸着相互作用の減少によってエネルギーシフトが引き起こされと考えられる。上側のPc配位子に関するDFT計算の結果、ピークAと近藤共鳴の周期的な変動は、分子-基板相互作用のサイトに依存していることが示唆された。すなわち、積層構造のわずかな変化は、 π ラジカルと基板の伝導電子の散乱による近藤共鳴の変化をもたらし、さらに分子-基板相互作用の変化を引き起こす。今回の結果は、スピン状態の新たな機能制御のためには、分子形状だけでなく分子-基板相互作用も有効であることを示唆している。

【参考文献】

- [1] Pinkowicz, D; Ren, M; Zheng, L-M; Sato, S; Hasegawa, M; Morimoto, M; Irie, M; Breedlove, B. K.; Cosquer, G; Katoh, K; Yamashita, M. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 12502. [2] Komeda, T; Isshiki, H; Liu, J; Katoh, K; Yamashita, M. *ACS Nano*, **2014**, *8*, 4866.

IV. 業績リスト

(1)原著論文 (accept を含む)

1. S. Nihonyanagi, S. Yamaguchi and T. Tahara: “Counterion effect on interfacial water at charged interfaces and its relevance to the hofmeister series,” *J. Am. Chem. Soc.*, **136**, 6155–6158 (2014)
2. T. Fujisawa, S. Takeuchi, S. Masuda, and T. Tahara, “Signaling-state formation mechanism of a BLUF protein PapB from the Purple Bacterium *Rhodospseudomonas palustris* studied by femtosecond time-resolved absorption spectroscopy”, *J. Phys. Chem. B.*, **118**, 14761–14773. (2014)
3. L. Hua, M. Iwamura, S. Takeuchi and 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”, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **17**, 2067-2077. (2015)
4. S. Re, W. Nishima, T. Tahara and Y. Sugita, “A mosaic of water orientation structures at a neutral zwitterion lipid/water interface revealed by molecular dynamics simulations”, *J. Phys. Chem. Lett.* **5**, 4343-4348. (2014)

(2)著書、解説等

1. 二本柳聡史、山口祥一、田原太平：“ヘテロダイン検出和周波発生分光法による水界面における水素結合構造とダイナミクスの解明”、 *Electrochemistry*, Vol.82, 766-770, (2014)
2. 石井邦彦、“生命科学のための蛍光分光 第5回 蛍光分子の動的過程の解析2 (蛍光相関分光法)”、*分光研究*, 63 巻 5 号, 215-227, (2014)
3. 乙須拓洋、“二次元蛍光寿命相関分光法によるマイクロ秒蛋白質ダイナミクス研究”、*生物物理*, Vol.54, No.6, P.321-322 (2014)
4. Munetaka IWAMURA, Satoshi TAKEUCHI, and Tahei TAHARA, “Ultrafast excited-state dynamics of copper (I) complexes”, *Accounts of Chemical Research*, accepted (2014)

(3)招待講演

1. S. Takeuchi, “Probing nuclear and structural dynamics in reacting molecules by femtosecond time-domain Raman spectroscopy”, Annual Meeting of Spectroscopical Society of Japan, International Symposium on “The Forefront of Ultrafast Spectroscopy”, 理化学研究所和光キャンパス, 和光市 (May 26-28, 2014)
2. K. Ishii, “Elucidating microsecond molecular dynamics using two-dimensional fluorescence lifetime correlation spectroscopy”, 理研シンポジウム：理研 - 台湾国立交通大学連携ワークショップ、独立行政法人理化学研究所 大河内記念ホール、和光市 (June 6, 2014)
3. S. Takeuchi, and T. Tahara, “Monitoring continuous structural evolutions in reacting molecules by multi-pulse ultrafast spectroscopy”, International workshop on “Over the Barriers of Transition Paths: Dynamical Processes in Proteins and Complex Molecular Systems”, 東京工業大学、横浜市 (June 28, 2014)
4. K. Ishii, “Characterization of microsecond molecular dynamics using two-dimensional fluorescence lifetime correlation spectroscopy”, International workshop on “Over the Barriers of Transition Paths: Dynamical Processes in Proteins and Complex Molecular Systems”, 東京工業大学、横浜市 (June 28, 2014)
5. T. Tahara, “Ultrafast vibrational spectroscopy at liquid interfaces by heterodyne-detected sum-frequency generation”, 19th International Conference on Ultrafast Phenomena, Okinawa Convention Center, Okinawa (July 7-11, 2014)
6. S. Nihonyanagi, S. Yamaguchi and T. Tahara, “Effect of counterions on the structure of water at interfaces studied by heterodyne-detected vibrational sum frequency generation spectroscopy”, 15th International Conference on Organized Molecular Films, International Convention Center (ICC) JEJU, Jeju, Korea (July 9-11, 2014)
7. T. Tahara, “Primary process of photoreceptor proteins studied by time-resolved impulsive stimulated Raman spectroscopy”, XXIVth International Conference on Raman Spectroscopy (XXIV ICORS), Friedrich Schiller University Jena, Jena, Germany (August 10-15, 2014)
8. H. Kuramochi, S. Takeuchi, K. Yonezawa, H. Kamikubo, M. Kataoka, and T. Tahara, “Femtosecond time-resolved impulsive stimulated Raman study of photoactive yellow protein”, 16th International

Conference on Retinal Proteins (ICRP-2014), Nagahama, Shiga, Japan (October 5-10, 2014)

9. A. Adhikari, S. Nihonyanagi, S. Yamaguchi, and T. Tahara, “Interaction of cell penetrating peptides with model lipid monolayer at air/water interface probed by novel interface selective nonlinear spectroscopic technique”, Frontiers in Molecular Spectroscopy: Fundamentals and Applications to Material and Biology, Nara, Japan (November 25-28, 2014)
10. K. Ishii and T. Tahara, “Development and application of two-dimensional fluorescence lifetime correlation spectroscopy for the study of microsecond biomolecular dynamics”, Frontiers in Molecular Spectroscopy: Fundamentals and Applications to Material and Biology, Nara, Japan (November 25-28, 2014)
11. T. Tahara, “Femtosecond time-resolved impulsive stimulated Raman spectroscopy of simple and complex molecular systems”, Advances in Spectroscopy and Ultrafast Dynamics (ASUD-2014), Seminar, Department of Chemistry, Indian Institute of Technology at Bombay, India (February 4, 2015)
12. T. Tahara, “Femtosecond time-resolved impulsive stimulated Raman spectroscopy of complex molecular systems”, The 6th RSC-CSJ Symposium (held in conjunction with the 95th CSJ Annual Meeting), Nihon University (Funabashi Campus), Chiba, Japan (March 27, 2015)
13. T. Tahara, “Water interfaces studied by steady-state and time-resolved heterodyne detected vibrational sum-frequency generation”, Sum Frequency Spectroscopy, Wilhelm-Kempf-Haus, Wiesbaden Naurod, Germany (March 30-April 1, 2015)
14. 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)、2014 年 9 月 18 日～20 日
15. 田原太平、“新しい界面選択的非線形分光の開発と展開”、第 8 回分子科学討論会、広島大学東広島キャンパス(東広島)、2014 年 9 月 21 日～24 日
16. 二本柳聡史、“超高速界面分子ダイナミクス”、分光フェア、科学技術館(東京)、2014 年 11 月 9 日
17. 田原太平、“見えないものを観る：新しい分光計測による複雑分子系ダイナミクスの観測と理解”、第 5 回 統合物質シンポジウム、名古屋大学野依記念物質科学研究館 2F 大講演室(名古屋)、2014 年 12 月 19 日～20 日
18. 二本柳聡史、田原太平、“新しい界面選択的非線形分光による液体界面の構造とダイナミクス”、レーザー学会第 35 回年次大会、東海大学高輪校舎 (東京)、2015 年 1 月 11 日 (日) ～12 日
19. 田原太平、“Femtosecond time-resolved impulsive stimulated Raman spectroscopy of simple and complex molecules”, 2nd Symposium on Weak Molecular Interactions, Gakushuin University, Tokyo, Japan (March 5-6, 2015)
20. 田原太平 “新しい単分子分光計測による柔らかい分子系のダイナミクスの観測と理解” 中長期企画：複雑系のための分子科学ー先端計測によるアプローチ、日本化学会第 95 春季年会、日本大学理工学部船橋キャンパス/薬学部(船橋)、2015 年 3 月 26 日～3 月 29 日

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等

1. 平成 26 年度「分子システム研究」研究報告会、和光市、2 月 24-25 日(2015)

(6)受賞

1. 井上賢一：“日本化学会第 94 春季年会優秀講演賞（学術）”、日本化学会、2014 年 4 月 10 日
2. Aniruddha Adhikari: “平成 26 年度日本分光学会年次講演会若手ポスター賞”、日本分光学会、2014 年 5 月 28 日
3. Aniruddha Adhikari: “Letter of Appreciation from RIKEN President Noyori”, RIKEN, 2014 年 6 月 25 日

(7) その他特筆すべき事項（新聞記事等）

1. 日刊工業新聞 2014 年 4 月 25 日 「ホフマイスター系列 新メカニズムを理研が提案」

(1)原著論文 (accept を含む)

1. S. Re, W. Nishima, T. Tahara and Y. Sugita, "Mosaic of Water Orientation Structures at a Neutral Zwitterion Lipid/Water Interface Revealed by Molecular Dynamics Simulations," *J. Phys. Chem. Lett.* **5**, 4343-4348 (2014).
2. N. Miyashita, S. Re and Y. Sugita: "REIN: Replica-exchange interface for simulating protein dynamics and function," *Int J. Quantum Chem.* **115**, 325-332 (2015).
3. Y. Komuro, S. Re, C. Kobayashi, E. Muneyuki and Y. Sugita: "CHARMM Force-Fields with Modified Polyphosphate Parameters Allow Stable Simulation of the ATP-bound Structure of Ca^{2+} -ATPase," *J. Chem. Theory. Comput.* **10**, 4133-4142 (2014).
4. K. Kumazaki, S. Chiba, M. Takemoto, A. Furukawa, K. Nishiyama, Y. Sugano, T. Mori, N. Dohmae, K. Hirata, Y. Nakada-Nakura, A. Maturana, Y. Tanaka, H. Mori, Y. Sugita, F. Arisaka, K. Ito, R. Ishitani, T. Tsukazaki and O. Nureki, "Structural basis of Sec-independent membrane protein insertion by YidC," *Nature* **509**, 516-520 (2014).
5. J. Jung, T. Mori and Y. Sugita: "Midpoint Cell Method for Hybrid (MPI+OpenMP) Parallelization of Molecular Dynamics Simulations," *J. Comp. Chem.* **35**, 1064-1072 (2014).
6. P. Li, N. Miyashita, W. Im, S. Ishido, and Y. Sugita: "Multidimensional Umbrella Sampling and Replica-Exchange Molecular Dynamics Simulations for Structure Prediction of Transmembrane Helix Dimer," *J. Comp. Chem.* **35**, 300-308 (2014).
7. T. Yoda, Y. Sugita and Y. Okamoto: "Salt Effects on Hydrophobic-Core Formation in Folding of a Helical Mini Protein Studied by Molecular Dynamics Simulations," *PROTEINS: Struct. Funct. Bioinfo.* **82**, 933-943 (2014).
8. B. Thomsen, K. Yagi and O. Christiansen: "A simple state-average procedure determining optimal coordinates for anharmonic vibrational calculations," *Chem. Phys. Lett.* **610-611**, 288-297 (2014).

(2)著書、解説等

1. Re, S. Meeting Report: Joint Seminar between RIKEN and Glycoinformatics Young Scientist Community. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, **2014**, 26, 71-72.

(3)招待講演

1. Y. Sugita: "Multi-scale molecular dynamics simulations of transmembrane structures of amyloid precursor protein in biological membrane," Workshop on Role of Membrane in Amyloid-Formation and the Pathogenicity of Amyloid Disease" in American Chemical Society Annual Meeting, Denver, March (2015).
2. Y. Sugita: "Domain motion analysis of membrane proteins by bioinformatics and molecular dynamics simulations," The international workshop on computational science and engineering, Hong Kong Baptist University & City University of Hong Kong, Hong Kong, December (2014).
3. 杉田有治: "スーパーコンピュータを用いた細胞内分子ダイナミクスの解析"、ISSP ワークショップ 機能物性融合科学研究会シリーズ (1)「光機能」、物性研、2014 年 12 月
4. Y. Sugita: "All-atom molecular dynamics simulations of biological systems using supercomputers," Kavli IPMU-RIKEN iTHES-Osaka TSRP Symposium "Frontiers of Theoretical Science – Matter, Life, and Cosmos –", Kavli IPMU, the University of Tokyo, Kashiwa, Japan, November (2014).
5. 杉田有治: "理論・計算化学に基づく脂質ダイナミクスの解析"、生化学フォーラム、京都国際会議場、2014 年 10 月。
6. 杉田有治: "分子動力学計算の高速化と大規模生体分子シミュレーション"、バイオスーパーコンピューティング研究会、埼玉県和光市、2014 年 10 月。
7. 杉田有治: "スパコンで化学する ～化学反応から細胞内のタンパク質の動きまで～"、スパコンを知る集い、大阪、2014 年 9 月。
8. Y. Sugita: "Domain motion analysis of proteins based on multiple atomic structures and coarse-grained molecular dynamics simulations," Telluride Workshop on Coarse-grained modeling of structure and dynamics of biomolecules, Telluride, CO, USA, August (2014).

9. Y. Sugita: “Atomistic motions of proteins and water in crowded environments,” Telluride Workshop on Protein and Peptide Dynamics in Cellular Environments, Telluride, CO, USA, June (2014).
10. Y. Sugita: “Replica-exchange molecular dynamics simulations for enhanced sampling of biological membrane systems”, CBSB14, Gdansk, Poland, May (2014).
11. Y. Sugita: “Whole cell modeling by computational chemistry,” RIKEN-NCSB Workshop, Bangalore, India, April-May (2014).
12. Y. Sugita: “Molecular mechanism for the drug extrusion by MATE multi-drug transporter,” Functional Computational Changes in Complex Biological Systems, Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong, April (2014).
13. K. Yagi: “Vibrational correlation theories with optimized coordinates,” The 18th East Asian Workshop on Chemical Reaction Dynamics, Pusan, Korea, May (2014).
14. 八木清: “生体分子系の振動状態解析”、凝縮系の理論化学、沖縄、2015 年 3 月.
15. 大滝大樹: “効率的な配座サンプリングと非調和振動状態計算による柔らかい分子の非経験的構造決定”、第 10 回若手研究者たちによる先端的レーザー分光シンポジウム、東京工業大学すずかけ台キャンパス、2014 年 12 月.
16. H. Otaki: “Structure determination of polypeptide with efficient sampling, clustering, and anharmonic vibrational analysis”, Japan-France Symposium on Biomolecular Structure and Function, CEA Saclay, France, October (2014).
17. 大滝大樹: “効率的な配座サンプリングと非調和振動状態計算によるポリペプチドの非経験的構造決定”、理研シンポジウム：生体分子系量子化学計算の最前線、和光、2015 年 1 月.

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等

1. 理研シンポジウム 「生体分子系量子化学計算の最前線」、和光、2015 年 1 月 22-23 日
2. 日本生物物理学会シンポジウム「In Cell NMR と HPC が切り開く細胞内の蛋白質の動きと機能」、札幌、平成 26 年 9 月 25 日（杉田有治（理研）、伊藤隆（首都大学東京））
3. Workshop on Computer Modeling and Simulation of Biomolecular Systems”, at RIKEN Wako Campus, Japan, September 22 (2014).

(6)受賞

1. 小室靖明: “第 14 回日本蛋白質科学会年会 ポスター賞”、日本蛋白質科学会、2014 年 6 月 27 日

(7) その他特筆すべき事項（新聞記事等） なし

【解析チーム・金】

(1)原著論文 (accept を含む)

1. D.-J. Liu, H. Walen, J. Oh, H. Lim, J.W. Evans, Y. Kim and P.A. Thiel: "Search for the structure of a sulfur-induced reconstruction on Cu(111)", J. Phys. Chem. C in press (DOI: 10.1021/jp505351g).
2. T.K. Shimizu, J. Jung, H. Imada and Y. Kim: "Supramolecular assembly via interactions between molecular dipoles and alkali metal ions", Angew. Chem. Int. Ed. **53** (2014) 13729-13733.
3. K. Motobayashi, L. Árnadóttir, C. Matsumoto, E.M. Stuve, H. Jónsson, Y. Kim and M. Kawai: "Adsorption of water dimer on platinum(111): identification of the -OH...Pt hydrogen bond", ACS Nano **8** (2014) 11583-11590.
4. K. Ueji, J. Jung, J. Oh, K. Miyamura and Y. Kim: "Thermally activated polymorphic transition from 1D ribbon to 2D carpet: squaric acid on Au(111)", Angew. Chem. Commun. **50** (2014) 11230-11233.
5. N. Tsukahara, E. Minamitani, Y. Kim, M. Kawai and N. Takagi: "Controlling orbital-selective Kondo effects in a single molecule through coordination chemistry", J. Chem. Phys. **141** (2014) 054702.
6. J. Jung, H. Lim, J. Oh and Y. Kim: "Functionalization of graphene grown on metal substrate with atomic oxygen: enolate vs epoxide", J. Am. Chem. Soc. **136** (2014) 8528-8531.
7. K. Motobayashi, Y. Kim, R. Arafune, M. Ohara, H. Ueba and M. Kawai: "Dissociation pathways of a single dimethyl disulfide on Cu(111): reaction induced by simultaneous excitation of two vibrational modes", J. Chem. Phys. **140** (2014) 194705.
8. Z. Liang, H.J. Yang, Y. Kim and M. Trenary: "Surface morphology of atomic nitrogen on Pt(111)", J. Chem. Phys. **140** (2014) 114707.
9. J.-H. Kim, J. Jung, K. Tahara, Y. Tobe, Y. Kim and M. Kawai: "Direct observation of adsorption geometry for the van der Waals adsorption of a single π -conjugated hydrocarbon molecule on Au(111)", J. Chem. Phys. **140** (2014) 074709.
10. H. Lim, J. Jung, H.J. Yang and Y. Kim: "Lattice-contraction-induced Moiré patterns in direction-controlled epitaxial graphene on Cu(111)", Adv. Mater. Interfaces **1** (2014) 1300080.
11. S. Katano, Y. Kim, M. Kawai and M. Trenary: "Surface hydrogenation reactions at the single-molecule level", Chem. Rec. **14** (2014) 819-826.
12. J. Jung, H.-J. Shin, M. Kawai and Y. Kim: "Controlling dissociation reaction of a water molecule on ultrathin MgO film", J. Surf. Sci. Soc. Jpn. **35** (2014) 486-491.
13. S. Katano, M. Hori, Y. Kim and M. Kawai: "Site-dependent electronic structures of a single molecule on a metal surface studied by scanning tunneling microscopy and spectroscopy", Chem. Phys. Lett. **614** (2014) 117-122.

(2)著書、解説等

1. Yousoo Kim, Kenta Motobayashi, Thomas Frederiksen, Hiromu Ueba, and Maki Kawai : "Action spectroscopy for single-molecule reactions -experiments and theory-", Prog. Surf. Sci. in press. [Invited Review]
2. 川合眞紀、金有洙、上羽弘、本林健太 : "STM を用いた単分子振動分光"、表面科学、**35**、565-570 (2014).
3. 南谷英美、荒船竜一、山本真祐子、高木紀明、川合眞紀、金有洙 : "光電子放出における電子-フォノン非弾性相互作用: Cu 表面におけるレーザー光電子スペクトルの解析"、表面科学、**35**、409-414 (2014).
4. 片野諭、金有洙、北川敏一、川合眞紀 : "官能基ユニットが連結された単一三脚分子の電子状態観察"、日本真空学会誌、**57**、159-162 (2014).

(3)招待講演

1. Y. Kim: "Energetics of single-molecule chemistry", Korea-Japan Nano Forum, NANO Korea 2014 Symposium, Seoul, Korea, Jul. (2014).
2. 金有洙: "STM を用いた単一分子化学と分光"、第 11 回 AMO 討論会, 大阪大学・豊中キャンパス, 大阪府大阪市, 2014 年 6 月.

(4)特許出願

なし

(5)会議主催等

1. 「表面界面におけるエネルギーの移動と変換」、理研、2014 年 11 月 21 日.

(6)受賞

1. 三輪 邦之：“Best poster award”、The 7th International Symposium on Surface Science, Matsue, Shimane, Japan (Nov. 5, 2014).

(7) その他特筆すべき事項（新聞記事等）

1. 化学工業日報、“グラフェン物性制御へ、「炭素－酸素結合」を解明”、2014 年 6 月 30 日.
2. フジサンケイビジネスアイ、“グラフェンの新しい「炭素－酸素結合」構造”、2014 年 7 月 10 日.
3. 日経産業新聞、“軽量・安価な有機メモリーに道、銅基板上に均一な膜”、2014 年 11 月 7 日.
4. 化学新聞、“分子と陽イオンの相互作用利用光スイッチ分子の均一膜形成”、2014 年 11 月 21 日.
5. RIKEN research、“Oxygen extends graphene`s reach”、2014 年 7 月 11 日.
6. RIKEN research、“Lining up for molecular memory devices”、2014 年 12 月 12 日.

【解析チーム・柚木】

(1)原著論文 (accept を含む)

1. H. Watanabe, T. Shirakawa, and S. Yunoki, "Theoretical study of insulating mechanism in multiorbital Hubbard models with a large spin-orbit coupling: Slater versus Mott scenario in Sr_2IrO_4 ," Phys. Rev. B **89**, 165115/1-13 (2014).
2. T. C. Asmara, X. Wang, I. Santoso, Q. Zhang, T. Shirakawa, D. Qi, A. Kotlov, M. Motapothula, M. H. Breese, T. Venkatesan, S. Yunoki, M. Rübhausen, Ariando, and A. Rusydi, "Large spectral weight transfer in optical conductivity of SrTiO_3 induced by intrinsic vacancies," J. Appl. Phys. **115**, 213706/1-5 (2014).
3. T. Shirakawa and S. Yunoki, "Density matrix renormalization group study on a magnetic impurity in the honeycomb lattice", JPS Conf. Proc. **3**, 012025/1-5 (2014).
4. Y. Otsuka, S. Yunoki, and S. Sorella, "Mott transition in the 2D Hubbard model with π -flux", JPS Conf. Proc. **3**, 013021/1-5 (2014).
5. K. Seki, T. Shirakawa, Y. Sun, and S. Yunoki, "Temperature dependence of the optical conductivity in a half-filled Hubbard model: Mott-type Insulator vs Slater-type insulator", JPS Conf. Proc. **3**, 014026/1-6 (2014).
6. K. Nishiguchi, H. Watanabe, and S. Yunoki, "Magnetism in Sr_2IrO_4 : a weak coupling study", JPS Conf. Proc. **3**, 015037/1-6 (2014).
7. T. Sato and H. Tsunetsugu, Doublon dynamics of the Hubbard model on a triangular lattice", Phys. Rev. B **90**, 115114/1-4 (2014).
8. T. Shirakawa and S. Yunoki, "Block Lanczos density-matrix renormalization group method for general Anderson impurity models: Application to magnetic impurity problems in graphene", Phys. Rev. B **90**, 195109/1-21 (2014).
9. S. Hikino and S. Yunoki, "0- π Transition Driven by Magnetic Proximity Effect in a Josephson Junction", J. Phys. Soc. Jpn. **84**, 014712/1-5 (2015).

(2)著書、解説等

1. 渡部洋、白川知功、柚木清司: "5d 電子系イリジウム酸化物における新奇な絶縁体と超伝導", 日本物理学会誌、**70**、31-35 (2015).

(3)招待講演

1. S. Yunoki: "Superconductivity and metal-insulator transition in Sr_2IrO_4 ," 2014 EMN Summer Meeting, Cancun, Mexico, Jun. (2014).
2. S. Yunoki: "Superconductivity and metal-insulator transition in 5d iridium oxides," IUMRS-ICYRAM 2104, Haikou, China, Oct. (2014).
3. T. Shirakawa: "Application of density-matrix renormalization group method to quantum impurity problems," IUMRS-ICYRAM 2104, Haikou, China, Oct. (2014).
4. 柚木清司: "層状ペロブスカイト構造を持つ 5d 遷移金属イリジウム酸化物における新奇な絶縁体と超伝導", 物性研究所計算物質科学センター第4回シンポジウム・物性研スーパーコンピュータ共同利用報告会、千葉県柏市、2014年11月。
5. T. Shirakawa: "Density-matrix renormalization group methods for pseudospin Kondo problems," Workshop on Recent Development in the Kondo Problem, Kashiwa, Japan, Jan. (2015).

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等 なし

(6)受賞 なし

(7) その他特筆すべき事項 (新聞記事等) なし

【制御チーム・加藤】

(1)原著論文 (accept を含む)

1. C. Lemouchi, H. M. Yamamoto, R. Kato, S. Simonov, L. Zorina, A. Rodriguez-Fortea, E. Canadell, P. Wzietek, K. Iliopoulos, D. Gindre, M. Chrysos and P. Batail: “Reversible control of crystalline rotors by squeezing their hydrogen bond cloud across a halogen bond-mediated phase transition”, *Cryst. Growth Des.*, **14**(7), 3375-3383 (2014).
2. H. B. Cui, T. Tsumuraya, T. Miyazaki, Y. Okano and R. Kato: “Pressure-induced metallic conductivity in the single-component molecular crystal $[\text{Ni}(\text{dmit})_2]$ ”, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2014**(24), 3837-3840 (2014).
3. H. B. Cui, H. Kobayashi, S. Ishibashi, M. Sasa, F. Iwase, R. Kato and A. Kobayashi: “A single-component molecular superconductor”, *J. Am. Chem. Soc.*, **136**(21), 7619-7622 (2014).
4. M. Suda, Y. Kawasaki, T. Minari, K. Tsukagoshi, R. Kato and H. M. Yamamoto: “Strain-tunable superconducting field-effect transistor with an organic strongly-correlated electron system”, *Advanced Materials*, **26**(21), 3490-3495 (2014).
5. S. Yasuzuka, Y. Idobata, B. Zhou, A. Kobayashi, K. Katoh, H. B. Cui, R. Kato, M. Tokumoto and H. Kobayashi: “Hidden spin scattering behavior in $[\text{Ni}_{1-x}\text{Cu}_x(\text{tmdt})_2]$ system with unprecedentedly strong π -d interaction”, *J. Phys. Soc. Jpn.*, **83**, 074701/1-074701/5 (2014).
6. T. Yamamoto, Y. Nakazawa, M. Tamura, A. Nakao, A. Fukaya, R. Kato and K. Yakushi: “Property of the valence-bond ordering in molecular superconductor with a quasi-triangular lattice”, *J. Phys. Soc. Jpn.*, **83**, 053703/1-053703/5 (2014).
7. H. M. Yamamoto, Y. Kawasaki, H. B. Cui, M. Nakano, Y. Iwasa, and R. Kato: “Asymmetric phase transitions observed at the interface of a field-effect transistor based on an organic Mott insulator”, *Euro. J. Inorg. Chem.*, **2014**(24), 3841-3844 (2014).
8. R. Kato: Development of π -electron systems based on $[\text{M}(\text{dmit})_2]$ (M= Ni and Pd; dmit: 1,3-dithiole-2-thione-4,5-dithiolate) Anion Radicals”, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **87**(3), 355-374 (2014).
9. N. Takubo, N. Tajima, H. M. Yamamoto and R. Kato: “Nonlinear photocurrent with a threshold of excitation density induced by the long-range electron-electron interaction in the charge-ordered molecular conductor $(\text{BEDT-TTF})_3(\text{ClO}_4)_2$ ”, *J. Phys.: Condensed Matter*, **26**(5), 055603/1-055603/5 (2014).

(2) 著書、解説等 なし

(3)招待講演

1. H. B. Cui: “Transport Measurements for Single Component Molecular Conductors Under High Pressure by Using DAC”, Gordon Research Conference “Conductivity & Magnetism in Molecular Materials”, Lewiston, ME, USA, Aug. (2014).
2. M. Suda: “Continuous Observation of Light-Induced Superconductivity Utilizing a Photo-Active Electric Double Layer”, Gordon Research Conference “Conductivity & Magnetism in Molecular Materials”, Lewiston, ME, USA, Aug. (2014).

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等 なし

(6)受賞

1. 大島 勇吾: “平成 26 年度電子スピンサイエンス学会奨励賞”、電子スピンサイエンス学会、2014 年 11 月 25 日
2. 加藤 礼三: “American Physical Society (アメリカ物理学会) フェロー”、American Physical Society、2014 年 12 月 9 日

(7) その他特筆すべき事項（新聞記事等）

1. Research Highlights, RIKEN Research、“A solitary superconductor emerges under pressure - The first single-component molecular superconductor yields new insights into the principles behind perfectly efficient electrical transport”、2014 年 7 月 4 日
<http://www.riken.jp/en/research/rikenresearch/highlights/7812/>

(1)原著論文 (accept を含む)

1. J. Kim, A. Fujiwara, T. Sawada, Y. Kim, K. Sugimoto, K. Kato, H. Tanaka, M. Ishikado, S. Shamoto, and M. Takata: “Evidence of electronic polarization of the As ion in the superconducting phase of F-doped LaFeAsO”, *IUCrJ* **1**, 155-159 (2014).
2. R. Matsuda, W. Kosaka, R. Kitaura, Y. Kubota, M. Takata and S. Kitagawa: “Microporous structures having phenylene fin: Significance of substituent groups for rotational Linkers in coordination polymers”, *Microporous and Mesoporous Materials* **189**, 83-90 (2014).
3. W. Kosaka, K. Yamagishi, R. Matsuda, S. Kitagawa, M. Takata, and H. Miyasaka: “Coordination Programming in the Design of Porous Coordination Polymers: Tuning of the Electronic Activity of Frameworks for Selective Nitrogen Monoxide Trapping”, *Chem. Lett.* **43**, 890-892 (2014).
4. S. Minami, M. Ide, K. Hirano, T. Satoh, T. Sakurai, K. Kato, M. Takata, S. Seki, M. Miura: “2,6-Diphenyl- and -distyryl-capped 3,7-dialkoxybenzo 1,2-b:4,5-b ' dithiophenes and their dithieno-annulated higher homologs: structural phase transition with enhanced charge carrier mobility”, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **16**, 18805-18812 (2014).
5. L. Wu, M. Ohtani, M. Takata, A. Saeki, S. Seki, Y. Ishida, and T. Aida: “Magnetically Induced Anisotropic Orientation of Graphene Oxide Locked by in Situ Hydrogelation”, *ACS Nano* **8**, 4640-4649 (2014).
6. T. Fukino, H. Joo, Y. Hisada, M. Obana, H. Yamagishi, T. Hikima, M. Takata, N. Fujita, and T. Aida: “Manipulation of Discrete Nanostructures by Selective Modulation of Noncovalent Forces”, *Science* **344**, 499-504 (2014).
7. M. Sadakiyo, H. Kasai, K. Kato, M. Takata, and M. Yamauchi: “Design and Synthesis of Hydroxide Ion-Conductive Metal-Organic Frameworks Based on Salt Inclusion”, *J. Am. Chem. Soc.* **136**, 1702-1705 (2014).
8. V. K. Praveen, Y. Yamamoto, T. Fukushima, Y. Tsunobuchi, K. Nakabayashi, S. Ohkoshi, K. Kato, M. Takata and T. Aida: “Translation of the assembling trajectory by preorganisation: a study of the magnetic properties of 1D polymeric unpaired electrons immobilised on a discrete nanoscopic scaffold”, *Chem. Commun.* **51**, 1206 (2015).
9. E. Nishibori, S. Maki, and M. Takata: “Smart Crystallography in Materials Science at SPring-8: In the case of Endohedral Metallofullerene”, *JPS Conf.Proc.* **1**, 014001 (2014).
10. J. Zhang, S. Fujizawa, A. Isogai, T. Hikima, M. Takata, T. Iwata: “Crystallization behaviors of poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate]/poly(ethylene glycol) graft TEMPO-oxidized cellulose nanofiber blends”, *Polym. Degrad. Stabil.* **110**, 529-536 (2014).
11. S. Sato, A. Ishii, C. Yamada, J. Kim, C. H. Song, A. Fujiwara, M. Takata and M. Hasegawa: “Luminescence of fusion materials of polymeric chain-structured lanthanide complexes”, *Polymer Journal*, in press.
12. S. Kumagai, H. Iguchi, S. Takaishi, B. K. Breedlove, M. Yamashita, H. Matsuzaki, H. Okamoto, K. Kato, and M. Takata: “Continuous Control of Optical Gaps in Quasi-One-Dimensional Bromide-Bridged Platinum Complexes by Utilizing Chemical Pressure”, *Inorg. Chem.* **53**, 11764-11769 (2014).

(2)著書、解説等 なし

(3)招待講演

1. M. Takata, E. Nishibori, Y. Kubota, H. Tanaka: “Nanoporous Structural Science Developed by the MEM/Rietveld Method”, The 23rd Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography (IUCr2014), Montreal, Canada, Aug. (2014).
2. 高田昌樹: “タフポリマー研究開発のための可視化構造科学スマートツール、SPring-8”、ImPACT 第一回公開ワークショップ超薄膜化・強靱化「しなやかなタフポリマー」の実現、東京、2014年9月。
3. 大隅寛幸: “放射光X線でみるキラリティ”、光と chirality の研究会、東京大学、2014年4月。
4. H. Ohsumi: “Imaging of Enantiomorphic Domain Formation by Scanning X-Ray Microscopy”, The 15th IUMRS-International Conference in Asia (IUMRS-ICA2014), Fukuoka, Japan, Aug. (2014).

5. H. Ohsumi: “Polarized X-Ray Diffraction and Scanning Microscopy”, International Research Symposium on Chiral Magnetism (IRSchM2014), Hiroshima, Japan, Dec. (2014).

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等

1. 放射光学会第6回若手研究会「コヒーレント X 線が拓く構造可視化の新しい世界」、播磨、2014 年 8 月 22-23 日.

(6)受賞

1. Masaki Takata: “Fellow of the Royal Society of Chemistry”, Oct 31, (2014).

(7) その他特筆すべき事項（新聞記事等） なし

(1)原著論文 (accept を含む)

1. A. Onoda, Y. Okamoto, H. Sugimoto, Y. Takano, S. Hirota, D. Kurtz, Y. Shiro, T. Hayashi: "Crystal Structure, Exogenous Ligand Binding and Redox Properties of an Engineered Diiron Active Site in a Bacterial Hemerythrin" *Chem. Comm.* **50**, 3421-3423 (2014)
2. N. Sato, S. Ishii, H. Sugimoto, T. Hino, Y. Fukumori, Y. Sako, Y. Shiro, T. Tosha: "Structures of Reduced and Ligand-Bound Nitric Oxide Reductase Provide Insights into Functional Differences in Respiratory Enzymes" *PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics* **82**, 1258-1271 (2014)
3. C. Shirataki, O. Shoji, M. Terada, S. Ozaki, H. Sugimoto, Y. Shiro, Y. Watanabe: "An *in vivo* Inhibitory Effect on the Heme Uptake of *Pseudomonas aeruginosa* by Its Hemophore (HasAp) Carrying Synthetic Metal Complexes" *Angw. Chem. Int. Ed.* **53**, 2862-2866 (2014)
4. E. Terasaka, N. Okada, N. Sato, Y. Sako, Y. Shiro, T. Tosha: "Characterization of Quinol-Dependent Nitric Oxide Reductase from *Geobacillus Stearothermophilus*: Enzymatic Activity and Active Site Structure" Special Issue on *Respiratory Oxidases* in *Biochim. Biophys. Acta - Bioenergetics* **1837**, 1019-1026 (2014)
5. H. Tsujino, T. Yamashita, A. Nose, K. Kukino, H. Sawai, Y. Shiro, T. Uno: "Disulfide Bonds Regulate Binding of Exogenous Ligand to Human Cytochrome" *J. Inor. Biochem.* **135**, 20-27 (2014)
6. K. Hirata, K. Shinzawa-Itoh, N. Yano, S. Takemura, K. Kato, M. Hatanaka, K. Muramoto, T. Kawahara, T. Tsukihara, E. Yamashita, K. Tono, G. Ueno, T. Hikima, H. Murakami, Y. Inubushi, M. Yabashi, T. Ishikawa, M. Yamamoto, T. Ogura, H. Sugimoto, J. R. Shen, S. Yoshikawa, H. Ago: "Determination of Damage-Free Crystal Structure of an X-ray-Sensitive Protein Using an XFEL" *Nat. Methods* **11**, 734-736 (2014)
7. Z. Cong, O. Shoji, C. Kasai, N. Kawakami, H. Sugimoto, Y. Shiro, Y. Watanabe: "Activation of Wild-Type Cytochrome P450BM3 by the Next Generation of Decoy Molecules: Enhanced Hydroxylation of Gaseous Alkanes and Crystallographic Evidence". *ACS Catal.*, 150-156 (2014)
8. K. Takagi, M. Al-Amin, N. Hoshiya, J. Wouters, H. Sugimoto, Y. Shiro, H. Fukuda, S. Shuto, M. Arisawa: "Palladium-Nanoparticle-Catalyzed 1,7-Palladium Migration Involving C-H Activation, Followed by Intramolecular Amination: Regioselective Synthesis of N1-Arylbenzotriazoles and an Evaluation of Their Inhibitory Activity Towards Indoleamine 2,3-Dioxygenase" *J. Org. Chem.* (2014) in press.
9. S. Takahashi, S. Nagano, T. Nogawa, N. Kanoh, M. Uramoto, M. Kawatani, T. Shimizu, T. Miyazawa, Y. Shiro, H. Osada: "Structure-function Analyses of Cytochrome P450revI Involved in Reveromycin A Biosynthesis and Evaluation of the Biological Activity of Its Substrate, Reveromycin T" *J. Biol. Chem.* (2014) in press

(2)著書、解説等

1. 藤井 浩、城 宜嗣: "鉄タンパク質・酵素の構造と機能"「鉄の事典」朝倉書店 (2014) 印刷中

(3)招待講演

1. Sugimoto, H.: "Challenges in the Structure Determination of Membrane Proteins by X-ray Crystallography" *Enzyme and Microbial Technology Research Centre Colloquium*, Putrajaya, Malaysia, May 26-27 (2014)
2. Shiro, Y.: "Bacterial Nitrite Reductase and Nitric Oxide Reductase; NO Generation, Channeling and Decomposition" *Eighth International Conference on Porphyrins and Phtalocyanines*, Istanbul, Turkey, June 22-27 (2014)
3. Shiro, Y.: "Generation, Propagation and Decomposition of Nitric Oxide in Bacterial Denitrification" *18th European Bioenergetics Conference (EBEC 2014)*, Lisbon, Portugal, July 12-17 (2014) **Plenary Lecture**
4. 城 宜嗣: "これからの生物無機化学 ―金属タンパク質の過去と未来―" 第 87 回日本生化学会 WS「蛋白質化学に立脚した“超域”生命化学への期待」2014 年 10 月 16 日
5. Shiro, Y.: "Generation, Channeling and Decomposition of NO in Bacterial System" *Metals in Biology, Gordon Research Conference*, Ventura, CA, USA, Jan. 25-30 (2015)

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等 なし

(6)受賞

1. 山際来佳：“若手講演賞”、第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 15 -18 日

(7) その他特筆すべき事項（新聞記事等）

1. 當舎武彦：2014 年 5 月 31 日 分子研オープンキャンパス／シンポジウム 2014（講師）

2. 當舎武彦：2014 年 8 月 4-7 日 サマーサイエンスキャンプ 2014 in SPring-8（講師）

3. 當舎武彦：2014 年 8 月 29-31 日 第 27 回生物無機化学夏季セミナー（講師）

【生体チーム・米倉】

(1)原著論文 (accept を含む)

1. Y. Takayama, S. Maki-Yonekura, T. Oroguchi, M. Nakasako and K. Yonekura: “Signal-enhancement and Patterson-search phasing for high-spatial-resolution coherent X-ray diffraction imaging of biological objects”, Scientific Reports, in press.
2. K. Yonekura, K. Kato, M. Ogasawara, M. Tomita and C. Toyoshima: “Electron crystallography of ultra-thin 3D protein crystals: atomic model with charges”, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, accepted.
3. R. Xu, H. Jiang, C. Song, Z. Huang, J. A. Rodriguez, C-C. Chen, D. Nam, J. Park, M. Gallagher-Jones, S. Kim, S. Kim, A. Suzuki, Y. Takayama, T. Oroguchi, Y. Takahashi, J. Fan, Y. Zou, T. Hatsui, Y. Inubushi, T. Kameshima, K. Yonekura, K. Tono, T. Togashi, T. Sato, M. Yamamoto, M. Nakasako, M. Yabashi, T. Ishikawa and J. Miao: “Single shot three-dimensional imaging of high-index-faceted nanocrystals with femtosecond X-ray free electron laser pulses”, Nat. Commun. **5**, 4061 (2014).

(2)著書、解説等 なし

(3)招待講演

1. 高山裕貴: “SPring-8・SACLAでの非結晶生体粒子低温コヒーレントX線回折イメージング”、日本放射光学会第6回若手研究会 コヒーレントX線が拓く構造可視化の新しい世界、播磨、2014年8月.
2. 米倉功治: “Electron Crystallography of Thin Protein Crystals”、第87回日本生化学会大会 「生化学研究における電子顕微鏡技術の最前線」 The cutting edge of electron microscopy for the field of biochemistry、京都市、2014年10月.
3. 米倉功治: “低温電子顕微鏡法によるタンパク質構造解析 膜タンパク質及びタンパク質複合体の構造解析”、理研-武田WS「インシリコ技術による効率的な創薬手法の開発」～ タンパク質構造解析の最前線 ～、神奈川県藤沢市、2014年10月.

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等

1. Symposium "IGER International Symposium on Frontiers in Biological Research with Advanced Electron Microscope Technologies", リーディングプログラム主催国際シンポジウム、名古屋市、2015年1月15-16日

(6)受賞 なし

(7) その他特筆すべき事項 (新聞記事等) なし

(1)原著論文

1. E. Takai, K. Uda, S. Matsushita, Y. Shikiya, Y. Yamada, T. Zako, M. Maeda, K. Shiraki: “Cysteine inhibits amyloid fibrillation of lysozyme and directs the formation of small worm-like aggregates through non-covalent interactions”, *Biotechnol. Prog.* **30**, 470-478 (2014).
2. K. Ozasa, J. Lee, S. Song, M. Hara, M. Maeda: “Analog feedback in Euglena-based neural network computing - Enhancing solution-search capability through reaction threshold diversity among cells”, *Neurocomput.*, **140**, 291-298 (2014).
3. K. Ozasa, J. Lee, S. Song, M. Hara, M. Maeda: “Chemical sensing via chemotaxis of *Euglena gracilis* confined in an isolated micro-aquarium”, *Key Eng. Mater.*, **605**, 95-98 (2014).
4. K. Ozasa, A. Mason, O. Korostynska, I. Nakouti, M. Ortoneda-Pedrola, M. Maeda, A. Al-Shamma'a: “Electromagnetic Wave Sensing of *Euglena gracilis* Viability and Quantification”, *Key Eng. Mater.*, **605**, 432-436 (2014).
5. E. Kondo, K. Wada, K. Hosokawa, M. Maeda: “Microfluidic perfusion cell culture system confined in 35 mm culture dish for standard biological laboratories”, *J. Biosci. Bioengin.*, **118**, 356-358 (2014).
6. K. Ozasa, J. Lee, S. Song, M. Maeda: “Transient freezing behavior in photophobic responses of *Euglena gracilis* investigate in a microfluidic device”, *Plant Cell Physiol.*, **55**, 1704-1712 (2014).
7. A. Kimura, N. Kanayama, A. Ogawa, H. Shibata, H. Nakashita, T. Takarada, M. Maeda: “Thermodynamics-based rational design of DNA block copolymers for quantitative detection of single-nucleotide polymorphisms by affinity capillary electrophoresis”, *Analytical Chem.*, **86**, 11425-11433 (2014).
8. Y. Akiyama, H. Shikagawa, N. Kanayama, T. Takarada, M. Maeda: “DNA dangling-end-induced colloidal stabilization of gold nanoparticles for colorimetric single-nucleotide polymorphism genotyping”, *Chem. A Eur. J.*, **20**, 17420-17425 (2014).
9. M. Takamatsu, K. Fukase, A. Kurbangalieva, K. Tanaka: “Imino [4+4] cycloaddition products as exclusive and biologically relevant acrolein-amine conjugates are intermediates of 3-formyl-3,4-dehydropiperidine (FDP), an acrolein biomarker”, *Bioorg. Med. Chem.*, **22**, 6380-6386 (2014).
10. S. Kitazume, R. Imamaki, A. Kurimoto, K. Ogawa, M. Kato, Y. Yamaguchi, K. Tanaka, H. Ishida, H. Ando, M. Kiso, N. Hashii, N. Kawasaki, N. Taniguchi: “Interaction of platelet endothelial cell adhesion molecule (PECAM) with α 2,6-sialylated glycan regulates its cell surface residency and anti-apoptotic role”, *J. Biol. Chem.*, **289**, 27604-27613 (2014).
11. A. R. Pradipta, A. Tsutsui, A. Ogura, S. Hanashima, Y. Yamaguchi, A. Kurbangalieva, K. Tanaka: “Microfluidic mixing of polyamine with acrolein enables the detection of the [4+4] polymerization of intermediary unsaturated imines: The properties of a cytotoxic 1,5-diazacyclooctane hydrogel”, *Synlett*, 2442-2446 (2014).
12. 小椋章弘: “金属触媒を用いた細胞内有機化学反応”、*有機合成化学協会誌*、**72**、726-727 (2014).
13. A. Tsutsui, R. Imamaki, S. Kitazume, S. Hanashima, Y. Yamaguchi, M. Kaneda, S. Oishi, N. Fujii, A. Kurbangalieva, N. Taniguchi, K. Tanaka: “Polyamine modification by acrolein exclusively produces 1,5-diazacyclooctanes: A previously unrecognized mechanism for acrolein-mediated oxidative stress”, *Org. Biomol. Chem.*, **12**, 5151-5157 (2014).
14. A. Ogura, A. Kurbangalieva, K. Tanaka: “金属触媒を用いた生細胞内での有機合成反応：生体内での時空間的な糖鎖複合化実現への希望, *Metal-catalyzed Organic Reaction in Live Cell: Future Prospect of Time- and Space-selective Glycan Conjugation In Live Systems*”, *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **26**, 73-75 (2014).
15. A. Ogura, A. Kurbangalieva, K. Tanaka: “In Vivo Kinetics and Biodistribution Analysis of Neoglycoproteins: Effects of Chemically Introduced Glycans on Proteins”, *Glycoconj. J.*, **31**, 273-279 (2014).

16. K. Tsubokura, T. Iwata, M. Taichi, A. Kurbangalieva, K. Fukase, Y. Nakao, K. Tanaka: "Direct Guanylation of Amino Groups by Cyanamide in Water: Catalytic Generation and Activation of Unsaturated Carbodiimide by Sc(OTf)₃", *Synlett*, 1302-1306 (2014).
17. K. Fukase, T. Iwata, S. Shiotsuki, C. Kageyama, T. Tahara, S. Nozaki, E. R. O. Siwu, S. Tamura, S. Douke, N. Murakami, H. Onoe, Y. Watanabe, K. Tanaka: "Template-assisted synthesis of phosphorylated protein recognition peptide and its selective tumor growth inhibition", *Peptide Science*, **2013**, 43-46 (2014).
18. A. Ogura, A. Kurbangalieva, K. Tanaka: "Chemical Glycan Conjugation Controls the Biodistribution and Kinetics of Proteins in Live Animals", *Mini Rev. Med. Chem.*, in press.
19. A. Tsutsui, A. R. Pradipta, E. Saigibatalova, A. Kurbangalieva, K. Tanaka: "Exclusive Formation of Imino [4+4] cycloaddition Products with Biologically Relevant Amines: Plausible Candidates for Acrolein Biomarkers and Biofunctional Modulators", *Med. Chem. Commun.*, in press.
20. Y. Akiyama, H. Shikagawa, N. Kanayama, T. Takarada, M. Maeda: "DNA Single-Base Pairing Modulates Interparticle Distance in Discrete Gold Nanoparticle Dimers and Trimers", *Small*, in press.

(2) 著書、解説等

1. 座古保: "腸管 in vivo 近赤外イメージング", *Surgery Frontier*, メディカルレビュー社出版、**21**, 82-84 (2014).
2. 金山直樹、前田瑞夫: "DNA 密生層でみられる特異な表面現象", *バイオマテリアル*, 日本医学館出版、**32**, 95-101 (2014).
3. 田中克典: "生体内合成化学治療を実現する～動物内で生理活性分子を全合成～", 生命化学研究レター「研究紹介」、フロンティア生命化学研究会出版、**46**, 15-20 (2014).
4. 深瀬浩一、田中克典: "第 23 章 アザ電子環状反応, Staudinger Ligation", *ファインケミカルシリーズ「クリックケミストリー -基礎から実用まで-*、高田十志和、小山靖人、深瀬浩一監修、株式会社シーエムシー出版、印刷中。
5. 土川博史、田中克典: "第 11 章 クロマトグラフィーによる分析と分取", *有機合成実験法ハンドブック 第 2 版*、公益社団法人有機合成化学協会監修、丸善出版株式会社、印刷中。
6. 土川博史、難波康祐、中尾佳亮、田中克典: "第 12 章 機器分析による分析", *有機合成実験法ハンドブック 第 2 版*、公益社団法人有機合成化学協会監修、丸善出版株式会社、印刷中。
7. 田中克典: "第 4 編 糖鎖の工学-合成・機能 第 1 章 4-1. 固相合成", *「糖鎖の新機能開発・応用ハンドブック～創薬・医療からヘルスケアまで」*、秋吉一成監修、(株) エヌ・ティー・エス、印刷中。
8. 野崎聡、田中克典、深瀬浩一、渡辺恭良: "第 5 編 メディカルサイエンスと糖鎖 第 4 章 1. 糖鎖イメージング・蛍光イメージング", *「糖鎖の新機能開発・応用ハンドブック～創薬・医療からヘルスケアまで」*、秋吉一成監修、(株) エヌ・ティー・エス、印刷中。
9. K. Tanaka: "PET Imaging of Glycoconjugates", *Glycoscience: Biology and Medicine*, T. Endo, P. H. Seeberger, G. W. Hart, C.-H. Wong, N. Taniguchi (eds), Springer, in press.

(3) 招待講演

1. 前田瑞夫: "バイオ・化学センシングのための DNA 二重らせん融合金ナノ粒子", 首都大学東京 金の化学研究センター 国際キックオフ・ワークショップ、東京、2014 年 5 月。
2. 座古保: "分子シャペロンタンパク質の新機能探索", 第 14 回日本蛋白質科学会年会、横浜、2014 年 6 月。
3. M. Maeda: "DNA-functionalized nanoparticle for chemical- and bio-sensing", The 3rd International Summer Course Single Molecule/Nanoparticle Spectroscopy and Imaging, Hsinchu, Taiwan, July (2014).
4. M. Maeda: "DNA-conjugated polymers for reliable SNP genotyping based on affinity electrophoresis", The 3rd International Workshop Single Molecule/Nanoparticle Spectroscopy and Imaging, Hsinchu, Taiwan, July (2014).
5. 前田瑞夫: "ソフトな界面の特異な物性とバイオ機能", 第 59 回高分子夏季大学、東京、2014

年 7 月.

6. 前田瑞夫: “DNA ソフト界面を用いる分析法の開発と応用”、日本分析化学会第 63 年会、広島、2014 年 9 月.
7. 前田瑞夫: “ソフト界面の特異な物性と機能”、第 63 回高分子討論会、長崎、2014 年 9 月.
8. M. Maeda: “DNA duplex-carrying nanoparticles for chemical sensing”, International Bioscience Conference (IBSC) 2014, Phuket, Thailand, September (2014).
9. 前田瑞夫: “DNA 二重らせん担持ナノ粒子を用いる分析化学”、第 7 回 ChemBio ハイブリッドレクチャー、東京、2014 年 10 月.
10. M. Maeda: “Double-helical DNA-functionalized nanoparticles for bio- and chemical-sensing”, JSPS A3 Foresight Program、東京、2014 年 10 月.
11. M. Maeda: “DNA-polymer conjugates for reliable SNP genotyping based on affinity electrophoresis”, 14th Asia-Pacific International Symposium on Microscale Separations and Analysis (APCE2014), Kyoto, December (2014).
12. K. Tanaka, “New Paradigm of Synthetic Chemistry in Live Cell and Animal”, The 3rd RIKEN-SNU Workshop on Chemical Biology for Health and Resource Sciences, 東京、2014 年 4 月.
13. K. Tanaka, “Exploring Overlooked Chemistry and Biology of Unsaturated Imines towards In Vivo Glycan Dynamics and Polyamine Functions”, RIKEN-Max Planck Joint Research Center for Systems Chemical Biology, 3rd Annual Symposium, Kreuth, Germany, May (2014).
14. 田中克典: “有機合成反応から開拓する天然物ケミカルバイオロジーの新戦略”、新学術領域研究「天然物ケミカルバイオロジー」第 6 回公開シンポジウム、名古屋、2014 年 5 月.
15. 田中克典: “生体内合成治療 ～生きている動物内での合成研究～”、FIBER 未来大学 Lectures in NanoBioNow Series、神戸、2014 年 7 月.
16. K. Tanaka: “Therapeutic In Vivo Synthetic Chemistry: Total Synthesis of Bioactive Compounds in Live Animals”, CCS-CSJ Forum 2014, Beijing, China, August (2014).
17. K. Tanaka: “Therapeutic In Vivo Synthetic Chemistry: Synthesis of Bioactive Compounds in Live Animals”, Swiss-Japanese Chemical Biology Symposium 2014, Bern, Switzerland, October (2014).
18. 田中克典: “生体内合成化学治療”、中尾研一田中研合同ミニシンポジウム、軽井沢、2014 年 10 月.
19. 田中克典: “診断と治療を指向した糖鎖複合体のイメージング”、新規医療イノベーションのためのシンポジウム、大阪、2014 年 11 月.
20. K. Tanaka: “Therapeutic In Vivo Synthetic Chemistry by Glycocarriers”, SFG-JSCR Joint Annual Meeting 2014, Satellite 1: Chemical Aspects of Glycobiology, Honolulu, Hawaii, November (2014).
21. K. Tanaka: “Therapeutic In Vivo Synthetic Chemistry: Synthesis of Bioactive Compounds in Live Animals”, ICCEOCA-9/NICCEOCA, Kuala Lumpur, Malaysia, December (2014).
22. 田中克典: “有機合成化学を起点とするものづくり戦略: 特別企画講演 趣意説明”、日本化学会第 95 春季年会、船橋、2015 年 3 月.
23. K. Tanaka: “Therapeutic in vivo synthesis by glycocarriers”, 249th ACS National Meetings, Colorado, USA, March (2015).

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等

理研シンポジウム「有機合成化学を起点とするものづくり戦略」、理化学研究所、和光、2014 年 6 月.

(6)受賞

1. 前田瑞夫: “日本分析化学会 学会賞”、日本分析化学会、2014 年 9 月.
2. 田中克典: “Division of Carbohydrate Chemistry, Horace S. Isbell Award”、米国化学会、2014 年 10 月.
3. 田中克典: “International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia: ACP Lectureship Award”, China, および Malaysia, 2014 年 12 月.

(7) その他特筆すべき事項（新聞記事等）

ロシアのカザン大学化学科において、理研・カザン大学の共同研究室である「Biofunctional Chemistry Laboratory」を開設した。調印式、オープニングセレモニー、記念講演会を開催、2014年6月。

【KEK 物質構造科学研究所グループ】

(1)原著論文 (accept を含む)

1. S. C. Lee, A. Ueda, A. Nakao, R. Kumai, H. Nakao, Y. Murakami, and H. Mori, "Protonation of Pyridyl-Substituted TTF Derivatives: Substituent Effects in Solution and in the Proton-Electron Correlated Charge-Transfer Complexes", *Chem. Eur. J.*, **20**, 1909-1917 (2014).
2. T. Sato, F. Kagawa, K. Kobayashi, K. Miyagawa, K. Kanoda, R. Kumai, Y. Murakami and Y. Tokura, "Emergence of nonequilibrium charge dynamics in a charge-cluster glass", *Phys. Rev. B*, **89**, 121102(R) (2014).
3. M. Hiraishi, S. Iimura, K. M. Kojima, J. Yamaura, H. Hiraka, K. Ikeda, P. Miao, Y. Ishikawa, S. Torii, M. Miyazaki, I. Yamauchi, A. Koda, K. Ishii, M. Yoshida, J. Mizuki, R. Kadono, R. Kumai, T. Kamiyama, T. Otomo, Y. Murakami, S. Matsuishi, and H. Hosono, "Bipartite magnetic parent phases in the iron oxypnictide superconductor", *Nature Physics*, **10**, 300-303 (2014).
4. D. Choudhury, T. Suzuki, D. Okuyama, D. Morikawa, K. Kato, M. Takata, K. Kobayashi, R. Kumai, H. Nakao, Y. Murakami, M. Bremholm, B. B. Iversen, T. Arima, Y. Tokura, and Y. Taguchi, "Evolution of magnetic and structural transitions and enhancement of magnetocaloric effect in $\text{Fe}_{1-x}\text{Mn}_x\text{V}_2\text{O}_4$ ", *Phys. Rev. B*, **89**, 104427:1-6 (2014).
5. H. Nakao, Y. Yamasaki, J. Okamoto, T. Sudayama, Y. Takahashi, K. Kobayashi, R. Kumai and Y. Murakami, "Development of an in-vacuum diffractometer for resonant soft X-ray scattering", *J. Phys.: Conf. Ser.*, **502**, 012015:1-4 (2014).
6. J. Okamoto, H. Nakao, Y. Yamasaki, T. Sudayama, K. Kobayashi, Y. Takahashi, H. Yamada, A. Sawa, M. Kubota, R. Kumai, and Y. Murakami, "Construction of a soft X-ray diffractometer with a 7.5-T superconducting magnet", *J. Phys.: Conf. Ser.*, **502**, 012016:1-4 (2014).
7. Y. Takahashi, H. Nakao, R. Kumai, S. Ishibashi, S. Horiuchi, M. Kohyama, K. Kobayashi, Y. Yamasaki, J. Okamoto, T. Sudayama, Y. Murakami, and Y. Tokura, "Molecular electronic states in charge transfer complex studied by x-ray absorption spectroscopy", *J. Phys.: Conf. Ser.*, **502**, 012036:1-4 (2014).
8. J. Bang, S. Matsuishi, H. Hiraka, F. Fujisaki, T. Otomo, S. Maki, J. Yamaura, R. Kumai, Y. Murakami, and H. Hosono, "Hydrogen Ordering and New Polymorph of Layered Perovskite Oxyhydrides: $\text{Sr}_2\text{VO}_4\text{-xHx}$ ", *J. Am. Chem. Soc.*, **136**, 7221-7224 (2014).
9. T. Matsumoto, G. N. Newton, T. Shiga, S. Hayami, Y. Matsui, H. Okamoto, R. Kumai, Y. Murakami, and H. Oshio, "Programmable spin-state switching in a mixed-valence spin-crossover iron grid", *Nature Communications*, **5**, 3865:1-8 (2014).
10. T. Sato, F. Kagawa, K. Kobayashi, A. Ueda, H. Mori, K. Miyagawa, K. Kanoda, R. Kumai, Y. Murakami, and Y. Tokura, "Systematic Variations in the Charge-Glass-Forming Ability of Geometrically Frustrated $\theta\text{-(BEDT-TTF)}_2\text{X}$ Organic Conductors", *J. Phys. Soc. Jpn.*, **83**, 083602:1-4 (2014).
11. A. Ueda, S. Yamada, T. Isono, H. Kamo, A. Nakao, R. Kumai, H. Nakao, Y. Murakami, K. Yamamoto, Y. Nishio, and H. Mori, "Hydrogen-Bond-Dynamics-Based Switching of Conductivity and Magnetism: A Phase Transition Caused by Deuterium and Electron Transfer in a Hydrogen-Bonded Purely Organic Conductor Crystal", *J. Am. Chem. Soc.*, **136**, 12184-12192 (2014).
12. K. Kobayashi, S. Horiuchi, S. Ishibashi, F. Kagawa, Y. Murakami, and R. Kumai, "Structure-Property Relationship of Supramolecular Ferroelectric $[\text{H-66dmbp}][\text{Hca}]$ Accompanied by High Polarization, Competing Structural Phases, and Polymorphs", *Chem. Eur. J.*, **20**, 17515-17522 (2014).

(2)著書、解説等

1. S. Horiuchi, K. Kobayashi, R. Kumai, and S. Ishibashi, "Ionic versus Electronic Ferroelectricity in Donor-Acceptor Molecular Sequences", *Chem. Lett.*, **43**, 26-35 (2014).
2. 熊井 玲児, 「量子ビームで見る有機強誘電体の分極起源」, *固体物理*, **49**, 181-191 (2014).

(3)招待講演 なし

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等 なし

(6)受賞 なし

(7)その他の特筆すべき事項(新聞記事等) なし

【分子科学研究所グループ】

(1)原著論文

1. M. Nagasaka, K. Mochizuki, V. Leloup, and N. Kosugi, “Local Structures of Methanol-Water Binary Solutions Studied by Soft X-ray Absorption Spectroscopy” *J. Phys. Chem. B* **118**, 4388-4396 (2014).
2. H. Kondoh, Y. Higashi, M. Yoshida, Y. Monya, R. Toyoshima, K. Mase, K. Amemiya, F. Tsukioka, M. Nagasaka, Y. Iwasawa, H. Orita, K. Mukai, and J. Yoshinobu, “Structure and Photo-Induced Charge Transfer of Pyridine Molecules Adsorbed on TiO₂(110): A NEXAFS and Core-Hole-Clock Study” *Electrochemistry* **82**, 341-345 (2014).
3. M. Nagasaka, H. Yuzawa, T. Horigome, and N. Kosugi, “In operando observation system for electrochemical reaction by soft X-ray absorption spectroscopy with potential modulation method” *Rev. Sci. Instrum.* **85**, 104105 (2014). (7 pages)
4. H. Yamane and N. Kosugi, “Site-specific intermolecular valence-band dispersion in α -phase crystalline films of cobalt phthalocyanine studied by angle-resolved photoemission spectroscopy” *J. Chem. Phys.* **141**, 224701 (2014). (5 pages)
5. R. Flesch, N. Kosugi, A. Knop-Gericke, E. Rühl, “2s-Excitation and Photolonization of Neon Clusters” *Z. Phys. Chem.* **228**, 387-403 (2014).
6. S.B. Singh, Y.F. Wang, Y.C. Shao, H.Y. Lai, S.H. Hsieh, M.V. Limaye, C.H. Chuang, H.C. Hsueh, H. Wang, J.W. Chiou, H.M. Tsai, C.W. Pao, C.H. Chen, H.J. Lin, J.F. Lee, C.T. Wu, J.J. Wu, W.F. Pong, T. Ohigashi, N. Kosugi, J. Wang, J. Zhou, T. Regier, T.K. Sham, “Observation of the origin of d⁰ magnetism in ZnO nanostructures using X-ray-based microscopic and spectroscopic techniques” *NANOSCALE* **6**, 9166-9176 (2014).

(2)著書、解説等

1. 長坂将成, 小杉信博, “軟X線吸収分光法の基礎と進展” *CSJ カレントレビュー14 放射光が拓く化学の現在と未来*, 日本化学会編(化学同人、2014) 分担執筆, 第10章 pp. 94-98.
2. 長坂将成, “軟X線分光法による分子系の局所解析とその場観測手法の開発” *放射光* **27(2)**, 106-109 (2014).

(3)招待講演

1. H. Yamane, “Advanced spectroscopic studies on molecular electronic states at UVSOR-III facility” Asia-Oceania Forum for Synchrotron Radiation Research: AOFsRR 2014 (Hsinchu, 2014/9/15-18)
2. 長坂将成, “軟X線吸収分光法による電気化学反応のオペランド観測” 日本放射光学会 第7回若手研究会(千葉, 2014/9/29) .
3. N. Kosugi, “Energy Shifts in X-ray Absorption and Photoelectron Spectra of Liquid Water,” NORDITA Conference on Water-the Most Anomalous Liquid (Week 3), Nordic Institute for Theoretical Physics (Stockholm, 2014/10/27-31)
4. 長坂将成, “軟X線吸収分光法による溶液の局所構造解析とオペランド観測への展開” 第37回溶液化学シンポジウム, 特別講演(佐賀, 2014/11/12) .

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等 なし

(6)受賞

1. 山根宏之、分子科学会奨励賞 (2014).

(7) その他特筆すべき事項(新聞記事等) なし

【京都大学グループ】

有機元素化学サブグループ

(1)原著論文 (accept を含む)

1. Y. Mizuhata, K. Inamura, and N. Tokitoh: “Coordination chemistry of 9-sila- and 9-germaphenanthrenes - unique coordination modes in their metallene complexes”, *Can. J. Chem.* **92**, 441-446 (2014).
2. Y. Mizuhata, Y. Egawa, T. Sasamori and N. Tokitoh: “Synthesis of 1,2-Dialkynyldisilanes Incorporated in 10-Memberd-ring System”, *Heterocycles* **90**, 1111-1123 (2014).
3. T. Kuwabara, J.-D. Guo, S. Nagase, T. Sasamori, N. Tokitoh and M. Saito: “Synthesis, Structures, and Electronic Properties of Triple- and Double-Decker Ruthenocenes Incorporated by a Group 14 Metallolene Dianion Ligand”, *J. Am. Chem. Soc.* **136**, 13059-13064 (2014).
4. K. Tanifuji, N. Yamada, T. Tajima, T. Sasamori, N. Tokitoh, T. Matsuo, K. Tamao, Y. Ohki and K. Tatsumi: “A Convenient Route to Synthetic Analogues of the Oxidized Form of High-Potential Iron-Sulfur Proteins”, *Inorg. Chem.* **53**, 4000-4009 (2014).
5. A. Wakamiya, M. Endo, T. Sasamori, Y. Ogomi, S. Hayase and Y. Murata: “Reproducible Fabrication of Efficient Perovskite-based Solar Cells: X-ray Crystallographic Studies on the Formation of CH₃NH₃PbI₃ Layers”, *Chem. Lett.* **43**, 711-713 (2014).
6. T. Kuwabara, K. Ishimura, T. Sasamori, N. Tokitoh and M. Saito: “Facile Synthesis of Dibenzopentalene Dianions and Their Application as New π -Extended Ligands”, *Chem. Eur. J.* **20**, 7571-7575 (2014).
7. T. Sasamori, Y. Suzuki, M. Sakagami, H. Miyake and N. Tokitoh: “Structure of Stable Telluradiphosphirane Bearing Bulky Ferrocenyl Ligands”, *Chem. Lett.* **43**, 1464-1466 (2014).
8. T. Wasano, T. Agou, T. Sasamori and N. Tokitoh: “Synthesis, structure and reactivity of a 1-bromoalumole”, *Chem. Commun.* **50**, 8148-8150 (2014).
9. T. Agou, N. Hayakawa, T. Sasamori, T. Matsuo, D. Hashizume and N. Tokitoh: “Reactions of diaryldibromodisilenes with *N*-heterocyclic carbenes: formation of formal bis-NHC adducts of silyliumylidene cations”, *Chem. Eur. J.* **20**, 9246-9249 (2014).
10. T. Agou, K. Nagata, T. Sasamori and N. Tokitoh: “Reaction of a Dialumene-Benzene Adduct with Diphenylacetylene: Formation of 3,4-Dialuminacyclobutene and 5,6-Dialuminabicyclo[2.1.1]hex-2-ene Derivatives”, *Chem. Asian J.* **9**, 3099-3101 (2014).
11. T. Sasamori, Y. Suzuki and N. Tokitoh: “Isolation and Structural Characterization of a Lewis Base-Free Monolithioferrocene”, *Organometallics* **33**, 6696-6699 (2014).
12. T. Agou, T. Wasano, T. Sasamori and N. Tokitoh: “Syntheses and Structures of Stable 1-Aminoalumole Derivatives”, *Organometallics* **33**, 6963-6966 (2014).
13. T. Sasamori, M. Sakagami, and N. Tokitoh: “Bromination of a Stable 1,2-Bis(ferrocenyl) dibismuthene: Synthesis of a 1,2-Dibromodibismuthane Derivative”, *Heteroatom Chem.* **25**, 306-312 (2014).
14. T. Agou, T. Wasano, T. Sasamori and N. Tokitoh: “Synthesis and Structures of a Stable Gallole Free of Lewis Base Coordination and Its Dianion”, *J. Phys. Org. Chem.* accept (DOI: 10.1002/poc.3344).
15. T. Sasamori, T. Sugahara, T. Agou, J.-D. Guo, S. Nagase, R. Streubel and N. Tokitoh: “Synthesis and Characterization of a 1,2-Digermabenzene”, *Organometallics* accept (DOI: 10.1021/om501204u).

(2)著書、解説等

1. T. Sasamori: “The Synthesis and Properties of Bimetallic d- π Systems Containing Metallocenyl Substituents of Fe or Ru, and π -Electron Spacers of Heavier Main Group Elements from Group 14 or 15”, *有機合成化学協会誌*, **72**, 1279-1289 (2014).

(3)招待講演

1. N. Tokitoh, T. Wasano and T. Agou: “Synthesis and Structure of a Gallole Dianion Bearing a Bulky Aryl

Substituent”, The International Symposium on Reactive Intermediates and Unusual Molecules 2014 (ISRIUM2014), Hiroshima, April 1-6, 2014.

2. 笹森貴裕：“典型元素への想い～多くの仲間に支えられて～”，第49回有機反応若手の会，京都市，2014年7月28-30日．
3. 水畑吉行：“「重い芳香族化合物」の化学における新展開”，第47回有機金属若手の会，竹原市，2014年9月1-3日．
4. N. Tokitoh: “New Aspects in the Coordination Chemistry of Stannaromatics”, Sweden-Kyoto Symposium, Stockholm, Sweden, September 11-12, 2014.
5. 時任宣博：“良い論文を書こう！”，第4回化学フェスタ「アピール力を磨こうー競争社会における科学者・技術者の生き残り術ー」，東京，2014年10月14-16日．
6. N. Tokitoh: “Sulfurization and Coordination Chemistry of 4,5,6-Triphosphapha[3]radialene”, The 16th Japan-Korea Joint Symposium on Organometallic and Coordination Chemistry, Sendai, Japan, October 23-25, 2014.

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等 なし

(6)受賞

1. T. Sasamori: “Friedrich Wilhelm Bessel Research Award”, Alexander von Humboldt Foundation, Germany, August 1, 2014.
2. K. Nagata: “ICOMC2014 Student Poster Prize”, The XXVI International Conference on Organometallic Chemistry (ICOMC 2014), Sapporo, Japan, July 13-18, 2014.
3. 長田浩一：“2014年度京都大学化学研究所学生研究賞”，京都大学化学研究所，宇治市，2014年12月12日．

(7) その他特筆すべき事項（新聞記事等） なし

【京都大学グループ】

構造有機化学サブグループ

(1)原著論文 (accept を含む)

1. L. Garbuio, Y. Li, S. Antonello, J. A. Gascon, R. G. Lawler, X. Lei, Y. Murata, N. J. Turro and F. Maran: "Interaction of $H_2@C_{60}$ and Nitroxide through Conformationally Constrained Peptide Bridges," *Photochem. Photobiol.* **90**, 439-447 (2014).
2. A. Wakamiya, M. Endo, T. Sasamori, N. Tokitoh, Y. Ogomi, S. Hayase and Y. Murata: "Reproducible Fabrication of Highly Efficient Perovskite-based Solar Cells: X-ray Crystallographic Studies on the Formation of $CH_3NH_3PbI_3$ Layers," *Chem. Lett.* **43**, 711-713 (2014).
3. M. Uejima, T. Sato, M. Detani, A. Wakamiya, F. Suzuki, H. Suzuki, T. Fukushima, K. Tanaka, Y. Murata, C. Adachi and H. Kaji: "A Designed Fluorescent Anthracene Derivative: Theory, Calculation, Synthesis, and Characterization," *Chem. Phys. Lett.* **602**, 80-83 (2014).
4. A. Wakamiya, H. Nishimura, T. Fukushima, F. Suzuki, A. Saeki, S. Seki, I. Osaka, T. Sasamori, M. Murata, Y. Murata and H. Kaji: "On-top pi-Stacking of Quasi-planar Molecules in Hole-transporting Materials: The Key to High and Anisotropic Carrier Mobility in Amorphous Films," *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 5800-5804 (2014).
5. L. Li, R. Matsuda, I. Tanaka, H. Sato, P. Kanoo, H. J. Joen, M. L. Foo, A. Wakamiya, Y. Murata and S. Kitagawa: "A Crystalline Porous Coordination Polymers Decorated with Nitroxyl Radicals Catalyzes Aerobic Oxidation of Alcohols," *J. Am. Chem. Soc.* **136**, 7543-7546 (2014).
6. Y. Hashikawa, M. Murata, A. Wakamiya and Y. Murata: "Synthesis of Open-cage Ketolactom Derivatives of Fullerene C_{60} Encapsulating a Hydrogen Molecule," *Org. Lett.* **16**, 2970-2973 (2014).
7. R. Zhang, T. Futagoishi, M. Murata, A. Wakamiya and Y. Murata: "Synthesis and Structure of an Open-cage Thiafullerene $C_{69}S$: Reactivity Differences of an Open-Cage C_{70} Tetraketone Relative to its C_{60} Analogue," *J. Am. Chem. Soc.* **136**, 8193-8196 (2014).
8. M. Satou, K. Uchinaga, A. Wakamiya and Y. Murata: "Thiazole-Fused Benzothiadiazole as a Key Skeleton for T-Shaped Electron-Accepting Building Blocks," *Chem. Lett.* **43**, 1386-1388 (2014).
9. K. Goh, M. Jimenez-Ruiz, M. R. Johnson, S. Roles, J. Ollivier, M. S. Denning, S. Mamone, M. L. Levitt, X. Lei, Y. Li, N. J. Turro, Y. Murata and A. J. Horsewill: "Symmetry-breaking in the Endofullerene $H_2O@C_{60}$ Revealed in the Quantum Dynamics of Ortho and Para-water: a Neutron Scattering Investigation," *Phys. Chem. Chem. Phys.* **16**, 21330-21339 (2014).
10. T. Katayama, A. Jinno, E. Takeuchi, S. Ito, M. Endo, A. Wakamiya, Y. Murata, Y. Ogomi, S. Hayase and H. Miyasaka: "Inhomogeneous Deactivation Process with UV Excitation in Submicron Grains of Lead Iodide Perovskite-based Solar Cell as Revealed by Femtosecond Transient Absorption Microscopy," *Chem. Lett.* **43**, 1656-1658 (2014).
11. Chaolumen, H. Enno, M. Murata, A. Wakamiya and Y. Murata: "Dibenzo[a,f]perylene Bisimide: Effects of the Construction of Tetracene Core," *Chem. Asian J.* **9**, 3136-3140 (2014).

(2)著書、解説等

1. 村田靖次郎、張銳、橋川祥史: "水分子内包フラーレン"、フラーレン誘導体・内包技術の最前線、シーエムシー出版、2014年4月30日発行、pp 135-142.
2. 若宮淳志、西村秀隆、村田靖次郎: "準平面構造を鍵骨格に用いた電荷輸送性材料開発"、化学、**69**、12-17 (2014).

(3)招待講演

1. 村田靖次郎: "骨格変換反応を駆使した内包フラーレンの有機合成"、錯体化学若手の会第50回近畿支部勉強会、京都府京都市、2014年6月.
2. 村田靖次郎: "開孔フラーレンにおける元素化学"、第3回元素化学懇談会、大阪府東大阪市、2014年6月.
3. 村田靖次郎: "骨格変換反応を駆使した内包フラーレンの有機合成"、東京工業大学資源化学研究所講演会、神奈川県横浜市、2014年8月.

4. 村田靖次郎:“フラーレン骨格の化学変換による小分子内包体の合成”、第 63 回高分子討論会、長崎県長崎市、2014 年 9 月.

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等 なし

(6)受賞

1. Chaolumen : “第 25 回基礎有機化学討論会 ポスター賞”、基礎有機化学会、2014 年 9 月 9 日.
2. 張鋭 : “第 25 回基礎有機化学討論会 ポスター賞”、基礎有機化学会、2014 年 9 月 9 日.
3. 丸山直樹 : “第 6 回薄膜太陽電池セミナー 最優秀ポスター講演賞”、第 6 回薄膜太陽電池セミナー、2014 年 10 月 17 日.
4. 張鋭 : “第 4 回 CSJ 化学フェスタ 優秀ポスター発表賞”、第 4 回 CSJ 化学フェスタ 2014、2014 年 11 月 11 日.
5. 橋川祥史 : “第 4 回 CSJ 化学フェスタ 優秀ポスター発表賞”、第 4 回 CSJ 化学フェスタ 2014、2014 年 11 月 11 日.

(7) その他特筆すべき事項 (新聞記事等)

1. マイナビニュース (Web)、“京大、有機 EL 素子の高効率化に繋がる準平面型構造の有機半導体材料を開発”、2014 年 4 月 28 日.
2. エキサイトニュース (Web)、“京大、有機 EL 素子の高効率化に繋がる準平面型構造の有機半導体材料を開発”、2014 年 4 月 28 日.
3. ワイリーサイエンスカフェ (Web)、“京都大・若宮准教授らが「準平面型」骨格を用いた有機半導体材料の開発に成功、有機エレクトロニクスへの応用に期待”、2014 年 4 月 28 日.
4. 日刊工業新聞、“固体状態で分子配列密に、高い電荷輸送特性、京大が有機半導体材料”、2014 年 5 月 1 日.
5. 現代化学、“有機半導体の静養をよくする” 準平面” 構造”、2014 年 7 月号.

【東京工業大学グループ】

(1)原著論文 (accept を含む)

1. Toshihiko Shimizu, Shunpei Yoshikawa, Kenro Hashimoto, Mitsuhiro Miyazaki, and Masaaki Fujii: “Theoretical Study on the Size Dependence of Excited State Proton Transfer in 1-Naphthol-Ammonia Clusters”, J. Phys. Chem. B (2014) in press.
2. Mitsuhiro Miyazaki, Shunpei Yoshikawa, François Michels, Kentaro Misawa, Shun-ichi Ishiuchi, Makoto Sakai, Otto Dopfer, Klaus Müller-Dethlefs, Masaaki Fujii: “Mass Analyzed Threshold Ionization Detected Infrared Spectroscopy: Isomerization Activity of the Phenol-Ar Cluster near the Ionization Threshold”, Phys. Chem. Chem. Phys. **17**, 2949-2503 (2014).
3. Matthias Wohlgemuth, Mitsuhiro Miyazaki, Martin Weiler, Makoto Sakai, Otto Dopfer, Masaaki Fujii and Roland Mitric: “Single Water Solvation Dynamics Probed by Infrared Spectra – Theory Meets Experiment”, Ang. Chem. Int. Ed. **53**, 14601-14604 (2014).
4. Matthias Schmies, Mitsuhiro Miyazaki, Masaaki Fujii, and Otto Dopfer: “Microhydrated aromatic cluster cations: Binding motifs of 4-aminobenzonitrile-(H₂O)_n cluster cations with $n \leq 4$ ”, J. Chem. Phys. **141**, 214301 (2014).
5. Woon Yong Sohn, Shun-ichi Ishiuchi, Pierre Çarcabal, Hikari Oba, and Masaaki Fujii: “UV-UV hole burning and IR dip spectroscopy of homophenylalanine by laser desorption supersonic jet technique”, Chem. Phys. **445**, 21-30 (2014).
6. Matthias Schmies, Alexander Patzer, Markus Schütz, Mitsuhiro Miyazaki, Masaaki Fujii and Otto Dopfer: “Microsolvation of the acetanilide cation (AA⁺) in a nonpolar solvent: IR spectra of AA⁺-L_n (L = He, Ar, N₂; $n \leq 4$)”, Phys. Chem. Chem. Phys. **16**, 7980–7995 (2014).

(2)著書、解説等 なし

(3)招待講演

1. Shun-ichi Ishiuchi: “Laser desorption high-pressure supersonic jet spectroscopy of neurotransmission system”, Japan-France Symposium on Biomolecular Structure and Function – Technical Fusion between Spectroscopy and Theory, CEA Saclay, France, Oct. (2014).
2. 石内俊一: 「新規レーザー脱離分光法の開発と生体分子の気相分光」: 第8回分子科学討論会奨励賞受賞講演, 広島大学, 東広島市, 2014年9月.
3. Masaaki Fujii: “Mid-infrared spectroscopy for ground and excited state proton transfer in phenol/naphthol-ammonia clusters”, 248th ACS National Meeting, San Francisco, USA, Aug. (2014).
4. 宮崎充彦: 「ナノ秒及びピコ秒時間分解赤外分光法による分子クラスター内反応の研究」, 平成26年度 日本分光学会年次講演会奨励賞受賞講演, 鈴木梅太郎ホール, 理化学研究所, 埼玉県和光市, 2014年5月26日.
5. Masaaki Fujii: “Conformational Reduction of Catecholamines Studied by Laser-Desorption Supersonic Jet Spectroscopy”, Conference on Isolated Biomolecules and Biomolecular Interactions 2014, Centre IGESA, on the Island of Porquerolles, Hyères, France, May (2014).

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等

1. 先端的レーザー分光シンポジウム、日本分光学会、東京工業大学すずかけ大キャンパス、2014年12月2日
2. Core-to-Core International Symposium on Ionization Induced Switching, Technische Universität Berlin, Germany, Dec. 15th (2014).
3. 中長期テーマシンポジウム「複雑系のための分子科学-先端計測によるアプローチ」、日本化学会第95春期年会、日本大学・船橋キャンパス、2015年3月26日.

(6)受賞 なし

(7)その他特筆すべき事項 (新聞記事等) なし

【大阪大学グループ】

(1)原著論文 (accept を含む)

1. Y. Sudo, M. Mizuno, Z. Wei, S. Takeuchi, T. Tahara and Y. Mizutani: “The Early Steps in the Photocycle of a Photosensor Protein Sensory Rhodopsin I from *Salinibacter ruber*”, J. Phys. Chem. B **118**, 1510–1518 (2014).
2. N. Fujii, M. Mizuno, H. Ishikawa and Y. Mizutani: “Observing Vibrational Energy Flow in a Protein with the Spatial Resolution of a Single Amino Acid Residue”, J. Phys. Chem. Lett. **5**, 3269–3273 (2014).
3. K. Nakatani, H. Ishikawa, S. Aono and Y. Mizutani: “Critical Histidine Residues Regulate Hemozoin Formation Activity of the Heme Detoxification Protein in *Plasmodium falciparum*”, Sci. Rep. **4**, 6137 (2014).
4. S. Nagao, H. Ishikawa, T. Yamada, Y. Mizutani and S. Hirota: “Carbon monoxide binding properties of domain-swapped dimeric myoglobin”, J. Biol. Inorg. Chem. in press.

(2)著書、解説等 なし

(3)招待講演

1. Y. Mizutani: “Time-resolved resonance Raman spectroscopy on retinal proteins,” 16th International Congress on Photobiology, Córdoba, Argentina, September (2014).
2. 水野操: “紫外共鳴ラマン分光法でみる高速タンパク質ダイナミクス”、「柔らかな分子系」第5回ワークショップ「柔よく光(こう)を制す(柔らかな分子系の光機能)」、広島県広島市、2014年9月.
3. 水谷泰久: “タンパク質内エネルギー散逸のラマン時空間マッピング”、第8回分子科学討論会、広島大学東広島市、2014年9月.
4. 水谷泰久: “タンパク質の機能を生み出す柔らかさの時間分解観測: Time-resolved Observation of Functionally-important Molecular Flexibility of Proteins”、日本生物物理学会第52回年会、北海道札幌市、2014年9月.
5. Y. Mizutani: “Structure changes of microbial rhodopsins in their photocycles as revealed by time-resolved visible and ultraviolet resonance Raman spectroscopy”, 16th International Conference on Retinal Proteins, Nagahama, Japan, October (2014).
6. 水谷泰久: “光化学反応とタンパク質機能をつなぐもの”、ISSP ワークショップ 機能物性融合科学 研究会シリーズ(1) 「光機能」、千葉県柏市、2014年12月.
7. 水谷泰久: “タンパク質の動きを観て機能する仕組みを知る”、第11回バイオオプティクス研究会、大阪府豊中市、2014年12月.
8. 水谷泰久: “光異性化とタンパク質構造変化とのカップリング”、「柔らかな分子系」第8回ワークショップ「やわらか光受容分子の理解と利用に迫るブレインストーミング研究会」、岡山県瀬戸内市、2015年1月.

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等 なし

(6)受賞 なし

(7) その他特筆すべき事項 (新聞記事等) なし

【東北大学グループ】

(1)原著論文

1. H. Iguchi, A. Nafady, S. Takaishi, M. Yamashita, and A. M. Bond, "Solid-State Electrochemistry of Semiconducting MMX-Type Diplatinum-Iodide Chain Complexes", *Inorg. Chem.*, 53, 4022-4028(2014)
2. B. K. Breedlove, R. Kandel, and M. Yamashita, "4-Pyridyl Azacycloalkanes Prepared via a Solvent-free Method for Use as Linkers in Electrocatalysis", *Dalton Trans.*, 43, 7683-7686(2014)
3. K. Katoh, R. Asano, A. Miura, Y. Horii, T. Morita, B. Breedlove, and M. Yamashita, "Effect of f-f Interactions on Quantum Tunneling of the Magnetization: Mono- and Dinuclear Dy(III) Phthalocyaninato Triple-Decker Single-Molecule magnets with the Same Octacoordination Environment", *Dalton Trans.*, 43, 7716-7725(2014)
4. H. Iguchi, S. Kitao, M. Seto, S. Takaishi, and M. Yamashita, "Predominance of Covalency in Water-Vapor-Responsive MMX-Type Chain Complexes Revealed by ^{129}I Moesbauer Spectroscopy", *Dalton Trans.*, 43, 8767-8773(2014)
5. H. Matsuzaki, M. Iwata, K. Iwano, S. Takaishi, M. Takamura, S. Kumagai, M. Yamashita, and H. Okamoto, "Excitation-Photon-Energy Selectivity of Photo-Conversion in Halogen-Bridged Pd-Chain Compounds – Mott Insulator to Metal or Charge-Density-Wave State", *Phys. Rev. Lett.*, 113, 096403(1-6)(2014)
6. T. Komeda, H. Isshiki, J. Liu, K. Katoh, and M. Yamashita, "Variation of Kondo Temperature Induced by Molecule-Substrate Decoupling in Film Formation of Bis(phthalocyaninato)terbium(III) Molecules on Au(III)", *ACS Nano*, 8, 4866-4875(2014)
7. D. Pinkowicz, M. Ren, L.-M. Zheng, S. Sato, M. Hasegawa, M. Moritomo, M. Irie, B. Breedlove, C. Goulven, K. Katoh, and M. Yamashita, "Control of the Single-Molecule Magnet Behavior of Lanthanide-Diarylethene Photochromic Assemblies by Irradiation with Light", *Chem. Eur. J.*, 20, 12502-12513(2014)
8. S. Kumagai, S. Takaishi, B. K. Breedlove, H. Okamoto, H. Tanaka, S. Kuroda, and M. Yamashita, "Bromide-Bridged Palladium(III) Chain Complex Showing Charge Bistability Near Room Temperature", *Chem. Commun.*, 50, 8382-8384(2014)
9. S. Kumagai, H. Iguchi, S. Takaishi, M. Yamashita, H. Matsuzaki, H. Okamoto, K. kato, and M. Takata, "Continuous Control of Optical gap by Utilizing Chemical Pressure in Quasi-One-Dimensional Bromo-Bridged Platinum Complex", *Inorg. Chem.*, 63, 11764-11769(2014)
10. K. Maruyama, J. Li, W. Takahashi, S. Hotta, S. Takaishi, and M. Yamashita, "Fabrication of one-dimensional grating structure on organic single-crystal surface", *Jpn. J. Appl. Phys.*, 53, 02BC19-1-4(2014)
11. Photo-Control of the Magnetic Properties of Dy(III) and Ho(III) Homometal Coordination Polymers Bridged by a Diarylethene Ligand
G. Cosquer, M. Morimoto, M. Irie, A. Fenton, B. K. Breedlove, and M. Yamashita
J. Chem. Soc., Dalton Trans., accepted(2014)

(2)著書、解説等

1. H. Iguchi, S. Takaishi, and M. Yamashita, "Recent Progress in MMX-Chain Complexes: Unique Electronic States and Characteristics Developed by Introducing Binary Counterions", *Chem. Lett.*, Highlight Review(Invited), 43, 69-79(2014)
2. 山下正廣、加藤恵一, 単分子スピントロニクス
*CSJ カレントレビュー*第16号, 172-178 (2014)
3. 山下正廣, 単分子量子磁石を用いた量子スピントロニクスの最前線 —野茂とイチローはどちらがえらいか?—, 日本磁気学会、印刷中(2014)
4. G. Cosquer, B. K. Breedlove, and M. Yamashita, "Remote Control of SMM Behavior via DTE Ligands", *J. Chem. Soc., Dalton Transactions (Perspectives)*, accepted(2014)
5. 山下正廣, 単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの最前線, *BJSCC*, in press(2014)
6. T. Komeda, K. Katoh, and M. Yamashita, "Double-Decker Phthalocyanine Complexes; Scanning Tunneling

Microscopy Study of Film Formation and Spin”, Progress in Surface Science., 89, 127-160(2014)

7. 大塩寛紀、西原寛、山下正廣 共編、スピン化学が拓く分子磁性の新展開—設計から機能まで—
日本化学会編（化学同人）、2014

(3)招待講演

1. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", EMRS Meeting, France, May(2014)
2. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", Annual Meeting of Society of Canadian Chemistry, Canada, June(2014)
3. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", Organic Electronics Meeting, China, June(2014)
4. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", ICMM, Rusia, July(2014)
5. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", ICCS, Singapore, July(2014)
6. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", BMIC, Brazil, August(2014)
7. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", Summer School in Poland, Poland, October(2014)
8. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", SPINOS, Himeji, Japan, October(2014)
9. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", Nanoscience Symposium, Nepal, November(2014)
10. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", International Conference on Chemistry of Malaysia, Kuala Lumpur, November(2014)
11. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", International Conference on Chemistry of Vietnam, Hanoi, November(2014)
12. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", International Conference on Chemical Structure, Kulccuta, December(2014)
13. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", IIT, Kanpur, India, April(2014)
14. 山下正廣、「単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの前線」、近畿大学、4月（2014）
15. 山下正廣、「単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの前線」、山口大学、4月（2014）
16. 山下正廣、「単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの前線」、東京理科大、5月、（2014）
17. 山下正廣、「単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの前線」、磁気学会定例会、東京、5月（2014）
18. 山下正廣、「単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの前線」、山形大学、6月（2014）
19. 山下正廣、「単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの前線」、九州大学、9月（2014）
20. 山下正廣、「単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの前線」、佐賀大学、9月（2014）

21. 山下正廣、「単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの前線」、錯体化学討論会、中央大学、9月（2014）
22. 山下正廣、「単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの前線」、分子科学会、広島大学、9月（2014）
23. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", Poland, October(2014)
24. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", Jiansou University, China, December(2014)
25. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", Nanjing University, China, December(2014)
26. M. Yamashita, "Quantum Molecular Spintronics based on Single-Molecule Magnets", Guilin University, China, March(2015)

(4)特許出願 なし

(5)会議主催等 なし

(6)受賞

1. 山下正廣、錯体化学会賞、「単分子量子磁石を用いた量子分子スピントロニクスの創成」
錯体化学会、9月20日

(7) その他特筆すべき事項（新聞記事等）なし

編集

田原 太平

独立行政法人 理化学研究所

田原分子分光研究室

〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1

Tel. 048-467-7928 / Email. tahei@riken.jp

