

二次元蛍光寿命相関分光法を用いた生体分子システムの揺らぎ解析： ヘアピンDNAのマイクロ秒ダイナミクス

石井邦彦, 田原太平

理研・田原分子分光

我々は最近、生体分子システムの自発的な構造揺らぎを解析するための新しい手法として、二次元蛍光寿命相関分光法（2D-FLCS）を提案した[1]。この方法では、光学顕微鏡の焦点領域を通過する蛍光標識分子から放出される蛍光光子を収集し、その統計的な挙動を二次元蛍光寿命相関マップを用いて解析する。これにより、分子の構造揺らぎをマイクロ秒の時間分解能で調べることができる。このため、既存の一分子蛍光共鳴エネルギー移動（smFRET）法や蛍光相関分光法（FCS）では時間分解能や状態選別能力の面で困難であったマイクロ秒領域の詳細なダイナミクス計測に道を開き、生体分子システムの物理化学に新しい可能性をもたらすことが期待される。

本研究では二次元蛍光寿命相関分光法を生体分子を含む実際の系に初めて応用した[2]。実験には図1に示す時間相関光子計数（TCSPC）方式の蛍光相関分光計を用いた。まず、本装置を用いて蛍光寿命の異なる蛍光色素の混合溶液を測定した結果を図2に示す。ここに示された二次元発光遅延時間相関マップの形状は、系が2成分の和から成っていることを反映しており、本手法により蛍光寿命を鍵として一分子レベルの不均一性を検出可能であることを明確に表している。

次に最も基本的な生体分子モデルとして、一本鎖DNA（5'-TTTAACC(T)₁₈GGTT-3'）の測定を行った。この分子は両末端の相補的な塩基配列の間で部分的に二重鎖を形成し、全体としてヘアピン構造をとる。両末端にFRET対となる蛍光色素を標識することで、ヘアピン構造の解離・形成平衡を調べることができる。図3は2D-FLCSの測定結果である。二次元発光遅延時間相関マップ（a-c）には若干の形状変化が見られる。このような重畳した蛍光減衰曲線の間の相関関係をより明瞭に可視化するため、新たに最大エントロピー法を利用した解析法（二次元逆ラプラス変換に相当する）を開発した[2]。図3d-fはこれを用いて縦軸・横軸を発光遅延時間から蛍光寿命に変換したものである。この図から分かるように、約100マイクロ秒の時間スケールで二次元マップ上

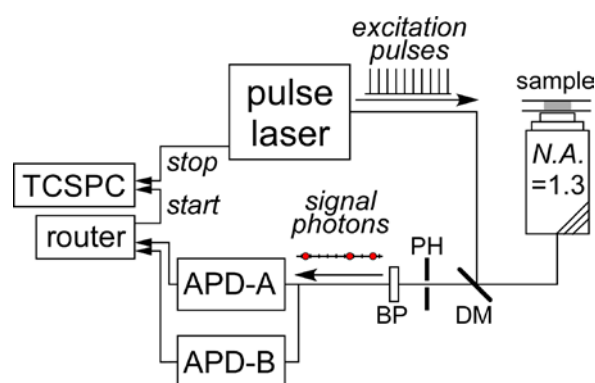


図1 TCSPC-FCS の装置の概要。試料分子を顕微鏡下でパルス励起し、蛍光光子の放出時刻を精密に計測する。

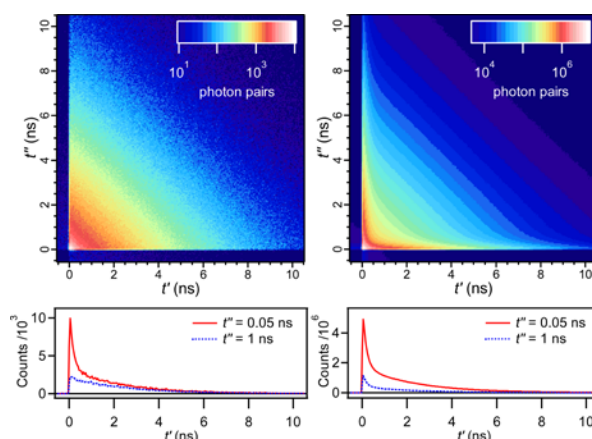


図2 2種の蛍光色素（tetramethylrhodamine, Cy3）の混合溶液の二次元発光遅延時間マップ。（左）相関部分を取り出したもの。（右）無相関バックグラウンド。下図は二次元マップを切り出した蛍光減衰カーブ。

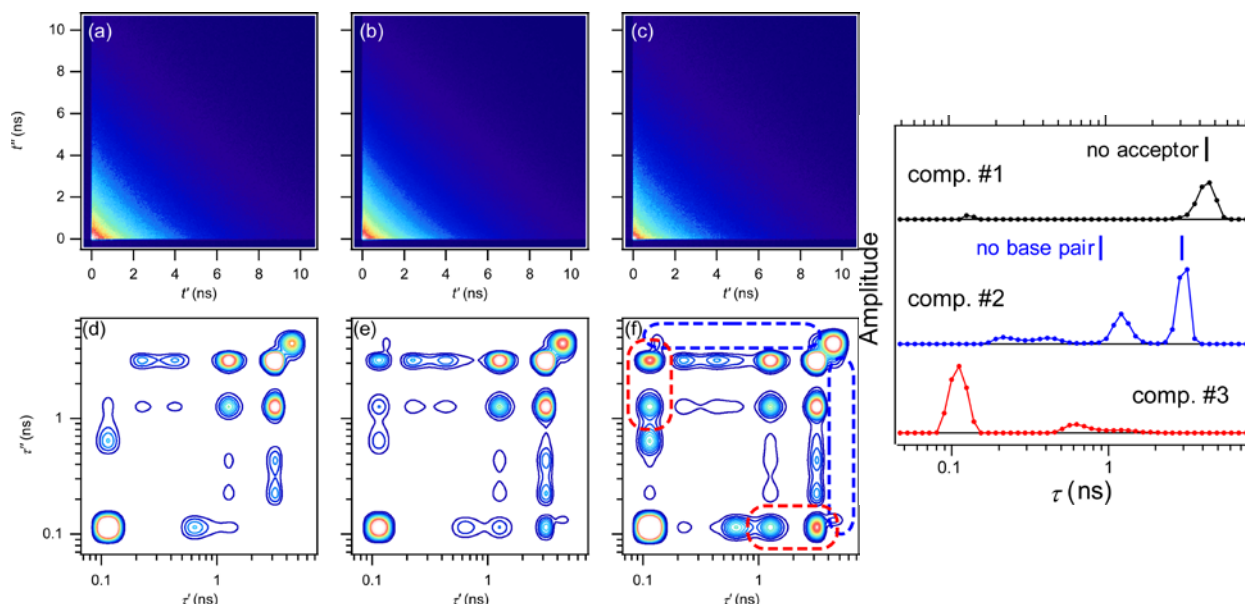


図3 (左) (a-c)ヘアピン DNA の二次元発光遅延時間相関マップ。相関遅延時間: (a) 10-30 μs , (b) 30-100 μs , (c) 100-200 μs . (d-f)二次元逆ラプラス変換後の二次元蛍光寿命相関マップ。それぞれ(a-c)に対応。(右) (d-f)を構成する3つの蛍光寿命分布成分。

にクロスピークが出現している(図3f中の赤点線で囲んだ領域)。一方図3fの青点線で囲んだ領域には ~ 5 nsの蛍光寿命成分に対応するクロスピークが現れるはずだが、この時間領域では観測されていない。図3d-fの二次元蛍光寿命相関マップは、図3右の3つの蛍光寿命分布成分の自己相関および相互相関の和として表される。

これらの成分は、それぞれ(1)アクセプターを欠いたDNA分子、(2)ヘアピン解離型構造、(3)ヘアピン型構造に帰属された。この結果から、観測されたダイナミクスは図4のように説明できる。ここで重要なことは、2D-FLCSを用いることで、図4のように3つ以上の成分からなる複雑な系であっても、成分ごとの寄与を分離した形でマイクロ秒オーダーの時間分解能でダイナミクスを追跡することができる、という点である。

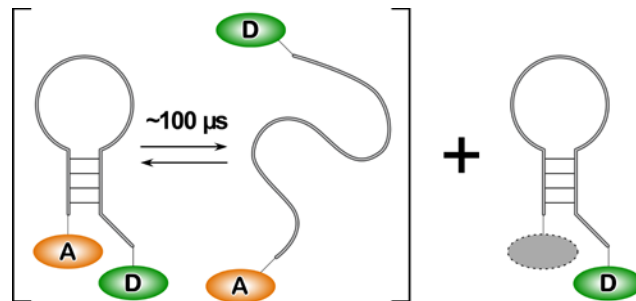


図4 2D-FLCSの測定結果から明らかになったヘアピンDNAの構造変化ダイナミクス。

本手法を用いることでマイクロ秒の時間スケールの平衡ダイナミクスを一分子レベルで観測できることが確かめられた。これによりタンパク質・DNA・RNA等の生体分子システムの極めて基本的な構造ダイナミクスの観測を行えるようになると同時に、分子動力学計算を用いた理論研究との連携も視野に入ってきた。今後はこれらの新しい分子システム研究への展開を目指す。

【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.

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

Achintya Kundu, Shoichi Yamaguchi, Tahei Tahara

Molecular Spectroscopy Laboratory, RIKEN

A biological membrane separates the cytoplasm and cellular organelles from the exterior of the cell. The interface pH at the biological membrane is crucial for many biochemical processes such as ion transport, adsorption of molecules, orientation of the membrane proteins, and binding of therapeutic peptides and drugs. Therefore, it is essentially important to know the interface pH at the biological membrane.

To evaluate the interface pH and compare it with the bulk pH, it is desirable to apply a common method to the interface and the bulk. One of the most reliable methods to determine the bulk pH is UV-visible absorption spectrometry using a pH indicator. Because interface-selective electronic spectroscopy has recently become possible by heterodyne-detected electronic sum frequency generation (HD-ESFG),¹ we are now able to carry out quantitative pH spectrometry for the model biological membrane (lipid/water interface) using the same principle as used for UV-visible spectrometry of the bulk pH (Figure 1). Here, we evaluate the interface pH at charged lipid/water interfaces using HD-ESFG.²

To investigate the pH at lipid/water interfaces, we chose a pH indicator, 4-heptadecyl-7-hydroxycoumarin (HHC). Figure 2a shows the acid-base equilibrium of the pH indicator. We used two lipids having oppositely-charged head groups but the same acyl chain. 1,2-dipalmitoyl-3-trimethylammonium-propane (DPTAP) is used a cationic lipid, and an anionic lipid is 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoglycerol (DPPG), as shown in Figure 2b. The interfacial electronic $\chi^{(2)}$ (second-order nonlinear optical susceptibility) spectra of the pH indicator at charged lipid/water interfaces were measured with HD-ESFG.

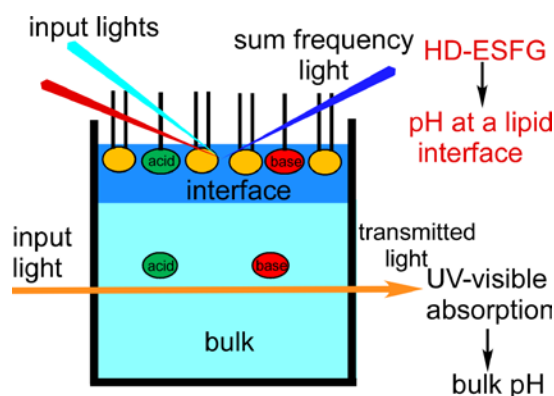


Fig. 1 Schematic of a lipid interface and bulk pH spectrometries. The pH at the model membrane is evaluated with HD-ESFG using the same principle as used for UV-visible spectrometry of bulk pH.

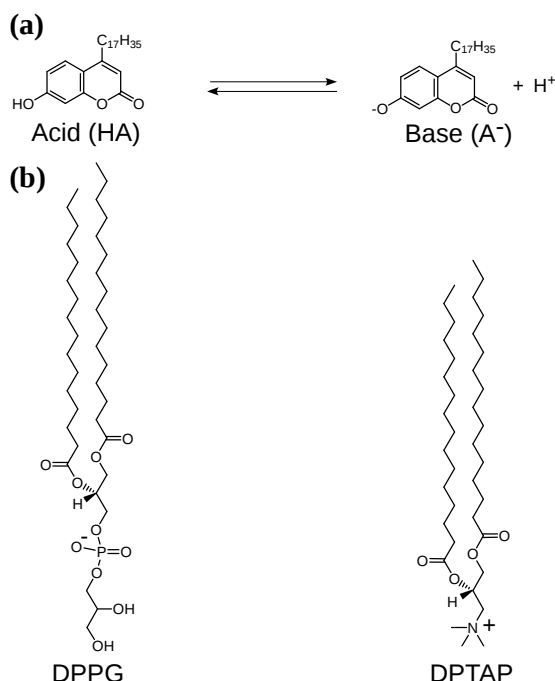


Fig. 2 (a) Acid-base equilibrium of the pH indicator, HHC. (b) Chemical structure of the two model lipids: DPPG (anionic) and DPTAP (cationic).

Figure 3a and b shows the interface-selective $\text{Im}\chi^{(2)}$ and $\text{Re}\chi^{(2)}$ spectra of the pH indicator at the DPPG/water interface, respectively, for different bulk pH's. By analyzing the bulk-pH dependence of the $\chi^{(2)}$ spectra, the bulk pH at which $[\text{HA}] = [\text{A}^-]$ is determined to be 10.7. Generally, the pH is equal to the pK_a when $[\text{HA}] = [\text{A}^-]$. However, this bulk pH at which $[\text{HA}] = [\text{A}^-]$ is not the exact pK_a of the pH indicator at the DPPG/water interface, because the pH is measured in the bulk. If we analyze the $\chi^{(2)}$ spectra against the interface pH, we can obtain the exact pK_a . Assuming that interfacial $\text{pH} = \text{bulk pH} + \Delta$, pK_a is given as $10.7 + \Delta$.

The pK_a is equal to the standard reaction Gibbs energy of the reaction $\text{HA} \rightarrow \text{H}^+ + \text{A}^-$ divided by $RT\ln 10$ (R is gas constant and T is temperature). 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 DPPG/water interface as 35. From this effective relative dielectric constant, the pK_a of the pH indicator at the DPPG/water interface is evaluated as 9.2. Because this pK_a should be equal to $10.7 + \Delta$, Δ is obtained as -1.5 . This means that $[\text{H}^+]$ is significantly higher at the negatively charged lipid interface. This result is readily rationalized by the attraction of the proton by the negatively-charged head group of DPPG. In the same manner, Δ is determined to be $+3.8$ for the DPTAP/water interface. This means that the $[\text{H}^+]$ is lower at the positively charged lipid interface. This can be attributed to Coulomb repulsion of the proton by the positively-charged head group of DPTAP.

The present study clearly demonstrates that the pH at the charged lipid/water interface is substantially different from the pH in the bulk. The observed pH difference is rationalized by the electrostatic interaction between the charged head group and the proton. We used DPTAP and DPPG in this study, but the obtained conclusion is general. The present study implies, if the biological membrane is predominantly formed by cationic lipids, the interface pH at the membrane is expected to be higher than that in the bulk. Oppositely, if the biological membrane is predominantly formed by anionic lipids, the interface pH at the membrane is lower than that in the bulk.

References

- (1) Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Chem. Phys.* **2008**, *129*, 101102.
- (2) Kundu, A.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 762.

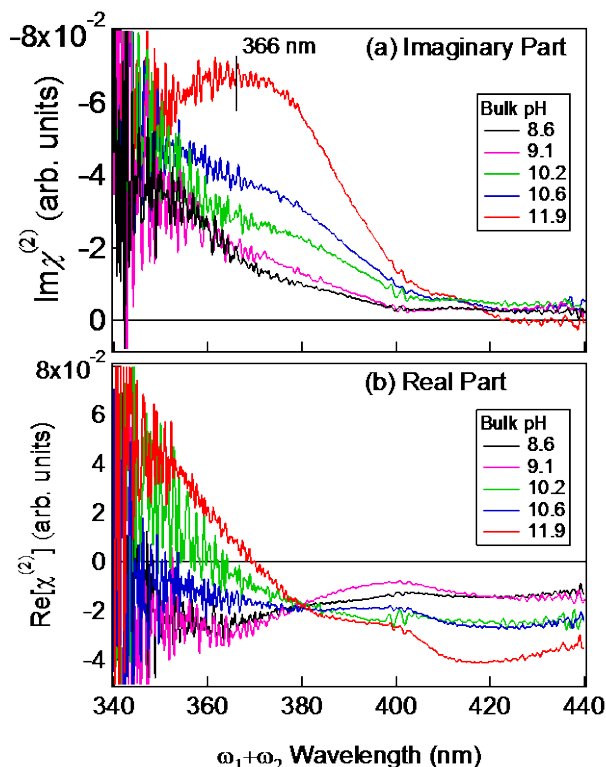


Fig. 3 (a) Imaginary and (b) real parts of the $\chi^{(2)}$ spectra of the pH indicator at the DPPG/water interface. Black, pink, green, blue, and red lines represent spectra obtained at bulk pH 8.6, 9.1, 10.2, 10.6, and 11.9, respectively.

Orientational Distribution of Molecules at the Air/Water Interface Determined by Polarization-Sensitive Second Harmonic Generation and Linear Reflection

Achintya Kundu, Shoichi Yamaguchi, Tahei Tahara

Molecular Spectroscopy Laboratory, RIKEN

Molecules adsorbed at a liquid interface can have specific orientation because of anisotropy along the interface normal. This specific orientation is chemically and biologically very important, because it makes the reaction at a liquid interface different from that in the bulk and because biological interfaces cannot show any physiological functions without specific orientation of adsorbed molecules. The orientation of a molecule at a liquid interface is governed by the interaction between the solute molecule and surrounding solvent molecules, which is a very complicated many-body problem. For example, the hydrophobic and hydrophilic functional groups of interfacial molecules point upward to the air and downward to the bulk water, respectively, which results in the orientational distribution with a finite width.¹ However, the determination of the orientational distribution of molecules at liquid interfaces is technically very difficult. Many groups applied polarization-sensitive second harmonic generation (SHG) to molecules at liquid interfaces,² but SHG cannot provide sufficient information to determine the orientational distribution. Here, we demonstrate that a combination of simple optical methods, i.e., polarization-sensitive SHG and linear reflection (LR), allows us to determine the orientational distribution functions of surface-active molecules at the air/water interface.³

We choose coumarin 110 (C110, Figure 1a), *p*-nitroaniline (PNA, Figure 1b), and *N,N*-diethyl-*p*-nitroaniline (DEPNA, Figure 1c) as surface-active molecules. DEPNA is a typical surface-active solute molecule with hydrophilic and hydrophobic terminal functional groups. PNA has surface activity despite its two hydrophilic terminal functional groups. C110 has a more complicated structure and less symmetry than the other two molecules. Because of these different characteristics, these three surface-active molecules provide prototypical cases for the experimental examination of the orientational distribution functions at the air/water interface.

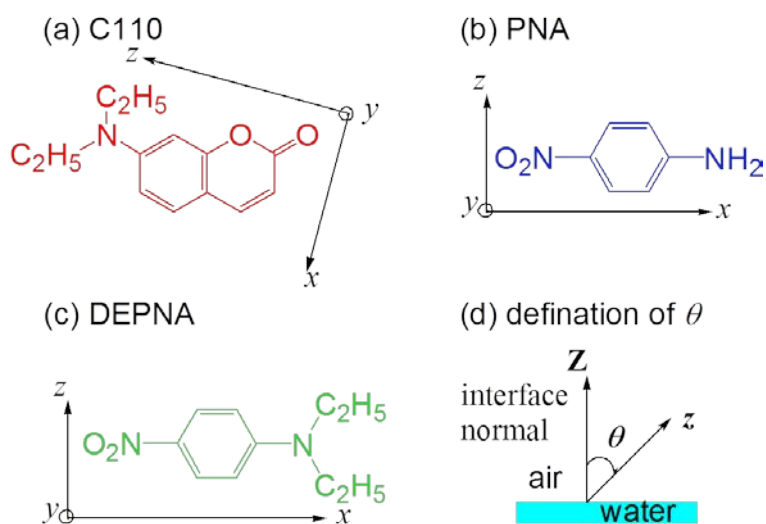


Fig. 1 Molecular structure of (a) C110, (b) PNA, and (c) DEPNA with the definitions of the molecular axes. (d) Definition of the tilt angle (θ) between the transition dipole (molecular z axis) and the interface normal (laboratory Z axis).

The orientation is parameterized by the tilt angle θ of the $S_x \leftarrow S_0$ electronic transition dipole moment of each surface-active molecule with respect to the interface normal, as depicted in Figure 1d. Polarization-sensitive SHG and LR measurements were done to study the orientational distribution of surface active molecules at the air/water interface. In polarization-sensitive SHG measurements, SHG intensity was measured as a function of an input polarization angle, which allowed us to determine the tensor elements of the second-order nonlinear optical susceptibility of the interfacial molecules. Similarly, LR measurements allowed us to determine the tensor elements of the linear optical

susceptibility of the interfacial molecules when the contribution from the bulk is negligible. From the tensor elements of the linear and the nonlinear optical susceptibilities, we successfully determined the ensemble average and the standard deviation of the tilt angle of the molecule at the air/water interface under the assumption of a modified Gaussian function. The orientational distribution functions of the surface-active molecules at the air/water interface were obtained from the ensemble average and standard deviation. Figure 2 shows the orientational distribution functions of C110, PNA, and DEPNA. These orientational distribution functions are so broad with a standard deviation ranging from 16° to 21° that it cannot be approximated by the δ -function.

The orientational distribution of PNA is substantially broader than DEPNA and C110. In the case of PNA, the two terminal functional groups are both hydrophilic, and the surface activity of PNA is attributed to the hydrophobicity of the phenyl ring. Thus, either terminal group can be an “anchor” for the adsorption at the interface, which makes the orientation somewhat unstable and results in a broader distribution with the up and down alignments similarly populated. In contrast, DEPNA and C110 are typical surface active molecules having a pair of hydrophilic and hydrophobic terminal groups. Thus, only the hydrophilic terminal group can act as an anchor, which makes up alignment stable and leads to a narrower distribution. The present study allows us to elucidate how the orientational distribution at the air/water interface is controlled by the position and hydrophilicity/hydrophobicity of the functional group of the solute molecule.

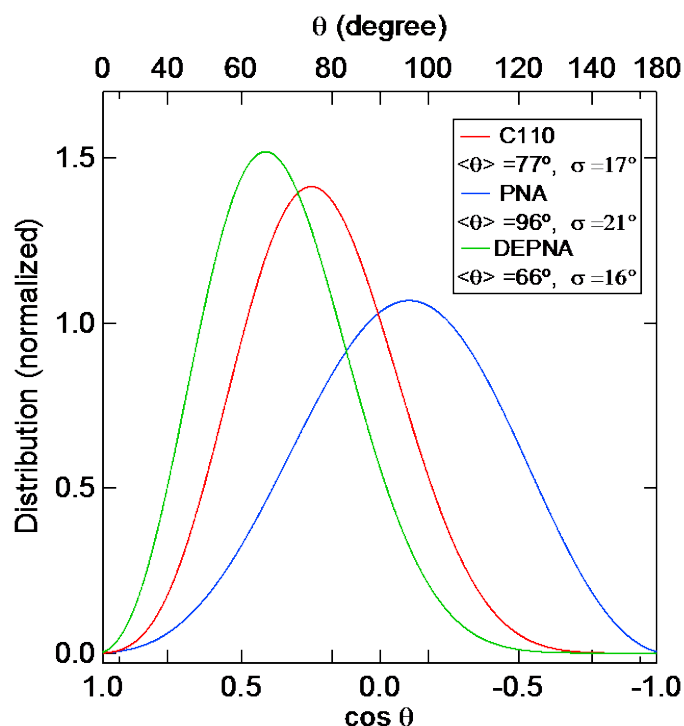


Fig. 2 Orientational distribution functions for C110 (red), DEPNA (green), and PNA (blue) at the air/water interface.

Reference

- (1) Rao, Y.; Hong, S.-Y.; Turro, N. J.; Eisenthal, K. B. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 11678.
- (2) Ding, B.; Chen, Z. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 2545.
- (3) Kundu, A.; Watanabe, H.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117*, 8887.

空気／ベンゼン界面における振動和周波発生機構の解明

松崎 維信^{1,2}、二本柳 聡史¹、山口 祥一¹、永田 敬²、田原 太平¹

理研・田原分子分光¹、東大院・理²

二次の非線形光学過程である振動和周波発生（VSFG）は界面選択的な振動分光法として有力な手法であり、近年、様々な界面の測定へと応用されている。VSFG の界面選択性は、電気双極子近似のもとでは反転対称性の破れている界面領域でのみ VSFG が起こるという性質に起因する。一方で、空気／ベンゼン界面のように界面を構成する分子自身が反転対称性を持っている場合には、界面においてさえも反転対称性は保持されたままであり、通常用いられている電気双極子近似に基づく理論によると VSFG は起こらないはずである。ところが、実際には空気／ベンゼン界面でも VSFG が起こることが知られており[1]、この界面においてどのようにして VSFG が起こるのか、その機構が十分に理解されていない状況であった。そこで本研究では、ヘテロダイン検出振動和周波発生（HD-VSFG）分光法[2]を用いて、空気／ベンゼン界面における VSFG の機構について詳細な解析を行った。

空気／ベンゼン界面において HD-VSFG の測定を SSP、SPS、PSS、PPP という 4 種類の偏光配置（3 つの文字は順に和周波光、可視光、および赤外光の偏光を表す）で行ったところ、図 1(a)-(d) に示すようなスペクトルが得られた。測定に用いる偏光配置に依存して、大きく異なるスペクトルが得られていることが分かる。それぞれの偏光配置で観測されたバンドの帰属を行うために、各々のバンドのピーク波数をバルク液体ベンゼンの IR およびラマンスペクトル（図 1(e)と(f)）と比較した。一部のバンドは波数が IR スペクトルとよく一致したことから、バルク液体ベンゼンの IR 活性モードに帰属した。それ以外のバンドに関しては、バルク液体ベンゼンのスペクトルとは波数が一致しなかったが、液体だけでなく気体のベンゼンのスペクトル[3, 4]とも波数の比較を行ったところ

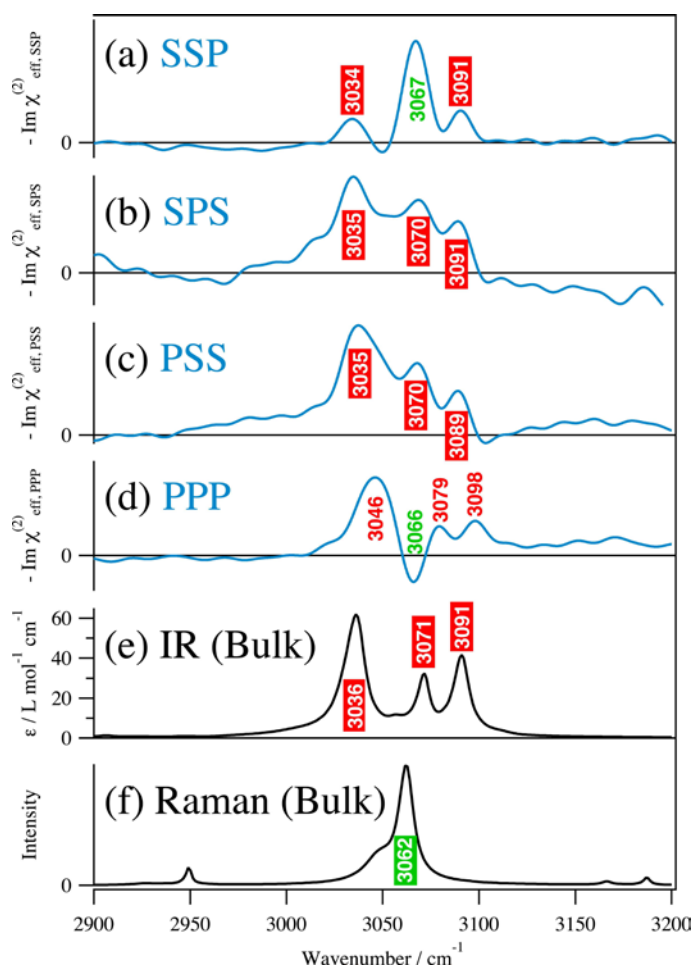


図 1. 空気／ベンゼン界面の HD-VSFG スペクトル（青線）と、バルク液体ベンゼンの IR およびラマンスペクトル（黒線）。ピーク波数の色は**界面ベンゼンの IR 活性モード**、**界面ベンゼンのラマン活性モード**、**バルク液体ベンゼンの IR 活性モード**、および**バルク液体ベンゼンのラマン活性モード**に対応する。

る、これらのバンドは液体・気体での対応するバンドのちょうど中間の波数を持つことが分かった。したがって、これらのバンドは空気／ベンゼン界面に存在するベンゼン分子の IR およびラマン活性モードに帰属される。以上の帰属に基づき、各々の偏光配置において実験的に観測された振動モードをまとめたのが表 1(a)である。

HD-VSFG による実験結果より、空気／ベンゼン界面における VSFG には界面の分子以外にバルクの分子も寄与していることが明らかとなった。電気双極子近似の範囲内では界面の分子のみが VSFG に寄与することができるため、バルクの分子の寄与があるということは電気双極子近似では無視されているより高次の寄与、例えば電気四極子の寄与があることを示唆している。実際、界面には屈折率の不連続な変化のために大きな電場勾配が存在しており、電気四極子が無視できない大きさの寄与をすることが十分に考えられる。そこで、電気四極子の寄与を含むような拡張された VSFG の機構[5]を考え、SSP、SPS、PSS、PPP のそれぞれの偏光配置においてどのような振動モードが活性になるかという選択律の導出を理論的に行った。表 1(b)にそのようにして得られた結果が示されている。

表1(a)の実験結果と表1(b)の電気四極子の寄与を考慮して理論的に導出された選択律を比較すると、両者はよく一致していることが分かる。例えば、PSSでは理論によるとバルク液体ベンゼンのIR活性モードのみが活性となっているが、実際に実験でもそのような振動モードのみが観測されている。また、界面ベンゼンのラマン活性モードはSSPとPPPでのみ活性であると理論的に予測されているが、これも実験結果と一致している。このように、電気四極子の寄与を考慮することで実験結果をきれいに矛盾なく説明できることから、空気／ベンゼン界面におけるVSFGは電気四極子の寄与によって引き起こされていると考えられる。

表 1. 各々の偏光配置において、(a)実験的に観測された振動モード、および(b)電気四極子の寄与がある場合に活性になると理論的に予測される振動モード

(a)	Interface		Bulk	
	IR	Raman	IR	Raman
SSP		○	●	
SPS			●	
PSS			●	
PPP	○	○		

(b)	Interface		Bulk	
	IR	Raman	IR	Raman
SSP	×	○	●	×
SPS	○	×	●	×
PSS	×	×	●	×
PPP	○	○	●	×

【参考文献】

- [1] E. L. Hommel, and H. C. Allen, *Analyst* **128** (6), 750 (2003).
- [2] S. Nihonyanagi, S. Yamaguchi, and T. Tahara, *J. Chem. Phys.* **130** (20), 204704 (2009).
- [3] S. N. Thakur, L. Goodman, and A. G. Ozkabak, *J. Chem. Phys.* **84** (12), 6642 (1986).
- [4] R. H. Page, Y. R. Shen, and Y. T. Lee, *J. Chem. Phys.* **88** (9), 5362 (1988).
- [5] S. Yamaguchi, *et al.*, *J. Chem. Phys.* **134** (18), 184705 (2011).

フェムト秒発光分光による銅(I)錯体の 光誘起構造変化における置換基依存性の研究

岩村宗高、竹内佐年、田原太平

理研・田原分子分光研究室

1 価の銅イオンに 2 つのフェナントロリン分子が配位したビスフェナントロリン銅(I)錯体は、可視域に金属から配位子への電荷移動 (MLCT) 遷移に帰属される強い吸収と

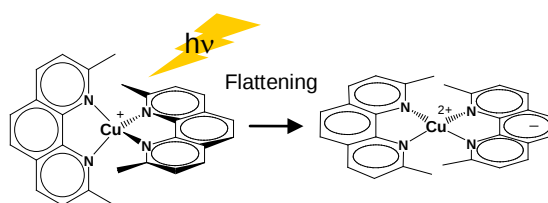


Figure 1. Photoinduced flattening distortion of $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$

発光を示す。このような光化学的性質から、これらの錯体は光触媒や太陽電池の増感剤などの応用面で注目されている。一方、基礎的見地からは、これらの錯体の励起状態で起こると考えられている構造変化に興味を持たれている (図 1)。例えば代表的な分子である $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$ (dmphen = 2, 9-dimethyl-1,10-phenanthroline) の場合、基底状態では配位子間の立体障害の小さい正四面体型の配位構造 (2 つの配位子面が直交) をとる。これに対し、MLCT 状態では銅の酸化状態が 1 価から 2 価に変化するため、銅(II)錯体に多く見られる平面型配位構造に向かって構造変形が起こると考えられている。我々は以前、この銅(I)錯体の最低励起 MLCT 状態 (S_1 状態) のダイナミクスをフェムト秒発光分光により研究し、発光スペクトル形状の顕著な変化やその時定数の溶媒粘度依存性から、 S_1 状態において約 0.7 ps の時定数で構造変形が起こると結論した。

ビスフェナントロリン銅(I)錯体の吸収、発光スペクトルは、フェナントロリン配位子の 2,9 位に導入された置換基によって大きく変化することが知られている。これは、基底状態あるいは励起状態の錯体の構造が、置換基によって異なるためであると考えられている。そこで我々は、構造変化に伴う発光ダイナミクスが置換基によってどのように変化するかという興味から、置換基をフェニル ($[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$)、メチル ($[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$)、水素 ($[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$) と系統的に変化させた銅(I)錯体に対するフェムト秒～ピコ秒発光分光を行なった。

実験ではフェムト秒蛍光アップコンバージョン法とピコ秒ストリークカメラによる測定を行い、フェムト秒～ピコ秒領域の時間分解発光データを得た。3 つの錯体のすべてで、500 nm 周辺に時定数 150 fs 以下で減衰する強い発光帯が観測された(発光帯①)。これに続き、600 nm~700 nm 領域に数百 fs~1 ps の寿命を持ち、発光帯①に比べて弱い発光が観測された(発光帯②)。さらに $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$ 、 $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ では、発光帯②の減衰に対応して新しい発光帯が等発光点を示しながら長波長側に立ち上がり、寿命 10 ps 程度で減衰することが観測された(発光帯③)。これらの時間分解発光データの定量的なフィッティング解析を行い、成分ごとの時間分解発光スペクトルおよび発光の振動子強度を求めた (図 2)。この結果にもとづき、発光帯①、②および③を構造変化前の S_2 発光、 S_1 発光、構造変化後の S_1 発光に帰属した。すなわち、②から③への発光スペ

クトルの変化が励起一重項における構造変化に対応すると考えた。

置換基の違いによる変化に注目すると、発光帯②の寿命(構造変化の時定数)は、 $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ で 200 fs、 $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$ で 660 fs、 $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ で 920 fs と、2,9 位の置換基が大きくなるほど長くなる傾向が見られた。これは、配位子間の立体障害が大きくなるに従って、構造変化の速度が遅くなることを示唆している。観測された構造変化速度の置換基依存性について、置換基自身の回転と錯体の構造変化を表す核座標からなる 2 次元ポテンシャルエネルギー曲面を用いて考察し、置換基自身の回転により立体障害が小さくなる配置をとるときに構造変化が進むという機構を提案した。

[1] Iwamura, M.; Takeuchi, S.; Tahara, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5248.

[2] Iwamura, M.; Watanabe, H.; Ishii, K.; Takeuchi, S.; Tahara, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7728.

[3] Iwamura, M.; Takeuchi, S.; Tahara, T. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 4143.

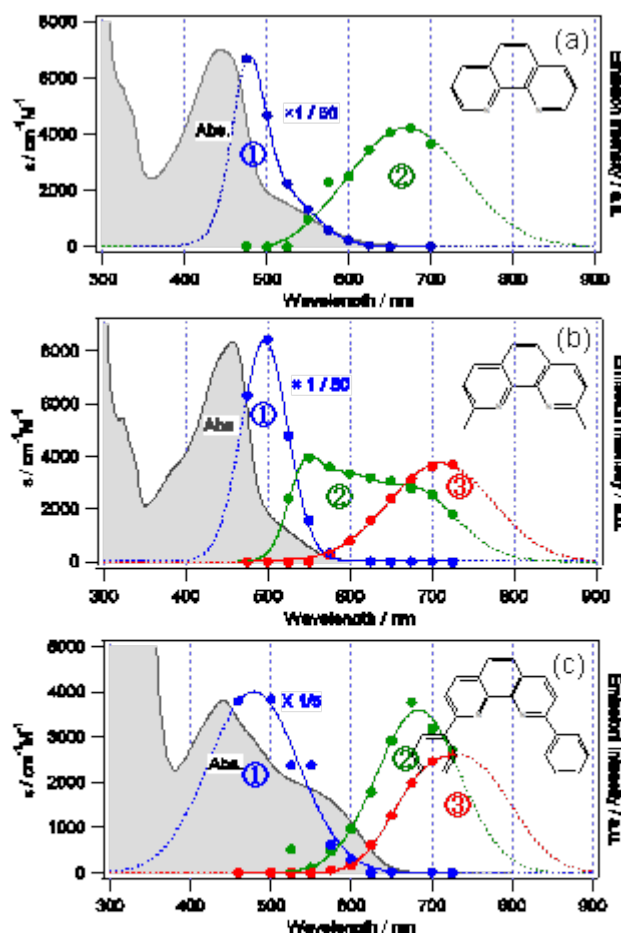


Figure 2. Fluorescence spectra of the transients observed in the up-conversion experiments of $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ (a), $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$ (b) and $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ (c) in CH_2Cl_2 . The absorptionspectra are also shown for comparison. Curves on the plots represent the fits to the fluorescence spectra using single or multi peak Gaussian line shape functions.

フェムト秒時間分解分光によるセンサリーロドプシンI の励起状態ダイナミクスの観測

Zhengrong Wei、竹内佐年、田原太平

理研・田原分子分光研究室

センサリーロドプシン I (SRI) は古細菌の光照射に対する遊泳パターンの変化 (走光性) をつかさどる光受容タンパク質の一種として知られる。このタンパク質では、内部に埋め込まれた発色団分子レチナールが光を吸収して *trans* - *cis* 異性化を起こし、それをトリガーとしていくつかの中間体を経由する光サイクルを開始し、機能発現へとつなげている。特に *Salinibacter ruber* に由来する SRI タンパク質 (*SrSRI*) は従来の *HsSRI* に比べて様々な実験条件に対する高い安定性を示す[1]。このため、分光実験による分子機構の研究が進み、これまでに塩化物イオンが発色団の β -ionone 環の近傍に保持されていることが報告されている[2]。さらに、光サイクルの中でもナノ秒以降の時間領域に観測される *K* や *M* 中間体に関しては寿命や詳細な構造情報が得られつつある。それに対し、発色団が光を吸収した直後の励起状態は光サイクルの駆動源であるが、そのダイナミクスや中間体を生じる機構には未だ不明な点が多く残されている。そこで我々はフェムト秒吸収および蛍光分光を用いて *SrSRI* タンパク質の初期ダイナミクスの観測を行い、励起状態から (基底状態) 中間体が生じる経路について考察した[3]。

塩化物イオンを含む *SrSRI* を 560 nm で光励起した場合のフェムト秒過渡吸収スペクトルを図 1 に示す。このデータから分かるように、光励起の直後には元の基底状態分子の退色 (590 nm) と最低励起一重項 (S_1) 状態からの誘導放出 (690 nm) が負の信号として観測される。また、 S_1 状態の吸収が 470 nm 付近に正の信号として観測される。このスペクトル形状は時間とともに変化し、1 ps 後には *J* 中間体の吸収バンドが 650 nm 付近に立ち上がってくる。さらにこのバンドは 10 ps にかけて短波長シフトし、620 nm のバンドへと変わる。これは *J* 中間体から *K*₆₁₈ 中間体が生成されることを示している。波長 470 nm および 650 nm で観測された信号の時間変化をフィッティング解析した結果、いずれも 4 つの特徴的な時定数成分 (54 fs, 640 fs/1.8 ps, 2.5 ps, ∞) でよく再現されることが分かった。この結果より、まず光励起で生じたフランク・コン

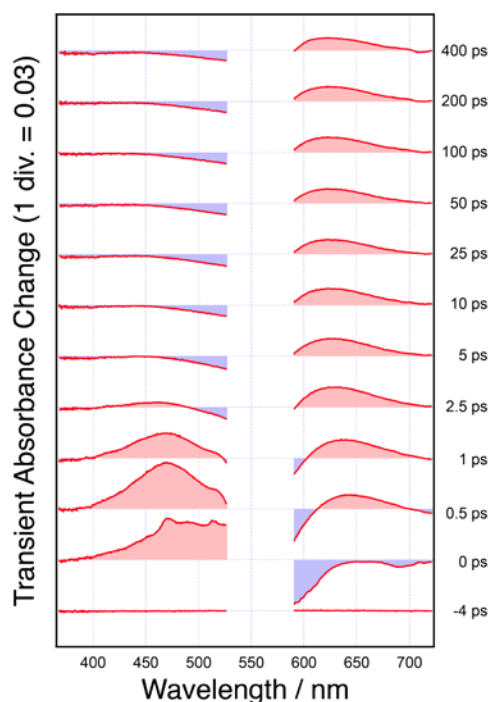
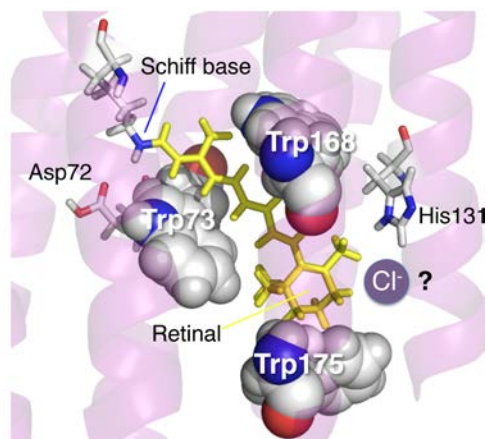


Figure 1. Femtosecond time-resolved absorption spectra of *SrSRI* with Cl^- measured with 560-nm excitation.

ドン状態分子が 54 fs で反応性 (S_1^r) および非反応性 (S_1^{nr}) の励起分子に分岐し、次いで、反応性分子は 640 fs で J 中間体へ、さらに 2.5 ps で K 中間体へと変わると結論した。一方、非反応性の分子は 1.8 ps で元の基底状態分子へと内部転換すると考えた (図 2)。

この緩和スキームの妥当性を実験的に確認するために、励起状態のみに由来する蛍光信号をフェムト秒の時間分解能で測定し、励起状態のダイナミクスをより直接的に観測した。カーゲート法を用いて測定したフェムト秒時間分解蛍光スペクトルを 630–770 nm の波長領域で積算し、その強度を遅延時間に対してプロットした結果を図 3 に示す。信号雑音比は限られているが、このデータから蛍光信号が 2 成分で減衰することは明らかであり、実験結果は 0.5 ps および 3 ps の時定数成分で再現された。この 2 つの時定数は S_1^r および S_1^{nr} の寿命とそれぞれ同程度であり、蛍光信号と図 2 の緩和スキームはよく対応するといえる。さらに重要な点は、J 中間体の生成時間 (640 fs) よりも長い時定数の蛍光成分 (3 ps) が観測されることである。このことは、J 中間体を生じる反応性の S_1 状態 (S_1^r) だけでなく、蛍光を発するが中間体の生成には寄与しない非反応性の S_1 状態 (S_1^{nr}) も同時に生じていること、すなわち、フランク・コンドン状態から S_1^r と S_1^{nr} への分岐が励起状態で起こっていることを実験的に示している。

以上の SrSRI タンパク質についてのフェムト秒吸収・蛍光分光により、光励起直後に反応性および非反応性の S_1 状態への分岐、さらに S_1^r 状態から J および K 中間体の生成に至るダイナミクスを明らかにすることができた。

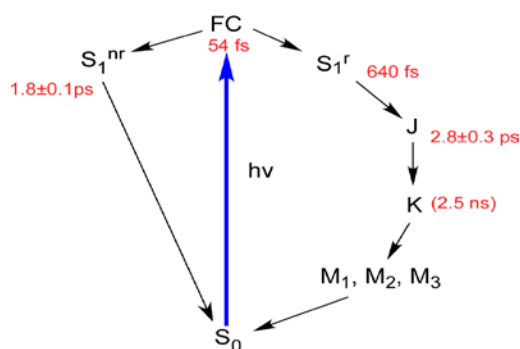


Figure 2. The proposed relaxation scheme of SrSRI with Cl⁻.

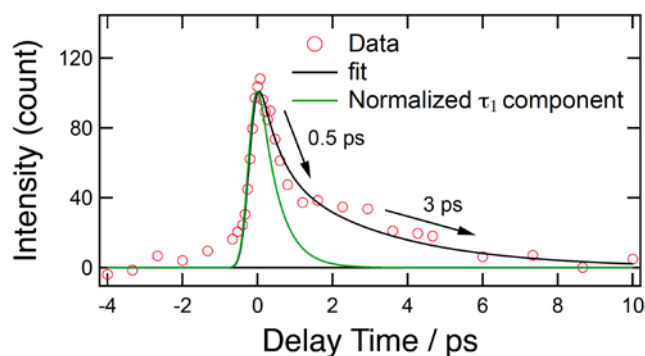


Figure 3. Temporal behavior of the Kerr-gated fluorescence intensity of SrSRI obtained by spectral integration from 630 to 770 nm.

- [1] Kitajima-Ihara, T.; Furutani, Y.; Suzuki, D.; Ihara, K.; Kandori, H.; Homma, M.; Sudo, Y., *J. Biol. Chem.* **2008**, 283, 23533.
- [2] Suzuki, D.; Furutani, Y.; Inoue, K.; Kikukawa, T.; Sakai, M.; Fujii, M.; Kandori, H.; Homma, M.; Sudo, Y., *J. Mol. Biol.* **2009**, 392, 48.
- [3] Sudo, Y.; Mizuno, M.; Wei, Z.; Takeuchi, S.; Tahara, T.; Mizutani, Y., *J. Phys. Chem. B*, **2014**, 118, 1510.

フェムト秒過渡吸収測定にもとづくBLUFタンパク質の活性化機構の検討

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)タンパク質はバクテリアに広く分布した青色光センサーであり、バクテリアが光を感知して光合成効率やバイオフィーム形成を調整する際の最初の役割を担う。BLUFタンパク質はフラビン色素のFAD(flavin adenine dinucleotide)色素を内包している。FADが光を吸収すると、FADの光反応がタンパク質構造変化を誘起して(タンパク質活性化)、タンパク質は光感知のシグナルを伝達する。シグナル伝達が可能になった活性化状態では、光感知前の暗状態に比べてFADの吸収スペクトルに10nm程度のレッドシフトが観測されるのが特徴である。

BLUFタンパク質の活性化状態にみられる吸収スペクトルのレッドシフトは、活性化状態の生成が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。しかし、実際にどのような水素結合の変化が起こっているのかが明らかではない。X線結晶構造回折で水素の位置を決定することが難しいからである。また、タンパク質活性化のプロセスには2種類の報告されており、BLUFタンパク質の活性化機構の解明には異なる活性化プロセスの原因を理解する必要があると同時に、FADまわりの水素結合に鋭敏な観測量に基づいた研究が必要になる。本研究ではBLUFタンパク質の活性化機構の解明を目的として、新たにBLUFタンパク質 PapB (紅色細菌 *Rhodopseudomonas palustris* 由来) の活性化プロセスをフェムト秒過渡吸収法で調べた。

図1は450nmでPapBを励起した後の過渡吸収スペクトルである(時間分解能:0.1ps)。測定において、試料濃度は約0.3mM(Trisバッファー、pH 8.0)に調整し、長寿命の活性化状態の蓄積を避けるため十分に速い速度で試料をフローした。

光励起直後に現れるスペクトル(赤)は第一励起状態(S_1 状態)に由来し、長波長領域(600-750nm)の励起状態吸収に加えて、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バンド(青)が現れた後、最終的に長寿命の分散型のスペクトル(緑)が残る。このスペクトル形状は吸収スペクトルのレッドシフトによるものであり、活性化状態に帰属できる。

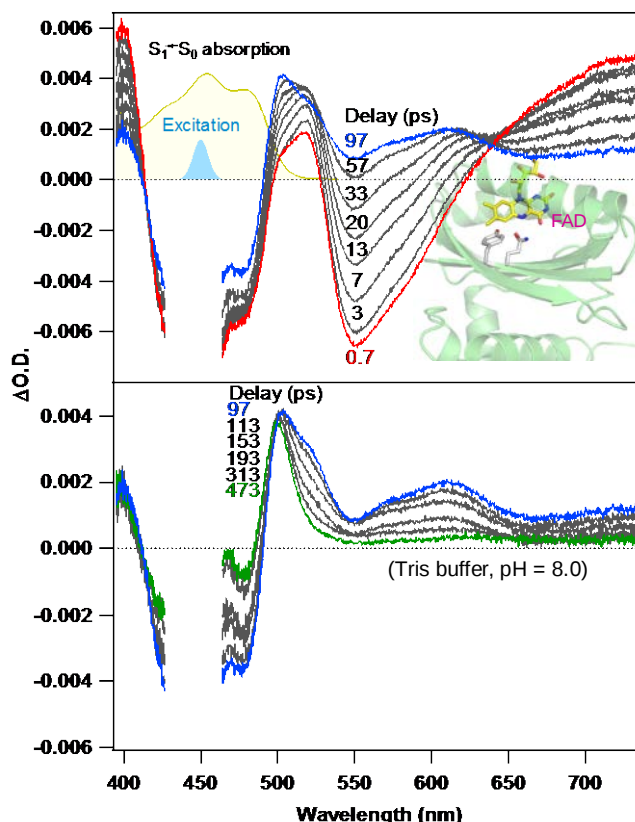


Figure 1. Transient absorption spectra of PapB

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 と同様に、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、および活性化状態の 3 つのスペクトル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 ラジカル(FADH•)に同定された。このことは、PapB の光活性化において発色団 FAD にプロトン共役電子移動が起こることを意味する。

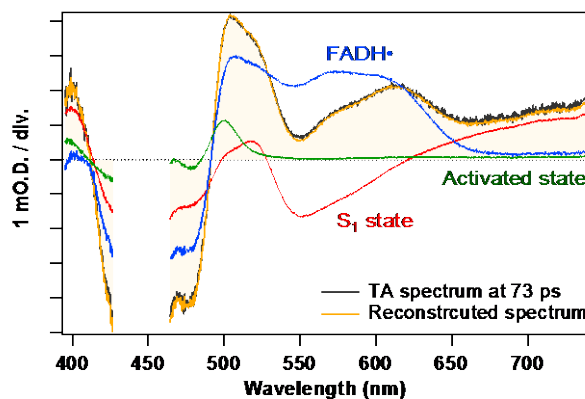


Figure 2. Decomposition of transient absorption spectrum

スペクトル分割から得られた S_1 状態、FADH•および活性化状態の時間プロファイル(軽水および重水中)を図 3A に示す。これまで BLUF タンパク質の光活性化過程には、FADH•を経由する活性化(FADH• → 活性化)と S_1 状態から直接に活性化(S_1 → 活性化)する 2 種類のプロセスが報告されており、前者はプロトン移動、後者には電子移動が重要となると考えられてきた[1,2]。PapB の活性化状態の生成速度には顕著な重水素置換効果が現れており、これは PapB の光活性化にプロトン移動が関与することを示している。

PapB の S_1 状態は 2 段階で減衰するため、PapB の反応プロセスの解析には FADH• → 活性化に基づいた 2 状態モデル(図 3B)を用いた。FADH•を生成して活性化する状態($a\%$)と FADH•を生成せずに暗状態に戻る状態($b\%$)を考慮した 2 状態反応モデルは、PapB の光反応プロセスをよく再現できる(図 3A)。FADH•の生成が PapB の活性化には重要であり、タンパク質構造が揺らぐ中で FADH•の生成が可能な水素結合状態が実現できたタンパク質が活性化されると考えられる。

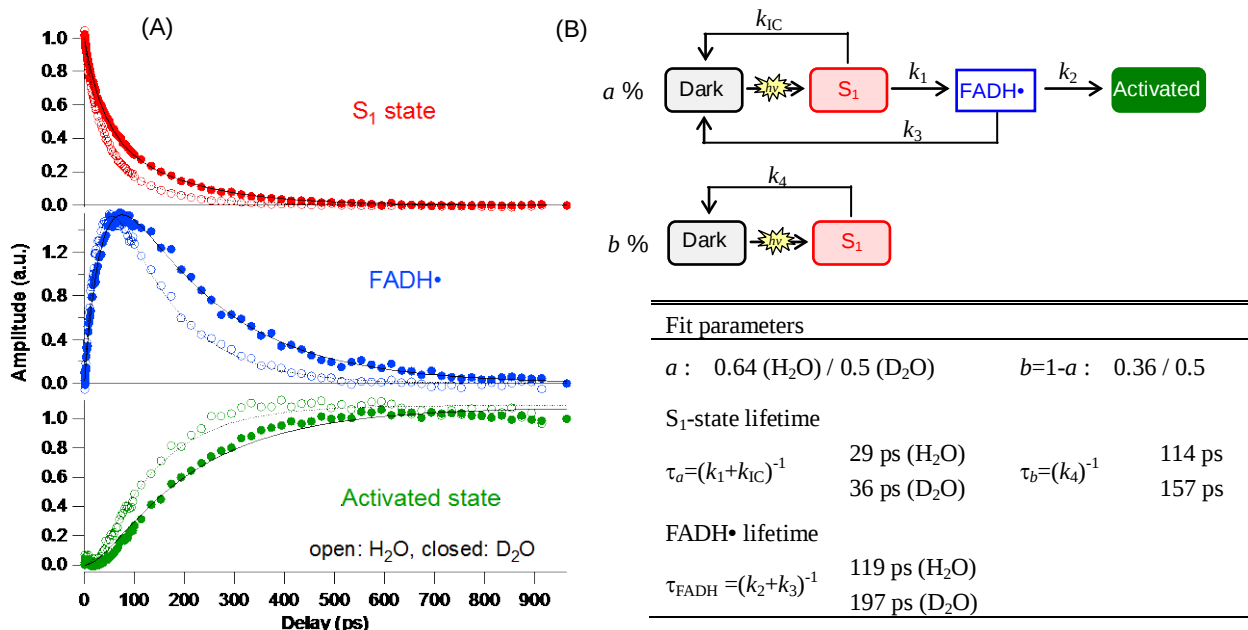


Figure 3. Kinetic analysis of PapB. (A): Temporal profiles (○ in H₂O, ● in D₂O) of S_1 state, FADH• and activated state with the fitting curves based on the reaction model (B). Fit parameters are listed on the table.

- [1] M. Gauden et al. *Biochemistry*, **2005**, *44*, 3653; V. Dragnea et al. *Biochemistry* **2005**, *44*, 15978.
 [2] M. Gauden et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 10895.

三配位構造を有した銅一価チオレート錯体の合成とその光特性

大澤 正久, 田原 太平

理研・田原分子分光

金属イオンと有機配位子が結びついたハイブリッド化合物である金属錯体は、有機化合物や金属イオンのみでは持ち得ない新たな光機能を有する。またその多くは固体状態で“安定”であるため、発光材料としても有望であり、例えばイリジウム(III)錯体は有機 EL のリン光型材料として実用化されている。我々は希少金属のためコストがかさむ高価なイリジウム(III)錯体をより安価な金属に置き換えるため、遅延蛍光性銅(I)錯体の開発を行ってきた[1]。イリジウム錯体はその重原子効果を最大限利用することで EL デバイスの中で再結合によって生成する 25%の一重項励起子を三重項励起状態に集めることが可能となり(図 1、左)、その内部量子収率はほぼ 100%に達する。一方、遅延蛍光型銅(I)錯体では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ため、室温付近では三重項状態に集まった励起子を一重項状態に熱励起することができ、これが遅延蛍光を発生することになる。この場合も原理的にはイリジウムと同等の 100%の内部量子収率が期待できる(図 1、右)。

遅延蛍光性銅(I)錯体の分子設計指針は、これまで多くの場合、いわゆる“金属から配位子への電子移動 (MLCT)”に基づいていた。今回チオレート配位子を用いることで、“配位子→配位子遷移 (LLCT)”を発光オリジンとする高効率遅延蛍光を示す銅一価錯体(図 2 中の錯体 **1** と **2**)の合成に成功し、その発光特性を検討した[2]。

この錯体の特徴は、三配位構造を有していることにある。単結晶 X 線構造解析から、銅(I)と、2 つのリン及び硫黄原子とのなす角の和は 359.6° であることが判明し、その平面性は支持された。この平面構造により銅一価錯体(d^{10} 金属)特有の励起状態を失活させ発光特性を低下させるヤーン・テラー効果を防ぐことが可能となり、高い発光効率が見込まれる。

図 3 に錯体 **1** と **2** の固体状態での発光スペクトル(室温と 77 K)を示す。どちらの錯体からも室温で

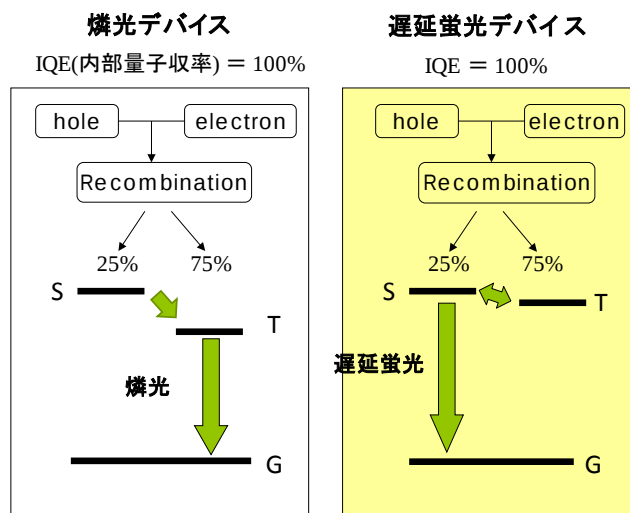


図 1. リン光型及び遅延蛍光型デバイス。

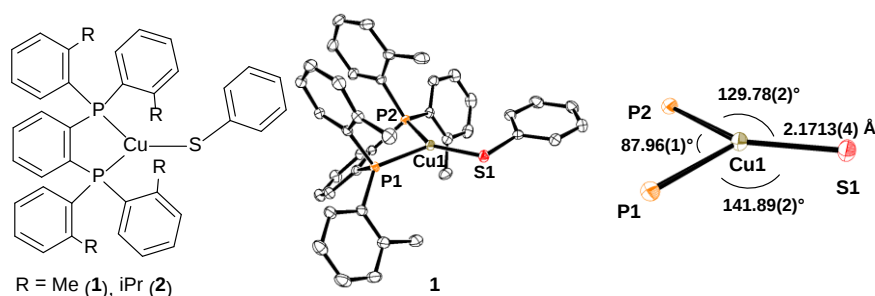


図 2. 銅(I)チオレート錯体の構造。

強い青緑色の発光が観測された。発光極大はそれぞれ 488, 500 nm であった。また室温での絶対量子収率は双方ともほぼ 1 であることが判明し、錯体 1 と 2 の高い発光効率が示された。77 K において、1) 発光極大が長波長化すること、2) 絶対量子収率は室温と同様にほぼ 1 であること、以上の結果は室温での発光が遅延蛍光であることを示唆している。さらに錯体 1 と 2 の発光寿命の温度依存性の測定結果から、それぞれの励起一重項状態と三重項状態のエネルギー差は 690、630 cm^{-1} と見積もられ、遅延蛍光性を確認することができた。また励起状態の計算(TD DFT)より、その HOMO は主としてベンゼンチオレート部位に分布すること、LUMO は配位子の架橋フェニレン部位に分布していることが示され、目論み通り LLCT を発光オリジンとしていることを明らかにすることができた。

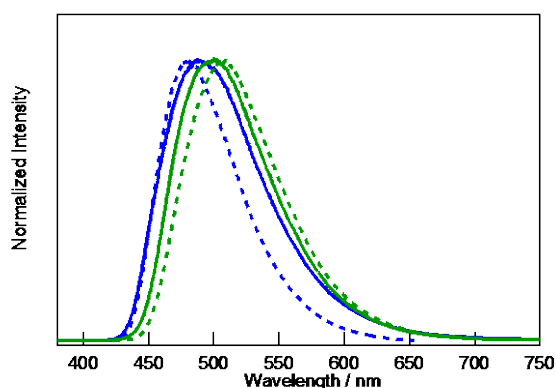


図 3. 錯体 1 と 2 の発光スペクトル。錯体 1 は青、錯体 2 は緑。実線は室温、破線は 77 K。

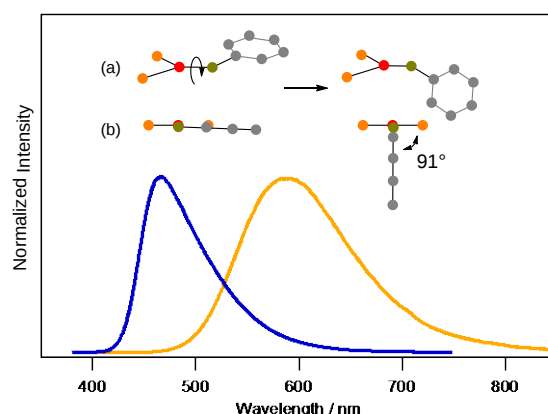


図 4. 錯体 1 の発光スペクトル(2-メチルテトラヒドロフラン中)。オレンジは室温、青は 77 K。(a)と(b)は励起状態での励起状態での構造変化(コア部分のみ)。

図 4 に溶液中の錯体 1 の発光スペクトルを示す。77 K (ガラス状態) では固体状態と同様、強い青緑色発光を示した。その絶対量子収率はほぼ 1 であり、また発光寿命も固体状態とよく一致することから励起状態の構造は X 線構造解析によって決定した三配位構造 (図 1) と考えられる。一方、室温まで温度を上げるとその発光色は青緑からオレンジ色へと変化した。発光極大が約 130 nm 長波長化したこと、発光量子収率が 0.25 と大幅に低下したこと、また発光寿命が 3 桁短くなったことから励起状態で構造変化が起きたことが長波化の原因と考えられる。励起状態の計算からは、ベンゼンチオレート配位子の硫黄—銅(I)原子を中心としたアリール基の 90°回転による構造変化が示唆された (図 4 a,b)。この構造から計算される励起一重項、三重項状態のエネルギーはそれぞれ、565、585 nm であり長波化を説明することができる。銅(I)側により大きな置換基(イソプロピル基)を導入した錯体 2 は 1 に比べそれほど大きな長波化を示さなかったこと (54 nm の長波化)は、中心金属周りの置換基による立体障害によりアリール基の回転が阻害されたためと合理的に考えることができる。またベンゼンチオレート配位子を持たない銅(I)三配位ハライド錯体では、発光の長波長化は観測されないことも“アリール基の回転に基づく発光色変化”を支持している。

【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.

レプリカ交換分子動力学計算を用いた 糖鎖質量スペクトルの予測

李秀栄¹, 渡部茂久², 二島渉¹, 杉田有治¹

理研・杉田理論分子科学研究室¹, 中央大学・理工²

細胞表面には、種類や長さ、分岐構造の異なる多様な糖鎖が存在しており、様々な生命現象や疾患との関係が重要視されている。例えば、インフルエンザウィルスは細胞表面糖鎖の末端シアル酸を認識して浸食を行うことが知られている。疾患に特異的な糖鎖を正確に特定することが出来れば、新たなバイオマーカーの開発にも繋がる。しかし、糖鎖は高い構造柔軟性をもつ上、核酸やタンパク質と異なり多様な分岐構造をとっており、それらを正確に識別するのは極めて困難である。我々は、タンパク質の立体構造予測などで用いられてきたレプリカ交換分子動力学 (REMD) 法[1]を用いた糖鎖の立体構造予測に取り組んできた。この手法では、温度の異なる複数のレプリカ (系のコピー) の分子動力学計算を並列・独立に実行し、ある頻度で隣接する温度を交換することで、定温の分子動力学計算では実現できない広い構造空間の探索を可能とする。これまでこの方法を用いて、溶液中の糖鎖構造の柔軟性を分子シミュレーションで検証し、NMR実験と良く一致する結果を得た。[2, 3]

本研究では、分子の衝突断面積の違いを利用したイオンモビリティ質量分析 (Ion mobility mass spectrometry (IMMS)) に着目した。質量分析は、糖鎖構造解析でも広く用いられている。IMMS法は、従来の質量分析では不可能であった糖鎖異性体の分離を可能にするため、質量スペクトルを用いた糖鎖同定精度の飛躍的な向上が期待される。しかし、実験で観測されるドリフト時間から衝突断面積を求めるのは容易でなく、分離された異性体の同定は依然として困難である。そこで我々は、REMD計算を用いた糖鎖衝突断面積の予測法を新たに考案し、実験値が得られている複数のN型糖鎖異性体ペアに応用した。

質量分析に用いるサンプルはイオン化 ($[M + nH]^+$ ($n=1, 2$)) されている上、分析感度を高める目的で蛍光性をもつピリジルアミノ基 (PA) が導入されている。既存の力場をそのまま用いることが出来ないため、プロトン化した糖とピリジルアミノ (PA) 化した糖鎖誘導体の力場を新たに開発した。プロトンの付加位置は、モデル化合物の量子化学計算によりプロトン親和性を推定しN-アセチルグルコサミン (GlcNAc) のカルボニル酸素とした。力場パラメタは、既存のCHARMM力場を基に、量子化学計算の結果を再現する様に決定した。新たに作成した力場を用いて、最も基本的なN型複合型糖鎖に対して、ガラクトシル化及びプロトン化位置の異なる系8種類の糖鎖のREMD計算を行った。REMD計算は、温度範囲を300K~1058Kとして16レプリカを用いた。各レプリカ当り50ns (全800ns) の計算を行った。衝突断面積の計算にはMOBCALを用いた。[5]

図1に、8種類の糖鎖に対してREMD計算に基づき計算した衝突断面積を示す。1-6鎖の末端がガラクトース (Galactose)、7-8鎖の末端がマンノース (Mannose) である。図1の左側には、G1(6)とG1(3)の糖鎖構造が示されている。G1(6)は、末端ガラクトース (黄色) がα1,6結合でマンノース (緑) に付加し、マンノースがα1,3結合でグルコサミン (青) に付加している。G1(3)は、末端ガラクトース (黄色) がα1,3結合でマンノース (緑) に付加し、マンノースがα1,6結合でグルコサミン (青) に付加している。右側のグラフは、イオン強度 (%) を縦軸、ドリフト時間 (ms) を横軸としたIMMSスペクトルを示している。G1(3)とG1(6)のピークが明確に分離されている。

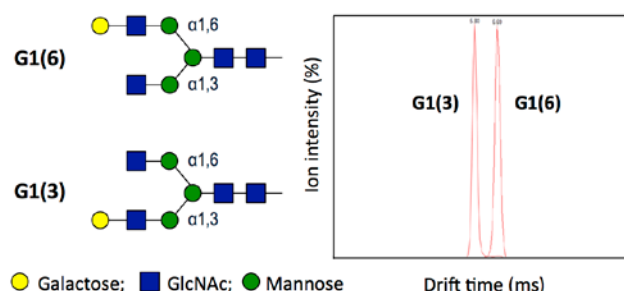


図1. IMMSを用いた糖鎖構造異性体ペアの分離。

図1に、8種類の糖鎖に対してREMD計算に基づき計算した衝突断面積を示す。1-6鎖の末端がガ

ラクトシル化された糖鎖（G1(6)，G2）はシャープなピークを与えるのに対して、そうでない糖鎖は広い分布を与える。前者の断面積は後者に比べて大きくなっており、実験結果と良く一致する結果が得られた。[4] 図2に、各糖鎖構造のクラスター解析から得られた代表構造を示す。G1(6)及びG2糖鎖では、1-6鎖が根元のキトビオース部分と強い水素結合を形成し、その結果、分子全体として「ロッド」様の構造をとっている。それ以外の糖鎖（G0，G1(3)）では、キトビオース部分との強い水素結合相互作用は見られず、構造性が低く全体として「球状」の構造をとっている。柔軟性の高い1,6グリコシド結合鎖の長さが異性体分離の鍵となっていることがわかった。IMMSとREMD計算を組み合わせたアプローチは、異性体構造の明瞭な分離とともに、糖鎖の気相構造に対する新たな解析法をして期待される。

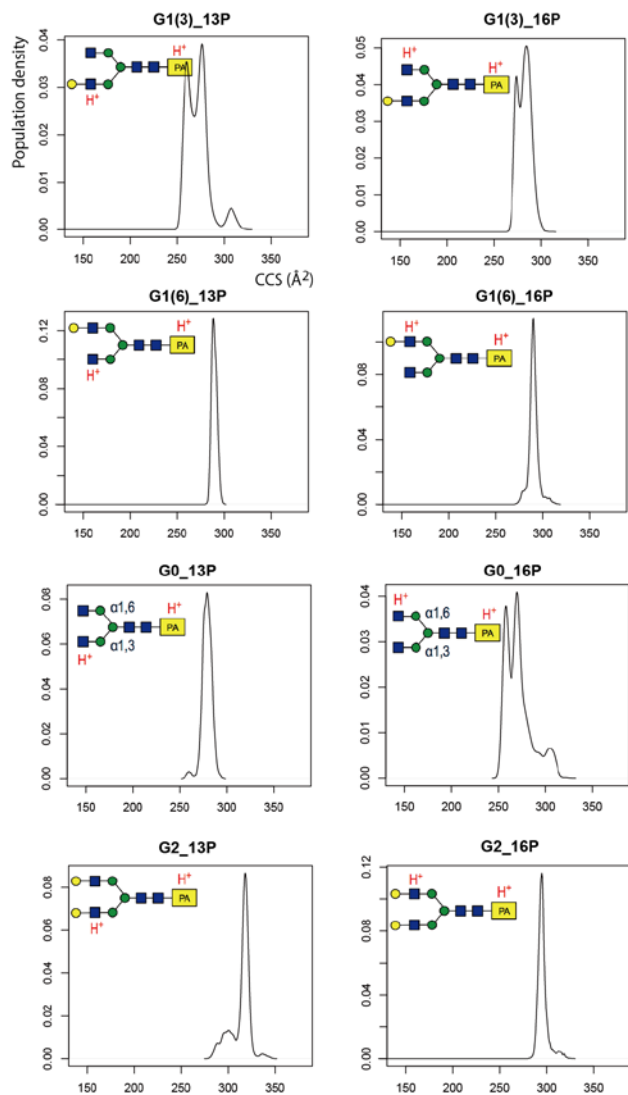


図2. REMD 計算から得られた衝突断面積分布。

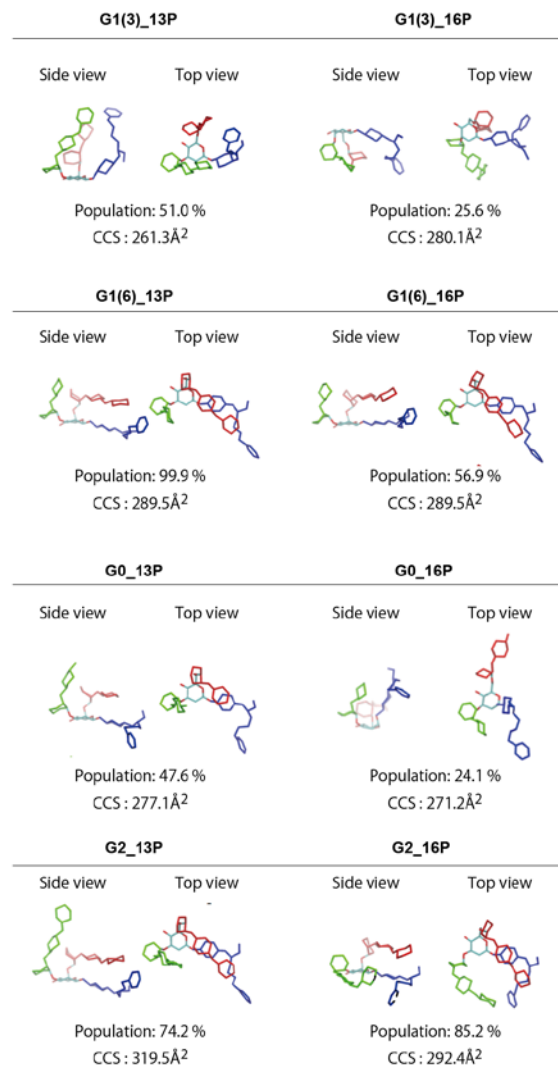


図3. クラスター解析から得られた各糖鎖の代表構造と存在確率。

【参考文献】

- [1] Sugita, Y and Okamoto, Y. *Chem. Phys.Lett.* **1999**, 314, 141. [2] Re, S. et al. *Biophys J. (Letter)* **2012**, 101, L44. [3] Nishima, W. et al. *J. Phys. Chem. B* **2012**, 116, 8504. [4] Yamaguchi, Y. et al. *Rapid Commun. Mass Spectrom* **2012**, 26, 2877. [5] Mesleh, M. et al. *J. Phys. Chem. A* **1997**, 101, 968

分子動力学計算によるリン脂質膜界面の水分子配向解析

李秀榮, 二島渉, 杉田有治

理研・杉田理論分子科学研究室

脂質膜の構造や脂質界面の性質は、生体膜の様々な機能と密接に関係する。例えば、界面の水和環境は膜タンパク質のイオン透過や選択性に大きな影響を与えると考えられる。近年、界面分光の技術的な進歩に伴い、不均一かつ流動性の高い脂質膜界面に対して、界面選択的な情報を捉えることが可能になってきた。田原らは、ヘテロダイン振動和周波発生分光法を用いて、これまで捉えることの出来なかった脂質界面水の絶対配向を決定することに成功した。[1] 本研究では、全原子分子動力学計算を用いて、実験データとの比較検証のもとで、リン脂質界面の局所的な水和構造を分子レベルで明らかにした。

本研究では、両イオン性リン脂質 (POPC) 200分子からなる脂質二重膜 (単層あたり100個) について、常温常圧 (310K, 1atm) で100nsのMD計算を行った。脂質分子にはCHARMM36力場を、水分子にはTIP3Pモデルを用いた。MD計算はNAMDプログラムパッケージを用いて行った。

図1に、MD計算から求めたPOPC二重膜の脂質表面積 (Area per lipid) と電子密度プロファイルを示す。二重膜構造に関して、計算された脂質表面積の平均値 ($62.2 \text{ \AA}^2$) や膜厚 ($\sim 30 \text{ \AA}$) は、

いずれも既に報告されている実験値や計算値と良く一致している。[2] 電子密度プロファイルは、膜中心から $\pm 20 \text{ \AA}$ 付近に最も電子数の多いリン酸のピークが見られる (図中の黒線)。リン酸のピークが見られる領域で、水分子密度はバルク層から膜中心へ向けて急激に減衰する (図中の青線)。脂質のリン酸、コリン、グリセロール部分の密度が水分子密度と重なっていることから、水分子は脂質ヘッド領域まで浸透していることがわかる。

水分子密度の減衰が始まる $z = \pm 30 \text{ \AA}$ より膜中心側にある水分子を界面水と考え、その配向を詳細に検討した。図2は、水分子の永久双極子モー

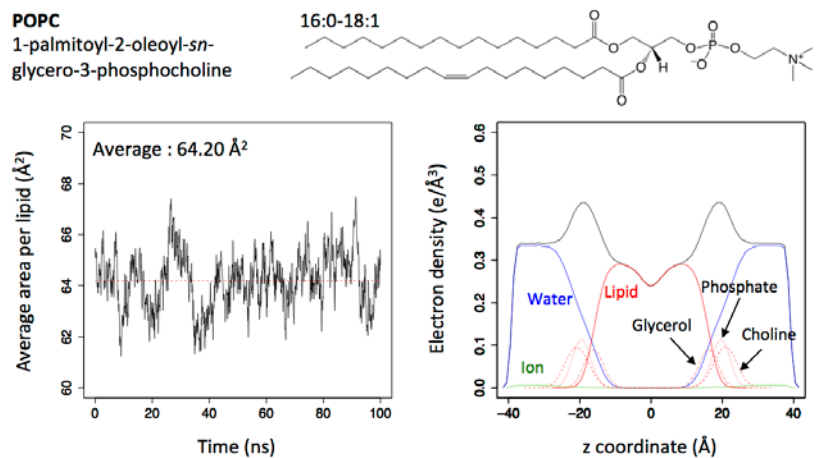


図1. MD 計算から得られた POPC 膜の脂質表面積と密度プロファイル。

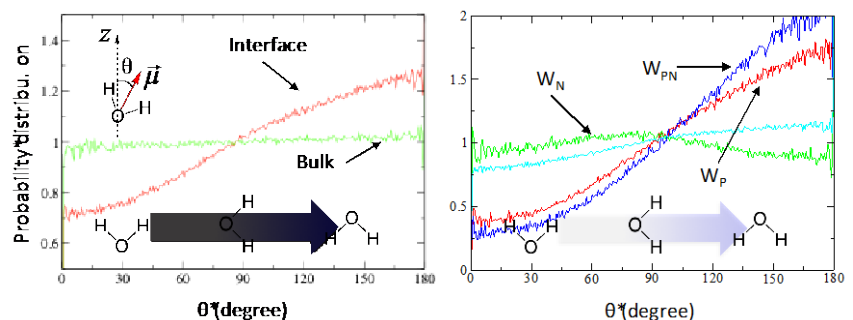


図2. MD 計算から得られた POPC 膜界面の水分子の配向構造。

メントと脂質膜の垂直軸（z軸）との間の角度分布を示す。水分子の配向に規則性がない（ランダムに配向している）場合に1の値をとるよう規格化した。バルク水と界面水に対して各々角度分布を計算した結果、界面領域では水分子の配向に偏りがあり、水分子は水素原子を界

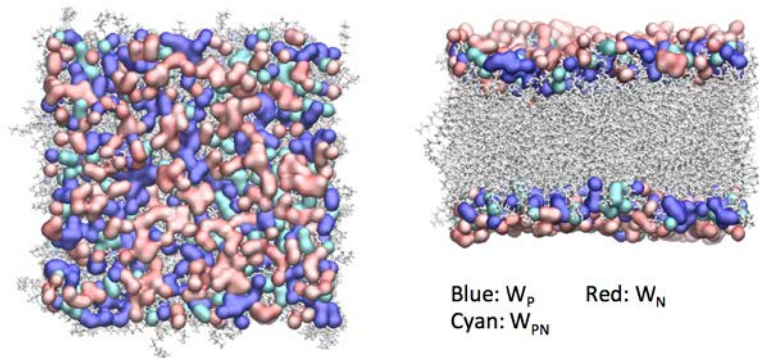


図3. MD計算のスナップショット。リン酸付近、コリン付近、両者の間にある水分子を、それぞれ青、シアン、赤色で表している。

面側へ向けて配向する傾向にあることがわかった（図2(a)）。界面水をさらにリン酸付近（ W_p ）、コリン付近（ W_N ）、及

び両者と間に存在する水分子（ W_{PN} ）に分類し同様の解析を行った結果、特異的な配向を示す水分子は主にリン酸付近に存在し、その傾向はリン酸周辺（ W_p ）で最も強く、リン酸とコリンの間（ W_{PN} ）でも配向に偏りがあることがわかった（図2(b)）。一方で、コリン付近の水分子（ W_N ）は、若干ではあるが、逆の配向（水素原子をバルク層側へ向けて配向）を示す。図3に、MD計算のスナップショットを示す。両イオン性POPC膜の界面で、3種の異なる配向特性をもつ水分子がパッチ状の水和層を形成していることが示唆される。この結果は、実験結果とも良く一致しており、今後、界面の水和環境が脂質の種類によってどのような変化を示すのか検討してゆく。

【参考文献】

[1] Mondal, J. A. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 7842. [2] Janosi, L. et al. *J. Chem. Theory Comput.* **2010**, 6, 3267.

最適化座標に基づく分子振動状態理論

八木清¹, 大滝大樹¹, Bo Thomsen², Ove Christiansen²

理研・杉田理論分子科学¹, Aarhus 大・化学科²

【背景】振動状態計算を効率的に実行する上で、分子を記述する座標系の選択は極めて重要である。分子振動を表現する座標系は基準座標が標準的であるが、その他に結合長、結合角、二面角などで構成される内部座標が古くから知られている。内部座標は空間的に局所化しており、直感的に分かりやすいのみならず、例えば、XH伸縮振動（X = C, N, Oなど）の高励起状態を表現する上で基準座標より優れていることが知られている。Henry[1]による「基準座標では、ベンゼンの全対称CH伸縮振動モードは全てのCH結合が同時に伸長するが、ベンゼンにエネルギーを与えた時、全ての水素が同時に解離する反応は観察されない。必ず水素が1つずつ解離するという事実は高エネルギーの振動状態は局所CH結合で表されることの証拠である。」という議論は説得力がある。しかし、内部座標は曲率を持つため、運動エネルギー項のヤコビアン¹の導出が難しいことや、座標の取り方が一意的でない、などの欠点があったため、一般分子系への展開はできなかった。90年代以降は流れが変わり、座標系は基準座標のまま、非調和性を高度な量子論で取り込む方法論開発が進められた。この努力は一定の成果を生み、現在では多くの量子化学計算プログラムにおいて10-20原子分子に対する非調和振動状態計算がルーチンワークとなっている。

しかし、分子サイズがより大きく、複雑になると、基準座標は一見して奇異に思えるほどの空間的拡がりを持つようになる。例えば、基準座標では、水クラスターのOH伸縮振動が何個もの水分子にまたがり、さらに、その度合が量子化学計算の計算レベルなどの細かい設定によって敏感に変化する。これは、基準座標がヘシアン行列の対角化によって求められ、振動数の近いモードが多く存在するとき、固有ベクトルが数学的に不安定となるためである。このような座標の不安定性が非調和計算へ伝搬すると、様々な不都合を生む。従って、数学的に安定で、物理的意味のある新しい振動座標が望まれていた。

【oc-VSCF法の開発】近年、著者の一人（八木）は振動SCF（vibrational self-consistent field: VSCF）エネルギーを最小化することで振動座標を最適化する新しい方法、optimized coordinates VSCF（oc-VSCF）法[2]を提案した。通常のVSCF法では、1モード関数（ $\phi_n^{(i)}$ ）を基底関数（ $\chi_m^{(i)}$ ）で展開し、

$$\phi_n^{(i)}(Q_i) = \sum_m c_{nm}^{(i)} \chi_m^{(i)}(Q_i), \quad (1)$$

展開係数を変分的に決定するが、oc-VSCFでは、さらに初期座標（ $\tilde{Q}$ ）からの変換行列、

$$Q_i = \sum_j U_{ji} \tilde{Q}_j, \quad (2)$$

を変分パラメータに加え、VSCFエネルギーを最小化する。oc-VSCFは、ポテンシャルのテイラー展開の次数（n）が入力パラメータの一つであるが、n=2で最適化座標は基準座標となり、非調和性を考慮したn>2で決めた最適化座標は基準座標の自然な拡張である。

oc-VSCF法を水分子と水2量体に適用した結果、最適化座標では、OH伸縮振動モードは各OH結

合に局所化し、変角振動は各水分子に局所化した。一方、エチレン、ブタジエンへ適用した結果、CH伸縮やC=C伸縮振動モードは局所化するものの、それ以外の振動モードは基準座標によく似た非局在化した振動モードとなった。XH伸縮振動モードの局所化はHenryらの主張[1]と一致する結果だが、直観に頼ることなく、与えられたポテンシャルから数学的手続きを経て、同じ結果へ至ったことに大きな意味がある。例えば、XH伸縮振動以外の低波数モードがどの程度局所化するかを直感的に知ることは困難であるが、oc-VSCFは適切に局所化された振動モードを自動的に与えられる。

上記のように、[2]では最適化座標のコンセプトを示し、これに続き、最適化のアルゴリズムの高速化[3]および並列化[4]に取り組み、oc-VSCF計算の効率的な実行が可能となった。

【oc-VQDPT法の開発】最適化座標に基づく振動擬縮退摂動法(oc-VQDPT)を開発し、trans-1,3-butadieneへ応用した[3]。図1に参照である高精度計算(VCI計算)からの誤差を示す。基準座標(nc)と最適化座標(oc)の結果を比較すると、低波数モード(モード番号18以下)の挙動は変わらないが、CH伸縮振動に対応する高波数モード(モード番号19-24)は振る舞いが大きく異なる。基準座標では、精度が悪いだけでなく、ポテンシャルの多体展開(nMR: $n=2, 3, 4$)に対する収束も悪い。一方、最適化座標では、ポテンシャルの多体展開がすみやかに収束し、精度も良い。VQDPT計算における最適化座標の有用性が示された。

【oc-VCC法の開発】無限に離れた相互作用のない2つの分子があるとき、物理的な要請として、全体のエネルギーはそれぞれの分子のエネルギーの和にならない。振動結合クラスター法(vibrational coupled cluster: VCC)はこの条件を満たしうるが、その必要条件として、振動座標がそれぞれの分子に局在化しなければならない。最適化座標は、この必要条件を満たすため、最適化座標とVCC法を組み合わせたoc-VCC法が有用であることを理論的に示した。水6量体に対する応用計算(図2)から、oc-VCCは従来の基準座標に基づくVCC(nc-VCC)を桁違いに高精度化することが分かった。

【参考文献】

1. B. Henry, Acc. Chem. Res. **10**, 207 (1977).
2. K. Yagi, M. Keçeli, and S. Hirata, J. Chem. Phys. **137**, 204118 (2012).
3. K. Yagi and H. Otaki, J. Chem. Phys. **140**, 084113 (2014).
4. B. Thomsen, K. Yagi, and O. Christiansen, J. Chem. Phys. in press.

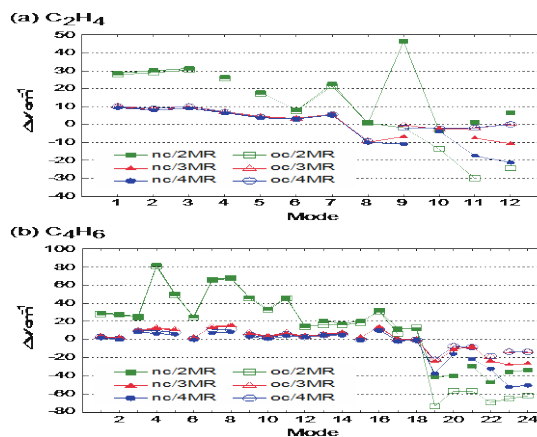


図1. VQDPT 2 計算による Trans-1,3-butadiene の基本振動数の誤差。Filled symbol は基準座標(nc), open symbol は最適化座標(oc)に基づく計算。 n MR の n は、ポテンシャルの多体展開で入れる次数。誤差は高精度な VCI 計算の結果から取っている。

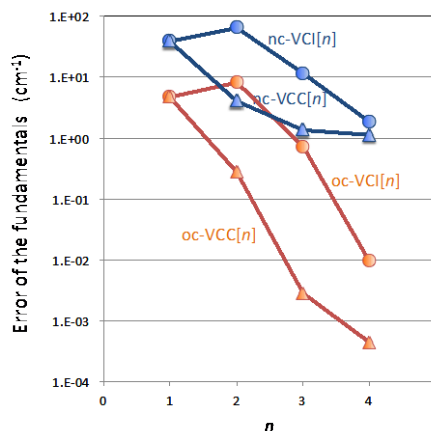


図2. 水6量体の基本振動数に対する、最適化座標(oc)及び基準座標(nc)に基づくVCC, VCI計算の精度の比較。 n は励起するモードの数。

ラマン分光実験と理論計算によるスフィンゴミエリン脂質膜の クラスター解析

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

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]。本研究は、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を大きな目的としている。

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

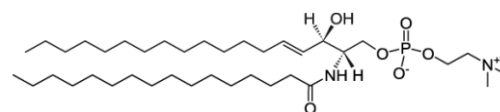


図 1. SM の化学式

し、SMのクラスターを生成すると考えられているが、クラスターのサイズや寿命など、詳細は明らかでない。最近、城田と小林は、SMでリポソームを作成し、ラマン分光法により振動スペクトルを取得した。その結果、SMのC=O伸縮振動に帰属される強いピークが 1640 cm^{-1} 付近に観測された。この振動バンドがSMのどのような状態を反映しているのか、詳細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】Jämbeckらにより開発されたSM用の古典力場[2]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、323K/1atmの条件のもと温度・圧力一定のMD計算を100 ns実行した。MD計算はGromacsを用いた。

MD計算により得られたトラジェクトリーから水素結合解析を実施し、SMクラスターのサイズ分布を求めた。SMの全ての水素結合ドナー・アクセプターサイトを考慮したクラスターの分布(図2の緑)は、単量体が最も多いものの、瞬間的な構造も含めるとSMが10個以上凝集したクラスターの存在が見える。SMクラスターのサイズは平均的に4.2個であった。

一方、着目するC=O伸縮振動のバンド位置とラマン強度は、図3に示すようなアミド基が連結したタイプのクラスターのサイズに鋭敏である。このタイプに限定した水素結合解析から求めたクラスター分布を図2の赤で示す。この場合、単量体と2量体が圧倒的に多いが、3、4量

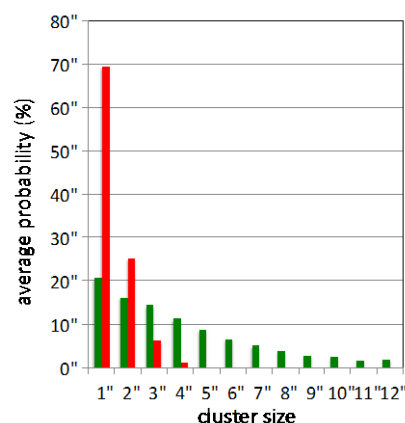


図 2. SM クラスターの分布. 緑: 全水素結合パターンを考慮したクラスター, 赤: アミド基の水素結合のみを考慮したクラスター.

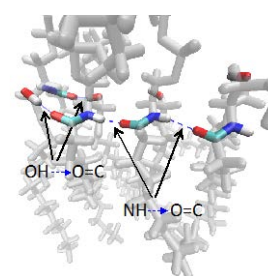


図 3. アミド基の水素結合によって連なった3量体.

体もわずかに見られる。

【SMクラスターに対する量子化学計算】SMのモデル分子として図4 insetに示す構造を切り取り、そのアミド基が水素結合により連なったクラスターを作成し、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。ただし、アミド基の末端は水分子でキャップしている。計算レベルにはB3LYP/6-31++G(d,p)、プログラムはGaussian09を用いた。

その結果、図4に示すように、クラスターのサイズとともに、C=O伸縮振動はラマンシフトが低波数側へシフトし、また同時に強度が強くなることが分かった。これはアミド基が連なることで、強い分極を起こし、水素結合の協同的な効果が現れるためである。

図2のアミド基が連結したクラスターの分布と図4に示す各クラスターのラマンシフトと強度を用いて、全体のラマンスペクトルを構成した。図5に計算で得られたスペクトルを実験値と比較する。SMクラスターの存在確率を考慮しない場合、計算スペクトルには低波数側に3,4量体に対応する大きなピークが現れ、実験値を再現しない。一方、クラスターの存在確率を考慮すると、3,4量体に対応するピークが相対的にスケールダウンされ、実験のスペクトルを良好に再現できた。

【まとめと今後の課題】本年度は、SM二重膜に対するMD計算と量子化学計算を実施した。計算結果は実験スペクトルを良好に再現し、観測された振動バンドの帰属を助けられるクオリティにあることが確認できた。

一方、まだ課題も残っている。一つ目は、量子化学計算で扱うクラスターの種類を増やすことである。現状は、アミノ基を直列につなぎ、両端が水分子で止めたタイプしか考慮していないが、実際には水分子がないものや、SMのOH基がついているもの、など他にも多くのタイプがある。より多くのタイプのクラスターを考慮し、スペクトルの形状の依存性を調べる。また、現状はC=O伸縮バンドが一致するように調和振動数をスケールしているが、水素結合の強さによって非調和性の影響が変わるため、全体を一様にスケールするのは妥当でない。今後、非調和性を顕わに考慮した計算に取り組む。

【参考文献】

1. 鈴木健一, 楠見明弘, 生物物理 **53**, 295 (2013).
2. Jämbeck and Lyubartsev, J. Chem. Theory Comput. **9**, 774 (2013).

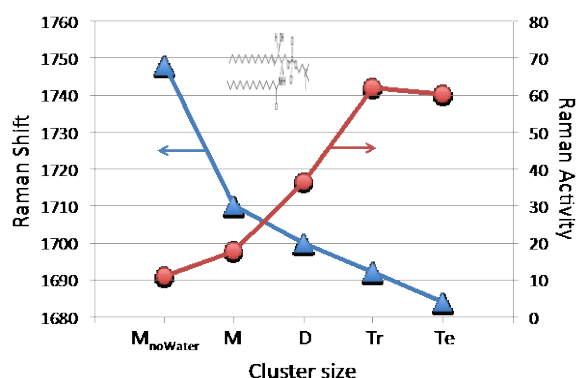


図4. SMモデル分子 (inset) クラスターのC=O伸縮振動のラマンシフト (左) およびラマン強度 (右) .

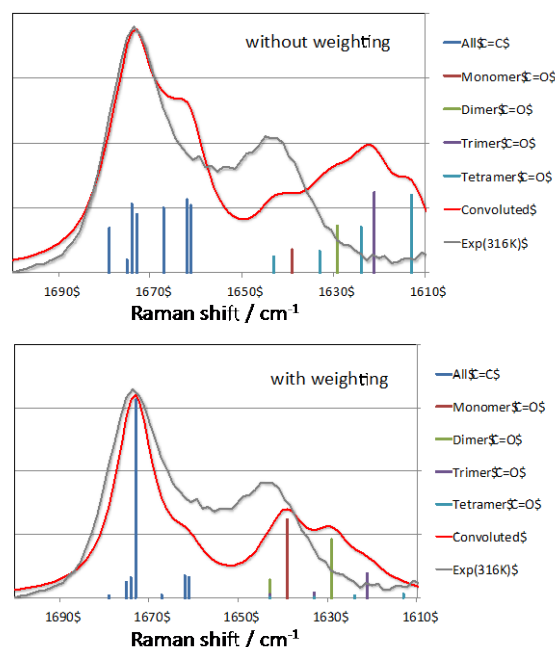


図5. SM二重膜に対する、実験および計算で得られたラマンスペクトル。MDで得られたSMクラスターの存在確率で重みをかけない場合 (上) とかけた場合 (下)。非調和効果を補正するため、C=O伸縮のピークが一致するように計算スペクトルを平行シフトした。

The van der Waals adsorption of a single π -conjugated molecule on Au(111)

Jaehoon Jung, Ju-Hyung Kim, and Yousoo Kim

Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN, Japan

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]. Indeed, π -CHC molecules and 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 on the noble Au(111) surface. Nevertheless, the detailed interfacial electronic structures and precise adsorption geometries for the vdW adsorption process of a π -CHC molecule onto the noble metal surface at the atomic scale have not yet been clarified, because a variation in weak adsorption energy corresponding to various molecular orientations has been considered too small to determine specific adsorption configuration due to a shallow van der Waals (vdW) potential minimum.

Here we provide a first direct observation of adsorption geometry of a well-designed π -CHC molecule, i.e., dehydrobenzo[12]annulene (DBA) [2], on Au(111) using an atomically-resolved STM study combined with vdW density functional (vdW-DF) methodology. Based on the precisely determined adsorption geometry, 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 [3].

A detailed analysis of the surface-molecule interaction in the weak adsorption system requires precise identification of adsorption geometry. Figure 1 shows high-resolution STM images of the isolated single DBA molecule on the Au(111) surface, which clearly demonstrates that the center of the DBA molecule resides in a hollow site in a planar fashion similar to other π -CHC molecules. The adsorption geometry of DBA/Au(111) was accurately confirmed by spatially varying the tunneling conditions in the vicinity of the adsorbate at atomic resolution. The inset of Fig. 1 shows mirror-symmetry axes in the molecular plane displaced from the $\langle 112 \rangle$ surface axes, which results in reduced symmetry of the DBA/Au(111) system from C_{3v} to C_3 . Because all DBA molecules have identical adsorption geometry and exhibit two molecular orientations in enantiomorphous forms with respect to the Au(111) surface, the two molecular orientations created by the single adsorption event on the surface display single-molecule chirality, i.e., single-molecule alignment breaks the reflection symmetry axes of the surface.

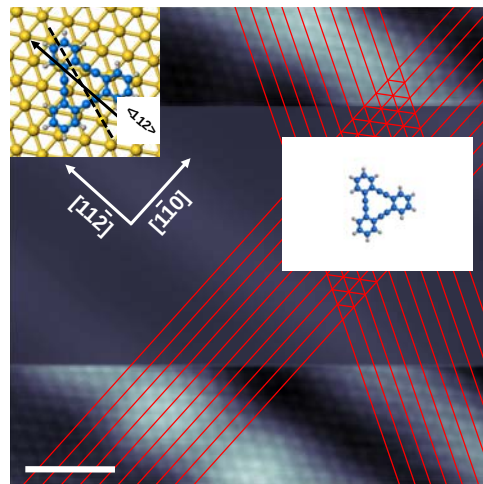


Fig. 1. STM image of isolated DBA molecule on Au(111) obtained by spatially varying the tunneling conditions (top and bottom: $V_s = -2$ mV, $I_t = 9.0$ nA, Scale bar (S) = 1.5 nm; middle: $V_s = -500$ mV, $I_t = 0.4$ nA).

Based on the experimental results, the periodic vdW-DF calculations were performed with the optB86b-vdW functional implemented in the Vienna Ab-initio Simulation Package (VASP) code. The adsorption energy (E_a) variance in response to horizontal rotation of the DBA molecule was calculated. Figure 2(a) shows the calculated adsorption energies corresponding to various molecular orientations rotated by 5° increments with respect to a rotational symmetry axis of the DBA molecule on Au(111), indicating two non-equivalent local minima. The experimentally observed adsorption structure (designated “ α ” and “ α^* ”; α^* is the chiral structure of α) with C_3 symmetry is most favorable with the highest E_a of 2.74 eV, which is followed by a second local minimum (designated “ β ”, obtained by optimization) with C_{3v} symmetry and an E_a of 2.70 eV. Each projected DOS (PDOS) of the two

local minima (α and β) was investigated to clarify a correlation between the adsorption geometry and the interfacial electronic structure of DBA/Au(111) as shown in Fig. 2(b). The first (~ 0.9 eV) and second (~ 1.5 eV) peaks originating from the DBA molecule in the PDOS diagrams correspond to the highest occupied molecular orbital (HOMO) and the doubly degenerated HOMO–1 states of DBA, respectively. We found that the difference in adsorption strengths of the two local minima can originate from the degree of overlap between the π -state of DBA and the $5d_{z^2}$ state of the Au(111) surface, which leads to the π -state broadening according to the Newns-Anderson scheme. As indicated in Fig. 2(b), both HOMO and HOMO–1 states of DBA in α geometry are more overlapped with the $5d_{z^2}$ state of Au(111), compared to β geometry, which strongly suggests that such weak electronic coupling between a π -CHC molecule and the Au(111) surface contributes to constraining the adsorption structure, even for the weak vdW adsorption.

In summary, 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 reveal that 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.

[Reference]

1. S. R. Forrest, *Chem. Rev.* **97**, 1793 (1997); H. Ishii, K. Sugiyama, E. Ito, and K. Seki, *Adv. Mater.* **11**, 605 (1999).
2. H. A. Staab and F. Graf, *Tetrahedron Lett.*, 751 (1966).
3. J. H. Kim, J. Jung, K. Tahara, Y. Tobe, Y. Kim and M. Kawai, *J. Chem. Phys.* **140**, 74709 (2014).

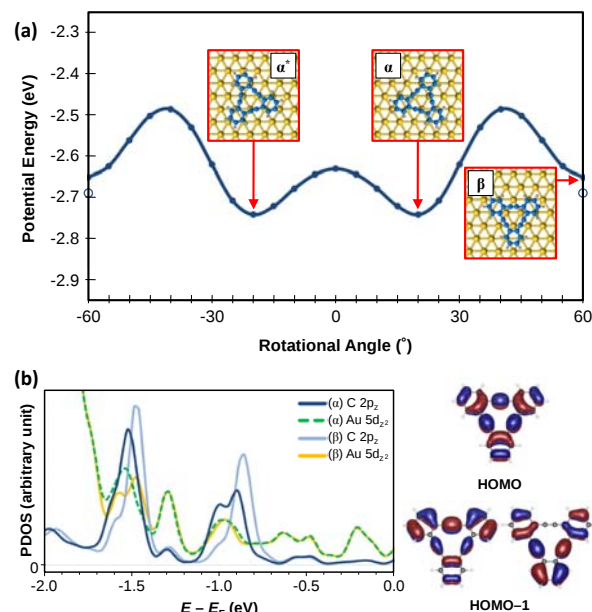


Fig. 2. (a) Potential energies due to the horizontal rotation of DBA on Au(111). (b) PDOS diagrams for the occupied π -states of both α and β local minima.

Mode-selective electron-phonon coupling in laser photoemission on Cu(110)

Emi Minamitani¹, Ryuichi Arafune², Yousoo Kim¹

¹Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

²International Center for Materials Nanoarchitectonics, National Institute for Materials Sciences

With improvements in energy resolution of photoemission spectroscopy, which is one of the most reliable tools for determining electronic band structures, several signals originating from the electron-phonon interactions have appeared in the spectrum apart from the vibrational progression structure in gas-phase experiments. Two well-known examples are the 'kink' structure around the Fermi wavenumber in the electronic band dispersion of metallic and superconducting systems determined with angle resolved photoemission experiments [1] and the linewidth broadening of the noble metal surface states as a function of temperature [2]. Both of them have been described by the electron self-energy attributable to the electron-phonon coupling around the Fermi level (E_F).

Recently, a completely different manifestation of electron-phonon coupling, inelastically scattered photoelectron by phonons, was observed in low-energy photoemission spectra. Fig. 1(a) shows laser photoemission spectroscopy (LPES) results of Cu(110) [3], which we investigated in detail. In addition to the Fermi-Dirac distribution curve originating from the elastic process, a single step structure appeared at 14.7 meV below E_F , which implies that the detected photoelectrons lose their energy through coupling with particular phonon modes. In

our experiment, the photoelectrons were emitted from the $\bar{\Gamma}$ point in the surface Brillouin zone (SBZ), because photoemission spectra were measured in the normal-emission geometry. Therefore, the inelastic photoemission process is expected to be an indirect excitation process in which electrons of wavevector q couple with phonons of the same wavevector and scatter to the $\bar{\Gamma}$ point, as shown schematically in Fig. 1(b). We investigate this indirect excitation process using ab-initio calculations which includes electron-phonon coupling calculations based on the density functional perturbation theory (DFPT).

The electron-phonon coupling is the governing parameter in the inelastic scattering process. Fig. 2(a) shows the electron-phonon coupling at the vacuum level (E_V) with 14.7 meV phonon energy on 16 irreducible points of a $6 \times 6 \times 1$ grid in SBZ. One would see that the electron-phonon coupling has minor value at every k -point except for the $\bar{Y}$ point. The electron-phonon coupling spectrum as a function of the phonon energy should have a main peak around 14.7 meV because the step appears at this energy in the LPES result. As shown in Fig. 2(b), the spectrum at the $\bar{Y}$ point contains a peak around 14.7 meV. Thus, we have judged that the inelastic signal in the

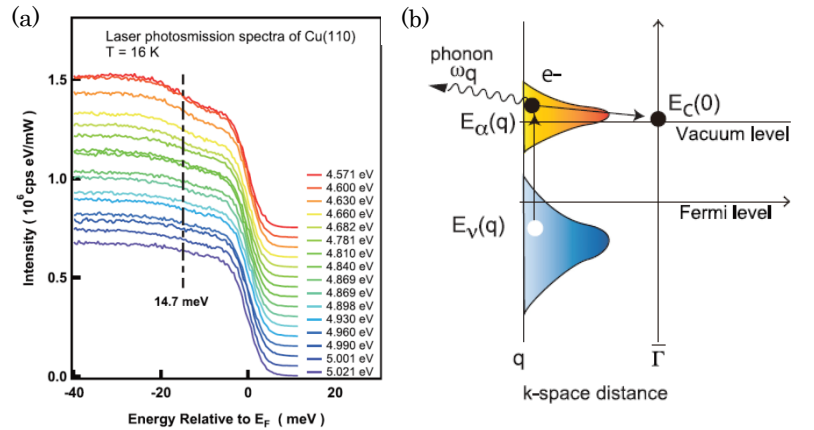


Fig. 1 (a) LPES of the clean Cu(110) surface excited by the laser photon from 4.571 to 5.021 eV. The sample temperature is 16 K. (b) Schematic diagram of the indirect excitation in LPES.

LPES result of Cu(110) originates from the indirect excitation process from the $\bar{Y}$ to the $\bar{\Gamma}$ point.

An inspection of the phonon modes around 15 meV at the $\bar{Y}$ point shows that the phonon modes polarized along the $[\bar{1}10]$ direction exhibit high density of states in the second and deeper layers, in spite of the low density of states in the topmost layer. Among them, we observe that four modes polarized along the $[\bar{1}10]$ direction with phonon energies of 13.45, 13.67, 14.63, and 14.83 meV have large electron-phonon matrix elements and are the source of the main peak at the $\bar{Y}$ point in Fig. 2(b). We found that these four modes are subsurface phonons [4].

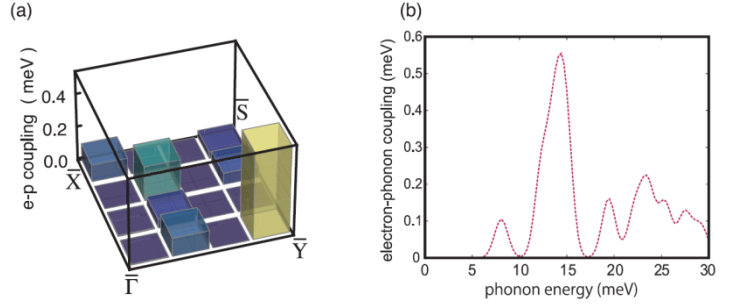


Fig. 2 (a) Calculated electron-phonon coupling matrix element with a phonon energy of 14.7 meV, which induces photoelectron scattering from the k -point with wavevector q to the $\bar{\Gamma}$ point. (b) Electron-phonon coupling spectrum at the $\bar{Y}$ point as a function of the phonon energy.

Subsurface phonons have recently been detected through Helium atom scattering (HAS) experiments. We note here that the mechanism of the subsurface phonon excitation in HAS differs from that in LPES experiments, which is elucidated in the following. Subsurface phonon excitation in HAS is due to the strong charge oscillation at surfaces caused by the subsurface phonon mode [5], which is totally different from the LPES experiments. In fact, the shear horizontal phonon modes that correspond to that polarized along the $[\bar{1}10]$ direction in this study do not contribute significantly in HAS, although they appeared in the LPES results. High resolution electron energy loss spectroscopy (HREELS) experiments could be used to probe the subsurface phonon, because the electron in the inelastic impact regime may be scattered by the atom core oscillation in the first few layers. However, the 14.7 meV loss has not been observed in the HREELS spectra. It would be extremely interesting to extract the essences of the theory that predicts the inelastic photoemission by taking the difference between HREELS and LPES into consideration. Although the exact origin of the difference between HREELS and LPES is not completely clear, we have succeeded in demonstrating that the laser photoelectron excites the subsurface phonon; the current results also indicate that the LPES experiments provide a novel means for the characterization of subsurface phonons.

[Reference]

1. M. Hengsberger, D. Purdie, P. Segovia, M. Garnier, and Y. Baer, Phys. Rev. Lett. **83**, 592 (1999).
2. P. Hofmann, C. Sndergaard, S. Agergaard, S. V. Hoffmann, J. E. Gayone, G. Zampieri, S. Lizzit, and A. Baraldi, Phys. Rev. B **66**, 245422 (2002).
3. R. Arafune, M. Q. Yamamoto, N. Takagi, and M. Kawai, Phys. Rev. B **80**, 073407 (2009).
4. E. Minamitani, R. Arafune, M. Q. Yamamoto, N. Takagi, M. Kawai, Y. Kim, Phys. Rev. B **88**, 224301 (2013).
5. V. Chis, B. Hellsing, G. Benedek, M. Bernasconi, E. V. Chulkov, and J. P. Toennies, Phys. Rev. Lett. **101**, 206102 (2008).

A single-molecule shuttling between two adsorption sites under intermolecular interaction : CO chemisorbed on Pt(111)

Hyun Jin Yang^{1,2}, Taketoshi Minato¹, Maki Kawai² and Yousoo Kim¹

¹Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

²Department of Advanced Materials Science, The University of Tokyo

CO adsorbed on a metal surface has been extensively studied not only for the fundamental model system but also practical importance such as catalysis. To understand this system, the important characteristics are the adsorption energy and the adsorption site. Particularly interesting system is CO on Pt(111) which involves a strong adsorption energy ~ 1.5 eV¹, and multiple adsorption site according to the surface coverage. The adsorption energy difference (ΔE_{ads}) between two available site, ontop and bridge site, has been determined to be 60 meV at low coverage limit². At increased coverage, ΔE_{ads} decreases to be zero, allowing complete $c(4 \times 2)$ domain with one to one adsorption ratio between ontop and bridge site. Theoretical basis about the initial ontop site occupation and gradual bridge-site occupation has been understood with the frame of potential energy surface(PES), in terms of ΔE_{ads} , diffusion barrier and the shape of PES between two sites.² The coverage-dependent change of potential energy surface has been described by intermolecular interaction with the overlayer structures (Figure 1a).

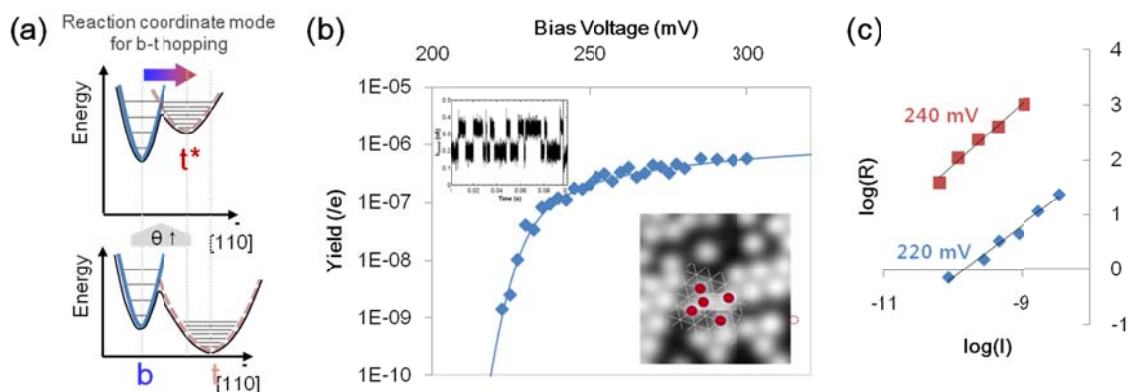


Figure 1 (a) Coverage-dependent PES at low coverage limit (bottom) and $c(4 \times 2)$ domain (0.5 ML) (top).²

(b) Action spectrum of B-T* shuttling, measured on the bridge CO, with a threshold energy at 230 mV.

(c) Current dependency of B-T* shuttling which indicates one-electron process both at 240 mV and 220 mV.

In previous study we described the detailed overlayer structures according to the surface coverage from isolated molecules to $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})R30^\circ$ and $c(4 \times 2)$ domains.³ Our study revealed that (a) bridge-site occupation accompanies a specific geometry $c(\sqrt{3} \times 2)$ rect that is a unit cell structure of $c(4 \times 2)$ domain, and (b) the bridge CO and ontop CO consisting $c(\sqrt{3} \times 2)$ rect have interaction each other to modify the charge density of ontop CO at the frame. In addition to this interaction, the dynamic behavior of bridge CO at the center of $c(\sqrt{3} \times 2)$ rect unit, namely bridge-to-ontop shuttling,

has uncovered quantitatively through STM-action spectroscopy(Figure 1(b), in contrast to immobile ontop CO.

As shown in Figure 1(b) inset, a bias pulse applied to the bridge CO at the center of $c(\sqrt{3}\times 2)$ rect unit shows two-level I-t curve, that high current mode as T* state and low-current mode as B (bridge CO) as the topography in Figure 1(b) inset (right-bottom) indicates. The yield of B-T* shuttling events are elucidated as in Figure 1(b), with the threshold energy of 230 mV. This threshold energy corresponds to the C-O internal stretch mode of bridge CO($\nu(\text{C-O})_{\text{B}}$). The log-log plot of lateral hopping rate (Figure 1(c)) indicates this shuttling motion is one-electron process.

	CO _T	CO _B
$\hbar\delta\omega$	-0.3 meV ²	-5.0 meV ²
$\hbar\Omega$	260 meV	230 meV
$\hbar\omega$	7 meV ⁴	38 meV ²
ϵ_{B}	170 meV ²	100 meV ²
P	10⁻³²	10⁻⁶

Table 1 Parameters to estimate branching ratio (P), the ratio of electrons used in hopping process

The mechanism for lateral hopping has been indirect excitation, which the inelastically tunneling electron triggers the lateral hopping motion by exciting high-frequency mode ($\hbar\Omega$, $\nu(\text{C-O})_{\text{B}}$), and the energy transfer between IS mode and low-frequency mode ($\hbar\omega$) which is the reaction coordinate mode.⁵ Estimation of number ratio which can be used to this indirect excitation mechanism is given in Table 1, clearly indicating much higher branching ratio for bridge CO than ontop CO. This is consistent to the experimental result that only bridge CO shows lateral hopping with nearby ontop site.

This B-T* shuttling can be triggered also by the injecting the electron onto the ontop CO at the frame of $c(\sqrt{3}\times 2)$ rect unit as shown Figure 2. The ontop CO at the $c(\sqrt{3}\times 2)$ rect unit undergo the height modification by B-T* hopping due to bridge-ontop interaction as described in previous report. The action spectrum (Figure 2) indicates the same threshold energy of 230 meV which implies the tunneling electron injected to the ontop excites the IS mode of bridge CO. This result implies that the hybridization of electronic states in $c(\sqrt{3}\times 2)$ rect geometry, which allow the direct energy injection to bridge CO through ontop CO.

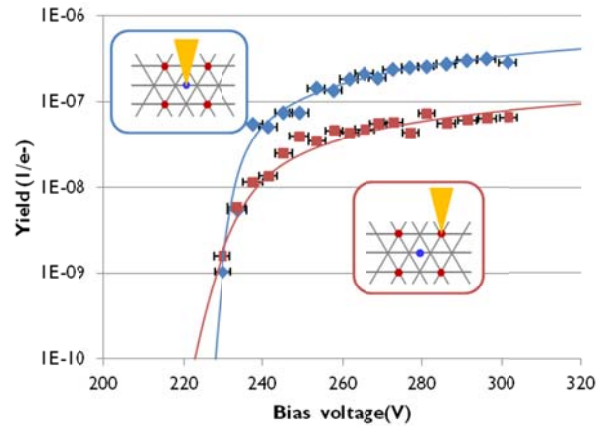


Figure 2 Action spectrum measured on the bridge CO of $c(\sqrt{3}\times 2)$ rect unit (blue diamond), and measured on the ontop CO at the frame of $c(\sqrt{3}\times 2)$ rect unit (red square).

[Reference]

- ¹ G. Ertl, M. Neumann, and K.M. Streit, Surf. Sci. **64**, 393 (1977).
- ² E. Schweizer, B.N.J. Persson, M. Tüshaus, D. Hoge, and A.M. Bradshaw, Surf. Sci. **213**, 49 (1989).
- ³ H.J. Yang, T. Minato, M. Kawai, and Y. Kim, J. Phys. Chem. C **117**, 16429 (2013).
- ⁴ J.P. Toennies, J. Vac. Sci. Technol. A **2**, 1055 (1984).
- ⁵ B.N.J. Persson and H. Ueba, Surf. Sci. **502-503**, 18 (2002).

Atomic-scale analysis of photon yield suppression induced by acceptors and a surface state on *p*-type GaAs(110) using scanning tunneling luminescence

Hiroshi Imada,¹ Tomoko K. Shimizu,^{1,†} Naoki Yamamoto,² and Yousoo Kim¹

¹Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

²Department of Condensed Matter Physics, Tokyo Institute of Technology

[†]Current address: National Institute for Materials Science

Energy dissipation processes of electrons such as recombination, capture and scattering play significant roles in energy conversion, transport and redistribution in various matters. Especially energy dissipation at surfaces is an important technological issue because it largely influences the operation efficiency of photovoltaics and photocatalysts. Although understanding of such surface processes is required, microscopic and detailed information about energy dissipation occurring at surfaces has been notably limited.

We studied energy dissipation at a Zn-doped *p*-type GaAs(110) surface with atomic-resolution using scanning tunneling luminescence (STL) spectroscopy.

Experiments were performed with a low-temperature STM (Omicron) operating at 4.7 K under ultrahigh vacuum (UHV). The STM stage was modified to be equipped with two optical, which is schematically illustrated in Fig. 1a.

Figure 1b shows STL spectra measured at various sample voltages and a 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. The light emission arises from the recombination of electrons at the conduction band (CB) minimum with holes in the acceptor band (AB) just above the Fermi level (see Fig. 2d).

An atomically-resolved STM image, dI/dV map and STL photon map measured at a sample voltage of 1.8 V are shown in Fig. 2a, b and c. The atomic rows in the STM and dI/dV images apparently run in the [001] direction and the stripe-like pattern running

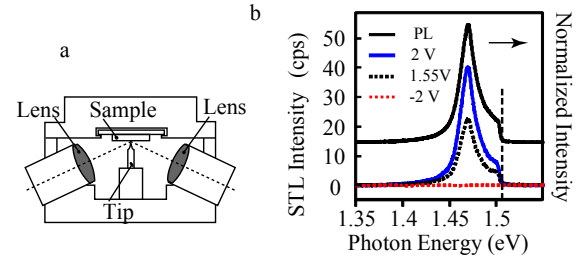


FIG. 1. a Schematic illustration of the STM head, which is equipped with two optical lenses. b STL spectra at various voltages and a PL spectrum.

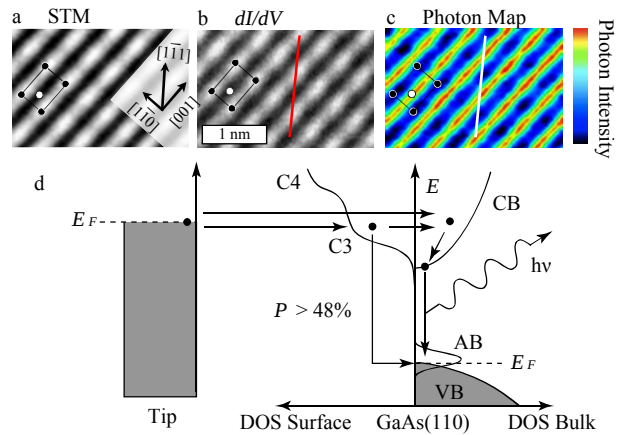


FIG. 2. a An atomically-resolved STM image, b a dI/dV map and c an STL photon map of GaAs(110) ($V_s = 1.8$ V). A unit cell at identical positions is shown (black: Ga, white: As). d Schematic energy diagram illustrating the proposed process. E_F : Fermi energy

in the [001] direction is considered as evidence of a substantial contribution from the C3 to the tunneling [1]. STL photon maps show similar stripe-like patterns running in the [001] direction. However, opposite to the STM image and the dI/dV map, which shows bright spots at Ga sites, dark spots were observed at Ga sites in the photon map. The reduction in the emission intensity proves the existence of non-radiative recombination at the surface. The photon map (Fig. 2c) also shows that selective hot-electron injection into the C3 state localized at Ga atoms weakens the photon intensity, which reveals that electrons lose their energy in the C3 state with a detectable probability.

We also investigated energy dissipation around substitutional dopant atoms (Zn_{Ga}) that lie in the near-surface region. The apparent height of the dopants also varies according to the z-location; the nearer the

dopant to the surface, the higher it is imaged. Figure 3b is an STL photon map measured in the same area as the STM image Fig. 3a, revealing that photon intensity above a dopant has a strong correlation with the apparent height in the STM image and hence with the layers in depth where the dopant locates as shown in Fig. 3c; photon intensity decreases as the apparent height increases or the dopant locates closer to the surface.

The luminescence suppression observed here is explained by a mechanism based on the local electronic state around the dopants, which has not been focused in the previous studies [2, 3]. As indicated by arrows in Fig. 3d, a considerable amount of LDOS was observed within the intrinsic energy gap (0-1.51 V) at the dopants, which increases as the dopants locate closer to the surface. Because electrons tunneling through these in-gap states cannot induce luminescence, we attribute the suppression of photon emission to the increased proportion of electrons captured by the dopants via tunneling through the in-gap states.

In conclusion, we clarified the roles of the C3 surface state and the Zn dopant atoms in energy dissipation at the GaAs(110) surface using STL spectroscopy. The C3 surface state and the Zn dopant atoms both were demonstrated to promote energy dissipation at the surface. Energy dissipation around the Zn dopants was attributed to electron capture by tunneling through the in-gap state, which strongly depends on the depth from the surface where the dopant atoms locate.

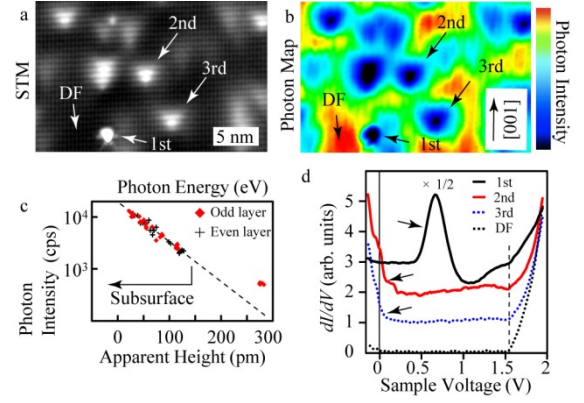


FIG. 3. a A wide area STM image and b an STL photon map of GaAs(110). ($V_s = 1.6$ V, $I_t = 250$ pA). c Correlation between the apparent height in the STM image and the photon intensity measured above the dopants. d dI/dV spectra measured above the dopants in the topmost three layers and in a dopant-free (DF) area.

[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).

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.]

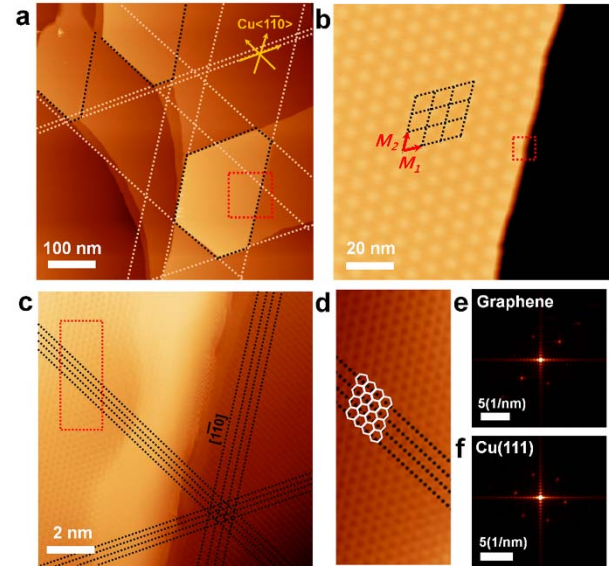
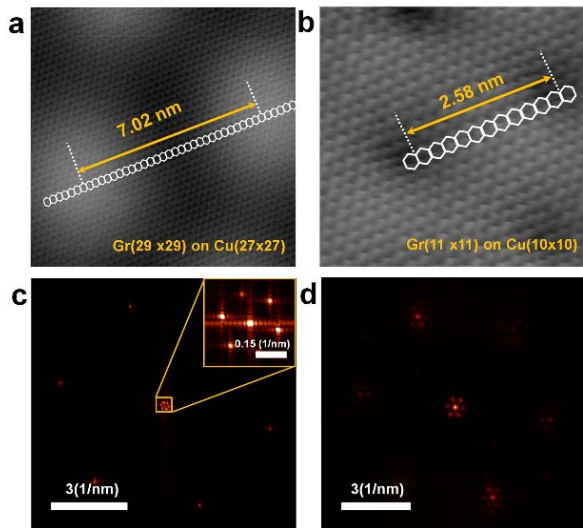


Figure 1. (a) Large area STM image of EGs. (b) STM image of Moiré pattern corresponding to red-dotted rectangle in Figure 1a. (c) STM image corresponding to red-dotted rectangle in Figure 1b. (d) Atomically-resolved STM image of the red-dotted rectangle in Figure 1c. The atomic arrangement of carbons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



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

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.

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 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 $\Delta a_{Gr}/a_{Gr}$ values can be calculated (L_M^{Cal} , $\Delta a_{Gr}^{Cal}/a_{Gr}$) for all possible Moiré superstructures generated by the given n and n' . Thus, L_M^{Cal} and $\Delta a_{Gr}^{Cal}/a_{Gr}$ for each $Gr(n \times n)/Cu(n' \times n')$ can be obtained by using Equation (3) and (4).

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

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

Figure 3 shows a correlation plot of L_M^{Cal} versus $\Delta a_{Gr}^{Cal}/a_{Gr}$ (or Δa_{Gr}^{Cal}) for $k = 1, 2$ and 3 , in the region of $\Delta a_{Gr}/a_{Gr}$ 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 $\Delta a_{Gr}^{Cal}/a_{Gr}$. 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.

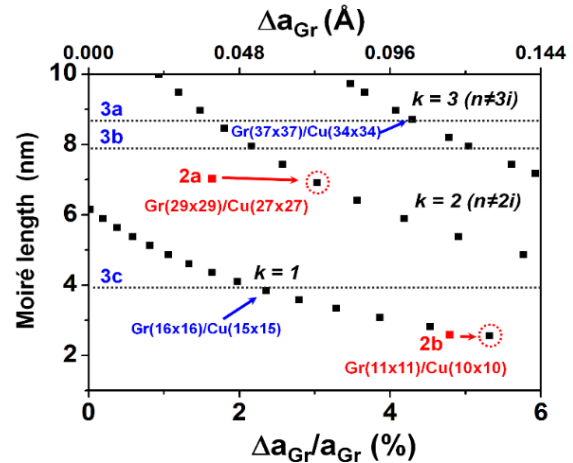


Figure 3. A correlation plot of all plausible L_M versus $\Delta a_{Gr}/a_{Gr}$ values depending on the n and k values, when $\rho = 0$ ($R0^\circ$). L_M^{Exp} and $\Delta a_{Gr}^{Exp}/a_{Gr}$ values for 2a and 2b are marked with red-filled rectangles, and L_M^{Exp} values for 3a, 3b and 3c are plotted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

[References]

H. Lim, J. Jung, H.J. Yang, Y. Kim: *Adv. Mater. Interfaces*, (2014) in press.

Thermal imaging of spin waves and heat conveyer effect

Toshu An¹, Yousoo Kim¹

Surface and Interface Science Laboratory, RIKEN

1. Introduction

The recent developments in the field of ‘spin caloritronics’ concerning new phenomena related to coupling of spins with heat current in materials are attracting much attention [1]. Magnetization dynamics such as magnetic domain-wall motion and ‘spin waves’: collective excitations of coupled spin systems in magnetic lattices, draws attention to realize this coupling of heat and spins [2,3]. We studied, first, that spin waves; standing spin waves, can be imaged by measuring temperature rise on the magnetic samples in excitation of spin waves [4]. In general, spatial distributions of propagated spin waves are not uniform and waves are pinned at the sample edge, forming standing spin waves; thus the imaging of these spatial distributions is valuable for providing direct information in real space. This method provides information of dissipative damping of magnet and is applicable to other spin energy-damping systems, such as traveling spin waves, and magnon wave packets, thus realizing the nondestructive imaging of spin damping. Second, we show that nonreciprocal spin waves in the range of microwave frequencies can convey energy unidirectionally and emit heat at a sample end several millimeters away [5]. This unidirectional heat conveyer effect, based on non-reciprocal propagation of surface spin waves, is applicable to the fabrication of a heat-flow controller.

2. Thermal imaging of spin waves

The thermal imaging of the standing spin waves of backward volume magnetostatic wave (BVMSW) modes excited in a polycrystalline $\text{Y}_3\text{Fe}_5\text{O}_{12}$ sample ($8 \times 8 \times 1 \text{ mm}^3$) was demonstrated using an infrared (IR) camera (Fig. 1) [5]. Just after excitation of standing spin waves a wavy temperature distribution appears before the temperature distribution on the sample is smoothed by heat conduction.

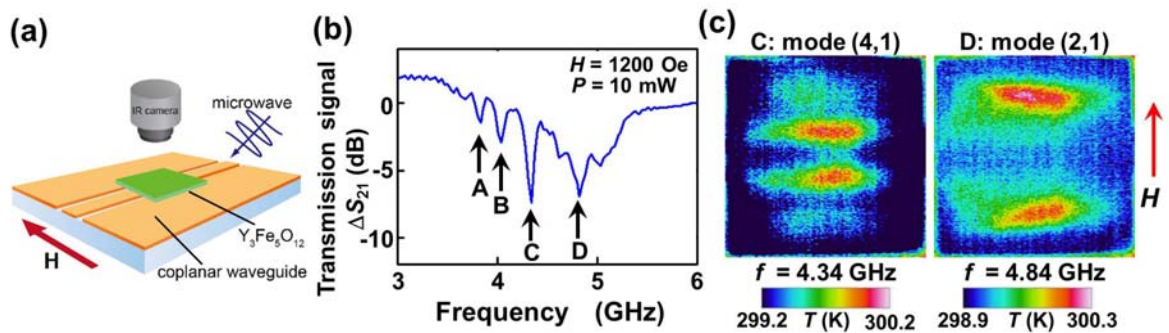


Fig. 1 Thermal imaging of standing spin waves. (a) Sample temperature is monitored by infrared (IR) camera in excitation of spin waves. (b) Absorption spectrum of standing spin-wave modes (BVMSW) excited in a $\text{Y}_3\text{Fe}_5\text{O}_{12}$ sample. (c) Thermally imaged standing spin waves showing 4 (C) and 2 (D) anti nodes.

3. Unidirectional spin-wave heat conveyer

Surface spin waves were excited dominantly at the bottom surface by using inhomogeneous microwave source in a polycrystalline (3.6 GHz, $H = 630$ Oe) $Y_3Fe_5O_{12}$ sample (diameter: 4mm, thickness: 0.4 mm), and heat generation was observed at sample end by an IR camera (Fig. 2) [4]. This heat generation is due to nonreciprocity of surface spin wave which propagates unidirectionally and cannot reflect back at the sample end. By changing polarity of static magnetic field; propagation of surface wave is reversed, heat emission from the other sample end is observed.

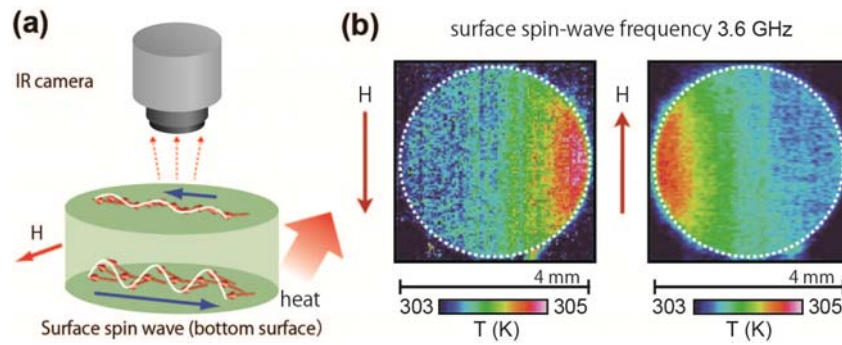


Fig.2 Unidirectional spin-wave heat conveyer (a) Heat is generated at sample end where the surface spin wave at the bottom surface (dominantly excited) propagates. (b) Heat emission observed by IR camera depending on static magnetic field polarity.

4. Summary

In this study, the thermal imaging was performed using an IR camera exciting spin waves in a polycrystalline $Y_3Fe_5O_{12}$ sample. First, standing spin wave of BVMSW modes was imaged proving its ability to probe dissipative damping in magnet. Second, unidirectional spin wave heat conveyer effect, which conveys spin-wave energy to remote place and converts into heat, was demonstrated.

[References]

1. G. E. W. Bauer, E. Saitoh, and B. J. van Wees: *Nature Materials*, **11**, 391 (2012).
2. Y. Kajiwara, K. Uchida, D. Kikuchi, T. An, Y. Fujikawa, and E. Saitoh: *Applied Physics Letters*, **103**, 052404 (2013).
3. M. B. Jungfleisch, T. An, K. Ando, Y. Kajiwara, K. Uchida, V. I. Vasyuchka, A. V. Chumak, A. A. Serga, E. Saitoh, and B. Hillebrands: *Applies Physics Letters*, **102**, 062417 (2013).
4. T. An, V. I. Vasyuchka, K. Uchida, A. V. Chumak, K. Yamaguchi, K. Harii, J. Ohe, M. B. Jungfleisch, Y. Kajiwara, H. Adachi, B. Hillebrands, S. Maekawa, and E. Saitoh: *Nature Materials*, **12**, 549-553 (2013).
5. T. An, K. Yamaguchi, K. Uchida, and E. Saitoh: *Applied Physics Letters*, **103**, 052410 (2013).

水素化グラフェンにおける電子相関誘起Dirac準粒子

関和弘¹, 白川成功¹, Qinfang Zhang², Tao Li³, 柚木清司¹

理研・柚木計算物性物理¹, Yancheng Institute of Technology², Renmin University of China³

グラフェン（2次元カーボンシート）の電子状態は、フェルミエネルギー近傍のバンド分散が線形になっていること、つまり、質量ゼロのDiracフェルミオンで記述される点が最大の特徴である。近年、グラフェン上に様々な原子を吸着させた場合の研究が盛んに行われている。我々は、その中でも特に、グラフェン中の半数の炭素原子に水素を吸着させたグラフオン（図1参照）に注目しその電子・磁気状態を理論的に調べた。

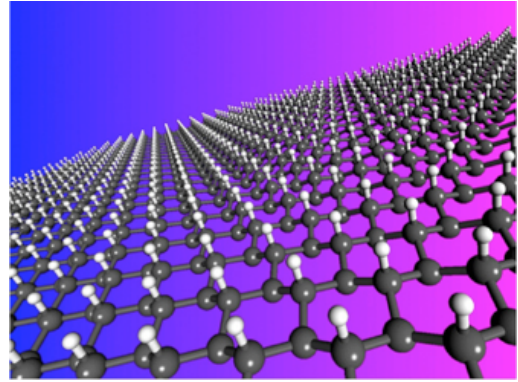


図1. グラフェン中の半数の炭素原子に水素を吸着させたグラフオン（黒球：炭素、白球：水素）（<http://m.eet.com/media/1088510/> より）

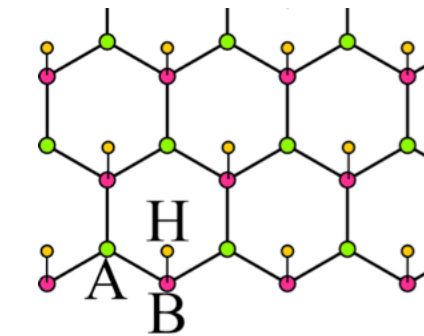


図2. 周期的アンダーソン模型. 水素原子(H)は黄色, A-副格子上の炭素原子(A)は緑色, B-副格子上の炭素原子(B)は赤色.

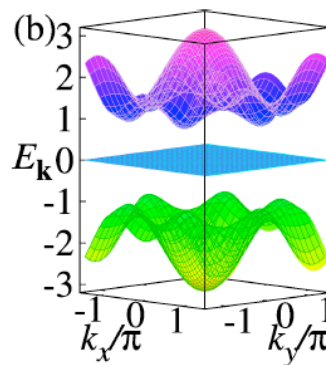


図3. 水素内相互作用 U がゼロの場合のエネルギーバンド構造. フェルミエネルギーはゼロエネルギーに対応.

ダーソン模型（図2参照）を考えた。つまり、電子間相互作用（ U ）は“不純物サイト”の水素内でのみ考慮し、その水素原子が伝導バンドを形成する炭素原子と結合しているモデルである。

最初に、水素内相互作用 U がゼロの場合のエネルギーバンド構造を図3に示す。この図から明らかなように、まずグラフェン特有のDiracバ

ンドがなくなっていることが分かる。その代わりにフェルミエネルギー直上にフラットなバンドが現れていることが分かる。このフラットバンドは、リープの定理より予想されるゼロエネルギー状態である。ここで考えたモデルは非常に簡単であるにもかかわらず、密度汎関数理論にもとづく第一原理電子状態計算より得られるエネルギーバンド構造とも定性的に非常に良く合っている。

次に、変分クラスター近似により得られた水素内電子相関 U を考慮した場合の有限温度相図を

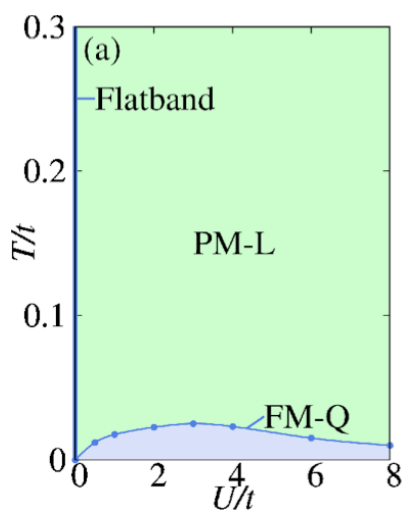


図 4. 有限温度相図 (温度 T 対相互作用 U). FM-Q は強磁性状態, PM-L は常磁性状態. Flatband は相互作用 U がゼロの場合の電子状態.

にする。

図4に示す。まず、基底状態は強磁性半導体であることが分かった。これは、相互作用がない場合にフェルミエネルギー直上に存在したフラットバンドが、相互作用により不安定になり強磁性状態へ転移したストナー型の強磁性状態である。

基底状態である強磁性状態は温度の上昇に対して不安定であり、温度の上昇とともに常磁性状態に転移する。温度の上昇とともに強磁性状態から常磁性状態に転移することは予想されることであったが、我々の研究で一番の驚きは、図5に示してあるように、常磁性状態でのエネルギーバンド構造 (正確には一粒子励起スペクトル) に Dirac エネルギー分散が現れることである。つまり、我々は、常磁性状態の低エネルギー励起は Dirac 準粒子構造を持っていることを発見した。

これまでの研究においても、固体中で Dirac エネルギー分散が現れることを指摘したものは多いが、そのほとんどが原子構造を変調することによるいわゆるバンドエンジニアによるものであった。我々の研究では、Dirac 準粒子が電子相関により現れることを示した最初の例であり、今までの研究と異

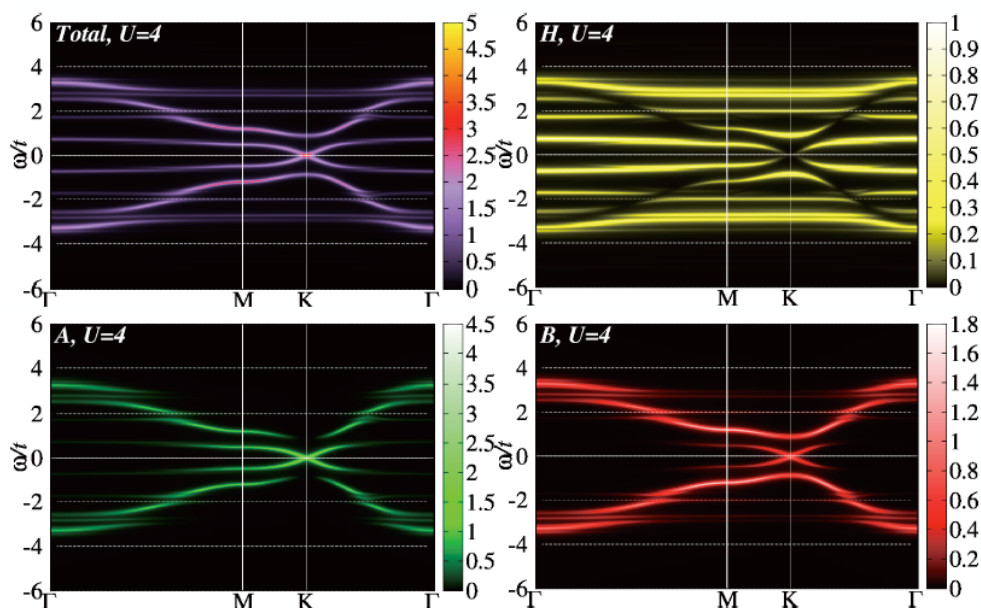


図 5. 相互作用 $U/t=4$ の場合の一粒子励起スペクトル (左上). 水素サイトに射影した一粒子励起スペクトル (右上), A-副格子上炭素サイトに射影した一粒子励起スペクトル (左下), B-副格子上炭素サイトに射影した一粒子励起スペクトル (右下).

【参考文献】

- [1] 関和弘・白川知功・Qinfang Zhang・Tao Li・柚木清司, 日本物理学会 69 回年次大会, 2014, 27a-CL10. [2] K. Seki, T. Shirakawa, Q. Zhang, T. Li, S. Yunoki, **2014** (to be published).