

4P-078

共鳴フェムト秒誘導ラマン分光による光受容蛋白 PYP の励起状態構造ダイナミクスの研究

(阪大 VBL¹, 東北大院・理²) 中村亮介¹, 濱田格雄¹, 阿部健太², 吉澤雅幸²

Ultrafast structural evolution in the electronic excited state of PYP studied by femtosecond stimulated Raman spectroscopy

(Osaka Univ.¹, Tohoku Univ.²) Ryosuke Nakamura¹, Norio Hamada¹, Kenta Abe², Masayuki Yoshizawa²

【序】光受容蛋白質 Photoactive Yellow Protein (PYP) は、中心色素である *p*-クマル酸 (図 1) が光励起されると、トランス-シス異性化を含む一連の構造変化がフェムト秒～サブ秒の幅広い時間スケールで進行する。これまで、フェムト秒誘導ラマン散乱測定によって電子励起状態における共鳴ラマン信号を初めて観測し、光励起直後の構造変化について報告を行ってきた[1]。今回、*p*-クマル酸を保持している水素結合ネットワークの機能的役割を明らかにすることを目的とし、特に *p*-クマル酸のフェノール部位と周囲のアミノ酸残基との水素結合に着目し、野生型 (WT) および変異型 (E46Q) との比較を行った。

【実験】チタンサファイア再生増幅器 (1kHz, 1mJ) からのパルス光を 3 分割して、励起光、ラマン励起光、プローブ光を発生させた。励起光 (460 nm, 100 fs) は、パラメトリック増幅 (OPA) と和周波混合によって生成した。プローブ光は、サファイア基板によって発生させた白色光を利用した。測定系の時間分解能は 150fs である。ラマン励起光は狭帯域 OPA によって発生し、520 – 650 nm で波長可変とした。今回は主に中心波長 520.5 nm (幅 32 cm⁻¹) のラマン励起光を用いた。通常、第 1 励起状態 S₁ の共鳴ラマン散乱を取得するには、S₁ – S₂ 遷移に共鳴したラマン励起光を用いる。われわれが用いたラマン励起光は誘導放出過程 S₁ – S₀ 遷移に共鳴している。この場合、ストークス側の信号は、逆ラマン過程によって励起された S₁ 準位の振動を観測することになり、スペクトル形状は分散型になる。一方、アンチ・ストークス側は、ラマン過程によって励起された S₁ 準位の振動を観測することになり、スペクトル形状は単純なローレンツ型になることが、これまでの研究から分かっている[1b]。従って、S₁ 準位の誘導ラマン散乱に関してはアンチ・ストークス側のスペクトルを議論する。

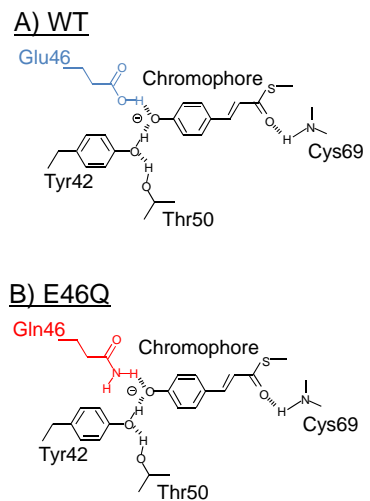


図 1 *p*-クマル酸と周囲のアミノ酸残基の構造。WT (A) と E46Q (B)。

【結果と考察】図2 Aに、WT の基底状態 S_0 における誘導ラマン散乱スペクトルを示す。この結果は、これまでに報告されている自発ラマン散乱スペクトルとほぼ一致している。1450–1600 cm^{-1} には、芳香環およびエチレン部の C-C, C=C 伸縮振動、1100–1350 cm^{-1} には C=C (または C-C) と面内 CH rocking 振動が結合したモード、1000 cm^{-1} 以下には、skeleton モードや面外振動などが含まれる[2]。同じ図に E46Q の誘導ラマン散乱スペクトルを1290 cm^{-1} のモードで規格化して図示した。明らかな違いとして、E46Q の1555 cm^{-1} のラマン強度が大きく減少していることが分かる。 S_0 準位における両者のスペクトルの違いは、これまでの報告と一致している[3]。1555 cm^{-1} の振動モードはチロシンY19aに対応する *p*-クマル酸芳香環の伸縮モードであり、フェノール部位の水素結合状態に大きく依存することが知られている。

図2 Bに励起状態 S_1 における誘導ラマンスペクトルを示す。WT は基底状態 S_0 に比べて、1555 cm^{-1} のラマン信号の相対強度が大きく減少していることが分かる。一方、E46Q は S_0 と S_1 とであまり変化していない。結果として、 S_1 では、WT と E46Q とがほぼ同じスペクトルとなっている。しかし、1555 cm^{-1} のラマン信号相対強度の時間変化を詳細に見てみると、図3に示すように両者で異なることが分かる。WT の場合、 S_0 における相対強度比は図中矢印で示すように1.64である。励起後、相対強度比は急激に減少し、1 ps 以上の時間領域では一定値0.92に達する。その減衰時間は時間分解能とほぼ同程度の150 fsである。一方で、E46Q は、励起後、相対強度比はほとんど変化せず0.98であり、 S_0 での値1.15に近い。

以上の結果から、WT では励起後、Glu46 と *p*-クマル酸フェノール部位との水素結合が、時間分解能150 fs よりも速い時間で変化していると考えられる。これまでに報告されている中赤外フェムト秒過渡吸収分光[4]やピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン散乱[5]との結果と合わせて議論する。

References

- [1] (a) Nakamura, R et al., Proceedings of The 15th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy, **2011**. (b) Nakamura, R et al., Proceedings of The 18th International Conference on Ultrafast Phenomena, **2012**.
- [2] Unno, M.; Kumauchi, M.; Tokunaga, F.; Yamauchi, S. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 2719-2726.
- [3] Zhou, Y. et al., *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 5719-5726.
- [4] Groot, M. L. et al., *Biochemistry* **2003**, *42*, 10054-10059.
- [5] Mizuno, M.; Kamikubo, H.; Kataoka, M.; Mizutani Y. *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115*, 9306-9310.

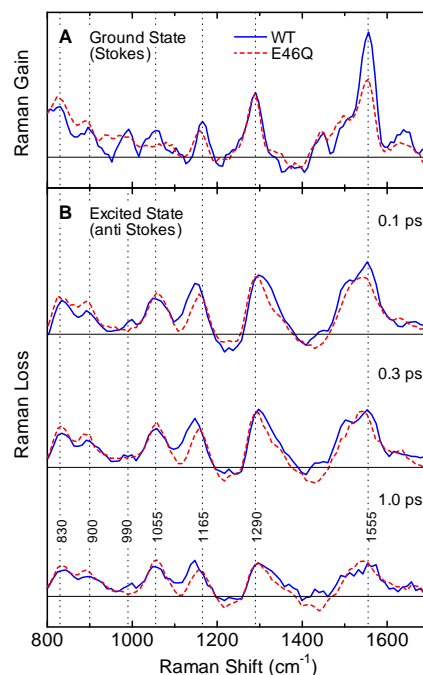


図2 基底状態(A)および励起状態(B)における誘導ラマン散乱スペクトル。

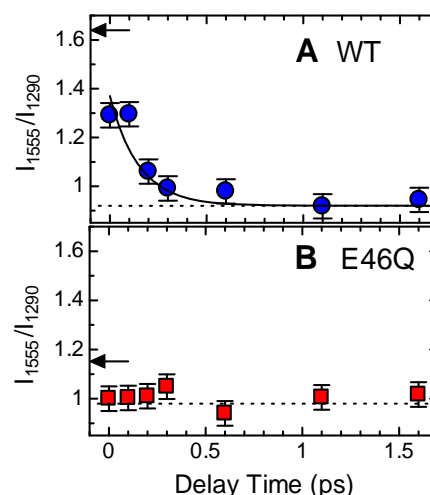


図3 1290 cm^{-1} のラマン信号に対する1555 cm^{-1} の相対強度。WT (A) と E46Q (B)。図中の実線は0.15 ps の時定数で減衰する指数関数。矢印は基底状態での相対強度比