

1P083

近赤外フェムト秒時間分解吸収およびフェムト秒誘導ラマン分光を用いたバクテリオロドプシンの励起状態ダイナミクスの研究

(¹理研・田原分子分光、²東工大・生命理工、³理研・光量子工学研究領域)

○田原 進也^{1,2}、竹内 佐年^{1,3}、大谷 弘之²、田原 太平^{1,3}

The excited-state dynamics of bacteriorhodopsin investigated by near-IR femtosecond time-resolved absorption and femtosecond stimulated Raman spectroscopy

(¹Molecular Spectroscopy Laboratory, RIKEN, ²Tokyo Tech., ³RIKEN Center for Advanced Photonics)

○Shinya Tahara^{1,2}, Satoshi Takeuchi^{1,3}, Hiroyuki Ohtani², Tahei Tahara^{1,3}

【序】バクテリオロドプシン(bR)はレチナール発色団を有する膜タンパク質である。bRは光を吸収すると発色団の trans-cis 異性化を起こし、光サイクル反応を通じてプロトンポンプ機能を発現する。この機能発現の分子機構を解明するため、bRの光反応ダイナミクスはこれまで様々な時間分解分光法によって研究されてきた[1]。

bRの励起状態における構造ダイナミクスの観測は、中赤外時間分解吸収分光法によって試みられている[2]。一方で時間分解共鳴ラマン分光法を用いると、共鳴増強効果により励起状態における発色団およびその近傍のダイナミクスを選択的に観測できると期待される。bRのS₁状態の寿命は約500フェムト秒と短いため[3]、測定には100フェムト秒程度の高い時間分解能が要求される。しかし時間分解自発ラマン分光法においては、ラマン励起光のフーリエ限界から時間分解能を高くすると必然的に波数分解能は低くなってしまふ。これに対し、フェムト秒誘導ラマン分光法[4]を用いれば、10 cm⁻¹程度の波数分解能を保ちつつ100フェムト秒程度の遅延時間精度でスペクトルを得ることができる。近年、この手法を用いて809 nmのラマン励起波長によりbR励起状態の発色団構造の観測が試みられたが[5]、得られたスペクトルはローレンツ型ではなく、分散型に歪んだバンド形状を示した。この分散型に歪んだバンドは基底状態あるいは励起状態の振動に対応すると考えられるが、両者を判別することは容易ではない[5,6]。

ラマン励起光が純粋な励起状態吸収帯あるいは誘導放出帯に共鳴する場合、それぞれストークス領域および反ストークス領域において励起状態に由来する歪みのないローレンツ型のバンドが観測されると予想される。そこで近赤外領域に広がっている誘導放出帯を選択的に励起しうるラマン励起光(850~1550 nm)を用いてフェムト秒誘導ラマン分光測定を行い、bR発色団の励起状態の構造ダイナミクスの観測を試みた。

【実験】*Halobacterium Salinarum*を培養し、低酸素濃度条件においてbRの発現を誘導した。透析法を用いて菌体を破碎し、ショ糖濃度勾配超遠心分離法によりbR三量体を多数含む紫膜を単離した。紫膜懸濁液を超音波破碎機により均一化し、測定に用いた。

図1に波長可変近赤外フェムト秒誘導ラマン分光装置の概略を示す。Ti:Sapphire再生増幅器の出力(800 nm, 1.2 mJ/pulse, 80 fs duration)の一部(0.2 mJ/pulse)を非同軸光パラメトリック増幅器に導入し、bRの励起状態を生成するための励起光(640 nm, 110 nJ/pulse, 40 fs duration)を発生させた。再生増幅器出力の残りから、光パラメトリック過程によってアイドラー光(~2000 nm)を発

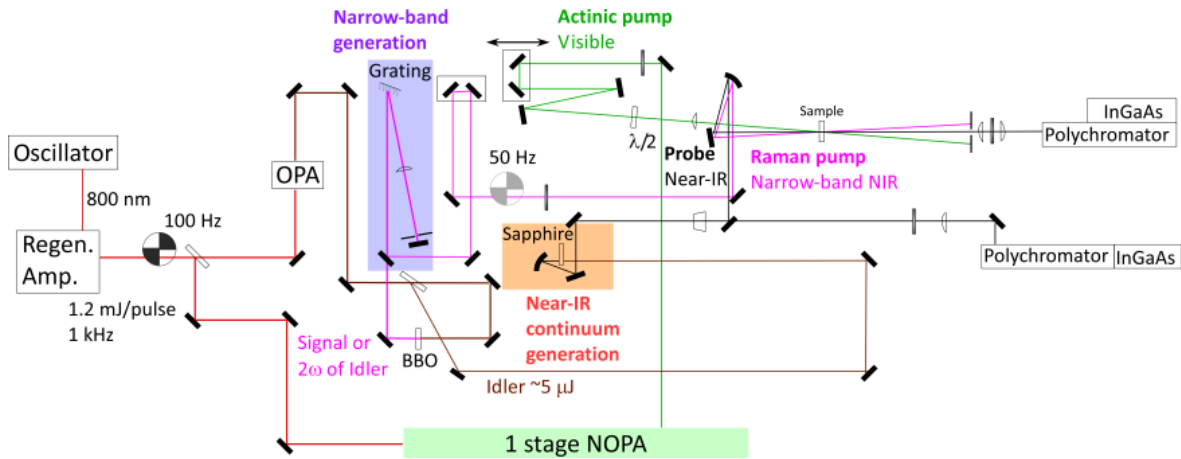


図 1. 波長可変近赤外フェムト秒誘導ラマン分光装置

生させ、これをサファイア結晶に集光することで得られる、近赤外広帯域光をプローブ光として用いた。また、アイドラー光の第二高調波あるいはシグナル光を、4f 光学系配置のグレーティングフィルタにより狭帯域化し、狭帯域近赤外ラマン励起光を得た。これらを試料に集光し、プローブ透過光をポリクロメーターにより分光し、512 チャンネル InGaAs 検出器により検出した。

【結果および考察】 all-trans 体 bR のフェムト秒領域の近赤外時間分解吸収スペクトルを測定したところ、1300 nm より短波長側では誘導放出、長波長側では弱い励起状態吸収が観測された(図 2)。これらは 500 fs の時定数で減衰した。この時定数は過去に報告された S_1 状態の寿命と一致する[3]。ゆえにこの過渡吸収信号は S_1 状態に由来すると考えられる。

次にこの誘導放出領域に共鳴した 1053 nm から 1303 nm までのラマン励起光を用いて、反ストークス領域にて測定したところ、図 3 に示すように分散型形状のバンドを示すスペクトルが観測された。このことは誘導放出領域(<1300 nm)においても誘導放出信号だけではなく励起状態吸収信号が重なっていることを示唆する。

当日の発表では本研究で観測された分散型形状のバンドが生じる機構について議論する。

【参考文献】

- [1] U. Haupts *et al.* *Annu. Rev. Biophys.* **1999**, 28, 367-399.
- [2] J. Herbst *et al.* *Science* **2002**, 297, 822-825.
- [3] M. C. Nuss *et al.* *Chem. Phys. Lett.* **1985**, 117, 2-7.
- [4] M. Yoshizawa *et al.* *Phys. Rev. A.* **1999**, 61, 013808.
- [5] D. W. McCamant *et al.* *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 10449-10457.
- [6] K. Niu *et al.* *J. Chem. Phys.* **2010**, 132, 084510.

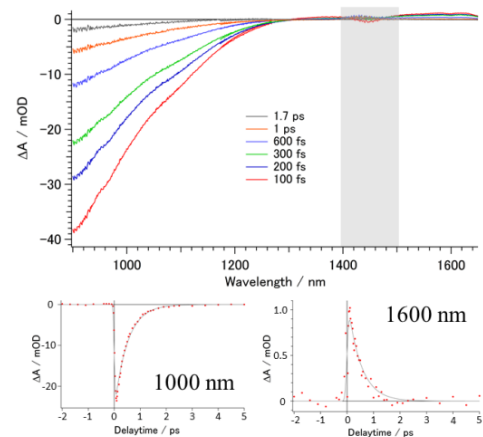
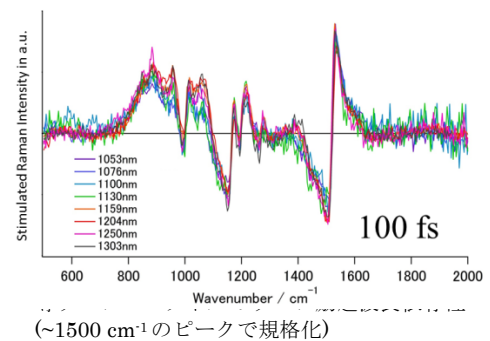


図 2. bR の近赤外時間分解吸収信号



(~1500 cm⁻¹ のピークで規格化)