

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月31日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21550020

研究課題名（和文）：光機能分子-蛋白質ナノコンポジット系のレーザー誘起励起状態ダイナミクス

研究課題名（英文）：Reaction dynamics of laser-induced excited states of photofunctional molecule-protein nanocomposite systems

研究代表者：蔵脇 淳一 (KURAWAKI JUNICHI)

鹿児島大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：10170078

研究成果の概要（和文）：レーザーアブレーション法を用いた新奇な光機能分子-タンパク質ナノ複合体の合成法を確立し、そのナノコンポジット系での光化学的性質ならびにレーザー誘起電子移動反応機構を詳細に調べた。金属ポルフィリン分子とポリペプチドを共存した系にレーザーを照射し、金属ポルフィリン分子・ポリペプチドのナノコンポジットが容易に形成でき、ポリペプチドのコンフォメーション変化に依存する光誘起光誘起電子移動反応が効率よく起こることを見出した。

研究成果の概要（英文）：Novel functional photomolecule-protein nanocomposites using the laser ablation method have been established. The photochemical properties of their nanocomposites and photoinduced electron transfer have been investigated with the use of spectroscopic techniques such as laser-induced transient absorption and time-resolved fluorescence in detail.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学・物理化学

キーワード：レーザー分光法、レーザーアブレーション、ポルフィリン、電子移動、エネルギー移動、コンフォメーション、タンパク質、ナノコンポジット

## 1. 研究開始当初の背景

光エネルギーの有効利用を目的として、光電気化学反応および光触媒反応を利用する

光エネルギー変換システムの構築が切望されている。これは、光エネルギーを何らかの形で有効的に利用することが、化石燃料に代

わる代替エネルギーの開発および二酸化炭素削減に代表される環境問題を解決するための非常に有効な手段と考えられているためである。

また、レーザーアブレーション法や自己組織化膜などの方法を用いて、ナノスケールで構造制御することにより、これまでにない高度な光変換機能を発現するナノ構造材料を創出することは次世代フォトニクス技術の発展に極めて重要である。ナノ粒子は、バルクには見られない特異な光学的、電子的、化学的特性を示す素材として大きな注目を集めている。

人工合成ナノバイオモデル系の実現を目指して光合成反応中心内に存在するクロモフォア間の連続電子移動反応機構の解明並びに *in vivo* 系にみられる効率の良いエネルギー・電子移動反応に及ぼすタンパク質の高次構造の効果を明らかにする目的で、凝縮系並びに固体表面上での光機能分子-タンパク質複合体系の分光研究を行うことは極めて重要な研究課題である。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究では、*in vivo* 系において、電子授受を伴うエネルギー変換過程で重要な役割を果たしている光機能分子-蛋白質複合体のバイオマテリアルに着目し、液中レーザーアブレーション法を用いて、構造制御されたナノ光機能分子-蛋白質複合体粒子を創製・固定化し、新規機能性材料の開発・高効率な光エネルギー変換システムの構築を目指す。

(2) さらに、高機能光触媒・触媒、あるいは新規光エレクトロニクスデバイスとしての利用も期待されるものであるこれまで、金属ポルフィリンやルテニウムチオール錯体などの光機能分子薄膜の物性や機能性がエレクトロニクスの関連分野で期待されていること、また、光機能分子-蛋白質複合体などのバイオマテリアルの高効率なエネルギー移動や電子移動反応に着目し、レーザーアブレーション法や自己組織化法を用いて、簡便かつ高制御されたナノコンポジット粒子を創製・固定化する方法を確立した。原子レベルで平坦な金属薄膜を基板として用い、金属ポルフィリンや光機能分子/タンパク質の有機分子薄膜系を金属薄膜上に構築し、固体表面上での光誘起電子移動やエネルギー移動反応を分光学的研究を行い、

- ・分子内電子移動過程は非断熱過程で起こる。
- ・吸着配向分子のコンフォメーション誘起のエネルギー、電子移動反応が効率良く起こる。
- ・電子移動機構を two-site モデルを用いて解明できた。
- ・電子移動・エネルギー効率は光機能分子/

タンパク質のコンフォメーションに依存する。などの興味ある知見を初めて見出した。

## 3. 研究の方法

下記の研究計画・方法に基づいて精力的な究目を遂行してきた。

(1) レーザーアブレーション法によるバイオマテリアルの創製・集積化を試みた。光機能分子/タンパク質複合体を用いて、光機能分子-蛋白質(芳香族アミノ酸を含むポリ(L-チロシン)やポリ(L-トリプトファン))複合体のバイオマテリアルのナノ粒子を創製し、さらに金属(金、銅、銀)薄膜上への集積化を試みる。そして、ポルフィリン-蛋白質複合体の金属表面での配向や形態観察をSEMやAFMを用いて行った。さらに現有のFT-IR分光光度計を用いて振動スペクトルを測定し、分子構造や電子状態に関する詳細な物理化学的知見を得た。

(2) 貧溶媒である水にポルフィリンとタンパク質モデル分子であるポリペプチドをいれ、Nd:YAGレーザー(355, 532nm 10Hz, 15mJ/パルス)を照射してレーザーアブレーション効果によりナノコンポジット複合体粒子を創製・固定化する。レーザー照射時間依存性やレーザー光強度依存性を調べ、最適条件を求めた。FT-IR分光法は官能基の識別(選択性)に優れており、無蛍光性物質にも応用できるなど、バイオ分野への応用は極めて魅力的である。しかも赤外光による励起であり、光反応などの抑止効果も大きい。反射FT-IR法を用いてナノ粒子の吸着配向状態や分子間相互作用を振動スペクトルを測定することにより明らかにした。また、金薄膜を用いた際には、プラズモン吸収バンドが観測されるので、プラズモン共鳴効果を利用した効率の良い表面光化学反応を詳細に調べた。

(3) ナノバイオマテリアル系での励起エネルギー移動機構を明らかにするために、定常状態蛍光分光装置ならびに今回自作したナノ秒時間分解蛍光装置を用いてエネルギー移動効率を測定した。一方、固体表面で起こる光誘起電子移動は、ナノ秒レーザーフラッシュトリシス装置を用いて調べ、その移動効率やメカニズムを明らかにした。さらに、金属薄膜表面上に高秩序配向した金属ポルフィリンのソリトン励起エネルギー移動や電子移動を詳細に考察した。

## 4. 研究成果

(1) レーザーアブレーション法による光機能分子-蛋白質ナノ複合体の創製を試みた。光機能分子として亜鉛テトラフェニルポルフィリンのような金属ポルフィリンを、蛋白質としてポリ(L-チロシン)やポリ(L-トリプトファン)のような芳香族アミノ酸を構成ア

ミノ酸とするポリペプチド複合体粒子を図1の光学系を用いて創製した。

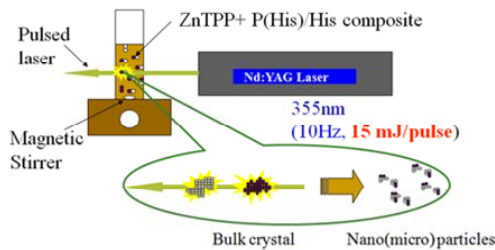


図1. レーザーアブレーション法の光学系

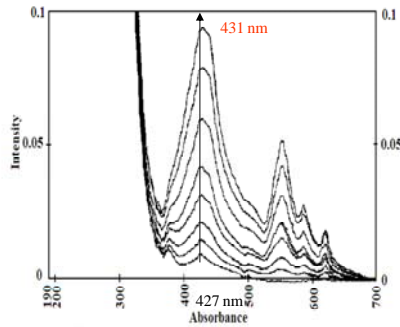


図2. レーザーアブレーション法により生じた亜鉛ポルフィリンナノ粒子の吸収スペクトル

溶媒として貧溶媒である水を用いて、極めて弱い出力のレーザー光を照射すると図2に示すような亜鉛ポルフィリンの吸収スペクトル変化が観測された。427nmに亜鉛ポルフィリンのソーレー帯が観測されていることから亜鉛ポルフィリンのナノ粒子が生成されていると考えられる。照射時間依存性を調べた結果、今回の実験条件下では2時間で飽和状態に到達することが明らかとなった。また、透過電子顕微鏡による画像によると約100nmの粒径サイズを有するナノ粒子が生成していることが明らかとなった。

さらに基板を図1のセル中に入れてレーザー照射した後、亜鉛ポルフィリン-ポリペ

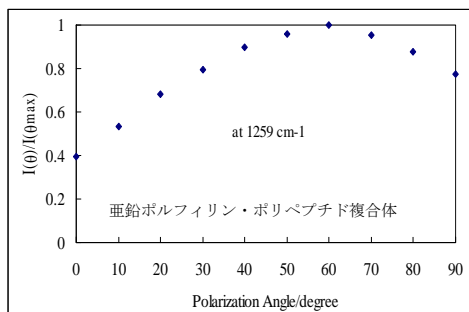


図3 FTIRの偏光角度依存性

チドナノコンポジットを固定化させ、その表

面 FTIR スペクトルの角度依存性を測定したところ図3に示すような結果を得た。

図3に示す角度依存性の結果から金属ポルフィリンとポリヒスチジンが分子間で相互作用し、配向角 $60^\circ$ で吸着配向しているとの結論に達し、図4に示すような構造モデルを提唱することができた。

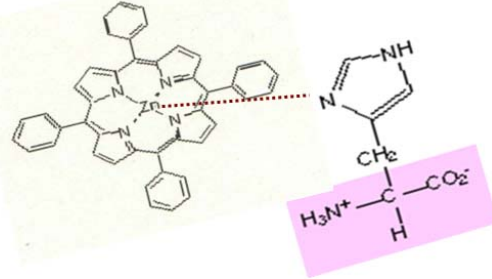


図4. 分子構造モデル

(2) 次に本手法で創製したナノコンポジット系の光化学的特性や光化学反応が起こるか否かを蛍光消光実験からはじめて見出した。その電子移動機構を解明するために時間分解蛍光法により亜鉛ポルフィリン・ポリペプチドナノコンポジット系の蛍光寿命を測定した。図5にその結果を示している。亜鉛ポルフィリンの蛍光寿命は0.8nsから0.5nsへと短くなり蛍光寿命消光が観測され、電子移動に基づくものであるとの結論がえられた。更には、その複合体のコンフォメーションを円二色性スペクトルを測定して確認したところ、 $\alpha$ -ヘリックスを有して安定なナノコンポジットを形成していることが明らかとなった。また、その効率性はポリペプチドの規則構造を有するコンフォメーションの存在割合が多くなるほど高くなり、固体状態にあるナノコンポジット系でも安定なコンフォメーションを有して存在していることが示された。

(3) この複合体の表面蛍光スペクトルを測定したところ、poly(L-His)からZnTPPへの電子移動に基づく蛍光消光が観測された。このことは、ZnTPPとpoly(L-His)とが分子間で相互作用していることを示唆している。さらには、レーザーアブレーション法を用いて蛍光プローブ-金ナノロッド-ポリペプチド複合系を構築することに成功した。新たな分子集合体系の反応場が構築できたものと期待され、プラズモン誘起電子移動に関する分光研究を行い、新規な光化学反応に関する詳細な分光データが得られた。

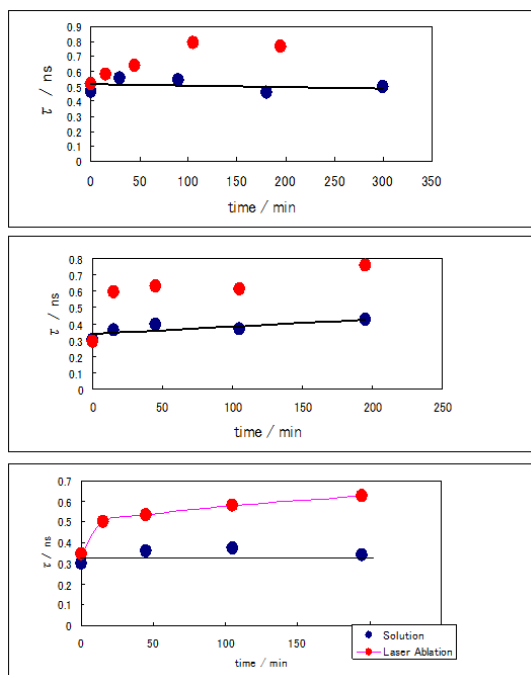


図5. 光機能分子-ポリペプチドナノコンポジット系の蛍光寿命

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

- ① Md. Shariful Islam, Junichi Kurawaki, Yoshihumi Kusumoto, Md. Abdulla-Al-Mamun, Md. Z. Bin Mukhlis, Hydrothermal novel synthesis of neck-structured hyperthermia-suitable magnetic ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  and  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) nanoparticles, Journal of Scientific Research, 査読有, Vol. 4, No.1, 2012, pp. 99-107. DOI: <http://dx.doi.org/10.3329/jsr.v4i1.8727>
- ② Kwati Leonard, Bashir Ahmmad, Hiroaki Okamura, Junichi Kurawaki, In Situ Green Synthesis of Biocompatible Ginseng Capped Gold Nanoparticles with Remarkable Stability, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 査読有, Vol.82, No.2, 2011, pp. 391-396. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.09.020>

[学会発表] (計12件)

- ① Myint Thein Tun, Junichi Kurawaki, Electron Transfer of Porphyrin-Polypeptide Nanocomposites Produced by Laser Ablation, 2011年光化学討論会, 2011年9月7日、(宮崎市河畔コンベンションエリア).
- ② Takara Misumi, Myint Thein Tun, Junichi Kurawaki, Preparation and Characterization of Polypeptide-protected Gold Nanoparticles via Ultrasonic Irradiation, 2011年光化学討論会, 2011年9月7日、(宮崎市河畔コンベンションエリア).
- ③ Takara Misumi, Kwati Leonard, Myint Thein Tun, Junichi Kurawaki, Spectroscopic Characterization of Self-assembled Porphyrin-Polypeptide Composites Produced by Laser Ablation in Poor Solvents, IUPAC International Congress on Analytical Sciences, 2011年5月23日、京都国際会議場(京都府).
- ④ 蔵脇 淳一, 光機能分子-タンパク質複合体系の光化学, 2010ナノテク講演会, 2011年3月15日、サンメッセ鳥栖(鳥栖市).
- ⑤ Myint Thein Tun, Kwati Leonard, Junichi Kurawaki, Electron Transfer of Porphyrin-Polypeptide Composite Particles Produced by Laser Ablation, The 3rd Asian Conference on Colloid and Interface Science, 2009年10月13日、チェジュ (韓国).

[その他]

ホームページ等

- ① <http://kuris.cc.kagoshima-u.ac.jp/605939.html>
- ② <http://www.sci.kagoshima-u.ac.jp/~kurawaki/index.html>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

蔵脇 淳一 (KURAWAKI JUNICHI)

鹿児島大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：10170078