

田原分子分光研究室
Molecular Spectroscopy Laboratory



主任研究員 田原 太平 (理博)
TAHARA, Tahei (D. Sc.)

キーセンテンス :

1. 超高速分子現象を解明し制御する
2. 新しい非線形分光計測を開発して界面を研究する
3. 生体分子のナノ秒からミリ秒の構造変化を調べる

キーワード :

超高速分光、非線形分光、単分子分光、先端分光計測、反応ダイナミクス、界面、生体高分子

研究概要

分光計測は 21 世紀の科学の“目”であり、物理～化学～生物学にわたるきわめて広い分野の基盤となっている。我々は新しい分光計測を開発し、それらを駆使して凝縮相複雑系に対する分子科学研究を推進している。凝縮相における多種多様なダイナミクスを解明するためには、分子の電子状態や振動状態、周辺場の応答、あるいはそれらの背景にあるエネルギーの揺動や散逸を分子レベルで総合的に理解しなければならない。これを念頭におき、最も先端的な線形・非線形分光計測法を用い、個々の問題に本質的な時間・空間スケールを選択して研究を進めている。具体的には、短パルスレーザー技術をもとに、

1. 極限的な時間分解分光計測による超高速分子ダイナミクスの研究
2. 界面選択的非線形分光法の開発と柔らかな界面の研究
3. 新しい単分子分光法の開発と生体高分子の構造ダイナミクスの研究

を行っている。1 では溶液中の基本分子から複雑分子までのダイナミクス、2 では気液界面、液液界面、固液界面や脂質膜等の生物学的界面にある分子の振舞い、3 では生体高分子の構造揺らぎを対象として研究を行っている。

A. 極限的な時間分解分光計測による超高速分子ダイナミクスの研究

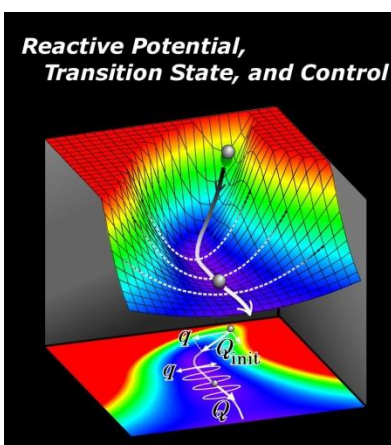


図. 超高速分光による化学反応の研究

1. フェムト秒発光分光で観測した銅(I)錯体の光誘起構造変化に対する置換基効果 (岩村、竹内、田原)

フェナントロリン誘導体を配位子としてもつ銅(I)錯体は金属・配位子電荷移動励起状態において flattening 変形を起こすことが知られている。本研究では、この光誘起構造変化への置換基効果を調べるため、フェムト秒～ピコ秒発光分光を行った。 $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ 、 $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ の両者ともに、すばやい S_2 - S_1 内部転換

の後、 S_1 状態での構造変化に帰属される蛍光信号の変化を示した。既報の $[Cu(dmphen)_2]^+$ のデータと比較することにより、配位子の2位および9位の置換基がかさ高くなるほど構造変化に長い時間を要することが分かった。 S_1 状態の多次元ポテンシャル曲面にもとづいて、超高速構造変化とその置換基効果について議論した。

2. アナベナセンサリロードプシンのレチナール発色団の光反応に伴うトリプトファン残基の初期構造応答

(稲田、水野、加藤、川鍋、神取、Wei、竹内、田原、水谷)

光センサーとしての機能を有するタンパク質アナベナセンサリロードプシンには発色団の構造が全トランス型と13-シス型の2つの異性体が存在し、それらは光反応により互に変換する。それぞれの異性体から開始する光反応における初期のタンパク質構造ダイナミクスを調べるため、ピコ秒紫外共鳴ラマン分光を行った。この結果、どちらの異性体でも、トリプトファン残基のラマンバンド強度が光励起と同時に減少し、その後30 psの時定数で回復した。このことは、発色団近傍のトリプトファン残基の構造変化の速さは発色団の異性化の方向には依存しないことを示す。変異体に対する実験データとの比較から、46位および76位のトリプトファン残基が構造変化することが分かった。

3. 光センサータンパク質センサリロードプシン I の光サイクルの初期過程

(須藤、水野、Wei、竹内、田原、水谷)

正と負の走光性を担う光センサータンパク質であるセンサリロードプシン I の光サイクルの初期過程を時間分解分光により研究した。フェムト秒時間分解吸収分光により基底状態の退色、励起状態の吸収と誘導放出、K 中間体の吸収のスペクトル信号を観測した。これらの時間挙動から、光吸収によって生じたフランク・コンドン状態の分子が反応性および非反応性の S_1 状態に分岐する時定数、反応性 S_1 状態がJ 中間体を経てK 中間体に変化する時定数、非反応性 S_1 状態が元の基底状態に内部転換する時定数をそれぞれ決定した。またピコ秒紫外共鳴ラマン分光によりタンパク質の光応答を調べた。この結果、K 中間体生成に伴うトリプトファン残基のラマン信号強度の変化は他のロードプシンに比べて小さいが、Cl⁻イオンの結合によるトリプトファン残基の構造変化の違いが特徴的に観測された。これらの時間分解分光データをもとに、センサリロードプシン I の光反応初期過程とCl⁻イオンの結合の役割について考察した。

4. フェムト秒過渡吸収法による BLUF タンパク質のシグナル状態生成メカニズムの検討

(藤澤、竹内、増田、田原)

BLUF(Blue Light sensor Using FAD)タンパク質はバクテリアの青色光受容タンパク質である。2002年にFAD(flavin adenine dinucleotide)を発色団とする光センサータンパク質として同定されて以来、その多様な生体内での役割や結晶構造が明らかにされてきた。しかし、BLUF タンパク質が光受容前の暗状態から光受容後のシグナル状態に変わる仕組みは未解決のままである。そこで我々はBLUF タンパク質のシグナル状態生成機構を明らかにすることを目的として、紅色細菌由来のBLUF タンパク質PapBに対してフェムト秒過渡吸収測定を行った。測定から、PapBのシグナル状態は発色団FADに水素原子が付加したFADHラジカルを経由して生成すること、また、同様のラジカル生成がシグナル状態を光励起しても同じ速度で起こることを見出した。この結果は、これまで支持されてきたシグナル状態の生成機構では説明できず、新たなメカニズムの必要性を明確に示した。

5. 熱励起遅延蛍光性型青色発光材料の開発

(大澤、田原)

熱励起による青色遅延蛍光を示す銅一価チオレート錯体の合成に成功し、その発光特性を検討した。この錯体の特徴は特異な三配位構造を有すること、及びその発光オリジンが従来の金属一配位子遷移ではなく配位子一配位子遷移であることにある。前者により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、また後者により励起一重項と三重項のエネルギー差が小さくなることが期待され、これら2つの協同効果による発光の高効率化を目論んだ。実際この錯体の室温及び77Kでの発光量子収率はほぼ100%であることが判明した。また発光寿命の温度依存性の測定から励起一重項と三重項のエネルギー差は600cm⁻¹程度とかなり小さく、この錯体の遅延蛍光性を確認することができた。さらに溶液中、チオレート配位子部のアリアル基が回転することに基づく発光色変化についても明らかにした。

B. 界面選択的非線形分光法の開発と柔らかな界面の研究

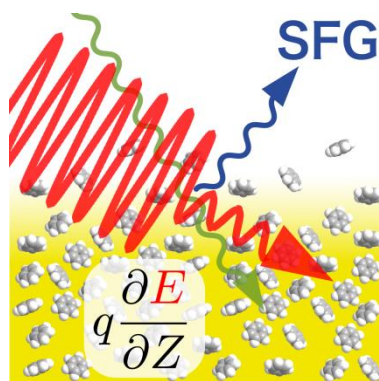


図. 空気/ベンゼン界面の和周波発生における電気四極子遷移の寄与

1. 空気/水界面の和周波発生非共鳴バックグラウンドに関する理論的研究

(白鳥和矢、山口、田原、森田明弘)

空気/水界面の振動電子非共鳴二次非線形感受率を分子動力学シミュレーションを用いて理論的に計算した。この感受率には電気四極子遷移が主な寄与をしていることを見出した。またこの感受率の符号は、界面の分子の配向とは無関係で、一般に負になる傾向があることが分かった。以上の知見は、水以外の空気/液体界面にも適用可能と考えられる。

2. 空気/水界面の溶質分子の配向分布

(Kundu、渡邊秀和、山口、田原)

線形及び二次非線形偏光光学測定によって、空気/水界面に吸着した3種類の溶質分子の配向分布を決定した。いずれの分子についても、配向分布関数の標準偏差は 16° から 21° の範囲にあり、デルタ関数で近似することの出来ない幅広い分布関数であることが分かった。この実験結果は、分子動力学シミュレーションによる理論計算と良い一致を示した。それによって、配向分布関数が溶質の分子構造にどのように依存しているのかを明らかにすることができた。

3. 空気/ベンゼン界面の電気四極子遷移による和周波発生

(松崎、二本柳、山口、永田敬、田原)

ヘテロダイナミック振動和周波発生分光法を空気/ベンゼン界面に適用した。その結果、空気/ベンゼン界面での和周波発生は電気双極子近似の範囲内では説明できず、界面の場の不連続性と電気四極子遷移を考慮することによってスペクトルの選択律と偏光依存性が説明できることを見出した。特に、界面の電場の不連続性による電気四極子遷移の寄与は、従来の和周波発生とは異なる機構の界面選択性を与えるものであり、和周波発生分光の新しい可能性を示している。

C. 新しい単分子分光法の開発と生体高分子の構造ダイナミクス研究

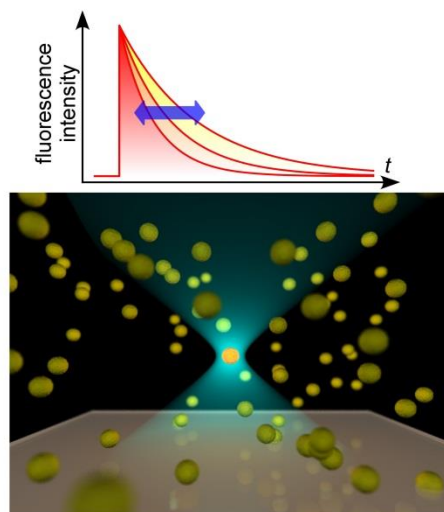


図. 新しい蛍光相関分光による複雑分子のダイナミクスの観測

1. 二次元蛍光寿命相関分光法の開発

(石井、田原)

蛍光相関分光法は複雑分子のマイクロ秒オーダーの平衡ダイナミクスを調べることができるという特長をもつ。しかし、実際には信号から物理的に意味のある情報を取り出すことが難しく、蛍光相関分光法を分子ダイナミクスの問題に応用した例は限られていた。本研究では、複雑分子系の平衡ダイナミクスについての明確な情報を得るため、蛍光相関分光法と時間相関光子計数法 (TCSPC) を組み合わせた新しい手法 (二次元蛍光寿命相関分光法、2D-FLCS) を開発した。2D-FLCSでは、蛍光寿命の情報を利用して蛍光光子対の相関を解析する。具体的には、TCSPCのデータを元に蛍光光子を発光遅延時間毎に分類して光子対の相関を得、これを二次元マップの形で表す。次にこの二次元マップを、逆ラプラス変換を用いて蛍光寿命の異なる種ごとの相関に変換する。2D-FLCSは複雑分子の平衡ダイナミクスを単一分子レベル・マイクロ秒の時間分解能で可視化することができる。動的モンテカルロシミュレーションによる検証の結果、本手法の原理の妥当性と動的システムの解析における高いポテンシャルを示すことができた。

2. 二次元蛍光寿命相関分光法の応用

(石井、田原)

本研究では、実際に時間相関光子計数法 (TCSPC) を用いた蛍光相関分光計を用いて、実際に二次元蛍光寿命相関分光 (2D-FLCS) 実験を実現した。また、この目的のために新たに最大エントロピー法を用いた二次元逆ラプラス変換の数値計算法を開発した。色素混合溶液を用いた実験では、2D-FLCSが実験的に十分実用的であり、不均一な混合物試料中に存在する分子種を予備知識なしに同定可能であることが示された。一方DNAヘアピンに応用した実験では、2D-FLCSにより蛍光寿命分布を通して分子種を同定することで、生体分子のマイクロ秒の自発ダイナミクスを可視化できることが示された。この実験では、DNAヘアピンの両端をFRET対で標識することで、DNAヘアピンが取る異なる構造 (開状態・閉状態) を蛍光寿命の違いとして区別できるようにした。その結果、FRETドナーの蛍光寿命の二次元相関マップにおいて、開状態と閉状態の間の平衡ダイナミクスが、対応する蛍光寿命ピーク間のクロスピークの出現として観測された。このDNAヘアピンの平衡ダイナミクスは、試料中に共存するアクセプターを欠いたDNA分子の寄与 (二次元マップに孤立対角ピークとして現れる) と明確に分離して観測することができた。

Key Sentence :

1. Elucidating and controlling ultrafast phenomena in the condensed-phase
2. Studying soft interfaces by new nonlinear spectroscopy
3. Examining the nanosecond-millisecond structural dynamics of biomolecules

Key Word :

ultrafast spectroscopy, nonlinear spectroscopy, single molecule spectroscopy, advanced spectroscopy, reaction dynamics, interface, biological macromolecules

Outline

Spectroscopy is “eyes” of modern science, and hence it plays essential roles in a variety of research fields covering physics, chemistry, and biology. We develop and utilize the most advanced spectroscopy for molecular science of complex systems in the condensed-phase. To elucidate a variety of complex phenomena occurring in the condensed phase, we need to clarify the electronic and vibrational states of molecules, the response of surroundings, and the fluctuation and dissipation of energy behind. Based on this view, we carry out fundamental research using the most advanced linear/nonlinear spectroscopic methods with most suitable time- and space-resolution for the problems to be studied. Currently, we are carrying out the following projects:

1. Study of ultrafast dynamics by advanced time-resolved spectroscopy,
2. Study of soft interfaces and development of interface-selective nonlinear spectroscopy,
3. Study of structural dynamics of biomolecules and development of new single molecule spectroscopy.

Targets of the projects 1, 2, 3 are (1) fundamental molecules and complex molecules in solution, (2) molecules at the air/liquid, liquid/liquid, liquid/solid and biological interfaces, and (3) biological macromolecules, respectively.

A. Study of ultrafast dynamics by advanced time-resolved spectroscopy

1. Substituent effect on the photoinduced structural change of Cu(I) complexes observed by femtosecond emission spectroscopy

(Iwamura, Takeuchi, Tahara)

The Cu(I) complexes having phenanthroline derivatives as ligands are known to exhibit photo-induced ‘flattening’ structural change in the metal-to-ligand charge transfer (MLCT) excited state. Our recent ultrafast spectroscopic studies of $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$ (dmphen = 2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline) showed that the photo-induced structural change predominantly occurs in the S_1 state on a subpicosecond time scale, with the appearance of the ‘perpendicular’ S_1 state before the structural change. In this work, we carried out femto/picosecond time-resolved emission spectroscopy of $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ (phen = 1,10-phenanthroline) and $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ (dpphen = 2,9-diphenyl-1,10-phenanthroline) in dichloromethane with the $S_2 - S_0$ photo-excitation to examine the substituent effect on the ultrafast structural change. The femtosecond time-resolved emission spectra of the two complexes exhibit ultrafast fluorescence changes that are attributed to the structural change in the S_1 state after fast (50–100 fs) $S_2 - S_1$ internal conversion. By comparing with the dynamics of $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$, it was found that the time constant of the structural change increases as the substituents at 2- and 9- positions of the ligand become bulkier, i.e., $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ (200 fs) - $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2]^+$ (660 fs) - $[\text{Cu}(\text{dpphen})_2]^+$ (920 fs). This implies that the complex needs a longer time to flatten with the bulkier substituent. This demonstrates that the dynamics of the photo-induced structural change of Cu(I) complexes is substantially affected by the substituent of the ligand. The dynamics of the ultrafast structural change and the substituent effect are discussed with the multidimensional S_1 potential energy surface of Cu(I) complexes.

2. Primary Structural Response in Tryptophan Residues of Anabaena Sensory Rhodopsin to Photochromic Reactions of the Retinal Chromophore

(Inada, Mizuno, Kato, Kawanabe, Kandori, Wei, Takeuchi, Tahara, Mizutani)

Anabaena sensory rhodopsin (ASR) is a microbial rhodopsin found in eubacteria and functions as a photosensor. The photoreaction of ASR is photochromic between all-trans, 15-anti (ASRAT), and 13-cis, 15-syn (ASR13C) isomers. To understand primary protein dynamics in the photoreaction starting in ASRAT and ASR13C, picosecond time-resolved ultraviolet resonance Raman spectra were obtained. In the intermediate state appearing in the picosecond temporal region, spectral changes of Trp bands were observed. For both ASRAT and ASR13C, the intensities of the Trp bands were bleached within

the instrumental response time and recovered with a time constant of 30 ps. This suggests that the rates of structural changes in the Trp residue in the vicinity of the chromophore do not depend on the direction of the isomerization of retinal. A comparison between spectra of the wild-type and Trp mutants indicates that the structures of Trp76 and Trp46 change upon the primary photoreaction of retinal.

3. The early steps in the photocycle of a photosensor protein sensory rhodopsin I from *Salinibacter ruber*

(Sudo, Mizuno, Wei, Takeuchi, Tahara, Mizutani)

Light absorption by the photoreceptor microbial rhodopsin triggers trans-cis isomerization of the retinal chromophore surrounded by seven transmembrane α -helices. Sensory rhodopsin I (SRI) is a dual functional photosensory rhodopsin both for positive and negative phototaxis in microbes. By making use of the highly stable SRI protein from *Salinibacter ruber*, SrSRI, the early steps in the photocycle were studied by spectroscopic techniques. All of the temporal behaviors of the $S_n \leftarrow S_1$ absorption, ground-state bleaching, K intermediate absorption, and stimulated emission were observed in the femto to picosecond time region by time-resolved absorption spectroscopy. The primary process exhibited four dynamics similar to other microbial rhodopsins. The first dynamics ($\tau_1 \sim 54$ fs) corresponds to the population branching process from the Franck-Condon region to the reactive (S_1^r) and nonreactive (S_1^{nr}) S_1 states. The second dynamics ($\tau_2 = 0.64$ ps) is the isomerization process of the S_1^r state to generate the ground-state 13-cis form, and the third dynamics ($\tau_3 = 1.8$ ps) corresponds to the internal conversion of the S_1^{nr} state. The fourth component ($\tau_3' = 2.5$ ps) is assignable to the J-decay (K-formation). This reaction scheme was further supported by the results of time-resolved fluorescence spectroscopy. To investigate the protein response(s), the spectral changes of the tryptophan bands were monitored by ultraviolet resonance Raman spectroscopy. The intensity change following the K formation in the chromophore structure ($\tau \sim 17$ ps) was significantly small in SrSRI as compared with other microbial rhodopsins. We also analyzed the effect(s) of Cl^- binding on the ultrafast dynamics of SrSRI. Compared with a chloride pump Halorhodopsin, Cl^- binding to SrSRI was less effective for the excited-state dynamics, whereas the binding altered the structural changes of tryptophan, which was the characteristic feature for SrSRI. On the basis of these results, a primary photoreaction scheme of SrSRI together with the role of chloride binding is proposed.

4. Mechanism of signaling state formation of a BLUF protein studied by femtosecond transient absorption

(Fujisawa, Takeuchi, Masuda, Tahara)

BLUF protein is a bacterial blue light receptor which was first identified in 2002. Since the discovery as a light-sensing protein using FAD (flavin adenine dinucleotide) chromophore, the diverse biological roles and the crystal structures have been disclosed. However, it has been unclear how the dark state before light reception is converted to the signaling state by blue light. Thus, we studied the signaling state formation of a BLUF protein PapB from a purple bacterium by femtosecond transient absorption spectroscopy. The measurement revealed that the signaling state of PapB is achieved via FADH radical ($FADH \cdot$) in which hydrogen atom is attached to FAD chromophore, and that the same $FADH \cdot$ kinetics is also observed after exciting the signaling state. Our results showed that the conventional signaling-state formation mechanism is not applicable to PapB, and clearly pointed out the need for a new mechanism.

5. Development of thermally activated delayed fluorescence-type copper(I) thiolate complexes

(Osawa, Tahara)

Three-coordinate copper (I) complexes, $Cu(LMe)(SPh)$ 1 and $Cu(LiPr)(SPh)$ 2 {LMe = 1,2-bis[bis(2-methylphenyl)phosphino]benzene, LiPr = 1,2-bis[bis(2-isopropyl)phosphino]benzene}, possessing an arylthiolate ligand ($-SPh$ = benzenethiolate) were synthesized and characterized for OLEDs. Efficient blue emission with quantum yields of ~ 1.0 are observed for 1 and 2 at both 293 K and 77 K in the solid state. Molecular orbital (MO) calculations revealed that the major transitions ($\sim 95\%$) that contribute to emission from 1 and 2 were attributed to two types of ligand-to-ligand

charge-transfer (LLCT) processes. Small S_1-T_1 gaps ($E(S_1-T_1) \approx 600 \text{ cm}^{-1}$), obtained by fitting the temperature dependence of lifetimes, strongly indicate that emission from 1 and 2 in the solid state at room temperature can be ascribed to TADF, which occurs when the S_1-T_1 gap is small enough to achieve a thermal equilibrium between the two states. Furthermore, we observed that TADF from 1 and 2 is orange and yellow, respectively, in 2-methyltetrahydrofuran at room temperature. MO calculations indicate that this color alteration is based on the rotation of the -SPh-containing aryl ring about the axis of the Cu-S bond.

B. Study of soft Interfaces and development of interface-selective nonlinear spectroscopy

1. Computational analysis of the quadrupole contribution in the second-harmonic generation spectroscopy for the water/vapor interface

(Kazuya Shiratori, Yamaguchi, Tahara, Akihiro Morita)

Second-order susceptibility for water/vapor interface is calculated theoretically using molecular dynamics simulation, which considers both the dipole and quadrupole contributions. We find that the nonresonant second harmonic generation (SHG) signal is dominated by the quadrupole contribution from the bulk. We also elucidate the fact that the nonresonant susceptibility tends to be negative in general, irrespective of the molecular orientation. The present argument for SHG is commonly applicable to the nonresonant vibrational sum-frequency generation (SFG) spectra, and should be valid for other liquid interfaces.

2. Agreement between experimentally and theoretically estimated orientational distributions of solutes at the air/water interface

(Kundu, Hidekazu Watanabe, Yamaguchi, and Tahara)

Linear and nonlinear polarization-sensitive spectroscopic techniques are employed to determine the orientational distributions of solute molecules adsorbed at the air/water interface. Each solute molecule shows very broad orientational distribution with a standard deviation ranging from 16° to 21° . The experimentally-determined orientational distributions are well reproduced by classical molecular dynamics simulations. The good agreement between experimental results and theoretical calculations enables us to elucidate how the orientational distribution at the air/water interface is controlled by the chemical structure of the solute molecules.

3. Vibrational sum frequency generation by the quadrupolar mechanism at nonpolar benzene/air interface

(Matsuzaki, Nihonyanagi, Yamaguchi, Takashi Nagata, and Tahara)

The interface selectivity of vibrational sum frequency generation (VSFG) spectroscopy is explained under the dipole approximation as resulting from the breakdown of inversion symmetry at the interface. From this viewpoint, VSFG is not expected to occur at the interface consisting of centrosymmetric molecules, because the inversion symmetry is preserved even at the interface. In reality, however, VSFG at the nonpolar benzene/air interface has been observed with traditional homodyne-detected VSFG. Here we report a heterodyne-detected VSFG study of the benzene/air interface. The result strongly indicates that VSFG at this interface cannot be explained within the framework of the dipole approximation. The selection rule and polarization dependence of the observed VSFG signal show that the quadrupole transition plays an essential role because of the field discontinuity at the interface. This finding implies the applicability of interface-selective VSFG to the nonpolar interfaces comprising centrosymmetric molecules, which opens a new possibility of VSFG spectroscopy.

C. Study of structural dynamics of biomolecules and development of new single molecule spectroscopy

1. Development of two-dimensional fluorescence lifetime correlation spectroscopy

(Ishii, Tahara)

Fluorescence correlation spectroscopy (FCS) is a unique tool for investigating microsecond molecular

dynamics of complex molecules in equilibrium. However, application of FCS in the study of molecular dynamics has been limited, owing to the complexity in the extraction of physically meaningful information. In this work, we developed a new method that combines FCS and time-correlated single photon counting (TCSPC) to extract unambiguous information about equilibrium dynamics of complex molecular systems. In this method, which we named two-dimensional fluorescence lifetime correlation spectroscopy (2D FLCS), we analyze the correlation of the fluorescence photon pairs, referring to the fluorescence lifetime. We first obtain the correlations of the photon pairs with respect to the excitation-emission delay times in the form of a two-dimensional (2D) map. Then, the 2D map is converted to the correlations between different species that have distinct fluorescence lifetimes using inverse Laplace transformation. This 2D FLCS is capable of visualizing the equilibration dynamics of complex molecules with microsecond time resolution at the single-molecule level. We performed a kinetic Monte Carlo simulation of a TCSPC-FCS experiment as a proof-of-principle example. The result clearly showed the validity of the proposed method and its high potential in analyzing the photon data of dynamic systems.

2. Application of two-dimensional fluorescence lifetime correlation spectroscopy (Ishii, Tahara)

In this work, we experimentally implemented the two-dimensional fluorescence lifetime correlation spectroscopy (2D FLCS). In this method, two-dimensional emission-delay correlation maps are constructed from the photon data obtained with the time-correlated single-photon counting (TCSPC), and then they are converted to 2D lifetime correlation maps by the inverse Laplace transform. We developed a numerical method to realize reliable transformation, employing the maximum entropy method (MEM). We applied the developed actual 2D FLCS to two real systems, a dye mixture and a DNA hairpin. For the dye mixture, we found that 2D FLCS is experimentally feasible and that it can identify different species in an inhomogeneous sample without any prior knowledge. The application to the DNA hairpin demonstrated that 2D FLCS can disclose microsecond spontaneous dynamics of biological molecules in a visually comprehensible manner, through identifying species as unique lifetime distributions. A FRET pair was attached to the both ends of the DNA hairpin, and the different structures of the DNA hairpin were distinguished as different fluorescence lifetimes in 2D FLCS. By constructing the 2D correlation maps of the fluorescence lifetime of the FRET donor, the equilibrium dynamics between the open and the closed forms of the DNA hairpin was clearly observed as the appearance of the cross peaks between the corresponding fluorescence lifetimes. This equilibrium dynamics of the DNA hairpin was clearly separated from the acceptor-missing DNA that appeared as an isolated diagonal peak in the 2D maps. This study clearly shows that newly developed 2D FLCS can disclose spontaneous structural dynamics of biological molecules with microsecond time resolution.

Principal Investigator

田原 太平 Tahei Tahara

Research Staff

竹内 佐年 Satoshi Takeuchi
大澤 正久 Masahisa Osawa
山口 祥一 Shoichi Yamaguchi
石井 邦彦 Kunihiko Ishii
二本柳 聡史 Satoshi Nihonyanagi
乙須 拓洋 Takuhiro Otsu
藤澤 知績 Tomotsumi Fujisawa
倉持 光 Hikaru Kuramochi
井上 賢一 Kenichi Inoue

Zhengrong Wei

Prashant Singh

Matthew Sartin

Aniruddha Adhikari

Anton Myalitsin

Chao-Han Cheng

Students

松崎 維信 Korenobu Matsuzaki
田原 進也 Shinya Tahara
Achintya Kundu
Bidyut Sarkar
Doyk Hwang

Assistant and Part-timer

大里 砂里 Sari Osato
加藤 智子 Tomoko Kato
原 薫 Kaoru Hara

Visiting Members

藤野 竜也 Tatsuya Fujino
細井 晴子 Haruko Hosoi
岩村 宗高 Munetaka Iwamura