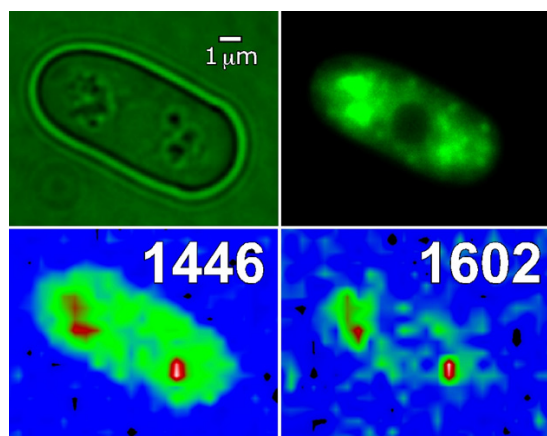


# STRUCTURAL CHEMISTRY

## Annual Research Highlights

### (1) Discovery of the “Raman Spectroscopic Signature of Life” in a Living Fission Yeast Cell

In a previous study, we found an intense unknown Raman band at  $1602\text{ cm}^{-1}$  in the mitochondria of a living fission yeast cell (*Schizosaccharomyces pombe*). From a Raman mapping experiment of a cell whose mitochondria are GFP labeled (Fig. 1), we proved that the  $1602\text{ cm}^{-1}$  band came exclusively from mitochondria. We also found that the intensity of this band was correlated strongly with the living activity of the cell. This relationship of the  $1602\text{ cm}^{-1}$  band with the cell activity was examined by a respiration inhibiting experiment using KCN. Soon after adding KCN, the  $1602\text{ cm}^{-1}$  band became weaker, while the other Raman bands ascribed to phospholipids remained unchanged. Then, the  $1602\text{ cm}^{-1}$  band became further weaker and disappeared eventually, and the phospholipid bands changed their shapes gradually. We suspect that the intensity of the  $1602\text{ cm}^{-1}$  band is a measure of the metabolic activity in mitochondria and that the gradual changes of the phospholipid bands arise from the structural degradation of the mitochondrial membranes induced by the lowered metabolic activity. These Raman spectral changes are most likely to reflect the early dying process of a living yeast cell. In this regard, we call the  $1602\text{ cm}^{-1}$  band the “**Raman spectroscopic signature of life**”. The discovery of this signature has opened up a new possibility of molecular level elucidation and quantification of life.

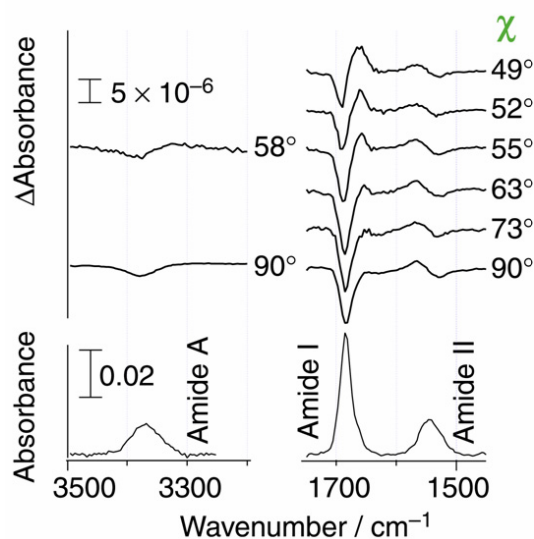


**Fig. 1** Microscopic image (upper left), GFP image of mitochondria (upper right) and Raman mapping images of a fission yeast cell. The  $1446\text{ cm}^{-1}$  band is from phospholipids.

1.(1)-7) *J. Raman Spectrosc.*, **35**, 525-526 (2004).

### (2) Development of Infrared Electroabsorption (IREA) Spectroscopy and Its Application to Structural Studies

Infrared electroabsorption (IREA) spectroscopy provides unique higher-order vibrational information on molecular species existing in liquids and solutions. Species having distinct dipole moments are detected distinctly by IREA spectra and their dipole moments are determined separately. On account of technical difficulties, however, IREA was so far applicable only to wavenumber regions higher than  $3000\text{ cm}^{-1}$ . We developed a new IREA system based on a dispersive spectrometer and the AC-coupling detection scheme. It is capable of detecting infrared absorbance changes as small as  $10^{-8}$  in  $\Delta A$  and enables the measurements of IREA in the fingerprint region. Fig. 2 shows the IREA spectra of a 1,4-dioxane solution of N-methylacetamide observed with varying angle ( $\chi$ ), the angle between the incident infrared electric vector and the direction of the applied external electric field. The high S/N ratio in these spectra enabled us to analyze the  $\chi$  dependence by SVD (Singular Value Decomposition) and determine the dipole moments of the dimer as well as the monomer of N-methylacetamide in 1,4-dioxane. The analysis shows that the dimer has a **head-to-tail structure**. As far as we are aware, this is the first experimental structural determination of a dimer species in solution.



**Fig. 2** Infrared electroabsorption spectrum of N-methylacetamide in 1,4-dioxane.

1.(1)-9) *Appl. Spectrosc.*, **58**, 355-366 (2004).

# 構造化学研究室

## 研究ハイライト

### (1) 「生命のラマン分光指標」の発見

これまでの研究で、分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 生細胞中のミトコンドリアのラマンスペクトルに、未知の分子種に由来する強いバンドを波数  $1602\text{ cm}^{-1}$ に見出していた。GFPでミトコンドリアを標識した試料の測定から、この $1602\text{ cm}^{-1}$ のバンドを与える分子種は、ミトコンドリアに局在することを証明した (図1)。また、このバンドが、酵母細胞の生命活性を鋭敏に反映することを見出した。そこで、観察中の分裂酵母の培養液にKCNを加えて呼吸を阻害し、その後のラマンスペクトル変化を調べたところ、KCN添加後数分で $1602\text{ cm}^{-1}$ のバンドが急速に強度を失い、36分後には完全に消失した。一方、同時に観測されるリン脂質のバンドは、最初殆ど変化しないが、その後徐々に幅が広がり、形が崩れた。これらのスペクトル変化は、呼吸阻害によるミトコンドリア内の代謝活性の低下と、それに続くミトコンドリア膜構造の崩壊を示しているものと考えられる。換言すると、これらのスペクトル変化は、呼吸阻害による酵母細胞の死の初期過程を、ラマンスペクトルによって分子レベルで捉えたものである。その意味で、我々は $1602\text{ cm}^{-1}$ のバンドを「生命のラマン分光指標」と呼んでいる。このバンドを与える分子種はまだ特定されていないが、呼吸鎖中に存在する未知の反応中間体である可能性が高い。この指標の発見により、生命を分子レベルで定量的に議論するための手がかりを得た。

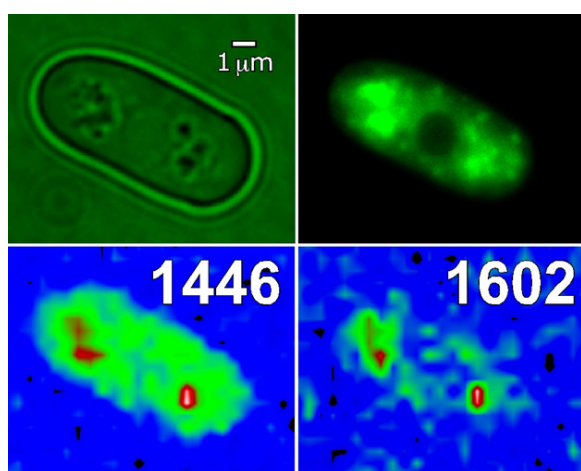


図1. 分裂酵母の顕微鏡像 (左上) およびミトコンドリアGFP像 (右上) とラマンマッピング像。1446  $\text{cm}^{-1}$  はリン脂質のバンド。

1.(1)-7) *J. Raman Spectrosc.*, **35**, 525-526 (2004).

### (2) 電場変調赤外分光法の開発と構造化学への応用

電場変調赤外吸収分光は、外部から印加した電場によって誘起される赤外線吸収スペクトルの変化から、通常の赤外分光では得られない高次の分子情報を得るユニークな分光手法である。例えば、溶液中に存在する複数の化学種を、その双極子能率の大きさに従って分別検出し、それぞれの電気双極子能率の大きさを決定することができる。このような重要性にも拘らず、技術上の困難が大きく、溶液・液体試料の電場変調赤外吸収測定は $3000\text{ cm}^{-1}$ の高波数領域に限られていた。我々は、分散型分光器をAC結合検出方式と組み合わせた方式により、 $10^{-8}$ の微小な吸光度変化を検出することができる新しい装置を開発した。その結果、指紋領域での溶液・液体試料の電場変調赤外分光を可能とした。図2は、この新しい装置によって得られた1,4-ジオキサン中のN-メチルアセトアミドの電場変調赤外吸収スペクトルの角度 $\chi$  (入射赤外光電場と外部印加電場のなす角) 依存性の実験結果である。高いS/N比が得られているので、この角度依存性を特異値 (SVD) 解析し、1,4-ジオキサン中のN-メチルアセトアミドの単量体および2量体の電気双極子能率を決めることができた。その結果、2量体が **head-to-tail 型構造**をとることが明らかになった。我々の知る限り、この結果は、溶液中の2量体の構造を実験的に明らかにした初めての例である。

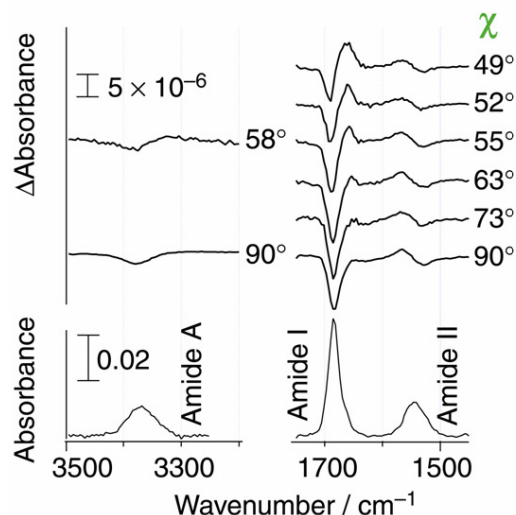


図2. 1,4-ジオキサン中のN-メチルアセトアミドの電場変調赤外吸収スペクトルの角 $\chi$ 依存性。

1.(1)-9) *Appl. Spectrosc.*, **58**, 355-366 (2004).

## 1. 原著論文

### (1) Refereed Journals

- 1) Koichi Iwata, Tomohisa Takaya, Hiro-o Hamaguchi, Akira Yamakata, Taka-aki Ishibashi, Hiroshi Onishi, and Haruo Kuroda, "Carrier Dynamics in TiO<sub>2</sub> and Pt/TiO<sub>2</sub> Powders Observed by Femtosecond Time-Resolved Near-Infrared Spectroscopy at a Spectral Region of 0.9-1.5 μm with the Direct Absorption Method", *J. Physical Chem. B*, **108**, 52 20233-20239 (2004).
- 2) Hideaki Kano and Hiro-o Hamaguchi, "Femtosecond coherent anti-Stokes Raman scattering spectroscopy using supercontinuum generated from a photonic crystal fiber", *Appl. Phys. Lett.*, **85**, 19 4298-4300 (2004).
- 3) Tomohisa Takaya, Hiro-o Hamaguchi, Haruo Kuroda, and Koichi Iwata, "Femtosecond electron transfer dynamics of 9,9'-bianthryl in acetonitrile as studied by time-resolved near-infrared absorption spectroscopy", *Chem. Phys. Lett.*, **399**, 210-214 (2004).
- 4) Kenro Yuzaki and Hiro-o Hamaguchi, "Intercalation-induced structural change of DNA as studied by 1064 nm near-infrared multichannel Raman spectroscopy", *J. Raman Spectrosc.*, **35**, 1013-1015 (2004).
- 5) Satoshi Hayashi and Hiro-o Hamaguchi, "Discovery of a Magnetic Ionic Liquid [bmim]FeCl<sub>4</sub>", *Chem. Lett.*, **33**, 12 1590-1591 (2004).
- 6) Hideaki Katayanagi, Satoshi Hayashi, Hiro-o Hamaguchi and Keiko Nishikawa, "Structure of an ionic liquid, 1-n-butyl-3-methylimidazolium iodide, studied by wide-angle X-ray scattering and Raman spectroscopy", *Chem. Phys. Lett.*, **392**, 460-464 (2004).
- 7) Yu-San Huang, Takeshi Karashima and Masayuki Yamamoto, "Raman spectroscopic signature of life in a living yeast cell", *J. Raman Spectrosc.*, **35**, 525-526 (2004).
- 8) Toshifumi Iimori, Takashi Iwahashi, Hisao Ishii, Kazuhiko Seki, Yukio Ouchi, Ryosuke Ozawa, Hiro-o Hamaguchi and Doseok Kim, "Orientational ordering of alkyl chain at the air/liquid interface of ionic liquids studied by sum frequency vibrational spectroscopy", *Chem. Phys. Lett.*, **389**, 321-326 (2004).
- 9) Hirotsugu Hiramatsu and Hiro-o Hamaguchi, "Development of Infrared Electroabsorption Spectroscopy and Its Application to Molecular Structural Studies", *Appl. Spectrosc.*, **58**, 4 355-366 (2004).

## 2. 総説・解説

- 1) 関栄根、伊藤利昭、濱口宏夫: 「近赤外分光法、V. 近赤外励起ラマン分光」、*分光研究* **53**, 5 318-331 (2004).