高電位鉄イオウタンパク質 HiPIP の 超高分解能結晶構造と電荷密度解析

京都大学大学院理学研究科 竹田一旗, 三木邦夫

量子科学技術研究開発機構 (QST) 平野 優

Kazuki TAKEDA, Yu HIRANO and Kunio MIKI: Ultra-high Resolution Crystal Structure and Charge Density Analysis of High-potential Iron-sulfur Protein, HiPIP

We have determined the crystal structure at 0.48 Å resolution of high-potential iron-sulfur protein, HiPIP, which is a small soluble protein playing as an electron carrier in photosynthetic bacteria. The ultra-high resolution structure of HiPIP enabled us to perform charge-density analyses where distributions of valence electrons were clearly visualized as the first case of metalloproteins. A topological analysis of the charge density provided electronic structure information for the iron-sulfur (Fe_4S_4) cluster as well as the peptide portion.

1. はじめに

現在, PDB (Protein Data Bank) には12万を超えるタンパク質の構造が登録されている. そのうち85%程度がX線結晶解析法によるもので, 3~1.5 Åの分解能で決定されたものである. このような通常の分解能でのX線構造解析では, 電子密度上で個々の原子は分離できない (図1a). したがって, 電子密度の塊の中にポリペプチドの主鎖や側鎖の構造をあてはめることで, タンパク質のフォールディングならびに活性部位の構造を解明している. 1.5 Å分解能以上の高分解能になると各原子は分離され始める (図1b). 分解能が高くなるにつれて, 非水素原子を異方性温度因子で精密化することが可能にな

り, より多くの水素原子を電子密度で確認できるようになる. 0.8 Å分解能以上では, ほとんどすべての水素原子を解析に含めることが可能となり, 構成される各原子を孤立した電子密度として観測できるようになる (図1c). また, 非球状の電子密度分布を多極子展開法により解析することも可能となる. これにより, ペプチド結合の結合電子や非共有電子対, 金属の d 電子などの外殻電子分布に関する実験的な情報を得ることができる.^{1),2)} しかし, そのような高分解能での構造解析例は少なく, 0.8 Å分解能以上の解析例はPDBの登録数のわずか0.05%程度 (70件程度) に過ぎない. しかしながら, 近年の放射光施設の高度化に相まって, このような超高分解能構造解析は, とくに今世紀に入ってから着実にその数を増や

図1 さまざまな分解能におけるタンパク質結晶の電子密度図. (Electron density maps at various resolutions.) HiPIPの Fe_4S_4 クラスター (上), およびポリペプチド鎖とトリプトファン残基 (下). $2F_o - F_c$ マップ (1.5 σ) を灰色の表面として, 水素原子をオミットした $F_o - F_c$ マップ (3 σ) を水色の表面として示した. (a) 3.0 Å分解能. (b) 1.5 Å分解能. (c) 0.8 Å分解能. 編集部注: カラーの図はオンライン版を参照下さい.

している。

高電位鉄イオウタンパク質 (HiPIP) は, 光合成細菌の光合成電子伝達系において, シトクロム *bc₁* 複合体から反応中心複合体への電子伝達を行い, 反応中心のスペシャルペア (バクテリオクロフィル二量体) を再還元する役割を担う可溶性タンパク質である。アミノ酸 80 残基程度の小さなタンパク質で, 酸化還元中心として 1 分子当たり 1 個の Fe_4S_4 クラスターを有し, その酸化還元電位は +350 mV 程度である。³⁾ このタンパク質の結晶構造はいくつかの光合成細菌由来のものについて決定されており, 現在, PDB にはおよそ 20 個の HiPIP の構造が登録されている。この HiPIP の結晶構造解析は高分解能のものが多く, 1 Å 分解能を超えるものもいくつか見受けられる。

われわれは, 好熱性の紅色光合成細菌 *Thermochromatium tepidum* を対象に, 光合成電子伝達系に含まれるタンパク質群の構造研究を行ってきた。^{4),5)} この細菌由来の HiPIP については継続的に構造解析を行い, 1.5 Å, 0.8 Å, 0.7 Å 分解能と徐々に分解能を高めて,^{4),6),7)} ごく最近には 0.48 Å 分解能での結晶構造を報告した。⁸⁾ これは現在, PDB に登録されている中で, 最も高い分解能のタンパク質構造の 1 つである。また, 高精度の分子構造情報を提供するだけでなく, 金属タンパク質中での多核金属錯体の電荷密度分布を初めて実験的に決定できたという点で画期的である。

2. 構造解析

2.1 結晶化およびデータ収集

HiPIP の結晶は, 1,4-dithiothreitol (DTT) 存在下で硫酸アンモニウムを沈殿剤として作製した。⁷⁾ この結晶は非常に高い回折能を有していた。しかしながら, 通常のタンパク質結晶の回折実験に使用される波長の X 線では, 0.7 Å 分解能を超える回折反射は回折角が大きくなりすぎて観測することができなかった。そこで, SPring-8 の BL41XU ビームラインにおいて, 波長 0.45 Å (27.6 keV)

の高エネルギー X 線を用いて回折実験を行った。測定には CCD 検出器 Rayonix MX225 を使用した。1 個の結晶 ($0.8 \times 0.2 \times 0.1 \text{ mm}^3$) から測定条件を変えて, 高分解能, 中分解能, 低分解能の 3 データセットを取得した (表 1)。高分解能データの測定においては, ヘリカルデータ収集法⁹⁾ により結晶を並進させながら X 線を照射した。また, 照射位置当たりの X 線吸収線量を $\sim 6 \times 10^5 \text{ Gy}$ 以下に抑え X 線による影響を抑制した。これは, 通常の構造解析で適用される吸収線量限界 ($2\text{--}3 \times 10^7 \text{ Gy}$)^{10),11)} の 1/50 程度でしかないが, このような測定条件でも 0.48 Å 分解能以上の回折反射を確認することができた (図 2a)。回折点強度の積分およびスケリングは HKL2000 プログラム¹²⁾ を用いて行い, 高, 中, 低分解能のデータをマージした。その結果, 0.48 Å 分解能の 1 つのデータセットとすることができた (表 1)。最外殻分解能 (0.50–0.48 Å) の R_{sym} 値は 33.9%, $I/\sigma(I)$ は 2.7 であった (図 2b)。

2.2 精密化の流れ

超高分解能データの精密化の流れを図 3a に示す。まず, *SHELXL* プログラム¹³⁾ を使用した孤立球状原子モデル (Independent spherical atomic model : ISAM) 解析を行った。この段階で, 各原子の周りに球状原子モデルでは説明できない残余電子密度を確認することができた。この構造を基に多極子原子モデル (Multipolar atomic

表 1 データ収集条件。(Conditions for data collection.)

Sub-data set	Low angle	Middle angle	High angle
Wavelength (Å)	0.45	0.45	0.45
Beam size (μm^2)	50×50	50×50	50×50
Photon flux (photon/sec)	3.6×10^9	1.9×10^{10}	3.8×10^{10}
Cooling gas	N_2	N_2	N_2
Temperature (K)	100	100	100
Camera length (mm)	250	150	70
Oscillation angle ($^\circ$ /frame)	1.0	1.0	1.0
Total frames	180	180	180
Exposure time (sec)	0.5	0.5	12
Dose per frame (Gy)	1.1×10^2	5.8×10^2	2.6×10^4
Accumulated dose (Gy)	2.0×10^4	1.0×10^5	6.2×10^5

図 2 0.48 Å 分解能の回折データ。(Diffraction data at 0.48 Å resolution.) (a) 回折イメージ (部分). (b) R_{sym} (黒), $\langle I \rangle / \langle \sigma(I) \rangle$ (灰色) の分解能依存性。編集部注: カラーの図はオンライン版を参照下さい。

model : MAM)¹⁴⁾を使用した電荷密度解析を行った。この解析では、個々の原子の電子密度 ρ_{atom} は内殻電子(第1項)によるものと外殻電子(第2項および第3項)によるものと和である。第3項において球面調和関数を使用して多極子展開することで、非球状の分布が記述される。

$$\rho_{\text{atom}}(\mathbf{r}) = \rho_{\text{core}}(r) + P_{\text{val}} \kappa^3 \rho_{\text{val}}(\kappa r) + \sum_l \kappa^3 R_l(\kappa' r) \sum_m P_{lm\pm} y_{lm\pm}(\theta, \varphi)$$

ここで、 ρ_{core} は内殻電子の電子密度、 ρ_{val} は価電子の球状電子密度、 κ と κ' は電子雲の広がり具合を表す係数、 $R_l(\kappa' r)$ はスレーター型の動径関数、 $y_{lm\pm}$ は球面調和関数、 P_{val} と P_{lm} は寄与の度合いを表す係数である。今回のMAMによる電荷密度解析では、*MoPro*プログラムを用いた。¹⁵⁾ まず、外殻電子の影響を除くため、1 Å分解能より高分解能側のデータのみを用いて座標と温度因子の精密化を行った。その後、低分子を用い決定された多極子パラメータを初期値として導入した。¹⁶⁾ $\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Cys-S})_4$ クラスターの部分には多極子パラメータの初期値は利用できないため、各原子の電荷の決定に重要なパラメータ(P_{val} , κ)についてはグリッドサーチ法により決定した。続いて、シングルコンフォメーションのアミノ酸残基、水分子、 $\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Cys-S})_4$ クラスターについて $P_{lm\pm}$ ($l \leq 4$)の精密化を行った(図3b)。次に、それら

の原子について座標、温度因子の精密化を行い、最後に P_{val} パラメータの精密化を行った。ISAM解析後には、ペプチド結合や芳香環の結合部分や、 $\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Cys-S})_4$ クラスターのFe, S原子周辺に残余電子密度のピークが観測されていたが(図3c), MAM解析の結果それらの残余電子密度は大幅に減少した(図3d)。MAM解析後の R_{work} , R_{free} は7.16%, 7.80%となりISAM解析より約1%低下した(表2)。

表2 結晶学的データおよび精密化の統計値。(Crystallographic data and refinement statistics.)

	Reduced HiPIP
Crystallographic data	
Space group	$P2_12_12_1$
a, b, c (Å)	46.48, 58.91, 23.44
Resolution (Å)	20–0.48 (0.50–0.48)
R_{sym} (%)	5.6 (33.9)
$\langle I \rangle / \langle \sigma(I) \rangle$	61.1 (2.7)
Completeness (%)	96.3 (89.0)
Redundancy	5.4 (3.0)
Refinement	
Resolution (Å)	20–0.48
No. reflections	301,119
$R_{\text{work}}/R_{\text{free}}$ (%) (ISAM)	8.24/8.63
$R_{\text{work}}/R_{\text{free}}$ (%) (MAM)	7.16/7.80
No. of non-H atoms	1113
No. of H atoms	890
Data to parameter ratio (MAM)	21.9

図3 超高分解能データの精密化手順。(Refinement procedure of ultra-high resolution data.) (a) 解析のフローチャート。(b) 多極子精密化を行った原子を赤色のスティックモデルで示している。(c) ISAM精密化終了後の残余電子密度。(d) MAM精密化終了後の残余電子密度。編集部注：カラーの図はオンライン版を参照下さい。

2.3 トポロジー解析

電荷密度解析により得られる精密な電子密度の形状をAtoms-in-molecules (AIM) 理論に基づいてトポロジー解析することで、分子中の各原子の性質や原子化学結合に関する情報を引き出すことが可能である。^{17),18)} 本研究におけるトポロジー解析には、*VMoPro* プログラムを使用した。¹⁵⁾ 図4aは鉄イオウクラスター近傍の勾配ベクトルマップであり、電子密度の勾配ベクトル ($\nabla\rho$) をつないだ線を表示している。この線量が0となる面は分子中での原子どうしの境界を規定する。図4bは鉄イオウクラスター近傍のラプラシアンマップ ($\nabla^2\rho$) であり、電子密度の二次微分をとることで、膨らみや窪みが強調され、電子の局在に関する情報を電子密度そのものよりも鋭敏に検出することが可能である。この図からは、結合の方向に正の値をとる領域が伸びていることが確認できる。トポロジー解析において、結合経路は原子間における電子密度の極大点の連なりとして定義される。一般に、結合経路は直線ではなくわずかに湾曲した曲線である。結合経路に沿った電子密度の極小点は、結合経路に垂直な平面においては電子密度の極大点でもあるために三次元的な鞍点となっており、結合臨界点 (Bond critical point: BCP) と呼ばれる。結合臨界点では、 $\nabla\rho = 0$ となる。結合臨界点における電子密度 (ρ_{BCP}) および電子密度のラプラシアン ($\nabla^2\rho_{BCP}$) には、結合の性質が反映される。結合臨界点の位置についても、トポロジー解析により決定することができる。結合臨界点は湾曲した結合経路上にあり、原子間に引かれた直線からわずかに外れている (図4a)。結合臨界点は $\nabla^2\rho_{BCP}$ の負の領域に位置し (図4b)、多くの金属錯体と同じ傾向を示す。また、各原子の電荷は、各原子の領域内の電子密度を積分することで算出される。この電荷計算には *Bader* プログラムを使用した。¹⁹⁾

図4 電荷密度のトポロジー解析. (Topological analysis of charge density.) (a) 鉄イオウクラスター部分の勾配ベクトル ($\nabla\rho$) マップ. “+” は結合臨界点 (BCP) の位置を表す. (b) ラプラシアン ($\nabla^2\rho$) マップ. 赤色の実線および青点の点線は、正および負の値をもつ等高線を表す. 編集部注: カラーの図はオンライン版を参照下さい.

3. 解析結果

3.1 ペプチド結合

通常のタンパク質構造解析においては、ペプチド結合の二面角 (ω) は平面構造 ($\omega = 180^\circ$) となるように立体化学的な制限をかけている。一方、タンパク質の超高分解能構造においては、このような平面構造からのずれが観測されている。²⁰⁾ これまでのHiPIPの構造をみると、1.5 Å分解能の構造 (PDB-ID:1EYT) では ω 角は 180° 付近に集中しているが、0.8 Å分解能の構造 (PDB-ID:1IUA) では、すでに平面構造からのずれが観測される (図5a)。今回の解析では、外殻電子の影響を排除して原子座標を精密化できたため、平面構造からのずれをこれまでよりも高精度でとらえることができた (図5a)。Fe₄S₄ クラスターのFe原子と共有結合するCys残基の周辺で、 10° 程度のずれが多く観測された (図5b)。このような平面構造からの歪みのために、ペプチド結合の共鳴構造が部分的に崩れていると考えられる。^{21),22)} このような平面構造から外れたペプチド結合のアミド水素はC-N-C α 平面から外れた位置に存在し、水素結合のアクセプターである酸素

図5 ペプチド結合のひずみ. (Distortion on peptide bonds.) (a) これまでに解析されたHiPIPの構造における、平面構造からのずれのヒストグラム. (b) 平面構造からずれたペプチド結合 (赤色). (c) Static deformation マップ ($\Delta\rho_{static}(\mathbf{r}) = \sum_{j=1}^{N_{atom}} [\rho_{MAM}(\mathbf{r} - \mathbf{r}_j) - \rho_{ISAM}(\mathbf{r} - \mathbf{r}_j)]$) (黄色: $+0.1 \text{ e}/\text{\AA}^3$, オレンジ: $+0.3 \text{ e}/\text{\AA}^3$) を表面として、水素原子のオミットマップ (3σ) を水色のメッシュとして表示した. 編集部注: カラーの図はオンライン版を参照下さい.

図6 鉄イオウクラスター。(Iron-sulfur cluster.) (a) Fe_4S_4 型の鉄イオウクラスターの模式図。FE1, FE2, S3, S4 から構成されるサブクラスター 1 (赤色の斜線網掛け) および FE3, FE4, S1, S2 から構成されるサブクラスター 2 (青色の点の網掛け)。括弧内の数字は各原子の電荷。(b) Static deformation マップ。鉄原子, イオウ原子およびシステイン残基の S_γ 原子近傍の電子密度をそれぞれ赤, 黄色および緑色の表面で表示した。編集部注: カラーの図はオンライン版を参照下さい。

原子の非共有電子対の方向に向くような構造をとっていた (図 5c)。

3.2 鉄イオウクラスター

これまでの分光学的および理論的な研究により, *Chromatium vinosum* 由来の還元型 HiPIP においては, 六面体型の Fe_4S_4 クラスターは 2 つのひし形の Fe_2S_2 サブクラスターに分けられることが示唆されている²³⁾ それぞれのサブクラスターでは 2 つの鉄原子は強磁性的に相互作用しており, 合成スピン角運動量は $S = 9/2$ となっている。また, サブクラスターどうしは反強磁性的に相互作用しており, Fe_4S_4 クラスター全体での合成スピン角運動量は $S = 0$ である。*T. tepidum* 由来 HiPIP は, *C. vinosum* のものとほぼ同一のアミノ酸配列をもっている。したがって, 1 つのサブクラスター 1 は FE1, FE2, S3, S4 から, サブクラスター 2 は, FE3, FE4, S1, S2 から構成されることになる (図 6a)。

Fe_4S_4 クラスターは, HiPIP の 4 つのシステイン残基の側鎖の S_γ 原子に共有結合し, 合わせて $\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Cys-S}_\gamma)_4$ クラスターを形成している。電荷密度解析の結果, 鉄原子の周りには $3d$ 電子の密度を, イオウ原子のまわりにも $3p$ 電子に対応する電子密度を観測でき, 多極原子モデルによる精密化に取り込むことができた (図 6b)。

結合臨界点における電子密度の大きさ ρ_{BCP} は, 結合の強さに密接に関連している。 $\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Cys-S}_\gamma)_4$ クラスターの中の 16 本の Fe-S 結合をプロットすると, 予想どおりに結合距離と ρ_{BCP} の間に負の相関が見られた。しかしながら, 短い結合距離をもつ FE1-S2 と FE2-S1 においては, 結合距離から予想される値よりも ρ_{BCP} が低いことが判明した。このことは, これらの結合においては, 結合距離が短いにもかかわらず電子的な相互作用が弱いことを示している。

3.3 相互作用と電荷

電荷についても, それぞれの原子に対して決定するこ

図7 鉄イオウクラスターとタンパク質の相互作用。(Interactions between the iron-sulfur cluster and protein environment.) Static deformation マップを表面プロットで表示, 水素原子のオミットマップ (3σ) を水色のメッシュとして表示。編集部注: カラーの図はオンライン版を参照下さい。

とができたが, 鉄原子に関しては +0.9 から +1.5, イオウ原子に関しては -1.6 から -0.1 の値となった。これらの値は, 形式電荷よりも小さな絶対値になっている。最も小さな電荷をもっている FE1 に配位しているイオウ原子 (S2, S3, S4, および Cys43- S_γ) の電荷の合計値 (-4.1) は, ほかの鉄原子の場合 (-2.7 から -2.6) よりも明らかに小さな値となった。このことから, 電子は FE1 とその周りのイオウ原子に貯蔵されていることが示唆された。

電荷密度解析により, $\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Cys-S}_\gamma)_4$ クラスターとタンパク質との間の非共有結合性の相互作用における価電子の役割についても, 知見を得ることができた。例えば, S3 原子の $3p$ 電子が Trp78 の側鎖の水素原子の 1 つと相互作用している様子を実際に電子密度として観察することができた (図 7)。このような相互作用を各イオウ原子について見ると, イオウ原子の $3p$ 電子と相互作用をしている水素原子数とイオウ原子の電荷の値との間に高い相関が存在することが明らかとなった。このことから, $\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Cys-S}_\gamma)_4$ クラスターのイオウ原子とタンパク質の

水素原子の間の水素結合における共有結合性により、イ
 オウ原子の負電荷が減少している可能性が示唆される。

3.4 電子輸送機構

HiPIPがつかさどる電子輸送は、電子の受け取り、貯
 蔵および引き渡しに分けて考えることができる。今回の
 還元型 HiPIP の電荷密度解析からは、これらのうち、電
 子貯蔵についての知見を得ることができた。鉄イオウク
 ラスターの周辺での、鉄の3d軌道とイオウの3p軌道の
 重なり合いから、2つのサブクラスター内の原子間の電
 子的な相互作用は大きく、サブクラスター間の相互作用
 は小さいということを示すことができた。つまり、2つ
 のサブクラスターは電子的な相互作用が小さいことが判
 明した。電荷分布の結果を考慮すると、FE1, FE2, S3,
 S4から構成されるサブクラスター1が、電子の貯蔵にお
 いて主要な役割を担っていることが示唆された。

4. おわりに

今回の超高分解能での構造解析により、これまでの手
 法では解明できなかった電荷密度そのものの形状や電荷
 を解明することが可能となった。今後は酸化型 HiPIP に
 ついても同様の解析を進めることによって、酸化還元状
 態の違いによる電荷密度の変化を捉えていきたいと考
 えている。また、今回のような電荷密度解析を多くのタン
 パク質に適用するための汎用的手法の確立を目指したい。
 今のところ、電荷密度解析が適用できる分解能は0.8 Å
 が必要であり、これに近い分解能が偶然に得られた結晶
 に適用が限定されている。今後は、結晶の分解能を向上
 させる方法と解析に必要な分解能をできるだけ低くする
 方法を組み合わせ、電荷分布が機能理解に重要なタンパ
 ク質すべてに対象を拡大していきたい。このような汎用
 化が実現できれば、さまざまな系で電子構造に関する情
 報を実験的に決定できるため、現在は量子化学計算から
 しか得られないタンパク質の物性や反応性について直接
 議論することが可能となる。さらに、実験結果と量子化
 学計算の結果を直接に比較できるようになるため、実験
 と理論の双方に相乗効果を期待することができる。

謝 辞

研究室の楠本晃司修士、大野 拓修士の結晶作製など
 実験条件の最適化および両氏をはじめとする学生諸氏の
 回折データ収集への協力、ならびにSPRING-8, BL41XU
 ビームラインスタッフのデータ測定支援に感謝します。

文 献

- 1) 竹田一旗, 平野 優, 三木邦夫: 日本結晶学会誌 **52**, 14 (2010).
- 2) 竹田一旗, 三木邦夫: 生物物理 **51**, 96 (2011).
- 3) C. W. Carter Jr.: in "Handbook of Metalloproteins", A. Messerschmidt,
 R. Huber, T. L. Poulos, K. Weighardt, eds. Wiley (New York), 602
 (2001).

- 4) T. Nogi, I. Fathir, M. Kobayashi, T. Nozawa and K. Miki: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 13561 (2000).
- 5) S. Niwa, L. J. Yu, K. Takeda, Y. Hirano, T. Kawakami, Z. Y. Wang-Otomo and K. Miki: *Nature* **508**, 228 (2014).
- 6) L. Liu, T. Nogi, M. Kobayashi, T. Nozawa and K. Miki: *Acta Crystallogr.* **D58**, 1085 (2002).
- 7) K. Takeda, K. Kusumoto, Y. Hirano and K. Miki: *J. Struct. Biol.* **169**, 135 (2010).
- 8) Y. Hirano, K. Takeda and K. Miki: *Nature* **534**, 281 (2016).
- 9) D. Flot, et al.: *J. Synchrotron Rad.* **17**, 107 (2010).
- 10) R. Henderson: *Proc. Biol. Sci.* **241**, 6 (1990).
- 11) R. L. Owen, E. Rudirio-Pinera and E. F. Garman: *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **103**, 4912 (2006).
- 12) Z. Otwinowski and W. Minor: *Meth. Enzymol.* **276**, 307 (1997).
- 13) G. M. Sheldrick: *Acta Crystallogr.* **A64**, 112 (2008).
- 14) N. K. Hansen and P. Coppens: *Acta Crystallogr.* **A34**, 909 (1978).
- 15) B. Guillot, L. Viry, R. Guillot and C. Lecomte: *J. Appl. Crystallogr.* **34**, 214 (2001).
- 16) B. Zarychta, V. Pichon-Pesme, B. Guillot, C. Lecomte and C. Jelsch: *Acta Crystallogr.* **A63**, 108 (2007).
- 17) R. F. W. Bader: "Atoms in Molecules-A Quantum Theory", Oxford University Press (1990).
- 18) T. S. Koritsansky and P. Coppens: *Chem. Rev.* **101**, 1583 (2001).
- 19) M. Yu and D. R. Trinkle: *J. Chem. Phys.* **134**, 064111 (2011).
- 20) D. S. Berkholz, C. M. Driggers, M. V. Shapovalov, R. L. Dunbrack, Jr. and P. A. Karplus: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 449 (2012).
- 21) Y.-F. Wang, Z.-Y. Yu, J. Wu and C.-B. Liu: *J. Phys. Chem. A* **113**, 10521 (2009).
- 22) G. T. Smith, P. R. Mallinson, C. S. Frampton, L. J. Farrugia, R. D. Peacock and J. A. K. Howard: *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 5028 (1997).
- 23) A. Dey, C. L. Roche, M. A. Walters, K. O. Hodgson, B. Hedman and E. I. Solomon: *Inorg. Chem.* **44**, 8349 (2005).

プロフィール

竹田一旗 Kazuki TAKEDA
 京都大学大学院理学研究科
 Graduate School of Science, Kyoto University
 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
 Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan
 e-mail: ktakeda@kuchem.kyoto-u.ac.jp

平野 優 Yu HIRANO
 量子科学技術研究開発機構 高崎量子応用研究所
 東海量子ビーム応用研究センター
 Tokai Quantum Beam Science Center, National
 Institutes for Quantum and Radiological Science and
 Technology
 〒319-1106 茨城県那珂郡東海村大字白方2番地4
 Tokai-mura, Ibaraki 319-1106, Japan
 e-mail: hirano.yu@qst.go.jp

三木邦夫 Kunio MIKI
 京都大学大学院理学研究科
 Graduate School of Science, Kyoto University
 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
 Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan
 e-mail: miki@kuchem.kyoto-u.ac.jp