

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：34315

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K13940

研究課題名(和文)縮退四光波混合によるコヒーレント顕微分光の開発

研究課題名(英文)Development of coherent microscopic spectroscopy based on degenerate-four-wave-mixing

研究代表者

長澤 裕 (Nagasawa, Yutaka)

立命館大学・生命科学部・教授

研究者番号：50294161

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：光合成の光化学系II反応中心(PSII)の溶液について、岡山大学のグループとの共同研究で過渡吸収スペクトル測定を行い、論文発表した。その後、PSIIの結晶について、フェムト秒時間分解過渡吸収顕微分光による予備実験を、関西学院大学のグループとの共同研究で行った。PSII微結晶は、オイルバッチ式サンドイッチ結晶化法で作成し、約10マイクロメートルの薄い微小結晶を選択して測定を行った。縮退四光波混合によるコヒーレント顕微分光の測定には、倒立型光学顕微鏡を除振台の上に設置し、再生増幅型チタン：サファイアレーザー励起の非同軸光パラメトリック増幅器(NOPA)からのレーザーパルスの導入を試みている。

研究成果の概要(英文)：Transient absorption (TA) spectroscopy was performed on the solution of photosystem II reaction center (PSII) in collaboration with a group in Okayama University, and the paper was published (Yoshida, Y., Yoshida, et al., J. Am. Chem. Soc., 138, (2016) 11599-11605). Subsequently, preliminary experiment on the microcrystal of PSII with femtosecond time-resolved TA micro-spectroscopy were conducted in a joint research with a group in Kwansai Gakuin University. PSII microcrystal was prepared by an oil-batch sandwich crystallization method, and the TA measurement was performed by selecting a thin microcrystal with a diameter of about 10 micrometers. For the measurement of coherent micro-spectroscopy by degenerate four-wave mixing, an inverted optical microscope was placed on a vibration isolation table and introduction of laser pulses from a non-collinear optical parametric amplifier (NOPA) excited with a regeneratively amplified Ti:sapphire laser is performed.

研究分野：超高速時間分解分光

キーワード：超高速分光 顕微分光 縮退四光波混合 過渡吸収スペクトル フェムト秒 核波束運動 光合成初期過程 エネルギー・電子移動

1. 研究開始当初の背景

研究者は、フェムト秒パルスレーザーを用いた多光子励起蛍光顕微鏡を開発し、それを応用した実験を行っている。光学顕微鏡内では、短いパルス幅を維持することが難しいが、分散媒体の影響を受けにくい近赤外の Cr: Forsterite レーザーを使用することで、パルス幅 35 fs の多光子励起蛍光顕微鏡を実現した。【H. Matsuda, et al., *J. Phys. Chem. B*, **110**, 1091 (2006)】これほど短いパルスを用いると、顕微鏡下で多光子励起が可能となり、ピレン分子の微結晶から明瞭な 4 光子励起蛍光を観測することに成功した。

さらに研究者は、この多光子顕微鏡を応用し、フォトクロミック分子ジアリールエテンの単色繰り返し書き込み消去実験に成功している。【K. Mori, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 2621 (2011)】ジアリールエテンは紫外線照射で着色、可視光照射で脱色する分子である。本研究では、フォトクロミック反応を同一波長の近赤外線レーザーで繰り返すという技術を創成した(3光子で着色、2光子励起で脱色)。

これらの研究は、顕微鏡下でフェムト秒超短パルスレーザーを使用すると、非線形光学過程により、興味深い現象が起こることを示している。しかし、これらはすべて定常状態での観測であり、分子ダイナミクスを直接観測したものではない。今後は時間分解的な手法を取り入れて研究していく必要がある。

2. 研究の目的

分子振動の半周期よりも短いフェムト秒光パルスを使用すると、分子振動をコヒーレントに誘起し、核波束運動を観測することが可能となる。研究者は、縮退四光波混合の一種であるフェムト秒 3 パルスフォトンエコー(3PPE)を利用すると、特定の核波束運動を選択的に増幅できることを明らかにした。

【Y. Nagasawa, et al., *J. Phys. Chem. B*, **109**, 11946 (2005)】今後は、3PPE 法を発展させ、化学反応の新規なコヒーレント制御法を開発することが期待されている。このような超高速分光は、化学反応ダイナミクスを追跡する手法としては、究極的な時間分解能を有していると言える。これに対し、光の回折限界を突破し、究極的な空間分解能を有する顕微分光も開発が進み、凝縮系のミクロな不均一性を解明する研究に应用されている。本研究の目的は、こうした究極的な時間分解能と空間分解能を併せ持つコヒーレント制御分光法を開発することである。分子振動が周囲の微視的な環境の不均一性にどのような影響を受けるか解明し、さらにこれを超短光パルスにより制御することを目的とする。

3. 研究の方法

顕微過渡吸収(TA)測定系を構築し、核波束運動の波長依存性を観測する。プローブ光として使用する白色光の短いパルス幅を保持

するために、負の分散を持つプリズム対を導入した顕微分光専用の光学系を作製する。装置的に補正できない分散に関しては、TA スペクトル測定後、パソコン上で補正を行う。光学分散測定用の光学 Kerr 効果(OKE)測定系も平衡して構築する。3パルスフォトンエコー(3PPE)は TA 測定とは異なり、白色光は用いないが、3つのパルスを用いることが、この実験の困難な点となる。最初の2つのパルスのあいだで生じた干渉縞に3つ目のパルスを回折させて測定する。顕微鏡下で干渉縞を生じた実験は既に報告されており、3つ以上のパルスを顕微鏡に入射した例もあるので、顕微鏡下で 3PPE も実行可能であろう。

開発した非線形顕微分光測定系を用いて、微小結晶やナノ粒子、アモルファス等の不均一系で実験を行う。とくに結晶中では分子の配向を揃えることができるので、偏光した超短パルスレーザーを使用すれば、分子がランダムに分散した溶液やアモルファスとは異なる現象を観測できる。シアノバクテリアや植物の光化学系 II 反応中心(PSIIRC)はダイマーを形成し、その中には 70 個のクロロフィル(Chl)分子が存在するが、そのエネルギー伝達経路はよく解明されていない。PSIIRC の結晶はある程度配向しているため、偏光したレーザーを用い、特定の Chl を選択的に励起できれば、エネルギー移動経路を特定できる可能性がある。

4. 研究成果

岡山大学のグループとの共同研究で光合成の光化学系 II 反応中心(PSII)について、まずは溶液系で過渡吸収スペクトル測定を行い、PSII のモノマーとダイマーの光エネルギー移動と電荷分離過程を比較し、論文発表した。

【Y. Yoneda, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **138**, 11599 (2016)】励起光強度を上げていくと、蛋白質複合体中の複数のクロロフィルが励起されることにより、励起子-励起子対消滅が起こるようになる。ダイマーにおいても高効率に対消滅が起こることが観測され、ダイマー中のモノマー間でも高速のエネルギー移動が起こることが確認された。さらに奇妙なことに、二項定理に基づくモデル計算では、ダイマーの場合も一つしかラジカル対ができないことが示唆された。ダイマーでは反応中心が二つあるため、ラジカル対が二つ生成することも可能だが、一つしか生成しないため、なんらかの過剰光防御機構が存在することを示唆する。

その後、PSII の結晶について、フェムト秒時間分解過渡吸収顕微分光による予備実験を、関西学院大学のグループとの共同研究で行った。PSII 微結晶は、オイルバッチ式サンドイッチ結晶化法で作成した。この方法では、二枚のカバーガラスの間に PSII 溶液を挟み込んで固定し、これを軽質パラフィンオイル中に沈めて放置し、結晶化させる。これを顕微鏡下で観察すると、直径 100 マイクロメー

トル程度の結晶が多数確認されたが、このサイズの結晶はプローブ光が透過しなかった。そこで、約 10 マイクロメートルの薄い微小結晶を選択し、C-MOS 検出器を利用して、時間分解能 30 fs 程度で測定を行った。その結果、680 nm 付近の PSII の基底状態ブリーチが観測でき、過渡吸収測定には成功したが、550 nm から 650 nm にかけて励起光の散乱強度が大きく、時間変化も観測されなかった。今後は CCD カメラ等を使用して、実験精度を上げ、最終的には縮退四光波混合顕微分光によって、PSII における励起子のコヒーレント過程を観測する。

縮退四光波混合によるコヒーレント顕微分光の測定には、再生増幅型チタン：サファイアレーザー励起の非同軸光パラメトリック増幅器(NOPA)を使用した波長可変測定系を現在構築中である。倒立型光学顕微鏡を除振台の上に設置し、レーザーパルスの導入を試みている。なお、この実験系は、二波長四光波混合の実験系と同時進行で構築しているので、完成すれば多角的な測定装置となる。また、四光波混合においては、最初の2つのパルスで干渉縞を生じ、三番目のパルスの回折光を測定する。この原理を応用し、複数の高強度レーザーパルスを対物レンズで集光すると、ガラス等に複雑な微細パターンを焼き付けることができる。そこで今後は、フェムト秒パルスレーザーのマイクロ加工による人工構造色形成実験にもこの実験系を応用していく。

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. "Solvent dependent trans \rightarrow cis photoisomerization of N,N'-diacetyldiigo studied by femtosecond time-resolved transient absorption spectroscopy" H. Nakagawa, A. Matsumoto, A. Daicho, Y. Ozaki, C. Ota, Y. Nagasawa, *J. Photochem. Photobio. A: Chem.*, **358**, 308-314 (2018), 査読あり
DOI: 10.1016/j.jphotochem.2017.09.004
2. 「人工色素の付加による光合成アンテナ色素タンパク質複合体 (LH2) の光捕集機能の拡張」出羽毅久、長澤 裕、*生物物理*, **57**(5), 249-251 (2017) 査読あり
DOI: 10.2142/biophys.57.249
3. 「ベタイン色素によるトレハロースガラスの不均一性の観測」豊 淳史、平田 雄大、松本 誠史、大田 周志、長澤 裕、*低温生物工学会誌*, **63**(2), 109-113 (2017) 査読あり
<https://ci.nii.ac.jp/naid/130006706918>
4. "Energy Transfer between Subunits of Photosystem II Dimer Observed by Femtosecond Transient Absorption" Y. Yoneda, T. Katayama, Y. Nagasawa, H. Miyasaka, and Y. Umena, *International Conference on Ultrafast*

Phenomena, OSA Technical Digest (online), paper UTu4A.40 (2016) 査読あり

DOI: 10.1364/UP.2016.UTu4A.40

5. "Dynamics of Excitation Energy Transfer Between the Subunits of Photosystem II Dimer" Y. Yoneda, T. Katayama, Y. Nagasawa, H. Miyasaka, and Y. Umena, *J. Am. Chem. Soc.*, **138**, 11599-11605 (2016) 査読あり

DOI: 10.1021/jacs.6b04316

6. "Sub-100 fs Charge Separation and Subsequent Diffusive Solvation Observed for Asymmetric Bianthryl Derivative in Ionic Liquid." E. Takeuchi, M. Muramatsu, T. Katayama, Y. Yoneda, S. Ito, Y. Nagasawa, and H. Miyasaka, *J. Phys. Chem. C*, **120**, 14502-14512 (2016) 査読あり

DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b03593

〔学会発表〕(計 41 件)

1. 「Red-edge effect による糖ガラス中の分子運動抑制の観測」豊 淳史・長澤 裕・太田周志、日本化学会 第98春季年会 (2018)、2018
2. 「インジゴ誘導体の trans \rightarrow cis 異性化反応と励起状態寿命の関係」谷 駿太朗・中川博史・松本 誠史・大長 理子・太田 周志・長澤 裕、日本化学会 第98春季年会 (2018)、2018
3. 「N,N-Dimethylindole の溶媒極性に依存した構造変化」太田 周志・松本 誠史・大長 理子・長澤 裕、日本化学会 第98春季年会 (2018)、2018
4. 「Triphenylmethane 色素の分子対称性と不均一性の関係」中川 博史・松本 誠史・大長 理子・太田 周志・長澤 裕、日本化学会 第98春季年会 (2018)、2018
5. 「無蛍光性 cyclophosphoribide-a enol のフェムト秒過渡吸収測定」杉原 敬太・太田 周志・長澤 裕・木下 雄介・柏山 祐一郎・民秋 均、日本化学会 第98春季年会 (2018)、2018
6. 「変形菌子実体：薄膜干渉による発色」林 淳樹・太田 周志・長澤 裕・海老原 稜・吉岡 伸也・玉山 光典、第18回構造色シンポジウム、2017
7. 「対称性の高い TPM 色素の超高速無輻射失活過程」大長 理子・松本 誠史・中川 博史・太田 周志・長澤 裕、第7回 CSJ 化学フェスタ、2017
8. 「ベータカロテンの超高速エネルギー移動で観る光化学系 II コア複合体の光捕集ダイナミクス」米田勇祐・長澤 裕・宮坂 博・梅名 泰史、第11回分子科学討論会、2017
9. 「バイオハイブリッド光捕集アンテナ複合体における超高速エネルギー移動の波長依存性」長澤 裕・米田 勇祐・宮坂 博・森 太幹・水谷 尚登・近藤 政晴・出羽 毅久・野地 智康・南後 守・伊藤 繁、第11回分子科学討論会、2017
10. 「Red-edge 効果を用いたトレハロースガラス中の分子運動の解析」太田 周志・豊 淳

史・平田 雄大・松本 誠史・長澤 裕、第 11 回分子科学討論会、2017

11. "Femtosecond coherent wavepacket motions in the intramolecular charge separation of bianthryl derivatives" Y. Nagasawa, E. Takeuchi, M. Muramatsu, Y. Yoneda, T. Katayama, H. Miyasaka, 2017 年光化学討論会、2017

12. "Overlap integral dependence of ultrafast energy transfer in hybrid light-harvesting antenna complexes." Y. Yoneda, A. Gotoh, T. Noji, M. Kondo, H. Miyasaka, S. Itoh, T. Dewa, Y. Nagasawa, 2017 年光化学討論会、2017

13. 「N,N'-ジアセチルインジゴの trans cis 異性化反応への水素結合の影響」 中川 博史・尾崎 洋介・松本 誠史・大長 理子・太田 周志・長澤 裕、2017 年光化学討論会、2017

14. 「対称性の高い TPM 色素の超高速ダイナミクスの励起波長依存性」 大長 理子・松本 誠史・中川 博史・太田 周志・長澤 裕、2017 年光化学討論会、2017

15. 「N,N-dimethylindole の超高速無輻射失活過程における中間体」 松本 誠史・大長 理子・太田 周志・長澤 裕、2017 年光化学討論会、2017

16. 「2次元蛍光励起スペクトル測定によるトレハロースガラスの微視的環境評価」 太田 周志・豊 淳史・平田 雄大・松本 誠史・長澤 裕、2017 年光化学討論会、2017

17. 「変形菌の構造色」 林 淳樹・倉敷 真衣・太田 周志・長澤 裕・海老原 稜・吉岡 伸也・玉山 光典、2017 年光化学討論会、2017

18. "Structural Color in the Peridium of Myxomycete Fruiting Body" M. Kurashiki, A. Hayashi, C. Ota, Y. Nagasawa, R. Ebihara, S. Yoshioka, M. Tamayama, ICSEM9 The Ninth International Congress on the Systematics and Ecology of Myxomycetes, 2017

19. "Vibrational Coherences in Photoinduced Charge Transfer Systems" Y. Nagasawa, E. Takeuchi, M. Muramatsu, Y. Yoneda, T. Katayama, S. Nambu, H. Miyasaka, The 28th International Conference on Photochemistry (ICP 2017), 2017

20. "Energy Transfer Dynamics of Photosystem II Dimer Revealed by Femtosecond Transient Absorption Spectroscopy" Y. Yoneda, T. Katayama, Y. Nagasawa, H. Miyasaka, Y. Umena, The 28th International Conference on Photochemistry (ICP 2017), 2017

21. "Vibrational Wavepacket Motions in Charge Transfer Systems studied by femtosecond ultrafast spectroscopies." Y. Nagasawa, International Symposium on Pure & Applied Chemistry (ISPAC) 2017, 2017

22. 「光化学系 II コア複合体 dimer と monomer の光ダイナミクスの比較」 長澤 裕・米田 勇祐・片山 哲郎・宮坂 博・梅名 泰史、第 8 回光合成学会 年会およびシンポジウム、2017

23. 「ハイブリッド型光捕集アンテナ複合体

における超高速エネルギー移動の色素波長依存性」 米田 勇祐・森 太幹・水谷 尚登・近藤 政晴・野地 智康・南後 守・宮坂 博・伊藤 繁・長澤 裕・出羽 毅久、第 8 回光合成学会 年会およびシンポジウム、2017

24. 「ベタイン色素によるトレハロースガラスの不均一性の観測」 平田 雄大・松本 誠史・豊 淳史・太田 周志・長澤 裕、第 62 回低温生物工学会大会(セミナー及び年会)、2017

25. 「N,N-dimethylindole の無輻射失活過程における励起波長依存性」 松本 誠史・大長 理子・長澤 裕、日本化学会 第 97 春季年会 (2017)、2017

26. 「インジゴ誘導体の光異性化反応ダイナミクスにおける溶媒依存性」 中川 博史・大長 理子・松本 誠史・尾崎 洋介・長澤 裕、日本化学会 第 97 春季年会 (2017)、2017

27. 「対称性の高い triphenylmethane 色素の縮退した励起状態の超高速ダイナミクス」 大長 理子・松本 誠史・長澤 裕、日本化学会 第 97 春季年会 (2017)、2017

28. "Ultrafast excitation energy transfer of hybrid light-harvesting antenna complex system", Y. Yoneda, N. Mizutani, D. Mori, T. Noji, M. Kondo, H. Miyasaka, S. Itoh, Y. Nagasawa, T. Dewa, 日本化学会 第 97 春季年会 (2017)、2017

29. "Monomer and dimer of photosystem II compared by excitation intensity dependence of ultrafast transient absorption" Y. Nagasawa, Y. Yoneda, T. Katayama, H. Miyasaka, Y. Umena, 2017 International Conference on Artificial Photosynthesis, 2017

30. "Solvent dependent trans-cis isomerization of N,N'-diacetyldiindigo studied by time-resolved transient absorption spectroscopy", H. Nakagawa, A. Matsumoto, A. Daicho, Y. Ozaki, Y. Nagasawa, 2017 International Conference on Artificial Photosynthesis, 2017

31. "Annihilation Dynamics of Photosystem II Dimer Observed by Femtosecond Transient Absorption Spectroscopy" Y. Yoneda, T. Katayama, Y. Nagasawa, H. Miyasaka, Y. Umena, Artificial Photosynthesis: Faraday Discussion, 2017

32. 「変形菌ジクホコリの構造色」 長澤 裕、倉敷 真衣、海老原 稜、吉岡 伸也、2016 年第 17 回構造色シンポジウム、2016

33. "Wavelength Dependence of Ultrafast Energy Transfer in Hybrid Photosynthetic Antenna Complex Systems" Y. Yoneda, N. Mizutani, D. Mori, T. Noji, M. Kondo, H. Miyasaka, S. Itoh, Y. Nagasawa, T. Dewa, 9th Asian Photochemistry Conference (APC 2016), 2016

34. 「光化学系 II コア複合体 dimer の分子内エネルギー移動ダイナミクス」 米田 勇祐・片山 哲郎・長澤 裕・宮坂 博・梅名 泰史、第 10 回分子科学討論会、2016

35. 「非同軸型 OPA を利用したフェムト秒過渡吸収測定によるインジゴ誘導体の励起状態ダイナミクス」大長 理子・松本 誠史・中川 博史・尾崎 洋介・長澤 裕、2016 年光化学討論会、2016
36. "The excitation energy transfer mechanism of hybrid photosynthetic antenna complex system", Y. Yoneda, H. Miyasaka, N. Mizutani, D. Mori, T. Noji, M. Kondo, S. Itoh, T. Dewa, Y. Nagasawa, 2016 年光化学討論会、2016
37. "Energy Transfer between Subunits of Photosystem II Dimer Observed by Femtosecond Transient Absorption" Y. Yoneda, T. Katayama, Y. Nagasawa, H. Miyasaka, Y. Umena, International Conference on Ultrafast Phenomena, 2016
38. "Ultrafast annihilation dynamics of photosystem II monomer and dimer" Y. Yoneda, T. Katayama, Y. Nagasawa, H. Miyasaka, and Yasufumi Umena, The 77th Okazaki Conference Series: International Symposium on Ultrafast Dynamics in Molecular and Material Sciences, 2016
39. 「エネルギー移動と電子移動：光合成系から単純な有機分子まで」長澤 裕、公開シンポジウム“超短パルスによる機能性材料物性評価と応用への新展開”、2016
40. "Generation of white-light supercontinuum by NOPA driven by regeneratively amplified Ti:sapphire laser and its application to femtosecond ultrafast transient absorption spectroscopy" A. Matsumoto, A. Daicho, H. Nakagawa, Y. Nagasawa, Twelfth International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCPP16), 2016
41. "Photochromism of N,N'-diacetylidigo studied by femtosecond transient absorption spectroscopy" H. Nakagawa, A. Matsumoto, A. Daicho, Y. Ozaki, Y. Nagasawa, Twelfth International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCPP16), 2016

〔その他〕

ホームページ：

<http://www.ritsumei.ac.jp/lifescience/chem/laserpc/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長澤 裕 (Yutaka Nagasawa)

立命館大学・生命科学部・教授

研究者番号：50294161