

令和 6 年 4 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K03425

研究課題名(和文) 光合成初期過程における明準位・暗準位ダイナミクスのマルチ超高速分光による解明

研究課題名(英文) Dynamics of bright and dark states in primary process of photosynthesis investigated by multi ultrafast spectroscopy

研究代表者

吉澤 雅幸 (Yoshizawa, Masayuki)

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号：60183993

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：光合成初期過程の光捕集作用では明準位だけでなく暗準位も大きな役割を果たしている。本研究では、マルチ超高速分光法を開発して明準位と暗準位を区別して観測することを目的とした。

和周波発生用いた発光分光装置を開発し近赤外領域までの観測を行い、光合成系で高効率のドナー準位として期待されるフコキサンチンの明準位(ICT状態)の観測に成功した。吸収分光との比較により、明準位と暗準位のダイナミクスと高効率エネルギー移動の仕組みを明らかにした。

カーボンナノチューブへの応用を行ったが、発光信号は極めて弱かった。そこで、コヒーレント振動から明準位と暗準位を区別する試みを行い、有効な手法となることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

光合成初期過程は明・暗準位を含む複雑な系で起きており明準位からは高効率のエネルギー移動が期待されている。しかし、一般的な超高速分光法ではその明・暗状態の区別が困難なため、その詳細は明らかではなかった。本研究では同一の励起光で吸収分光と発光分光を行う分光装置を開発し明・暗準位を区別して観測することに成功した。これにより、光合成初期過程において明状態から高効率のエネルギー移動が起きていることを確かめた。また、コヒーレント振動の信号から励起状態が明状態か暗状態かの情報を得る可能性を示した。本研究の成果により超高速現象における明・暗状態を観測する新たな手法を提供することができた。

研究成果の概要(英文)：Not only bright levels but also dark levels play important roles in the light-harvesting function of the primary processes in photosynthesis. In this study, multiple-ultrafast spectroscopy technique to distinguish between bright and dark levels has been developed.

Femtosecond emission spectroscopy using sum frequency generation has been developed to observe the emission up to the near-infrared region. The bright level (ICT state) in fucoxanthin, which is expected to be a highly efficient donor level in photosynthesis, was successfully observed. By comparison with femtosecond absorption spectroscopy, the dynamics of the bright and dark levels and the mechanism of highly efficient energy transfer were clarified.

We applied this technique to carbon nanotubes, but the emission signal was extremely weak. Therefore, we attempted to distinguish between bright and dark levels from coherent vibrations and showed that it is an effective method.

研究分野：光物性物理

キーワード：超高速分光 明・暗準位 光合成初期過程 時間分解発光分光 カーボンナノチューブ コヒーレント振動

1. 研究開始当初の背景

光合成は地球上の生命を支える重要な反応である。その初期過程では光アンテナと呼ばれる色素蛋白複合体が幅広いスペクトルの太陽光を効率よく集める光捕集作用が行われている。光合成細菌ではナノサイズの色素蛋白複合体 (LH1, LH2) の構造が決定されたことで、理論的研究を含む多くの研究が行われてきた [1]。そのエネルギー移動を決める要因は基本的にはフェルスター機構で説明できる。しかし、ドナーであるカロテノイド (Car) とアクセプターであるバクテリオクロロフィル (BChl) の双方が明準位と暗準位をもつ複雑な系であるため (図 1)、その効率を決める要因は明らかではなかった。

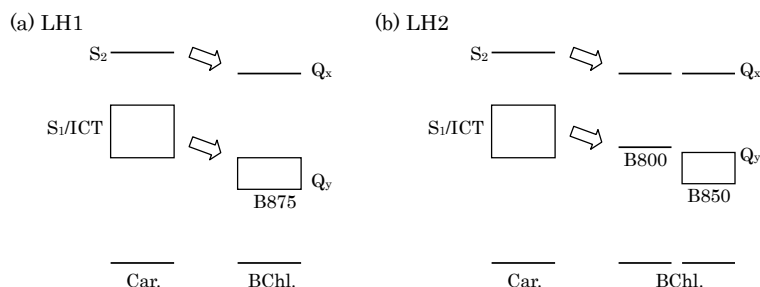


図 1 (a)LH1, (b)LH2 中のエネルギー移動過程のモデル。□が本研究で注目した明準位と暗準位が存在する準位。矢印はエネルギー移動を示す。

図 2 は代表的なカロテノイドの構造式である。一般的なカロテノイドは図 2(a)の β -カロテンのように 2 重結合が連続する共役 π 電子部分がほぼ対称であり、 C_{2h} の対称性をもつと仮定して電子状態を考えることができる。このとき、最低 1 重項励起状態 S_1 は光学禁制な暗準位となる。光学遷移が許容な最低 1 重項励起状態は S_2 であり、この準位で光エネルギーの吸収が行われる。 S_2 からのエネルギー移動は高速で起こるが、その寿命は約 0.1 ps と非常に短い。一方、 S_1 は比較的長寿命だが光学禁制のためにエネルギー移動が起こりにくいという問題があった。

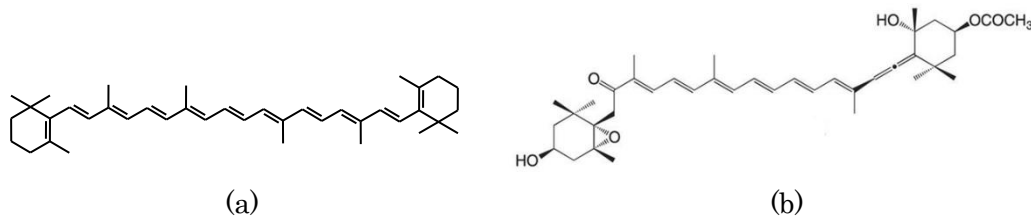


図 2 カロテノイドの分子構造。(a) β -カロテン、(b) フコキサンチン

近年、励起状態として光学許容な ICT 状態 (Intramolecular Charge Transfer :分子内電荷分離) をもつカロテノイドからのエネルギー移動が注目されるようになっていた [2]。また、アクセプター側では励起子コヒーレンスや光学禁制の暗励起子の役割も議論されていた [3]。光合成系以外でも半導体ナノ構造における暗励起子ダイナミクスなどが注目されていたが [4]、明準位と暗準位を積極的に区別する測定は試みられていなかった。

超高速現象の測定手法は超短パルス光を用いたポンプ・プローブ吸収分光が一般的である。しかし、吸収分光では 1 光子遷移が許容な準位間の観測しかできないため、暗状態を明確に測定することは難しかった。研究代表者は超高速発光分光法である Up-conversion 法と光 Kerr-Gate 法の両方の経験を持っており [5,6]、その長所と短所を熟知している。また、フェムト秒誘導ラマン分光法 (FSRS) に代表されるマルチ励起分光法を詳細に研究してきた [7]。このような経験から明状態と暗状態を区別して測定するマルチ超高速分光法の着想を得て開発を開始した。

本研究では光合成初期過程における明状態と暗状態のダイナミクスを含めたエネルギー移動過程の全貌が明らかにすることが目標とされ、光捕集作用高効率化への指針が得られることが期待された。本研究で開発される明準位と暗準位の直接測定手法は、光合成系以外の明・暗準位をもつ系に幅広く応用できると期待された。

2. 研究の目的

本研究では、明準位と暗準位を明確に区別できるマルチ超高速分光法の開発を第 1 の目的とした。現有の超高速吸収分光装置に、明準位観測のための Up-conversion 法 (和周波発生法) による発光分光装置を付け加えることとした。また、吸収分光でも明準位と暗準位を区別して観測を可能とするために、非線形光学効果や振動分光の手法を取り入れることを目指した。

開発するマルチ超高速分光法の応用として、光合成細菌の光合成初期過程の解明を目的とした。ドナーであるカロテノイドは S_2 (明)、 S_1 (暗)、ICT(明)の準位をもっている。特に ICT 準位からは高効率のエネルギー移動が起きることが予測されており、この準位のダイナミクスを明らかにする。アクセプターであるバクテリオクロフィルでは、エネルギーが蓄積させる Q_y 準位に注目する。 Q_y 準位はナノサイズのリング構造にコヒーレントに広がっており励起子特性をもつ。 Q_y 準位の明準位と暗準位のダイナミクスは極めて重要であるが、積極的な研究はほとんど行われていなかった。本研究では、光捕集過程に関わる全ての準位のダイナミクスを明らかにすることを目的とした。

さらに、明準位・暗準位が注目されている単層カーボンナノチューブ (SWNT) に対する本研究の手法の有用性を実証することを目的とした。

3. 研究の方法

超高速発光分光には Up-conversion 法と光 Kerr Gate 法があり、研究代表者は両方の開発経験をもっていた[5,6]。しかし、Up-conversion 法は高感度であるが調整が困難なことが課題であった。研究代表者が現有している分光装置 (図3) はプローブ光のチャープ・スペクトル制御を行う独自の機構を持っており、この光を参照光とすることで発光分光装置の調整を効率化し特性評価も行うことができる。これにより幅広い波長域の発光を高感度かつ高効率で測定することを可能とした。さらに、超高速吸収分光と発光分光を同一の励起光で測定することが可能となり、明準位と暗準位のダイナミクスを直接比較して議論することができる利点がある。

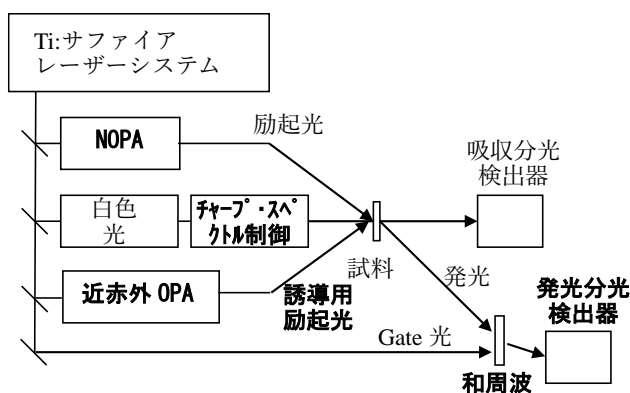


図3 マルチ超高速分光装置。
太字が本研究で開発および改良した部分

暗準位と基底状態との間の遷移は光学禁制であるが、暗準位よりも高い励起準位との間には光学許容な遷移がある。このため、吸収分光による暗準位の観測は高い準位への遷移が用いられていた。基底状態との間の遷移は一般に2光子過程に対して許容となるが、2光子過程の測定には高精度が必要である。また、明準位と暗準位では振動状態と結合した信号に差があることが期待されるので、振動分光により観測できる可能性がある。本研究で用いる吸収分光装置は世界でもトップクラスの透過率変化の測定精度 ($\Delta T/T < 10^{-4}$) をもっており、高精度の測定が可能である。そこで、近赤外の誘導励起光による誘導ラマン散乱や2光子吸収などの非線形光学応答や超短パルス励起光によるコヒーレント振動分光を用いて明準位と暗準位を区別して測定する手法の開発を行った。

光合成初期過程において明準位と暗準位をもつドナー分子としてフコキサンチン (図2(b)) の超高速発光分光と吸収分光を行う。カロテノイドの特徴的な暗準位である S_1 励起状態と非対称カロテノイドがもつ明準位である ICT 状態のダイナミクスを明らかにする。次に、光合成系色素蛋白複合体の測定を行う。対象としてはフコキサンチンを再会合した LH1 色素蛋白複合体を用い、フコキサンチンだけでなく BChl が作るリング構造に起因する励起子の明準位と暗準位のダイナミクスを明らかにする。測定結果の詳細な解析を行ってエネルギー移動に関わる準位の特性を明らかにし、光捕集作用の全貌を解明し高効率化の指針を得る。

開発した手法を同じように明準位と暗準位のダイナミクスが注目されている単層カーボンナノチューブ (SWNT) に応用し、赤外領域に吸収をもつ E11 準位のダイナミクスを振動状態にも着目して議論することも目的とされた。

4. 研究成果

実験装置

本研究で開発改良を行った装置は図3の太字部分である。特に、Up-conversion 法を用いた発光測定部分は新たに製作をした。

本装置の特徴は発光測定装置の調整のために吸収分光のプローブ光を参照光として用いる点である。参照光に求められる特徴は、励起光と同期した超短パルス光であること、測定したい発光と同じ波長をもっていることである。現有の装置のプローブ光のチャープ補正装置を改良することで、中心波長：450~1450 nm、波長幅：10 nm、パルス幅：約 100 fs の参照光を得た。

開発した超高速発光分光装置の励起光は非同軸パラメトリック増幅装置 (NOPA) で発生しており、中心波長 500~1200 nm、パルス幅 20~80 fs であり、実験用途に応じて調整可能である。

試料からの発光は2枚の凹面鏡で集光され、BBO (Type I, $\theta=29.2^\circ$ 、厚さ1 mm) でゲート光との和周波を発生させる。検出には分光器 (Ritsu, MC-10N) と光電子増倍管 (Hamamatsu, R2693P) を用いた。参照光を用いた最適化と検出タイミングをレーザーに同期することで、光子計数法による検出と同等の高感度測定を可能とした。発光の観測可能波長域は参照光と同じ 450~1450 nm である。時間分解能はゲート光のパルス幅で制限されており約 200 fs である。

フコキサンチンの ICT 状態

ICT 状態をもつ代表的なカロテノイドとしてフコキサンチン (図 2(b)) のメタノール溶液の光励起後の超高速緩和ダイナミクスを調べた。図 4(a)はフコキサンチン・メタノール溶液の定常吸収と発光スペクトルである。定常吸収は基底状態 S_0 から S_2 への遷移である。発光スペクトルには S_2 からの発光とともに ICT 状態からの発光が観測されている。

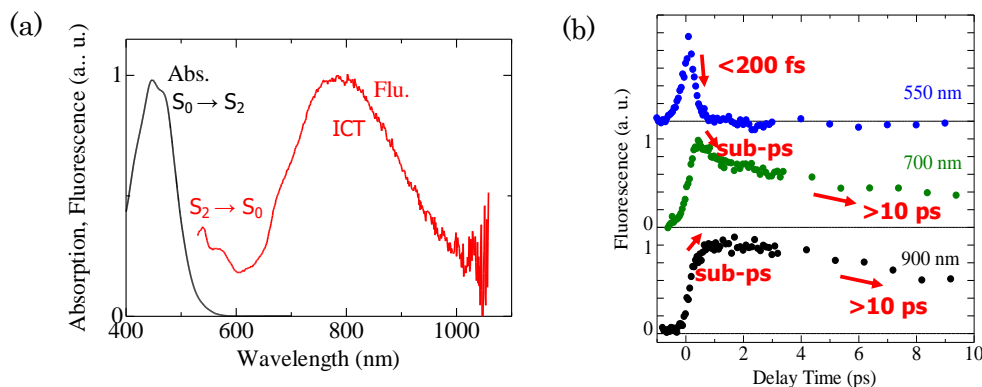


図 4 フコキサンチンの (a) 定常吸収および発光スペクトルと (b) 時間分解発光信号

図 4(b)が Up-Conversion 法によって測定した発光の時間変化である。550 nm の発光は光励起後 200 fs 以内に減衰しているが、700 nm と 900 nm の発光には 10 ps 以上の寿命をもつ成分があることがわかる。また、700 nm と 900 nm に見られる subps の成分は、700 nm では減衰だが 800 nm では増加になっている。これは subps の寿命をもつ中間状態が存在していることを示している。特異値分解 (SVD) 解析を行った結果、発光の時間変化は3成分をもつことが明らかとなった。超高速吸収分光の結果からは、緩和過程が4成分あり、それぞれの時定数は 0.11 ps, 0.52 ps, 8.3 ps, 20.3 ps であることが示された。しかし、8.3 ps 成分は発光分光では観測されなかったため、これは電子励起状態による信号ではないと結論された。グローバル解析により求められた 8.3 ps 成分のスペクトルは、ICT から基底状態へ緩和する中間に存在する状態 (GSI: Ground State Intermediate) であることを示していた。

超高速発光および吸収分光の結果からフコキサンチンの緩和過程が明らかとなった。光励起された S_2 状態から 0.11 ps の超高速緩和が起こるが、このときに生成される 0.52 ps の寿命をもつ中間状態は光学遷移が許容な ICT 状態の特徴を持っている。これは、ICT 状態の発光信号を本研究で初めて時間分解観測できたことにより明らかとなった事実である。フコキサンチンでは、 S_2 から基底状態までの緩和過程で光学許容な ICT 状態が常に存在しており、光捕集作用において ICT 状態が重要な役割を果たすことが期待される。

光合成初期過程における ICT 状態からのエネルギー移動

ICT 状態からのエネルギー移動を確認するために、フコキサンチンを再会合した LH1 複合体 [2]の超高速吸収分光を行った。フコキサンチンの S_2 の光励起後に S_2 , S_1 /ICT 信号以外に BChl の Q_y 信号が観測されており、BChl へのエネルギー移動が起きていることが示された。 Q_y 信号の時間変化からは、 S_2 からと S_1 /ICT からのエネルギー移動に相当する時定数 0.1 ps と 2 ps の立ち上がりが観測された。しかし、2 ps の時定数は S_1 /ICT 平衡状態の寿命より短いので、十分な緩和が起こる前の ICT*からのエネルギー移動と考えられる。

図 5 は立ち上がり信号の大きさからエネルギー移動の比率を求めた結果である。 S_2 よりも ICT*からの比率が大きく、ICT*から高効率のエネルギー移動が起きていることが確かめられた。しかし、 S_1 /ICT 平衡状態からのエネルギー移動は観測されなかった。 Q_y と S_1 /ICT がもつエネルギーの比較では、平衡状態からのエネルギー移動も可能と考えられるので、エネルギー移動を阻害する要因があると思われる。 Q_y が明励起子と暗励起子の場合にアクセプターの機能が異なっていることが可能性の一つである。しかし、本研究では Q_y の明暗準位の区別ができなかったため、今後の課題となる。

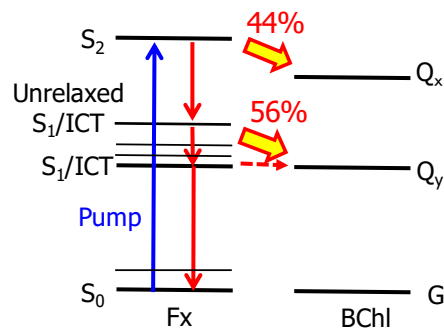


図 5 フコキサンチンを再会合した LH1 中の光捕集作用

単層カーボンナノチューブ (SWNT) の明暗準位とコヒーレント振動

図 6(a)は(6,5)-SWNT の定常吸収発光スペクトルである。吸収発光で観測される励起子は明励起子であるが、暗励起子も存在することが報告されている。本研究で開発した超高速発光分光装置で E11 励起子からの発光測定を行ったが、信号強度が弱く観測できなかった。これは光励起された E11 励起子のほとんどが暗励起子となっているためと考えられる。そこで、超高速吸収分光を用いて暗励起子の情報を得ることを試みた。

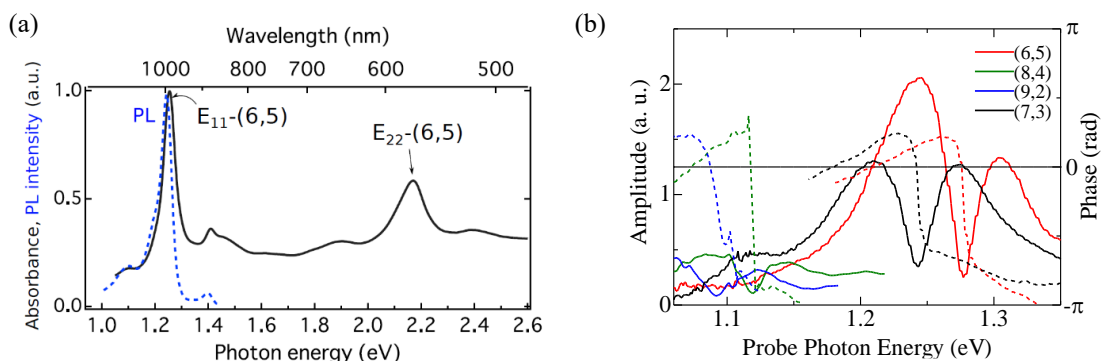


図 6 (a) (6,5)-SWNT の吸収発光スペクトルと(b)様々な SWNT の RBM 振動の振幅と位相。

図 6(b)は SWNT の直径が変化する RBM (Radial Breathing Mode) とよばれる振動を、様々なカイラル指数の SWNT について E11 励起子のエネルギー領域で観測したものである。振幅が極小となるエネルギーと位相は、振動が観測される遷移が励起子生成の吸収で説明できる[8]。これは、明励起子からの誘導放出の寄与がほとんどなく、暗励起子状態から別の明励起子が作られる吸収遷移 (暗励起子→暗+明励起子) によるものであることを示している。このように、コヒーレント振動の観測から明暗励起子の区別が可能であることが明らかとなった。

まとめ

本研究では明準位と暗準位を含む複雑な系の超高速ダイナミクスを観測するために、既存の超高速吸収分光装置に付け加える形で Up-Conversion 法を用いた超高速発光分光装置を開発した。これにより、同一の励起光条件で超高速吸収分光と発光分光を行うことが可能となり、複雑な系のダイナミクスをを詳細に研究することが可能となった。

開発した装置は光合成初期過程のエネルギー移動の研究に応用された。ドナー分子であるカロテノイドがもつ ICT 状態の発光ダイナミクスの観測に成功し、吸収分光の結果と比較することで ICT 状態から高効率のエネルギー移動が起きていることを確かめた。これは光捕集作用の効率を高めるための重要な情報である。

同じように明励起子と暗励起子をもつ SWNT への応用も行われたが、超高速発光分光では成果を得ることができなかった。しかし、コヒーレント振動分光の結果から明状態と暗状態の情報を得ることに成功し、明状態と暗状態の区別できる新しい手法を提案した。

本研究の実施期間中に 2 回の強い地震 (2021 年 2 月、2022 年 3 月) があり装置故障が発生したため、当初の研究計画のすべてを実施することはできなかった。しかし、本研究で開発されたマルチ超高速分光法による手法は、暗状態と明状態のダイナミクスを区別して測定する方法として今後発展していくことが期待される。

謝辞

本研究の装置開発と測定の一部は東北大学大学院生である山田拓直氏と飯田悠太氏に行っていた。また、試料の一部は橋本秀樹教授 (関西学院大) と柳和宏教授 (首都大学) から提供を受けた。研究にご協力いただいた皆様に感謝いたします。

参考文献

- [1] R. J. Cogdell, A. Gall and J. Kohler, *Quart. Rev. Biophys.* **39**, 227-324 (2006).
- [2] N. Yukihiro, Y. Sugai, M. Fujiwara, D. Kosumi, M. Iha, K. Sakaguchi, S. Katsumura, Alastair T. Gardiner, R. J. Cogdell and H. Hashimoto, *Faraday Discuss.* **198**, 59 (2017).
- [3] M. Ferretti, R. Hendrikx, E. Romero, J. Southall, R. J. Cogdell, V. I. Novoderezhkin, G. D. Scholes and R. van Grondelle, *Sci. Rep.* **6**, 20834 (2016).
- [4] H. Wang, C. de M. Donega, A. Meijerink, and M. Glasbeek, *J. Phys. Chem. B* **110**, 733 (2006).
- [5] M. Yoshizawa, K. Suzuki, A. Kubo, and S. Saikan, *Chem. Phys. Lett.* **290**, 43 (1998).
- [6] D. Kosumi, K. Yanagi, T. Nishio, H. Hashimoto, and M. Yoshizawa, *Chem. Phys. Lett.* **408**, 89 (2005).
- [7] R. Nakamura, K. Nakagawa, M. Nango, H. Hashimoto, and M. Yoshizawa, *J. Phys. Chem. B* **115**, 3233 (2011).
- [8] A. Shimura, K. Yanagi, and M. Yoshizawa, *Phys. Rev. B* **97**, 035441 (2018).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takuto Yamada, Nao Yukihiro, Chiasa Uragami, Hideki Hashimoto, and Masayuki Yoshizawa	4. 巻 26
2. 論文標題 Femtosecond Emission Spectroscopy of ICT State in Fucoxanthin	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Carotenoid Science	6. 最初と最後の頁 107-107
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 M. Yoshizawa
2. 発表標題 Excitation energy transfer from the intra-molecular charge transfer state of fucoxanthin in reconstituted LH1 complex
3. 学会等名 The 8th Asian Spectroscopy Conference (ASC2023)（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山田拓直、行平奈央、浦上千藍紗、橋本秀樹、吉澤雅幸
2. 発表標題 フェムト秒吸収・発光分光によるフコキサンチンS1/ICT状態の研究
3. 学会等名 日本物理学会2023春季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山田拓直、行平奈央、浦上千藍紗、橋本秀樹、吉澤雅幸
2. 発表標題 フェムト秒吸収および発光分光による光捕集作用におけるカロテノイドICT状態の研究
3. 学会等名 第35回カロテノイド研究談話会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 飯田悠太、吉澤雅幸
2. 発表標題 カイラリティの異なる半導体カーボンナノチューブのコヒーレントフォノン分光
3. 学会等名 日本物理学会第78回年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 飯田悠太、吉澤雅幸
2. 発表標題 カイラリティの異なる半導体カーボンナノチューブのコヒーレントフォノン分光II
3. 学会等名 日本物理学会2024春季大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 山田拓直、行平奈央、浦上千藍紗、橋本秀樹、吉澤雅幸
2. 発表標題 フコキサンチンICT状態のフェムト秒発光分光
3. 学会等名 フコキサンチンICT状態のフェムト秒発光分光
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山田拓直、行平奈央、浦上千藍紗、橋本秀樹、吉澤雅幸
2. 発表標題 フェムト秒吸収・発光分光によるフコキサンチンS1/ICT状態の研究
3. 学会等名 日本物理学会2023春季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masayuki Yoshizawa
2. 発表標題 Study of S1/ICT state in fucoxanthin by femtosecond absorption and fluorescence spectroscopy
3. 学会等名 The 8th Asian Spectroscopy Conference (ASC2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------