

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 27日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22740271

研究課題名（和文）

アクセプター分子に対する光変調法を用いた光合成エネルギー伝達機構の解明

研究課題名（英文）Energy flow in the light harvesting complex revealed by pre-excitation of the energy acceptor

研究代表者

中村 亮介（NAKAMURA RYOSUKE）

大阪大学・産学連携本部・特任講師

研究者番号：70379147

研究成果の概要（和文）：

光合成エネルギー伝達系において、エネルギーのアクセプターであるバクテリオクロロフィル（BCh1）の電子状態を、プレパンプ光によって光変調することで、カロテノイドから BCh1 へのエネルギー伝達経路を変化させる。その微小な変化量を評価することで、光合成エネルギー伝達系における複雑なエネルギーの流れを明らかにすることを目的とした。コアアンテナ LH1 複合体において、カロテノイドの  $S_2$  からの緩和過程が、隣接する BCh1 電子状態の影響を強く受けることを明らかにした。さらにこの結果から、物理的起源が不明だった  $S^*$  状態が電子励起状態であり、三重項準位への前駆体であることを示した。

研究成果の概要（英文）：

We performed femtosecond transient absorption spectroscopy combined with pre-excitation of bacteriochlorophyll (BCh1) in the LH1 complex from *Rhodospirillum rubrum* S1. We observed that the energy flow from  $S_1$  to  $S^*$  occurs only when nearby BCh1 is excited into  $Q_y$ . In addition, we observed an increase in triplet formation as the  $S^*$  population increased, indicating that  $S^*$  is an electronic excited state that is the precursor to triplet formation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物理学・生物物理・化学物理

キーワード：超高速分光・光合成・エネルギー移動

## 1. 研究開始当初の背景

光合成反応の初期過程を担うエネルギー伝達系では、カロテノイドとバクテリオクロロフィル（BCh1）が蛋白内でリング状に規則正しく配列し、カロテノイドから BCh1 とエネルギー伝達が超高速に起こる。この

過程はエネルギーの高効率利用という点からも重要であり、これまでに国内外において幅広く研究が行われてきた。しかし、その詳細については未だ不明な点が多く、メカニズムの解明やデバイスとしての設計指針を与えるには至っていない。これは、以下の点が

理由として挙げられる。

(1) 多くの励起状態が関与する複雑で超高速なエネルギーの流れ:

カロテノイド及びBCh1ともに複数の振電準位がエネルギー伝達過程に関与し、その過程と競合する各分子内素過程(振動緩和・内部転換・三重項生成)が存在する。さらに、複数の禁制励起状態がカロテノイドに存在することも示唆されている。

(2) 蛋白内でのカロテノイドの構造・配置が不明:

多くの光合成エネルギー伝達系において、カロテノイドの構造・配置は明らかにされていない。このような構造情報の不足から、溶液中と蛋白内でのカロテノイドの比較研究が進展しない。

## 2. 研究の目的

光合成エネルギー伝達系において、エネルギーのアクセプターであるバクテリオクロロフィル(BCh1)の電子状態を光変調することで、カロテノイドからBCh1へのエネルギー伝達経路を一部遮断する。遮断によって生じる素過程ダイナミクスの変化を観測することで、光合成エネルギー伝達系における複雑なエネルギーの流れを明らかにすることを第一の目的とする。次に、光変調されたBCh1を局所電場発生源として利用し、カロテノイドの応答を観測することで、蛋白内でのカロテノイドの構造や(BCh1との)相対配置を明らかにすることが第二の目的である。アクセプター分子に対する光変調という立場から、色素蛋白複合体に対する新しい解析手法を提案し、光反応制御に対する展開を提示する。

## 3. 研究の方法

現有のマルチパルス光励起超高速分光装置を、広帯域化・高時間分解能化を行う。カロテノイドに対する励起光、BCh1に対する励起光、およびプローブ光という三つの光源の波長・強度・偏光・タイミングを測定パラメータとする。BCh1に対する励起光の有無による微小変化量を一連のパラメータ空間において取得する。取得した膨大なデータを解析することで、BCh1に対する光変調効果として、エネルギー伝達経路遮断の寄与と電場効果の寄与とを見積もり、色素蛋白複合体におけるエネルギーの流れを明らかにする。

## 4. 研究成果

図1にコアアンテナLH1複合体の定常吸収スペクトルを示す。430-530nm領域にカロテノイドの $S_0 \rightarrow S_2$ 遷移の吸収が見られる。590nmおよび880nmの吸収はそれぞれBCh1の $Q_x$ 、 $Q_y$ 帯である。

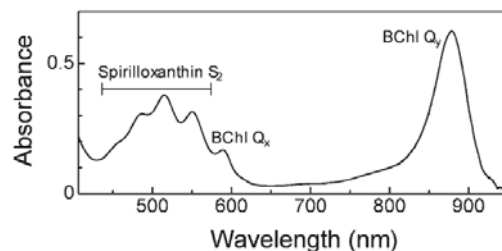


図1 コアアンテナLH1複合体の定常吸収スペクトル。

h1の $Q_x$ 、 $Q_y$ 帯である。

図2にカロテノイドの $S_0 \rightarrow S_2$ 励起したときの過渡吸収スペクトルを示す。620nm付近に、カロテノイド $S_1$ からの過渡吸収スペクトル、580nm付近にカロテノイド $S^*$ からの過渡吸収スペクトルが観測されている。 $S^*$ 状態はこれまでにも過渡吸収スペクトルとして観測されてきたが、その物理的起源がはっきりしていない。というのは、図に見られるように、 $S^*$ と $S_1$ の信号強度比が励起光強度に依存するからである。この現象は、 $S^*$ と $S_1$ 状態がともに、 $S_2$ からの無輻射緩和によって生成するという通常のモデルでは説明できない。

次に、過渡吸収測定に、プレパンプ光を導入したプレパンプ・パンプ・プローブの結果を示す。この手法は、カロテノイドに隣接するBCh1を、880nmのプレパンプ光によってあらかじめ $Q_y$ 状態に励起している状態で過渡吸収スペクトル測定する。つまり、BCh1の電子状態変化によって、隣接するカロテノイドのエネルギーフローがいかに変化を受けるかを観測する。図3に示すように、プレパンプ光の有無によって、 $S^*$ と $S_1$ の信号強度比が変化することが明確に観測され

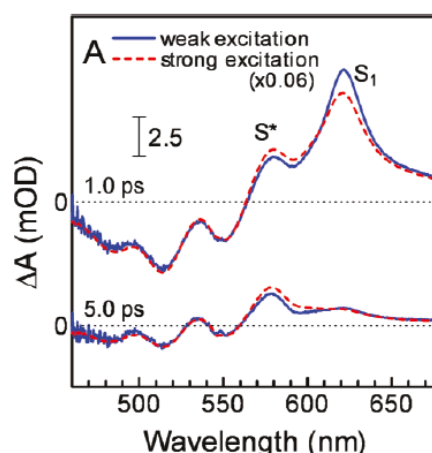


図2 コアアンテナLH1複合体の過渡吸収スペクトル。励起波長は545nmで、カロテノイド $S_0 \rightarrow S_2$ 遷移に共鳴している。

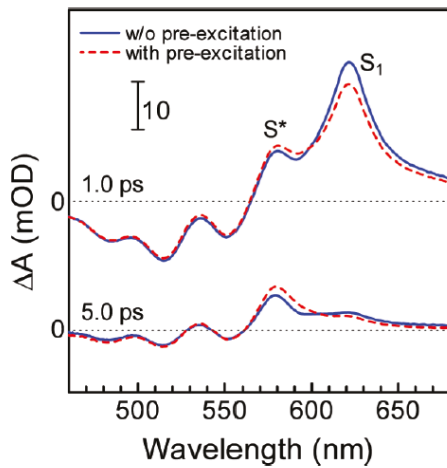


図3 コアアンテナLH1複合体の過渡吸収スペクトル。BCh1に対するプレパンプ光がない場合(実線)とある場合(破線)。

ている。この結果から、図2の結果は以下のように推測される。カロテノイドを励起すると、エネルギー移動によって、BCh1へと一部エネルギーが流れる。カロテノイドを強く励起すると、コアアンテナLH1リング内には、励起状態にあるカロテノイドとBCh1が両方存在する確率が上がる。図3で観測したように、隣接するBCh1が励起状態にあれば、カロテノイドの緩和過程はその影響を受け、結果として $S^*$ と $S_1$ の信号強度比が変化する。

この推測を確かめるため、横軸をBCh1が励起状態にある割合[BCh1  $Q_y$ ]として、 $S^*/S_1$ 信号強度比をプロットした。すると、図4に示すように、異なるふたつの測定で得られた結果が、[BCh1  $Q_y$ ]という指標で統一的に理解できることが分かった。結論として、カロテノイドの緩和過程は、隣接するBCh1電子状態の影響を強く受けること、その際、

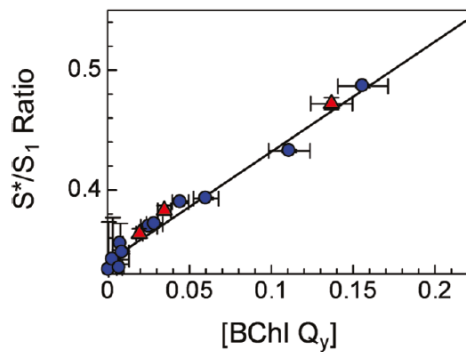


図4 BCh1が励起状態にある割合[BCh1  $Q_y$ ]に対する、 $S^*$ と $S_1$ の信号強度比。過渡吸収測定における励起光強度依存性から得られた結果(●)と、プレパンプ光を用いて測定した結果(▲)。

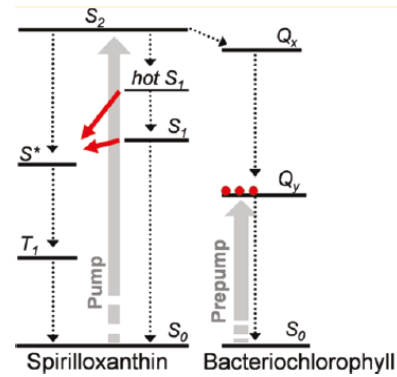


図5 今回の研究によって明らかになったコアアンテナLH1複合体のエネルギーダイアグラム。

$S_1$ から $S^*$ へのエネルギー流が生じることが分かった。さらに、 $S^*$ は $S_2$ からの緩和過程によって生成する電子励起状態であり、三重項状態の前駆体であることなども明らかになった。これらの結果をまとめると、図5のようなダイアグラムが記述できる。

#### 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7件)

- (1) M. Yoshizawa, R. Nakamura, O. Yoshimitsu, K. Abe, S. Sakai, K. Nakagawa, R. Fujii, M. Nango, H. Hashimoto, "Femtosecond stimulated Raman spectroscopy of the dark  $S_1$  excited state of carotenoid in photosynthetic light harvesting complex", Acta Biochim Pol. 59 (2012) 49-52. 査読有。
- (2) R. Nakamura, K. Nakagawa, M. Nango, H. Hashimoto, M. Yoshizawa, "Dark excited states of carotenoid regulated by bacteriochlorophyll in photosynthetic light harvesting", J. Phys. Chem. B 115 (2011) 3233-3239. 査読有。
- (3) R. Nakamura, Y. Yoshioka, K. Abe, S. Sakai, K. Nakagawa, M. Nango, H. Hashimoto, M. Yoshizawa, "Energy flow in the light harvesting complex manipulated by pre-excitation of the energy acceptor", Ultrafast Phenomena XVII, Eds., M. Chergui, D. M. Jonas, E. Riedle, R. W. Schoenlein, and A. J. Taylor, Oxford University Press, Oxford, New York, Auckland, (2011) 598-600. 査読無。
- (4) K. Abe, R. Nakamura, Hashimoto, M.

- Yoshizawa, "Coherent control of the selected excited state by two-color multipulse excitation", *Ultrafast Phenomena XVII*, Eds., M. Chergui, D. M. Jonas, E. Riedle, R. W. Schoenlein, and A. J. Taylor, Oxford University Press, Oxford, New York, Auckland, (2011) 793-795. 査読無.
- (5) R. Nakamura, K. Nakagawa, K. Abe, H. Hashimoto, M. Nango, M. Yoshizawa, "Energy transfer dynamics in the reconstituted light-harvesting complex explored by multi-pulse excitation", *Carotenoid Sci.* 15 (2010) 59-62. 査読有.
- (6) T. Yoshioka, Y. Liu, K. Abe, R. Nakamura, R. Fujii, H. Hashimoto, M. Yoshizawa, "Mutual energy transfer between carotenoid and bacteriochlorophyll in the LHI complex from photosynthetic bacteria", *Carotenoid Sci.* 15 (2010) 56-58. 査読有.
- (7) Y. Iwabuchi, K. Abe, R. Nakamura, D. Kosumi, M. Fujiwara, R. Fujii, H. Hashimoto, M. Yoshizawa, "Ultrafast relaxation kinetics in  $\beta$ -carotene homologs having different methyl side groups", *Carotenoid Sci.* 15 (2010) 26-29. 査読有.
- [学会発表] (計 18 件)
- (1) 吉松織優, 阿部健太, 中村亮介, 酒井俊亮, 堀部智子, 藤井律子, 南後守, 橋本秀樹, 吉澤雅幸, 「共鳴フェムト秒誘導ラマン分光による光合成色素蛋白複合体内のカロテノイドの光学的禁制励起状態の研究」, 日本物理学会第 67 回年次大会 (関西学院大学), 2012 年 3 月 24-27 日.
- (2) 中村亮介, 濱田格雄, 兼松泰男, 阿部健太, 吉澤雅幸, 「光受容蛋白質における光異性化構造ダイナミクスの研究」, 日本物理学会第 67 回年次大会 (関西学院大学), 2012 年 3 月 24-27 日.
- (3) 阿部健太, 吉松織優, 中村亮介, 橋本秀樹, 吉澤雅幸, 「共鳴フェムト秒誘導ラマン分光による励起状態振動の研究」, 日本物理学会第 67 回年次大会 (関西学院大学), 2012 年 3 月 24-27 日.
- (4) 中村亮介, 濱田格雄, 兼松泰男, 阿部健太, 吉澤雅幸, 「フェムト秒誘導ラマン分光による光受容蛋白質の光異性化反応の研究」, 日本物理学会 2011 年秋季大会 (富山大学), 2011 年 9 月 21-24 日.
- (5) 中村亮介, 市田秀樹, 兼松泰男, 「フェムト秒近赤外光から波形制御中赤外光への高効率変換のための分極反転構造」, 日本物理学会 2011 年秋季大会 (富山大学), 2011 年 9 月 21-24 日.
- (6) 吉松織優, 中村亮介, 酒井俊亮, 中川勝統, 南後守, 橋本秀樹, 吉澤雅幸, 「共鳴フェムト秒誘導ラマン分光によるカロテノイドの光学的禁制励起状態の研究」, 第 25 回カロテノイド研究談話会 (つくば国際会議場), 2011 年 9 月 13-14 日.
- (7) M. Yoshizawa, R. Nakamura, O. Yoshimatsu, K. Abe, S. Sakai, K. Nakagawa, M. Nango, and H. Hashimoto, "Dark excited states of carotenoid in photosynthetic light harvesting complex studied by multi-pump spectroscopy", *The 16th International Symposium on Carotenoids*, held in Krakow, Poland, 17-22 July 2011.
- (8) R. Nakamura, N. Hamada, Y. Kanematsu, K. Abe, and M. Yoshizawa, "Stimulated Raman spectroscopy of the electronic excited state of Photoactive Yellow Protein", *The 15th Conference on Time-resolved Vibrational Spectroscopy (TRVS XV)*, held in Ascona, Switzerland, 19-24 June 2011.
- (9) O. Yoshimatsu, K. Abe, R. Nakamura, S. Sakai, K. Nakagawa, M. Nango, H. Hashimoto, and M. Yoshizawa, "Resonant stimulated Raman spectroscopy of the  $S_1$  and  $S^*$  excited states of carotenoids in light-harvesting complex", *The 15th Conference on Time-resolved Vibrational Spectroscopy (TRVS XV)*, held in Ascona, Switzerland, 19-24 June 2011.
- (10) 吉松織優, 中村亮介, 酒井俊亮, 中川勝統, 南後守, 橋本秀樹, 吉澤雅幸, 「共鳴フェムト秒誘導ラマン分光による光合成色素タンパク複合体内のカロテノイド励起状態の研究」, 日本物理学会第 66 回年次大会 (新潟大学), 2011 年 3 月 25-28 日.
- (11) 中村亮介, 中川勝統, 南後守, 橋本秀樹, 吉澤雅幸, 「光合成アンテナ複合体におけるカロテノイドのダーク準位 ( $S^*$ )」, 日本物理学会 2010 年秋季大会 (大阪府立大学), 2010 年 9 月 23-26 日.
- (12) 阿部健太, 中村亮介, 橋本秀樹, 吉澤雅幸, 「Multi-Color 光励起によるカロテノイドの振動制御」, 日本物理学会 2010 年秋季大会 (大阪府立大学), 2010 年 9 月 23-26 日.
- (13) 吉岡拓也, 中村亮介, 中川勝統, 南後守, 橋本秀樹, 吉澤雅幸, 「中心金属が異なるバクテリオクロフィルを再会合した光合成アンテナ複合体のエネルギー移動」, 日本物理学会 2010 年秋季大会 (大阪府立大学), 2010 年 9 月 23-26 日.

- (14) 吉松織優、阿部健太、中村亮介、橋本秀樹、吉澤雅幸、「共鳴フェムト秒誘導ラマン分光によるカロテノイド励起状態の研究」、日本物理学会 2010 年秋季大会(大阪府立大学)，2010 年 9 月 23-26 日。
- (15) R. Nakamura, T. Yoshioka, K. Abe, S. Sakai, K. Nakagawa, M. Nango, H. Hashimoto, M. Yoshizawa, "Energy flow in the light harvesting complex manipulated by pre-excitation of the energy acceptor", 17th International Conference on Ultrafast Phenomena, held in Snowmass Village, CO, USA, 18-23 July 2010.
- (16) K. Abe, R. Nakamura, H. Hashimoto, M. Yoshizawa, "Coherent control of the selected excited state by two-color multipulse excitation", 17th International Conference on Ultrafast Phenomena, held in Snowmass Village, CO, USA, 18-23 July 2010.
- (17) 中村亮介、中川勝統、南後守、橋本秀樹、吉澤雅幸、「光合成アンテナ複合体 LH1 におけるカロテノイド光学禁制準位(S\*)の生成機構」、第 24 回カロテノイド研究談話会(徳島大学附属病院)，2010 年 9 月 14-15 日。
- (18) 吉岡拓也、中村亮介、中川勝統、南後守、橋本秀樹、吉澤雅幸、「異なる色素を再会合した光合成アンテナ複合体のエネルギー移動」、第 24 回カロテノイド研究談話会(徳島大学附属病院)，2010 年 9 月 14-15 日。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中村 亮介 (NAKAMURA RYOSUKE)  
大阪大学・産学連携本部・特任講師  
研究者番号：7 0 3 7 9 1 4 7

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：