

## 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30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：22760040

研究課題名（和文） 分子識別に向けたチャープパルスを用いるポンプ-ダンプ-蛍光スペクトル法の開拓

研究課題名（英文） Pump-dump fluorescence spectroscopy in a dye solution for molecular imaging

研究代表者

市田 秀樹（ICHIDA HIDEKI）

大阪大学 産学連携本部・助教

研究者番号：50379129

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、超高速パルスレーザー光源を用いて、溶液中の色素分子を対象に、光励起後の励起エネルギーをコヒーレント的に強く脱励起することによる励起エネルギーの制御及びそれによる蛍光スペクトルの超高速変化を観測することで、電子励起状態の高振動準位からの蛍光成分検出し、分子固有の蛍光スペクトル情報を得ることが出来た。

研究成果の概要（英文）：We have investigated the pump-dump-fluorescence spectroscopy in a dye solution. The aim of this work is the development of a pump-dump-fluorescence spectroscopy for a molecular imaging. We have successfully obtained the component of the fluorescence from the higher vibrational levels of the excited state to the ground state, which is contained the peculiarity of the dye molecule, in the pump-dump-fluorescence spectroscopy.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	1,600,000	480,000	2,080,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：応用物理学・工学基礎，応用光学・量子光工学

キーワード：超高速分光，ポンプ-ダンプ-蛍光スペクトル，パルス列制御

## 1. 研究開始当初の背景

れまでに超高速レーザーパルス列を用いた分子ダイナミクスのコヒーレント制御に関しては、気体中での孤立した原子・分子の量子制御が盛んに行われ、分光スペクトルを通じた分子振動の可視化や分子の乖離ダイナミクス制御など、様々な研究が行われている（Science, 242, 1645 (1988)）。しかしながら凝縮系における分子ダイナミクス制御に関しては、光受容蛋白質であるバクテリオロドプシンの光反応収率制御が代表的な結果（Science, 313, 1257 (2006)）としてあげられるが、それらの研究のほとんどが、光パルスの整形に遺伝的アルゴリズムを用いた学習によるフィードバック制御を用いたもので

あるため、その結果から励起状態ダイナミクスを具体的な描像にするには難しい。そこで本研究では、比較的単純な色素分子を対象に、励起直後はコヒーレント性が強く保たれている励起状態の高振動準位（振電励起状態）からの蛍光成分のうち、その長波長成分に着目し、そのエネルギー領域に整形された制御光を導入することによって、励起エネルギーをコヒーレント的に強く脱励起することで、励起エネルギーの制御手法を確立し、バイオイメージングへの展開を考えてく。励起エネルギーを脱励起することによるバイオイメージングへの展開例としては、光の回折限界を超えた空間分解能を有することで近年着目されている Stimulated emission

depletion (STED) 法があげられるが(Science, 316, 1153 (2007)), これは主に定常光を用いており, 本研究の目指すエネルギーダイナミクスの観点から励起エネルギーをコヒーレント的に強く脱励起するという点で大きく異なる. 詳細は後述するが, 特定分子種の識別という点では, 分子固有のエネルギーダイナミクスに着目し, 励起エネルギーのコヒーレント性を積極的に使う本手法の方が, STED 法に比べて優位性を発揮できると考えた.

## 2. 研究の目的

本研究の目的は, チャープ制御された超高速パルスレーザー光源を用いて, 溶液中の色素分子を対象に, 光励起後の励起エネルギーをコヒーレント的に強く脱励起することによる励起エネルギーの制御及びそれによる蛍光スペクトルの超高速変化を観測することで, 分子固有の蛍光スペクトル情報から, 特定分子種の識別が必要なバイオイメージングへの新規な超高速分光手法への展開を考えることである. 本研究では, フランクコンドン状態における振動励起状態から, 高振動励起電子基底状態への遷移に対応する蛍光成分のみをコヒーレント的に強く脱励起し, 蛍光スペクトルに強い変調を与えることで, 本手法の確立を目指す.

## 3. 研究の方法

本研究におけるポンプ-ダンプ-蛍光スペクトルのフランクコンドン状態における概念図を図1に示す. 励起光(ポンプ光)のエネルギーを電子基底状態の  $v=0$  から電子励起状態の振動準位  $v=1$  へのエネルギーと一致させた場合, 励起直後の電子の波動関数は, 図1の  $v=1$  に示す状態となっており, 励起状態のポテンシャル曲線状の反対側にも存在確率があることになる. この位置は, エネルギー的に蛍光成分の長波長成分 (Red Edge)

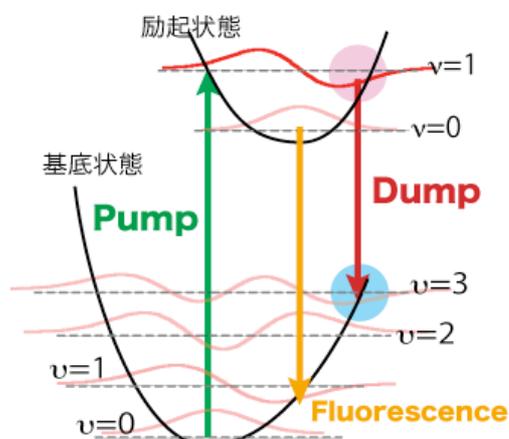


図1.ポンプ-ダンプ-蛍光スペクトルの概念図.

となる. このエネルギー領域において脱励起光(ダンプ光)を励起エネルギーのコヒーレント性が十分に保たれている時間領域に導入することで, 励起状態における  $v=1$  から電子基底状態の高振動準位(図1では  $v=3$ )へとコヒーレント的に強く脱励起出来る可能性がある. つまり, 本研究では励起直後のコヒーレント性が強く保たれている蛍光スペクトルの長波長成分の Red edge に着目し, 電子励起状態の高振動準位にあるエネルギーを脱励起光(ダンプ光)で強く脱励起させる (Red-edge dumping) ことで, 電子励起状態の高振動準位からの蛍光成分のみを変化させることを試みた. 本研究で着目している電子励起状態の高振動準位からの蛍光成分は, 時間初期の蛍光スペクトル成分に現れるが, 通常の色素分子においては, その成分はごくわずかであり, その検出は困難をともなう. そこで, 電子励起状態の高振動準位からの蛍光成分のみをコヒーレント的に強く脱励起することで, それからの蛍光成分のみを強く変調させることに着目した. 電子励起状態の高振動準位からの脱励起効率であるが, 電子の基底状態と励起状態のポテンシャル配置の関係と, それぞれの振動準位間の電子波動関数の積に強く依存するため, 特定分子に特異的なものとなる. 励起エネルギーを狙い通りにコヒーレント的に強く脱励起する, Red-edge dumping を効率よく引き起こさせるは, (1) ポンプ光エネルギーとダンプ光エネルギーの関係, (2) 分子振動準位とポンプ光とダンプ光のエネルギー差の関係, (3) 励起光と脱励起光のタイミング, 以上の3つの条件を満たすことが必要になる. この方法では, 分子固有の振動準位およびその電子基底状態と電子励起状態のポテンシャル配置を考慮に入れなければ成り立たないため, 分子が複数存在したとしても特定のターゲット分子の識別が可能になると考えられ, 分子ダイナミクスを利用したバイオイメージングへの新規な超高速分光手法につながる可能性があると考えた.

本研究で着目しているポンプ-ダンプ-蛍光スペクトルにおいて得られる信号強度の例を図2に示す. ポンプ光入射による光励起後の自然放出の蛍光強度の時間変化は図中の波線のようなになる. この状態においてダンプ光をある時間遅延をもって入射するとダンプ光によって誘導放出が誘起されるため自然放出光の強度の時間は, 図中の実線のような

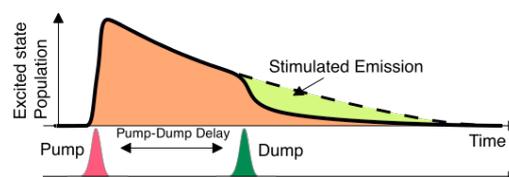


図2. ポンプ-ダンプ-蛍光スペクトルにおける蛍光強度変化の例.

になる。つまりポンプ-ダンプ-蛍光スペクトルでは、ダンプ光導入による自然放出光の減少分を測定し、その成分をスペクトル分解することで、ダンプ光照射効果を求めることになる。

次に本研究で用いた実験配置図を示す。再生増幅チタンサファイアレーザーを、Optical Parametric Amplifier (OPA) を用いてポンプ光とダンプ光の波長に変換する。この場合に用いた OPA であるが、ノンコリニア型の OPA を用い、ポンプ光とダンプ光の 2 波長を発生出来るように、2 台のノンコリニア型の OPA を用いた。ただ、ポンプ光とダンプ光を安定的に供給するために、OPA 発生に必要な白色光にかんしては、共通の白色光を用いた。また、ダンプ光にたいして光強度の強いパルスを用意したい場合は、ノンコリニア型の OPA ではなく、コリニア型の OPA を用いてその第 2 高調波を用いた。

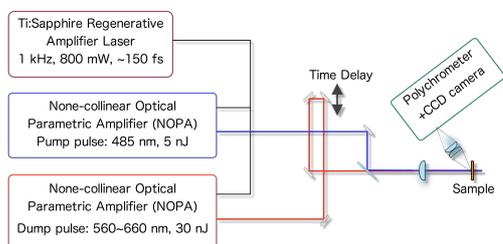


図 3. ポンプ-ダンプ-蛍光スペクトル法における光学実験配置図。

#### 4. 研究成果

図 4 (a) は、2,7-Dichlorofluorescein の水溶液中でのポンプ-ダンプ-蛍光スペクトルのイメージプロットであり、縦軸にポンプ光とダンプ光の遅延時間、横軸に蛍光波長をプロットし、その強度を色で示している。なお、ダンプ光の波長は、620 nm であり蛍光スペクトルの長波長側に位置している。実験結果においてダンプ光入射によって明確に蛍光強度が減少していることが分かる。図 4 (b) は、脱励起された割合をイメージプロットを行った図である。ダンプ光が入ると蛍光スペクトルが観測される全領域で蛍光スペクトル強度の減少が観測されている事分かる。特に、蛍光スペクトル強度が低い 650 nm 以上の長波長領域においても、蛍光強度の減少が観測されている。

次に、2,7-Dichlorofluorescein 蛍光ピーク波長 (530 nm) におけるダンプ効率の時間プロファイルのダンプは超依存性を図 5 に示す。ダンプ効率の時間プロファイルについては、すべてのダンプ波長において、蛍光強度の減衰が観測されている、特に、ダンプ波長が、570 nm においては、蛍光強度が約 6 割低減する。この結果は、ダンプ波長を適切に選

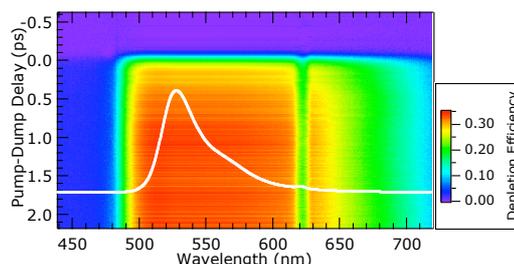
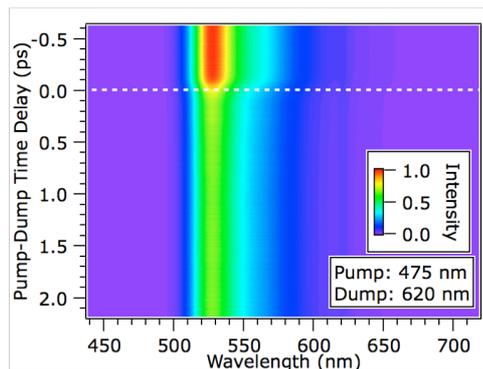


図 4. (a)2,7-Dichlorofluoresceinにおけるポンプ-ダンプ-蛍光スペクトルの時間発展イメージと、(b)ダンプ効率の時間発展イメージ。縦軸は、ポンプ光とダンプ光の時間差であり、図中の白線は、2,7-Dichlorofluorescein の蛍光スペクトルを示す。

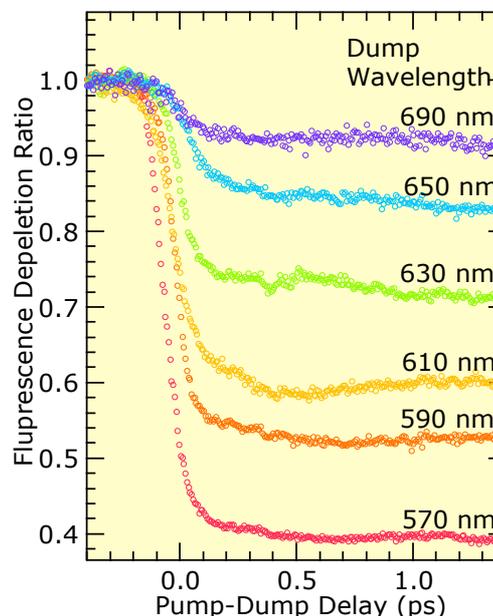


図 5. 蛍光ピーク波長 (530 nm) におけるダンプ効率の時間プロファイルのダンプ波長依存性。

ぶことで、かなり強い励起エネルギーの脱励起を脱励起光によって引き起こすことが可

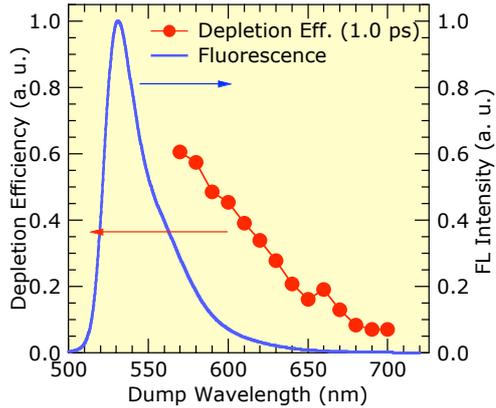


図 7. 蛍光強度の減衰率のダンプ波長依存性と定常蛍光スペクトル (青).

能であることを示している. されに, 690 nm という蛍光スペクトルにおいては, 長波長端に位置する波長においても, ダンプ光により蛍光強度の減少が観測されている. これは, 蛍光スペクトルの長波長成分 Red Edge から励起エネルギーを脱励起することが可能であることをしめしており, 本研究の目標の一つである蛍光スペクトルの長波長成分を用いて励起準位の高振動準位からの脱励起 (Red-edge dumping) の可能性を示唆している.

次にポンプ-ダンプ-蛍光スペクトル法における蛍光強度の減衰率のダンプ波長依存性を図 7 に示す. なお, この図におけるポンプ光とダンプ光の時間差は 1.0 ps である. また, 参考の為に定常状態の蛍光スペクトルを青線で示す. この図より, 蛍光スペクトルと蛍光強度減衰率の曲線の形状が異なっていることが分かる. これは, 蛍光スペクトルの長波長ほど強くダンプされているためであると考えている. 図 8 にポンプ光とダンプ光の遅延時間が 0, 0.05, 0.1 ps における蛍光強度の減衰率のダンプ波長依存性を示す. この図に置いて, 着目すべきは, ポンプ光とダンプ光の遅延時間の初期において, 600 nm 以上の長波長成分が強く, ダンプされている事である. このように初期時刻において, 長波長側の成分が強くダンプされているという事は, ダンプ光エネルギー付近において, ポンプ光によって励起された励起エネルギーがコヒーレント的に存在していると考えている. また, 計算によって求めた電子励起状態の振動準位  $\nu=0$ , および  $\nu=1$  準位からの蛍光スペクトル形状を比較すると, 高振動準位からの蛍光スペクトル形状の方が長波長成分を多く持つことことから, 今回長波長側において強くダンプされたのは, 励起直後の電子励起状態の振動準位  $\nu=1$  にあるエネルギーを強くダンプしたためではないかと考えている. このことは, ポンプ光とダンプ

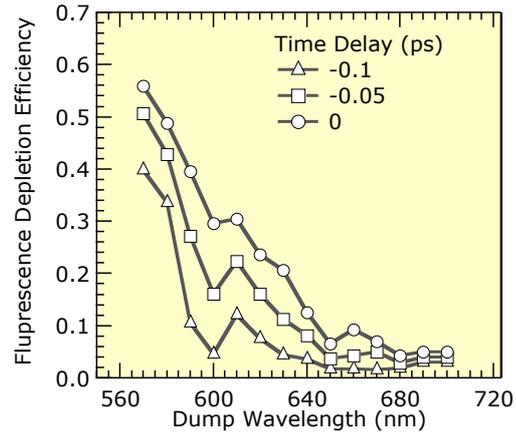


図 8. 各ポンプ-ダンプ遅延時間における蛍光強度の減衰率のダンプ波長依存性.

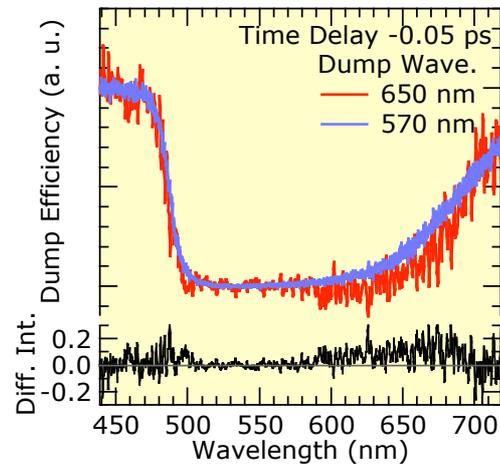


図 9. 各ダンプ波長における蛍光強度減衰スペクトル.

光の遅延時間と両パルス間のエネルギー差と分子の基底状態および電子励起状態の振動準位間のエネルギー差の関係を調整することで, 電子励起状態の高振動準位から, コヒーレント的に強く脱励起出来る可能性があることを示唆している.

次に, ダンプ波長が 570 nm (青色) と 650 nm (赤色) におけるポンプ-ダンプ遅延時間が 0.05 ps での蛍光強度の減衰率スペクトルを図 9 に示す. また, ダンプ波長が 570 nm (青色) と 650 nm (赤色) の結果の差分を図 9 の下部に示す. 差分結果に着目すると, 600 nm 以上の長波長領域において, ダンプ波長が 650 nm の方が, 570 nm でダンプ下結果よりも大きな減衰率を示していることが分かる. これは, ダンプ波長が 650 nm の場合は, 長波長成分を強くダンプしていることを示唆している. これは, 励起直後のコヒーレント性が強く保たれている蛍光スペクトルの長波長成分 (電子励起状態の高振動準位に分布した成分) を, 波長の長いダンプ光

によって、コヒーレント的にダンプした結果ではないかと考えている。現時点では、このプロファイルの意味について詳細な解析を行っている。もしこれが、Red-edge dumpingの効果で有ると確認出来れば、我々の目的としている定常状態から予想されるスペクトル形状とは大きく異なり対象分子に特徴的を抽出できる結果に繋がると考えている。

最後に、ポンプ光にチャープを取り入れた場合についてであるが、現在の所、チャープ量の正負にかかわらずそのポンプーダンプ蛍光スペクトルの特徴が変化するという結果は得られてない。一方、ダンプ光の強度依存性においては、ダンプ光が強ければ、かなり効率的にダンプが引き起こされていることを確認した。上記の結果では、約60%の蛍光強度現象を確認している。これは、励起エネルギーを瞬時的にダンプさせた場合、その効率が良いことを示唆しており、今後の研究の発展に本成果を活かすことを検討している。

## 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)

[学会発表] (計2件)

- ① 堺原弘行, 片山郁文, 市田秀樹, 兼松泰男, 武田淳. LiNbO<sub>3</sub>におけるフォノンポラリトン分散のシングルショット時間周波数イメージング計測, 日本物理学会 第66回年次大会, 2011年3月26日, 新潟大学
- ② Ikufumi Katayama, Hiroyuki Sakaibara, Hideki Ichida, Yasuo Kanematsu, and Jun Takeda, Single-Shot Time-Frequency Imaging of Phonon-Polariton Dispersion in Ferroelectric LiNbO<sub>3</sub>, CLEO 2011: Laser Science to Photonic Applications, 2011.5.1, Baltimore, USA.

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

市田 秀樹 (ICHIDA HIDEKI)  
大阪大学・産学連携本部・助教  
研究者番号: 50379129