

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 21 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2015

課題番号：25707028

研究課題名(和文) 極超短光パルスを用いた光合成アンテナにおける色素分子間相互作用の実時間計測

研究課題名(英文) Real time observations of vibronic interactions between pigments in photosynthetic light-harvesting antennas

研究代表者

小澄 大輔(Daisuke, Kosumi)

熊本大学・パルスパワー科学研究所・准教授

研究者番号：70613149

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 17,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、紅色細菌由来光合成アンテナにおける初期エネルギー伝達過程を明らかにするため、5フェムト秒極超短光パルス発生及びそれを用いたコヒーレント分光計測技術の構築を行った。光合成アンテナ中の光合成色素バクテリオクロロフィルで構成される2つのリング会合体B800-B850間エネルギー伝達に着目し、5フェムト秒コヒーレント分光計測を行ったところ、リング間の電子コヒーレンスに起因する量子ビート信号が観測された。フーリエ解析より、観測された量子ビート信号がマルチモードであることが示され、このような電子コヒーレンスが高効率な光合成エネルギー伝達に役割を果たすことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We developed extremely short 5 fs optical pulses and ultrafast coherent spectroscopic techniques to clarify ultrafast energy transfer dynamics of purple bacterial photosynthetic antennas. Quantum beats signals originated from electronic coherence between the B800 and B850 molecular assemblies in photosynthetic antenna LH2 were clearly observed by means of 5 fs coherent spectroscopic measurements. A Fourier analysis of the quantum beats signals shows that multi-modes electronic coherences are formed between B800 and B850. The results suggest that the multi-mode coherences play roles in highly efficient energy transfer of purple bacterial photosynthesis.

研究分野：光物性物理学

キーワード：超高速分光 光物性 光合成 エネルギー伝達 非線形分光

1. 研究開始当初の背景

紅色細菌の光合成アンテナ系では、バクテリオクロフィルとカロテノイドの色素分子群が、リング状の超分子会合体を形成し、可視から近赤外光の効率的な捕集・伝達を行っている (図 1(A), (B))。紅色細菌由来の光合成アンテナ系には、周辺アンテナ: LH2 とコアアンテナ: LH1-RC (RC:反応中心)が存在し、それらが光合成膜中で最密充填的に 2 次元配列することで (図 1(C))、色素分子間励起エネルギー移動が超高速 (~100 フェムト秒) かつ高効率 (~100 %)に行われている。

近年の分光研究におけるブレイクスルーとして、近赤外領域における極超短光パルスフーリエ変換 2 次元分光計測を用いた分光研究により、光合成アンテナに結合する色素分子 (バクテリオクロフィル) 間の電子コヒーレンスが 1 ピコ秒以上持続することが報告された。このコヒーレンス時間は、光合成色素分子間におけるエネルギー伝達時間 (100 フェムト秒~数ピコ秒) と同程度であり、光合成エネルギー伝達は、色素分子間に生じるコヒーレンス時間内に起ることを示唆している。つまり、光合成アンテナ系に結合する色素分子群の電子状態は、強い分子間相互作用 (電気双極子相互作用) により励起的に振舞うと考えられる。このような系では、励起エネルギー移動が起こる際に、分子間相互作用の時間発展が分子間振動モード (格子振動) に顕著に反映されると予想される。そのため、光合成エネルギー伝達の初期過程を解明するためには、極限的な時間領域を観測可能な計測手法の開発が必要とされる。

2. 研究の目的

本研究では、図 1 に示される紅色細菌光合成アンテナ LH2 において、光合成色素バクテリオクロフィル分子により形成されるリング会合体 B800 と B850 間のエネルギー移動に着目した。B800-B850 間のエネルギー移動は、常温下では光励起後 700 フェムト秒程度で起こることが知られている。一方、このような超高速時間スケールで起こる現象に対し、弱い分子間相互作用を基準とした理論では定量的に説明できないことから、未解決

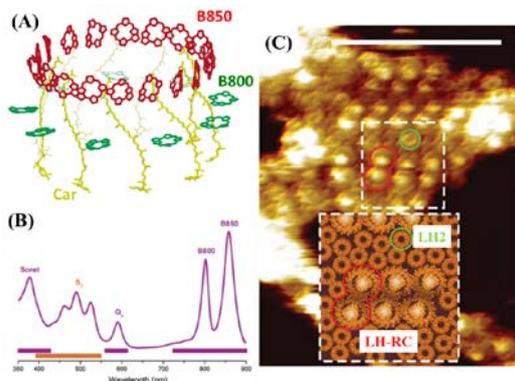


図 1: (A) LH2 における光合成色素の空間配列と (B) 吸収スペクトル。 (C) 光合成膜中での LH1-RC と LH2 の空間配列。

な問題として残されていた。本研究では、極超短光パルス発生及びコヒーレント分光計測技術を確立し、それらを用いて光合成アンテナにおける分子間相互作用の実時間計測により、光合成初期過程の解明を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 5 フェムト秒光パルス発生技術の構築

5 フェムト秒極超短光パルス発生を行うため、中空糸ファイバー光パルス圧縮器 (FemtoLasers 社, Custom Kaleidoscope HE) を導入した。図 2 に装置の概略を示す。チタンサファイア再生増幅器 (Coherent, Legend Elite USP-HE, 中心波長 800 nm, パルス幅 30 fs, パルス繰り返し 5 kHz) から出力される高強度 30 フェムト秒の光パルスが、希ガス (Ne または Ar) を充填した中空糸ファイバー中を伝搬することで、自己位相変調を誘起し、スペクトル幅 200 nm 以上の超広帯域光が発生する。この出力光パルスを最適に計算されたチャープミラー対と補償光学素子を使用することで、5 フェムト秒の極超短光パルスを得ることができる。出力パルスの一部は、本研究で導入したフリッジ分解自己相関器 (FRAC) (FemtoLasers 社, Femtometer) を用いてパルス時間波形の常時モニターを行った。

(2) サブ 30 フェムト秒波長可変光源

上記の 30 フェムト秒チタンサファイア再生増幅器からの出力光を励起光源とした光パラメトリック増幅器 (Coherent 社, Opera-Solo) を用いた。入力 900 μJ に対し、Signal 光 (1200~1600 nm) は 150~200 μJ, Idler 光 (1600~2400 nm) は 100~140 μJ の出力が得られる。Signal、Idler 光は 2 色ビームスプリッターにより分離し、それぞれの光パルスに対して非線形光学結晶 (Type I BBO 結晶) を用いた第 2 高調波発生により、波長域 600~1200 nm の波長可変光を得ることができる。これらの光パルスは、負分散広帯域チャープミラーを用いることで 30 フェムト秒以下にパルス圧縮される。

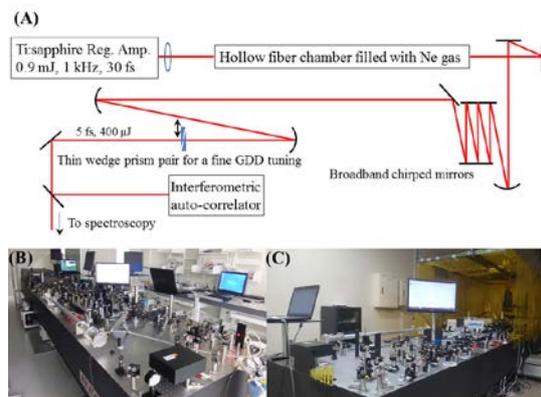


図 2: (A) 中空糸ファイバー光パルス圧縮器を用いた 5 フェムト秒光パルス発生装置の概略図。 (B) 大阪市立大学及び、 (C) 熊本大学において構築した 5 フェムト秒光パルス発生装置及びそれを用いたコヒーレント分光計測装置の写真。

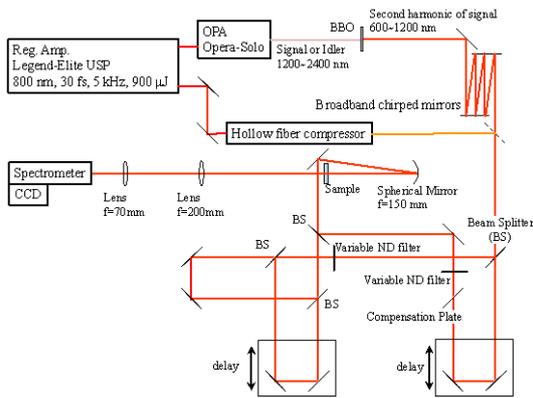


図3 フェムト秒光パルス及び波長可変サブ30フェムト秒光パルスを用いた3パルスコヒーレント分光計測装置の概略図。

(3) 3パルスコヒーレント分光計測

(1), (2)により得られた光パルスは、薄型ビームスプリッター (BS)により3分割される。このうち2パルスは、精密自動ステージを用いて光路長を制御し、各パルス間の時間差を可変にした。本研究では、3パルスを用いた縮退四光波混合分光計測を行った。図4に示すようにこの分光手法では、3つの光パルスが試料に入射すると、共鳴条件下では試料内で位相整合条件を満たす方向へコヒーレント信号が放射される。3つのパルスは、球面鏡を用いて試料へ入射し、発生した信号光の一つは分光器を通した後、CCDにて検出を行った。

4. 研究成果

(1) パルス評価

図5に中空糸ファイバー光パルス圧縮器からの出力パルスのスペクトル及びFRACを用いて計測した時間自己相関波形を示す。出力パルスのスペクトルは中空糸ファイバーを封入するチャンバー内のガス圧により制御可能で、1.2 barでスペクトル幅(10分の1全幅: FWTM)が230 nm (フーリエ変換限界パルス幅4.8フェムト秒に相当)まで広帯域化し、かつ高いスループット (>40%)と安定性が得られた。パルス幅は負分散広帯域チャープミラー及び厚さ可変薄型ウェッジプリズムを用いることで最適化を行い、フーリエ変換限界に近い5.0フェムト秒のパルスが得られた。

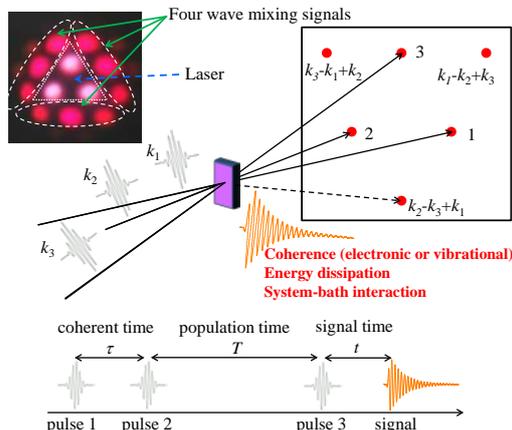


図4 縮退四光波混合分光の原理図。

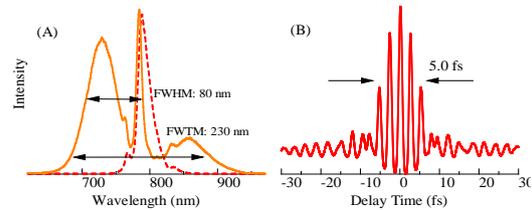


図5: (A) チタンサファイア再生増幅器から出力された光パルス (破線)及び、Neが充填された中空糸ファイバーを伝搬後の光パルス (実線)のスペクトル。(B) FRACにより測定された中空糸ファイバー光パルス圧縮器出力パルスの時間自己相関波形。

図6に3パルス分光計測系の試料位置で測定した周波数分解光ゲート (FROG)法による光パルスの自己相関波形を示す。分光計測系では透過型光学素子を用いているため、素子の持つ屈折率分散により光パルスは時間的な広がりを受ける。一方、本研究で構築した系では、光学素子による分散を考慮し、最適に分散補償を行うことで、超高速分光を行う場合にも時間分解能を劣化させることなく計測が可能となった。

(2) サブ30フェムト秒光パルスを用いたコヒーレント分光

波長可変サブ30フェムト秒光パルスを用いたコヒーレント縮退四光波混合分光計測結果を図7に示す。試料として、高等植物・藻類由来の光合成色素クロロフィルaと紅色細菌由来の光合成アンテナLH2を用いた。クロロフィルaはアセトン中に溶解し、LH2は光合成膜から単離調製した後、会合を避けるため界面活性剤を用いて緩衝液中に溶解した。

クロロフィルaの縮退四光波混合分光計測では、周期が25~100フェムト秒程度のコヒーレント振動が電子状態に由来する信号に重畳される形で観測された。コヒーレント信号成分のみを抽出し、フーリエ変換を行ったところ、300~1300 cm⁻¹の振動モードが観測された。これらの振動モードは、定常ラマン分光で観測されるクロロフィルaの基底状態の分子振動と一致していることから、観測されたコヒーレント振動は、瞬時ラマン過程によ

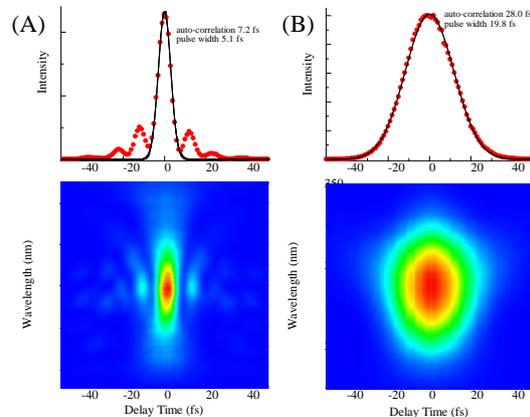


図6: 周波数分解光ゲート法 (FROG)を用いて計測された(A) 中空糸ファイバー光パルス圧縮器出力パルス及び、(B) 光パラメトリック増幅器からの出力パルスの時間自己相関波形。

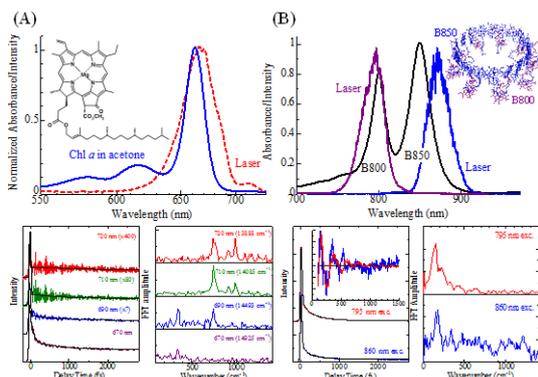


図 7: (A) アセトン中のクロロフィル *a* 及び (B) 紅色細菌由来の光合成アンテナ LH2 における縮退四光波混合分光計測。

って生成されたと考えられる。

紅色細菌光合成アンテナ LH2 では、光合成色素バクテリオクロロフィル *a* がリング状会合体を形成することにより、B800 と B850 の 2 つの吸収帯を持つ。それぞれの吸収帯に共鳴する光パルスを用いて縮退四光波混合分光計測を行ったところ、微弱ながらコヒーレント振動が観測された。フーリエ解析より観測されたモードは 160 cm^{-1} の振動であり、バクテリオクロロフィル *a* の分子間振動と帰属される。

(3) 5 フェムト秒光パルスによる光合成色素分子間電子コヒーレンスの観測

本研究で構築した 5 フェムト秒光パルスを用いて、紅色細菌光合成アンテナ LH2 における縮退四光波混合分光計測を行った。図 8 に示すように 5 フェムト秒光パルスは、200 nm 以上の超広帯域スペクトルを持つため、B800 と B850 の同時励起が可能となる。そこで、5 フェムト秒光パルスを用いて B800 と B850 を同時励起し、2 つの会合体の相互作用に誘起される電子コヒーレンスの観測を試みた。その結果、四光波混合信号に振動周期 < 20 フェムト秒、減衰時間 < 100 フェムト秒のコヒーレント振動が明確に観測された。フーリエ解析により、観測されたコヒーレント振動が 3

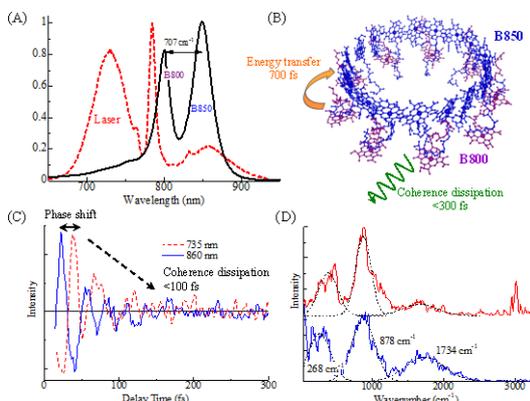


図 8: (A) 5 fs 光パルスのスペクトル及び (B) LH2 の吸収スペクトル。 (C) LH2 におけるバクテリオクロロフィル分子の空間配列。5 フェムト秒光パルスを用いた四光波混合分光計測における (C) 量子ビート信号と (D) そのフーリエスペクトル。

つのモードから形成され、基底状態におけるバクテリオクロロフィルの分子振動とは明確に異なっていることが分かった。また、検出波長を変えることで、B800 及び B850 に由来するコヒーレント振動を比較したところ、両者の信号に位相差が観測されていることから、信号の起源は B800-B850 間の電子コヒーレンスに由来すると考えられる。一方、色素分子間電子コヒーレンスに由来する量子ビートモードが 3 つ観測されていることから、B800 または B850 の暗電子状態・振動励起状態が関与していることが推測される。

(4) まとめと展望

本研究では、極超短光パルス発生技術及びコヒーレント分光計測技術を用いて光合成エネルギー伝達過程の解明を行った。本研究にて構築した技術により、光合成アンテナ系及びそれに結合する色素分子類における分子振動・電子コヒーレンスに関する深い知見を得ることができた。特に 5 フェムト秒光パルスを用いた紅色細菌光合成アンテナにおける研究では、エネルギー伝達過程において色素分子間マルチモード電子コヒーレンスの形成という非常に興味深い結果が得られた。一方で、このような電子コヒーレンスの散逸時間はエネルギー伝達時間よりもはるかに短いため、光合成初期過程における電子コヒーレンスの役割は明らかにはなっていない。今後は更なる詳細な実験的研究を行うとともに、本研究で得られた結果をモデルとした新たな理論の枠組みの形成が期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 16 件)

1. **D. Kosumi**, T. Horibe, M. Sugisaki, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, "Photoprotection Mechanism of Light-Harvesting Antenna Complex from Purple Bacteria", *The Journal of Physical Chemistry B*, **120**, 951-956, 2016.
2. **D. Kosumi**, T. Nishiguchi, M. Sugisaki H. Hashimoto, "Ultrafast coherent spectroscopic investigation on photosynthetic pigment chlorophyll *a* utilizing 20 fs pulses", *Journal of Photochemistry and Photobiology A*: **313**, 72-78, 2015.
3. A. Ito, A. Shimizu, N. Kishida, Y. Kawanaka, **D. Kosumi**, H. Hashimoto, and Y. Teki, "Excited-State Dynamics of Pentacene Derivatives Having Stable Radical Substituents", *Angewandte Chemie International Editions*, **53**, 6715-6719, 2014. (Inside back cover picture に採用)
4. **D. Kosumi**, T. Kajikawa, S. Okumurai, M. Sugisaki, K. Sakaguchi, S. Katsumura, and H. Hashimoto, "Elucidation and Control of an Intramolecular Charge Transfer Property of Fucoxanthin by a Modification of Its

Polyene Chain Length", *The Journal of Physical Chemistry Letters*, **5**, 792-797, 2014.

5. **D. Kosumi**, K. Nakagawa, S. Sakai, Y. Nagaoka, S. Maruta, M. Sugisaki, T. Dewa, M. Nango, and H. Hashimoto "Ultrafast intramolecular relaxation dynamics of Mg- and Zn Bacteriochlorophyll *a*", *The Journal of Chemical Physics*, **139**, 034311/1-8, 2013.

[学会発表] (計 47 件)

1. **Daisuke Kosumi**, "Material science as revealed by ultrafast spectroscopy", *International Symposium on Interdisciplinary of Pulsed Power*, Kumamoto, March, 2016 **招待講演**
2. **小澄大輔**, 「超高速分光で観る光合成におけるカロテノイドの光機能」, 第 29 回カロテノイド研究談話会, 東京, 9 月, 2015 年 **招待講演**
3. H. Hashimoto, **D. Kosumi**, R. Fujii, M. Sugisaki, M. Iha, K. Sakaguchi, and S. Katsumura, "Ultrafast excited state dynamics of marine carotenoid fucoxanthin and its homologues", *Light-Harvesting Processes (LHP2015)*, Banz, Germany, March, 2015. **招待講演**
4. H. Hashimoto, **D. Kosumi**, R. Fujii, M. Sugisaki, M. Iha, K. Sakaguchi, and S. Katsumura, "The secret of highly efficient light-harvesting antenna found in brown algal photosynthesis", *2014 International Conference on Artificial Photosynthesis*, Awaji, November, 2014. **招待講演**
5. H. Hashimoto, **D. Kosumi**, R. Fujii, M. Sugisaki, M. Iha, K. Sakaguchi, and S. Katsumura, "Ultrafast excited state dynamics of marine carotenoid fucoxanthin and its homologues", *The 17th International Carotenoid Symposium*, Utha, USA, June, 2014. **招待講演**
6. Y. Teki, A. Shimizu, N. Kishida, A. Ito, Y. Kawanaka, **D. Kosumi**, and H. Hashimoto, "Photoprotection of Pentacene Derivatives Utilizing Excited-State Spin Dynamics", *The 7th Japanese-Russian Workshop on Open Shell Compounds and Molecular Spin Devices*, Awaji, November, 2013. **招待講演**
7. **D. Kosumi**, R. Fujii, M. Iha, and H. Hashimoto, "Ultrafast excited state dynamics of marine carotenoid fucoxanthin", *2nd Natural Pigments Conference for South-East Asia (NP-SEA)*, Malang, Indonesia, July, 2013. **招待講演**
8. **D. KOSUMI**, T. HORIBE, M. SUGISAKI, R.J. COGDELL, and H.

HASHIMOTO, "Quantum coherence between B800 and B850 assemblies of light-harvesting complex from purple bacteria observed by 5 fs optical pulses", *2014 International Conference on Artificial Photosynthesis*, Awaji, November, 2014.

9. **小澄大輔**, 堀部智子, 杉崎満, R.J. Cogdell, 橋本秀樹, 「近赤外 5 フェムト秒光パルスを用いた光合成アンテナにおける量子ビートの観測」, レーザー学会学術講演会第 35 回年次大会, 東京, 1 月, 2015 年
10. **D. Kosumi**, S. Maruta, R. Fujii, M. Sugisaki, S. Takaichi, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, "A Regulation of Energy Flow in Purple Bacterial Photosynthetic Antennas", *19th International Conference on Ultrafast Phenomena*, Okinawa, July, 2014.

[図書] (計 1 件)

1. 橋本秀樹, 藤井律子, **小澄大輔**, 杉崎満, "光合成反応における励起エネルギー移動メカニズム", 光学, "紐解かれる光合成反応メカニズム", **43**, 249-259, 2014.

[その他]

ホームページ等

<http://phys.ipps.kumamoto-u.ac.jp/kosumi/index-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小澄 大輔 (DAISUKE KOSUMI)

熊本大学・パルスパワー科学研究所・准教授

研究者番号 : 70613149