

機関番号：11301

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2007～2010

課題番号：19340076

研究課題名 (和文) 励起状態の振動制御による光合成エネルギー伝達過程の高効率化

研究課題名 (英文) Efficient Energy Transfer in Photosynthesis Investigated by Control of Excited States

研究代表者

吉澤 雅幸 (YOSHIKAWA MASAYUKI)

東北大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：60183993

研究成果の概要 (和文)：

励起状態の振動をフェムト秒時間領域で観測および制御する分光装置を開発し、光合成初期過程におけるエネルギー移動過程に応用した。色素を純化した再会合色素蛋白複合体 (LH1) を用いた系統的測定を行い、特にカロテノイド S\* 励起状態についての新しい知見を得た。フェムト秒誘導ラマン分光により光捕集過程における振動状態の変化を明らかにし、マルチパルス励起によりエネルギー移動効率の制御に成功した。

研究成果の概要 (英文)：

Ultrafast spectroscopy system for measurement and control of vibrations in excited states has been developed and applied to energy transfer in primary process of photosynthesis. We have obtained new results about the S\* excited state in carotenoid using reconstituted LH1 complexes. The transient vibrations in the light-harvesting process have been observed by femtosecond stimulated Raman spectroscopy. The energy transfer in LH1 has been successfully controlled by multipulse excitation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2008年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

研究分野：光物性

科研費の分科・細目：物理学・物性 I

キーワード：光合成初期過程、エネルギー移動、時間分解分光、マルチパルス励起

## 1. 研究開始当初の背景

光合成は太陽エネルギーを利用し地球の生命を支えるかけがえのない方法である。その効率の鍵となるものに、カロテノイドに代表される光アンテナ分子からクロロフィルへの超高速エネルギー移動がある。しかし、カロテノイドは光学遷移が許容な最低励起状態 (S<sub>2</sub>) よりも低エネルギーに複数の禁制励起状態 (S<sub>1</sub>, S<sub>x</sub>, S\* など) をもつことが知ら

れている。しかも、超高速領域では振動準位も無視できない。光合成アンテナ色素蛋白複合体におけるエネルギー伝達過程には多くの励起準位が関与しており、その詳細は明らかではなかった。

## 2. 研究の目的

(1) 従来のフェムト秒ポンプ・プローブ分光法では、多準位系で得られる信号の同定が困

難であるという欠点をもつ。本研究では、マルチパルス励起分光装置を開発して、フェムト秒領域で多準位系の信号を詳細に観測する手法を確立する。さらに、励起状態の振動状態を観測するだけでなく制御することを可能とする。

(2) 試料として自然由来のものだけでなく、純化した光アンテナ分子を再会合した人工の色素蛋白複合体 (LH1) を系統的に用いる。電子状態のエネルギーが異なる LH1 を系統的に調べることで伝達効率との関係を明らかにする。

(3) マルチパルス励起分光法により色素蛋白複合体を振動を含めて任意の励起状態とし、エネルギー移動の制御を達成する。再会合 LH1 の系統的測定と合わせて、光合成初期過程におけるエネルギー移動効率を決定する要因を明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) マルチパルス励起フェムト秒分光装置

既存のフェムト秒ポンプ・プローブ分光装置に2台の光パラメトリック増幅器 (OPA) 製作して付け加え、特性の異なる4台のOPA光源を準備した。さらにパルス波形整形器を開発した (図1)。

本装置により、広範囲な波長可変励起光を得るとともに、マルチパルス励起を行うことで、試料を任意の励起状態とすることを可能とした。エネルギー移動過程における初期状態の選択的生成や制御に応用し、その機構の解明を進めた。

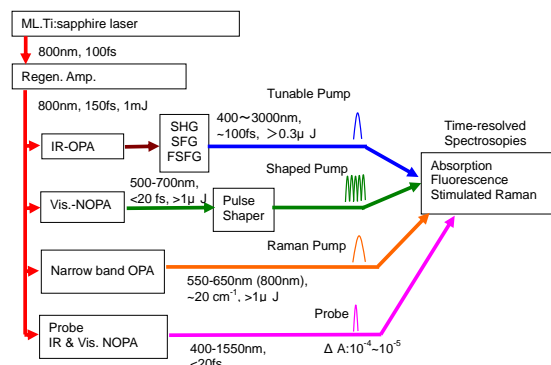


図1 マルチパルスフェムト秒分光装置

#### (2) 再会合光合成色素蛋白複合体 (LH1)

光合成色素蛋白複合体 (LH1) は図2に示すように、バクテリオクロロフィル (BCh1) とカロテノイド (Car) がリング状に配列している。天然の LH1 は、異なるエネルギー準位をもつ数種類の Car を含んでいる。本研究では、再会合の手法により Car を純化した LH1 を試料として用いた。さらに、BCh1 の中心金

属を Mg から Zn に変えた Zn-BCh1 をもつ LH1 も用いた。これらの試料を系統的に測定することで、エネルギー移動効率とエネルギー準位の関係を明らかにした。

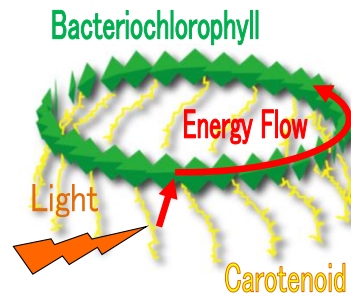


図2 色素蛋白複合体 (LH1) の模式図

### 4. 研究成果

#### (1) フェムト秒分光装置

##### ① 広帯域マルチパルス励起光生成

再会合色素蛋白複合体の系統的測定を行うためには、可視から近赤外までの広範囲の波長可変励起光が必要である。そこで、同軸赤外 OPA を開発し、その出力を非線形光学効果により波長変換することで400nmから3μmまでほぼ連続的に波長可変励起光を発生した。既存の非同軸 OPA と組み合わせることで、マルチパルス励起による光合成初期過程の測定が可能となった。

##### ② パルス波形制御

コヒーレント振動生成には、振動周波数に同期したパルス列による励起が有効である。そのため、回折格子対と空間光位相変調器を用いた波形整形器を開発し、非同軸 OPA により発生した 20fs 光パルスから任意の周期をもつパルス列を得た (図3)。色素分子 (Nile Blue) を用いた実験により、電子励起状態に周期約 56fs のコヒーレント振動を効率よく生成することに成功した

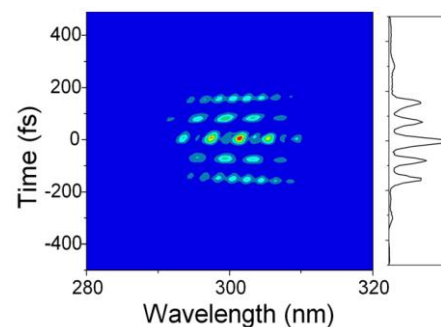


図3 波形整形パルスの SHG-FROG 信号

##### ③ 共鳴フェムト秒誘導ラマン分光法

フェムト秒誘導ラマン分光は、励起状態の振動を測定する有力な手段である。本研究では、共鳴効果を利用して選択的に励起状態の

誘導ラマン信号を得るために、波長可変のラマン励起光を発生した。回折格子とスリットを用いてゼロ分散の周波数フィルターを製作し、フェムト秒白色光を狭帯域化して OPA のシード光とした。さらに増幅された出力光を再びフィルターに通すことで増幅によるスペクトル広がりを取り除いた。これにより、550nm から 650nm の波長可変範囲でスペクトル幅  $20\text{cm}^{-1}$  以下のラマン分光用励起光を安定して得ることに成功した。

## (2) 再会合 LH1 のエネルギー移動

色素蛋白複合体中では、図 4 のようにカロテノイド (Car)  $S_2$  状態が光励起された後、エネルギー移動 (EET) が起きてバクテリオクロロフィル (BChl)  $Q_x$  状態が生成される。このエネルギー移動過程の評価法として、Car  $S_2$  準位と BChl  $Q_x$  準位を波長可変励起光により励起して比較する手法を開発した。光励起後の過渡吸収変化を Global Fitting で解析して各準位の信号強度を求め、エネルギー移動効率を評価している。この手法では、複合体中と溶液中という環境の異なる状態の動的過程を比較することなくエネルギー移動効率を決定できる利点がある。

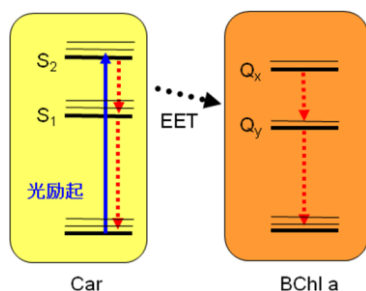


図 4 LH1 中のエネルギー移動の模式図

試料は紅色光合成細菌 *Rhodospirillum Rubrum* S1 から単離した LH1 複合体に純化した色素を再会合したものである。カロテノイドの異なる複合体として LH1 (Spx) (スピロキサンチン、共役長  $n=13$ ) と LH1 (Sph) (スフェロイデン、共役長  $n=10$ ) を用いた。さらに、バクテリオクロロフィルの中心金属を Mg から Zn とした複合体 (LH1 (ZnSph)) の測定を行った (カロテノイドはスフェロイデン)。図 5 は LH1 (Sph) の BChl  $Q_x$  準位を光励起した後の過渡吸収変化を Global Fitting した結果である。BChl を励起したにも関わらず Car  $S_1$  信号が観測されており、BChl から Car への光捕集作用とは逆向きのエネルギー移動が存在することが明らかにされた。

LH1 (SphZn) と LH1 (Sph) の比較では、Car  $S_2 \rightarrow$  BChl  $Q_x$  および Car  $S_1 \rightarrow$  BChl  $Q_y$  の 2 種類のエネルギー移動過程が観測された。Car  $S_1$

と BChl  $Q_x$  間のエネルギー移動はエネルギー差が小さい LH1 (SphZn) の方が高い効率となっているが、Car  $S_2$  と BChl  $Q_x$  間にはエネルギー差がほぼ同じであるにもかかわらず、やはり LH1 (SphZn) のエネルギー移動効率が高くなっている。これは、BChl 中の Zn 原子がエネルギー移動効率を高める何らかの役割を果たしていることを示している。また、本研究では、エネルギー移動のドナーとアクセプターのエネルギー差を小さくすることは、効率高めるためには逆効果となる場合があることが示された。エネルギー移動効率のよい複合体の設計には、Car の  $S_2$ 、 $S_1$  準位だけでなく他の中間励起状態や振動準位の影響も考慮する必要がある。

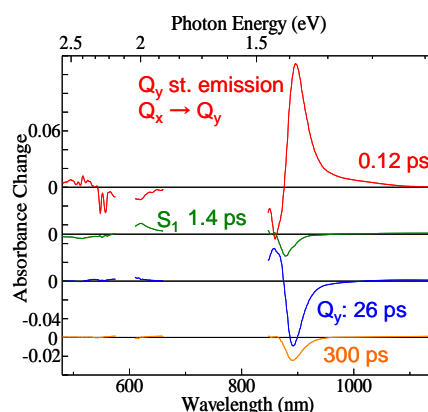


図 5 LH1 (Sph) の過渡吸収スペクトル (BChl  $Q_x$  励起)

## (3) マルチパルス励起

### ① 励起状態のコヒーレント振動生成

電子励起状態を作る励起光とコヒーレント振動を作る励起光を独立として、双方の波長とパルス波形を最適化する多色マルチ励起法を開発した。第 1 の励起光は電子励起状態を選択的に生成し、第 2 の超短パルス励起光もしくは波形整形パルス列により目的とするコヒーレント振動を発生させる。図 6 は  $\beta$ -カロテンに応用した結果であり、吸収変化の時間依存性をフーリエ変換して示している。第 1 の励起光は 500nm であり  $S_2$  を励起している。2ps 後に共鳴した中心波長 550nm の第 2 の超短パルス励起光 (18fs) を入射した結果、 $1200\text{cm}^{-1}$  と  $1800\text{cm}^{-1}$  付近に信号が観測された。この信号は、フェムト秒ラマン分光で観測されている  $S_1$  の振動周期とよく一致しており、光学禁制である  $S_1$  状態にコヒーレント振動が生成されたことを示している。

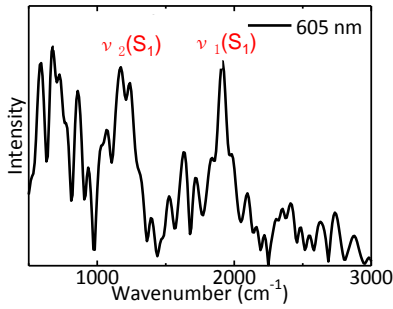


図6  $\beta$ -カロテン  $S_1$  励起状態への  
コヒーレント振動生成

②LH1 の共鳴フェムト秒誘導ラマン分光

光合成初期過程では、Car の  $S_1$  の振動状態がエネルギー移動効率を高めていることが報告されている。また、近年では LH 中の Car には別の光学的禁制状態  $S^*$  が存在することが提唱されており、光捕集作用における役割が注目されている。本研究では、LH1 の光励起 (500nm) 後に、Car 励起状態 ( $S_1, S^*$ ) に共鳴したラマン励起光によりその振動状態の観測を行った。

Car  $S_1$  共鳴のフェムト秒誘導ラマンスペクトル (図7) では、 $1750\text{cm}^{-1}$  と  $1210\sim 1260\text{cm}^{-1}$  に  $S_1$  の  $\nu_1$  (C=C 伸縮振動) モードと  $\nu_2$  (C-C 伸縮振動) モードが観測された。特に、 $\nu_1$  モードは 0.4ps の時定数で高振動数にシフトしている。これは、 $\nu_1$  モードの振動励起状態からの緩和を示している。この緩和に対応するエネルギー移動成分が過渡吸収分光で観測されていることから、 $S_1$  の振動励起状態からはエネルギー移動が効率よく起きていることがわかる。

Car  $S^*$  共鳴では  $1280\text{cm}^{-1}$  と  $1350\text{cm}^{-1}$  にラマン信号が観測された。これは Car の三重項励起状態がもつ振動数に近く、 $S^*$  は  $S_1$  とは異なる構造をもつと考えられる。

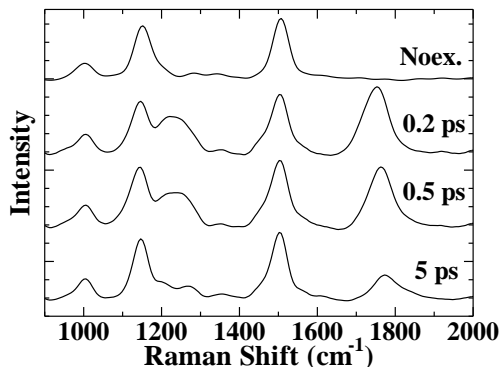


図7 LH1 の  $S_1$  共鳴誘導ラマンスペクトル

③エネルギー移動の制御

従来のポンプ・プローブ分光は、ポンプ光

により作られた過渡状態をプローブ光で受動的に測定するものであった。マルチ励起光を用いると試料の環境を変えた新しい条件で過渡状態を調べることができる。

色素蛋白複合体では、エネルギー移動のアクセプターである BChl の状態を変えることでエネルギー移動に変化が起こることが期待できる。そこで、Prepump 光 (880nm) で BChl  $Q_y$  状態を励起した状態で、Car  $S_2$  からのエネルギー移動過程を調べた。LH1 (Spx), LH1 (Sph) のいずれにおいても Car  $S_2$  信号の減衰が遅くなった。また、図8のように LH1 (Spx) では、Prepump により Car  $S_1$  信号が減少し Car  $S^*$  信号が増加の様子が観測された。これは、BChl  $Q_y$  状態がエネルギー移動過程だけでなく Car の緩和過程にも影響を与えていることを示している。また、この影響は Car  $S_1$  からのエネルギー移動効率を減少させており、光障害保護作用に相当する効果を与える。従来、光障害保護は Car の三重項励起状態が大きな役割をもつとされてきたが、一重項励起状態の動的過程にも保護作用に相当する効果があることが明らかにされた。

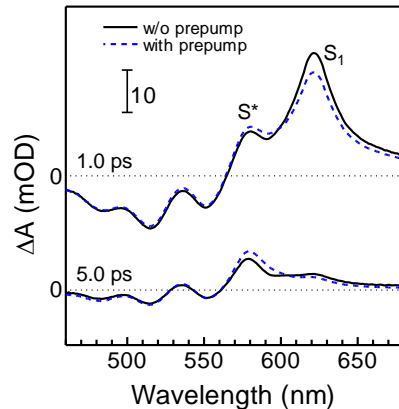


図8 LH1 のエネルギー移動への BChl  $Q_y$  励起の効果

(4)今後の展望

本研究では、励起状態をフェムト秒時間領域で観測および制御するマルチパルス励起分光法の開発に成功した。この手法は、光合成系以外の多準位系の研究にも有効であり、複雑系の光物性研究に重要な役割を果たすことができる。

再会合 LH1 の系統的研究により、新たな光保護機構が発見されるとともに、従来ほとんど報告がなかった Car の  $S^*$  状態についての新しい知見が得られた。これらの成果により、従来の模式的なモデルに替わる詳細なモデルの提示が可能となったため、光合成初期過程の理解が飛躍的に進むことが期待される。

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 16 件)

- ① M. Yoshizawa, R. Nakamura, O. Yoshimatsu, K. Abe, S. Sakai, K. Nakagawa, R. Fujii, M. Nango, H. Hashimoto, "Femtosecond stimulated Raman spectroscopy of the dark S<sub>1</sub> excited state of carotenoid in photosynthetic light harvesting complex", Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 査読有, in press.
- ② R. Nakamura, K. Nakagawa, M. Nango, H. Hashimoto, and M. Yoshizawa, "Dark Excited States of Carotenoid Regulated by Bacteriochlorophyll in Photosynthetic Light Harvesting", J. Phys. Chem. B, 査読有, Vol. 115, 2011, pp.3233-3239.
- ③ D. Kosumi, K. Abe, H. Karasawa, M. Fujiwara, R. J. Cogdell, H. Hashimoto, and M. Yoshizawa, "Ultrafast Relaxation Kinetics of the Dark S<sub>1</sub> State in All-trans- $\beta$ -Carotene Explored by One- and Two-Photon Pump-Probe Spectroscopy", Chem. Phys., 査読有, Vol. 373, 2010, pp.33-37.
- ④ D. Kosumi, M. Fujiwara, H. Hashimoto, and M. Yoshizawa, "Ultrafast Nonlinear Optical Responses Induced by Multiphoton Excitation in All-trans- $\beta$ -Carotene: Nonresonant Excitation to the Optically Allowed S<sub>2</sub> State", J. Phys. Soc. Jpn, 査読有, Vol. 78, No.10, 2009, 104715 (5 pages).
- ⑤ D. Kosumi, M. Fujiwara, R. Fujii, R. J. Cogdell, H. Hashimoto, and M. Yoshizawa, "The dependence of the ultrafast relaxation kinetics of the S<sub>2</sub> and S<sub>1</sub> states in  $\beta$ -carotene homologs and lycopene on conjugation length studied by femtosecond time-resolved absorption and Kerr-gate fluorescence spectroscopies", J. Chem. Phys., 査読有, Vol. 130, No.21, 2009, pp.214506-214513.
- ⑥ K. Abe, D. Kosumi, K. Yanagi, Y. Miyata, H. Kataura, and M. Yoshizawa, "Light-harvesting function of  $\beta$ -carotene inside carbon nanotubes explored by femtosecond absorption spectroscopy", Phys. Rev. B, 査読有,

Vol. 77, No.16, 2008, 165436/1-6.

[学会発表] (計 58 件)

- ① M. Yoshizawa, R. Nakamura, K. Abe, T. Yoshioka, O. Yoshimatsu, S. Sakai, K. Nakagawa, M. Nango, and H. Hashimoto, "Ultrafast dynamics of reconstituted light-harvesting complexes from photosynthetic bacteria", Symposium on General Aspects of Graphene, CNT & Ultrafast Phenomena of Nanomaterials, Taipei Taiwan (Nov.16, 2010) 招待講演.
- ② M. Yoshizawa, R. Nakamura, K. Abe, T. Yoshioka, O. Yoshimatsu, S. Sakai, K. Nakagawa, M. Nango, and H. Hashimoto, "Ultrafast dynamics of light-harvesting complexes investigated by multi-pump spectroscopies", Symposium on the development of ultrashort pulse lasers and ultrafast spectroscopy, Tokyo Japan, (Sep.17, 2010) 招待講演.
- ③ K. Abe, R. Nakamura, H. Hashimoto, and M. Yoshizawa, "Coherent Control of the Selected Excited State by Two-Color Multipulse Excitation", The 17th International Conference on Ultrafast Phenomena, Snowmass USA (July 21, 2010).
- ④ R. Nakamura, T. Yoshioka, K. Abe, T. Sakai, K. Nakagawa, M. Nango, H. Hashimoto, and M. Yoshizawa, "Energy Flow in the Light Harvesting Complex Manipulated by Pre-excitation of the Energy Acceptor", The 17th International Conference on Ultrafast Phenomena, Snowmass USA (July 20, 2010).
- ⑤ 吉澤雅幸: 光合成初期反応のマルチパルス光励起による制御、ワークショップ「超高速過程における量子コヒーレンスの観測と制御」、(2009年12月3日) 仙台、招待講演.

[図書] (計 6 件)

- ① K. Abe, R. Nakamura, H. Hashimoto, and M. Yoshizawa, "Coherent Control of the Selected Excited State by Two-Color Multipulse Excitation", Ultrafast Phenomena XVII, Oxford University Press, pp. 793-795 (2010).
- ② R. Nakamura, T. Yoshioka, K. Abe, S. Sakai, K. Nakagawa, M. Nango, H.

- Hashimoto, and M. Yoshizawa, "Energy Flow in the Light Harvesting Complex Manipulated by Pre-excitation of the Energy Acceptor", *Ultrafast Phenomena XVII*, Oxford University Press, pp. 598-600 (2010).
- ③ M. Yoshizawa, K. Abe, D. Kosumi, K. Yanagi, Y. Miyata, and H. Kataura, "Ultrafast dynamics of light-harvesting function of  $\beta$ -carotene in carbon nanotube", *Ultrafast Phenomena XVI*, Springer Series in Chemical Physics 92, pp.610-612 (2009).
- ④ 杉崎満、橋本秀樹、吉澤雅幸、「新しい分光法を用いたカロテノイドの振動状態の研究」、カロテノイドの科学と最新応用技術、監修：宮下和夫、シーエムシー、第7章 pp.78-89 (2009).

[その他]

ホームページ等

<http://sspp.phys.tohoku.ac.jp/yoshizawa>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉澤 雅幸 (YOSHIZAWA MASAYUKI)

東北大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：60183993

### (2) 研究分担者

橋本 秀樹 (HASHIMOTO HIDEKI)

大阪市立大学・複合先端研究機構・教授

研究者番号：50222211

### (3) 研究協力者

中村 亮介 (NAKAMURA RYOSUKE)

東北大学・大学院理学研究科・助教

(現：大阪大学・先端科学イノベーションセンター・特任講師)

研究者番号：70379147