

平成 22 年 4 月 17 日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2006～2009

課題番号：18340091

研究課題名（和文） 光合成色素蛋白超分子複合体のコヒーレント制御

研究課題名（英文） Coherent control of photosynthetic pigment-protein complexes

研究代表者

杉崎 満 (SUGISAKI MITSURU)

大阪市立大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：20360042

研究成果の概要（和文）：紅色光合成細菌における代表的な光合成色素であるカロテノイドとバクテリオクロロフィルを中心に，電子状態と振動状態のダイナミクスを，実験と理論の両面から系統的に解明する手法を構築した．光合成初期過程を理解する上で必須となる電子状態を明らかにした．コヒーレントな振動状態を人為的に生成・制御する手法を開発した．

研究成果の概要（英文）：A novel integrated methodology has been developed to simultaneously investigate the dynamics of the electronic and vibronic states experimentally and theoretically. Here assiduous attention has been paid on carotenoids and bacteriochlorophylls, which are the most abundant pigments bound in photosynthetic purple bacteria. The essential electronic states to understand the early events of photosynthesis in these bacteria have been clarified. The artificial generation and control of the coherent vibronic oscillations have been attained.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	11,000,000	3,300,000	14,300,000
2007 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
総計	15,400,000	4,620,000	20,020,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物理学・物性 I

キーワード：光物性，超高速分光，光合成，バイオテクノロジー

1. 研究開始当初の背景

(1) 緒言

光合成細菌の光合成系は，超高速（100 フェムト秒以下）かつ高効率（～100%）な光エネルギー変換機構を有する，自然が創造したバイオナノデバイスである．その機構を解明

することは，太陽光エネルギーの有効利用によるクリーンエネルギー変換器の基盤技術となり得る．化石燃料や原子力発電による環境への影響は古くから問題視されているが，これらのエネルギー源に頼らざるを得ない状況は現在も変わっていない．安全でクリーンなエネルギー変換器の開拓は，人類に課せ

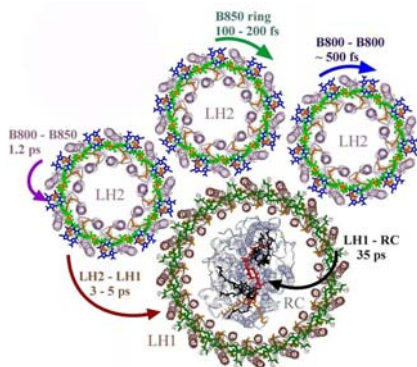


図1：色素蛋白超分子複合体の構造。エネルギー伝達の時定数も併せて記されている。

られた急務の研究課題といえる。

光合成初期過程の機能発現には、LH2、LH1と呼ばれるアンテナ色素蛋白複合体と光反応中心複合体 (RC) の合計3種類の色素蛋白超分子複合体が密接に関係している (図1参照)。光合成研究は、主に生物学・化学の分野で発展してきた。しかし近年、単結晶X線構造解析により、LH、及びRCの詳細な構造が徐々に明らかとなってきたことに触発され、その物理学的な側面にアプローチするという動きが世界中から出てきている。色素蛋白超分子複合体において非常に興味深い点は、エネルギーの散逸を最小限に抑えた状態で、効率良く、LH2、及びLH1からRCへ太陽光エネルギーを到達させることである。このような高効率のエネルギー伝達効率を達成している物質は、非常に類希な存在であり、その機構を明らかにすることは、新しい物理学概念の形成に繋がると考えられる。

本研究でキーワードとなる「コヒーレント分光」は、ヨウ素をはじめとする気体試料を用いた実験において1990年代に発展を遂げてきた。その後、新しい手法の開発やレーザー光源の発達に伴い、液体、無機固体、蛋白質など、より複雑な構造を持つ物質へ適用されるようになった。コヒーレント信号を観測することにより、振動状態と電子状態のダイナミクス、状態間の相互作用、物質を取り囲む環境の影響等、エネルギー失活のメカニズムについて総合的な情報が得られる。さらに、入射光の形状や間隔、位相をコントロールすることで、化学反応の効率 (すなわち反応経路) が制御可能になると期待されること等から、現在も活発に研究が進められている。

(2) 内外の動向

光合成初期過程の機構解明は、生命科学・化学・物理分野における多くの研究者が長年夢見て来たが、種々の技術上の問題で未だ果たせぬ研究課題である。英国グラスゴー大学のR.J. Cogdellらによるアンテナ系色素蛋白複合体 (LH2及びRC-LH1) の結晶構造解析の達成に触発され、現在世界中のグループが

活発に研究を展開しているが、明確な動作機構の解明には至っていない。

これまで多くのグループが、フェムト秒レーザー分光法を用いた研究を行ってきた。しかし従来の研究は、エネルギー緩和時間を求めることに終始しており、光合成初期過程における高効率のエネルギー伝達機構を明らかにするという意味では、問題の本質を捉えていない。そのような状況下においても、研究課題申請当時、ミラノ工科大学 (イタリア) のG. Cerulloらは既に、30フェムト秒以下のパルス光源を用い、従来よりも更に早い時間領域への注意を喚起していた点で特筆に値する。一方、米国カリフォルニア州立大学バークレー校のG.R. Flemingのグループは色素蛋白超分子複合体のコヒーレントな光学応答に着目した研究を行ったが、100フェムト秒程度の時間分解能であったため、光合成初期過程におけるカロテノイドからクロロフィルへのコヒーレントエネルギー伝達の本質を捉えるという意味では、非常に困難な状況下にあった。

本研究課題開始当初、日本はもとより、世界的にも、コヒーレント分光法によりカロテノイドからクロロフィルへの高効率エネルギー伝達機構を明らかにし、更には制御するという発想はほぼ皆無に等しかった。唯一の例外と考えられる研究グループは、ドイツマックスプランク研究所のM. Motzkusらである。本研究代表者らがβ-カロテンホモログ体の縮退四光波混合、及び六光波混合の観測に世界に先駆けて成功したのとほぼ同時期に、彼らもβ-カロテンにおける四光波混合信号の測定に成功していた。

なお、新しい分光測定法を用いたカロテノイド研究の動向については、図書②にまとめられている。

2. 研究の目的

光合成生物は、地球上での存在の歴史を通じて、「自然選択」の圧力の下で自身の存続をかけて光合成系の改良に努めてきた。その構造は、最高パフォーマンスを持つエネルギー伝達器・変換器を達成するために、40億年の歴史を通じて得た一つの答えと見なすことが出来る。そこで本研究では、光合成研究の分野で見落とされてきた電子系、及び分子系の持つ「コヒーレンス」に着目し、光合成細菌の光合成系において達成されている高効率エネルギー伝達の起源を明らかにし、更にはエネルギー伝達効率を人為的に制御する技術の確立を目標とした。

3. 研究の方法

上述の目標を達成するために、以下の手順

で研究を行った。

- (1) 研究代表者が開発したサブ 10 フェムト秒極短光パルスシステム (図 2 参照) を用いた四光波混合信号の観測を行う。カロテノイドの電子系, 及び分子系のコヒーレント光応答を, 光が入射した正にその瞬間から追跡する。また, カロテノイドが捕獲した光エネルギーの伝達先であるクロロフィルに対しても, 新たに導入した 15 フェムト秒分光システムにより, コヒーレント光応答を調べる。
- (2) 測定対象を, 精密有機合成により作製した, 天然には存在しない共役鎖長の異なるカロテノイドに拡張し, コヒーレンスとカロテノイドの共役鎖長の関係を明らかにする。
- (3) 光合成細菌から単離精製した LH2, さらには光合成膜へと測定対象を段階的に拡張し, カロテノイドが持つ長い位相緩和時間を反映し, バクテリオクロロフィルへコヒーレントにエネルギーが高效率に伝播していく様子を観測する。
- (4) 最終段階として更に, コヒーレント制御の手法により, カロテノイドの特定の分子振動モードのみを選択的に生成し, クロロフィルへのエネルギー伝達効率が人為的に制御可能であることを実証する。

4. 研究成果

(1) β -カロテンにおける縮退四光波信号

図 3 に β -カロテンの四光波混合 (Four-Wave Mixing: FWM) 信号, 及び六光波混合 (Six-Wave Mixing: SWM) 信号写真を示す。中央の三角形に囲まれた三つの強い輝点は励起光がそのまま試料を透過した結果現れる。またその周りには, FWM や SMW 信号が明瞭に現れる。特に強調すべき点は, FWM 信号だけでなく目視においても簡単に SWM 信号も確認出来ることである。このことから, カロテノイドが非線形光学応答を研究する上で, 非常に興味深い試料であることも確認された。

① 図 3 に見られる FWM 信号の一点を切り出して FWM 信号の時間発展を測定し, 電子

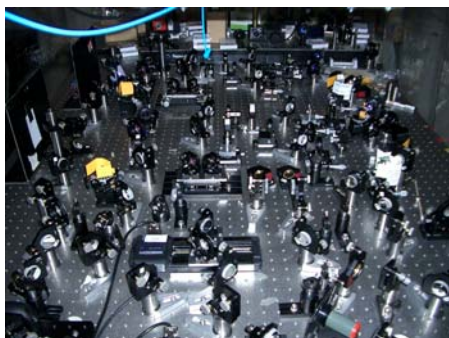


図 2: 申請代表者が構築した SHG-NOPA と FWM 分光システム。

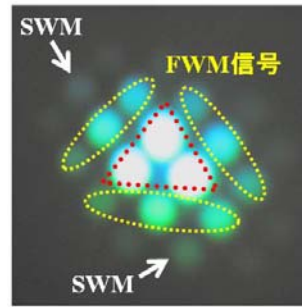


図 3: FWM 信号の写真。中央の三点は励起光。目視において, 明瞭に FWM 信号や更に高次の SWM 信号を目視で確認することが出来る。

とポリエン骨格の実時間振動ダイナミクスを同時に測定することに成功した。その一例を図 4(a) に示す。FWM 信号のフーリエスペクトルとラマン散乱スペクトルのピーク位置は完全に一致することから, FWM 信号測定で観測された速い振動成分は, β -カロテンが位相を揃えて分子振動を行うために観測されたということが示された。

② 実験で観測された光学応答を説明するために三次の非線形分極率の計算を行った。図 4(c) に見られるように, 実験と計算結果の非常に良い一致が得られた。以上の結果の重要性は, 以下のようにまとめることができる。

- Line broadening 関数を用いことにより, 分子振動構造や系と熱浴間の相互作用を適切に取り入れることが可能となる。
- 二光子吸収過程や中間状態 S_x を省いて

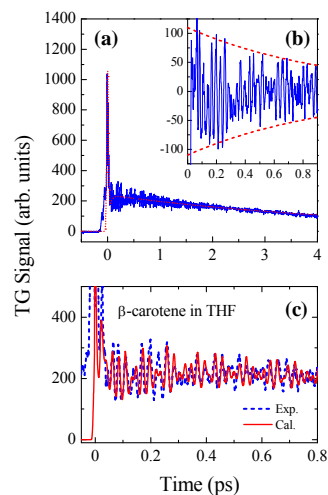


図 4: (a) β -カロテンの過渡回折格子信号。点線で示されるゆっくりと変化するバックグラウンドは, 励起状態にある電子の寿命を表している。このバックグラウンドを差し引くと, (b) のようにコヒーレント振動成分のみを抽出することが出来る。コヒーレント振動の減衰時間は約 1 ps である。(c) 過渡回折格子信号の実験 (破線) と計算結果 (実線) の比較。

計算した場合に実験結果を説明できないことから、光合成の初期過程を正しく理解するためには、古くから知られている三準位系 (S_0, S_1, S_2) だけでは不十分である。

③ 太陽から黒体輻射のピークとほぼ同じスペクトル領域にその吸収体をもつカロテノイドの光学応答が、どのような波長依存性を持つのかについて検証を行うことは、非常に重要である。しかし測定の困難さに加え、その解析には、多重積分計算が含まれているため、莫大な CPU 時間を消費することとなる。特に物性パラメータを求めるような場合には、計算を繰り返して値を収束させる必要があるために、アルゴリズムの最適化は重要な課題となってくる。本研究ではこの問題を解決し、広いスペクトル領域で実験と計算の比較を行うことに成功した。

ここで決定した Line broadening 関数を用いることで、吸収スペクトルをはじめとする種々の光学応答を計算することが可能となることから、実験と理論モデルとの比較を行う際の基準の構築に成功したといえる。このように、本研究では、電子と振動のダイナミクスを同時に測定する方法から、実験結果の物理的モデルを用いた解析まで、一連の手法を確立することに成功した。

以上の結果は雑誌論文①、④、⑧他に発表した。

(2) β -カロテンホモログ体のコヒーレント分子振動

前述の研究手法が、光合成の初期過程をどこまで説明できるか、すなわちモデルの適応範囲を検証した。カロテノイドはその共役鎖長 n 、および末端の官能基の種類によって光学特性が異なる。そのため、 $n=9, 11, 13, 15$ の β -カロテンホモログ体やリコペン、スフェロイデンについて同様の実験を行った。その結果、前述のモデルが、カロテノイド一般に利用可能であることが示された。共役鎖長の短いカロテノイド分子では、C=C 二重結合伸縮振動が主なエネルギー散逸のチャンネルとなっているのに対し、共役鎖長の長いカロテノイド分子では、C-C 単結合伸縮や C-Me 変角振動など、他の振動モードもエネルギー散逸チャンネルとして有効に寄与していることを明らかにした。

またその一方で、特に振動状態のダイナミクスを仔細に眺めてみると、通常のラマン散乱では観測されない周波数シフトが 100 fs ~ 1 ps のオーダーで現れることを見出した。例えば、 $n=15$ の共役鎖長を持つ β -カロテンホモログ体の振動スペクトルを、ウェーブレット法を用いて各振動モードの時間発展としてプロットすると、図 5 のような結果が得られる。そのため、本研究で開発した手法は、ラ

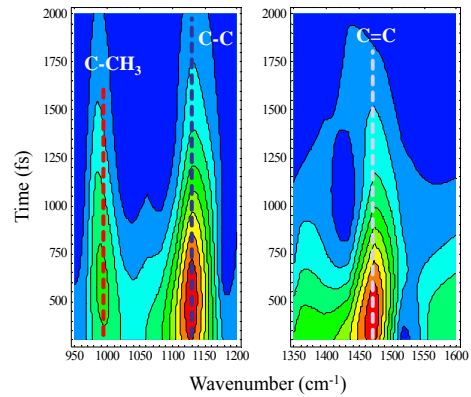


図 5: ウェーブレット解析によって得られた、 β -カロテンホモログ体におけるコヒーレント分子振動の時間変化。振動モード間カップリングの影響により、エネルギーが時間的に変化している。

マン散乱と相補的な情報を与えるだけでなく、それを越えた新たな知見をもたらしてくれるものといえる。図 5 の結果は数 10 cm^{-1} の低周波振動モードとのカップリングが起こっていることを示唆しているが、その起源を含めて今後の検討課題となっている。

以上の結果は雑誌論文③、⑤、⑦、図書①他に発表した。

(3) バクテリオクロロフィル a における非線形光学応答

バクテリオクロロフィル a は、紅色光合成細菌の光捕集アンテナにおいて周期的に配列し、励起エネルギー伝達のための中心的な役割を演じる。光合成色素バクテリオクロロフィル a のサブ 20 フェムト秒縮退四光波混合実験を行い、3 パルス光子エコー信号を観測した (図 6 参照)。その結果、バクテリオクロロフィル a の励起状態は、エネルギードナーであるカロテノイドの 10 倍程度という非常に長いコヒーレンスが保たれており、エネルギーの損失が抑えられていること

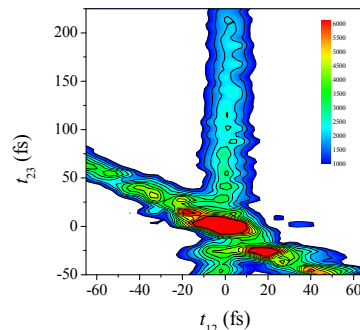


図 6: バクテリオクロロフィル a の四光波混合信号。横軸はパルス 1 と 2 の時間間隔 (コヒーレント時間)、縦軸はパルス 2 と 3 の間隔 (ポピュレーション時間) を表す。

を見出した。また、3 パルス光子エコーピークシフト信号の観測を行い、極めて強い逆過渡回折格子信号を与えることを明らかにした。二準位モデルに2光子過程を取り入れたシミュレーションを行うことで、フォトンエコーピークシフトの様相を定量的に説明することができるが、強い逆過渡回折格子信号の存在は如何なるモデルを用いても説明することができず、バクテリオクロフィル分子の電子状態について再考する必要性を示した。

以上の結果を雑誌論文⑥、図書③他に発表した。

(4) 光合成膜を用いたコヒーレント分光測定と計算モデルの適応範囲の検討

実際の光合成細菌や高等植物の光合成器官においては、カロテノイドは他の光合成色素や蛋白質に取り囲まれた複雑な環境下でその機能を発現している。この周辺環境の影響をどこまで明瞭なモデルとして取り込むことができるかについて検討を行った。紅色光合成細菌 *Rhodobacter (Rba.) sphaeroides* 2.4.1 から単離精製した光合成膜、及び周辺アンテナ LH2 においては、周辺蛋白質の影響として、上述の Brownian oscillator モデルにより近似が可能であることが明らかとなった。またこの系においても、図5に示したような振動モードの周波数シフトが観測されることから、それよりも更に一桁小さなモードの存在が明らかになった。色素蛋白複合体中のように複数の光合成色素と周辺蛋白質が共存する系において、周辺環境からの影響をどのようにして取り込むのか、すなわち、その複雑な構造をそのまま取り込むのか、または極限まで単純化できるのかについて、今後さらに詳細な検討が必要である。

以上の結果は雑誌論文②他に発表した。

(5) 超短パルスを用いたコヒーレント分子振動の制御

以上の知見をもとに、サブ 20 フェムト秒光源を用いた過渡的な誘導フォトンエコー (SPE) 信号測定を行った。すなわち、励起光を操作することにより電子や分子振動の状態を人為的に制御する方法を試みた。その結果、 β -カロテンや紅色光合成細菌 *Rba. sphaeroides* 2.4.1 から抽出したスフェロイデンにおいて、コヒーレント分子振動の結合モードが顕著に表れるという非常に興味深い現象を見出した (図7参照)。このことはすなわち、簡単な実験配置にて、振動状態のコヒーレント制御が達成されたことを意味する。この興味深い現象の起源として、(1) 光励起に伴う構造変化、(2) 電子状態間のカップリングに伴う非線形な振電相互作用、の2つの可能性が考えられる。モデルの検証実験

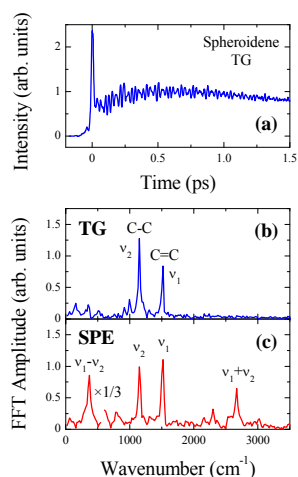


図7:(a) スフェロイデンの四光波混合信号。(b) TG 信号の FFT スペクトル。測定を(c) SPE 配置にて行うと、コヒーレント分子振動の結合モードが顕著なピークとして現れる。

として *Rba. sphaeroides* 2.4.1 の光合成膜の SPE 信号測定を行った結果、この場合も結合モードが非常に顕著に現れることが分かった。光合成膜中において、カロテノイドは周辺蛋白質に取り囲まれているために、構造変化を行うための自由度を持つことが殆ど不可能である。そのため、本研究で新たに見出された現象は、電子状態間のカップリングが本質的に重要であるという結論に至った。

以上得られた成果は、学術論文として投稿するための準備を、現在行っている。

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)

[雑誌論文] (計 31 件)

- ① M. Sugisaki, M. Fujiwara, S.V. Nair, H.E. Ruda, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, Excitation-energy dependence of transient grating spectroscopy in β -carotene, Phys. Rev. B, 査読有, **80**, 2009, 035180/1-10.
- ② M. Sugisaki, M. Fujiwara, R. Fujii, K. Nakagawa, M. Nango, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, Transient grating spectroscopy in photosynthetic purple bacteria *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1, J. Lumin., 査読有, **129**, 2009, 1908-1911.
- ③ M. Fujiwara, M. Sugisaki, A. Gall, B. Robert, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, Ultrafast optical responses of β -carotene and lycopene probed by sub-20 fs time-resolved coherent spectroscopy, J. Lumin., 査読有, **129**, 2009, 1808-1812.
- ④ M. Sugisaki, M. Fujiwara, S.V. Nair, H.E.

- Ruda, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, Spectrally-resolved transient grating signals from β -carotene in benzene solution, *Phys. Stat. Solidi (c)*, 査読有, **6**, 2009, S34-S37.
- ⑤ M. Sugisaki, M. Fujiwara, K. Yanagi, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, Four-wave mixing signals from β -carotene and its $n=15$ homologue, *Photosynth. Res.*, 査読有, **95**, 2008, 299-308.
- ⑥ M. Sugisaki, R. Fujii, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, Linear and nonlinear optical responses in bacteriochlorophyll *a*, *Photosynth. Res.*, 査読有, **95**, 2008, 309-316.
- ⑦ M. Fujiwara, K. Yamauchi, M. Sugisaki, A. Gall, B. Robert, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, Energy dissipation in the ground-state vibrational manifolds of β -carotene homologues: A sub-20-fs time-resolved transient grating spectroscopic study, *Phys. Rev. B*, 査読有, **77**, 2008, 205118/1-10.
- ⑧ M. Sugisaki, K. Yanagi, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, Unified explanation for linear and nonlinear optical responses in β -carotene: a sub-20-fs degenerate four-wave mixing spectroscopic study, *Phys. Rev. B*, 査読有, **75**, 2007, 155110/1-11.

[学会発表] (計 76 件)

- ① M. Sugisaki, D. Kosumi, K. Saito, and H. Hashimoto, “Stimulated photon-echo measurements of β -carotene”, 平成 21 年度日本分光学会年次講演会・国際シンポジウム, 東京工業大学百年記念館, 16-18 November, 2009.
- ② M. Sugisaki, M. Fujiwara, R. Fujii, K. Nakagawa, M. Nango, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, “Vibronic coherence of photosynthetic pigments”, The 15th International Conference on Luminescence and Optical Spectroscopy of Condensed Matter (ICL'08), Lyon, France, 7-11 July, 2008.
- ③ M. Sugisaki, M. Fujiwara, S.V. Nair, H.E. Ruda, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, “Spectrally-resolved transient grating signal of β -carotene”, International Conference on Optical, Optoelectronic and Photonic Materials and Applications (ICOOPMA), Edmonton, Alberta, Canada, 20-25 July, 2008.
- ④ M. Sugisaki, R. Fujii, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, “Sub-20 fs coherent spectroscopy of photosynthetic pigments”, PS2007 Satellite Meeting, 19-22 July, 2007, Drymen, Scotland, UK.

- ⑤ M. Sugisaki, R. Fujii, A.T. Gardiner, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, “Very early photophysics of carotenoids probed by sub-20 fs degenerated four-wave mixing (DFWM) spectroscopy”, International Symposium on the Ultrafast Processes in Chemical and Biological Complex Systems, Beijing, China, 16-19 November, 2006 (Invited Lecture).

[図書] (計 7 件)

- ① M. Fujiwara, K. Yamauchi, M. Sugisaki, A. Gall, B. Robert, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, Springer-Verlag, Specific Channel of energy dissipation in carotenoids: coherent spectroscopic study, in: *Ultrafast Phenomena XVI*, Springer Series in Chemical Physics, 2009, pp.367-370.
- ② 杉崎 満, 橋本 秀樹, 吉澤 雅幸, シーエムシー出版, カロテノイドの科学と最新応用技術, 第 1 編 カロテノイド科学 第 7 章「カロテノイドの物性 II: 新しい分光法を用いたカロテノイドの振動状態の研究」, 2009, pp. 78-89.
- ③ M. Sugisaki, M. Fujiwara, K. Yanagi, R. Fujii, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, Springer-Verlag, Photosynthesis. Energy of Sun: 14th International Congress on Photosynthesis Research 2007, Coherent spectroscopy of carotenoid and bacteriochlorophyll, 2008, pp 259-262.

[その他]

ホームページ等
<http://www.sci.osaka-cu.ac.jp/phys/PBM/index-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉崎 満 (SUGISAKI MITSURU)
 大阪市立大学・大学院理学研究科・准教授
 研究者番号: 20360042

(2) 研究分担者

藤井 律子 (FUJII RITSUKO)
 大阪市立大学・大学院理学研究科・博士研究員
 研究者番号: 80351740

橋本 秀樹 (HASHIMOTO HIDEKI)
 大阪市立大学・大学院理学研究科・教授
 研究者番号: 50222211

(3) 連携研究者

なし