

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K18943

研究課題名（和文）反応分子の本質的性質を明らかにする多パルス超高速分光の開発と応用

研究課題名（英文）Development and Application of Multi-Pulse Ultrafast Spectroscopy to Reveal Essential Characteristics of Reacting Molecules

研究代表者

田原 太平（Tahara, Tahei）

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員

研究者番号：60217164

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：ポンプ光とプローブ光を用いる従来の時間分解分光測定を超え、これに「変化を与える」パルスを加えた超高速“アクション”分光の実現に挑戦した。まず、新たに開発した過渡二次元電子分光を水和電子に対して実行した。その結果、励起直後に不均一性を示すスペクトルの穴が明確に観測された。これは水和電子の電子吸収の不均一広がりを初めて実験的に検出したものであり、その消失の観測により水和電子の構造揺らぎの時間スケールが明らかになった。また5次時間領域ラマン分光をミオグロビンおよびCO結合型ミオグロビンに対して実験を行い2次元スペクトルが得られたが、S/Nが低いためさらなる検討が必要であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で挑戦した2つの超高速分光は、いずれも世界に先駆けて我々が実現したものであり、またそこから得ることができる分子の構造不均一性と非調和性の知見は、極めて本質的でありながら未だにほとんど理解されていない。それを実行し、特に、長い間謎とされていた水和電子の不均一性の存在に対して明確な実験的な証拠を得たことには極めて高い学術的意義がある。一般に分光計測は、理学と工学、基礎研究と応用研究の違いを問わず大変広く用いられており、広範な科学・技術の基盤になっている。本研究で行った研究はその最先端をさらに進めるもので、分光計測の新しい可能性を拓くものであると言える。

研究成果の概要（英文）：We took on the challenge of realizing ultrafast "action" spectroscopy by adding "change" pulses to traditional time-resolved spectroscopy that only uses pump and probe pulses. First, the newly developed transient two-dimensional electronic spectroscopy was performed on hydrated electrons. As a result, a spectral hole indicating inhomogeneity was clearly observed immediately after the excitation. This is the first experimental evidence of the inhomogeneous broadening of the broad absorption of hydrated electrons. We also observed the disappearance of the hole due to spectral diffusion, revealing the time scale of the structural fluctuation of hydrated electrons. Fifth-order time-domain Raman spectroscopy was also performed on myoglobin and CO-bound myoglobin, and two-dimensional spectra were obtained, but the low S/N indicates that further investigation is needed.

研究分野：物理化学

キーワード：超高速分光 フェムト秒 反応ダイナミクス 構造不均一性 非調和性

1. 研究開始当初の背景

研究代表者はこれまで長きにわたって超高速分光を用いて研究を行ってきたが、その早い段階で、溶液中では 10 ピコ秒程度で振動緩和が完了するため、それより遅い反応はたとえ電子励起状態の反応でも「ボルツマン分布で反応障壁を越えるエネルギーを持つ分子が反応する」と言う意味で概念的には熱反応であるという考えに至った。そして、反応に対する理解を深化させるためには、遷移状態にある分子に近い挙動をすると予想されるフェムト秒領域で反応する分子、特にそのコヒーレントな核運動を研究することが重要であると考えた。

この考えに立脚して、世界的に見ても極めて早く 10 フェムト秒級の極短パルスを用いた超高速反応研究を開始した。そして光誘起プロトン移動 (JPC A 2005, 109, 10199)、光異性化反応 (Science 2008, 322, 1073)、擬ヤンテラー効果による光誘起構造変化 (JACS 2011, 133, 8205) などの反応性ポテンシャルエネルギー曲面を実験的に議論してきた。その過程で、従来の 2 つのパルスを使う超高速分光を拡張し、3 番目 (時系列的には 2 番目) のパルスを使ってコヒーレントな核運動を誘起してそれを観測する時間分解インパルスラマン分光を開発した。これを発展させて光応答性タンパク質 (JACS 2016, 138, 3942、Nat. Chem. 2017, 9, 660) や分子会合体 (JACS 2019, 141, 19296) の光反応初期過程を明らかにした。このような振動コヒーレンスに力点を置いた反応研究に挑戦するグループは極めて限られていたが、最近 Nature に化学反応とコヒーレンスについての総説が発表されて (Nature 2017, 543, 647) 大きな流れになりつつあるように見える。この総説の中でも我々の 10 年前の研究が図入りで説明されるなど、われわれの研究はその源の一つになっていると言える。

以上の 20 年に渡る研究の中で、理論化学者と共同研究 (Science 2008, 322, 1073、JPC A 2016, 120, 8804) を行い、最新の励起状態ダイナミクス計算が、反応する分子が大きな構造不均一性を持っていることを如実に示唆していることを知った。また、これらの計算は反応が極めて複雑な形のポテンシャル曲面で進行していることを示しており、分子の非調和性が分子変化にとって極めて本質的であることを再認識した。それらの理解を元に、これまでに、連続的な構造変化を示すシアニン色素励起状態の構造追跡をポンプ - ダンプ - プローブ法によって研究し (JACS 2011, 133, 8205) またごく最近、時間分解インパルスラマン分光の第一のパルスでも核波束運動を誘起すればポテンシャルの非調和性を直接的に検討できる可能性があることも報告した (Sci. Adv. 2019, 5, 6) そして、これらの実験をさらに発展、拡張することによって、これまでほとんど研究されていない、分子の構造不均一性とポテンシャルの非調和性を実験的に検討できる方法論の開発に挑戦をすべきであるという考えに至った。

2. 研究の目的

化学反応の理解は化学の根幹の一つである。物理化学的見地では、これは「反応している最中の分子」の動的性質の解明に他ならない。これまで分子に対して膨大な物理化学的研究が行われてきたが、そのほとんどは「反応していない分子」に対するもの、つまりポテンシャルエネルギー曲面のエネルギー最小点に存在する安定分子の研究である。これに対し、反応中の分子は分子の結合状態が変化している最中の分子であり、ポテンシャルエネルギー曲面の不安定点に過渡的に存在すると考えられるが、これらを検討するための直接的な実験方法論はほとんど無いため未解明である。

そこで本研究では、フェムト秒時間領域で進む超高速光反応の励起状態分子に適用することを念頭に、分子の構造不均一性、非調和性、を明らかにできる多パルス超高速分光の実現に挑戦する。

3. 研究の方法

従来のほとんどの時間分解測定は、「変化を開始する」ポンプと「変化を観測する」プローブを用いるポンプ - プローブ法に基づいて行われている。この測定原理は極めて一般的で、Porter と Norrish のフラッシュフォトリス以来最新のアト秒分光までの、様々な測定の基本になっている。しかし、本研究で解明を目指す分子の構造不均一性と非調和性を明らかにするためには十分ではない。そこで、ポンプとプローブの間にもう一つ、光励起された分子に「変化を与える」パルスを加え、3 つのパルスを用いた超高速“アクション”分光を行う。具体的には以下の 2 つの挑戦を行う。

(1) 過渡種の構造不均一性を明らかにする実験：フェムト秒領域で反応する電子励起状態は、高いエネルギー障壁には囲まれていない反応性ポテンシャル曲面の傾斜部、鞍点、あるいは平坦な部分に光励起によって作られる。常温溶液でこの励起状態は、基底状態で有していた内部振動エネルギーを反映して、光励起直後のフランクコンドン状態から様々なトラジェクトリーをとって構造変化を開始する。このため反応中の分子はフェムト秒領域で過渡的に広い構造分布 (構造不均一性) を持つと考えられる。実際、シス-トランス異性化の励起状態ダイナミクス計算の最新研究は、反応中の C=C 結合のねじれ角がフェムト秒領域で 30° から 120° まで一時的に分布することを示唆している。このような構造不均一性は電子スペクトルの不均一幅として現わ

れるはずであるから、反応する分子の構造不均一性とその時間変化は、フェムト秒時間分解吸収スペクトルに対するホールバーニング実験とその波長依存性を調べることで明らかにできるはずである。この実験では第一パルスで超高速反応を開始し、第三のパルスで超高速反応する短寿命種の過渡吸収スペクトルを測定する。これに加えて過渡吸収の幅より狭い幅の第二のパルスを照射することで、第三パルスで観測される過渡吸収スペクトルに変化が現れるかを見る。短寿命種に著しい構造不均一性があり、それを反映して不均一幅によって過渡吸収が広がっていれば、第二パルスで励起した分子集団のポピュレーションに変化が起こり、過渡吸収スペクトルに「穴」があくはずである（ホールバーニング）。さらに第二パルスの遅延時間と波長を変えながら過渡吸収に開く穴の変化を系統的に測定することによって、短寿命種の構造不均一性とその時間発展を追跡できる。この実験で得られる、第二パルスの波長と過渡吸収スペクトルの変化を二次元的に解析し、短寿命種に対する過渡二次元電子分光 (Transient two-dimensional electronic spectroscopy: TR 2D-ES) を実現する。この実験は世界的に見ても極めて先進的な新しいものである。

(2) 分子の非調和性を明らかにする実験：通常の安定分子はポテンシャル曲面の深いエネルギーの底にあるので、それらの分子が感じるポテンシャルは調和ポテンシャルで大変良く近似できる。これに対して反応している最中の分子は、ポテンシャルエネルギー曲面の不安定点に存在するので、極めて非調和性の高いポテンシャルを感じている。この非調和性を明らかにすることは、反応する分子はもちろん、一般の分子についても分子変化の背後にある分子の内部エネルギーの移動過程を明らかにすることに直接つながる。さらに、多原子分子のポテンシャルエネルギー曲面においては、反応に直接対応する核運動に対する非調和性が特に高いと予想されるために、反応座標を実験的に明らかにするという意味でも重要である。我々が世界に先がけて電子励起状態に対して実現した時間分解インパルスラマン分光では第一のパルスで分子を光励起し、第二のパルスで励起状態にコヒーレントな核運動を誘起し、第三のパルスによってその核運動を実時間で観測する。この実験で、第一のパルスにもサブ 10 フェムト秒の極短パルスを用い、光励起と同時に励起状態にコヒーレントな核運動を誘起すると、第一のパルスで誘起された核運動と第二のパルスで誘起される核運動の 2 つを観測することが出来るが、この 2 つの間に非調和性がある場合、互いの間に「相関」信号が現われる。よって、この 5 次の時間領域ラマン分光は、分子の非調和性を直接的に研究する強力な方法になりうる。

4. 研究成果

(1) 過渡種の構造不均一性を明らかにする実験：

超高速反応中の分子の構造不均一性の検出を目標としつつ、まず、過渡二次元分光法を用いて、その構造不均一性が長く議論されながら、未だにその確たる証拠が得られていない水和電子に対する測定を行った。電子がいくつかの水分子により溶媒和された構造を持つ水和電子は、最も基礎的なアニオン種であり、その反応性が高いことから光化学 / 放射化学における最も重要な短寿命過渡種の一つとなっている。水和電子は近赤外域にピークを持つ非常にバンド幅の広い吸収スペクトルを示すという顕著な特徴を持っている。このバンド幅が広い理由として、複数のスペクトル成分が重なり合っているという不均一広がりによる寄与が理論的に提案されている一方、実験的には精力的に研究が行われたにも関わらず不均一広がりを示唆する結果はこれまでのところ得られていない。すなわち、水和電子の吸収スペクトルの広いバンド幅が均一広がりによるものなのか、あるいは不均一広がりによるものなのか、まだ明確な答えが得られていない。そこで、過渡二次元電子分光法という我々の開発した新しい分光手法を水和電子へ適用することで、水和電子の吸収スペクトルのバンド幅の起源の解明を目指した。

光源としては Yb:KGW 再生増幅器を用いた。まず再生増幅器の出力の半分を第 4 高調波発生により 257 nm の深紫外光へと変換し、これをアクチニク・ポンプ光として試料に照射することで、水分子の 2 光子イオン化により水和電子を発生させた。再生増幅器の出力の残りは非同軸光パラメトリック増幅器 (NOPA) に導入することで広帯域な可視光 (620 - 910 nm) へと変換し、それを時間的に圧縮することでサブ 10 fs パルスとした。こうして得られた超短パルスの大部分は、複屈折性の媒質からなるウェッジ対を透過させることで、時間的に分離した 2 つのパルスからなる、パルス対へと変換した。このパルス対を水和電子へと照射することで、水和電子の広い過渡吸収の特定の波長成分を選択的に光励起した。超短パルスの残りはプローブ光とし、パルス対照射に伴う水和電子の吸収スペクトル変化を測定するのに用いた。この吸収スペクトル変化をパルス対の時間間隔の関数として測定し、得られた 2 次元データをパルス対の時間間隔についてフーリエ変換することで、様々な励起波数における水和電子のホールバーニングスペクトル、すなわち過渡二次元電子スペクトルを得た。

実験では試料として、隣接した 2 本のワイヤー間に純水を流し、400 μm 程度の薄

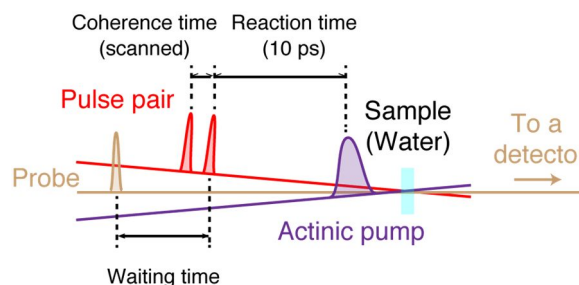


図 1. 過渡二次元電子分光実験のスキーム図。

い膜としたものを用いた。図1に示すように、ここに4つのフェムト秒パルスを順次照射することで、水和電子の過渡二次元電子スペクトル測定を行なった。図2aに、アクチニック・ポンプ光照射から10 ps後に測定した、水和電子の過渡吸収スペクトルを示す。観測波数領域全体に渡って、幅広い吸収バンドが観測されていることが分かる。この水和電子から得られた過渡二次元電子スペクトルが図2bである。横軸はプローブ波数、縦軸は励起波数である。また、プローブ光と励起に用いるパルス対との間の遅延時間は0 fsおよび30 fsとした。観測された信号は大部分が負であり、基本的には光励起に伴う水和電子の吸収のブリーチ信号が観測されていることが分かる。0 fsのスペクトルに着目すると、ブリーチ信号は対角線上に局在しており、ブリーチ信号の観測される波数が励起波数に大きく依存することが分かった。この結果は各々の励起波数でホールバーニングが観測されていることを意味しており、すなわち水和電子の吸収スペクトルに不均一広がりが大きく寄与していることを示す実験的な証拠が初めて得られたことになる。一方、30 fsのスペクトルではブリーチ信号は観測領域全域に広がっており、もはや対角線上には局在していない。この結果は、個々の水和電子の吸収スペクトルが30 fs以内という非常に短い時間スケールで揺らいでいることを示唆している。現在、得られた結果について原著論文を準備している。

(2) 分子の非調和性を明らかにする実験

研究の方法の項で述べた5次の時間領域ラマン分光で原理的には分子の非調和性の情報が得られることは確かだが、全くと言って良いほど新しい分光計測なので、まず、典型的な系に対する実験を行い、分光法としての能力を確定する必要がある。その為には、分子が興味深い機能を持つだけでなく、共鳴ラマン分光による多くの研究が行われて分子振動と電子状態に対する知識の蓄積があり、また、対称性に基づいた議論ができるように高い対称性を持つ分子を測定対象にすることが望ましい。後者は、分子の変形を考慮に入れないゼロ次近似の元では、異なる対称性をもつ振動間の非調和性によるカップリングがゼロになるからである。そこで、ミオグロビンおよびCO結合型ミオグロビン分子に対する実験を行った。これらでは、励起光パルスの波長を発色団であるヘムの電子吸収の波長に合わせることで、共鳴ラマン効果によってヘム部分の振動を選択的に観測することができるが、このヘムは、ミオグロビンでは中心金属の鉄が5配位のため構造が非平面であるのに対し、CO結合型ミオグロビンではCOが配位することで6配位になって平面となる。すなわち、両者で理論的には面内振動と面外振動の非調和結合の有無が異なることになり、非調和性のカップリング検出のベンチマークになりうる。

実験では、ミオグロビンおよびCO結合型ミオグロビンのヘムの示す400 nm付近の強い電子吸収(Soret帯)を3つの極短パルスで遅延時間をつけて順番に励起し、第一のパルス(Pump)で励起された核波束運動と第二のパルス(Impulsive pump)で励起される核波束の相関を第三のパルス(probe)で検出する必要がある(図3)。この400 nmの極短パルスは、従来のチタンサファイア再生増幅器を元とするレーザーシステムで生成することが難しいため、まず、Yb:KGW再生増幅器の出力の二倍波で励起されるNOPAを新たに製作し、その出力と再生増幅器の出力の和周波を発生させることで得た。

第一パルスと第二パルスとの間の遅延時間(ΔT)を変えて測定した核波束運動によるビート信号の時間変化と、第二パルスと第三パルスとの間の遅延時間(τ)を変えて測定した核波束運動によるビート信号を、それら2つの時間について2次的にフーリエ変換して得られた振動-振動間の2次元相関スペクトルを図4に示す。図中の点線は、遅延時間のステップ間隔の制限からくる

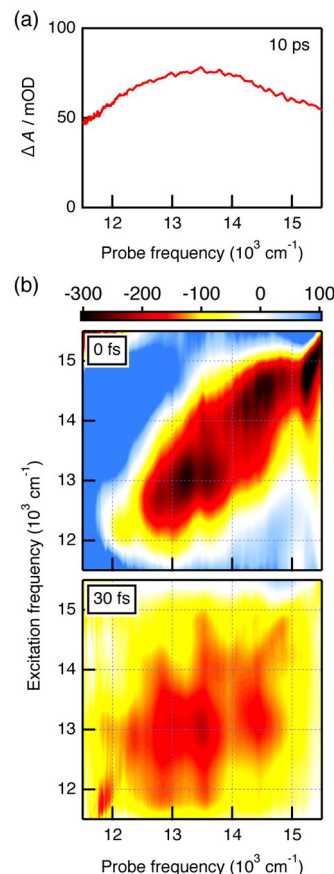


図2. 水和電子の過渡吸収(a)と過渡二次元電子スペクトル(b).

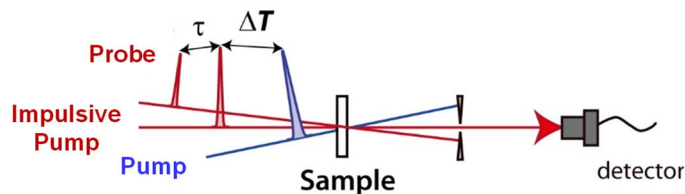


図3. 5次時間領域ラマン実験のスキーム図。

振動数の折り返しを示す。この2つのスペクトルには、異なる振動数間の交差点に非対角ピークが現れているように見え、これらはミオグロビンおよびCO結合型ミオグロビンの異なる振動間の非調和性による結合を示している可能性がある。しかし、フーリエ変換前の生の時間分解データのS/Nは決して高いとは言えず、また、非対角ピークが基底状態の共鳴ラマンスペクトルに強く現れていない振動間に出ているため、これらのピークはノイズ由来である可能性が高い。さらに、論文発表したイェロープロテイン(PYP)の電子励起状態に対する初めての5次ラマンの実験では、異なる振動間の非対角ピークより遙かに同一の振動間に現れる対角ピークの強度の方が強かったが、今回のヘモグロビンの電子基底状態に対する実験ではほとんど対角ピークが2次元スペクトルに現れていない。これは、この新しい分光法を電子励起状態に適用した場合と、電子基底状態に適用した場合の、本質的な違いである可能性もある。したがって、得られたデータの再現性のチェックを含め、さらなる検討が必要であると考えられる。

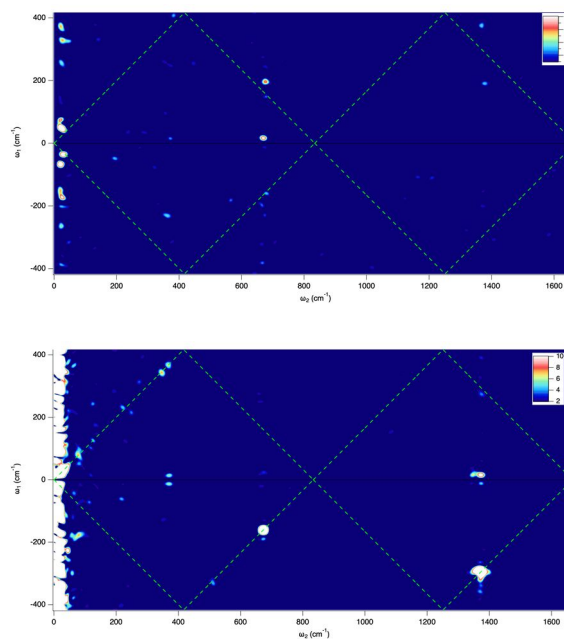


図4. 5次時間領域ラマンの実験で得られたミオグロビン(上)とCO結合型ミオグロビン(下)の2次元スペクトル。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松崎維信、倉持光、田原太平
2. 発表標題 サブ10フェムト秒パルスを用いた過渡2次元電子分光法による水和電子の不均一性の観測
3. 学会等名 第16回分子科学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松崎維信、倉持光、田原太平
2. 発表標題 過渡2次元電子分光法で見る溶媒和電子の不均一性
3. 学会等名 第10回RAPシンポジウム
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

理化学研究所 田原分子分光研究室 https://spectroscopy.riken.jp/ Molecular Spectroscopy Laboratory, RIKEN https://spectroscopy.riken.jp/?lang=en
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	松崎 維信 (Matsuzaki Korenobu) (70830165)	国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・研究員 (82401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------