

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：63903

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20545

研究課題名（和文）過渡2次元赤外分光による光合成励起・電子移動経路マッピング

研究課題名（英文）Mapping of energy and electron transfer pathways in photosynthesis by transient two-dimensional infrared spectroscopy

研究代表者

米田 勇祐（Yoneda, Yusuke）

分子科学研究所・協奏分子システム研究センター・助教

研究者番号：60903721

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：光合成は酸素や食物の起源であり、地球上の生命活動にとって必須の現象である。特にその初期過程では、タンパク質中に複雑巧みに配列された色素分子の間を励起エネルギーや電子が非常に高効率に伝達されていくため、それらの反応メカニズムを解明することは重要である。本研究では、光合成初期過程における複雑な励起・電子移動経路をマッピングすることを目的とし、励起状態の振動相関を捉えることのできる新しい多次元振動分光装置の開発を行なった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回構築した多次元振動分光装置(2D-ISRS)は実験的困難さからこれまで測定に成功した報告は世界的にもまだ数例程度しかなかった。本研究では高速スキャンによる独自の検出システムを用い、高効率なデータ取得を実現することで、世界的にもトップクラスのクオリティで2D-ISRSの測定に成功した。本研究によって励起状態における複雑な反応を理解するための新しい実験手法が確立したため、今後この手法を用いた系統的な研究を行うことで、高効率な光エネルギー変換系を構築するための重要な学理的指針が得られると期待される。

研究成果の概要（英文）：Photosynthesis is essential for life on earth as it is the origin of oxygen and food. In the initial process of photosynthesis, excitation energy and electrons are efficiently transferred between pigment molecules that are intricately arranged in proteins. Thus, it is important to elucidate the mechanism of these ultrafast reactions. In this study, we developed a new multi-dimensional vibrational spectroscopy that can report the correlation of vibrational manifolds on excited states with unprecedented quality. This method will allow us to map the complex excitation and electron transfer pathways in the initial process of photosynthesis.

研究分野：物理化学

キーワード：二次元分光 振動分光 光合成 エネルギー移動

### 1. 研究開始当初の背景

光合成は光エネルギーを化学エネルギーに物質変換する過程であり、食物や化石燃料等、地球上のほとんどのエネルギーの起源である。特にその初期過程においては、非常に高い量子収率で化学反応が進行するため(R. E. Blankenship, *et al.*, *Science*, **2011**, *332*, 805)、その反応過程を直接的に捉えメカニズムを解明することは、基礎科学的観点のみならず、エネルギー問題を解決する上でも重要な課題である。

光合成初期過程においては、アンテナタンパク質中の色素分子によって光エネルギーが吸収され、その励起エネルギーは多数の分子間を伝達されていき、最終的に反応中心(RC)と呼ばれる目的的位置まで伝達される(Fig. 1)。RCでは、その励起エネルギーを利用して電子移動反応が駆動される。これらの反応を効率的に駆動するには、励起や電子をいかに「高速」に「目的的位置」まで伝達するかが重要である。これまで多くの時間分解分光実験によって、各素過程はフェムト秒(fs)からピコ秒(ps)といった超高速な時間スケールで進行することが明らかにされてきた(T. Mirkovic, *et al.*, *Chem. Rev.*, **2017**, *117*, 249)。さらに、近年では2次元電子分光によって、様々な光合成系において励起・電子が複数の分子に明確な位相関係で非局在化した状態(量子コヒーレンス)が観測され、その役割が盛んに議論されている(G. D. Scholes, *et al.*, *Nature*, **2017**, *543*, 647)。しかし、高等植物に含まれている複雑なタンパク質では実際の反応経路を実験的に観測することが難しく、具体的に光合成系がいかに目的の反応経路を探索しているかそのメカニズムは明らかになっていない。

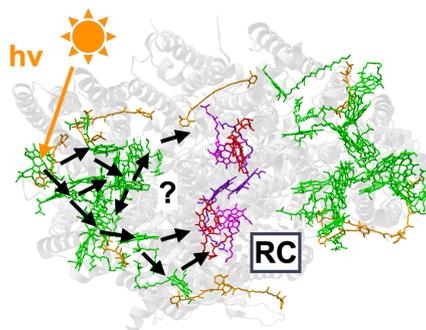


Fig. 1. 光合成におけるアンテナ複合体での励起移動。

### 2. 研究の目的

光合成の複雑な励起・電子移動経路を明らかにするために、新規多次元振動分光装置を構築・応用する研究を行うこととした。これまでの光合成系の分光研究では、2次元電子分光(2DES)等の可視領域の測定が中心であり(G. Engel, *et al.*, *Nature*, **2007**, *446*, 782)、吸収スペクトルが重なり合った信号を識別することが困難であった(Fig. 2)。近年開発された2次元電子振動分光(2DEV)は、局所環境に応じた振動モードをマーカーとすることで、個々の分子を区別できるが(N. H. Lewis, *et al.*, *J. Phys. Chem. Lett.*, **2016**, *7*, 4197)、励起軸が可視域にある以上、可視吸収が重なった色素は同時励起してしまうため、経路の詳細な解析は難しい。2次元赤外分光(2DIR)は分解能は優れているが、そのままでは励起状態で進行する反応には適用できない。そこで本研究では、励起状態の振動相関を検出することのできる過渡2次元赤外分光(Tr-2DIR)法を開発することを目的としていた。しかし、我々の研究グループで開発中であった時間分解インパルス誘導ラマン(TR-ISRS)装置(H. Kuramochi, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, *143*, 9699)を改良することによって構築することのできる2次元ISRS(2D-ISRS)も、原理的にはTr-2DIRと同様に励起状態の振動相関を捉えることができるため、その実験装置の開発を行なうことを目的とした。

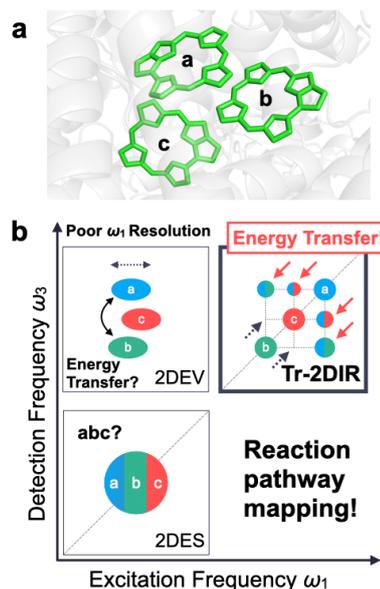
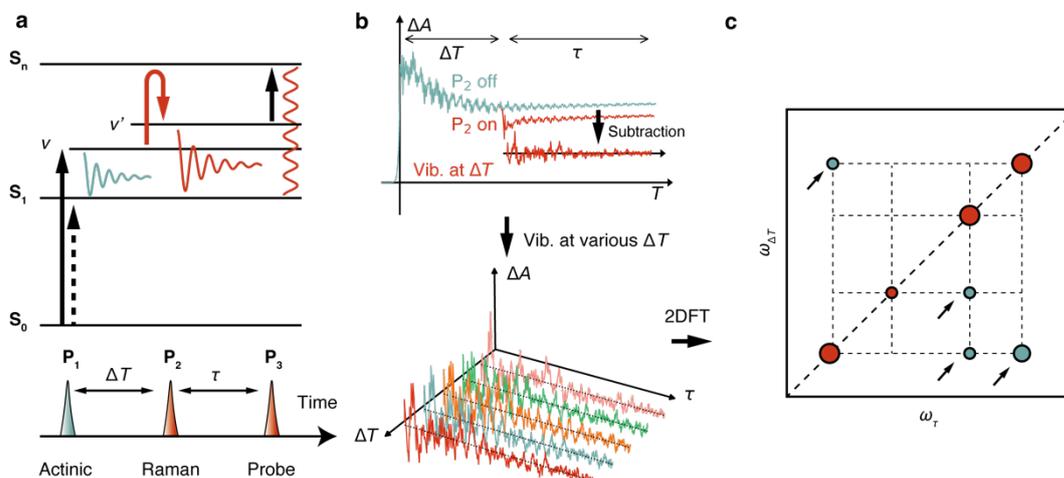


Fig. 2. (a)タンパク質中の分子と、(b)局所環境に応じた2次元信号。

### 3. 研究の方法

2D-ISRSは振動モード間の相関を観測する手法で、3つのパルスを用いた実験である(Fig. 3a)。まず、最初のアクチニクポンパルス( $P_1$ )でサンプルを電子的に励起し、振動コヒーレンスを開始する。その後、任意の遅延時間 $\Delta T$ の後、励起状態吸収もしくは誘導放出に共鳴した第2のラマンポンパルス( $P_2$ )によって、振動コヒーレンスを再び生成する。最後に、第3のラマンプロブパルス( $P_3$ )によって系の振動信号を時間領域 $\tau$ で記録する。これら3つのパルスの時間差( $\Delta T, \tau$ )を掃引した信号(Fig. 3b)に対して2次元フーリエ変換を行うことによって、2次元振動相関スペクトルを取得することができる(Fig. 3c)。さらに、これら3つのパルスの共鳴条件を制御

することによって系の励起状態由来の振動相関を検出することができる。2D-ISRS は、十分な分解能を得るためには 10000 点以上 ( $\Delta T$ ,  $\tau$  に対しそれぞれ 100 点以上) のデータ点数を必要とする実験的困難さから、測定に成功した報告は世界的にもまだ数例程度しかない (H. Kuramochi, *et al.*, *Sci. Adv.*, **2019**, *5*, 4490; G. Fumero, *et al.*, *Phys. Rev. X*, **2020**, *10*, 011051)。そこで、本研究では  $P_2$ ,  $P_3$  間の時間差  $\tau$  を高速スキャンする独自の検出システムを構築した。高速スキャンでは光学遅延ステージを連続的に動かしながらレーザーショット毎の信号を記録するため、効率的に信号を検出することができる (M. Gueye, *et al.*, *Rev. Sci. Instrum.*, **2016**, *87*, 093109)。具体的には、従来の我々のシステム (ステップスキャン) と比べると、同じレベルの S/N のデータを 3 倍程度高速に取得することができた。



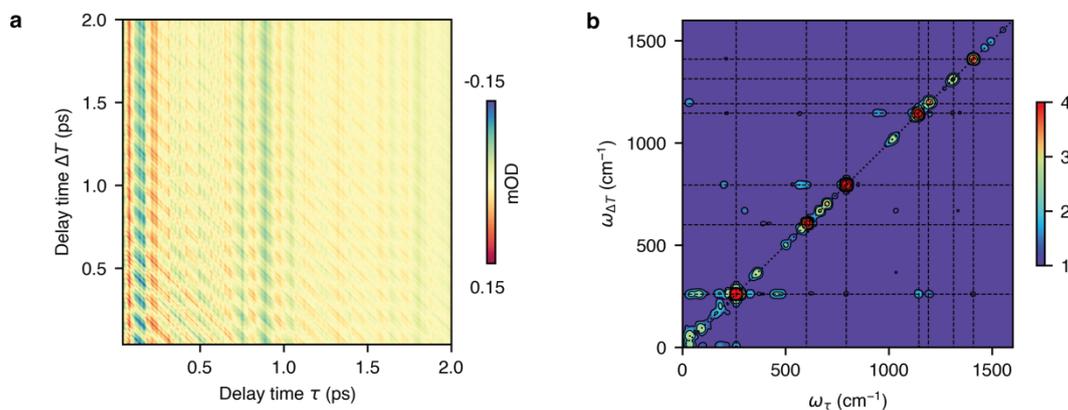
**Fig. 3.** (a) 2D-ISRS のパルス配置。(b) 得られる信号のイメージ。(c) 2次元フーリエ変換により得られる振動相関スペクトルのイメージ。

#### 4. 研究成果

2D-ISRS 測定によって得られたポリアセン誘導体の振動信号を Fig. 4a に示す。実験にはサブ 10 fs のパルスを用い、高速スキャンによって  $\Delta T$  方向に 8 fs、 $\tau$  方向に 1.67 fs のステップで 2 ps の範囲の測定を行っている。そのため、フーリエ変換を行うことによって 0-2000  $\text{cm}^{-1}$  といたこれまでになかった広い領域での振動相関マップを高い波数分解能で検出することができる。

上記の振動信号を 2 次元フーリエ変換することで得られた 2 次元振動相関スペクトルを Fig. 4b に示す。対角線上にはそれぞれの振動モードに由来したピークが多数観測され、対角線上に沿って切り取られたスペクトルは、ポンプ・プローブ測定によって観測された振動信号のフーリエ変換スペクトルとほぼ同じであった。一方、対角線以外の位置にも、多数のピークが観測された。特に、ポンプ・プローブ測定で観測された主な振動モードに沿ったグリッド線の交差点上に、多数の交差ピークを明確に観測することができた。さらに交差ピークは、 $\omega_{\Delta T} = 262 \text{ cm}^{-1}$  及び  $\omega_{\Delta T} = 1192 \text{ cm}^{-1}$  の線に多く観測された。このことは、これらの振動モードは他の振動モードとカップリングしやすいことを反映している可能性がある。

以上のように本研究では高速スキャンを用いた 2D-ISRS 測定装置を構築し、交差ピークを明確に捉えることに成功した。今後はこの実験手法を光合成アンテナ系等に対して応用し、複雑なエネルギー移動経路を明らかにしていく。



**Fig. 4.** (a) ポリアセン誘導体の振動信号と (b) 2次元フーリエ変換によって得られた励起状態 2次元振動相関スペクトル。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yoneda Yusuke, Noji Tomoyasu, Mizutani Naoto, Kato Daiji, Kondo Masaharu, Miyasaka Hiroshi, Nagasawa Yutaka, Dewa Takehisa	4. 巻 24
2. 論文標題 Energy transfer dynamics and the mechanism of biohybrid photosynthetic antenna complexes chemically linked with artificial chromophores	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 24714 ~ 24726
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2CP02465A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoneda Yusuke, Arsenault Eric A., Yang Shiun-Jr, Orcutt Kaydren, Iwai Masakazu, Fleming Graham R.	4. 巻 13
2. 論文標題 The initial charge separation step in oxygenic photosynthesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2275
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-29983-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Yoneda Yusuke, Kito Masaya, Mori Daiki, Goto Akari, Kondo Masaharu, Miyasaka Hiroshi, Nagasawa Yutaka, Dewa Takehisa	4. 巻 156
2. 論文標題 Ultrafast energy transfer between self-assembled fluorophore and photosynthetic light-harvesting complex 2 (LH2) in lipid bilayer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 095101 ~ 095101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0077910	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshioka Daisuke, Yoneda Yusuke, Chang I-Ya, Kuramochi Hikaru, Hyeon-Deuk Kim, Kobayashi Yoichi	4. 巻 -
2. 論文標題 Quasi-Reversible Photoinduced Displacement of Aromatic Ligands from Semiconductor Nanocrystals	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.2c12578	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoneda Yusuke, Kuramochi Hikaru	4. 巻 -
2. 論文標題 Rapid-Scan Resonant Two-Dimensional Impulsive Stimulated Raman Spectroscopy of Excited States	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry A	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpca.3c02489	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 米田勇祐
2. 発表標題 先端的分光解析で解きほぐす光化学系 II の複雑な励起状態ダイナミクス
3. 学会等名 第29回 光合成セミナー2022: 反応中心と色素系の多様性 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 米田勇祐
2. 発表標題 二次元分光による非局在化した電子状態から繰り広げられる光合成初期過程の探究
3. 学会等名 日本分光学会 関西支部 2022年度第2回 (令和4年度) 講演会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 米田 勇祐, Arsenault Eric A, Yang Shiun-Jr, Orcutt Kaydren, Iwai Masakazu, Fleming Graham R
2. 発表標題 励起子電荷分離混成が酸素発生型光合成を駆動する
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoneda Yusuke
2. 発表標題 Exploring complex reaction dynamics using multidimensional vibrational spectroscopy
3. 学会等名 38th Symposium on Chemical Kinetics and Dynamics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 米田 勇祐
2. 発表標題 先端的非線形分光を用いた電子-構造ダイナミクスの解明
3. 学会等名 第44回 光化学若手の会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

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		
米国	UC Berkeley		