

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2014

課題番号：22340085

研究課題名(和文) 可視二次元分光技術の確立と光合成励起エネルギーフローの人為操作

研究課題名(英文) Establishment of two-dimensional spectroscopy in the visible region and control of photosynthetic excitation energy flow

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,800,000円

研究成果の概要(和文)：紅色光合成細菌の光合成膜，色素蛋白複合体，及びそれから単離した光合成色素における電子と核のダイナミクスを非線形分光法を用いて調べた。これまで研究を行ってきたコヒーレント分光システムをスペクトル領域へと拡張するために，励起光のダブルパルス化を行った。光合成色素を用いた四光波混合配置における測定では，パルス間隔を変えることにより，本来禁制である結合モードを発生させたり，許容な基本モードを消失させるといった人為操作を実現した。ポンプ・プローブ配置における測定では，100フェムト秒以下で起こる電子コヒーレンスの消失過程を観測した。

研究成果の概要(英文)：The electronic and nuclear dynamics of photosynthetic membranes, pigment-protein complexes and isolated pigments from photosynthetic purple bacteria have been investigated by means of nonlinear spectroscopy. The former experimental setup for the coherent spectroscopic measurements has been rearranged into the double-pulse configuration to extract the information in the spectral domain. By changing the temporal separations of excitation pulses, artificial enhancement of coupled modes that are intrinsically forbidden in photosynthetic pigments and significant suppression of allowed fundamental modes have been attained in the four-wave mixing configuration. In the pump-probe configuration, an electronic decoherent process within 100 femtoseconds has been observed.

研究分野：光物性物理学

キーワード：超高速分光 コヒーレンス 光合成 色素蛋白超分子複合体 エネルギー移動

1. 研究開始当初の背景

(1) 緒言

光合成生物において、光エネルギーはアンテナと呼ばれる色素蛋白複合体に捕獲され、そのエネルギーは反応中心複合体 (RC) へと超高速・高効率に伝達される。色素蛋白複合体中における光合成色素の電子状態は、状態間のカップリングのため単体のそれとは大きく異なることが知られている。光合成の本質的なメカニズムを解明するためには、色素蛋白複合体の電子状態をはじめとする物質パラメータの決定が必須となる。このような問題に対処するために、コヒーレント分光法は励起エネルギー伝達経路、色素や周辺蛋白質の動的変化の可視化・解明に有用であると考えられる。将来的には、パルス成型技術を組み合わせ、光合成反応の経路や反応効率の人為制御を行うことで、「自然が創製した光電変換・エネルギー伝達機能は如何にして高効率を達成しているか?」という根源的な問いに対する明確な答えが得られるものと期待されている。

(2) 二次元分光法について

二次元分光法はコヒーレント分光法の一発展形として近年注目を集めている。そもそもコヒーレント分光法は、ヨウ素などのガスを用いた実験において発展を遂げた (図 1)。これは、電子状態や振動に関する豊富な情報が既に得られていたことや、当時利用可能であったレーザーのパルス幅よりも分子振動の周期が長かったために、コヒーレント分光に特徴的な信号の弁別がしやすかったこと等に起因する。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。信号のコヒーレント成分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、など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し化学反応の効率 (すなわち反応経路) を制御することが可能となる。

分子構造を決定するために、核磁気共鳴 (NMR) 分光法は化学・生物学をはじめとする多くの領域に広く定着している。光照射に

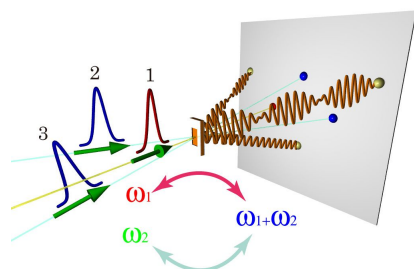


図 1: コヒーレント分光の概念図。複数の励起パルスを用いることにより、状態間の干渉を生じさせる。

より電子が励起状態へ遷移すると、電子雲の広がり (波動関数の変化) に伴い、分子の骨格も僅かに変化する。このような変化を観測することは NMR 法では不可能であるため、UV-Vis 吸収分光法をはじめとする他の分光法と、量子化学計算と組み合わせるという手法がとられている。量子化学計算の精度は近年大きく向上したが、励起状態における実験と計算の整合性は未だ完全とは言えない。この問題を解決するためには、実験により物質の電子状態を完全に決定しておくことが大前提となる。NMR 分光法を光の周波数領域に拡張した「二次元分光法」が、物質の励起状態を探索する有力な手法として、注目を集めている。

(3) 内外の動向

近赤外域の二次元分光の先駆的研究は、米国ウィスコンシン大学の M.T. Zanni 博士らによって行われた。現在も生体物質の振動構造に着目した研究を活発に行っている。米国カリフォルニア州立大学の G.R. Fleming 博士らは超高速分光を用いた近赤外域の二次元分光実験に加え、理論的研究も精力的に展開している。独国マックスプランク研究所において M. Motzkus 博士を中心に、超短パルス波形整形技術を用いた光合成反応の効率を制御する試み (量子制御) が行われている。可視域における二次元コヒーレント分光技術の確立は、多くの研究グループが目標としていられる一方で、屈折率分散が大きい波長領域で光の位相制御を行うという困難を克服する必要があるため、未踏領域となっていた。

2. 研究の目的

光合成生物は太陽光を有効に活用するために、複数の光合成色素を用いて、広いスペクトル領域をカバーし生命活動を行っている。そこで本研究では、可視域から近赤外域で用いることが可能なコヒーレント分光法を開拓し、物質の電子状態を完全に決定する方法を獲得することを目的とする。電子状態や電子状態間のカップリング、及び光励起に伴う骨格の構造変化といった情報を引き出すことを目指す。その上で、研究代表者らが長年の実績を持つ光合成色素や、色素蛋白アンテナ超分子複合体においてコヒーレント分光を行う。その結果、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において、電子状態間のコヒーレントカップリング、励起エネルギーの伝達経路、さらに光合成色素を取り囲む環境との相互作用を明らかにする。最終的には、波形整形した超短パルス光を用いて、電子状態・振動状態のダイナミクスをモニターしながら光合成初期過程の反応経路の人為操作を行う。低損失エネルギー輸送に必要なテクノロジーとして、社会への還元を目指す。

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) 多次元分光法の拡張を行う前段階として、紅色光合成細菌における電子とコヒーレントな骨格振動のダイナミクスの詳細を縮退四光波混合法を用いて明らかにする。光合成試料の培養と調整には、これまでに確立した方法を用いる。光学測定を行う際の励起光源としては、研究代表者が構築した非同軸型光パラメトリック増幅器を用いる。
- (2) 励起に用いる光パルス間の時間間隔やスペクトルの形状を変化させることにより、光合成色素分子におけるコヒーレント振動の人為操作を行う。
- (3) 以上の知見をもとに、励起パルスを干渉させ多次元分光信号を得る。特に励起光のスペクトル干渉に伴う、試料からのコヒーレント信号の変化に着目する。ここでは、ポンプ・プローブ法を応用した新しい分光配置にて電子状態のコヒーレンスの評価法の確立を目指す。

4. 研究成果

- (1) 光合成生物のコヒーレント信号の観測とその評価

多次元分光法は n 光波混合法をスペクトル領域へと拡張することにより、状態間の相関を直接観測できるというメリットを持っている。このような新しい分光法を用いる際には、その元となっている n 光波混合法によって得られた信号を用いて、物質パラメータを決定しておくことも重要である。そこで、本研究で着目をしている光合成細菌の光合成膜における四光波混合信号を観測し、電子と

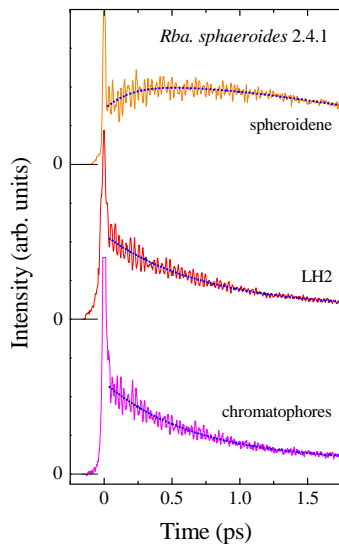


図 2：紅色光合成細菌 *Rba. sphaeroides* 2.4.1 の光合成膜、周辺光捕集アンテナ LH2、およびその主たる光合成色素の一つである spheroidene の縮退四光波混合信号の時間発展の様子。

骨格振動のダイナミクスに関する知見を得た(図 2)。光合成膜を用いて測定した信号を解析してみると、多数の時間成分が複雑に重畳していることが分かった。そこでこの信号を段階的に解析していけるように、光合成膜から単離したアンテナ色素蛋白複合体 LH2、さらにそこから単離した光合成色素の主成分である spheroidene についても、四光波混合信号を観測した。図 2 に示すように、これらの試料を用いて観測した信号には、時間原点に現れるコヒーレントスパイクに続いて、5 ps 程度でゆっくりと減衰するバックグラウンドの上に 20~30 fs 周期で変化するコヒーレント振動が観測された。ゆっくりと減衰するバックグラウンドは電子の励起状態の緩和を反映している。それに対し、コヒーレント振動の起源は、図 2 の信号のゆっくりと変化するバックグラウンドを差し引いた後にこれをフーリエ変換すると明確になる。すなわち、これらのフーリエスペクトルはラマン散乱と完全に一致することから、レーザー光が照射された領域にある spheroidene が、全て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分かる。このことから、本手法を用いることにより電子と振動のダイナミクスを同時に測定することが可能となることが分かる。ウェーブレット解析法を用いると図 3 に示すような、それぞれの振動モードの時間発展を知ることができ、その結果、コヒーレント振動の時定数を決定することができた。

図 2 に見られるゆっくりと変化するバックグラウンドは、電子のダイナミクスに関する情報を含んでいる。その形状を見てみると、単離した光合成色素と色素タンパク複合体では異なっていることに気付く。これはカロテノイドの内部転換とカロテノイドとバクテリオクロロフィル間のエネルギー伝達を考慮することによって説明することができる。特に、カロテノイドの内部転換においては、最低一光子許容状態 S_2 と光学禁制である最低励起状態 S_1 の間にさらにもう一つの電子状態 S_x が存在し、その状態からもバクテリ

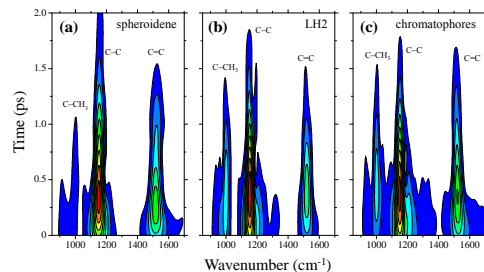


図 3：紅色光合成細菌 *Rba. sphaeroides* 2.4.1 の光合成膜、LH2、および spheroidene のコヒーレント分子振動の時間変化。図 2 の縮退四光波混合信号のゆっくりと変化するバックグラウンド信号を差し引いたのちにウェーブレット変換を行った。

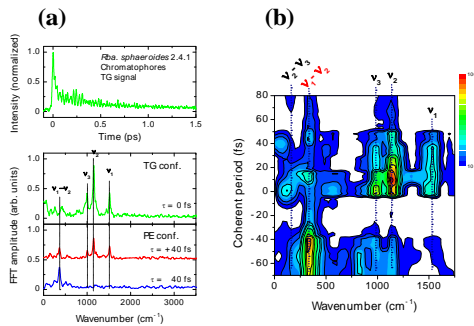


図 4 : (a) *Rba. sphaeroides* 2.4.1 の光合成膜における四光波混合法を用いたコヒーレント分子振動の人為操作の例。励起パルスの時間間隔を変えるとスペクトル形状が大きく変化する。特定の振動モードを消失させたり増強させたりすることができる。本来禁制である結合モードが、基本モードよりも強く現れている。(b) パルス間隔とそれぞれの振動モードの振幅の関係。

オクロフィルへのエネルギー伝達が起きていると考えたと実験結果を説明可能であることが分かった。

(2) 光合成色素分子におけるコヒーレント振動の人為操作

多次元分光法においては、複数の超短光パルスを用いてコヒーレント信号を観測する。その際、パルスの間隔やスペクトル形状を変えることにより、電子や分子振動由来の時間応答信号を変化させることができる。このことから、電子や分子振動のダイナミクスを人為操作できるものと期待がされている。そこで(1)でも用いた光合成色素である spheroidene に関して、コヒーレント振動の人為操作を試みた。

励起パルスの間隔を変えることによって得られる、いわゆる誘導フォトンエコー(SPE)信号に、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。同様の現象は、代表的なカロテノイドであるβ-カロテンにおいても明瞭に観測されたため、この現象がカロテノイド一般に起こると思われる。

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。図4に示したように、光合成膜を用いて測定した SPE 信号においても、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(1)の電子状態に伴う構造変化という可能性は排除される。(2)の可能性に調べるために、光許容の励起状態 S_2 と光禁制の励起状態 S_x との間で Rabi 振

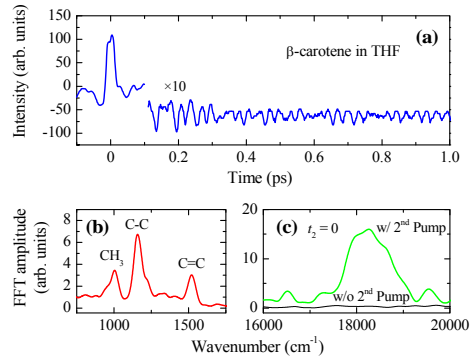


図 5 : (a) 代表的なカロテノイドであるβ-カロテンのポンプ・プローブ信号。紅色光合成細菌から単離した spheroidene と同様にコヒーレント分子振動が観測される。しかしここで注目するのは、時間原点付近に現れる大きなスパイクの近傍の信号変化である。(b) コヒーレント分子振動の信号は $\sim 1000 \text{ cm}^{-1}$ の領域に現れる。(c) 励起をダブルパルスに変えると(b)よりも1桁大きなエネルギー領域に大きな信号変化が観測される。

動が起こるという描像による数値計算を行った。その結果、いわゆる虚フォトンエコーの領域においても実験を再現することが分かった。以上のことから、この実験を完全に再現するひとつのモデルを提示することに成功し、今回観測された現象は、電子状態間のカップリングに起因するという結論に至った。

(3) 新しい分光配置を用いた電子状態のコヒーレンスの評価法

多次元分光法においては、前述のように n 光波混合法を拡張した光学配置が一般的に用いられる。しかしこの方法を用いた場合、4つのレーザー光から一様に、不要な外的要因(例えば振動などのノイズ)を排除する必要が出てくる。測定をより簡便にするための一つの方法としては、用いる励起光の数を減らすということが考えられる。そのため、本研究ではポンプ・プローブ配置を用いた信号測定についても検討を行った。測定には代表的なカロテノイドであるβ-カロテンを用いた。

図5に示すように通常のポンプ・プローブ配置を用いると、電子とコヒーレントなダイナミクスを反映する信号を得ることができる。これは前述した spheroidene で得られた結果と同様に解釈することができる。励起パルスをダブルパルスに変更すると、非常に短い時間領域に100フェムト秒程度で緩和をする干渉縞が現れた(図6)。この信号をフーリエ変換すると明らかなように、干渉縞は可視領域にあるカロテノイドの S_2 電子状態のコヒーレンスを反映していることが分かる。スペクトル形状が10フェムト秒程度変化をすることから、 S_2 状態における準安定的な熱平衡へ

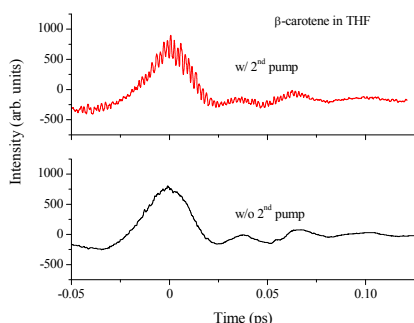


図 6: ポンプパルス光をシングルパルス, 及びダブルパルス条件下で測定したβ-カロテンのポンプ・プローブ信号. 非常に速い時間領域に着目している. 多次元分光法の特徴であるダブルパルスを励起に用いると, シングルパルスの信号に重畳する形で電子のコヒーレンスを反映した信号が現れる. これをフーリエ変換すると図 5(c)のスペクトルが得られる.

向かう挙動が観測できていると思われる. 非常に興味深い結果であり, 今後, 理論計算との比較を行いモデルの構築を行っていく予定である.

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 19 件)

"How do surrounding environments influence the electronic and vibrational properties of spheroidene?", N. Tonouchi, D. Kosumi, M. Sugisaki, M. Nango, and H. Hashimoto, *Photosynth. Res.* **124** (2015) 77-86, 査読有.

10.1007/s11120-015-0095-z

"Generation of coherently coupled vibronic oscillations in carotenoids", M. Sugisaki, D. Kosumi, K. Saito, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, *Phys. Rev.* **B81** (2012) 245408/1-10, 査読有.

10.1103/PhysRevB.85.245408

"Excitation of coherent vibronic oscillations in carotenoid molecules by means of four-wave mixing spectroscopy: intermolecular coupling", M. Sugisaki, D. Kosumi, K. Saito, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, *Carotenoid Science*, **16** (2011) 50-56, 査読有.

"Comparison of transient grating signals from spheroidene in an organic solvent and in pigment-protein complexes from *Rba. sphaeroides* 2.4.1", M. Sugisaki, M. Fujiwara, D. Kosumi, R. Fujii, M. Nango, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, *Phys. Rev.* **B81** (2010) 245112/1-10, 査読有.

10.1103/PhysRevB.81.245112

[学会発表](計 43 件)

船越 良平, 殿内 規之, 杉崎 満, 小澄 大輔, 橋本 秀樹, 「スフェロイデンにおける振動緩和の溶媒効果」, 日本物理学会第 70 回年次大会, 2015 年 3 月 21 日 ~ 3 月 24 日, 早稲田大学 (東京都新宿区).
殿内 規之, 小澄 大輔, 杉崎 満, 南後 守, 橋本 秀樹, 「周辺環境は電子及び振動ダイナミクスにどのように影響を及ぼすのか?」, 第 28 回カロテノイド研究談話会, 2014 年 9 月 4 日 ~ 2014 年 9 月 5 日, 石川県文教会館 (石川県金沢市).

杉崎 満, 小澄 大輔, 橋本 秀樹, 「カロテノイドにおける超高速光学応答のヘテロダイク検出」, 日本物理学会 2011 年秋季大会, 2011 年 9 月 21 日 ~ 9 月 24 日, 富山大学 (富山県富山市)

M. Sugisaki, D. Kosumi, K. Saito, R. Fujii, R.J. Cogdell, and H. Hashimoto, "Strongly coherent coupling of vibronic oscillations in carotenoid dissolved in an organic solvent and bound in pigment-protein complexes", 17th International Conference on Dynamical Processes in Excited States of Solids (DPC '10), 20-25 June, 2010, Argonne National Laboratory, Argonne, Illinois, USA

[図書](計 1 件)

M. Sugisaki, D. Kosumi, K. Saito, R. Fujii, R. J. Cogdell, and H. Hashimoto, "Strongly coupled vibronic modes investigated by means of four-wave mixing spectroscopy", in: *Ultrafast Phenomena XVII* (ed. M. Chergui, et al., Oxford University press, Oxford, New York, Auckland, 2011) 502-504.

[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・複合先端研究機構・准教授
研究者番号: 80351740

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