

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25810009

研究課題名(和文)電子スピンをプローブとした二分子膜界面束縛水の電子伝達機構解明

研究課題名(英文) Mechanism elucidation of electron transport mediated by bound water molecules on bilayer membrane interfaces studied by electron spin dynamics as a probe

研究代表者

三浦 智明 (MIURA, Tomoaki)

新潟大学・自然科学系・助教

研究者番号：80582204

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ミセルや二分子膜といった界面活性剤によって水中に構成される集合体内で起こる光誘起電子移動(酸化還元)反応に関する基礎研究を行った。ミセル界面に3種類の分子を用いた2段階電子移動系を構築し、分子拡散に基づく長距離・長寿命電荷分離状態の形成に成功した。また、二分子膜カプセル界面において長寿命電荷分離状態を形成する系を見出した。この系では200 mT程度の磁場印加で電荷分離状態の過渡濃度が倍増する巨大な磁場効果が見出された。これらの成果は生体膜における電子移動機構の理解や、安価な界面活性剤を用いた光・磁気機能性材料の開発において有用な知見を与えると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Mechanistic studies have been conducted for electron transfer reactions in the interfaces of aqueous molecular assemblies consisting of detergent molecules such as micelles and vesicles. A sequential electron transfer system has been constructed on the interface of a nonionic micelle by using three kinds of molecules. In this system, a long-lived and long-range charge separated state is generated because of sequential electron transfer mediated by diffusion of the dynamic charge transporter molecule. In a nonionic vesicle system, construction of electron transfer system that exhibits a long-lived charge separated state has been succeeded. The transient concentration of the charge separated state is increased twice by application of magnetic field of 200 mT. These findings would help understanding of electron transfer in the vicinity of biomembranes and development of photo and magneto functional materials constructed from low-cost detergent molecules.

研究分野：光スピン化学

キーワード：電子移動 二分子膜 束縛水 分子拡散 スピンドイナミクス 磁場効果 時間分解分光

### 1. 研究開始当初の背景

生体組織とは水中に形成された有機分子の不均一集合体に他ならず、集合体の持つソフトな界面で起こる化学反応が生命現象を司っていると言える。そのような観点から、ソフトな不均一界面で起こる物理・化学現象を分子論的に解釈することが非常に重要であるが、このような環境場における酸化還元反応すなわち電子移動反応のメカニズムは光合成など生体内でのエネルギー変換、さらにはそれを模した人工システム開発といった観点で特に重要である。しかし電子移動は、電子供与体 (ドナー、D)-受容体 (アクセプター、A)間の電子的相互作用、さらには分子内や周りを取り囲む媒質分子の非平衡なダイナミクスに支配される複雑な現象であるため、不均一界面における電子移動機構は複雑で、従来の Marcus 理論のみでは十分に記述できない現象が多数報告されている<sup>[3]用1]</sup>。

タンパクや脂質二重膜などの生体分子、ミセルなどの模倣系は水中において疎水的反応場を提供するが、その界面に通常の水とは異なり、比較的剛直な水素結合ネットワークを有する「束縛水」と呼ばれる領域が存在することは古くから知られている。近年、タンパク間電子移動において界面束縛水の量子状態が長距離電子移動を媒介している可能性が報告されており、束縛水の電子伝達機能が注目されている<sup>[3]用2]</sup>。しかし、生体膜類似環境場における束縛水の電子伝達機能を定量的に評価した例はほとんど報告されていない。

電子移動によって生じる電荷分離状態の重要な性質として、2つのラジカルイオン種が電子スピンを持っているという点が挙げられる(ラジカル対)。近年、スピン間の交換相互作用から長距離電子移動を引き起こす電子的相互作用を直接的に求めることができることが実証され、長距離電子移動のメカニズム研究が飛躍的に進んだ<sup>[3]用3]</sup>。代表者はこのような背景からタンパクやミセルなどの生体分子関連系、およびD-A共有結合連結系におけるラジカル対のスピン化学の研究を行ってきた。ここから得られた重要な成果として、1) スピンドイナミクスの観測から電荷移動相互作用の動的揺らぎを検出できる、および2) タンパクや逆ミセル界面は良好な電子移動反応場として働き、ラジカル種の遅い拡散が電子移動において重要な役割を果たす、ということを示した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は水中に構成された生体膜類似不均一環境場における光誘起電子移動反応に関して、生じるラジカル対のスピンドイナミクスをプローブとすることにより、分子科学的機構解明を行うことである。特に界面に束縛されたD、A分子および束縛水の動的揺らぎが電子伝達に及ぼす効果に着目し、生体内電子移動の理解、および光エネルギー

変換材料への応用に対する指針を得ることを目的とした。特に、コスト、環境負荷の面で優れた界面活性剤を主成分とする分子集合体について検討を行った。

### 3. 研究の方法

主に次の2つの観点から研究を行った。

- 1) ミセル界面に固定された2段階電子移動系における長距離電荷分離状態形成
- 2) 非イオン性二分子膜界面における長寿命電荷分離状態形成と巨大磁場効果

このような観点から、新規分子集合体の作製を行い、時間分解分光および磁場効果を主な測定手法として用いた光誘起電子移動ダイナミクスの観測を行った。得られた実験結果をスピン量子統計力学に基づく理論計算によって解釈し、分子科学的機構解明を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) ミセル界面に固定された2段階電子移動系における長距離電荷分離状態形成

光合成および人工光合成において、多数の分子ユニットを介した多段階長距離電荷分離が重要である<sup>[3]用4]</sup>。本研究ではこれまで代表者が研究してきたピオロゲン(A<sup>2+</sup>)吸着ミセルを利用したD-色素(C)-A型三元系作製を試みた。

水-THF混合溶媒中の超音波照射により、非イオン性界面活性剤TX-100から成るミセルに長鎖アルキルピオロゲンが吸着した複合体の水分散液を得た。TX-100の芳香環部位は電子ドナー(D)として作用しミセルの疎水性コア部位に存在すると考えられる。一方電子アクセプターであるピオロゲンジカチオン部位(A<sup>2+</sup>)は親水性表面部位に存在すると考えられる。ここへ疎水性の四醜酸リポフラビン(RFTB)色素を添加し、D-C-A<sup>2+</sup>集合体の水分散液を得た(図1)。動的散乱の測定からミセルの粒径は7nm程度と見積もられた。

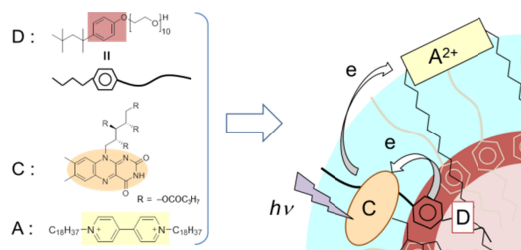


図1. D、CおよびA分子の構造とD-C-A三元系集合体の概念図

図2にCの励起に伴うナノ秒過渡吸収スペクトルを示す。早い時刻に観測される励起三重項の減衰に伴い~600 nsにおいてC<sup>-</sup>に由来するスペクトルが観測された。より遅い時刻では400 nmにピークを持つA<sup>+</sup>に特徴的なスペクトルが観測された。ここから、Dからフラビン励起三重項<sup>3</sup>C\*への第一電子移動によって生じたC<sup>-</sup>の負電荷が、第二電子移動によってA<sup>+</sup>へ移動する、二段階電子移動が確認された。また、遅い時刻の過渡吸収でC<sup>-</sup>

が観測されないことから、ミセル外への  $C^{\cdot-}$  の散逸は無視できることが分かった。

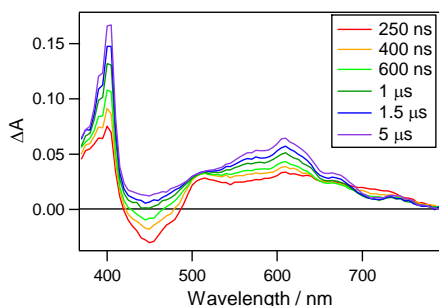


図 2. C 励起による過渡吸収スペクトル

図 3 に  $A^{+}$  の過渡吸収信号の時間変化および磁場効果を示す。600 ns 程度の時定数で生じた最終電荷分離状態  $D^{+}\cdot C^{\cdot-}A^{2+}$  は数十マイクロ秒以上の長寿命を有することが明らかとなった。

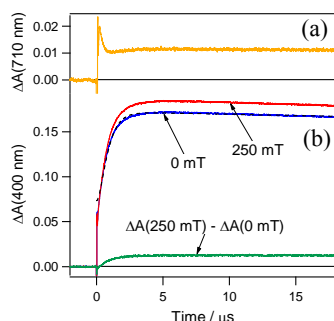


図 3.  ${}^3C^*$ (a)および  $A^{+}$ (b)の過渡吸収時間変化および磁場効果

ラジカル収量に対して三重項前駆体ラジカル対特有の正の磁場効果が観測されたが、ピオロゲン非添加系との比較、およびナノ秒磁場スイッチング効果の解析から、この磁場効果は第一電荷分離状態  $D^{+}\cdot C^{\cdot-}A^{2+}$  の再結合に由来し、再結合率は 20%と低いことが明らかとなった。

過渡吸収信号の解析から、2 段階目の電子移動速度 (= 第一電荷分離状態の消滅速度)は  $1.8 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$  程度と求まったが、磁場効果の解析から求まる速度は  $10^7 - 10^8 \text{ s}^{-1}$  程度と一桁大きいものとなった。これは、疎水部での第一電荷分離によって生じた  $C^{\cdot-}$  が数 10 ns 以内に再結合できない距離まで拡散した後、数百 ns かけて親水部に存在する  $A^{2+}$  と反応するというダイナミクスで説明され、 $C^{\cdot-}$  が動的な電子輸送体として機能することにより、長距離・長寿命電荷分離が高効率に達成されたことが明らかとなった。

通常のみセル系では、ラジカル種の拡散によって再結合やミセル外への散逸が起こり、空間的に固定された電荷分離状態を長時間維持することは難しい。本研究では分子種の拡散を積極的に利用することにより、共有結合系に匹敵する電子移動系構築の可能性が開けることを詳細な機構説明から示した点で意義深い。

## (2) 非イオン性二分子膜界面における長寿命

## 電荷分離状態形成と巨大磁場効果

非イオン界面活性剤と疎水性のコレステロールから構成される二分子膜カプセルである Niosome は安価なドラッグデリバリーカプセルへの応用が期待されているが、界面活性剤の種類やコレステロール濃度により膜の剛直性や疎水性/親水性バランスの制御が可能であることが分かっており<sup>[引用5]</sup>、電子移動媒体としても興味深い。そこで疎水性色素-親水性アクセプター間の光誘起電子移動における、界面分子ダイナミクスの解明を目的に研究を行った。

非イオン性界面活性剤 Tween40 とコレステロールを用いて、エタノール注入法により Niosome 水分散溶液を得た。動的な光散乱および透過型電子顕微鏡観察から、粒径 20-30 nm の二分子膜カプセルの形成が確認された。ここに疎水性ドナー色素である亜鉛テトラフェニルポルフィリン(ZnTPP)と、両親媒性アクセプターであるジオクチルピオロゲン( $ocV^{2+}$ )を添加して電子移動系を構築した(図 4)。

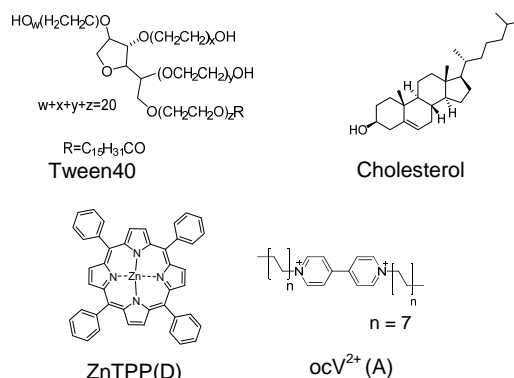


図 4. Niosome 構成分子(上段)および電子移動ゲスト分子(下段)の構造

ZnTPP 励起に伴う過渡吸収スペクトルより、励起三重項  ${}^3ZnTPP^*$  から  $1 \mu\text{s}$  程度の時定数で電子移動し、定量的にラジカルイオン対  $[ZnTPP^{\cdot+} OcV^{\cdot-}]$  が生成していることが確認された。図 5 に  ${}^3ZnTPP^*$  およびラジカルイオン種の過渡吸収信号の時間変化および磁場効果を示す。ラジカル種は  $1 \mu\text{s}$  の時定数で生成した後、 $3 \mu\text{s}$  程度の寿命ではほぼ 0 まで減衰した。これは膜外へラジカル種が散逸することなく、マイクロ秒オーダーの長いタイムスケールで再結合していることを示している。すなわち、D-A 共有結合連結系で見られるような長寿命電荷分離状態を Niosome の閉じ込め効果によって実現することに成功した。

ここへ 200 mT 以下の磁場を印可したところ、ラジカル対の過渡吸光度が 0 磁場下と比較して最大 2 倍以上に増大する巨大な磁場効果が観測された。この巨大磁場効果は単一のスピン選択的再結合速度を仮定した従来の磁場効果理論(exponential model)では説明できず、再結合速度の時間変化を示している。すなわち、生成初期の高速再結合により巨大磁場効果が発現し、遅い時刻には遅い再結合

によってラジカル対が減衰していると考えられる。

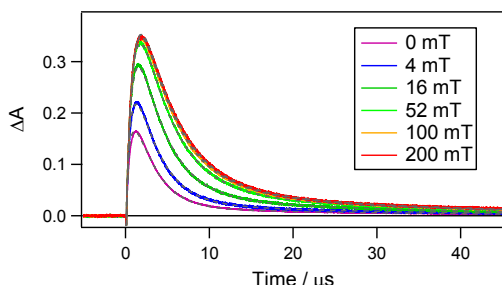


図 5. ラジカル種の過渡吸収時間変化に対する磁場効果(25 °C)

ここで 2 つのラジカル対サイトを仮定し、一方のサイトでは再結合が起こらないとする最も単純なモデルを用いて、スピン状態の量子統計力学に基づくシミュレーション(2-site stochastic Liouville equation)を行ったところ、磁場効果の実験結果を良く再現できた(図 5 点線)。再結合サイト(site 1)における再結合速度  $k_{rec} \sim 10^7 \text{ s}^{-1}$  に対して、非再結合サイト(site 2)との行き来の速度( $k_{12}$  および  $k_{21}$ )は  $10^5 \sim 10^6 \text{ s}^{-1}$  程度と求まり、膜内におけるラジカル種の遅い拡散運動によって再結合効率の劇的な変化が生じ、長寿命・長距離電荷分離および巨大磁場効果が発現していることが明らかとなった(図 6)。

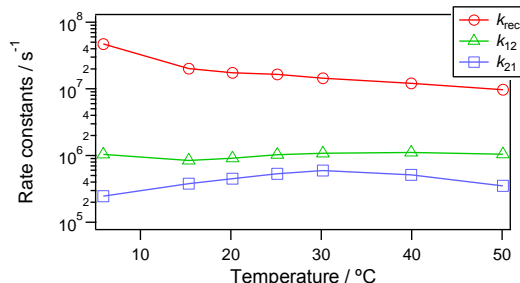


図 6. 磁場効果のシミュレーションによって得られた速度定数の温度依存性

膜内における分子運動および電子移動の支配因子を明らかにすべく、コレステロール濃度依存性および温度依存性を検討した。磁場効果およびラジカル対の生成・消滅速度は、コレステロール濃度に対して顕著な依存性を示さなかった。ここから、ラジカル対はコレステロールおよびアルキル基が存在する疎水性部位ではなく、両親媒性の PEG 鎖領域に主に存在していることが示唆された。

一方、磁場効果は顕著な温度依存性を示した。過渡吸光度の最大値で見た相対収量 ( $\Delta A_{max}(200 \text{ mT}) / \Delta A_{max}(0 \text{ mT})$ ) は 6 °C において 3.85 という非常に大きな値を示したが、温度上昇とともに減少し、50 °C では 1.47 となった。シミュレーションによって得られた速度定数の温度依存性を図 6 に示すが、ラジカル種の拡散を反映すると考えられる  $k_{12}$  および  $k_{21}$  は顕著な温度依存性を示さないのに対し、再結合速度が温度上昇に伴い減少する、顕著な逆活性化が見られた。再結合速度の逆活性

化機構として、電荷再結合を媒介する PEG 領域の束縛水の寄与が考えられる。PEG 鎖は水分子との水素結合によって水和されているが、一般的に高温ほど水素結合が弱まるため集合体界面の水和度が低下し、界面活性剤の会合度が上昇することが知られている。すなわち、温度上昇により PEG 鎖領域の束縛水濃度低下および、水素結合ネットワークの破壊が起こり、ラジカル間の電子伝達が阻害された可能性が考えられる。

現在、再結合速度の逆活性化機構に関して、ラジカル対の拡散モデリングを含めたより詳細な解析を検討中である。また、ナノ秒磁場スイッチング効果を用いた 2 サイト間ダイナミクスの実験的実証も進めている。

本研究では巨大磁場効果詳細な解析から二分子膜界面電子移動に対する束縛水の重要性を示唆する結果を得ることができた点で基礎研究として非常に意義深い。また、本研究によって見出された、長寿命電荷分離と巨大磁場効果を活用して、人工光合成の磁場制御や光-磁気応答型ドラッグデリバリーなどの応用展開が期待され、今後の機構解明研究から Niosome 電子移動系の機能化へ向けた指針が得られるものと期待される。

#### < 引用文献 >

- [1] Salahub, D. R. et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 5902.
- [2] Migliore, A. et al., *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 23796.
- [3] Kobori, Y. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1624.
- [4] Gust, D.; Moore, T. A.; Moore, A. L. *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 198.
- [5] 石井文由, *オレオサイエンス* **2005**, *5*, 44.

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

- [1] Yokoyama, K.; Wakikawa, Y.; Miura, T.; Fujimori, J.; Ito, F.; Ikoma, T., Solvent Viscosity Effect on Triplet-Triplet Pair in Triplet Fusion. *J. Phys. Chem. B* (査読有) **2015**, *119* (52), 15901-15908. DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b11208
- [2] Hasegawa, E.; Ohta, T.; Tsuji, S.; Mori, K.; Uchida, K.; Miura, T.; Ikoma, T.; Tayama, E.; Iwamoto, H.; Takizawa, S.; Murata, S. Aryl-Substituted Dimethylbenzimidazolines as Effective Reductants of Photoinduced Electron Transfer Reactions. *Tetrahedron* (査読有) **2015**, *71*, 5494-5505. DOI: 10.1016/j.tet.2015.06.071
- [3] Miura, T.; Murai, H. Effect of Molecular Diffusion on the Spin Dynamics of a Micellized Radical Pair in Low Magnetic Fields Studied by Monte Carlo Simulation. *J. Phys. Chem. A* (査読有) **2015**, *119*, 5534-5544. DOI: 10.1021/acs.jpca.5b02183

[4] Miura, T.; Maeda, K.; Murai, H.; Ikoma, T. Long-Distance Sequential Charge Separation at Micellar Interface Mediated by Dynamic Charge Transporter: A Magnetic Field Effect Study. *J. Phys. Chem. Lett* (査読有) **2015**, *6*, 267-271. DOI: 10.1021/jz502495u

[5] Omori, T.; Wakikawa, Y.; Miura, T.; Yamaguchi, Y.; Nakayama, K.; Ikoma, T. Carrier Dynamics in Pentacene/C60 Bilayer Solar Cell Investigated through the Magnetoconductance. *J. Phys. Chem. C* (査読有) **2014**, *118*, 28418-28424. DOI: 10.1021/jp508799j

[6] Colvin, M. T.; Carmieli, R.; Miura, T.; Richert, S.; Gardner, D. M.; Smeigh, A. L.; Dyar, S. M.; Conron, S. M.; Ratner, M. A.; Wasielewski, M. R. Electron Spin Polarization Transfer from Photogenerated Spin-Correlated Radical Pairs to a Stable Radical Observer Spin. *J. Phys. Chem. A* (査読有) **2013**, *117* (25), 5314-5325. DOI: 10.1021/jp4045012

[7] Miura, T. Supramolecular Control of the Spin-Dependent Dynamics of Long-Lived Charge-Separated States at the Micellar Interface As Studied by Magnetic Field Effect. *J. Phys. Chem. B* (査読有) **2013**, *117* (21), 6443-6454. DOI: 10.1021/jp401725f

〔学会発表〕(計 6 件)

[1] 三浦 智明・藤原 大・秋山 公男・岡田 恵次・生駒 忠昭、「電子スピンドイナミクスに基づく電荷分離状態の寿命制御」、2015 年光化学討論会、2015 年 9 月 9 日～9 月 11 日、大阪市立大学(大阪府大阪市)

[2] Tomoaki Miura, “Dynamic and Electronic Characteristics of Photo-generated Radical Pairs Revealed by Real-time Observation of the Spin Dynamics”, Joint Conference of APES2014-IES-SEST2014, November 12 – 16, 2014, Nara Prefectural New Public Hall, (Nara City, Nara Pref.).

[3] 三浦 智明・生駒 忠昭、「非イオン性二分子膜界面における光誘起電子移動反応に対する巨大磁場効果」、2014 年光化学討論会、2014 年 10 月 11 日～10 月 13 日、北海道大学(北海道札幌市)

[4] 三浦 智明、「電子スピンドイナミクスの実時間観測による光反応中間体ラジカル対の研究」、第 52 回電子スピンサイエンス学会年回、2013 年 10 月 24 日～10 月 26 日、大宮ソニックシティー市民ホール(埼玉県さいたま市)

[5] Tomoaki Miura, Kiminori Maeda, Hisao Murai and Tadaaki Ikoma, “Supramolecular

Control of Spin-Dependent Electron Transfer Dynamics in Micellar Supercages as Studied by Magnetic Field Effects”, 13th International Symposium on Spin and Magnetic Field Effects in Chemistry and Related Phenomena, April 22 – April26, 2013. Bad Hofgastein (Austria).

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

三浦 智明 (MIURA Tomoaki)

新潟大学・自然科学系・助教

研究者番号：80582204