特 集

分子組織体における励起エネルギー移動
——ピコ秒蛍光分光による解析

山 崎 巖*・玉 井 尚 登*

(1987年10月9日 受理)

Picosecond Dynamics of Electronic Excitation Transfer
in Molecular Organizes

Iwao YAMAZAKI* and Naoto TAMAI*

(Received October 9, 1987)

Excitation energy transfer in restricted molecular geometries has been studied with vesicle surface, Langmuir-Blodgett monolayers and multilayers and a biological antenna pigment system. Picosecond time-resolved fluorescence spectra and decay curves revealed time behaviors of the excitation transfer characteristic of two-dimensional and stacking architectures. Distribution of guest molecules forms Fractal or Fractal-like structures in artificial molecular assemblies.

Key Words: Energy transfer, Fluorescence, Photon-counting method, PS laser, Photosynthesis.

1. はじめに

励起エネルギー移動に関してわれわれの身近に存在する例は、植物の光合成アンテナ色素系であろう。陸上に繁茂する緑色高等植物におけるクロロフィル系、あるいは海中に生息する藻類におけるフィコビリナークロロフィル複合系があげられ、これらのアンテナ色素系では発色団分子は蛋白のネットワークの中で互いに20—40 Å程度離れて存在し、超高速 (1 ns以下)、高効率 (90%以上)、長距離 ($\sim 1 \mu\text{m}$) の光エ

ネルギー伝達を行いながら効率的な光合成を行っている。この反応中心への光エネルギー伝達の機構は、分子間クーロン相互作用における弱い相互作用に基づくものであり、Försterによって定式化された励起移動理論^{1,2)}が適合すると考えられている。

この種の励起移動の研究はこれまで溶液や結晶などの3次元均一系において扱われてきていたが、近年、アクセプター分子が一行に並んでいる1次元系、2次元平面に分布している2次元系、さらにいくつかのドナー、アクセプター

* 分子科学研究所 (〒444 岡崎市明大寺町西郷中38)

* Institute for Molecular Science (Myodaiji, Okazaki 444)

Fig. 1 Schematic representation of excitation energy transfer under restricted geometries.

のシーケンスが積層構造をとっている系など、Fig. 1に模式図を示すように、分子の配列において特殊な幾何学構造体について興味をもたれている。この一般的な興味の背景には、はじめに挙げた光合成アンテナ系の機構の解明とともに、光励起を3次元空間のある一定の場所へ伝達するという情報伝達、情報処理のための分子素子モデルへの期待があるであろう。しかし研究の現状について言えば、いくつかの理論的な研究³⁻⁵⁾がなされているのみであり、実験研究は未だ極めて少ない。これらの特殊な幾何学的構造体のモデルに対応する実際の物質系としてはFig. 2に示すようなベシクル、ラングミュア・プロジ

Fig. 3 Electronic energy relaxation processes of excited molecules in molecular assemblies such as vesicle surfaces, LB films and liquid crystals.

ェット(LB)膜、液晶、光合成アンテナ色素系などがある。ここでは2次元系および積層構造系における励起エネルギー移動について、最近われわれが進めている研究を中心に紹介したい。

2. 分子組織体におけるエネルギー緩和過程

ベシクル、LB膜、液晶などの分子集合体の構造に関する研究は最近多方面において行われており、その微視的および巨視的構造についてはかなり詳細な知見が得られつつある^{6,7)}例えばLB単分子膜についてみれば、分子の配列は結晶のように高度に秩序をもった系ではなく、1 μm程度のドメインが集合したモザイク構造を

Fig. 2 Schematic representation of vesicles (a), biological antenna of algae (b) and LB multilayers (c). The pigment chromophores are shown above.

とっていると考えられ、全体としてはむしろ2次元アモルファスに近い。したがってそこにおける励起エネルギー移動は、分子性結晶にみられる電子—格子強結合系とは異なり、振動緩和が十分に起こった後に起こる。これまでに明らかにされたところでは、ベシクル、LB膜などの分子組織体では、励起分子はFig. 3に示すようなエネルギー緩和過程を辿る⁸⁻¹²⁾一般には多かれ少なかれこれらの過程のいくつかが複合して起こるが、それぞれの分子組織体の中の発色団分子の種類、密度、LB膜の成膜条件などについて考慮することによってこれらの過程のうちいずれか一つ、例えばアクセプターへの励起移動が主要な過程となるように調整することができる。

ここではドナー分子の分布密度がアクセプターに比較して十分に小さく、ドナー間の励起移動は無視することができ、一段階でアクセプターへの励起移動が起こる場合を考える。^{1,2)}ドナーの蛍光減衰関数 $\rho(t)$ は、距離 R にあるアクセプター分子への励起移動確率を $w(R)$ としたとき、すべてのアクセプターについて考慮して次式で表される¹³⁾。

$$q(t) = \exp(-t/\tau_D) \left\langle \prod_{j \in k} \exp[-t w(R_j)] \right\rangle k \quad (1)$$

ここで τ_D はアクセプターが存在しないときのドナーの寿命である。 $w(R)$ は双極子—双極子相互作用の場合 Förster 臨界移動距離 R_0 を用いて次式で表される。

$$w(R_j) = \frac{1}{\tau_D} \left(\frac{R_0}{R_j} \right)^6 \quad (2)$$

ここでアクセプターはドナーの周囲に無秩序に分布していると仮定し、すべてのアクセプターとの間の励起移動についてアンサンブル平均をとることによって1次元系、2次元系および3次元系に対してそれぞれ次のように計算される³⁾。

$$\rho(t) = \exp\left[-t/\tau_D - 2\Gamma\left(\frac{5}{6}\right)n_A R_0^3(t/\tau_D)^{1/6}\right] \quad (3)$$

$$\rho(t) = \exp\left[-t/\tau_D - \Gamma\left(\frac{2}{3}\right)\pi n_A R_0^2(t/\tau_D)^{1/3}\right] \quad (4)$$

$$\rho(t) = \exp\left[-t/\tau_D - \left(\frac{4}{3}\right)\pi^2 n_A R_0^3(t/\tau_D)^{1/2}\right] \quad (5)$$

ここで n_A はそれぞれの次元において存在する発色団分子の密度である。

3. ベシクル表面に吸着された色素分子間の2次元励起エネルギー移動とフラクタル構造

ベシクルはリン脂質や両親媒性化合物などが水中で形成する球状の2分子膜である。ミセルとは異なり直径約1ミクロンの比較的大きな粒子であり、分子のスケールで見るとその表面は2次元平面を与える。リン脂質の場合にはその表面は負の電荷を帯びるので、ローダミンBやマラカイトグリーンなどのカチオン性の色素は容易にその表面に吸着する。この系を用いてドナー色素の蛍光減衰曲線を解析することによって、2次元平面におけるエネルギー移動速度論を調べることができる。筆者らはローダミンB

Fig. 4 Fluorescence decay curves of rhodamine B adsorbed on vesicle in the presence of malachite green. Smooth lines are best-fit curves obtained from simulation calculation based on the Fractal theory. Curves a-c show the weighted residuals for the curves 2, 3 and 4.

(エネルギードナー) とマラカイトグリーン (アクセプター) をベシクル表面に吸着させ、種々の濃度のマラカイトグリーンの存在下でのローダミン B の蛍光減衰曲線を測定した^{9,10)}。Fig. 4 に減衰曲線を示す。この一連の減衰曲線に対して 2 次元系における励起エネルギー移動の式(4)あるいは 3 次元系の式(5)は適合させることはできなかった。式3-5は、アクセプターが均一に分布しているという仮定に基づいているが、ベシクル表面上の色素分子が均一に分布しているという保証はないことに注意を向ける必要がある。

最近、自然界における様々な物質系の形態学において、集合状態などの形態にみられる規則性に対して「フラクタル」理論¹⁴⁾が適用され、その広い適合性が注目されている^{15,16)}。励起エネルギー移動に対するフラクタル理論に基づく速度式は次式で与えられる¹⁷⁾。

$$\rho(t) = \exp \left[-t/\tau_D \right] - \chi_A \frac{d}{d} V_a R_0^d \Gamma \left(1 - \frac{\bar{d}}{6} \right) \left(\frac{t}{\tau_D} \right)^{\bar{d}/6} \quad (6)$$

ここで $\bar{d}$ および d はそれぞれフラクタル次元およびユークリッド次元、 χ_A はフラクタルサイトをアクセプター分子が占めている割合、 V_a は d 次元における単位空間容積である。Fig. 4 に示す一連の蛍光減衰曲線に対して、一定のフラクタル次元 1.30 のフラクタル構造に基づく速度式に適合することがわかった¹⁰⁾。同様な実験がベシクル表面のポルフィリンに関して行われ、スペクトル次元 1.65 を与えたことが報告されている¹⁸⁾。このことは吸着分子はベシクル表面において均一に分布しているのではなく、吸着分子間の弱い相互作用によって互いに相関をもって分布していることを示している。実際に計算機シミュレーションによってそのイメージを描くと Fig. 5 のようになる。均一ランダムに分布しているとした場合と著しく異なることがわかる。

Fig. 5 Computer-generated plots of the distribution of dye molecules adsorbed on vesicle surfaces under the assumption of a square lattice (200 × 200). The left column shows the case of Fractal distribution with the concentrations of corresponding to the left column.

4. LB 単分子膜における励起エネルギー緩和

LB 単分子膜は、両親媒性化合物を水面上に展開し圧縮した後固体基板上に累積した単分子膜である⁹⁾。筆者らは最近この LB 膜中に色素分子を種々の濃度で含ませ LB 膜における励起エネルギー緩和について調べた。用いた LB 膜構成は、アラキジン酸を 3 層累積した無蛍光石英板の上に種々の濃度でローダミン B を含む単分子膜を 1 層累積し、さらに表面をアラキジン酸で保護した。

Fig. 6 に 590 nm で観測した蛍光減衰曲線を示す。濃度が 0.01 mol% の場合、単一指数関数で減衰しその寿命は 3.56 ns である。この

Fig. 6 Fluorescence decay curves of the LB monolayer films of a mixture of arachidic acid and rhodamine B with two hydrocarbon chains.

値は水中の寿命 1.56 ns よりかなり長くベシクル表面に吸着した時の寿命 3.32 ns に近い。ローダミン B の濃度が増加すると単一指数関数からのずれが大きくなる。これらの減衰曲線は共通して 3.6 ns の寿命成分を含んでいることから、LB 膜中ではゲスト分子の分布は均一ではなく、励起移動に関与しない孤立モノマーが存在することが考えられる。また蛍光スペクトルは濃度とともに長波長シフトするが蛍光励起スペクトルはほとんど変化しなかった。したがってこの蛍光消光過程は 2 次元平面における励起エネルギー移動とダイマーなどによる消光によるものと考えられ、ドナーの減衰曲線は次式の型の関数で適合させることができた。

$$\rho(t) = A_1 \exp(-t/\tau_D) + A_2 \exp(-t/\tau_D - \lambda_2 t) \quad (7)$$

濃度が増加するにつれて孤立したモノマー成分

Fig. 7 Schematic illustration of stacking structures of the LB multilayer films. The concentration of pigment molecules is 5 mol % in each monolayer. The distance between chromophores in adjacent layer is ca. 25 Å.

の割合は減少し、18mol% で約 2% になる。また α の値は高濃度領域で 1/3 になり, single-step のエネルギー移動が起こっていることを示している。低濃度領域では α の値は 1/2 に近づき, migration の寄与が重要となってくる。

5. 積層構造系における逐次的エネルギー移動

次に積層構造系の励起エネルギー移動についてみよう。筆者らは、最近、外側から内側に向かって一方向に起こる光エネルギー伝達について、植物光合成アンテナ色素系とその人工モデル系である LB 多層膜について比較したので、ここではその概略を紹介しよう。

LB 多層膜は常法に従って作製され⁶⁾、Fig. 7 に示すようにカルバゾール環をもつドナー (D) とシアニン系色素のアクセプター (A) を用いて 2 層系 (D-A₁)、3 層系 (D-A₁-A₂) および 4 層系 (D-A₁-A₂-A₃) LB 多層膜を作製した。各層における色素濃度は 5 mol %, 層間距離はいずれも 25 Å である。

Fig. 8 a, b に 2 層系 (D-A₁) および 3 層系 (D-A₁-A₂) の時間分解蛍光スペクトルを示す。いずれの系においてもドナー・アクセプターの吸収帯および蛍光帯の重なりから期待されるように逐次的エネルギー伝達が確認される。カルバゾール環を含む D 層を 300 nm のレーザーパルス光で照射することにより、2 層系ではまずカルバゾール (D) の蛍光帯が 350 nm に現れ、励起後 100 ps の間に A₁ 蛍光が立上るのがみえる。

Fig. 8 Time-resolved fluorescence spectra of the LB multilayer films; (a) 2 L, D-A₁; (b) 3 L, D-A₁-A₂; (c) 4 L, D-A₁-A₂-A₃. The excitation wavelength is 300 nm. The structures of these LB films are given in Fig. 4.

3層系では、励起と同時にカルバゾールおよびA₁蛍光が400 nmに現れ、D-A₁層間のエネルギー移動は速やかに起こっていることがわかる。次いで10ps以後A₂蛍光帯が470 nmに現われ50 ps以後これが主たる蛍光帯となる。4層系(D-A₁-A₂-A₃)においても同様な逐次的エネルギー伝達をみることができ。カルバゾールの励起によってA₁, A₂の蛍光帯がみられ時間とともに強度を増し、60ps以降最終段のアクセプターA₃の蛍光帯が立上がる。次に生体系フィコビルン・アンテナにおける時間分解蛍光スペクトルをみてみよう(Fig. 9)^{19,20)}。先ずフィコエリトリン(PE)の励起によってPEの蛍光帯(578 nm)が現れ、次いでフィコシアニン(PC), アロフィコシアニン(APC), Chl *a* の順で蛍光帯が逐次的に生成し消滅している。これによって光エネルギー伝達は外殻から内殻反応中心に向かってPE-PC-APC-Chl *a* の経路で、励起後約0.5 nsの間に起こっていることがわかる。

時間分解蛍光スペクトルでみたように、人工系アンテナLB多層膜においても最外殻層の励起によって各層からの蛍光スペクトルが次々と現れ消滅していくことが観察され、生体系アン

Fig. 9 Time-resolved fluorescence spectra of a blue-green algae, *Porphyridium cruentum*, intact cells. The phycobillosome structures are shown schematically in Fig. 2. Fluorescence bands PE-PC-APC-Chl *a* appear sequentially.

テナと同様に光励起が逐次的に伝達していくことがわかった。次に問題となることは、これらの逐次伝達の現象が数式において如何に記述さ

れ、またその現象を支配するパラメータに基づいて現象を定量的に理解することである。われわれは先に生体系フィコピリンにおける光エネルギー伝達に関して、3次元均一分布系の(5)式に対応する $\exp(-2kt^{1/2})$ 型の速度式で適合させることができた。この場合一連の連立微分方程式の解は次式で表される。

$$N_{PE}(t) = N_{PE}(0) \exp(-2k_1 t^{1/2}) \quad (8)$$

$$N_{PC}(t) = \frac{k_1 N_{PE}(0)}{k_2 - k_1} \left\{ \exp(-2k_1 t^{1/2}) - \exp(-2k_2 t^{1/2}) \right\} \quad (9)$$

$$N_{APC}(t) = \frac{k_1 k_2 N_{PE}(0)}{k_3 - k_1} \times \left\{ \frac{\exp(-2k_1 t^{1/2}) - \exp(-2k_3 t^{1/2})}{k_3 - k_1} - \frac{\exp(-2k_2 t^{1/2}) - \exp(-2k_3 t^{1/2})}{k_3 - k_2} \right\} \quad (10)$$

$$N_{chl}(t) = \frac{k_1 k_2 k_3 N_{PE}(0)}{k_4 - k_1} \times \left\{ \frac{\exp(-2k_1 t^{1/2}) - \exp(-2k_4 t^{1/2})}{(k_4 - k_1)(k_3 - k_1)} - \frac{\exp(-2k_1 t^{1/2}) - \exp(-2k_3 t^{1/2})}{(k_3 - k_1)(k_3 - k_2)} - \frac{\exp(-2k_2 t^{1/2}) - \exp(-2k_3 t^{1/2})}{(k_2 - k_4)(k_3 - k_2)} + \frac{\exp(-2k_4 t^{1/2}) - \exp(-2k_3 t^{1/2})}{(k_3 - k_4)(k_3 - k_2)} \right\} \quad (11)$$

実験から得られた蛍光減衰曲線と理論式を用いて得られた最適曲線をFig. 10に示す。外殻から内殻へ移るにつれて蛍光の立上がりにおいて遅延がみられること、最外殻PEの実験曲線において寿命の長い指数関数減衰がみられ、光エネルギー伝達に関係しない孤立分子が存在するこ

Fig. 10 Fluorescence rise and decay curves for the individual pigments of *F. diplosiphon*. The dotted lines are obtained experimentally from the spectrum analysis. The solid lines are the best fit curves calculated from (8)–(11).

となどが特徴的である。

人工系アンテナLB多層膜における蛍光減衰曲線をFig. 11に示す。この図では2, 3, 4層系における各層からの蛍光減衰曲線について、上段に実験曲線、下段に計算曲線が示されている。生体系の場合と同様に、D層からA₁, A₂, A₃と移るにつれて蛍光の立上がりに遅延があること、表面層であるD層の減衰曲線において寿命の長い指数関数減衰がみられる。これらの実験曲線に対して(4)式および(5)に基づいたそれぞれ $\exp(-3kt^{1/3})$ および $\exp(-2kt^{1/2})$ 型の速度式を用いてシミュレーション計算を行った。その結果、前者の速度式では適合させることができず、生体系アンテナの場合と同様に

Fig.11 Fluorescence rise and decay curves (a—c) and theoretical best-fit curves (d—f) of the LB multilayer films of 2 L, 3 L and 4 L. The theoretical curves are obtained from (8)—(11). The decay curves D, A₁ and A₂ and A₃ are obtained by monitoring the fluorescence at 350, 420, 470 and 570 nm, respectively.

$\exp(-2kt^{1/2})$ 型の速度式すなわち(8)—(11)式で適合させることができた。Fig. 11にその結果を示す。D—A₁, A₁—A₂, A₂—A₃それぞれのステップの光子伝達はおよそ10psで起きている。生体系と人工系において共通していることは、(1)各層の蛍光の立上がり時間は伝達経路に応じて遅くなること、(2)一対のドナー、アクセプターの蛍光減衰曲線において、アクセプターの立上がり時間はドナーの減衰に比較して著しく速く、多層構造体における光子伝達に特徴的な挙動である。

6. 結 語

ベシクル、LB膜など人工的につくられた分子組織体および生体系光合成アンテナ色素を取りあげ、2次元系および積層構造体における励起エネルギー移動についてみてきたが、最後にいくつかの特徴をまとめてみよう。

(1)ここでとりあげた人工の分子組織体では、励起エネルギー移動を表すドナー蛍光減衰曲線において、分子の均一な分布の仮定の下に導かれた速度式は多くの場合適合させることはできない。このことは従来調べられてきた溶接、ガ

ラスなど、十分な溶解性をもつ媒体においては殆どの場合、均一分布に基づくFörster型速度式で記述することができた事実と対照的である。人工系ではゲスト分子は多かれ少なかれ不均一分布をとり、「island構造」とも呼ばれる分布をとり蛍光減衰曲線を複雑にし、フラクタルあるいはフラクタルに近い分布構造を仮定することによって合理的に解析される。

(2)ゲスト分子が不均一な分布をとることは他方、トラップサイトが形成されやすいことを意味し、実際にそのトラップ密度は実際のゲスト分子濃度から予想される値と比較してはるかに大きな密度で存在している。これと対照的に生体系アンテナ色素では、発色団分子は蛋白ポリペプチドネットワークの中で互いに一定の距離を保ちながら分布しており、トラップがほとんど存在せず高い効率で光エネルギーを反応中心へ運んでいることが特徴的である。

(3)積層構造体におけるシーケンシャル励起移動に対する速度式は、現在未だ経験的な実験式で表したに過ぎず、その物理的な意味は未だ明確ではないのであるが、今後さらに種々条件を変えて速度論について詳細に調べる必要がある。

参 考 文 献

- 1) Th. Förster, Z. Naturf., 4a, (1949) 321.
- 2) 又賀 昇：分子間エネルギー移動，分子科学講座第8巻「分子集合体の量子科学」大鹿 譲編（共立出版，東京，1966），pp. 59-127.
- 3) M. Hauser, U.K.A. Klein and U. Güsele: Z. Physik. Chem. NF. **101** (1976) 255.
- 4) G. Zumofen and A. Blumen: J. Chem. Phys. **76** (1982) 3713.
- 5) J. Bauman and M.D. Fayer: J. Chem. Phys. **85** (1986) 4087.
- 6) 福田清成，中原弘雄：化学総説No.40，分子集合体—その組織化と機能，日本化学編（学会出版センター，1983）p. 82.
- 7) 竹中 亨：化学総説No.45，機能性有機薄膜，日本化学会編（学会出版センター，1984）p. 82.
- 8) N. Tamai, T. Yamazaki and I. Yamazaki: J. Phys. Chem. **91** (1987) 841.
- 9) N. Tamai, T. Yamazaki, I. Yamazaki and N. Mataga: J. Phys. Chem. **91** (1987) 3503.
- 10) N. Tamai, T. Yamazaki, I. Yamazaki and N. Mataga: *Ultrafast Phenomena V*, ed G.R. Fleming and A.E. Siegman (Springer-Verlag, Berlin, 1986)

- p.449.
- 11) T. Yamazaki, N. Tamai and I. Yamazaki: Chem. Phys. Lett. **124** (1986) 326.
 - 12) I. Yamazaki, N. Tamai and T. Yamazaki: J. Phys. Chem. **91** (1987) 3572.
 - 13) A. Blumen: Nuovo Cimento, **63**, (1981) 50; A. Blumen and R. Silbey: J. Chem Phys., **72** (1980) 5320.
 - 14) B.B. Mandelbrot: *The Fractal Geometry of Nature* (Freeman, San Francisco, 1982).
 - 15) H. E. Stanley and N. Ostrowsky eds. *On Growth and Form, Fractal and Non-Fractal patterns in Physics*, NATO Advanced Science Institute Series (Martinus Nijhoff, Dordrecht, 1986).
 - 16) L. Periti: in *Fractals in Physics*, ed L. Pietronero and E. Tosatti (North-Holland, New York, 1986) p.73.
 - 17) J. Klafter and A. Blumen: J. Chem. Phys. **80** (1984) 875.
 - 18) A. Takami and N. Mataga: J. Phys. Chem. **91** (1987) 618.
 - 19) I. Yamazaki, M. Mimuro, T. Murao, T. Yamazaki, K. Yoshihara and Y. Fujita: Photochem. Photobiol. **39** (1984) 233.
 - 20) M. Mimuro, I. Yamazaki, T. Yamazaki and Y. Fujita, Photochem. Photobiol. **41** (1985) 597.