

超短パルスレーザーによる Cy3 分子における多重振動モード結合の観測
(電通大¹, ICORP², 台湾交通大³, 阪大⁴) ○寺本 高啓^{1,2}, 小林 孝嘉^{1,2,3,4}

【序】

近年、生化学・医療分野では、*in vitro*、*in vivo* な環境における細胞イメージングを行うため、色素分子が標識として多用されている。これまでにレーザー照射後の標識色素分子からの蛍光をモニターすることにより回折限界を超える高空間分解能が達成されたという報告がなされている。このような用途においては、色素分子には高い蛍光の量子収率に加え、フォトクロミック効果や Förster resonance energy transfer (FRET) 効果といった現象を利用した光スイッチ特性が求められている。Cy3 分子は高い蛍光効率および Cy5 分子との組み合わせによる FRET に起因する光スイッチ特性を示す代表的な色素分子であり、バイオ分野において広く使用されているにも関わらず、これまでに励起状態ダイナミクスを含む基礎的な光化学特性の理解が殆どなされていない。本研究では、Cy3 分子の励起状態ダイナミクスの解明を行うことを目的として、超短パルス光源を用いた実時間振動分光法を行った。定常状態吸収、蛍光、実時間振動スペクトルから、Cy3 分子の吸収スペクトルにおける電子位相緩和の均一、不均一緩和成分の比の決定を行った。また MIMM 効果を考慮することにより励起状態における Cy3 分子の多重振動モード結合の解明を行った。

【実験】

水溶液中 Cy3 分子の定常吸収スペクトル、発光スペクトルはそれぞれ分光光度計 (Shimadzu UV-3101PC) および分光蛍光光度計 (Hitachi, F-4500) を用いて計測した。

実時間振動分光の光源としては、我々の研究グループで独自開発した非共直線増幅システム (noncollinear optical parametric amplifier (NOPA)) を用いた。フェムト秒チタンサファイアレーザーシステム (800nm, 50fs, 700mW, 5kHz) の出力の一部で白色シード光を生成し、NOPA で増幅・パルス圧縮することにより、可視超広帯域・超短パルス光 (1.73-2.33eV, 5.6fs) を得た。超短パルス光をポンプ光 (40nJ) とプローブ光 (2nJ) に分岐し、Off axis パラボリックミラーの焦点においた試料にそれぞれ集光した。試料透過後のプローブ光を 128 チャンネルロックインアンプシステムで多波長同時計測した。本研究では Cy3 分子の吸光度変化 ($\Delta A(\omega, t)$) を -100fs から 1900fs まで 1fs ステップで測定した。

【結果および考察】

Cy3 分子の定常状態吸収スペクトル (赤線) および蛍光スペクトル (青線)、レーザースペクトル (黒線) を図 1 に示す。吸収スペクトルと蛍光スペクトルは各々 1160cm^{-1} 、 807cm^{-1} に対応する振動のプログレッションを持ち、 2.21eV を中心に擬鏡面対称な構造を示すことがわかった。定常吸収、蛍光スペクトルに現れる振動のプログレッションはそれぞれの振動モードの振電結合強度に依存する。Cy3 分子の場合、光励起後において S_1 電子励起状態ポテンシャル超曲面上において構造変形を伴う Duschinsky rotation が起こるため、異なる振動モードが吸収スペクトルと蛍光スペクトルで寄与していると考えられる。

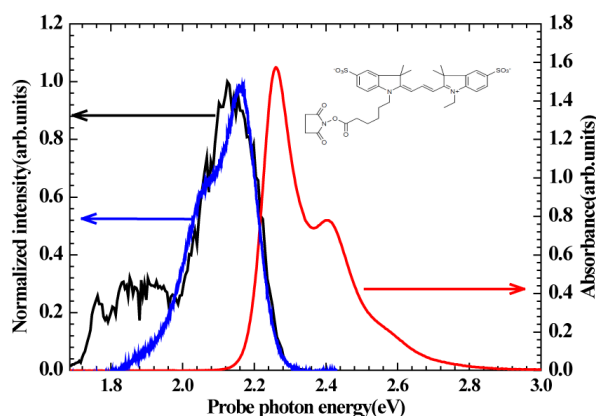


図 1. Cy3 分子の定常状態吸収スペクトル (赤線)、蛍光スペクトル (青線)、レーザースペクトル (黒線)。内挿図は Cy3 分子の分子構造式

Cy3 分子の実時間振動分光法による $\Delta A(\omega, t)$ の実時間追跡の2次元表示を図2に示す。プローブ遅延時間0~100fsに現れる信号はcoherent artifactによるものである。遅延時間100fs~1100fsにおいてはスペクトル形状および信号強度の変化は見られなかった。負の遅延時間、すなわちプローブ光がポンプ光よりも先に試料に到達する時刻の信号を見ると、指数関数的に減衰しているのがわかる。これはPerturbative free-induction decayによるものであり、プローブ光により引き起こされる励起状態分子の分極に起因している。この時間領域の過渡吸収信号のプローブ波長依存性から最も長い寿命を求めると、 27 ± 1 fsであることがわかった。これはレーザースペクトルと吸収スペクトルの重ね合わせより、均一緩和が寄与する電子位相緩和時間と考えられる。また一方で定常状態の吸収スペクトルをフーリエ変換することにより、位相緩和時間を求めると、 15 ± 2 fsとなった。このことから、Cy3分子の定常状態吸収スペクトルにおける均一、不均一緩和成分の比はそれぞれ55%、45%であることがわかった。

$\Delta A(\omega, t)$ の実時間追跡をフーリエ変換することにより得た振動パワースペクトルの2次元表示を図3に示す。定常吸収、蛍光スペクトルと実時間振動分光により得られた振動スペクトルの違いを調べるため、Missing Mode effect(MIME)を考慮した解析を行った。MIMEモデルにおいては、励起状態ポテンシャル超曲面上の波束運動は以下の相関関数で記述される。

$$\langle \phi_0 | \phi(t) \rangle = \prod_k (\langle \phi_{0k} | \phi_k(t) \rangle) \exp(-iE_0 t / \hbar - \Gamma^2 t^2)$$

$$\langle \phi_{0k} | \phi_k(t) \rangle = \exp(-(\Delta_k^2 / 2)(1 - e^{-i\omega_k t}) + i\omega_k t / 2)$$

ここで ϕ_{0k} 、 $\phi_k(t)$ はk番目のモードの基底状態と励起状態のポテンシャル曲面の最小位置におけるエネルギー差 E_0 および変位 Δ_k における波束を表している。蛍光スペクトルから得られた振動モード 807cm^{-1} と位相緩和時間15fsから、MIME効果によるdamped oscillatorを再現することができる。Duschinsky rotationにより 1170cm^{-1} が 807cm^{-1} とモード間結合しているということから、MIME効果によるdamped oscillatorを構成している他の結合モードを求めると図3(c)に示す結果が得られた。振動スペクトル(図3(b))との比較から $350, 480, 1170, 1480, 1600, 2000 \text{cm}^{-1}$ がCy3分子の S_1 ポテンシャル超曲面上において多重振動モード結合しているということが明らかとなった。

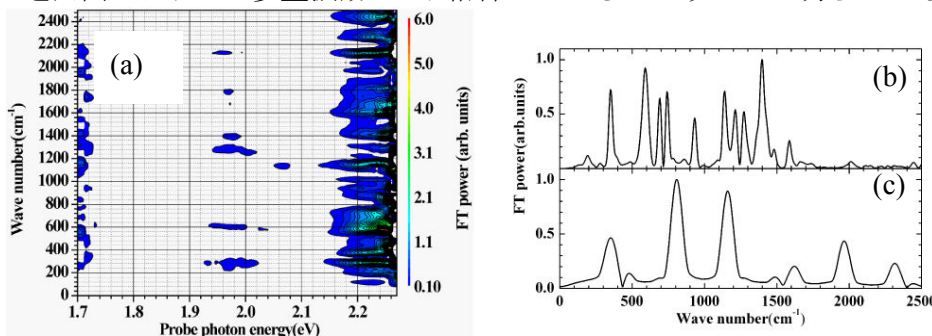


図3. Cy3分子の振動パワースペクトル(a)Cy3のFFTパワースペクトルの2次元表示(b)1.85~2.2eV領域を積分したパワースペクトル(c)MIMEモデルより得た振動スペクトル

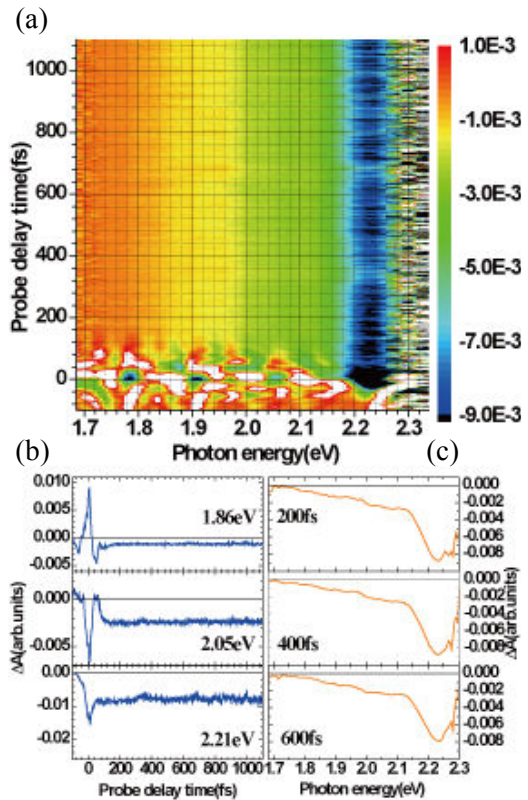


図2. Cy3分子の吸光度変化 $\Delta A(\omega, t)$ 実時間追跡スペクトル(a)Cy3の $\Delta A(\omega, t)$ の2次元表示(b)プローブ光子エネルギー1.86,2.05,2.21eVにおける ΔA の実時間追跡(c)遅延時間200,400,600fsにおける ΔA のプローブ光子エネルギー依存性