

Передача электронной энергии в одиночной донор-акцепторной паре с триплет-триплетным поглощением

© И.С. Осадько

Институт спектроскопии РАН,
108840 Троицк, Москва, Россия

e-mail: osadko@isan.troitsk.ru

Поступила в редакцию 25.02. 2018 г.

В окончательной редакции 25.02. 2018 г.

Принята к публикации 15.03.2019 г.

Рассмотрен FRET (Förster Resonance Energy Transfer) в одиночной донор (D)-акцепторной (A) паре, молекулы которой имеют как синглетные, так и триплетные состояния. Рассмотрено два случая: 1) возбуждение D - A -пары осуществляется только с помощью синглетной полосы донора, 2) возбуждение осуществляется также с помощью дополнительного триплет-триплетного поглощения. Показано, что триплетное состояние донора не влияет на выражение для эффективности FRET, но порождает off-интервалы в треке флуоресценции как донора, так и акцептора. Триплетное состояние акцептора сильно влияет на выражение для эффективности FRET, делая невозможной полную передачу энергии и порождая off-интервалы в треке флуоресценции акцептора. Показано, что если свет может возбуждать не только синглетный переход в доноре, но и полосу триплет-триплетного поглощения, то в off-интервалах появляется слабое свечение, которое на порядки слабее свечения в on-интервалах.

Ключевые слова: безызлучательный перенос энергии, донор-акцепторная пара, триплет-триплетное поглощение.

DOI: 10.21883/OS.2019.07.47923.88-19

1. Введение

Передача электронной энергии от молекул донора (D) молекулам акцептора (A) является предметом изучения в ансамблях D - A -пар уже несколько десятков лет [1,2]. Поскольку передача электронной энергии в D - A -паре, т.е. ферстеровский резонансный перенос энергии (FRET), зависит от расстояния R между молекулами, составляющими D - A -пару, то осуществляя эксперименты с множеством D - A -пар, мы могли получить информацию, характеризующую лишь среднее расстояние R между D - и A -молекулами.

Ситуация кардинально изменилась с появлением на рубеже 1980–90-х методов детектирования спектров и изображений одиночных молекул в конденсированных средах [3,4]. Спектроскопия одиночных молекул, проявив себя в исследованиях структуры и динамики твердых сред при криогенных температурах [5], к началу 2000-х была реализована и в исследованиях при комнатной температуре, что привело к лавинообразному росту интереса к развиваемым методикам со стороны наук о жизни [6]. Следует отметить, что в исследованиях при комнатной температуре принципиальную роль начинают играть методы анализа статистики фотонов мерцающей люминесценции одиночных квантовых излучателей [7,8].

Появление новой техники позволило исследовать на качественно новом уровне и вопросы переноса энергии в единичных D - A -парах [9–13]. В одиночной D - A -паре расстояние R — это расстояние между молекулами, составляющими данную пару. Возникла идея использо-

вать одиночные D - A -пары, прикрепленные к макромолекуле, в качестве нанопроволоки, позволяющей измерять конформационные изменения этой макромолекулы [14]. Измерения показывают, что в паре точечных излучателей расстояние может быть определено методами флуоресцентной наноскопии с точностью, которая существенно превышает дифракционный предел и составляет единицы нанометров [15]. При этом, так же как и в криогенной наноскопии [16], принципиальной становится задача поиска подходящих люминофоров для создания эффективных D - A -пар с заданными параметрами [17], знание которых и позволит с высокой точностью определять расстояния между точечными излучателями в D - A -парах. Все перечисленные обстоятельства и стали причиной значительного интереса к использованию одиночных D - A -пар в качестве инструмента для исследования конформационной динамики макромолекул.

При исследовании флуоресценции одиночных D - A -пар выяснилось, что хотя FRET осуществляется по синглетным уровням молекул D - A -пары, тем не менее триплетные состояния молекул красителя, составляющих D - A -пару, все же могут оказывать существенное влияние на эффективность FRET [18–20]. Однако влияние триплетных состояний на флуоресценцию одиночных D - A -пар рассматривалось в модели, когда возбуждение этой пары осуществляется только через синглет-синглетный переход в D -молекуле. В настоящей работе мы рассмотрим, какую роль в FRET может сыграть дополнительное триплет-триплетное (T - T^*) поглощение света молекулами D - A -пары, которое становится акту-

альным, если частота возбуждающего света попадает в полосу $T-T^*$ -поглощения молекул $D-A$ -пары.

2. Флуоресценция $3D-2A$ -пары без $T-T^*$ -поглощения

Рассмотрим $D-A$ -пару, молекула донора в которой имеет триплетное состояние, т.е. $3D-2A$ -пару. Энергетическая схема такой $3D-2A$ -пары представлена на рис. 1.

Когда D -молекула попадает в триплетное состояние, прекращается вся флуоресценция, так как ни D -, ни A -молекула не может быть возбуждена, т.е. наступает пауза. Влиянием состояния $(D_T A^*)$ на паузу можно пренебречь потому, что влияние состояния с возбужденным акцептором будет намного слабее, чем влияние состояния $(D_T A)$ с акцептором в основном состоянии, учтенного на схеме. Влиянием состояния $(D^* A^*)$ на флуоресценцию можно пренебречь из-за слабого заселения этого состояния. Динамика системы, представленной на рис. 1, описывается следующей системой скоростных уравнений:

$$\begin{aligned}\dot{\rho}_0 &= -k\rho_0 + \Gamma_D\rho_1 + \Gamma_A\rho_2 + g\rho_3, \\ \dot{\rho}_1 &= k\rho_0 - (\Gamma_D + G + F)\rho_1, \\ \dot{\rho}_2 &= F\rho_1 - \Gamma_A\rho_2, \\ \dot{\rho}_3 &= G\rho_1 - g\rho_3.\end{aligned}\quad (1)$$

Решая систему уравнений (1) методом Монте-Карло, мы найдем флуктуирующие интенсивности $I_D(t)$, $I_A(t)$ донорной и акцепторной флуоресценции и флуктуирующую эффективность

$$E(t) = I_A(t)/[I_A(t) + I_D(t)] \quad (2)$$

передачи энергии. В системе (1) флуктуации интенсивности и, следовательно, эффективность передачи энергии обусловлены переходами в синглет-триплетной системе акцептора. Если время измерения эффективности существенно превосходит все времена релаксации, обусловленные релаксационными константами системы (1), т.е. фактически при $t = \infty$, то мы можем положить нулю все производные в системе (1). Тогда с учетом третьего уравнения в системе (1) формула (2) принимает следующий вид:

$$\begin{aligned}E &= 1/[1 + I_D(\infty)/I_A(\infty)] = 1/[1 + \Gamma_D\rho_1(\infty)/\Gamma_A\rho_2(\infty)] \\ &= 1/[1 + \Gamma_D/F(R)].\end{aligned}\quad (3)$$

Подставляя в формулу (3) ферстеровскую скорость в виде $F(R) = C/R^6$, преобразуем формулу (3) к следующему виду:

$$E(R) = 1/[1 + (R/R_F)^6], \quad (4)$$

где $R_F = (C/\Gamma_D)^{1/6}$ есть радиус Ферстера. Это выражение не зависит от триплетного состояния молекулы донора.

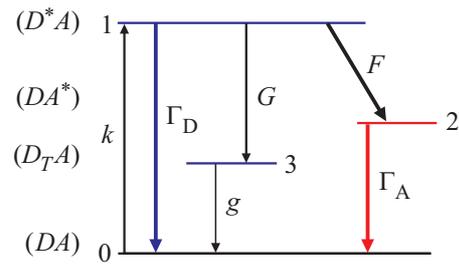


Рис. 1. Энергетическая схема $3D-2A$ -пары. Константы G и g описывают скорости переходов между синглетными состояниями и триплетным состоянием 3.

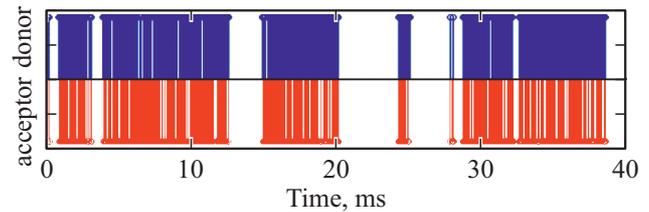


Рис. 2. Временные моменты испускания $3D-2A$ -парой фотонов D -флуоресценции (голубые) и A -флуоресценции (красные), рассчитанные при $k = 10^5 \text{ s}^{-1}$, $\Gamma_D = 2 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$, $\Gamma_A = 10^8 \text{ s}^{-1}$, $G = 10^6 \text{ s}^{-1}$, $g = 10^3 \text{ s}^{-1}$ и $F = 10^8 \text{ s}^{-1}$.

Применяя метод Монте-Карло, мы можем рассчитать с помощью системы уравнений (1) случайные временные моменты испускания фотонов флуоресценции одиночной $3D-2A$ -парой при непрерывном ее возбуждении светом внешнего источника, происходящего со скоростью k . Эти моменты времени представлены на рис. 2.

Триплетное состояние молекулы донора проявляет себя только в паузах D - и A -флуоресценции, которые конечно не влияют на эффективность передачи энергии.

3. Флуоресценция $2D-3A$ -пары без $T-T^*$ -поглощения

Рассмотрим теперь $D-A$ -пару, молекула акцептора в которой имеет триплетное состояние, т.е. $2D-3A$ -пару. Энергетическая схема такой $2D-3A$ -пары представлена на рис. 3.

Уровень 3 описывает триплетное состояние молекулы акцептора, а физический смысл всех скоростных констант ясен из рисунка. Ферстеровская скорость $F(R) = C/R^6$, которая зависит от расстояния R между молекулой донора и акцептора, определяет скорость безызлучательного перехода энергии от донора к акцептору.

В $2D-3A$ -паре имеется $2 \times 3 = 6$ состояний. В схеме на рис. 3 представлены только пять состояний. Шестое состояние $(D^* A^*)$ отброшено потому, что при слабой накачке состояние с двумя возбужденными синглетными

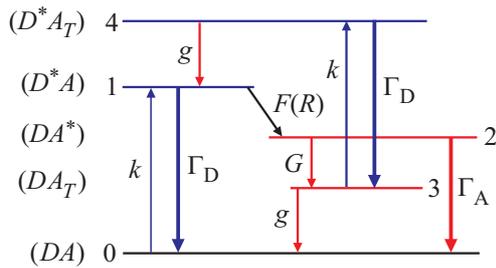


Рис. 3. Энергетическая схема и переходы в 2D–3A-паре.

состояниями будет слабо заселено, и поэтому оно будет слабо влиять на динамику системы.

Схеме, представленной на рис. 3, соответствует следующая система скоростных уравнений для населенностей пяти уровней:

$$\begin{aligned} \dot{\rho}_0 &= -k\rho_0 + \Gamma_D\rho_1 + \Gamma_A\rho_2 + g\rho_3, \\ \dot{\rho}_1 &= k\rho_0 - [F(R) + \Gamma_D]\rho_1 + g\rho_A, \\ \dot{\rho}_2 &= F(R)\rho_1 - (G + \Gamma_A)\rho_2, \\ \dot{\rho}_3 &= G\rho_2 - (k + g)\rho_3 + \Gamma_D\rho_4, \\ \dot{\rho}_4 &= k\rho_3 - (g + \Gamma_D)\rho_4. \end{aligned} \quad (5)$$

Решая систему (5) методом Монте-Карло, мы найдем флуктуирующие интенсивности $I_D(t)$, $I_A(t)$ донорной и акцепторной флуоресценции и флуктуирующую эффективность передачи энергии (2). Если время измерения эффективности существенно превосходит все времена релаксации, обусловленные релаксационными константами системы (5), т.е. фактически при $t = \infty$, то мы можем положить нулю все производные в системе (5), и тогда средняя эффективность FRET выражается следующей формулой:

$$\begin{aligned} E(\infty) &= I_A(\infty)/[I_A(\infty) + I_D(\infty)] = \frac{1}{1 + I_D(\infty)/I_A(\infty)} \\ &= \frac{1}{1 + \frac{\Gamma_D}{\Gamma_A} \frac{\rho_1(\infty) + \rho_4(\infty)}{\rho_2(\infty)}} = \frac{1}{1 + \frac{\Gamma_D}{\Gamma_A} \frac{\Gamma_A + G}{F(R)} + \frac{\Gamma_D}{\Gamma_A} \frac{\rho_4(\infty)}{\rho_2(\infty)}}. \end{aligned} \quad (6)$$

Вычисляя с помощью стационарной системы (5) отношение населенностей, приходим к следующей формуле для эффективности FRET:

$$E(R) = \left[1 + \frac{\Gamma_D}{\Gamma_A} \frac{\Gamma_A + G}{F(R)} + \frac{\Gamma_D}{\Gamma_A} \frac{kG}{g(\Gamma_D + g + k)} \right]^{-1}. \quad (7)$$

При $\Gamma_{D,A} \gg G, k, g$ мы можем формулу (7) представить в следующем виде:

$$E(R) \cong \frac{1}{1 + \frac{Gk}{\Gamma_A g} + \frac{\Gamma_D}{F(R)}} \cong \frac{1}{1 + \frac{\tau_{\text{off}}}{\tau_{\text{on}}} + \left(\frac{R}{R_F}\right)^6}. \quad (8)$$

Здесь $\tau_{\text{off}}/\tau_{\text{on}} = Gk/\Gamma_A g$ есть отношение средних длительностей off- и on-интервалов в флуоресценции одиночной молекулы акцептора. Формула (8) кардинально отличается от формулы (4), используемой во многих работах. Эта формула описывает связь между расстоянием R в D – A -паре и эффективностью $E(R)$ передачи энергии. Она позволяет найти распределение расстояний R , если в опыте измерено распределение эффективностей E . Из формулы (8) следует, что триплетный уровень в молекуле акцептора препятствует полной передаче энергии даже при $R = 0$.

Двум жирным синим стрелкам, изображающим D -флуоресценцию на рис. 3, соответствует два типа D -флуоресценции, соответствующие переходам 1–0 и 4–3. Наличие двойной D -флуоресценции кардинально отличает 2D–3A-пару от 3D–2A-пары, в которой существует только одна D -флуоресценция.

Применяя метод Монте-Карло, мы можем рассчитать с помощью системы уравнений (5) случайные временные моменты испускания фотонов флуоресценции одиночной 2D–3A-парой при непрерывном ее возбуждении светом внешнего источника, происходящего со скоростью k . Эти моменты времени представлены на рис. 4.

Мы имеем два типа D -флуоресценции: яркую и умеренную. Эти два типа D -флуоресценции отчетливо видны на рис. 4. Яркая D -флуоресценция, представленная на рис. 4, излучается в то время, когда A -молекула оккупирует триплетное состояние 3, и поэтому передача ей электронной энергии донора невозможна. Эта яркая D -флуоресценция соответствует переходу 4–3, показанному на рис. 3. Более тусклая D -флуоресценция излучается в то время, когда A -молекула находится в синглетном состоянии, и поэтому возможна передача энергии A -молекуле. Эта флуоресценция соответствует переходу 1–0. Используя короткое время накопления сигнала в 1 ms, мы можем построить флуктуирующие треки $I_{D,A}(t)$ флуоресценции D - и A -молекул, и с помощью этих треков найти флуктуирующую эффективность FRET.

4. Роль T – T^* -поглощения в D – A -паре

В предыдущих двух разделах мы игнорировали наличие возбужденных триплетных состояний в

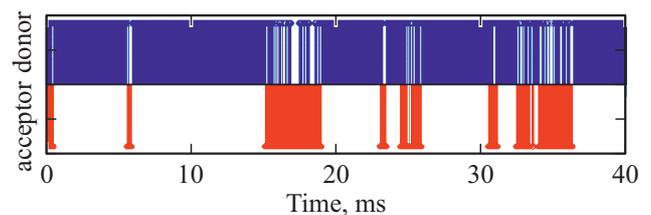


Рис. 4. Временные моменты испускания фотонов флуоресценции 2D–3A-парой при $k = 10^5 \text{ s}^{-1}$, $\Gamma_D = 2 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$, $\Gamma_A = 10^8 \text{ s}^{-1}$, $G = 10^6 \text{ s}^{-1}$, $g = 500 \text{ s}^{-1}$ и $F = 10^9 \text{ s}^{-1}$.

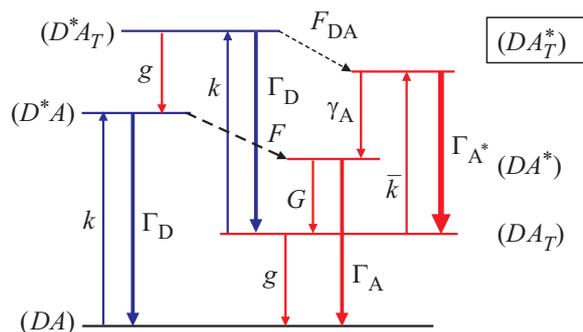


Рис. 6. Энергетическая схема $D-A$ -пары с $T-T^*$ -поглощением в молекуле акцептора.

Состояние (DA_T^*) , содержащее возбужденное триплетное состояние молекулы акцептора и показанное на рис. 6 в рамке, заселяется с помощью перехода F_{DA} , описываемого формулой

$$F_{DA} = \frac{2\pi}{\hbar} w_{D^*A_T} | \langle D^*A_T | V_{DA} | DA_T^* \rangle |^2 \Delta(E_{D^*A_T} - E_{DA_T^*}). \quad (12)$$

Матричный элемент в этой вероятности не содержит синглет-триплетного запрета, а вероятность $w_{D^*A_T}$ тоже не является малой, т.е. эта скорость сравнима с ферстеровской скоростью F . Кроме того, состояние (DA_T^*) заселяется накачкой \bar{k} . Однако населенность состояния (DA_T^*) будет все-таки малой, потому что безызлучательные переходы Γ_A^* , показанные на рис. 6 жирной красной стрелкой, происходят за пикосекунды. Поэтому вероятность перехода между состоянием (DA_T^*) , обведенным рамкой, и люминесцирующим состоянием (DA^*) , описываемая выражением

$$\gamma_A = \frac{2\pi}{\hbar} w_{DA_T^*} | \langle DA_T^* | V_{DA} | DA^* \rangle |^2 \Delta(E_{DA_T^*} - E_{DA^*}), \quad (13)$$

будет мала, во-первых, из-за малости вероятности $w_{DA_T^*}$ обнаружить состояние (DA_T^*) и, во-вторых, потому что матричный элемент в формуле (13) описывает переход, не сохраняющий триплетное состояние. Но именно вероятность перехода, описываемого формулой (13), определяет интенсивность А-флуоресценции во время паузы, показанной на рис. 4. Следовательно, свечение А-флуоресценции во время паузы будет заметно слабее свечения в оп-интервале.

5. Заключение

В работе была рассмотрена флуоресценция одиночной $D-A$ -пары, молекулы которой имеют как синглетные, так и триплетные состояния. Рассмотрено два случая. В первом случае возбуждение одиночной $D-A$ -пары осуществляется только через синглетную полосу поглощения донора. В этом случае в флуоресценции $D-A$ -пары появляются off-интервалы без свечения.

Во втором случае учитывается также наличие дополнительного поглощения, которое может появиться, если свет возбуждения попадает в полосу $T-T^*$ -поглощения либо молекулы донора, либо молекулы акцептора.

Показано, что вовлечение в динамические процессы возбужденных триплетных состояний через $T-T^*$ -поглощение приводит к дополнительной вероятности переходов между синглетным и триплетными состояниями молекул $D-A$ -пары. Однако вследствие малого времени жизни возбужденного триплетного состояния эти дополнительные вероятности приведут к слабому свечению в off-интервалах, которое существенно меньше интенсивности свечения в оп-интервалах.

Финансирование работы

Работа выполнена в рамках темы „Спектроскопия твердого тела, поверхности и наноструктур“ Государственного задания ФГБУН Института спектроскопии РАН.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] Förster Th. Delocalized Excitation and Excitation Transfer. Modern Quantum Chemistry. Part III. Action of Light and Organic Crystals. N.Y., London: Academic Press, 1965. P. 93–137.
- [2] Ермолаев В.Л., Бодунов Е.Н., Свешикова Е.Б., Шахвердов Т.А. Безызлучательный перенос энергии электронного возбуждения. Л.: Наука, 1977. 311 с.
- [3] Moerner W.E., Kador L. // Phys. Rev. Lett. 1989. V. 62. P. 2535.
- [4] Orrit M., Bernard J. // Phys. Rev. Lett. 1990. V. 65. P. 2716.
- [5] Наумов А.В. // УФН. 2013. Т. 183. С. 633–652; Naumov A.V. // Phys.-Usp. 2013. V. 56. P. 605.
- [6] Weiss S. // Science. 1999. V. 283. P. 1676.
- [7] Осадько И.С. // УФН. 2006. Т. 176. С. 23; Osad'ko O.S. // Phys. Usp. 2006. V. 19. P. 51.
- [8] Osad'ko I.S., Naumov A.V., Eremchev I.Yu., Vainer Yu.G., Kador L. // Phys. Rev. A. 2012. V. 86. P. 053802.
- [9] Ha T., Ting A.Y., Liang J., Deniz A.A., Chemla D.S., Schulz P.G., Weiss S. // Chem. Phys. 1999. V. 247. P. 107–118.
- [10] Sabanayagam C.R., Eid J.S., Meller A. // J. Chem. Phys. 2005. V. 122. P. 061103.
- [11] Sabanayagam C.R., Eid J.S., Meller A. // J. Chem. Phys. 2005. V. 123. P. 224708.
- [12] Gopich I.V., Szabo A. // J. Phys. Chem. B. 2010. V. 114. P. 15221–15226.
- [13] Chung H.S., Gopich I.V., McHale K., Cellmer T., Louis J.M., Eaton W.A. // J. Phys. Chem. A. 2011. V. 115. P. 3642–3656.
- [14] Осадько И.С. // Известия РАН. Серия физическая. 2017. Т. 81. С. 578; Osad'ko I.S. // Bulletin RAS: Physics. 2017. V. 81. P. 543.

- [15] *Еремчев И.Ю., Лозинг Н. А., Баев А. А., Тарасевич А. О., Гладуш М. Г., Роженцов А.А., Наумов А.В.* // Письма в ЖЭТФ. 2018. Т. 108. С. 26.
- [16] *Karimullin K.R., Naumov A.V.* // J. Lumines. 2014. V. 152. P. 15.
- [17] *Bajar B.T., Wang E.S., Zhang S., Lin M.Z., Chu J.* // Sensors. 2016. V. 16. P. 1488.
- [18] *Camley B.A., Brown F.L.H., Lipman E.A.* // J. Chem. Phys. 2009. V. 131. P. 10459.
- [19] *Osad'ko I.S., Shchukina A.L.* // Phys. Rev. E. 2012. V. 85. P. 061907.
- [20] *Osad'ko I.S.* // J. Phys. Chem. C. 2018. V. 122. P. 24394–24399.