

機関番号：10101

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21750149

研究課題名 (和文) フォトクロミズムに伴う幾何構造変化を利用した単一分子蛍光スイッチと非破壊読み出し

研究課題名 (英文) Single-molecule fluorescence photoswitching based on the photochromic conformational changes

研究代表者

深港 豪 (FUKAMINATO TSUYOSHI)

北海道大学・電子科学研究所・助教

研究者番号：80380583

研究成果の概要 (和文) : フォトクロミズムに伴う幾何構造変化を利用した単一分子レベルでの蛍光スイッチングおよび非破壊蛍光読み出しを達成するために、ジアリールエテンの反応点に蛍光色素を導入した分子を合成した。その結果、三重項を経由する新たな光閉環反応プロセスを見出し、蛍光スイッチング分子の設計指針に対する新たな知見を得た。さらにその知見に基づき非破壊蛍光読み出しを可能とする電子移動型蛍光スイッチング分子を合成し、単一分子レベルにおける非破壊蛍光読み出しを実証することに成功した。

研究成果の概要 (英文) : Some diarylethene derivatives, which introduce a fluorescent unit at the reactive carbon of diarylethenes were synthesized and studied its fluorescence photoswitching properties. In these studies, an unexpected photoreaction, in which the photocyclization reaction of the photoswitching unit proceeds with non-absorbing wavelength light, was accidentally found. From several experiments, it is suggested that the unexpected reaction proceeds from the triplet-state of diarylethene unit. This result was extended to the synthesis of a novel single-molecular fluorescent photoswitching molecule with the non-destructive readout capability. The fluorescence and photochromic performances of this molecule allow us to achieve the fluorescence photoswitching with non-destructive readout in the solution as well as even at the single-molecule level.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：フォトクロミズム・蛍光・単一分子・非破壊読み出し

1. 研究開始当初の背景

光により蛍光状態と非蛍光状態を可逆的にスイッチできる“蛍光スイッチング分子”は、次世代の超高密度光メモリや光スイッチとしてだけでなく、生体内の細胞の動きを観察するためのバイオプローブやSTED・PALM

といった光の回折限界を越えた超高分解能イメージング技術などへの応用も検討が始まっている (S. W. Hell, *Science*, 316, 1153 (2007)など)。中でも、スイッチングと情報(蛍光)の読み出しをそれぞれ独立に行うことができる非破壊読み出し機能と単一分子レベ

ルでの蛍光スイッチングは特に重要と考えられ、それらの機能を併せ持った分子の開発が切望されていた。

本研究者は単分子レベルで検出が可能な蛍光分子にスイッチ機能を有するフォトクロミック分子を付与し、単分子レベルでフォトクロミズムにより蛍光シグナルを可逆的にスイッチさせることに世界に先駆けて成功している (*Nature*, 420, 759 (2002); *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 14843 (2004))。さらに研究を進展させ、単分子レベルでの光反応の解析 (*Chem. Lett.*, 35, 676 (2005); *J. Am. Chem. Soc.*, 129, 5932 (2007)) や生体反応解析のためのフォトクロミック蛍光プローブ分子の開発 (*Chem. Commun.*, 5206 (2007)) などにも取り組んできた。

これらの研究で開発したすべての分子は、蛍光スイッチングのメカニズムとしてフォトクロミズムに伴う分子内エネルギー移動効率の変化を利用していった。その場合、蛍光消光の際に蛍光ユニットからスイッチングユニットへ移動するエネルギーによりスイッチングユニットの光反応も同時に引き起こされてしまうため、読み出しを行うたびに情報が破壊されてしまうため、本質的に非破壊読み出しは不可能であるという致命的な問題を抱えていた。

2. 研究の目的

本研究は、上述の問題を解決し、単分子レベルでの蛍光スイッチングおよび非破壊読み出しを達成するために、フォトクロミズムに伴う幾何構造変化を利用した新しい蛍光スイッチング分子の開発を目指したものである。

一つの分子は特定の方向に遷移モーメントを有しており、その蛍光特性は励起光に対して偏光依存性を持つ。すなわち、励起偏光に対して蛍光ユニットの遷移モーメントが平行な状態であれば光吸収が起き蛍光を生じるが、垂直な状態であれば光吸収が起こらず蛍光は観測されない。通常分子集団系ではこの性質は平均化されて観測されないが、単分子系では顕著な偏光依存性が観測される。この特性を応用し、フォトクロミズムにより蛍光ユニットの遷移モーメントの向きを可逆的に変化させることができれば、単分子系では読み出しに直線偏光を用いるだけで蛍光の ON-OFF を制御できることになる。このことは蛍光スイッチングにエネルギー移動や電子移動といった無駄なプロセスを必要としないため高効率な蛍光スイッチング分子の開発につながるだけでなく、通常付加することが難しい非破壊読み出し機能を有する分子を簡便に開発できるものと期待される。

3. 研究の方法

上述の概念に基づき、フォトクロミズムにより可逆的に蛍光ユニットの遷移モーメントの向きを変化させる分子の開発および偏光を利用した単分子レベルでの蛍光スイッチング・非破壊蛍光読み出しの実証を目指した。以下に具体的な研究方法を示す。

(1)反応点に蛍光性ペリレンビスイミドを導入したジアリールエテンの合成

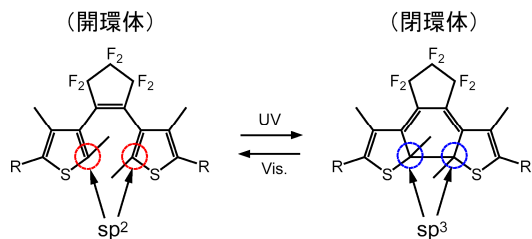
本研究目的を達成するためには、フォトクロミズムにより蛍光ユニットの遷移モーメントの方向を可逆的に変化させることが最初の課題となる。その研究目的を達成するための分子を設計する上で、

- ①フォトクロミズムにより生成する二つの異性体間で、蛍光ユニットの遷移モーメントの向きが大きく異なること
 - ②蛍光ユニットの遷移方向を確実に決まった方向で変化させるために、分子構造の多様性が小さいこと (分子構造が剛直であること)
 - ③フォトクロミックユニットと蛍光ユニットの間で、分子内エネルギー移動や分子内電子移動が起きないこと。
 - ④フォトクロミックユニットと蛍光ユニットを、独立に光励起できること
- という点を基本的な分子設計指針とした。①、②はスイッチングのコントラストに係る因子であり、③、④は非破壊読み出しを達成する上で必須な条件となる。

通常、大きな幾何構造変を期待する場合、フォトクロミズムに伴う構造変化が大きいアゾベンゼン誘導体が良く用いられる。しかしながら、単分子レベルで光スイッチングを行うには、高い光反応性と耐久性・安定性に優れていることが必須となり、アゾベンゼン誘導体ではこの条件を満足することが困難である。従って、これらの要求を満たすフォトクロミック分子はジアリールエテン誘導体のみである。

ジアリールエテンは数あるフォトクロミック分子の中でもフォトクロミズムに伴う分子構造の変化が小さい化合物と言われている。しかしながら、反応点炭素の結合角に注目すると、その軌道が sp^2 から sp^3 へと変化するため、反応点の置換基が結合している角度は大きく変化する。これを応用し、反応点に長く剛直なエチニル基を導入したジアリールエテンが既に合成されており、そのフォトクロミズムに伴う大きな幾何構造変化が単結晶 X 線解析によって確認されている (K. Morimitsu et al., *Tetrahedron Lett.*, 45, 1155 (2004)) (図 1)。

このジアリールエテンのフォトクロミ



ズムに伴う幾何構造変化に着目し、本研究では反応点にエチニル基を介して蛍光ユニット

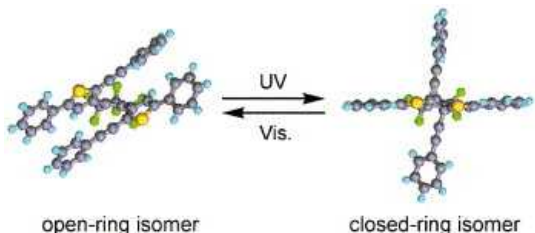
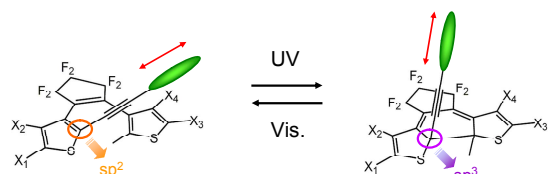


図 1 ジアリアルエテンのフォトクロミズムに伴う幾何構造変化

トを結合した分子を設計する。結合させる蛍光ユニットに要求される条件として、1)単一分子レベルでの検出が可能であること、2)分子構造が剛直かつ遷移モーメントが一方向に定まっていること、などが挙げられる。これらの条件を満たす蛍光色素として、リレンビスイミド系の色素を用いる。この色素群は極めて優れた光安定性と蛍光特性を有するため単一分子蛍光計測の分野で広く用いられており、分子構造も剛直であることから、上述した条件を全て満たす蛍光色素である。

以上の観点から、ジアリアルエテンの反応点に蛍光性ペリレンビスイミド誘導体を導



入した図 2 の概念図に示すような分子の合成を試みる。

図 2 ジアリアルエテンのフォトクロミズムに伴う幾何構造変化を利用した蛍光スイッチングの概念図

(2)偏光読み出しを利用した単一分子蛍光スイッチングの実証

上記の考えに基づき合成した分子を用い、偏光励起による単一分子レベルでの蛍光スイッチング挙動の評価を行う。フォトクロミズムに伴う蛍光ユニットの遷移モーメントの向きの変化を検出するために、焦点面からわずかにデフォーカスすることにより、像面上の光強度の空間分布が遷移モーメントの配向を反映し非等方的パターンを呈すこ

とを利用し、蛍光分子の遷移モーメントの三次元的な配向をイメージングする手法であるデフォーカスイメージング (M. Böhrer et al., *J. Opt. Sci. Am. B*, 2003, 20, 554)を用いる。この測定が可能な光学系を構築し、フォトクロミズムに伴い蛍光ユニットが3次元的方向のように向きを変えたのかを単一分子レベルで直接評価する。併せて、非破壊読み出し機能に対する評価も行い、合成した分子の有用性を検証する。

4. 研究成果

(1)反応点に蛍光性ペリレンビスイミドを導入したジアリアルエテンの合成

フォトクロミズムに伴い可逆的にその幾何構造を変化させる蛍光性フォトクロミック分子の設計・合成に取り組んだ。

非破壊的な蛍光読み出しを達成するためには、フォトクロミックユニットの両異性体の吸収スペクトルと、蛍光ユニットの蛍光スペクトルの重なりを無くし、蛍光ユニットのみを選択的に光励起できなくてはならない。この条件を満足するためには、長波長に吸収を有する蛍光色素を用いるか、フォトクロミックユニットの両異性体の吸収スペクトルを短波長化する必要がある。本研究者はこれまでにフォトクロミックユニットの両異性体の吸収バンドが紫外域にしか存在しない「不可視型ジアリアルエテン」の開発に成功している (特願 2007-233672; *Chem. Commun.*, 2008, 3924)。本研究では、この分子の特性を利用し、まず不可視型ジアリアルエテン分子の反応点炭素に強い蛍光性を示すペリレンビスイミド分子を共役が繋がる形で導入した分子 **1** と共役が切れる形で導入した分子 **2** を合成した。

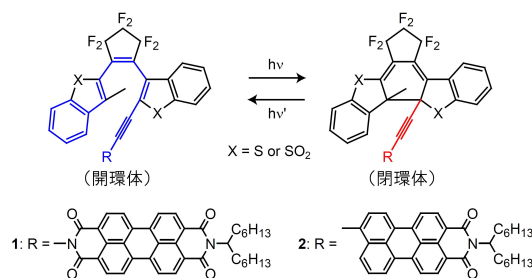


図 3 反応点に蛍光性ペリレンビスイミドを導入したジアリアルエテン誘導体のフォトクロミズム

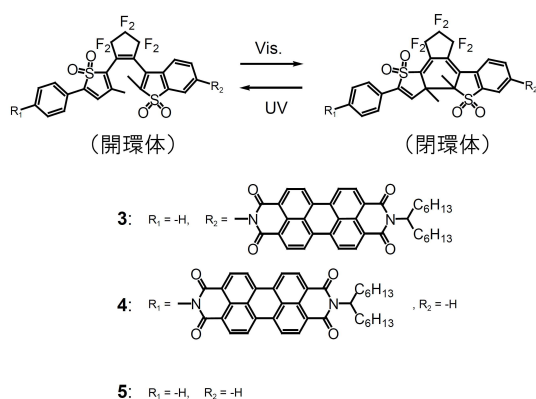
合成した分子 **1** および **2** はともに溶液中で可視光・紫外光の照射に伴い可逆的なフォトクロミズムを示すことが確認された。反応点に共役が切れる形で色素を導入した分子 **1** は、そのフォトクロミズムに伴い蛍光特性が変化しないことが認められた。一方、共役が繋

がる形で色素を導入した分子 **2** はそのフォトクロミズムに伴い、その色素自身の吸収および蛍光特性を大きく変化させることが明らかとなった。このことから本研究目的を達成するための分子設計として、共役が切れた形でジアリールエテンの反応点に蛍光ユニットを導入することが重要であるという指針が得られた。しかしながら、その分子はスイッチングユニットが全く吸収を持たない波長の光で蛍光ユニットを光励起すると、予期せぬことにジアリールエテンユニットが効率良く光閉環反応を示すことが認められた。この現象は光反応としては興味深いものであるが、本研究目的である非破壊的な蛍光読み出しを達成するうえでは大きな弊害となる。本研究で目的とする分子に要求される物性を完全に満たすためには、この特異な光反応の原因を明らかとし、それを回避することが最優先課題であることが明らかとなった。

(2) 蛍光ユニット励起に伴う光閉環反応に対する反応機構解明

上述した特異な光反応に対する知見を得る目的で、*S,S*-ジオキシド化したジアリールエテンに蛍光性ペリレンビスイミドを導入した分子 **3, 4** および蛍光ユニットを持たない参照化合物 **5** を合成した。

図4 蛍光性ペリレンビスイミド結合 *S,S*-ジオキシド型ジアリールエテン誘導体 **3, 4** および参照化合物 **5** のフォトクロミズム



ジアリールエテンの両異性体が吸収を持たず、蛍光ユニットのみが吸収を持つ波長 532 nm の可視光を分子 **3** および **4** の開環体に照射すると、先の分子と同様に、これらの分子においても効率よく光閉環反応が進行することが認められた。蛍光ユニットが結合していない分子 **5** に波長 532 nm の可視光を照射しても、いかなるスペクトル変化も観測されないことから、蛍光ユニットの光励起により光閉環反応が進行していることが確認された。

分子 **3** および **4** の光閉環反応量子収率に対

する励起波長依存性を評価したところ、分子 **3** に関しては顕著な励起波長依存性が認められ、蛍光ユニットを励起して起こる光閉環反応が、ジアリールエテンを直接励起した時とは異なる経路で進行することを示唆する結果が得られた。一方、分子 **4** の場合には励起波長には依存せず、一定の効率で光閉環反応が進行することが認められた。この結果は、ジアリールエテンと PBI の結合様式が反応効率に影響を与えていることを示唆するものである。また、溶存酸素による反応効率の低下が認められたことから、三重項を経由した反応過程が示唆された。本研究により得られた知見は、フォトクロミック反応を用いた機能性分子材料に対し、新しい分子設計指針を与えるものであり、興味深い結果である (T. Fukaminato et al., *J. Phys. Chem. C*, **113**, 2009, 11623.)。

(3) 非破壊蛍光読み出しを可能とする電子移動型蛍光スイッチング分子の合成と単分子レベルにおける非破壊蛍光読み出し

上述した三重項を経由する特異な光反応過程は興味深いものであるが、一方で本研究の目的である非破壊読み出しを達成するためには、重大な弊害となる。この問題を解決するために、導入する蛍光色素のエネルギーレベルを変化させた種々の分子を合成し、光異性化反応と蛍光特性に及ぼす影響を詳細に検討した (T. Fukaminato et al., *Photochem. Photobiol. Sci.*, **9**, 2010, 181.)。三重項からの

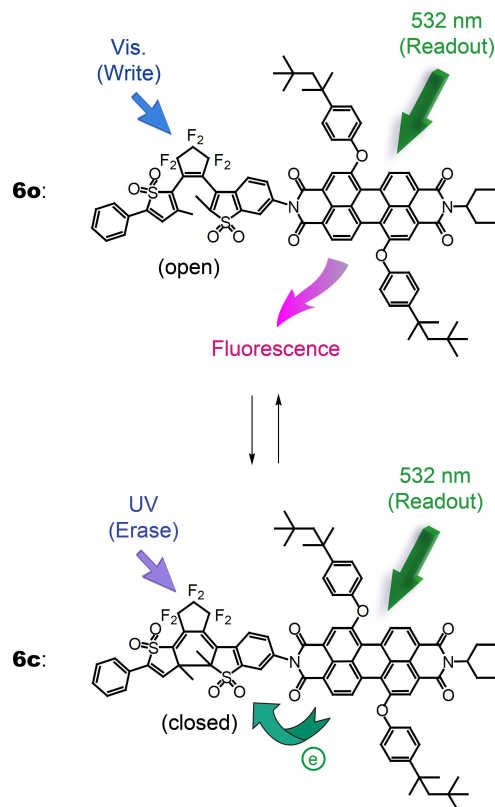


図5 電子移動型蛍光スイッチング分子**6**のフォトクロミズム

光閉環反応は導入する蛍光色素からのエネルギー移動により誘起されており、ジアリールエテンユニットと蛍光色素の相対的なエネルギーレベルを最適化することでその問題を回避できるという結論が最終的に得られ、より長波長側に吸収および蛍光バンドを有する置換型ペリレンビスイミドを *S,S*-ジオキシド型ジアリールエテンの外側に導入した分子**6**を合成した。

合成した分子**6**は蛍光読み出しの光(図5、532 nm)では光反応を全く起こさないが、スイッチングを誘起する別の波長の光(図5、Vis.もしくはUV)を照射すると蛍光強度を効率良く“オン”-“オフ”スイッチさせることが認められた。この結果は、三重項からの光異性化反応のプロセスを完全に回避し、上述した課題を克服できていることを示している。

分子**6**をポリメチルアクリレート(PMA)高分子薄膜中に分子分散させ、単一分子レベルにおける蛍光スイッチングおよび非破壊読み出し機能について検討を行った。その結果、単一分子レベルにおいても、効率良い可逆的な蛍光スイッチングと非破壊的な蛍光読み出しが可能であることが認められた(図6)。

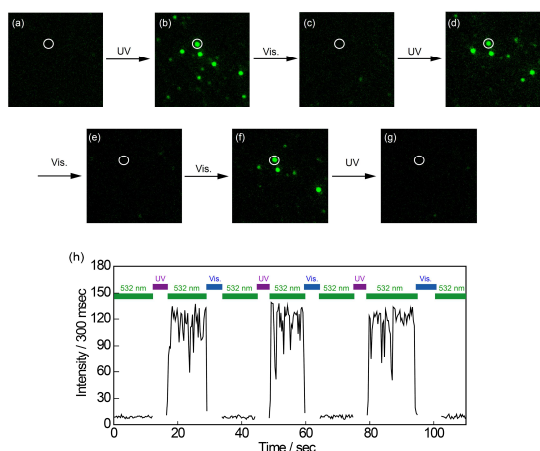


図6: (a)-(g); PMA 薄膜中における分子**6**の蛍光スイッチング挙動の単一分子蛍光イメージング、(h); 単一分子蛍光強度トレース

本成果は、世界で初めて一つの分子に記録された情報を非破壊的に読み出すことに成功したものである(T. Fukaminato et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 2011, 4984.)。非破壊読み出しが可能であることは、任意のタイミングで自在に分子の蛍光特性をスイッチできることを意味しており、真に分子レベルで機能する光スイッチング分子の開発に成功したことを示す研究成果と言え、大変意義深いものである。

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 8 件)

- ① T. Fukaminato, T. Doi, N. Tamaoki, K. Okuno, Y. Ishibashi, H. Miyasaka, M. Irie, “Single-molecule Fluorescence Photoswitching of a Diarylethene-Perylenebisimide Dyad: Non-destructive Fluorescence Readout”, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol.133, No.13, 2011, pp.4984-4990 (査読有)
- ② 深港豪、入江正浩、フォトクロミック分子を用いた単一分子蛍光スイッチング、高分子、査読無、60 巻、2011、74-75
- ③ T. Fukaminato, M. Tanaka, T. Doi, N. Tamaoki, T. Katayama, A. Mallick, Y. Ishibashi, H. Miyasaka, M. Irie, “Fluorescence Photoswitching of a Diarylethene-perylenebisimide Dyad Based on Intramolecular Electron Transfer”, *Photochem. Photobiol. Sci.*, Vol. 9, No. 2, 2010, pp.181-187 (査読有) <The most popular top 10 article in February 2010>
- ④ 深港豪、玉置信之、人工分子機械の運動を見る、化学、査読無、65 巻、2010、72-73
- ⑤ 深港豪、五次元光記録の実現!! -DVD 1 枚がテラバイト(TB)ディスクメモリに、化学、査読無、65 巻、2010、61-63
- ⑥ T. Fukaminato, T. Doi, M. Tanaka, M. Irie, “Photocyclization Reaction of Diarylethene-Perylenebisimide Dyads upon Irradiation with Visible (> 500 nm) light”, *J. Phys. Chem. C*, Vol.113, No. 27, 2009, pp.11623-11627 (査読有)
- ⑦ M. Saitoh, T. Fukaminato, M. Irie, “Photochromism of a Diarylethene Derivative in Aqueous Solution Capping with a Water-soluble Nano-cavitand”, *J. Photochem. Photobio. A*, Vol.207, No.1, 2009, pp.28-31 (査読有)
- ⑧ T. Maki, N. Soh, T. Fukaminato, H. Nakajima, K. Nakano, T. Imato, “Perylenebisimide-linked Nitroxide for the Detection of Hydroxyl Radicals”, *Analytica Chimica Acta*, Vol.639, 2009, No. 1-2, pp.78-82 (査読有)

[学会発表] (計 10 件)

- ① 深港豪、玉置信之、入江正浩、“光ラセミ化を利用した単一分子蛍光スイッチング”、日本化学会第 91 春季年会、2011 年 3 月 28 日、神奈川大学、神奈川
- ② 深港豪、玉置信之、入江正浩、“光ラセミ

- 化を利用した単一分子蛍光スイッチング”、日本化学会第 91 春季年会、2011 年 3 月 28 日、神奈川大学、神奈川
- ③ 深港豪、“単一分子蛍光の光制御”（招待講演）、レーザー学会学術講演会第 31 回年次大会、最先端の光の創成を目指したネットワーク研究拠点シンポジウム、2011 年 1 月 10 日、電気通信大学、東京
 - ④ T. Fukaminato, K. Shinoda, S. Yokojima, S. Nakamura, M. Irie, “Photocyclization reaction of diarylethene-perylenebisimide dyads upon irradiation with (> 500 nm) light”, 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, December 18, 2010, Honolulu, Hawaii, USA
 - ⑤ T. Fukaminato, “Fluorescence Photo-switching Based on Intra-molecular Electron Transfer of Diarylethene-perylenebisimide Dyad”, 6th International Symposium on Organic Photochromism, October 18, 2010, Nikkei Yokohama Hall, Kanagawa, Japan
 - ⑥ 深港豪、亀井敬、玉置信之、“キネシナー微小管系の運動の光制御”、2010 年光化学討論会、2010 年 9 月 10 日、千葉大学西千葉キャンパス、千葉
 - ⑦ 深港豪、石橋千英、宮坂博、入江正浩、“分子内電子移動を利用した単一分子蛍光スイッチング”、2010 年光化学討論会、2010 年 9 月 8 日、千葉大学西千葉キャンパス、千葉
 - ⑧ 深港豪、入江正浩、“反応点に共役的に色素を導入したジアリールエテンのフォトクロミズム”、日本化学会第 90 春季年会、2010 年 3 月 26 日、近畿大学本部キャンパス、大阪
 - ⑨ 深港豪、土井孝夫、片山哲郎、石橋千英、宮坂博、入江正浩、“ペリレンビスイミド連結ジアリールエテンの分子内電子移動を利用した蛍光スイッチングと非破壊読み出し”、2009 年 9 月 17 日、2009 年光化学討論会、桐生市市民文化会館、群馬
 - ⑩ 篠田恵子、横島智、小林高雄、中村振一郎、深港豪、入江正浩、“蛍光色素を置換基にもつジアリールエテンの閉環反応における三重項の介在について”、2009 年 9 月 17 日、2009 年光化学討論会、桐生市市民文化会館、群馬

[その他]

ホームページ等

<http://tamaoki.es.hokudai.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

深港 豪 (FUKAMINATO TSUYOSHI)
北海道大学・電子科学研究所・助教
研究者番号：80380583

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし