

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26620062

研究課題名(和文) 高次非線形光反応による超解像空間パターンニング

研究課題名(英文) Super-resolution patterning by using higher-order multiphoton reactions

研究代表者

宮坂 博 (Miyasaka, Hiroshi)

大阪大学・基礎工学研究科・教授

研究者番号：40182000

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、サブミクロン領域にサブ100 fsの光パルスを集光し、光強度を変調させることで、フォトクロミック分子系の消色(二光子)及び着色(三光子)反応を選択的に誘起した。実験と併せて理論的(計算)シミュレーションも行い、得られた実験結果の解釈が妥当であることを確認した。本研究と過去に実施した研究の結果から、一波長のパルス光の強度変化によって三光子反応と二光子反応の反応性制御が様々な系で可能であることを実験、計算両面から明らかにし、本アプローチの一般性を示した。

研究成果の概要(英文)：In this research project, we constructed a laser confocal-microscope allowing photoexcitation of a small area in samples at sub-100 fs pulse duration in the near infrared region. By using the microscope, we selectively induced the decoloration (two-photon process) and coloration (three-photon process) of diarylethene derivatives only by changing the intensity of incident light pulse. We also conducted numerical calculations, confirming that the reactions are safely ascribed to the two-photon and three-photon absorptions. Through these investigations we successfully demonstrated the universality of one-color multiphoton reversible switching of photochromic reactions.

研究分野：レーザー光化学

キーワード：高次多光子反応 フェムト秒レーザー顕微鏡 フォトクロミック反応

1. 研究開始当初の背景

微小領域における光化学反応は、半導体微細加工におけるフォトリソグラフィや超解像蛍光顕微鏡など、重要な産業技術や生物系を含む科学計測の先端的手法として用いられている。光化学反応の進行する空間の大きさは、基本的には集光サイズに依存する。光(電磁波)には回折限界が存在するため波長の約 1/2 以下に集光することは原理的には不可能であり、従って、可視光を用いた場合は 200-300 nm が最小の集光サイズとなる。

このスポットサイズを下回るプロセッシング技術やイメージング法は、基本的には光学的な手法に基づくが、種々の光物理・光化学プロセスをうまく組み合わせることにより飛躍的な空間分解能の向上を達成する場合も多い。

一例として、視野内に少数の蛍光分子しか存在しない(個々の分子が回折限界距離の 200-300 nm 以上離れている)条件において蛍光像を観測した場合には、個々の蛍光輝点の中心は蛍光分子の位置と見なすことができ、簡単な解析から数 nm から 10nm 程度の精度でその位置を決定できることが知られている(Localization 法と呼ばれる)。蛍光を出す(ON)状態と出さない(OFF)状態をとる異性化色素を用い、その大多数を OFF 状態として染色し、弱いスイッチ光を用いて OFF ON と ON OFF のスイッチングを繰り返し、得られた多数の蛍光画像を組み合わせることで、回折限界を超えた分解能で観測体の蛍光画像を取得する PALM や STORM は、生体組織のナノ構造観測などに広く用いられている。

しかしながら、上記 2 種の方法は、検出・解析手法の工夫に基づく超解像イメージング法であり、励起光を局所的に集光し、ナノ空間で励起状態を生成するために用いることは出来ない。一方、誘導放出による励起状態失活を用いる STED(Stimulated emission depletion)法は、励起状態の局在化は達成可能であるが、そのためには複数の光源による複雑な励起系の構築と極小ステップの試料走査が必要であり、この方法を微小領域の選択的反応に利用することはかなり高度で精緻な実験系が必要であり、容易なことではない。

一方申請者は近年、フェムト秒 1.3 μm レーザー光を用いた非共鳴高次多光子吸収を利用することにより、顕微鏡下で一波長フォトクロミック反応の可逆制御(3 光子吸収により着色、2 光子吸収により消色)が可能となることを見いだした(JACS 2011, JACS Select #14, 2012)。更にレーザー光の空間分布に従い、光強度の強い所で 3 光子吸収による着色が、弱い箇所では 2 光子消色が進行し一波長微小空間パターン形成も可能であることを示している。多光子吸収では光強度に対して非線形性が存在するため、反応を微小領

域に閉じ込めることが可能で、フォトクロミック反応に対する 2 状態間のスイッチングの双方に非線形性を組み合わせる場合には、より高い空間分解能におけるパターン形成が期待できる。

2. 研究の目的

上記のような背景の下、近赤外フェムト秒レーザーの波長、空間強度分布等のレーザー光源の特性を変化させた実験を行い、顕微鏡下における電界強度の計算なども併せて実施し、多光子吸収により到達した電子状態におけるフォトクロミック反応収率などを実験的に明らかにする。これら一連の研究で得られた知見に基づき、一本の単一波長レーザーのみで超解像空間パターンニングを達成することを目標に研究を遂行した。

3. 研究の方法

本研究遂行のため、まずレーザー共焦点顕微鏡をベースに、フェムト秒高次多光子顕微鏡の立ち上げを行った。光源としては、波長可変(700~1000 nm)のチタンサファイアレーザーを用いた。典型的なパルス幅は 60~70 fs である。この近赤外フェムト秒パルスを導入する光学系と、共焦点検出系を有する顕微鏡システムを構築した。このとき、顕微鏡下でのパルス幅評価のために、光パルスを 2 つに分割し、一方のパルスを可変光学遅延装置を通した後同軸で重ね合わせ、顕微鏡に導入可能な構成とした。装置評価のため、有機色素の微小集合体や単一蛍光分子などをポリマー薄膜に固定化した試料を準備し、単一粒子/分子からの蛍光を共焦点検出系で検出した。

次いで、光ビームの位相の空間分布を液晶デバイスにより変調し、対物レンズ下で集光された光強度分布を制御する、即ち光干渉型フォトマスクを形成するための光学系構築を行った。参照用に、連続発振レーザー光を用い、ドーナツ型の空間強度分布を回折限界程度まで集光可能な照射光学系を構築した。光強度の空間プロファイルは、半導体の蛍光性ナノ粒子(量子ドット)を極希薄に固体基板上に分散させ、その蛍光強度の空間分布をステージ走査型共焦点イメージを取得することで評価した。

構築したフェムト秒レーザー顕微鏡において、サブ 100 fs のパルス幅を顕微鏡対物レンズ透過後の試料面上で実現するための最適化を行った。比較的 NA の大きな(0.6~1.3 程度)対物レンズにおける屈折率分散補償のためにプリズム対を用いて光学系を最適化し、蛍光及び第 2 高調波検出に基づき光パルスの自己相関関数測定からパルス幅を見積もった。

次いで、上記顕微鏡を用い、一波長の光パルスの強度変調により三光子反応が優位に

進行する状態と二光子反応が優位に進行する状態のスイッチングに挑戦した。このための試料には種々の蛍光性ジアリールエテン誘導体(DE)を用いた。用いた DE の閉環体は強い蛍光を示し、一方開環体は非蛍光性である。

4. 研究成果

構築した顕微鏡装置の精度が本研究に適するか否かを評価するために、単一量子ドット及び粒径 20 nm 程度の蛍光分子のナノ結晶を用いて共焦点イメージを数分間隔で取得し、顕微鏡装置のアライメントが時間経過と共に変化しないことを確認した。また、このイメージングにより集光スポット形状の評価も行い、当初計画通りの集光スポット形状が実現されることを確認した。

その後、構築したフェムト秒レーザー顕微鏡において、蛍光及び第2高調波検出に基づき光パルスの自己相関関数測定を行った。結果の一例を図1に示す。得られた自己相関波形を解析したところ、半値全幅が数十フェムト(典型的には 70 ~ 100 fs) 秒であった。このことは、構築した装置において、光源のスペクトルから予測される限界値にほぼ近い時間幅の光パルスをサブマイクロメートルの領域に集光することに成功したことを示している。

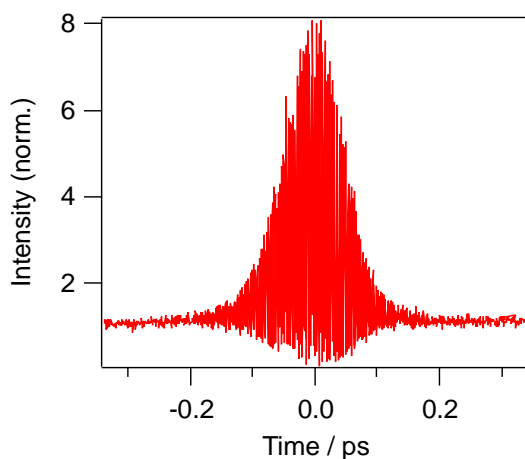


図1 干渉型自己相関波形の例。

次に、ジアリールエテンを含む高分子薄膜にフェムト秒光パルスを照射し、着色及び消色反応の進行具合と光パルス強度との相関に関する情報を取得した。各光照射条件における開環体 DE と閉環体 DE の存在比は 2 光子蛍光強度から見積もった。光強度が比較的弱い場合は二光子反応(開環反応による消色、蛍光 OFF)が支配的となり、光強度が高い場合は 3 光子反応(閉環反応による着色、蛍光 ON)が進行した。結果の一例を図2に示す。

実験と併せて理論的(計算)シミュレーションも行い、得られた実験結果の解釈が妥当であることを確認した。

本研究と過去に実施した研究の結果から、一波長のパルス光の強度変化によって三光子反応と二光子反応の反応性制御が様々な系で可能であることを実験、計算両面から明らかにし、本アプローチの一般性を示した。

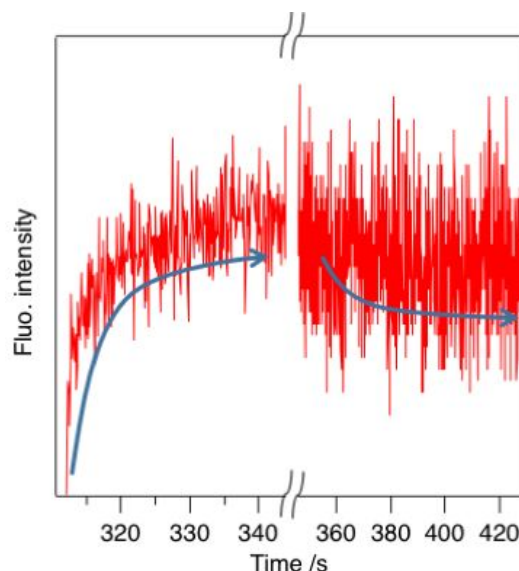


図2 蛍光性 DE の二光子/三光子蛍光スイッチングの例。

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 10 件)

Tomohiro Ichikawa, Masakazu Morimoto, Hikaru Sotome, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, and Masahiro Irie

Photochromism of diarylethene derivatives having benzophosphole and benzothiophene groups

Dyes and Pigments, Vol.126, 186-193 (2016). [査読あり]

Yukihide Ishibashi, Toshiyuki Umesato, Mika Fujiwara, Kanako Une, Yusuke Yoneda, Hikaru Sotome, Tetsuro Katayama, Seiya Kobatake, Tsuyoshi Asahi, Masahiro Irie, and Hiroshi Miyasaka

Solvent Polarity Dependence of Photochromic Reactions of a Diarylethene Derivative as Revealed by Steady-State and Transient Spectroscopies

J. Phys. Chem. C, Vol.120, 1170-1177 (2016). [査読あり]

Yoichi Kobayashi, Tetsuro Katayama, Takuya Yamane, Kenji Setoura, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, and Jiro Abe

Stepwise Two-photon Induced Fast Photoswitching via Electron Transfer in Higher Excited States of Photochromic

Imidazole Dimer

J. Am. Chem. Soc., Vol.138, 5930-5938 (2016). [査読あり]

Yusuke Yoneda, Shohei Nambu, Eisuke Takeuchi, Yutaka Nagasawa, and Hiroshi Miyasaka

Femtosecond coherent wavepacket motion in an ultrafast electrontransfer system composed of naphthacene derivative in an electron-donating solvent

Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry Vol.313, 79-86 (2015). [査読あり]

Takaki Sumi, Tomohiro Kaburagi, Masakazu Morimoto, Kanako Une, Hikaru Sotome, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, and Masahiro Irie

A Fluorescent Photochromic Diarylethene that Turns on with Visible Light

Org. Letters, Vol.17, 4802-4805 (2015). [査読あり]

Fuyuki Ito, Hirofumi Sato, Yuri Ugachi, Narumi Oka, Syoji Ito, and Hiroshi Miyasaka

Properties and Evolution of Emission in Molecular Aggregates of a Perylene Ammonium Derivative in Polymer Matrices Photochem. Photobiol. Sci., Vol.14, 1896-1902 (2015). [査読あり]

Tetsuro Katayama, Kenji Setoura, Daniel Werner, Hiroshi Miyasaka, Shuichi Hashimoto

Picosecond-to-Nanosecond Dynamics of Plasmonic Nanobubbles from Pump-Probe Spectral Measurements of Aqueous Colloidal Gold Nanoparticles Langmuir, Vol. 30, 9504-9513 (2014). [査読あり]

Tetsuro Katayama, Akira Jinno, Eisuke Takeuchi, Syoji Ito, Masaru Endo, Atsushi Wakamiya, Yasujiro Murata, Yuhei Ogomi, Shuzi Hayase, Hiroshi Miyasaka

Inhomogeneous Deactivation Process with UV Excitation in Submicron Grains of Lead Iodide Perovskite-based Solar Cell as Revealed by Femtosecond Transient Absorption Microscopy

Chem. Lett., 43, 1656-1658 (2014). [査読あり]

Syoji Ito, Atsushi Iida, Masakazu Yasuda, Hiroshi Miyasaka

Fluorescence Behavior of Single Guest Molecules in Nonpolar Oil Droplets Covered with Stabilizing Surfactants

J. Phys. Chem. C, Vol. 118, 10348-10357 (2014). [査読あり]

Yukihide Ishibashi, Tetsuro Katayama, Hisayuki Saito, Ken-ichi Yamanaka, Yasutomo Goto, Takao Tani, Tadashi Okada, Shinji Inagaki, Hiroshi Miyasaka

Cooperative Conformational Change and Excitation Migration of Biphenyl-PMO Amorphous Film, as Revealed by Femtosecond Time-resolved Spectroscopy,

J. Phys. Chem. C, Vol. 118, 9419-9428 (2014). [査読あり]

[学会発表](計 16 件)

宮坂 博, 高次複合光応答分子システムの開拓, 日本化学会 第 96 春季年会 (2016)(招待講演), 2016 年 03 月 24 日~ 2016 年 03 月 27 日, 同志社大学 京田辺キャンパス(京田辺市・京都府).

Hiroshi Miyasaka, Yuhei Taga, Kengo Hiratsuka, Yuhei Arai, Syoji Ito, Anomalous diffusion of guest dyes in amorphous polymer solids as revealed by single molecule tracking, THE INTERNATIONAL CHEMICAL CONGRESS OF PACIFIC BASIN SOCIETIES 2015(招待講演)(国際学会), 2015 年 12 月 15 日~ 2015 年 12 月 20 日, Honolulu, Hawaii (USA).

Hiroshi Miyasaka, Elucidation and control of photochromic reactions by pulsed laser excitation, THE INTERNATIONAL CHEMICAL CONGRESS OF PACIFIC BASIN SOCIETIES 2015(招待講演)(国際学会), 2015 年 12 月 15 日~ 2015 年 12 月 20 日, Honolulu, Hawaii (USA).

Kanako Une, Hikaru Sotome, Hiroshi Miyasaka, Seiya Kobatake, Masahiro Irie, Temperature and excitation wavelength dependencies of photoinduced cycloreversion of diarylethene derivatives, 3rd KANSAI Nanoscience and Nanotechnology International Symposium(国際学会), 2015 年 12 月 07 日~ 2015 年 12 月 09 日, Suita, Osaka (Japan).

Takahiro Ikegami, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, Kakishi Uno, Yuta Takagi, Masakazu Morimoto, and Masahiro Irie,

Localization of excited states within a super-resolved volume by using photochromic reactions, 3rd KANSAI Nanoscience and Nanotechnology International Symposium(国際学会), 2015 年 12 月 07 日~ 2015 年 12 月 09 日, Suita, Osaka (Japan).

伊都 将司・池上 雄大・宮坂 博・宇野 何岸・高木 祐太・森本 正和・入江 正浩, 光異性化反応と 2 波長励起による励起状態の超解像局在化, 第 9 回分子科学討論会, 2015 年 09 月 16 日~ 2015 年 09 月 19 日 東京工業大学 大岡山キャンパス(東京都).

池上 雄大・伊都 将司・宮坂 博・宇野 何岸・高木 祐太・森本 正和・入江 正浩, ジアリアルエテンの光異性化反応を用いた励起状態の超解像局在化, 2015 年光化学討論会 2015 年 09 月 09 日~ 2015 年 09 月 11 日, 大阪市立大学杉本キャンパス(大阪府・大阪)

市).

宮坂 博, 1 光子による 1 分子応答を超える光化学をめざして, 2015 年光化学討論会(招待講演), 2015 年 09 月 09 日~ 2015 年 09 月 11 日, 大阪市立大学杉本キャンパス(大阪府・大阪市).

伊都 将司・池上 雄大・宮坂 博・宇野 何岸・高木 祐太・森本 正和・入江 正浩, 光異性化反応を用いた空間選択的な励起状態生成, 2015 年光化学討論会, 2015 年 09 月 09 日~ 2015 年 09 月 11 日, 大阪市立大学杉本キャンパス(大阪府・大阪市).

Kanako Une, Tetsuro Katayama, Hiroshi Miyasaka, Seiya Kobatake, and Masahiro Irie, Excitation Wavelength Dependence of Photochromic Reactions of Diarylethene Derivatives, 27th International Conference on Photochemistry (ICP 2015)(国際学会), 2015 年 06 月 28 日~ 2015 年 07 月 03 日, ICC JEJU, Jeju Island (Korea).

Hiroshi Miyasaka, Control of Photochromic Reactions by Pulsed Laser Excitation, 27th International Conference on Photochemistry (ICP 2015)(招待講演)(国際学会), 2015 年 06 月 28 日~ 2015 年 07 月 03 日, ICC JEJU, Jeju Island (Korea).

池上雄大・伊都将司・宮坂博・宇野何岸・高木祐太・森本正和・入江正浩, 蛍光スイッチングゲジリアルエテン誘導体を用いた超解像蛍光スポット作製, 日本化学会 第 95 春季年会(2015), 2015 年 03 月 26 日~2015 年 03 月 29 日, 日本大学 理工学部船橋キャンパス/薬学部.

Takahiro Ikegami, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, Kakishi Uno, Yuta Takagi, Masakazu Morimoto, Masahiro Irie, Single-molecule photoswitching of fluorescence of diarylethene derivatives, 2nd KANSAI Nanoscience and Nanotechnology International Symposium, 2014 年 12 月 10 日~2014 年 12 月 11 日, The Congress Convention Center in the center of City of Osaka, Japan.

Takahiro Ikegami, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, Kakishi Uno, Yuta Takagi, Masakazu Morimoto, Masahiro Irie, Fluorescence Switching Properties of Diarylethene Derivatives at the Single-Molecule Level, 8th Asian Photochemistry Conference 2014 (2014APC), 2014 年 11 月 09 日~2014 年 11 月 13 日, Thiruvananthapuram, Kerala, India.

池上 雄大・伊都 将司・宮坂 博・宇野 何岸・高木 祐太・森本 正和・入江 正浩, ジアリアルエテン誘導体を用いた超解像蛍光スポット形成, 2014 年光化学討論会, 2014 年 10 月 11 日~2014 年 10 月 13 日, 北海道大学 札幌キャンパス.

Takahiro Ikegami, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, Kakishi Uno, Yuta Takagi, Masakazu Morimoto, Masahiro Irie, SINGLE-MOLECULE FLUORESCENCE SWITCHING OF DIARYLETHENE DERIVATIVES BY USING ULTRAVIOLET AND VISIBLE LASERS, The XXVth IUPAC Symposium on Photochemistry, 2014 年 07 月 13 日~2014 年 07 月 18 日, Palais des Congrès in Bordeaux, France. Bordeaux, France.

〔図書〕(計 2 件)

伊都将司, 宮坂 博
発光の辞典 (pp.159-165), 朝倉書店, 2015 771.

伊都将司, 宮坂 博
大阪大学光科学センター 編 光科学の世界
第 4 章 4.2,
朝倉書店, 2014, 222.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.laser.chem.es.osaka-u.ac.jp>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

宮坂 博 (MIYASAKA, Hiroshi)
大阪大学・大学院基礎工学研究科・教授
研究者番号 : 40182000