

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：12612

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K18928

研究課題名（和文）超解像蓄光イメージングの実現と分子励起サイエンス

研究課題名（英文）Photoinduced Triplet Depletion for Super-Resolution Afterglow Imaging

研究代表者

平田 修造（Hirata, Shuzo）

電気通信大学・大学院情報理工学研究科・准教授

研究者番号：20552227

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では光の回折限界を超える空間分解能を有する長寿命室温りん光由来のアフターグロー発光を得ることに挑戦した。適切な分子固体マトリックス中に分散された有機色素の長寿命三重項励起子は、色素が吸収しない長波長域の光（三重項デプレッション光）を強く照射することで即座に消滅することが見いだされた。この光誘起三重項消滅はさまざまな有機色素を用いた場合に確認された。励起光に加え、ドーナツ型に空間変調された三重項デプレッション光を同一フォーカスポイントに絞りこむことで、長寿命室温りん光の高解像化が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

通常光刺激による超解像発光は、最低励起一重項状態からの誘導放出を光刺激により行うことで得られている。一方で高輝度アフターグロー発光を形成するりん光の放射源は最低励起三重項状態であり誘導放出が生じない。それゆえ超解像域のアフターグロー像の構築は考えられてこなかった。本研究で光誘起三重項消滅を実証は、超解像域のアフターグロー発光が原理的には可能とするという意味で学術的な意義を含むものである。今後ナノ粒子からの長寿命室温りん光の登場も期待されており、この高解像アフターグロー技術はセキュリティーイメージング能の向上や高コントラストの生体イメージングへの展開が可能であるため社会的意義を含むものである。

研究成果の概要（英文）：Afterglow emission allows imaging independent of autofluorescence under ambient conditions. Although higher resolution afterglow is crucial for increasing quality of the autofluorescence-free emission imaging, increase of excitation intensity to allow brighter afterglow emission induces a decrease of the resolution of afterglow images. Therefore, procedure and mechanism of materials to allow afterglow imaging with more higher-resolution capability is necessary. Here, we report photoinduced triplet depletion and improved resolution of bright afterglow emission using depletion. Triplet excitons accumulated in a solid material by excitation were depleted under irradiation with a depletion beam with a longer wavelength than the absorption wavelength of the material. A higher-resolution afterglow image was observed by simultaneously focusing a donut-shaped depletion beam and an excitation beam.

研究分野：有機材料化学

キーワード：室温りん光 超解像イメージング アフターグロー 蓄光 三重項励起状態 2光子イオン化 STED 光学顕微鏡

1. 研究開始当初の背景

励起光照射停止後に長く残る発光[蓄光(もしくはアフターグロー発光)]を用いると、周囲に蛍光性の不純物が存在した場合においても、励起光照射停止直後の発光像(図 1a)を繰り返し計測することで、自家蛍光に影響されずに対象物の動きを高コントラストで計測することが可能である。しかし、一般的に蓄光の輝度は弱いため、蓄光は大きな対象物を観察する時のみに活用されている状況である(図 1b)。一方で長寿命室温りん光では、励起光照射停止後に発光が残る時間は1秒程度と短いのに対して、従来の蓄光と比較して輝度が高いという特徴を有する(引用文献 1)。そのため、長寿命室温りん光を用いると周囲の蛍光不純物に依存せずに、より高解像な発光イメージングが可能となることが期待されている(図 1b)。また蛍光イメージング技術では、励起光とは異なる波長の光刺激によって生じる誘導放出により一重項励起子を消滅させることで、光の回折限界を超える超解像イメージングが実現されている(図 1b)。しかし長寿命室温りん光では、長寿命室温りん光の起源となる最低三重項励起状態(T_1)からは誘導放出が生じないため、光刺激により三重項励起子を消滅させることは難しいと考えられてきた。それゆえ、光の回折限界を超える空間分解能(図 1b)を有するアフターグローイメージングは未だ報告されていない。

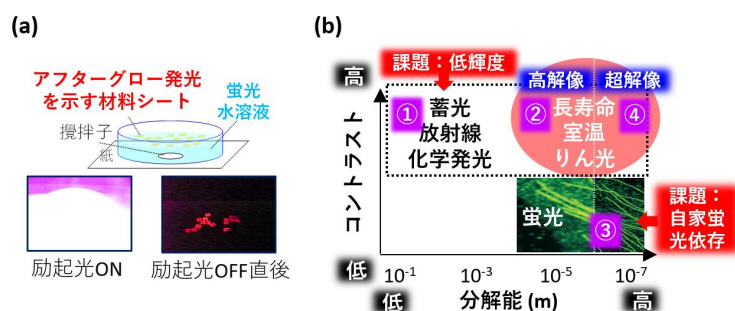


図 1 発光(放射)イメージングにおけるイメージコントラストと分解能を考慮した場合の長寿命室温りん光技術の潜在的な開拓領域。

2. 研究の目的

本研究では回折限界を超える蓄光イメージ像を得る基盤技術を構築することを目的とする。

3. 研究の方法

図 2a に示す長寿命室温りん光を示す色素を低濃度でホスト分子に少量ドープした固体材料を作成した。この固体材料を 2 枚の顕微鏡スライドカバーガラス中にサンドイッチした試料を用意した(図 2b)。なお β -estradiol をホスト分子として用いた場合は、ゲスト色素は非晶状態の β -estradiol 中に分散された状態で存在している。また(S)-H₈-BINAP をホストに用い、(S)-BINAP をゲスト色素として用いた材料では、(S)-H₈-BINAP ホストは結晶状態であり、(S)-BINAP 分子は(S)-H₈-BINAP 結晶格子内において、(S)-H₈-BINAP 分子を一部ランダムに置き換えた形で配置されていることがこれまでの研究で確認されている(引用文献 2)。

これら試料に 360 nm の励起光を照射し、その励起光照射停止直後にゲストが吸収しない長波長側の光[三重項デプレッション(TD)光]を励起箇所瞬間的に照射した。この行程中における試料からの長寿命室温りん光の様子を観察した。

また試料を図 2b の顕微鏡にセットした。360 nm の励起光を 100 倍の対物レンズを通して絞って試料に照射した。また 445 nm の TD 光を空間変調素子を通して、強度プロファイルがガウス分布からドーナツ型分布へと変調

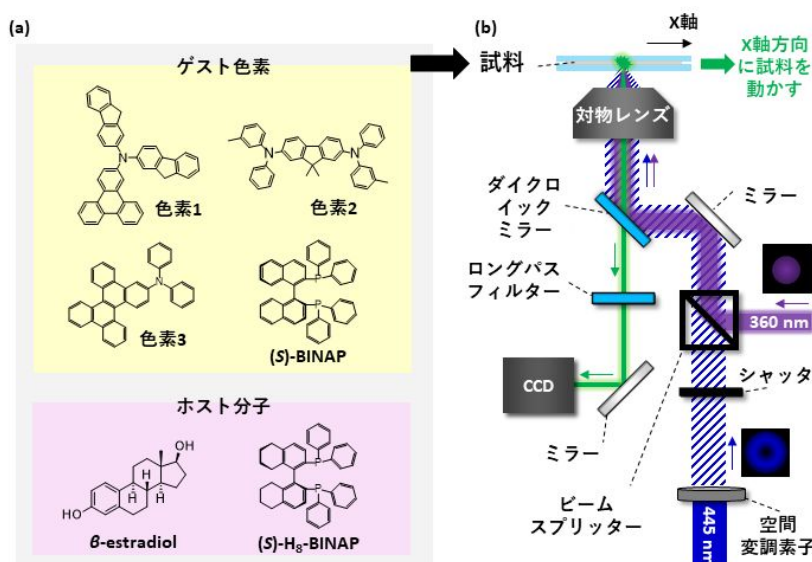


図 2 用いた材料(a)および設計した顕微鏡の概略図(b)

し、その後 100 倍の対物レンズを通して、360 nm と同じフォーカススポットに照射した。この状態で試料を X 軸方向にスライドさせた時の発光の様子を CCD により観察した。

4. 研究成果

4 - (1). 光誘起三重項消滅挙動の発見

色素 2 を 0.1 wt% の濃度で非晶の β -estradiol 中にドーブした薄膜からは、360 nm の弱励起光を照射して停止した直後に緑色の長寿命室温りん光が確認される (図 3a (i))。その長寿命室温りん光が放射されている間に 445 nm の TD 光を強く瞬間的に照射すると (図 3a (ii))、長寿命室温りん光が消去されることが見いだされた (図 3a (iii))。再度 360 nm の光を全体に照射して停止した時には、長寿命室温りん光が全体から確認された (図 3a (iv))。この過程は 10 回以上同様に繰り返されることが確認された。

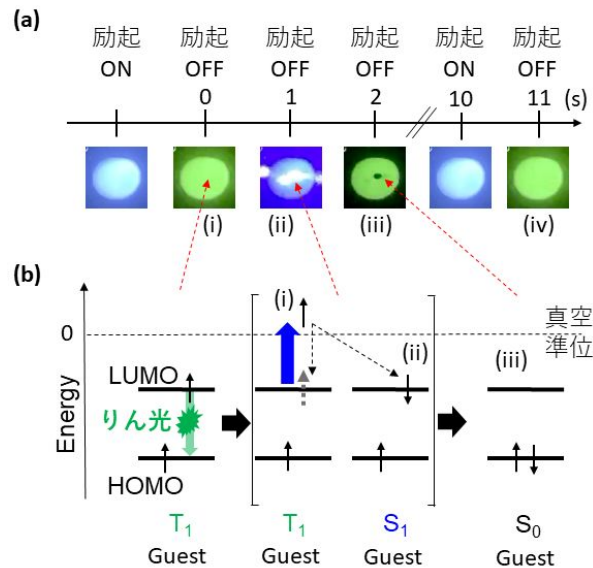


図3 色素 2 が 0.1 wt% の濃度で分散された非晶 β -estradiol 膜に 360 nm の励起光や強度の強い 445 nm の TD 光を照射した時の発光の変化の様子

長寿命室温りん光が放射されている間に 445 nm の強い TD 光が照射されると、最低空起動 (LUMO) に存在する電子が真空準位に一度到達して、瞬間的に電荷分離状態となる (図 3b (i))。その後多くの電子が再びゲスト色素の LUMO に戻る際に、最低一重項励起状態 (S₁) が形成される (図 3b (ii))。基底状態 (S₀) に高速で戻る (図 3b (iii))。一部は T₁ の形成に寄与するが、再び同様の過程が繰り返され S₀ が形成される。この図 3b の三重項消滅メカニズムが支配的に働いていることは、科学技術推進機構の創発的研究の生体内の高解像蓄光イメージング技術の創生の中で、光電子分光、TD 光照射後の熱刺激電流計測を併用した実験を行うことで確認されている。

この図 3 の原理を用いると、励起光の 1 つを回折限界近傍にまで絞りと、そこに空間変調したドーナツ空間変調ビームを TD 光として同一焦点に照射した時 (図 4)、励起により形成された三重項励起子の周囲のみが効率よく S₀ へ戻されることが期待される (図 4 (i))。それゆえ、光の回折限界を超える空間分解能の長寿命三重項励起が可能となり、適切な発光検出系を用いることで回折限界を超える長寿命室温りん光像の形成が期待される。

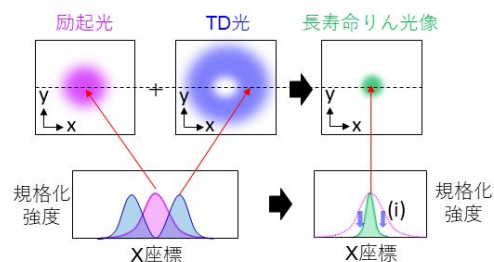


図4 図3の結果から長寿命三重項励起子の空間分解能向上に関して期待される効果。

4 - (2). 光誘起三重項消滅メカニズムの一般性に関する検証

図 3 の挙動の一般性を確認するために、図 2a 中のそれぞれゲスト分子とホスト分子を組み合わせさせた固体に対して、図 3a と同様のデモンストレーションを行った。非晶 β -estradiol 中では、異なる長寿命室温りん光色を示すさまざまなゲスト色素においても、強い TD 光による三重項消滅挙動が確認された (図 5a)。また、(S)-BINAP をゲスト色素が (S)-H₈-BINAP ホスト結晶にドーブされた結晶薄膜においても、強い TD 光による三重項消滅挙動が確認された (図 5b)。TD 光の波長に関しては、LUMO と真空準位のエネルギー差以上に相当する波長を用いた場合に、顕著に三重項消滅が生じることが確認されている。(S)-BINAP ゲストが (S)-H₈-BINAP ホストに分散された結晶は水へ溶解性しないため、その数 100 nm のサイズのナノ粒子からは、水溶液中で回折限界に迫る分解能の長寿命室温りん光像が確認されている。

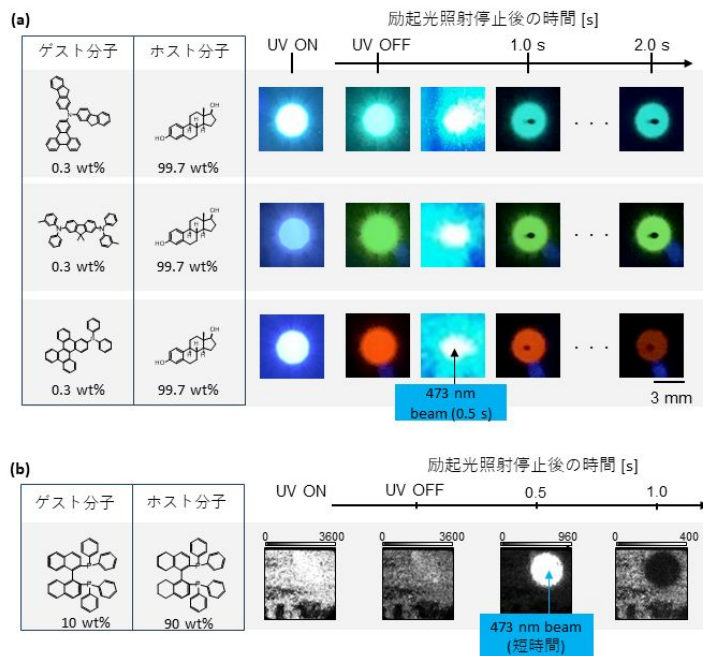


図5 さまざまなゲスト分子とホスト分子の組み合わせにおける高強度 TD 光を用いた場合の長寿命室温りん光の消滅の様子. (a) ホストに β -estradiol ホストを用いた場合の非晶膜における挙動. (b) ホストに(S)-H₈-BINAP 分子をゲストに(S)-BINAP 分子を用いた結晶膜における挙動.

4 - (3). 高解像顕微鏡下でのアフターグロー像の高解像化

図 2b の顕微鏡を用いて色素 2 が 3 wt% の濃度で分散された β -estradiol 薄膜試料からのアフターグローの発光イメージを取得した様子を示す (図 6). このデモでは 360 nm の励起光のみを照射しながら試料を X 軸上に動かした際の発光挙動と、360 nm の励起光と 445 nm の空間変調 TD 光を同時に照射しながら試料を X 軸上に動かした際の発光挙動が計測された。445 nm の TD 光を照射しない場合は、長寿命室温りん光のアフターグローが確認されたが (図 6a (i)), 445 nm の TD 光を照射した場合はより高解像なアフターグロー像が確認された (図 6b (i)). 励起光照射のみの場合の長寿命室温りん光の強度プロファイルの半値幅 (FWHM) が $1.92 \mu\text{m}$ であるのに対して (図 6a (ii)), 445 nm の TD 光を協働的に照射した場合は、FWHM が $1.44 \mu\text{m}$ まで細くなっていることが確認された (図 6b (ii)). 励起によって形成された三重項励起子のテール部分のみが、445 nm のドーナツ型空間変調 TD 光によって消去されたことが高解像顕微鏡像の中で確認された。

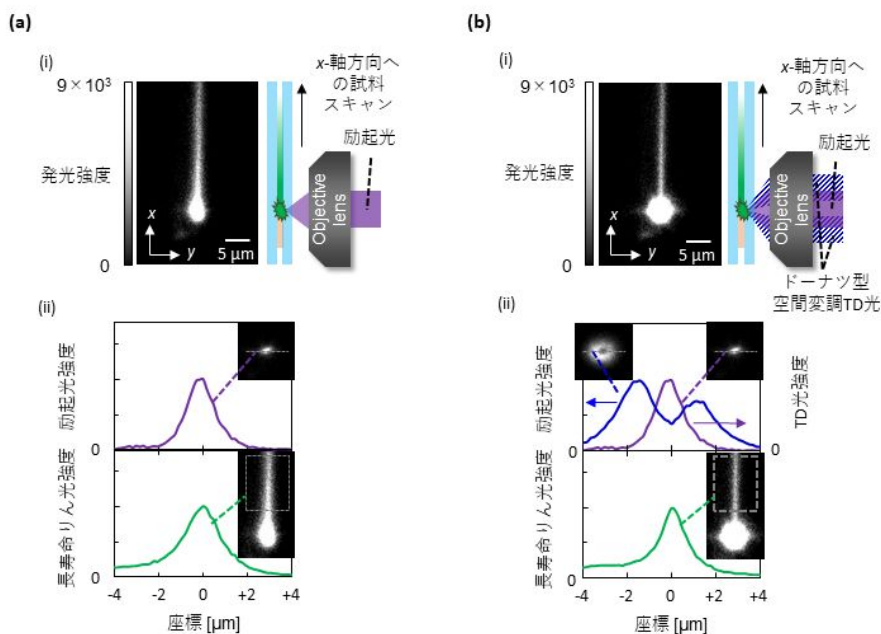


図 6 光励起と空間変調 TD 光の協働フォーカスによる長寿命室温りん光の高解像化(i)および長寿命室温りん光ラインの断面光強度プロファイル(ii). 試料は色素 2 を 3 wt% の濃度で非晶 β -estradiol に分散させた薄膜が用いられた. (a) 360 nm の励起光のみが照射された場合. (b) 360 nm の励起光と 445 nm の TD 光を同時に照射した場合.

以上から新規の光誘起三重項消滅過程を見出し、その原理を活用することで長寿命室温りん光像の高解像化が確認された。現在の光検出システムは2次元検出器を用いたものであるが、今後実際の超解像アフターグロー像の獲得に関しては、光検出システムにピンホールを、試料ステージにピエゾシステムを用いた共焦点検出システムに顕微鏡を拡張する必要があるが、本研究によりその基本コンセプトが構築された。また、水溶液中で高解像の長寿命室温光像が確認されるような数 100 ナノ nm 域の粒子が確認されてきているため、そのような粒子を用いた超解像アフターグローイメージングのデモンストレーションが重要になってくると考えられる。

(引用文献)

1. I. Bhattacharjee, S. Hirata, *Adv. Mater.* **2020**, 32, 2001348.
2. T. Kusama, S. Hirata, *Front. Chem.* **2021**, 7, 788577.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kikuya Hayashi, Keiki Fukumoto, Shuzo Hirata*	4. 巻 5
2. 論文標題 Photoinduced Triplet Depletion Allowing Higher-Resolution Afterglow	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Materials Letters	6. 最初と最後の頁 1649-1655
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsmaterialslett.3c00263	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Bahadur Sk, Shuzo Hirata*	4. 巻 59
2. 論文標題 Forster Resonance Energy Transfer Involving the Triplet State	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 6643-6659
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D3CC00748K	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shuzo Hirata*, Takuya Kamatsuki	4. 巻 127
2. 論文標題 Role of Carbonyl Distortions Facilitating Persistent Room-Temperature Phosphorescence	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry C	6. 最初と最後の頁 3861-3871
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.2c08691	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Bahadur Sk, Rana Tsuru, Kikuya Hayashi, Shuzo Hirata*	4. 巻 33
2. 論文標題 Selective Triplet-Singlet Forster-Resonance Energy Transfer for Bright Red Afterglow Emission	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Advanced Functional Materials	6. 最初と最後の頁 2211604
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adfm.202211604	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kei Fukasawa, Yuma Sugawara, Rana Tsuru, Takashi Yamashita, Shuzo Hirata*	4. 巻 33
2. 論文標題 Enhanced Red Persistent Room-Temperature Phosphorescence Induced by Orthogonal Structure Disruption during Electronic Relaxation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 7788-7796
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcllett.2c01878	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shuzo Hirata*, Sebastian Reineke*, Abhijit Patra*, Wan Zhang Yuan*	4. 巻 10
2. 論文標題 Editorial: Metal-Free Room-Temperature Phosphorescence	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Chemistry	6. 最初と最後の頁 1025674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fchem.2022.1025674	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kikuya Hayashi, Kei Fukasawa, Takashi Yamashita, Shuzo Hirata*	4. 巻 34
2. 論文標題 A Rational Key of Triplet Afterglow Sensitizer Allowing Bright Long-Wavelength Afterglow Room-Temperature Emission	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry of Materials	6. 最初と最後の頁 1627-1637
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.chemmater.1c03688	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shuzo Hirata*	4. 巻 9
2. 論文標題 Molecular Physics of Persistent Room-Temperature Phosphorescence and Long-Lived Triplet Excitons	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Applied Physics Reivews	6. 最初と最後の頁 11304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0066613	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomoya Kusama, Shuzo Hirata*	4. 巻 9
2. 論文標題 Thermo-Reversible Persistent Phosphorescence Modulation Reveals the Large Contribution Made by Rigidity to the Suppression of Endothermic Intermolecular Triplet Quenching	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Chemistry	6. 最初と最後の頁 788577
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fchem.2021.788577	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Indranil Bhattacharjee, Kikuya Hayashi, Shuzo Hirata*	4. 巻 1
2. 論文標題 Key of Suppressed Triplet Nonradiative Transition-Dependent Chemical Backbone for Spatial Self-Tunable Afterglow	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JACS Au	6. 最初と最後の頁 945-954
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacsau.1c00132	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 釜付 卓弥, 平田 修造
2. 発表標題 絶縁高分子中における有機分子の三重項失活挙動の考察
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 林 希久也, 福本 恵紀, 平田 修造
2. 発表標題 長寿命室温りん光の高解像化を可能とする光誘起三重項消滅機構の研究
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Bahadur Sk, Shuzo Hirata
2. 発表標題 Excited state science of N-fused ring allowing selective and efficient triplet-singlet resonance energy transfer for bright red afterglow emission
3. 学会等名 Annual Meeting on Photochemistry 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平田修造
2. 発表標題 計算科学を活用した戦略的長波長長寿命室温りん光材料の開発
3. 学会等名 第71回高分子討論会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 草間 智也、平田 修造
2. 発表標題 分子固体ホストの相状態の違いを利用した分子間熱活性三重項消光因子の考察
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kikuya Hayashi, Kei Fukasawa, Takashi Yamashita, Shuzo Hirata
2. 発表標題 Key factor facilitating triplet-singlet resonance energy transfer for efficient red afterglow emission
3. 学会等名 Web Annual Meeting on Photochemistry 2021
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 平田修造	4. 発行年 2021年
2. 出版社 化学工業社	5. 総ページ数 6
3. 書名 化学工業	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------