

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K13625

研究課題名(和文)励起状態分子のナノスケール局在化法の開拓

研究課題名(英文)Development of localization method of excited states in nanometer-sized areas

研究代表者

伊都 将司(Ito, Syoji)

大阪大学・基礎工学研究科・准教授

研究者番号：10372632

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：光によって2つの異性体間を可逆的にスイッチング可能な分子系を対象とし、片方の異性体の励起状態をナノ空間に局在化させる方法論の開拓を目指した。試料には閉環体で強い蛍光を発し、開環体で蛍光を発さないジアリールエテン(DE)誘導体を主として用い、ナノ局在化の評価のために、DE誘導体のナノ粒子を調製した。UV及び可視のCWレーザー光をそれぞれ閉環反応、開環反応誘起に用いた。基板上的単一DEナノ粒子に対して、UV及び可視光の強度と空間分布を種々検討し、超解像局在化の最適条件を探索した。その結果、45 nm程度の領域に励起状態が局在化でき、提案したコンセプトに基づく励起状態の超解像局在化が実証できた。

研究成果の概要(英文)：We aimed to develop a method to localize the excited state of molecules in very tiny areas. For this purpose, we utilized the photo-isomerization of a diarylethene (DE) derivative. To evaluate the localization of only the closed form of a DE derivative with a high sensitivity, we used fluorescent DEs that show strong fluorescence only in their closed forms. Nanoparticles of the fluorescent DE were prepared for evaluation of nanoscale localization. UV and visible CW laser light were used for ring-closure and ring-opening reactions, respectively. We investigated the intensity and spatial distribution of UV and visible light variously on a single DE nanoparticle on a substrate and searched for the optimum condition of super-resolution localization. As a result, the excited state can be localized in the region of about 45 nm, and super-resolution localization of the excited state based on the proposed concept can be demonstrated.

研究分野：ナノ光化学

キーワード：超解像顕微鏡法 光異性化反応

1. 研究開始当初の背景

分子の光励起状態から進行する種々の反応は、一般に熱的には誘起できない光励起分子特有の反応であり、そのメカニズム・ダイナミクスに関して理論・実験の両面から多くの知見が蓄積され、光化学と呼ばれる学問分野として体系化されてきた。特に励起エネルギー移動や光誘起電子移動は、光合成反応の中心的なプロセスとして、また有機太陽電池などの光エネルギー変換においても、光電変換(光エネルギー変換)効率を決定する重要なプロセスの一つであるとして精力的に研究が展開されてきた。

また、光化学反応は光照射領域のみで起こるため、光を特定の領域に集光することで空間選択的に反応を誘起できる。これは熱反応にはない特徴であり、フォトリソグラフィ等の微細加工などに広く実用化されている。しかしながら、光の回折限界のため集光サイズはせいぜい波長の半分程度に限定され、光エネルギーを種々の化学反応に変換する光機能性分子の立場からみれば、光照射領域のサイズは、分子のサイズに比べると圧倒的に大きい。このことは、たとえ単一分子で動作する高機能光応答分子が合成されたとしても、それらを一個一個、独立に励起し機能を発現させることは現状では非常に困難であることを意味する。即ち、光で単一分子や少数の分子集団を操るには新たな光分子制御技術が必要である。

これまで、回折限界を超える微小サイズで励起状態を局所生成する手法として、多光子吸収による方法や、近接場光を用いる方法、誘導放出を用いて励起状態を強制的に失活させる方法(Stimulated Emission Depletion: STED, [Opt. Lett., 1994, 19, p780])などが提案されているが、未だ単一分子レベルの空間精度で分子系の電子状態を光制御するには至っていない。

分子1個にアクセスする手法としては、走査型プローブ顕微鏡(SPM)が一般的で、光検出に比べ分解能は圧倒的に高い。一方、光によるアプローチでは、超高時間分解能での電子状態変調(励起や誘導放出による励起状態のダンプ等)が可能で、単一分子の分光学的知見も取得可能であり、また透明媒体内部の分子にアクセス可能であるなどSPMにはない長所がある。

2. 研究の目的

本研究では、上に述べたような、光による分子系へのアクセス及び分光分析手法としての優位性を保ちつつ、光応答分子の励起状態を、光の回折限界を超えたナノメートルサイズの領域に生成・消滅させる新しい光分子制御技術を開拓し、超解像分子イメージング、励起状態のナノ空間マニピュレーション、光化学ナノプロセッシング等への展開を目指す。

そのために、分子内で光異性を起こす分子系を用い、分子内光化学反応を用いた新たな励起状態局在化法を提案する。

3. 研究の方法

試料の励起と蛍光検出のため、レーザー共焦点顕微鏡を自作した。励起光源として連続発振UVレーザー(波長325 nm)と連続発振可視レーザー(波長488 nmあるいは532 nm)を用いた。開口数の大きな(NA 1.2~1.35)液浸タイプの対物レンズによりUV、可視レーザー光を数百ナノメートルまで集光し、かつ2つのスポットの焦平面上での空間的重なりを調整可能な共焦点顕微鏡を構築した。試料からの蛍光はアバランシェフォトダイオードで検出するシステムとし、単一光子レベルの微弱蛍光も検出可能なシステムとした。ステージには位置決め精度が1 nm程度のピエゾステージを用い、10 nmの発光スポットサイズを十分評価可能な試料走査系とした。単一量子ドットの発光をUV及び可視光を励起光としてそれぞれイメージングし、二つのビームが高い空間精度(<10 nm)で重ね合わせられることを確認した。

光異性を示す分子として、これまでに励起状態ダイナミクス計測や多光子環開閉反応実験を行った経験を有するジアリールエテン(DE)誘導体を用いた。励起状態の局在化サイズを共焦点レーザー顕微鏡で検出・評価するために、種々のDEのうち、閉環体で強い蛍光を発生し、開環体で蛍光を発生しない蛍光性DE誘導体を選択した。上記の共焦点光学顕微鏡を用い、蛍光性DE誘導体を添加した高分子薄膜に蛍光スイッチON用のUV光と蛍光励起用の可視光を集光照射し、UV及び可視光強度を最適化し、それらが同時照射される場合のみDE誘導体が蛍光を発生する条件を決定した。その後、回折限界スポットまで集光したUVレーザーと可視レーザー光の集光スポットの空間的重なりを変化させ、それに伴う蛍光スポットサイズの変化を検出し、回折限界を超えた超解像発光スポットが実現できるかを確認する作業を行った。

4. 研究成果

上記の自作レーザー共焦点顕微鏡を用い、試料としては、励起状態の生成を蛍光発光でモニターするために、閉環体で強い蛍光を発生し、開環体で蛍光を発生しない蛍光性DE誘導体を主として用いた。

UV及び可視レーザー光のスポットサイズを1マイクロメートル程度のガウス型に調整し、2つのレーザースポットを同軸に重なるような光学配置で蛍光性DEを含むアモルファス膜に照射したところ、ある光強度条件に於いては、DEの明るい蛍光が確認でき、一方、それより外れた光照射条件では、蛍光は微弱あるいはほぼ観測されなかった。これは

2つのレーザー光の照射条件を制御することで、DE閉環体の励起状態を選択的に生成可能であることを示し、本研究で提案するアプローチの妥当性を実験的に指示する結果が得られたことを示す。

2つのレーザースポット中心の相対位置を変化させ、2つのレーザー光が空間的に重なる部分の面積を縮小させたところ、蛍光スポットサイズも縮小した。この結果から、2つのレーザー光の空間的重なりを制御することでDE閉環体の励起状態を局在化させることが可能であることが確認できた。

次に、超解像局在化の実証実験のために、DE誘導体のナノ結晶、ナノ粒子を再沈法などによって調製した。ガラス基板上に希薄分散させた単一DEナノ粒子を用いて超解像局在化の評価を行った。このとき、超解像局在化の評価にはより小さなナノ粒子が望ましいが、一方余りに分子数が少ないと光褪色の影響を受けやすくなり、測定が困難になるため、それらのバランスを考慮した。試料調製において種々の条件を検討し、平均粒径20 nm程度の粒子を作成することに成功し、今回はこの粒径20 nm程度の粒子を実験に用いた。

回折限界スポットまで集光したガウス型のUVレーザーと、ガウス型とドーナツ型の可視(緑色)レーザー光の集光スポットの空間的重なりや強度を種々変化させ、試料であるナノ粒子のレーザー共焦点イメージを取得した。各光照射条件における蛍光スポットサイズをレーザー共焦点イメージから見積り、励起状態の局在化の度合いを評価した。最適条件下では、最高で半値幅45 nm程度の領域に励起状態を局在化可能であることが示され、本コンセプトによってサブ50 nmの精度で励起状態の超解像局在化が実現できることが実験的に示された。

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 11 件)

- ① Kenji Setoura, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, "Stationary Bubble Formation and Marangoni Convection Induced by CW Laser Heating of a Single Gold Nanoparticle", *Nanoscale*, 9, 719-730 (2017). 査読有
DOI: 10.1039/C6NR07990C
- ② Daichi Kitagawa, Tatsumoto Nakahama, Katsuya Mutoh, Yoichi Kobayashi, Jiro Abe, Hikaru Sotome, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, Seiya Kobatake, "Polymorphs of a diarylethene that exhibits strong emission and direct visualization of polymorphic phase transition process

by fluorescence color change" *Dyes and Pigments*, 139, 233-238 (2017). 査読有

DOI: 10.1016/j.dyepig.2016.12.006

- ③ Yuhei Arai, Syoji Ito, Hajime Fujita, Yusuke Yoneda, Takahiro Kaji, Satoshi Takei, Ryota Kashihara, Masakazu Morimoto, Masahiro Irie, Hiroshi Miyasaka "One-colour control of activation, excitation and deactivation of a fluorescent diarylethene derivative in super-resolution microscopy", *Chemical Communications*, 53, 4066-4069 (2017). 査読有
DOI: 10.1039/C6CC10073B
- ④ Yuta Takagi, Masakazu Morimoto, Ryota Kashihara, Sae Fujinami, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, Masahiro Irie "Turn-on mode fluorescent diarylethenes: Control of the cycloreversion quantum yield", *Tetrahedron*, (掲載確定). 査読有
DOI: 10.1016/j.tet.2017.03.040
- ⑤ Tatsumoto Nakahama, Daichi Kitagawa, Hikaru Sotome, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka Seiya Kobatake "Fluorescence On/Off Switching in Polymers Bearing Diarylethene and Fluorene in Their Side Chains", *Journal of Physical Chemistry C*, 121, 6272-6281 (2017). 査読有
DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b03593
- ⑥ 伊都將司, 平塚研吾, 多賀悠平, 竹井 敏, 北川大地, 小島誠也, 宮坂 博: "3次元単一分子追跡法による高分子薄膜中ゲスト分子の拡散挙動・空間分布計測", *分光研究*, Vol. 65, pp. 255-257 (2016). 査読なし
- ⑦ 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*, 126, 186-193 (2016). 査読有
DOI: 10.1016/j.dyepig.2015.11.023
- ⑧ 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.*, 138, 5930-5938 (2016). 査読有
DOI: 10.1021/jacs.6b01470
- ⑨ Syoji Ito, Yuhei Taga, Kengo Hiratsuka, Satoshi Takei, Daichi

- Kitagawa, Seiya Kobatake, Hiroshi Miyasaka, Restricted diffusion of guest molecules in polymer thin films on solid substrates as revealed by three-dimensional single-molecule tracking, *Chem. Commun.*, 51, 13756-13759 (2015). 査読有
10.1039/C5CC03663A
- ⑩ Fuyuki Ito, Hirofumi Sato, Yuri Ugachi, Narumi Oka, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, Properties and Evolution of Emission in Molecular Aggregates of a Perylene Ammonium Derivative in Polymer Matrices, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 14, 1896-1902 (2015). 査読有
DOI: 10.1039/C5PP00196J
- ⑪ Takaki Sumi, Tomohiro Kaburagi, Masakazu Morimoto, Kanako Une, Hikaru Sotome, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, Masahiro Irie, A Fluorescent Photochromic Diarylethene that Turns on with Visible Light, *Org. Letters*, 17, 4802-4805 (2015). 査読有
DOI: 10.1021/acs.orglett.5b02361
- [学会発表] (計 19 件)
- ① 中村 真也, 村松 正康, 伊都 将司, 宮坂 博, 誘導放出を用いたピコ秒-サブマイクロメートル時空間分解発光寿命測定法の開発, 日本化学会第 97 春季年会, 2017 年 03 月 16 日~2017 年 03 月 19 日, 慶應義塾大学日吉キャンパス, 神奈川県横浜市.
- ② 岡本 峻介, 村松 正康, 伊都 将司, 宮坂 博, 誘導放出を用いたピコ秒-サブマイクロメートル時空間分解発光寿命測定法の開発, 日本化学会第 97 春季年会, 2017 年 03 月 16 日~2017 年 03 月 19 日, 慶應義塾大学日吉キャンパス, 神奈川県横浜市.
- ③ Kengo Hiratsuka, Satoshi Takei, Daichi Kitagawa, Seiya Kobatake, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, Microscopic properties of polymer films as revealed by three-dimensional single-molecule tracking, 9th Asian Photochemistry Conference(国際学会), 2016 年 12 月 04 日~2016 年 12 月 08 日, Nanyang Technological University, Singapore(Singapore).
- ④ Kengo Hiratsuka, Yuhei Taga, Syoji Ito, Hiroshi Miyasaka, Satoshi Takei, Daichi Kitagawa, Seiya Kobatake, Microscopic property of polymer thin films as revealed by three-dimensional single-molecule localization microscopy, 12th International Conference on Nano-Molecular Electronics(国際学会), 2016 年 12 月 12 日~2016 年 12 月 13 日, ナレッジキャピタル コングレコンベンションセンター, 大阪府大阪市.
- ⑤ 平塚 研吾, 多賀 悠平, 竹井 敏, 北川 大地, 小島 誠也, 伊都 将司, 宮坂 博, 高分子薄膜の膜厚方向の物性変化:三次元単一分子追跡法による観察, 第 10 回分子科学討論会 2016 年 09 月 13 日~2016 年 09 月 15 日, 神戸ファッションマート, 兵庫県神戸市.
- ⑥ 伊都 将司, 平塚 研吾, 竹井 敏, 北川 大地, 小島 誠也, 宮坂 博, 3 次元超解像イメージング法を用いた高分子-固体基板界面近傍におけるゲスト分子のナノスケール空間分布評価, 第 10 回分子科学討論会 2016 年 09 月 13 日~2016 年 09 月 15 日, 神戸ファッションマート, 兵庫県神戸市.
- ⑦ S. Ito, Diffusive Motion and Local Distribution of Guest Molecules in Polymer Thin Films on Solid Substrates as Revealed with Three Dimensional Single-Molecule Imaging, International Conference on Materials for the Millennium (MatCon2016)(招待講演)(国際学会), 2016 年 01 月 14 日~2016 年 01 月 16 日, Kochi, India.
- ⑧ S. Ito, Y. Taga, K. Hiratsuka, D. Kitagawa, S. Kobatake, H. Miyasaka, Spatial Distribution of Guest Molecules in Polymer Thin Films on Solid Substrates as Evaluated by Using Three-Dimensional Single-Molecule Localization Microscopy, Trombay Symposium on Radiation & Photochemistry and 6th Asia Pacific Symposium on Radiation Chemistry(招待講演)(国際学会), 2016 年 01 月 05 日~2016 年 01 月 09 日, Mumbai, India.
- ⑨ K. Hiratsuka, Y. Taga, S. Takei, D. Kitagawa, S. Kobatake, S. Ito, H. Miyasaka, 3D Single-molecule Tracking of Various Dye Molecules in Polymer Films, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015(国際学会), 2015 年 12 月 15 日~2015 年 12 月 20 日, Honolulu(USA).
- ⑩ S. Ito, T. Ikegami, Y. Arai, H. Miyasaka, K. Uno, Y. Takagi, M. Morimoto, M. Irie, Photo-induced Fluorescence Switching Property of Single Diarylethene Derivatives, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015(国際学会), 2015 年 12 月 15 日~2015 年 12 月 20 日, Honolulu(USA).
- ⑪ T. Ikegami, S. Ito, H. Miyasaka, K. Uno, Y. Takagi, M. Morimoto, M. Irie, Fluorescence Photoswitching of Diarylethene Derivatives: A Single-molecule Study, The International Chemical Congress of

Pacific Basin Societies 2015(国際学会), 2015年12月15日~2015年12月20日, Honolulu(USA).

- ⑫ Y. Arai, S. Takei, S. Ito, H. Miyasaka, K. Uno, Y. Takagi, M. Morimoto, M. Irie, Single-molecule Tracking of Photoswitchable Fluorescent Diarylethene Derivatives in Polymer Thin Films, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015(国際学会), 2015年12月15日~2015年12月20日, Honolulu(USA).
- ⑬ 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, 東京都目黒区.
- ⑭ 平塚研吾・多賀悠平・竹井 敏・北川大地・小嶋誠也・伊都将司・宮坂 博, 高分子薄膜内部におけるゲスト分子の三次元単一分子追跡, 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, 東京都目黒区.
- ⑮ 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, 大阪府大阪市.
- ⑯ 新井悠平・竹井 敏・伊都将司・宮坂 博・宇野何岸・高木祐太・森本正和・入江正浩, 蛍光性ジアリールエテンの単一分子追跡による高分子薄膜の動的マイクロ不均一性評価, 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, 大阪府大阪市.
- ⑰ 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, ジアリー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, 大阪府大阪市.
- ⑱ S. Ito, Y. Taga, K. Hiratsuka, S. Takei, D. Kitagawa, S. Kobatake, H. Miyasaka, 3D Tracking of Single Guest Molecules in Polymer Thin Films toward the Investigation of Complex Dynamics in Micro-heterogeneous Media, 250th American Chemical Society National Meeting(国際学会), 2015年08月16日~2015年08月20日, Boston(USA).
- ⑲ K. Hiratsuka, Y. Taga, S. Takei, D. Kitagawa, S. Kobatake, S. Ito, H. Miyasaka, Three-Dimensional Single-Molecule Tracking of Guest Dye Molecules in Host Polymer Thin Films, 27th International Conference on Photochemistry (ICP2015)(国際学会), 2015年06月28日~2015年07月03日, Jeju

Island, Korea.

[図書] (計 2 件)

- ① 伊都将司・宮坂 博, 「発光の事典」, 朝倉書店, 2015, pp159-165.
- ② 伊都将司, 宮坂 博, 「光科学の世界」, 朝倉書店, 2014, pp165-177.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

<http://www.laser.chem.es.osaka-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊都 将司 (ITO, Syoji)

大阪大学・大学院基礎工学研究科・准教授
研究者番号: 10372632

(2) 連携研究者

森本 正和 (MORIMOTO, Masakazu)

立教大学・理学部・教授

研究者番号: 70447126