

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18935

研究課題名(和文) 固体に挟まれた潤滑油分子の並進運動計測: 単一蛍光分子追跡

研究課題名(英文) Translational Motion of Liquid Lubricants Tracked with Single Fluorophores

研究代表者

大西 洋 (Onishi, Hiroshi)

神戸大学・理学研究科・教授

研究者番号：20213803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：脂質二重膜の研究で開発された単一蛍光分子追跡法を、潤滑油界面の解析に転用した。脂質二重膜の計測では、二重膜に取り込ませた蛍光分子の膜内拡散を光学顕微鏡で追跡する。蛍光分子の数を低くすることによって、個々の蛍光分子像を分離識別し、蛍光分子個々の並進運動を時間分解能30 msの動画として記録することが広く行われてきた。本研究では、潤滑油-ガラス界面に吸着した添加剤層に取り込ませた単一蛍光分子の個数変化と並進運動を蛍光顕微鏡で動画計測した。蛍光分子のガラス表面への吸着脱離と焼尽による個数変化を記述する数理モデルを構築するとともに、焼尽耐性をもつスピロピフルオレン系蛍光分子を有機化学合成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自然がつくりだす不思議は、生物に代表される天然物だけでなく、潤滑油のような人造物にも等しく宿っている。人造物に宿る不思議を追い求めることによって新しいサイエンスを発見することが、本研究の根底をなすコンセプトである。生体物質である脂質二重膜の解析法として発展してきた単一蛍光分子追跡を、潤滑油界面の研究に技術移転することで、天然物研究と人造物研究を隔ててきた垣根を低くすることができる。従来研究が築いた垣根を意識することなく、利用できる技術や材料はなんでも使うことによって、液体-固体界面に宿る新しいサイエンスの発見と、よりよい潤滑油の開発という二兎を追うことが可能になる。

研究成果の概要(英文)：The single fluorescent molecule tracking method, developed in the study of lipid bilayers, has been applied to lubricant oil interfaces. In the measurement of lipid bilayers, the diffusion of fluorescent molecules incorporated into the bilayer is tracked using an optical microscope. By reducing the number density of fluorescent molecules, it has become possible to separate and identify individual fluorescent molecules. In this study, single fluorescent molecules incorporated into modifier layers adsorbed at a lubricant-glass interface were observed using a fluorescence microscope as a time-resolved video with a time resolution of 30 ms. The number of fluorescent molecules as a function of time was interpreted with a mathematical model that included kinetics due to adsorption, desorption, and burnout on the glass surface. Spirofluorene-based fluorescent compounds with burnout resistance were synthesized chemically.

研究分野：界面分子科学

キーワード：分子運動 トライボロジー エネルギー散逸 液体 統計力学 蛍光顕微鏡 油性添加剤 表面界面

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

世界中で現在使われている潤滑油は、蒸気圧の低い炭化水素液体（ポリオレフィンなど）に微量（0.01～0.1%）の極性化合物（長鎖脂肪酸など）を溶解した溶液である。炭化水素液体（機械工学では基油と呼ばれる）に極性化合物（同じく添加剤）を加えると、動摩擦係数が一桁低下するという経験に基づいて実用潤滑油が製造されているが、摩擦低減の分子論的メカニズムは明らかになっていない。

2. 研究の目的

潤滑油の分子運動がランダム化して仕事を熱に転換する現象が摩擦であり、転換比率を表す巨視的物理量が動摩擦係数である。微量の添加剤を加えても潤滑油の粘度は変化しない。それにもかかわらず、動摩擦係数が桁違いに低下するのはなぜか？ 機械工学が提起したこの問いに、分子科学の視点で答えることが本研究の最終目標である。

3. 研究の方法

(1) 研究チームの構成 分子科学と機械工学をつなぐ学際研究を進めるために、大西洋（物理化学）、手老龍吾（生物物理）、平山朋子（機械工学）、松本拓也（有機化学）、天野健一（統計力学）からなる研究チームを編成し、それぞれが指導する大学院生に研究協力者として参画を求めた。

(2) 分子並進運動の計測手法 脂質二重膜の研究で開発された単一蛍光分子追跡法を、潤滑油界面の解析に転用した。脂質二重膜の計測では、二重膜に取り込まれた蛍光分子の膜内拡散を光学顕微鏡で追跡する。蛍光分子の数密度を低くすることによって、個々の蛍光分子像を分離識別し、蛍光分子個々の並進運動を時間分解能 30 ms の動画像として記録することが広く行われてきた（図 1）。研究代表者らは、2018 年から実施した挑戦的研究（18K19058）において、潤滑油-ガラス界面（図 2）に吸着した添加剤層に取り込まれた BODIPY 系単一蛍光分子の並進運動追跡に成功した。2021 年 7 月に開始した本研究では、蛍光分子の吸着脱離と焼尽による個数変化を記述する数理モデルを構築するとともに、焼尽耐性をもつスピロビフルオレン系蛍光分子を有機化学合成した。

4. 研究成果

(1) 吸着した蛍光分子の数密度変化を記述する数理モデル へキサデカン（ $C_{16}H_{34}$ ）にパルミチン酸（ $C_{15}H_{31}COOH$ ）を 0, 0.02, 0.05, 0.10, 0.15 mass% 溶解したモデル潤滑油に、微量の蛍光マーカー分子（BODIPY 530/550）を加えて測定した結果を説明する。ピラニア溶液（過酸化水素と硫酸の混合溶液）で加熱洗浄した親水性ガラス基板とモデル潤滑油との界面に波長 532 nm の励起光を照射して、界面に吸着した蛍光マーカー分子が発する蛍光を、全反射照明が可能な蛍光顕微鏡（図 3）を用いて毎秒 30 画面の撮像速度で動画記録した。

パルミチン酸濃度の異なる 5 種類の潤滑油を用いて測定した動画像から、励起光照射直後に記録した 1 フレーム（ $35 \mu m \times 35 \mu m$ ）を切り出して図 4 上に示す。界面に吸着した単一蛍光分子を、ほぼ均一な大きさの輝点として記録できている。潤滑油中のパルミチン酸濃度を上げるとともに、輝点数が増大したことがわかる。これは、ガラス基板上に形成されたパルミチン酸吸着層に BODIPY 分子が取り込まれることで、蛍光分子が吸着しやすくなったことを示している。

励起光照射を続けることによって輝点は減少した（図 4 下）。輝点減少の原因として、①ガラス表面に一度吸着した蛍光分子が潤滑油中へ脱離する、②ガラス表面に吸着した蛍光分子が焼尽して蛍光を発しなくなる、の二つが想定される。焼尽とは、蛍光分子が励起光を吸収することによって壊れてしまう現象である。

これら二つの過程の寄与を定量的に評価するために、以下のような数理モデルを構築した。潤滑油に溶解している蛍光分子の濃度を $[L]$ として、油中の蛍光分子がガラス表面に吸着する速度 r_1 は、

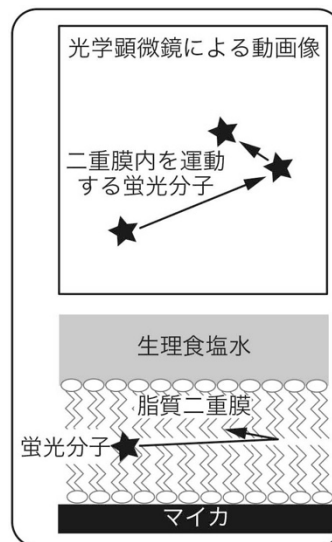


図 1. 脂質二重膜に取り込ませた単一蛍光分子の追跡

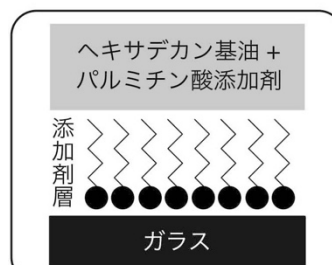


図 2. 固体に接する潤滑油の構造

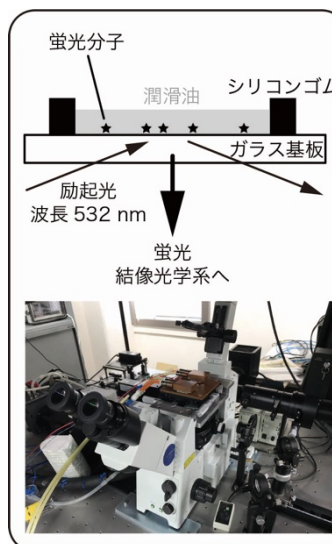


図 3. 溶液セルと顕微鏡装置

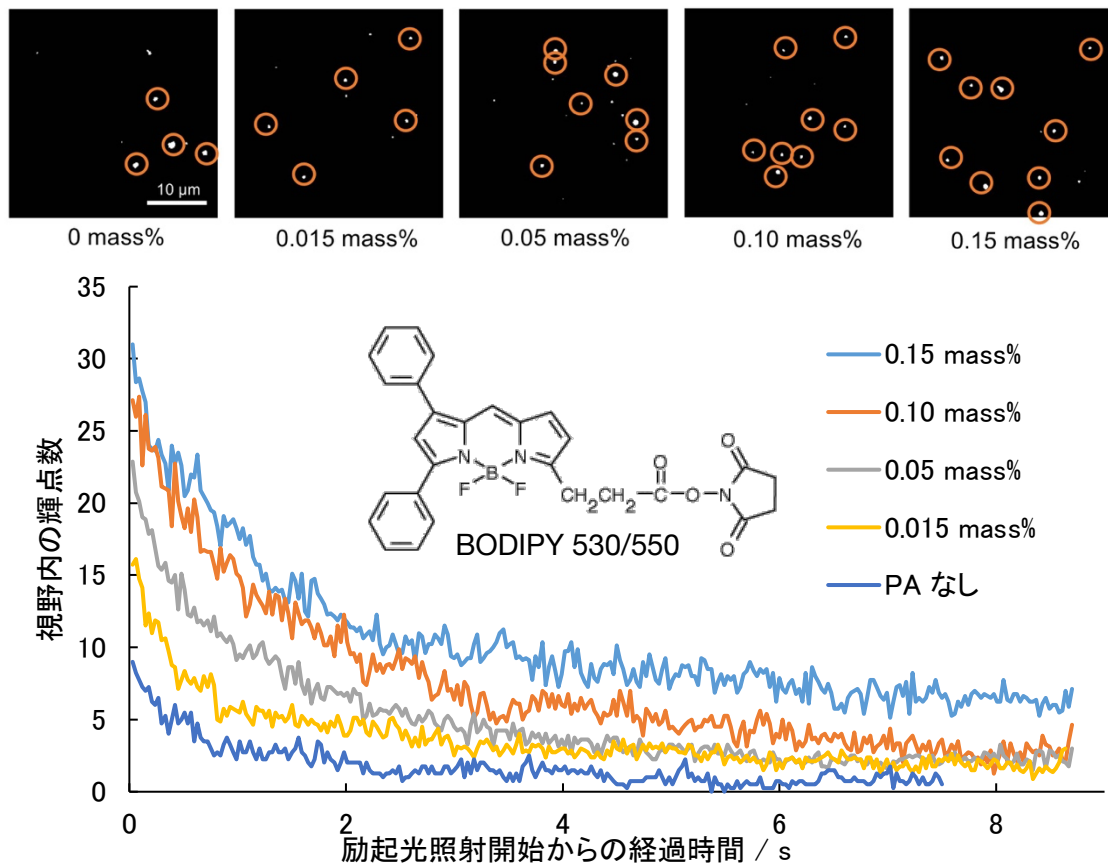


図4. パルミチン酸 (PA) をヘキサデカンに添加したモデル潤滑油中で計測した単一蛍光分子。(上) パルミチン酸濃度の異なる5種類の潤滑油中で計測した励起光照射直後の顕微鏡画像(画像サイズ: $35\ \mu\text{m} \times 35\ \mu\text{m}$)。ガラス表面に補足された蛍光分子をオレンジ色の円でマークした。(下) ガラス表面に補足された蛍光分子数の時間変化。蛍光マーカー分子(BODIPY 530/550)の分子構造を図中に示した。

$r_1 = k_1 [L]$ である。ここで k_1 は吸着速度定数である。一方、吸着した蛍光分子が油中に脱離する速度 r_2 は $k_2 [S]$ に等しい。 $[S]$ は吸着した蛍光分子の数密度であり、 k_2 は脱離の速度定数である。励起光を照射した瞬間の吸着分子密度 $[S]_0$ は、吸着速度と脱離速度がつり合うことで決まっているため、 $k_1 [L] = k_2 [S]_0$ を満たす。

励起光照射によって吸着蛍光分子が焼尽する速度は吸着蛍光分子の数に比例するので、その比例定数(すなわち焼尽の速度定数)を k_3 として、 $k_3 [S]$ である。ゆえに、蛍光を発する吸着分子(すなわち顕微鏡視野内の輝点)が減少する速度は、励起光照射直後には $k_3 [S]_0$ に等しい。励起光照射を続けると、吸着速度と(脱離+焼尽)の速度がつり合うまで、蛍光を発する吸着分子は減少する。十分時間が経って二つの速度がつり合ったときの、蛍光を発する吸着分子の密度 $[S]_\infty$ は、 $k_1 [L] = k_2 [S]_\infty + k_3 [S]_\infty$ を満たす。

図4に示した輝点数の経時変化をこのモデルを用いて解析し、 $k_1 [L]$, k_2 , k_3 を決定した。0から0.15 mass%までのパルミチン酸濃度において、焼尽の速度定数 k_3 が脱離の速度定数 k_2 の4~12倍の大きさであったことから、励起光照射による輝点数減少の原因は主に②であることがわかった。

ここまでの内容を、松下結依(豊橋技術科学大学大学院生)が筆頭著者として口頭発表し、第53回(2022年秋季)応用物理学会で講演奨励賞を受賞した。生体膜の計測評価に使われてきた手法を潤滑油研究に転用する本研究の挑戦性が肯定的に評価されたことは喜ばしい。

(2) 焼尽耐性をもつ蛍光マーカー分子の合成 潤滑油(疎水性有機溶媒)に溶解する蛍光分子としてこれまで使用してきたBODIPY系化合物は、前項に述べたように、焼尽しやすい欠点があった。そこで、焼尽しにくいスピロビフルオレン系化合物を合成して、潤滑油-ガラス界面で単一分子蛍光を観測できることを確認した。さらに、海外協力者であるMischa Bonn(マックスプランク高分子研究所)からグラフェン系蛍光分子の提供を受け、油中で蛍光分子追跡に利用できる蛍光マーカーのライブラリを拡充した(図5)。

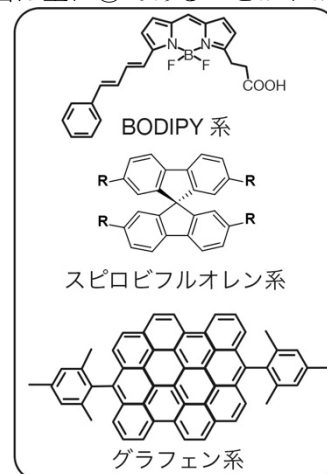


図5. 蛍光マーカー分子

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Amano Ken-ichi, Furukawa Satoshi, Kubo Yuto, Nakamura Yuka, Ishii Rina, Tanase Ayane, Maebayashi Masahiro, Hayashi Tomohiko, Nishi Naoya, Sakka Tetsuo	4. 巻 39
2. 論文標題 Nonadditivities of the Particle Sizes Hidden in Model Pair Potentials and Their Effects on Physical Adsorptions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 12999 ~ 13007
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.3c00968	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 Amano Ken-ichi, Tozawa Kentaro, Tomita Maho, Takagi Riko, Iwayasu Rieko, Nakano Hiroshi, Murata Makoto, Abe Yousuke, Utsunomiya Toru, Sugimura Hiroyuki, Ichii Takashi	4. 巻 13
2. 論文標題 Interaction between the substrate and probe in liquid metal Ga: experimental and theoretical analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 30615 ~ 30624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D3RA04459A	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 Hashimoto Kota, Amano Ken-ichi, Nishi Naoya, Onishi Hiroshi, Sakka Tetsuo	4. 巻 154
2. 論文標題 Comparison of atomic force microscopy force curve and solvation structure studied by integral equation theory	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 164702 ~ 164702
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0046600	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 Minato Taketoshi, Umeda Kenichi, Kobayashi Kei, Araki Yuki, Konishi Hiroaki, Ogumi Zempachi, Abe Takeshi, Onishi Hiroshi, Yamada Hirofumi	4. 巻 60
2. 論文標題 Atomic-level nature of solid/liquid interface for energy conversion revealed by frequency modulation atomic force microscopy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 SE0806 ~ SE0806
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.35848/1347-4065/abffa2	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 Ryo Yanagisawa, Tadashi Ueda, Kei-ichi Nakamoto, Zhengxi Lu, Hiroshi Onishi, Taketoshi Minato	4. 巻 -
2. 論文標題 The interface between ice and alcohols analyzed by atomic force microscopy	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0211501	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 Takumi Otake, Ryuki Kajita, Ikuma Ogasawara, Mitsuhiro Iwaki, Hiroshi Onishi, Ken-ichi Amano	4. 巻 -
2. 論文標題 Theoretical investigation of interaction measurements in liquid systems with viscosity distributions	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Physica A	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Yanagisawa, R.; Ueda, T.; Nakamoto, K.-i.; Lu, Z.; Onishi, H.; Minato, T.
2. 発表標題 Ice Films Characterized by Atomic Force Microscopy under Organic Solvents
3. 学会等名 第18回分子科学討論会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 森口志穂; 大西洋; 小出駿介; 平山朋子; 山下直輝
2. 発表標題 物理吸着系摩擦調整剤の摩擦低減メカニズムに関する検討 (第2報: 吸着層構造のイメージングと摩擦特性との関連性)
3. 学会等名 トライボロジー会議2024春
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 坂田秋津; 森口志穂; 大西洋
2. 発表標題 酸化チタン結晶に吸着した脂肪酸油性剤のナノ力学計測
3. 学会等名 トライボロジー会議2024春
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 松下 結依, 山下 直輝, 平山 朋子, 天野 健一, 松本 拓也, 大西 洋, 手老 龍吾
2. 発表標題 蛍光一分子観察法の固体-有機溶媒界面への応用
3. 学会等名 第54回中部化学関係学協会支部連合秋季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yui Matsushita, Naoki Yamashita, Tomoko Hirayama, Ken-ichi Amano, Takuya Matsumoto, Hiroshi Onishi, Ryugo Tero
2. 発表標題 Adsorption/desorption kinetics at hexadecane/solid interface investigated by fluorescence single molecule observation
3. 学会等名 Annual Meeting of the Japan Society of Vacuum and Surface Science 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 梶田 龍希, 天野 健一
2. 発表標題 モデル粘度分布中における粒子の拡散挙動シミュレーション
3. 学会等名 第74回コロイドおよび界面化学討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 梶田 龍希, 天野 健一
2. 発表標題 基板近傍における蛍光分子の拡散と褪色を考慮したシミュレーション
3. 学会等名 第45回溶液化学シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Onishi, H.
2. 発表標題 Atomic Force Microscopy in Organic Solvents
3. 学会等名 Seminar in Peking University (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Yanagisawa, R.; Ueda, T.; Nakamoto, K.; Onishi, H.; Minato, T.
2. 発表標題 AFM Characterization of Ice Films Immersed in Organic Solvents
3. 学会等名 31st International Colloquium on Scanning Probe Microscopy (ICSPM31) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Sakata, A.; Moriguchi, S.; Onishi, H.
2. 発表標題 AFM Characterization of Lubricant-TiO ₂ (110) Interfaces
3. 学会等名 Annual Meeting of the Japan Society of Vacuum and Surface Science 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yanagisawa, R.; Ueda, T.; Nakamoto, K; Onishi, H.; Minato, T.
2. 発表標題 AFM Characterization of Ice under Organic Solvents
3. 学会等名 Annual Meeting of the Japan Society of Vacuum and Surface Science 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松下結依; 手老龍吾; 山下直輝; 平山朋子; 天野健一; 松本拓也; 大西洋
2. 発表標題 蛍光一分子観察法による金属-有機溶媒界面における分子挙動観察
3. 学会等名 第70回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hirade, M.; Moriguchi, S.; Kogure, A.; Nakajima, H.; Onishi, H.
2. 発表標題 Application of FM-AFM
3. 学会等名 14th International Symposium on Atomic Level Characterizations for New Materials and Devices '22 (ALC '22) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松下結依; 窪田智樹; 松本拓也; 大西洋; 天野健一; 平山朋子; 手老龍吾
2. 発表標題 蛍光一分子観察法の固体-有機溶媒界面における分子挙動観察への応用
3. 学会等名 第83回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 梶田龍希; 天野健一; 松本拓也; 手老龍吾; 平山朋子; 大西洋
2. 発表標題 潤滑油中におけるガラス基板近傍の蛍光一分子観察: 反応速度論による考察
3. 学会等名 第73回コロナおよび界面化学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Matsushita, Y.; Kubota, S.; Matsumoto, T.; Amano, K.; Hirayama, T.; Onishi, H.; Tero, R.
2. 発表標題 Fluorescence Single Molecule Observation Applied to the Interface between Organic Solvent and Solid Substrate
3. 学会等名 The 22nd International Vacuum Congress (IVC-22)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Matsushita, Y.; Kubota, S.; Matsumoto, T.; Amano, K.; Hirayama, T.; Onishi, H.; Tero, R.
2. 発表標題 Fluorescence Single Molecule Observation Applied to the Interface between Organic Solvent and Solid Substrate
3. 学会等名 The 22nd International Vacuum Congress (IVC-22)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 山下 弘巳、吉田 寿雄、田中 庸裕	4. 発行年 2022年
2. 出版社 講談社	5. 総ページ数 304
3. 書名 固体表面キャラクタリゼーション 機能性材料・ナノマテリアルのためのスペクトロスコピー	

〔産業財産権〕

〔その他〕

神戸大学理学研究科化学専攻 大西研究室
<https://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/>
 神戸大学理学研究科化学専攻 大西研究室（英語版）
<https://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-E.html>
 神戸大学理学研究科化学専攻 大西研究室（中国語版）
<https://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-C.html>
 神戸大学理学研究科化学専攻 大西研究室（韓国語版）
<https://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-K.html>
 神戸大学理学研究科化学専攻 大西研究室（タイ語版）
<https://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-T.html>
 神戸大学理学研究科化学専攻大西研究室（日本語版）
<https://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/>
 神戸大学理学研究科化学専攻大西研究室（英語版）
<https://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-E.html>
 分子科学研究所物質分子科学研究領域大西グループ（日本語版）
<https://www.ims.ac.jp/research/group/onishi/>
 分子科学研究所物質分子科学研究領域大西グループ（英語版）
<https://www.ims.ac.jp/en/research/group/onishi/>
 神戸大学理学研究科化学専攻大西研究室（中国語版）
<https://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-C.html>

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
研究分担者	手老 龍吾 (Tero Ryugo) (40390679)	豊橋技術科学大学・工学(系)研究科(研究院)・教授 (13904)	
研究分担者	松本 拓也 (Matsumoto Takuya) (70758078)	神戸大学・工学研究科・講師 (14501)	
研究分担者	天野 健一 (Amano Ken-ichi) (30634191)	名城大学・農学部・准教授 (33919)	
研究分担者	平山 朋子 (Hirayama Tomoko) (00340505)	京都大学・工学研究科・教授 (14301)	

	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
研究協力者	松下 結依 (Matsushita Yui)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	窪田 智樹 (Kubota Satoki)		
研究協力者	梶田 龍希 (Kajita Tatsuki)		
研究協力者	柳澤 瞭 (Yanagisawa Ryo)		
研究協力者	坂田 秋津 (Sakata Akitsu)		
研究協力者	陸 政希 (Lu Zhengxi)		
研究協力者	森口 志穂 (Moriguchi Shiho)		

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
---------	---------

ドイツ	マックスプランク高分子研究所			
中国	Peking University			