

研 究 報 告 書

「光-分子間の力学作用によるナノ化学反応場の創製」

研究期間：平成19年10月～平成23年3月

研究者：伊都 将司

1. 研究のねらい

近年の分子科学における技術革新の一つに、単分子検出法の確立がある。1990年代初頭に、Moerner、Orit、Bashéらにより単分子の分光計測が報告されて以来、単分子計測法は従来の集団測定では観測できない個々の分子の揺らぎに関する知見を与え、系のエルゴード性、スペクトル均一幅・不均一幅等、量子・統計力学の本質的諸問題を実験的に検証可能にした。近年の単一光子計数デバイス及び周辺エレクトロニクスの進歩により、単分子計測も比較的一般的な計測手法となり、現在では、単分子検出はもはやチャレンジングな目標ではなく、分子周囲のミクロスコピックな環境、個々の分子の挙動を観測、理解する上で必要不可欠な技術となった。従って今後は、単に分子一つを「見る」段階から、「如何にしてそれら进行操作するか」を研究する段階にシフトすると考えられる。

分子操作の研究例として、走査型プローブ顕微鏡(SPM)による単分子観察・操作がこれまで報告されている。しかしながら SPM によるマニピュレーションではその対象が基板上の分子に限られ、溶液中でブラウン運動している分子を操作するのは難しい。溶液は化学反応の場として極めて一般的であり、特に溶液中で起こる結晶生成、生体内の化学反応等に代表される複雑で階層的な反応ダイナミクスは、その理解・制御がまだまだ未解決の課題として残っている。溶液中の分子操作が実現すれば、基礎科学的に興味深いだけでなく、溶液中の所望の場所での反応制御等が期待でき多岐に渡る応用展開が期待される。

溶液中での微小物体操作法として、光と分子の力学的相互作用(光放射圧)を用いた光トラッピング(光ピンセット)が有効な手法である。光ピンセットでは被捕捉物体に吸収のない非共鳴波長のレーザー光が用いられ、主な対象は光学顕微鏡で観察が容易なマイクロメートルサイズの微粒子や細胞等に留まっている。しかし申請者等のこれまでの研究により、光放射圧は分子系にも効果的に作用し得ることが分かっており、光化学反応の反応中間体を光放射圧で局所的に閉じ込めることで反応性をナノ空間で制御できる(図1)。また、分子に働く放射圧は分極率に比例すると考えられ、従って特に光共鳴(光吸収)の起こる条件下では、Kramers-Kronig の関係式から予測されるように分子の分極率は共鳴波長近傍で増加するため、非共鳴条件下では無視される程度の弱い力学作用しか働かない系においても光放射圧が並進拡散を有効的に抑制することが期待される。そこで本研究では共焦点レーザー顕微鏡システムを駆使し、共鳴・非共鳴条件下において光放射圧下での分子の挙動を単分子レベルの検出感度で測定することで、分子と光との力学的相互作用の本質的理解を目指すと同時に、特に高分子の重合反応や金属の光還元反応を対象に、光の力で創る反応場によりその反応性を局所的に制御し、新たなプロセッシング法の開拓を目的とする。

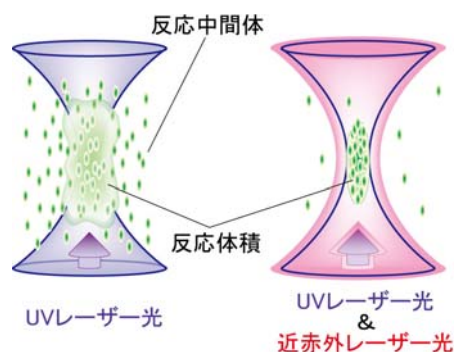


図1 光放射圧で創るナノ光化学反応場

2. 研究成果

2-1. 光放射圧による光重合反応の空間選択性向上とそのメカニズム

図2に、ガラス基板と液状光硬化性樹脂の固液界面において局所光重合反応を放射圧下

で誘起し、その効果を検証した実験結果の一例(走査型電子顕微鏡(SEM)像)を示す。紫外光のみで反応を誘起し硬化させた場合(図1a)に比べ、近赤外レーザー光(波長 1064 nm)の放射圧存在下で光硬化させた場合(図1b)、反応性が向上し、同一 UV 光強度では硬化体積が大きくなっている。また興味深い結果としては、光硬化反応に対する紫外光強度の閾値が放射圧存在下では低下することが明らかとなった。この放射圧の効果を検討すべく、近赤外レーザー光強度を変化させ、硬化物のサイズ、形状を同じく SEM により観察した。その結果、図2の如く、硬化体積(即ち光重合・架橋反応の反応性)は放射圧の大きさに比例して大きくなった。

放射圧による反応場は、上記の如く光誘起ネットワーク形成反応の反応効率を上げるのみならず、反応に高い空間選択性を与える。紫外光により誘起されるラジカル重合・架橋反応では、紫外光集光スポットで生成したラジカル、ポリマーラジカルが周囲に拡散し、集光スポットの周囲でも反応が進行する。紫外光の集光スポットを走査して微小構造を作製するマイクロ光造形の場合、この余剰成長が造形精度の低下をもたらす。図3に照射スポットをガラス基板表面から順に3次元的に走査し、簡単な柱状の構造を造形した結果を示す。紫外光のみでこのような構造を作製した場合、図4cの如く照射位置の周囲でも反応が進行し、所謂余剰成長が起こり設計通りの構造が作製できない。余剰成長の程度は紫外光強度に比例し、供給された紫外光の光子数が多い方がその程度も大きい。一方、放射圧存在下で同様の形状を作製した場合、その効果が極めて明瞭に確認できる(図4b)。余剰成長が劇的に抑制され、ほぼ設計通りの構造が造形可能である。この放射圧により達成される高効率光重合反応は3次元的にも高い空間選択性を有する。図3dの如く、中空部分を含むゲート状の構造を作製した場合、紫外光のみによる構造作製では、条件を種々検討したが1 μm 以下の穴を形成することはできなかったが、放射圧による高効率反応場を用いるとサブ μm の構造が実現できた。

上記の実験系では、放射圧の他にモノマー溶液が近赤外レーザー光を吸収することで発生する熱の効果や、UVレーザー光と近赤外レーザー光の逐次多光子吸収により高位励起状態に遷移した重合開始剤の項間交差、ラジカ

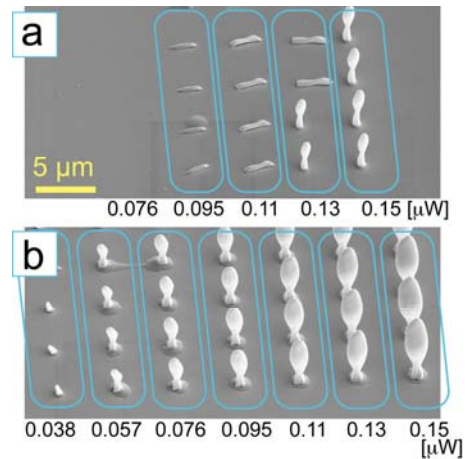


図2 UV 光スポット照射により硬化させたアクリル系光硬化性樹脂の SEM 像。(a)UV のみ照射、(b)放射圧存在下で UV 照射。

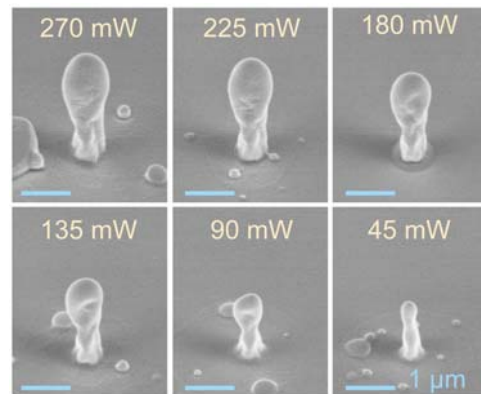


図3 光硬化物形状の近赤外レーザー光強度依存性。放射圧発生用近赤外レーザー光強度は図中に示した。

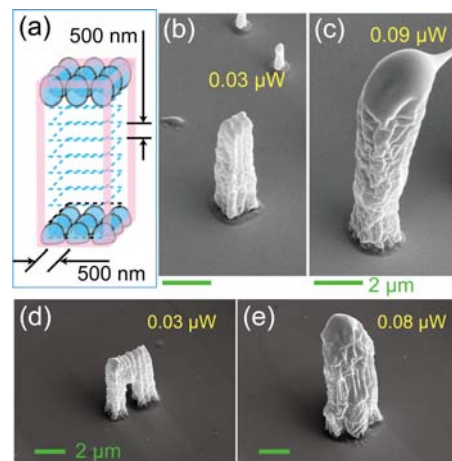


図4 光硬化性樹脂を用いたマイクロ構造の作製。(a)柱状構造(b, c)の設計図。(b, d)放射圧存在下 UV 光照射、(c, e)UV 光のみ照射により重合・架橋反応を誘起。

ル発生効率に変化する可能性などが考えられる。そこでこれらの効果が高効率光重合に与える影響をそれぞれ検討した。まず熱の効果を検討するために、光硬化性モノマー溶液中の放射圧発生用近赤外レーザー光集光位置での局所温度を蛍光相関分光法(2-2 参照)を用いて測定した。その結果、本研究での実験条件では数~10 K程度の温度上昇が起こることを明らかにした。次いで、UV光と近赤外レーザー光の集光位置を数 μm 程度離し図2と同様の実験を行った。一般に溶液中の熱拡散速度は $\mu\text{m}/\mu\text{s}$ 程度と速いため、この光学配置ではUV光の集光位置に熱のみが伝わり、放射圧は作用しない。硬化したポリマーの体積はUVレーザー光のみの場合と比べて小さくなり、近赤外レーザー光強度に対し単調に減少した。つまり温度のみを上昇させた場合は、放射圧を作用させた場合と逆の傾向を示し、高効率光重合を説明しない事が明らかとなった。次いで、逐次多光子過程に関して考察するために、重合開始剤の過渡吸収スペクトルを測定したところ、開始剤の S_1 状態は波長~1 μm の近赤外域に吸収帯がないことが明らかとなり、逐次多光子過程により高位励起状態が生成する可能性も否定された。また本研究で用いたレーザー光強度は、同時光子吸収を誘起するには微弱すぎるため、同時多光子吸収により高位励起状態が生成する可能性も否定された。従っていずれの可能性も本研究で観られた高効率重合反応を説明せず、これらの実験結果から本研究で実現した局所的な高効率光重合は放射圧による効果であると結論した。

2-2. 分子系に作用する非共鳴光放射圧ポテンシャル評価法の開発

上述の興味深い現象は、分子系に対しても放射圧は効率的に作用することを示す。しかしサイズが数 nm~10 nm 前後のナノ粒子や高分子などに作用する放射圧を実験的に、定量的に評価する手法はこれまで存在しなかった。そこで蛍光相関分光法(FCS)とブラウン力学シミュレーションを組み合わせ、分子系に作用する放射圧ポテンシャル深さを実験的に決定可能な方法を開発した。FCS では、共焦点顕微鏡の励起用レーザー光集光スポット(~蛍光の検出領域)を溶液中でブラウン運動する分子が入り出すことで生じる蛍光強度の揺らぎの自己相関関数を解析することで、蛍光検出領域に存在する平均の分子数や分子の並進拡散速度、三重項寿命などを測定する手法である。FCS を用いて近赤外レーザー光の集光位置、即ち光トラッピング点における分子数変化を測定することで放射圧ポテンシャルによりどの程度分子数が増加するかを実験的に決定できる。しかし既存の FCS の解析モデルには放射圧ポテンシャルの効果が考慮されておらず、また放射圧を考慮したモデルを解析的に導出することは困難であるため、計算機シミュレーションを用いてこの問題を解決した。

ブラウン力学法を基に、放射圧ポテンシャル中での分子の拡散と蛍光発光をシミュレートしたところ、光トラッピング点での分子数は放射圧ポテンシャルの深さに対して線形に増加し、またその傾き、即ち単位レーザー光強度あたりの分子数増加率(dN/dI)は、分子の分極率に比例した(図5)。この傾向は実験結果とも一致した。 dN/dI が分子の分極率に対して近似的に線形の関係を示すため(図5b)、実験的に dN/dI を計測することで対象分子に作用する放射圧ポテンシャル深さが求められることを示し、実際に半導体量子ドットや 1 本鎖 DNA 等に作用する放射圧ポテンシャルを見積もることに成功した。

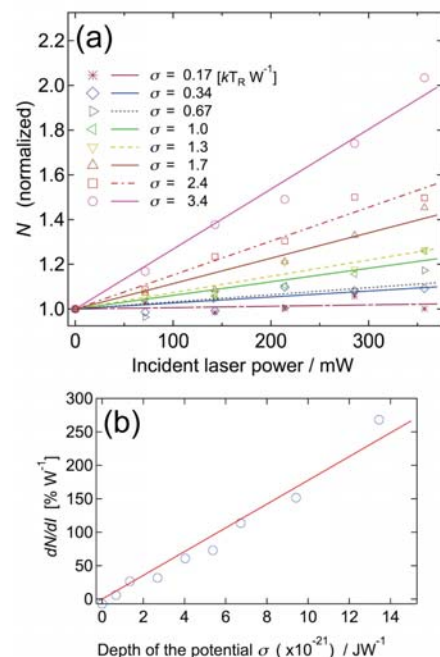


図5 (a)放射圧発生用レーザー光強度と分子数の関係、及び(b) dN/dI のポテンシャル深さ依存性。

3. 今後の展開

これまでの研究で、光放射圧により局所的に光重合の反応性を高めることが可能であることを示し、また蛍光相関分光法などの単分子レベルの蛍光検出法を用い分子系に作用する放射圧ポテンシャルを実験的に評価する手法や、光トラッピング条件下での局所的な温度上昇を評価する手法を開発してきた。これらにより、放射圧が単に微粒子を捕まえたり、動かしたりするだけでなく、新たな反応場として機能することを示し、局所的に化学反応の反応性を制御できる事を示してきた。また、そのメカニズムに関しても種々の知見を得た。しかしながら、反応場が効率的に作用するのは反応の進行と共に分子量が増加する高分子などであり、より分子量の小さい分子系に対しては、放射圧ポテンシャルが熱運動の平均エネルギー(kT)を下回ってしまうため効率的なナノ反応場形成が達成できない。

低分子の局所濃度を効率的に上昇させるにはより強い光放射圧を発生させる必要があり、そのための最も簡単な手法はレーザー光強度を上昇させることであるが、実験装置やサンプルに対して与えるダメージの問題で現状よりさらに光強度のレーザー光を放射圧発生に用いるのは現実的でない。しかし共鳴効果を用いることで、光と分子系との相互作用の強さを増強できると考えられ、より分子量の小さな分子系に対しても効率的に放射圧を作用させられる可能性がある。例えば実励起を伴う光と分子系との相互作用は、Kramers-Kronig の関係式より容易に想像できるように分子の吸収帯近傍の波長で分極率が増大する。また貴金属のナノ構造にカップルさせた光はその電場強度が飛躍的に増強される。本研究の成果により共鳴条件における光と分子との相互作用を実験的に評価できるため、それらの手法を用いることで、より分子量の低い分子に対して効率的に放射圧を作用させ得る条件の探索が可能となると考えられる。

4. 自己評価

本研究では、「光の力」で分子、高分子、ナノ粒子などをナノサイズの領域に閉じ込め、化学反応性を局所的に、大幅に向上させる新しいコンセプトに基づく反応場形成とその応用を主たる目標に設定し研究を展開した。また同時に、ナノサイズの物質と光との力学的相互作用を理解するため、レーザー顕微鏡を用いた高感度蛍光検出法を駆使し分子・ナノ粒子系に作用する放射圧ポテンシャルを実験的、定量的に決定する方法論の開拓にも取り組んだ。一連の研究により、光放射圧により光重合反応の局所的な反応性を高めることが可能であることを実験的に示し、またそれを用いて、光造形のプロセッシング精度を1光子重合としては世界最高レベルまで向上させた。このメカニズムとして放射圧効果の他に、液状の光硬化性樹脂が放射圧発生用近赤外レーザー光を吸収することで集光位置付近で発生する熱の効果、重合開始剤がUV光と近赤外光を逐次多光子吸収することで達成される高位励起状態からのラジカル開裂反応の効率向上等が考えられた。そこで近赤外レーザー光集光位置における局所温度を蛍光相関分光を用いて測定し、今回の実験条件下では数~10K程度の温度上昇が誘起されることを明らかにし、その温度上昇は局所的な重合反応の効率を下げる方向に働くことを比較実験から示した。また本研究における実験条件では、逐次多光子過程が起こらないことを重合開始剤の過渡吸収スペクトル測定から明らかにし、高効率光重合反応が確かに放射圧の効果により達成されることを示した。同時に、分子系に作用する放射圧ポテンシャルの大きさを蛍光相関分光法とブラウン動力学シミュレーションを用いて実験的に求める手法を開発し、1本鎖DNAや量子ドットに作用する非共鳴トラッピングポテンシャル深さを求めることに成功した。この手法をさらに応用することで、共鳴条件下での光トラッピングポテンシャルを見積もることも成功した。これらのテーマに関しては、当初の目標をおおむね達成できたと考えている。

一方、重合反応以外の光化学反応系への展開として金属の光析出反応に注目し、その反応性や析出する金属ナノ粒子の形状、サイズやその分布に対して放射圧効果を検討した。その結果、放射圧存在下では析出する金属ナノ粒子の形状やサイズ分布が放射圧を与えない場合に比べて変化することを確認できた。しかしながら、この反応の制御性検討や3次元構造作製への展開、メカニズムの解明などに対して十分な知見が得られたとは言い難く、今

後の課題として残った。引き続き研究を継続し、これらの課題に取り組むことで今回見出した光析出反応に対する放射圧効果のメカニズムや応用展開に関して重要な知見の取得が可能であると考えている。

5. 研究総括の見解

伊都研究者はさきがけ研究の提案時点において光放射圧により局所的に光重合の反応性を高めることが可能であることを実験的に見出し、光の力で分子、高分子、ナノ粒子などをナノサイズの領域に閉じ込めて化学反応性を局所的に増加させるという新しい概念を構築することを目標に研究を展開した。まず、光放射圧を加えた反応場での光重合を精密に解析することにより、サブミクロンサイズの構造体が作製可能なことを実証し、本手法の有効性を示した。その上で、光放射圧の化学反応への効果が、熱効果に由来するものではないことを検証し、更に非共鳴光放射圧の大きさを実験的に評価することにより、光放射圧が与える化学反応場への影響を定量的に見積もることに成功した。

今後、本研究で確立された、光放射圧により局所的な化学反応性を制御するという概念を更に一般化して、光重合系以外のより広い意味でのナノ構造形成技術に展開し、大きな技術イノベーションにつなげることを期待したい。

6. 主要な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1.	<u>Syoji Ito</u> , Shohei Fukuya, Takatsugu Kusumi, Yukihide Ishibashi, Yasutomo Goto, Masamichi Ikai, Takao Tani, Shinji Inagaki, and Hiroshi Miyasaka, “Microscopic Structure and Mobility of Guest Molecules in Mesoporous Hybrid Organosilica: Evaluation with Single Molecule Tracking” <i>Journal of Physical Chemistry C</i> 113, 11884–11891 (2009).
2.	<u>Syoji Ito</u> , Kou Itoh, Smritimoy Pramanik, Takatsugu Kusumi, Satoshi Takei, and Hiroshi Miyasaka, “Diffusion Coefficient in a Dextrin-Based Photo-Curable Material, as Evaluated by Means of Single Molecule Tracking” <i>Applied Physics Express</i> 2, 075004 (2009).
3.	<u>Syoji Ito</u> , Takatsugu Kusumi, Satoshi Takei, and Hiroshi Miyasaka, “Diffusion processes of single fluorescent molecules in a polymer-based thin material with three-dimensional network” <i>Chemical Communications</i> 2009 6165–6167.
4.	“Evaluation of radiation force acting on macromolecules by combination of Brownian dynamics simulation with fluorescence correlation spectroscopy” <u>Syoji Ito</u> , Naoki Toitani, Hiroaki Yamauchi, and Hiroshi Miyasaka <i>Physical Review E</i> , 81 (2010) 061402.
5.	“Confinement of photopolymerization to nanospace by photon pressure” <u>Syoji Ito</u> , Hiroshi Miyasaka, Yoshito Tanaka, Hiroyuki Yoshikawa, and Hiroshi Masuhara (Submitted).

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 1件

発 明 者: 伊都 将司、竹井 敏、宮坂 博

発明の名称: 単一蛍光分子検出法による高分子薄膜中の拡散係数の測定方法

出 願 人: 日産化学工業株式会社

出 願 日: 2008/3/6

(3) その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

【解説/総説・著書】

1. Syoji Ito, Hirohisa Matsuda, Takashi Sugiyama, Naoki Toitani, Yutaka Nagasawa and Hiroshi Miyasaka, “Construction of Micro-Spectroscopic Systems and their Application to the Detection of Molecular Dynamics in a Small Domain” *Molecular Nano Dynamics*, Eds. H. Fukumura, M. Irie, Y. Iwasawa, H. Masuhara, and K. Uosaki, Wiley-VCH, Weinheim, (November 2009) Volume 1,



pp.133-154.

2. 伊都将司、宮坂 博：“化学レビュー17 単分子追跡で材料のミクロな情報をつかむ！”、化学、Vol. 65, No. 1, pp. 38-43, 化学同人(2010年1月)。
3. 伊都将司：“単分子蛍光イメージングで観る反応性高分子薄膜材料のネットワーク形成ダイナミクスとミクロ不均一性”、Colloid & Interface Communication, Vol. 35, No. 1, pp.14-17 (2010)、(社)日本化学会コロイドおよび界面化学部会。
4. 伊都将司、宮坂 博：“単一ケスト分子の動きから高分子材料の複雑な反応ダイナミクスを追跡する”、高分子 Vol.60, pp.54-57 (2011)、(社)高分子学会。

【招待講演】

1. November 22; S. Ito et al., “Motion of Molecules under Radiation Pressure in Solution Monitored by Fluorescence Correlation Spectroscopy”, 2007 Korea-Japan Symposium on Frontier Photoscience, November 22-25, 2007 Hyundai Hotel, Gyeongju, Korea.
2. March 29, 3F5- 15; ITO Syoji, KUSUMI Takatsugu, ITOH Kou, MAEDA Kentaro, TAKEI Satoshi, MIYASAKA Hiroshi, “Microscopic heterogeneity in thin film materials revealed by wide-field single molecule fluorescence microscopy”, Asian International Symposium -Organic Photochemistry- 日本化学会第89春期年会、平成21年3月27日(金)~30日(月)、日本大学理工学部 船橋キャンパス