

研究報告書

「局所応カイメージング技術の限界を突破する『光分子力学』の開拓」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 2016年10月～2020年3月

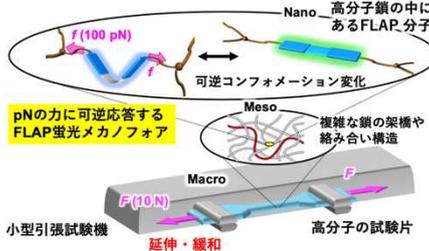
研究者: 齊藤 尚平

1. 研究のねらい

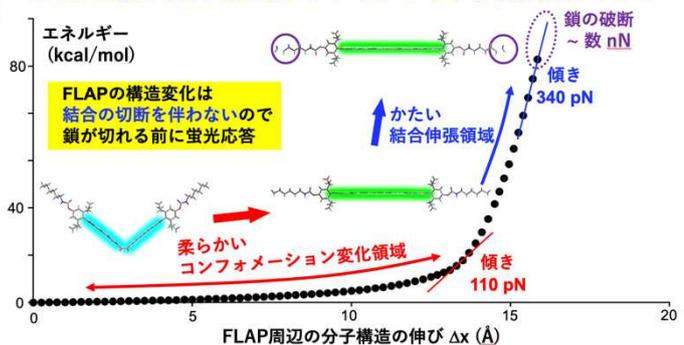
局所的な微弱応力や粘度を解析する技術は、ソフトマテリアルや分子細胞生物学の先端研究において重要な役割を果たしている。対象物の力学的性質や運動現象を1次構造から根源的に理解し、材料開発や医療応用につなげるためには、局所応力や局所粘度の解析は避けて通れない課題であり、レオロジーやメカノバイオロジーと呼ばれる分野でさらに重要性を増している。現在、実際に応用されている主要な局所応力解析技術として、「原子間力顕微鏡(AFM)」と「光ピンセット(Optical Tweezers)」が挙げられる。しかし、これらの技術は、運用できる対象物や測定環境に原理的制約が存在するため、たとえば複雑に絡みあった高分子鎖の1本1本にかかっている力の分析には使えない。そこで本研究提案では、独自に開発した「単一で張力に応答して発光色が変化する分子群 FLAP」を研究基盤として、有機材料科学の発展を妨げている局所応力解析技術の限界を突破することを目的とした。

羽ばたく発光分子 FLAP は、1つ1つの分子が外部からかかる微弱な張力を感じるとV字型から平面型へと可逆に分子形状と発光特性を変えられる、柔軟なメカノフォアである。すなわち、FLAP は従来のメカノフォアと異なり、共有結合の切断を伴わずにコンフォメーション変化だけで発光特性を変えることができるため、より微弱な力を可逆的に追跡できる。そこで、有機合成によって FLAP の励起・発光波長、応答する力の閾値、対象物内部における局在箇所を自在に設計することで、複雑系におけるナノレベルの応力情報をリアルタイムに定量する革新的な光解析技術の創出を目指した。研究アプローチとしては、FLAP 分子の精密有機合成およびその重合による高分子化、高分子延伸と蛍光スペクトル・蛍光イメージングの同時測定、分子の動きを考慮した DFT 計算と分子動力学(MD)シミュレーション、単一分子分光解析などをフル活用し、異分野技術を融合させながら局所応力(および局所粘度)の謎に迫った。

独自の羽ばたく発光分子FLAPを用いて、有機材料の破壊の原因である局所応力集中に関する新知見を得る



FLAPは弱い力に可逆的にレシオメトリック蛍光応答できる



2. 研究成果

(1) 概要

前述の研究のねらいを達成すべく、下記研究テーマ A-C に着手した。それぞれ、基盤とした分子技術と得られた基礎科学的な成果、そして社会的な意義を記載した。

研究テーマ A	FLAP 骨格のライブラリー化によるメカノフォア特性の制御
基盤分子技術 1	励起・発光波長が制御された FLAP を合成した
基盤分子技術 2	応答する力の閾値が制御された FLAP を合成した
基盤分子技術 3	局所粘度には応答せず局所応力にのみ応答する FLAP を合成した
基礎科学的な成果	観察対象物に応じて選べる柔軟なメカノフォアシリーズを構築した
社会的な意義	より多くの対象物に局所応力解析を適用する準備を整え、材料の破壊メカニズム解明や強靱化設計につながる基盤をつくりあげた

*該当成果リスト: 論文 #1,2,3,5 特許出願 #1, 2 (国内, 国際)

研究テーマ B	高分子中における FLAP の局在制御と局所応力集中の評価
基盤分子技術 1	架橋高分子の主鎖と架橋点それぞれに選択的に FLAP を導入した
基盤分子技術 2	ポリウレタンやポリカーボネートなどの異なる高分子へ導入した
基礎科学的な成果	架橋高分子における局所応力が主鎖よりも架橋点に集中することを実験と理論の両面から示し、さらに亀裂進展過程における顕微応力イメージングの動画を取得することに成功した *理論(粗視化 MD 計算)は増淵雄一教授(名古屋大)との共同研究
社会的な意義	分子レベルで応力を分散させて強靱な高分子を設計するためには架橋点の化学構造が特に重要であることを示し、架橋部への工夫次第で高分子材料に新たな力学機能が付与できることを裏付けた

*該当成果リスト: 論文投稿準備中 特許出願 #1,2 (国内, 国際)

研究テーマ C	FLAP の光耐久性向上と 1 分子解析・高速構造解析への適用
基盤分子技術 1	全く新しい超耐光性 FLAP 骨格を合成した
基盤分子技術 2	従来の FLAP に窒素原子を組み込んで光劣化機構を抑制した
基盤分子技術 3	超高速電子線回折法で構造解析可能な FLAP 液晶を合成した
基礎科学的な成果	耐光性の高感度蛍光粘度プローブの開発と、ソフトマテリアル内部における局所かつ高速な構造変化の実験的追跡に成功した *精密蛍光寿命解析は倉持光研究者(3期生, 理研)との共同研究 *1分子蛍光分光解析は Vacha Martin 教授(東工大)との共同研究 *超高速電子線回折は羽田真毅准教授(筑波大)との共同研究
社会的な意義	小分子を分離する薄膜(分子ふるい膜)の性能などを左右する「高分子中の微視的空隙の時間変化」を直接評価する技術につながる

*該当成果リスト: 論文 #4 特許出願 #1,2 (国内, 国際)

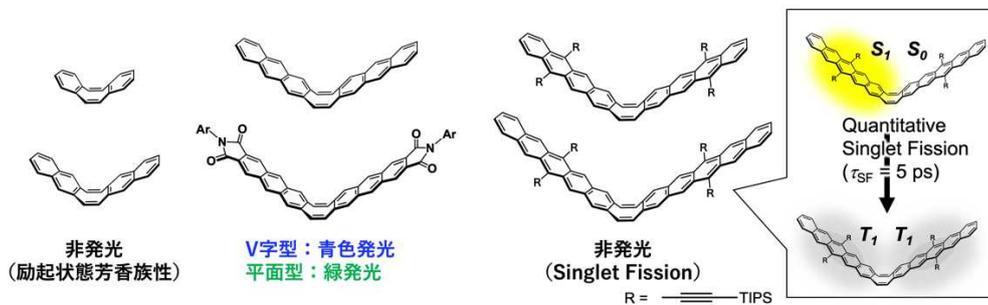
(2) 詳細

研究テーマ A FLAP 骨格のライブラリー化によるメカノフォア特性の制御 (達成度 90%)

1)~3)の分子変換を用いて、FLAPの励起・発光波長の制御、応答する力の閾値の制御、励起状態における意図しない構造平面化の抑制を実現した。なお、下記のFLAP分子構造は全て物質特許として国内および海外に出願している(特許出願 1,2)。

1) π 共役構造の長さを変える

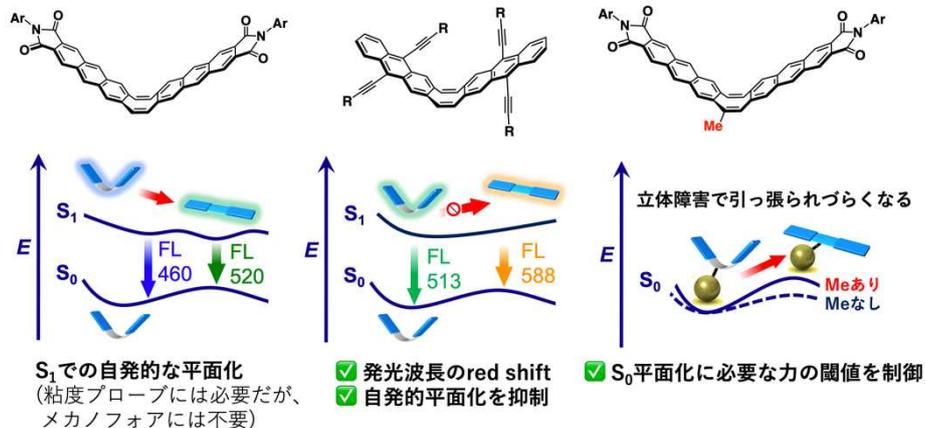
はじめにFLAPの翼部位にあたるアセン構造の長短を変えて、光物性を調べた。すると、翼部位の π 共役が短すぎる場合(ベンゼン、ナフタレン)には励起状態芳香族性が発現して平面構造が非発光になり、逆に π 共役が長すぎる場合(テトラセン、ペンタセン)には Singlet Fission が発現して非発光になった(論文 2)。すなわち、8員環を中央にもつアセン型 FLAP では、中程度の π 共役構造(アントラセン、アントラセンイミド)を翼とした分子だけがまともに蛍光を発することが判明したため、別の分子設計で発光特性を制御することにした。



2) 適切な位置に置換基を導入する

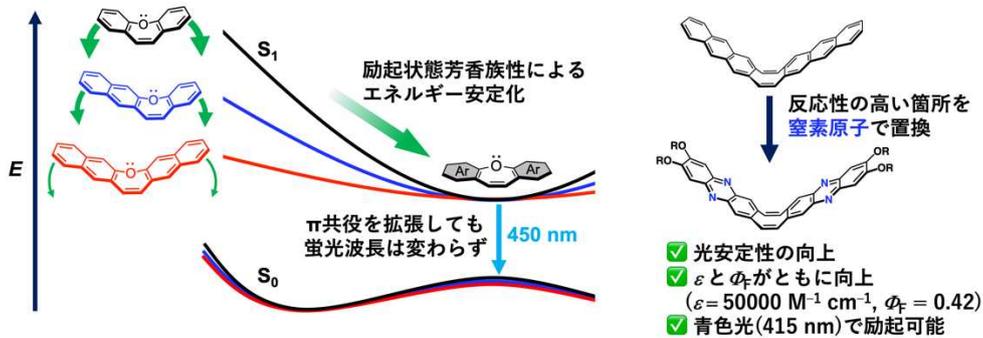
翼部位の中央にアセチレンを導入したところ、蛍光が長波長シフトしたFLAPが合成できた。従来型FLAPはV字型で青蛍光、平面型で緑蛍光だったが(論文 3)、これによりV字型で緑、平面型で橙となった。また、 S_1 energy profile が変化し、励起状態における意図しない構造平面化が抑制されたため、粘度にตอบสนองせず力にだけตอบสนองするメカノフォアとなった。さらに、この分子は結晶相転移によるVoidの崩壊とともに基底 S_0 状態で平面化することを発見し、「結晶相転移を利用した過去にないメカノフォアの活性化手法」として論文報告した(論文 1)。

他にも、中央の8員環にメチル基を入れるだけで S_0 energy profile が大きく変化し、FLAPの応答する力の閾値が約120 pNから250pNまで上がることが理論的に示された。



3) π 共役構造にヘテロ原子を組み込む

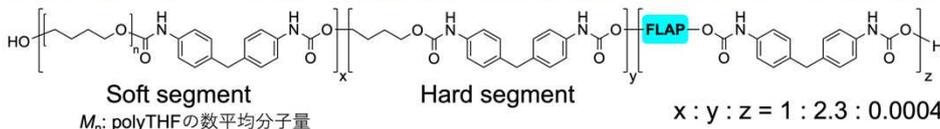
中央の炭素8員環(COT)を、酸素原子を1つ含む7員環(Oxepin)に変えると、分子対称性の低下により π 共役が短くても発光することがわかった。しかし一方で、 π 共役を拡張しても励起状態芳香族性が弱くなるせいで発光波長が長波長シフトしないことがわかった(論文投稿間近)。また、中央の8員環はそのままに、翼部位のアントラセンに窒素を導入したFLAPは光安定性とBrightnessの向上をもたらし、青色光による光励起も可能になった。



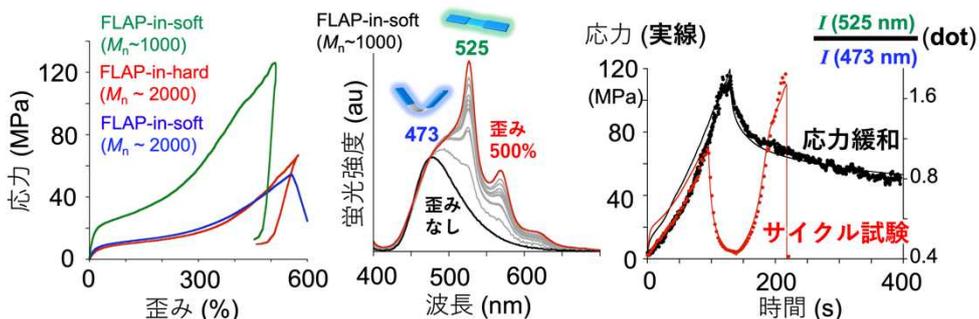
研究テーマB 高分子中におけるFLAPの局在制御と局所応力集中の評価(達成度 80%)

まず、微量のFLAPをソフトセグメントに化学導入した架橋なしポリウレタン(FLAP重量比0.01%)において、延伸時の局所応力集中の度合いを「V字型FLAP由来の蛍光強度と平面型FLAP由来の蛍光強度の比」によりratiometric定量解析できることを示した。また、延伸したまま5分間固定したときの高分子の応力緩和に伴って蛍光強度比も可逆的に戻ることや、延伸と収縮を繰り返すサイクル試験でも素早く蛍光強度比の応答が追隨することを明らかにした。

架橋なしポリウレタン(PU)のSoftまたはHard segmentへ選択的にFLAPを化学導入



○PU試験片の応力-歪み曲線 ○延伸時の蛍光変化 ○緩和や収縮にも蛍光レシオが追隨

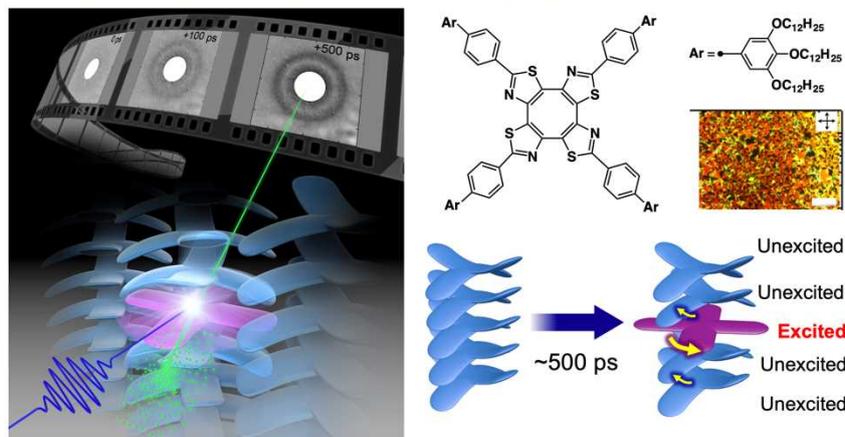


その上で、分子両末端の重合基の数が異なるFLAPを新たに合成し、架橋ポリウレタン重合時にわずかに添加することで高分子主鎖と架橋点のそれぞれに選択的にFLAPを導入した。得られた2種類の薄膜は、ほぼ同様の応力-ひずみ曲線を示した一方、蛍光応答は全く異なり、架橋点にFLAPを導入した薄膜の方が蛍光変化は顕著だった。さらに、架橋高分子における主鎖と架橋部位の局所応力を粗視化MD計算により求めたところ、驚くほど実験と一致する結果が得ら

ゴム状ポリスチレンに希釈させた上で1分子蛍光スペクトルを追跡した。すると、露光時間 0.5 秒 (300 枚撮影)のある時間帯においてV字発光帯と平面発光帯が置き換わる現象が繰り返し確認された。この結果は、FLAP 単分子がゴム状高分子の隙間でゆっくり構造変化できることを示唆している。高分子の自由体積の時間変化に関する知見は、小分子の分離膜を設計する上で重要であり、実験で局所空間が時間変化する情報を直接的に得た例は極めて珍しい。

さらに、光応答ソフトマテリアルにおける光励起部位周辺の超高速パッキング構造変化を直接構造解析することができた。4つ腕でサドル型の FLAP 液晶分子を合成し、カラムナーパッキングさせた状態で、フェムト秒電子線回折、フェムト秒 IR 分光法、MD 計算を相補的に組み合わせて解析した結果、励起された FLAP の平面化に伴って隣接分子との立体障害を避けるようにカラム内で回転する構造変化が高速で起こっていることが示された(論文4, 共同リリース)。

室温カラムナー液晶の4つ腕FLAPを合成し、フェムト秒電子線回折法などで液晶中の分子の動画を撮影



3. 今後の展開

蛍光分子 FLAP のシリーズ化や対象物内部における局在制御を通して、羽ばたき運動(コンフォメーション変化)を活かした局所応力や局所粘度の解析を達成した。特に AFM や光ピンセット では原理的に得ることのできなかつた、架橋高分子における分子レベルの局所応力集中の情報を レシオメトリック蛍光解析 で定量したことは重要な成果である。今後、ここで得られた知見をもとにして新しい力学機能材料の化学構造を設計し、独自の高分子材料の開発にも挑戦する。一方で、FLAP の高感度な粘度応答性を臨床応用に展開させることも視野に入れている。今後も幅広い分野の知識と経験を蓄えながら、基礎科学と応用技術の両面から研究を推進する。

4. 自己評価

独自に開発した羽ばたく分子 FLAP を基盤として、「基底状態における外部からの力」に応答する蛍光分子ライブラリーを構築し、さらに対象物内部における FLAP の局在を制御することに成功した。これにより、高分子材料における分子鎖レベルの局所応力が化学構造のどこに集中しているのかを定量的に追跡できる手法をうみだした。ここから得られる知見をもとにすれば、局所応力を分子鎖レベルで分散させて高分子を強靱化させたり、あるいは局所応力集中の分布を自在に外部刺激で制御することのできる新しい材料化学構造の設計指針が得られる。また一方

で、活性化された分子が外部に対してうみだす力、すなわち「光励起による自発的な羽ばたき運動」に着目することで、当初予想していなかった超高感度粘度プローブや新しい光応答材料の創出、さらには特許の登録や企業との継続的共同研究にもつながり、当初の期待以上の進捗が得られた。研究開始時点では苦戦していた FLAP 分子系のバイオ展開についても、細胞イメージングを専門とするさきがけ研究者との共同研究により順調に軌道に乗り始めた。領域総括と技術参事により企画された化学フェスタの合同セッションではメカノバイオロジー研究者たちとの交流が進み、領域アドバイザーからの助言では粘度プローブ研究の新たな出口を発見することができた。今後も基礎科学・応用技術の両面において大いに発展が期待でき、執行した研究費に見合う実績をあげることができたと考えている。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Takuya Yamakado, Kazuya Otsubo, Atsuhiko Osuka, <u>Shohei Saito*</u> “Compression of a Flapping Mechanophore Accompanied by Thermal Void Collapse in a Crystalline Phase”, <i>Journal of the American Chemistry Society</i> , 140, 6245–6248 (2018)
2. Takuya Yamakado, Shota Takahashi, Kazuya Watanabe*, Yoshiyasu Matsumoto, Atsuhiko Osuka, <u>Shohei Saito*</u> “Conformational Planarization versus Singlet Fission: Distinct Excited-State Dynamics of Cyclooctatetraene-Fused Acene Dimers” <i>Angewandte Chemie International Edition</i> , 57, 5438–5443 (2018).
3. Ryota Kotani, Hikaru Sotome, Hajime Okajima, Soichi Yokoyama, Yumi Nakaike, Akihiro Kashiwagi, Chigusa Mori, Yuki Nakada, Shigehiro Yamaguchi, Atsuhiko Osuka, Akira Sakamoto*, Hiroshi Miyasaka*, <u>Shohei Saito*</u> “Flapping viscosity probe that shows polarity-independent ratiometric fluorescence” <i>Journal of Materials Chemistry C</i> , 5, 5248–5256 (2017).
4. Masaki Hada* [†] , <u>Shohei Saito*[†]</u> (†: Equally contributed), Sei'ichi Tanaka, Ryuma Sato, Masahiko Yoshimura, Kazuhiro Mouri, Kyohei Matsuo, Shigehiro Yamaguchi, Mitsuo Hara, Yasuhiko Hayashi, Fynn Röhricht, Rainer Herges, Yasuteru Shigeta*, Ken Onda*, R. J. Dwayne Miller “Structural Monitoring of the Onset of Excited-State Aromaticity in a Liquid Crystal Phase”, <i>Journal of the American Chemistry Society</i> , 139, 15792–15800 (2017).
5. Waka Nakanishi*, <u>Shohei Saito*</u> , Naoki Sakamoto, Akihiro Kashiwagi, Shigehiro Yamaguchi, Hideki Sakai, Katsuhiko Ariga* “Monitoring fluorescence response of amphiphilic flapping molecules in compressed monolayers at the air-water interface”, <i>Chem. Asian J. (Selected as Very Important Paper)</i> , 14, 2869–2876 (2019).

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 4 件(公開前の出願件名については件数のみ記載)

1.

発 明 者: 齊藤尚平(50%), 藪浩(30%), 阿部博弥(20%)
発明の名称: 化合物および該化合物を含む高分子化合物
出 願 人: JST
出 願 日: 2018/3/5
出 願 番 号: 特願 2018-39162

2.

発 明 者: 齊藤尚平(50%), 藪浩(30%), 阿部博弥(20%)
発明の名称: 化合物および該化合物を含む高分子化合物
出 願 人: JST
出 願 日: 2019/3/4
出 願 番 号: PCT/JP2019/008463

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

学会発表(関連の深い国際招待講演のみを記載)

1. Shohei Saito, “Flapping molecules for photo- and mechanoresponsive materials”, 2019 US-Japan Polymer Symposium, 招待講演 (Stanford, California).
2. Shohei Saito, “Development of Flapping Molecules and Photofunctional Materials”, the 10th Asian Photochemistry Conference APC 2018 受賞講演, (Taipei, Taiwan).
3. Shohei Saito, “Luminescent molecular force probe for rheology and mechanobiology”, OPTICS&PHOTONICS International Congress (OPIC) 2018 Biomedical Imaging and Sensing Conference, 招待講演 (パシフィコ横浜)
4. Shohei Saito, “Light-melt adhesive and molecular force probe”, Materials Horizons Symposium: Electronic and Photonic Materials, 招待講演 (京都大学 iCeMS)
5. Shohei Saito, “Flapping molecules that work by excited-state aromaticity”, International Conference on Excited State Aromaticity and Antiaromaticity (Sigtuna, Sweden)

著作物(自身の研究の Review として Book Chapter を執筆)

1. Shohei Saito, “Flapping Molecules for Photofunctional Materials”, ***Molecular Technology: Materials Innovation*** Vol 3 Chapter 2, Wiley-VCH 2018, (Eds) Hisashi Yamamoto, Takashi Kato.
2. Shohei Saito, “Rigid-flexible hybrid design for photofunctional molecules and materials”, ***Light-Active Functional Organic Materials*** Chapter 2, Jenny Stanford Publishing 2019, (Eds) Shiki Yagai, Hiroko Yamada.

受賞

2017年 2月 3日 井上科学振興財団 井上リサーチアワード

2018年 12月 19日 The Asian and Oceanian Photochemistry Association (APA) Prize
for Young Scientist 2018

2018年 9月 5日 日本液晶学会 論文賞 2018 (デバイス、応用分野)



プレスリリース

“1兆分の1秒の時間分解能で液晶分子の動画を観測 —新しい測定・解析手法の確立—”

岡山大学, 京都大学, 筑波大学, 九州大学から同時リリース

http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research_results/2017/documents/171016_2/02.pdf

(論文 4, *JACS*, 2017, 139, 15792–15800 に対応)

