

薄膜材料中ゲスト分子の拡散挙動

—Wide field 蛍光顕微鏡を用いた単分子追跡によるアプローチ—

(¹阪大院基礎工・極量セ、²日産化学工業電子材料研、³JST さきがけ、⁴JST CREST)
 伊都将司^{1, 3}、楠見崇嗣¹、伊藤 航¹、前田健太郎¹、竹井 敏^{1, 2}、宮坂 博^{1, 4}

【序】

近年、超高感度2次元光検出器を備えた蛍光顕微鏡 (Wide-field 蛍光顕微鏡) により単分子レベルの蛍光イメージングが比較的容易となった。このような超高感度蛍光イメージング法により、ホスト蛍光分子を極低濃度含む薄膜材料中のゲスト蛍光分子の動きを単分子ごとに追跡することができる。ホスト材料中のゲスト分子の動きは、マイクロ～メゾスコピック領域のホスト材料の構造や粘性、極性など諸物性の空間分布を反映し、従ってゲスト蛍光分子の並進、回転拡散のダイナミクスを蛍光イメージ列として保存し、詳細な解析を行うことでゲスト材料のマイクロ～メゾスコピックな構造や空間的不均一性の評価が可能である。このような超高感度蛍光イメージングによる単分子の「動き」の解析手法は生物分野で広く用いられているが、化学、材料分野への展開例はそれほど多くはない。例えばこれまでに、メソポーラスシリカ材料中ゲスト分子のマイクロな拡散挙動解析^[1,2]や、スチレンの重合に伴うゲスト分子の拡散係数変化^[3]、触媒粒子表面の結晶面、欠陥構造と反応性との相関^[4]等が報告されている。

しかしながら Wide-field 蛍光顕微鏡を用いた凝縮相中ゲスト分子の拡散挙動解析法はその他多種多様な材料系への展開が原理的に可能であり、ゲスト材料のマイクロな物性、局所的な反応性等を理解するための非常に有効な方法である。そこで我々は、超高感度顕微蛍光イメージング装置の構築と、単分子追跡法 (Single Molecule Tracking: SMT) による個々の分子の拡散挙動解析法の開発を行い、架橋性高分子薄膜や有機・無機ハイブリッドメソポーラス材料中のゲスト蛍光分子の動的挙動から、ホスト材料のナノ構造評価、架橋反応の時空間的不均一性評価などを行っている。

【実験装置・実験結果と考察】

我々の構築した Wide-field 蛍光顕微鏡では、励起用の連続発振レーザー光は落射配置で試料薄膜の数十 μm 程度の領域をほぼ均一に照射し、試料薄膜の蛍光像はリレーレンズを介して背面照射型 CCD 検出器に結像される。励起光を高精度に除去するノッチ・フィルター等を用い、迷光を極力抑え、蛍光のみを検出することで単分子レベルの蛍光イメージングが実現される。

蛍光分子のサイズは光学顕微鏡の分解能 (~ 200 nm) より十分小さいため、発光する単一蛍光分子の像面での光強度分布は点応答関数 (Point Spread Function: PSF) と考えてよく、この PSF は近似的に2次元ガウス関数で解析できる。図1はガラス転移温度が室温より十分高い PMMA フィルム中に固定化された単一蛍光分子 (ペリレンビスイミド誘導体: PDI) の PSF を解析した例で、非線形最小自乗法による2次元画像解析の誤差はおおよそ ± 1 nm 程度である。このように比較的単純な画像解析により分子の位置を数 nm

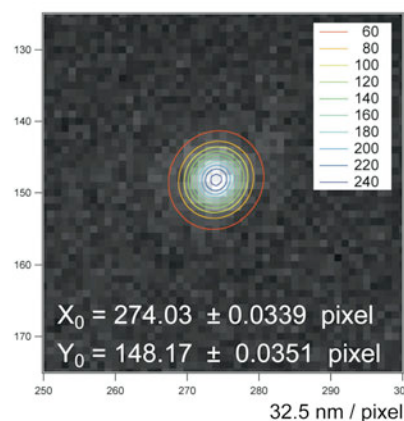


図1 2次元ガウス関数を用いた画像解析による分子の位置推定。

オーダーの精度で決定することができる。SMTによる分子の位置決定精度は蛍光の S/N 比や光学系の解像度などで決定されるが^[5,6]、薄膜中で蛍光分子が並進拡散を示す系において実験的に求めると図2に示すようにおよそ数 nm であることが示された。

図3aに、主剤が poly-hydroxyethylacrylate からなる高分子薄膜中の単一 PDI 分子の並進拡散を露光時間 500 ms で測定、解析し得られた軌跡を示す。この並進拡散の軌跡から、分子の運動はほぼ均一な媒質中での2次元的ランダムウォーク様であると解釈される。一方、露光時間をほぼ一桁 (~30 ms) 短縮し、より早い時間領域の拡散を追跡すると、図3b中に丸印で示すように 50 nm 程度の領域内での「遅い」拡散と、それらの領域間を移動する際に見られる比較的速い拡散の2種類の拡散挙動が確認された。これらは基盤との相互作用を含めた材料のナノ空間での不均一性を反映していると考えられる。

講演では、高分子薄膜材料に対する応用例を中心に、薄膜材料中ゲスト蛍光分子の拡散挙動の単分子追跡とホスト材料のナノ構造、物性変化との相関について議論する。

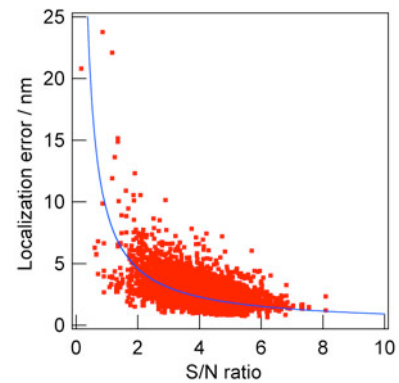


図2 SMTにおける分子の位置推定精度。

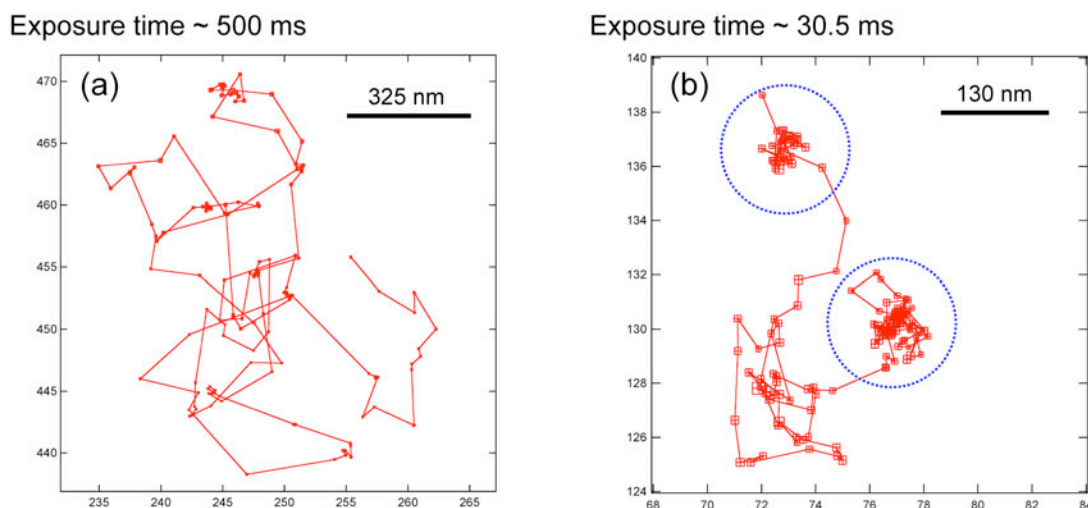


図3 SMTにより得られた蛍光分子の並進拡散運動の軌跡。露光時間 500 ms (a)、露光時間 30.5 ms (b)。

参考文献

- [1] Kirstein, J.; Platschek, B.; Jung, C.; Brown, R.; Bein, T.; Bräuchle, C. *Nat. Mater.* **2007**, 6 (4), 303-310.
- [2] Jung, C.; Kirstein, J.; Platschek, B.; Bein, T.; Budde, M.; Frank, I.; Müllen, K.; Michaelis, J.; Bräuchle, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 1638-1648.
- [3] Wöll, D.; Uji-i, H.; Schnitzler, T.; Hotta, J.; Dedecker, P.; Herrmann, A.; De Schryver, F. C.; Müllen, K.; Hofkens J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 783-787.
- [4] Roeffaers, M. B. J.; Sels, B. F.; Uji-i, H.; DeSchryver, F. C.; Jacobs, P. A.; DeVos D. E.; Hofkens J. *Nature* **2006**, 439, 572-575.
- [5] Norman Bobroff *Rev. Sci. Instrum.* **1986**, 57, 1152-1157.
- [6] Thompson, R. E.; Larson, D. R.; Webb W. W. *Biophys.J.* **2002**, 82, 2775-2783.