

## Cu(111)基板上のクラウンエーテル類薄膜の吸着構造と電子状態

(千葉大院融合科学<sup>1</sup>、分子研<sup>2</sup>、チュービンゲン大学<sup>3</sup>、国立清華大学<sup>4</sup>、ESRF<sup>5</sup>)  
 ○解良 聡<sup>1,2</sup>、細貝拓也<sup>3#</sup>、町田拓之<sup>1</sup>、米澤恵一朗<sup>1</sup>、山本真幸<sup>1</sup>、細海俊介<sup>1</sup>、西 龍彦<sup>1,2</sup>、S. Duhm<sup>1</sup>、  
 堀江正樹<sup>4</sup>、B. Detlefs<sup>5</sup>、J. Zegenhagen<sup>5</sup>、A. Gerlach<sup>3</sup>、F. Schreiber<sup>3</sup>、上野信雄<sup>1</sup>

## [序]

有機半導体分子を利用した新奇な光・電子デバイスの応用展開が賑やかである。いずれにおいても、有機/金属や有機/有機界面での電荷注入(移動)や有機半導体薄膜中における電荷輸送といった種々の物理現象を正しく理解することが、デバイス動作機構の基本原理の解明や動作効率の向上に対して不可欠である。しかしこうした認識に反し、現状として上記のような基礎電子物性に関する研究は(応用研究と比べると)遅々として進んでいないように思える。つまり依然として有機半導体薄膜における多くの物理現象が闇に埋もれたままである。

一方で上記のような $\pi$ 電子骨格を主たる機能性の源とする有機光デバイス・電子デバイス研究の広がりに対し、フレキシブル分子群の吸着構造や界面電子状態の研究は極めて少ない[1]。将来的に分子機械や分子認識の機能性を評価するうえでこれらの分子群の基礎物性研究も重要であると考え。本研究では分子認識機能のモデル界面として、Cu(111)上に作製した tetrabromide-dibenzo-18-crown-6 (Br4DB18C6)分子薄膜を取り上げる(Fig.1)。クラウンエーテル分子群は、その特徴的なクラウン環の電気陰性度を利用した分子機能性が期待されている。今回は、作製した分子薄膜の吸着構造について、X線定在波法(XSW)[2]およびスポット分析型低速電子線回折法(SPALEED)により、二次元配列と吸着距離の定量決定を行った。さらに界面電子構造について高分解能紫外光電子分光法(UPS)ならびに角度分解紫外光電子分光法(ARUPS)を用いて評価し、吸着による新たなギャップ準位や分子軌道空間分布の変化を検出した。

## [実験]

超高真空中でAr<sup>+</sup>スパッタならびに加熱クリーニングしたCu(111)清浄基板(295K)上に、Br4DB18C6分子を真空蒸着(0.1~0.5ML/min)し薄膜を形成した。全ての測定は室温で行った。  
**XSW実験**: ヨーロッパシンクロトロン放射光施設(ESRF)、ビームラインID32にて実験を行った。垂直入射下におけるCu(111)のブラッグ反射条件を考慮して2.98keVにおける定在波を用いた。  
**ARUPS実験**: 分子科学研究所極端紫外光施設(UVSOR)ビームラインBL8B(入射光エネルギー28eV, 100eV, 入射角60°)にて実験を行った。  
**UPS実験**: 千葉大学設置の装置(MBS A-1分析器)にてXeIおよびHeI光源による高分解能UPS測定を行った。またグラファイト(HOPG)基板上に薄膜を作製し比較検討した。

## [結果・考察]

Fig.2(a)にCu(111)上のBr4DB18C6単分子相当膜のARUPS結果を示す。Cu(111)上ではHOMOバンドは分裂し、新たにバンドA<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>が観測された。各バンドの光電子放出強度分布(PAD)は若干異なるがよく類似していることから、分子固有のHOMOバンド(フェニル基に分布する $\pi$ 軌道(Fig.1))が基板との相互作用により分裂し、各 $\pi$ 軌道の空間的な広がりそれぞれ若干変化した

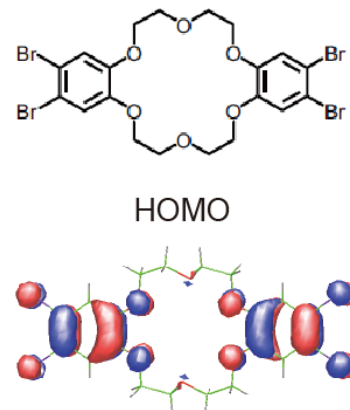


Fig.1 Chemical structure and HOMO distribution on gas-phase of Br4DB18C6.

ことが示唆される。高分解能UPSの結果から、バンドギャップ領域に新たなバンドが観測されており、分子電荷分布の変化や基板と分子間の何らかの強い相互作用を裏付けるものである。さらにPADパターンに注目すると、0度および30度付近にブロードな極大分布を持つことから、フェニル環部位は基板表面に対して傾いて配向していることが示唆される。一方、Fig.2(b)にBr3d領域のUPS結果を示す。バンドL、MはBr3d軌道のスピン軌道分裂準位に対応している。グラファイト(HOPG)上の分子は弱い物理吸着を反映したものであるため、Cu(111)上における両ピークの低エネルギー側へのシフト(-2.1eV)は、Br原子とCu表面との強い結合により電荷分布に変化が生じたことを表している。

Fig.3にCu(111)上の単分子膜構造の結果をまとめて示す。XSW法の結果から、Br原子の吸着構造は基板表面から1.95Åと4.06Åの二種類が想定できる。しかし上述のUPSの結果から、よりBr原子が表面に接近した吸着モデルが妥当であると言える(図中の破線円)。またC、O原子の吸着距離はvdW半径を考慮した時のCu-C結合およびCu-O結合のそれに近く、分子主骨格は弱く吸着していることがわかる。さらにSPALEEDの結果から、二次元格子構造は基板と整合のとれた長方格子を形成し、各基板軸に対して平行な3ドメインが混在していることが分かる。図にはvdW半径を考慮した分子の配向モデルの一例を図示した。以上からCu-Br間の局所的な強い結合により膜構造が支配され、長周期で基板格子と整合性の高い単分子膜が形成されると同時に、電子構造も大きく変調を受けることが分かった。

現在、本研究で得た単分子膜をテンプレートとして特定の磁性元素や有機分子の吸着捕集能力について検討し、物理的視点にたった分子認識機能の理解と特異な低次元物性の研究を進めている。

#### [参考文献]

- 1) T. Hosokai et al, J. Phys. Chem. C 112, 4643-4648 (2008).
  - 2) 例えば A. Gerlach et al, Phys. Rev. Lett. 106, 156102-1-4 (2011).
- #: 現所属：岩手大学工学部

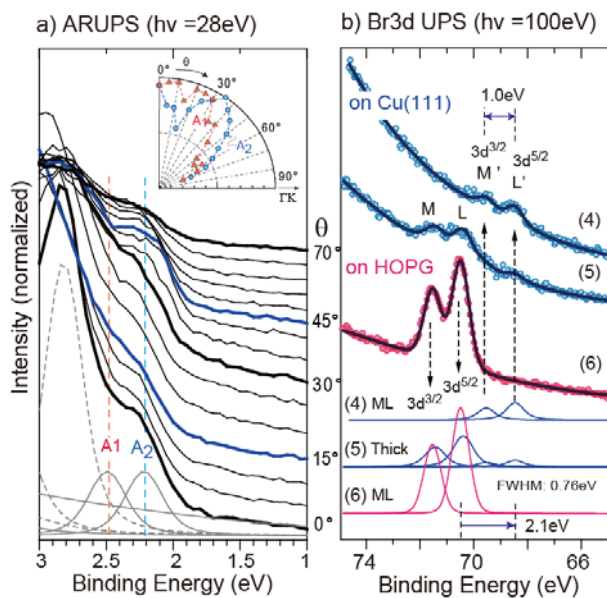


Fig.2 (a) ARUPS along  $\Gamma$ -K direction for Br4DB18C6(annealed ML)/Cu(111). Inset shows PADs for bands A<sub>1</sub>(orange triangles) and A<sub>2</sub>(blue circles). (b) Br(3d)-region UPS for 1ML/Cu(111) (4), thick-island film(7nm)/Cu(111) (5) and 1ML/HOPG (6).

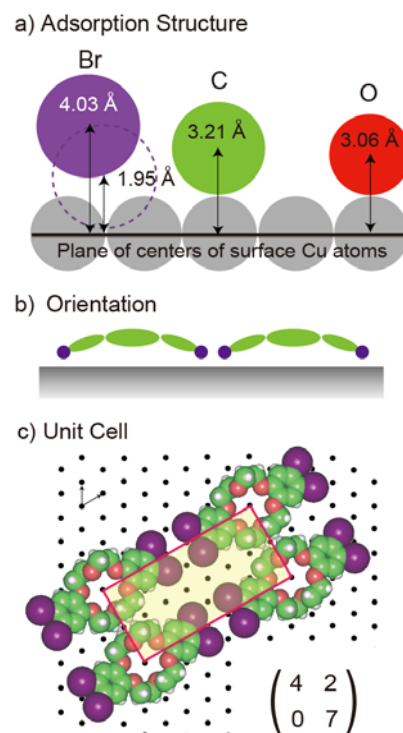


Fig.3. (a) Adsorption structure obtained by XSW results. (b) Scheme for the molecular orientation. (c) A possible molecular arrangement and a matrix for the unit cell.

## 配向制御された有機分子ヘテロ界面におけるエネルギー準位接合

(千葉大院融合科学<sup>1</sup>、チュービンゲン大学<sup>2</sup>、岩手大学工学部<sup>3</sup>)

○米澤恵一朗<sup>1</sup>、細貝拓也<sup>2,3</sup>、A. Hinderhofer<sup>2</sup>、Nuermuhaimumaiti ABURI<sup>1</sup>、  
F. Schreiber<sup>2</sup>、上野信雄<sup>1</sup>、解良聡<sup>1</sup>

### [序]

エネルギー問題、環境問題の両面から発電デバイスとして有機太陽電池が大きく注目されている。有機太陽電池の飛躍的性能向上のためには有機分子ヘテロ界面における準位接合を正しく理解することが必要不可欠であるが、多くの場合、界面構造が複雑であるため電子構造の詳細な議論は難しい。さらに埋もれた界面の電子状態の観測がその理解には重要であるが報告例は少ない。

これまで我々のグループでは、分子レベルで配向を制御した界面を作製し構造評価を行ってきた。p型半導体分子として利用されるdiindenoperylene(DIP)はグラファイト基板上では基板に対して分子面を平行に配向し、ITO,SiO<sub>2</sub>基板上では垂直に立って配向する。さらにn型半導体分子として利用されるperfluoropentacene (PFP)をDIP分子膜上に蒸着すると、下地のDIP分子膜の構造に誘起されて同様の配向膜をとることを見出している。

本研究では、上述のように膜配向を制御した PFP/DIP 有機分子ヘテロ界面に注目し、膜配向の違いによるエネルギー準位接合について紫外光電子分光(UPS)と準安定励起原子電子分光法(MAES)を用いて評価した。その結果、PFP/DIP 界面の電子状態は下地の膜構造の影響を受け変化し、それぞれ異なる準位接合をすることが分かった。また、結晶性の高い DIP 分子膜と PFP 分子膜界面の場合には、PFP の蒸着によるヘテロ界面層の成長に従い、下地の DIP 分子膜における顕著な HOMO 準位のシフト (バンドベンディング) を観測した。さらにこの DIP 分子膜の電子状態変化はヘテロ界面近傍でのみ生じていることを見出した。

### [実験]

基板はグラファイト(HOPG)、ITO、SiO<sub>2</sub>を用いた。HOPGは大気中でへき開し、超高真空中で加熱クリーニングした。また、ITO、SiO<sub>2</sub>はアセトン、イソプロピルアルコール、純水の順で超音波洗浄した後、超高真空中で加熱クリーニングし、清浄性はMAESにより確認した。

HOPG(295K)上に 2nm(蒸着レート：0.05~0.1nm/min)、ITOとSiO<sub>2</sub>(両方 400K)上に 20nm(~0.14nm/min)真空蒸着することで、3種類のDIP分子膜を作製し、その膜上にPFP分子を真空蒸着(0.05~0.1nm/min)したときの膜厚変化に伴う界面電子状態変化を測定した。全ての測定は室温で行った。

### [結果・考察]

Fig.2にSiO<sub>2</sub>上に作製したDIP分子膜上のPFP分子のHeI UPS, He\*(2<sup>3</sup>S)MAESスペクトルの膜厚依存性の結果を示す。X線構造解析の結果から、DIPはSiO<sub>2</sub>基板上で結晶性の高い配向膜を形成している。UPSスペクトルより、DIP表面をPFPが完全に覆うことで仕事関数が0.37eV低くなることがわかる。また、DIP分子のHOMO由来のピークがUPS,MAESスペクトルともに高束縛エネルギー側にシフトしていることが見てとれる。特にMAESスペクトルでのHOMOバンドのシフト量はUPSに比べて大きい。Fig.3に、PFP/DIPヘテロ界面における電子準位接合のバンド図を示す。特に、ヘテロ界面層の成長によるDIP膜ならびにPFP膜の電子準位の変化

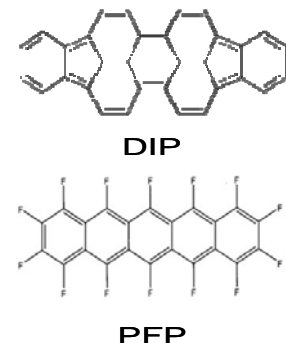


Fig.1 DIP と PFP  
の分子構造

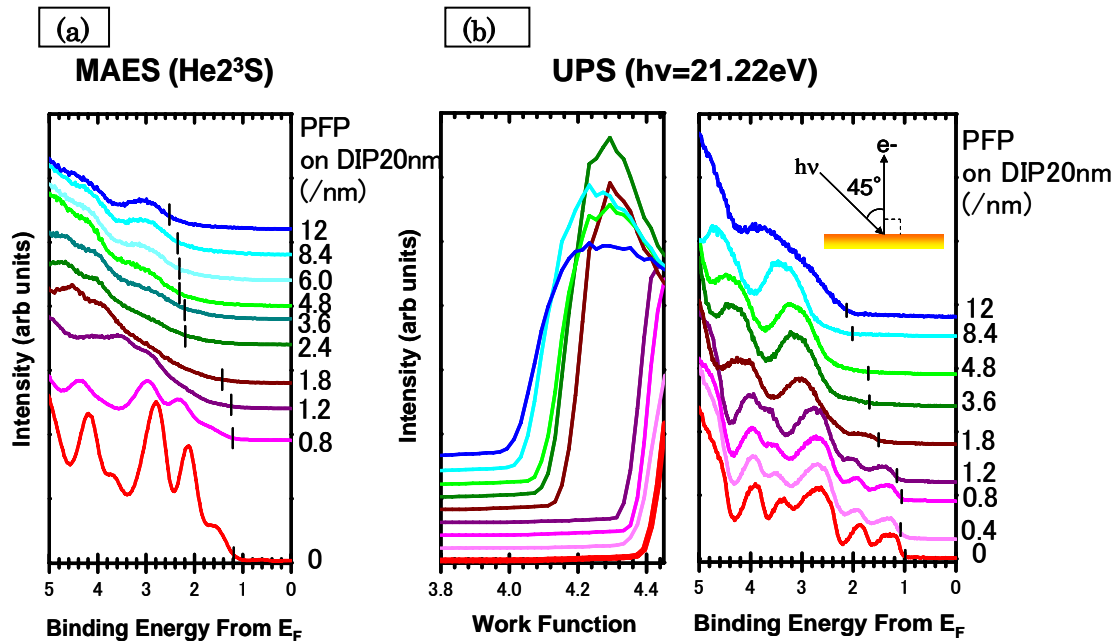


Fig2, DIP(20nm)/SiO<sub>2</sub>上のPFP分子の膜厚依存性、(a)MAESスペクトル、(b)UPSスペクトル。図b左パネルでは横軸をWork Function に変換してある。

について界面被覆率  $\xi=0$  から 1 の様子について詳細に示した。界面層の両側にはそれぞれの分子のバルクの電子状態が示されている。

MAES は UPS と違い、試料最表面外側に広がる電子軌道のみを観測する。そのため MAES では PFP で覆われた DIP 分子からの電子放出は起こらない。このことは、PFP 分子で覆われていない部位の DIP 分子の電子状態が変化していることを示唆するものであり、埋もれた界面の電子構造について新たな見解を与える結果であるといえる。さらに MAES のシフト量が大きく観測された原因としては、終状態としての表面緩和エネルギーの違いを加味することで説明ができる。

以上のように、ヘテロ界面において DIP 分子の HOMO 準位が PFP の影響を受け徐々にシフトし、最終的にバルク PFP の HOMO 準位近傍まで変化していることが観測された。作製した界面は積極的な電荷移動は考えられない弱い相互作用の系であるにもかかわらず、PFP の積層により、DIP 分子表面に広がる波動関数が特に影響を受け電子状態に変化をもたらした。さらに DIP の高い結晶性により、その効果が PFP と接していない隣接 DIP 分子に対して波及的に影響を与えたことが示唆される。また HOMO シフト量は 3 種の界面構造で異なることから、有機太陽電池の特性向上を狙うためには、分子レベルでの界面現象の理解が不可欠であるといえる。

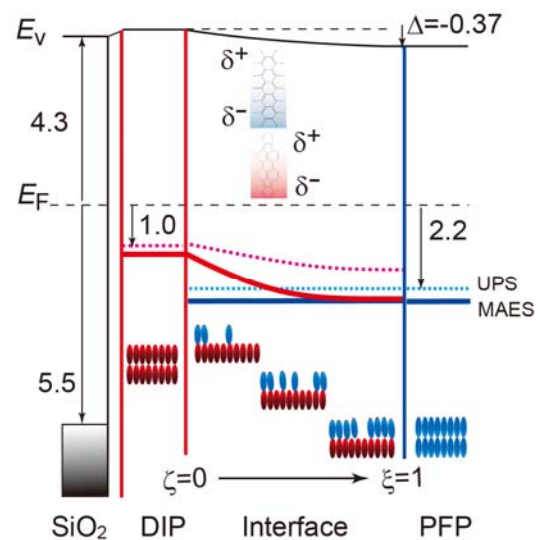


Fig3. PFP/DIP/SiO<sub>2</sub>ヘテロ界面におけるエネルギー準位接合。準位を示す濃い線はMAES、破線はUPSの結果。赤線はDIP、青線はPFPのバンドを示す。分子配向の模式図も示した。

(東北大院理<sup>1</sup>、東北大理<sup>2</sup>) 工藤 翔<sup>1</sup>、重田由香<sup>2</sup>、○岸本直樹<sup>1</sup>

【序】準安定励起原子衝突2次元電子分光法(2D-MIES)は、準安定励起原子 $\text{He}^+(2^3\text{S})$ を用いた衝突イオン化反応によって標的分子から放出された電子の運動エネルギーを測定する衝突イオン化電子分光法に加え、励起原子 $\text{He}^+$ の衝突速度(衝突エネルギー)を同時計測する手法である。この方法により、固体最表面における分子の電子構造や反応を選択的に観測し、励起原子と標的物質の間の相互作用についての情報を得ることができる。これまで我々は、低温の銀基板上に吸着した五員複素環式化合物でNa原子を挟んだ超薄膜を対象として、昇温による電子構造の変化について研究を行ってきた。本研究では、他のアルカリ金属(LiやCs)を用いた超薄膜に対しても2D-MIESを適用し、有機分子(五員複素環式化合物)の電子構造の変化を観測した。

【方法】衝突エネルギー/電子エネルギー分解2次元電子分光法<sup>1)</sup>では、ノズル放電型励起原子ビーム源で生成した励起原子ビームを高速回転するチョッパーでパルス化し、 $\text{He}^+$ 原子の飛行時間と電子エネルギーの2パラメーターに対応した多チャンネル測定器で電子計測数を記録した後、放出された電子を電子エネルギー分析器を用いて観測し、バンド強度の衝突エネルギー依存性を解析した。固体表面に吸着した五員複素環式化合物は、超高真空チャンバー内で液体窒素を用いて冷却した銀の単結晶に試料分子を吸着させて作成した。アルカリ金属は、ディスペンサーを用いて通電加熱によって蒸着した。

【結果と考察】図1に、Liの超薄膜をフラン超薄膜で挟んだサンドイッチ薄膜を昇温した場合のMIESスペクトルを示す。基板の温度が100Kを超えた辺りからバンド構造の変化が顕著になり、最終的には元の $\pi$ バンドよりも高電子エネルギー側にバンドAが観測された。図1(b)に示したように、この3つのバンド強度は衝突エネ

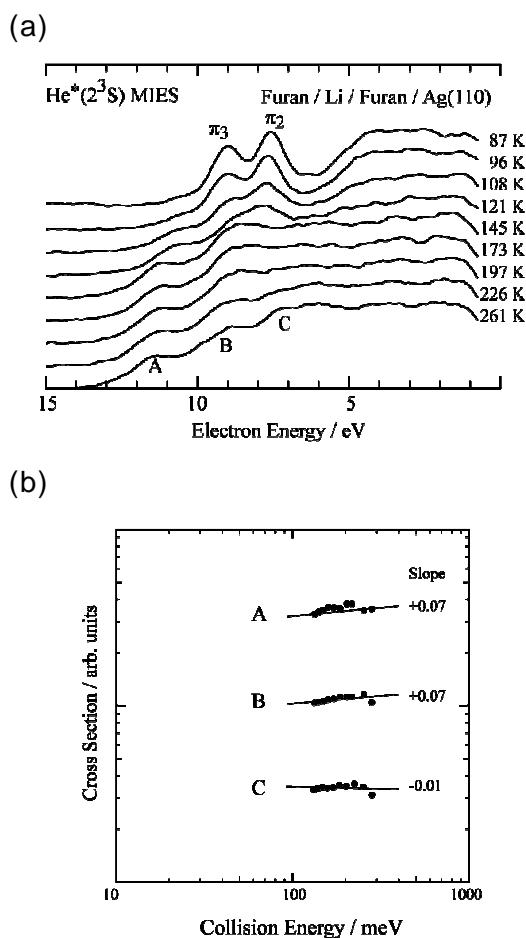


図1. (a) Li を挟んだフラン薄膜の MIES スペクトルと、(b) 観測されたバンド強度の衝突エネルギー依存性

ルギーに伴って変化している。バンド A と B の正の衝突エネルギーは、フラン薄膜の  $\pi$  バンドの負の衝突エネルギー依存性 ( $m = -0.25$ ) とは大きく異なっていることから、Li と昇温によって反応が促され電子構造の変化があったことが分かる。本研究では、ab initio 分子軌道計算を用いて、バンド A の帰属について検討した。グリーン関数法を用いたイオン化エネルギー計算から、単体のフランの第一イオン化エネルギーと比較して 1-2eV ほど小さな第一イオン化エネルギーをもつ化合物として、①脱水素化物  $\text{Li-C}_4\text{H}_3\text{O}$  と②錯合体  $\text{Li-(C}_4\text{H}_4\text{O)}_2$  の 2 つを候補としたが、実験結果の正の衝突エネルギー依存性に合致するような、励起原子  $\text{He}^*$  との相互作用のモデル計算の結果が斥力的になるものを見つけることは出来なかった。

図 2 に、チオフェンの超薄膜でアルカリ金属を挟んだ薄膜を昇温した場合の MIES スペクトルを示す。Na を挟んだ場合には電子構造の変化が顕著となり、2 つのバンドが観測された。一方、Cs を挟んだ場合には、バンド構造が見られなくなるような変化が起こった。これら 2 つのスペクトルの違いはアルカリ金属の違いに起因しているが、Na を用いた場合には脱水素化による重合が促されていると考えられるのに対して、Cs ではフランの薄膜の場合と同様に第一イオン化エネルギーが小さくなるような変化が起こっている。Na の場合にはバンド 1 に大きな負の衝突エネルギー依存性 ( $m = -0.16$ ) が観測され  $\pi$  バンドであると帰属できるが、Cs を用いた場合の化合物では MIES 強度が弱いことから  $\pi$  電子を有する化合物であるとは考えにくい。

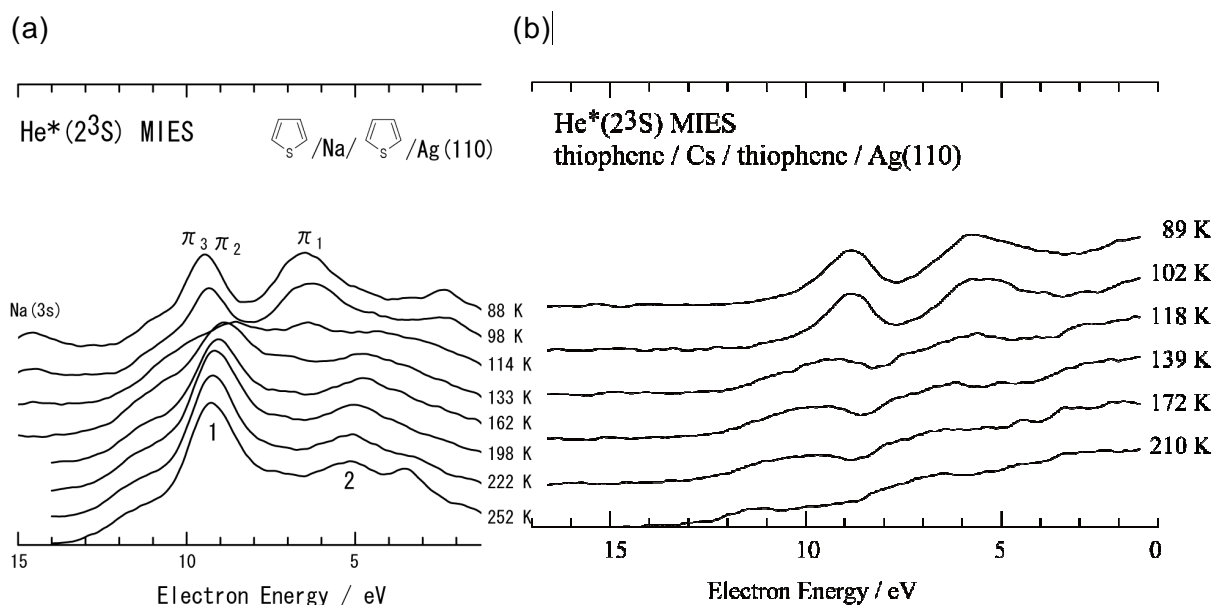


図 2. チオフェン薄膜を昇温した MIES スペクトル。(a)は Na を、(b)は Cs をチオフェンで挟んだ場合について示している。

【参考文献】 1) N. Kishimoto and K. Ohno, *Int. Rev. Phys. Chem.* **26**, 93(2007).

## 4P064

### 金薄膜上のナノヴォイドにおける蛍光増強の顕微分光研究

(<sup>1</sup>早大理工, <sup>2</sup>分子研・総研大, <sup>3</sup>JST さきがけ) ○市川 悟史<sup>1</sup>, 岡本 裕巳<sup>2</sup>, 井村 考平<sup>1,3</sup>

【序】金属ナノ構造に光を照射した際に生じるプラズモン励起は、光電場を増強するため、近接して存在する分子の蛍光やラマン散乱の増強に有効である。最近、著者らのグループは、金からの二光子発光を用いて、金属膜に作製したヴォイド（空孔）周辺でもプラズモン励起が起こることを報告した<sup>1)</sup>。本研究では、金薄膜に円形のナノヴォイドを作製し、ヴォイドの蛍光増強媒体としてのポテンシャルとその増強機構を、近接場光学顕微鏡を用いて解明することを目的とする。

【実験】ナノヴォイド構造は、ポリスチレン球の自己集合、金薄膜蒸着、ポリスチレン球の溶解除去の三段階で作製した。測定試料は、ナノヴォイド構造に蛍光色素ローダミン6Gの水溶液を塗布乾燥させることで作製した。試料の蛍光像、透過像、二光子励起像は、開口型近接場光学顕微鏡（SNOM）を用いて測定した。SNOM測定では、全走査点においてスペクトルを取得した。蛍光測定には532 nmレーザーを、透過測定にはキセノンランプを、二光子測定にはモードロックチタンサファイアパルスレーザーをそれぞれ光源として用いた。

【結果と考察】図1(a)-(d)にナノヴォイド構造の走査型電子顕微鏡（SEM）像、蛍光像、透過像、二光子励起像をそれぞれ示す。図2に、図1の破線部における断面プロファイルを示す。図1(a)のSEM像において、明部は金薄膜に、暗部はヴォイドに相当する。SEM像を注意深く観察すると、ナノヴォイドの辺縁部分では、薄膜が崩壊した微小なナノ微粒子が多数存在することがわかる。これはポリスチレン球を除去する過程で生成したものである。透過像（図1(b)）では、ガラス部分は明部、また金薄膜部分は暗部として観察され、全体的な特徴はSEM像と良く一致する。透過像の偏光特性について測定した結果、偏光により観察される像に大きな差異は認められなかった。

蛍光像（図1(c)）では、ナノヴォイドが均一な明部として観測されるのではなく、ヴォイドの辺縁部において蛍光の増強が観測される。一方、金薄膜部分では、蛍光が弱く観測される。金薄膜部分では、金薄膜の吸収や励起分子から金属へのエネルギー移動により蛍光が消光されていると考えられる。ヴォイド辺縁部で観測される蛍光の増強は、この部分において消光よりも増強効果の方が優勢であることを示す。また、蛍光スペクトルの解析から、ヴォイド内部と増強の顕著な辺縁部では、スペクトルが大きく変化しないことが明らかとなった。このことは、蛍光放出過程は蛍光増強に強くは関与していないこと示唆する。

二光子励起像（図1(d)）からは、ナノヴォイドの辺縁部分において発光が強く観測されることが分かる。二光子励起過程では、電場増強部が明部として観察される。二光子励起像と蛍光像を比較すると、電場増強部が蛍光増強部と概ね一致する。励起波長により増強部位が変化しないと考えると、このことは、光電場増強が蛍光増強に大きな影響を及ぼすことを示している。さらに、図2(c,d)を詳しく比較すると、二光子励起の場合と比べて、蛍光像の増強部の方が、プロファイルがヴォイド中央に向かって緩やかに広がることが分かる。両者の違いは、励起過程の違いに起因するのではなく、輻射過程などの違いに起因すると考えられる。

蛍光の発光速度 $\gamma_{em}$ は、励起速度 $\gamma_{exc}$ と量子収率 $Q = \gamma_f / (\gamma_f + \gamma_{nr})$ を用いて、

$$\gamma_{em} = \gamma_{exc} Q = \gamma_{exc} \frac{\gamma_r}{\gamma_r + \gamma_{nr}} \quad (1)$$

と表される。ここで $\gamma_r$ と $\gamma_{nr}$ は、それぞれ励起状態の輻射減衰速度と無輻射減衰速度である。蛍光が増強する要因として、励起速度 $\gamma_{exc}$ の上昇と輻射減衰速度 $\gamma_r$ の上昇の2つが考えられる。本研究で使用したローダミン6Gの量子収率は励起波長532 nmにおいて約1であり、輻射減衰速度の変化により、観測された蛍光増強を説明することはできない。一方、励起速度 $\gamma_{exc}$ は遷移双極子モーメント $\mathbf{p}$ と局所励起電場 $\mathbf{E}$ を用いて次式のように表せる。

$$\gamma_{exc} \propto |\mathbf{p} \cdot \mathbf{E}|^2 \quad (2)$$

この式から、局所電場の増大により、励起速度が高くなることが予想される。プラズモン励起によって生じる増強光電場は、見かけ上、励起光強度が高くなることに対応する。通常ファーフィールドの励起では、増強部以外では、光電場強度が小さくなるために蛍光は弱くなり、光照射領域全体で考えると蛍光の増強は観測されない。一方、近接場での局所励起では、光増強場の空間スケール(<50 nm)と光照射領域の空間スケール(~60 nm)が同程度となるため、増強部位を可視化することが可能となる。以上の理由から、蛍光像において観測された増強部位は、光電場増強部位を反映していると考えられる。二光子励起の結果と合わせて考えると、このことは、励起波長により増強部位が変化しないことを示しており、光電場増強に避雷針効果が重要な役割を果たしていることを示唆する。

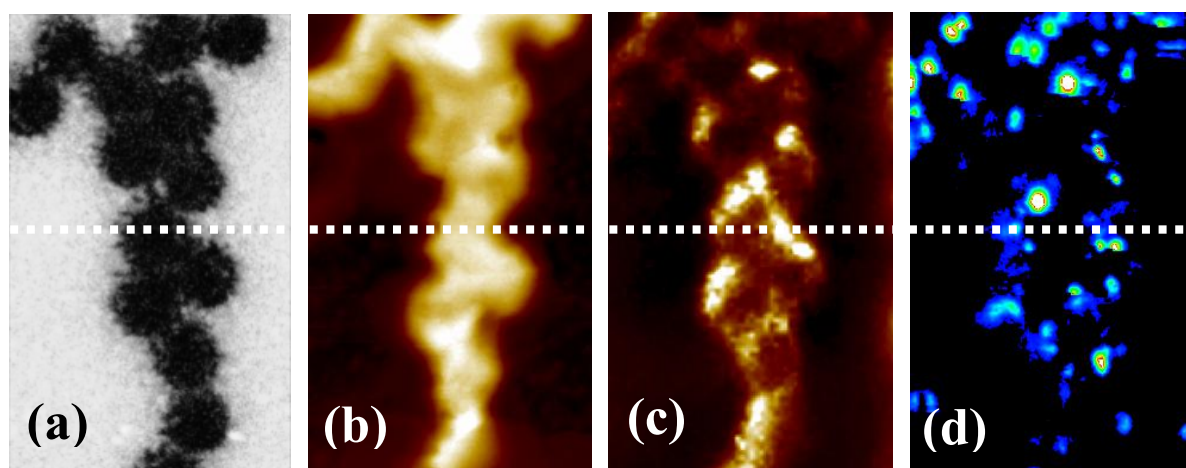


図1 作製したナノヴォイドの (a) SEM 像, (b) 透過像 (観測波長 830 nm), (c) 蛍光像 (励起波長 532 nm), (d) 二光子励起像 (励起波長 800 nm)。イメージサイズ:  $3.5 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$ 。

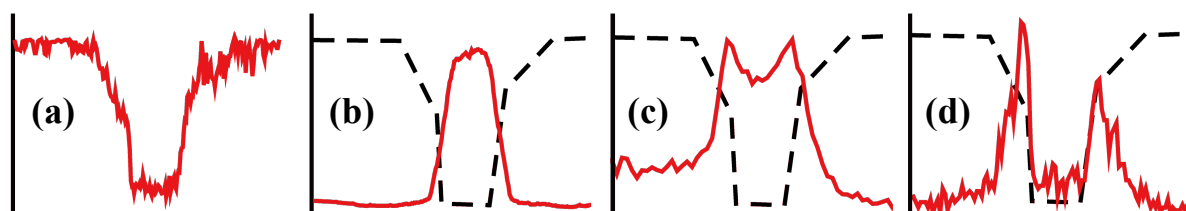


図2 図1の破線の断面図。(a) SEM 像, (b) 透過像, (c) 蛍光像, (d) 二光子励起像。破線は、SEM 像より得られたヴォイドの概形を示す。

#### 【参考文献】

[1] S. I. Kim, K. Imura, S. Kim, and H. Okamoto, *J. Phys. Chem. C* **115**, 1548 (2011).



## パルススパッタ法で生成したプラズマの飛行時間法による イオン組成解析装置の開発

(東北大院理<sup>1</sup>, (株)アヤボ<sup>2</sup>)

○田村哲郎<sup>1</sup>, 小安喜一郎<sup>1</sup>, 山本宏晃<sup>2</sup>, 石原太樹<sup>2</sup>, 塚本恵三<sup>1,2</sup>, 美齊津文典<sup>1</sup>

【序】 硬度や耐摩耗性に優れた機能性蒸着膜は、金属、半導体及びそれらの窒化物、酸化物などから構成され、表面保護や材質強化等の目的で産業部品に用いられている。そのような蒸着膜を生成する代表的手法の一つに、スパッタリング法がある。この手法は高エネルギーイオンをターゲット（膜形成材料）の表面に照射して、弾き出されたイオンを電圧印加した基板へ蒸着させるものである。また、弾き出された粒子を凝集させることによって、クラスターの生成も報告されている [1,2]。スパッタリング法の主な利点は、薄膜材料の種類を問わないことと、膜の密着力が良いことである。特に、高出力インパルスマグネトロンスパッタリング法（HIPIMS）は近年工業分野で注目を集めており、基礎研究も進められている [3,4]。この手法では、パルス状に高電圧を印加することによって低いデューティー比で、平均電力を抑えながらスパッタリングを行うことが可能である。そのため、ターゲットの加熱が抑制されてスパッタ源への影響が小さい。一方、瞬間的な高出力でスパッタリングを行うため、高密度プラズマの生成が可能であり、従来の RF もしくは DC マグネトロンスパッタリング法と比較して高いイオン化度が得られる [5]。このことから、HIPIMS を用いることによってより高品質の成膜が可能になると期待されている。また、多量のイオンを得られるので、電場・磁場による蒸着種の制御や膜組成の制御が可能である。

しかし、現在の成膜過程では、望む特性を持った薄膜の蒸着や性能の改良は経験的なものとなっている。そこで膜の物性を生成前の段階で直接制御し、合理的に機能性薄膜を生成することが望まれている。これを達成するためには、プラズマの解析が必要となる。プラズマ中に存在する粒子の種類、密度、エネルギー状態を知ることによって、反応過程、薄膜生成機構の解明に大きな手がかりが得られる。また、検出信号をフィードバックすることで、プラズマ状態の再現性や制御性を改善できる。

この目的で、発生したプラズマ中のイオン組成、エネルギー分布の解析 [6]、イオン種のスパッタ源からの距離依存性の検討 [7] もすでに行われている。本研究では、さらに詳細なプラズマ解析を進めるために、スパッタリングで生成するプラズマ中のイオン分布を観測し、蒸着した膜の物性との相関を明らかにすることを目的として、成膜とイオン分布測定を同時に行える装置を開発した。

一般にイオン組成は、発光分光もしくは四重極型質量分析計を用いて検出されるが、スパッタ源のパラメータ制御によるイオン組成の変化をショット毎に確認するためには、飛行時間型（TOF）質量分析計が有用である。そこで本研究では、HIPIMS によるスパッタ源と TOF 質量分析計を組合せた装置を開発して、発生したプラズマの

解析を行った。

【実験装置・方法】 自作の TOF 質量分析計にマグネトロンスパッタ源 (Gencoa 社) を組合せた装置を開発した (図 1)。スパッタ源には HIPIMS 用電源 (Hüttinger 社 Highpulse 4002) を用いて高電圧パルスを印加し、プラズマを発生させた。質量分析計は Wiley-McLaren 型の加速部にリフレクトロンを組合せることによって、質量分解能を向上させた。10 Hz で稼働させた HIPIMS からのスパッタのパルス放電と同期させてアパーチャからイオンを引き出すことによって、質量スペクトルを測定した。ターゲットをチタン (Ti) またはクロム (Cr)、スパッタガスをアルゴン (Ar)、窒化物膜生成を狙うときには反応性ガスに窒素 ( $N_2$ ) を用いてスパッタリングを行った。

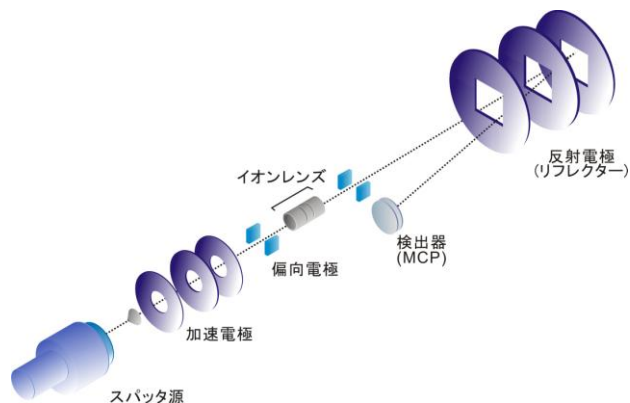


図 1. 装置図

【結果と考察】 初めに、ターゲットに Ti を用いて、放電からの時間遅延によるイオン組成の変化を測定した。放電開始直後は主に  $Ar^+$  が観測され、その後は  $Ti^+$  が多く観測された。また、 $Ti^+/Ar^+$  比の最大値は 2 以上であった。これらの結果は既報 [6] と一致しており、装置が期待通りに機能することが確認できた。次に、本装置を用いて、窒化クロム成膜条件でのプラズマの質量スペクトルを測定した (図 2)。ショット毎のイオン分布を測定可能であるが、図は 100 秒間積算して得られたスペクトルである。この図から、特に一価イオン  $Cr^+$  が生成し、他に  $Ar^+$ 、二価イオン  $Cr^{2+}$  が観測されることがわかった。一方、窒化クロムイオンは観測されなかった。また、クラスターイオンも観測されなかった。蒸着膜を X 線回折法により解析したところ、膜の組成は  $CrN$  であることがわかった。図 2 の質量スペクトルで  $CrN^+$  が観測されなかったことから、 $CrN$  は基板上で生成し、蒸着すると考えられる。

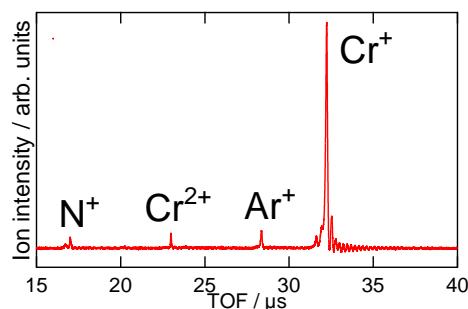


図 2. Cr ターゲットの HIPIMS によって生成されたイオンの質量スペクトル

#### 【参考文献】

- [1] H. Haberland, M. Karrais, and M. Mall, *Z. Phys. D*, **1991**, 20, 413.
- [2] H. Yasumatsu, T. Hayakawa, S. Koizumi and T. Kondow, *J. Chem. Phys.*, **2005**, 123, 124709.
- [3] W.-D. Münz, M. Schenkel, S. Kunkel, J. Paulitsch, and K. Bewilogua, *J. Phys: Conf. Series*, **2008**, 100, 082001.
- [4] A. P. Ehasarian, *Pure Appl. Chem.*, **2010**, 82, 1247.
- [5] K. Sarakinos, J. Alami, and S. Konstantinidis, *Surf. Coat. Technol.*, **2010**, 204, 1661.
- [6] J. Bohlmark, M. Lattemann, J.T. Gudmundsson et al., *Thin Solid Films*, **2006**, 515, 1522.
- [7] A. P. Ehasarian, J. Andersson, and A. Anders, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2010**, 43, 275204.

## 4P066

カーボンナノチューブ成長とフラレンの生成機構に関する理論研究

(首都大・院・理工) 橋本健朗, ○大町 岳, 兒玉 健, 阿知波 洋次

**[序]**  $(m,n)$ の記法で表されるカイラル指数 (言い換えると直径、あるいはネットワーク) の揃ったカーボンナノチューブ(CNT)の作成が重要な課題となっている。レーザーアブレーションでは(5,5)はフラレンが、(6,5)はCNTが生成しやすいことがわかっているが、成長機構に関する知見は乏しい。(5,5)の種は  $C_{30}$  で、

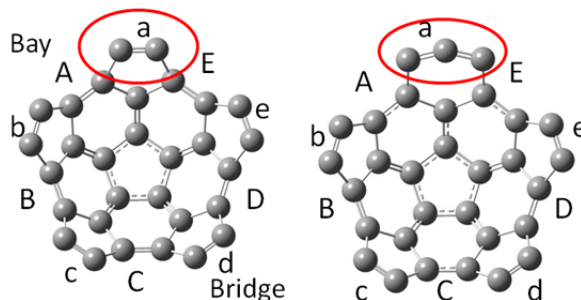


図 1. (5,5) $C_{30}$ (左)、(6,5) $C_{31}$ の構造

図 1 左に示した縁に 5 つの Bay(A-E) (Arm Chair 型構造) と 5 つの Bridge(a-e)を持つ。一方、(6,5)の種  $C_{31}$  は一つの Bridge が 6 員環となった構造 (図 1 右) で両者はよく似ている。本研究では、(5,5) $C_{30}$  及び(6,5) $C_{31}$  への段階的  $C_2$  付加反応 ( $C_{30} + C_2 \rightarrow C_{32}$ ,  $C_{32} + C_2 \rightarrow C_{34}$ , ...,  $C_{31} + C_2 \rightarrow C_{33}$ ,  $C_{33} + C_2 \rightarrow C_{35}$ , ...) の機構、エネルギー関係を密度汎関数法(B3LYP/6-31G)により計算し、反応経路や実験結果の背景にある分子論的な情報を得ることを目的とした。

**[(5,5)  $C_{30}$  への  $C_2$  付加反応]**  $C_2$  が Bay に結合して 6 員環ができる場合と 5 員環ができる場合がある。5 回  $C_2$  付加した際、全ての Bay が 6 員環となるとチューブ型の  $C_{40}$  ができ、さらなる(5,5)CNT成長の種となる。 $C_{40}$  では、元々  $C_{30}$  で Bay だった場所が Bridge に、Bridge だった場所が Bay に変換される。一方、全て 5 員環となり 5 員環の先の炭素同士が結合して閉じるとフラレンの  $C_{40}$  ができる。

$C_{30} + C_2$  では Bay に 6 員環を持つ  $C_{32}$  が最安定生成物で約 8eV 発熱であった。その構造を  $C_{30}$  から見て 6 員環が 1 個、5 員環がゼロ個増えたという意味で[1,0]と記す。次に[1,0] $C_{32}$  に  $C_2$  を付加した異性体を探索し、得られた安定な構造を次の  $C_2$  付加の反応物とした。生成物はすでに付加している  $C_2$  が他の Bay には移動しないが Bay 内で回転した異性体は尽くした。同様に  $C_{36}$ 、 $C_{38}$ 、 $C_{40}$  について、それぞれの Bay に 5 員環または 6 員環で付加した異性体、異性体間の遷移状態を求めてエネルギー関係を確認した。 $C_{32}$ 、 $C_{34}$ 、 $C_{36}$  は隣接する Bay に 6 員環を持つ[1,0]、[2,0]、[3,0]構造が最安定であった。一方、 $C_{38}$  は[0,4]構造であるフラレン前駆体が最安定であった。図 2 に  $C_{38}$  の異性化のエネルギー関係

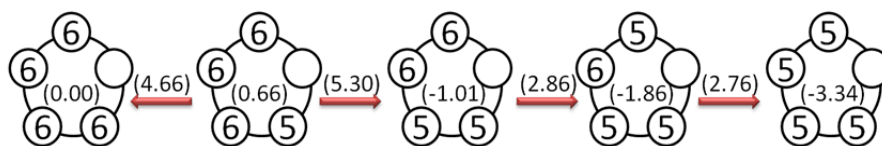


図 2.  $C_{38}$  の異性体のエネルギー関係。左から[4,0],[3,1]...[0,4]。括弧内の数字は相対エネルギー(eV)。矢印の上の数字は遷移状態のエネルギー。

係を示した。

[3,0]  $C_{36} + C_2$  で [4,0] ないし [3,1] の  $C_{38}$  ができる。[3,1] から [0,4] までの異性化反応の最大の障壁も  $C_2$  付加で得られる約 10eV の安定化エネルギーで十分超えられる。 $C_{40}$  では [0,5] が最安定で、[5,0] は約 5.44eV 高い。

各サイズで安定な構造に落ち着く前に  $C_2$  付加した場合を考えても  $C_{40}$  では [5,0] [4,1] ... [0,5] のいずれかに行き着く。Bay 内での  $C_2$  の回転による異性化を考慮すると [0,5] フラーレンが生成物の安定性という意味では最も有利だが、[5,0]  $C_{40}$  CNT を生成する反応経路も開いている。[5,0]  $C_{40}$  CNT から  $C_{50}$ 、[5,0]  $C_{50}$  CNT から  $C_{60}$  にも同様な議論ができる。(5,5)  $C_{30}$  を種として成長する過程でフラーレンにならなかった生き残りが CNT というシナリオは実験と矛盾しない。

[(6,5)  $C_{31}$  への  $C_2$  付加反応]  $C_{41}$  までの  $C_2$  付加反応を (5,5) と同様の方法で調べたと

ころ、 $C_{41}$  ではすべての Bay が 6 員環となった構造が最安定であった。この構造では図 3 の中で a の位置が zigzag 構造となる。 $C_{43}$  では、a の左側に  $C_2$  付加した構造が最安定であった。この構造の特徴は青で示した階段(Near Arm Chair)構造を持つこと

で、HOMO の中で階段の炭素の 2p の係数が大きい (反応点)。 $C_{43} + C_2 \rightarrow C_{45}$  では階段構造の Bay に  $C_2$  付加した場合が最安定であり、出来た  $C_{45}$  は新たに階段構造 (反応点) も隣の Bay に移動する。図 5 に  $C_{65}$  から  $C_{75}$  について示したように、HOMO 中 2p の係数の大きい炭素の移動はより大きいサイズでも同様にみられる。そこで  $C_{45}$  から  $C_{97}$

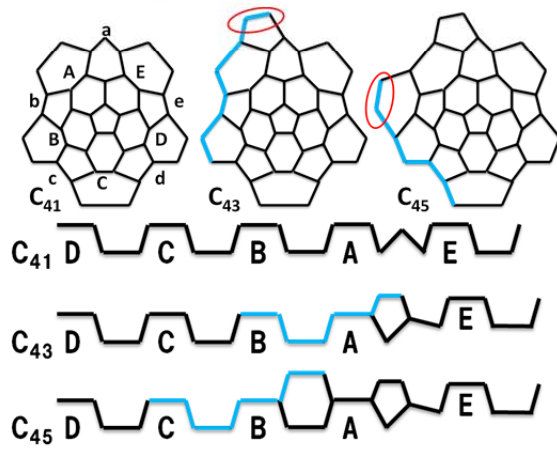


図 3.  $C_{41}, C_{43}, C_{45}$  の展開図と階段構造

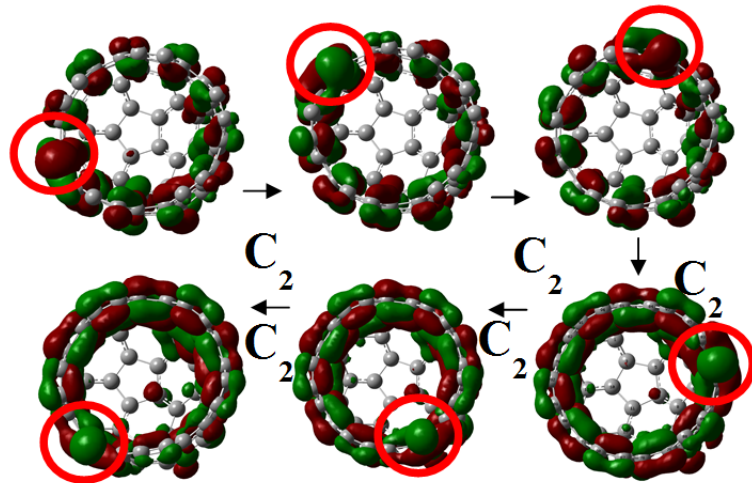


図 4.  $C_{65}$  から  $C_{75}$  の HOMO

まで階段に次々と  $C_2$  が付加し、螺旋状に CNT が成長する場合と他の Bay に  $C_2$  が付加する場合のエネルギーを比較した。その結果、 $C_{63}, C_{73}, C_{81}$  で後者にエネルギーの低い構造が見つかった。これらの異性体では CNT の口が閉じた構造になっている。(6,5)CNT では螺旋状成長反応はエネルギーに可能だが、いくつかのサイズで CNT の口が閉じる停止反応の競争になっていることが示唆される。現在、各サイズでの停止反応の検討を進めている。

## 4P067

### 金クラスター上での塩素原子の吸着特性の理論的研究

(阪大院・理<sup>1</sup>, CREST<sup>2</sup>) 多田 幸平<sup>1</sup>, 坂田 晃平<sup>1</sup>, 北河 康隆<sup>1</sup>, 川上 貴資<sup>1</sup>, 山中 秀介<sup>1</sup>, ○奥村 光隆<sup>1,2</sup>

【序】金の粒径が 5nm 以下の超微粒子を金属酸化物に担持したものは金超微粒子担持触媒と呼ばれる。金超微粒子担持触媒は、-70°Cの低温でも一酸化炭素の酸化反応に対して高い活性を示すという他の貴金属担持触媒には見られない特異な触媒活性を有している。他の貴金属担持触媒の調製法として知られる含浸法で調製した金担持触媒は金粒子径が大きくなり、高活性な触媒とならない。高活性な金微粒子担持触媒を調製するには金超微粒子の凝集を抑えるために、調製中に前駆体から還元等により塩素を除去するか前駆体として塩素を含まない金化合物を用いなくてはならない。このような、金担持触媒調製時における塩素による金粒子の凝集促進はよく知られたことであるが、その詳細な機構についての明快な説明は未だなされていない。そこで、この問題への理論的アプローチとして、中性金クラスターに塩化物イオンが吸着したモデルに対して第一原理計算を行い、金クラスターの電荷・構造が塩化物イオンの吸着によりどう変化するか検証した。

【計算手法】全ての計算は、密度汎関数法で行った。交換汎関数、相関汎関数共に PBE (Perdew-Burke-Enzerhof) を使用し、開殻系に対しては制限計算で、閉殻系に対しては非制限計算で計算した。金の基底関数には LANL2DZ を使用し、塩素の基底関数には 6-31+G\* を使用した。計算プログラムには GAUSSIAN03 を用いた。

【結果と考察】Au<sub>2</sub>, Au<sub>3</sub>, Au<sub>4</sub>, Au<sub>5</sub> の最安定構造の金クラスターに塩化物イオンが 1 つだけ吸着したモデルクラスター (Au<sub>n</sub>Cl, n=2,3,4,5) に対して計算を行った。得られたモデルクラスター (Au<sub>n</sub>Cl, n=2,3,4,5) の安定構造を図 1 の A,D~J に示した。スピン多重度は、金原子数が偶数のものは 1 重項、奇数のものは 2 重項である。塩化物イオンの吸着による大きな構造変化は見られなかったが、クラスター内の平均金原子間距離は長くなる傾向が見られ (表 1)、Au-Au 結合が伸張し、塩化物イオンの吸着により弱くなることが確認された。

次に、Au<sub>2</sub> クラスターに結合する塩化物イオン数を 2 つ、3 つと増やしていく計算を行った。Au<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub><sup>2-</sup>モデルクラスターに対しては安定構造が得られた (図 1 B,C) が、Au<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub><sup>3-</sup>モデルクラスターには安定構造が見出せなかった。Au<sub>2</sub>Cl 分子と Au<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub><sup>2-</sup>分子中の Au-Cl 結合の結合エネルギーを比較すると Au<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub><sup>2-</sup>モデルクラスター中の Au-Cl 結合の方が Au<sub>2</sub>Clモデルクラスター中の Au-Cl 結合よりも結合距離がさらに伸張していることが分かった。

次に、殻構造をとる金クラスターの最小モデルである正二十面体型 Au<sub>13</sub> クラスターへの塩化物イオン吸着についても議論した。このモデルの基底スピン多重度は 6 重項とした。まず、top, bridge, hollow のいずれのサイトに吸着するのが最も安定なのかを検証した。結果として、top サイトへの吸着が最も安定だということが分かり、hollow サイトへ塩化物イオンが吸着した安定構造は存在しないことが分かった。次に、top サイトに吸着する塩化物イオンを 2 つ、3 つと増やしていった。Au<sub>13</sub>Cl<sub>2</sub><sup>2-</sup>モデルクラスターでは 2 通りの、Au<sub>13</sub>Cl<sub>3</sub><sup>3-</sup>モデルクラスターでは 9 通りの安定構造が得られた。それらの一部を図 1 L,M,N に示した。Au<sub>13</sub>Cl<sub>3</sub><sup>3-</sup>モデルクラスターのいくつ

かの安定構造では殻構造が崩壊しているのが見られた (図 1 N)。Au<sub>13</sub> クラスタにおいて塩化物イオン吸着数が増えると Au-Cl 結合及び Au-Au 結合が弱くなっていくことがわかった。

以上の結果に見られる Au-Au 結合及び Au-Cl 結合の不安定化は、塩化物イオンの吸着により金クラスタの電荷状態が変化するためと考えられる (表 1)。つまり、金クラスタに塩化物イオンが吸着すると、塩化物イオンから金クラスタへ電荷供与が起こる。それにより金クラスタがアニオンになり、Au-Au 結合及び Au-Cl 結合が不安定化するものと考えられる。

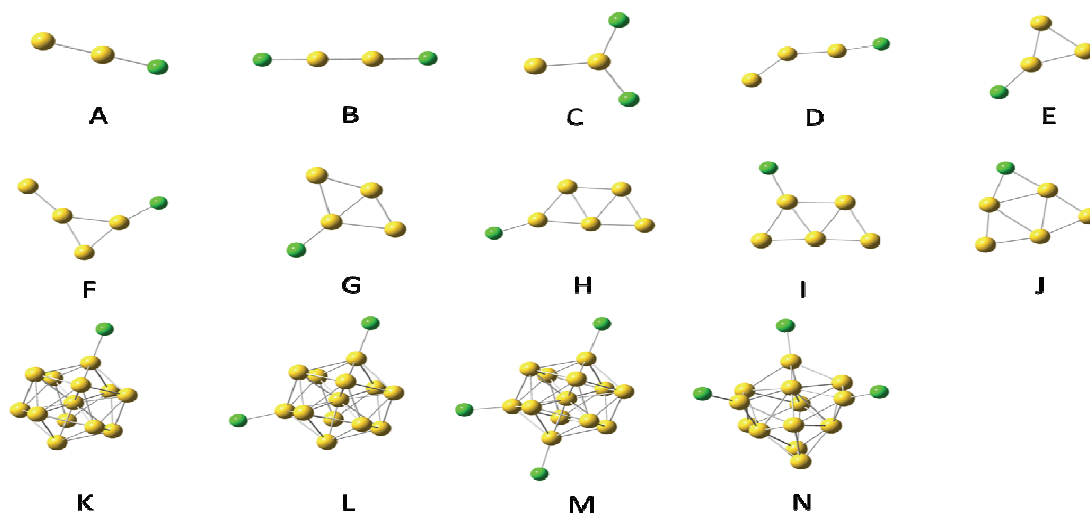


図 1 Au<sub>n</sub>Cl<sub>m</sub><sup>m-</sup>モデルクラスタの安定構造。A;Au<sub>2</sub>Cl<sup>-</sup>、B,C;Au<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub><sup>2-</sup>、D,E;Au<sub>3</sub>Cl<sup>-</sup>、F,G;Au<sub>4</sub>Cl<sup>-</sup>、H,I,J;Au<sub>5</sub>Cl<sup>-</sup>、K;塩化物イオンが top に吸着した Au<sub>13</sub>Cl<sup>-</sup>モデルクラスタ、L;Au<sub>13</sub>Cl<sub>2</sub><sup>2-</sup>モデルクラスタ、M;殻構造を維持した Au<sub>13</sub>Cl<sub>3</sub><sup>3-</sup>モデルクラスタ、N;殻構造が崩壊した Au<sub>13</sub>Cl<sub>3</sub><sup>3-</sup>モデルクラスタ

表 1. Au<sub>n</sub>Cl<sub>m</sub><sup>m-</sup>モデルクラスタの最安定 Au<sub>n</sub>クラスタからの平均金原子間距離の伸び  $\Delta R$  と金クラスタ上のマリケン電荷

分子式	構造	$\Delta R$ / Å	金クラスタ上のマリケン電荷 /a.u.
Au <sub>2</sub> Cl <sup>-</sup>	A	0.046	-0.748
Au <sub>3</sub> Cl <sup>-</sup>	D	0.030	-0.813
	E	0.138	-0.826
Au <sub>4</sub> Cl <sup>-</sup>	F	-0.025	-0.857
	G	0.060	-0.837
	H	0.010	-0.826
Au <sub>5</sub> Cl <sup>-</sup>	I	0.025	-0.852
	J	0.122	-1.197
Au <sub>13</sub> Cl <sup>-</sup>	K	0.006	-0.805
Au <sub>13</sub> Cl <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	L	0.015	-1.676

4P068

## シリコン表面上に構築された 単一サイズ白金クラスターディスクの熱安定性

(コンボン研\*, 豊田工大\*\*) ○福井信志\*, 安松久登\*\*

**【序】** 構成原子数が数個から数十個の金属クラスターは、様々な原子配置を持ったり電荷の局在が起こるなど、非常に特異的な性質を持っている。このような特異的な性質から機能を引き出すためには、固体表面上に担持することが最も適切な方法の一つである。この例として、白金クラスターは、室温でシリコン(111)表面上に単原子層ディスクとして安定に固定される[1]。このクラスターの中央部と周辺部では、それぞれ正と負に分極し (ナノ空間電荷)、その結果として強い電場がクラスターと基板との界面に誘起されていることが、走査トンネル顕微鏡(STM)と空間分解トンネル分光によって明らかになった[2,3]。強い局所電場は、電子放出や電子移動の効率を著しく高くする効果が期待できるため、このクラスターディスクからは、分子分極や電荷移動に基づいた触媒や光電変換の機能が抽出できると考えている。これを目指して、シリコン表面に担持された白金クラスターディスクによる一酸化炭素の熱酸化反応を昇温脱離質量分析法により調べている[4]。

シリコン(111)-7x7 再構成面は最外層にダングリングボンドが存在しているため、白金クラスターは白金・シリコン結合により固定される。従って、室温に置いても動かない。この特徴は、グラファイトなどの不活性な界面には、原子アンカー[5]や欠陥[6,7]を導入しないとクラスターが固定できない現象とは対称的である。一方、白金/シリコンの二成分からなる薄膜は、加熱処理によって、その構成比や温度に応じた様々な白金薄膜の表面再構成[8]や、白金/シリコンの二成分ドメイン[9]が形成されていることが知られている。これらの二成分系での熱安定性を原子数が一意に定まったクラスターを担持したシリコン表面で調べることにより、白金による表面再構成やドメイン形成に及ぼすクラスターサイズの影響を明らかにできる。

以上の点に着目し、シリコン(111)-7x7 再構成表面上の白金クラスターの熱安定性を、クラスター形状、担持サイト、およびその電子状態の変化について STM を用いて評価した結果について報告する。

**【実験】** 本報告で用いた装置を図1に示す[1]。アルゴン/ヘリウム混合気体の存在下にて白金ターゲットをマグネトロンスパッタすることにより、白金クラスターイオンを大量に生成し、四重極質量フィルターにてサイズ選別を行った。デポジション室(ベース圧力  $5.0 \times 10^{-8}$  Pa, クラスター蒸着時  $1.0 \times 10^{-7}$  Pa)にて、単一サイズのクラスターイオンを白金原子あたり 1 eV まで減速させ、シリコン(111)-7x7 表面に単一サイ

ズクラスターを担持させた。

白金クラスターの担持後、STM室( $2.0 \times 10^{-8}$  Pa)にサンプルを移動し、室温にて STM 観察を行った。サンプルの熱安定性を計測するために、STM 室内に設けたサンプルヒーターにより通電加熱し、室温まで冷却後 STM 測定を行った。

シリコン(111)- $7 \times 7$  表面は、シリコン(111) (n 型,  $0.02 \Omega \text{ cm}$  以下,  $500 \mu\text{m}$  厚) を  $3 \text{ mm} \times 8 \text{ mm}$  に切り出した後、準備室 ( $1.0 \times 10^{-8}$  Pa) にて  $1450 \text{ K}$  まで通電加熱によるフラッシングを繰り返して作成した。

**【結果】** 図 2 には、 $\text{Pt}_{10}$  を担持した基板を  $1450 \text{ K}$  までフラッシング加熱した後に測定した STM 像を示す。 $\text{Si}(111) -7 \times 7$  の構造は壊れ、表面が再構成している様子が確認できた。この温度領域まで加熱すると、クラスターとしての形状を保つことができず、原子として表面拡散を起こしていることがわかった。

より低温で加熱した結果については、ポスターにて当日発表する。

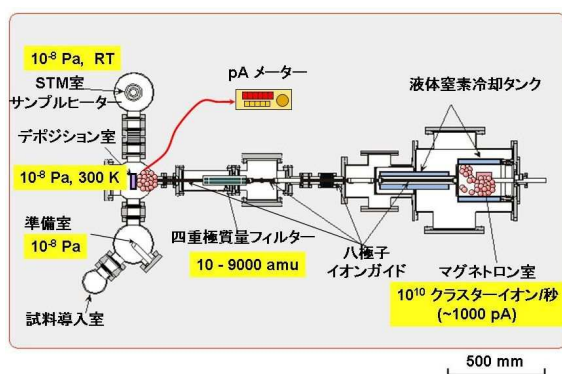


図 1 : クラスターイオン評価装置

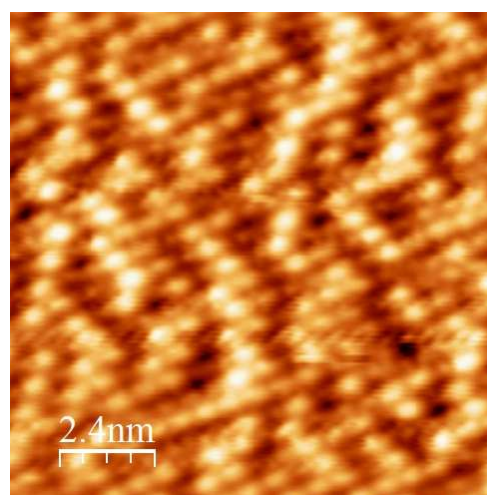


図 2 : フラッシング後のクラスター担持基板の STM 像  
(サンプル電圧 2.0V, トンネル電流 0.5nA)

## 参考文献

- [1] H.Yasumatsu *et al.*, *J.Chem.Phys.* 123. 124709(2005)
- [2] H.Yasumatsu *et al.*, *J.Chem.Phys.* 124. 014701(2006)
- [3] H.Yasumatsu *et al.*, *Chem. Phys. Lett.* 487. 279 (2010)
- [4] 安松久登、早川鉄一郎 第 4 回分子科学討論会 2010 大阪、3D08
- [5] T.Hayakawa *et al.*, *Eur.Phys.J. D* 52, 95-98 (2009)
- [6] W.Yamaguchi and J.Murakami, *Chem.Phys.Lett.*, 455, 261(2008)
- [7] M.Di Vece *et al.*, *Phys.Rev. B*, 72, 073407(2005)
- [8] 一例として P.Höpfner *et al.*, *Phys.Rev. B*, 82, 075431(2010)
- [9] A. Wawro *et al.*, *Phys.Rev. B*, 72, 205302(2005)



## 4P069

金ナノコロイド溶液によるフェムト秒レーザー誘起 X 線発生:粒子サイズ依存性  
(東大院理<sup>1</sup>・JST さきがけ<sup>2</sup>) ○吉田恵一<sup>1</sup>、畑中耕治<sup>1,2</sup>、山内 薫<sup>1</sup>

**【序】** 高強度フェムト秒近赤外レーザーパルスを集光すると、強光子場(1 PW/cm<sup>2</sup> 程度)と水溶液との相互作用の結果、パルスX線が発生することが知られている。Hatanakaらは塩化セシウム水溶液を対象試料にレーザーパルスを照射し、そのチャープ [1]、偏光 [2]、プレパルス照射 [3] の効果を報告してきた [4]。一方で近年、金ナノ微粒子における表面プラズモン共鳴効果に由来する局所電場強度の増強に基づく様々な現象が報告されている。本発表では、粒径の異なる球形金ナノ微粒子を含むコロイド溶液に関する基本的な評価に加え、レーザー誘起パルスX線発生に関する実験結果について報告する。

**【実験】** 室温、大気圧下においてフェムト秒レーザーパルス(40 fs, 800 nm, 1 kHz, Legened Elite HE USP, Coherent Inc.)を軸外し放物面鏡( $f=50.8$  mm)により液滴試料表面に集光照射した。液滴(直径 ~ 90  $\mu\text{m}$ )はインクジェットノズル(IJHB-100, MICROJET Corp.)により作成し、試料には蒸留水、塩化金酸水溶液( $\text{HAu}^{3+}\text{Cl}_4$  aq.,  $2.5 \times 10^{-3}$  mol/l)と、その塩化金酸水溶液をクエン酸ナトリウムにより還元、還流処理して得られた金ナノコロイド溶液を用いた。金ナノ微粒子の粒径操作は添加するクエン酸ナトリウムの量を変えることにより試みた。X線強度ならびに発光スペクトル測定は、ガイガーカウンター(model 5000, Health Physics Instruments)ならびにSi半導体検出器(XR-100CR, Amptek Inc.)により行った。

**【結果と考察】** 図1に各溶液の外観写真とそれぞれの電子顕微鏡写真を、図2に各溶液の吸収スペクトルを示す。透過型電子顕微鏡観察により得られた金ナノ微粒子の直径は10 nm 程度、30 nm 程度と求められた。吸収スペクトルには表面プラズモン共鳴に基づくと考えられる吸収ピークが波長 520 nm 付近に明瞭に観測されている。吸収ピーク波長は、粒径が10 nmの場合、ある程度の短波長シフトが観測されている。また30 nmでは長波長側に裾を引く吸収スペクトルが観測されているが、これは粒径がより大きなものも含まれていること、あるいは微粒子がある程度凝集していることを示唆していると考えられる。これら2種類の溶液を試料としその液滴にフェムト秒レーザーパルス(0.2 mJ/pulse)を照射して発生するX線をガイガーカウンターで測定したところ、これまでに粒径の異なる溶液2種の間で有意な差は観測されなかった。金ナノ微粒子は、その形状、大きさを変化させて作成することで表面プラズモン状態を自在に制御することが出来る”機能性

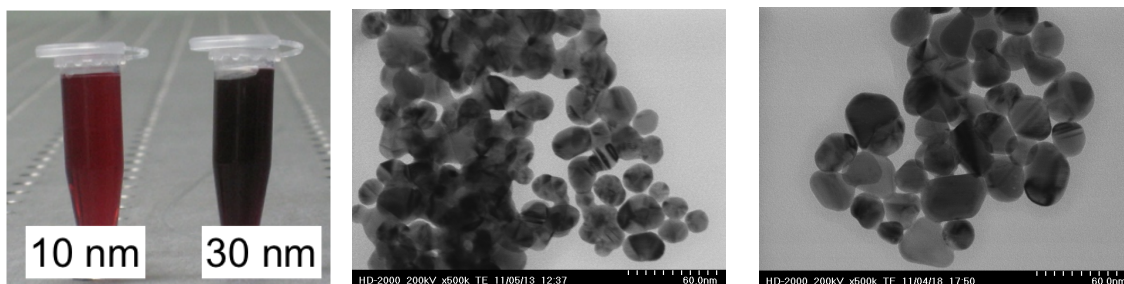


図1. 溶液の外観(左)と透過型電子顕微鏡写真(中央:10nm径、右:30 nm径)

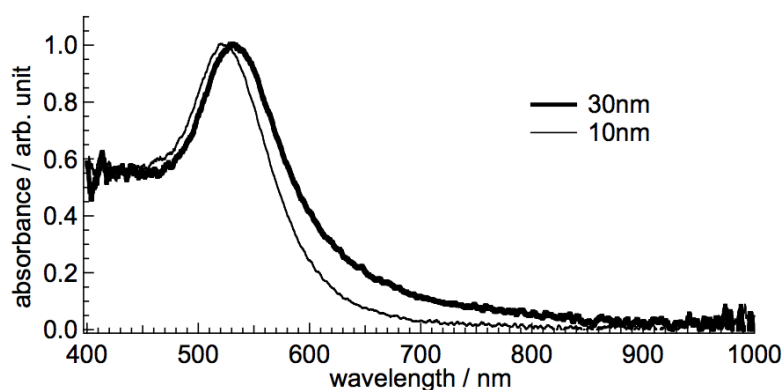


図2. 粒径の異なる金ナノコロイド溶液の吸収スペクトル

分子”として捉える事ができ興味深く、フェムト秒レーザーパルス誘起パルスX線発生に対しても、金ナノ微粒子の粒径依存性について明らかにすることは意義深い。塩化金酸水溶液と、それをもとに合成した金ナノコロイド溶液の液滴を試料としたフェムト秒レーザー誘起パルスX線発生の実験結果については口頭発表(4B09)で行う。

【謝辞】 本研究は先端レーザー科学教育研究コンソーシアム(CORAL)ならびに先端光量子科学アライアンス(APSA)の支援のもと行われた。また透過型電子顕微鏡観察は北海道大学北海道イノベーション創出 ナノ加工・計測支援ネットワーク(HINTS)の松尾保孝准教授に測定して頂いた。お世話になった方々に厚く御礼申し上げます。

#### 【参考文献】

- [1] K. Hatanaka, T. Ida, H. Ono, S. Matsushima, H. Fukumura, S. Juodkazis, H. Misawa, *Opt. Exp.*, **2008**, *16*, 12650.
- [2] 佐藤大輔、松島進一、小野博司、梶本真司、福村裕史、畑中耕治, *レーザー研究*, **2009**, *37*, 904.
- [3] K. Hatanaka, H. Ono, H. Fukumura, *Appl. Phys. Lett.*, **2008**, *93*, 064103.
- [4] K. Hatanaka, H. Fukumura, *X-ray Spectrometry*, **2011**, *in press*.

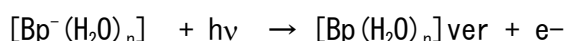
## 4P070

### 光によって引き起こされる溶媒和過程の実時間追尾： ダイレクト・アブイニシオ MD 法 によるアプローチ

(北大院・工) ○井山 哲二, 加藤 晃一, 田地川 浩人

■緒言■ ベンゾフェノン<sup>1</sup>は、C=Oカルボニル基を持つ分子の中で、最も溶媒効果の研究がされている分子の一つである。ベンゾフェノン分子を、気相中から極性溶媒へ入れる事により、n-π\*遷移は、ブルーシフトし、π-π\*遷移は、レッドシフトする。ベンゾフェノンは、この2つの遷移のシフトが同時に観測される最もシンプルな分子である。また、電子親和力も比較的大きいため、アニオンの遷移も観測可能であり、中性およびアニオンの吸収スペクトルの研究にもすぐれている。

以前我々は、ベンゾフェノン(Bp)アニオンラジカル-水クラスターの光電子脱離後のダイナミクスを Direct ab-initio Molecular Dynamics (MD)法で研究した。ベンゾフェノン-水クラスターが電子補足した時間をゼロとし、



その後の溶媒和ダイナミクスを Bp の吸収スペクトル変化として追尾した。すなわち、実時間での溶媒和ダイナミクスを観測することになる。その結果、Bp<sup>-</sup>(H<sub>2</sub>O) 1:1 錯体の場合、(1)nπ\*, ππ\* 遷移は、それぞれ、時間とともに blue-shift する、および(2)吸収スペクトルのシフトは、100-200 fs のタイムスケールで起こる、ことが明らかとなった。

本研究では、ベンゾフェノンと水 (またはメタノール) からなるクラスターを初期構造に取り、励起 3 重項状態への遷移によって引き起こされる溶媒和ダイナミクスをダイレクト・アブイニシオ MD 法により明らかにする。特に、溶媒和シェル完成までのタイムスケールのクラスターサイズ依存性を明らかにする。

■計算方法■ ベンゾフェノンと水の錯合体 Bp(H<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>(n=0-3)の構造を最適化した。計算は、B3LYP/6-31G(d)、B3LYP/ 6-311G(d, p)および B3LYP/ 6-311++G(d, p) レベルで行った。ダイナミクス計算は、B3LYP/6-31G(d)レベルでの Direct ab-initio Molecular Dynamics (MD)法[1-2]にて行った。温度の揺らぎの効果は、10 K の温度の ab-initio MD 計算にて考慮し、Franck-Condon 領域での構造を発生させた。その中から、数点をサンプリングし、励起 3 重項への励起によって引き起こされる溶媒和過程をエネルギー一定の Direct ab-initio MD 法にて追尾した。

#### ■結果と考察■

励起 3 重項への励起後のスナップショットを、図 1 に示す。カルボニルからの水の距離は、時間とともにほとんど変わらないが、ベンゼン環からの距離は、変化する。時間ゼロで、2.351 Å であるのに対し、376fs 後では、2.561Å へ伸び、水和構造の変化が見られた。これに対し、ベンゾフェノンに対する水の位置座標である角度(φ)が、150 度から 110 度まで大きく変化した。これは、基底状態でカルボニルの n 軌道に配向していた水分子が、3 重項励起により、π\*軌道へ再配向することを示している。

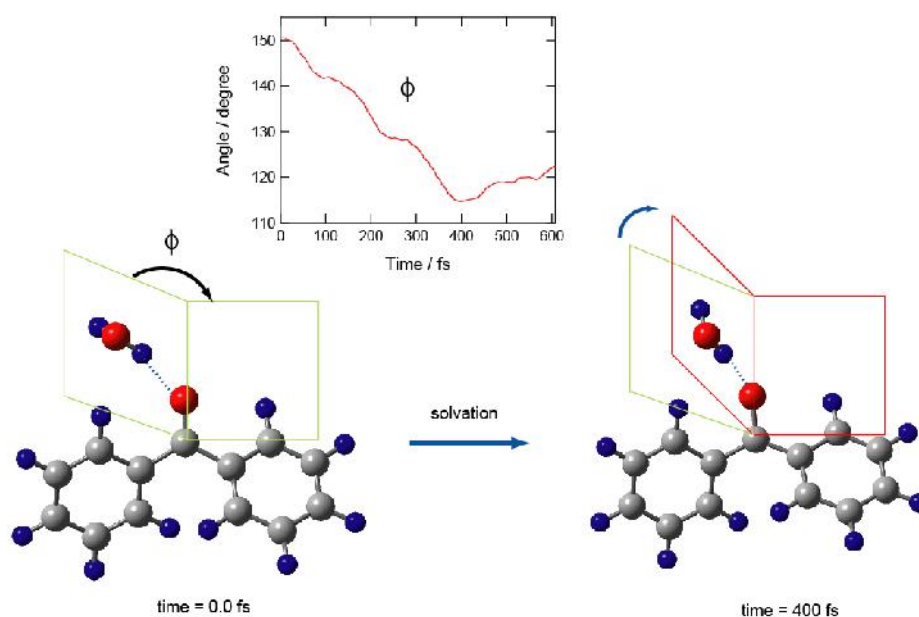


Figure 1. Snapshots of Bp(H<sub>2</sub>O) following the electronic excitation of Bp(H<sub>2</sub>O) to T<sub>1</sub> state calculated by means of direct ab-initio MD method.

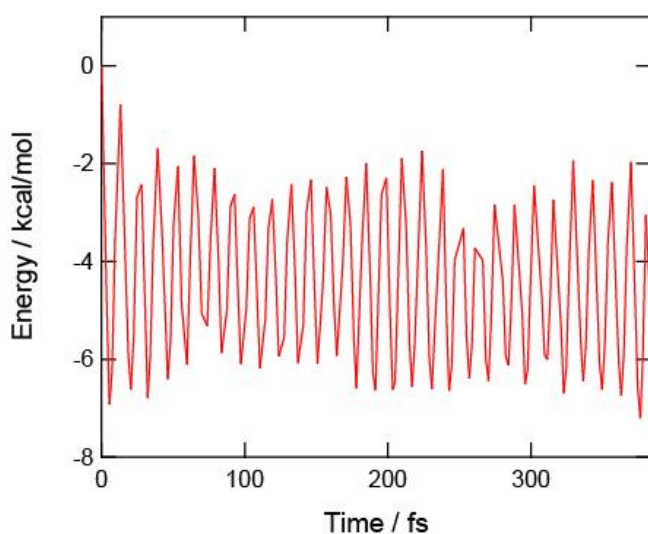


Figure 2. Time dependence of potential energy of Bp(H<sub>2</sub>O) to T<sub>1</sub> state calculated by means of direct ab-initio MD method.

電子脱離直後の時間をゼロとし、溶媒和形成へ向かう構造変化にともなうポテンシャルエネルギーの経時変化を図2に示す。時間ゼロで、S<sub>1</sub> からT<sub>1</sub> へ遷移した点でのエネルギーをゼロエネルギーとしている。ポテンシャルエネルギーは、遷移後、急激に低下する。これは、ベンゾフェノンのC=Oカルボニルの距離が変化したためである。その後、周期的にエネルギー変化する。講演では、ベンゾフェノンの励起3重項への遷移後の構造および電子状態の変化を議論する。

#### References

1. H. Tachikawa, T. Iyama, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **4**, 5806-5812 (2002).
2. H. Tachikawa, T. Iyama, K. Kato, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **11**, 6008-6014 (2009).

## 有機層状結晶における三成分混晶の形成

(北大院総化<sup>1</sup>, 北大院理<sup>2</sup>) ○小松宙夢<sup>1</sup>, 小門憲太<sup>1,2</sup>, 佐田和己<sup>1,2</sup>

### 【序】

有機層状結晶である混晶として三成分からなる混晶がどのような成分を含むかは高度な分子認識(自己認識と他者認識)の結果であり、分子認識の直交性の観点から大変興味深いと考えられる。我々はこれまで1-ナフチルメチルアミン(NMA)と直鎖脂肪酸( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{n-2}\text{COOH}$ )からなる脂肪酸塩( $\mathbf{n}$ )が直鎖脂肪酸の炭素数に依存せず同型の有機二重層状構造を形成することを報告し、複数の脂肪酸塩を用いて単独晶・混晶形成の研究を行ってきた(Fig 1)。

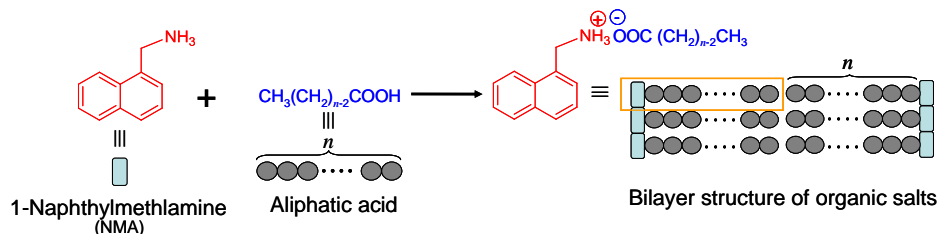


Fig 1. Bilayer structure of organic salts consisting of normal aliphatic acid and 1-Naphthylmethanamine.

特に二成分を用いた系においては両成分における脂肪酸の炭素数の差が3よりも小さいと混晶を形成しやすく、6よりも大きいと混晶を形成しないことが明らかになっている。これは炭素数差による分子認識が行われているためである(Fig 2)。そこで本研究では三成分の脂肪酸塩( $\mathbf{i}, \mathbf{j}, \mathbf{k}, \mathbf{i} < \mathbf{j} < \mathbf{k}$ )を用いた複雑な混晶形成における分子認識メカニズムの解析を行った。

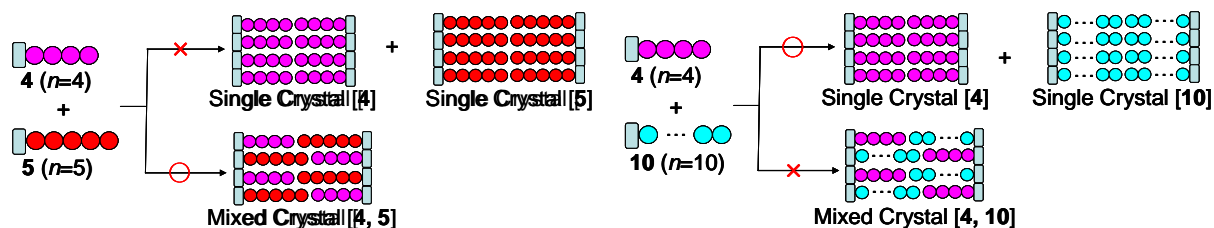


Fig 2. Formation of solid solutions and eutectic mixtures from binary mixtures.

### 【実験】

三種類の脂肪酸それぞれと1-ナフチルメチルアミン(NMA)からなる脂肪酸塩( $\mathbf{i}, \mathbf{j}, \mathbf{k}$ )を等モルで混合しTHFに溶解させ、室温で溶媒を留去することで混晶を回収した。これに対し粉末X線回折の測定を行い、(002)面の粉末パターンを用いて二重層状を形成する脂肪酸塩を推定した(Fig 3)。

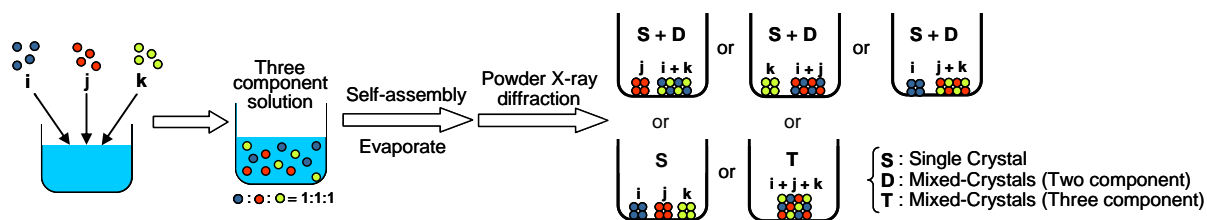


Fig 3. Crystalline phases from three-component mixtures.

【結果と考察】

三種の脂肪酸塩( $n = i, j, k$  ( $i = 9, j = 10, k = 11 \sim 17$ ))を用いた場合、混合する塩の組合せによって混晶の形成が変化することが粉末X線回折パターンより確認された(Fig 4)。 $i = 9, j = 10, k = 11, 12$ のときは一本の単独ピークが得られていることから、三成分が等しいモル数で混晶を形成した三成分混晶  $T_1$  が形成したと考えられる。次に  $i = 9, j = 10, k = 13 \sim 15$  の場合は二本のピークが得られておりピーク位置から判断するとモル比率 2:1:1 の三成分混晶  $T_2$  と残った成分が形成する二成分混晶  $D$  が生成していると考えられる。また  $i = 9, j = 10, k = 16, 17$  の場合も二本のピークになっており、そのピーク的位置から、二成分混晶  $D$  と単独晶  $S$  の両者が生成していると考えられる。

また以上の結果も含む、三種類の脂肪酸( $n = i, j, k$  ( $i = 9, j = 10 \sim 16, k = 11 \sim 17$ ))を用いた場合

に得られた混晶形成のパターンを解析すると(I)  $T_1$  1:1:1 の三成分混晶、(II)  $T_2$  2:1:1 の三成分混晶と  $D$  二成分混晶、(III)  $D$  二成分混晶と  $S$  単独晶、(IV)  $S$  3つの単独晶の四種類に分類できることが明らかとなった(Fig 5)。この組合せの分布に着目すると、三成分の炭素数の差が小さく等しい場合は(I)が、どの炭素数の差も小さいが等しい炭素数の差をもたない場合は(II)が、2つの脂肪酸の炭素数の差が小さく1つが大きく離れている場合は(III)が、混晶を形成できないほど大きな炭素数の差が存在している場合は(IV)が形成されやすいことが示された。したがって各成分のわずかな炭素数の差によって結晶相が制御された分子認識が行われていることが明らかとなった。

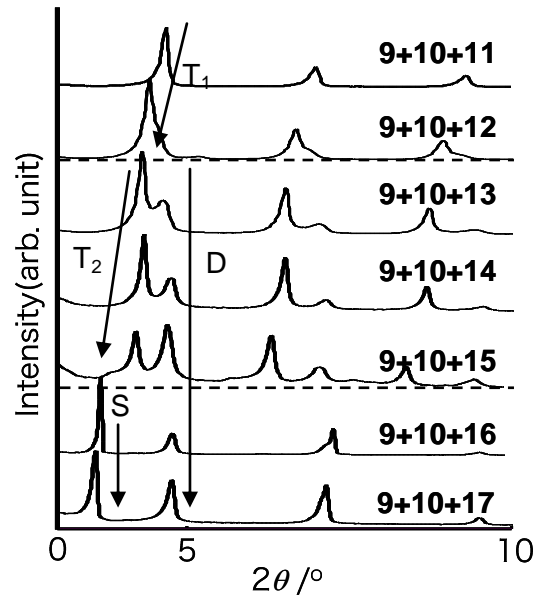


Fig 4. XRPD results of 9 / 10 / k ( $k = 11 \sim 17$ ).

$k \backslash j$	10	11	12	13	14	15	16	17
10		$T_1$ [9, 10, 11]	$T_1$ [9, 10, 12]	$T_2$ [9 <sub>2</sub> , 10 <sub>1</sub> , 13 <sub>1</sub> ] $D$ [10, 13]	$T_2$ [9 <sub>1</sub> , 10 <sub>1</sub> , 14 <sub>2</sub> ] $D$ [9, 10]	$T_2$ [9 <sub>1</sub> , 10 <sub>1</sub> , 15 <sub>2</sub> ] $D$ [9, 10]	$D$ [9, 10] $S$ [16]	$D$ [9, 10] $S$ [17]
11	I		$T_2$ [9 <sub>2</sub> , 10 <sub>1</sub> , 11 <sub>1</sub> ] $D$ [10, 11]	$T_1$ [9, 11, 13]	$T_1$ [9, 11, 14]	$T_2$ [9 <sub>1</sub> , 11 <sub>1</sub> , 15 <sub>2</sub> ] $D$ [9, 11]	$D$ [9, 11] $S$ [16]	$D$ [9, 11] $S$ [17]
12	I	II		$T_2$ [9 <sub>1</sub> , 12 <sub>1</sub> , 13 <sub>2</sub> ] $D$ [9, 12]	$T_2$ [9 <sub>1</sub> , 12 <sub>1</sub> , 14 <sub>2</sub> ] $D$ [9, 12]	$T_1$ [9, 12, 15]	$D$ [9, 12] $S$ [16]	$D$ [9, 13] $S$ [17]
13	II	I	II		$T_2$ [9 <sub>2</sub> , 13 <sub>1</sub> , 14 <sub>1</sub> ] $D$ [13, 14]	$T_2$ [9 <sub>1</sub> , 13 <sub>1</sub> , 15 <sub>2</sub> ] $D$ [9, 13]	$S$ [9] $D$ [13, 16]	$S$ [9], [13], [17]
14	II	I	II	II		$T_2$ [9 <sub>2</sub> , 14 <sub>1</sub> , 15 <sub>1</sub> ] $D$ [14, 15]	$S$ [9] $D$ [14, 16]	$S$ [9] $D$ [14, 17]
15	II	II	I	II	II		$S$ [9] $D$ [15, 16]	$S$ [9] $D$ [15, 17]
16	III	III	III	III	III	III		$S$ [9] $D$ [16, 17]
17	III	III	III	IV	III	III	III	

Fig 5. XRPD results of 9 / j / k ( $j = 10 \sim 16, k = 11 \sim 17$ ).

## 可逆的な光二量化部位を有する多孔性配位高分子の創製と機能

(北大院総化<sup>1</sup>, 九大院工<sup>2</sup>, 北大院理<sup>3</sup>) ○永田俊次郎<sup>1</sup>, 杉川幸太<sup>2,3</sup>, 小門憲太<sup>1,3</sup>, 佐田和己<sup>1,3</sup>

【序】 有機配位子と金属イオンが配位結合することで形成される Metal-Organic-Framework(MOF)は、周期的な構造を有する多孔性結晶である(Fig. 1)<sup>1</sup>。MOFは有機配位子と金属イオンの組み合わせにより、様々な形状を取ることが可能であり、この分子設計の自由度の高さから優れた多孔性材料として注目を集めている。近年では機能化へ向けた研究が盛んに行われ、事後修飾法などにより MOFs に様々な特性を有する化合物の導入を行った例が報告され始めてきている<sup>2</sup>。そこで本研究ではゲスト分子の貯蔵・放出を制御することを目的とし、可逆的な光二量化を起こす部位としてアントラセンをMOFの表面に導入することを着想した。アントラセンは、特定の波長の光に反応して二分子間で環化反応を起こし二量化し、さらに加熱またはより短波長の光を照射することで元の単分子へと開裂する(Fig. 2)<sup>3</sup>。したがってアントラセンをMOFに導入することで光や熱で開閉が制御可能なゲート機能を持つMOFの創製が可能になると考えた(Fig. 3)。このゲート部位修飾MOFsの創製により、ドラッグデリバリーへの応用や高機能キャリアの創製が期待される。

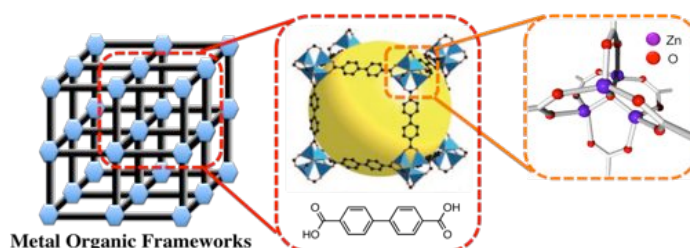


Figure 1. Structure of Metal Organic Frameworks.

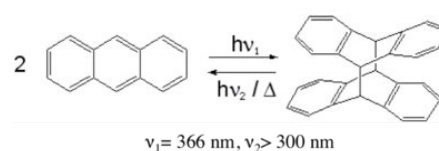


Figure 2. Photoreaction of Anthracene.

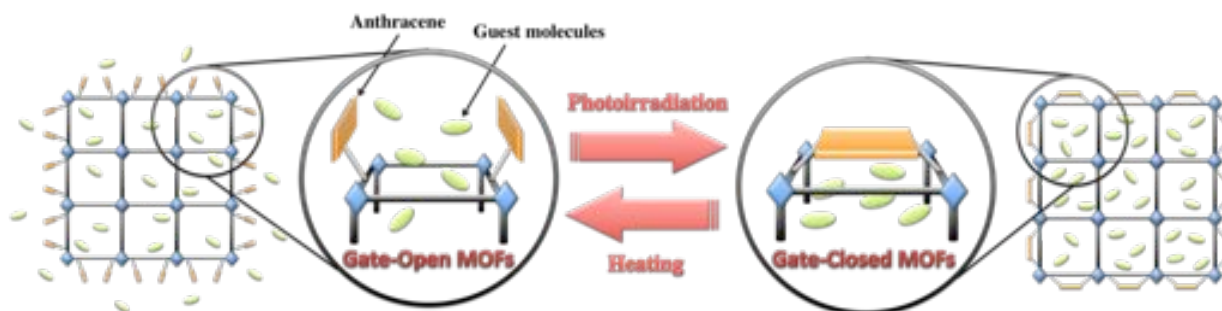
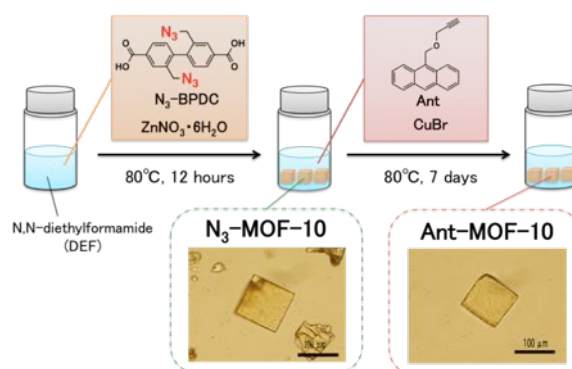


Figure 3. Schematic illustration of functionalized MOFs possessing gate ability.

【実験】  $N_3$ -BPDC と硝酸亜鉛六水和物を  $N,N$ -diethylformamide(DEF)に溶解させ、加熱静置させることで、MOF骨格にアジド基を有する  $N_3$ -MOF-10 の調製を行った。得られた  $N_3$ -MOF-10 を  $Ant$  の DEF 溶液に浸漬させ加熱静置することで、クリックケミストリーによるアントラセンのMOFへの導入を行った(Fig. 4)。このアントラセン修飾MOF( $Ant$ -MOF-10)に対し、ATR-IR、固体吸収および  $^1H$ -NMR スペクトル測定を行うことで、 $Ant$  の修飾の評価を行った。

Figure 4. Synthesis of  $N_3$ -MOF-10 and  $Ant$ -MOF-10.

得られた **Ant-MOF-10** に照射 ( $\lambda > 310$  nm)を行うことでアントラセンの光二量化反応を試み、固体吸収および  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルによる光二量化反応の進行の評価を行った(Fig. 5a)。また光二量化反応後の MOF(**Ant-d-MOF-10**) に対し、加熱静置することでアントラセンの開裂反応を試み、固体吸収および  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルによる開裂反応の進行の評価を行った(Fig. 5b)。

アントラセンの二量化前後の MOF(**Ant-MOF-10**→**Ant-d-MOF-10**)において、内包したゲスト分子(DEF)の放出挙動を  $^1\text{H-NMR}$  測定により追跡することで、ゲスト分子の放出の抑制を評価した。また、二量化したアントラセンの開裂前後の MOF(**Ant-d-MOF-10**→**Ant-MOF-10**)についても、同様に  $^1\text{H-NMR}$  測定によりゲスト分子の放出挙動の評価を試みた。

### 【結果と考察】

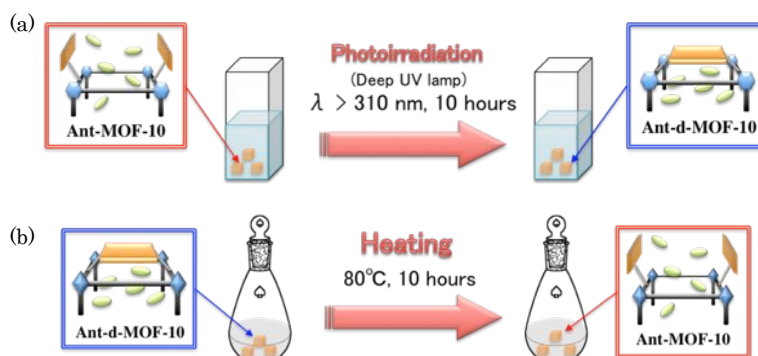
**Ant** 修飾 MOF(**Ant-MOF-10**)を分解し、 $^1\text{H-NMR}$  測定を行うことで、**Ant** の修飾率を導出したところ、修飾率は約 13%であることが確認された。このことから MOF の表面にアントラセンの修飾が行われていることが示唆された。

この **Ant-MOF-10** を用い、アントラセンの光二量化反応前後 (**Ant-MOF-10**→**Ant-d-MOF-10**) において、ゲスト分子(DEF)の放出挙動を  $^1\text{H-NMR}$  測定による追跡で評価したところ、MOF に修飾されたアントラセンの光二量化により、ゲスト分子の放出が抑制されることが示された。さらに二量化したアントラセンの開裂反応前後 (**Ant-d-MOF-10**→**Ant-MOF-10**) において、同様にゲスト分子の放出挙動を検討したところ、アントラセンの開裂反応によりゲスト分子の放出が促進されていることが確認された(Fig. 6)。このことから MOF の表面に修飾されたアントラセンが光二量化および開裂反応することで、ゲートとして機能していることが考えられる。

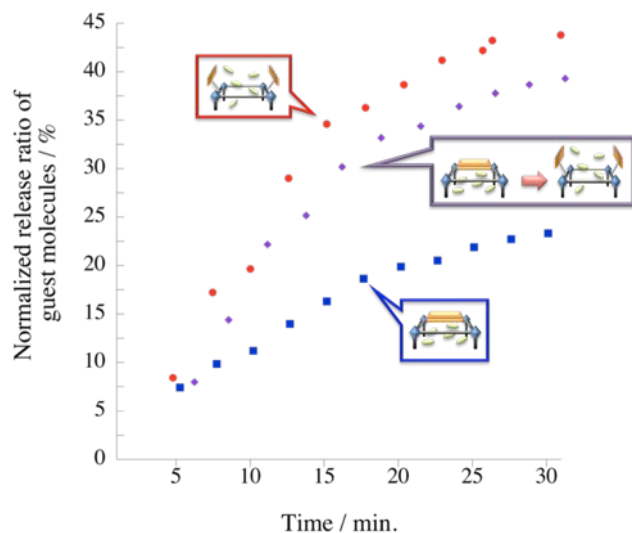
本研究における MOF のゲスト分子の貯蔵・放出を制御する手法は、内包するゲスト分子の種類の中で汎用性が高いことから、高機能なキャリアーとしての働きなどが期待される。

### 【参考文献】

1. M. Eddaoudi, J. Kim, N. Rosi, D. Vodak, J. Wachter, M. O'keeffe, O. M. Yaghi, *Science* **2002**, 295, 469.
2. Y. Goto, H. Sato, S. Shinkai, K. Sada, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 14354.
3. V. M. Tapilin, N. N. Bulgakov, A. P. Chupakhin, A. A. Politov, *J. Struct. Chem.* **2008**, 49, 581.



**Figure 5.** (a) Photoirradiation of Anthracene groups of **Ant-MOF-10**, and (b) cleavage reaction of Anthracene groups of **Ant-d-MOF-10** using heating.



**Figure 6.** Time dependent change of the amount of guest(DEF) released from **Ant-MOF-10**(gate-open), and **Ant-d-MOF-10**(gate-close).



## 4P073

### 水分子付加による金 2 量体イオンの結合エネルギーの変化

((株)コンボン研<sup>1</sup>, 東理大<sup>2</sup>, 豊田工大<sup>3</sup>, 九大<sup>4</sup>)

○伊藤智憲<sup>1,2</sup>, Ganpathi Naresh Patwari<sup>1</sup>, 江頭和宏<sup>1</sup>, 築山光一<sup>1,2</sup>, 寺寄亨<sup>3,4</sup>

【序】一酸化炭素の酸化反応を始めとして、金微粒子が触媒として働くことが明らかにされてきている。これらの研究の中で、その触媒活性が水分子の共存によって変化する例が報告されている。このことに着目し、水分子が金微粒子へ及ぼす影響を解明するために、注目する水分子と数個の金原子が会合したクラスターを気相に取り出して、分子反応実験を行なった。触媒サイクルのような多段階過程を気相で観測するために、反応分子が多数回衝突する条件で実験を行った。今回は、イオントラップ中に捕捉した水和金クラスター正イオンと一酸化炭素分子との気相反応実験について報告する。

【実験】実験装置の概略を図 1 に示す。マグネトロンスパッタにより金クラスターイオンを生成し、下流に位置する衝突セルで水和させた。イオンは四重極質量フィルターにより質量選別した後、反応場であるイオントラップに導いた。このイオントラップには、イオン減速用のバッファ He ガスと反応ガス CO とが予め定常的に導入されている。このとき CO の数密度がイオン密度よりも著しく大きいため、反応は CO の分圧を一定として扱う擬一次反応と見なすことができる。ここで一定の反応時間  $t$  だけ反応物イオンを捕捉して反応時間を制御した。トラップから引き出された反応物と生成物とは、第二の四重極質量分析器により同定した。反応時間  $t$  を変えながらこれらの操作を繰り返し、反応の時間変化を追跡した。

### 【結果と考察】

#### (i) 水分子付加による $\text{Au}_2^+$ の反応性変化

CO との反応で反応物イオン  $\text{Au}_2(\text{H}_2\text{O})_M^+$  ( $M=0-2$ ) が減少する様子を図 2 に示す。反応性の大小によって CO の導入量を調節したため、図の横軸は CO の分圧  $p_{\text{CO}}$  と反応時間  $t$  との積とし、実験条件の違いを補正した。グラフの傾きから求めた反応速度定数から、水分子の付加によって金 2 量体イオンと CO との反応性が著しく変化することが明らかになった。すなわち、水分子が 1 分子付加すると反応性が約 200 倍増大し、さらに 2 分子付加したものは約 500 倍になった。

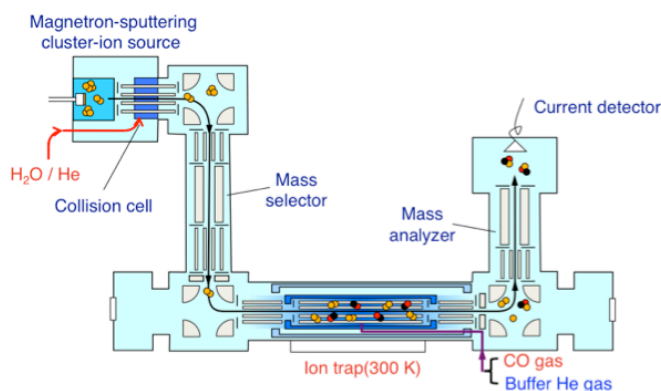


図 1: 実験装置の概略図

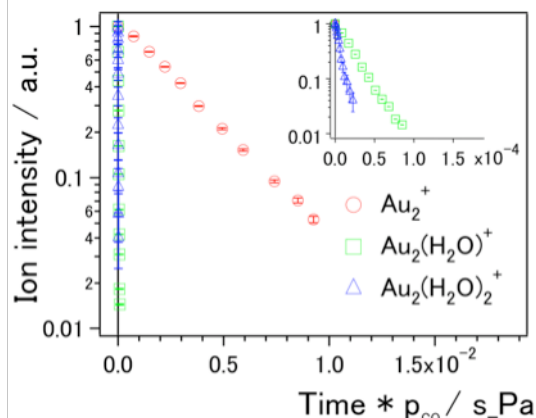
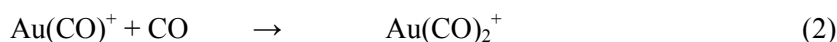


図 2: 水分子付加による反応性の増大

### (ii)(a) $\text{Au}_2^+$ と $\text{CO}$ との反応

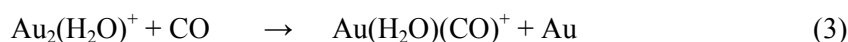
$\text{Au}_2^+ + \text{CO}$  反応の時間変化を図 3 に示す。生成物として  $\text{Au-Au}$  結合が切断された  $\text{Au}(\text{CO})^+$  と  $\text{Au}(\text{CO})_2^+$  とが検出された。生成物の時間変化から次の反応機構が考えられる。



式(1)は反応物の  $\text{Au-Au}$  結合が切断され、 $\text{Au}$  原子が放出される過程であり、その反応断面積  $\sigma_1$  は  $0.20 \text{ \AA}^2$  であった。これは、イオン-分子間の衝突断面積を与えるランジュヴァン断面積の僅か 0.4% であり、反応性が低いことを意味している。

### (b) $\text{Au}_2(\text{H}_2\text{O})^+$ と $\text{CO}$ との反応

水が 1 分子付加した  $\text{Au}_2(\text{H}_2\text{O})^+$  の場合の結果を図 4 に示す。反応物と生成物の時間変化から、次の反応機構を推定した。



式(3)の反応は、式(1)と同じく、 $\text{CO}$  の吸着により反応物から  $\text{Au}$  原子が放出される過程である。一方、式(4)の生成物は付加している水分子と  $\text{CO}$  とが交換されたもので、更に式(5)の反応が進む。式(3), (4)の反応断面積  $\sigma_3, \sigma_4$  は、それぞれ  $22(3) \text{ \AA}^2, 18(4) \text{ \AA}^2$  と求められた。これらが同様な値であることは、反応物  $\text{Au}_2(\text{H}_2\text{O})^+$  中の  $\text{Au-Au}$  結合と  $\text{Au-H}_2\text{O}$  結合のエネルギーがほぼ等しいことを示している。

さらに、 $\text{Au}$  原子を放出する反応過程だけに着目すると、反応断面積  $\sigma_3$  が、 $\text{Au}_2^+$  の  $\sigma_1$  より約 100 倍大きい。これは、水分子の付加により金 2 量体イオンの  $\text{Au-Au}$  結合の結合エネルギーが小さくなったためと結論できる。

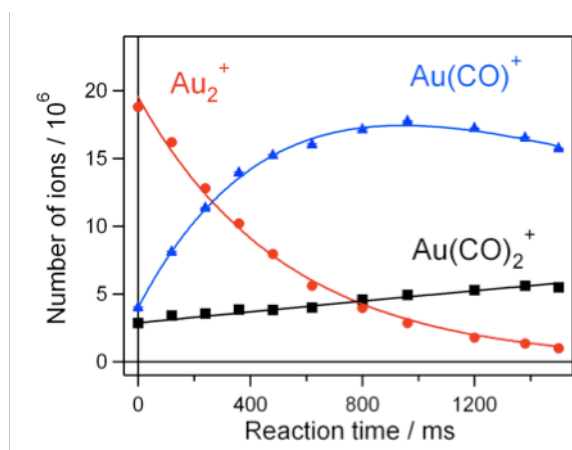


図 3 :  $\text{Au}_2(\text{H}_2\text{O})^+$  と  $\text{CO}$  との反応の時間推移

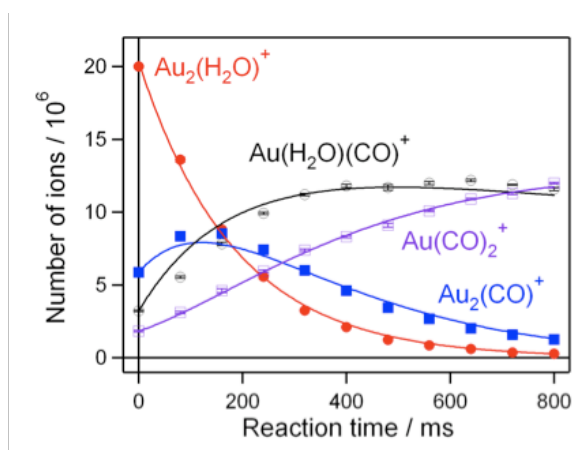


図 4 :  $\text{Au}_2(\text{H}_2\text{O})^+$  と  $\text{CO}$  との反応の時間推移

## 4P074 色素吸着を用いた金ナノ粒子の近接安定化と SERS 活性

(埼玉大 院理工) ○谷島 徹, Yu Yingying, 二又 政之

【序論】我々は、単一分子感度ラマン分光の確立を目指して、金属ナノ粒子の局在表面プラズモン共鳴(LSP)の効率的な利用法とともに、化学的増強(CE)メカニズムについて検討している。これまでに、金ナノ粒子(AuNP)にごく微量のカチオン性ローダミン 123 ( $R123^+$ )分子および中性化した  $R123^0$  分子を添加し、近接安定化し巨大 SERS (Surface Enhanced Raman Scattering)信号を得ることに成功した。このとき、カチオン性  $R123^+$ 分子は静電的な相互作用により、また中性  $R123^0$  色素はアミノ基の孤立電子対を介した配位結合により吸着していることを実験的に明らかにした<sup>1</sup>。ここでは、 $R123^+$ と同じくキサンテン系色素であるローダミン  $6G^+$  ( $R6G^+$ )について、カチオン及び中性化したときの AuNP への吸着状態について検討した。これらのナノギャップに吸着した  $R123^+$  及び  $R6G^+$ 分子の SERS 増強度とともに、Langmuir 型吸着等温線について報告する。

【実験】AuNP の形成は、クエン酸還元法より行った<sup>2</sup>。カチオン性  $R6G^+$ 及び中性化した  $R6G^0$  分子を用いて、以下の3つの試料溶液について Extinction 及び SERS スペクトルの測定を行った。

- ① as-prepared AuNP 分散水溶液に、カチオン性  $R6G^+$  ( $R6G^+$ ,  $10^{-7}\sim 10^{-6}$  M) を加えた試料
- ② as-prepared AuNP 分散水溶液に、中性  $R6G^0$  分子( $10^{-7}\sim 10^{-6}$  M) を加えた試料
- ③ NaCl 添加(8 mM)した AuNP 分散液にカチオン性  $R6G^+$  ( $10^{-7}\sim 10^{-6}$  M)を加えた試料

また、これらの試料溶液中の色素濃度と AuNP1 個当たりの吸着分子数の関係を測定した。吸着分子数は、遠心分離を併用して、吸着の前後の Extinction ピーク強度の変化から見積もった。

### 【結果と考察】

(1) カチオン性  $R6G^+$ 、中性  $R6G^0$  分子の吸着状態:上記の①-③の試料溶液について、いずれも長波長側 700 nm - 800 nm に、付加的な LSP ピークが観測され、AuNP が近接安定化することが確かめられた。そこで、これらの AuNP 系試料溶液のラマンスペクトルを測定したところ、①-③いずれの場合も大きな SERS 活性が得られた。すでに報告したカチオン性  $R123^+$ では①-③すべての SERS スペクトルが異なっていたのに対し<sup>2</sup>、今回測定したカチオン性  $R6G^+$ では、①と③の SERS スペクトルが一致していた。③の NaCl によって AuNP が負電荷を帯びている場合、カチオン性  $R6G^+$ が Au と静電的な相互作用で近接し、安定化していると考えられる。①と③の SERS スペクトルが一致したことから、カチオン性  $R6G^+$ ではカチオン性  $R123^+$ とは異なり<sup>1</sup>、①の as-prepared AuNP とカチオン性  $R6G^+$ は、静電的な相互作用のみで AuNP に吸着していることが明らかとなった。これは、 $R123^+$ のアミノ基が  $-NH_2$  であるのに対して、 $R6G^+$ では  $-N(H)C_2H_5$  であるために、後者のエチル基の立体障害によって窒素の孤立電子対による配位結合が起こりにくくなったためと推測される。②の AuNP +中性  $R6G^0$  分子は、中性  $R123^0$  分子と同様に配位結合によって近接安定化していることが、カチオンと中性分子の SERS スペクトルの違いから確かめられた。

(2) ナノギャップに吸着した  $R123^+$ と  $R6G^+$ の SERS 増強度:顕微ラマン分光計で得られる測定体積中の吸着分子 1 個当たりの SERS 信号強度を、同じ光学配置で測定した色素溶液中の 1 分子当たりのラマン信号強度で割ることで増強度を見積もった<sup>1</sup>。詳細は省略するが、全吸着分子のうちのナノギャップに存在する分子数や、溶液中に浮遊し配向を変える近接 AuNP のナノギャップの電磁場増強度を入射偏光に対して平均化し、ナノ粒子密度、AuNP1 個あたりの吸着分子数を実験的に

求め、より正確な増強度を得た。得られた値は、カチオン性及び中性化した R123<sup>0</sup>, R6G<sup>0</sup> 分子ではほぼ同じであった。例えば、R123<sup>+</sup>では約  $2 \times 10^8$ , カチオン性 R6G<sup>+</sup>では約  $1 \times 10^9$ , 中性 R123<sup>0</sup> 分子では約  $8 \times 10^8$  となった。これらの値は、1 nm のナノギャップを有する近接 AuNP に対して FDTD 計算より見積られた SERS 増強度  $3.84 \times 10^8$  とよく対応している。以上のように AuNP がカチオン性及び中性化したキサンテン系色素分子より近接安定化し、カップルした LSP により単一分子感度に相当する巨大な SERS 活性を与えることが明らかになった。

(3) 吸着等温線：図 1 に示すように、カチオン性 R6G<sup>+</sup>及び R123<sup>+</sup>の試料溶液中の濃度と AuNP1 個当りに吸着した分子数の関係は、Langmuir 型吸着等温線で表されることが確かめられた。このとき、カチオン性 R6G<sup>+</sup>及び R123<sup>+</sup>は単分子層吸着をしていて、吸着種同士の相互作用は無視できると考えられる。直径 20 nm の金ナノ粒子 1 個当りの飽和吸着分子数は、カチオン性 R6G<sup>+</sup>は約 700 個、カチオン性 R123<sup>+</sup>は約 1000 個と見積もられた。この値は、flat 配向で色素分子 1 個の吸着占有面積を約  $1.3 \text{ nm}^2$  としたときの 967 個とよく対応している。

最後に、近接 AuNP 形成と吸着状態について考察する。カチオン性 R123<sup>+</sup>や R6G<sup>+</sup>はキサンテン環の両端にアミノ基-NH<sub>2</sub>を持っている。このカチオン性色素は分子全体に広がる共役二重結合を有しており、共鳴構造のため 2 つのアミノ基に正の電荷が均等に分布している。そのため、負電荷を帯びた 2 つの AuNP 表面とアミノ基との静電的な相互作用により吸着する。このとき、カチオン性色素分子は分子数密度が大きくなるように、分子が粒子間を結ぶ軸に平行に配向吸着すると考えられる。一方、中性 R123<sup>0</sup>や R6G<sup>0</sup> 分子では、脱プロトン化のため共鳴構造が壊れ、プロトン互変異性をしている。そのため、2 つのアミノ基の孤立電子対により、AuNP に配位結合している。このとき、中性化した色素分子は、キサンテン環の異なる側から効果的に配位結合するため、傾いて吸着しているものと考えられる。観測された SERS スペクトルの違いは、この解釈を支持している。

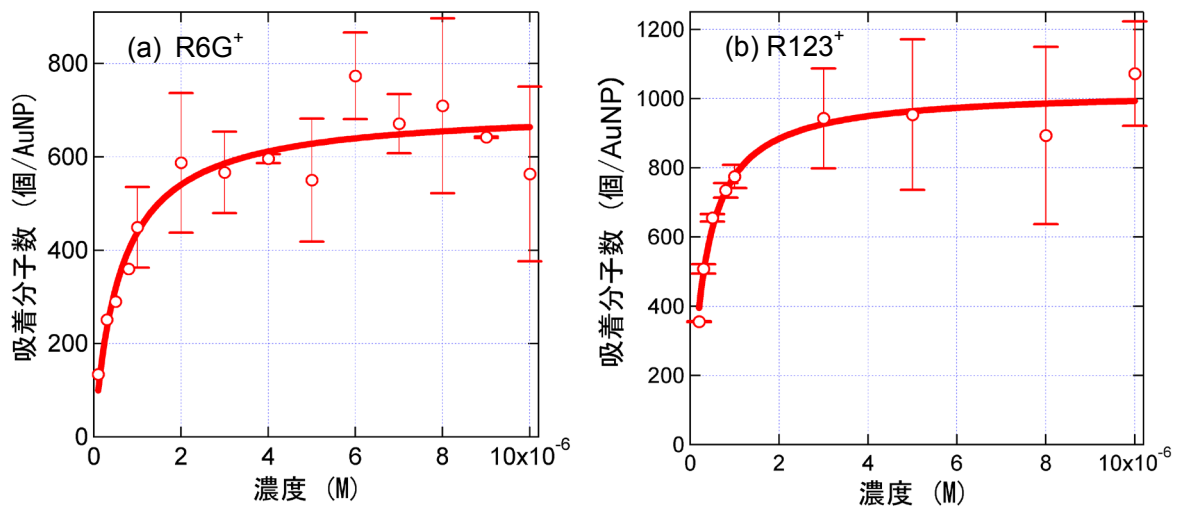


図 1 カチオン性 R6G<sup>+</sup> (a) 及び R123<sup>+</sup> (b) の AuNP1 個に対する吸着分子数と溶液中の色素濃度の関係

### 【参考文献】

- (1) T. Yajima, Y. Yu, M. Futamata, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 13 (2011) 12454–12462.
- (2) G. Frens, *Nature*. 241 (1973) 20–22.

## 液中レーザーアブレーションで作製した C<sub>60</sub> ナノコロイド のフェムト秒過渡吸収分光

(愛媛大院理工<sup>1</sup>、阪大院基礎工<sup>2</sup>) ○朝日 剛<sup>1</sup>、石橋千英<sup>1</sup>、有西未耶<sup>1</sup>、  
片山哲郎<sup>2</sup>、宮阪 博<sup>2</sup>

【はじめに】 ナノ粒子は、サイズに依存した電子・光物性や大きな表面・界面効果など、バルク固体とは異なる物性を示すことから、近年様々な分野で活発に研究されている。ここでは、フラーレン C<sub>60</sub> ナノ粒子の光励起状態緩和ダイナミクスについて報告する。C<sub>60</sub> は通常水に難溶であるが、ナノメートルサイズの微粒子として水中に安定に分散するという、興味深い性質をもつ。そのため、水に可溶性炭素材料として、環境負荷や毒性といった観点からも最近注目を集めている。例えば、細胞毒性の研究として光照射による singlet oxygen 発生が検討されている。しかしこれまでに、C<sub>60</sub> ナノ粒子水分散液の光励起エネルギー緩和初期過程に関する研究はほとんどなく、その詳細は明らかとなっていない。そこで本研究では、液中レーザーアブレーション法により有機溶媒や添加物フリーの C<sub>60</sub> ナノコロイドを作製し、フェムト秒過渡吸収分光測定を行った。

【実験】 C<sub>60</sub> ナノコロイドは、既に報告している液中レーザーアブレーション法により作製した[1,2]。水中に懸濁させた C<sub>60</sub> 微結晶粉末にナノ秒 YAG レーザーの第 2 高調波 532 nm を、強度 80 mJ/cm<sup>2</sup> の強度で 60 分間照射し、作製した。粒子の平均粒径は約 40 nm である。過渡吸収スペクトル測定には Ti: Sapphire レーザーを光源としたフェムト秒 NOPA/OPA レーザー分光システムを用いた。励起光は、NOPA により波長変換された 700 nm の第 2 高調波（中心波長 350 nm）を用いた。サンプル位置におけるパルス幅は約 50 fs FWHM である。一方、観測光であるフェムト秒白色光は、OPA により波長変換された 1200 nm の近赤外光を CaF<sub>2</sub> プレートに集光し発生させた。その結果、400~1000 nm と幅広い領域での観測が可能である。

【結果と考察】 図 1 に作製した C<sub>60</sub> ナノコロイド水溶液の吸収スペクトルを示す。400 nm から 500 nm にかけて固体状態特有のブロードな吸収バンドが観測され、スペクトル形状は蒸着膜のものとよく一致した。また、作製したコロイドは非常に安定で、1 か月以上たっても吸収スペクトルは全く変化しない。

図 2 にフェムト秒パルスレーザー励起（励起光強度 0.1 μJ/pulse）による過渡吸収スペクトルを、図 3 には波長 540 nm における吸光度

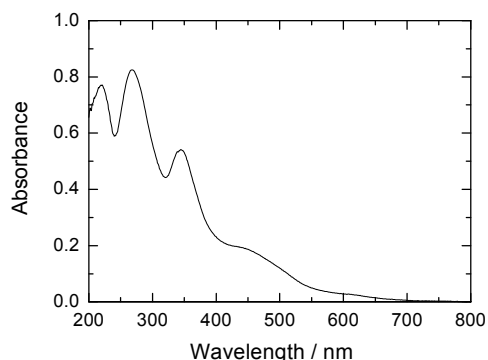


図 1 C<sub>60</sub> ナノコロイド水溶液の吸収スペクトル

の時間変化を示す。時間変化は、見かけ上 3 成分の過渡種の減衰で近似的に説明できると考えている。600 nm 付近にピークを持つブロードな吸収帯が、時定数 300 fs で減衰し、その後 540 nm と 750 nm にピークを持つ吸収スペクトルに変化した。後者の吸収は、薄膜の過渡吸収分光の実験で報告されている緩和した singlet - exciton のものとよく一致した[3]。この成分は 100 ps 程度の時間内に非指数関数的な減衰を示し、その減衰速度は励起光強度が高いほど速くなり、exciton - exciton 消滅が迅速に起こっていることが示唆された。一方、300 fs の速い緩和過程には顕著な励起光強度依存性は観測されなかった。励起波長が 350 nm と短波長であるため、励起直後に観測されたこの成分は、CT - exciton あるいは高い励起状態によるものと考えられる。

また、励起後 100 ps 以降に、寿命の長い成分が観測された。この成分は、hot ground state あるいは深い trapped state によるものと考えられる。しかしながら、750 nm にピークを持つ triplet state の特徴的な吸収は全く観測されず、ナノ粒子では singlet oxygen 生成の効率良い光増感反応は期待できない。発表では、励起光強度依存性の詳細および蛍光寿命観測の結果を併せて報告する予定で

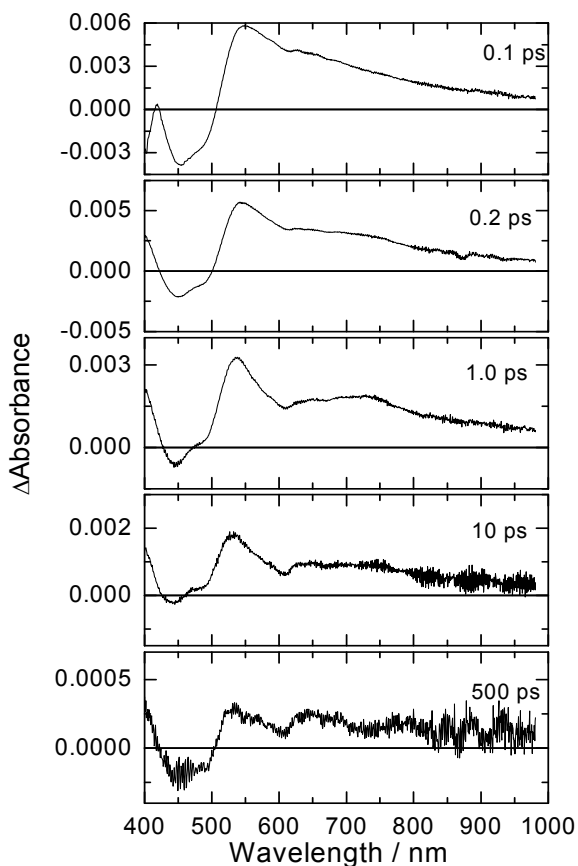


図 2 フェムト秒パルス励起 (350 nm 励起 & パルス幅 50 fs FWHM) による C<sub>60</sub> ナノコロイド水溶液の過渡吸収スペクトル

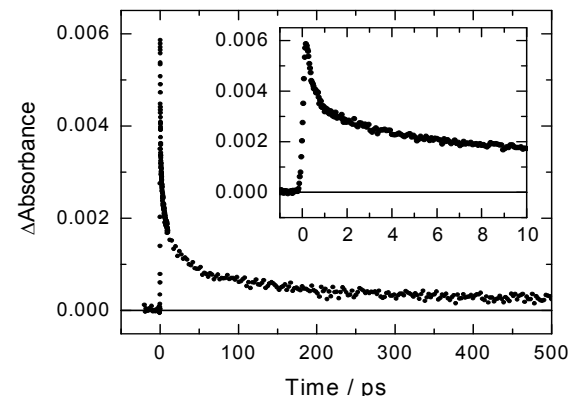


図 3 フェムト秒パルス励起による C<sub>60</sub> ナノコロイド水溶液における 540 nm の過渡吸光度の時間変化 (Inset: 10 ps までの拡大図)

ある。

#### 参考文献

- [1] T. Sugiyama, et al., J. Photochem. Photobio. A; Chem., 207, 7, (2009)
- [2] T. Asahi, T. Sugiyama, and H. Masuhara, Acc. Chem. Res. 41, 1790, (2008)
- [3] T. W. Ebbesen, et al., Europhys. Lett, 25, 503, (1994)

## 移動度分析法を用いた 5 族遷移金属イオンの 電子状態分離

(東北大院・理) ○田原 裕士, 小松 邦彦, 小安 喜一郎, 美齊津 文典

【序】遷移金属原子やそのイオンには、エネルギーの低い電子状態が数多く存在し、触媒の活性中心などに代表される反応性は、電子状態によって大きく異なると考えられる。このような遷移金属原子のイオンの電子状態は、イオン移動度分析によって分離できることが報告されている[1,2]。この手法では、静電場が印加され、緩衝気体で満たされたドリフトセルにイオンを導入して、緩衝気体との相互作用の大きさの違いを利用して分析を行う。相互作用の小さなイオンはセル内での緩衝気体との衝突回数が少ないため、相互作用の大きなイオンよりも、セルを抜け出す時間が早くなる。この時間差を利用して分離が可能となる。遷移金属イオンの電子状態分離は、状態の電子配置によってイオンと緩衝気体の相互作用が異なることにより可能となる。一般に、イオンと緩衝気体の相互作用には主に遠距離での電荷-誘起双極子相互作用による引力が寄与する。遷移金属イオンの電子状態分離では、s 電子をもつ  $(m+1)s^1md^{n-1}$  型の状態と s 電子をもたない  $md^n$  型の状態において、前者の s 電子の広がりには緩衝気体との大きな斥力を生み、後者と比較して引力が軽減される。そのために状態間で相互作用の大きさに差が生じて、分離が観測されると解釈されている[1,2]。結果として、引力の小さい  $(m+1)s^1md^{n-1}$  型はセル内での衝突断面積が小さくなり、 $md^n$  型よりも早くドリフトセルを抜け出すことになる。さらに、これらの状態間の遷移が互いに光学禁制であり、励起状態の寿命が長いことが、この観測を可能にしている。この研究を進展させて、分離した状態ごとの化学反応性の研究も行われている[3,4]。

我々は、この分析法を用いて分離した状態の詳細な同定と、反応性を調べることを目的としている。分離した状態を詳細に同定する方法として、分離した状態に励起光を当て、共鳴多光子イオン化 (REMPI) による分光を行うことを考えている。すなわち、励起光の波長を掃引して、二価イオンを検出することにより、分離した状態を同定する予定である。REMPI 分光を行う上での問題点は、移動度分析後のイオンビーム密度が低いことである。これは、ドリフトセル内での緩衝気体との衝突によって、イオンが散乱されるためである。本研究では、分離した各状態についての詳細な同定と、反応性を調べる前段階として、5 族遷移金属元素に注目し、 $V^+$ ,  $Nb^+$ ,  $Ta^+$  の電子状態分離を観測した。また、移動度分析後のイオンビーム密度の向上を目的として、円錐形八重極イオンガイドの設計・製作を行った。

【実験】レーザー蒸発法で生成した 5 族遷移金属イオンを、パルス電場によって、イオン移動度分析用ドリフトセルに導入した。ドリフトセル (長さ 10 cm) 内には緩衝気体として He を 0.2–1.2 Torr 満たし、 $E = 5.5 - 7.5 \text{ V/cm}$  の静電場を印加して移動度分析を行った。そして、セルを通過した金属原子イオンを加速してその飛行時間を観

測した。このとき、セルへのイオン導入パルス発生時刻と、セル通過後に TOF 用の加速パルス印加時刻との時間差を到達時間 (Arrival time) として掃引し、イオン強度を観測した。また、ドリフトセルを液体窒素で 180 K まで冷却することによって、低圧で衝突頻度を保ちつつ、He の速度分布の広がりやイオンの拡散を抑制し、わずかな移動度の違いを観測できるようにした。

【結果と考察】 Fig. 1 に得られた到達時間分布を示す。V<sup>+</sup>では、基底状態を含む 3d<sup>4</sup> 型状態と、準安定状態の 4s<sup>1</sup>3d<sup>3</sup> 型状態の分離に加えて、より到達時間の早い第三の分布が観測された。この第三の分布は、El-Shall らによると、よりエネルギーの高い電子状態と解釈されている[2]。Nb<sup>+</sup>については、基底状態を含む電子をもたない 4d<sup>4</sup> 型状態 (I) と、準安定状態の 5s<sup>1</sup>4d<sup>3</sup> 型状態 (II) の分離が観測された。一方、Ta<sup>+</sup>では分離が観測されなかった。Ta<sup>+</sup>の電子基底状態は 6s<sup>1</sup>5d<sup>3</sup> 型であり、第二イオン化エネルギー以下の準安定状態は 6s<sup>1</sup>5d<sup>3</sup> 型、もしくは 6s<sup>2</sup>5d<sup>2</sup> 型である。このことから、全ての Ta<sup>+</sup>の電子状態に s 電子が存在するので、状態間の衝突断面積の差は小さいことが予想される。今回の結果はこのことに起因すると考えられる。

イオンビーム密度の向上のための八重極イオンガイドは、内側に円錐を作るように並んだ八本のロッドから構成され、八本のロッドには一本おきに交流電圧と直流電圧が印加される、収束型のもの[5]である。現在、イオンガイドの設計、及び可変周波数域の大きな交流電源の製作を行っている。

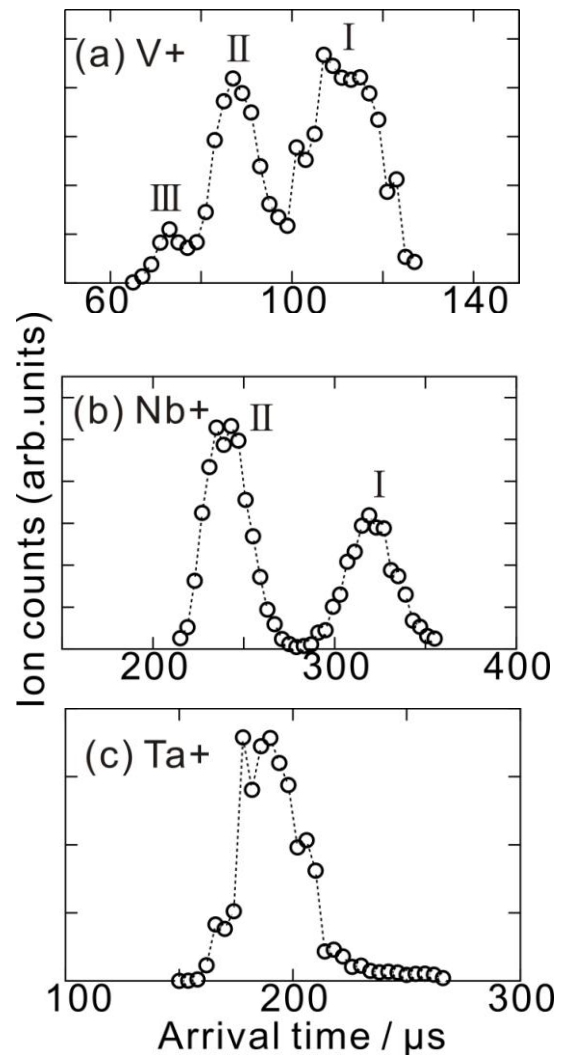


Fig. 1. V<sup>+</sup>, Nb<sup>+</sup>, Ta<sup>+</sup>の到達時間分布。

- (a) V<sup>+</sup>; I : 3d<sup>4</sup>型状態, II : 4s<sup>1</sup>3d<sup>3</sup>型状態,  
 (b) Nb<sup>+</sup>; I : 4d<sup>4</sup>型状態, II : 5s<sup>1</sup>4d<sup>3</sup>型状態,  
 (c) Ta<sup>+</sup>.

[1] P. R. Kemper and M. T. Bowers, *J. Phys. Chem.* **1991**, 95, 5134.

[2] Y. Ibrahim, E. Alsharaeh, R. Mabrouki, P. Momoh, E. Xie, and M. S. El-Shall, *J. Phys. Chem. A* **2008**, 112, 1112.

[3] P.A.M.van Koopen, P. R. Kemper, M. T. Bowers, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 1083.

[4] W. S. Taylor, J. C. May, and A. S. Lasater, *J. Phys. Chem. A* **2003**, 107, 2209.

[5] M. A. Röttgen, K. Judai, J.-M. Antonietti, U. Heiz, S. Rauschenbach and K. Kern, *Rev. Sci. Instrum.* **2006**, 77, 013302.



## 銀ナノ粒子と色々な吸着分子との相互作用

(埼玉大 院理工) ○Yu Yingying, 谷島 徹, 二又 政之

### 【序】

銀ナノ粒子(AgNP)を吸着分子との相互作用により近接安定化させ、局在表面プラズモン(LSP)カップリングによりナノギャップに生じる電場を利用して Surface Enhanced Raman Scattering (SERS)を増強する手法について検討している。これまでにカチオン性ローダミン  $6G^+$  ( $R6G^+$ )分子と NaCl 置換により負電荷を帯びた AgNP との静電的相互作用について明らかにしてきた[1, 2]。ここでは、イソシアンシネート(-N=C=S)基を有するマラカイトグリーンイソシアンシネート (MGITC<sup>+</sup>)及びチオール基を有する P-アミノチオフェノール (PATP) と P-メルカプト安息香酸 (PMBA)を用いた AgNP の近接安定化について検討した。

### 【実験】

AgNP は、硝酸銀をクエン酸で還元する Lee-Meisel 法により窒素雰囲気下で調製した。得られた AgNP は、球状でほぼ均一なサイズ(直径約 35 nm)を持っており、水溶液中で孤立分散している。石英製 1 cm 角セルを用いて、AgNP 分散液に MGITC<sup>+</sup>, PATP 及び PMBA を加えたときの Extinction スペクトルの変化を測定した。

また、同じ溶液について、シリコン基板/ゴムスペーサ(1 mm 厚さ)/カバーガラスからなる薄層セルを用いて、SERS スペクトル測定を行った。

### 【結果と考察】

① イソシアンシネート基を有するカチオン性 MGITC<sup>+</sup>分子の場合、NaCl 添加した時(10 mM)は、Ag 表面負電荷との静電的相互作用により、AgNP が近接安定化した。R6G<sup>+</sup>等とは異なり、この分子では、NaCl を添加しない場合でも近接状態が形成され、ラマン信号が増大した。この時、NaCl 添加の有無に対応して、ラマンスペクトルは有意の違いを示した。NaCl を添加しない場合は、添加した場合と比べ、何本かのスペクトルが分裂したり、シフトした。例えば、図 1 に示すように、NaCl 添加した場合には  $1377\text{ cm}^{-1}$  に 1 本のピークのみが観測されたが、NaCl 添加しない場合、 $1398\text{ cm}^{-1}$  と  $1371\text{ cm}^{-1}$  に 2 本のピークが現れた。この違いは吸着相互作用の違いによる。NaCl 添加時には、MGITC<sup>+</sup>分子は、均等に正電荷を帯びた 2 つのアミノ基により静電吸着する。これに対して、NaCl 添加しない時は、MGITC<sup>+</sup>は、まずイソチオシアネート基で最初の AgNP に吸着し S-Ag 結合を形成する。次に、もう 1 つの AgNP にカチオン性アミノ基で静電的に吸着すると考えられる。

② フェニル基の 1, 4 位にチオール基とアミノ基をもつ PATP は、NaCl を添加しない時に、AgNP に吸着し、近接状態を形成する。同時に SERS 信号も大きく増大した。NaCl 添加しない AgNP に、カチオン性アミノ基を有する R6G<sup>+</sup>分子を加えても吸着しないこと[1] と合わせて考えると、まず PATP は Ag 表面にチオール基を介して結合し、その吸着により AgNP の一部の残留物が脱離し、空いた Ag サイトにアミノ基が窒素原子を介して結合し、近接安定化するものと考えられる。

③ フェニル基の 1, 4 位にチオール基とカルボン酸基を含む PMBA では、類似した置換基を持つ MGITC<sup>+</sup> や PATP と同様に AgNP を近接安定化する可能性がある。しかし、中性 pH 条件(pH~7 > pKa~4)では、孤立した AgNP による Extinction ピークが 410 nm から 424 nm へ 10 nm 程度長波長シフトしたのみであった。これは、PMBA が AgNP に SAM 膜を形成したことにより、PATP の誘電率の効果でシフトしたものである。しかし、長波長側にカップルした LSP による付加的なピークは現れず、近接安定化は起きていない。中性 pH 条件では、カルボン酸が解離し、負電荷をもつ PMBA は銀表面の負電荷と静電的に反発し、近接状態を形成できないためと考えられる。これは、カルボン酸を有するローダミン B が中性条件では NaCl 処理した AgNP に吸着しないことと対応している[1]。実際、PMBA のカルボン酸のプロトン解離を抑制するために、酸性条件(1 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH2~3 < pKa)にしたところ、AgNP の近接安定化が生じた。このとき、680 nm の付加的な Extinction ピークとともに PMBA の巨大なラマンスペクトルが観測された。これらのチオール系分子の AgNP 表面への吸着状態、特にカルボキシル基の吸着構造に関して、詳細な pH 依存性や、対カチオン依存性、さらに Gaussian 03w を用いて振動解析した結果等について報告する。

以上の結果、AgNP はカチオン性色素だけでなく、Ag 表面に共有結合するイソシアニレートやチオールとともに中性アミノ基やカルボキシル基を有する分子により、近接安定化し、大きな SERS 活性が得られることが明らかとなった。分析目的分子の特性に合わせて、AgNP 表面電荷等を制御することにより、この手法が幅広い化学種に適用できることを示している。

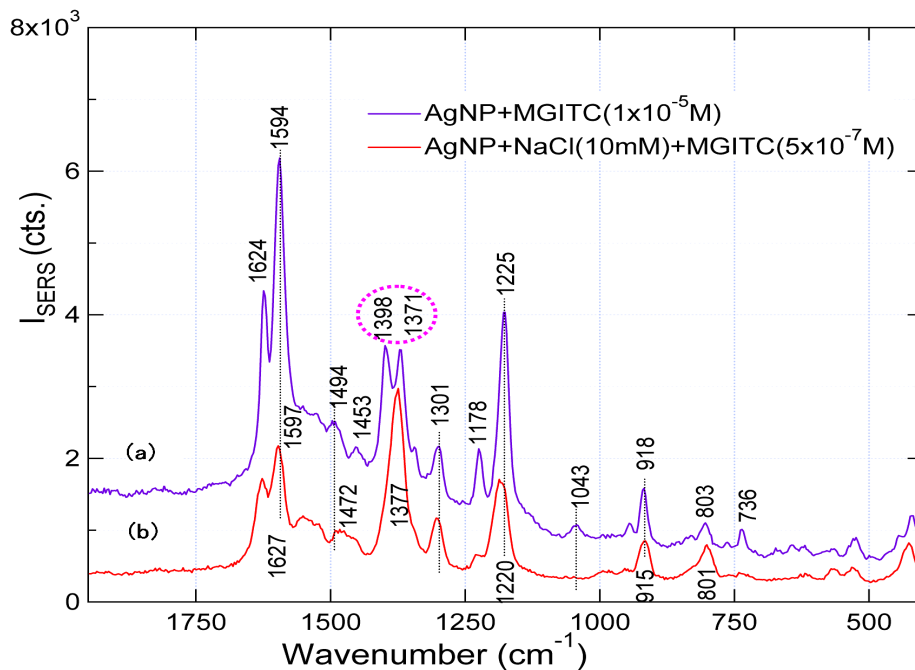


図 1 AgNP 分散液に加えた MGITC の SERS スペクトル : (a) NaCl を添加しない場合, (b) 添加した場合

#### 【参考文献】

- (1) M. Futamata, Y. Yu, T. Yanatori, T. Kokubun. *J. Phys. Chem. C* 114 (2010) 7502-7508.
- (2) M. Futamata, Y. Yu, T. Yajima. *J. Phys. Chem. C* 115 (2011) 5271-5279.

## 分子修飾 STM 金探針を用いたプラズモン増強ラマン 散乱測定：基板形状の効果

(東北大院理) ○佐藤宏一、藤田康彦、梶本真司、堀本訓子、福村裕史

【序】近年、走査型プローブ顕微鏡と表面プラズモンを組み合わせることで試料表面のナノスケール分光が試みられている。このような研究では、複雑な形状を持った金属の基板やナノ構造体上に観測分子を分散させることが多い。この際、均一に分子を分散させることが難しいため、測定されたシグナルには基板の形状と分子の吸着量の両方が寄与している可能性が考えられる。このため、基板の表面プラズモン特性をより定量的に評価できる新しい手法が望まれている。本研究では探針側に分子を固定して励起光を探針先端に集光し、基板を近づけ、そこからの増強ラマン散乱光を観測した。このような手法を用いることで、測定中も光照射されている分子数を一定に保つことができるため、様々な形状の基板に生じる表面プラズモンの解析が可能になると期待される。具体的には、ベンゼンチオール(BT)を化学吸着させた金探針を作製し、平滑な基板と凹凸を有する基板に近づけることでラマンおよび発光スペクトルを得た。また、探針-基板間の間隙におけるギャップモードプラズモン励起下で、レーザーの偏光や強度を変化させ、スペクトルの定量的な評価を試みた。さらに、フォトンマッピング像を STM 像と同時に取得し、基板形状と増強ラマン散乱光強度の関係を調べた。

【実験】凹凸を有する基板は、マイカ上に金を真空蒸着させることにより作製した。平滑な基板は、作製した金蒸着基板を窒素雰囲気下でアニーリング処理することにより得た<sup>1</sup>。探針は金線を電界研磨することにより作製した<sup>2</sup>。電界研磨後、piranha 溶液に浸漬して表面の有機物を除去した。その後、BT/エタノール溶液( $10^{-2}$  M)に3日間浸漬し、エタノールと水で洗浄後、窒素ガスで乾燥させた。この BT 修飾金探針を用い、探針先端に He-Ne レーザー(632.8 nm)を照射しながら STM 測定を行った。測定は室温・大気圧下で行った。なお、探針の長軸に対して平行な偏光を p 偏光、それに垂直な偏光を s 偏光と定義した(Fig. 1(b) inset 参照)。また、用いた実験系では基板側をピエゾ素子で動かすことにより走査しており、STM 探針と光学系は固定されているため、その相対位置は不変である。

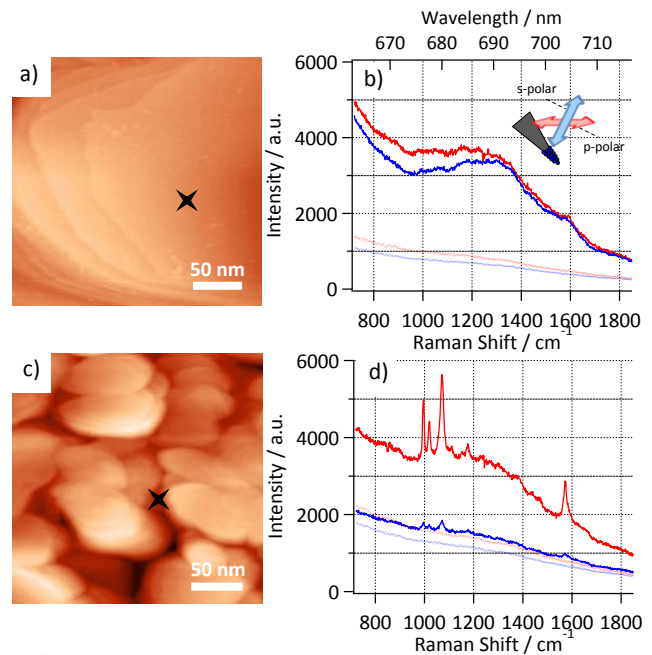


Fig. 1

a), c) STM images of Au(111) substrate and Au-evaporated film  
b), d) Raman spectra of BT adsorbed Au-Tip on Au(111) substrate and Au-evaporated film

- Substrate approached (p-polarization)
- ..... Substrate retracted (p-polarization)
- Substrate approached (s-polarization)
- ..... Substrate retracted (s-polarization)

【結果と考察】 Fig. 1(a), (c) に平滑な基板及び凹凸を有する基板の STM 像を示す。それぞれの基板を探針との距離が 1 nm 程度になるまで近づけた状態で p 偏光、s 偏光を照射して得たスペクトル、また基板を探針から数  $\mu\text{m}$  遠ざけた状態で取得したスペクトルを Fig. 1(b), (d) に示す。両基板共に、基板を探針に近づけた場合のみ、ブロードな発光が観測された。これは、金のバンド間遷移に由来すると考えられる。さらに凹凸を有する基板上では、この発光に加えて BT に帰属されるラマンシグナルが観測された。これは、基板の凹凸に由来する表面プラズモンがギャップモードプラズモンを強く誘起したためと考えられる。なお凹凸を有する基板上ではシグナル強度に強い偏光依存性が見られ、BT の C-S 伸縮振動に対応する  $1072\text{ cm}^{-1}$  のラマンピークで比較したところ p 偏光照射時には s 偏光照射時の 15 倍の増強ラマンが観測された。

Fig. 2(a) に様々な強度のレーザー光を凹凸を有する基板の探針先端に照射したときのスペクトルを示す。また、Fig. 2(b) に、 $1072\text{ cm}^{-1}$  のラマン強度と  $690\text{ nm}$  の発光強度をレーザー強度に対してプロットしたグラフを示す。ラマン強度は、レーザー強度が  $80\text{ kW/cm}^2$  以下では線形的に増加するが、それ以上になると減衰し  $300\text{ kW/cm}^2$  の強度では観測できなくなった。この結果から、ギャップモードプラズモンの誘起に伴って生じる強い増強電場内では、分子の分極率が変化しにくくなるのではないかと考えられる。一方、発光強度は、 $110\text{ kW/cm}^2$  以下では急激に増え続けているが、それ以上になるとゆるやかに増加していった。

Fig. 3(a), (c) に p 偏光及び s 偏光を照射しながら得た凹凸を有する基板の STM 像を示す。また、これらの STM 測定と同時に取得したフォトンマッピング像を Fig. 3(b), (d) に示す。なお観測波長は、 $679\text{ nm}$  ( $1072\text{ cm}^{-1}$ ) である。ギャップモードプラズモンの誘起によって生じる増強電場分布は p 偏光と s 偏光で大きく異なっていることが確認できる。これは、基板表面に誘起される表面プラズモンの偏光依存性の差異を反映していると考えられる。

【参考文献】 ref.1 : C. Nogués et al., Surface Science., 573, 383,(2004)  
ref.2 : B. Pettinger et al., Rev. Sci. Inst., 75, 4,(2004)

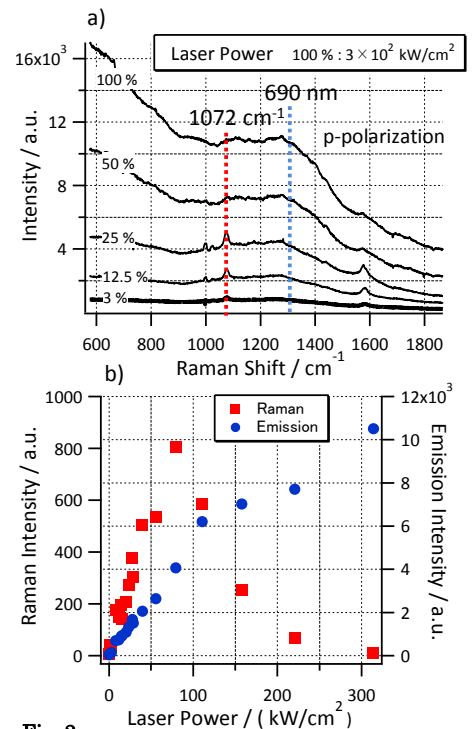


Fig. 2  
a) Laser power dependence of Raman spectra of BT  
【Set Point : 0.037 nA, Bias Voltage : 1.0 V, p-polarization】  
b) Laser power dependence of Raman and emission intensity

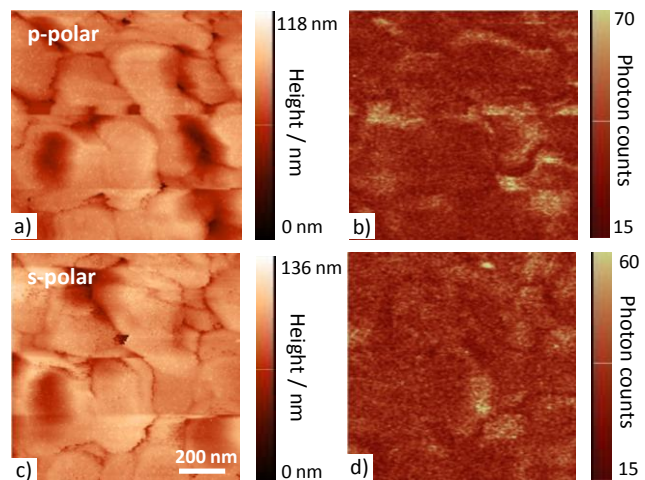


Fig. 3 STM(a, c) and photon mapping images(b, d) simultaneously obtained with p-polarized light (a, c), and s-polarized light (b, d), respectively.

## Atomic-level control of size and composition of Au-based clusters and their oxidation catalysis

Songhai Xie<sup>1</sup>, Hironori Tsunoyama<sup>1</sup>, Wataru Kurashige<sup>2</sup>, Yuichi Negishi<sup>2</sup>, Tatsuya Tsukuda<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Catalysis Research Center, Hokkaido University, <sup>2</sup>Tokyo University of Science)

**【Introduction】** Gold clusters exhibit interesting chemical properties depending on the atomic numbers (size); for instance, gold cluster anions in the gas phase can react with oxygen molecules only when the size is small and even numbers [1]. Model gold catalysts on a metal oxide surface prepared by a soft-landing method can catalyze CO oxidation when the size is larger than 8 [2]. In addition, a theoretical study predicted that doping of even a single impurity atom greatly enhances the catalytic activity [2]. These studies on the model system illustrate that the catalysis of gold clusters can be manipulated by controlling the cluster size and composition at the atomic level. However, it is a challenge to realize this idea in real catalytic system. Recently, we developed a method to control the size of Au clusters at the atomic level using thiolate-protected Au clusters as precursors [5,6]. In this work, we extended this approach toward the synthesis of bimetallic Au-based clusters using dodecanethiolate-protected Pd<sub>1</sub>Au<sub>24</sub> clusters [4]. We successfully prepared a series of Au<sub>25</sub>, Pd<sub>1</sub>Au<sub>24</sub>, Au<sub>38</sub> and Au<sub>144</sub> clusters on carbon nanotubes (CNTs). The catalytic properties of these catalysts were compared for aerobic oxidation of benzyl alcohol. Clear effect of cluster size and single-atom doping on catalysis were observed for the first time.

**【Experimental】** Dodecanethiolate-protected Au-based clusters were synthesized according to the methods described in refs [3,4]. For Au<sub>25</sub>, Au<sub>38</sub> and Au<sub>144</sub> clusters, the Brust-Schiffrin method [3] was employed to obtain a mixture of dodecanthiolate-protected Au clusters. After removing by-products and unreacted starting materials, clusters with specified sizes are purified by extracting with different solvents or mix-solvent. Dodecanethiolate-protected Pd<sub>1</sub>Au<sub>24</sub> binary clusters were prepared by following the protocol for the phenylethanethiolate-protected Pd<sub>1</sub>Au<sub>24</sub> clusters reported before [4].

CNTs (Nanocyl, NC-7000) were dispersed in toluene and sonicated for ~1 hr. The toluene solution containing calculated amount (0.2 wt%) of Au<sub>n</sub>(Pd)(SC<sub>12</sub>H<sub>25</sub>)<sub>m</sub> clusters were injected into the suspension of CNTs under vigorous magnetic stirring. After 1 hr, the Au<sub>n</sub>(Pd)(SC<sub>12</sub>H<sub>25</sub>)<sub>m</sub>/CNTs composites are filtered and dried in vacuum 12 hr.

The calcination of the composites was performed in a quartz-tube oven under vacuum conditions: the temperature was raised to 300 or 450°C with a heating rate of 2°C/min. The aerobic oxidation of benzyl alcohol was studied under the same conditions as in ref. [5].

**【Results and discussion】** Optical spectroscopy of the filtrates indicated a complete addition of Au<sub>n</sub>(Pd)(SC<sub>12</sub>H<sub>25</sub>)<sub>m</sub> clusters onto CNTs. The Au<sub>n</sub>(Pd)(SC<sub>12</sub>H<sub>25</sub>)<sub>m</sub>/CNTs composites before and after calcinations were observed by TEM as well. The fresh prepared Au<sub>n</sub>(Pd)(SC<sub>12</sub>H<sub>25</sub>)<sub>m</sub>/CNTs composites images clearly show that clusters are highly dispersed on CNTs and kept the original sizes. The size distribution of catalysts after the calcination increased a little and only small amount of aggregated clusters are found (Fig. 1). These results demonstrated the present method is effective for atomic-level control of size and composition of Au-based catalysts.

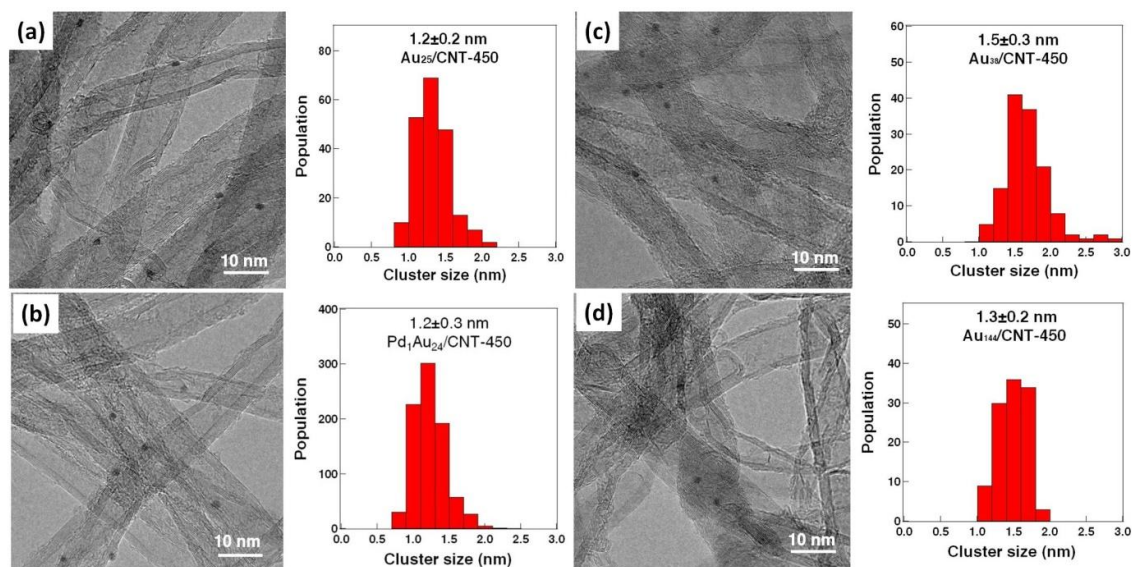


Fig 1. Typical TEM images and corresponding size distribution of  $Au_n(Pd)/CNTs$  (calcination under  $450^\circ C$ )

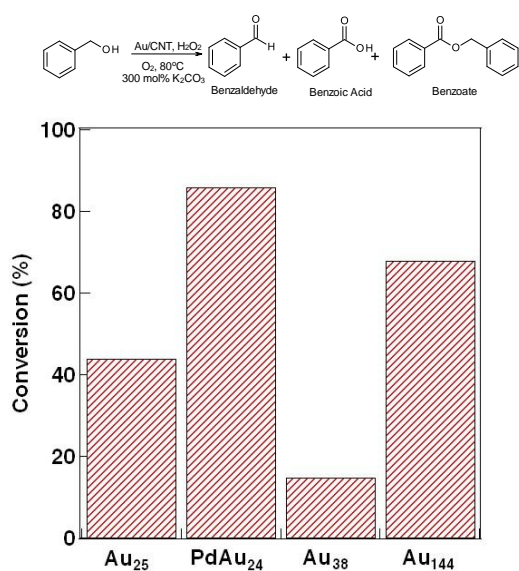


Fig 2. Phenyl alcohol oxidation activities of  $Au_n(Pd)/CNTs$  calcined under  $450^\circ C$

Oxidation of benzyl alcohol was used as a test reaction. Typically, benzaldehyde was the main product when the conversion was lower than 20% and benzoic acid dominated the product when the conversion became higher than 40%. Figure 2 shows the conversion by the catalysts calcinated at  $450^\circ C$ . Interestingly,  $Pd_1Au_{24}/CNTs$  showed much higher activities than  $Au_{25}/CNTs$  (Fig. 2). This is, to the best of our knowledge, the first demonstration of single atom doping effect on gold catalysis. Size dependence and single atomic doping effects were clearly observed.  $Au_{144}/CNTs$  showed higher activity than  $Au_{25}/CNTs$  and  $Au_{38}/CNTs$ . The origin of this size effect is not clear at this moment, but the interaction of Au clusters with CNTs may play a role.

### 【Reference】

- [1]. R. Meyer et al. *Gold Bull.* **2004**, 37, 72-124.
- [2]. U. Heiz and U. Landman, *Nanocatalysis*
- [3]. N. K. Chaki et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 8608–8610.
- [4]. Y. Negishi et al. *Phys.Chem.Chem.Phys.*, **2010**, 12, 6219–6225.
- [5]. Y. Liu et al. *J. Phys. Chem. C*, **2009**, 113, 31, 13457-13461.
- [6]. Y. Liu et al. *ACS Catal.* **2011**, 1, 2–6.

## イリジウム錯体のりん光寿命測定による in vivo 酸素濃度計測

(群馬大学 ATEC\*, 群大院・工\*\*, 秋田県立大学\*\*\*, 群馬大学\*\*\*\*) ○小林 敦\*, 吉原 利忠\*\*, 穂坂 正博\*\*\*, 竹内 利行\*\*\*\*, 飛田 成史\*\*

【序】イリジウム錯体は、室温において強いりん光を与える。しかし、りん光は酸素によって顕著な消光を受ける。我々は、この酸素消光現象を利用して、イリジウム錯体のりん光を用いて生体中の癌などの低酸素組織を可視化する方法を開発した[1]。これまでに BTP を用いて、担癌マウス中のりん光寿命測定により酸素濃度の定量を行った。

しかし、BTP は吸収・りん光波長が短く、組織内部までは光が到達し難い。また、生体膜に対する親和性が低いため、投与量を多くする必要がある。本研究では BTP の配位子を改変し、吸収・りん光の長波長化、および生体膜親和性を向上させたイリジウム錯体である BTPDM および BTQSA (Fig. 1)を開発し、in vivo 酸素濃度計測を行った。

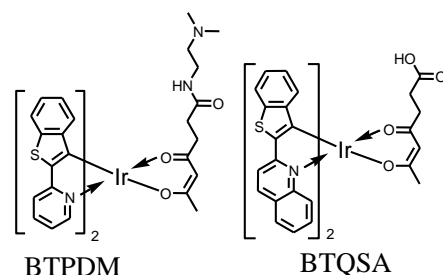


Fig. 1 BTPDM と BTQSA の構造

【実験】吸収スペクトル測定には、分光光度計(Jasco V-550)を用いた。りん光スペクトル測定には、蛍光分光光度計(日立 F-7000)を用いた。りん光顕微画像は、倒立型リサーチ顕微鏡 IX71(OLYMPUS), Evolve 512 (PHOTOMETRICS)で観察を行った。HeLa 細胞の培養液に各イリジウム錯体を添加(最終濃度: BTP, BTPDM ; 5 $\mu$ M, BTQSA ; 2 $\mu$ M)してから 2 時間後、りん光顕微画像の観察を行った。in vivo 発光寿命測定には Fig. 2 に示す装置を用いた。二分岐ファイバを用いることにより、マウスの体の任意の点について発光寿命を測定することができる。励起光には Nd<sup>3+</sup>:YAG laser の第 2 高調波(532 nm, 15kHz)を用いて、時間相関単一光子計数法に基づいて発光減衰を測定した。担癌マウスの尾静脈からイリジウム錯体 250 nmol (Dimethylsulfoxide : 生理食塩水 = 1:9) 溶液 100  $\mu$ l を投与し、3 時間後に癌組織と正常組織の発光寿命測定を行った。

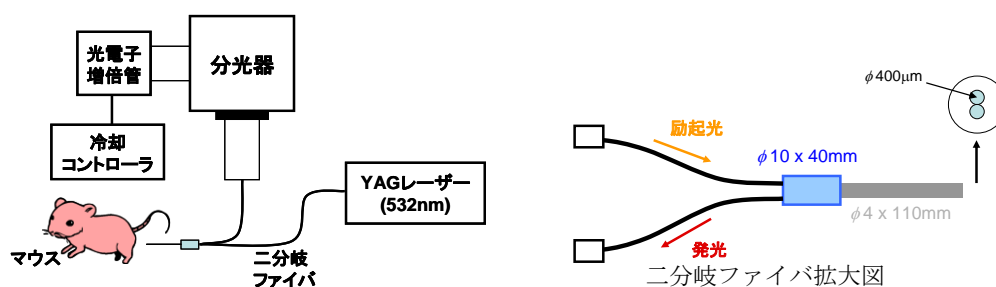


Fig. 2 in vivo 発光寿命測定装置

【結果と考察】Fig. 3 に BTP, BTPDM, BTQSA の吸収・りん光スペクトルを示す。BTP と BTPDM はほぼ同様のスペクトルを示し、BTQSA は BTP と比較し吸収・りん光ともに長波長化した。Fig. 4 に BTP, BTPDM, BTQSA 添加 2 時間後の HeLa 細胞のりん光顕微画像を示す。BTP と比較して BTPDM は著しく発光強度が高いことから、BTPDM は BTP よりも細胞中に取り込まれやすいことが分かる。

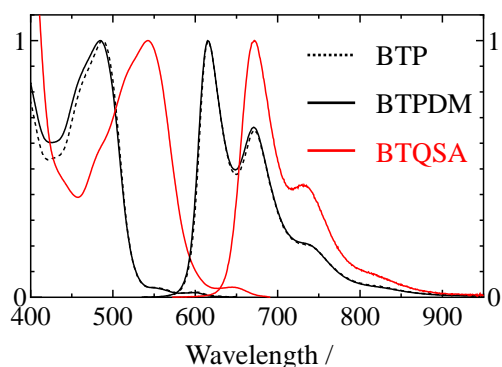


Fig. 3 BTP, BTPDM, BTQSA の吸収・りん光スペクトル

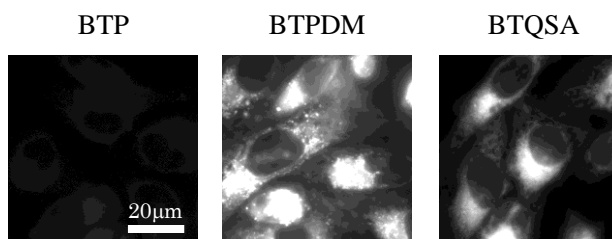


Fig. 4 BTP, BTPDM, BTQSA 添加 2 時間後のりん光顕微画像

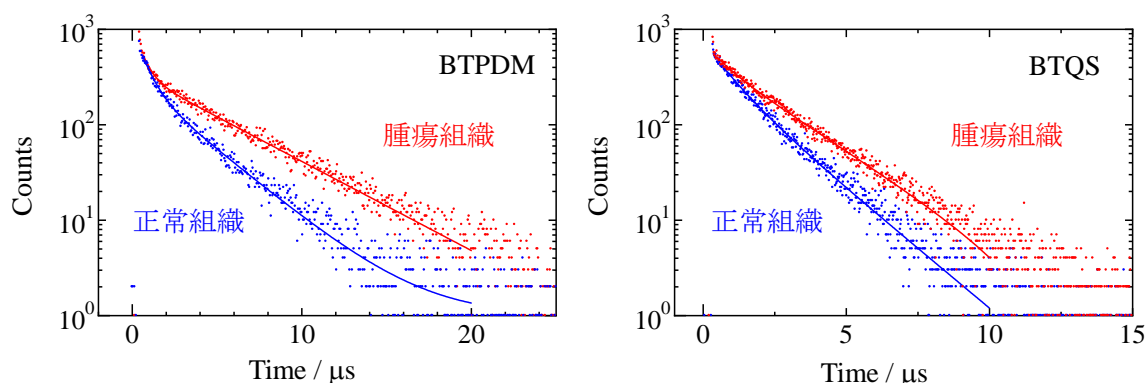


Fig. 5 マウスの腫瘍組織および正常組織における発光減衰曲線

Fig. 5 に BTPDM, BTQSA を投与した担癌マウスの腫瘍組織, 正常組織の発光減衰曲線を示す。BTPDM, BTQSA いずれも正常組織に比べ腫瘍組織中においてりん光寿命が長くなった。以下に示す Stern-Volmer の式より組織中の酸素分圧を求めた。

$$\frac{\tau_p^0}{\tau_p} = 1 + k_q \tau_p^0 pO_2 \quad (1) \quad pO_2 = \frac{1}{k_q} \left( \frac{1}{\tau_p} - \frac{1}{\tau_p^0} \right) \quad (2)$$

ここで  $pO_2$  は酸素分圧,  $\tau_p^0$  は脱気下におけるりん光寿命,  $\tau_p$  は酸素分圧  $pO_2$  でのりん光寿命,  $k_q$  は消光速度定数である。BTPDM, BTQSA の  $k_q$  はニードル型光学酸素センサーを用いて測定したマウス体内の酸素濃度から求めた。得られた  $k_q$  をもとに組織中酸素分圧を求めたところ, 一般的に知られている腫瘍組織, 正常組織中の酸素分圧とほぼ一致した。

Table 1 イリジウム錯体のりん光寿命測定から見積もった担癌マウスの組織中の酸素分圧

Probe	Tissue	$\tau_p^0$ ( $\mu$ s)	$\tau_p$ ( $\mu$ s)	$k_q$ ( $10^3$ mmHg $^{-1}$ s $^{-1}$ )	$pO_2$ (mmHg)
BTPDM	tumor	5.6	4.6	2.57	25
	normal	5.6	3.0	2.57	58
BTQSA	tumor	3.1	2.3	4.25	26
	normal	3.1	1.8	4.25	58



## 4P081

### イリジウム錯体のりん光を用いた低酸素がん腫瘍イメージング： 配位子の構造が細胞内動態に及ぼす影響

(群馬大院・工<sup>1</sup>, 群馬大学 ATEC<sup>2</sup>, 秋田県立大・生物資源科学<sup>3</sup>, 群馬大<sup>4</sup>) ○市川 和貴<sup>1</sup>,  
吉原 利忠<sup>1</sup>, 小林 敦<sup>2</sup>, 穂坂 正博<sup>3</sup>, 竹内 利行<sup>4</sup>, 飛田 成史<sup>1</sup>

【序】がん組織は無秩序な細胞の増殖や分裂のために、血管構造が不規則な形状となり、正常組織よりも低酸素状態にあることが知られている<sup>1)</sup>。がん組織を高感度かつ非侵襲的に検出するには、酸素濃度に依存して発光強度及び発光寿命が顕著に変化するりん光が有用であると考えられる。そこで、我々は、皮膚への透過性の良い赤色りん光を示す C-cis,N-trans,bis[2-(2'-benzothienyl)-pyridinato -N,C<sup>3'</sup>]iridium(acetylacetonate)(BTP)を用い、低酸素状態にあるがん腫瘍を可視化することに成功した<sup>2)</sup>。しかし生体への投与を考慮すると、イリジウム錯体の細胞膜透過性を向上させることにより、より低濃度でのイメージングを可能にする必要がある。

本研究では、BTP の発光特性にほとんど関与しない補助配位子であるアセチルアセトン配位子に代えて、スクシニルアセトン、末端にアミノ基を有する配位子、末端に N,N-ジメチルアミノ基を有する配位子、末端にアセトキシメチル基を有する配位子をそれぞれ配位させた BTPSA, BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM, BTPAM を合成し、BTP の補助配位子の化学構造が細胞膜透過性および細胞内動態に及ぼす影響を解明することを目的とする。

Fig. 1 に BTP, BTPSA, BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM, BTPAM の構造式を示す。

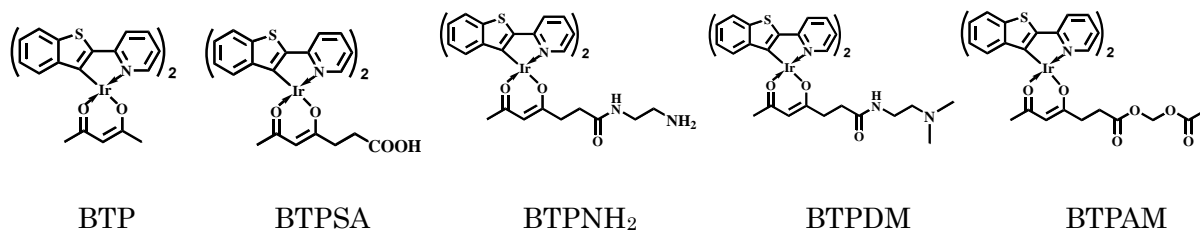


Fig. 1 各イリジウム錯体の構造式

【実験】りん光顕微画像は、倒立型リサーチ顕微鏡 IX71(OLYMPUS), Evolve 512 (PHOTOMETRICS)で観察を行った。

マウス扁平上皮がん(SCC-7)由来細胞を移植したヌードマウスの BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM における光イメージング画像は、マウスの尾静脈より生理食塩水:DMSO(9:1)に溶かした BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM を 250nmol 投与し 2 時間後、*in vivo* イメージングシステム(Maestro2)で観察を行った。

【結果と考察】BTP, BTPSA, BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM, BTPAM の THF 中、脱気条件下における吸収・りん光特性の測定を行った。BTP の吸収スペクトルの極大波長は 487 nm, りん光スペクトルの極大波長は 615 nm, りん光量子収率は 0.3, りん光寿命は 5.7 μs であり, BTPSA, BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM, BTPAM もほぼ等しい値となった。このことから BTPSA, BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM, BTPAM は BTP の吸収・りん光特性を保持していることが分かる。

Fig. 2 に HeLa 細胞の培養液に最終濃度 5μM になるように BTP, BTPSA, BTPAM を添加してから 2 時間後のりん光顕微画像を示す。BTP に比べ、BTPSA, BTPAM のりん光強度が低いこ

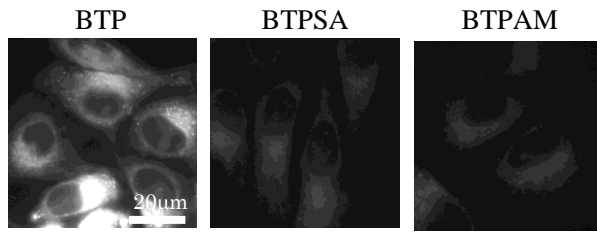


Fig. 2 BTP, BTPSA, BTPAM 添加 2h 後のりん光顕微画像

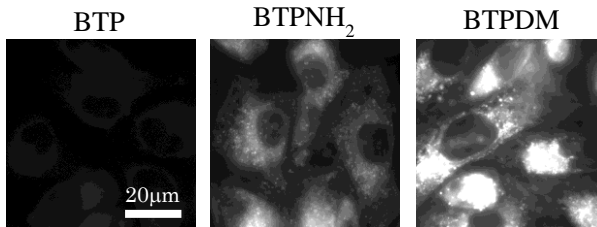


Fig. 3 BTP, BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM 添加 2h 後のりん光顕微画像

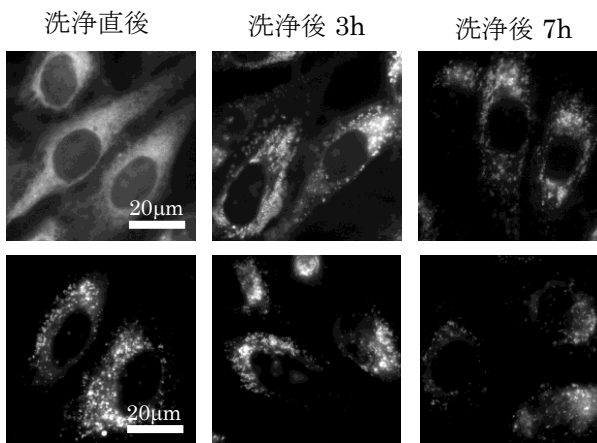


Fig. 4 BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM の細胞内局在の経時変化

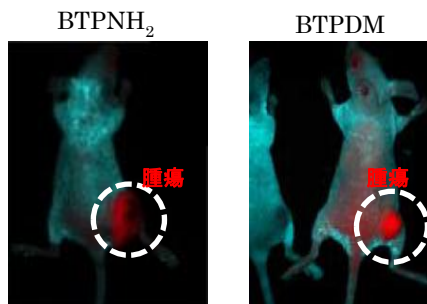


Fig. 5 BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM を投与した担がんマウスの光イメージング画像

とから BTPSA, BTPAM は BTP に比べ細胞内に取り込まれにくいことが分かる。Fig. 3 に HeLa 細胞の培養液に最終濃度 5 $\mu$ M になるように BTP, BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM を添加してから 2 時間後のりん光顕微画像を示す。BTP に比べ BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM のりん光強度が著しく高いことから、BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM は BTP に比べ細胞内に取り込まれ易いことが分かる。

Fig. 4 に HeLa 細胞の培養液に最終濃度 5 $\mu$ M になるように BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM を添加し、1 時間培養後、シャーレ内を洗浄した直後および洗浄後 Ir 錯体非存在下で 3 時間、7 時間培養後のりん光顕微画像を示す (上段: BTPNH<sub>2</sub>, 下段: BTPDM)。BTPNH<sub>2</sub> において、洗浄直後の画像は小胞体を選択的に局在する ER-tracker と酷似した画像が得られ、洗浄後 7 時間の画像はリソソームを選択的に局在する Lyso-tracker と酷似した画像が得られることから、BTPNH<sub>2</sub> は小胞体からリソソームに局在が移動していることが分かる。また、BTPDM において、洗浄直後の画像は Lyso-tracker と酷似した画像が得られ、その後局在の変化がほとんど見られないことから、BTPDM は主にリソソームに局在することが分かる。

Fig. 5 にマウス扁平上皮がん(SCC-7)由来細胞を移植したヌードマウスの BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM における光イメージング画像を示す。BTPNH<sub>2</sub>, BTPDM 共に低酸素状態にあるがん腫瘍をイメージングすることが可能であることが分かる。

- 1) M. Höckel, P. Vaupel, *J. Natl. Cancer Inst.*, **2001**, 93, 266.
- 2) S. Zhang, M. Hosaka, T. Yoshihara, K. Negishi, Y. Iida, S. Tobita, T. Takeuchi, *Cancer Res.*, **2010**, 70, 4490.

4P082

## ベシクル型人工細胞における増殖 DNA が誘発する ベシクル肥大・分裂機構について

○ 菅悠美<sup>1</sup>、栗原顕輔<sup>2</sup>、豊田太郎<sup>2,3</sup>、今井正幸<sup>1</sup>、菅原正<sup>2,3</sup>

1. お茶大院・理 2. 東大院・総合 3. 東大・複雑系生命システム研究センター

### 【序】

近年、生命の起源を物理・化学的に解明する上で人工細胞を創る研究が注目されている。人工細胞を構築するに当たり、まず細胞を構成する要素を抽出し、モデル化を行うことが重要である。この要素とは自己と外界とを分ける境界、境界内部で反応を活性化するための触媒、そして世代間で受け継がれる情報である。このうち境界に関しては、ソフトマター物理の面から脂質二分子膜で構成されるベシクルについての研究が進められており、さらに化学反応を組み合わせることで、自己生産を繰り返してもベシクルのサイズが保たれる系が確立されている。

我々はこれまでに、情報伝達物質である DNA の複製系と膜の自己生産系とが連動したベシクル型人工細胞の構築を報告した。この系で、増幅した DNA がベシクル分裂の促進因子として働いたことから、そのメカニズムを解明するため、DNA のもつ電荷に注目し、ベシクル変形ダイナミクスに対する DNA の鎖長依存性を調べることを本研究の目的とした。鎖長の異なる DNA (374bp, 1164bp, 3200bp) を内包したベシクルを調製し、DNA 増幅後に膜分子前駆体を添加したところ、光学顕微鏡観察及び共焦点レーザー走査型蛍光顕微鏡により、どの鎖長を含むベシクルについても肥大・分裂のダイナミクスが確認できた。さらに DNA 鎖長および内部膜構造との相関について精査した結果を報告する。

### 【結果・考察】

#### 1) PCR 可能なベシクル系の構築

本研究で用いる自己生産するベシクルの膜組成は、PCR における熱条件に対して安定な両イオン性のリン脂質である POPC を主成分とした。さらに、カチオン性の膜分子 **V** (図 1) と共に、高濃度の電解質存在下でベシクルの加熱をともなう PCR 条件下でのベシクルの安定性を確保する

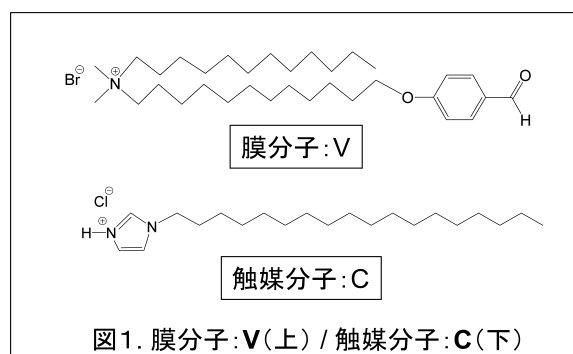


図1. 膜分子:V(上) / 触媒分子:C(下)

ために、ポリエチレングリコール(PEG)鎖のついたリン脂質 DSPE-PEG<sub>5000</sub> を加え、混合比率 POPC : DSPE-PEG<sub>5000</sub> : V : 触媒分子 C = 74 : 5 : 4 : 8 (mol%) の脂質からなるベシクルを調製した。

#### 2) ベシクル内 PCR の可視化

PCR 用膨潤溶液に二本鎖 DNA の検出剤である SYBR Green I (SG) を加え、ベシクル内 PCR を行なった。ベシクル内部で DNA が増幅されると、二本鎖 DNA と SG の複合体が蛍光を発するので、蛍光顕

微鏡観察によりベシクル内で PCR が進行したことを確認した。

### 3) 増幅した DNA を持つジャイアントベシクルの自己生産ダイナミクス

#### ①微分干渉顕微鏡観察

ベシクル内部での DNA の複製は、内封した 3 種の DNA の鎖長の違いに関わらず進行した。さらに、DNA を増幅させたベシクルに、膜分子前駆体 **V\*** を添加することでベシクルの自己生産ダイナミクスを引き起こすことに成功した。観察結果より、本系における変形挙動は、**V\*** 添加後 (0 分) からベシクルの変形が始まるまでの初期状態、さらに変形を始め最終的な形状に落ち着くまでの中間状態を経て、最終的な

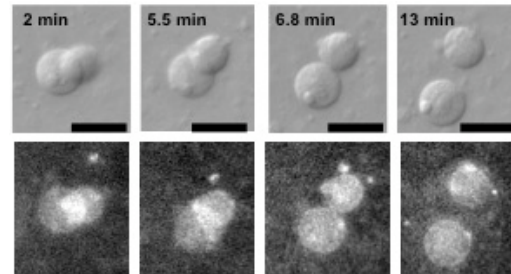


図 2. DNA (鎖長:3200bp) を内包するベシクル自己生産ダイナミクスの微分干渉顕微鏡像 (上:明視野像 下:蛍光像 bar = 20  $\mu\text{m}$ )

形状である終状態へと進行することが明らかになった。また、このダイナミクスを蛍光顕微鏡で観察したところ、分裂後のベシクルにも二本鎖 DNA と蛍光プローブ (SG) との複合体に由来する蛍光が観察された (図 2)。このことは、分裂したベシクルにも増幅した DNA が分配されていることを意味している。

#### ②共焦点レーザー走査型蛍光顕微鏡観察

膜分子前駆体 **V\*** 添加後、ベシクルが初期状態から中間状態に移行する過程で起こる内部膜構造の変化を追跡することを目的として、ベシクルの膜を蛍光色素で標識し、共焦点蛍光顕微鏡を用いた三次元計測を行なった (図 3)。この計測により、**V\*** 添加直後からベシクル内で、内部の膜を足場とする活発な膜生成を伴う形態変化が起こっていることが明らかになった。ベシクル内部の膜構造の変化は、i) DNA がベシクル内部の膜上へ接着することが引き金となり、その近傍で膜変形が誘発される、ii) これに伴い、膜に溶存する触媒の作用で、外水相に添加したカチオン性の膜分子前駆体の加水分解が起こりやすい環境が形成される、iii) その結果 DNA 接着箇所が活性点となり、ベシクル内部での膜生産が急速に起こり、新たなベシクルの肥大・分裂あるいはバーシングが起こるという機構により理解される。

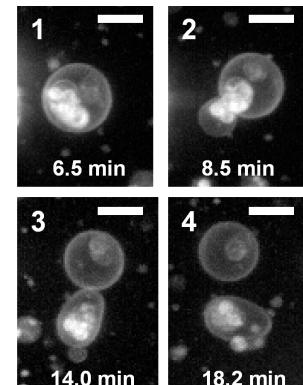


図 3. DNA (鎖長:1164bp) を内包するベシクル自己生産ダイナミクスの共焦点顕微鏡像 (bar = 5  $\mu\text{m}$ )

#### 【総括・展望】

全鎖長 DNA において、ベシクル内部での DNA の増幅、さらに膜分子前駆体添加後にベシクルの自己生産ダイナミクスを確認することができた。これらの結果より、変形挙動に関して分類を行なった。さらに、共焦点レーザー走査型蛍光顕微鏡観察より変形時の内部膜構造を三次元的に明らかにした。今後は、DNA 鎖長および内部膜構造との相関について明らかにして行く予定である。

## 中赤外波長領域での超解像赤外分光イメージング-生体試料観察の試み-

(東工大・資源研) ○菊地 克也、北次 加奈、田島 朋樹、藤井 正明、酒井 誠

【序】赤外分光法は分子の特徴を示す官能基に関する情報を鋭敏に反映するので、分子構造や機能を測定する上で有用であり、生体分子の構造解析にも広く用いられている。この赤外分光法を光学顕微鏡に応用した赤外顕微鏡は、非破壊で微小試料の分子構造に関する情報が得られることから、近年では生体組織観察にも適用されている。一方、通常の赤外顕微鏡では赤外波長とレンズの開口数によって一意に決まる回折限界による制限（回折限界 =  $0.61\lambda / NA$  :  $\lambda$  は波長、NA は開口数）のため空間分解能が  $10 \mu\text{m}$  程度となり、大きさが数  $\mu\text{m}$  程度の細胞内部までは観察できない。もし空間分解能をサブマイクロメートルまで向上できれば、可視光を用いた光学顕微鏡と同等の空間分解能で、細胞の形状や位置の情報だけでなく、細胞内部の構造や機能を分子レベルで観察する事が可能となり、非常に有用である。

我々は、2波長レーザー分光法的一种である過渡蛍光検出赤外分光法 (Fig. 1 (左)) や振動和周波発生 (VSFG) 法 (Fig. 1 (右)) を光学顕微鏡技術に応用し、赤外光の回折限界を突破した高い空間分解能、すなわち赤外超解像を有する赤外超解像顕微鏡の開発に取り組んでいる。

例えば VSFG は、可視光と赤外光を同時に照射するとそのエネルギーの和に相当する VSFG 光が発生するという非線形光学効果の一種である。赤外光が分子の振動状態に一致した時に VSFG 光の強度が著しく増大するため、VSFG 光を観測しながら赤外光の波長を掃引することで、VSFG スペクトルを得ることができる。さらに、VSFG 光は可視領域の波長を持つため、赤外吸収像を可視領域で観察できることになり、赤外光の回折限界を遥かに凌駕した赤外超解像が達成される。実際に  $3 \mu\text{m}$  帯赤外波長領域において、細胞を非染色かつ生きたままでの超解像赤外分光イメージングに既に成功している[1]。

しかしながら、生体試料に対して、中赤外領域に出現する重要な分子振動を用いた超解像赤外分光イメージングは未だ手つかずであり、例えばタンパク質の主鎖の二次構造の解析に必須なアミドバンドのイメージングも達成されていない。また、通常の赤外顕微鏡では赤外波長の長波長化に伴い、回折限界の制約から空間分解能が更に低下するが、本手法では原理上空間分解能は可視発光の波長で決まり赤外波長に依存しないため[2]、中赤外波長領域においても  $1 \mu\text{m}$  を切る高い空間分解能で超解像赤外分光イメージングが可能であると期待される。

これらを踏まえ、空間分解能の観点から我々の手法の有用性を示すべく、観察可能な赤外波長領域をより長波長である  $7-8 \mu\text{m}$  のアミドⅢ領域まで拡張し、生体試料 (毛髪) の超解像赤外分光イメージングを試みた。

【実験】励起光源である赤外光と可視光は再生増幅器によって増幅された Ti:Sapphire レーザーのピコ秒パルスで波長変換することで得られ、それぞれ赤外光  $5-9 \mu\text{m}$  ( $1111-2000 \text{ cm}^{-1}$ ) および可視光  $613 \text{ nm}$  の光を用いた。強度は、それぞれ  $3 \mu\text{J/pulse}$  および  $100 \text{ nJ/pulse}$  程度であった。これ

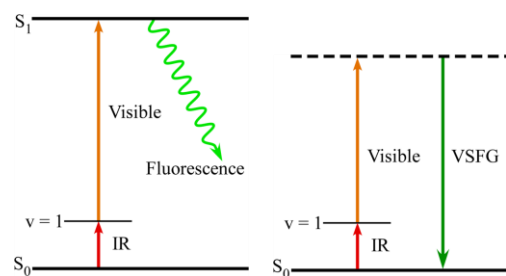


Fig. 1 (左) 過渡蛍光検出赤外分光法 (右) 振動和周波発生法のエネルギーダイアグラム

らの光をビームコンバイナーで同軸に合わせ、CaF<sub>2</sub> レンズ ( $f = 100 \text{ mm}$ ) を用いてサンプル上に照射した。発光は背面から対物レンズ (N.A. = 0.4) を用いて集め、ノッチフィルター、赤外カットフィルター、バンドパスフィルターを通した後に結像レンズにより ICCD カメラ上に結像した。毛髪試料は、1-5  $\mu\text{m}$  の厚さにカットした試料を CaF<sub>2</sub> 基板によりプレパラートに封入し、分光法には非蛍光性試料が測定可能な VSFG 法を用いた。毛髪試料は花王株式会社の伊藤隆司博士、長瀬忍氏に提供して頂いた。

【結果と考察】毛髪に

VSFG 法を適用し、超解像赤外分光イメージングを行った結果を Fig. 2 に示す。(a) は毛髪全体の透過像である。(b)、(c) は透過像中の白点線枠で囲った部分に対して超解像赤外分光イメージングを行った結果である。可視光 (613 nm) のみを入射しても発光は全く観測されないが (Fig. 2b 参照)、可視光とアミド III バンドの振動数に相当する赤外光 ( $1270 \text{ cm}^{-1}$ ) を同時に入射すると強い発光像が観測された (Fig. 2c)。そこでこの発光のスペクトルを測定してみた

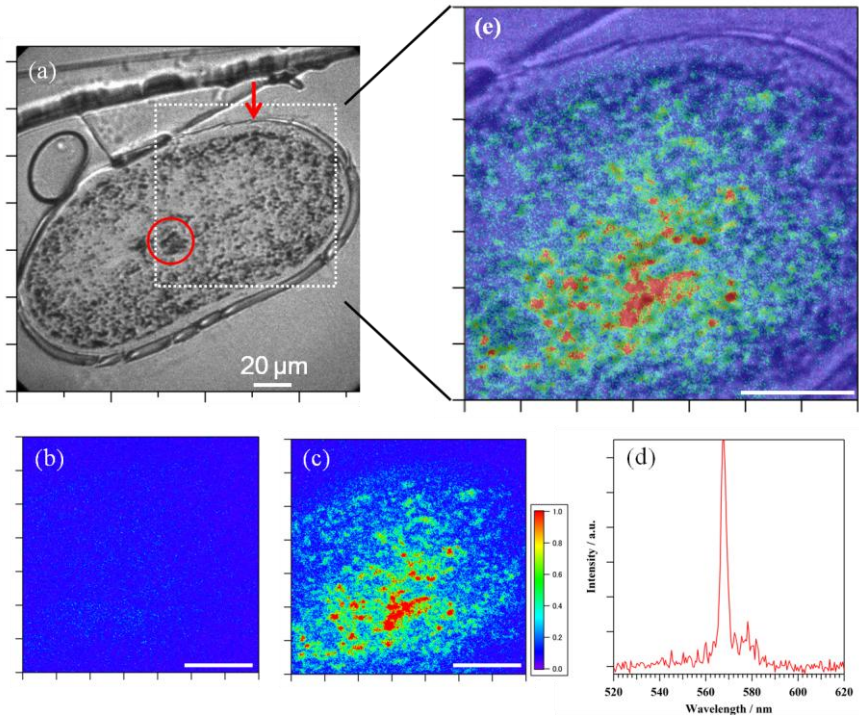


Fig. 2 毛髪断面内部の超解像赤外分光イメージングと発光スペクトル

(a) 全体の透過像 (白点線枠部分が測定部分、b,c,e はこの部分のみ示す)、(b) 可視光 (613 nm) のみを入射、(c) 可視光と赤外光 ( $1270 \text{ cm}^{-1}$ ) を同時に入射、(d) 発光スペクトル、(e) 測定部分を拡大し VSFG 像と透過像を重ねたもの、スケールバーは全て 20  $\mu\text{m}$ 、(a) 中の赤丸・矢印部分は (e) で発光しない

ところ、入射した可視光と赤外光のエネルギーの和に相当する 568 nm 付近に VSFG 光による鋭いピークが観測され、この発光像が VSFG 像であることが確認された (Fig. 2d)。最後に、透過像と VSFG 像 (すなわち赤外像) を比較するために Fig. 2a 中の白点線枠で囲った部分に、Fig. 2c を重ねた図を Fig. 2e に示す。図から、毛髪を中心部分 (Fig. 2a の赤丸部分) のような透過像中の黒い部分は VSFG 発光が弱く、一方で透過像中の白い部分に対応して VSFG 発光が強く観測されている事がわかる。また、エッジ部分 (Fig. 2a の赤矢印部分) からは、ほとんど VSFG 発光が観測されない事も明らかとなった。通常の赤外顕微鏡を用いた赤外イメージングでは空間分解能が低いいため、このような毛髪断面内部の濃淡は観察できない。しかし、本顕微鏡による赤外イメージングでは、可視光を利用した透過像とほぼ同等な高い空間分解能で毛髪断面内部の濃淡を明瞭に観察する事ができた。講演では実験結果について、装置構成も含め詳細に報告する。

【参考文献】

[1] Kogure, S.; Inoue, K.; Ohmori, T.; Ishihara, M.; Kikuchi, M.; Fujii, M.; Sakai, M, *Opt. Express* (2010) **18**, 13402-13406  
 [2] Inoue, K.; Fujii, M.; Sakai, M, *Opt. Express* (2009) **17**, 12013-12018

## 赤外超解像顕微鏡法による酢酸菌の赤外分光イメージング —バイオセルロース生合成メカニズムの解明を目指して—

(東工大・資源研) ○北次加奈、菅野靖史、菊地克也、田島朋樹、藤井正明、酒井誠

**【序】**ある種の酢酸菌から作られるバイオセルロースは、ナタ・デ・ココの名称でデザート食品に用いられると共に数10 nmの微細な繊維からなる網目構造を生かした材料開発も行われている。一方、バイオセルロースの生合成機構については未だ不明な点が多い。酢酸菌から1本のリボン状物質が伸びた状態の電子顕微鏡画像が報告されて以来、セルロースが酢酸菌体内で合成されており、菌体表面の様々な場所から排出された非常に細いセルロースが直径数10 nmのリボン状のセルロースを形成すると考えられている[1]。しかし、電子顕微鏡での観察結果で得られたリボン状物質はセルロースと同定されておらず、また、リボン状セルロース形成過程についても未だに確定的な証拠はない。

そこで本研究では、我々が開発した振動和周波発生(VSFG)検出赤外超解像顕微鏡[2]を用いて、酢酸菌(*Gluconacetobacter xylinum*)の赤外分光イメージングを行い、分光学的に生成物がセルロースであることを同定するとともに、リボン状セルロース形成過程の直接観察を目指した。VSFG検出赤外超解像顕微鏡は、VSFG分光法を顕微鏡技術に応用したものである。この方法では赤外吸収を可視のVSFG光の発生により検出できるため、空間分解能は可視光に対する回折限界で決まる。従って赤外イメージを赤外光に対しては回折限界以下の空間分解能で測定することができる。この特徴を生かし、2 μm程度の大きさの酢酸菌菌体の直接観察を試みる。また、VSFG検出赤外超解像顕微鏡では糖類から非常に強い発光を得ることができるため、酢酸菌が生成した微量なバイオセルロースからのVSFG信号を観測できることが期待される。

**【実験】**VSFG分光の原理図を図1に示す。VSFGは、赤外光と可視光を同時に試料へ入射したとき、そのエネルギーの和に相当するVSFG光が発生する非線形光学効果の1つである。赤外波長が分子振動に共鳴するときにVSFG光の強度が著しく増大するので、赤外吸収をVSFG光の発生により検出できる。

測定に用いた赤外光と可視光は、再生増幅器によって増幅されたTi:Sapphireレーザーのピコ秒パルスを変換することで得た。光の波長にはそれぞれ2800-3600 nm ( $2790\text{-}3584\text{ cm}^{-1}$ )および613 nmを用いて、それぞれの強度は3 μJ/pulseおよび100 nJ/pulseと設定した。これらの光をビームコンバイナーで同軸に合わせ、CaF<sub>2</sub>レンズ( $f=100$ )を用いてサンプル上に照射した。発光は背面から対物レンズ(N.A. = 0.4-0.6)を用いて集め、VSFG発光(500-550 nm)のみが透過するバンドパスフィルターを通した後にICCDカメラ上に結像した。

試料は、2種類作成した。1つは酢酸菌菌体を観察するための試料であり、試験管内で酢酸菌を静

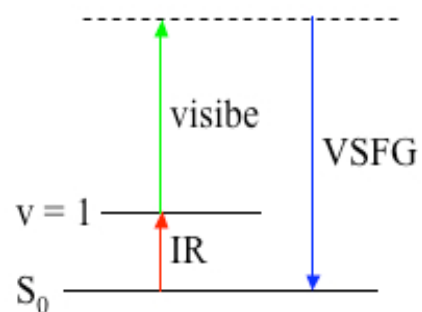


図1 赤外励起による  
和周波発生の  
エネルギーダイアグラム

置培養後、培養液を遠心分離処理し得られた菌体を水で懸濁した。それをカバーガラスに載せ、さらに2時間静置した後新しいカバーガラスを重ね乾燥させてプレパラート化した。もう1つは、バイオセルロースの標準試料であり、静置培養後の培養液表面にゲル状に生成したバイオセルロース(ペリクル)を用いた。ペリクルは水を加えて温浴中加熱処理後、アルカリ処理を行いさらに中和処理した。それをカバーガラスに載せ、乾燥させてプレパラート化した。

**【結果と考察】**図2にバイオセルロース標準試料のVSFGスペクトルを示す。2850  $\text{cm}^{-1}$ 、2970  $\text{cm}^{-1}$ 、3330  $\text{cm}^{-1}$ に観測されたバンドをそれぞれ-CH<sub>2</sub>対称伸縮振動、-CH<sub>2</sub>逆対称伸縮振動及び-OH伸縮振動と帰属した。これらの振動バンドを用い、酢酸菌の赤外超解像イメージを測定した。

図3(a)、(c)は酢酸菌菌体の透過像であり、いくつかの菌体が凝集して観察されている。(b)は(a)に対して-CH<sub>2</sub>対称伸縮振動に対応した赤外光(2850  $\text{cm}^{-1}$ )を用いて得られたVSFG像であり、菌体から強いVSFG信号が観測されている。一方、(d)は(c)に対してバイオセルロースに赤外吸収のない赤外光(3110  $\text{cm}^{-1}$ )を用いて得られたVSFG像である。一見してわかるように、(d)は(b)に比べてVSFG強度が減少している。これらの結果から、(b)で得られたVSFG信号は主に、酢酸菌が体内で生成し排出したバイオセルロースの発光であると考えられる。

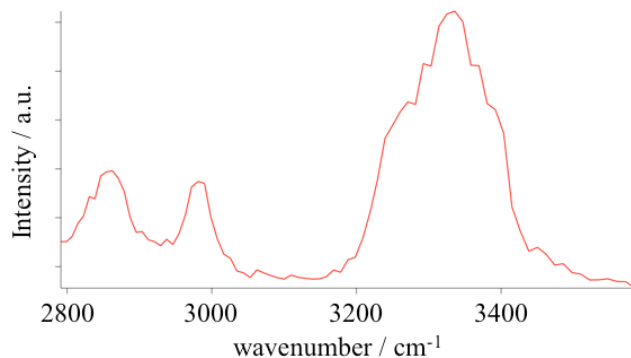


図2 バイオセルロースのVSFGスペクトル  
可視光は613 nmを用いた。

一方で、(d)はバイオセルロースに赤外吸収がない赤外光を用いて測定したにも関わらず、菌体からの発光が観測されている。これは、酢酸菌菌体自身からのVSFG信号が観測されているものと考えられる。

発表では、セルロースがより多く生成する培養条件で作成した試料の赤外超解像と合わせて、より詳細な議論を行う予定である。

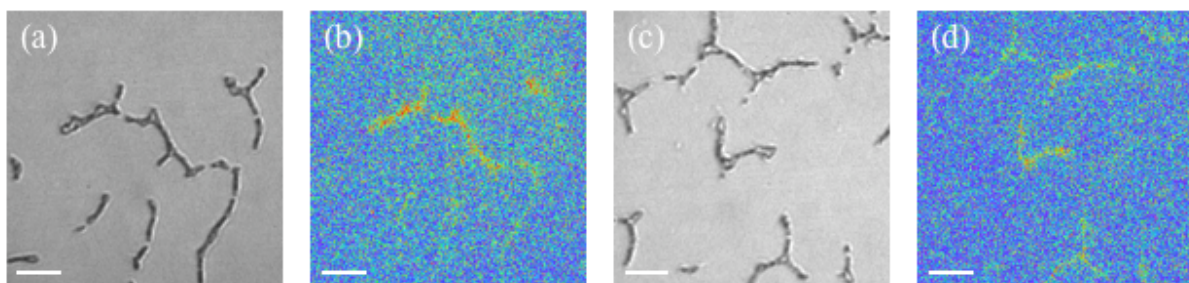


図3 酢酸菌の(a)、(c)透過像、(b)赤外光(2850  $\text{cm}^{-1}$ )、(c)赤外光(3110  $\text{cm}^{-1}$ )を用いて測定したVSFG像。

可視光はどちらも613 nmを用いた。スケールバーは10  $\mu\text{m}$

## 【参考文献】

- [1]吉永文弘,外内尚人,渡部乙比古., 化学と生物, **35**,11(1997)
- [2]Keiichi Inoue, Masaaki Fujii, and Makoto Sakai., *Applied Spectroscopy*, **64**, 3(2010)



## 近赤外りん光を示すイリジウム錯体を用いた 低酸素がん腫瘍イメージング

(群馬大院工<sup>1)</sup>・秋田県立大・生物資源科学部<sup>2)</sup> 群馬大<sup>3)</sup>)

○大堀優佳<sup>1)</sup>・吉原利忠<sup>1)</sup>・穂坂正博<sup>2)</sup>・竹内利行<sup>3)</sup>・飛田成史<sup>1)</sup>

【序】がん組織は無秩序な細胞の増殖や分裂のために、血管構造が不規則な形状となり、正常組織よりも低酸素状態にあることが知られている<sup>1)</sup>。がん組織を高感度かつ非侵襲的に検出するには、酸素濃度に依存して発光強度及び発光寿命が顕著に変化するりん光が有用であると考えられる。そこで我々は、室温で高いりん光量子収率を示し、可視光領域の中で皮膚への透過性の良い赤色りん光を示すイリジウム錯体を用いたがん腫瘍の可視化を行った<sup>2)</sup>。また、当研究室において近赤外光領域にりん光を示す新しいイリジウム錯体(BTPHSA, Fig. 1)が開発され、生体深部にあるがん腫瘍の可視化に成功した<sup>2)</sup>。

本研究では、新たにBTPHNH<sub>2</sub>及びBTPHDMを開発し、それらの溶液及び脂質二分子膜中における光物理特性、また、細胞内挙動を明らかにすることを目的とした。

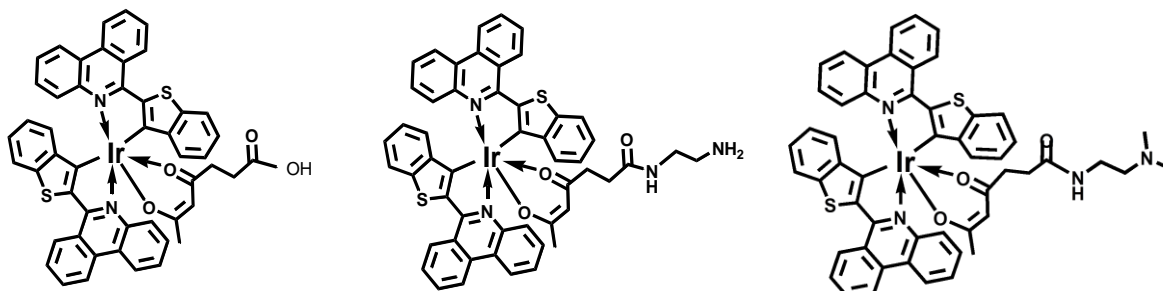


Fig. 1 BTPHSA, BTPHNH<sub>2</sub>, BTPHDM の構造式

### 【結果と考察】

Fig. 2 に BTPHSA のテトラヒドロフラン(THF)中におけるりん光スペクトルを示す。BTPHSA は THF 溶液中において、近赤外光領域である 720nm にりん光極大波長を示した。さらに、空気飽和下に比べ Ar 置換下においてりん光強度が著しく増加したことから、酸素応答性があることが分かった。また、BTPHNH<sub>2</sub> 及び BTPHDM についても同様の結果が得られた。

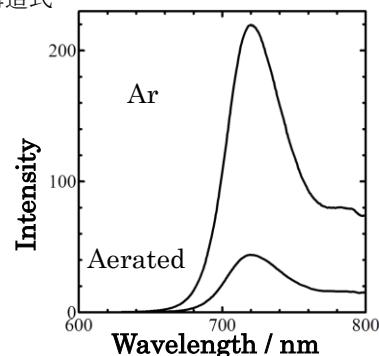


Fig. 2 BTPHSA の THF 中におけるりん光スペクトル

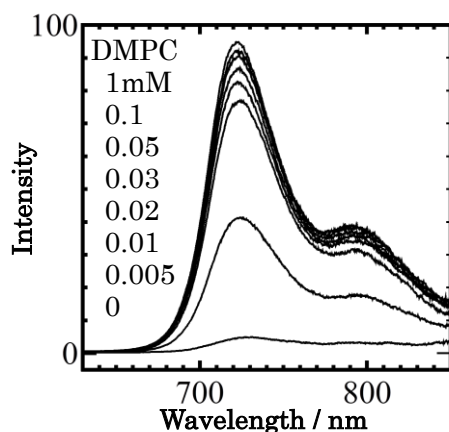


Fig. 3 各濃度の DMPC 膜中における BTPHSA のりん光スペクトル

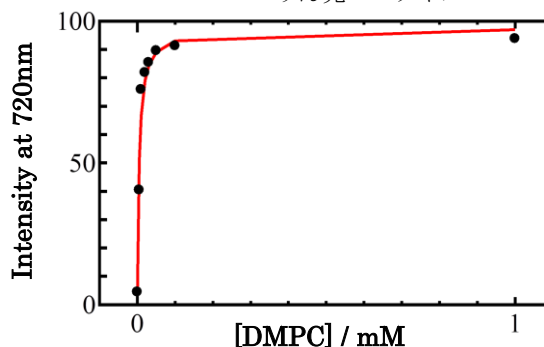


Fig. 4 DMPC 膜濃度に対してモニター波長 720nm での BTPHSA のりん光強度変化

各濃度の DMPC 膜中における BTPHSA のりん光スペクトルを **Fig. 3**, DMPC 膜濃度に対してモニター波長 720nm での BTPHSA のりん光強度変化を **Fig. 4** に示す。DMPC 濃度が増加すると、りん光強度も増加することから、DMPC 膜にイリジウム錯体を取り込まれていることが分かる。**Fig. 4** のプロットを、式(1)を用いて解析することにより、分配係数( $K_p$ )を算出し、また、1mM DMPC 膜に対する分配率を算出した。その結果を Table 1 に示す。BTPHSA と比較して、BTPHSA の方が膜に取り込まれることが分かる。また、各イリジウム錯体は膜に対して 98% 以上取り込まれている。

$$I = \frac{I_w + K_p \gamma_L [\text{DMPC}] I_L}{1 + K_p \gamma_L [\text{DMPC}]} \dots (1)$$

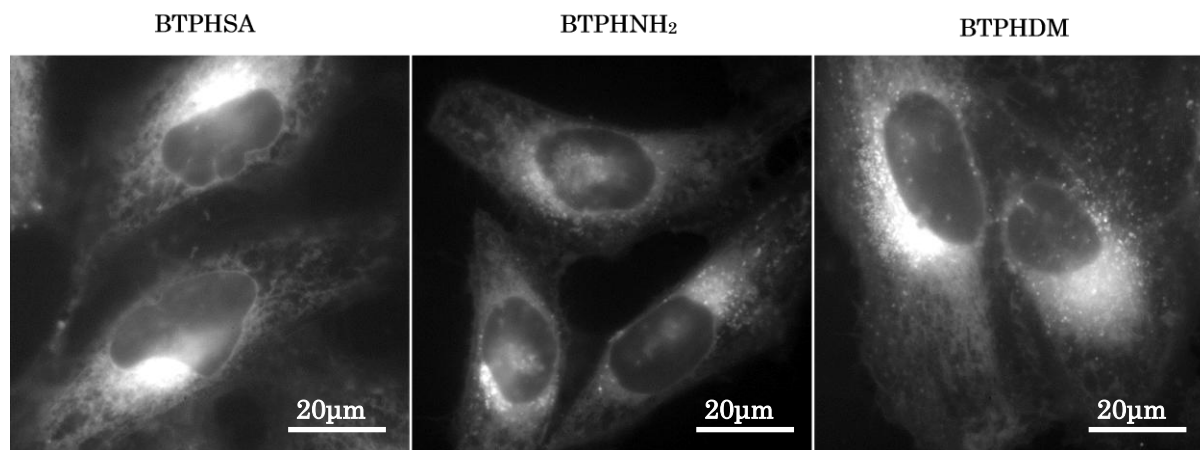
$I$ : りん光強度,  $K_p$ : 分配係数  
 $\gamma$ : 部分モル体積, W: 水, L: 膜(DMPC)

**Table 1** 分配係数及び 1mM DMPC 膜に対する分配率

Ir錯体	分配係数 $K_p$	分配率 (%)
BTPHSA	$3.0 \times 10^5$	99.5
BTPH $\text{NH}_2$	$0.9 \times 10^5$	98.3

**Fig. 5** に各イリジウム錯体溶液を HeLa 細胞に添加し(最終濃度 : BTPHSA ; 5 $\mu\text{M}$ , BTPH $\text{NH}_2$ , BTPHDM ; 2 $\mu\text{M}$ ), 2 時間後に洗浄し、蛍光顕微鏡を用いて観察した顕微画像を示す。すべてのイリジウム錯体において、細胞からのりん光が観測されているため、細胞内に取り込まれていることが分かる。オルガネラ選択性を持つ蛍光プローブ分子との比較実験により、BTPHSA は、主に小胞体に局在しているのに対して、BTPH $\text{NH}_2$  及び BTPHDM は小胞体に加えてリソソームに局在していることが明らかとなった。

BTPH $\text{NH}_2$  及び BTPHDM を担がんマウスの尾静脈より 250nmol 投与し、in vivo イメージングシステムで観察したところ、BTPHSA と同様に腫瘍部からりん光が観測された。



**Fig. 5** 各イリジウム錯体の HeLa 細胞中におけるりん光顕微画像

参考文献

- 1) M. Höckel, P. Vaupel, *J. Natl. Cancer Inst.* **2001**, 93, 266.
- 2) S. Zhang, M. Hosaka, T. Yoshihara, K. Negishi, Y. Iida, S. Tobita, and T. Takeuchi, *Cancer Res.*, **2010**, 70, 4490-4498.

## 4P086 Sensing Cellular Metabolic States by Time Resolved Fluorescence of NADH

(RIES, Hokkaido Univ.<sup>1</sup>; Dep. of Appl. Chem., Univ. of Miyazaki<sup>2</sup>) ◯Md. Serajul Islam<sup>1</sup>, Takakazu Nakabayashi<sup>1</sup>, Jin Matsumoto<sup>2</sup>, Masahide Yasuda<sup>2</sup>, Nobuhiro Ohta<sup>1</sup>

**[Introduction]** Probing cellular environment by monitoring autofluorescence has been widely used in biological research because it can be applied to living cells under native physiological condition. The coenzyme nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) is one of the naturally occurring cellular autofluorescent species which play a key role in a number of physiological processes. Generally, in living cells, the NADH molecule exists in two forms: free and protein-bound. The change in lifetime of NADH fluorescence from the one of the free form to that of the bound form differs as much as 10 times. The relative amount of free and protein bound NADH and their lifetimes depend on the intracellular environments. In this presentation, we will show that the fluorescence lifetime of intracellular NADH can be employed to detect the change in the physiological states resulting from treatments such as (A) Cd treatment, (B) acetic acid treatment, (C) alteration in intracellular pH in yeast cells and in HeLa cells.

**[Experimental]** Measurements of fluorescence decay and time resolved emission spectra (TRES) were carried out using a single photon counting method. The second harmonic of the output from a femtosecond mode-locked Ti:Sapphire laser was used for excitation. The repetition rate of the laser pulse was selected to be 5.8 MHz with a pulse picker. Fluorescence from the sample was dispersed with a monochromator and detected with a microchannel-plate photomultiplier.

### **[Results and Discussion]**

**(A) Cd treatment:** The heavy metal Cd has been reported to perturb the usual metabolic pathway of living cell. The toxicity of Cd has been investigated in yeast cells in that it causes apoptosis. Fig. 1 shows the fluorescence decay profiles of NADH in yeast cells and in buffer. It is clear that the decay of NADH in yeast cells becomes faster with Cd treatment. These decays in the cells were fitted with multiexponential polynomials. Fluorescence lifetime of free and protein bound NADH in untreated yeast cells, estimated from the fitted curve, were 0.3 ns and 1.6 ns respectively. In the Cd treated yeast cells,

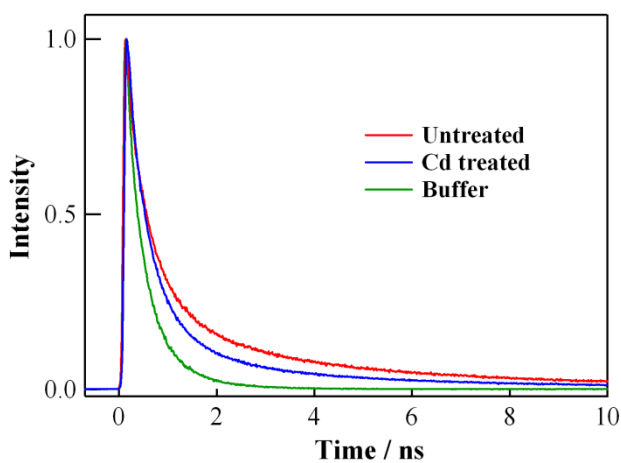


Fig. 1. Fluorescence decay profile of NADH in Cd treated yeast cells (blue line), untreated yeast cells (red line) and in buffer (green line). Excitation was a 370 nm laser pulse and the fluorescence was detected at 460 nm.

these two lifetime components were estimated to be 0.3 and 1.3 ns respectively. That is, with Cd treatment, fluorescence lifetime of free NADH in yeast cells remain unchanged but that of the protein bound component decreases nearly 20%.

Fig. 2 shows the TRES of NADH in untreated yeast cells. The fluorescence spectrum at different time interval shows peak at different wavelengths. This is because the earlier time interval is dominated by the fluorescence from the free NADH and latter intervals are dominated by the protein bound NADH. Therefore, the protein bound NADH exhibits a blue shifted spectrum compared to the free one. In Fig. 3, the fluorescence spectrum in 2.0-5.0 ns time range, obtained from the TRES of NADH in Cd treated yeast cells, has been shown together with that in untreated cells. It is clear that the fluorescence spectrum of protein bound NADH in Cd treated yeast cells is shifted to a longer wavelength compared to that in the untreated cell. This shift is due to weakening of the bond between NADH and protein by the Cd treatment.

**(B) Acetic acid treatment:** Acetic acid has been reported to induce apoptosis by generating reactive oxygen species. Acetic acid is produced when metabolic pathway is deviated from the usual mitochondria mediated oxidative phosphorylation towards cytosolic glycolysis. The fluorescence decay and TRES of NADH in acetic acid treated yeast cells were also measured. In contrary to the Cd treatment, the fluorescence decay of NADH becomes slower with acetic acid treatment. No change in the TRES has been observed in acetic acid treated yeast cells.

**(C) Alteration in intracellular pH:** Intracellular pH level is intimately linked with the physiological processes occurring inside the cell. To correlate the fluorescence lifetime of NADH with intracellular pH, we measured fluorescence decay of NADH in HeLa cell at different intracellular pH<sup>1</sup>. Our experimental result exhibits that the fluorescence lifetime of NADH in HeLa cell increases with the decrease of intracellular pH. That is, the fluorescence lifetime of NADH in living cells can be employed for noninvasive detection of the intracellular pH.

[1] S. Ogikubo, T. Nakabayashi, T. Adachi, M. S. Islam, T. Yoshizawa, M. Kinjo, N. Ohta, *J. Phys. Chem. B*, In press.

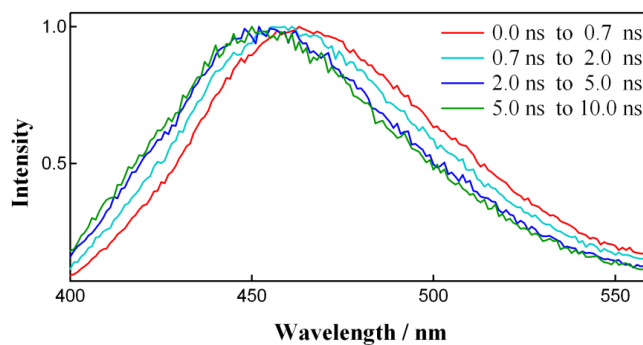


Fig. 2. TRES of NADH in yeast cells. The red, cyan, blue and green lines are 0.0-0.7, 0.7-2.0, 2.0-5.0 and 5.0-10.0 ns time interval, respectively.

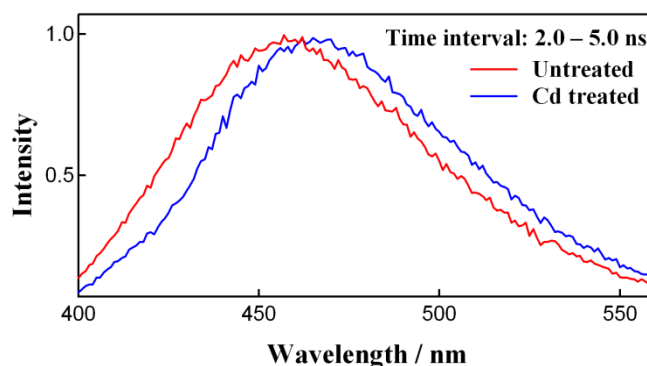


Fig. 3. The red and blue lines are the 2-5 ns components of the TRES of NADH in untreated and Cd treated yeast cells, respectively.

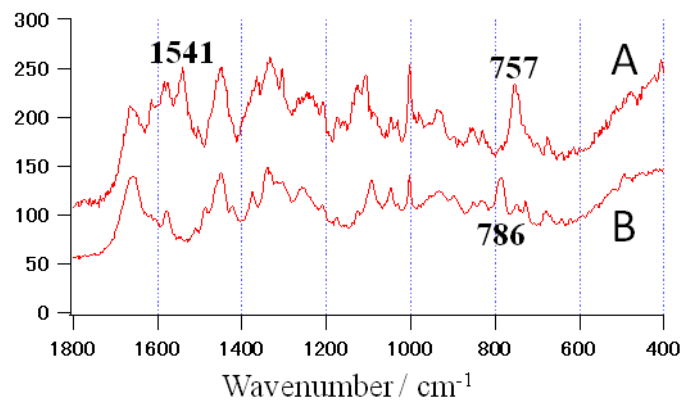
## 4P087

### 多変量スペクトル分解による単一生細胞ラマンイメージの分子科学的解釈

(東大院理\*、NCTU\*\*) ○小野木智加朗\*、安藤正浩\*、濱口宏夫\*\*

【序】生命科学の発展においては、生体内分子の時空間局在や機能、反応機構を明らかにすることが極めて重要である。蛍光分光による所謂バイオイメージング手法が大きな成果を収めているが、特定のプローブ分子に依存した情報に偏っている面もあり、より多様な分子種の情報を前処理なく取得できる実験、解析手法が求められている。振動分光、とくにラマン分光は、豊富な分子情報を時空特異的に取得することが可能であり、その生細胞への応用は近年目覚ましい発展を見せている。しかしながら、分子振動スペクトルはそれが持つ情報の多さゆえに極めて複雑であり、解釈が困難であるという難点がある。本研究では生細胞中の多点（400点）のラマンスペクトルを顕微ラマン分光により測定し、得られた多量のスペクトルに対し、多変量解析による主要スペクトル成分の抽出を試みた。顕微ラマン分光装置の発展により、ラマンスペクトルの取得時間が短縮され、得られるスペクトルの数が飛躍的に多くなっている。多変量解析を用いることで、その多くのスペクトルの集合の中から、異なる空間局在を示す主要なスペクトルを非経験的に取り出すことができる。この手法を用いることで、多量のラマンスペクトルの短時間での解析が可能となり、ラマン分光のさまざまな応用において、恣意性のない定量的解析法が確立されるものと期待される。

【実験と解析】試料はヒト末梢血液中の白血球を使用した。白血球には好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球の異なる5種の細胞が含まれる。これらの白血球細胞40個（種別不明）のラマンイメージを測定した。測定には自作した顕微ラマン分光装置を使用した。励起波長は632.8 nm、レーザーパワーは18 mW、細胞一体あたり約500 nm 間隔で400点測定した。各点の測定時間は0.5ないし1秒である。各測定点から得られたラマンスペクトルに特異値分解解析によるノイズ除去を行った後、多変量解析を行った。採用するスペクトルコンポーネントの数は特異値分解解析の結果より決定した。スペクトルコンポーネントの初期値は、特異値解析の結果の基底及び、乱数で生成した基底の2種類を用いた。多変量解析のアルゴリズムは、lasso回帰<sup>1)</sup>による正則化非負最小二乗法による多変量スペクトル解析を用いて行った。



【結果と考察】図1に好中球のラマンスペクトルを示す。図中のスペ

図1：好中球中のラマンスペクトル

クトルは細胞中の異なる 2 点のスペクトルであり、それぞれ細胞中の物質の分布を反映して異なる振動スペクトルを示している。両者のスペクトルには共通して、 $1003\text{ cm}^{-1}$  のタンパク質に帰属されるバンドが見られるが、A においては、 $757$ 、 $1541\text{ cm}^{-1}$  のバンドが特徴的に表れる一方、B においては  $786\text{ cm}^{-1}$  の核酸に帰属されるバンドが明瞭に観測されている。このように、両者が複数の分子種を異なる比率で含むことが、解析を困難にしている要因である。多変量スペクトル解析を適用した結果を図 2 に示す。それぞれのスペクトルは、a: 水を含むバックグラウンド、b: タンパク質、c: ポルフィリン様分子種、d: 核酸に近いスペクトルを示しており、細胞内の分子種の分布が、大略これら 4 つのスペクトルの足し合わせで表されることを示唆している。また、e、f、g、h はそれぞれ、a、b、c、d の空間分布を示しており、細胞内の分子種の分布を明瞭な形で得ることができた。多変量スペクトル分解を適用することにより、スペクトル中の単一の振動バンドのみに依存することなく、スペクトル全体の情報を同時に利用して、各分子種の情報を半自動的に得ることができることがわかった。また、図として示してはいないが、好中球の他に好酸球やリンパ球についても同様の解析を行っており、好酸球中においては好中球とは明らかに異なるスペクトルを得た。多変量スペクトル分解を用いることにより、白血球の種類を無染色かつ迅速に識別することも可能であると考えられる。

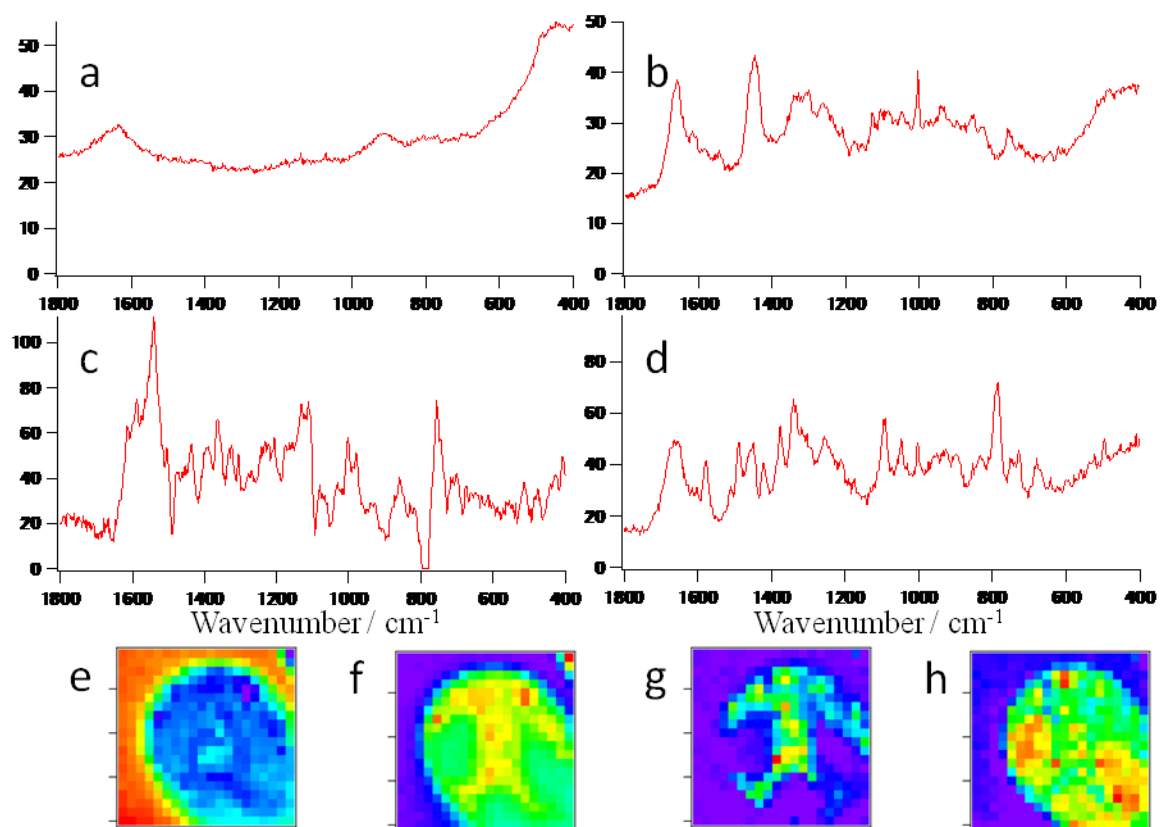


図 2 : 好中球中のラマンイメージに対する多変量スペクトル分解の結果

【参考文献】

- [1] R. Tibshirani, et al. *J. Royal. Statist. Soc.* **58**, No.1, 267-288 (1996)

## 時間分解ラマン分光イメージングによる単一生細胞内の 高速(10秒)分子ダイナミクス

(東大院理\*, NCTU\*\*) ○和田大我\*, 小野木智加朗\*, 濱口宏夫\*,\*\*

### 【序】

顕微ラマン分光法は、高い分子特異性を有し、蛍光物質の導入のような前処理を必要としないため、*in vivo* 条件下での細胞の低侵襲分子計測法として近年注目されている。当研究室では、顕微ラマン分光装置（励起波長 632.8 nm）の光学系の最適化を徹底的に追及し、生細胞試料に対して一点当たり数 100 ミリ秒の短い露光時間でのスペクトル取得を可能にした。また、短い露光時間で多数回の測定を行い、取得した多数のスペクトルに特異値分解（Singular Value Decomposition; SVD）解析を施すことで、スペクトルのノイズを除去した。図 1 に SVD 解析によるノイズ除去の結果を示す。

本研究においては、700  $\text{cm}^{-1}$  から 1700  $\text{cm}^{-1}$  の指紋領域を含む振動数領域と、3000  $\text{cm}^{-1}$  近辺の C-H 伸縮領域のラマンスペクトルを併せて取得し、細胞の一部のみをスキャンしてイメージングを行うことにより、細胞内における脂質の分布の変化を数秒程度の時間分解能で観察することを試みた。

### 【実験】

図 2 に測定に使用した装置の概念図を示す。試料からの蛍光を抑えるために、励起波長には He-Ne レーザーの 632.8 nm（試料上で 20 mW）を用いた。1 点当たりの露光時間は 0.1 秒であった。ボトムディッシュ上に Concanavalin A を用いて固定した分裂酵母細胞 (*Schizosaccharomyces pombe*) に、対物レンズにより絞り込んだレーザー光を照射した。ラマン散乱光は同じ対物レンズによって集められ、分光器へ導入され CCD カメラにて検出された。対物レンズの焦点と分光器導入直前の  $f=100$  mm のレンズの焦点とが共役になっており、クロススリットを用いることにより共焦点効果を得て、光軸方向の空間分解能を確保した。光軸に垂直な方向の空間分解能は 0.3  $\mu\text{m}$ 、光軸方向の空間分解能は 1.1  $\mu\text{m}$  である。

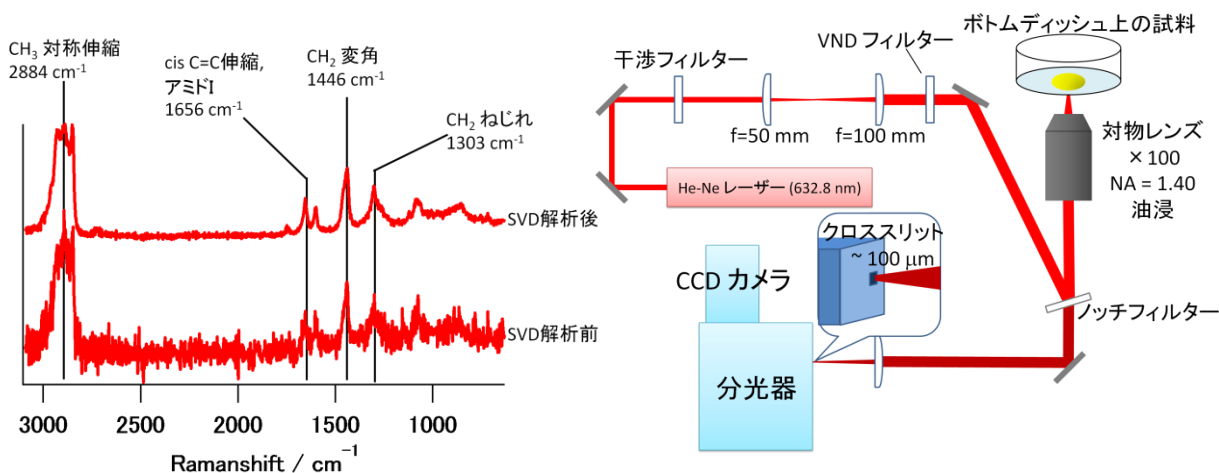


図 1: SVD 解析によるノイズの除去

図 2: 装置セットアップ

### 【結果と考察】

酵母細胞内の  $3 \times 3$  ( $0.8 \mu\text{m}$  間隔) の 9 点をスキャンし、2.4 秒で  $3 \times 3$  のイメージを取得した。図 3 に細胞内の点 A と、A から  $0.8 \mu\text{m}$  離れた点 B における、測定開始後から 683 秒後と 878 秒後のそれぞれの時刻でのラマンスペクトルを示す。これらのラマンスペクトルに見られるバンドは、いずれも脂質のバンドに帰属される。図 4 に測定した分裂酵母細胞の光学像と、点 A と点 B の細胞内での位置を示す。683 秒後から 878 秒後に至るまでに、点 A での各バンドの強度が大きくなり、逆に点 B での強度が小さくなっている。このことから点 B から点 A へと分裂酵母細胞内の脂質が約 200 秒間で移動した可能性が示唆される。

図 5 に点 A と点 B における  $1446 \text{ cm}^{-1}$  のバンド ( $\text{CH}_2$  変角振動) 強度の時間変化を示す。図 3 に示した 683 秒後から 878 秒にかけて数百秒のオーダーで起こるゆるやかな強度変化に加えて、十数秒のオーダーで起こる強度の変化が見られ、急激な脂質量の変化が見られる。

光学系の最適化により 1 点当たりの露光時間を可能な限り短くし、さらに SVD 解析によるノイズ除去を施すことによって、1 枚当たり数秒の時間オーダーで生細胞の部分的なラマンイメージングが可能となった。今後この手法を多くの系に応用することにより、細胞内の分子ダイナミクスの詳細が明らかになっていくものと期待される。

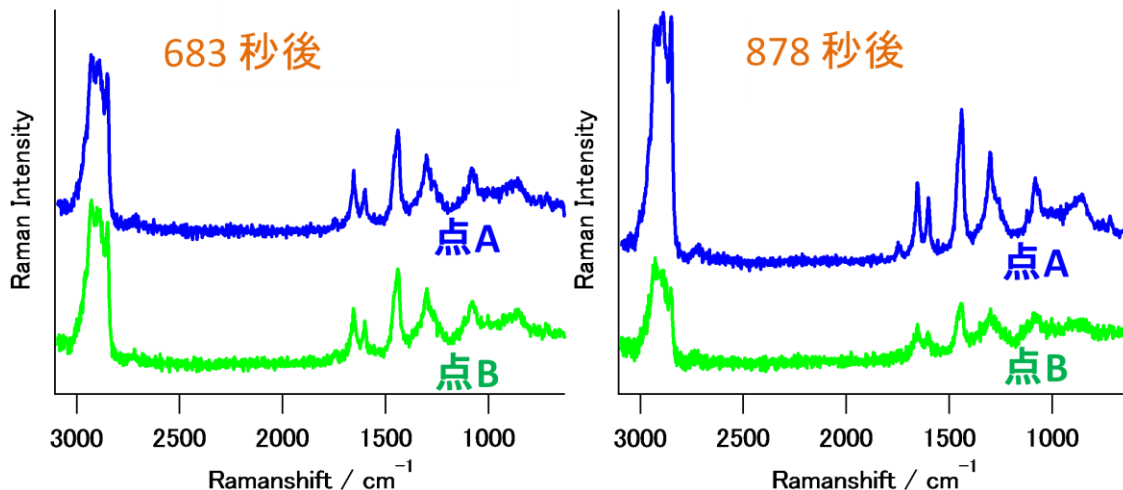


図 3: 分裂酵母細胞のラマンスペクトル レーザーパワー: 20 mW, 露光時間: 0.1 秒

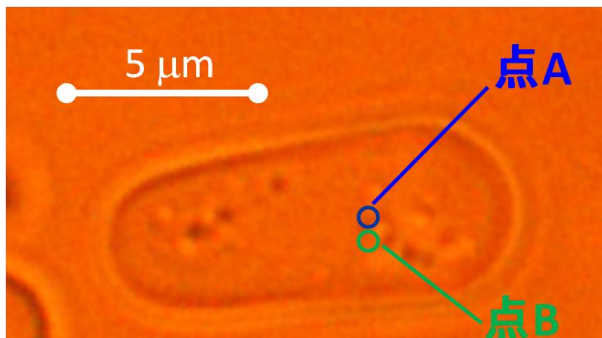


図 4: 分裂酵母細胞の光学像,  
点 A、点 B の位置

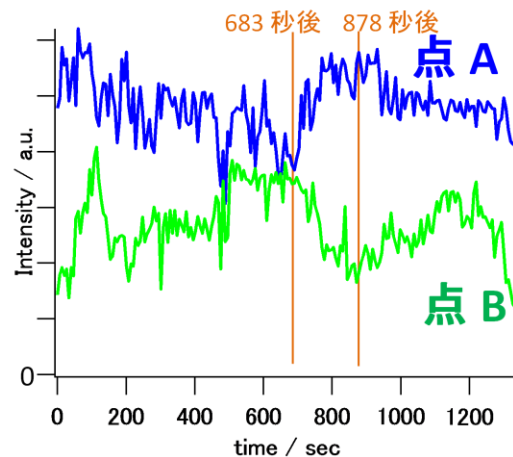


図 5: 点 A、点 B における  
 $1446 \text{ cm}^{-1}$  のバンド強度の時間変化



白色レーザーを用いた生細胞の  
非縮退マルチプレックス三次和周波分光イメージング

(東大院・理\*、NCTU 分子科学研究所\*\*)○瀬川尋貴\*、奥野将成\*、加納英明\*、濱口宏夫\*\*

【序】単一生細胞のイメージング技術は、*in vivo* 条件下での観察を可能にすること、リアルタイムでの生細胞のダイナミクスの追跡を可能にすることなどを始めとした様々な利点を持っており、その研究は現在大きな注目を集めている。本発表では、そのようなイメージングを可能にする光学過程の 1 つである三次和周波発生(Third order Sum Frequency Generation; TSFG)を拡張した新しいイメージング手法について報告する。

TSF は第三高調波(Third Harmonics ; TH)と類似の三次の非線形光学過程を経て発生するコヒーレント光であり、2 種類以上の異なる波長の光を 3 つ用いて生じる。本研究では、TSF 発生光源に 1064 nm のナノ秒パルスレーザー及び 1100 nm から 1600 nm までのスペクトル幅を持つナノ秒白色レーザーを用いた。これにより、白色レーザーの中の任意のスペクトル成分を用いて TSF が生じるため、非縮退かつマルチプレックスに発生させた信号をスペクトルとして取得することができると考えられる。更に、コヒーレント・アンチ・ストークス・ラマン散乱(Coherent anti-Stokes Raman Scattering ; CARS)や第二高調波(Second Harmonics ; SH)、二光子励起蛍光(Two-photon Excitation Fluorescence ; TPEF)による同時イメージングも試みた。

【実験】本研究で用いた装置を右に示す。光源には、Q スイッチ発振 Nd:YAG レーザーを用いた。基本波 1064 nm の光は最初に二分割され、一方はそのまま、もう一方はフォトニック結晶ファイバー(Photonic crystal fiber ; PCF)へ導入し、白色光に変換する。2 つのパルスを同軸に重ねた後、顕微鏡へ入射し対物レンズによってピエゾステージに乗せられた試料に集光する。発生した信号光はまず入射とは反対側に位置する別の対物レンズにより集光・コリメートされた後に、ダイクロイックミラーによって近赤外成分と可視成分に分割され、各々別々の分光器・CCD カメラによって検出される。近赤外成分には CARS の信号が、可視成分には TSF、SH、TPEF の信号が含まれており、2 台の CCD カメラとピエゾステージを電氣的に同期することで、様々な信号を同時取得し、同時イメージングすることができる。白色光を導入することで、TSF のスペクトル(マルチプレックス TSF スペクトル)を観測し、分光イメージを作成することができる。

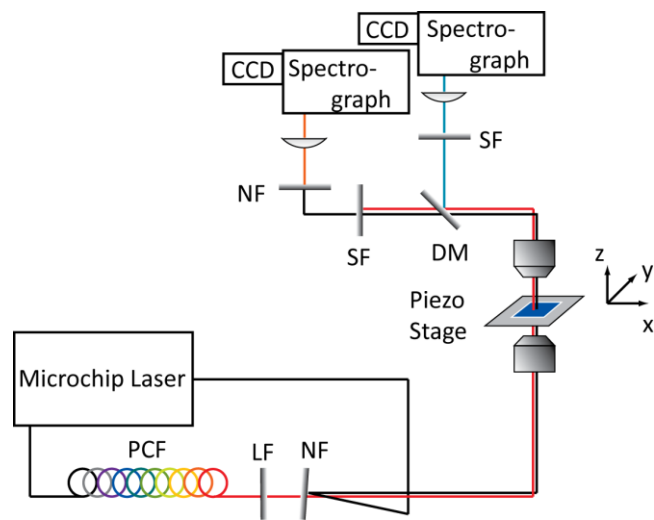


図 1. 本研究で作成した装置

## 【結果と考察】

出芽酵母 4 倍体 (*Saccharomyces cerevisiae* および *Saccharomyces bayanus* の接合体) を試料として用いた測定結果を図 2 に示す。(a)(b) は可視領域のスペクトルと近赤外領域のスペクトルの典型的なものであり、(a) に見られる 390 nm 付近にピークをもつブロードな信号がマルチプレックス TSF、355 nm にピークを持つ信号が TH、

532 nm にピークを持つ信号が SH である。また、(b) には得られた CARS スペクトルに最大エントロピー法を用いて、自発ラマン散乱と同じ振動情報を与える  $\text{Im}[\chi^{(3)}]$  に変換したものを示している<sup>[1]</sup>。マルチプレックス TSF と同時に他の非線形光学過程から生じる信号光が同時に取得できていることが分かる。

次に、マルチプレックス TSF から作成したイメージと、CARS により作成したイメージを併せて示す。TSFG は THG と同様に、対物レンズを用いて強く集光する条件の下では屈折率の界面が焦点内に存在する時のみ強い信号を発生する。図 3(b) に示された TSF イメージは、細胞の輪郭と細胞内が局所的に可視化されており、輪郭は試料を満たす培地と細胞の間の、内部は細胞質基質と脂質豊富なオルガネラ間の屈折率の差を可視化しているものと考えられる。

また、TSF イメージは(d) に示された  $\text{CH}_2$  変角振動のイメージとよく一致しており、CARS  $\text{CH}_2$  イメージにおいて観察される強い輝点は脂質豊富なオルガネラ由来であることが分かった。これらのイメージは当研究室で発見し、酵母細胞の代謝活性を表すと考え「生命のラマン分光指標」<sup>[2]</sup>と呼んでいる  $1602 \text{ cm}^{-1}$  バンドのイメージ(f)ともよく一致しており、その起源も脂質豊富なオルガネラにあることが推測される。

### 参考文献

[1] M. Okuno et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**, 6773 (2010)

[2] Y. S. Huang et al., *J. Raman Spectrosc.*, **35**, 525 (2004)

[3] 本討論会 1B13 加納、瀬川、奥野、橋本、大隅、濱口

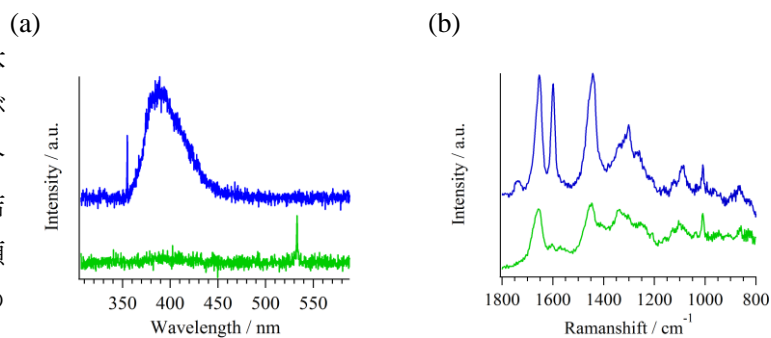


図 2. 出芽酵母の測定より得られた典型的なスペクトル

- (a) 可視領域
- (b) 近赤外領域

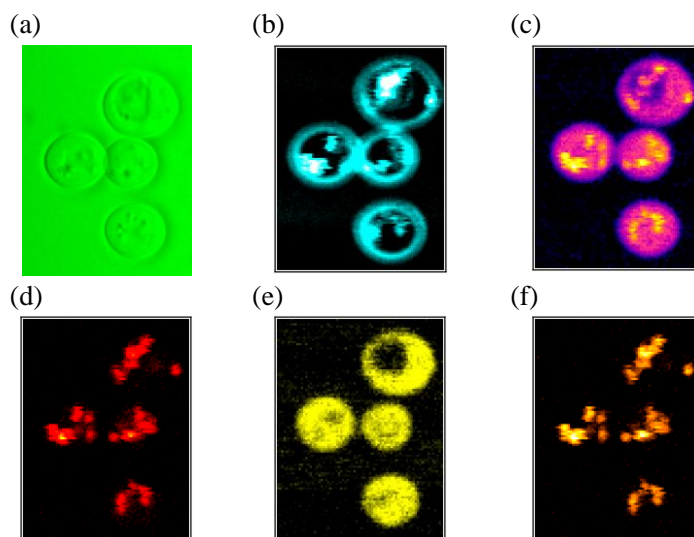


図 3. 出芽酵母の測定より得られたイメージ

- (a) 光学像 (b) マルチプレックス TSF (c) CARS  $\text{CH}_3$  縮重変角
- (d) CARS  $\text{CH}_2$  変角 (e) CARS アミド III (f) CARS  $1602 \text{ cm}^{-1}$

## 4P090

共鳴ラマン分光を用いた生細胞中のシトクロムの酸化還元状態の観測と定量的分析  
(東大院・理<sup>1</sup>, NCTU 分子科学研究所<sup>2</sup>) ○柿田 穰<sup>1</sup>, 濱口 宏夫<sup>1,2</sup>

### 【序】

ミトコンドリアは細胞の活動に必要な ATP を合成する細胞内組織として重要な働きをする。近年、精力的にミトコンドリアの研究が行われ、反応機構や多くの性質が明らかになってきた。しかしながら、特定のタンパク質の追跡や抽出精製による分子生物学的アプローチでは、生化学反応に関与する活性分子の酸化還元状態など、電子状態の変化を確認することは不可能であり、反応機構の更なる解明には従来の方法とは異なる手法を用いる必要がある。

共鳴ラマン分光法は、電子吸収との共鳴により信号強度が増幅されるため、電子吸収波長の変化を用いて選択的に活性分子を検出することができる。シトクロムはミトコンドリアの電子伝達系に携わる重要なヘム含有タンパク質であり、その酸化還元状態について共鳴ラマン散乱による膨大な研究が蓄積されている[1]。シトクロム b は複合体Ⅲに含まれ、シトクロム c は複合体Ⅲから複合体Ⅳに電子を受け渡す重要な役割を持つことが知られている。我々はすでに、酵母から単離したミトコンドリアにコハク酸と ADP を加えて呼吸反応を誘起し、共鳴ラマン分光で調べた結果、ミトコンドリア内のシトクロムの酸化還元状態が変化することを観測した[2]。本報告ではマウス由来の動物細胞中においても同様にシトクロム b 及び c の酸化還元状態を定量的に観測し、これらの細胞内分布と変化を観測したので報告する。

### 【実験】

ISO の細胞毒性試験で使われる L929(NCTC)を指数増殖期及び定常期で測定した。対象細胞はミトコンドリアを GFP で染色している。532 nm を励起波長とする共焦点顕微ラマン分光器を用いて、室温下 2mW 照射、積算時間 0.5 秒の測定条件で実験を行った。比較に用いるシトクロム b 及び c のスペクトルは、それぞれヒト由来のシトクロム b<sub>5</sub>、及びウシ由来のシトクロム c を pH7.2 の PBS 中で測定したものである。酸化剤としてヘキサシアノ鉄酸カリウム、還元剤としてアスコルビン酸ナトリウムを加え、各酸化還元状態を維持させた。

### 【結果・考察】

532 nm 励起による同一濃度の各シトクロム溶液の共鳴ラマンスペクトルを図 1 に示す。同一濃度で比較すると還元体に比べ酸化体はラマン強度が 3 分の 1 以下であることがわかる。また、酸化体は 1638 cm<sup>-1</sup> に特徴的なピークを持ち、シトクロム b は c に比べ 1338 cm<sup>-1</sup> に特異的なピークを持つ。同様にシトクロム c の還元体は 604cm<sup>-1</sup> 近傍に特徴的なピークを持つ。またシトクロム a は 532 nm 励起では観測されないこ

とがわかる。これらの特徴を用い、細胞から得られた共鳴ラマンスペクトルの帰属と定量的評価を行う。

図 2 に細胞から得られた代表的な共鳴ラマンスペクトルを示す(図 2: (a))。このスペクトルから、たんぱく質総量のマーカーである 1003

$\text{cm}^{-1}$ バンドの強度で規格化したアルブミンのスペクトルを差し引いた。次に、

観測されている蛍光を差し引くことでスペクトルの直接比較を容易にした(図 2: (b))。

細胞から得られたスペクトルと同様に、各シトクロム溶液の標準スペクトルから蛍光を差し引いた 4 つのスペクトルを用い、これらの線形結合で作ったモデルスペクトルを最小二乗法で最適化を行った(図 2: (c))。これらの操作により、細胞内スペクトルの各シトクロムの成分の比を求めることができた。

図 3 に指数増殖期の細胞の各成分の定量的分布を示す。このように指数増殖期においてはシトクロム c は還元体で存在し、シトクロム b は主に酸化型に平衡がよっている。しかしながら非栄養素下に 5 時間放置後、同じ細胞を測定した結果、この分布に変化が観測された。

上記に加え、定常期の細胞内の分布と指数増殖期の分布を比較し、シトクロムの酸化還元状態の変化についてさらに詳しく考察を進めている。

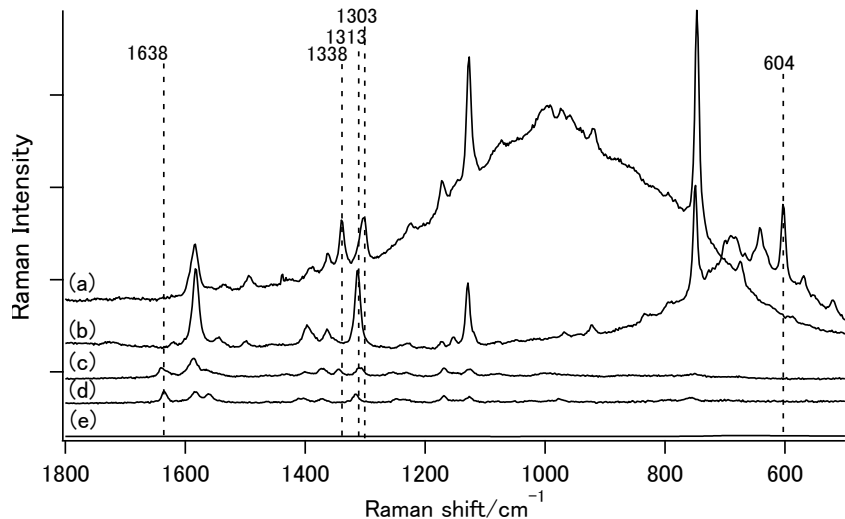


図 1 : (a) CYB 還元体、(b)CYC 還元体、(c) CYB 酸化体、(d)CYC 酸化体 (各 0.56 mgP/mL) (e) CYA 還元体(5.6mgP/mL)の 532 nm 励起によるラマンスペクトル

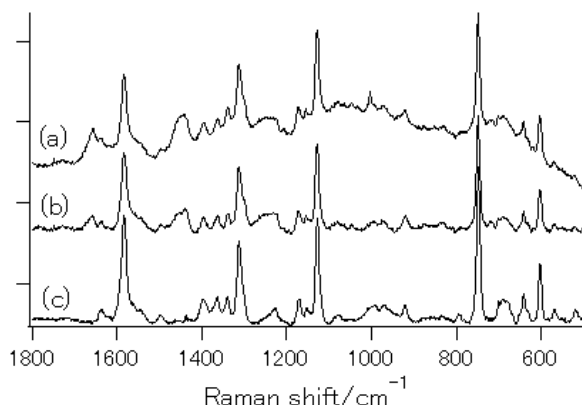


図 2: (a) 細胞中から得られたラマンスペクトル、(b) (a)からアルブミンと蛍光を差し引いたラマンスペクトル、(c) 蛍光を差し引いた各シトクロムの標準スペクトルで構成したモデルスペクトル

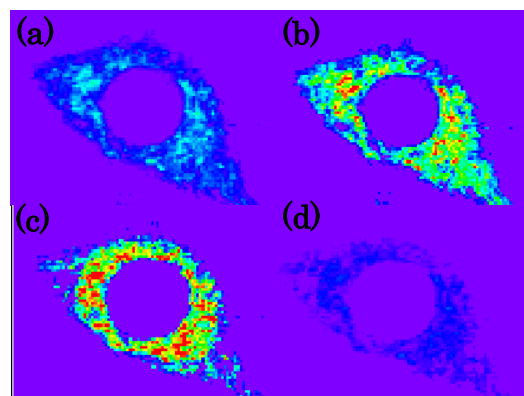


図 3 : (a) CYB 還元体、(b) CYC 酸化体、(c) CYB 酸化体、(d) CYC 酸化体の定量的分布イメージ

[1]: F. Adar and M. Erecinska (1974) *Arch, Biochem, Biophys.* 165, 570-580

[2]: In preparation