

## 3次元超解像イメージング法を用いた高分子-固体基板 界面近傍におけるゲスト分子のナノスケール空間分布評価

(阪大院基礎工\*, 富山県大院工\*\*, 阪市大院工\*\*\*)

伊都 将司\*, 平塚 研吾\*, 竹井 敏\*\*, 北川 大地\*\*\*, 小畠 誠也\*\*\*, 宮坂 博\*

### Spatial distribution of guest molecules in polymer in the vicinity of polymer-solid interfaces as evaluated by three-dimensional localization nanoscopy

(Osaka Univ.\*, Toyama Prefectural Univ.\*\*\*, Osaka City Univ.\*\*\*)

○Syoji Ito\*, Kengo Hiratsuka\*, Satoshi Takei\*\*,

Daichi Kitagawa\*\*\*, Seiya Kobatake\*\*\*, Hiroshi Miyasaka\*

【序】 固相の高分子化合物は非晶質であり、その内部に存在するマイクロな不均一構造は、高分子固体の物性に深く関係している。また応用的な観点からは、例えばフォトリソグラフィーやナノインプリントなど、高分子薄膜材料を用いたナノ加工において、高分子材料内部のマイクロ不均一性は加工精度に深く影響する。同時に、光酸発生剤や架橋剤などの低分子量化合物の空間分布も微細加工の精度と強い相関を示す。従って、基礎・応用の両観点から高分子固体のマイクロ物性をナノメートルスケールの高い空間分解能で評価することは非常に重要な課題である。

上記の観点から、近年我々は、高分子薄膜内部に存在するナノスケールの不均一構造の実験的評価に対して、単一分子蛍光イメージング法を用いたゲスト分子の並進・回転拡散挙動の詳細な解析が有効であることを指摘し、光硬化性高分子材料[1]、熱硬化性高分子材料[2]、固体高分子薄膜[3]等を対象にその有効性を示してきた。本研究では、特に高分子薄膜中の低分子量ゲスト分子の空間的な分布の均一性に着目し、非点収差イメージングによる3次元単一分子追跡法を用いて、ゲスト分子の3次元空間分布を詳細に評価した。

【実験手法と試料】 従来のワイドフィールド顕微鏡を用いた単一分子蛍光イメージングでは、単一蛍光分子は回折限界程度に広がった発光スポット(点像関数: PSF)として観測される。得られた蛍光スポットを2次元のガウス関数を用いて解析(画像フィッティング)し、得られたガウス関数の重心をもって蛍光分子の位置を推定する。この手法により、焦平面における蛍光分子の位置を  $>$ 数nm の高い精度で決定できる。しかしこの手法では、2次元的な分子の動きを高精度に追跡することは可能であるが、光軸(以下Z軸)方向の位置決定精度は従来の蛍光顕微鏡と同じであり、回折限界を超えた精度で

Z位置を決定することは出来ない。しかし、蛍光イメージングの結像光路にシリンドリカルレンズを挿入し非点収差を導入することで、蛍光分子の微小なZ位置変化に伴って蛍光スポットの形状が横長～縦長へと変化し、蛍光スポットの縦横比からZ位置を  $<$  40 nmの精度で求めることが可能である[4]。本研究ではこの非点収差イメージング法を用い、分子の光軸方向の位置により発光輝点の楕円率が変化する光学系を構築した(図1)。

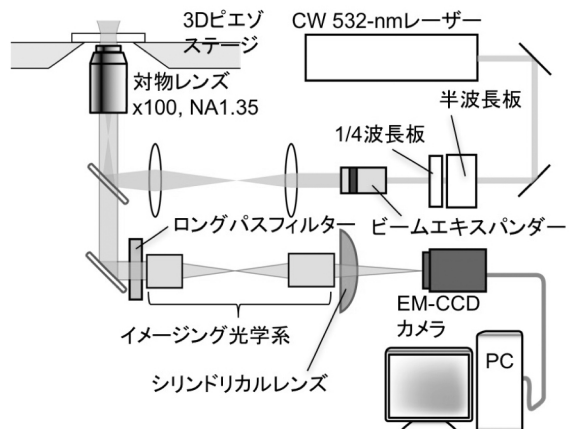


図1 非点収差イメージング装置.

試料として、ガラス転移温度が異なる種々のアクリル系高分子 (poly(methyl acrylate) [PMA]、poly(methyl methacrylate) [PMMA]、poly(2-hydroxyethyl acrylate) [polyHEA]) を、ゲスト蛍光分子としては、ペリレンジイミド誘導体 (BP-PDI)、Atto488、ローダミン系色素などを用いた。スピコート法により、ゲスト蛍光分子を極微量含む上記高分子の薄膜 (膜厚1  $\mu\text{m}$ ) を清浄なガラス基板上に作製した。この時、使用したガラス基板にはペリレンジイミド誘導体をシランカップリングにより共有結合させ、光軸方向の位置の基準とした。

試料中のゲスト蛍光分子の励起光源には連続発振レーザー光 (波長532 nm) を用い、ゲストの蛍光像 (非点収差イメージ) を高感度CCDカメラにより撮影した。得られた蛍光スポットを2次元ガウス関数により解析し、蛍光像の縦横比から単一ゲスト分子の光軸方向の位置を、楕円状の蛍光スポットの重心から焦平面 (XY平面) 上の位置を詳細に決定した。

**【結果と考察】** ゲスト分子のZ方向の変位を楕円状の蛍光スポット形状から決定するための情報を取得するため、BP-PDIを微量含むPMMA薄膜をピエゾステージに設置し、試料の位置を5 nmステップでZ方向に移動させ、種々のZ座標におけるゲスト分子の蛍光像を上記の非点収差イメージング法により取得した。イメージング結果の一例を図2(a)に示す。この測定により得られたゲスト蛍光分子のZ位置と楕円蛍光スポットのアスペクト比との相関が図2(b)である。

得られた校正曲線 (図2(b)) を用い、高分子薄膜中のゲスト分子のZ位置を決定した。PMA薄膜中ではゲスト蛍光分子 (BP-PDI) は3次元的にはほぼ均一な空間分布を示した。PMMA薄膜においてもほぼ同じ傾向を示し、BP-PDIはほぼ均一に薄膜内に分布し、特異的な空間分布は見られなかった。一方、polyHEA薄膜中では、BP-PDIはXY面においてはほぼ均一な分布を示し、特異的な局在化は観察されなかったが、Z方向には特徴的な空間分布を示した。ゲスト分子はガラス基板-高分子界面近傍には存在せず、ガラス基板表面から数百nm離れた、厚さ100~200 nm程度の層に局在化する挙動を示した。他のゲスト分子に関しても、同様の挙動が観測された。講演ではこの特徴的な空間分布のメカニズムについて、ホスト-ゲスト相互作用、ゲスト分子と固体基板表面との相互作用、高分子材料の化学構造の観点などから議論する。

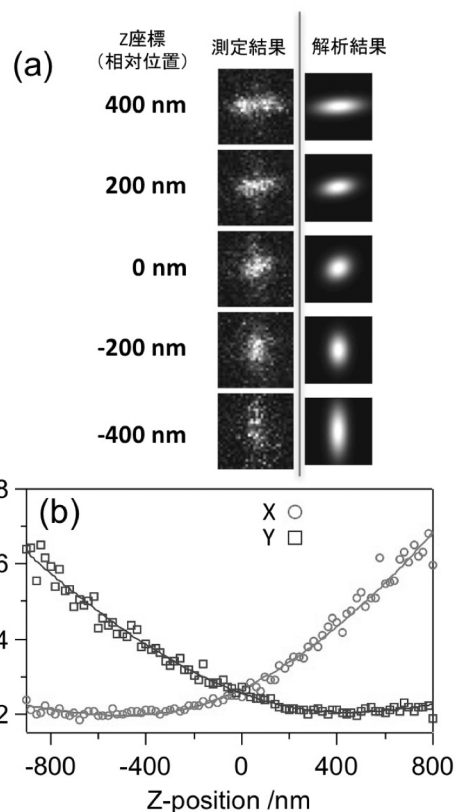


図2 (a) Z位置の変化に伴うPMMA薄膜中BP-PDI分子の蛍光スポット形状の変化. (b) 蛍光スポットの縦及び横方向長さと相対的Z位置との相関プロット.

- [1] S. Ito, T. Kusumi, S. Takei, H. Miyasaka, *Chem. Commun.*, **2009**, 6165.
- [2] S. Ito, K. Itoh, S. Pramanik, T. Kusumi, S. Takei, H. Miyasaka, *APEX*, **2009**, 2, 075004.
- [3] S. Ito, Y. Taga, K. Hiratsuka, S. Takei, D. Kitagawa, S. Kobatake, H. Miyasaka, *Chem. Commun.*, **2015**, 51, 13756.
- [4] H. Bo, W. Wenqin, M. Bates, Z. Xiaowei, *Science*, **2008**, 319, 810.