

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 理 学 )	氏名	山角 拓也
論文題目	Development of Dual Fluorescent Probes by Controlling Photophysical Properties of Flapping Fluorophores (羽ばたく蛍光団の光物性制御による二重蛍光性プローブの創出)		
(論文内容の要旨)			
<p>蛍光プローブを用いた測定は簡便かつ高感度に行えるため、生体イメージング等の目的に広く用いられてきた。特に、環境に応じて2波長の蛍光強度比が変化するレシオ型プローブは、プローブ濃度の偏りの影響を受けずに定量評価できるため注目されている。申請者が所属する研究室では、柔軟な共役8員環をもつ羽ばたく蛍光団FLAPがV字型と平面型の2つのコンフォメーションから二重蛍光を示すことを報告しており、蛍光レシオ型粘度プローブやForceプローブが開発されている。しかし、これらの機能は蛍光団にアントラセン骨格を用いたFLAPに限定されており、高い光安定性を要する測定や溶媒存在下での応力集中の定量といった問題に対処できなかった。</p> <p>まず申請者は、光安定性の問題に対処することでFLAPの単一分子蛍光スペクトル測定を可能とし、それにより高分子の動的な局所自由体積の評価を行った。高分子の自由体積は、材料中で高分子鎖に占有されていない空間の体積を指し、その定量は分離膜等の開発に重要である。特に局所自由体積の時間変化の追跡には単一分子分光測定が適しているが、従来型FLAPは耐光性が低く測定が困難だった。そこで、骨格に窒素原子を導入したN-FLAPを新たに開発した。その結果N-FLAPは、蛍光の輝度が従来型より22倍大きく、数分間の単一分子蛍光スペクトル測定に耐える光安定性をもつことが判明した。このN-FLAPを低分子量ポリスチレン中に分散させた単一分子分光測定では、V字型由来の短波長蛍光と平面型由来の長波長蛍光を時間経過により相互に行き来する現象が観測された。これは、ポリスチレン中に十分大きな自由体積が形成された時のみN-FLAPが励起状態平面化することを示唆している。V字型と平面型の分子骨格の占有体積の見積もりから、この平面化には280 Å<sup>3</sup>以上の自由体積が必要であることが示された。また、単一分子分光スペクトルの時間変化の解析から、そのような自由体積は平均1.2秒間持続することが明らかとなった。</p> <p>続いて、高分子ゲル中で機能する羽ばたくForceプローブの開発を行った。高分子材料の変形による破壊は、特定の高分子鎖に力が集中するナノ応力集中が起点となるが、絡み合った高分子鎖の中で、破断する前の力がかかった鎖の割合を定量することはこれまで不可能であった。一方で、FLAPは力に応じた二重蛍光の変化を示すため、蛍光レシオ解析によってナノ応力集中を定量できるForceプローブとして機能する。しかしながら、従来型FLAPは溶媒存在下では力学負荷のない状態でも自発的に平面化するため高分子ゲルに対してはForceプローブとして利用できなかった。そこで申請者は、FLAPの蛍光団を<math>\pi</math>拡張することで励起状態平面化が抑制されるという修士課程で得た知見に基づき、ピレンイミド骨格をもつFLAPを新たに合成した。その結果、新規FLAPは、従来型と異なり溶液中でもV字型構造を保持した蛍光を示した。このFLAPを架橋ポリウレタンへ導入して有機溶媒で膨潤したゲルを合成し、そのゲルの圧縮試験を行うことで、従来型のFLAPでは困難だった溶媒存在下での力学応答の検出に成功した。また、ピクセル毎に蛍光スペクトルが取得できるカメラを用い、0-1 MPaの小さな応力範囲での蛍光レシオイメージングができることを実証した。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

申請者は、羽ばたく蛍光団FLAPの光物性に着目し、従来型分子における課題を分子骨格の適切な変更により解決し、新たな二重蛍光性プローブの開発へと展開した。単一の分子骨格で2種類の発光状態を可逆変換できる色素は、細胞のような不均一媒体中でもプローブ濃度の偏りに影響を受けない蛍光レシオ解析が可能なため近年注目を集めており、数多く報告されている。しかし、これらの二重蛍光性色素を高分子の自由体積評価やナノ応力集中の定量といった目的で利用した例はこれまで報告されておらず、上記2つの目的に焦点を当て、羽ばたく蛍光団の二重蛍光性プローブとしての有用性を示したことは本論文全体を通して特筆すべき点である。

まず申請者は、従来型FLAPのアントラセン骨格に起因する低い光安定性を解決するため、骨格に窒素原子を導入したN-FLAPを新たに開発した。その結果蛍光の輝度が22倍に上昇し、単一分子蛍光測定による高分子の動的な自由体積評価が可能となった。高分子の自由体積は分離膜の開発等の観点で重要な概念である。単一分子の蛍光寿命測定による自由体積の追跡は既に報告があるものの、蛍光寿命は様々な要因に影響を受けるため、自由体積を評価している証拠に乏しい。これに対し、FLAPの構造変化と相関する蛍光スペクトルの変化に着目した本研究は、より直接的に自由体積を追跡した成果として評価できる。また、N-FLAPに高い輝度をもたらしたモル吸光係数の上昇について、量子化学計算に基づく議論も展開しており、羽ばたく蛍光団の光物性の制御の観点からも興味深い。

続いて申請者は、溶媒存在下では従来型FLAPが力学負荷の有無にかかわらず励起状態で自発的に平面化する問題を解決するため、ピレンイミド骨格をもつFLAPを新たに合成した。溶液中の温度可変蛍光スペクトル測定から励起状態平面化の抑制を確認し、架橋ポリウレタンを有機溶媒で膨潤させた高分子ゲルへこの分子を導入した。その結果、0-1 MPaの小さな応力に応答する二重蛍光のスペクトル変化を実現した。近年、高分子ゲルの力学的な脆弱性を克服すべく様々な強靱化戦略が取られているが、本研究で開発したForceプローブはそれらの強靱化メカニズムを分子レベルで解明する新たな手法として期待できる。また、溶媒共存下でFLAPのForceプローブ機能を実現したことから、将来的には、FLAPの高分子溶液を利用し、流れ場における伸長応力を蛍光レシオイメージングで定量的に追跡できると期待される。

以上のように申請者は、羽ばたく蛍光団の光物性を目的に応じて制御することで新たな二重蛍光性プローブを開発し、高分子の自由体積評価やナノ応力集中の定量に取り組んだ。また、申請者のFLAPの分子設計は修士課程における成果を踏まえたFLAPの光物性に対する深い洞察に基づくものであり、本論文の価値は合成した二重蛍光性プローブ自体の有用性のみならず、今後新たな機能をもった二重蛍光性分子を開発する上でも重要な成果である。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和4年1月18日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降