

蛍光分子測定による  
高分子溶液物性計測に関する研究  
(Research on Fluorescence Molecule Measurements of  
Physical Properties of Polymer Solutions)

岩尾 亮

# 目次

<b>1. 緒論</b> .....	3
1.1. 研究背景.....	4
1.2. 高分子溶液の過去の研究例と各種物性計測手法.....	5
1.3. 本研究の狙い, 目的.....	22
1.4. 本論文の構成.....	23
<b>2. 蛍光計測の原理</b> .....	24
2.1. 蛍光の原理[29] .....	25
2.1.1. 励起状態[29].....	25
2.1.2. Kasha の法則[29].....	26
2.2. 光の回折.....	27
2.2.1. フレネル回折とフラウンホーファー回折[30].....	27
2.2.2. 円形開口による回折[30].....	29
2.2.3. レンズによるフーリエ変換[30].....	30
2.3. 蛍光分光.....	31
<b>3. FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答</b> .....	33
3.1. 背景・目的.....	34
3.2. FRET 分子 .....	35
3.2.1. FRET の原理 .....	36
3.2.2. FRET 分子の合成 .....	38
3.2.3. FRET 分子の分析結果 .....	42

3.2.4. 実験方法.....	47
3.3. 結果.....	54
3.4. 結言.....	57
<b>4. 高分子硬化過程の SMT 計測 .....</b>	<b>58</b>
4.1. 背景・目的.....	59
4.2. 実験手法.....	60
4.2.1. サンプルの準備.....	60
4.2.2. SMT .....	61
4.3. 結果.....	66
4.3.1. 平均二乗変位.....	66
4.3.2. 拡散係数分布.....	67
4.3.3. ヒートマップ.....	71
4.4. 結言.....	75
<b>5. 総括 .....</b>	<b>77</b>
参考文献.....	81
謝辞.....	96

---

# 第 1 章

## 緒論

---

### 1.1. 研究背景

高分子は、今日、最も重要な素材の一つとなっている。その中でも代表的な製品であるプラスチックの生産量は Fig. 1-1 に示すように 2019 年現在では約 3.7 億トンに達し、年々増加し続けている[1,2]。高分子材料は、重量、強度、柔軟性、熱特性などの材料特性を選択的に調整することができ、様々な需要に答えることができる。それに加え光学特性や導電性などを付与することもできるため、高機能材料として多様な用途に用いられる。目的に沿う高分子の製造のために、今日に至るまで研究が続けられてきている。化学が学問として研究されるようになったのは 19 世紀であり、数学や物理学といった他の自然科学分野と比べると比較的新しい。その中でも高分子化学分野は、Staudinger が 1920 年に高分子説を発表し[3]、高分子という概念が確立されたことに端を発する新しい研究分野である。1940 年までには、付加重合でのラジカル連鎖機構、速度論などの高分子生成論の一般化がなされ、多くの汎用高分子の工業化が行われた[4]。近年では、液晶・界面活性剤・ゲル・生体膜などを始めとしたソフトマターとしての開発・研究も盛んに行われており、次世代を担う材料としても期待されている。しかし、高分子の組織・構造・ダイナミクスに関しては多くの疑問が残されている。特に巨視的な特性と微視的な構造およびダイナミクスとの関係を理解することは、非常に難しい。巨視的な特性を抽出するためには、たくさんの高分子の平均的な振る舞い（あるいは膨大な数の高分子が含まれる検査領域）を計測するアンサンブル計測が強力なツールとなるが、局所的な構造や個々の鎖などの分子スケールのダイナミクスは不明瞭なままである。これらの微視的な構造やダイナミクスは、高分子の特性に重要な影響を与えており、それらを実験的に調べることは非常に重要である。

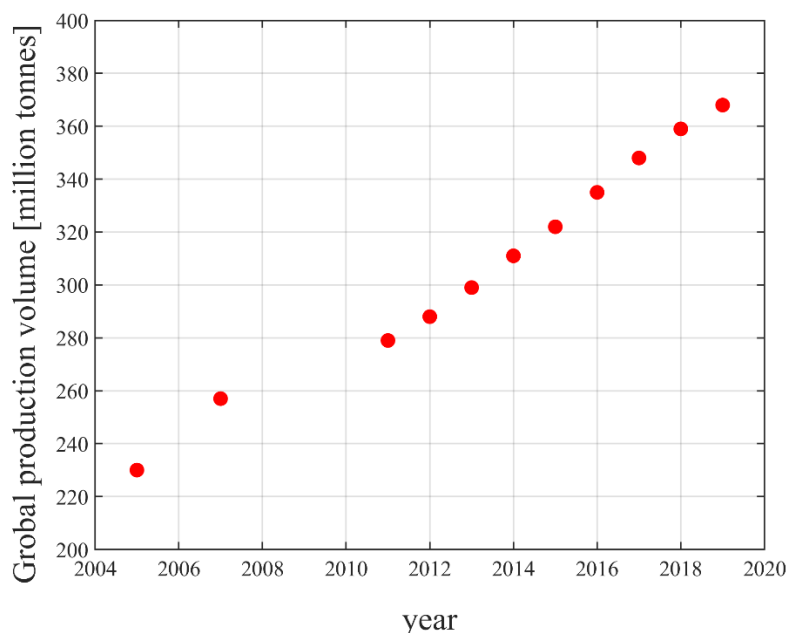


Fig. 1-1 プラスチック製品の世界生産量の変遷[1]

## 1.2. 高分子溶液の過去の研究例と各種物性計測手法

固体の粘弾性に関する最初の研究は、1833年に Webber が絹糸の伸びに弾性の残効性があることを発見したことに始まる[5,6]。1867年には、Maxwell は応力緩和の現象を取り扱った[7]。応力の減少率がそのときの応力に比例すると仮定して、応力が指数関数的に減少することを示し、緩和時間の概念を導入した。応力緩和の現象は、物体の弾性的性質に時間が重要な役割を演ずることを示しており、古典弾性論の枠外の現象となる。

高分子溶液に関する熱力学の研究は、ゴム弾性や粘弾性に関する研究に比較して遅れて発展した。1920年に Staudinger が高分子説を発表して以降、その説が完全に認められるまでに15年にも及ぶ論争があった。その後、Flory と Huggins は1941年に格子モデルによる理論を発表した[8,9]。それにより、高分子溶液の蒸気圧や浸透圧に関する理論づけがなされた。

## 緒論

---

1943年には、Flory と Rehner によってゲルの膨潤理論[10]によって容積膨張比と架橋結合間の平均分子量の関係式が求められるなどした。また、1948年には Kirkwood と Riseman によって、高分子鎖の流体力学的相互作用に関する理論が発表され、高分子溶液の固有粘度と分子量の関係を導出した[11]。さらに、1949年には Flory による排除体積効果の理論[12]などが発表され、希薄溶液における分子鎖の広がりについて理論化がなされるようになった。このように1950年までには、現在の高分子溶液系の物理理論の基礎となる発表が続々と行われた。

1950年以降では、さらに理論が大きく展開していき、1955年には、Williams, Landel, Ferry によって、高分子の粘弾性における温度-時間則が導かれるなどした[13]。1970年代には、de Gennes によって高分子のスケーリング則[14]とレプテーションモデル[15]が提唱され、高分子物理学の再構築が行われ、現在に至っている。

現在では、高分子溶液は多種多様な手法を用いて計測が行われている。高分子溶液の物性計測に用いられる各種計測手法について、その手法自体や特徴、その手法を用いた計測事例について説明を行う。

### 核磁気共鳴分光法 (Nuclear Magnetic Resonance: NMR)

磁場中の磁気モーメントを持つ原子核はゼーマン効果によりいくつかのエネルギー状態が生じる。このエネルギー差に相当する周波数を持つ電磁波を照射すると、分裂した核スピン状態間の遷移に基づくエネルギー吸収が観測される。その共鳴吸収位置の相違により化合物の定性分析が可能である[16]。NMR 装置の概略図を Fig. 1-2 に示す。試料は均一の磁場中で回転される。試料には、発振コイルからラジオ波のパルスが照射され、共鳴によるエネルギー吸収が起こ

## 緒論

る。パルス照射が終わると、試料からエネルギーの放出が始まり、放出されたエネルギーが受信コイルによって検出される。この時検出されるエネルギーは時間によって減衰する（自由誘導減衰）。この自由誘導減衰を何回も繰り返し積算し、フーリエ変換することによって NMR スペクトルが取得できる。NMR では有機、無機または低分子、高分子等の材料を問わず各材料の分子構造を原子レベルかつ非破壊で解析することができる。

高分子化合物の NMR 測定では、水素、炭素、窒素の元素測定、立体規則性、共重合組成、末端基、分岐等の構造の測定が行われている。通常の NMR 測定は主に溶液状態で行われているが、固体状態、結晶及び非晶状態などさまざまな状態での測定が可能である。またスペクトルの温度による変化を測定することにより、分子運動に関連した情報も得ることができる。NMR を用いた研究例として、酢酸アリルと様々なモノマー間における共重合の反応性比について、NMR による組成解析などの研究がある[17]。

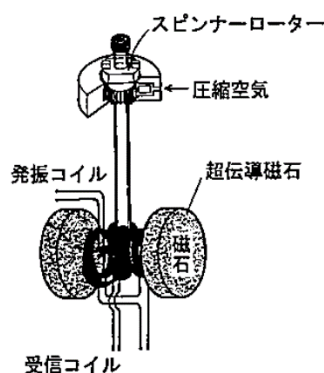


Fig. 1-2 NMR 装置の概略図[16]

### 質量分析法 (Mass Spectrometry: MS)

MS では、試料分子のイオン化を行い、イオン化された試料を高い真空度を有する真空中で加速させ、それぞれのイオンが有する質量または荷電数との通



## 緒論

過する電場や磁場との相互作用の違いを利用することにより、成分の分離及び検出する分析手法である[16]。Fig. 1-3 に MS の装置構成を示す。MS では測定試料は気化され、イオン化室でイオン化される。生成されたイオンは加速され、イオンビームとして入口スリットから発射され、強い均一な磁場を持つ質量分離室に入る。ここで、イオンビーム中の各イオンは磁場によって質量に応じて、運動の方向を曲げられ、分離された後に検出される。MS では、観測された質量スペクトルピークの位置と強度から、化合物の分子量及び分子式に加え、化学構造などに関する情報を取得することが可能である。

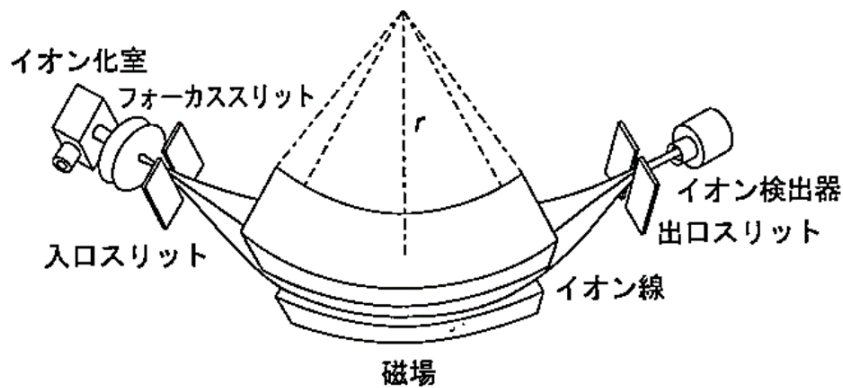


Fig. 1-3 MS の装置構成[16]

### UV-Vis (紫外可視) 吸光光度測定

UV-Vis 吸光光度測定では、測定試料に紫外線や可視光などの光を入射させ、各入射波長において試料が吸収する光量を連続的に計測する手法である[16]。Fig. 1-4 に UV-Vis 分光光度計の光学系の例を示す。ハロゲンランプの光を回折格子で分光し、分光した光をスリットを通過させることにより、特定波長の光を取り出す。この光をビームスプリッタにより、2 つに分け測定試料とリファレンスに照射する。こうして、試料とリファレンスを通過した光を検出し、信号処理を行う。UV-Vis 吸光光度測定の測定結果では、横軸に波長、そして縦軸

## 緒論

には吸光度を持つ吸収スペクトルが得られる。吸収スペクトルの吸収極大波長と、吸光度と濃度から求められるモル吸光係数から分子構造に寄与する情報を得ることができる[16].

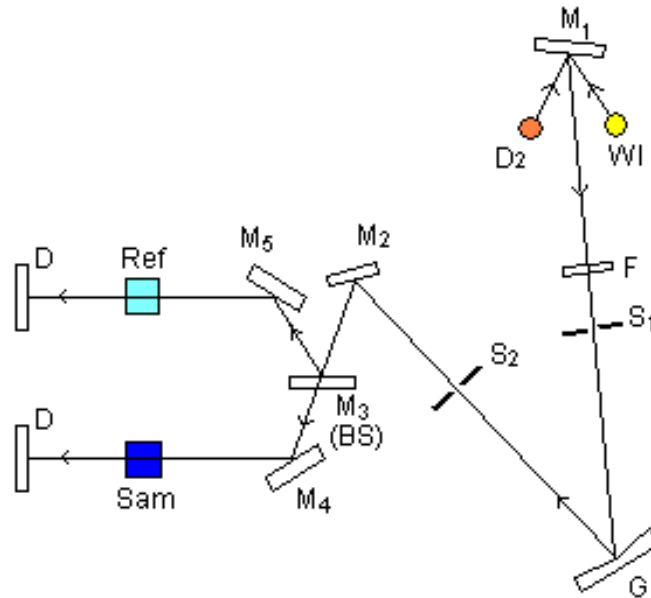


Fig. 1-4 UV-vis 分光光度計の光学系. WI: ハロゲンランプ, D<sub>2</sub>: 重水素ランプ, G: 回折格子, M: ミラー, BS: ビームスプリッタ, D: 検出器, Sam: 試料光束, Ref: 対照光束 [18]

### 赤外吸収スペクトル分析

赤外吸収スペクトル分析は、試料に赤外線を当て、双極子モーメントが変化する分子骨格の振動、回転に対応するエネルギーの吸収を測定する手法である [16]. Fig. 1-5 に赤外吸収スペクトル分析で一般的になっているフーリエ変換赤外分光 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy: FT-IR) 装置の概略図を示す. 光源から光が発射され、ビームスプリッタに当たり、直角方向の同じ強さを持つ 2 つのビームに分けられて上と左の光学部に入る. これらの光学部には鏡があり、この 2 つの光は固定鏡と可動鏡で反射して再びビームスプリッタに集まり、

## 緒論

干渉波を発生させる。可動鏡の位置により異なる干渉波が得られ、各位置の信号強度をフーリエ変換することにより、周波数成分ごとの光の強度を取得することができる。赤外吸収スペクトル分析では、有機化合物を構成する官能基ごとに固有の振動スペクトルを持つため、吸収強度から定量解析できる。そのため、分子種の同定だけでなく高分子の構造解析にも広く用いられてきた計測手法である。

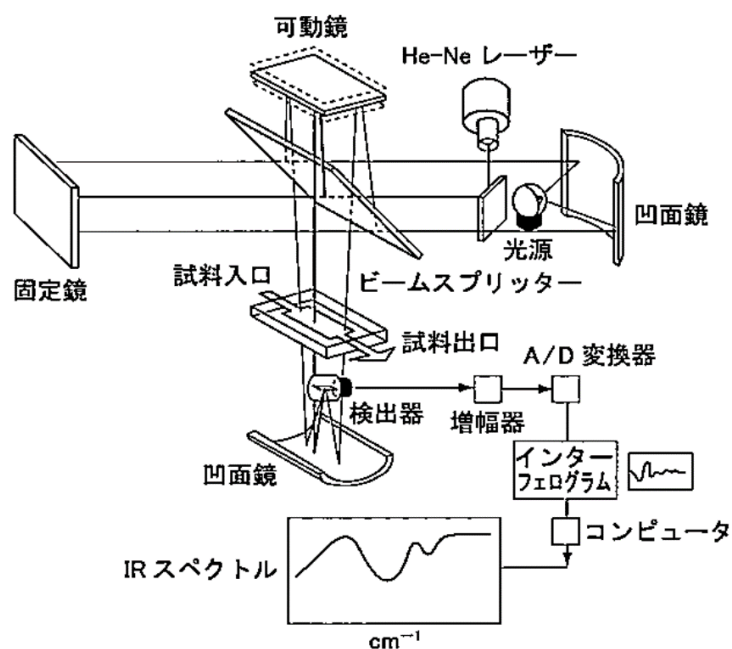


Fig. 1-5 FT-IR の構成[16]

### ラマン分光法 (Raman Spectroscopy)

Fig. 1-6 にラマン分光光度計の装置構成を示す。ラマン分光法は、試料に単色の可視、紫外光を当てた際に分子振動により振動数が変化した散乱光（ラマン散乱）を測定する[16]。散乱光の波数は官能基に特有であり、波数の位置から定性分析、強度から定量分析ができる。分子振動は、分子の構造及び周囲の環境に対して敏感であるため、定量・定性解析だけではなく、高分子鎖の構造に関する微視的な情報を取得することもできる。またレーザー光を用いた計測手

法であるため、非破壊・非接触で、試料形態を問わず分析可能といった特徴を持つ。

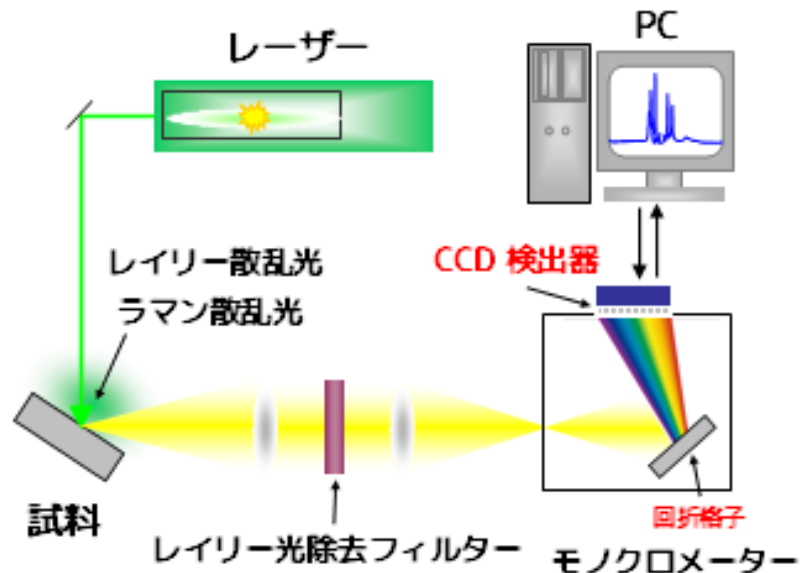


Fig. 1-6 ラマン分光光度計の装置構成[19]

### X線光電子分光法 (X-Ray Photoelectron Spectroscopy: XPS)

Fig. 1-7 に XPS の装置構成の概略図を示す。XPS は高真空中に置かれたサンプル表面に X 線を照射した際に生じる光電効果によって放出される光電子の数と運動エネルギーを測定する手法である。放出される光電子は元素の定性または原子の化学状態に依存する[20]。また試料内部で発生した光電子は、試料内部で吸収されるため、XPS で検出される光電子は試料表面近傍で発生したものに限定される。そのため、試料表面に与えるダメージが少ない方法で、試料表面の深さ数 nm の範囲における元素の種類の同定や化学結合状態などの電子状態に関する深さ分布の解析を行うことができる。

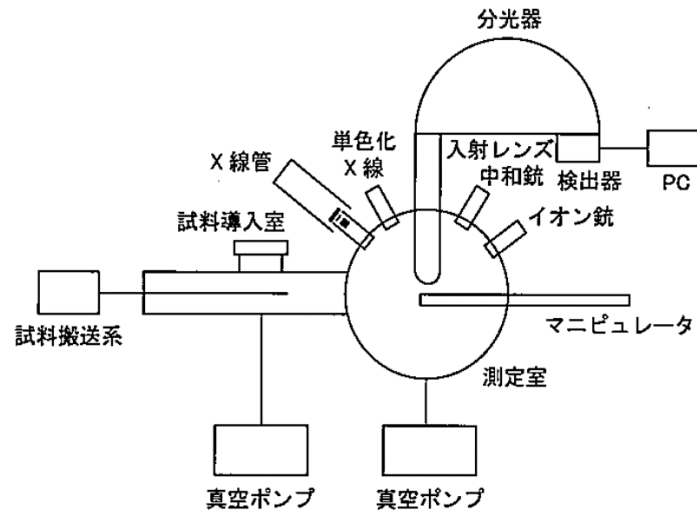


Fig. 1-7 XPS 装置[16]

### 走査型電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope: SEM)

Fig. 1-8 に SEM の装置構成を示す。SEM は加速した電子線を試料表面で走査することにより、試料表面と電子線の衝突から得られた二次電子を検出して SEM 像にする顕微観察法である[16]。試料表面から発生する二次電子の発生の確率は表面形状に依存するため、試料表面の形状をナノスケールの非常に高い分解能で観測することができる。またバルク試料や粉体などでも計測が可能で、ナノ粒子や膜表面などの観測に用いられている。さらに、蛍光 X 線を検出する検出器を組み合わせることによって、試料の組成分析や元素分布などの情報も得ることが可能となる。

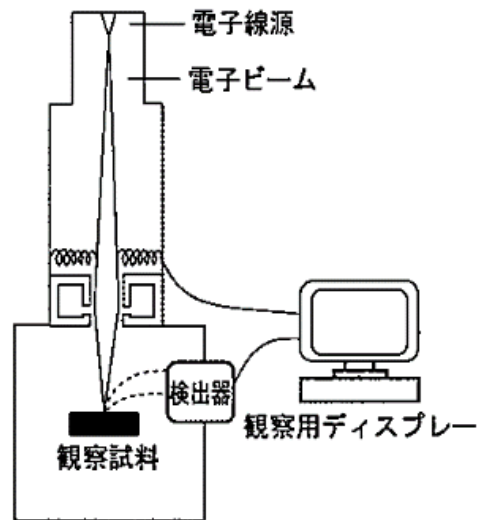


Fig. 1-8 SEM の装置構成

### 原子間力顕微鏡法 (Atomic Force Microscopy: AFM)

AFM は原子間・分子間に働くファンデルワールス力による片持ち梁型の探針のたわみにより、局所的な表面状態を可視化する顕微観察法である[21]。Fig. 1-9 に AFM 測定の模式図を示す。試料表面に探針を接触させることによって生じるカンチレバーのたわみ量を、カンチレバー背面で反射されるレーザー光を用いて検出する。AFM は、真空中や大気中、溶液中といった様々な環境下で非導電性の高分子やセラミックスといった材料の凹凸などの表面構造や組成、弾性率や粘弾性といった力学物性の分布をナノメートルオーダーの分解能で可視化観察、力学物性に関する定量的な解析ができる手法である。水平方向だけでなく、垂直方向の分解能も高く試料表面の凹凸状態や粘弾特性などに関する情報も調査することができる。また、高速化などの技術の進展により、高分子の融解過程や結晶化過程における高分子構造の動態を時系列変化として撮影することも可能となっている。

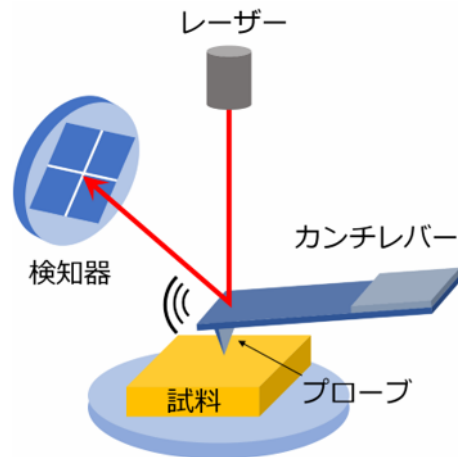


Fig. 1-9 AFM 測定の様式図[22]

### 分光エリプソメトリー

エリプソメトリーは、基板上の薄膜に偏光状態が既知の光を入射させ、試料表面で生じる偏光状態の変化を測定することにより、薄膜の屈折率などの光学的パラメータや膜厚を高精度に計測することができる分析手法である[23]。入射光の偏光状態の変化というわずかな情報から薄膜の屈折率及び膜厚を逆推定するために、薄膜の屈折率や膜厚の初期値から薄膜の誘導関数の偏光解析パラメータについての理論的な光学計算を行う。与えられた偏光状態に関する計算結果と実験により実際に計測された偏光解析パラメータの結果との誤差が最小化するよう、反復して計算を行い誘電関数モデルの偏光解析パラメータを最適化し収束値を求めることによって、薄膜の誘電関数が決定され、薄膜の屈折率と膜厚が算出される。また、試料の加熱と同時にエリプソメトリーによる光学測定を実施することによって、薄膜のガラス転移温度の検出やこれに伴う相対的な密度変化などの過渡特性の評価を行うこともできる。

### 光散乱法 (Light Scattering: LS)

LS は、静的光散乱と動的光散乱の 2 種類に大別される。静的光散乱では、溶液中に照射された入射光と同じ波長を有する弾性散乱光の強度の計測、動的光散乱では、散乱光強度の時間変化の揺らぎの計測を、様々な散乱角度で変えながら観測する手法である[24]。Fig. 1-10 に静的光散乱装置の模式図を示す。測定試料を円筒型のセルに入れ、セルと屈折率の近い液体の入った恒温槽内にセットする。レーザー光源より照射された単色光がセルに入射し、試料から 2 次元的な散乱光が四方に起こる。この散乱光の強度を入射光に対して散乱角度  $\theta$  にある検出器で測定する。強度検出器の設置台を回転させることによって、散乱光強度の角度依存性を調べる。静的光散乱では、散乱光強度の時間平均から溶液中の高分子（粒子）の分子量、粒子の回転半径などを測定できる。Fig. 1-11 に動的光散乱の概念図を示す。測定試料が、溶液中で微粒子が分散している微粒子分散系であるとき、レーザー光源から照射された光の散乱光の波長はドップラーシフトする。このように、光が照射されている領域内での微粒子の運動や数の揺らぎによって散乱光の波長や強度が変動する。動的光散乱では散乱光の波長や強度の変動から、微粒子の流体力学的半径や物体の運動や緩和現象などのダイナミクスについての情報が得られる。



## 緒論

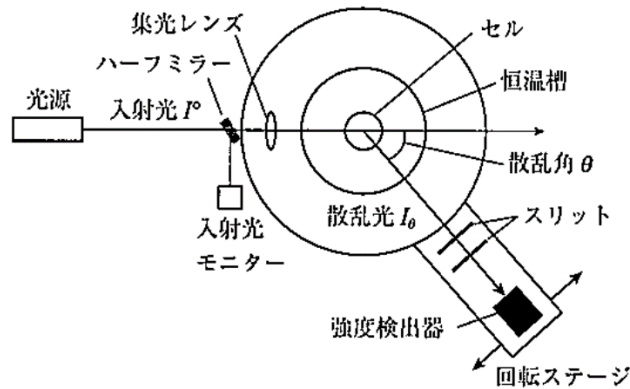


Fig. 1-10 静的光散乱装置の模式図[24]

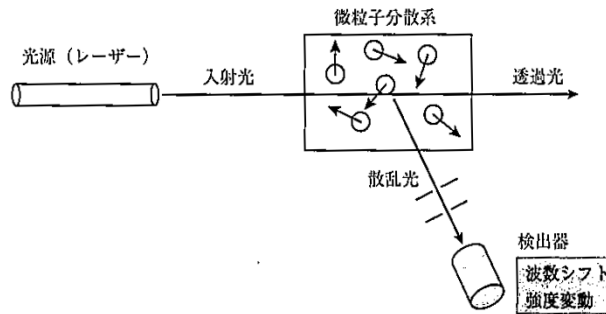


Fig. 1-11 動的光散乱の概念図[24]

### 電気泳動光散乱法 (Electrophoretic Light Scattering: ELS)

ELS は、液中に存在する帯電している粒子に電場をかけ、等速で並進運動している粒子の散乱光の計測を行うことにより、電気泳動移動度 (Electrophoretic Mobility: EPM) を測定する計測手法である。EPM は、ゼータ電位へ Smoluchowski の式を用いる事によって変換することが可能である[24]。Fig. 1-12 に ELS の光学系の概略図を示す。レーザー光をハーフミラーで2つに分け、一方を測定試料に入射させ、他方を参照光として迂回させる。試料からの散乱光と参照光をハーフミラーにより混合したヘテロダイン光を検出する。得られたヘテロダイン信号の時間列から信号処理により、パワースペクトルを求める

## 緒論

ことができる。ELS では、計測されたゼータ電位は微粒子の表面電位として見なすことができるため、液中に存在する微粒子の分散状態を予測する事が可能となる。

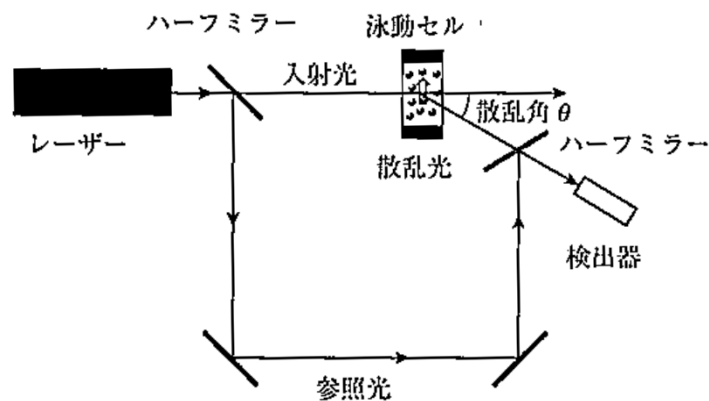


Fig. 1-12 ELS の光学系の概略図[24]

### X線散乱法

X線散乱法とは、試料に対してX線を入射し、散乱したX線を検出することにより、散乱する角度に応じてオングストロームからナノメートルのサイズ・形状・構造相関などを非破壊で得る手法である[25]。さらに、透過型である小角X線散乱法(SAXS)に対して、斜入射小角X線散乱法(GISAXS)は、非破壊で薄膜の内部や界面の深さ方向のナノ構造を調べることができる。Fig. 1-13にSAXS測定装置の光学系を示す。モノクロメーターを兼ねた共焦点鏡を用いて、ピンホールスリットを調整することにより、試料の位置で寄生散乱光が取り除かれた高エネルギーを持つビームが得られる。また試料と検出器間の空気による散乱を防ぐために、真空パスが設けられている。こうして試料で小さな散乱角( $1^\circ$ 以下)で散乱させたX線を検出器によって測定する。SAXSで

は、高分子鎖 1 本の形状や高分子鎖の集合組織に関する情報を得ることができる。

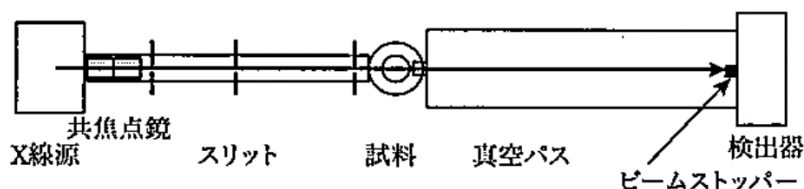


Fig. 1-13 SAXS 測定装置の光学系[25]

### クロマトグラフィー

試料を固定相と移動相への分配を繰り返しながら移動する過程で、試料中の各成分によって分配の割合が異なり、さらに移動速度に差が生じることにより各成分が分離される[16]. 移動相に用いられる種類や分離の手法によって名称が分けられる。

Fig. 1-14 に高速液体クロマトグラフィー (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) の装置構成を示す. HPLC では極性がそれぞれ異なる低分子量の物質を、カラムとそれぞれの物質間における相互作用の差を利用して分離を行う. 高分子に HPLC を適用した場合には、極性が異なる異種ポリマーの混合系や極性の異なる複数種のモノマーから構成されるコポリマー等の分離及び分析が可能である。

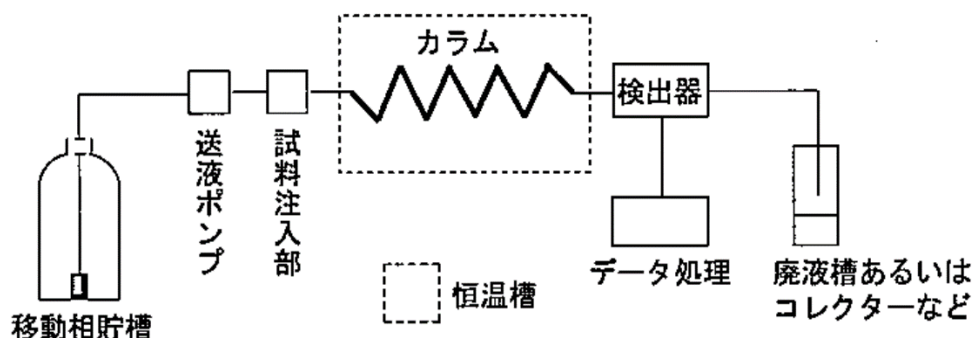


Fig. 1-14 HPLC の装置構成

ゲル浸透クロマトグラフィー（Gel Permeation Chromatography: GPC）は、HPLC の一種であり、溶媒中に存在する高分子は、分子量の違いに応じ、多孔質で形成されているカラム固定相での保持時間は異なるものになり、高分子の分離及び分子量分布の測定ができる。また、高分子の分子量の変遷から反応の追跡などにも利用される。

### 蛍光顕微分光法

蛍光顕微分光法は、蛍光分光法を光学顕微鏡による観察に利用した観察手法である。蛍光分光では、フィルターなどを用いることにより励起光と、計測対象の蛍光を容易に分離でき、蛍光のみを検出し観察することができる。蛍光顕微分光法は、形状や分布のみならず、経時的な変化の観察も容易に行えることから、生物学の分野では細胞の観察、化学では高分子の動態などの観察に用いられている [26].

### 熱分析

測定試料の物理的パラメータを温度の関数として測定する方法で、その代表的な方法として、熱重量分析（Thermogravimetry: TG）、示差熱分析

## 緒論

---

(Differential Thermal Analysis: DTA) , 示差走査熱量測定 (Differential Scanning Calorimetry: DSC) などがある[16].

TG では、試料を加熱しながら重量測定を行うもので、減量曲線から測定試料の熱的性質を得ることができる。Fig. 1-15 (a) に TG の装置構成を示す。装置は、試料と基準物質との間の温度差及び試料の質量を測定する回路部と出力制御を行う回路部で構成される。また天秤と試料部との位置関係により、吊り下げ型、上皿型、水平型などに分類される (Fig. 1-15 (b))。

DTA では、安定した熱特性を持つ標準物質と試料を同じ速度で加熱した際の温度差を測定する手法であり、発熱変化・吸熱変化を調べることができる。Fig. 1-16 (a) に DTA の装置構成、Fig. 1-16 (b) に PET 試料測定時の加熱炉・試料・基準物質の温度変化、Fig. 1-16 (c) にその際の DTA 曲線を示す。装置は、試料と基準物質の温度変化および試料の温度を測定する測温部と試料と基準物質に熱を加えるための加熱部で構成される。測定結果となる DTA 曲線 (Fig. 1-16 (c)) では、結晶化の発熱ピークや融解の吸熱ピークが観測される。DTA と TG を併用することにより、加熱による重量変化が発熱的か吸熱的かを知ることができる。

DSC では標準物質と試料を同じ速度で加熱するのに加え、温度差が生じた際にそれを解消するためのエネルギーを与え、その量の測定を行う。また DSC 曲線のピーク面積から反応熱の定量を調べることができる。Fig. 1-17 に入力補償 DSC (a) と熱流束 DSC (b) の装置構成を示す。入力補償 DSC では、試料と基準物質の温度が加えられた熱エネルギーの入力差を測定するのに対し、熱流束型では試料と基準物質の温度差を測定している。

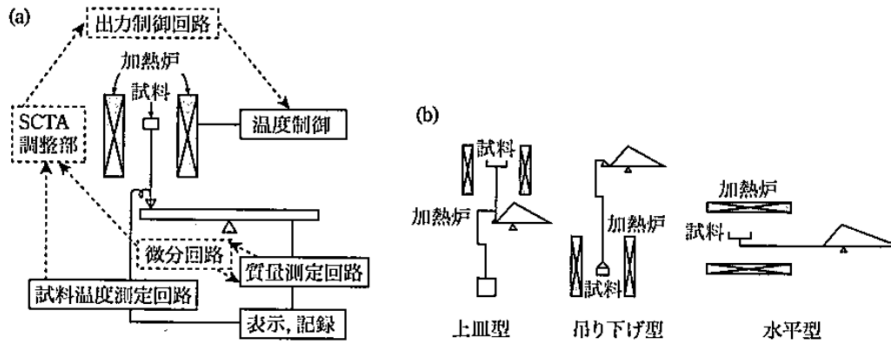


Fig. 1-15 TGの装置構成 (a) および各種熱天秤の構造 (b) [25]

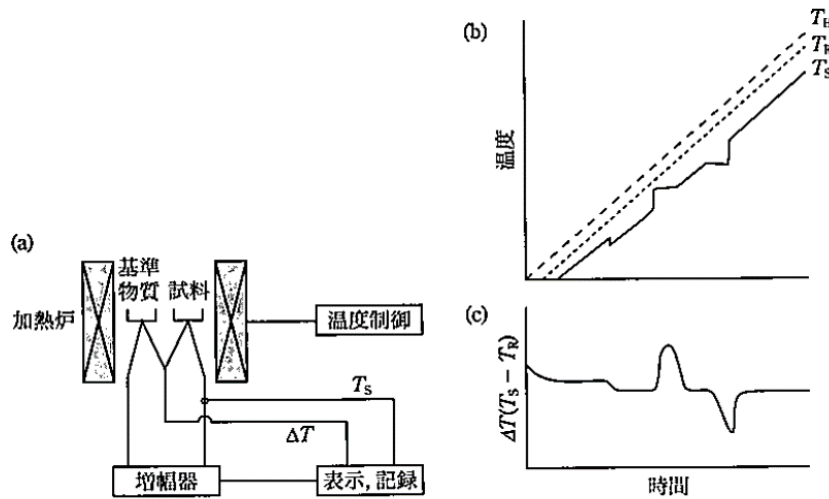


Fig. 1-16 DTAの装置構成 (a) , PET試料測定時の加熱炉・試料・基準物質の温度変化 (b) , DTA曲線 (c) [25]

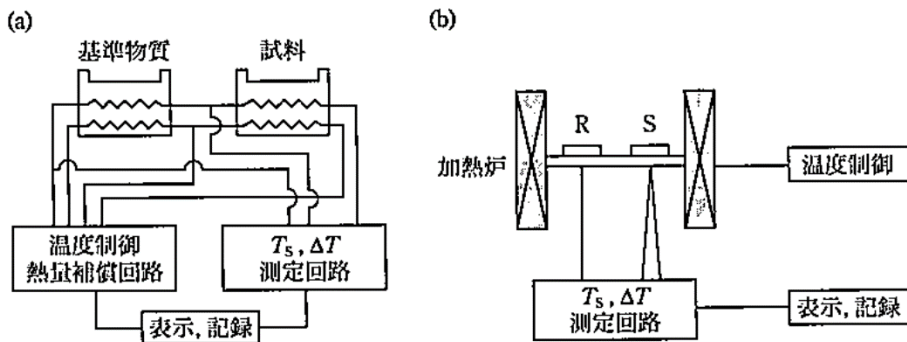


Fig. 1-17 入力補償 DSC (a) と熱流束 DSC (b) の装置構成例[25]

### 1.3. 本研究の狙い, 目的

高分子溶液の物性計測においては, アンサンブル化された技術が用いられ, 高分子溶液の平均化された情報及び巨視的な特性が取得されてきた. そして, それらを基に, 高分子の物性化学の理論が発展してきた. しかし, 個々の鎖単位や分子スケールなどの局所的な情報については, まだ明らかになっていない点が多々存在する.

そこで本研究では, 高分子溶液の物性計測における分子スケールの挙動に着目した. 溶媒中に存在する個々の分子鎖の末端間距離の変化を調べることができ **Fluorescence Energy Transfer (FRET)** 分子の蛍光強度変化の計測, 溶液中に散布した蛍光色素分子の拡散挙動から分子スケールの環境を調査することができる **Single Molecule Tracking (SMT)** の 2 つの方法を用いて高分子溶液の物性計測を分子スケールで行う. **FRET** 分子の蛍光強度計測では, 流動状態にある高分子溶液の高分子鎖の挙動を評価し[27], 高分子膜の **SMT** 計測では溶液中の高分子が硬化する様子の観察を行った[28]. これらの 2 つの実験により流動状態から硬化までの, 高分子の硬化に関する一連の流れに関する調査した. 以下に, 本研究において実施したそれぞれの実験の具体的な目的を述べる.

高分子末端間距離によって蛍光強度が変化する **FRET** 分子を用いて, せん断下の高分子鎖の状態が, せん断開始からの時間経過に対して変化していくかの評価を行う. 本研究では, 特に高分子溶液の濃度を变化させた際の高分子挙動の変化に着目する.

高分子膜の硬化する過程を, 分子スケールから内部環境を **SMT** により調査する. 平均二乗変位や拡散係数といった指標を調べることにより, 硬化剤投入からの時間経過とともに, 高分子膜の硬化が分子スケールではどのように進行

するかの評価を行う。さらに SMT で用いられる新たな評価手法の提案を目指す。

### 1.4. 本論文の構成

本論文は、この蛍光分子測定による高分子溶液物性計測に関する研究をまとめた論文であり、全 5 章からなる。以下に各章の構成を述べる。

本章（第 1 章）では、本研究の背景及び過去の研究について説明し、本研究の狙い、目的について明らかにした。

第 2 章では、蛍光計測の原理や期待される特徴について説明する。

第 3 章では、FRET 分子を用いた高分子のせん断応答の実験について述べ、本研究で構築した実験系、実験に用いた FRET 分子の合成方法、実験手法について説明する。そしてせん断下の高分子溶液の濃度を変更した際に、計測される FRET 分子の末端間距離がどのように変化するか評価を行う。

第 4 章では、高分子硬化過程の SMT 計測実験について述べ、計測に用いた光学系、計測に使用したサンプルの情報、実験手法について説明する。平均二乗変位を用いた PDMS 内部を拡散するプローブ分子の運動性の評価を行う。また拡散係数の時間経過を算出することにより、PDMS 膜の硬化の伸展の評価を行う。そして、ヒートマップによる解析手法の提案をし、PDMS 膜の内部環境の調査をする。

最後、第 5 章に全体のまとめを記す。



---

第2章  
蛍光計測の原理

---

## 蛍光計測の原理

---

### 2.1. 蛍光の原理[29]

物質が電磁波の照射や電場の印加、電子の衝突、化学反応などによって外部からエネルギーを吸収したとき、熱放射を伴わず電子励起状態 $E_2$ から基底状態 $E_1$ までの $E_2 - E_1 = h\nu$ に相当するエネルギーの光を放射する現象をルミネッセンスといい、とくに光エネルギーのみ吸収して再び光を放射する現象をフォトルミネッセンスという。このときの光吸収および光放射はその物質固有のエネルギー状態をとる。

また、フォトルミネッセンスには蛍光と燐光がある。分子が光エネルギーを吸収して高いエネルギー状態に励起されたとき、基底状態に戻るために光を放射する。その高いエネルギー状態が励起一重項エネルギー状態であるとき蛍光と呼び、励起三重項エネルギー状態であるとき燐光と呼ぶ。一般的に蛍光と比較すると燐光は寿命が長くなる。

#### 2.1.1. 励起状態[29]

原子中の電子が取り得る状態のなかで最低のエネルギー状態を基底状態といい、それ以外の場合の状態を励起状態という。基底状態からの励起状態への励起は光、熱、電場、磁場などや電子、陽子、中性子、分子、イオンの入射、衝突などによって引き起こされる。光による励起の場合、基底状態にあった電子は入射光の照射により $\Delta E$ のエネルギーをもらい励起状態に遷移する。この時、入射光から $\Delta E$ のエネルギーが減少するため、出射光の波長はその減少したエネルギーに相当する分だけ長くなる。また、励起状態の電子では、基底状態に戻る際に、 $\Delta E$ のエネルギーに相当する波長を持った放射光を出す。

## 蛍光計測の原理

### 2.1.2. Kasha の法則[29]

蛍光または燐光の発光は第一励起エネルギー状態の最低振動準位からしか起こり得ない (Fig. 2-1). Fig. 2-1 の $S_0$  は基底一重項状態,  $S_1$  と  $S_2$  は, それぞれ第一励起一重項状態と第二励起一重項状態であり, 第一励起一重項状態の方が第二励起一重項状態より吸収するエネルギーが小さい.  $T_1$  は第一励起三重項状態であり, 第一励起状態から, 無放射のエネルギー移動が起こることがある (intersystem crossing). そして, Kasha の法則の要因は第一励起エネルギー準位状態のゼロ点振動準位より高い電子および振動エネルギー準位への励起に要した余剰エネルギーは internal conversion または intersystem crossing による失活のためのエネルギー放出により急速に消滅することにある. 失活とは比較的高い励起状態の分子が溶媒の他分子との衝突のため励起エネルギーの一部が無輻射遷移することである.

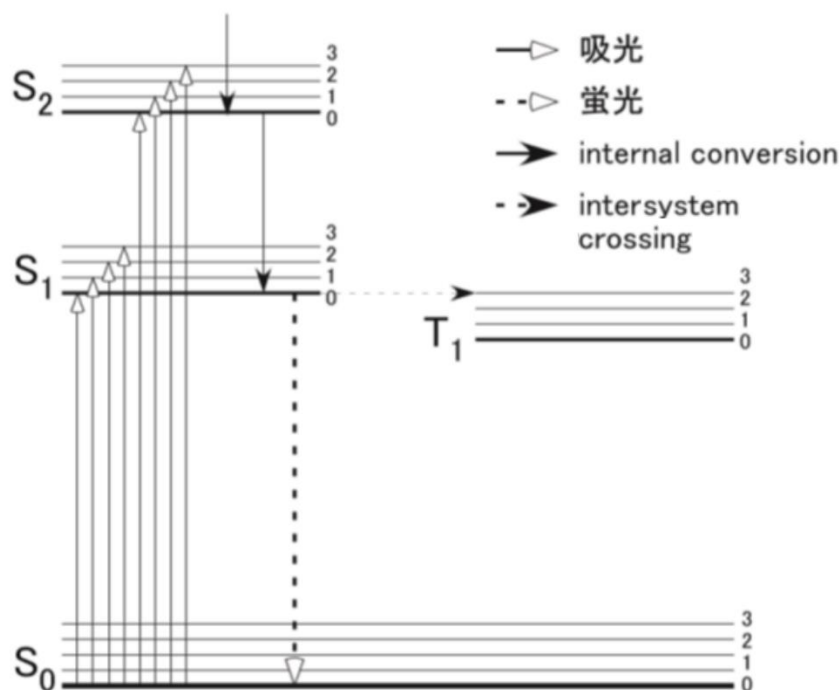


Fig. 2-1 光発光[29]

## 2.2. 光の回折

光は波として伝播するため、反射、屈折、回折、散乱などの現象が生じる。光波が障害物に遮られた場合に、その背後にも回り込む現象を回折 (diffraction) と呼ぶ。光学顕微鏡の分解能は光の波として性質によって決定され、回折限界 (diffraction limit) と呼ばれる[30]。

### 2.2.1. フレネル回折とフラウンホーファー回折[30]

Fig. 2-2に示すように、開口  $S$  に光が入射し、開口によって回折され、スクリーン上に形成される振幅分布を求める。開口上の軸を  $\xi, \eta$ 、スクリーン上の軸を  $x, y$  とし、互いに平行であるものとする。  $\xi, \eta$  の原点と、  $x, y$  の原点との距離を  $z$  とする。開口の大きさに比べて  $z$  は十分大きいものとする。スクリーン上の点  $P_1$  に到達する光は、開口上の点から生じた球面波であるため、その振幅  $u_2(P_1)$  は開口上の点  $P_0$  での波の振幅を  $u_1(P_0)$  とすると、

$$u_2(P_1) = \frac{1}{i\lambda} \iint_S u_1(P_0) \frac{\exp(-ikr_{01})}{r_{01}} ds \quad (1)$$

で与えられる。  $r_{01}$  は点  $P_0$  と点  $P_1$  との距離で、

$$r_{01} = \sqrt{z^2 + (x - \xi)^2 + (y - \eta)^2} \quad (2)$$

となる。開口の大きさが  $z$  に比べて十分小さく、また  $x, y$  も原点付近の光軸近傍のみを考えると、  $x, y, \xi, \eta \ll z$  と近似してよいので、

$$r_{01} = z \sqrt{1 + \left(\frac{x - \xi}{z}\right)^2 + \left(\frac{y - \eta}{z}\right)^2} \approx z + \frac{1}{2z} \{(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2\} \quad (3)$$

となる。式(1)に式(3)を代入する。振幅の項は、近軸近似の範囲ではあまり変化が大きくないので、  $r_{01} \approx z$  とおくと、式(1)は、

$$u_2(x, y) = \frac{\exp(ikz)}{i\lambda z} \iint_{-\infty}^{\infty} u_1(\xi, \eta) \exp\left[i\frac{k}{2z}\{(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2\}\right] d\xi d\eta \quad (4)$$

で与えられる。上式は、開口面上での振幅分布  $u_1(\xi, \eta)$  から距離  $z$  の位置での振

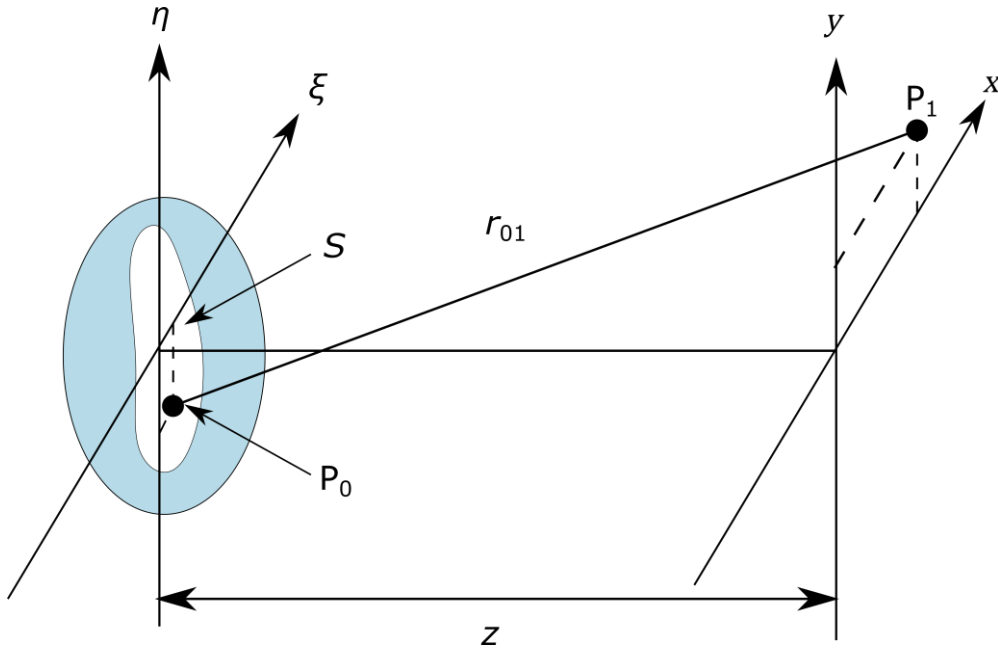


Fig. 2-2 フレネル回折とフラウンホーファー回折[30]

幅分布を求めることができることを意味している．式(4)で表される回折をフレネル回折 (Fresnel diffraction) と呼ぶ．式(4)で与えられるフレネルの式において，

$$z \gg \frac{k(\xi^2 + \eta^2)_{\max}}{2} \quad (5)$$

となる領域を考える．このような近似が成り立つのは，光の波長を 600 nm，開口の大きさを 2 cm としたとき， $z \gg 1000$  m となる．この近似が成立する領域では，式(4)は，

$$u_2(x, y) = \frac{\exp(ikz)\exp\left[i\frac{k}{2z}(x^2 + y^2)\right]}{i\lambda z} \iint_{-\infty}^{\infty} u_1(\xi, \eta) \exp\left[i\frac{k}{z}\{x\xi + y\eta\}\right] d\xi d\eta \quad (6)$$

と表される．この式が成り立つ領域での回折をフラウンホーファー回折 (Fraunhofer diffraction) と呼ぶ．フラウンホーファー回折の領域では，開口面上の振幅分布 $u_1(\xi, \eta)$ とスクリーン上の振幅分布 $u_2(x, y)$ はフーリエ変換の関係

で結ばれることがわかる。フラウンホーファー回折を観察するためには、開口から 1000 m 以上離れた位置にスクリーンを配置する必要がある。しかし、レンズを使用すると、その焦点面の強度分布はフラウンホーファー回折となるので、実用上はたいへん重要である。

### 2.2.2. 円形開口による回折[30]

光軸を中心とした円形開口の場合、系が回転対称であるので、極座標表示を用いるとよい。

$$\xi = \rho \cos \varphi, \eta = \rho \sin \varphi \quad (7)$$

$$x = r \cos \theta, y = r \sin \theta \quad (8)$$

とすると、式(6)は、

$$u_2(r, \theta) = \frac{\exp(ikz)}{i\lambda z} \exp\left(i\frac{k}{2z}r^2\right) \int_0^a \int_0^{2\pi} u_1(\xi, \eta) \exp\left[i\frac{k}{z}r\rho \cos(\varphi - \theta)\right] \rho d\rho d\varphi \quad (9)$$

となる。ここで  $a$  は円形開口の半径である。式(9)の積分は、ベッセル (Bessel) 関数となり、スクリーン上の振幅分布と強度分布は、式(6)の定数と位相項を省略して、

$$u_2(r, \theta) = 2\pi a^2 \frac{J_1\left(\frac{ka}{z}r\right)}{\frac{ka}{z}r} \quad (10)$$

$$I(r, \theta) = 4\pi^2 a^4 \left\{ \frac{J_1\left(\frac{ka}{z}r\right)}{\frac{ka}{z}r} \right\}^2 \quad (11)$$

で与えられる。ここで  $J_1(x)$  は一次の第一種ベッセル関数であり、 $x = 1.22\pi$  のとき最初の 0 点をとるので、最初の暗環の半径  $r_0$  は、

$$r_0 = 0.61 \frac{z}{a} \lambda \quad (12)$$

となる。この半径で与えられる円盤状の像をエアリーディスク (Airy disk) と呼ぶ。エアリーディスク内では、開口に入射する全光量の約 84% となる。

### 2.2.3. レンズによるフーリエ変換[30]

レンズは顕微分光において最も重要な光学素子の一つである。レンズを使用することにより、開口から遠距離に形成されるフラウンホーファー回折をレンズの焦点位置に形成することができる。

透明なレンズに光が入射した場合、レンズを通過する場所によって、光の位相が変化する。レンズの中心と $(x, y)$ の場所を通過する光の位相差 $\varphi(x, y)$ は、レンズの中心の厚みを $\Delta_0$ 、場所 $(x, y)$ の厚みを $\Delta(x, y)$ とすると、

$$\varphi(x, y) = kn\Delta(x, y) + k\{\Delta_0 - \Delta(x, y)\} \quad (13)$$

となるので、レンズの曲率を $R_1, R_2$ とすると、レンズの振幅透過率 $t_1(x, y)$ は

$$t_1(x, y) = \exp\left[-ik(n-1)\frac{x^2 + y^2}{2}\left(\frac{1}{R_1} - \frac{1}{R_2}\right)\right] \quad (14)$$

となる。ここで、 $(x, y)$ に依存しない位相成分は省略した。レンズの焦点距離 (focal length) を $f$ として、

$$\frac{1}{f} = (n-1)\left(\frac{1}{R_1} - \frac{1}{R_2}\right) \quad (15)$$

と定義すると、レンズの振幅透過率 $t_1(x, y)$ は、

$$t_1(x, y) = \exp\left[-i\frac{k}{2f}(x^2 + y^2)\right] \quad (16)$$

と表される。焦点距離 $f$ のレンズの前面焦点面に開口、後ろ焦点面にスクリーンを配置する。スクリーン位置の振幅分布 $u_2(x, y)$ は、開口位置の光振幅分布 $u_1(\xi, \eta)$ を用いて、

$$u_2(x, y) = \frac{A}{i\lambda f} \iint_{-\infty}^{\infty} u_1(\xi, \eta) \exp\left[i\frac{k}{f}(x\xi + y\eta)\right] d\xi d\eta \quad (17)$$

と表すことができる。この場合は位相項まで含めて、開口上の振幅分布とスクリーン上の振幅分布はフーリエ変換の関係で結ばれる。

## 蛍光計測の原理

レンズを用いて平行光を集光した場合は、その焦点位置の光強度分布は、円形開口による回折パターンと同じくベッセル関数を用いて表される。レンズで光を集光した場合のエアリーディスクの半径 $r_0$ は、

$$r_0 = 0.61 \frac{\lambda}{N_a} \quad (18)$$

$$N_a = n \sin \theta \quad (19)$$

で与えられる。ここで $n$ は媒質の屈折率、 $\theta$ はレンズの開き角である。 $N_a$ はレンズの開口数 (numerical aperture) と呼ばれる値で、レンズの分解能を決める重要な値である。開口数の大きいレンズほど解像度が高い。通常の構成では、レンズの周囲の媒質は空気であるため $n = 1$ となり、開口数は1を超えないが、光学顕微鏡などでは、レンズと試料の間にオイルを使用し媒質の屈折率を大きくすることにより開口数を高くして、分解能を向上させる手法が用いられる。このような顕微鏡用のレンズは、油浸対物レンズ (oil immersion lens) と呼ばれる。

### 2.3. 蛍光分光

蛍光は 2.1.2 で述べたように励起状態から基底状態への緩和に対応する電子遷移によって生じる発光プロセスである。蛍光では、電子が基底状態から励起準位に励起した後、励起準位における熱的な緩和を伴うため蛍光の発光波長は励起光の波長よりも長波長となる (Fig. 2-3)。これはストークスシフト (Stokes shift) と呼ばれる。蛍光観察では、励起光と蛍光との波長が異なるため、適当な光学フィルターなどを用いることにより、励起光をカットでき、背景光をほとんど除去することができる。そのため蛍光観察においては、蛍光のみを検出することが可能になり、高い感度を得ることが可能となる。そのため理想的に



## 蛍光計測の原理

は、完全に暗い中で微弱な蛍光強度を検出することが可能となり、1分子の蛍光発光を観察することも可能となる (Fig. 2-4).

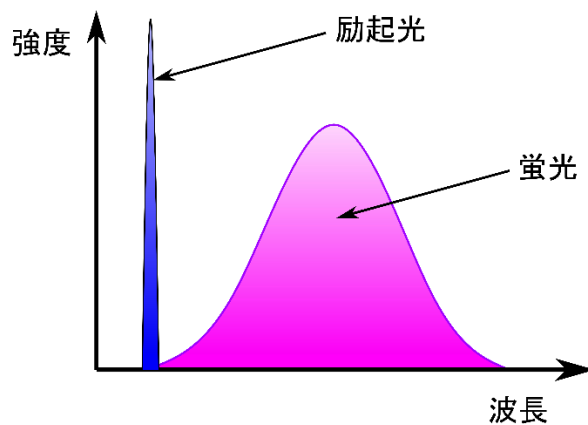


Fig. 2-3 ストークスシフトによる蛍光スペクトル[30]

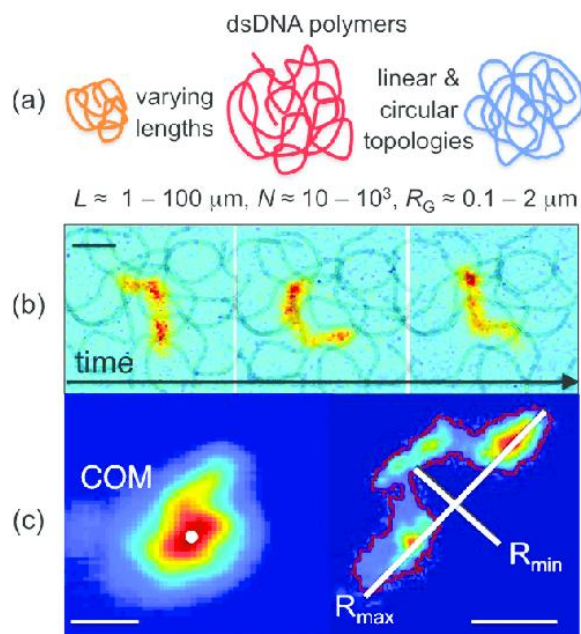


Fig. 2-4 蛍光ラベル付けされた DNA 分子の追跡例[31]

---

第3章  
**FRET**分子を用いた高分子  
溶液のせん断応答

---

### 3.1. 背景・目的

高分子溶液の流れは、様々な材料や繊維を製造するための合成プロセスや応用プロセスでよく現れる。また、このような流れは、流体制御やその他の微細加工されたセンシング技術においてもよく見られる[32,33]。せん断下における高分子のダイナミクスに関しては、流体力学的な力を加えたときに、せん断速度と剪断方向に対する分子の角度の関数として変形する、Kuhn のビーズスプリング・モデル (Fig. 3-1) が知られている[34]。ビーズスプリング・モデルは、変形を再収束させる全体的な復元力を記述する弾性の「バネ定数」を導入することで、チューブモデルとしてさらに改良された[14]。高分子が流れの中で定常状態にあるとき、流体力学的な力と弾力的な力は平衡している。これらのモデルでは、流体力学的な力は、高分子鎖に作用する伸長力であると考えられている。一方、実験的には Dunston らによって、準希薄溶液中でクエット流によるせん断を受けた高分子鎖の変形が研究された[35,36]。彼らの研究では、高分子は、 $500 \text{ s}^{-1}$  以下のせん断速度ではせん断方向に平行に整列するが、それ以上のせん断速度ではせん断方向に垂直に整列することが報告された。この結果は、せん断力を加えると高分子が伸びるという古典的な仮定とは矛盾するものである[14,34]。また、希薄溶液の極限系と考えられる溶液中の単一の高分子鎖に着目したシミュレーションでは、溶液中の高分子鎖にせん断力を加えると、座屈と伸張が繰り返されることが示唆された[32,37]。この挙動は実験でも確認されている[38,39]。高分子のせん断応答は高分子溶液の濃度によって変化することが予測されているが、同一のサンプルを用いて高分子溶液の濃度変化による応答を系統的に調べた例は知る限りでは報告されていない。

そこで本研究では、様々な濃度の高分子溶液にクエット流を加えた場合の挙動の時間変化から、せん断下での高分子鎖の応答を調べた。この目的のために、

## FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答

本研究では蛍光共鳴エネルギー移動 (Fluorescence Resonance Energy Transfer: FRET) 分子に着目した。FRET 分子とは、高分子の両端に一对の蛍光分子を付加したものである。FRET は、ある種類の蛍光分子から別の種類の蛍光分子への無放射のエネルギー移動が起こる現象である。エネルギーを提供するドナー分子から、エネルギーを受容するアクセプター分子へのエネルギー移動の効率は、両者の距離に依存するため、FRET 分子の蛍光強度の変化を観察することで、FRET 分子の両端の蛍光分子間の距離、すなわち FRET 分子の伸長・収縮を観察することができる。そこで、高分子溶液中に FRET 分子を散布し、高分子鎖の応答を検出した。

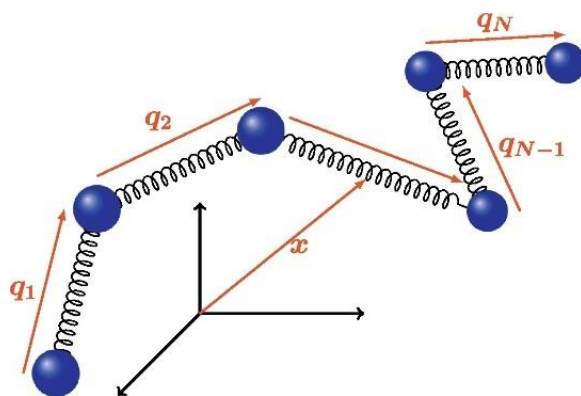


Fig. 3-1 ビーズスプリングモデル[40]

### 3.2. FRET 分子

高分子のせん断時の伸長・圧縮性を評価するために、溶質となるポリスチレン (Sigma-Aldrich,  $M_w=35,000$ ) と溶質のポリスチレン分子の動きを模擬することを期待したポリスチレン分子の両末端を修飾した FRET 分子をトルエン溶媒に溶かした溶液を試験液として用意した。FRET 分子である Pyr-PS<sub>t</sub>-C343 は、ピレンを有する開始剤を用いた Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP) の後、末端にプロパルギル基を有する Coumarin343 をクリック反応させて作製した。ATRP は、高い末端基忠実度を持つ高分子サンプルを得るためには、外部

ラジカル開始剤を必要とする Reversible Addition-Fragmentation chain-Transfer (RAFT) 重合よりも優れている。さらに ATRP は、末端にハロゲンを持つ高分子を得ることができ、このハロゲンはアジド官能器で容易に置換され、さらにクリックケミストリーによって末端アルキンと容易に結合することができる。

### 3.2.1. FRET の原理

FRET (Fig. 3-2) が起こるためには、3つの条件が揃う必要がある。

- 1) ドナー分子の蛍光スペクトルがアクセプター分子の吸収スペクトルと重なること
- 2) ドナー分子とアクセプター分子が近接していること
- 3) 2つの分子の配向モーメントが適切な配向関係にあること

ドナー分子からアクセプター分子に伝達されるエネルギーの割合である FRET のエネルギー効率  $E$  は、ドナー分子とアクセプター分子の間の距離  $r$  に関係し、これを Förster の式と呼ぶ[26,41]。

$$r = \left( \frac{1}{E} - 1 \right)^{\frac{1}{6}} R_0 \quad (20)$$

ここで、 $R_0$  は FRET のエネルギー効率が 50% となる距離である。FRET のエネルギー効率  $E$  は、アクセプターを持たないドナーの量子収率  $\phi_D^0$  と、アクセプターを持つドナーの量子収率  $\phi_D$  を用いて、以下の式で表される[26,41]。

$$E = 1 - \frac{\phi_D}{\phi_D^0} \quad (21)$$

さらに、量子収率は吸光度と蛍光強度で表すことができるので

$$E = 1 - \frac{A_D^0(\lambda_D)}{A_D(\lambda_D)} \cdot \frac{I_D(\lambda_D, \lambda_D^{em})}{I_D^0(\lambda_D, \lambda_D^{em})} \quad (22)$$

ここで、 $A_D^0(\lambda_D)$  と  $A_D(\lambda_D)$  は、アクセプター分子がない場合とある場合の吸光度を表し、 $I_D^0(\lambda_D, \lambda_D^{em})$  と  $I_D(\lambda_D, \lambda_D^{em})$  は、アクセプター分子がない場合とある場合

## FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答

の発光強度を表す.  $\lambda_D$ はドナー分子の励起波長,  $\lambda_D^{em}$  はドナー分子の発光波長である[26,41]. これらの関係に従ってドナー分子の発光強度を測定することで, 高分子鎖の端部距離  $r$ を評価することができる (Fig. 3-3). 本研究では, せん断を加えた直後のドナー分子からの蛍光強度の時間変化を測定し, 初期値からの変化を観察することで, FRET 分子の末端間距離の挙動を評価した.

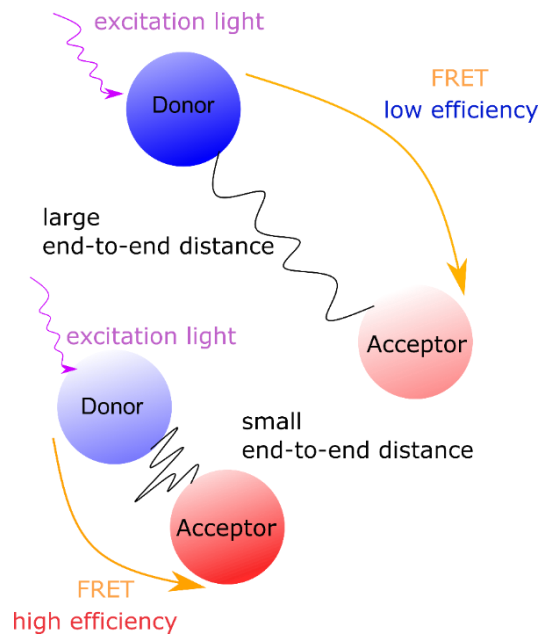


Fig. 3-2 分子間距離による FRET 効率の変化

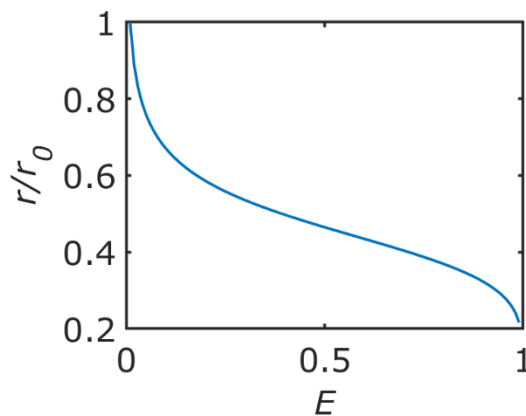


Fig. 3-3 FRET 効率変化による末端間距離の変化

### 3.2.2. FRET 分子の合成

FRET 分子としては、ポリスチレンにピレンをドナー分子とし、Coumarin343 をアクセプター分子とする両末端で付加重合した Pyr-PSSt-C343 (Fig. 3-4) を用いた。ドナー分子の発光スペクトルとアクセプター分子の吸収スペクトルを Fig. 3-5 に示す。それぞれのスペクトルが重なっていることから、ドナー分子が励起されるとアクセプター分子へのエネルギー遷移が起こる。

ここでは、ポリスチレン分子に ATRP とクリック反応により、ドナー分子のピレンとアクセプター分子となる Coumarin343 の FRET ペアを両末端に付加重合した Pyr-PSSt-C343 の合成法について記す。

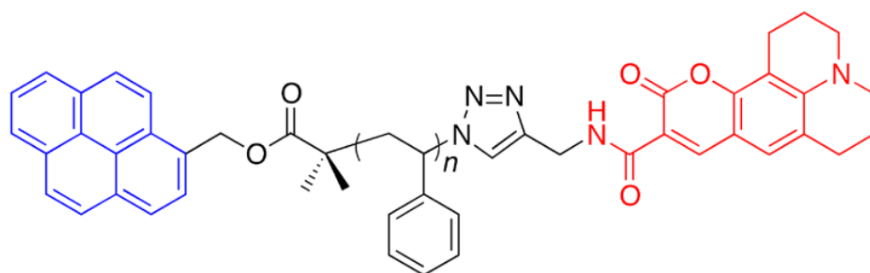


Fig. 3-4 Pyr-PSSt-C343 の化学構造

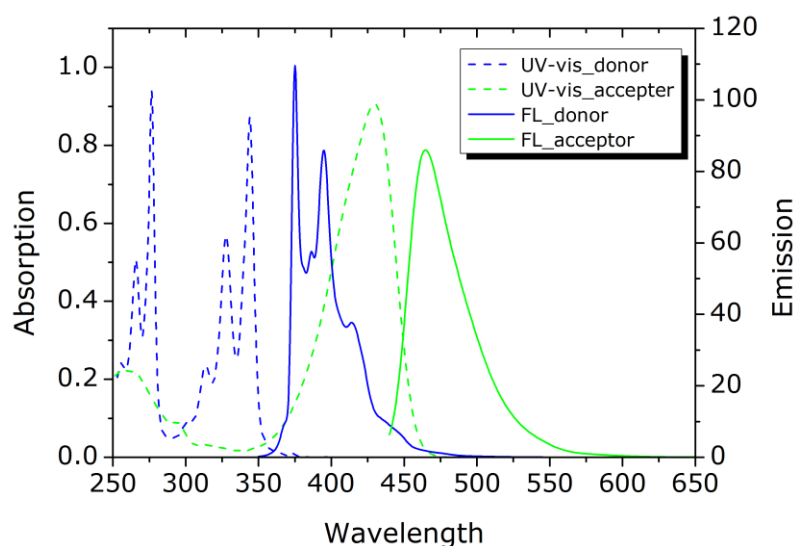


Fig. 3-5 FRET 分子のドナー分子の発光スペクトルとアクセプターの吸収スペクトル

### FRET ドナー付き ATRP 開始剤の調製

FRET 分子のドナー分子側の ATRP 開始剤となる Pyr-BrB の調整方法を以下に記す。ドナー分子となるピレンを有する 1-Pyrenemethanol に 2-Bromoisobutylic acid を反応させ、ATRP 開始剤となる Pyr-BrB の作成を行った。

2-Bromoisobutylic acid (203.5 mg, 1.22 mmol), 1-Pyrenemethanol (232.0 mg, 1.00 mmol), 4-ジメチルアミノピリジン (12.1 mg, 0.10 mmol) を試験管に入れ、乾燥 CHCl<sub>3</sub> (3 mL) で溶解した。この溶液に、*N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimide (DCC ; 309.3 mg, 1.50 mmol) を乾燥 CHCl<sub>3</sub> (2mL) に溶解した溶液を加えた。この混合物を暗所で 24 時間、室温で攪拌した。得られた反応混合物を CHCl<sub>3</sub> で希釈し、1M HCl(aq), sat.NaHCO<sub>3</sub>(aq)で洗浄した。NaHCO<sub>3</sub>(aq)および飽和食塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥させた。粗生成物をゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) で精製し、Pyr-BrB (263 mg, 0.69 mmol) を得た。

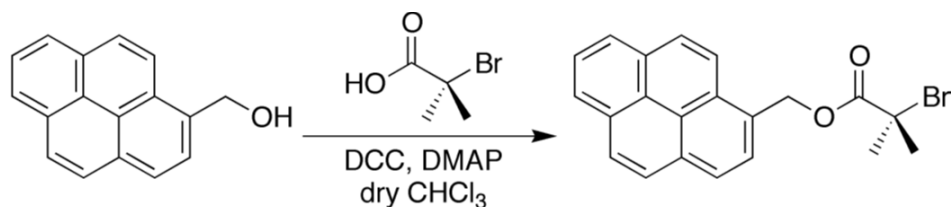


Fig. 3-6 Pyr-BrB の合成

### クリックブル FRET アクセプターの調製

FRET 分子のアクセプター分子側のクリック反応開始剤となる C343-pa の調整方法を以下に記す。アクセプターとなる蛍光分子 Coumarin343 にプロパギル基の導入を行った。

Coumarin343 (142.4 mg, 0.50 mmol), Propargylamine (117.1 mg, 2.13 mmol), 1-Hydroxybenzotriazole (HOBt; 107.0 mg, 0.79 mmol) を試験管に入れ、乾燥



## FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答

DMF (2 mL) で溶解した。次に、DCC (207.5 mg, 1.01 mmol) を乾燥 DMF (1 mL) に溶解した溶液を加え、室温で 72 時間攪拌し、溶媒を除去した後、粗生成物を分取 GPC で精製して C343-pa (55.6 mg, 0.17 mmol) を得た。

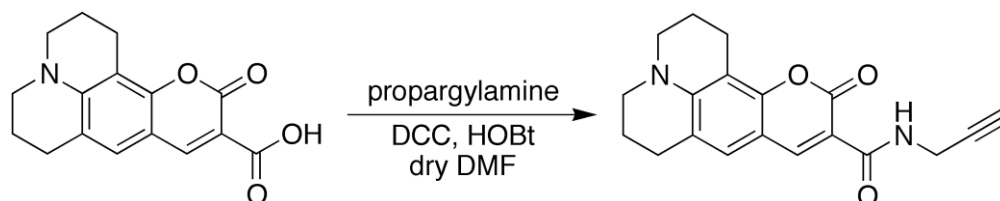


Fig. 3-7 C343-pa の合成

### ATRP-Click 法による FRET ペアを分子鎖の両末端に搭載したポリスチレンの作製

FRET 分子 Pyr-PSt-C343 の合成法を以下に記す。調製した Pyr-BrB と C343-pa を ATRP とクリック反応により、ポリスチレン分子の両末端に順次重合させ、合成を行った。

Styrene (1.04 g, 10 mmol), Pyr-BrB (38.4 mg, 0.10 mmol), N,N,N',N'',N''-Pentamethyldiethylenetriamine (PMDETA; 17.4 mg, 0.10 mmol) をシュリンク管に入れ、ゴム製のセプタムで密封した。この溶液は、凍結脱気を 5 回繰り返した。溶液が凍結している間に CuBr (14.1 mg, 0.10 mmol) を素早く加え、その後、チューブを真空にして N<sub>2</sub> ガスを数回逆流させた。このチューブを 90°C に予熱したオイルバスに浸し、重合を開始した。重合は 6 時間行い、粗生成物を CHCl<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>OH から再沈殿させて精製し、Pyr-PSt-Br (562.7 mg; M<sub>n</sub> = 7700, M<sub>w</sub>/M<sub>n</sub> = 1.09) を得た。試験管に Pyr-PSt-Br (386.9 mg, 0.05 mmol), NaN<sub>3</sub> (66.4 mg, 1.02 mmol), 乾燥 DMF (2 mL) を入れ、ゴム製セプタムで密封した。この溶液を室温で 72 時間攪拌した後、CHCl<sub>3</sub> で希釈し、不溶性塩を濾過した。

## FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答

濾液を蒸発させ、粗生成物を  $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$  から再沈殿させて精製し、Pyr-PSt- $\text{N}_3$  (375.5 mg;  $M_n = 7770$ ,  $M_w/M_n = 1.12$ )を得た。Pyr-PSt- $\text{N}_3$  (310.9 mg, 0.04 mmol), C343-pa (26.1 mg, 0.08 mmol), PMDETA (10  $\mu\text{L}$ ), 乾燥 DMF (1 mL) をシュリンク管に入れた。混合物は、凍結脱気を 5 回繰り返した。溶液が凍結している間に CuBr (5.6 mg, 0.04 mmol) を素早く加え、その後、チューブを真空にして  $\text{N}_2$  ガスを数回逆流させた。混合物を  $90^\circ\text{C}$  で 9 時間攪拌し、粗生成物を分取 GPC で精製した後、 $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$  から再沈殿させ、Pyr-PSt-C343 (268.1 mg;  $M_n = 7420$ ,  $M_w/M_n = 1.07$ )を得た。紫外可視分光法により、末端に導入された Coumarin343 色素の割合は 86.7%であった。

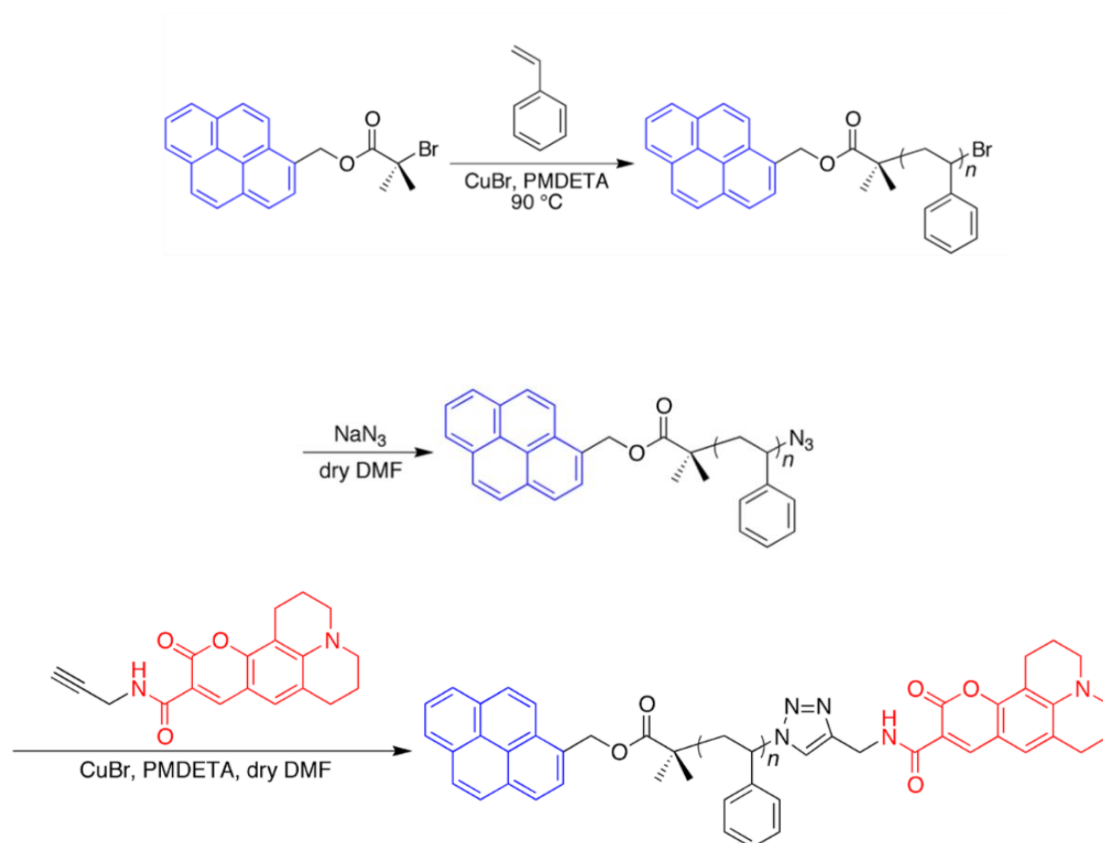


Fig. 3-8 ATRP-Click 法による Pyr-PSt-C343 の合成

### 3.2.3. FRET 分子の分析結果

$\text{CDCl}_3$  溶液中の Pyr-BrB, C343-pa の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルをそれぞれ Fig. 3-9, Fig. 3-10 に示す.  $^1\text{H}$  NMR スペクトルは, AVANCE 400 (400 MHz, Bruker) を用いて記録した. Pyr-PSt-Br, Pyr-PSt- $\text{N}_3$ , Pyr-PSt-C343 の GPC 解析結果を Fig. 3-11 に示す. GPC は, HPLC システム (ポンプ: LC-20AT, 屈折率検出器: RID-10A, 島津製作所) を用いて, Styragel HR4 (7.8×300 mm) (Waters, MA), Styragel HR3 (7.8×300 mm), Styragel HR1 (7.8×300 mm) の各カラムを固定相とし, Tetrahydrofuran (THF) を移動相として,  $1 \text{ mL min}^{-1}$  の流速で行った. GPC システムは, 分子量が  $1.31 \sim 2210 \text{ kg mol}^{-1}$  の 11 種類のポリスチレン標準試料 (昭和電工) を用いて校正した. 数平均分子量 ( $M_n$ ) および分散度 ( $M_w/M_n$ ) は, ポリスチレンのキャリブレーションによって算出した. THF 溶液中の Pyr-BrB, C343-pa, Pyr-PSt-C343 の UV-vis, 蛍光スペクトルをそれぞれ Fig. 3-12, Fig. 3-13, Fig. 3-14 に示す. UV-vis スペクトルは, V-550 分光光度計 (日本分光) を用いて記録した. 蛍光スペクトルは, FP-6300 Spectrofluorometer (日本分光) で記録した.

# FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答

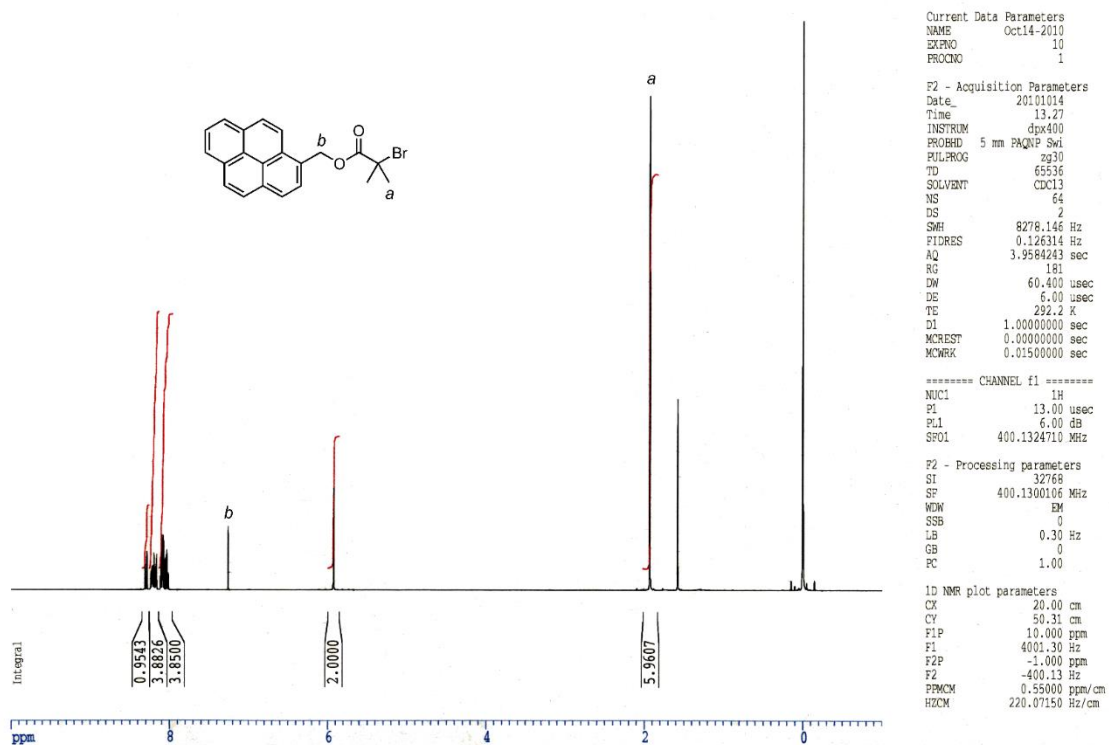


Fig. 3-9  $\text{CDCl}_3$  溶液中の Pyr-BrB の  $^1\text{H}$  NMR スペクトル

# FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答

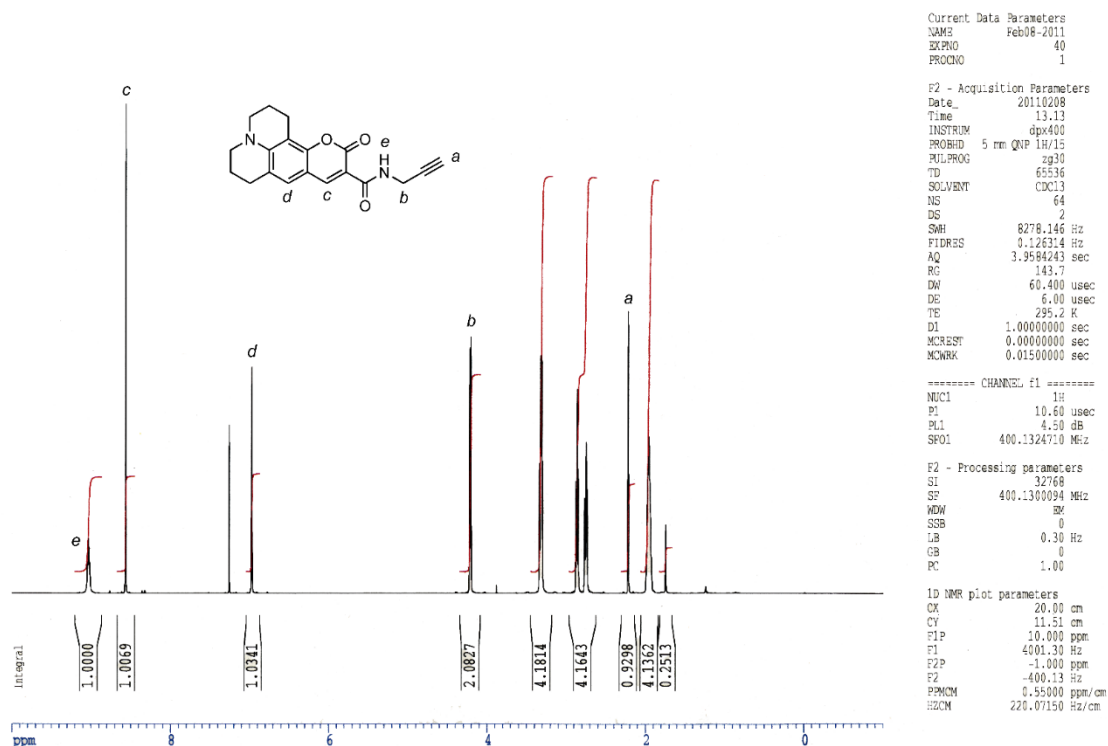


Fig. 3-10 CDCl<sub>3</sub> 溶液中の C343-pa の <sup>1</sup>H NMR スペクトル

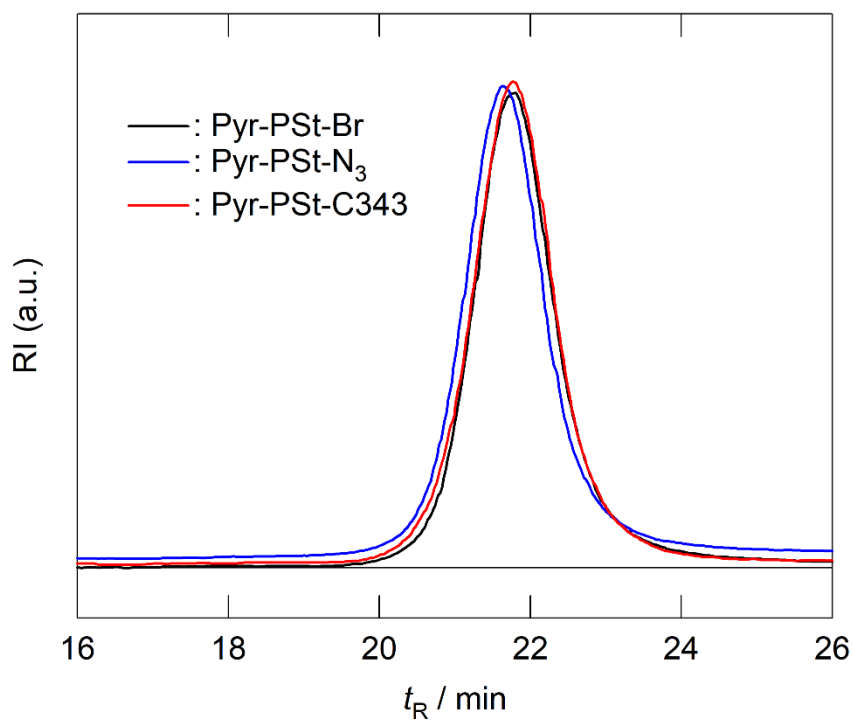


Fig. 3-11 Pyr-PSt-Br (黒), Pyr-PSt-N<sub>3</sub> (青), Pyr-PSt-C343 (赤)の GPC 解析結果

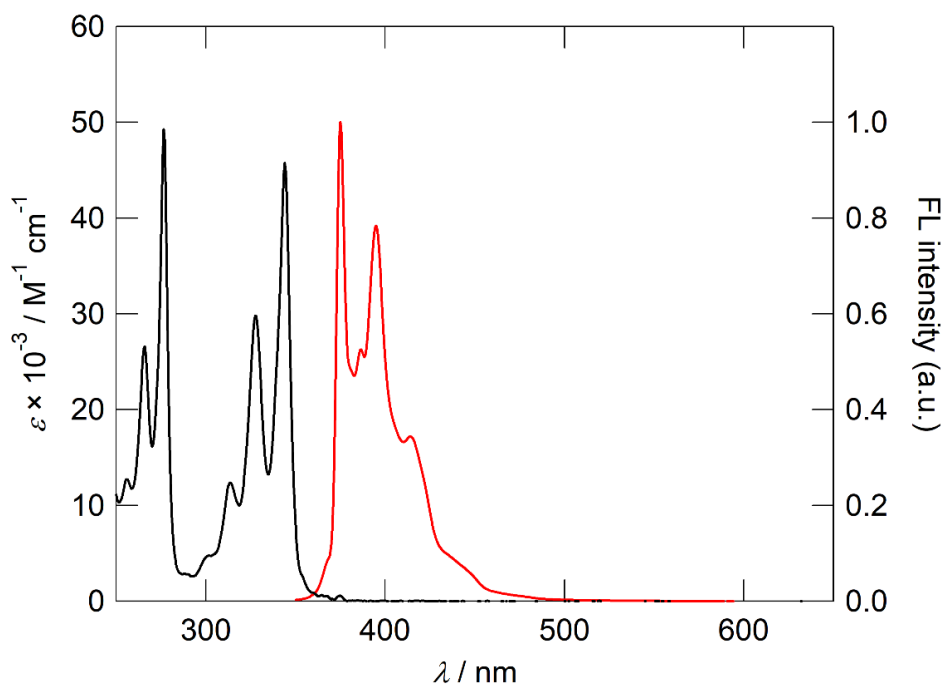


Fig. 3-12 THF 溶液中の Pyr-BrB の UV-vis , 蛍光スペクトル. [Pyr-BrB] =  $1.91 \times 10^{-5}$  M

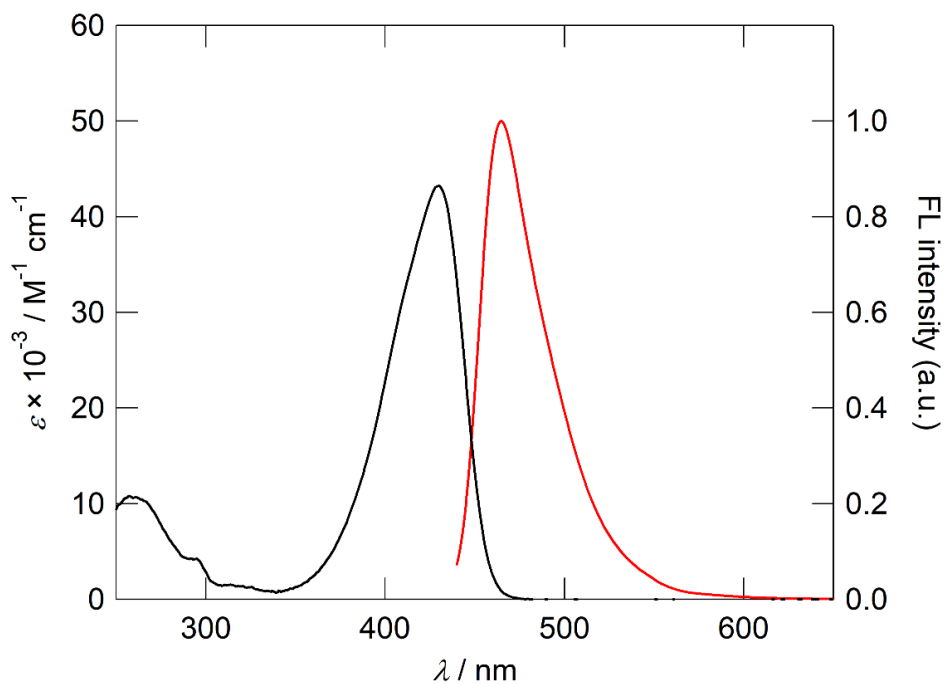


Fig. 3-13 THF 溶液中の C343-pa の UV-vis , 蛍光スペクトル. [C343-pa] =  $2.10 \times 10^{-5}$  M

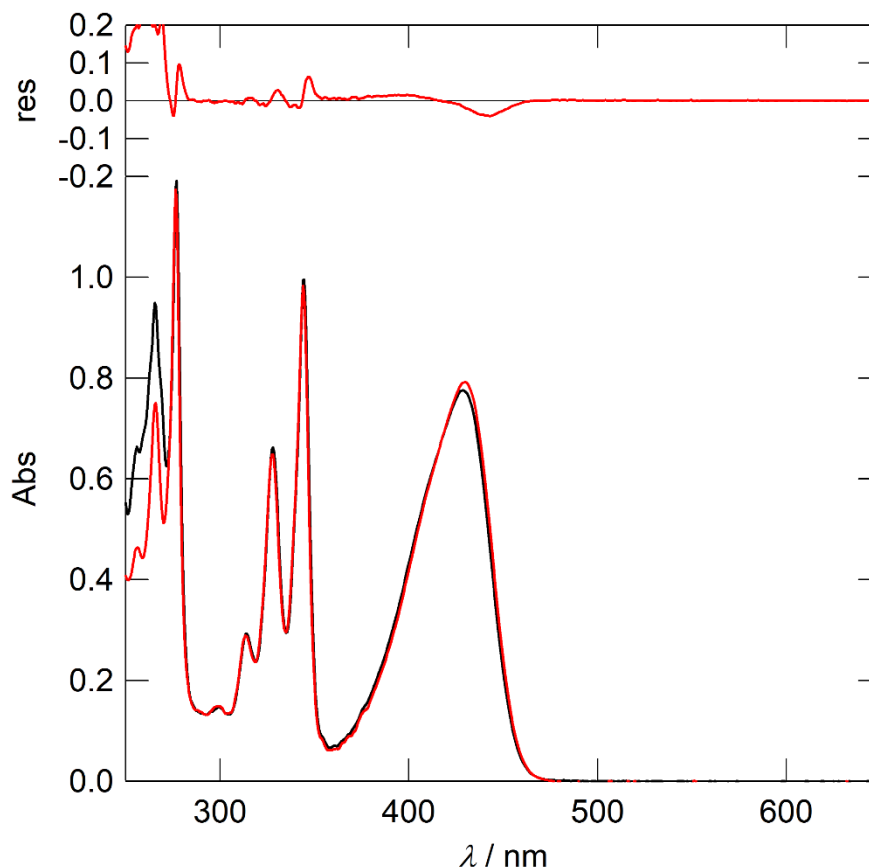


Fig. 3-14 THF 溶液中の Pyr-PSt-C343 の UV-vis スペクトル (黒) , Pyr-BrB と C343-pa の UV-vis スペクトルの重ね合わせによるベストフィッティング線 (赤; A<sub>calc</sub>) . [Pyr-PSt-C343] = 0.156 mg mL<sup>-1</sup>.

### 末端基の修飾率の推定

重ね合わせたスペクトルを以下のように計算した.

$$A_{\text{calc}} = \varepsilon_{\text{Pyr-BrB}}[\text{Pyr-BrB}] + \varepsilon_{\text{C343-pa}}[\text{C343-pa}] \quad (23)$$

ここで,  $\varepsilon_{\text{Pyr-BrB}}$  と  $\varepsilon_{\text{C343-pa}}$  は, それぞれ所定の波長におけるモル吸光係数である. Pyr-PSt-C343 の UV-vis スペクトルを 300~500 nm の領域で式(23)を用いてフィッティングすると, それぞれのモル濃度[Pyr-BrB], [C343-pa]は  $2.11 \times 10^{-5}$  M,  $1.83 \times 10^{-5}$  M となった. その結果, 末端基の修飾率は 86.7% と推定された.

### 始端の忠実度

始端にピレンが存在すると仮定すると、上記の UV-vis スペクトル (Fig. 3-14) から数平均分子量は以下のように推定できる。

$$M_{n,UV} = \frac{0.156}{2.11 \times 10^{-5}} = 7393 \quad (24)$$

この値は GPC で推定された値とほぼ一致しており、始端でのピレン色素の保存状態が良好であることを示している。

### 3.2.4. 実験方法

本研究では、高分子溶液にせん断力を加えて、高分子溶液中の FRET 分子の蛍光強度を測定した。本研究で用いる実験装置の模式図を Fig. 3-16 に示す。キセノンショートアークランプ (U-LH75XEAP0, Olympus) から発せられた励起光は、倒立顕微鏡 (IX-71, Olympus) 内の長波長カットフィルター (FF01-336/19-25, Semrock: Fig. 3-17) を通過し、ダイクロイックミラー (Di01-R355-25x36, Semrock: Fig. 3-18) で反射された後、対物レンズ (MPLFLN10x, Olympus: Table 3-1) を通過した。高分子溶液中の FRET 分子は励起光により励起され、対物レンズ、ダイクロイックミラー、バンドパスフィルターを通過した放出光は、EMCCD カメラ (ProEM 1024B, Princeton Instruments: Table 3-2) で検出される。高分子溶液は、固定されたガラス窓 (半径  $R = 45$  mm) と回転する円盤 (半径  $r = 40$  mm) の隙間に投入された。回転円盤をガラス面との接点から 0.3 mm だけ上方に移動させて間隙を作った。回転円盤をモーター (NX940AS-PS5-1, オリエンタルモーター: Table 3-3) で回転させ、高分子溶液にせん断力を加えた。高分子溶液にせん断が加わると、粘性の散逸や摩擦によって熱が発生し、溶液の温度が上昇する。この熱を除去するために、冷却装置 (FPH1-12708AC, Z-Max: Table 3-4) を設置し、高分子溶液の温度を 295 K に



## FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答

制御した。高分子溶液の溶媒として使用したトルエンは揮発性であるため、リン酸緩衝液を用いたソルベントトラップを設置した。また、トルエンの蒸気が飽和した状態で測定を行うために、測定前に回転ディスクを 2 時間運転した。蛍光画像は、回転ディスクを作動させてから、60 秒の露光時間で 1 分ごとに撮影した。

希薄溶液から順希薄溶液へと移り変わる際の濃度のしきい値を臨界重なり濃度と呼ぶ[14]。溶液の濃度の基準となる臨界重なり濃度 $c^*$ は、以下のようにして算出した。溶媒に対して溶質が良く溶ける場合は良溶媒と呼ばれ、ポリスチレン-トルエン系は良溶媒に分類される。良溶媒中のポリスチレンの平均二乗末端距離である Flory 半径 $R_F$ は、次のように計算した[14]。

$$R_F = bN^\nu \quad (25)$$

ここで、 $b$  は Kuhn のセグメント長であり、ポリスチレンの骨格がオールトランスコンフォーマルであると仮定して算出した長さ ( $b = 0.25$  nm) を採用した[42]。 $N$  はセグメント数であり、ポリスチレン分子の重合度として計算され、 $N \approx 337$  とした。また $\nu$  は膨潤指数であり、良溶媒の膨潤指数は、 $\nu = 0.588$ [43]である。良溶媒中の臨界重なり濃度 $c^*$ は、分子量 $M_w$ 、フローリー半径 $R_F$ 、アボガドロ定数 $N_A$ を用いて以下の式で表される[14]。

$$c^* = \frac{M_w}{N_A R_F^3} \quad (26)$$

これにより、トルエン溶媒中のポリスチレン ( $M_w = 35,000$ ) の臨界重なり濃度は、 $c^* = 0.13$  g/cm<sup>3</sup>と求まった。

また、臨界重なり濃度 $c^*$ は固有粘度 $[\eta]$ を用いると、以下のように表すことができる[44]。

$$c^* = \frac{2.5}{[\eta]} \quad (27)$$

## FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答

---

固有粘度 $[\eta]$ の分子量依存性は Mark-Houwink の式で表される.

$$[\eta] = KM^\alpha \quad (28)$$

ここで,  $K$ と $\alpha$ は Mark-Houwink パラメータであり, 高分子と溶媒間の系に依存し, ポリスチレン-トルエン溶液の場合,  $K = 0.00862, \alpha = 0.736$ となる[44]. 式(27)と(28)から算出された臨界重なり濃度は,  $c^* = 0.13 \text{ g/cm}^3$ となった.

計算に使用したポリスチレンの実測値が不明であり, それぞれの値を仮定する必要があるため, 臨界重なり濃度の計算には曖昧さがある. しかし, 2通りの計算方法による臨界重なり濃度の値は意外にもよく一致していた. 以下では, この臨界重なり濃度の値を基準にして濃度を算出した.

FRET 分子の濃度は, 異なる FRET 分子のドナー・アクセプター分子間において起こらないために, FRET 効率が 0.1%となる分子間の距離 $r$ 以内に異なる分子が存在しない濃度とした. 異なる FRET 分子間で FRET が起こらない最大濃度を求めるために, 半径 $R = R_g + r/2$ の密着球を考え, 面心立方格子の最密充填の場合で計算した. トルエン中の $M_w = 7,940$ のポリスチレンの回旋半径 $R_g$ は, 次式から $R_g = 2.8 \text{ nm}$ となった[45].

$$R_g = (0.0150)M_w^{0.583 \pm 0.022} \times 10^{-9} \text{ [m]} \quad (29)$$

また, FRET 効率が 0.1%となる距離 $r$ は, 式(20)から $r = 11.4 \text{ nm}$ となった. その結果, 最密充填時のモル濃度は  $4.8 \times 10^{-7} \text{ mol/ml}$  となり, これを FRET 分子の濃度の上限値とした.

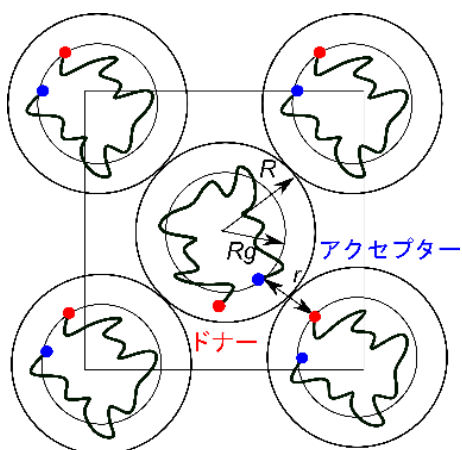


Fig. 3-15 FRET 分子の最密充填モデル

# FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答

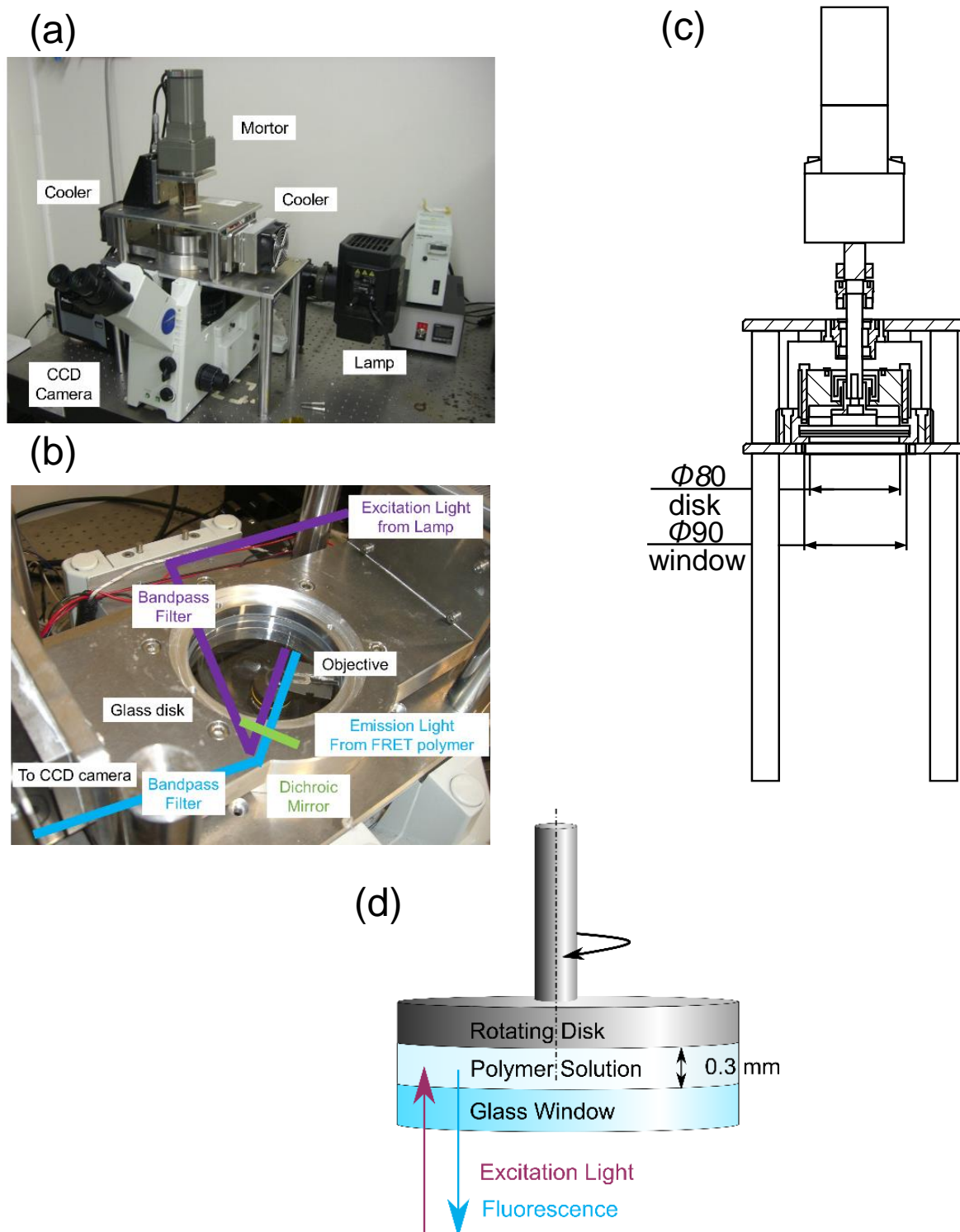


Fig. 3-16 実験装置の概略図: (a) 全体図, (b) 光学系, (c) 回転装置, (d) 回転装置の詳細図

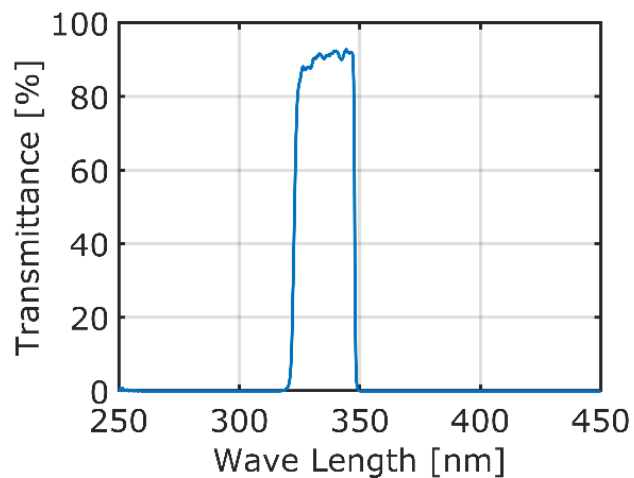


Fig. 3-17 長波長カットフィルター (FF01-336/19-25) の透過率[46]

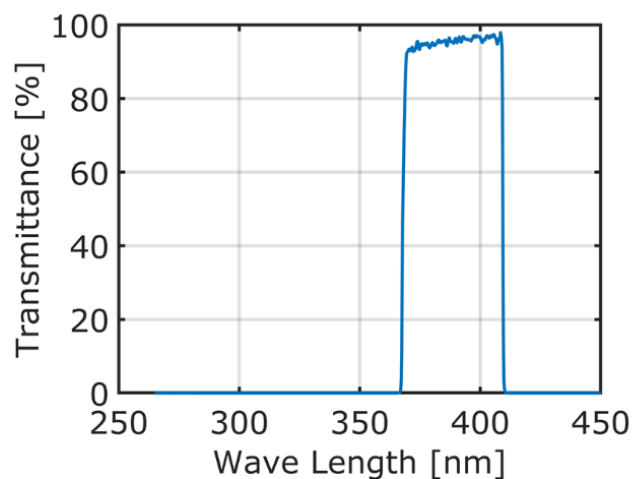


Fig. 3-18 ダイクロイックミラー (Di01-R355-25x36) の透過率[46]

Table 3-1 対物レンズの仕様[47]

型式	MPLFLN10x
メーカー	Olympus
倍率	10
NA	0.3
WD (mm)	11
浸液	空気

Table 3-2 EMCCD カメラの仕様[48]

型式	EM1024B
メーカー	Princeton Instruments
有効ピクセル	1024 × 1024
ピクセルサイズ	13 μm × 13 μm
EM ゲイン	1~1000
A/D コンバータ	16 bits
冷却方法	空冷 (-55 °C)

Table 3-3 モーターの仕様[49]

型式	NX940AS-PS5-1
メーカー	オリエンタルモーター
タイプ	PS ギヤード
定格出力	400 W
定格トルク	5.72 N·m
速度範囲	0~600 rpm
減速比	5

Table 3-4 冷却装置の仕様[50]

型式	FPH1-12708AC
メーカー	ジーマックス
冷却方式	ペルチェ
抵抗値	1.5 Ω
最大電流	8.5 A
最大電圧	15.7 V
最大吸熱量	85 W

### 3.3. 結果

Fig. 3-19 は、FRET が起こらないようにアクセプターが修飾されていないドナー分子のみが修飾された PS 分子で、 $333 \text{ s}^{-1}$  のせん断速度を印加し退色などによる影響による蛍光強度変化を示したグラフである。およそ 2 時間の計測で 1% の輝度値の低下が見られた。

Fig. 3-20 は、 $333 \text{ s}^{-1}$  のせん断速度を印加し  $0.35 \text{ c}^*$ ,  $0.71 \text{ c}^*$ ,  $1.41 \text{ c}^*$  の各濃度の高分子溶液中の FRET 分子の蛍光強度の時間変化を示したものである。蛍光強度は、各濃度におけるサンプル間の FRET 分子の濃度のばらつきを考慮して、回転ディスクの作動開始から 2 分後の初期蛍光強度  $I_0$  を用いて規格化した。 $0.35 \text{ c}^*$  と  $0.71 \text{ c}^*$  の高分子溶液では、時間の経過とともに蛍光強度が増加していく傾向が見られた。一方、 $1.41 \text{ c}^*$  の高分子溶液では、蛍光強度は時間経過によって減少する傾向を示した。これらの蛍光強度の変化は、FRET 効率の変化によるものと考えられ、つまり高分子溶液中の FRET 分子の末端間距離の変化と解釈することができる。蛍光強度の減少は高分子鎖の圧縮、増加は伸長をあらわしている。したがって、せん断力を加えると高分子溶液の濃度によって FRET 分子の伸長や圧縮の様子が観察される。しかし、臨界重なり濃度  $c^*$  の値には曖昧さがあるため、濃度によって高分子溶液の状態を正確に判断することはできない。

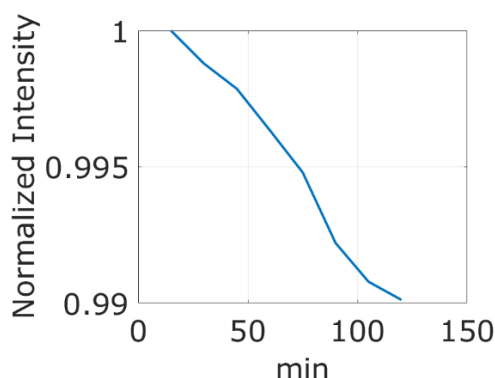


Fig. 3-19 アクセプターなし分子の蛍光強度変化（15min 時の輝度値で正規化）

## FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答

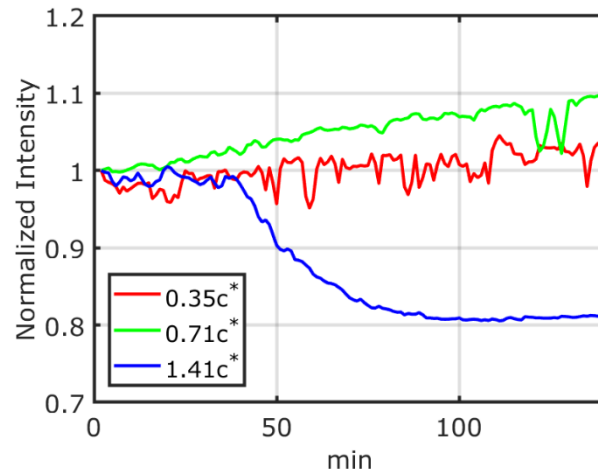


Fig. 3-20  $333 \text{ s}^{-1}$ のせん断印可された  $0.35 c^*$ ,  $0.71 c^*$ ,  $1.41 c^*$ の濃度の高分子溶液中の FRET 分子の規格化された蛍光強度の時間変化. 各曲線は 2 分後の蛍光強度で規格化した.

$1.41 c^*$ で FRET 分子の圧縮が見られた理由は、FRET 分子が周囲の高分子の存在によって制限されているためと考えられる. 一方、 $0.35 c^*$ と  $0.71 c^*$ で FRET 分子の伸長が見られた理由は、FRET 分子の周囲に自由に変形できる空間が存在するためと考えられる.

Fig. 3-20 では、 $0.35 c^*$ よりも  $0.71 c^*$ の方がせん断時の伸びが大きいことが示されているが、この理由は以下のように説明できる. せん断時の流体力学的な力は、ビーズスプリング・モデルによって次のように計算される[34].

$$f_{\text{hyd}}(R) = 6\pi\eta\dot{\gamma}R\sin 2\theta \quad (30)$$

ここで、 $\eta$  は半径  $x$  のビーズの粘度、 $\dot{\gamma}$  はせん断速度、 $R$  はビーズ間の距離、 $\theta$  はビーズがせん断方向に対してとる角度である[34].  $0.71 c^*$  の高分子溶液の粘度  $0.35 c^*$  の溶液よりも高いため、上式から、FRET 分子自体の流体力学的な影響は、 $0.71 c^*$  の方が  $0.35 c^*$  よりも大きいことがわかる. それに加えて、低濃度の高分子溶液では、せん断前の分子の末端間の距離が長くなるため[51]、濃度の



異なる溶液間では、末端間の距離の初期値が異なり、それが Fig. 3-20 の正規化された蛍光強度に影響を与えていると考えられる。

Fig. 3-20 の  $1.41 c^*$  から、この系の緩和時間は数十分オーダーであり、高分子鎖そのものの緩和時間よりもはるかに長いことがわかる。分子量  $200 \text{ kg/mol}$  の polymethyl methacrylate の最大緩和時間は、質量濃度 20% ( $3.3c^*$ ) で  $0.104 \text{ ms}$ , 28% ( $4.6c^*$ ) で  $0.207 \text{ ms}$  と報告されている[52]。また、せん断下で形成された hydroxy propyl guar gels の構造を原子間力顕微鏡で観察した研究では、"balling" と呼ばれる圧縮に伴う分子の再配列が報告されている[53]。この結果は、高分子鎖自体が圧縮されるだけでなく、せん断を加えることで "balling" のような高分子鎖単体レベルよりも大きな構造の変化が起こり、それが緩和時間を大きく増加させている可能性を示唆している[52]。

クエット流での同様の FRET 実験では、せん断を加えた直後に蛍光強度の低下が報告されているが[52]、本研究では、 $1.41 c^*$  の濃度の溶液でせん断を加えてから一定時間後に観察された蛍光強度の低下が見られた。また、蛍光強度の緩和時間も異なり、先行研究では約 10 分であったのに対し、本研究では約 60 分であった[52]。これらの違いは、測定条件の違いに由来すると考えられる。先行研究の実験では、せん断速度が  $616 \text{ s}^{-1}$  から  $1848 \text{ s}^{-1}$  と高かったのに対し、今回の実験ではモーター性能と高速回転時の冷却性能の問題によりせん断速度が  $333 \text{ s}^{-1}$  となったため、再配列に要する時間が以前の実験よりも長くなっていることがわかる。このことが、遅延時間と緩和時間の違いにつながっていると考えられる。

### 3.4. 結言

高分子鎖の変形はせん断流動の中で起こる。この変形の挙動は、高分子溶液の濃度に依存する。クエット流中の FRET 分子の蛍光強度を測定したところ、高分子溶液の濃度が異なると、高分子鎖の伸長と圧縮の異なる挙動が観察された。また、せん断力を加えたときの FRET 分子の蛍光強度の時間変化を測定することにも成功した。その結果、濃度によって異なる挙動が観察された。高分子溶液の濃度が高くなるにつれて、蛍光強度の増加は時間とともに減少する傾向に転じた。しかし、高分子溶液の臨界濃度の計算には大きな誤差があり、高分子溶液の状態については曖昧さが残っている。今後、より詳細な解析を行うためには、高分子の特性に関する詳細なデータが必要である。

高分子鎖の変形の時間変化を見ると、高分子鎖自体の緩和時間よりも大きなタイムスケールで変化していることがわかった。これは、せん断力を加えることで、高分子溶液中の分子が再配列されたためと考えられる。1.41  $c^*$  以外の濃度の場合においても、緩和時間の概念が適用できるはずであるが、本研究の計測時間内において輝度値が一定値に近づく様子が観測できなかった。溶媒の蒸発や溶液温度の維持の観点からこれ以上の長時間計測ができなかったが、より長時間の計測を行うことができれば輝度が一定値になる時間の観測ができ、その他の濃度においても緩和時間の適用ができるだろう。古典的な理論で予測される高分子鎖の伸長だけでなく、高分子鎖の圧縮も観察された。今後、同じ試料を用いて濃度を変えた実験を行うことで、せん断を受けたときの高分子鎖の挙動のメカニズムを解明することができるだろう。

---

第 4 章  
高分子硬化過程の SMT  
計測

---

### 4.1. 背景・目的

重合は、プラスチック、ゴム、繊維の製造などの工業的プロセスに広く利用されている。架橋ポリマーの重合プロセスを理解することは、高品質の高分子製品の製造や、その製造プロセスを最適化するために不可欠である。重合過程は、核磁気共鳴法[17]、動的散乱法[54]、サイズ排除クロマトグラフィー[55]など、さまざまな方法でよく調べられている。近年では、単一分子レベルに着目したポリマーネットワーク研究が注目されている[56–72]。多くの単一分子研究では、被験物質に添加されたプローブ分子を可視化して解析する。プローブ分子の動きを顕微鏡などにより直接観察する方法は、単一分子追跡法 (SMT) として知られている。SMT を用いることで、プローブ分子の周りの時空間環境を分子レベルで調べることができる。プローブ分子の運動性、動的な不均一構造、反応点やガラス転移温度などの、SMT から得られる分子レベルの詳細な情報は、ポリマーダイナミクス of 包括的な理解に必要不可欠である。そして、SMT は、物質科学や生命科学の分野で、ナノスケールの不均一性を調べるために応用されている[56–61]。高分子科学の分野では、SMT は、重合[62–64]、ガラス転移温度近傍でのポリマーダイナミクス[65–68]、個々の高分子鎖のコンフォメーション/レピュテーション[69,70]、ハイドロゲルの構造解析[73]、ブロック共重合体モノリス中のマイクロドメイン[74,75]、伸長したポリマーフィルムの粘弾性特性[76]、高分子の界面ダイナミクス[77]などの研究に用いられている。重合の研究では、SMT は、ラジカル重合中のスチレンネットワークにおける拡散の研究[62]、光硬化性材料[63]、メタクリル酸メチル溶液の重合[64]などに応用されている。

本研究では、マイクロ流体デバイスのソフトリソグラフィ[78]やナノインプリントリソグラフィに用いられるポリジメチルシロキサン (PDMS) 材料としてよく知られている Sylgard 184 に着目した。Sylgard 184 は、液状の母剤と液状の硬化剤で構成されている。液体の母材と硬化剤を混合することで、鎖の架橋反応により PDMS 層が硬化する。均質性と再現性の高い PDMS 微細構造を構築するためには、硬化過程における PDMS 層の均質性、不均質性を調べることが重要である。走査電子顕微鏡 (SEM) や原子間力顕微鏡 (AFM) の観察結果から、エポキシ[79–81]、ポリウレタン、ポリエステル、フェノール、アミノ樹脂などの架橋ポリマー[82,83]では、不均質な構造が認められた。直径約 10 nm の高度に架橋されたマイクロゲル粒子が主な微細構造の特徴であり、より大きな構造 (最大で 70  $\mu\text{m}$  まで) はこれらの粒子の凝集であると考えられている[80,84]。また、PDMS 層にバイモーダルなネットワーク構造が存在することが報告されている[85]。本研究では、分子拡散の観点から PDMS 層の微細構造を調査する。次に、蛍光色素を PDMS 層に添加し、SMT 法を用いた硬化プロセスにおける PDMS 層内の蛍光色素の拡散運動を観察する。時間平均およびアンサンブル平均の平均二乗変位 (MSD) を解析する。また、色素分子の拡散運動を抽出するために、各軌跡のモーメント・スケーリング・スペクトル (MSS) の傾きを調べる。さらに、MSS スロープのヒートマップで認識されるクラスター構造の相関長を計算し、考察を行う。

## 4.2. 実験手法

### 4.2.1. サンプルの準備

プローブ分子として、PTCDI-C5 (N, N-Dipentyl-3,4,9,10-perylenedicarboxim, Sigma-Aldrich, 励起波長 488 nm, 発光波長 566 nm) 分子をプローブ分子とし

て採用し、硬化過程における PDMS (poly(dimethylsiloxane), Sylgard 184, Dow Corning Toray) 層内の拡散運動の調査を行う。ベースとなるエラストマーの粘度は 5000 cP (5 Pa·s) [86], ベースと硬化剤の混合物の粘度は 3500 cP (3.5 Pa·s) [86]である。濃度  $5.0 \times 10^{-9}$  M の PTCDI-C5 のトルエン溶液 (関東化学) を, PDMS のベースとなるエラストマーに 1 : 3 の質量比で混合した。その後, このサンプル溶液を 48 時間以上真空引きし, トルエンを除去した。この極低濃度の PTCDI-C5 を添加したベースエラストマーと PDMS の硬化剤を 10 : 1 の質量比で混合した。得られたサンプル溶液を, 直径 10 mm, 深さ 0.5 mm の穴が空けられたシリコンゴムセルに入れた。セルの底面およびカバープレートには, プラズマアッシャー (JPA300, J-Science Lab) で洗浄したガラス板 (カバーガラス, 厚さ No.1, 松浪硝子) を用いた。

### 4.2.2. SMT

PTCDI-C5 分子に, 波長 488 nm の固体レーザー (OBIS488LS, Coherent) を照射した。PTCDI-C5 のストークス半径に基づいた流体力学的体積は  $\sim 1 \text{ nm}^3$  と推定される。これは, ホスト材料の不均質性を報告するのに十分な大きさである [67,87–89]。Fig. 4-1 に SMT の実験装置を示す。PTCDI-C5 分子の発光は, 対物レンズ (UPlanSApo100XOIL, 100x, N.A 1.4, 油浸, Olympus) と 1.2x のズームレンズを備えた倒立蛍光顕微鏡 (IX-73, Olympus: Table 4-2) に取り付けられたコンフォーカルスキャナーユニット (CSU-X1, 横川電機) と EM-CCD カメラ (ImagEM X2, C9100-23B, 浜松ホトニクス: Table 4-3) によって撮影された。励起光と迷光を除去するために, ダイクロイックミラー (Di01-T488, Semrock: Fig. 4-2) とバンドパスフィルター (FF01-565/133-25, Semrock: Fig. 4-3) を使用

## 高分子硬化過程の SMT 計測

した。SMT 測定は、PDMS のベースエラストマーに硬化剤を混合してから 30 分ごとに行った。

Table 4-1 レーザーの仕様[90]

型式	OBIS488LS
メーカー	Coherent
出力波長	488±5 nm
出力	50, 150 mW
ビーム径	0.7±0.05 mm
ビーム拡がり角	< 1.2 mrad
出力安定性	< 2 %

Table 4-2 顕微鏡の仕様[91]

型式	IX-73
メーカー	Olympus
照明方式	落射蛍光照明
顕微鏡	倒立

Table 4-3 EMCCD カメラの仕様[92]

型式	C9100-23B
メーカー	浜松ホトニクス
有効ピクセル	512 × 512
ピクセルサイズ	16 μm × 16 μm
EM ゲイン	4~1200
A/D コンバータ	16 bits
冷却方法	水冷 (-80 °C)

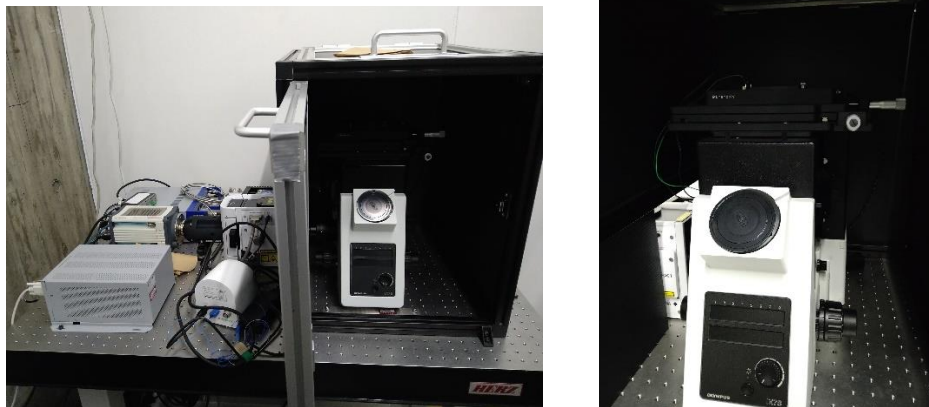


Fig. 4-1 SMT 実験装置 (左) と顕微鏡 (右)

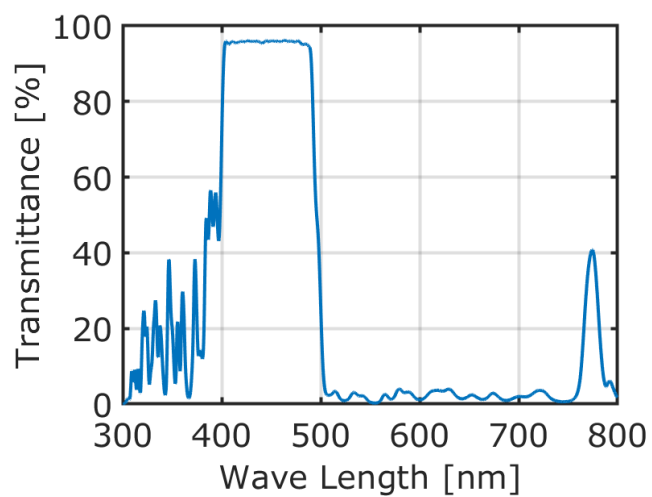


Fig. 4-2 ダイクロイックミラー (Di01-T488) の透過率[46]

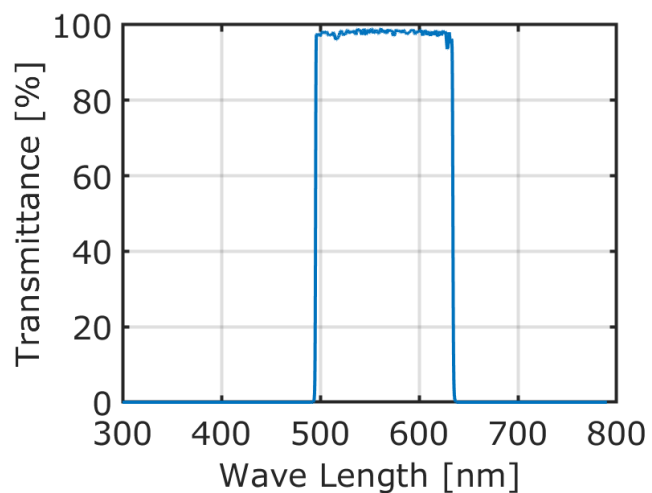


Fig. 4-3 バンドパスフィルター (FF01-565/133-25) の透過率[46]



## 高分子硬化過程の SMT 計測

各 SMT 測定では、カメラの露光時間を 0.1 秒 (10 fps) として 500 枚の蛍光画像を撮影した。さらに、表面付近での分子の拡散が妨げられる現象[93,94]を避けるために、ピエゾアクチュエーター (P-725K, Physik Instrumente) を用いて、焦点面を底面の上部に設置した。また、PDMS 試料の架橋反応を活性化するため、ペルチェ素子 (TPi-110RH26, 東海ヒット) を用いて試料の温度を 308K に保った。

PTCDI-C5 分子の検出と追跡は、ImageJ Fiji (ver. 1.51s) [95]のプラグインソフトウェアである ParticleTracker [96–98]を用いて解析した。解析では、ParticleTracker のパラメータを Table 4-4 のように設定した。

Table 4-4 Particle Tracker のパラメータ

Radius	2
Cutoff	0.001
Displacement	2
Link range	1

ここで、Radius は画像中の分子のおおよその半径をピクセル単位で表し、Cutoff は非粒子識別のためのスコアカットオフ、Displacement は後続の 2 つのフレーム間で分子が移動できる最大のピクセル数、Link range は最適な対応付けを決定するために考慮する後続フレームの数である。これらのパラメータの詳細については、ParticleTracker のチュートリアル[96]で説明されている。

PTCDI-C5 分子の拡散係数は、分子の運動の軌跡から計算した[98]。ベイズ解析法も提案されているが[99–102]、ここでは単純に平均二乗変位 (MSD) を考慮した。文献[103]にしたがって、時間平均とアンサンブル平均の MSD を考え、それらを比較する。アンサンブル平均化された MSD は次のように定義される。

$$MSD(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |\mathbf{X}_i(t) - \mathbf{X}_i(0)|^2 \quad (31)$$

ここで $|\mathbf{X}|$ はユークリッドノルムを表し、 $\mathbf{X}_i(t)$ は時刻 $t$ における $i$ 番目のプローブ分子の位置ベクトルである。また、 $N$ はプローブ分子の総数である。個々の時間平均 MSD は、下記のように計算される。

$$\delta_i^2(\tau) = \frac{1}{T-\tau} \sum_{t=0}^{T-\tau-1} |\mathbf{X}_i(t+\tau) - \mathbf{X}_i(t)|^2 \quad (32)$$

ここで、ラグタイム $\tau$ はトレース長( $\tau < T$ )よりも小さい。また個々の時間平均された MSD のアンサンブル平均は、下記のように計算される。

$$\langle \delta^2(\tau) \rangle = N^{-1} \sum_{i=1}^N \delta_i^2(\tau) \quad (33)$$

また個々の時間平均された MSD は、個々のプローブ分子の拡散係数 $D_i$ と、スケーリング指数 $\gamma$ を用いて以下のように表される。

$$\delta_i^2(\tau) = 4D_i\tau^\gamma \quad (34)$$

ここで式(34)の両辺の対数をとると、下式が得られる。

$$\log \delta_i^2(\tau) = \gamma \log \tau + \log 4D_i \quad (35)$$

次に、個々のプローブ分子の拡散係数 $D_i$ を以下の式から算出する[97]。

$$D_i = \frac{1}{4} \exp\{y_i(0)\} \quad (36)$$

ここで、 $y_i(0)$ は  $\log \delta_i^2(\tau)$  vs  $\log \tau$  のプロットにおける線形最小二乗回帰の $y$ 切片である。 $y_0$ の計算では ( $\tau = 1, 2, 3, \dots, T/3$ ) の範囲の  $\delta_i^2(\tau)$  のみを計算に用いた。式(31)の平均化に用いるデータ量は、ステップ数 $\Delta n$ が大きいと減少し、結果的により大きな分散を持つ MSD となる。線形近似と拡散係数の計算には少なくとも 2 点が必要なため、解析では 6 ステップ以上の軌跡のみを考慮した。Einstein-Stokes 方程式によれば、PDMS 層の局所的な粘性は拡散係数に反比例する。

また、モーメント・スケーリング・スペクトル (MSS) [97,98]も考える. ここで $m$ 番目のプローブ分子の変位モーメントは $\delta_i^m(\tau) \sim \tau^\nu$ で示されるタイムラグに依存する. MSS は, タイムラグの各指数 $\nu$ に対し $m$ 次の変位モーメントのグラフをプロットしたものであり, MSS の傾き $S$ は, プローブ分子の運動の良い指標となる[97]: ここで $S = 1/2$ は通常の拡散,  $0 < S < 1/2$ は分子の運動が局所的に妨げられるような遅い拡散,  $1/2 < S < 1$ は局所的な流れを含みジャンプ運動などを行っている速い拡散,  $S = 1$ は弾道運動を示す.

### 4.3. 結果

#### 4.3.1. 平均二乗変位

時間平均とアンサンブル平均の MSD を比較検討する. アンサンブル平均した MSD, 個々の時間平均 MSD  $\delta_i^2(\tau)$ , および個々の時間平均 MSD のアンサンブル平均  $\langle \delta^2(\tau) \rangle$ を Fig. 4-4 に示す. 時間またはタイムラグの指数は, 時間が経過するにつれて減少した. 例えば, 硬化剤投入から 90 分後のタイムラグの指数は 0.93 で, 1 に近く, 正常な拡散を示している. 一方, 900 分後の $\langle \delta^2(\tau) \rangle$ のタイムラグの指数は 0.18 で, 分子が閉じ込められた領域で拡散していることを示している.

個々の時間平均した MSD のアンサンブル平均 $\langle \delta^2(\tau) \rangle$ とアンサンブル平均 MSD( $t$ )との間の不一致は, 弱いエルゴード性の破れを示していると考えられる [73,103–105]. この現象は, 通常の拡散している状態では見られず, 閉じ込められた拡散などの異常な拡散でのみ見られる. しかし, 今回の実験では粒子の追跡時間が限られているため, 追跡時間を長くすることで, この不一致を解消できる可能性がある.

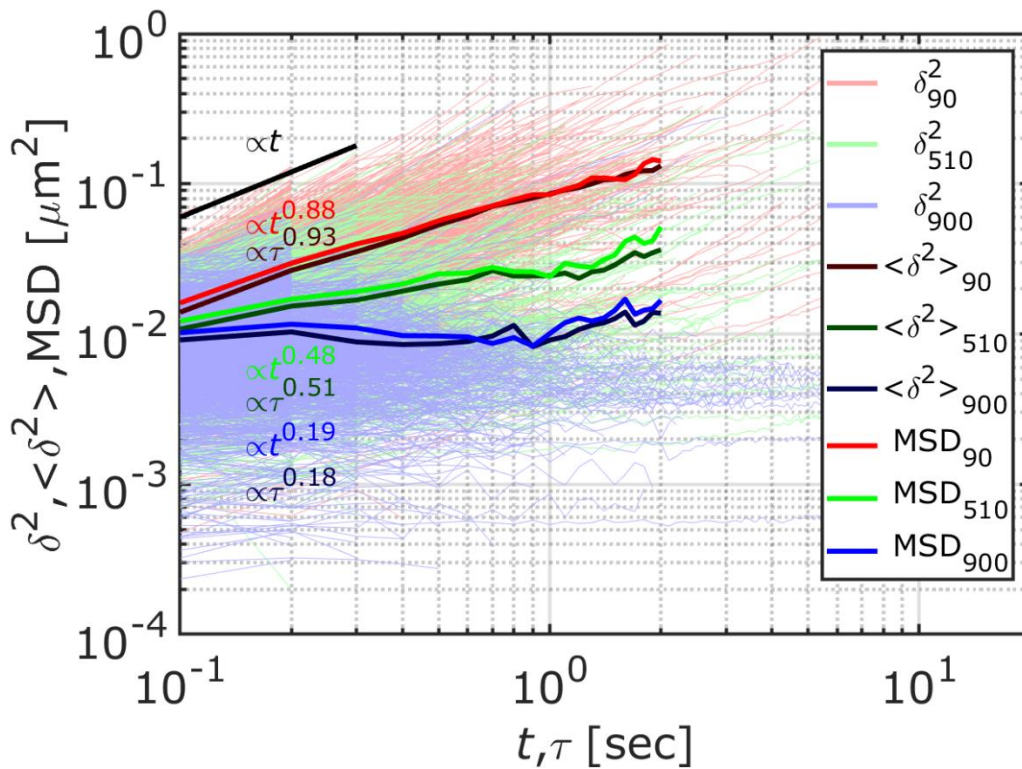


Fig. 4-4 (ラグ) タイム  $t, \tau$  に対して時間およびアンサンブル平均した MSD. 薄い赤色の曲線, 薄い緑色の曲線, 薄い青色の曲線はそれぞれ 90 分後 (2039 個), 510 分後 (1250 個), 900 分後 (1370 個) の  $\delta_i^2(\tau)$ . それぞれの曲線は全体の分布を示すために透明化している. 暗赤色, 暗緑色, 暗青色の曲線は 90 分後, 510 分後, 900 分後の  $\langle \delta^2(\tau) \rangle$ . 赤, 緑, 青の曲線はそれぞれ 90 分, 510 分, 900 分後の  $MSD(t)$ . 図中のタイムラグの指数は各曲線の初期部分をもとに算出されている. 黒線は  $MSD(t) \propto t$  で表される正常な拡散の場合.

### 4.3.2. 拡散係数分布

Fig. 4-5 は, 硬化剤を添加してから 90 分, 510 分, 900 分後の PTCDI-C5 分子の軌跡とその拡散係数 (a-c) および MSS の傾き (d-f) を示したものである. 観察された画像の領域は  $68.1 \mu\text{m} \times 68.1 \mu\text{m}$  である. Fig. 4-5(g) と (h) はそれぞれ, 90 分後の  $S = 0.5$  (通常の拡散) と  $S = 0.1$  (閉じ込められた拡散) の典型的な軌跡

## 高分子硬化過程の SMT 計測

を示している. Fig. 4-5(a-c)に示すように, 相対的に拡散係数の高い軌跡の数は減少した. Fig. 4-5(e,f)は Fig. 4-5(d)と比較して, 時間の経過とともに閉じ込められた拡散 ( $0 < S < 1/2$ ) をしている分子の数が増加している. Fig. 4-5(b),(c),(e),(f)に示すように, 相対的に拡散係数と MSS の傾きが大きい軌跡が認められる. この結果は, 硬化した PDMS 層に不均一な環境が存在することを示している.

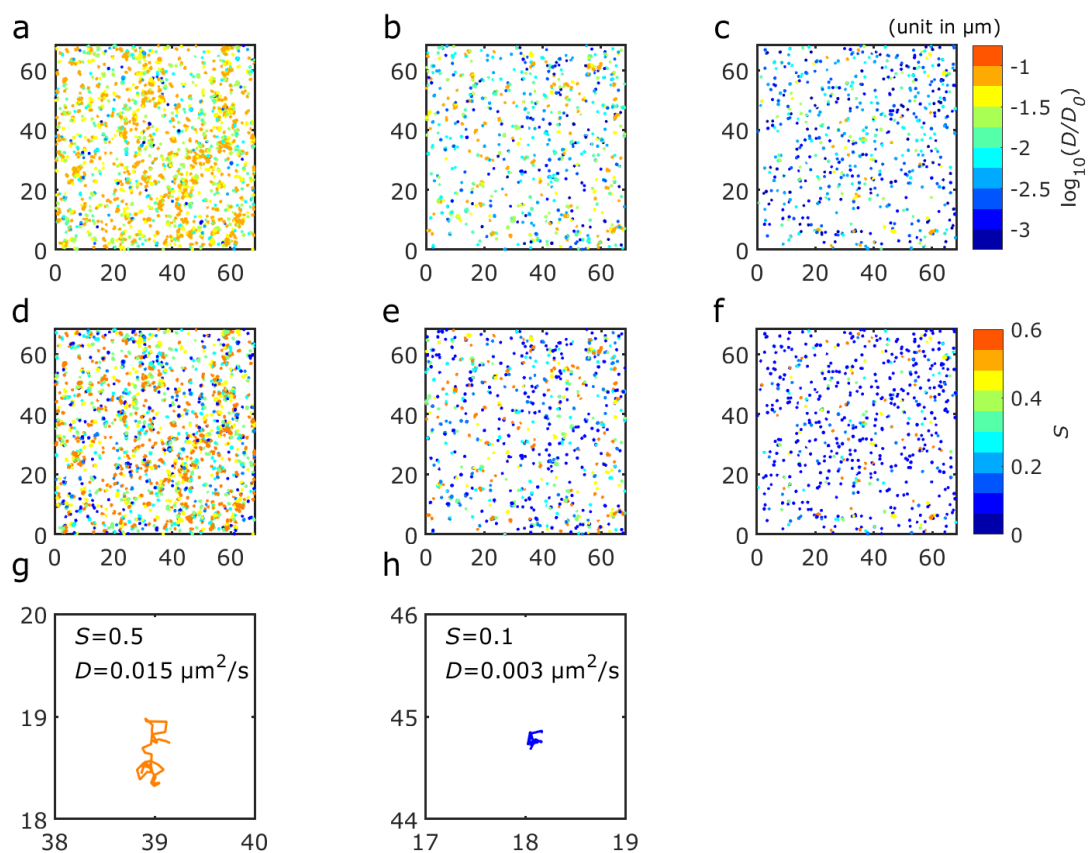


Fig. 4-5 硬化剤を添加してから(a)90分後, (b)510分後, (c)900分後のPDMS層内のPTCDI-C5分子の軌跡の典型的な画像. 軌跡の色は拡散係数を示す. 拡散係数は,  $D_0 = 1.0 \mu\text{m}^2/\text{s}$ で正規化されている. (d)90分, (e)510分, (f)900分の時点における, MSSの傾きがカレースケールで示された軌跡. 90分後で観察された(g)通常拡散 $S = 0.5$ , (h)分子周囲が閉じ込められた $S = 0.1$ を示す典型的な軌跡.

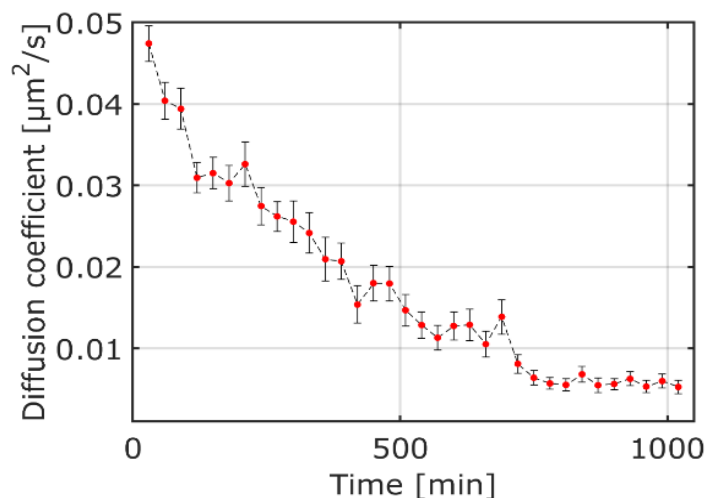


Fig. 4-6 硬化剤添加後から 30 分ごとに PDMS 層内で観測された PTCDI-C5 分子の平均拡散係数の時間変化. 拡散係数は,  $D_0 = 1.0 \mu\text{m}^2/\text{s}$  で正規化した.

Fig. 4-6 は, 硬化剤投入から各時間経過後において観測された分子の拡散係数のアンサンブル平均を示しており, エラーバーは標準誤差を示している. Fig. 4-5 に示すように, 観察されたほとんどの PTCDI-C5 分子の拡散係数は, 時間の経過とともに減少している. 拡散係数は粘度に反比例するため, この結果は PDMS 層の硬化が時間の進行とともに進んでいることを示している. また, Einstein-Stokes 方程式から推定される粘度は粘度計によるカタログ値の約 1.5 倍であり, 妥当な値であると考えられる (ベースと硬化剤の混合物の場合). Fig. 4-6 に示すように, 平均拡散係数が 750 分後程度までは急激に減少し, それ以降はわずかに拡散係数が減少するという 2 つのパターンの硬化過程が観察された. 急激な減少は, モノマー間で架橋反応が生じながら硬化していく過程を示していることが考えられる. 一方で拡散係数がわずかに減少していく過程は, 高分子間のネットワークを形成した後, PDMS の架橋密度が高まることにより, PDMS が硬くなることを示唆している. この考察は, 750 分以後にエラーバーが小さくなったことから裏付けられる.

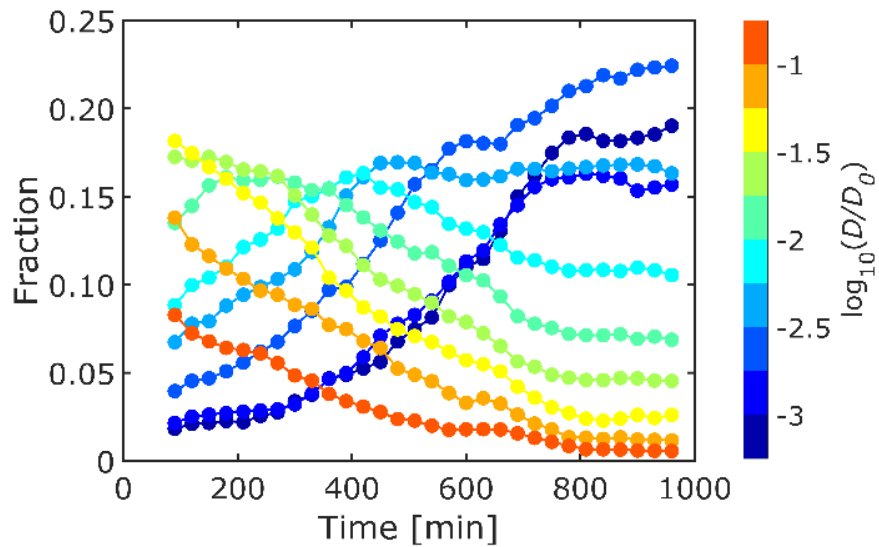


Fig. 4-7 硬化剤を添加してから 30 分経過するごとに、拡散係数で分類した PTCDI-C5 分子の割合の時間変化. 拡散係数は  $D_0 = 1.0 \mu\text{m}^2/\text{s}$  の値で正規化した.

Fig. 4-7 は、各時刻に観測された PTCDI-C5 分子の拡散係数の割合の時間経過を示したものである. Fig. 4-7, Fig. 4-5 に示すように、各時間において異なる拡散係数を持つ PTCDI-C5 分子が観察面内で観察され、PDMS 層の内部に様々な粘性を持つ不均一な構造が少なくとも分子スケールで存在していることがわかる. 750 分後には、各拡散係数の割合の変化は安定している. この結果は、Fig. 4-6 の 750 分以後で見られた平均拡散係数の減少幅がわずかなことと一致している.

Fig. 4-8 は、硬化剤投入から 90 分、510 分、900 分後で観測された PTCDI-C5 分子の MSS の傾きのヒストグラムである. 90 分後では、MSS の傾きの分布はおよそ  $S = 1/2$  のあたりにピークを持っている. これは、90 分後では観察された多くの分子が通常拡散をしていることを示しており、PDMS 層が均一な構造を持っていることを示唆している. 510 分、900 分後になると、 $S = 0$  または  $0 <$

$S < 1/2$  付近の値を持つ分子の割合が増えてきた。  $S = 0$  の値を持つ分子は静止した状態を、  $0 < S < 1/2$  の値を持つ分子は閉じ込められた領域内部での拡散運動を示している。 その一方で、  $S = 1/2$  付近の値を持つ正常な拡散運動をする分子も同時に存在している。 PDMS 層は一時的・永久的に閉じ込められた（ケージ）状態の拡散する分子と通常の拡散できる運動環境が混ざり合った不均一な構造となったことを示唆している。

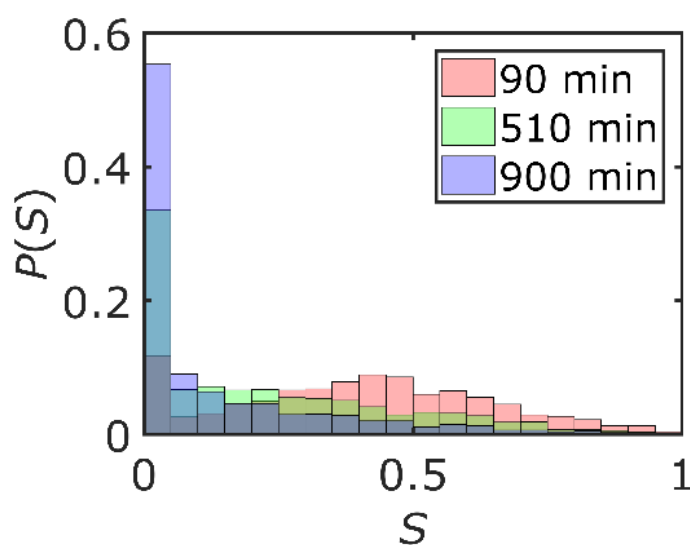


Fig. 4-8 90 分後、510 分後、900 分後に観測された PTCDI-C5 分子の MSS のヒストグラム.  $P(S)$  は確率密度.

### 4.3.3. ヒートマップ

Fig. 4-9 は、PDMS 層における MSS の傾きの分布を可視化したヒートマップである。まず、顕微鏡で観察された画像の全域に正方形のメッシュ（500 nm×500 nm）を生成した。そして、各分子の軌跡の重心座標とそれぞれの分子の MSS の傾きのデータを方程式に当てはめ、各メッシュでの値を補間した。サンプル量の増加のために前後 2 時刻を含めた計 5 時刻分の軌跡データセットを用いて、各時刻のヒートマップ画像を構築した。この計算には、MATLAB の



griddata 関数を用いた。griddata 関数は  $vq = \text{griddata}(x, y, v, xq, yq)$  の形で表され、 $(xq, yq)$  で指定された格子グリッド状のクエリ点に  $v = f(x, y)$  の表面を内挿し、内挿された値  $vq$  を返すことで、ベクトル  $(x, y, v)$  内の散布データを近似する[106].

Fig. 4-9 に示すように、MSS の傾きも Fig. 4-5 と同様に時間の経過とともに減少していくことがみられる。また、各ヒートマップ画像中には、同じような MSS の傾きを持っている領域が連なっているクラスターのような構造が点在している様子が観察される。ヒートマップ画像中のクラスターの大きさを評価するために、以下のように空間自己相関関数を計算した[107].

$$C(\delta r) = \frac{\langle S(\mathbf{r})S(\mathbf{r} + \delta \mathbf{r}) \rangle}{\langle S(\mathbf{r}) \rangle^2} \quad (37)$$

ここで  $C(\delta r)$  は、距離  $\delta r = |\delta \mathbf{r}|$  による空間相関値であり、 $S(\mathbf{r})$  はヒートマップの位置ベクトル  $\mathbf{r}$  の 2 次元メッシュグリッドに格納されている MSS 勾配である。

Fig. 4-10 は、硬化剤投入の 90 分後から 930 分後までを 60 分間隔でのヒートマップの空間相関を示したものである。いずれの時間においても相関値は距離の増加とともに減少している。経過時間が 330 分未満の相関は 0.7 程度まで減衰しており、長距離秩序を持っていることを示している。これは、330 分未満の経過時間では、比較的小さい繰り返しのクラスター構造（約  $2 \mu\text{m}$ ）が存在していることを意味する。一方、750 分以降の経過時間の相関は、それぞれの相関曲線が互いに類似したものになっており、その相関値も約 0.5 と比較的小さな値へと減衰している。この結果は、硬化剤投入からの経過時間が 750 分以上になると、比較的大きなクラスターが観測されることを示している。これらは Fig. 4-9 でみられる傾向と一致している。また、この 750 分という時間は、Fig. 4-6 に示した平均拡散係数の急激な減少を示す傾向からわずかな減少を示す傾向に変化した時刻とも一致している。

## 高分子硬化過程の SMT 計測

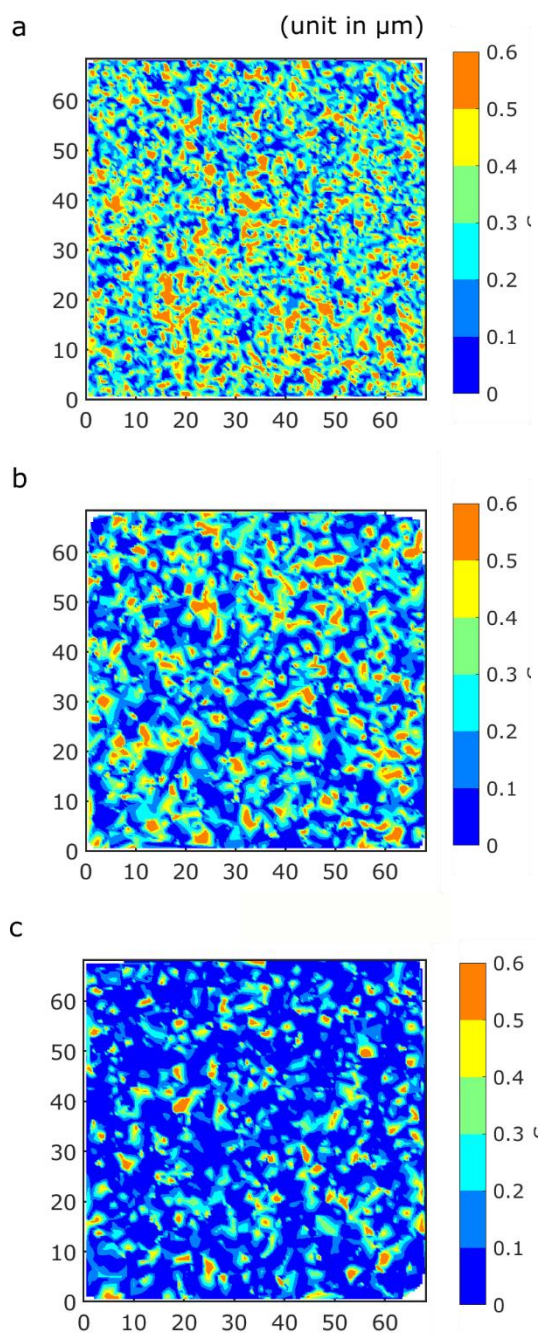


Fig. 4-9 硬化剤投入から(a)90分, (b)510分, (c)900分後における MSS の傾き分布を示す典型的なヒートマップ. 白い部分 (例: (c)の右下) は, 軌跡がないために MSS データがない場所.

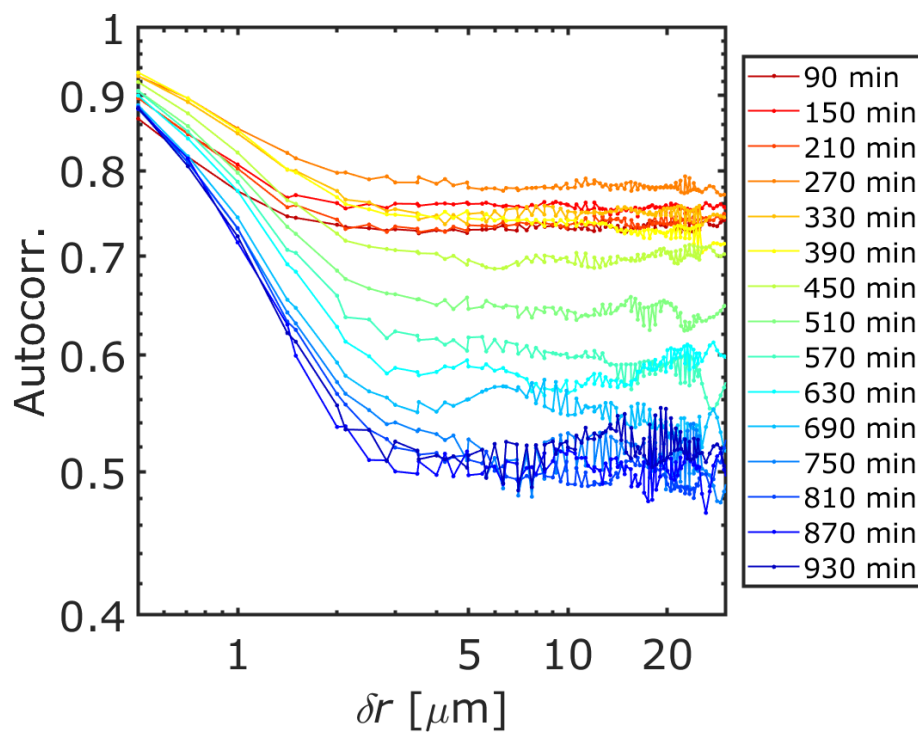


Fig. 4-10 硬化剤投入から 90-930 分後のヒートマップにおける空間相関値.

### 4.4. 結言

PTCDI-C5(N,N'-Dipentyl-3,4,9,10-perylenedicarboxim)をプローブ分子として用い、PDMS(poly(dimethylsiloxane))層の硬化過程を SMT(single-molecule tracking)法を用いて調査した。時間平均の MSD  $\delta_i^2(\tau)$ とそのアンサンブル平均の MSD  $\langle\delta^2(\tau)\rangle$ を比較したところ、弱いエルゴード性の破れが確認された。このような弱いエルゴード性の破れは、ハイドロゲル[73]や細胞[103,104]を対象とした先行研究でも観察されている。硬化剤を添加してから 90 分後での PDMS 層で観察された分子では主に通常の拡散運動、900 分後の PDMS 層では閉じ込められた領域内での拡散運動という異なる拡散運動の挙動を示した。観察された分子の拡散係数の平均値は、時間発展に対して急速な減少と緩慢な減少の 2 段階で減少が進行した。急速な減少は、主に硬化剤投入によりモノマー間での架橋が進行していることを示している。緩慢な減少は、PDMS の架橋密度が高まりポリマー間の架橋が進展していることを示している。また、硬化剤投入からの一定時間経過後の各計測において、不均一な拡散係数分布が観察された。これらの結果は、硬化剤を添加した後の PDMS 層には分子の運動環境が異なるような不均質な環境が存在することを示している。スチレンの重合反応においても、分子の不均一な運動が観察されている[62]。さらに、モーメント・スクエーリング・スペクトル (MSS) を用いて個々の分子の拡散運動を解析した。硬化剤投入 90 分後には、観察されたほとんどの分子が正常な拡散を示した。一方、900 分後には、ほとんどの分子が静止した、あるいは閉じ込められた領域内での拡散を示した。そして、MSS の傾きのヒートマップを構築し、各時間経過後でのヒートマップ中に類似した運動環境を持つクラスターのような構造がみられた。ヒートマップ中に現れるクラスター構造の大きさを評価するために、空間相関を計算した。比較的小さい繰り返しのクラスター構造 (約 2  $\mu\text{m}$ ) が

90 分後のヒートマップ画像中に見られた。一方, 900 分後のヒートマップ画像中には比較的大きなサイズのクラスター領域が観察された。これらの結果は, 基となるマイクロゲルの存在とそのマイクロゲルの凝集が硬化層につながることを示す先行研究[80,84]と一致している。

総括

---

---

第 5 章  
総括

---

## 総括

---

第 1 章では、本研究の背景を述べるとともに、高分子溶液に物性計測に関連する計測手法や先行研究について述べ、本研究の意義、位置付けを明らかにした。

第 2 章では、蛍光計測の原理、特徴について説明した。概要は以下の通りである。

1. 蛍光の基本原理について述べ、蛍光の励起過程及び発光過程について詳しく述べた。
2. 蛍光計測で重要となる光の回折及び測定の分解能となる回折限界について述べた。また回折によって作られるスクリーン上の光の振幅分布及び強度分布について示した。さらにレンズを用いたフーリエ変換やレンズに形成されるエアリーディスクの大きさ、レンズの分解能となる開口数について詳しく説明した。
3. 蛍光の励起・発光過程で見られるストークスシフトと光学フィルターを用いた計測における分光について詳しく説明した。

第 3 章では、FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答実験を行った。概要は以下の通りである。

1. クエット流中の FRET 分子の蛍光強度を測定したところ、高分子溶液の濃度が異なると、高分子鎖の伸長と圧縮の異なる挙動が観察された。高分子溶液の濃度が高くなるにつれて、蛍光強度の増加は時間とともに減少する傾向に転じた。
2. 高分子鎖の変形の時間変化を見ると、高分子鎖自体の緩和時間よりも大きなタイムスケールで変化していることが示された。これは、せん断力

を加えることで、高分子溶液中の分子が再配列されたためと考えられる。古典的な理論で予測される高分子鎖の伸長だけでなく、高分子鎖の圧縮も観察された。

第4章では、PDMS膜の硬化過程のSMT計測実験を行った。概要は以下の通りである。

1. PTCDI-C5(N,N'-Dipentyl-3,4,9,10-perylenedicarboxim)をプローブ分子として用い、PDMS(poly(dimethylsiloxane))層の硬化過程をSMT(single-molecule tracking)法を用いて調査した。時間平均のMSD  $\delta_i^2(\tau)$ とそのアンサンブル平均のMSD  $\langle \delta^2(\tau) \rangle$ を比較したところ、弱いエルゴード性の破れが確認された。硬化剤を添加してから90分後でのPDMS層で観察された分子では主に通常の拡散運動、900分後のPDMS層では閉じ込められた領域内での拡散運動という異なる拡散運動の挙動を示した。
2. 観察された分子の拡散係数の平均値は、時間発展に対して急速な減少と緩慢な減少の2段階で減少が進行した。急速な減少は、主に硬化剤投入によりモノマー間での架橋が進行していることを示している。緩慢な減少は、PDMSの架橋密度が高まりポリマー間の架橋が進展していることを示している。
3. モーメント・スケーリング・スペクトル(MSS)を用いて個々の分子の拡散運動を解析した。硬化剤投入90分後には、観察されたほとんどの分子が正常な拡散を示した。一方、900分後には、ほとんどの分子が静止した、あるいは閉じ込められた領域内での拡散挙動を示した。
4. MSSの傾きの分布を示すヒートマップを構築し、類似した運動環境を持つクラスターのような構造がみられた。ヒートマップ中の空間相関を計



## 総括

---

算したところ比較的小さい繰り返しのクラスター構造（約 2  $\mu\text{m}$ ）が 90 分後のヒートマップ画像中で見られた。一方、900 分後のヒートマップ画像中には比較的大きなサイズのクラスター領域が観察された。これらの結果は、基となるマイクロゲルの存在とそのマイクロゲルの凝集が硬化層につながることを示す。

本研究では、蛍光分子測定による高分子溶液の物性計測として、FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答及び高分子硬化過程における SMT 計測を行った。FRET 分子を用いた高分子溶液のせん断応答では、高分子溶液の濃度によって分子鎖単位での伸長または圧縮が時間発展とともに生じることが明らかになり、高分子溶液の流動状態における分子鎖レベルの知見を得た。また、SMT 計測による高分子膜の硬化過程計測では、分子レベルの様々な粘性を同時に有するような不均一な環境とともに、硬化が進行していく様子が明らかになり、高分子溶液の硬化過程における分子レベルの内部環境に関する知見を得た。これらにより、高分子溶液の硬化で見られる流動状態から硬化過程までの一連の流れに関する知見の獲得及び物性計測手法の実証を行うことができた。FRET 分子のせん断応答では、蛍光寿命の計測を用いることで、分子鎖の末端間距離に関する定量的な議論ができるようになると同時に、本研究では明らかにならなかった濃度ごとの溶液状態も明確になることが考えられる。高分子膜の硬化の SMT 計測においては、～100 時間までの長時間の計測や観察面の 3 次元位置の変更を駆使した観察などが行うことができれば、硬化過程における分子レベルでのより詳細な情報が獲得できることが考えられる。これらを行うことにより、高分子硬化のさらなる理解につながり、高分子製品の高品質化や製造プロセスの最適化に非常に重要な情報がもたらされるであろう。

# 参考文献

1. Plastics - the Facts 2020 • Plastics Europe. *Plastics Europe*.
2. Global Plastic Production 1950-2020 Available online:  
<https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950/> (accessed on 14 November 2021).
3. Staudinger, H. Über Polymerisation. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)* **1920**, 53, 1073–1085,  
doi:10.1002/cber.19200530627.
4. 井上祥平 高分子研究のこれまで・いま・これから. *Kobunshi* **2001**, 50, 10–26, doi:10.1295/kobunshi.50.10.
5. Weber, W. Ueber Die Elasticität Der Seidenfäden. *Ann. Phys. Chem.* **1835**, 34, 247–257.
6. Weber, W. Ueber Die Elasticität Fester Körper. *Ann. Phys. Chem.* **1841**, 54, 1–18.
7. Maxwell, J.C. IV. On the Dynamical Theory of Gases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1867**, 157, 49–88,  
doi:10.1098/rstl.1867.0004.
8. Flory, P.J. Thermodynamics of High Polymer Solutions. *The Journal of Chemical Physics* **2004**, 10, 51, doi:10.1063/1.1723621.
9. Huggins, M.L. Some Properties of Solutions of Long-Chain Compounds. *J. Phys. Chem.* **1942**, 46, 151–158, doi:10.1021/j150415a018.

10. Flory, P.J.; Rehner, J. Statistical Mechanics of Cross-Linked Polymer Networks I. Rubberlike Elasticity. *J. Chem. Phys.* **1943**, *11*, 512–520, doi:10.1063/1.1723791.
11. Kirkwood, J.G.; Riseman, J. The Intrinsic Viscosities and Diffusion Constants of Flexible Macromolecules in Solution. *J. Chem. Phys.* **1948**, *16*, 565–573, doi:10.1063/1.1746947.
12. Flory, P.J. The Configuration of Real Polymer Chains. *J. Chem. Phys.* **1949**, *17*, 303–310, doi:10.1063/1.1747243.
13. Williams, M.L.; Landel, R.F.; Ferry, J.D. The Temperature Dependence of Relaxation Mechanisms in Amorphous Polymers and Other Glass-Forming Liquids. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 3701–3707, doi:10.1021/ja01619a008.
14. de Gennes, P.G. *Scaling Concepts in Polymer Physics*; Cornell University Press, 1979; ISBN 978-0-8014-1203-5.
15. de Gennes, P.G. Reptation of a Polymer Chain in the Presence of Fixed Obstacles. *J. Chem. Phys.* **1971**, *55*, 572–579, doi:10.1063/1.1675789.
16. 庄野利之; 脇田久伸 入門機器分析化学; 三共出版, 2015; ISBN 978-4-7827-0738-8.
17. Heatley, F.; Lovell, P.A.; McDonald, J. NMR Studies of Free-Radical Polymerization and Copolymerization of Monomers and Polymers Containing Allyl Groups. *European Polymer Journal* **1993**, *29*, 255–268, doi:10.1016/0014-3057(93)90092-T.
18. 紫外可視分光光度計の基礎 (4) 紫外可視分光光度計、ハードウェアの特徴と役割 | 日本分光株式会社 Available online:

<https://www.jasco.co.jp/jpn/technique/internet-seminar/uv/uv4.html>

(accessed on 10 December 2021).

19. ラマン分光法の基礎 (3) ラマン分光光度計の構成と発展の歴史 | 日本分光株式会社 Available online:  
<https://www.jasco.co.jp/jpn/technique/internet-seminar/raman/raman3.html> (accessed on 10 December 2021).
20. 能英吉田 表面分析—Xps: X線光電子分光—. 日本画像学会誌 **2011**, *50*, 463–469, doi:10.11370/isj.50.463.
21. 大谷肇 機器分析; 講談社, 2015; ISBN 978-4-06-156807-5.
22. AFM (原子間力顕微鏡) | 株式会社アイテス.
23. 利康田所 分光エリプソメトリー: 基礎から応用まで. 日本画像学会誌 **2011**, *50*, 439–447, doi:10.11370/isj.50.439.
24. 柴山充弘; 佐藤尚弘; 岩井俊昭; 木村康之 光散乱法の基礎と応用; 講談社, 2014; ISBN 978-4-06-154387-4.
25. 西岡利勝 高分子分析入門; 講談社, 2010; ISBN 978-4-06-154360-7.
26. Lakowicz, J.R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Springer Science & Business Media, 2013; ISBN 978-1-4757-3061-6.
27. Iwao, R.; Yamaguchi, H.; Obata, M.; Matsuda, Y. FRET Measurement of Polymer Response under Shear. *Sensors* **2021**, *21*, 8033, doi:10.3390/s21238033.
28. Iwao, R.; Yamaguchi, H.; Niimi, T.; Matsuda, Y. Single-Molecule Tracking Measurement of PDMS Layer during Curing Process. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications* **2021**, *565*, 125576, doi:10.1016/j.physa.2020.125576.

29. 蛍光分析化学: 蛍光 HPLC の生物化学・医化学への応用, 培風館, 1987; ISBN 978-4-563-04195-3.
30. 日本分光学会 顕微分光法: ナノ・マイクロの世界を見る分光法; 講談社, 2009; ISBN 978-4-06-157108-2.
31. Regan, K.; Ricketts, S.; Robertson-Anderson, R.M. DNA as a Model for Probing Polymer Entanglements: Circular Polymers and Non-Classical Dynamics. *Polymers* **2016**, *8*, 336, doi:10.3390/polym8090336.
32. Żuk, P.J.; Słowicka, A.M.; Ekiel-Jezewska, M.L.; Stone, H.A. Universal Features of the Shape of Elastic Fibres in Shear Flow. *J. Fluid Mech.* **2021**, *914*, A31, doi:10.1017/jfm.2020.1048.
33. du Roure, O.; Lindner, A.; Nazockdast, E.N.; Shelley, M.J. Dynamics of Flexible Fibers in Viscous Flows and Fluids. *Annu. Rev. Fluid Mech.* **2019**, *51*, 539–572, doi:10.1146/annurev-fluid-122316-045153.
34. Kuhn, W. Über quantitative Deutung der Viskosität und Strömungsdoppelbrechung von Suspensionen. *Kolloid-Zeitschrift* **1933**, *62*, 269–285, doi:10.1007/BF01423246.
35. Dunstan, D.E.; Wei, Y. Compressive Elasticity in Polymer Couette Flow. *Eur. Phys. J. Appl. Phys.* **2007**, *38*, 93–95, doi:10.1051/epjap:2007047.
36. Dunstan, D.E.; Hill, E.K.; Wei, Y. Direct Measurement of Polydiacetylene 4-Butoxycarbonylmethylurethane Segment Orientation and Distortion in Shear: Semidilute Solutions. *Macromolecules* **2004**, *37*, 1663–1665, doi:10.1021/ma030413v.

37. Sendner, C.; Netz, R.R. Single Flexible and Semiflexible Polymers at High Shear: Non-Monotonic and Non-Universal Stretching Response. *Eur. Phys. J. E* **2009**, *30*, 75, doi:10.1140/epje/i2009-10509-4.
38. Kantsler, V.; Goldstein, R.E. Fluctuations, Dynamics, and the Stretch-Coil Transition of Single Actin Filaments in Extensional Flows. *Phys. Rev. Lett.* **2012**, *108*, 038103, doi:10.1103/PhysRevLett.108.038103.
39. Harasim, M.; Wunderlich, B.; Peleg, O.; Kröger, M.; Bausch, A.R. Direct Observation of the Dynamics of Semiflexible Polymers in Shear Flow. *Phys. Rev. Lett.* **2013**, *110*, 108302, doi:10.1103/PhysRevLett.110.108302.
40. Rüttgers, A.; Griebel, M. Multiscale Simulation of Polymeric Fluids Using the Sparse Grid Combination Technique. *Applied Mathematics and Computation* **2018**, *319*, 425–443, doi:10.1016/j.amc.2017.04.025.
41. Valeur, B.; Berberan-Santos, M.N. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*; John Wiley & Sons, 2012; ISBN 978-3-527-32837-6.
42. Terao, K.; Takeo, Y.; Tazaki, M.; Nakamura, Y.; Norisuye, T. Polymacromonomer Consisting of Polystyrene. Light Scattering Characterization in Cyclohexane. *Polym J* **1999**, *31*, 193–198, doi:10.1295/polymj.31.193.
43. Jannink, G.; Cloizeaux, J. des Polymers in Solution. *J. Phys.: Condens. Matter* **1990**, *2*, 1–24, doi:10.1088/0953-8984/2/1/001.
44. Inoue, T.; Oba, N.; Urakawa, O. Reliability of Intrinsic Viscosity Estimated by Single Point Procedure at High Concentrations. *J. Soc. Rheol., Jpn* **2014**, *42*, 261–264, doi:10.1678/rheology.42.261.

45. Park, S.; Chang, T.; Park, I.H. Static and Hydrodynamic Size of Polystyrene Coils in Various Solvents. *Macromolecules* **1991**, *24*, 5729–5731, doi:10.1021/ma00020a038.
46. Semrock - The Standard in Optical Filters for Life Sciences Available online: <https://www.semrock.com/default.aspx> (accessed on 3 December 2021).
47. MPLFLN10X.Pdf.
48. UK\_PRN\_1024B - ProEM Series EMCCD Imaging Camera\_DS.Pdf.
49. NX940AS-PS5-1 | NX シリーズ | AC サーボモーター | オリエンタルモーター株式会社 Available online: <https://www.orientalmotor.co.jp/products/detail.action?hinmei=NX940AS-PS5-1&seriesCd=KE00> (accessed on 12 December 2021).
50. 12708AC.Pdf.
51. Flory, P.J. *Principles of Polymer Chemistry*; Cornell University Press, 1953; ISBN 978-0-8014-0134-3.
52. Chan, N.Y.; Chen, M.; Dunstan, D.E. Elasticity of Polymer Solutions in Couette Flow Measured by Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET). *Eur. Phys. J. E* **2009**, *30*, 37–41, doi:10.1140/epje/i2009-10503-x.
53. Power, D.; Larson, I.; Hartley, P.; Dunstan, D.; Boger, D.V. Atomic Force Microscopy Studies on Hydroxypropylguar Gels Formed under Shear. *Macromolecules* **1998**, *31*, 8744–8748, doi:10.1021/ma971033a.
54. Förster, S.; Schmidt, M.; Antonietti, M. Static and Dynamic Light Scattering by Aqueous Polyelectrolyte Solutions: Effect of Molecular

- Weight, Charge Density and Added Salt. *Polymer* **1990**, *31*, 781–792,  
doi:10.1016/0032-3861(90)90036-X.
55. Beuermann, S.; Buback, M. Rate Coefficients of Free-Radical  
Polymerization Deduced from Pulsed Laser Experiments. *Prog. Polym.  
Sci.* **2002**, *64*.
56. *Single Molecule Spectroscopy in Chemistry, Physics and Biology: Nobel  
Symposium*; Gräslund, A., Rigler, R., Widengren, J., Eds.; Springer  
Series in Chemical Physics; Springer Berlin Heidelberg: Berlin,  
Heidelberg, 2010; Vol. 96; ISBN 978-3-642-02596-9.
57. Saxton, M.J.; Jacobson, K. SINGLE-PARTICLE  
TRACKING: Applications to Membrane Dynamics. *Annu. Rev. Biophys.  
Biomol. Struct.* **1997**, *26*, 373–399,  
doi:10.1146/annurev.biophys.26.1.373.
58. Kusumi, A.; Sako, Y.; Yamamoto, M. Confined Lateral Diffusion of  
Membrane Receptors as Studied by Single Particle Tracking (Nano-  
id Microscopy). Effects of Calcium-Induced Differentiation in Cultured  
Epithelial Cells. *Biophysical Journal* **1993**, *65*, 2021–2040,  
doi:10.1016/S0006-3495(93)81253-0.
59. Wöll, D.; Braeken, E.; Deres, A.; De Schryver, F.C.; Uji-i, H.; Hofkens, J.  
Polymers and Single Molecule Fluorescence Spectroscopy, What Can  
We Learn? *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 313–328, doi:10.1039/B704319H.
60. Vallée, R.A.L.; Van Der Auweraer, M.; De Schryver, F.C.; Beljonne, D.;  
Orrit, M. A Microscopic Model for the Fluctuations of Local Field and



Spontaneous Emission of Single Molecules in Disordered Media.

*ChemPhysChem* **2005**, *6*, 81–91, doi:10.1002/cphc.200400439.

61. Bartko, A.P.; Xu, K.; Dickson, R.M. Three-Dimensional Single Molecule Rotational Diffusion in Glassy State Polymer Films. *Phys. Rev. Lett.* **2002**, *89*, 026101, doi:10.1103/PhysRevLett.89.026101.
62. Wöll, D.; Uji-i, H.; Schnitzler, T.; Hotta, J.; Dedecker, P.; Herrmann, A.; De Schryver, F.C.; Müllen, K.; Hofkens, J. Radical Polymerization Tracked by Single Molecule Spectroscopy. *Angewandte Chemie International Edition* **2008**, *47*, 783–787, doi:10.1002/anie.200704196.
63. Ito, S.; Itoh, K.; Pramanik, S.; Kusumi, T.; Takei, S.; Miyasaka, H. Evaluation of Diffusion Coefficient in a Dextrin-Based Photo-Curable Material by Single Molecule Tracking. *Appl. Phys. Express* **2009**, *2*, 075004, doi:10.1143/APEX.2.075004.
64. Nölle, J.M.; Primpke, S.; Müllen, K.; Vana, P.; Wöll, D. Diffusion of Single Molecular and Macromolecular Probes during the Free Radical Bulk Polymerization of MMA – towards a Better Understanding of the Trommsdorff Effect on a Molecular Level. *Polym. Chem.* **2016**, *7*, 4100–4105, doi:10.1039/C6PY00590J.
65. Deres, A.; Floudas, G.A.; Müllen, K.; Van der Auweraer, M.; De Schryver, F.; Enderlein, J.; Uji-i, H.; Hofkens, J. The Origin of Heterogeneity of Polymer Dynamics near the Glass Temperature As Probed by Defocused Imaging. *Macromolecules* **2011**, *44*, 9703–9709, doi:10.1021/ma201449p.

66. Zhang, H.; Tao, K.; Liu, D.; Wu, K.; Wang, F.; Yang, J.; Zhao, J. Examining Dynamics in a Polymer Matrix by Single Molecule Fluorescence Probes of Different Sizes. *Soft Matter* **2016**, *12*, 7299–7306, doi:10.1039/C6SM01447J.
67. Paeng, K.; Kaufman, L.J. Single Molecule Experiments Reveal the Dynamic Heterogeneity and Exchange Time Scales of Polystyrene near the Glass Transition. *Macromolecules* **2016**, *49*, 2876–2885, doi:10.1021/acs.macromol.6b00097.
68. Paeng, K.; Kaufman, L.J. Single Molecule Rotational Probing of Supercooled Liquids. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 977–989, doi:10.1039/C3CS60186B.
69. Muls, B.; Uji-i, H.; Melnikov, S.; Moussa, A.; Verheijen, W.; Soumillion, J.-P.; Josemon, J.; Müllen, K.; Hofkens, J. Direct Measurement of the End-to-End Distance of Individual Polyfluorene Polymer Chains. *ChemPhysChem* **2005**, *6*, 2286–2294, doi:10.1002/cphc.200500235.
70. Habuchi, S.; Fujiwara, S.; Yamamoto, T.; Vacha, M.; Tezuka, Y. Single-Molecule Study on Polymer Diffusion in a Melt State: Effect of Chain Topology. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 7369–7376, doi:10.1021/ac401272a.
71. Coceancigh, H.; Higgins, D.A.; Ito, T. Optical Microscopic Techniques for Synthetic Polymer Characterization. *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 405–424, doi:10.1021/acs.analchem.8b04694.
72. Mai, D.J.; Schroeder, C.M. 100th Anniversary of Macromolecular Science Viewpoint: Single-Molecule Studies of Synthetic Polymers. *ACS Macro Lett.* **2020**, *9*, 1332–1341, doi:10.1021/acsmacrolett.0c00523.

73. Cherstvy, A.G.; Thapa, S.; Wagner, C.E.; Metzler, R. Non-Gaussian, Non-Ergodic, and Non-Fickian Diffusion of Tracers in Mucin Hydrogels. *Soft Matter* **2019**, *15*, 2526–2551, doi:10.1039/C8SM02096E.
74. Tran-Ba, K.-H.; Higgins, D.A.; Ito, T. Fluorescence Recovery after Photobleaching and Single-Molecule Tracking Measurements of Anisotropic Diffusion within Identical Regions of a Cylinder-Forming Diblock Copolymer Film. *Anal. Chem.* **2015**, *87*, 5802–5809, doi:10.1021/acs.analchem.5b01041.
75. Tran-Ba, K.-H.; Finley, J.J.; Higgins, D.A.; Ito, T. Single-Molecule Tracking Studies of Millimeter-Scale Cylindrical Domain Alignment in Polystyrene–Poly(Ethylene Oxide) Diblock Copolymer Films Induced by Solvent Vapor Penetration. *J. Phys. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 1968–1973, doi:10.1021/jz300647z.
76. Krause, S.; Neumann, M.; Fröbe, M.; Magerle, R.; von Borczyskowski, C. Monitoring Nanoscale Deformations in a Drawn Polymer Melt with Single-Molecule Fluorescence Polarization Microscopy. *ACS Nano* **2016**, *10*, 1908–1917, doi:10.1021/acsnano.5b05729.
77. Wang, D.; Chin, H.-Y.; He, C.; Stoykovich, M.P.; Schwartz, D.K. Polymer Surface Transport Is a Combination of In-Plane Diffusion and Desorption-Mediated Flights. *ACS Macro Lett.* **2016**, *5*, 509–514, doi:10.1021/acsmacrolett.6b00183.
78. Duffy, D.C.; McDonald, J.C.; Schueller, O.J.A.; Whitesides, G.M. Rapid Prototyping of Microfluidic Systems in Poly(Dimethylsiloxane). *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 4974–4984, doi:10.1021/ac980656z.

79. Racich, J.L.; Koutsky, J.A. Nodular Structure in Epoxy Resins. *Journal of Applied Polymer Science* **1976**, *20*, 2111–2129, doi:10.1002/app.1976.070200808.
80. Vanlandingham, M.R.; Eduljee, R.F.; Gillespie Jr., J.W. Relationships between Stoichiometry, Microstructure, and Properties for Amine-Cured Epoxies. *Journal of Applied Polymer Science* **1999**, *71*, 699–712, doi:10.1002/(SICI)1097-4628(19990131)71:5<699::AID-APP4>3.0.CO;2-D.
81. Ghasem Zadeh Khorasani, M.; Silbernagl, D.; Platz, D.; Sturm, H. Insights into Nano-Scale Physical and Mechanical Properties of Epoxy/Boehmite Nanocomposite Using Different AFM Modes. *Polymers* **2019**, *11*, 235, doi:10.3390/polym11020235.
82. Heterogeneity in Polymer Networks Formed by a Single Copolymerization Reaction: II. Post-Gelation Structure and Pendants | Elsevier Enhanced Reader Available online: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0032386117303245?token=C432598B59C6717226E951BC1347045B785164F9853504A028290557B5ED3E37E457BF7930C5535DED671EA22093DAE6&originRegion=us-east-1&originCreation=20211118110839> (accessed on 18 November 2021).
83. Krzeminski, M.; Molinari, M.; Troyon, M.; Coqueret, X. Characterization by Atomic Force Microscopy of the Nanoheterogeneities Produced by the Radiation-Induced Cross-Linking

- Polymerization of Aromatic Diacrylates. *Macromolecules* **2010**, *43*, 8121–8127, doi:10.1021/ma101615k.
84. Morgan, R.J.; O’Neal, J.E. The Microscopic Failure Processes and Their Relation to the Structure of Amine-Cured Bisphenol-A-Diglycidyl Ether Epoxies. *J Mater Sci* **1977**, *12*, 1966–1980, doi:10.1007/BF00561968.
85. Mark, J.E. Some Unusual Elastomers and Experiments on Rubberlike Elasticity. *Progress in Polymer Science* **2003**, *28*, 1205–1221, doi:10.1016/S0079-6700(03)00024-8.
86. Company, T.D.C. SYLGARD 184 Silicone Elastomer. **2017**, 4.
87. Graser, F.; Hädike, E. Kristallstruktur und Farbe bei Perylen-3,4:9,10-bis(dicarboximid)-Pigmenten, 2. *Liebigs Annalen der Chemie* **1984**, *1984*, 483–494, doi:10.1002/jlac.198419840308.
88. Würthner, F. Perylene Bisimide Dyes as Versatile Building Blocks for Functional Supramolecular Architectures. *Chem. Commun.* **2004**, 1564–1579, doi:10.1039/B401630K.
89. Mackowiak, S.A.; Leone, L.M.; Kaufman, L.J. Probe Dependence of Spatially Heterogeneous Dynamics in Supercooled Glycerol as Revealed by Single Molecule Microscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 1786–1799, doi:10.1039/C0CP01860K.
90. OBIS.Pdf.
91. 倒立型リサーチ顕微鏡 IX73 | オリンパス ライフサイエンス  
Available online: [https://www.olympus-lifescience.com/ja/microscopes/inverted/ix73/#!cms\[focus\]=cmsContent231](https://www.olympus-lifescience.com/ja/microscopes/inverted/ix73/#!cms[focus]=cmsContent231) (accessed on 12 December 2021).

92. ImagEM X2 EM-CCD カメラ C9100-23B Available online:  
<https://www.hamamatsu.com/jp/ja/product/type/C9100-23B/index.html>  
(accessed on 12 December 2021).
93. Sharma, P.; Ghosh, S.; Bhattacharya, S. A High-Precision Study of Hindered Diffusion near a Wall. *Appl. Phys. Lett.* **2010**, *97*, 104101, doi:10.1063/1.3486123.
94. Kazoe, Y.; Yoda, M. Experimental Study of the Effect of External Electric Fields on Interfacial Dynamics of Colloidal Particles. *Langmuir* **2011**, *27*, 11481–11488, doi:10.1021/la202056b.
95. Schindelin, J.; Arganda-Carreras, I.; Frise, E.; Kaynig, V.; Longair, M.; Pietzsch, T.; Preibisch, S.; Rueden, C.; Saalfeld, S.; Schmid, B.; et al. Fiji: An Open-Source Platform for Biological-Image Analysis. *Nat Methods* **2012**, *9*, 676–682, doi:10.1038/nmeth.2019.
96. Sbalzarini, I.F. Particle Detector and Tracker. 7.
97. Sbalzarini, I.F.; Koumoutsakos, P. Feature Point Tracking and Trajectory Analysis for Video Imaging in Cell Biology. *Journal of Structural Biology* **2005**, *151*, 182–195, doi:10.1016/j.jsb.2005.06.002.
98. Ferrari, R.; Manfroi, A.J.; Young, W.R. Strongly and Weakly Self-Similar Diffusion. *Physica D: Nonlinear Phenomena* **2001**, *154*, 111–137, doi:10.1016/S0167-2789(01)00234-2.
99. Extracting Intracellular Diffusive States and Transition Rates from Single-Molecule Tracking Data | Nature Methods Available online:  
<https://www.nature.com/articles/nmeth.2367> (accessed on 18 November 2021).

100. Learning Rates and States from Biophysical Time Series: A Bayesian Approach to Model Selection and Single-Molecule FRET Data | Elsevier Enhanced Reader Available online:  
<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0006349509015136?token=C0D5462EE15CABF2BCC0DFD421BD1983EAE3AD158D6FA41EC629A5E36A8B69A39369367FAE88886A78EBEDC6DAD47D3E&originRegion=us-east-1&originCreation=20211118112856> (accessed on 18 November 2021).
101. Thapa, S.; Lomholt, M.A.; Krog, J.; Cherstvy, A.G.; Metzler, R. Bayesian Analysis of Single-Particle Tracking Data Using the Nested-Sampling Algorithm: Maximum-Likelihood Model Selection Applied to Stochastic-Diffusivity Data. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2018**, *20*, 29018–29037, doi:10.1039/C8CP04043E.
102. Matsuda, Y.; Hanasaki, I.; Iwao, R.; Yamaguchi, H.; Niimi, T. Estimation of Diffusive States from Single-Particle Trajectory in Heterogeneous Medium Using Machine-Learning Methods. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2018**, *20*, 24099–24108, doi:10.1039/C8CP02566E.
103. Cherstvy, A.G.; Nagel, O.; Beta, C.; Metzler, R. Non-Gaussianity, Population Heterogeneity, and Transient Superdiffusion in the Spreading Dynamics of Amoeboid Cells. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2018**, *20*, 23034–23054, doi:10.1039/C8CP04254C.
104. He, Y.; Burov, S.; Metzler, R.; Barkai, E. Random Time-Scale Invariant Diffusion and Transport Coefficients. *PHYSICAL REVIEW LETTERS* **2008**, *4*.

105. Metzler, R.; Jeon, J.-H.; Cherstvy, A.G.; Barkai, E. Anomalous Diffusion Models and Their Properties: Non-Stationarity, Non-Ergodicity, and Ageing at the Centenary of Single Particle Tracking. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 24128–24164, doi:10.1039/C4CP03465A.
106. Interpolate 2-D or 3-D Scattered Data - MATLAB Griddata - MathWorks Available online:  
<https://jp.mathworks.com/help/matlab/ref/griddata.html?lang=en>  
(accessed on 7 January 2022).
107. Vernède, S.; Ponsón, L.; Bouchaud, J.-P. Turbulent Fracture Surfaces: A Footprint of Damage Percolation? *Phys. Rev. Lett.* **2015**, *114*, 215501, doi:10.1103/PhysRevLett.114.215501.



# 謝辞

本論文は、著者が名古屋大学大学院 工学研究科マイクロ・ナノシステム工学専攻マイクロ熱流体工学研究グループにおいて行った研究をまとめたものです。

本論文を結ぶにあたり、中々結果が出せない中終始変わらぬ懇切丁寧なご協力を頂き、また本論文に対する貴重なご意見や多くのご指導賜りました名古屋大学 山口浩樹准教授に深く感謝の意を申し上げます。

本研究を遂行する上で、実験の計画及び結果の解析から問題に直面するたびに数々の適確なご指導やご助言賜り、最後まで長きにわたってご協力をいただきました早稲田大学 松田佑准教授に心から感謝申し上げます。

本論文をまとめるにあたり、貴重なご意見、ご助言を賜りました名古屋大学 福澤健二教授、長田孝二教授及び丸山央峰准教授に厚く御礼申し上げます。

また、名古屋大学 新美智秀教授（当時、2018年10月逝去）には、多忙の身であったにも関わらず、幾度も本研究への貴重なご助言下さり深く御礼申し上げます。

FRET 分子の合成・提供していただき、また論文の執筆に協力して下さいました山梨大学 小幡誠教授に厚く御礼申し上げます。

また筆者が参加させていただいたフロンティア宇宙開発リーダー養成プログラムでは、参加された学生並びにスタッフの皆様と様々な活動を通じて、数々の知見や考え方を学ばせていただけました。深く御礼申し上げます。

最後に、様々な心配や苦勞を掛けたにも関わらず、常に温かく支えてくれた両親に心から感謝致します。

2022年1月

岩尾 亮