

厚生労働科学研究補助金
萌芽的先端医療技術推進研究事業

テラヘルツ波によるラベルフリーバイオチップシステムの
開発に関する研究

平成 18 年度 総括 分担研究報告書

主任研究者 小川雄一

平成 19 (2007) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

萌芽的先端医療技術推進研究事業

テラヘルツ波によるラベルフリーバイオチップシステムの開発に関する研究

平成 18 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 雄一

平成 19 (2007) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告	
バイオチップセンサー技術の研究	----- 1
小川 雄一	
II. 分担研究報告	
1. 専用超小型テラヘルツ波光源の開発	----- 7
林 伸一郎	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 9
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 11

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
総括研究報告書

バイオチップセンサー技術の研究

主任研究者 小川 雄一 東北大学大学院農学研究科 助教授

研究要旨：本研究ではテーラーメイド医療やライフサイエンス研究現場での利用を目指した、簡便かつ安価なラベルフリーバイオチップシステムの開発を目的としている。本センサーチップは、DNA やタンパク質を定着する基材として金属を含むインクでメッシュ構造を印刷したものをを用いており、さらに申請者らが持つテラヘルツ波光源に関する技術を導入することで、蛍光標識などの試薬を使うことなく安価で迅速に診断できるシステムとなっている。

分担研究者

林 伸一郎 独立行政法人理化学研究所 研究員

A. 研究目的

現在、医療分析機器の発達に伴い医薬品の有効性や副作用など様々な情報を迅速に分析できるようになり、これらを生かしたテーラーメイド医療への期待が高まっている。また、医療現場では試薬や検査キットを用いた分析により簡便な検査が可能となり、患者に対して迅速な検査結果の開示が可能になりつつある。一方、このような分析機器の高度化に伴い、高価かつ複雑化が進み、ある特定の大規模医療現場でしか利用できない状況が多い。従って診療所などでは十分にその恩恵を受けているとは言いがたく、医療格差が社会的な問題となりつつある。そこで本研究では、これらの問題を克服するために簡便かつ安価なセンサーチップの開発を行い、小規模な医療現場でも容易に利用できる分析機器の開発を目指す。また、患者に対する医療費の負担を軽減することは、高度な医療技術の開発と共に対応すべき極めて重要な課題である。これらの問題を直接的に軽減できる方法のひとつとして、検査試薬や煩雑な作業の軽減が挙げられる。本研究で用いられるテラヘルツ波と呼ばれる電磁周波数帯は、DNA のハイブリダイゼーションや抗原抗体反応が蛍光標識を用いることなく判別できる帯域として世界中で研究が進められている未開拓電磁周波数帯である。これらを用いることで、ラベルフリー診断を可能とし、より安価で迅速な検査が期待される。

本研究課題で申請する 3 年間では、印刷技術を利用して大量生産可能なバイオチップの生産技術に関する基礎研究及び本システムに最適化した新しい超小型テラヘルツ波光源の開発を予定している。最終年度にはラベルフリーバイオチップセンサー及びセンシングシステムを作成し、その実用性を評価する。

本研究で使用するテラヘルツ波は、近年まで発生及び検出が困難であったため、未開拓とされていた電磁周波数帯である。しかし最近のめざましい技術の進歩により、実験室レベルでの発生が可能となり、世界中で様々な応用研究が進められるようになった。そのような中であって、申請者らの研究グループは以前から

応用現場での実用化を目指した光源開発を行っており、世界に先駆けて小型で高出力なテラヘルツ波の発生に成功している。

また、本手法の特色は、金属メッシュをセンサーとして使う点にあり、サンプルを定着した金属メッシュの透過量を測定することで、サンプルの物理量である屈折率および吸収に依存した情報を得ることができるということであるが、申請者らのグループは金属メッシュとテラヘルツ波光源技術を組み合わせた新しいセンシング技術の基礎実験に成功している。

金属メッシュは既存の印刷技術でも作成可能で、ナイロンメンブレンに印刷したものがセンサーとして機能することも確認済みである。この結果、標識物質をつけるといった作業を不要とし、センサー自体も安価に生産することができる可能性が明らかとなった。このような方式でラベルフリーバイオチップセンサーを実現している研究報告は例がなく、また実用化レベルの小型テラヘルツ波光源を開発する技術は申請者らのグループしかもっていないため、世界的に見ても極めて独創的な研究を行うことが可能な状況にある。

B. 研究方法

申請者らは現在まで、金属メッシュの透過特性から対象物の屈折率情報を得ることができることを明らかにし、既に研究報告をしている。そのような背景において、平成 18 年度は「金属メッシュによる原理検証・特性評価及びサンプル特性のデータ収集」を以下の段階的な実験を通じて実施した。

1. 金属メッシュによる原理検証・特性評価

最終年度には金属メッシュを印刷技術によって作成することを考慮して、エレクトロフォーミング法によって作成した厚さ 6 μ m の薄型金属メッシュを使用した。様々なサイズの薄型金属メッシュについて、従来の分光器よりも低周波数側に感度を有する赤外分光器を用いて透過特性を測定した。

2. 定量塗布による透過特性変化

生体高分子などの測定に先立ち、金属メッシュの透過特性がサンプル量に対してどのように変化するかインクを使った実験で確認した。一般に市販されている

インクジェット方式のプリンター (Canon 社製 950i) を使用し、画像処理ソフトで画面上の描画濃度を調整することでプリンターのインク吐出量を調整した。

サンプルは、プリンターからの吐出量で 0 ng/mm^2 , 57.6 ng/mm^2 , 72.0 ng/mm^2 , 86.4 ng/mm^2 の 4 段階を用意し、フーリエ変換式赤外分光光度計 (日本分光社製 Faris-1S) を使って分光透過特性の変化を測定した。本実験で使用した金属メッシュは $t = 6 \text{ }\mu\text{m}$, $g = 76.3 \text{ }\mu\text{m}$, 開口率約 57 % である。

3. ESD 法によるアビジンの検出実験

導電性のある基板に対して DNA やタンパク質などの生体高分子を均一に塗布する方法として、ESD (electrospray deposition) 法が報告されている。本手法は常温、常圧下で行われ、生体高分子の活性を保ったままサンプルを基板に固定できる方法である。そこで我々は、本手法による薄型金属メッシュへのサンプル塗布実験をおこなった。塗布に使用したサンプルは、アビジン (ナカライテスク 純度 97 % 凍結乾燥粉末) を滅菌蒸留水に水溶させたものである。アビジンは卵白中に存在する低塩基性糖タンパク質で、ビオチン (Biotin) と結合し、その親和力は強く不可逆であるため研究用試薬として広く利用されている。本実験では ESD 装置として、Fulence 社製 ES-1000 を利用した。金属メッシュにアビジンが付着した様子を Fig.1 に示す。アビジンを塗布した金属メッシュはインク試験と同様にフーリエ変換式赤外分光光度計を使って分光透過特性の変化を測定した。

4. 印刷技術による金属メッシュの作製と基礎特性の検証

本研究では印刷で導電性メッシュを作製するために、金属を蒸着させて作ったインクリボンに基板に転写する方法を検討している。また、導電性メッシュの透過特性は幾何学的形状や寸法のほかに、材質である金属の電気伝導度にも依存している。そのため、印刷によってメッシュを作製する場合、使用するインクリボンがテラヘルツ (THz) 波帯での電磁周波数に対して金属的な応答を示さなければならない。そこで、THz-TDS (THz-Time Domain Spectroscopy: テラヘルツ時間領域分光) 装置で評価を行った。

THz-TDS 装置 (赤外パルス分光計測装置 pulse IRS-2300rkopt) 測定は平行光で行い、測定範囲は半径 5mm の円形、水蒸気の影響を避けるために装置内を真空にして測定した。

(倫理面での配慮)

本研究は、センシング技術の開発を目指すものであり、倫理上問題の生じる恐れのある人や動物などを用いた実験は予定していない。また、本研究で使用するサンプルは一般に市販されているものを使用するため、人権擁護上についても問題は生じない。

C. 研究結果・考察

1. 金属メッシュによる原理検証・特性評価

赤外領域において、薄型金属メッシュの透過特性については古くから実験的な解析が行われ、機構的なパラメータと透過特性の関係が報告されている。機構的なパラメータは、厚さ t 、金属ストリップの幅の半値 a 、開口の 1 辺と金属ストリップ幅を足し合わせたグリット間隔 g で表される。

Fig. 1 に薄型金属メッシュの機構的なサイズ g と $2a$ をパラメータとして、伝送線路理論による近似解から求めた透過特性を示す。ここで、薄型金属メッシュの厚さは $6 \text{ }\mu\text{m}$ 、真空中に配置され平面波が垂直に入射すると仮定した。横軸は、規格化波長 $\omega = \lambda / g$ として表した。 $2a/g$ の値が大きくなるにしたがって透過率の変化が急峻になっていくことがわかる。次に、機構的なサイズの異なる 4 種類の薄型金属メッシュを準備し、その透過特性を測定した。Table 1 は、実験で使用した薄型金属メッシュの機構的な仕様であり、Fig.1 のパラメータ $2a/g$ に対応するように機構的なサイズを決定した。これらの薄型金属メッシュはエレクトロフォーミング法により作成されており、織網ではないため、表面がフラットな仕上がりとなり、開口幅の精度に優れている。また、材質はニッケルである。これらの薄型金属メッシュの THz 帯における透過特性をフーリエ変換式赤外分光光度計 (日本分光社製 Faris-1S) により測定を行った。薄型金属メッシュには、集光された THz 波が入射する構成となっている。また、金属メッシュ表面でのスポットの直径は約 5 mm であり、偏光は無偏光である。Fig. 2 に透過スペクトルを示す。機構的なパラメータの異なるメッシュについても透過率がピークとなる波長が $L=1$ より大きなところに現れ、この領域での透過率は、メッシュの金属に占める開口の面積の比率 (開口率) を上回っており、回折モードの伝播に起因するものと考えられている。また、いずれの薄型金属メッシュに対しても $L=1.5$ 付近において透過率が急激に減少するディップ (谷) がみられる。このようなディップは、THz 波が薄型金属メッシュに対して斜入射の場合に観察され、斜入射の際には金属表面に励起された表面波のモードの分裂によって生じるものである。本実験では、金属メッシュに集光された THz 波を入射した際の斜入射成分によって、透過スペクトルにディップが観測されたものと考えられる。

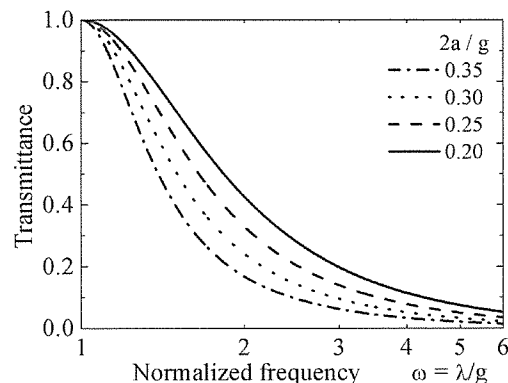


Fig. 1. Transmission characteristics of the thin metallic meshes

calculated from transmission line theory.

Table 1. Geometric parameters of produced thin metallic mesh.

Mesh No.	Line / inch	g	2a	t
#1	500	50.8	17.8	6
#2	400	63.5	18.5	6
#3	333	76.3	18.2	6
#4	250	101.6	21.6	6

g: grid constant, 2a: wire strip width, t: thickness, unit of g, a, t: μm

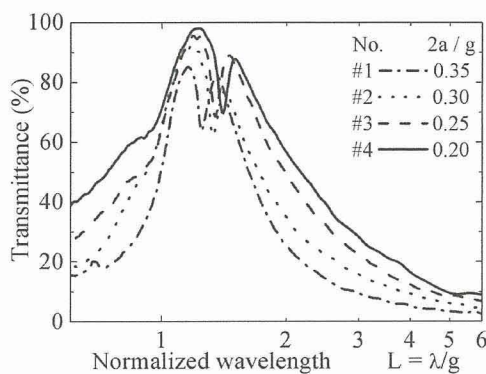


Fig. 2 Measured transmission characteristics of the thin metallic meshes in the THz range.

2. 定量塗布による透過特性変化

Fig. 3 にサンプルの塗布量を変化させた場合の、金属メッシュの透過スペクトルを示す。集光光学系でこの薄型金属メッシュの透過特性を測定すると、透過率が高いところに共鳴的な吸収のディップがみられる。サンプルによる透過特性のシフトは、この部分で観察すると判別しやすいことから、Fig. 3 は、その部分を切り出した図を示している。また、Fig. 4 にサンプル塗布量に対するディップ周波数を示す。薄型金属メッシュに印刷するインクの量が増加するにつれて、段階的にディップの周波数が低周波側にシフトする様子が確認できる。

この透過スペクトルの低周波側へのシフトは、フォトニック結晶による表面プラズモンセンサと同様に、薄型金属メッシュ表面の屈折率が変化したことによるものと考えられる。一方で、もし本センサーを用いて屈折率変化から異なるサンプルを判別する利用法を考えた場合、このシフトにはサンプルの量と屈折率の両方の情報が混ざってしまうことが予想される。従って本センサーで複数の対象物の定性を行う際には、サンプルを定量的に塗布する技術が重要になると考えられる。

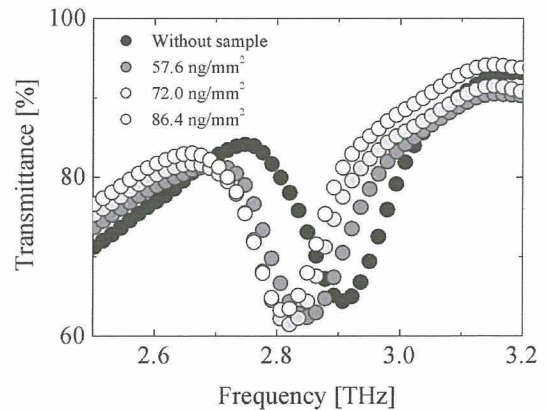


Fig. 3 Measured transmission spectra of the thin metallic meshes with printed ink with various amount.

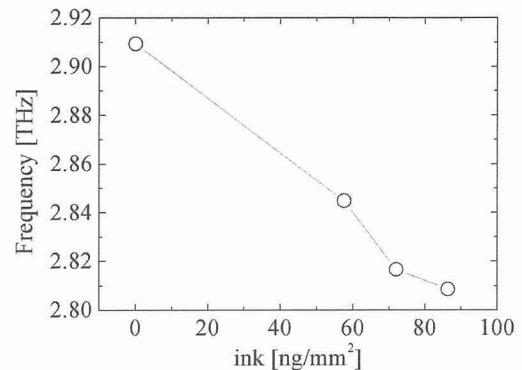


Fig. 4 Frequency of the transmission dip of the thin metallic mesh as a function of printed ink.

3. ESD 法によるアビジンの検出実験

今回は、薄型金属メッシュとの感度を比較するために、厚さ $10\text{ }\mu\text{m}$ のポリエチレンに白金をスパッタした基板を用意した。ポリエチレンは THz 波に対して透過性が高く、周波数特性がフラットであるが、ESD 法でサンプルを塗布するには導電性を有している必要があったため、白金を薄くコートしたポリエチレンをサンプル塗布に用いた。

Fig. 5 に、薄型金属メッシュの電子顕微鏡写真を示す。アビジンが塗布されていない場合は、メッシュの素材であるニッケルのザラザラした表面が観察できたが、アビジンを 200 ng/mm^2 塗布すると滑らかな様子に変わり、 1200 ng/mm^2 になると、堆積したアビジンの様子が確認できるまでに変化した。今回の実験では、グリッド間隔が $76.3\text{ }\mu\text{m}$ の薄型金属メッシュを用いた。

Fig. 6 に作成したサンプルの透過スペクトルを示す。上段(a)は、ポリエチレンに白金をスパッタした平坦な基板に 200 ng/mm^2 のアビジンを塗布したサンプルと、アビジンを塗布していないサンプルの透過スペクトルを比較したものである。白金のスパッタにバラつきがみられ、アビジンの有無による明瞭な違いを確認することはできない。一方、下段(b)は、薄型金属メッシュにアビジンを塗布したサンプルの透過スペクトルを示している。アビジンを塗布していない場合に比べて、量に応じて段階的に低周波側にシフトしている様子が確

認できる。また、図中の枠内は急峻なディップ部を拡大したもので、アビジンの無い場合の2.82 THzから順に2.81 THz, 2.64 THzとシフトしている。このことは、先の実験同様に、薄型金属メッシュ近傍の局所的に電界の強い部分にアビジンを固定することにより、アビジンの屈折率が固定量に応じてその電場に影響を及ぼし、周波数特性の変化としてテラヘルツ帯で検出されていることを示している結果であると考えられる。

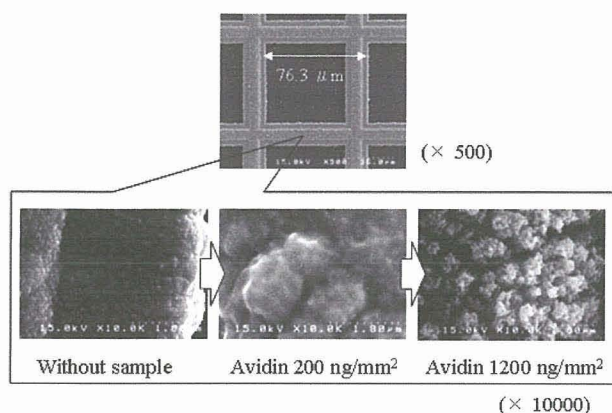


Fig. 5 SEM images of the thin metallic meshes with and without avidin.

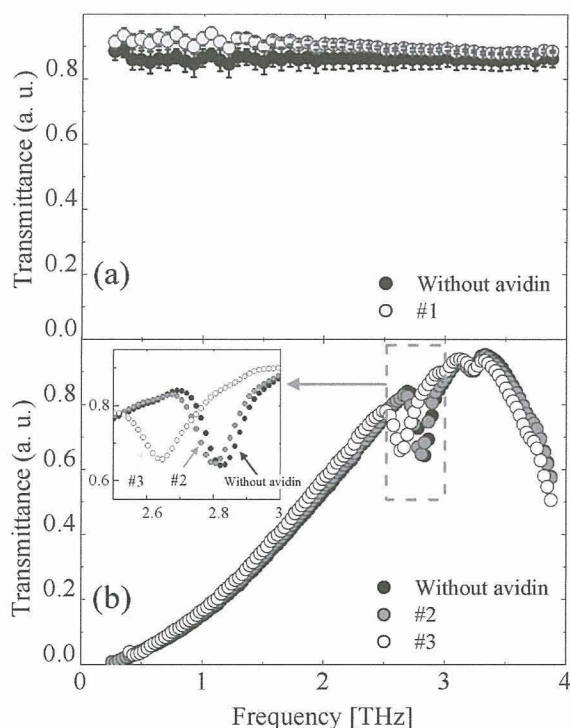


Fig. 6 Measured transmission spectra of the samples using the ESD method. (a) #1 and the same substrate without avidin. (b) #2, #3 and the same substrate without avidin. Expanded parts of the plot are shown in dashed line.

4. 印刷技術による金属メッシュの作製と基礎特性の検証

作製したインクリボンはいずれも THz 波を透過せず、また導通が確認できたため、ほぼ金属的な応答を示していることが確認できた。

このインクリボンの印刷によって作製した金属メッシュは金属メッシュのようなバンドパス特性を示した (Fig.7)。測定値のピークの位置は計算値よりも低周波数側にあり、透過率も低いこれは金属層に付着している剥離層や接着層、基板である PET フィルムの影響であると考えられる。

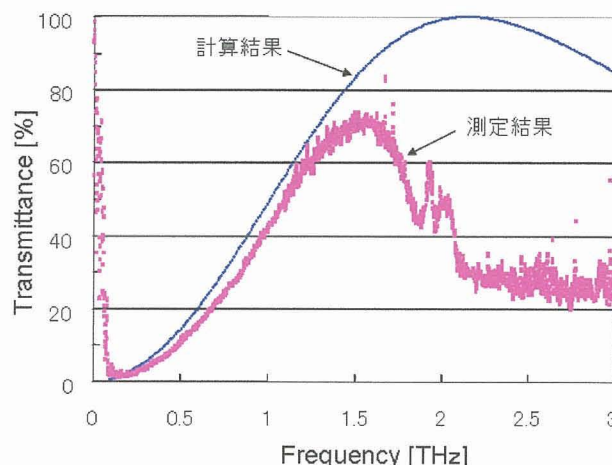


Fig. 7 印刷で作成したメッシュの透過特性と計算結果の比較

D. 結論

本研究の目的は、THz 波の新しい利用法として研究が進められているタンパク質のラベルフリー診断の可能性を実現化するための要素技術の開発である。そこで今回、印刷技術による金属メッシュの作成法を視野に入れ、厚みが数マイクロメートルと薄い金属メッシュの透過特性と機構サイズの関係性を調べたところ、赤外領域で古くから研究されていた伝送線路理論による近似解から求めた透過特性と同様の特性を確認することができた。さらに印刷でサンプルを塗布することを想定し、市販のプリンターを使った段階的な塗布実験を行い、サンプル量に応じた透過特性の低周波側へのシフトを得、画像処理ソフト上で容易にサンプルの吐出量をコントロールできる方法を提案した。また、実際の生体高分子について、プリンターと ESD 法の 2 種類の塗布方法について実施し、それぞれが活性を保つままタンパク質を塗布できることを実験的に確認し、アビジンについては 200 ng/mm² という微量なサンプル量に対して透過特性がシフトする様子を確認できた。今後、抗原抗体反応などさまざまなタンパク質をナイロンメンブレン上で高感度かつ試薬を用いることなく分析できる技術の開発を目指し、ナイロンメンブレン上に印刷でメッシュを作成し、サンプルを定量的に任意の場所に塗布する要素技術の開発を行う予定である。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 小川雄一, 林伸一郎, 吉田永, 林朱, 加藤英志, 宮丸文章, 大谷知行, 川瀬晃道・テラヘルツ波を利用した試薬レスタンパク質分析の基礎研究・日本赤外線学会誌・vol. 16, no. 2, 印刷中

2. 学会発表

- Y. Ogawa, S. Hayashi, E. Kato, H. Yoshida, F. Miyamaru, C. Otani, and K. Kawase・Terahertz label-free biochip sensor with thin metal mesh・Proceedings of Progress In Electromagnetics Research Symposium (PIERS2006-TOKYO)・(2006)・pp. 2A4-1-2A4-5
- E. Kato, H. Yoshida, S. Hayashi, Y. Ogawa, and K. Kawase・THz sensing method based on thin metallic mesh and an application for bimolecular sensing・Conference Digest of the 2006 Joint 31st International Conference on Infrared and Millimeter Waves and 14th International Conference on Terahertz Electronics (IRMMW-THz 2006)・(2006)・p. 185
- 小川雄一, 林伸一郎, 吉田永, 阿部香織, 大谷知行, 川瀬晃道・テラヘルツ波の農学 応用・第6回テラヘルツ応用システム研究会「テラヘルツ波のシステム応用可能性」及びテラヘルツ関連一般要旨集・(2006)・pp. 25-30

H. 知的財産権の出願状況

1. 特許取得

- 小川雄一, 林伸一郎, 加藤英志・測定装置および測定方法・特願 2007-21660

2. 実用新案取得

- 特になし

3. その他

- 特になし

専用超小型テラヘルツ波光源の開発

分担研究者 林伸一郎 独立行政法人理化学研究所 研究員

研究要旨：ニオブ酸リチウム結晶（ LiNbO_3 ）をレーザー光によって数百 MW/cm^2 以上で高強度励起すると、光子と格子振動が作るポラリトンを経た誘導ラマン散乱による広帯域テラヘルツ（THz）波発生が起これ、その発振線幅は数百 MHz～数 THz の広帯域に及ぶ。この THz 波パラメトリック発生を礎にする従来の THz 波パラメトリック光源は、励起光のパルス幅の制約から大型となるため、励起光源を含む THz 波パラメトリック光源全体としては卓上程度となってしまうばかりでなく、その長パルス励起による非線形光学結晶の熱的損傷閾値が THz 波出力を制限していた。本研究では、トップハット型の強度分布をもつ短パルス幅の小型励起光源を用いて光源全体の小型化を図ると共に、熱損傷閾値を緩和し、高強度励起による発生 THz 波の広帯域化および高出力化を達成した。この励起光源によって、 $15 \times 20 \text{ cm}^2$ 程度の小型 THz 波パラメトリック光源から、出力 100 pJ/pulse 以上（尖頭値 60 mW 以上）、帯域 0.9～3.8 THz の THz 波を観測した。これにより次年度以降開発予定のラベルフリー分析システムの構築を行う予定である。

A. 研究目的

パラメトリック波長変換による THz 波光源は、非線形光学結晶と励起光源だけで THz 波を発生させるため、小型簡便かつ室温動作可能であり、ニオブ酸リチウム（ LiNbO_3 ）結晶のパラメトリック利得の広帯域性から、周波数領域も 1 THz 以下から 3 THz 以上と広い。従来、THz 波パラメトリック光源の小型化を制限していた要因のひとつに、励起光源が挙げられる。THz 波の波長制御のため、共振器によってアイドラー光を選択するためには、パルス幅の長い励起光が必要であるため、励起光源のサイズが大きくなってしまふ。共振器を用いないパラメトリック発生の場合、パルス幅の制約なくコンパクトな短パルス励起光源を用いることができる。このとき、発生する THz 波は励起光源の性質に依存する。高出力化、広帯域化を目指す場合にはトップハット型の強度分布を持つマルチモード励起光源を、種光注入による線幅の狭窄化を目指す場合には線幅の狭いシングルモード発振の励起光源を用いればよい。本報告では、前者の励起光源を用いた場合に発生する THz 波の特徴を述べる。

B. 研究方法

Q スイッチ動作パルスレーザーから発生したレーザー光のような強電場を持つ電磁波が横光学フォノンモードをもつ非線形光学結晶を通過すると、光子と格子振動が結合してポラリトンと呼ばれる素励起状態を形成する。光強度が $\sim 100 \text{ MW}/\text{cm}^2$ 程度以上のナノ秒パルスレーザーを用いてシングルパスで LiNbO_3 結晶を励起すると、帯域が 1 THz を超えるアイドラー光および THz 波の発生が観測される。本論文では、このシングルパス励起の広帯域な THz 波の発生を THz 波パラメトリック発生と呼ぶ。実験装置は、励起光源、レンズ、ミラー、非線形光学結

晶、THz 波検出系によって構成される。Fig. 3(a) に、実験装置の概略図を示す。発生した THz 波を検出するための光学系を除くと、THz 波パラメトリック発生に必要な部分は、励起光源に小型の Q スイッチ動作 Nd:YAG レーザーを使用したことで、 $12 \times 22 \text{ cm}$ 程度と非常に小型である。レンズによって並行光となった励起光は、トップハット型の強度分布を持ち、結晶入り口で $\phi 1.3 \text{ mm}$ （半値全幅）である。両端面に励起光に対する無反射膜を施した 2 本の $\text{MgO}:\text{LiNbO}_3$ 結晶（各 $4 \square 5 \square 65 \text{ mm}$ ）を間隔 100 μm 以下になるように縦列配置し、励起光を入射した。励起光は、結晶中をノンコリニア位相整合条件を満たす方向にアイドラー光および THz 波を発生させながら通過する。このとき、 $\text{MgO}:\text{LiNbO}_3$ 結晶は THz 波帯に大きな吸収係数を持つため、効率よく THz 波を取り出すためには、励起光を結晶の取り出し面近くを励起しなければならない。トップハット型の強度分布はビーム広がり小さく端面近傍を高強度励起できるため、従来のガウス型強度分布に対して有利である。発生した THz 波は、2 つ目の結晶の y 面に圧着した Si プリズムアレイによって結晶外に取り出され、レンズ系で集光後、Si ボロメーターによって検出される。

C. 研究結果

THz 波およびアイドラー光出力の、励起光強度依存性は、励起光強度が上昇し、 $300 \text{ MW}/\text{cm}^2$ （約 25 mJ/pulse）付近に達すると、THz 波およびアイドラー光が観測され始める。その後、励起光エネルギーの増加に伴って THz 波出力、アイドラー光出力は共に単調に増加する。最高出力は、励起光強度が $820 \text{ MW}/\text{cm}^2$ （66 mJ/pulse）のとき、THz 波は 105 pJ/pulse（尖頭値 62 mW）、アイドラー光は 15 mJ/pulse であった。THz 波出力は励起光エネルギー

一が 55 mJ/pulse 以上の領域で飽和の傾向が見られる。これは、高強度励起によって高周波側に利得域が拡大するものの、3 THz 付近の利得係数の落ち込みや吸収係数の THz 波周波数依存性(高周波ほど吸収係数大)のためと考えられる。なお、結晶の損傷閾値は 900 MW/cm² 程度であった。

過去のテラヘルツはパラメトリック発生の研究において、最高出力は 1 pJ/pulse (尖頭値 300 pW)、結晶の損傷閾値は 200 MW/cm² 以下であった。本研究において、短パルス、トップハット型の励起光を使用したことにより結晶表面および内部の熱的損傷を避け、高強度励起による高出力化が達成された。

D. 考察

THz 波出力は主に、励起光の強度およびその強度分布、結晶端面からの距離に依存している。従来型光源との出力 THz 波の比較を、数値計算によって行った結果、結晶による THz 波の強い吸収により、従来のガウス型強度分布の励起光源を使用した場合、励起光強度が高く、強い THz 波を発生している部分が結晶端面から離れてしまい、多くの発生した THz 波が結晶に吸収されてしまっているのに対し、本研究のトップハット型分布の場合、結晶端面近くの励起光強度が高く、発生した THz 波の多くが端面に到達している。この結晶端面に到達する THz 波強度を積分し、結晶端面に到達するエネルギーを求めると、同じ励起条件の場合、約 20 倍のテラヘルツ波出力が見込まれる。さらに、実際の実験条件(本研究: 850 MW/cm², 従来型: 150 MW/cm²)を考慮に入れると、利得係数は 2 ~ 5 倍となり、実験同様、従来型に対して 100 倍程度の THz 波出力が見込まれる。

E. 結論

トップハット型の強度分布をもつ短パルスの小型励起光源を用いて光源全体の小型化を図ると共に、熱損傷閾値を緩和し、高強度励起による THz 波の広帯域化、高出力化、高安定性を達成した。この励起光源によって、15 × 20 cm² 程度の小型 THz 波パラメトリック光源から、出力 105 pJ/pulse (尖頭値 62 mW)、帯域 0.9 ~ 3.8 THz の THz 波を観測した。また、数値計算により従来型 THz 波光源と比較し、実験と同様の結果を得た。

この小型励起光源、非線形光学結晶をベースとするコンパクトなテラヘルツ波光源は、常温動作で操作も簡便であり、テラヘルツ領域における応用研究において有力なツールとなることが期待される。特に次年度以降は本光源の最適化およびラベルフリー分析システムへの組み込みを行う予定である。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

- 林伸一郎, 川瀬晃道・テクノロジートレンド“テラヘルツ波パラメトリック光源の小型化”・OPTO NEWS (オプトニュース) No.5・(2006)・通巻 155 号・pp. 15-18
- S. Hayashi, H. Minamide, T. Ikari, J. Shikata, H. Ito, Y. Ogawa, C. Otani, and K. Kawase・Output power enhancement of Terahertz-wave parametric generator・*Appl. Opt.*, 46(2007), pp.117.
- 2. 学会発表
- S. Hayashi, H. Minamide, T. Ikari, Y. Ogawa, T. Shibuya, K. Shindo, H. Sakai, H. Kan, T. Taira, H. Ito, C. Otani, and K. Kawase・Compact Terahertz-wave Parametric Generators・in Conference on Lasers and Electro-Optics / Quantum Electronics and Laser Science Conference and Photonic Applications Systems Technologies 2006 Technical Digest (Optical Society of America, Washington, DC, 2006)・CTuGG2・(ISBN: 1-55752-813-6)
- S. Hayashi, T. Shibuya, H. Sakai, H. Kan, T. Taira, Y. Ogawa, C. Otani, and K. Kawase・Microlaser Pumped Narrow-linewidth Terahertz-Wave Parametric Generation・Conference Digest of the 2006 Joint 31st International Conference on Infrared and Millimeter Waves and 14th International Conference on Terahertz Electronics (IRMMW-THz 2006)・p. 126
- 林伸一郎, 渋谷孝之, 酒井博, 管博文, 平等拓範, 大谷知行, 小川雄一, 川瀬晃道・小型テラヘルツ光パラメトリック光源・第 6 回テラヘルツ応用システム研究会「テラヘルツ波のシステム応用可能性」及びテラヘルツ関連一般・(2006)・pp. 47-52
- 林伸一郎, 酒井博, 管博文, 平等拓範, 大谷知行, 小川雄一, 川瀬晃道・マイクロチップ Nd:YAG レーザー励起による光注入型テラヘルツ光パラメトリック発生器・第 67 回応用物理学会学術講演会 (2006 年秋季) 講演予稿集 No. 3・(2006)・p. 1004

H. 知的財産権の出願状況

1. 特許取得

- 小川雄一, 林伸一郎, 加藤英志・測定装置および測定方法・特願 2007-21660
- 2. 実用新案取得
- 特になし
- 3. その他
- 特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
小川雄一, 林伸一郎, 吉田永, 林朱, 加藤英志, 宮丸文章, 大谷知行, 川瀬晃道	テラヘルツ波を利用した試薬レスタンパク質分析の基礎研究	日本赤外線学会誌	vol. 16, no. 2	印刷中	印刷中

国際学会proceedings

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Y. Ogawa, S. Hayashi, E. Kato, H. Yoshida, F. Miyamaru, C. Otani and K. Kawase	Terahertz label-free biochip sensor with thin metal mesh	Proceedings of Progress In Electromagnetics Research Symposium (PIERS2006-TOKYO)		2A4-1-2A4-5	2006
E. Kato, H. Yoshida, S. Hayashi, Y. Ogawa and K. Kawase	THz sensing method based on thin metallic mesh and an application for bimolecular sensing	Conference Digest of the 2006 Joint 31th International Conference on Infrared and Millimeter Waves and 14th International Conference on Terahertz Electronics (IRMMW-THz 2006)		185	2006
S. Hayashi, H. Minamide, T. Ikari, Y. Ogawa, T. Shibuya, K. Shindo, H. Sakai, H. Kan, T. Taira, H. Ito, C. Otani and K. Kawase	Compact Terahertz-wave Parametric Generators	in Conference on Lasers and Electro-Optics/Quantum Electronics and Laser Science Conference and Photonic Applications Systems Technologies 2006 Technical Digest		CTuGG2	2006
S. Hayashi, T. Shibuya, H. Sakai, H. Kan, T. Taira, Y. Ogawa, C. Otani and K. Kawase	Micro-laser Pumped Narrow-linewidth Terahertz-Wave Parametric Generation	Conference Digest of the 2006 Joint 31th International Conference on Infrared and Millimeter Waves and 14th International Conference on Terahertz Electronics (IRMMW-THz 2006)		126	2006

国内発表予稿集

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
小川雄一，林伸一郎，吉田永，阿部香織，大谷知行，川瀬晃道	テラヘルツ波の農学応用	第6回テラヘルツ応用システム研究会「テラヘルツ波のシステム応用可能性」及びテラヘルツ関連一般要旨集		25-30	2006
林伸一郎，酒井博，管博文，平等拓範，大谷知行，小川雄一，川瀬晃道	マイクロチップNd:YAGレーザー励起による光注入テラヘルツ光パラメトリック発生器	第67回応用物理学会学術講演会(2006年秋季)講演予稿集	no. 3	1004	2006

テラヘルツ波を利用した試薬レスタンパク質分析の基礎研究 Feasibility study of a less reagent protein analysis using terahertz waves

小川雄一¹, 林伸一郎^{1,3}, 吉田永¹, 林朱^{1,2}, 加藤英志⁵, 宮丸文章⁴, 大谷知行², 川瀬晃道⁵

¹ 東北大学大学院農学研究科 生物産業創生科学専攻

² 理化学研究所 テラヘルツイメージング研究チーム

³ 理化学研究所 テラヘルツ量子素子研究チーム

⁴ 信州大学理学部物理科学科

⁵ 名古屋大学大学院工学研究科 量子工学専攻

Yuichi OGAWA¹, Shin'ichiro HAYASHI^{1,3}, Hisa YOSHIDA¹, Aya HAYASHI^{1,2}, Eiji KATO⁵, Fumiaki MIYAMARU⁴, Chiko OTANI³, and Kodo KAWASE⁵

Division of Bioscience and Biotechnology for Future Bioindustries, Graduate School of Agriculture, Tohoku University

Terahertz Sensing and Imaging Laboratory, RIKEN SENDAI

Terahertz Quantum Device Laboratory, RIKEN SENDAI

Department of Physics, Faculty of Science, Shinshu University

Department of Quantum Engineering, Graduate School of Engineering, Nagoya University

要旨：近年、遠赤外線からミリ波の間に位置するテラヘルツ波を利用したセンシングに関する研究が盛んに行われている。特に生体高分子については、従来必要とされていた標識作業を省略できるラベルフリーセンシングへの期待が大きい。我々は、古くから赤外領域で研究されていた金属メッシュの透過特性に関する解釈をテラヘルツ波領域に広げ、そのバンドパス特性の変化を利用した試薬レスタンパク質分析への応用を目指した研究を行っている。本稿では特に、金属メッシュに直接サンプルを塗布する方法として、市販のプリンターとエレクトロスプレーデポジション法について検討し、実用化を目指した研究の進展について報告する。

Abstract : Many researchers have been investigating various methods for analyzing biomolecules using terahertz waves. Especially, the application to label-free sensing has been awaited as it was shown that it could replace fluorescence labeling. We have been developing a sensing method for protein analysis based on a printing technology, which uses the THz transmission characteristics of a conductive metal mesh and requires less reagent amount. In this paper, we introduce our recent study of this application which uses a commercial printer and the electrospray deposition (ESD) method to apply a protein sample on a thin metallic mesh.

Key Words : terahertz wave, printing technology, protein, label free sensing, electrospray deposition

1. まえがき

現在、世界中でテラヘルツ (THz) 波の応用研究が盛んに行われている。この帯域の電磁波は、その発生および検出が困難であったため応用開拓が遅れていたが、近年の精力的な研究により室温動作

で簡便な光源および検出技術が開発され、他の電磁波数帯同様に利用方法が開拓されつつある。例えば、THz 帯の分光情報には、分子内および分子間の振動と緩和が共存しているため、赤外光とは異なる利用方法が期待されている。これらの情報を使った結晶多形

や半導体の評価は、その代表的な例^{11,12)}といえる。さらに最近では、生体高分子をターゲットとした研究も注目されている。生体高分子の高次構造の形成に起因する吸収や屈折率の違いがTHz 帯で観測されるため、蛍光標識を用いることなく DNA のハイブリダイゼーションや抗原抗体反応をセンシングでき、生体高分子などのラベルフリーセンシングに関する研究が報告されている^{4,7)}。一方、1960年代から格子状の開口を有する金属製のメッシュを遠赤外領域のバンドパスフィルタとして用いた研究が行われ、様々なメッシュの形状や開口サイズの周波数特性を明らかにすると共に、メタルメッシュエタロンとして利用した分光方法なども提案されている^{8,9)}。近年では金属加工技術の飛躍的な向上により、微細な周期構造を安価で容易に作成することができるようになり、これらを用いたTHz帯の新しい光学素子や、センサの研究が行われている^{10~12)}。例えば、入射波の波長と同程度の開口サイズを有する金属開口アレイによる高感度表面波センサ¹³⁾が提案されており、それにより、金属表面に密着させた物質のわずかな屈折率の変化を計測できるようになっている。一方で、市販のプリンターで光学素子を作成するといった報告¹⁴⁾もなされている。これは、THz 帯の波長が数十から数百マイクロメートルと光波の領域に比べて長く、最近のプリンターであれば比較的容易に達成できる印刷精度であるためといえる。

そこで我々は、このような先導的な研究をふまえた THz 波を用いたタンパク質の試薬レス分析技術の開発を目指しており、次の2通りのアプローチで研究を進めている。①薄型金属メッシュを用い、印刷技術によるサンプル塗布技術の開発と、②従来のタンパク質分析に用いられているメンブレンに対して、印刷で金属メッシュを作成する技術である。いずれも THz 波を用いることで、分析に要する試薬を減らす事を目標としている。本稿では特に、①の基礎研究として、波長の数十分の一相当の厚みしか持たない薄型金属メッシュの透過特性と、そこにサンプルが付着することによる透過特性の変化について述べる。このとき、精密にサンプル塗布量を制御するために、市販のプリンターを使用した。今回使用したプリンターはインクジェット方式で、吐出の際にインクを瞬間的に加熱し、急激な気化の衝撃でインクを押し出す。そこで、生体高分子を塗布する際の熱影響を調べるために、標識酵素として広く使われているペルオキシダーゼの塗布を試み、発色反応を通じて塗布過程における加熱による活性への影響を確認した。さらに薄型金属メッシュに対して、ペルオキシダーゼとアビジンをそれぞれプリンターとエレクトロスプレーデポジション法で塗布を行い、生体高分子の有無による透過特性の変化を読み取り、センシングの可能性について検討した。

2. 薄型金属メッシュの諸特性

本研究では、将来的には印刷技術で金属メッシュを作成することを想定し、約6 μm 程度の比較的薄い金属メッシュをセンサ部材として利用している。このような薄型金属メッシュは、エレクトロフォーミング（電鑄）法によって様々なサイズのものが既に市販されている。赤外領域において、薄型金属メッシュの透過特性については古くから実験的な解析^{8, 15)}が行われ、機構的なパラメータと透過特性の関係が報告されている。また、開口の形状についても、正方形だけでなく円形や十字形などについても報告されている。Fig. 1に本研究で使用した正方形開口を有する金属メッシュを示す。機構的なパラメータは、厚さ t 、金属ストリップ幅の半値 a 、開口の1辺と金属ストリップ幅を足し合わせたグリッド間隔 g で表される。

エネルギー保存則より、0次強度反射率および透過率をそれぞれ R 、 T とし、金属メッシュによる吸収率を A 、および回折による高次方向への損失率を D とすると(1)式の関係が成り立つ。

$$R + T + A + D = 1 \quad (1)$$

偏光依存性に関しては、入射波が直線偏光の場合、1次元のワイヤストリップグレーティング(ワイヤグリッド)ではグリッドに対して電場の振動方向が垂直の時は透過率が高く、逆にグリッドに対して平行の場合は透過率が低くなる。一方、正方形の開口を持つ金属メッシュはこれらのワイヤグリッドを重ね合わせたものであるため、偏光に依存しないと考えることができる。このような薄型金属メッシュの伝播特性の解析は、回折周波数より低い領域では、比較的簡便で計算が容易な伝送線路理論に基づく等価回路による近似解に関する研究が古くから数多く行われており、回折周波数付近においては最小2乗法を用いた厳密解の計算が行われてきた^{16, 17)}。薄型金属メッシュのグリッド間隔が波長に比べて短い($g/\lambda < 1$)場合、薄型金属メッシュは、Fig. 1に示すように、自由空間において伝送線路上に

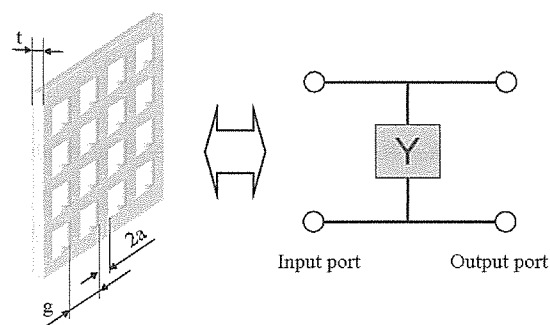


Fig. 1. Schematic diagram and equivalent circuit of the thin metallic mesh.

Table 1. Geometric parameters of produced thin metallic mesh.

Mesh No.	Line / inch	g	2a	t
#1	500	50.8	17.8	6
#2	400	63.5	18.5	6
#3	333	76.3	18.2	6
#4	250	101.6	21.6	6

g: grid constant, 2a: wire strip width, t: thickness, unit of g, a, t: μm

アドミタンス Y が並列に接続されている等価回路として、反射複素振幅 Γ を(2)式のように表すことができ、透過率と反射率の周波数特性を近似的に求めることができる¹⁸⁾。つまり、該当の波長領域では、金属メッシュを均一な媒質と考えて、有効屈折率を近似的に求めることができると考えられる。

$$\Gamma = -\frac{Y/2}{1+Y/2} \quad (2)$$

Fig. 2に薄型金属メッシュの機構的サイズ g と $2a$ をパラメータとして、伝送線路理論による近似解から求めた透過特性を示す。ここで、薄型金属メッシュの厚さは $6\mu\text{m}$ 、真空中に配置され平面波が垂直に入射すると仮定した。横軸は、規格化波長 $L = \lambda/g$ として表した。 $2a/g$ の値が大きくなるにしたがって透過率の変化が急峻になっていくことがわかる。次に、機構的サイズの異なる4種類の薄型金属メッシュを準備し、その透過特性を測定した。Table 1は、実験で使った薄型金属メッシュの機構的な仕様であり、Fig. 2のパラメータ $2a/g$ に対応するように機構的サイズを決定した。これらの薄型金属メッシュはエレクトロフォーミング法により作成されており、織網ではないため、表面がフラットな仕上がりとなり、開口幅の精

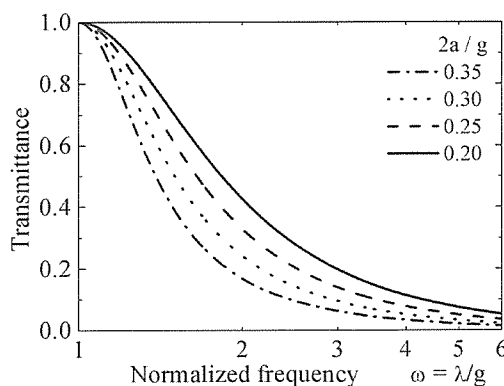


Fig. 2. Transmission characteristics of the thin metallic meshes calculated from transmission line theory.

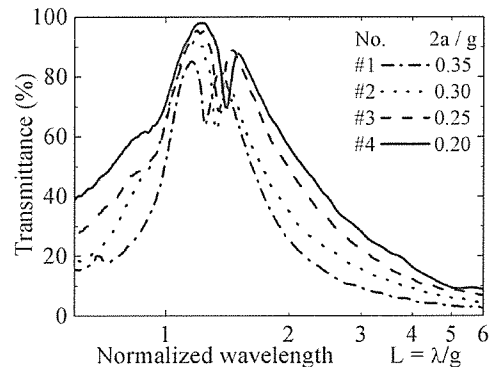


Fig. 3 Measured transmission characteristics of the thin metallic meshes in the THz range.

度に優れている。また、材質はニッケルである。これらの薄型金属メッシュのTHz帯における透過特性をフーリエ変換式赤外分光光度計（日本分光社製 Faris-1S）により測定を行なった。薄型金属メッシュには、集光されたTHz波が入射する構成となっている。また、金属メッシュ表面でのスポットの直径は約5mmであり、偏光は無偏光である。Fig. 3に透過スペクトルを示す。機構的パラメータの異なるメッシュについても透過率がピークとなる波長が $L = 1$ より大きなところに現れ、この領域での透過率は、メッシュの金属に占める開口の面積の比率(開口率)を上回っており、回折モードの伝播に起因するものと考えられている¹⁹⁾。また、いずれの薄型金属メッシュに対しても $L = 1.5$ 付近において透過率が急激に減少するディップ(谷)がみられる。このようなディップは、THz波が薄型金属メッシュに対して斜入射の場合に観察され、斜入射の際には金属表面に励起された表面波のモードの分裂によって生じるものである²⁰⁾。本実験では、金属メッシュに集光されたTHz波を入射した際の斜入射成分によって、透過スペクトルにディップが観測されたものと考えられる。

3. 定量塗付による透過特性変化

生体高分子などの測定に先立ち、金属メッシュの透過特性がサンプル量に対してどのように変化するかを実験で確認した。インクジェットプリンターは極微量な溶液を定量的に塗布する上で優れた性質を持ち、DNAチップの作製²⁰⁾など生体高分子の固定にも応用の可能性が広がっている。そこで本研究では、このインクジェット方式のプリンターを用いて定量的なサンプルの塗布を行った。サンプルはインクを用いた。なお、あらかじめテラヘルツ領域時間分解分光法(THz-TDS)を使って、インクの屈折率を測定した結果、周波数1THzにおいて約2.1で、測定領域において大きな分散はなくフラ

ットな特性を有していた。

3.1 実験方法

本実験では、一般に市販されているインクジェット方式のプリンター（Canon 社製 950i）を使用し、画像処理ソフトで画面上の描画濃度を調整することでプリンターのインク吐出量を調整した。Fig. 4 に吐出量を3段階に調整し、紙に印刷した様子の拡大画像を示す。

今回の実験では、階調を画像処理ソフトで変化させ、実際に薄型金属メッシュ上にインクを印刷してサンプルを作成した。金属メッシュ上に吐出されたインクは、一定量以上の量が付着すると、その表面張力によりメッシュの開口部に不規則に集まる現象が確認された。そこで本実験では、Fig. 4 に示すように一定区間毎にインクを吐出して評価を行った。

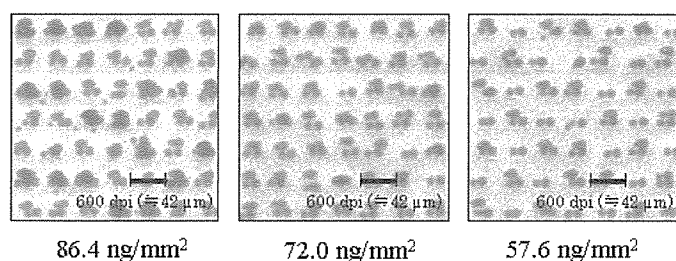


Fig. 4 Printed ink patterns on paper.

サンプルは、プリンターからの吐出量で 0 ng/mm^2 , 57.6 ng/mm^2 , 72.0 ng/mm^2 , 86.4 ng/mm^2 の4段階を用意し、先の実験でも使用した分光器を使って分光透過特性の変化を測定した。本実験で使用した金属メッシュは $t=6 \text{ μm}$, $g=76.3 \text{ μm}$, 開口率約 57 % である。メッシュの金属部に吐出されたインクのみが測定対象となるため、メッシュの開口率を考えると、平均的にみてプリンターから吐出されたインクの約 43 % の量が測定対象となっている。なお、以降の実験結果で表記する値は、プリンターからの吐出量の値を使うこととする。

3.2 実験結果

Fig. 5 にサンプルの塗布量を変化させた場合の、金属メッシュの透過スペクトルを示す。集光光学系でこの薄型金属メッシュの透過特性を測定すると、透過率が高いところに共鳴的な吸収のディップがみられる。サンプルによる透過特性のシフトは、この部分で観察すると判別しやすいことから、Fig. 5 は、その部分を切り出した図を示している。また、Fig. 6 にサンプル塗布量に対するディップ周波数を示す。薄型金属メッシュに印刷するインクの量が増加するにつれて、段階的にディップの周波数が低周波側にシフトする様子が確認できる。

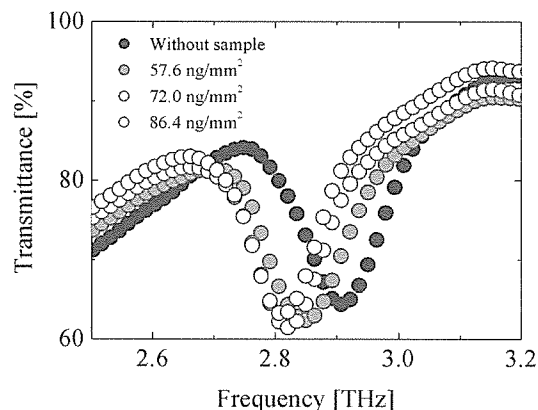


Fig. 5 Measured transmission spectra of the thin metallic meshes with printed ink with various amount.

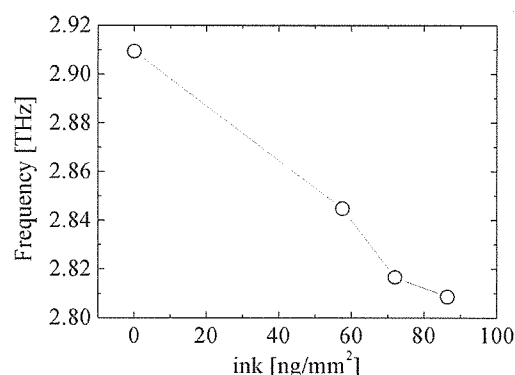


Fig. 6 Frequency of the transmission dip of the thin metallic mesh as a function of printed ink.

この透過スペクトルの低周波側へのシフトは、フォトニック結晶による表面プラズモンセンサと同様に、薄型金属メッシュ表面の屈折率が変化したことによるものと考えられる。一方で、もし本センサを用いて屈折率変化から異なるサンプルを判別する利用法を考えた場合、このシフトにはサンプルの量と屈折率の両方の情報が混ざってしまうことが予想される。従って本センサで複数の対象物の定性を行う際には、サンプルを定量的に塗布する技術が重要になると考えられる。

4. 生体高分子の検出

4.1 ペルオキシターゼの検出実験

本実験では、先に紹介したプリンターを利用して、標識酵素として広く使われているペルオキシダーゼの塗布およびメッシュセンサによる検出を試みた。今回使用したインクジェット方式のプリンターは、インクをプリンターヘッドから吐出する際に瞬間的に加熱

し、その気泡によりインクを押し出す方式である。したがって将来、この方式のプリンターをサンプル塗布方法として採用する際に、熱による酵素活性の失活が懸念される。そこでまず、滅菌蒸留水にてペルオキシダーゼ（ナカライテスク 免疫化学用 凍結乾燥粉末）を濃度 2.0 mg/ml, 1.0 mg/ml, 0.5 mg/ml に調製後プリンターにて塗布を行い、染色法により熱影響を確認した。ペルオキシダーゼは疎水中の溶媒中では 125~150 °C で熱失活し²²⁾、またリン酸緩衝液中では 70~95 °C で酵素活性が報告²³⁾されているため、加熱の影響が大きければ発色しないことが予想される。具体的には、プリンターへのサンプルの供給には、通常使用するインクタンクを外して取り付けた、プラスチックチューブを介してペルオキシダーゼ水溶液をプリンターヘッドに供給した。印刷媒体には、一般にウエスタンブロット法などでタンパク質の転写に使用されるニトロセルロースメンブレン (BIO-RAD 社製 Trans-Blot Transfer Medium Pure Nitrocellulose Membrane (0.2 μ m)) を用い、プリンター (Canon PIXUS860i) を使ってペルオキシダーゼの印刷を行った。さらにこれらを過酸化水素と 1-クロロ-4-ナフトール溶液 (BIO-RAD 社製 Immun-Blot Assay Kit) に浸し、発色を検出することで酵素活性への影響を確認した。その後、同様にして 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1.0 mg/ml, 2.0 mg/ml の濃度に調製したペルオキシダーゼ水溶液を薄型金属メッシュ (g:76.3 μ m, t:6 μ m) に印刷し、分光器にて透過スペクトルの変化からペルオキシダーゼの検出を行った。

Fig. 7 に発色実験の結果を示す。図中左から順に濃度が 2.0 mg/ml, 1.0 mg/ml, 0.5 mg/ml の印刷されたペルオキシダーゼの発色結果で、各写真の上段が印刷した部位、下段が印刷していない部位を示している。実験の結果、3段階の濃度いずれも発色反応を確認することができ、吐出時の熱の影響は大きくないと考えられた。ただし、今回の実験では吐出されたペルオキシダーゼのうち、全ての量が活性を保っていたかは不明であるため、引き続き検討が必要

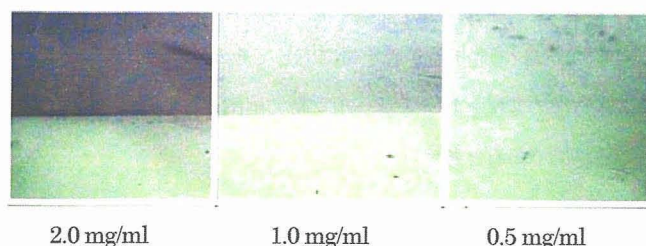


Fig. 7 Effect of heating denaturation and density of peroxidase. (upper stand: with peroxidase, lower stand: without peroxidase)

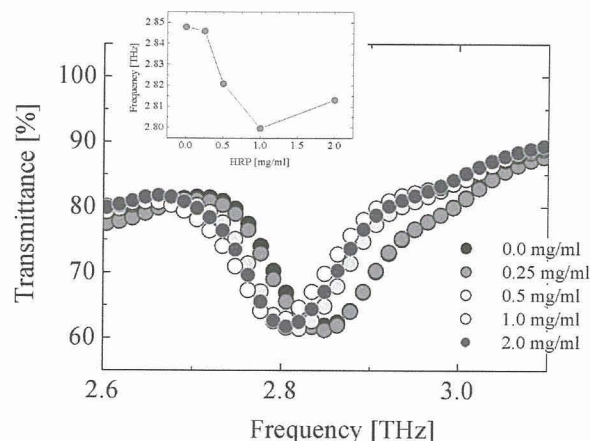


Fig. 8 Measured transmission spectra of the thin metallic mesh with printed peroxidase with various amount.

かと考えられる。なお、ペルオキシダーゼの至適温度は 40~45 °C で、生体内に存在する他の酵素と大きく変わらないことから、今後他の酵素やタンパク質にもインクジェットプリンターによる塗布が応用できると期待される。Fig. 8 にペルオキシダーゼを印刷した薄型金属メッシュの透過スペクトルのディップ部を示す。また、図中左上枠内の図はペルオキシダーゼの量とディップの周波数の関係を示しており、4段階のいずれの濃度においても、薄型金属メッシュ単体と比較して透過特性の低周波側へのシフトが確認できた。ただし、サンプル濃度 2.0 mg/ml においては、高周波側にシフトする傾向が確認された。

4.2 ESD法によるアビジンの検出実験

導電性のある基板に対して DNA やタンパク質などの生体高分子を均一に塗布する方法として、ESD (electrospray deposition) 法²⁴⁾が報告されている。本手法は常温、常圧下で行われ、生体高分子の活性を保ったままサンプルを基板に固定できる方法である。そこで我々は、本手法による薄型金属メッシュへのサンプル塗布実験をおこなった。塗布に使用したサンプルは、アビジン（ナカライテスク 純度 97 % 凍結乾燥粉末）を滅菌蒸留水に水溶させたものである。アビジンは卵白中に存在する低塩基性糖タンパク質で、ビオチン (Biotin) と結合し、その親和力は強く不可逆であるため研究用試薬として広く利用されている。本実験では ESD 装置として、Fuence 社製 ES-1000 を利用した。本装置は、サンプルを供給するガラス製のキャピラリとサンプルを塗布する基板を載せる回転台で構成されており、キャピラリ内のサンプルと基板を固定した回転台は高電圧電源を介して電氣的につながっている。キャピラリと基板との間に

高電圧を印加すると、内径 30 μm 程度のキャピラリの開口先端に強力な電界が発生し、表面張力との均衡が崩れ、ナノサイズのサンプル溶液が飛び出す。このとき、溶液は瞬時に蒸発し、飛び出したサンプルは、静電気力によって基板（グランド面）に引き寄せられ、堆積する。

Table 2. Parameter of the ESD samples.

Name.	Substrate	Density of Avidin
#1	Polyethylene membrane sputtered with platinum ^{*1}	200 ng/mm ²
#2	Thin metallic mesh ^{*2}	200 ng/mm ²
#3	Thin metallic mesh ^{*2}	1200 ng/mm ²

^{*1} Thickness of the polyethylene membrane is 10 μm and the thickness of platinum layer is 50 Å.
^{*2} g: 76.3 μm , 2a: 18.3 μm , t: 6 μm .

作成したサンプルの概要を Table 2 に示す。今回は、薄型金属メッシュとの感度を比較するために、厚さ 10 μm のポリエチレンに白金をスパッタした基板を用意した。ポリエチレンは THz 波に対して透過性が高く、周波数特性がフラットであるが、ESD 法でサンプルを塗布するには導電性を有している必要があったため、白金を薄くコートしたポリエチレンをサンプル塗布に用いた。

Fig. 9 に、薄型金属メッシュの電子顕微鏡写真を示す。アビジンが塗布されていない場合は、メッシュの素材であるニッケルのザラザした表面が観察できたが、アビジンを 200 ng/mm² 塗布すると滑らかな様子里に変わり、1200 ng/mm² になると、堆積したアビジンの様子が確認できるまでに変化した。今回の実験では、グリッド間隔が 76.3 μm の薄型金属メッシュを用いた。

Fig. 10 に作成したサンプルの透過スペクトルを示す。上段(a)は、ポリエチレンに白金をスパッタした平坦な基板に 200 ng/mm² のアビジンを塗布したサンプルと、アビジンを塗布していないサンプル

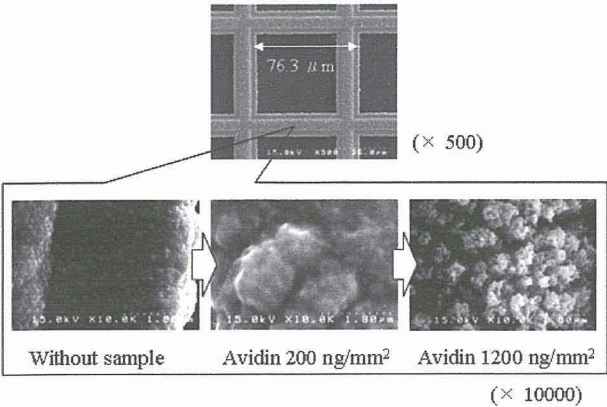


Fig. 9 SEM images of the thin metallic meshes with and without avidin.

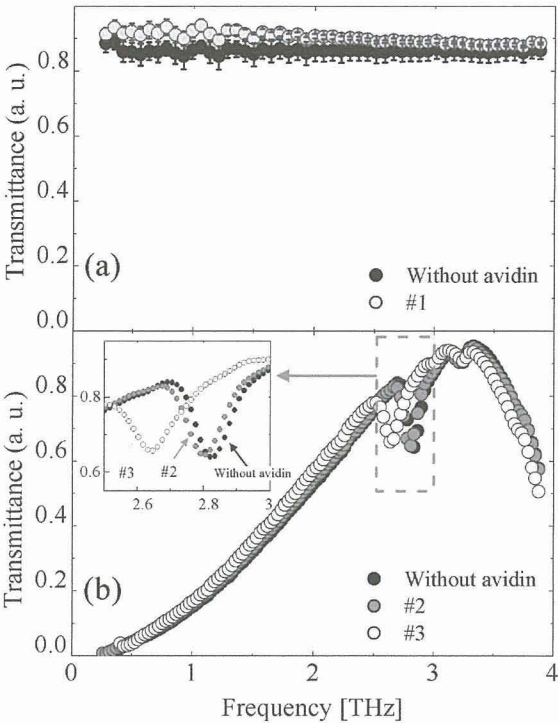


Fig. 10 Measured transmission spectra of the samples using the ESD method. (a) #1 and the same substrate without avidin. (b) #2, #3 and the same substrate without avidin. Expanded parts of the plot are shown in dashed line.

の透過スペクトルを比較したものである。白金のスパッタにバラつきがみられ、アビジンの有無による明瞭な違いを確認することはできない。一方、下段(b)は、薄型金属メッシュにアビジンを塗布したサンプルの透過スペクトルを示している。アビジンを塗布していない場合に比べて、量に応じて段階的に低周波側にシフトしている様子が確認できる。また、図中の枠内は急峻なディップ部を拡大したもので、アビジンの無い場合の 2.82 THz から順に 2.81 THz, 2.64 THz とシフトしている。このことは、先の実験同様に、薄型金属メッシュ近傍の局所的に電界の強い部分にアビジンを固定することにより、アビジンの屈折率が固定量に応じてその電場に影響を及ぼし、周波数特性の変化としてテラヘルツ帯で検出されていることを示している結果であると考えられる。

5. まとめ

本研究の目的は、THz 波の新しい利用法として研究が進められているタンパク質のラベルフリー診断の可能性を実現化するための要素技術の開発である。そこで今回、印刷技術による金属メッシュの

作成法を視野に入れ、厚みが数マイクロメートルと薄い金属メッシュの透過特性と機構サイズの関係を調べたところ、赤外領域で古くから研究されていた伝送線路理論による近似解から求めた透過特性と同様の特性を確認することができた。さらに印刷でサンプルを塗布することを想定し、市販のプリンターを使った段階的な塗布実験を行い、サンプル量に応じた透過特性の低周波側へのシフトを得、画像処理ソフト上で容易にサンプルの吐出量をコントロールできる方法を提案した。また、実際の生体高分子について、プリンターとESD法の2種類の塗布方法について実施し、それぞれが活性を保つままタンパク質を塗布できることを実験的に確認し、アビジンについては200 ng/mm²という微量なサンプル量に対して透過特性がシフトする様子を確認できた。

今後、抗原抗体反応などさまざまなタンパク質をナイロンメンブレン上で高感度かつ試薬を用いることなく分析できる技術の開発を目指し、ナイロンメンブレン上に印刷でメッシュを作成し、サンプルを定量的に任意の場所に塗布する要素技術の開発を行う予定である。

謝辞

本研究の遂行にあたり、株式会社フューエンスの加瀬廣取締役副社長ならびに最上主任研究員には、メッシュセンサへのサンプル塗布に際し快くご協力いただきました。東北大学農学研究科の川井泰英君にはサンプルの準備など多くの場面で御協力いただきました。深く感謝いたします。また、本研究は、厚生労働省科学研究費補助金萌芽の先端医療技術推進研究事業よりサポートされました。

参考文献

- 1) M. van Exter and D. Grischkowsky : Physical Review B **41** (1990) 12140.
- 2) M. Hangyo, T. Nagashima and S. Nashima : Meas. Sci. Technol. **13** (2002) 1727.
- 3) V. P. Wallace, P. F. Taday, A. J. Fitzgerald, R. M. Woodward, J. Cluff, R. J. Pye and D. D. Arnone : The Royal Society of Chemistry **126** (2003) 255.
- 4) M. Brucherseifer, M. Nagel, P. H. Bolivar, H. Kurz, A. Bosserhoff and R. Büttner : Appl. Phys. Lett. **77** (2000) 4049.
- 5) M. Nagel, P. H. Bolivar, M. Brucherseifer, H. Kurz, A. Bosserhoff and R. Büttner : Appl. Phys. Lett. **80** (2002) 154.
- 6) S. P. Micken, A. Menikh, H. Liu, C. A. Mannella, R. MacColl, D. Abbott, J. Munch, and X.-C. Zhang : Phys. Med. Biol., **47** (2002) 3789.
- 7) B. Ferguson and X.-C. Zhang : Nature materials **1** (2002) 26.
- 8) R. Ulrich : Infrared Physics **7** (1967) 37.
- 9) K. Sakai, T. Fukui, Y. Tsunawaki and H. Yoshigawa : Jpn. J. Appl. Phys. **8** (1969) 1046.
- 10) F. Miyamaru, T. Kondo, T. Nagashima, and M. Hangyo : Appl. Phys. Lett. **82** (2003) 2568.

- 11) F. Miyamaru and M. Hangyo : Appl. Phys. Lett. **84** (2004) 2742.
- 12) H. Cao and A. Nahata : Opt. Express **12** (2004) 1004.
- 13) F. Miyamaru, S. Hayashi, C. Otani, K. Kawase, Y. Ogawa and H. Yoshida : Opt. Lett. **31** (2006) 1118.
- 14) T. Kondo, T. Nagashima, M. Hangyo : Jpn. J. Appl. Phys. **42** (2003) L373.
- 15) R. Ulrich, K. F. Renk and L. Genzel : IEEE Trans. Microwave Theory Tech. **11** (1963) 363.
- 16) C. C. Chen : IEEE Trans. Microwave Theory Tech. **21** (1973) 1.
- 17) S. W. Lee : IEEE Trans. Antennas Propagat. **19** (1971) 656.
- 18) R. Ulrich, T. J. Bridges, M. A. Pollack : Appl. Opt., **9** (1970) 2511.
- 19) J.M. Laarre, N. Coron, R. Courtin, G. Dambier and M. Charra : Int. J. Infrared and Millimeter Waves **2** (1981) 273.
- 20) H. F. Ghaemi, T. Thio, D. E. Grupp, T. W. Ebbesen, H. J. Lezec : Physical Review B **58** (1998) 6779.
- 21) 小倉真哉, 山本伸子 : BIO INDUSTRY **23** (2006) 23.
- 22) J. Saraiva, J. C. Oliveira, S. Oliveira and M. Hendrickx : International Journal of Food Science and Technology **31** (1996) 233.
- 23) J. Saraiva, J. C. Oliveira, A. Lemons and M. Hendrickx : International Journal of Food Science and Technology **31** (1996) 223.
- 24) V. N. Morozov and T. Ya. Morozova : Anal. Chem. **71** (1999) 3110.

(論文受付 200*年*月*日, 論文受理 200*年*月*日)

■著者紹介■

氏名 小川 雄一

所属 東北大学大学院 農学研究科 (〒981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通南宮町1-1)

1995年、岡山大学農学部卒業。1997年、同大学院農学研究科地域環境農学専攻修了、同年、農学修士。1997年、ヤンマー農機(株)中央研究所勤務。2001年、理化学研究所基礎技術開発室研究協力員、波長走査干渉計の研究に従事。2003年、同川瀬独立主幹研究ユニット研究員、テラヘルツイメージングの応用開発に関する研究に従事。2004年、東北大学大学院助手。2005年、同助教、同年、農学博士。現在に至る。テラヘルツ波およびミリ波の農業応用に関する研究に従事。所属学会：応用物理学会、電気学会、日本植物工場学会、農業機械学会、アメリカ農業生物工学会。E-mail : yogawa@bios.tohoku.ac.jp



氏名 林 伸一郎

所属 東北大学大学院 農学研究科 (〒981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通南宮町1-1), (独)理化学研究所 テラヘルツ光研究プログラム テラヘルツ量子素子研究チーム (〒980-0845 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 519-1399)

1998年明治大学理工学部物理学卒業。2000年明治大学大学院理工学研究科基礎理工学専攻物理系博士前期過程修了。2002年明治大学理工学部助手、レーザー光と原子による量子カオスの実験的研究に従事。2004年明治大学大学院理工学研究科基礎理工学専攻物理系博士後期過程修了、理学博士。同年より理化学研究所川瀬独立主幹研究ユニット研究員、テラヘルツ光パラメトリック光源の開発等に従事。2006年より同所緑川レーザー物理工学協力研究員。2005年より東北大学大学院農学研究科助手を兼任、テラヘルツ光およびミリ波を利用した応用研究等に従事。現在に至る。所属学会：応用物理学会、日本物理学会、レーザー学会。E-mail : shayashi@riken.jp



氏名 吉田 永

所属 東北大学大学院 農学研究科 (〒981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町1-1)

1998年, 宇都宮大学農学部卒業。(～1999年, 東北大学遺伝生態研究センター研究生) 2001年, 東北大学大学院農学研究科博士前期課程卒業。同年, 株式会社ノーノ商品開発室研究員, 2002年同社退社。2004年, 東北大学大学院農学研究科テラヘルツ生物工学部附属技術補佐員, テラヘルツ波を利用した生体高分子のラベルフリー検出に関する研究に従事。所属学会: 日本農芸化学会, 日本生物工学会。E-mail: yoshida_h@bios.tohoku.ac.jp



氏名 林 朱

所属 東北大学大学院 農学研究科 (〒981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町1-1), (独)理化学研究所 テラヘルツ光研究プログラム テラヘルツイメージング研究チーム (〒980-0845 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉519-1399)

2000年明治大学理工学部物理学科卒業。2002年明治大学大学院理工学研究科基礎理工学専攻物理系博士前期過程修了。同年キヤノン株式会社入社, インクジェットプリンターの開発に従事。2005年同社退社。同年独立行政法人理化学研究所テラヘルツイメージング研究チーム研究補助員。2006年より国立大学法人東北大学大学院農学研究科生物産業創生科学専攻テラヘルツ生物工学部附属技術補佐員を兼任, テラヘルツ光およびミリ波を利用した応用研究等に従事, 現在に至る。E-mail: ahayashi@riken.jp



氏名 大谷 知行

所属 (独)理化学研究所 テラヘルツ光研究プログラム テラヘルツイメージング研究チーム (〒980-0845 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉519-1399)

1990年, 京都大学理学部卒業, 1995年, 東京大学大学院理学系研究科天文学専攻修了, 同年, 理学博士。同年, 理化学研究所宇宙放射線研究室基礎科学特別研究員, X線天文衛星を用いた活動銀河核の観測的研究。1998年, 同X線極限解像装置研究開発チーム研究協力員, 超伝導体を用いたX線・極端紫外線の1光子分光検出器の開発に従事。2001年, 同川瀬独立主幹研究ユニット研究員, 超伝導体を用いたテラヘルツ波検出器の開発, テラヘルツイメージングの応用開拓研究に従事。2005年, 同テラヘルツイメージング研究チームリーダー, 現在に至る。テラヘルツイメージングデバイスと応用に関する研究に従事。所属学会: 応用物理学会, 日本物理学会, 日本天文学会, 電気情報通信学会, レーザー学会。E-mail: otani@riken.jp



氏名 宮丸 文章

所属 信州大学理学部物理科学科 (〒390-8621 長野県松本市旭3-1-1)

1999年, 大阪大学大学院工学研究科応用物理学専攻博士前期課程修了。同年, 富士写真フイルム株式会社入社, 光学機器開発研究員として従事。2001年, 同社退社。同年, 大阪大学大学院工学研究科応用物理学専攻博士後期課程入学。2004年, 同課程終了。工学博士。同年, 大阪大学レーザーエネルギー学研究センター特別研究員。2005年, 理化学研究所基礎科学特別研究員。2006年より, 現所属助手。テラヘルツ分光及び, フォトニック結晶・メタマテリアルの光学応答に関する研究に従事。所属学会: 応用物理学会, 日本物理学会。Email: miyamaru@shinshu-u.ac.jp



氏名 加藤 英志

所属 名古屋大学大学院 工学研究科 (〒464-8603 愛知県名古屋市中種区不老町)

1998年, 名古屋工業大学工学部卒業。2000年, 同大学院工学研究科博士前期課程修了。同年, 株式会社アドバンテスト入社, 光通信用測定器開発に従事。2004年, 株式会社アドバンテスト研究所出向。2006年, 名古屋大学大学院工学研究科博士後期課程進学, 現在に至る。所属学会: 応用物理学会, 電子情報通信学会。E-mail: eiji.kato@atl.advantest.co.jp



氏名 川瀬 晃道

所属 名古屋大学大学院 工学研究科 (〒464-8603 愛知県名古屋市中種区不老町)

1989年, 京都大学工学部電子工学科卒業。1996年, 東北大学大学院工学研究科電子工学専攻修了, 同年, 工学博士。同年, 東北大学電気通信研究所COE研究員。1997年, 東北学院大学工学部助手, 1998年, 同講師, 1999年, 理化学研究所テラフォトンクス研究チームフロンティア研究員(サブチームリーダー), 非線形光学によるテラヘルツ波光源の開発に従事。2001年, 同川瀬独立主幹研究ユニット独立主幹研究員(ユニットリーダー), テラヘルツ波の発生とテラヘルツイメージングの応用に関する研究に従事。2005年, 名古屋大学大学院工学研究科量子工学専攻教授, 現在に至る。テラヘルツイメージングと応用に関する研究に従事。所属学会: 応用物理学会, 電気情報通信学会, レーザー学会。E-mail: kawase@nuee.nagoya-u.ac.jp

