

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

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19年度 総括研究報告書

主任研究者 小川 雄一

平成20（2008）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 小川 雄一	-----	1
II. 分担研究報告 1. 専用超小型テラヘルツ波光源の開発 林 伸一郎	-----	8
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	12
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	15

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）
（総括・分担）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 准教授

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な診断を可能とする。

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難く、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

前年度までに安定性の高い連続波テラヘルツ波光源（BWO）の周波数に合わせた、市販のエレクトロフォーミング製金属メッシュを使用し、センサーとしての特性および原理検証を行った。その結果、メッシュに斜め入射することにより、共鳴的な吸収のディップが生じることを明らかにし、さらにメッシュに塗布したサンプルの複素屈折率に応じてディップがシフトする様子を確認している。この特性を利用することにより、高感度な微量分析の可能性が示唆された。さらにインクリボン式の市販プリンタによる印刷メッシュの作成にも着手し、金属メッシュ同様に表面プラズモン共鳴と入射テラヘルツ波のカップルによる異常透過現象を観察している。

これまでの結果をふまえ、H19年度にはさらに詳細なメッシュ特性の原理確認を行った。また、金属メッシュをセンサーとして用い、タンパク質の微量検出やメンブレン上の生体高分子相互作用の非標識分析を行い、その有用性を確認した。さらに、高精度かつ高密度な印刷を目指し、前年まで基礎実験を続けていたインクリボン式の印刷メッシュ作成法のみならず、銀ナノ粒子による印刷メッシュの作成を試みた。以下にこれらの研究方法について記す。

1. 金属メッシュの原理確認およびセンシング実験

我々が用いている金属メッシュの開口サイズや厚さ、金属の誘電分散などを考慮し、電磁界シミュレーションによる電磁界解析を行い、詳細な考察を行った。電界分布の解析には、有限差分時間領域 (Finite Difference Time Domain: FDTD) 法を用いた。このとき、金属メッシュの機構サイズは $g=76.3 \mu\text{m}$, $2a=18.3 \mu\text{m}$, $t=6 \mu\text{m}$ とし、開口面に対して垂直入射するものとした。金属メッシュの材料であるニッケルの誘電分散にはドルーデモデルを適用し、電界分布を計算する周波数は、3 THz とした。さらに、同様の解析手法を用いて前年度までに明らかにしている斜入射成分によるディップ構造のメカニズムの解明を行った。

先のシミュレーションで解析した結果を元に、タンパク質の付着量センシング実験を行った。定量的なサンプルの塗布を実現するためにプリンタ (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のインク吐出量を調整した。実験に使用したタンパク質はペルオキシダーゼで、標識酵素として広く使われているタンパク質である。今回使用したインクジェット方式のプリンタは、インクをプリンタ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ターゼ (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、またリン酸緩衝液中では 70~95 °C で酵素活性が報告されているため、加熱の影響が大きければ発色しないことが予想される。

印刷時の熱影響を調べるために、プリンタ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ターゼ水溶液をプリンタヘッドに供給した。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 μm)) を用い、プリンタを使ってペルオキシタ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。

次に、金属メッシュの検出感度を調べるために、同様にして 0.125 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1.0 mg/ml の濃度に調製したペルオキシターゼ水溶液を金属メッシュ ($g:76.3 \mu\text{m}$, $t:6 \mu\text{m}$) に直接印刷し、分光器にて透過スペクトルの変化からペルオキシターゼの検出を行った。

2. メンブレン上でのアビジン - ビオチン結合の検出

本実験では、 $t=8 \mu\text{m}$, $g=63.5 \mu\text{m}$, 開口幅 45 μm の金

属メッシュを使用し、メンブレン上で反応させたアビジン - ビオチン結合の検出を試みた。

ウシ血清アルブミン (BSA) (Albumin bovine serum, powder; SIGMA) にビオチン標識を施し (EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation Kit; Pierce Biotechnology, Inc.), PVDF メンブレン (Immun-Blot™ PVDF Membrane; Bio-Rad) を浸してメンブレン上に固定した。十分に乾燥させた後、0.1% BSA 溶液 (0.1% BSA 20 mM Tris, 500 mM NaCl, 0.05 % Tween-20, pH 7.5) 中でブロッキング処理を行った。その後緩衝液中 (20 mM Tris, 500 mM NaCl, 0.05 % Tween-20, pH 7.5) で洗浄した後、アビジン (Avidin, Chicken Egg White Freeze-dried Powder; Funakoshi) 及びストレプトアビジン (Streptavidin(rehydrated); Bio-Rad) とそれぞれ反応させた。反応後緩衝液で洗浄し、最後に純水で洗浄し、乾燥後に分光器による分光測定を行った。

ビオチンの標識量は 2-(4'-Hydroxyazobenzene) Benzoic acid による吸光度変化 (EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation Kit; Pierce Biotechnology, Inc.) と、重量の測定から 7.2 ng/mm² であった。測定は PVDF メンブレンのみとブロッキング処理後、アビジン及びストレプトアビジンとの反応後に行った。いずれも緩衝液成分の影響を除去するために、最後に純水で洗浄し、十分に乾燥させた後に測定した。また、ビオチン標識 BSA の塗布状況はアルカリフォスファターゼを使用した発色反応 (Amplified Alkaline Phosphatase Goat Anti-Rabbit Immun-Blot Assay Kit; Bio-Rad) によって確認し、メンブレンの片面全体に塗布されていることを確認した。このメンブレンサンプルを金属メッシュが固定してある吸引式専用ホルダーで金属メッシュと密着させ、透過特性の変化を測定した。

3. インクリボン方式による印刷メッシュの作成

一般に家庭用カラープリンタは、インクジェット式かインクリボン式に大別できる。前者はインクを数ピコリットルの液滴にして紙面に吹き付ける方法で、液滴の作成法でさらにサーマルインクジェット式とピエゾ式に分けられる。一方、後者は熱転写プリンタとも呼ばれ、固形インクを薄く塗布したインクリボンに熱した印字ヘッドを押し付け、インクを溶かして紙に転写するプリンタである。

本実験ではまず、インクリボン式プリンタによって以下のような仕様のサンプルを試作し、THz-TDS(赤外パルス分光計測装置 pulse IRS-2300rkopt)によって透過特性を測定した。測定は平行光で行い、測定範囲は半径 5 mm の円形。水蒸気の影響をさけるため、装置内を真空にして測定した。

表1 試作したメッシュサンプル

材質：アルミニウム

試料 No.	グリッド間隔(g)	ライン幅(L)	厚み(t)
①	100 μm	20 μm	20 nm
②	140 μm	40 μm	20 nm
③	200 μm	80 μm	20 nm

基板に印刷されたインクリボンは、図1に示すとおり、金属層の両面に剥離層と接着層が存在する。

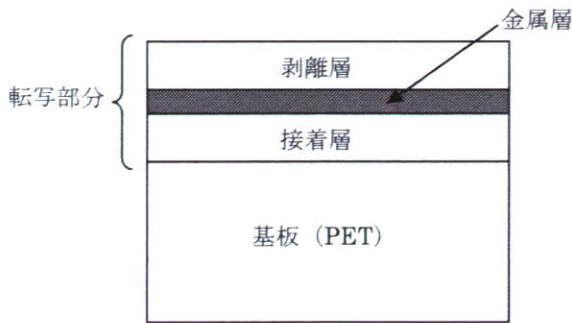


図1 PETに印刷されたインクリボンの断面図

また、本メッシュセンサーの原理解析を通じて、金属層の近傍での屈折率変化に最も感度が高いことも確認済みである。そこで剥離層にビオチンを混ぜ込んだ特殊インクリボンを試作し、アビジンとの結合反応実験による評価を行った。作成したサンプルは、PETを基板とし、その上に接着層を介して剥離層を持つサンプル(B,C)と、接着層の上に金属層(Cu: 20 nm)でメッシュを構成し、その上面に剥離層を持つサンプル(E,F)の4パターンである。サンプルBおよびEには剥離層にビオチン $5 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ を付加し、サンプルCとFにはビオチン化BSAを $5 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 付加した。試作したメッシュサンプル(E,F)は金属部の線幅(L)を $120 \mu\text{m}$ 、グリッド間隔(g)を $360 \mu\text{m}$ とし、FTIRにて分光測定を行った。

さらに、サンプル(B,C)においてはアルカリフォスファターゼによる発色実験を行い、インクリボンに付加したビオチンの活性を確認することとした。

4. インクジェット方式による銀ナノインクを用いた印刷メッシュの作成

ピエゾ素子を用いた市販のインクジェット式プリンタ(コニカミノルタIJ社製EB100+XY100)により、ナノサイズの銀インクが基板に塗布され、 130°C 30分程度の焼成過程を行うと、溶剤等が除去され、金属光沢を有する膜を作ることが可能である。そこで本実験ではまず、光沢紙に本プリンタを用いて一様に銀色で塗りつぶした部分が実際にテラヘルツ波を伝播しないかどうかを確認した。次に、同じく光沢紙に様々なサイズのメッシュ構造を印刷で作成し、FTIRにて透過特性を測定した。

さらに基板をメンブレンに変更し、均一に印刷した部位を分光器で測定したところ、高い透過性を示した。このことは、金属面としての特性を有していないことを示しており、テスターで導電性を確認することができなかった。このことを確認するため、走査型電子顕微鏡による表面観察を行った。

(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. 金属メッシュの原理確認およびセンシング実験

図2に金属メッシュの開口を含む単位格子のx-z面から見た電界強度分布を示す。本図は入射電界振幅に対して規格化した絶対値の分布を示しており、(a)は E_x 成分を(b)は E_z 成分を示す。

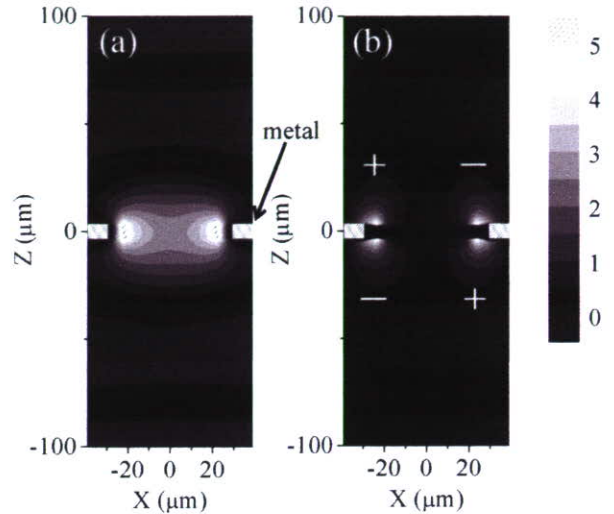


図2 金属メッシュの電界分布 ((a): E_x 成分, (b): E_z 成分)

さらに、入射光に対して金属メッシュ面を傾けた、斜入射の場合の解析を行い、以下のような結果を得た。

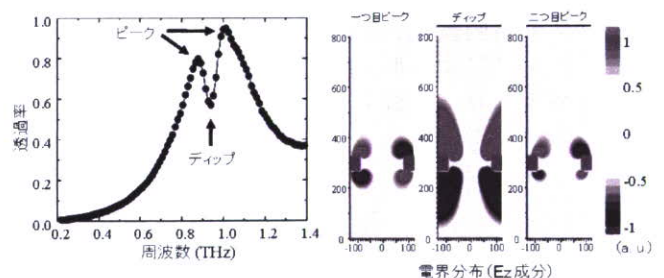


図3 斜入射時の電界分布解析結果(左: FTIRによる透過特性, 右: 各周波数による電界分布解析結果)

開口率以上の透過率を示す異常透過現象は、Ebbesenらによって、金属表面に励起された表面プラズモンポラリトン(SPP)と入射光とのカップルとそれに伴う再放射によると考えられている。しかし、斜入射の際に生じるディップは古くから知られている現象であるが、その物理的な裏づけは明らかとなっていない。今回、メッシュを 5° 傾けて連続波を入射すると、数フェムト秒後に金属表面で定在波となり、メッシュの裏表で電界の向きが逆になる現象が観測された。これにより入射された電磁波は反射され、その結果透過特性でディップ構造が観測された。斜入射の場合に定在波が生じる理由としては、金属表面を伝播する成分が発生し、隣の開口から伝播してきた E_z 成分と空間を飛んできたテラヘルツ波によってエッジ部分に励起される E_z 成分のタイミングと符号がぴったり合うために、徐々に定

常状態へと入っていくことが考えられた。このようにして生じたディップ部では電界の強度が約 20 倍になっており、この周波数を利用したセンシング法が高感度になることを裏付ける結果を得た。

これらのセンシング法を用いて、実際にメッシュ上にペルオキシターゼをプリンタで定量的に塗布し、FTIR で分光測定を行った結果、ディップ部の吸光度スペクトルに対して、ローレンツ関数をフィッティングして求めたディップ周波数を縦軸で表し、横軸にサンプル塗布濃度から換算した単位面積あたりの量をプロットした図を以下に示す。

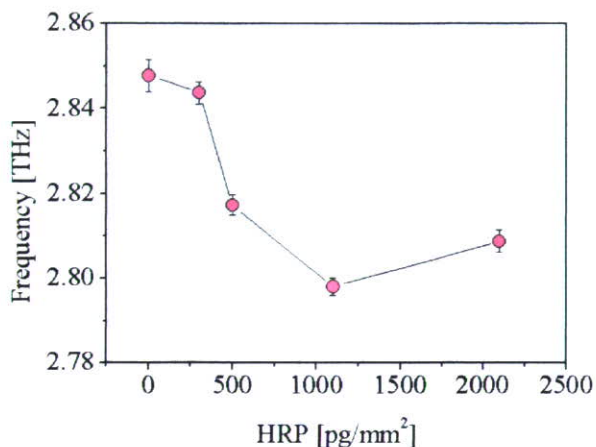


図4 サンプル量とディップ周波数のシフトの様子

この結果、約 500 pg/mm² のペルオキシターゼを検出できることが確認できた。また、2100 pg/mm² ではディップが高周波側に動く様子が確認されたが、これはプリンタによる吐出量が多くなり、メッシュ上で液滴が集まり、乾燥した後ムラが生じていることに起因すると考えられる。

2. メンブレン上でのアビジン - ビオチン結合の検出

図 5 にメンブレン上での結合の有無に伴い、低周波側にディップ周波数がシフトする様子を示す。

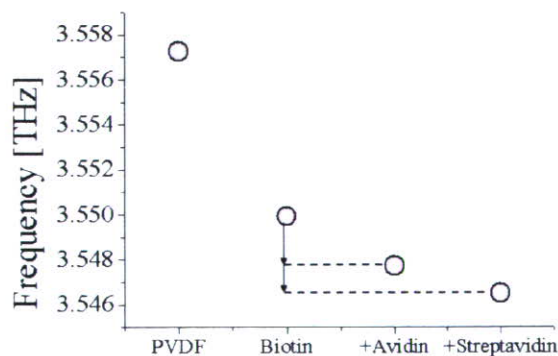


図5 ディップ周波数のシフトの様子

ビオチンを固定する際にメンブレンに対する BSA の結合を利用したため、本実験ではビオチン化した BSA を用いた。そのため、PVDF メンブレンを金属メッシュに密着させて透過測定した際よりも大きく低周波側へ

のシフトが観測された。その後このビオチンにアビジンやストレプトアビジンが結合すると、順に低周波側にシフトする様子が確認された。ストレプトアビジンとアビジンはほぼ同じ分子量を持つ生体高分子として知られているが、一般にストレプトアビジンの方がビオチンに対して結合能が高いことが知られている。本結果もそのストレプトアビジンの方が多く結合していることを示す結果が得られており、それらを裏付ける結果と言える。

3. インクリボン方式による印刷メッシュの作成

図 6 に試作したメッシュサンプルの透過特性を示す。

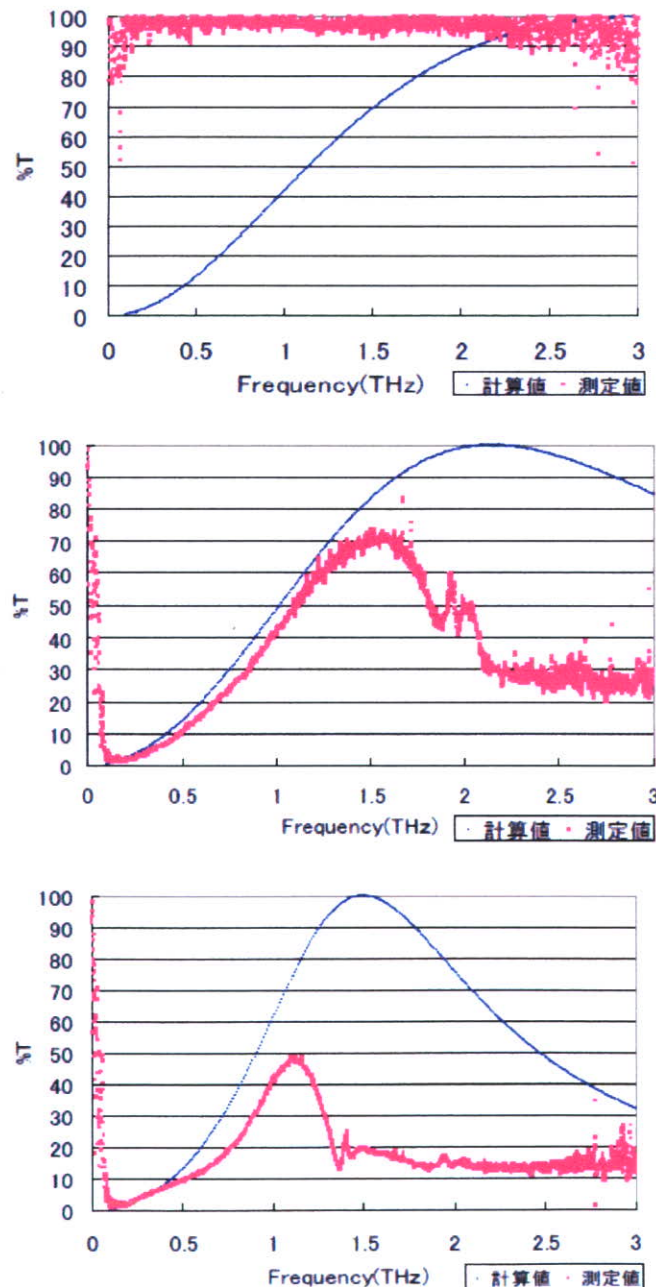


図6 印刷メッシュの透過特性と計算値
(上段より試料 No.①, ②, ③)

図中の実線は Ulrich が金属メッシュフィルターのバンドパス特性を等価回路で説明しようとした計算式を元に算出した計算値である。この計算値は金属製のメ

ッシュと非常にマッチすることは前年度までに確認済みである。

試料②、③では透過率は低いものの、バンドパス特性が確認できた。また、計算値よりも透過率が低く、ピークの周波数が低周波側に観測される結果となった。このことは、金属部分の上下面が剥離層や接着層で満たされていることや、局在した電界の中に、基板のPETフィルムが存在するため、これらの複素屈折率の影響を受けていることが考えられる。試料①でバンドパス特性が確認できず、透過特性が高く見える理由としては、グリッド間隔が狭く、線幅が他のものより厳しい条件での印刷であることから、周期構造で十分に導電性を持たせることができなかったためと考えられた。

金属部分の材料をアルミ以外にも銅で試作し、印刷精度などを比較したところ、アルミの方が細かい印刷が可能で、金属部の厚みに関しては、銅の方が厚くできることが分かった。図7に、剥離層にビオチンなどを付加した特殊インクリボンにより作成した印刷メッシュの透過特性を示す。

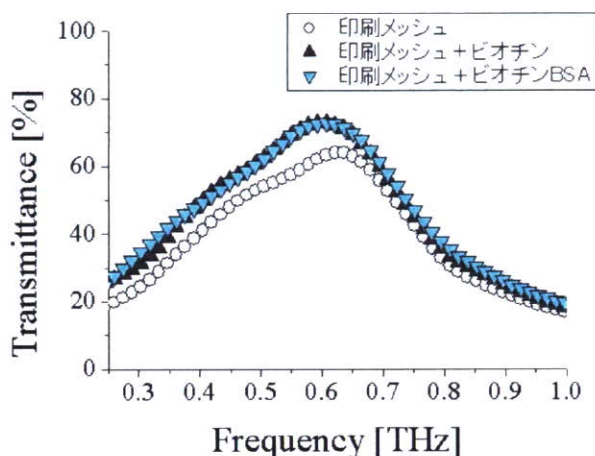


図7 ビオチン付加インクによる印刷メッシュの透過特性

0.6 THz付近に異常透過のような特性を観察することができたが、ビオチンなどを付加していない印刷メッシュの方が透過率が低くなる傾向が見られた。ビオチンおよびビオチン化BSAが付加された印刷メッシュの方が低周波側にシフトしているように見えるが、BSAの存在有無に関わらず同程度しかシフトしていないことから、正しく機能していないことが予想された。さらに発色によりビオチンの活性を確認した結果を図8に示す。

もし、ビオチンが活性を保ったまま表面に存在すると、発色試験により紫色に呈するが、今回の実験では観測できなかった。さらにSEMによる顕微鏡観察で剥離層の有無を確認したところ、剥離層の存在が確認できたことから、インクリボンの製造過程において、何らかの化学反応や物理的な作用によってビオチンの活性が失われたと推察することができる。

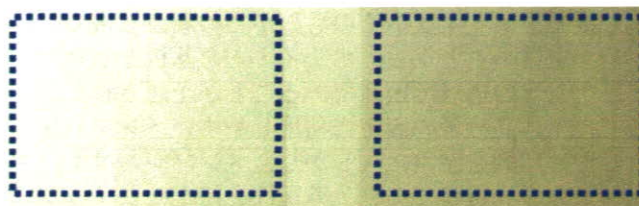
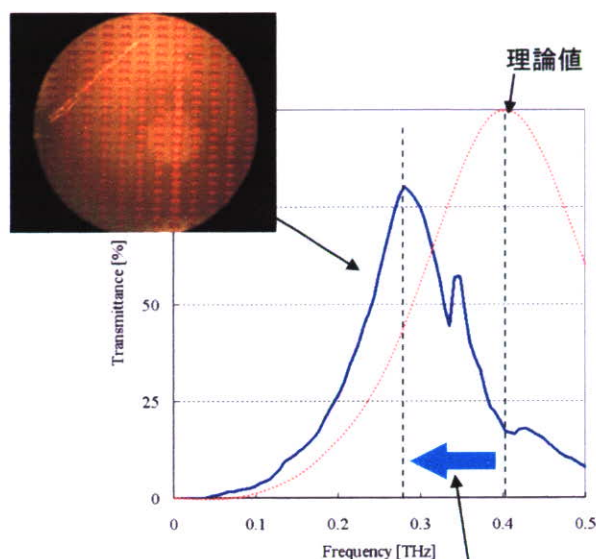


図8 発色試験の結果

4. インクジェット方式による銀ナノインクを用いた印刷メッシュの作成

図9にポリイミド基板に作成した銀ナノインクによる印刷メッシュの顕微鏡写真とその透過特性を示す。



基板の影響によるシフト

図9 銀ナノインクによる印刷メッシュの透過特性

ポリイミドの屈折率を受けて低周波側にシフトした透過特性を示したが、異常透過を観測することができた。ただし、ドットによる塗布を行うため、導電性を持たせるには重ね打ちなどの工夫を必要とし、そのため線幅や開口サイズによっては再現性が得られない傾向が見られた。しかしこの点については、基板を確定した後にプリンタの設定を調整し、再現性が得られる条件出しの検討が可能である。

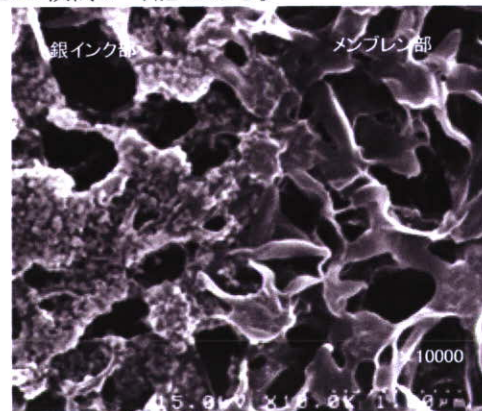


図10 銀ナノインクを印刷したメンブレン表面のSEM画像 (左側：銀インク部、右側：メンブレンのみ)

一方で、ポリイミドそのものがこの周波数帯で吸収ピークを持つことから、ポリイミドを基板としたセンサーチップの構成は困難であることが予想された。そこで、生体高分子の固定に利用しやすいメンブレンに対しての印刷を試みた。しかし、メンブレンはナノオーダーの多孔質膜であり、導電性を持たせたメッシュの作成が困難であった。図 10 に SEM による観察画像を示す。そこで、この問題を解決するために、メンブレン表面に 1 層コーティングし、その上に銀インクを印刷する方式を検討した。その結果銀インクの印刷が良好に行えた。このとき、生体高分子はメンブレンの裏面に固定することとなり、その上での反応の有無を銀インクによるメッシュセンサーで検出する。そこで次年度より、プロトコルの最適化を行い、本手法による印刷メッシュの作成および特性の評価を行う予定である。

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。そこで前年度まで明らかにしてきた結果をふまえ、今年度は金属メッシュの機構解析、生体高分子の非標識センシングの基礎実験、印刷メッシュの作成に関する様々な試みを検討した。その結果、さらなる問題点が明らかとなり、その改善策も出てきつつある状況にある。

一方、最近の研究結果より、金属メッシュの電磁界解析の結果から、金属表面の電界と、金属開口内部の電界に分けて考えることができることが明らかになりつつある。これは、これまで使っていた金属メッシュで生じる異常透過現象が、開口のアンテナ効果と SPP の効果の両方によるものであることが分かってきたためである。この結果を利用することで、これまで用いていた金属メッシュよりもより高感度な形状を特定できることが期待できる。次年度以降はこの結果をふまえ、下地印刷付メンブレン印刷メッシュ上での生体高分子相互作用検出実験を行う予定である。さらに、研究分担者による光源開発の結果を織り込んだ装置の立ち上げおよび性能を評価し、研究を総括する予定である。

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, "テラヘルツイメージングの分析への応用," *ぶんせき*, vol.11, pp. 575-578 (Nov. 2007).
- 加藤 英志, 吉田 永, 林 伸一郎, 小川 雄一, 水津光司, 川瀬 晃道 "金属メッシュを利用したテラヘルツ帯センシングの基礎検討", *電学論 C*, Vol. 127, No. 12, pp.2088-2092 (Nov. 2007).
- H. Yoshida, Y. Ogawa, Y. Kawai, S. Hayashi, A.

Hayashi, C. Otani, E. Kato, F. Miyamaru, K. Kawase, "Terahertz sensing method for protein detection using a thin metallic mesh," *Appl. Phys. Lett.* Vol.91, No. 25, 253901 (Dec. 2007).

- 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*, 第 16 巻, 2 号, pp. 52-59, (Dec. 2007).
- 2. 学会発表
 - E. Kato, S. Yoshida, H. Yoshida, A. Hayashi, S. Hayashi, Y. Ogawa, C. Otani and K. Kawase, "THz sensing method based on metallic mesh and an application for high-resolution sensing and imaging," *Conference Digest of the IRMMW-THz2007*, p. 1012, (Sep. 3 - 7, 2007).
 - E. Kato, S. Yoshida, H. Yoshida, A. Hayashi, S. Hayashi, Y. Ogawa, C. Otani and K. Kawase, "Terahertz Sensing and Imaging Using Metallic Periodic Structures," *Proceedings of International Symposium on EcoTopia Science 2007*, pp. 1229-1230 (Nov. 2007).
 - H. Yoshida, Y. Kawai, S. Hayashi, E. Kato, M. Oikawa, T. Miyazawa, C. Otani, K. Kawase and Y. Ogawa, "Label-free immunoassay by the resonant transmission phenomenon of a thin metallic mesh," *Proceedings of International Symposium on EcoTopia Science 2007*, pp. 1258-1260 (Nov. 2007).
 - Y. Ogawa, S. Hayashi, C. Otani and K. Kawase, "Terahertz Sensing for Ensuring the safety and Security (invited)," *PIERS 2008 Hangzhou Program*, pp. 408-412 (Feb. 2008).
 - 小川雄一, 大谷知行, 川瀬晃道, "テラヘルツイメージングシステムによる化学分析," 第 68 回分析化学討論会講演要旨集, p.256, (May 20, 2007).
 - 小川雄一, 林伸一郎, 大谷知行, 川瀬晃道, "テラヘルツ分光イメージングの応用 (招待講演)," *日本食品工学会第 8 回 (2007 年) 年次大会講演要旨集*, p. 6, (Aug. 2-3, 2007).
 - 吉田永, 川井泰英, 林伸一郎, 及川雅人, 宮澤陽夫, 大谷知行, 川瀬晃道, 小川雄一, "金属メッシュによるラベルフリーイムノアッセイ法の開発," 第 59 回日本生物工学会大会講演要旨集, p.144 (Sep. 2007).
 - 小川雄一, 林伸一郎, "テラヘルツセンシングによる非標識分析への試み," 第 22 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラム予稿集, pp. 7-8 (Sep. 30, 2007).
 - 小川雄一, 林伸一郎, 大谷知行, 川瀬晃道, "テラヘルツ波を用いたイメージング応用 (招待講演)," 平成 19 年度日本分光学会 顕微分光部会シンポジウム 分子イメージングに向けた分光技術の展開～電子・振動からみる生命機能モニタリングにむけて～, 講演予稿集, pp. 15-16 (Oct. 2007).
 - 小川雄一, "食の安全・安心のためのテラヘルツ波応用に関する研究," 社団法人レーザー学会東京支部, 第 9 回先進レーザー応用「テラヘルツ電磁波が守る 安心して暮らせる社会」～テラヘルツ電磁波の社会基盤への適用～ テキスト, pp. 21-25 (Nov. 2007).

- 小川雄一, 吉田永, 川井泰英, 林伸一郎, "テラヘルツ表面波共鳴センサーによる非標識イムノアッセイ法," 第50回自動制御連合講演会 OS「食生活の安全確保のための赤外放射応用」講演要旨集, pp. (Nov. 24-25, 2007).
- 小川雄一, 林伸一郎, "テラヘルツ計測・イメージング応用," 平成19年度日本分光学会テラヘルツ分光部会シンポジウム「テラヘルツ分光法の最先端II～多様化と進歩～」講演要旨集, pp. 50-51 (Nov. 2007).
- 川井泰英, 吉田永, 林朱, 林伸一郎, 宮丸文章, 宮澤陽夫, 川瀬晃道, 小川雄一, "金属メッシュを用いた生体高分子の相互作用検出," 平成19年度日本分光学会テラヘルツ分光部会シンポジウム「テラヘルツ分光法の最先端II～多様化と進歩～講演要旨集」, p.96 (Nov. 2007).
- 吉田永, 川井泰英, 林伸一郎, 小川雄一, "金属メッシュによるタンパク質のラベルフリー検出," 電子情報通信学会技術報告 pp.99-102 (Nov. 2007)
- 小川雄一, "テラヘルツ波によるラベルフリーバイオチップの開発," 総合科学技術会議 科学技術連携施策群 ナノバイオテクノロジーが拓くイノベーションの世界 第二回ナノバイオテクノロジー連携群成果報告会プログラム, p. 107 (Dec. 5, 2007).
- 小川雄一, 林伸一郎, "農学応用に向けたテラヘルツ波研究(招待講演)," 応用物理学会 量子エレクトロニクス研究会・テラヘルツ電磁波技術研究会合同研究会「テラヘルツ分光・イメージングとテラヘルツデバイスの物理」講演資料, p.14-15 (2008).
- 小川雄一, 林伸一郎, 吉田永, 程麗, "テラヘルツ波による農学研究—食品分析から創薬まで—," 電子情報通信学会2008年総合大会プログラム, pp. SS43-SS44 (Feb. 2008).

H. 知的財産権の出願状況

1. 特許取得
 - 特になし
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（LiNbO₃）をレーザー光によって数百 MW/cm²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介した誘導ラマン散乱による広帯域テラヘルツ（THz）波発生が起こり、その発振線幅は数百 GHz～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、さらに、アイドラー光に対して光注入を行い、15 × 24 cm²程度の小型THz波パラメトリック光源から、周波数 1.5 THz、線幅 200 GHz以下、出力 180 pJ/pulse以上（尖頭値 100 mW以上）、のTHz波を観測した。

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（LiNbO₃）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制御する際にパルス幅の長い励起光が必要であり、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幅の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および波長可変化を目指す場合には線幅の狭い単一縦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、種光注入した場合に発生する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～100 MW/cm²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LiNbO₃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。実験装置の概略図をFig. 1に示す。実験装置は、励起光源、波長板、非線形光学結晶、注入光源、検出器から構成される。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（波長：1064 nm、最大エネルギー：750 μJ/pulse、パルス幅：420 ns、繰返し：100 Hz）、注入光源に小型の半導体レーザー（波長：1070–1080 nm、最高出力：30 mW）を使用したことで、15 × 24 cm²程度と非常に小型である。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φ 1.3 mm（半値全幅）である。両端面に励起光波長（1064 nm）に対する無反射膜を施した2本のMgO:LiNbO₃結晶（各4 □ 5 □ 65 mm）を間隔 100 μm以下になるように縦列配置し、励起光および注入光を、位相整合条件を満たす方向に入射した。THz波は結晶中を、励起光および注入光（アイドラー光）と、ノンコリニア位相整合条件を満たす方向に発生しながら通過する。このとき、MgO:LiNbO₃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

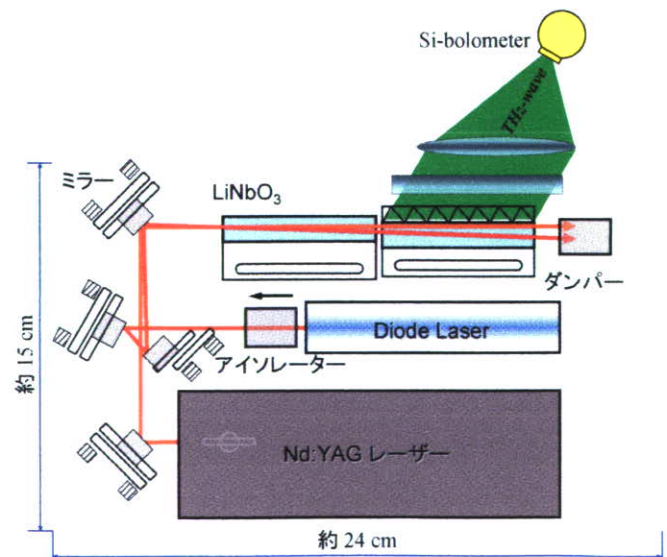
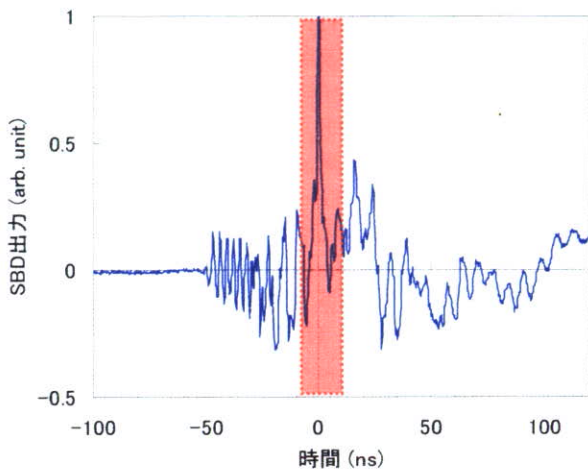


Fig. 1 実験装置概略。

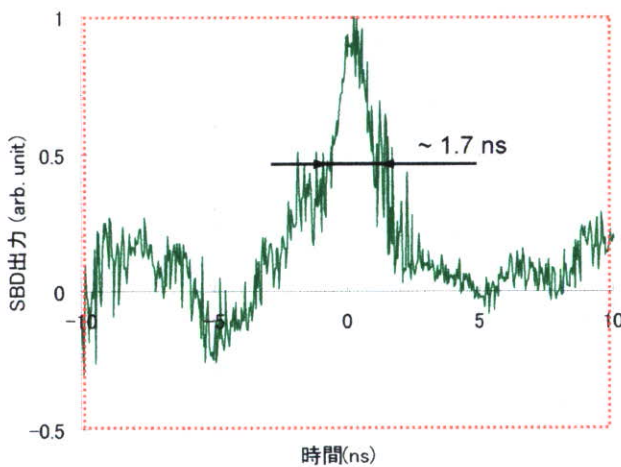
分布はビーム広がり小さく端面近傍を高強度励起できるため、従来のガウス型強度分布に対して有利である。発生した THz 波は、2 つ目の結晶の y 面に圧着した Si プリズムアレイによって結晶外に取り出され、レンズ系で集光後、Si ボロメーターもしくはショットキーバリアダイオードによって検出される。

C. 研究結果

Fig. 3 に、テラヘルツ波の時間波形を示す。検出器には SBD を利用した。(b) は (a) の拡大図である。励起光のパルス幅 5 ns に対して、THz のパルス幅は 1.7 ns (FWHM) であることが分かる。



(a) SBD 出力 (長時間)



(b) SBD 出力 ((a)の破線枠内拡大)

Fig. 3 テラヘルツ波時間波形

光注入を行った場合と行わなかった場合の THz 波出力の、励起光強度依存性を Fig. 3 に示す。両方の場合とも、励起光強度が上昇し約 30 mJ/pulse 付近に達すると、THz 波が観測され始める。その後、励起光エネルギーの増加に伴って THz 波出力は共に単調に増加する。最

高出力は、励起光強度が 55 mJ/pulse のとき、光注入を行わない場合、60 pJ/pulse (尖頭値 35 mW) だったのに対して、光注入 (連続波: 30 mW) を行った場合、180 pJ/pulse (尖頭値 105 mW) と約 3 倍に、発振線幅は 2 THz 以上に対して 200 GHz 以下と約 10 倍にそれぞれ向上した。結晶の損傷閾値は 60 mJ/pulse 程度であった。

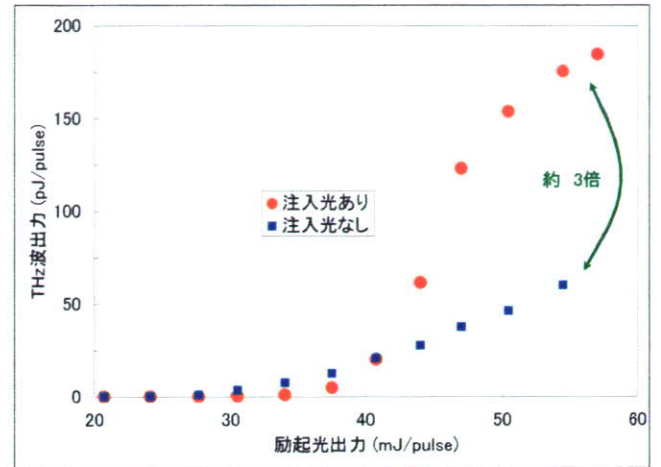


Fig. 3 テラヘルツ波出力の励起光強度依存性

Fig. 4 に、光注入によって出力 THz 光の波長を狭窄化した場合の、メタルメッシュエタロンによる波長計測例を示す。メタルメッシュエタロンの透過 THz 光強度変化より、THz 光の波長が 187 μm (周波数: 1.6 THz)、発生線幅 20 μm (170 GHz) 程度と見積もることができる。これは、この領域に現れる固体スペクトル計測に十分な線幅を備えていると考えられる。

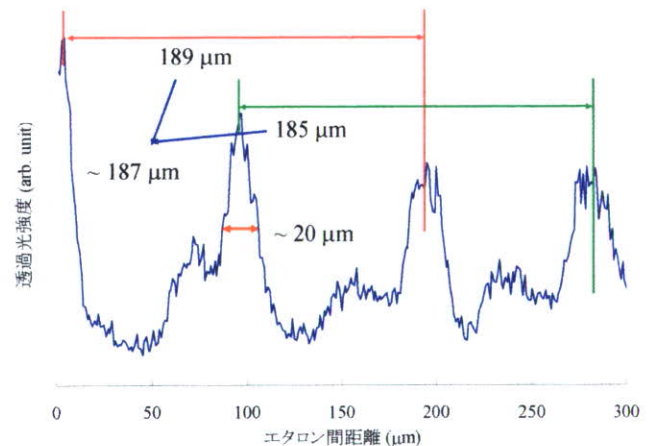


Fig. 4 メタルメッシュエタロンによる波長および線幅計測

D. 考察

光注入を行った場合の発生 THz 光線幅は、励起光および注入光の発生線幅、励起光強度に依存している。トップハット型強度分布をもつ短パルス光源を励起光源に用いた場合、発生線幅のさらなる狭窄化は期待できない。これは、トップハット型の強度分布を横モードの重ねあわせで成形しているためであり、その線幅

は約 100GHz である。しかし、固体スペクトル (吸収 100 GHz 程度) 取得や低透過率サンプルのイメージングに対して、高出力光源として有効である。

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、高強度励起および光注入による発生 THz 波線幅の狭窄化、高出力化を達成した。この励起光源によって、 $15 \times 24 \text{ cm}^2$ 程度の小型 THz 波パラメトリック光源から、最高出力 180 pJ/pulse (尖頭値 105 mW) の THz 波を観測した。

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。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Shin'ichiro Hayashi, Hiroaki Minamide, Tomofumi Ikari, Jun-ichi Shikata, Hiromasa Ito, Yuichi Ogawa, Chiko Otani, and Kodo Kawase, "Output power enhancement of Terahertz-wave parametric generator," *Appl. Opt.*, vol. 46, No. 11, pp. 117 - 123 (2007).

2. 会議抄録

- S. Hayashi, T. Shibuya, H. Sakai, H. Kan, T. Taira, Y. Ogawa, C. Otani, and K. Kawase, "Terahertz-wave Parametric Generation pumped by Microchip Nd:YAG laser," *Advanced Solid-State Photonics 2007 (ASSP2007)*, pp. TuC07, January, 2007.
- K. Kawase, S. Hayashi, "Terahertz-wave parametric generation and applications," *Proceedings of SPIE "Terahertz Physics, Devices, and Systems II,"* in press.
- Shin'ichiro Hayashi, and Kodo Kawase, "TERAHERZ-WAVE PARAMETRIC GENERATION AND APPLICATION," 9th International Conference on Laser Ablation (COLA2007), pp. FR-I2, September 2007.
- S. Hayashi, T. Shibuya, H. Sakai, H. Kan, T. Taira, Y. Ogawa, C. Otani, and K. Kawase, "Tunable Terahertz-wave Parametric Generation pumped by Microchip Nd:YAG laser," *Advanced Solid State Photonics 2008 (ASSP2008)*, pp. MC-30, 2008.
- 川瀬晃道, 林伸一郎, 水津光司, "広帯域波長可変テラヘルツ光源の開発と応用," 日本学術振興会光電相互変換第 125 委員会第 199 回研究会資料, pp. 10-13, 2008.

3. 学会発表

- K. Kawase, C. Otani, M. Yamashita, S. Hayashi, and Y. Ogawa, "Terahertz-wave sources and imaging applications (invited)," *Asia-Pacific Microwave Photonics Conference (AP-MWP 2007)*, H-1,

Jeju-island, Korea (Apr. 25-27, 2007).

- K. Kawase, S. Hayashi, "Terahertz-wave parametric generation and applications (invited)," *"SPIE International Symposium on Optics East 2007, Terahertz Physics, Devices, and Systems II, 6772-01, Boston, USA (Sept. 9-12, 2007).*
- Shin'ichiro Hayashi and Kodo Kawase, "TERAHERZ-WAVE PARAMETRIC GENERATION AND APPLICATION," the 9th International Conference on Laser Ablation (COLA2007), Tenerife, Spain, 24-28 September 2007.
- Kodo Kawase, Shin'ichiro Hayashi, and Yuichi Ogawa, "Sensing applications using terahertz wave (invited)," *Seventh Japan-France Nano material workshop, Strasbourg, France (Oct. 24-26, 2007).*
- 川瀬晃道, 澁谷孝幸, 林伸一郎, 大谷知行, 水津光司, "テラヘルツ波の産業応用可能性(招待講演)," 日本光学会年次学術講演会 *Optics & Photonics Japan 2007 (OPJ2007)* シンポジウム「テラヘルツ波技術の最新動向—高まる応用への期待—」, 講演番号 27pBS4, 大阪大学 (Nov. 26-28, 2007).
- 川瀬晃道, 林伸一郎, 水津光司, "テラヘルツ波の応用可能性 (招待講演)," 光協会 IEEE LEOS 関西チャプター共催「フォトリソイノベーション・シンポジウム」, 京都大学桂キャンパス (Nov. 30, 2007).
- 川瀬晃道, 林伸一郎, 水津光司, "テラヘルツ光源の開発とその応用 (招待講演)," 先端技術と原子力研究専門委員会シンポジウム, 中部電力若竹クラブ, 名古屋 (Jan. 18, 2008).
- Shin'ichiro HAYASHI, Yuichi OGAWA, and Kodo KAWASE, "Terahertz wave parametric sources and applied researches (invited)," *Yonsei Global Engineering Symposium -Humantronic Engineering-, Yonsei Univ., Korea, 15 Feb. 2008.*
- 川瀬晃道, 林伸一郎, 水津光司, "テラヘルツ光源の開発とその応用 (招待講演)," 先端技術と原子力研究専門委員会シンポジウム, 中部電力若竹クラブ, 名古屋 (Jan. 18, 2008).
- 川瀬晃道, 林伸一郎, 水津光司, "広帯域波長可変テラヘルツ光源の開発と応用(依頼講演)," 日本学術振興会光電相互変換第 125 委員会第 199 回研究会, 東大生研 (Feb.15, 2008).
- 川瀬晃道, "テラヘルツテクノロジーの応用と可能性 (依頼講演)," オプトロニクス特別セミナー, 中央大学, 東京 Jan. 17, 2008).
- 林伸一郎, 程麗, 大谷知行, 小川雄一, 川瀬 晃道, 「シリコンロッド内を伝播するテラヘルツ光によるセンシングおよびイメージング応用」, 第 5 回エクストリーム・フォトリソ研究会, 理化学研究所, 和光, 2007 年 4 月.
- 林伸一郎, 澁谷孝幸, 酒井博, 菅博文, 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テラヘルツ光パラメトリック発生」, 第 6 回エクストリーム・フォトリソ研究会, ホテル竹島, 蒲郡, 2007 年 11 月 14 - 15 日.

H. 知的財産権の出願状況

1. 特許取得
 - 特になし
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	テラヘルツイメージングの分析への応用	ぶんせき	vol. 11	575-578	2007
加藤英志, 吉田永, 林伸一郎, 小川雄一, 水津光司, 川瀬晃道	金属メッシュを利用したテラヘルツ帯センシングの基礎検討	電気学会論文誌C	vol. 127, no. 12	2088-2092	2007
H. Yoshida, Y. Ogawa, Y. Kawai, S. Hayashi, A. Hayashi, C. Otani, E. Kato, F. Miyamaru and K. Kawase	Terahertz sensing method for protein detection using a thin metallic mesh	Appl. Phys. Lett.	vol. 91, no. 25	253901	2007

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
E. Kato, S. Yoshida, H. Yoshida, A. Hayashi, S. Hayashi, Y. Ogawa, C. Otani and K. Kawase	THz sensing method based on metallic mesh and application for high-resolution sensing and imaging	Conference Digest of the IRMMW-THz2007		1012	2007
H. Yoshida, Y. Kawai, S. Hayashi, E. Kato, M. Oikawa, T. Miyazawa, C. Otani and K. Kawase	Label-free immunoassay by the resonant transmission phenomenon of a thin metallic mesh	Proceedings of International Symposium on EcoTopia Science 2007		1258-1260	2007
Y. Ogawa, S. Hayashi, C. Otani and K. Kawase	Terahertz Sensing for Ensuring the safety and Security	PIERS 2008 in Hangzhou Program		408-412	2008

国内学会予稿集

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	食の安全・安心のためのテラヘルツ波応用に関する研究	社団法人レーザー学会東京支部, 第9回先進レーザー応用「テラヘルツ電磁波が守る 安心して暮らせる社会」～テラヘルツ電磁波の社会基盤への適用～テキスト		21-25	2007
小川雄一, 林伸一郎	テラヘルツ計測・イメージング応用	平成19年度日本分光学会テラヘルツ分光部門シンポジウム「テラヘルツ分光法の最先端Ⅱ～多様化と進歩～」講演要旨集		50-53	2007

川井泰英, 吉田永, 林朱, 林伸一郎, 宮丸文章, 宮澤陽夫, 川瀬晃道, 小川雄一	金属メッシュを用いた生体高分子の相互作用検出	平成19年度日本分光学会テラヘルツ分光部門シンポジウム「テラヘルツ分光法の最先端Ⅱ～多様化と進歩～」講演要旨集		96	2007
吉田永, 川井泰英, 林伸一郎, 小川雄一	金属メッシュによるタンパク質のラベルフリー検出	電子情報通信学会技術報告		99-102	2007

テラヘルツイメージングの分析への応用

小川 雄一

1 はじめに

近年の化学分析技術の進歩は目覚しく、その応用は多岐にわたっている。このような分析の中には分光学的手法を用いた方法も多く、対象物のエネルギー状態に応じて幅広い周波数の電磁波が用いられている。一方、近年のレーザー技術や半導体デバイス技術の向上により、未開拓電磁周波数帯として取り残されていたテラヘルツ (THz) 領域の研究が盛んに行われている。

THz 波は光波と電波の間に位置し、両方の性質を兼ね備えた電磁波である。電波のように様々な物質に対して適度な透過性を示すとともに、光波のようにレンズやミラーを使って自在に空間内で取り回すことができる特徴を有している。また、THz 波のエネルギーは、分子間の水素結合やファンデルワールス力などの弱い結合エネルギー相当であることから、結晶多形の評価や生体高分子の構造に関する情報を得ることができると考えられている。

一方、THz 波による画像化技術も研究が行われている。最も基本的な構成は、走査型イメージングと呼ばれる手法で、THz 波の集光部に測定サンプルを配置し、サンプルをスキャンさせて画像を取得する方法である。筆者らの研究グループでは、走査型イメージングシステムを使った THz 分光イメージングによる物質判別法や、創薬での利用を目指したメンブランアレイを用いたラベルフリー分析法の研究を行っている。そこで本稿では、これらの研究について紹介する。

2 THz 分光イメージングによる封筒内の禁止薬物検知

信書は小包と異なり、受取人以外の開封が認められていない。そのため、封筒内に隠匿された禁止薬物はほとんどの国で検査をすることができていない。X 線スキャナーを用いた方法は、開封することなく錠剤の形状を判別できるが、成分を特定できないため開封して調べるための強い根拠とはなり得ない。そこで、THz 波の透過性と分光スペクトルを利用した分析方法が研究されている。

2.1 THz 分光イメージングシステムの構成

波長可変テラヘルツパラメトリック発振器 (THz-

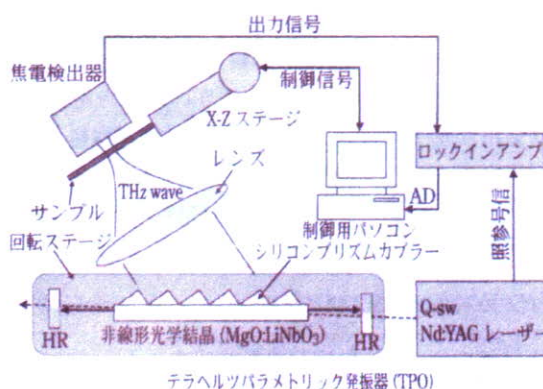


図1 走査型イメージングシステム

wave parametric oscillator, TPO)²⁾を THz 波の光源とした走査型イメージング系を図1に示す。

TPO は、Nd : YAG レーザー (ポンプ光、波長1064 μm 。繰り返し発振周波数、50 Hz) およびパラメトリック発振器から構成される。Nd : YAG レーザー光は、非線形光学結晶 MgO : LiNbO₃ を励起し、パラメトリック発振により THz 波 (波長 120 ~ 300 μm 、周波数 1.0 ~ 2.5 THz) を発生する。THz 波の波長は、パラメトリック発振器を回転ステージにてわずかに回転することで、ポンプ光の入射角を変えて、非線形光学結晶の角度位相整合条件を制御することによって変化させることができる。発生した THz 波は焦点距離 50 mm の透明プラスチックレンズにより測定サンプル上に集光され、そのときのビーム径は直径約 0.5 mm である。サンプルを透過した THz 波はそのまま近接した検出器に入射する。検出器からの出力は時定数 100 msec のロックインアンプで増幅され、AD 変換器を介して制御用コンピュータにて記録される。計測中、サンプルは X-Z ステージで連続的に 2 mm/sec の掃引速度でラスタースキャンされる。

2.2 テラヘルツ分光画像の主成分分析による物質判別
主成分分析³⁾を使って、物質の特定を行った一例を示す。今回行った主成分分析法は、複数の波長で撮像したマルチスペクトル画像に対して、ターゲットとなる物質の吸収スペクトルを行列演算し、ターゲットの空間パターンを抽出する方法である。今、異なる吸収スペクト

ルを有する M 種類の物質からなる測定対象が、 N 通りの異なる波長でイメージングされた場合を考える。イメージングシステムが線形であると仮定すると、次の線形行列方程式が成り立つ。

$$[I] = [S][P] \dots\dots\dots(1)$$

ここで、 $[I]$ は測定した画像を表し、各波長の画像の L 画素を一次元に並べた行ベクトル ($1 \times L$) を縦に N 個の波長分重ねた $N \times L$ 行列である。 $[S]$ は測定したスペクトルを表し、各物質のスペクトルの N 個の波長に対応した値 ($N \times 1$) を横に M 種類分重ねた $N \times M$ 行列である。 $[P]$ は求めたい各物質の空間パターンで、 L 画素を一次元に並べた行ベクトル ($1 \times L$) を縦に M 種類分重ねた $M \times L$ 行列である。 $N=M$ の場合は単純に、 $[P] = [I][S]^{-1}$ を計算することによって各物質の空間パターンが求まる。 $N > M$ の場合は、最小2乗法により解くと

$$[P] = ([S]^T[S])^{-1}[S]^T[I] \dots\dots\dots(2)$$

となる。ここで l は転置行列を意味する。THz 波は主にサンプル中の吸収によって減衰するので、透過強度はランベルト・ベール則を満たす。したがって、式(1)の線形関係を満たすためには $[I]$ の各成分として透過光強度と入射光強度の比の対数をとる必要がある。

検出の対象には、覚せい剤メタンフェタミン (d -メタンフェタミン, 100%含有)、合成麻薬 MDMA (dl -メチレンジオキシメタンフェタミン, 67%含有)、および比較対照としての5-アスピリン (100%含有) の3種を用いた。図2に示すようにビニール小袋に約20 mg ずつ封入し、国際郵便封筒の中に隠し、線で囲んだ領域を撮像した。撮像領域は縦横 20×38 mm で、画素数は $40 \times 76 = 3040$ に相当する。

TPO の周波数を 1.3~2.0 THz の範囲で変化させ、図3に示すように $N=7$ 枚のマルチスペクトル画像を撮像し、 $N \times L = 7 \times 3040$ 個の要素からなる行列 $[I]$ を得た。

次に、あらかじめ測定しておいた3種の薬物の分光特性(図4)から7通りの測定周波数における吸収強度の値を抽出して $N \times M = 7 \times 3$ の行列 $[S]$ を得た。こうして得られた $[I]$ と $[S]$ を式(2)に代入してスペクトル情報と照合された空間パターン $[P]$ は $M \times L = 3 \times 3040$ の行列で、これをそれぞれの薬物毎に3枚の画像に分けた結果が図5である。3種の薬物が明瞭に識別され、それぞれの空間パターンも得られていることがわかる。

本手法は、複数の物質が混在する化学物質についても適応可能で、それぞれの物質の空間分布と濃度を容易に識別できる。照合用のスペクトルをあらかじめデータベースとして準備しておく必要があるものの、先に紹介した禁止薬物探知のみならず、広く工業製品、医薬品、食品などの品質管理や異物検査などでの利用が期待でき

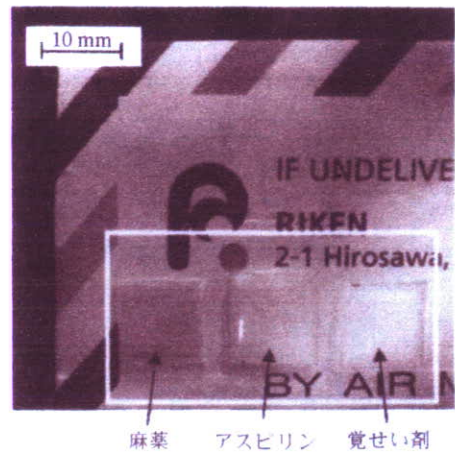


図2 実験で使ったサンプル

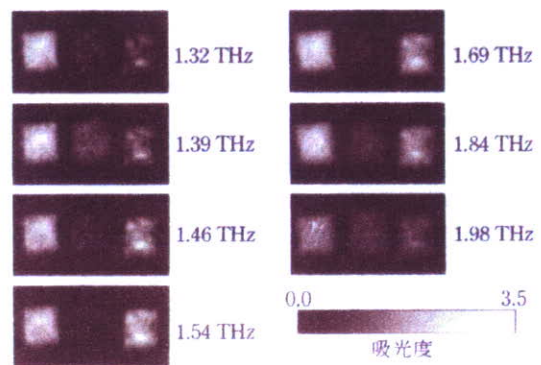


図3 THz波によるマルチスペクトル画像

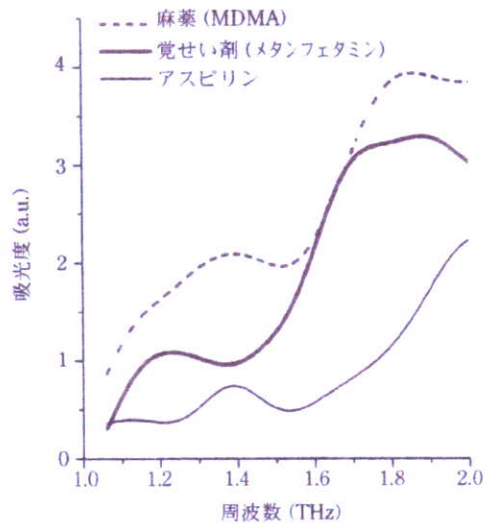


図4 各物質の分光スペクトル

ると考えられる。

3. イオンとタンパク質のラマンフリー相互作用解析

ヒトが有する重要なタンパク質は10万、そしてそれ



図5 主成分分析によって抽出された空間パターン

らが発する重要な生体反応は50万にも及ぶと言われている。これらの生体反応には分子量の小さい有機小分子（分子量数百程度）が基質になる場合と、タンパク質相互作用に基づく場合とがある。しかし最近の研究から、たとえ後者のような複雑な生体反応においても有機小分子による相互作用を媒介として制御できることが明らかになりつつある。しかし、媒介となる小分子を効率的に見いだす汎用的な手法が確立されていないため、十分な応用にまで至っていない。その探査が困難な原因の一つには、相互作用解析に何らかのラベル化（蛍光や酵素など）が必要とされる点が挙げられる。ラベルが不要な分析法として表面プラズモン共鳴（SPR）法などがあり、鍵タンパク質の機能を調節する生理活性物質を見いだすことができつつあるが、基盤の作成にコストがかかるといった問題を抱えている。したがって、安価でハイスループットな分析技術の登場が望まれている。

このような背景においてTHz波の利用が、幾つかの点から注目される。まず、メンブランと呼ばれる既に生体高分子の分析に利用されている高分子膜に対してTHz波は高い透過性を示す。さらにこの帯域では物質に対して適度な吸収を持つので、透過性の高いX線や電波よりも物質の判別に有利である。そこで筆者らの研究グループでは、メンブランに小分子を固定化する技術を利用し、生体高分子との相互作用をラベルフリーで解析する方法を検討してきた。

3.1 サンプル作成

小分子の固定化技術として、任意の小分子に疎水性ポリエチレングリコールとのコンジュゲート化⁵⁾⁶⁾によって疎水性を与え、メンブランに強固に結合させる方法を用いた。この結果、小分子をランダムな分子配向でメンブラン上に存在させることができ、従来の固定化技術よ

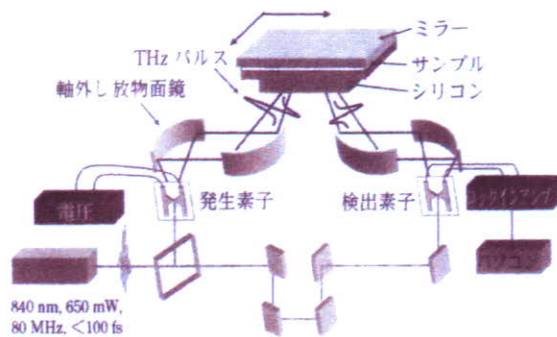


図6 THz-TDSを使った透過・反射イメージング装置

りも高い反応性を持たせることが可能となっている。

小分子とタンパク質にそれぞれピオチンとアビジンを用いてラベルフリー分析による画像評価を行った。サンプルとして、ピオチンをポリエチレングリコール（PEG、平均分子量3400）とポリ（エチレングリコール）モノメチルエーテル（MPEG、平均分子量5000）にそれぞれコンジュゲート化させ、メンブランとの疎水性相互作用により固定化した。固定化の際、ピオチンは $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ から $3.2 \times 10^{-6} \text{ M}$ まで濃度を系統的に変化させて滴下した。それぞれに滴下した量は $0.1 \mu\text{l}$ ずつで、メンブラン上では約3 mmの円状に広がった。その後、スキムミルクでブロッキング処理を施し、アビジンとの反応を行った。以後、このように作成されたサンプルをメンブランアレイと記す。一方、現行技術との比較のため、蛍光標識付のアビジンを反応させて同様の処理を行った蛍光検出用のサンプルも作成し、THz波によるラベルフリー分析の結果と比較した。

3.2 実験装置および実験方法

図6に測定に用いたTHz-TDS⁷⁾⁸⁾をベースにしたイメージングシステムを示す。

ここでは、メンブランアレイの高い透過性を利用した透過・反射イメージングを用いた分析について述べる。今回用いたシステムは、先の例と同様にサンプルに対して集光光学系となっており、サンプルを固定したステージを走査することにより二次元画像が測定できる。また、サンプルの支持用に高抵抗（ $10 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上）シリコン（Si）を用いている。THz波は、集光しながら5.8度の入射角でサンプルに入射する。反射測定時にはSiの上面やサンプルとの界面からの反射光も検出されるが、サンプルの透過性が高い場合、THz波はサンプルを透過し、上面のミラーによって反射し、再度サンプルを透過して検出されるものが主となると考えられる。そこでメンブランの複素屈折率から検出器に達するTHz波強度を見積もると、メンブランアレイの1往復相当分であった。ゆえにこの方法では、単純な透過測定よりも実効的な光路長が長くなり、メンブラン上の微量な物質を効率よく測定できることが期待できる。

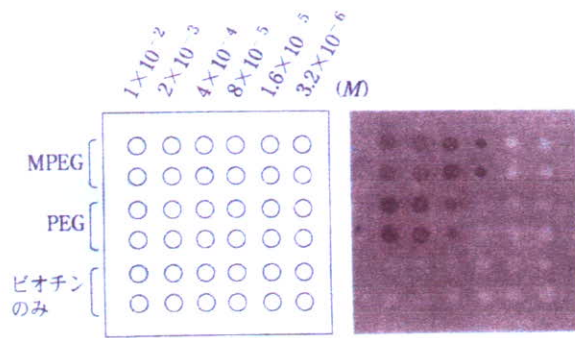


図7 ビオチンメンブランアレイの模式図(左)と蛍光検出画像(右)

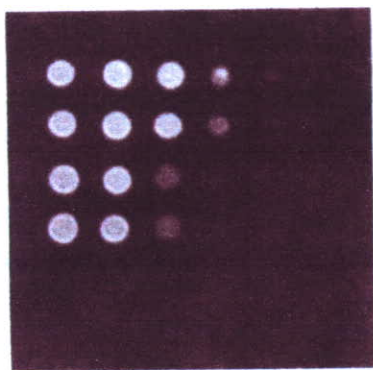


図8 THz波による吸光度画像

3.3 実験結果

図7に準備したメンブランアレイの模式図と、蛍光標識による分析結果を示す。右図の蛍光画像において濃い色に見える部分が、標識されたアビジンが検出されている箇所である。ビオチン溶液のみを滴下した下段2列は、洗浄過程でメンブランからビオチンが洗い流されるため、アビジンと結合できない。

次に、図8にTHz波による吸光度画像を示す。こちらの画像は標識ナシのアビジンを反応させたラベルフリー検出の結果で、明るいほど吸収が大きいことを示す。

先の蛍光画像と同様に、下段2列のビオチン溶液のみを滴下した場所ではアビジンの存在が確認できない。さらにMPEGを使ってメンブラン上にビオチンを固定化したほうが、反応性が高いことが確認できる。またわずかではあるが、蛍光標識画像では確認できていない低濃度でも吸収が見られ、従来の方式よりも少ない量まで検出できている。現在、他の生体高分子に対して本手法を用いたラベルフリー検出も行っており、糖と糖タンパクなどの比較的弱い結合についても結合の有無を画像化することに成功している。

まとめ

THz波のイメージングシステムを利用した二つの研

究を紹介した。前者の主成分分析を導入した分析方法は、THz帯で固有の吸収スペクトルを有する物質に対して有効である。現在、食品成分や農薬、顔料、アスベスト材など多くの物質にTHz帯において固有の吸収スペクトルが確認されており、今後様々な応用に発展すると期待される。一方後者は、蛍光標識による検出法よりも少ない量かつラベルフリーで小分子とタンパク質の相互作用が検出できることを示した。また画像化することで、多くの物質の同時分析が可能となり、ハイスループットなスクリーニングツールになることが期待される。そのためは、さらに高集積化したメンブランアレイの開発や、少量化に伴う高感度化が重要な研究ターゲットになることが予想される。筆者らの研究グループではこの点をふまえ、金属表面プラズモンを利用した高感度センサーの開発⁹⁾を行っており、基礎実験の段階ではあるが、fmolオーダーのタンパク質の検出にも成功している。

今後これらの応用研究とともに、アレイ素子などのTHz波検出技術やTHz波光源技術が向上し、画像化技術が発展することで様々な分野でTHz波による分析技術が広がることが期待される。

謝辞 本稿で紹介した研究の遂行にあたり、ご協力いただいた名古屋大学の川瀬晃道教授、理化学研究所の大谷知行チームリーダー、東北大学の及川雅人准教授、林伸一郎助教、また禁止薬物測定にご協力いただいた科学警察研究所の井上博之室長、金森達之技官に深く感謝申し上げます。

文献

- 1) K. Kawase, Y. Ogawa, Y. Watanabe, H. Inoue: *Optics Express*, **11**, 2549 (2003).
- 2) K. Kawase, J. Shikata, H. Ito: *J. Phys. D: Appl. Phys.* **35**, R1 (2002).
- 3) S. Kawata, K. Sasaki, S. Minami: *J. Opt. Soc. Am.*, **A4**, 2101 (1987).
- 4) Y. Watanabe, K. Kawase, T. Ikari, H. Ito, Y. Ishikawa, H. Minamide: *Opt. Commun.*, **234**, 125 (2004).
- 5) M. Oikawa, M. Ikoma, M. Sasaki: *Tetrahedron Lett.*, **45**, 2371 (2004).
- 6) M. Oikawa, Y. Takeda, M. Sasaki: *Tetrahedron Lett.*, **46**, 4667 (2005).
- 7) M. C. Nuss, J. Orenstein: *Millimeter and Submillimeter Wave Spectroscopy of Solids*, Ed. by G. Gruner, Topics Appl. Phys., **74**, 7 (1998), (Springer, Berlin, Heidelberg).
- 8) 阪井清美: *分光研究* **50**, 261 (2001).
- 9) F. Miyamaru, S. Hayashi, C. Otani, K. Kawase, Y. Ogawa, H. Yoshida, E. Kato: *Optics Letters*, **31**, 1118 (2006).

小川雄一 (Yuichi OGAWA)

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)。岡山大学大学院自然科学研究科修了。農学博士。《現在の研究テーマ》テラヘルツ波およびミリ波の農学応用に関する研究。《趣味》映画鑑賞、美術館・博物館巡り。E-mail: yogawa@bios.tohoku.ac.jp



The Basic Consideration of Sensing Method Using a Metallic Mesh in the Terahertz Range

Eiji Kato Non-member (Advantest Labs. Ltd., eiji.kato@jp.advantest.com)

Hisa Yoshida Non-member (Tohoku Univ., yoshida_h@bios.tohoku.ac.jp)

Shin'ichiro Hayashi Non-member (RIKEN, shayashi@riken.jp)

Yuichi Ogawa Member (Tohoku Univ., yogawa@bios.tohoku.ac.jp)

Koji Suizu Non-member (Nagoya Univ., suizu@nuee.nagoya-u.ac.jp)

Kodo Kawase Member (Nagoya Univ., kawase@nuee.nagoya-u.ac.jp)

Keywords : terahertz, metallic mesh, surface plasmon polariton, bio-molecular sensing

We report on a novel sensing method in the terahertz range using metallic mesh which is a metallic membrane with a two-dimensional array of sub-wavelength holes as shown in Fig. 1. (a). Such metallic mesh is conventionally used as a band pass filter. The transmission characteristic of a metallic mesh can be determined by the geometric parameters of the mesh. In addition, such structures exhibit extraordinary high transmission due to coupling with surface plasmon polariton like mode. Since this mode is affected by the dielectric constant of the medium near the mesh openings, the transmission peak will shift when such constant changes. Consequently, the metallic mesh could work as a simple sensor, sensitive to the dielectric constant of a sample attached to its surface.

To inspect this effect as a potential measurement principle, we calculated the electric field distribution around the metallic mesh using the Finite Difference Time Domain (FDTD) method. Fig. 1. (b) and (c) show the electric field distributions of cross section of metallic mesh calculated by FDTD method. There are localized high electric field inside the hole and the edge of the openings. In order to demonstrate that the metallic mesh works as a sensor, we chose avidin for the sample that has led to its wide usage in a variety of biotechnological application. This interest is explained by the fact that large molecules exhibiting complex structures have different spectra of its binding state in the THz range. To deposit an avidin solution uniformly and in a controllable quantity, we used the electrospray deposition (ESD) technique. In the ESD technique, solution of the sample is transformed into micro droplets with positive charge; the droplets are deposited by electrostatic force onto specific areas of a conductive substrate (metallic mesh). One major advantage of the ESD technique is that it preserves the functional properties of the electrosprayed biological molecules. In our experiments, we used the ESD equipment (ES-1000, Fucece Co., Ltd.); the sprayed density of avidin was 200 ng/mm^2 and 1200 ng/mm^2 . We used nickel metallic mesh with grid constant of $76.3 \text{ }\mu\text{m}$ for the substrate.

Fig. 2. shows the result of transmission measurements of the metallic mesh with and without avidin, obtained using an FTIR spectrometer. The transmission spectra of the avidin-sprayed mesh was found to shift towards lower frequencies relative to the bare mesh. This shift is considered to be caused by the different dielectric constant in the vicinity of the metal mesh surface when the small amount of avidin is sprayed on the mesh. We observed a correlation between the quantity of protein and the transmission

characteristics of the metallic mesh.

In conclusion, we demonstrated a sensor application using metallic mesh. This result suggests the possibility of realizing a label-free biosensor that may be used, for example, in investigating the biological affinity.

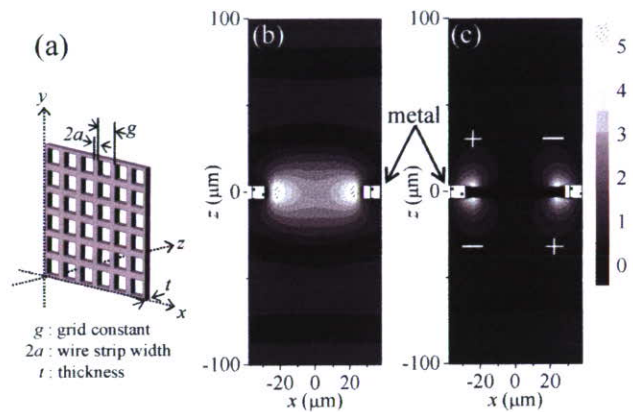


Fig. 1. A metallic mesh and electric field distribution of cross section of metallic mesh for (a) schematic of a metallic mesh (b) Electric field of E_x and (c) E_z

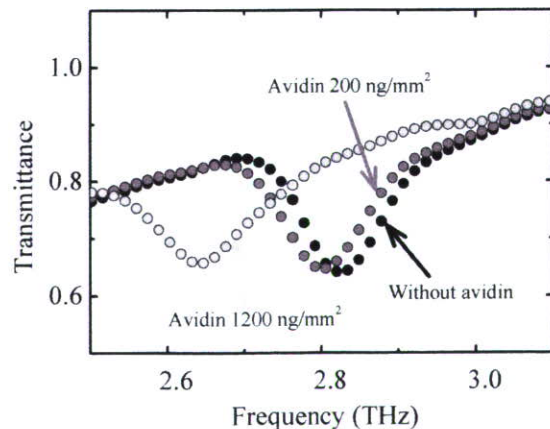


Fig. 2. Measured transmission spectra of the samples using the ESD method