

# テラヘルツ波による農学研究 - 食品分析から創薬まで - Terahertz Research for Agriculture Science (from Food Analysis to Drug Discovery)

小川雄一<sup>1</sup> 林伸一郎<sup>1\*2</sup> 吉田永<sup>1</sup> 程麗<sup>1</sup>  
Yuichi Ogawa Shin'ichiro Hayashi Hisa Yoshida Li Cheng

<sup>1</sup> 東北大学大学院農学研究科  
Graduate School of Agricultural Science, Tohoku Univ.

<sup>2</sup> 理化学研究所  
RIKEN

## 1. はじめに

近年の目覚ましい技術革新により、実験室レベルで容易にテラヘルツ (THz) 波の研究を行える環境になっている。それに伴い、その応用を目指した研究も精力的に行われるようになり、欧米のみならず我が国でも先駆的な研究成果が報告されている。特に医療診断応用や医薬品検査応用に関してはヨーロッパを中心としたグループが研究を推進しており、皮膚ガンの診断や製薬の成分評価などが報告されている。一方、安全・安心分野においては、国内のテロ対策や違法薬物の非破壊探知技術などへの応用研究が進んでおり、日米が中心となって行われている。そのほか、半導体などの工業製品の検査など、さまざまな分野で応用可能性が示唆されているが、農業分野に関する研究はまだ始まったばかりである。

我々の研究グループでは、農学分野に注目した応用研究を進めている。農業分野では、病原性細菌による食中毒問題や、未登録農薬の違法使用発覚、牛肉問題に端を発する偽装表示問題など様々な事件が問題視されている。そのため、消費者からは安全性の証明を求める動きが活発化しており、国内外の食品や農産物に対して簡便かつ迅速な検査や分析手法が求められている。そこで本稿では、THz 波を用いたいくつかの食品分析への応用研究をはじめ、食の安全を評価するためのアレルギー検査技術への応用についても述べる。特にこのアレルギー検査技術は、従来タンパク質分析などで利用されていたメンブレンと呼ばれる高分子膜を、THz 波が透過できることを利用した分析法であり、このことを発展させるとハイスループットなタンパク質と小分子との相互作用解析ツールとしても利用可能であり、特に創薬分野では強力な分析ツールとなることが期待できる。

## 2. 食品の品質評価への応用

近年の生産規模の拡大と食の安全に対する意識向上を背景として、より迅速な検査への需要が高まっている。このことを受け、簡便で試薬を必要としない赤外・近赤外領域の電磁波を利用した分析手法が研究されてきた。この方法は分子内結合を観測するもので、生乳の成分分析では米国の公定法として認められているなど既に実用化がなされている。チーズは欧米では一般的な食材であり、品質評価に関しても幅広く研究が進められている。主成分である水分、タンパク質、脂質は THz 領域ではそれぞれ吸収の度合いが異なる。また、チーズには脂肪球やカゼインミセルなど数十  $\mu\text{m}$  から数十  $\text{nm}$  程度の構造が存在する。そこで本研究では、THz 波によるチーズの分光測定と情報解析を目的と

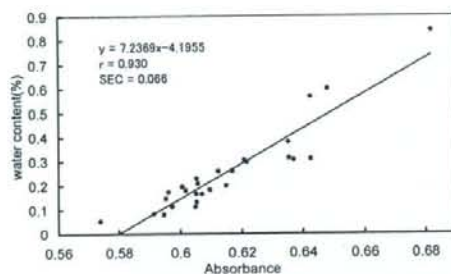


図1 カールフィッシャー法による分析結果と吸光度 (@ 50  $\text{cm}^{-1}$ ) の相関

し、分光スペクトルと成分含量や波長と同程度のタンパク質構造との関係について検討した。一連の実験結果から、タンパク質含量の増加に伴う吸光度の上昇、種類によるスペクトル形状の違いが確認された。種類を限定して行った透過測定からは、吸光度とタンパク質や脂質含量間にはっきりとした相関性が確認され、THz 分光を利用した定量分析技術の可能性が示唆された。

一方、食品中の水は、食品の品質や味、貯蔵、酵素活性、微生物の成長などに影響を与えるため、食品中の水分を測定することは重要な意味を持つことから現在までに様々な水分測定法が確立されている。食用油中の水分は加水分解の原因となるため、日本農林規格 (JAS) により水分量は 0.3% 以下であることが定められており、その水分量の測定法として JAS は有機溶剤を必要とする抜き取り検査によるカールフィッシャー法を定めている。一方、THz 帯において、油は水よりも高い透過性を示すことが知られている。そこで微量な水分を含む食用油について、FT-FIR を用いて透過測定を行い、既存のカールフィッシャー法と THz 帯の吸光度との相関を調べた。その実験結果を図 1 に示す。

本実験は光路長が 1 mm の石英セルを用いて透過測定を行っており、検量線の作成には、1.5 THz での吸光度を用いている。この結果、JAS により定められている 0.3% 以下の水分量においても相関が認められる。本技術は従来の有機溶剤や抜き取り検査を不要とし、容器越しの測定が可能であることから、今後品質管理のための食用油中の水分計測での応用が考えられる。

食品や生体はそのほとんどが水溶液として存在している。例えば、近年機能性食品として着目を浴びているペプチドも、タンパク質から酵素を用いた加水分解により作り出されており、その効率的な生産には迅速かつ簡便な水溶液分析法が望まれている。そこで我々は、THz 波の食品分析分野での有効利用を目指し、ある条件で THz 波がシリコンコ



ッドを伝播する際に生じるエバネッセント光を用いた水溶液サンプルの分析法を開発している。

レーザー光などの電磁波を波長の数倍から数十倍程度の直径をもつ円形導波管に集光・入射させると、導波管内を、特性伝播モードを持って伝播する。この時変換される伝播モードは、電磁波の入射位置と角度によって決まる。入射光のビーム径と導波路の大きさがほぼ等しく、最低次の伝播モード ( $EH_{11}$ ) に変換されるとき、自由空間モードからの変換効率が最高となり、電磁波は導波管内を最も効率よく透過することができる。このような条件では、入射した電磁波は導波路表面で全反射しているため、導波路外側近傍に均一な近接場 (エバネッセント光) を発生させることが可能となる。このエバネッセント光と試料の相互作用により、導波路内を伝播する透過光強度が変化するため、入射光の波長を掃引すれば、透過光の強度変化から試料の分光情報が試料を透過することなく得られる。本報では、D-グルコース水溶液を用いた透過光強度の水溶液濃度依存性などの測定結果について紹介する。

### 3. メンブレンを用いた生体高分子の分析

現在、食品分析の分野において、食肉や鮮魚のタンパク質や DNA といった生体高分子は分析のターゲットであり、食の安全・安心を守る上で偽装表示のチェックや産地特定、病原菌・アレルゲン検査など多くの場面で行われるようになってきている。我々は、このような検査の利用を目指した金属メッシュを用いた生体高分子の相互作用検知に関する研究を行っている。

金属メッシュは、エレクトロフォーミング (電鍍) 法によって様々なサイズのもの既に市販されており入手が容易であり、本研究では約 6  $\mu\text{m}$  の厚みを持つ金属メッシュをセンサー部材として利用した。この金属メッシュは、グリッド間隔 (g) が 63.5  $\mu\text{m}$ 、開口形状は四角形で、1辺が 45  $\mu\text{m}$  である。本測定を行った FT-IR は、サンプルに対して集光光学系となっており、また、金属メッシュ表面でのスポットの直径は約 5 mm である。金属メッシュの開口サイズと波長が同程度の場合、透過率は開口率を上回っている。このような異常透過現象は、表面プラズモンが金属表面に励起されるために起こる現象と考えられる。また、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が生じるメカニズムは十分に解明されていないが、THz 波が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と考えられる。さらに、このような透過特性は、金属メッシュ上にサンプルを載せた場合、その量に応じて低周波側へシフトする現象が観測される。この結果、先述の急峻なディップを利用することで高感度なセンシングが可能となる。そこで我々は、従来タンパク質分析に利用されているメンブレンを利用し、この上で反応させた選択的な生体高分子の相互作用の非標識を試みた。

さらに、本手法を導入することで小分子とタンパク質の相互作用を非標識で分析することも可能となる。そのとき小分子のメンブレンへの固定化には、疎水性ポリエチレングリコールとのコンジュゲート化によって疎水性を与え、任意の小分子を強固に結合させる技術を用いた。これにより、反応や洗浄時に小分子が洗い流されてしまうことを防

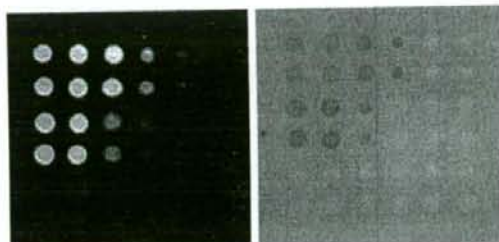


図2 THz 波による非標識分析結果 (左図)、従来法蛍光標識画像 (右図)

ぐとともに、小分子をランダムな分子配向でメンブレン上に存在させることができ、従来の固定化技術よりも高い反応性を持たせることが可能となっている。

ビオチンを小分子として用い、MPEG ならびに PEG でメンブレン上に固定化した。そのとき、ビオチンは  $1 \times 10^3$  M から  $3.2 \times 10^6$  M まで濃度を系統的に変化させて滴下した。以下、このように作成したサンプルをメンブレンアレイと呼ぶ。本実験では、このメンブレンアレイをストレプトアビジンと反応させ洗浄した後、THz-TDS をベースとしたイメージングシステムにて画像取得を行い、従来法である蛍光標識 (Alexa633) による分析結果との比較を行った。本手法では、ビオチンに対して高い選択性と結合能を持つストレプトアビジンがメンブレン上で結合することによる吸収量の違いから、吸光度の違いとして画像から結合の有無を判別できる。図2に THz 波による非標識分析結果と蛍光標識分析結果を示す。

生体反応にはペプチドのような分子量の小さい有機小分子が基質になる場合と、蛋白-蛋白相互作用に基づく場合があるが、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と効果の調節が可能であることがわかっている。しかしながら、そうした小分子を効率的に見出す汎用的な手法が未だ開発されていないため、標的タンパク質の機能を直接的に制御できる小分子は全体の 1% にとどまっていると言われている。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。本研究はこのような分析が必要となる創薬分野において強力なツールになりうると期待できる。

### 4. おわりに

THz 波による応用研究は、セキュリティ検査や工業製品の検査、医療診断など多岐にわたる分野で進められている。しかしこれらの分野には極めて高い精度が要求される場合が多い。一方食品や農産物といったものを対象とした検査項目の中には、簡便で比較的大きな区分の階級分けが必要になる場合がある。意外にもこういった分析に対して既存技術では極めて困難で煩雑な作業を要する場面も多く、これこそが THz 波の面白い応用ターゲットとなりうると考えられる。農業を対象にしたこのような分析手法が確立できると、THz 技術の向上に伴い、医療や工業、セキュリティなどへの波及につながることも期待できる。



## 2Ca12 金属メッシュによる牛乳中アレルギーのラベルフリー検出

○吉田 永<sup>1</sup>, 川井 泰英<sup>1</sup>, 林 伸一郎<sup>1,2</sup>, 大谷 知行<sup>2</sup>,  
川瀬 晃道<sup>3,2,1</sup>, 小川 雄一<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東北大院・農・生物産業創成, <sup>2</sup>理研, <sup>3</sup>名大エコトピア科  
学研)

現在、食品中のアレルギーの検出は、ウェスタンブロット法によって分離・転写され、標識二次抗体による検出によって行われている。このような標識抗体による検出方法は、高感度な検出が行える反面、標識過程の操作が煩雑であり、長い検査時間を有するという問題点がある。通常食品中のアレルギーの表示は含有量に関する表示が義務づけられているが、さらに簡便な検出方法があれば、食の安全を守る上で大変重要な技術となり得る。本研究ではテラヘルツ波と、薄い金属製のメッシュシートを組み合わせた新しいセンシング法によって、メンブレン上で反応させた抗原抗体反応を非標識(ラベルフリー)で行う技術を確認し、その技術を利用した「簡便なアレルギー検査」を実現することを目指している。これまでの結果から本方法において、メンブレン上のストレプトアビジン-ビオチン反応(ストレプトアビジン 330 ng/ml)のラベルフリー検出が可能であることが明らかとなっている。本研究ではさらに濃度を段階的に変化させたウシ血清アルブミン(BSA)水溶液をメンブレンに塗布し、本方法の定量的な評価を行った。その結果0.25 mg/ml濃度のBSA水溶液から濃度依存的な変化が観察された。講演ではさらにインクジェットプリンタを使って抗体を印刷したメンブレンを使用し、溶液中のalpha-カゼイン及びbeta-ラクトグロブリンを検出した結果についても報告する。

## Label-free detection of allergen in milk using a metallic mesh

○Hisao YOSHIDA<sup>1</sup>, Yasuhide KAWAI<sup>1</sup>, Shin'ichiro HAYASHI<sup>1,2</sup>,  
Chiko OTANI<sup>2</sup>, Kodo KAWASE<sup>3,2,1</sup>, Yuichi OGAWA<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Div. Biosci. Biotech. Future Bioind., Grad. Sch. Agric. Sci., Tohoku Univ., <sup>2</sup>RIKEN, <sup>3</sup>EcoToPia Science Institute, Nagoya Univ.)

Key words Label-free, Metallic Mesh, Membrane

## 2Ca14 耐熱性 L-アスパラギン酸脱水素酵素を用いる L-アスパラギン酸の新規電気化学的バイオセンシングシステム

○桶崎 陽友<sup>1</sup>, 郷 海壽<sup>2</sup>, 米田 一成<sup>3</sup>, 櫻庭 春彦<sup>4</sup>, 大島 敏久<sup>5</sup>,  
末 信一郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>福井大院・工・生応化, <sup>2</sup>天津工大・材料化工, <sup>3</sup>東海大・農・バイオサイエンス, <sup>4</sup>香川大・農・応生, <sup>5</sup>九大院・農・遺資工)

【目的】L-アスパラギン酸(L-Asp)は、タンパク質構成成分やGOTのような窒素やエネルギー代謝の鍵酵素の基質として、重要な生理機能を有する。また輸液などの医薬品や甘味料の原料、栄養剤や化粧品などのサプリメントとしても広く利用されている。それ故、その簡便なセンシングは非常に有用性が高い。本研究では L-Asp 定量法として、超好熱アーキア *Archaeoglobus fulgidus* 由来の耐熱性 NAD-依存性 L-アスパラギン酸脱水素酵素(L-AspDH)を用いる新規な L-Asp の電気化学的センサの開発を目的とした。

【方法及び結果】センサの生体触媒素子として組換え大腸菌から精製した L-AspDH を用いた。電解酸化重合によりカーボン電極上にメディエータである 3,4-ジヒドロキベンゾアルデヒドを固定化し、L-AspDH と NAD<sup>+</sup> の存在下で +350 mV (vs. Ag/AgCl) の印加電圧をかけ、L-Asp を逐次添加し酸化電流の増大を測定した。その結果、L-Asp 濃度が 10~30 μM の範囲で直線的に電流の増大が確認できた。現在、L-Asp センサとしての特性の評価及び実試料中での測定条件を検討している。

## Novel L-Aspartate amperometric biosensor using thermostable L-Aspartate dehydrogenase

○Yosuke OKEZAKI<sup>1</sup>, Haitao ZHENG<sup>2</sup>, Kazumari YONEDA<sup>3</sup>,  
Haruhiko SAKURABA<sup>4</sup>, Toshiohisa OHSHIMA<sup>5</sup>, Shin-ichiro SUYE<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Appl. Chem. Biotechnol., Univ. Fukui, <sup>2</sup>Tianjin Polytech. Univ., <sup>3</sup>Dept. Biosci., Tokai Univ., <sup>4</sup>Dept. Appl. Biol. Sci., Kagawa Univ., <sup>5</sup>Dept. Genetic Eng., Kyushu Univ.)

Key words aspartate dehydrogenase, amperometric biosensor, thermostable enzyme

## 2Ca13 蛍光バイオセンシングのための新しいソルゲル光導波路デバイスの構築

○牧島 大和<sup>1</sup>, 福田 剛士<sup>1</sup>, 榎波 康文<sup>2</sup>, 末 信一郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>福井大院・工・生応化, <sup>2</sup>Coll. Opt. Sci., Univ. Arizona)

【目的】蛍光タンパク質(GFP)は、生体内機能分子の動きや位置情報、検出等に利用されており、生体細胞内における種々の蛍光測定技術が開発されている。しかし、細胞からの蛍光観測を行う際、レーザーやLED等を用いる蛍光顕微鏡や蛍光測定装置の蛍光強度は弱く、定量的な評価が困難である。本研究では、屈折率の異なる材料を線状に埋め込み加工することで、光を低損失にて導波可能な光導波路を蛍光検出デバイスとして応用し、細胞1個レベルでのタンパク動態や、外的な要因による蛍光量変化等の定量的検知を目指して、光センシング可能なデバイスの構築を行った。【方法・結果】細胞モデルとして GFP を化学的に修飾したビーズを調整し、そのビーズをソルゲルガラスと混合し光導波路上のコア部分にドープしたデバイスを作製した。光ファイバーを介して 488 nm の励起光を光導波路に注入して蛍光測定を行ったところ、励起パワーに対する蛍光パワーは線形的な関係が得られた。また、ソルゲル内部での GFP は 10 日後で 60% の蛍光パワーを維持可能であった。モデル実験により細胞数個レベルでの定量的な蛍光測定が可能であることが分かった。

## Novel sol-gel optical waveguide for fluorescence biosensing device.

○Hirokazu MAKISHIMA<sup>1</sup>, Takeshi FUKUDA<sup>1</sup>, Yasufumi ENAMI<sup>2</sup>,  
Shin-ichiro SUYE<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Appl. Chem. Biotechnol., Univ. Fukui, <sup>2</sup>Coll. Opt. Sci., Univ. Arizona)

Key words Biosensing, Optical sensor, Sol-gel waveguide, GFP

2Ca15 *Rhodospseudomonas palustris* フィトエンデヒドロゲナーゼによる赤色カロテノイド合成を色調変化に利用したヒ素応答型微生物センサの開発

○吉田 一之<sup>1</sup>, 井上 浩一<sup>1</sup>, 高橋 優子<sup>1</sup>, 上田 俊作<sup>1</sup>,  
磯田 勝広<sup>2</sup>, 八木 清仁<sup>2</sup>, 前田 勇<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>宇都宮大農・応生, <sup>2</sup>阪大院・薬)

我々は前大会で、光合成細菌 *Rhodospseudomonas palustris* no.7 のグリーンミュータントである *ctl* 破壊株およびレポーターであるフィトエンデヒドロゲナーゼ遺伝子 *ctl* がカロテノイド蓄積に伴う色調変化を引き起こす微生物センサの宿主-レポーター系として有用であることを報告した。今回、ヒ素応答性転写スイッチの下流に *ctl* を組み込んだセンサプラスミドを *ctl* 破壊株に導入し、ヒ素応答型微生物センサを樹立した。センサ株は 10 および 50 μg/l の亜ヒ酸ナトリウム(As(III))に感応して赤色へ色調が変化し、24時間後に視認可能であった。リアルタイム RT-PCR により As(III) 添加に伴う *ctl* mRNA 発現を定量化したところ、As(III)非添加群と比較して 3 時間後で 3 倍、6 時間後で 2.5 倍の発現増加を示した。As(III)添加に伴うカロテノイド組成変化を HPLC により比較した結果、As(III)添加群では *ctl* によって合成される赤色カロテノイドの含量が約 2 倍に増加していた。As(III)を添加してから 24 時間後の菌体の色を L\*a\*b\* 表色系により数値化したところ、As(III)非添加群と比較して緑・赤の成分を表す a\* がマイナスからプラスにシフトしており、本センサが示すヒ素添加に伴う色調変化は寒色から暖色への変化であることが示された。本研究は NEDO の産業技術研究助成を受けて行われた。

A colorimetric whole-cell biosensor to detect arsenite based on the carotenogenic reaction by *CrtI* in *Rhodospseudomonas palustris*

○Kazuyuki YOSHIDA<sup>1</sup>, Koichi INOUE<sup>1</sup>, Yuko TAKAHASHI<sup>1</sup>,  
Shunsaku UEDA<sup>1</sup>, Katsuhiko ISODA<sup>2</sup>, Kiyohito YAGI<sup>2</sup>, Isamu MAEDA<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Appl. Biochem., Utsunomiya Univ., <sup>2</sup>Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ.)

Key words carotenoid, *Rhodospseudomonas palustris*, Whole-cell biosensor, Arsenite

## 食の安全を守るためのテラヘルツ波技術

(東北大学大学院農学研究科<sup>1</sup>, 理化学研究所<sup>2</sup>) ○小川雄一<sup>1</sup>, 林伸一郎<sup>1,2</sup>

### [はじめに]

農産物や食品が生産され消費者の食卓に届くまでには、さまざまな検査が行われている。特に可視光や近赤外光などの電磁波を用いる方法は、扱いやすいデバイスが多いことや、非破壊で検査が可能であることから生産ラインに数多く導入され、人々の食の安全を守るために無くてはならない技術となっている。それ以外のX線、赤外光、マイクロ波などの電磁波についても多くの場面で利用され、その検査項目は多岐にわたる。そのような中、近年テラヘルツ波と呼ばれる電波と光波の間に位置する電磁波の技術革新が目覚ましい進歩を遂げている。この周波数領域は、発生や検出が難しかったことから、他の領域よりも応用開拓が遅れていたが、近年になって比較的簡便に利用できる技術が誕生し、世界中でその応用開拓が模索されている電磁波である。そこで本発表では、このテラヘルツ波を用いた食の安全を守る技術として、残留農薬検査に焦点を当て、分光スペクトルを利用した分析法と、微量計測に向けた高感度化技術の研究について紹介する。

### [農薬の分光スペクトル]

テラヘルツ帯、特に周波数が0.3から10 THzの領域(波長に換算すると1,000から30  $\mu\text{m}$ の領域)には、赤外吸収よりも弱いエネルギーに相当する吸収スペクトルが観測され、分子内および分子間の振動と緩和が共存している電磁波領域に相当する。そのため、組成は同じで構造の異なる物質や、わずかに構造が異なる物質は、スペクトル構造に大きな差異が観測される。これらの特徴を利用すると、物質の組成や官能基を詳細に調べることに適している赤外分光法とは違った用途が期待できる。筆者らはそのひとつが、迅速な農薬検査と考えている。図1に農薬の原体(薬効成分)の吸光度スペクトルの一例を示す。

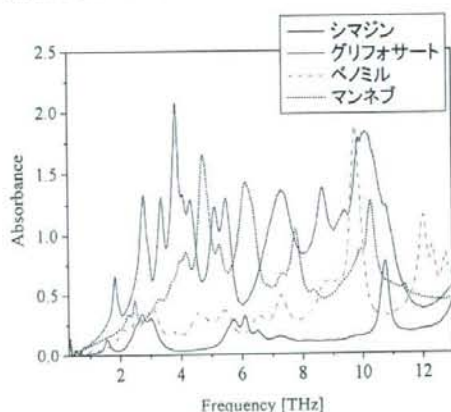


図1 4種類の農薬原体の吸光度スペクトル

テラヘルツ帯に存在する水の大きな吸収の問題を克服できると同時に、従来の化学分析法よりも簡便かつ迅速な分析を可能とし、時間を要する検査の前の簡便なスクリーニング技術としても利用できることが期待できる。

このように、農薬はテラヘルツ帯で物質固有の吸収スペクトルが観測される。あらかじめこのようなスペクトルのデータベースを作成し、測定した結果と照合することによって、農薬の種類や量を知ることが可能となる。また、テラヘルツ波は紙やプラスチックなどに対して透過性が高いことを利用すると、これらで農産物からふき取ったものや、農産物表層から抽出したサンプル液をこれらに滴下した後に乾燥させ、そこに残された農薬の存在の有無を調べることが可能となる。このような分析手法は、



## [高感度化のための試み]

農産物の検査対象となる農薬の量は、ppm から ppb オーダーとなる。現在、平成 18 年から実施されているポジティブリスト制度で残留基準が設定されている農薬は約 800 種類におよび、さらにこれとは別に人の健康を損なうおそれのある農薬には、一定量の 0.01 ppm を超えて残留する食品の販売を禁止することとなっている。例えば、1 kg 中の 0.01 ppm は 10  $\mu\text{g}$  に相当する量であり、この量を FT-IR など市販の分光器で分光分析することは困難である。そこで我々は金属メッシュ上に局在化された電場増強効果を利用した高感度計測法の検討を進めている。

金属メッシュは、エレクトロフォーミング（電鋳）法によって様々なサイズのもの既に市販されており入手が容易である。本研究では約 6  $\mu\text{m}$  の厚みを持つ金属メッシュをセンサー部材として利用した。このような金属性メッシュの透過特性は、赤外領域において古くから実験的な解析が行われ、構造的なパラメータと透過特性の関係が報告されている。

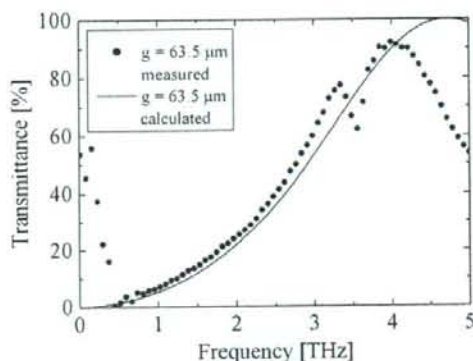


図2 金属メッシュの透過率測定結果と文献をもとにした計算値の比較

図2に FT-IR で測定を行なった金属メッシュの透過スペクトルと、赤外領域での実験的解析結果から導き出された計算手法を元に、金属メッシュの透過特性を計算した結果を示す。この金属メッシュは、グリッド間隔 ( $g$ ) が 63.5  $\mu\text{m}$ 、開口形状は四角形で、1 辺が 45  $\mu\text{m}$  である。金属メッシュの開口サイズと波長が同程度の場合、透過率は開口率を上回っている。このような異常透過現象は、表面プラズモンが金属表面に励起されるために起こる現象と考えられ、電磁界シミュレーションの結果、金属メッシュ表面や開口部には局在した電場増強効果が確認されている。このような透過特性は、金属メッシュ上にサンプルを載せた場合、その量に応じて透過率が減少しながら低周波側へシフトする様子が観測される。このときの透過率変化は、透過測定の結果よりも大きく、低周波側へのシフトは屈折率に応じて変化することが解析の結果から明らかとなっている。

本発表では、金属メッシュを使った高感度センシングに関する解析結果や実験を示し、農薬分析への応用に対する展望について報告する。

図2に FT-IR で測定を行なった金属メッシュの透過スペクトルと、赤外領域での実験的解析結果から導き出された計算手法を元に、金属メッシュの透過特性を計算した結果を示す。この金属メッシュは、グリッド間隔 ( $g$ ) が 63.5  $\mu\text{m}$ 、開口形状は四角形で、1 辺が 45  $\mu\text{m}$  である。金属メッシュの開口サイズと波長が同程度の場合、透過率は開口率を上回っている。このような異常透過現象は、表面プラズモンが金属表面に励起されるために起こる現象と考えられ、電磁界シミュレーションの結果、金属メッシュ表面や開口部には局在した電場増強効果が確認されている。このような透過特性は、金属メッシュ上にサンプルを載せた場合、その量に応じて透過率が減少しながら低周波側へシフトする様子が観測される。このときの透過率変化は、透過測定の結果よりも大きく、低周波側へのシフトは屈折率に応じて変化することが解析の結果から明らかとなっている。

## テラヘルツ波の食品検査応用

\*小川雄一<sup>1</sup>, 林伸一郎<sup>1,2</sup>

(東北大学<sup>1</sup>, 理化学研究所<sup>2</sup>)

(e-mail: yogawa@bios.tohoku.ac.jp)

テラヘルツ帯の電磁波、特に0.1から10 THzの電磁周波数帯は、他の周波数帯よりも要素技術の開発が遅れ、未開拓領域として取り残されていた。しかしこの周波数帯には、電波のような透過性と、光波に見られる取り扱い易さや適度な空間分解能を併せ持つことから、これまでに困難な検査技術への応用が検討されている。また、昨今の食の安全性評価技術に対する消費者の期待は大きく、異物検査や食品分析、残留農薬検査、産地特定などさまざまな技術が求められている。

例えば、食品業界では小麦粉などさまざまな粉体が原材料として用いられ、食品として調理・加工後、消費者まで届けられており、その製造過程では石や虫、プラスチック、金属片、髪の毛などの異物は、厳重にチェックすることが求められる。これに対してX線検査は有効な方法となる場合もあるが、食品にX線を使用することを心配する消費者の声があることや、虫や髪の毛などはX線では透過性が高すぎて検査できない場面もある。また、粉の中に誤って同色の粉が混入した場合、従来の分光学的手法による分析は困難で、手間のかかる化学分析を余儀なくされる場合もある。一方、テラヘルツ波帯の分光スペクトルは、固体の場合では分子間相互作用や分子内の低振動モードによる吸収スペクトルの存在が確認されており、これらの吸収スペクトルを物質固有の“指紋”として利用する方法も報告されていることから、テラヘルツ波分光が先の異物検査や異種の粉の混入検査などに適していることが期待される。また、この周波数帯のエネルギーは、X線よりもはるかに小さく、被曝の影響が無いことも食品検査に適している点と言える。一例として、FTIRで測定した小麦粉や異物を想定した豚の骨と卵殻の粉末の分光スペクトルを示す。

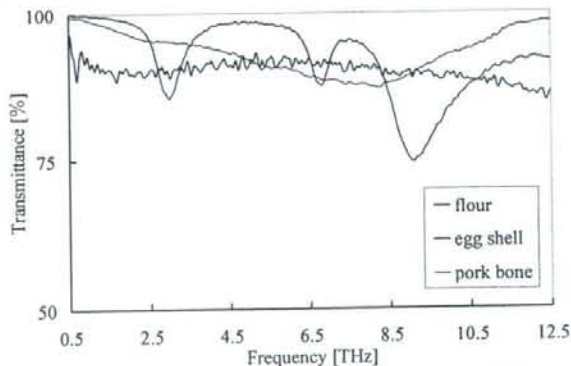


図 1. Example of the measured spectra

小麦粉や豚の骨は比較的にブロードな吸収特性を示すのに対して、卵殻は炭酸カルシウムに由来する特徴的な吸収スペクトルを示す。このようなスペクトルの特徴を利用することで、食品検査に役立てることができると期待できる。本報ではさらに、さまざまな場面でのテラヘルツ波の食品検査応用を見据え、分光スペクトルの利用、イメージングの利用、バイオセンシングの利用など、いくつかの応用研究を紹介し、食品検査への可能性について発表する。

本研究の一部は、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ならびに飯島記念食品財団学術研究助成金よりサポートされました。



## 非標識イムノアッセイのための

## テラヘルツ分光法

(東北大院農) ○小川雄一

Terahertz Spectroscopy for Label-free Immunoassay (Tohoku Univ.) ○OGAWA, Yuichi

**Abstract :** A label-free protein sensor, which is based on the resonant transmission phenomenon of a metallic mesh, was proposed in the terahertz wave region. By using this sensor, we demonstrated the highly sensitive detection of small amount of protein and the label-free detecting of biotin-streptavidin interactions and immunoassay on a PVDF membrane.

**Keywords :** Label-free sensing; Terahertz wave; Metallic mesh; Immunoassay;

[はじめに] 食品中のアレルゲン検査や血液検査のような検査項目が決まっている場合、対象が比較的少ないことから個別もしくは数個程度のセンサチップによる簡便な検査法が望まれる。その際、分析装置やセンサチップ共に、簡便かつ安価なものが要求されることから、出来るだけ簡単な構造で感度良く計測できる手法が必要となる。そこで我々は金属メッシュと呼ばれる部材を利用し、感度良く生体高分子の相互作用を検出するセンシング方法について検討を行っている。具体的には、バイオ研究などで広く利用されているメンブレンフィルター（以降、メンブレンと記す）上での抗原抗体反応や小分子とタンパク質との特異的な結合を、テラヘルツ (THz) 波と呼ばれる電磁波を用いて透過測定を行う。その際、金属メッシュをセンサーとして利用することで生体高分子と結合したメンブレンの誘電率変化を感度良く計測する手法である。

THz 波とは、周波数が約 0.3 から 10 THz までの電磁波の名称で、古くから遠赤外領域として研究が進められていた電磁波領域である。近年まで扱いやすい光源や検出技術の不足により未開拓領域として取り残されていた。しかし昨今の技術レベルの向上により、応用開拓が急速に世界中で進められている。分光学的には赤外吸収よりも弱いエネルギーに相当する吸収スペクトルが観測され、分子内および分子間の振動と緩和が共存している領域に相当する。また、タンパク質などの生体高分子は、水素結合や疎水性相互作用など弱い相互作用によってその機能の発現に必要な構造変化が生じていることが知られているが、これらタンパク質の機能発現に要するエネルギーは、室温の熱揺らぎと同程度であり、室温 300 K を周波数に換算すると、約 6 THz に相当する。そのため、THz 波帯の周波数を持つ生体高分子の大振幅振動モードが構造変化や機能発現に大きく寄与していることが推定され、THz 波帯の分光情報には生体高分子の高次構造に関連する情報が含まれていると考えられる。一方、THz 波は光波と比べて波長が長く、マイクロ波などの電波に見られるさまざまな物質に対する透過性も示す。特に高分子の多孔質で形成されるメンブレンは、THz 波帯において高い透過性と低い屈折率を持つ。つまりこのような特性を利用することで、メンブレン上のタンパク質の結合を THz 波の透過測定にて非標識で検出できることとなる。しかし、実際の分析に利用されるタンパク質の量は、単純な透過測定法では検出が困難な量であることが想定されるため、我々は金属メッシュをセンサーとして利用する方式を検討している。

[金属メッシュの透過特性] 金属面上に周期的に開口を形成した金属メッシュは、古くからマイクロ波帯での干渉用フィルターとして研究されており、これらの示すバンドパス特性を遠赤外用光学素子として利用する試みが 1960 年代に報告され、1967 年には Ulrich によって理論と実験による格子メッシュと逆格子メッシュの特性に関する研究が報告されている。一方、光波の領域でもナノテクノロジーによる微細加工技術の向上により、波長に対して同程度もしくはそれよりも小さな周期構造の作成が可能となっている。

Ebbesen らは、1998 年に先の研究と同様の周期構造を持つ金属薄膜開口アレイが、可視光において開口率以上の異常透過特性を示すことを示した。このメカニズムは、入射光が金属表面に励起された表面プラズモンと共鳴的に結合するためであると考えており、詳細については現在も活発な議論が交わされている。

今回実験に使用した金属メッシュは、金属の薄板に正方格子状に正方形開口を配列したもので、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格子定数  $g$  という 3 種類のパラメータで表すことができる。図 1 に金属メッシュの模式図と  $g = 76.3 \mu\text{m}$ 、 $t = 6 \mu\text{m}$ 、 $a = 9.15 \mu\text{m}$  の構造を持つ金属メッシュの透過スペクトルを示す。金属メッシュの透過スペクトルには、格子定数の大きさと同程度の波長において透過率が金属の開口率よりも共鳴的に高くなる領域が現れる。本実験で用いた図 1 の金属メッシュに関しても、開口率は 57.8 % にもかかわらず、3.37 THz では 90% 以上の透過率を示す。本実験では、金属メッシュの開口近傍の誘電率が、サンプルの結合などによって変化し、その結果透過特性が低周波側にシフトする様子を計測することで、感度良く抗原抗体反応などの結合の有無を検出する方法を試みた。

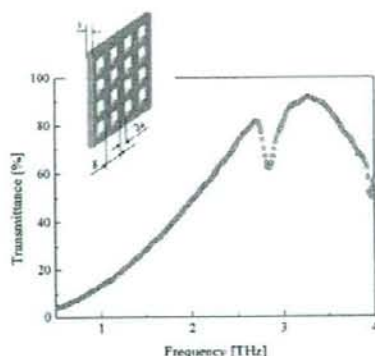


図 1 金属メッシュの模式図と透過特性

[非標識検出実験の結果] 本手法の微量検出への有効性を確認するために、まず金属メッシュの表面に付着したタンパク質を検出する実験を行った。本実験では、2100  $\text{pg}/\text{mm}^2$ 、1100  $\text{pg}/\text{mm}^2$ 、500  $\text{pg}/\text{mm}^2$ 、300  $\text{pg}/\text{mm}^2$  の濃度に調製したタンパク質水溶液を金属メッシュに印刷し、分光器にて透過スペクトルの変化から検出を行った。図 2 にタンパク質を印刷した金属メッシュの透過スペクトルの拡大図を示す。サンプルを塗布すると、金属メッシュ表面の誘電率の変化に伴い、金属メッシュのバンドパス特性は低周波側にシフトする様子が観測された。本実験では、特にディップ周波数のシフトを観測することで、定量的な塗布によるシフトを観測した。また、下段の図はサンプル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、金属メッシュ単体 (0.0  $\text{pg}/\text{mm}^2$ ) と比較して透過特性の低周波側へのシフトが確認でき、特に 500  $\text{pg}/\text{mm}^2$  (11fmol 相当) の微量な変化にも反応している様子が確認できた。

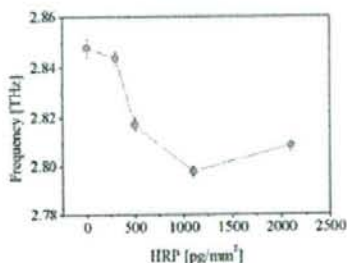
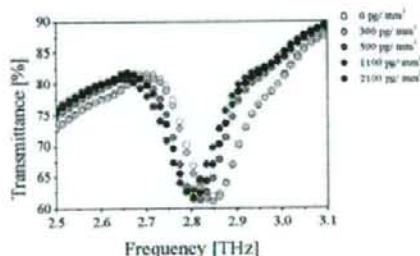


図 2 上段：金属メッシュの透過特性の変化，下段：サンプル量によるディップ周波数の変化

本発表ではさらに、小分子-タンパク質や抗原抗体反応などの非標識検出例についても触れ、THz 帯における非標識センシングのライフサイエンス分野への応用可能性について発表する。