

バイオ関連材料のテラヘルツ分光

田畑 仁・Michael HERRMANN・法澤 公寛

Terahertz Spectroscopy for Bio-Related Materials

Hitoshi TABATA, Michael HERRMANN and Kimihiro NORIZAWA

We have investigated DNA and bio-related materials (such as CaCO₃ etc.) by a THz radiation technique. The refractive index depends strongly on the sequence of DNA base molecules. Furthermore, the THz spectra of CaCO₃, so called a bacterium constructed striped hot-spring ball, indicate the information of inter water and impurities such as ions and organics. These results indicate that the THz spectroscopy is quite effective to analyze the bio-related materials without breaking the samples.

Key words: THz spectroscopy, DNA, bio-related materials

テラヘルツ光は、長い間安定した光源がなく未踏の光といわれてきたが、1990年代に入ってから技術の大きな進展があった。1THzのエネルギーは $330\ \mu\text{m}=33.3\ \text{cm}^{-1}=4.1\ \text{meV}=48\ \text{K}$ に相当し、従来の赤外分光で検出される分子の振動エネルギー領域よりも低い振動モードがテラヘルツ帯に表れる(図1)。エネルギーの低い振動モードとは、弱い結合をした大きな質量どうしの振動モードであり、分子間振動・ねじれ振動、水素結合振動などによる吸収がテラヘルツ帯に表れる。生体関連材料においては、水素結合(塩基相補対形成、酵素/DNA認識)や分子間相互作用(α ヘリックス、 β シート形成、タンパク質形成等)に相当するエネルギー領域であり(図1)、特にDNAなどの生体高分子においては、テラヘルツ分光法により生体高分子の指紋スペクトルを得ることが期待される。

1. DNA 関連分子のテラヘルツスペクトル

DNAの二重らせん構造は、対になる2種類の塩基分子間の水素結合によって構成されていることはよく知られているが、このほかにも遺伝子工学上きわめて重要なタンパク質のひとつである制限酵素がDNA分子の特異塩基サイトを認識し、結合するにも水素結合が重要な役割を果たしている。リボソーム分子によるアミノ酸分子合成の鍵となるtRNA分子によるmRNAのコドン読み取りなど、さらにはタンパク質分子の高次折りたたみ構造など、生体反応のきわめて重要な水素結合ダイナミクスの観察手法とし

て期待されている。そして、テラヘルツ領域の波長がちょうど水素結合のエネルギー領域に対応することから、プロトンダイナミクスをはじめ反応ダイナミクスと、分子識別能を有する検出バイオ関連検出技術としてのテラヘルツ分光の利用は、大変大きな可能性が期待されている。

2001年には“The First International Conference on Biomedical Imaging and Sensing Applications of THz Technology (BISAT2001)”(Leeds, U.K.)が開催され、テラヘルツ技術のバイオ応用は活発に議論されるようになってきた。特にWaltherらは、DNAの4種類の塩基のテラヘルツ分光を行い、2.0~3.5 THzの波長領域において各々の塩基の特徴的なピークが観測され、DNA識別への可能性を示した¹⁾。このように2000年付近を境にして、テラヘルツ技術のバイオ応用に関する研究が進展した²⁻¹¹⁾。

DNAは二重らせん構造をとるが、1本鎖が2本鎖にハイブリダイゼーションすることでテラヘルツ帯の吸収が増えることが知られている¹²⁾。これは、アデニン(A)とチミン(T)、グアニン(G)とシトシン(C)の相補となる各塩基のアミノ基どうしの水素結合による振動モードがテラヘルツ帯に表れるからだと考えられており¹²⁾、分子間相互作用を直接観測することができる。DNAをテラヘルツ分光により見ることで、ノンラベリング・非破壊・非接触のハイブリダイゼーション判定を行うことができる。また、二次元・三次元イメージング手法も開発されており、

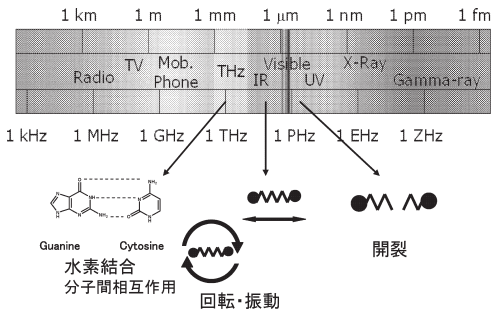


図1 電磁波（光・電波）の各波長に対応する化学エネルギー。

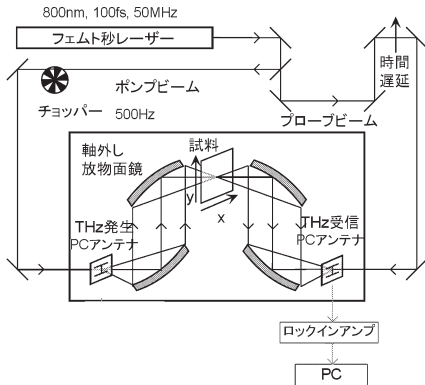


図2 テラヘルツ TDS による分光・イメージング装置。

癌や腫瘍^{13,14)}をテラヘルツ光で見ることで医療への応用が試みられている。

図2に、一般的なテラヘルツ時間領域分光法 (Terahertz time-domain spectroscopy: THz-TDS) の装置模式図を示す。極短パルスレーザーを光伝導アンテナに照射することにより、数 ps ($\sim 10^{-12} \text{ s} = 10^{12} \text{ Hz} = 1 \text{ THz}$) のパルスを発生させ、試料透過後のパルス波形をポンププローブ法により時間領域で測定する。時間領域のパルス波形をフーリエ変換すれば周波数スペクトルが求まる。また、試料台を XY 方向に走査することにより、テラヘルツ画像を得ることができる。図3に、Poly(dA-dT)-Poly(dT-dA), Poly(dG)-Poly(dC) のテラヘルツ透過スペクトルおよび時間領域のパルス波形を示す¹⁵⁾。試料を透過することにより、パルスの振幅が小さくなる。また、試料のもつ屈折率のために、パルス到達時間に遅延が生じる。サケ白子 DNA のテラヘルツ透過スペクトルにおいて、高周波ほど透過率が小さくなるのは、DNA 塩基間の水素結合振動モードや吸着水の影響であると考えられている¹⁵⁾。

2. バイオ関連物質のテラヘルツ・イメージング

図4に、木の葉のテラヘルツ透過画像を示す。透過パルスのピーク強度から得られたのが振幅モード画像 (図4(b)) で、水分の多い葉脈が黒く (減衰大) なっている。透過パルスの遅延時間から得られたのが時間遅延画像 (図

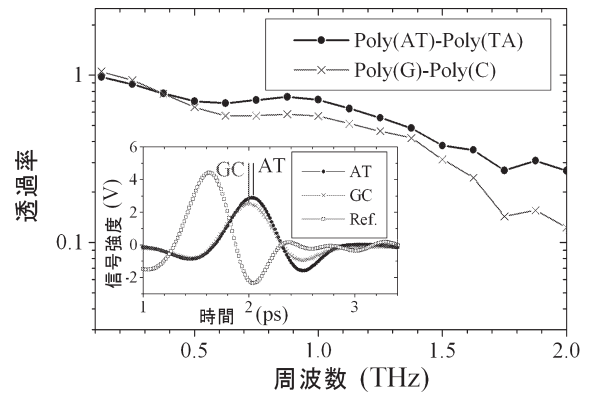


図3 Poly(dA-dT)-Poly(dT-dA), Poly(dG)-Poly(dC) のテラヘルツ透過スペクトルおよび時間領域のパルス波形。

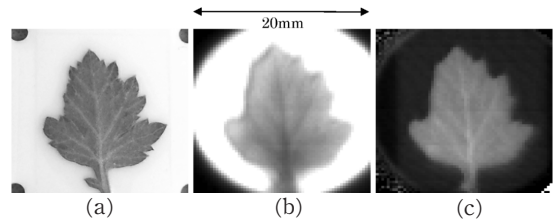


図4 木の葉のテラヘルツ透過画像。(a) 可視光, (b) THz 振幅モード, (c) THz 時間遅延モード。

4(c)) で、振幅モードとは逆の白黒パターンとなっている。これは、水分が多いほど屈折率が大きく、時間遅延が大きくなるためである。このように、生体のテラヘルツ画像から含水率の空間分布を知ることができる。

無機系生体材料として、アパタイトと並び興味をもたれているのが炭酸カルシウムである。これは貝殻や真珠等の主成分として知られる材料である。図5に、厚さ2mmにスライスした縞状温泉堆積物のテラヘルツ透過画像を示す。これは温泉スケールともよばれ、温泉水中でおもにバクテリアによって生成された堆積物である。本試料は、アラゴナイト (斜方晶系の CaCO_3) を主成分とし、Fe, Mn, Siなどを不純物として含んでいる。縞模様は、生成時の pH, 温度, 不純物濃度などによると考えられている。本測定に用いたテラヘルツ光学系 (図2) では、波長による制限から位置分解能が約1mmのため、可視光で見える細かい縞模様に対応した模様は見えないが、一部可視光画像に対応したテラヘルツ画像が得られている。また、周波数スペクトルを詳しく見ると、含水率だけではなく、層間の有機物の情報が得られることがわかっている。厚さ2mmもあるのに対して、非破壊でスペクトルを得ることができるのは、テラヘルツ分光法の特徴である。

3. 今後の展開

テラヘルツ分光は、紫外-可視分光や赤外分光と比較して低いエネルギー領域のため、信号の S/N 特性が一般に

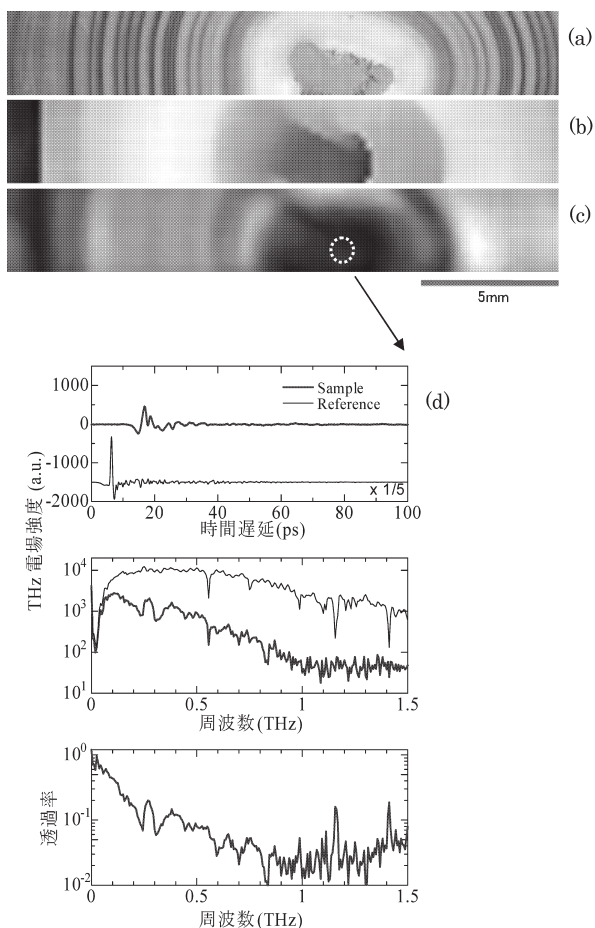


図5 縞状温泉堆積物のテラヘルツ透過画像とスペクトル。(a) 可視光, (b) THz 振幅モード, (c) THz 時間遅延モード, (d) 中心部の周波数スペクトル。

低く、分析手法として単独の利用では応用範囲が限定される。DNA 塩基やアミノ酸分子などの分子量の小さな分子に関しては、比較的容易に特徴的なスペクトルが観測されるのに対して、DNA 分子やタンパク質など分子量の大きなバイオ分子においては、他の手法との組み合わせが必須である。Knoll らは、金属探針とテラヘルツ分光を組み合わせることにより数百 nm の分解能を実現した¹⁶⁾。さらに Chen らは、空間分解能のすぐれたプローブ顕微鏡技術のひとつであるタングステン探針を利用した STM 技術と併用することにより、150 nm の分解能を実現した¹⁷⁾。本技術は、サブミクロンサイズのタンパク質等のバイオ関連分子を対象としたテラヘルツ分光の可能性を示す成果として注目される^{18,19)}。

また最近、田中(京大)はテラヘルツ全反射分光装置 (THz-ATR) を開発し、水の複素誘電率の精密測定、水溶液中の生体分子の検出や半導体の表面プラズマ共鳴など、テラヘルツ領域の近接場をもちいた分光測定に成功した。特に、水溶液環境下での測定の成功は、テラヘルツ分

光のバイオ関連材料への適用を考えるうえで特筆すべき成果である²⁰⁾。

バイオ関連試料におけるテラヘルツ分光法の利点は、蛍光修飾などを必要とせず、ノンラベリングで指紋スペクトルを得ることができることにある。ひるがえっていえば、テラヘルツ光のエネルギーは数 meV と小さいため、生体への損傷が少ないという利点を有するともいえる。今後、より高速・高感度・高空間分解能のテラヘルツイメージング・分光技術が確立すれば、*in situ* や *in vivo* での生体観察が可能となるだろう。また、基板上に高密度に修飾した DNA のテラヘルツイメージングを行うことで、新しいノンラベリングでのバイオチップへの応用も期待されている。このように、電波と光波の境界領域にあるテラヘルツ周波数領域には、タンパク質等の生体高分子の集団運動のような生体材料に重要な励起が存在している。テラヘルツ領域の波長が、この水素結合などの生体高分子の非共有結合性相互作用エネルギー領域に対応することから、生命現象をつかさどる生体分子の構造形成や機能発現のメカニズムを解明する新しい計測技術として期待される。

本関連研究において、斗内政吉(阪大)や田中耕一郎(京大)らをはじめとするテラヘルツテクノロジー技術動向調査委員会委員諸氏らとのディスカッションが非常に有意義であった。誌面を借りて謝意を表す。

文 献

- 1) M. Walther *et al.*: Biopolymers (Biospectroscopy), **67** (2002) 310-313.
- 2) A. G. Markelz *et al.*: Chem. Phys. Lett., **320** (2000) 42-48.
- 3) S. W. Mye *et al.*: Phys. Med. Biol., **46** (2001) R101-R112.
- 4) M. Nagel *et al.*: Appl. Phys. Lett., **80** (2002) 154-156.
- 5) A. Menikh *et al.*: ChemPhysChem, **3** (2002) 655-658.
- 6) K. Yamamoto *et al.*: Bull. Chem. Soc. Jpn., **75** (2002) 1083-1092.
- 7) A. Markelz *et al.*: Phys. Med. Biol., **47** (2002) 3797-3805.
- 8) S. P. Mickan *et al.*: Phys. Med. Biol., **47** (2002) 3789-3795.
- 9) T. R. Globus *et al.*: J. Biol. Phys., **29** (2003) 89-100.
- 10) K. Kawase *et al.*: Opt. Express, **11** (2003) 2549-2554.
- 11) P. Haring Bolivar *et al.*: Phys. Med. Biol., **47** (2002) 3815-3821.
- 12) B. M. Fischer *et al.*: Phys. Med. Biol., **47** (2002) 3807-3814.
- 13) R. M. Woodward *et al.*: J. Biol. Phys., **29** (2003) 257-261.
- 14) K. J. Siebert *et al.*: Phys. Med. Biol., **47** (2002) 3743-3748.
- 15) M. Herrmann *et al.*: 第 52 回応用物理学関係連合講演予稿集 第 3 分冊, p. 1259.
- 16) B. Knoll *et al.*: Appl. Phys. Lett., **77** (2000) 3980-3982.
- 17) H.-T. Chen *et al.*: Appl. Phys. Lett., **83** (2003) 3009-3011.
- 18) K. Wang: Conference on Laser and Electro-optics/Quantum Electronics & Laser Science Conference (CLEO/QELS2003) (Maryland, 2003) CMP5.
- 19) Q. Chen *et al.*: Opt. Lett., **25** (2000) 1122-1124.
- 20) H. Hirori *et al.*: Jpn. J. Appl. Phys., **43** (2004) L1287-L1289.

(2005 年 5 月 31 日受理)