

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03252

研究課題名(和文) 微小流路デバイスを用いた分析における高分解能・高感度テラヘルツ分光検出法の確立

研究課題名(英文) Development of terahertz spectroscopic detection at high spatial resolution and high sensitivity for separation analysis with narrow flow channel devices

研究代表者

北岸 恵子 (KITAGISHI, Keiko)

大阪大学・レーザー科学研究所・特任研究員

研究者番号：20563860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：局所場テラヘルツ分光を利用した高感度、高空間分解能のテラヘルツ検出を、マイクロ流路での分離分析の検出法として確立した。マイクロ流路としては、流路を形成したPDMS(ジメチルポリシロキサン)製の使い捨てチップ、および石英製キャピラリーを用い、紫外部、可視部に特徴的な吸収のない糖類、低分子カルボン酸類を測定対象とした。石英製キャピラリーにおいては、電気泳動による低分子カルボン酸の分離を行い、分離ピークの検出に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

広く生体内に存在する糖類、低分子カルボン酸類には可視・紫外部に吸収がないため、その分析には発色団の化学修飾が用いられることが多い。今回の局所場テラヘルツを利用した高感度検出法の開発とマイクロ流路デバイスとの組み合わせにより、前処理なしに、糖類、低分子カルボン酸類が検出できるようになった。一般にテラヘルツ領域では水の吸収が強く、生体系への応用は難しかったが、今回の検出法でその可能性が証明され、生体試料をそのまま分離分析して検出する方向性が拓かれた。

研究成果の概要(英文)：Localized terahertz emission spectroscopy with high spatial resolution and high sensitivity was applied to the new detection method for separation analysis by using micro flow channel devices. As micro flow channel devices, disposable microchip made of polydimethyl siloxane (PDMS) and quartz capillaries were used. The samples analyzed were aqueous solutions of sugars and low-molecular weight carboxylic acids which did not show characteristic spectra in UV/Vis region. The separation and terahertz detection of low-molecular weight carboxylic acids could be achieved by capillary electrophoresis.

研究分野：分析化学、テラヘルツ分光

キーワード：テラヘルツ キャピラリー電気泳動 マイクロ流路 高感度微量分析 マイクロチップ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

キャピラリー電気泳動は、高い分解能をもつ分離法として広く使われており、特にイオン分析やDNA解析においては、従来の分析法に比べて、高速分析、一斉分析ができる強みがある。糖類についても、単糖、二糖類など、構造が類似した糖類を分離できるのは他の分析方法にない優位点である。しかし、検出は主として吸収剤を添加するインダイレクト吸収法、または電気伝導度で、感度や汎用性の点で、液体クロマトグラフィーに比肩するには至っていない。ただし、液体クロマトグラフィーにおいても、糖の分析は複雑な過程が必要で難度が高い。キャピラリー電気泳動のインダイレクト吸収、電気伝導度のほかに、前処理として蛍光色素などでラベルを行い、蛍光検出する方法もあるが、確立した手法とはなっていない。これらの要因がキャピラリー電気泳動による生体成分、特に糖類の分析の普及を遅らせている。キャピラリー電気泳動はダウンサイジング、高速測定を目的として、チップ電気泳動の開発も進み、遺伝子やタンパク質の分析に利用されている。

テラヘルツ (THz) (0.3~10 THz、波長として 30  $\mu$ m ~ 1mm 程度) 域は、水素結合、ファンデルワールス力など、弱い結合エネルギー状態に相当し、吸収スペクトルが現れる。特に糖類では、単糖類、二糖類の間で指紋スペクトルが異なる。また、テラヘルツ時間領域分光 (THz-TDS) では、位相情報が得られ、複素屈折率、複素誘電率が簡単に求められることから、分離分析において新規の情報をもたらす検出法となることが期待される。

我々は非線形光学結晶の下部からフェムト秒パルスレーザー光を照射した際に二次の非線形効果 (光整流効果) で THz 波が発生することに着目し、そこを局所的に励起し、THz 波発生源と測定物質を近接させることにより、局所場 THz を利用した透過分光測定を可能とした。この方法では、試料近傍でほぼ点光源として発生した THz 波が、平面波として広がる前に近接場光として試料を透過するため、THz 波長以下の微小サイズの試料の透過分光測定が可能となる。さらに、THz 波が広がらずに試料に照射されるので、検出の高感度化が可能となり、水系のサンプルでも溶液内の溶質の情報を得ることに成功している [1]。

本研究は、この局所場 THz 分光を、キャピラリー、マイクロチップに応用し、新しい検出法を確立しようとした。

### 2. 研究の目的

本研究では、混合物、最終的には生体試料について、前処理なしで分離を行い、定性、定量分析を可能にするために、マイクロチップ、キャピラリーなどのマイクロ流路デバイスを用いて、糖類、低分子カルボン酸を測定対象として電気泳動で分離し、THz 分光で検出することを目標とする。THz 領域では、水の吸収が高く、最近まで水溶液の分析はほぼ不可能であった。チップ電気泳動、キャピラリー電気泳動と局所場 THz 分光のサイズのスケールが近いことに注目して、両者を組み合わせることができれば、今まで不可能だった THz 領域における溶液分析が可能になると推測し、研究開発を行った。

今回は THz の弱いエネルギー状態での吸収スペクトルを利用して、修飾を行わずに分析することを目指す。この手法の研究により、臨床検査できわめて重要な生体試料中の糖質、低分子カルボン酸の定性、定量分析が、高速で簡単に行えることが最終目標である。

### 3. 研究の方法

局所場 THz 発生 / 検出システムをダウンサイジングして電気泳動しながら測定できるようなシステムを構築する。PDMS (ジメチルポリシロキサン) マイクロチップに流路を作製し、そのシステムでの単糖水溶液の検出を行う。光フィルタなどの高精度周波数制御材料として知られるメタマテリアルをこの局所場 THz と相互作用させ、さらなる高感度な溶液分析手法の確立を目指す。具体的には、局所場 THz とチップとの距離の最適化、メタマテリアル構造の最適化を行う。

次に、キャピラリーを局所場 THz 発生 / 検出システムに組み込み、糖類、低分子カルボン酸類の水溶液の測定を行う。さらに、電気泳動によって複数の成分を分離、検出し、従来法の結果と比較して、キャピラリー電気泳動の新規の検出法としての局所場 THz を確立する。分離 / 検出が行えた実験系について、エッチングによるキャピラリーの薄壁化、THz 波源として高出力の有機光学結晶 DAST (4'-dimethylamino-N-methyl-4-stilbazolium tosylate) の採用による高感度化を目指し、従来の THz-TDS と同様の時間波形の取得を試みる。

### 4. 研究成果

(1) マイクロ流路を有する PDMS を利用した使い捨てチップを用いて、高感度の糖類の検出に成功した。このチップにおいて、メタマテリアル構造を形成してさらなる高感度化を行った。また、次に石英製キャピラリーをデバイスとして用い、キャピラリー液体クロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動による分離分析の検出方法として、局所場 THz を利用するための基礎検

討を行った。サイズの異なる石英製キャピラリーにおいて、低分子カルボン酸の水溶液の測定を行い、キャピラリーのディメンジョンの最適化を行うとともに、検量線を作成した。従来の電気伝導度検出器でも同様の測定を行い、両者を比較した。

(2) 複数の低分子カルボン酸を含む水溶液について、キャピラリー電気泳動による分離を行い、局所場 THz を利用して検出を行った。まず、低分子カルボン酸の水溶液をキャピラリーに満たして THz 測定を行い、検量線を作成した。次に、炭素数が 1 から 3 の低分子カルボン酸をキャピラリー電気泳動により分離し、局所場 THz 検出で電気泳動クロマトグラムを得た(図 1)。電気泳動クロマトグラムは、従来法の電気伝導度検出とよく一致した。また、高出力 THz 波源である DAST 結晶、エッチングキャピラリーを用いて、さらなる高感度化を行い、THz 時間波形の時間経過の測定に成功した。これらの研究をさらに進めることにより、複素屈折率、複素誘電率の時間経過を測定し、各低分子カルボン酸の分離ピークについて物性値測定が可能となることがわかった。

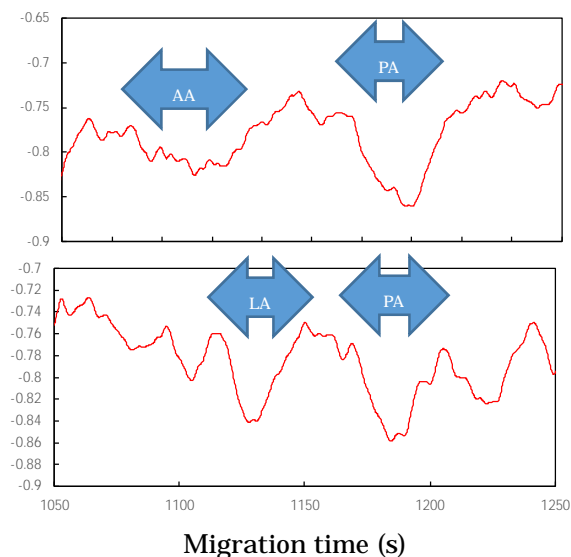


図 1 酢酸 (AA) と *n*-プロピオン酸 (PA) (上図)、乳酸 (LA) と *n*-プロピオン酸 (PA) (下図) の電気泳動クロマトグラム。MES buffer, pH5.0

#### 引用文献

- [1] Serita, K. et al., Scanning laser terahertz near-field imaging system. Opt. Express, 20(12), 12959-12965 (2012).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 C.Cao, K. Serita, K. Kitagishi, H. Murakami, Z. Zhang, M. Tonouchi	4. 巻 119
2. 論文標題 Terahertz Spectroscopy Tracks Proteolysis Process by a Joint Analysis of Absorptance and Debye Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 2469-2482
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bpj.2020.11.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 北岸恵子、芹田和則	4. 巻 18
2. 論文標題 最新のテラヘルツ測定技術	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 オレオサイエンス	6. 最初と最後の頁 13-18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 北岸恵子	4. 巻 69
2. 論文標題 高空間分解能、高感度テラヘルツ分光のバイオ分野への応用の試み	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 生産と技術	6. 最初と最後の頁 98-100
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 北岸恵子、斗内政吉
2. 発表標題 カルボン酸のキャピラリー電気泳動分析 - 電気化学検出とテラヘルツ分光検出
3. 学会等名 2019年度第39回キャピラリー電気泳動シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 芹田和則、北岸恵子、田家稜平、川井隆之、村上博成、斗内政吉
2. 発表標題 PDMSマイクロチップ流路一体型テラヘルツチップの開発と微量溶液測定
3. 学会等名 38th CHEMINAS (化学とマイクロ・ナノシステム学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R. Taie, K. Serita, K. Kitagishi, T. Kawai, I. Kawayama, H. Murakami, M. Tonouchi
2. 発表標題 Development of PDMS Microchannel Integrated Type Terahertz Chip
3. 学会等名 IRMMW-THz2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北岸恵子、芹田和則、内田裕久、小山千瑛、高木毅、斗内政吉
2. 発表標題 ARコートDAST結晶のTHz時間領域分光法を用いた評価
3. 学会等名 第66回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北岸恵子、芹田和則、川井隆之、斗内政吉
2. 発表標題 キャピラリー電気泳動 - テラヘルツ分光検出法の実現に向けた試み
3. 学会等名 第38回 キャピラリー電気泳動シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北岸恵子, 芹田和則, 川井隆之, 斗内政吉
2. 発表標題 カルボン酸のテラヘルツ分光による分析
3. 学会等名 日本生物高分子学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北岸恵子, 芹田和則, 川井 隆之, 斗内政吉
2. 発表標題 キャピラリーを用いた分離分析へのテラヘルツ分光検出の試み (2)サイズの異なるキャピラリーでの測定
3. 学会等名 第79回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北岸恵子, 芹田 和則, 濱田 輝, 川井 隆之, 斗内 政吉
2. 発表標題 キャピラリーや $\mu$ -TASを用いたテラヘルツ分光のバイオ応用の試み
3. 学会等名 日本生物高分子学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北岸恵子, 芹田和則, 濱田輝, 川井隆之, 川山巖, 斗内政吉
2. 発表標題 マイクロ流路を用いた生体試料分析への近接場テラヘルツ分光検出法の応用の試み
3. 学会等名 キャピラリー電気泳動シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Keiko Kitagishi, Kazunori Serita, Kagayaki Hamada, Takayuki Kawai, Iwao Kawayama, Masayoshi Tonouchi
2. 発表標題 Application of terahertz near-field spectroscopic detection to micro-flow channels with high sensitivity for biological sample analyses
3. 学会等名 OTST2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 芹田 和則, 濱田 輝, 北岸 恵子, 斗内 政吉, 川井隆之
2. 発表標題 テラヘルツ分光に適した新規マイクロ流路デバイス作製の試み
3. 学会等名 日本応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北岸恵子、芹田和則、内田裕久、小山千瑛、高木毅、斗内政吉
2. 発表標題 ARコートDAST結晶のTHz時間領域分光法を用いた評価
3. 学会等名 第66回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北岸恵子、芹田和則、内田裕久、小山千瑛、高木毅、川井隆之、斗内政吉
2. 発表標題 テラヘルツ分光によるキャピラリー電気泳動オンライン検出：ARコートDAST結晶、管壁エッチングキャピラリーによる高感度化の試み
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北岸恵子、芹田和則、内田裕久、小山千瑳、高木毅、川井隆之、斗内政吉
2. 発表標題 キャピラリー電気泳動のテラヘルツ分光オンライン検出：ARコートDAST結晶、管壁エッチングキャピラリーを用いた高感度化
3. 学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 電気学会技術報告-テラヘルツ波を用いた非破壊検査技術調査専門委員会	4. 発行年 2018年
2. 出版社 電気学会	5. 総ページ数 63
3. 書名 テラヘルツ技術の進展と非破壊検査技術	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 測定システム、及びテラヘルツ波発生デバイス	発明者 北岸恵子、芹田和則、村上博成、斗内政吉	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-034253	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	川山 巖 (Kawayama Iwao) (10332264)	京都大学・エネルギー科学研究科・准教授  (14301)	
研究分担者	川井 隆之 (Kawai Takayuki) (60738962)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・客員研究員  (82401)	



6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	内田 裕久  (Uchida Hirohisa)		
研究協力者	濱田 輝  (Hamada Kagayaki)		
研究協力者	田家 稜平  (Taie Ryohei)		
研究協力者	岡田 航介  (Okada Kosuke)		
連携研究者	芹田 和則  (Serita Kazunori)  (00748014)	大阪大学・レーザー科学研究所・特任助教   (14401)	
連携研究者	斗内 政吉  (Tonouchi Masayoshi)  (40207593)	大阪大学・レーザー科学研究所・教授   (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------