

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26286083

研究課題名(和文) タンパク質機能発現の解明を目指した高強度テラヘルツ時間分解分光システムの開発

研究課題名(英文) Development of high power THz TDS system for investigation of protein dynamics

研究代表者

黒田 隆之助 (Kuroda, Ryunosuke)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・先端オペランド計測技術オープンイノベーションラボラトリ・ラボチーフ長

研究者番号：70350428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、Sバンド小型リニアックを用いてキロアンペア級のピーク電流値をもつ超短パルス電子ビームを生成し、そのコヒーレント遷移放射を利用した高出力テラヘルツパルスによる分光システムを構築した。また、加速器と同期したプローブ光を用いたE0サンプリングシステムにより、高強度テラヘルツパルスによる時間領域分光(TDS)を実施した。タンパク質水溶液計測のため、各種バンドパスフィルター(0.1～1.5THz)を用いたテラヘルツ分光システムを構築し、ヒト血清アルブミン(HSA)等の濃度変化から吸収係数を算出した。これらの測定結果から、フィッティングモデルによる水和層の推定にも成功した。

研究成果の概要(英文)：We have developed the high-power THz spectroscopy system for investigation of the hydrated protein on the basis of S-band compact electron linac. We have also performed the high-power THz-TDS system with E0 sampling method. In case of the THz spectroscopy with THz band-pass filters (0.1-1.5 THz), the absorption coefficient measurements of the liquid protein solutions were successfully carried out with different concentrations. As a result, the hydration layer was estimated by assuming the hydration model.

研究分野：量子ビーム科学

キーワード：テラヘルツ 光源技術 超短パルス電子ビーム 分光技術 水和タンパク質 高性能レーザー 時間領域分光

1. 研究開始当初の背景

生体が活動する室温(300 K)は、周波数に換算すると約 6 THz(200cm⁻¹)であり、それ以下の周波数モードが生体分子の構造変化と機能に大きく関与している。しかし、一般的に用いられているラマン分光や FT-IR では、より高い周波数における特定の官能基(例えば O-H)の伸縮振動モード(75~100 THz 付近, 2500~3300cm⁻¹)の周波数シフトやバンド幅の変化から、弱い相互作用や分子間振動の情報を得ている。そこで、6 THz 以下の低振動数モードを直接観測することができれば、生体分子構造及び機能に関連したより多くの動的な情報がより直接的に得られると考えられ、近年様々な研究機関においてテラヘルツ光源の開発とタンパク質に関連した研究がなされてきている。また、テラヘルツ時間領域分光法(THz-TDS)は、THz パルスのサンプルの有無におけるテラヘルツ時間波形の変化を測定し、フーリエ変換することで吸収スペクトルを得る分光法で、複素誘電率なども求めることができ、生体分子測定にも広く使われている。

一方、産業技術総合研究所(以下、産総研)では、Sバンド小型リニアック施設において、キロアンペア級のピーク電流値を持つ超短パルス電子ビームによって、数 kW~数 10kW とした極めて高いピーク強度をもつテラヘルツ領域のコヒーレント光生成をおこなってきた。これまでに植物の水分布の測定や、図1のように生体試料のサブ・テラヘルツ領域のイメージングにより、脂質とタンパク質の識別、及び可視光像では見えないテラヘルツ吸収物質(癌細胞を想定し予め注入したもの)を画像化することに成功している。テラヘルツ領域は振動現象と緩和現象が混在する領域であり、高強度のテラヘルツ光源を用いることで、この現象を水溶液状態で且つ、時間領域で観測することができれば、溶媒分子の挙動(誘電緩和や誘電分散など)の現象解明に繋げることが出来る。

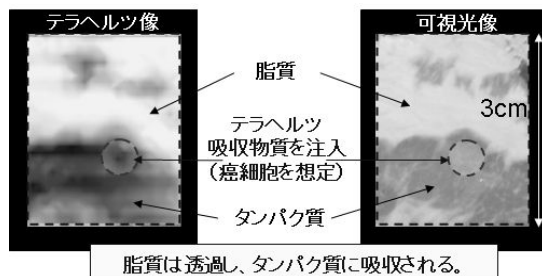


図1：サブ・テラヘルツ領域のタンパク質・脂質のイメージング例(可視光との比較)

2. 研究の目的

本研究は、産総研のSバンド小型リニアックを用いてキロアンペア級のピーク電流値をもつ超短パルス電子ビームを生成し、その

コヒーレント放射(遷移放射)を利用した高出力テラヘルツ(THz)光によるテラヘルツ分光システムを構築する。特に、テラヘルツパルスと同期したプローブレーザーを用いることで、タンパク質等の溶媒サンプルのポンププローブ計測システムを目指す。従来の低出力テラヘルツ光源では測定が極めて困難である溶媒サンプルのテラヘルツ分光を実現するだけでなく、この計測システムによりタンパク質の機能発現メカニズムの解明のため、水和ダイナミクスの挙動を計測することを目指す。本研究では、小型加速器ベースの高強度テラヘルツ光源により、タンパク質等溶液サンプル測定可能なテラヘルツ分光システムを開発するとともに、時分割計測可能なテラヘルツ時間領域分光システムの検討を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、まず、Sバンド小型電子リニアックを用いて、キロアンペア級のピーク強度を持つ超短パルス電子ビームを生成し、真空中で金属ターゲットに照射することで、コヒーレント遷移放射による高出力テラヘルツ光(THz-CTR)を生成する。テラヘルツ時間領域分光では、図2のように、一旦平行光にしたTHz-CTRを大気中に取りだし、レンズによりE0結晶に集光する。同時に、プローブ光を同軸で照射し、偏光子により分離したプローブ光を検出器により検出する。通常のフェムト秒プローブ光を用いた時間領域分光計測では、プローブ光を精密自動リニアステージにより、時間遅延をかけることにより、テラヘルツ電場の時間波形を得ることができる。

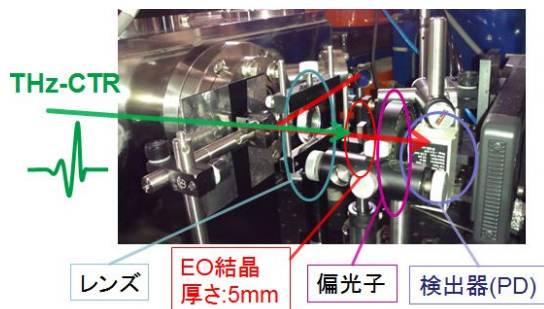


図2：THz-CTRを用いたテラヘルツ時間領域分光のセットアップ。

また、タンパク質水溶液の分光計測では、図3のように、一旦平行光にしたTHz-CTR(テラヘルツ帯コヒーレント遷移放射光)を温調されたボックス内においてバンドパスフィルター透過させ、サンプルセルに照射、透過光を再度検出器に集光する。水溶液のタンパク質濃度を変化させ、テラヘルツの波長毎に吸収係数を算出する。バンドパスフィルターは、中心波長を変更可能な自動ステージで制御する。温調ボックスは、特に水溶液サンプ

ルセルの温度が安定化するよう雰囲気温度を温調している。また、加速器からの放射線や電磁ノイズの影響を低減するため、検出器に対する遮蔽材を適宜設置した。

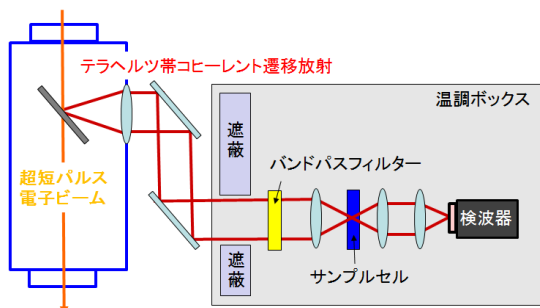


図3：テラヘルツ帯コヒーレント遷移放射 (THz-CTR) とバンドパスフィルターを用いたタンパク質水溶液分光計測システム

4. 研究成果

本研究では、産総研のSバンド小型リニアックを用いてキロアンペア級のピーク電流値をもつ超短パルス電子ビームを生成し、そのコヒーレント放射 (遷移放射) を利用した高出力テラヘルツ (THz) 光によるテラヘルツ分光システムの構築を行った。テラヘルツパルス生成に関しては、小型加速器からの低エネルギーの短パルス電子ビームに対しても、その傾きを詳細に制御することにより、コヒーレント・テラヘルツパルスを生成する手法を開発した。更に、加速器と同期したプローブ光と E0 結晶による E0 (Electro-Optic) サンプリングシステムを構築することで時間領域分光 (TDS) を実施した。

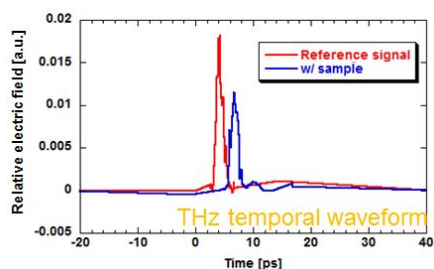


図4：コヒーレントテラヘルツ放射光 (THz-CTR) を用いたテラヘルツ電場の時間波形測定の例 (サンプル有無の変化)

図4に THz-CTR を用いた E0 サンプリングによるテラヘルツ時間領域分光の測定例を示す。サンプルの有無により、位相遅延及び、電場波形の減衰・変化を観測することができた。これらは当初の想定どおり、非常に広帯域なテラヘルツパルスであることを確認するとともに、シングルサイクル程度の電場時間波形を持つことを E0 サンプリングにより実証することができた。パルス幅から計算されるピーク強度は 10kW 級のテラヘルツパルスを実証することができた。更にチャープシ

たプローブ光を用いたシングルショット分光システム、及びテラヘルツパルスの更なる高強度化により、今後のタンパク質の水和挙動計測も実現できると考えられる。

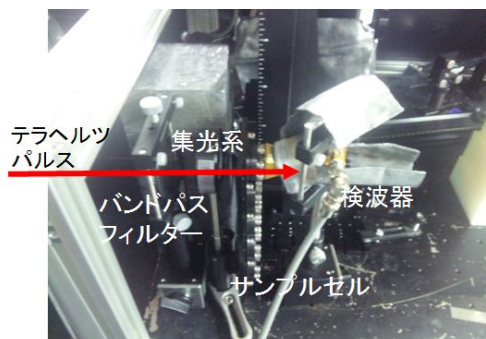


図5：バンドパスフィルターを用いたタンパク質水溶液計測のセットアップ例

また、タンパク質計測に関しては、図3に示す手法の実施例を図5に示した。このようなセットアップを用い、各種テラヘルツバンドパスフィルター (0.1~1.5THz) を用いたタンパク質水溶液試料の計測を行い、測定結果の解析を実施した。水溶液サンプルとしては、ヒト血清アルブミン (HSA) 及び各種イオン (硝酸や硫酸、Li 等) を用い、それらの濃度変化から吸光度と吸収係数の算出最適化を行った。特に Li イオンの特定条件下の挙動は、変化に対し不感的で興味深い結果が得られた。図6に水和層推定のためのタンパク質水溶液の測定例及び水和モデルを示した。これらの成果により、吸収係数の変化に対し、フィッティングモデルによる水和層の推定に成功するとともに、水和タンパク質の挙動解明に向けた新たな知見が得られたと言える。今後は水和層算出の精度向上が重要となってくるため、各種イオンとの関連や周波数特性なども十分考慮した算出が必要であるとされる。

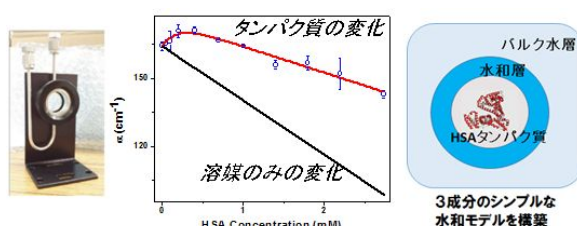


図6：水和層推定のための HSA タンパク質水溶液の測定例と水和モデル

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 4)

K. Sakaue, Y. Koshiba, M. Mizugaki, M. Washio, T. Takatomi, J. Urakawa, R. Kuroda, Ultra-short electron bunch generation

using Energy-Chirping-Cell attached RF electron gun, Proceedings of International Particle Accelerator Conference (IPAC 2014), 2014, 685-687

Fujii, Thanh-Hung Dinh, Takeshi Higashiguchi, Kazuyuki Sakaue, Masakazu Washio, Taisuke Miura, Akihiko Takahashi, Daisuke Nakamura, Tatsuo Okada, Motoki Yonemura, Yukitoshi Otani, Generation of radially polarized high energy mid-infrared optical vortex by using of a passive axially symmetric ZnSe waveplate, Appl. Phys. Lett., 107, 2015, 81112

K. Sakaue, M. Nishida, M. Washio, R. Kuroda, Y. Taira, J. Urakawa, Generation of a coherent Cherenkov radiation by using electron bunch tilting, Proceedings of IPAC2016, 2016, 1870-1872
DOI:10.18429/JACoW-IPAC2016-TUPOW047

坂上和之、西田万里子、鷺尾方一、黒田隆之助、平義隆、浦川順治、電子線傾き制御によるコヒーレントテラヘルツ放射の生成、Proceedings of the 13th Annual Meeting of Particle Accelerator Society of Japan, 2016, 606-608

〔学会発表〕(計 18)

黒田隆之助、先端加速器と産業応用、2014年4月加速器夏期セミナー、2014年08月23日、タイム(株)会議室、タイム(株)、広島

Y. Taira, R. Kuroda, M. Tanaka, H. Toyokawa, K. Sakaue, H. Tomizawa, on-invasive electron beam position monitoring using coherent diffraction radiation from a slit, 13th International Beam Instrumentation Conference (IBIC2014), 2014年09月16日, Portola Hotel & Spa at Monterey Bay, Monterey, アメリカ

坂上和之、高周波電子銃による極短バンチ生成と今後の展望、第12回高輝度高周波電子銃研究会、2015年01月21日、55号館S棟2階 第4会議室、早稲田大学(東京)

坂上和之、電子バンチ傾き制御によるコヒーレントチェレンコフ放射に関する研究、日本物理学会第70回年次大会、2015年03月22日、早稲田キャンパス、早稲田大学(東京)

平義隆、黒田隆之助、田中真人、豊川弘之、富澤宏光、テラヘルツ領域におけるコヒーレント遷移放射及び回折放射の偏光状態の測定、日本物理学会第70回年次大会、2015年03月24日、早稲田キャンパス、早稲田大学(東京)

K. Sakaue, M. Washio, J. Urakawa, Recent progress in photo-cathode rf electron gun as a pulsed radiation source, ICRR2015 (国際学会), 2015年05月26日, 京都市

坂上和之、西田万里子、水柿将貴、鷺尾方一、浦川順治、黒田隆之助、平義隆、傾き制御電子バンチによるコヒーレントテラヘルツ光発生、第12回日本加速器学会年会、2015年08月05日、敦賀市

K. Sakaue, M. Mizugaki, M. Nishida, M. Washio, R. Kuroda, Y. Taira, Intense THz Generation by a Coherent Cherenkov Radiation, WIRMS2015 (国際学会), 2015年10月13日, ニューヨーク(アメリカ)

平義隆、コヒーレントテラヘルツ放射パワーの絶対値測定による電子ビーム診断、ビーム物理研究会 2015、2015年11月27日、東海村、いばらき量子ビーム研究センター

黒田隆之助、加速器における実用フォトカソード電子源とその応用、第11回励起ナノプロセス研究会、2015年12月21日、淡路市

R. Kuroda, Development of the high-power THz spectroscopy and imaging systems on the basis of an ultra-short electron linac, APSRC-TSRP-2016 (招待講演)(国際学会), 2016年01月06日, ムンバイ(インド)

平義隆、飯田仁志、木下基、坂上和之、黒田隆之助、テラヘルツ波パワーの絶対値測定による電子ビーム診断、分子研研究会「高輝度・高強度赤外光源の現状と今後の展開、2016年02月11日、岡崎市

黒田隆之助、平義隆、田中真人、豊川弘之、産総研Sバンド小型リニアック施設における高強度テラヘルツ波を用いた利用研究、分子研研究会「高輝度・高強度赤外光源の現状と今後の展開」、2016年02月11日、岡崎市

K. Sakaue, M. Nishida, M. Washio, R. Kuroda, Y. Taira, J. Urakawa, Generation of a coherent Cherenkov radiation by using electron bunch tilting, International Particle Accelerator Conference (IPAC 2016) (国際学会), 2016年05月08日~13日, BEXCO, Busan, South Korea

坂上和之、西田万里子、鷺尾方一、黒田隆之助、平義隆、浦川順治、電子線傾き制御によるコヒーレントテラヘルツ放射の生成、第13回日本加速器学会年会、2016年08月08日~10日、幕張メッセ(千葉県千葉市美浜区)

田中 真人、次世代バイオ計測に向けた分光分析手法の開発と応用、TIA かけはし第 2 回 ナノバイオ・コンソーシアム討論会（招待講演）2016 年 10 月 14 日、筑波大学（茨城県つくば市）

黒田 隆之助、光とレーザーとプラズマと加工について、サイエンス・アソシエーション・プロジェクト基礎講演会（招待講演）2017 年 01 月 19 日、松本工業高校（長野県松本市）

坂上和之、箕田知慶、西田万里子、ブラメルド真理、柳沢稜、鷲尾方一、浦川順治、平義隆、黒田隆之助、電子線の傾き制御を用いたコヒーレントテラヘルツ放射、第 23 回 FEL と High-Power Radiation 研究会・第 14 回高輝度高周波電子銃研究会、2017 年 02 月 23 日～24 日、東北大学三神峯ホール（宮城県仙台市）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 1 件）

名称：電磁波発生装置及びその方法
発明者：坂上 和之 他
権利者：同上
種類：特許
番号：特願 2015 - 177795
出願年月日：2015 年 9 月 9 日
国内外の別：国内

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒田 隆之助 (Kuroda Ryunosuke)
産業技術総合研究所・先端オペランド計測
技術オープンイノベーションラボラト
リ・ラボチーム長
研究者番号：70350428

(2) 研究分担者

田中 真人 (Tanaka Masahito)
産業技術総合研究所・分析計測標準研究部

門・主任研究員

研究者番号：30386643

(3) 研究分担者

平 義隆 (Taira Yoshitaka)
産業技術総合研究所・分析計測標準研究部
門・研究員
研究者番号：60635803

(4) 研究分担者

坂上 和之 (Sakaue Kazuyuki)
早稲田大学・高等研究所・准教授
研究者番号：80546333