

「新機能創成に向けた光・光量子科学技術」  
平成 17 年度採択研究代表者

山下 幹雄

北海道大学 大学院工学研究科 教授

## 極限光電場波形制御による新光量子技術の創出

### 1. 研究実施の概要

本研究の最終的なねらいは以下の通りである。①近赤外・可視域から紫外域に渡る極短光パルスの電場波形制御技術と②モノサイクル域光の高出力短パルス化技術・計測技術を開発すること。加えて、それら技術の応用として、③XUV・X 線域のアト秒パルス技術と非線形分光への応用域および④超高速光異性化反応などを利用した量子制御による遺伝子発現レーザー可逆制御の手法を開拓することである。

20 年度は、①については、前年度開発した紫外から近赤外域まで透過する 648 ピクセル空間光位相変調器を用いて、近赤外域だけでなく紫外域でもフェムト秒パルスのチャープ補償が可能であることを実験実証した。さらに 1 ピクセル空間光振幅変調器を試作し、その紫外から近赤外域にわたる波長依存などの振幅変調特性を明らかにした。②については、主に以下の三つの実験を進めた。第一に角度分散・非同軸光パラメトリック増幅 (A-NOPA) によるオクターブ増幅の実験において前年度達成した  $95\mu\text{J}$  出力を、 $\sim 300\mu\text{J}$  まで高出力化するために(高次高調波アト秒パルス発生の励起光源として必要なエネルギー)、A-NOPA 装置全体の再設計試作とその各要素の評価を行った<sup>2)</sup>。第二にパルス計測の超広帯域化の実験において、非同軸型和周波 2 次元スペクトル干渉装置を試作し、誘起位相変調(IPM)コヒーレント光の 328~1363 nm の 2 オクターブを越えるスペクトル位相が測定可能であることを確認した。第三に高次・コヒーレント・アンチストークスラマン散乱(M-CARS)による高効率極短パルス発生においては、各次数の CARS 光角度とその光周波数との関係が線形でより広帯域な光波を発生する  $\text{KTaO}_3$  を用いて、角度分散補償およびチャープ補償を行い、前年度の原理実証実験結果より狭い 13 fs パルス発生に成功した<sup>1)</sup>。③については、XUV 波長域の非線形光学現象の開拓をめざして、Ar から発生された 19 次と 21 次の高次高調波 XUV パルス光を He に照射し、2 光子吸収により He 原子の二電子励起状態( $2p^21S$ )が生成されることを確認した<sup>3-4)</sup>。④については、極限光技術からのアプローチと生物化学的手法からのアプローチ(名古屋大チーム)と 2 つの視点から研究を行った。前者では、前年度開発したフェムト秒過渡吸収測定のリート方程式解析法をさらにすすめ、430 nm 励起・350 nm プローブで cis(C)から trans(T)への異性化が 1 ps 以内で生じ、正の一定過渡吸収信号の大きさが生成 trans 体分子数に比例すること、および 360 nm 励起・350 nm プローブで T か

ら C への異性化が 4 ps 以内で生じ、負の一定信号の絶対値の大きさが生成 cis 体分子数に比例することがわかった。さらにこれらより、光励起パルス当たりの光異性化率の新しい測定法が見いだされた<sup>②,1)</sup>。後者では、T7 プロモーターにアゾベンゼンを組み込んだ光応答性プロモーターと緑色蛍光性タンパク質(GFP)をコードしている DNA を連結した長鎖キメラ DNA の、より簡便な調製法を開発した<sup>5-9)</sup>。得られた長鎖キメラ DNA を使用して pure system による転写・翻訳の in vitro 光スイッチングを行ったところ、当初の目標通り GFP 発現の光制御(5倍以上の効率)を実現することができた。また siRNA の光制御を目指し、今年度はアゾベンゼンを導入した RNA を合成して RNA 干渉に対する影響を調べた。

## 2. 研究実施内容(文中にある参照番号は 4.(1)に対応する)

上記のねらいを実現するために、北海道大学チームと名古屋大学チームとが分担しあって 20 年度は以下の四つの研究を進めた。

### 1. 極限光電場波形制御技術の開発(北海道大学チーム)

④下記 2 の紫外域までのびた超広帯域コヒーレント光波のチャープ補償のために、⑥下記 3 のアト秒パルス計測に必要な相似スペクトルペア発生のために、⑩下記 4 の紫外から可視域に吸収を有するアゾベンゼン誘導体の光異性化のコヒーレント制御に必要な波形整形のために、近赤外から紫外まで透明な新しい液晶(LC)を用いて空間光変調器(SLM)を開発している。今年度は前年度開発した 648 ピクセル位相変調 SLM を用いて、近赤外のみならず紫外(383-403 nm)270 fs チャープパルスのチャープ補償実験を行った。まず、紫外から近赤外にわたる超広帯域で使用可能で、かつ高出力パルスに対し高スループットである反射型 4f チャープ補償系の設計と開発を行った。角度分散素子として従来用いていた回折格子をプリズムに置換した。回折格子による 4f 系において生じる高次回折光の問題を避けると共に、回折格子よりも高スループットになる。また、4f 系内の球面鏡を円筒鏡に置き換えた。これにより高出力光を入力することが可能となる。次に、チタンサファイアレーザの第 2 高調波を発生させ、紫外チャープパルスのチャープ補償を試みた。すなわち、4f 系内のプリズムによる材料分散を新 SLM で補償する実験を行った。群速度分散は補償前の 2400 fs<sup>2</sup> から、補償後には 730 fs<sup>2</sup> となった。パルス光の半値全幅は補償前の 270 fs から補償後には 35 fs となった。これにより LC・SLM が、可視・近赤外域に加え紫外域でも動作可能であることが初めて示された。さらに上述④のために、新 LC(12.5μm 厚)を用いた 1 ピクセル振幅変調 SLM(位相変調の場合と異なり入力側と出力側配向膜は直交)を試作し、その紫外から近赤外域に渡る振幅変調基礎特性(印可電圧、印可電圧パルス幅などをパラメータに)を、入出力直線偏光直交型と平行型に対して明らかにした。

### 2. モノサイクル域光の高出力短パルス化技術・計測技術の開発(北海道大学チーム)

前年度に引き続き、大別して三つの新しい手法の研究を行った。

第一の前年度可能にしたオクターブ光増幅の A-NOPA 実験においては、さらなる高出力化のためには、① 95μJ/パルス以上の出力では回折格子がダメージする、②増幅光スペクトルが微細構造を有する問題があった。これらの点を解決するために、回折格子上のビ

ーム径が5倍以上になりかつ微調可能となるようにA-NOPA装置を全面的に再設計した。さらに、SLM位相変調負荷を低減するため特別に設計したチャープ鏡対の併用化をはかった<sup>2)</sup>。この装置を組みあげ、励起光と被増幅光の各チャープ量の最適化および励起光エネルギーの高出力化を行い実験を進めている。第二のパルス計測の超広帯域化については、和周波発生有位相整合帯域を超広帯域化する非同軸型を考案し、2次元スペクトル干渉装置を試作した。この結果、M-SPIDERにおける正確な遅延時間計測のための、第二高調波干渉信号の帯域不足の問題が解決できた。これによりIPM光の328~1363 nmまでのスペクトル位相計測が可能であることを実験的に確認できた。2オクターブ以上の計測は世界初の成果である。さらに計測必要時間が大幅に短縮され、プログラムソフトが改善され、計測が簡便かつ迅速(約10秒)に行えるようになった。第三の原理的に全く新しい極短光パルス高効率発生を特徴とするM-CARS法については、昨年度原理実証実験に用いたLiNbO<sub>3</sub>より、広帯域なM-CARS光を発生するKTaO<sub>3</sub>(0.2 nm厚)用いて実験を行った<sup>1)</sup>。すなわち、回折格子の代わりにプリズムを用いた角度分散補償・チャープ補償・M-SPIDERスペクトル位相計測を行った。その結果、530から770 nmの帯域でフーリエ合成されたコヒーレント光に対して、13 fsのパルス発生に成功した。

### 3. アト秒XUVパルス技術の開発とXUV非線形分光(北海道大学チーム)

前年度発生させた高次高調波XUV超短パルスの新しい応用分野を開拓するために、電子のアト秒時間域の運動がからむヘリウム原子のXUV域での非線形光学過程(二電子励起状態の生成)に関する実験を行った。すなわち、目標としたのは、生成エネルギー62 eVの2p<sup>2</sup> 1S状態である。この状態は、チタンサファイアレーザーの19次と21次高調波の和周波に等しい生成エネルギーを持つ。ヘリウム原子の基底状態は2s<sup>2</sup> 1Sであるので、これらの状態へは二光子吸収によりのみ励起される。光電子として放出される時は、εsかεd状態であるので、高調波の偏光方向へ放出される光電子の割合が高い。一方、2p<sup>2</sup> 1S状態が生成されると、オージェ過程により等方的な角度分布(s軌道)をもつオージェ電子を放出し、1s<sup>1</sup> εs 1S状態へ遷移する。そのため、検出される電子の収率の偏光依存性を測定することにより電子がどのような過程をへて放出されたか区別することができる。

実験は、チタンサファイアレーザー増幅パルスをアルゴンに集光して高次高調波を発生させることによって行った<sup>3)</sup>。19次、21次高調波はアルミニウム薄膜フィルターで基本波および低次の高調波を反射した後、Sc/Siの多層膜鏡でヘリウムに集光された。放出された電子は、磁気ボトル型光電子分光器で分光した。19次、21次高調波の偏光はレーザーの偏光を回すことにより回転させた。光電子の飛行管に遅延電場をかけることでエネルギー分解能を向上させた。また、レーザー光をチャープさせることにより高次高調波の中心周波数をシフトさせた。中心周波数をシフトさせることにより、二電子励起状態に共鳴もしくは非共鳴させ、光電子の帰属を明らかにすることができる。

中心エネルギーが62 eVとなるようにチタンサファイアレーザーの19次と21次高調波で励起した時、オージェ電子の運動エネルギーに相当するところに等方的な放出角をもつ電子を見いだすことに成功した。偏光を90度回転させても同程度の強度で光電子が観測

された。さらに、高調波の中心周波数を低エネルギー側にシフトさせ、光子エネルギーの和が 62 eV となる高調波のスペクトル成分が減ると、強度は弱くなった。このことは 2p2 1S 状態が 19 次と 21 次高調波を二光子吸収により生成されていることを示している<sup>4)</sup>。この結果は、電子のアト秒ダイナミクスを研究するための第一歩となる。

#### 4. 遺伝子発現過程の超高速量子制御技術の開拓

##### ①極限光技術からのアプローチ（北海道大学チーム）

光応答性 DNA に利用される 4-カルボキシル-2', 6'-ジメチルアゾベンゼン (AzD) のフェムト秒過渡吸収測定を、前年度の結果をふまえて、測定条件により 4 つのケース (case (I): シス体 430 nm 励起、 case (II): トランス体 360 nm 励起、 case (III): シス体 360 nm 励起、 case (IV): トランス体 430 nm 励起) に分類して行なった。case (I) 及び case (II) は光異性化が生じる場合に対応し、case (III) 及び case (IV) は光異性化せずに光パルス励起後自身に戻る場合に対応している。case (I) においてプローブ 380 nm のとき、強い過渡吸収信号 (正) が見られ、500 fs 以内で急速に減衰し、その後ゆっくりと減衰する部分が現れ、最終的には 0 に達する。一方、プローブ 350 nm のときは、強い過渡吸収信号 (正) が見られ、500 fs 以内で急速に減衰し、その後少し減衰するが、1 ps 弱で一定値に達し、遅延時間 100 ps でも正の一定値 ( $A_3$  成分) を示す結果を得た。case (II) に関しては、プローブ 380 nm のとき、強い過渡吸収信号 (正) が見られ、 $\sim 1$  ps 以内でほぼ減衰し、その後ゆっくりと減衰する部分が現れ、最終的には 0 に達する。一方、プローブ 350 nm のときは、強い過渡透過信号 (負) が見られた。このピークは 4 ps 程度内で減衰するが、遅延時間 100 ps でも 0 まで戻らず、負の一定値 ( $A_3$  成分) を示した。case (III)、case (IV) の場合には、プローブ 380 nm、350 nm のときいずれも強い過渡吸収信号 (正) が見られ、これらのピークは 500 fs から 2 ps の時間に達するとほぼ減衰し、最終的には全て 0 に落ち着くことが示された。

過渡吸収測定結果を理解するために、我々は AzD の両異性体の吸収スペクトルと異性化への中間励起状態を考慮して、前年度開発したレート方程式による解析を各 case 毎に試みた。この結果、case (I) でプローブ 380 nm のとき、そのプローブ減衰信号は二成分であり、プローブ 350 nm のときは二成分 ( $A_1$ 、 $A_2$  成分) に加えて、生成するトランス体に由来する正の定数成分  $A_3$  が存在することが明らかとなった。これが正になる理由は、両異性体の  $S_2$  バンドでの吸収断面積の差によるものであることも分かった。case (II) の場合、プローブ 380 nm のときは二成分であり、プローブ 350 nm のときは二成分 ( $A_1$ 、 $A_2$  成分) に加えて、生成するシス体に由来する負の定数成分  $A_3$  が存在することが明らかとなった。このことも前述の理由と同様に吸収断面積の差によるものである。case (III)、case (IV) の場合、プローブ 380 nm、350 nm のときいずれも二成分であり、定数成分は存在しないことが明らかとなった。これらの場合異性体が生じないためである。

さらに case (I) の減衰成分  $A_2$ 、 $A_1$  の符号からは励起状態間で生じる吸収断面積  $\sigma$  の大小関係を見積もることができることがわかった。これらの減衰定数の値から、緩和および異性化の速度定数  $k$  を区別して見積もることができた。また、正の定数成分  $A_3$  を利用して case (I) でのフェムト秒励起パルス毎の光異性化率  $\eta^T$  を見積もることができ、ポンプ波長

430 nm、200 nJ/pulse の条件下で 3%であることがわかった。これらの結果は、ポンプ波長 430 nm、プローブ波長 350 nm、遅延時間 $\sim$ 2 ps 以上の条件下で正の定数成分  $A_3$  をモニターすることが、AzD のシス体からトランス体へのコヒーレント制御実験を行なう際に有効であることを示唆している<sup>②, 1)</sup>。同様の考察を case(II)、case(III)、case(IV) の場合にも行い、吸収断面積の大小関係の見積もり、時定数の決定、緩和および異性化の速度定数の見積もり、光異性化率を求めることができた。また特に、case(II) の場合において、ポンプ波長 360 nm、プローブ波長 350 nm、遅延時間 $\sim$ 5 ps 以上の条件下で負の定数成分  $A_3$  をモニターすることが、AzD のトランス体からシス体へのコヒーレント制御実験を行なう際に有効であることが示された。

## ②生物化学的手法からのアプローチ (名古屋大学チーム)

平成 19 年度に開発した光応答性 GFP 遺伝子の調製方法はステップ数が多く煩雑なため、より簡便な調製方法の開発をまずは行った。具体的には、2 つのアゾベンゼンを導入した DNA を上流側のプライマーに用いて PCR を行い、GFP 遺伝子を増幅すると同時にアゾベンゼンを導入した。DNA ポリメラーゼは、アゾベンゼンの導入位置の手前で伸長反応が停止する Phusion を使用した。PCR 産物のオーバーハング部分に相補的な DNA と伸長反応が停止した鎖とのライゲーションは、T4 DNA リガーゼを用いて行った。付加的に導入しているアゾベンゼンの部位が天然の DNA と比較して構造が大きく異なるため、T4 DNA リガーゼによるライゲーションは非常に困難と思われたが、反応温度・酵素濃度・反応時間を調整することで、80%以上のライゲーション効率を実現できた<sup>5-9)</sup>。

このようにして作製した DNA に 330 $\sim$ 350 nm の紫外光 (UV) と 400 nm 以上の可視光 (Vis) をそれぞれ照射し、無細胞タンパク質合成システムである pure system を用いて発現させた。遺伝子発現の光制御効果は、GFP タンパク質が発する緑色蛍光の強度 (発現量) の違いにより評価した。DNA に可視光を 1 min 照射した場合は、GFP の発現はほとんどみられなかった。それに対して興味深いことに DNA に UV を 5 min 照射した後では、遺伝子発現が促進され、発現量は可視光照射時の 16 倍もあった。すなわち、当初目標とした 5 倍の効率を遥かに凌駕する高効率光制御を実現した。このように、光照射のみで遺伝子発現を“オン”または“オフ”にスイッチングすることが可能になった。また、構築した光応答性 DNA の T7 RNA ポリメラーゼによる転写反応を行った結果、mRNA の生成量も光照射により 10 倍以上の差があった。従って、光照射による遺伝子発現効率の違いは、生成した mRNA 量の違いに由来していることが明らかとなった。

siRNA の光制御を目指し、まずは実験系の構築と、RNAi の光制御が可能となる分子設計のための基礎データ収集を行った。siRNA の実験系としては、293FT 細胞 (ヒト胎児腎細胞) をターゲットとしてマウスの Piasy 遺伝子を用いた。目的遺伝子を Plasmid として細胞に導入することで強制発現させ、その細胞に二重鎖 RNA を導入した場合の Piasy タンパク質の発現量を比較し、RNAi 効果の評価した。アゾベンゼンを RNA のさまざまな部位に導入した二重鎖 RNA を用いると、アゾベンゼンの導入位置によってその RNAi 効果に大きな違いが見られた。例えば、アゾベンゼンが Anti-sense 鎖の 3' 末端 (Sense 鎖の 5' 末端) 側に位置する場合には高い抑制効果が見られたが、Anti-sense 鎖の 5' 末端 (Sense 鎖の 3' 末端) 側に位置する場合にはタンパク質の発現が見られ、RNAi 効果が低下していることが

分かった。RNAiにおいて、特定のタンパク質がRNA二重鎖の末端を認識し、5'末端側から、より取り込みやすい鎖（通常はAnti-sense鎖）を取り込むことがわかっている。このことから実験結果を検証すると、前者は問題なくAnti-sense鎖が取り込まれるが、後者はアズベンゼンがAnti-sense鎖の5'末端側にあるためタンパク質による取り込みが阻害されたと考えられる。

### 3. 研究実施体制

#### (1)「北海道大学」グループ

①研究分担グループ長： 山下 幹雄(北海道大学、教授)

②研究項目

- ・ 極限光電場波形の制御と、それを活かした高出力モノサイクル域光(近赤外・可視・紫外域) およびアト秒パルス(XUV・X線域)発生さらには遺伝子発現コヒーレント量子制御の研究

#### (1)「名古屋大学」グループ

①研究分担グループ長： 浅沼 浩之 (名古屋大学大学院、教授)

②研究項目

- ・ DNA ハイブリダイゼーションの高効率光スイッチング技術とその応用

### 4. 研究成果の発表等

#### (1) 論文発表 (原著論文)

1. E. Matsubara, T. Sekikawa, and M. Yamashita: "Generation of ultrashort optical pulses using multiple coherent anti-Stokes Raman scattering in a crystal at room temperature", *Appl. Phys. Lett.* 92, 071104 (2008).
2. K. Yamane, T. Tanigawa, T. Sekikawa, and M. Yamashita: "Angularly-dispersed optical parametric amplification of optical pulses with one-octave bandwidth toward monocycle regime" *Opt. Exp.* 16, 18345 (2008).
3. E. Haraguchi, K. Sato, T. Tanigawa, M. Yamashita, T. Sekikawa: "Efficient compression of carrier-envelope phase-locked laser pulses to 5.2 fs using an Al-coated hollow fiber" *Japanese Journal of Applied Physics*, in press
4. T. Sekikawa, T. Okamoto, E. Haraguchi, M. Yamashita, and T. Nakajima, "Two-photon resonant excitation of a doubly excited state in He atoms by high-harmonic pulses", *Opt. Exp.* 16, 21922-21929, 2008.
5. H. Kashida, K. Sano, Y. Hara, H. Asanuma, "Modulation of pKa of Brooker's Merocyanine by DNA Hybridization.", *Bioconjugate Chem.*, *accepted*.
6. X. Liang, H. Nishioka, N. Takenaka, H. Asanuma, "Construction of Photon-Fueled DNA

- Nanomachines by Tethering Azobenzenes as Engines”, *Lecture Note in Computer Science*, 5347, 21-32(2009).
7. H. Asanuma,; Y. Hara, A. Noguchi, K. Sano, H. Kashida, "Postsynthetic modification of DNA via threoninol on a solid support by means of allylic protection.", *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 5144-5146.
  8. H. Kashida, T. Fujii, H. Asanuma, "Threoninol as a Scaffold of Dyes (Threoninol-nucleotide) and Their Stable Interstrand Clustering in Duplexes." *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, 6, 2892-2899.
  9. H. Kashida, K. Sano, Y. Hara, H. Asanuma, "Modulation of pKa of Brooker's Merocyanine by DNA Hybridization." *Bioconjugate Chem.* **2009**, 20, 258-265.
  10. Atsushi Yamaguchi, Naoya Nakagawa, Kazumasa Igarashi, Taro Sekikawa, Hiroyuki Asanuma, and Mikio Yamashita, "Photoisomerization dynamics study on cis-azobenzene derivative using ultraviolet-to-visible tunable femtosecond pulses", *Appl. Surf. Sci.*, accepted

(2) 特許出願

平成 20 年度 国内特許出願件数 : 0 件 (CREST 研究期間累積件数 : 0 件)