

Real time measurement of cellar membrane thickness by laser ellipsometry

○学 島林 啓太 (阪大基礎工)      安井 武史 (阪大基礎工)

正 荒木 勉 (阪大基礎工)

Keita Shimabayashi, Takeshi Yasui and Tsutomu Araki  
 Graduate School of Engineering Science, Osaka University,  
 Matikaneyama 1-3, Toyonaka, Osaka, Japan

Key Words: ellipsometry, Zeeman laser, cellular membrane, thickness of thin film

1. はじめに

全ての細胞は細胞質の外側に厚さ数十Åの膜を持っている。その細胞膜は脂質二分子膜の中にタンパク質の疎水部分が埋まりこんでいる流動モザイク構造をとっていて細胞質と外界との相互作用を介する役割を持つ。またこの細胞膜をモデルとした液晶や LB 膜の研究が様々な分野で行われていて、細胞膜モデルのバイオセンサーへの応用が試みられている。

一方、医薬の開発において生体の薬理作用を定量的に評価するためには、医薬を投与した際に生じる生体壁の動的变化(細胞膜の相転移、分子の配向の変化、膜厚の変化)を光学的手法を用いて非破壊・非接触かつ高感度にリアルタイムでモニターすることが望まれている。このことによって生体壁の定量的評価が可能である。

現在半導体産業においてエリプソメトリー法(偏光解析法)はサブナノメートルオーダーの薄膜測定に用いられている。この手法は原理的に細胞膜測定法にも応用可能であると考えられる。

現在実用化されているエリプソメトリー法には長い測定時間や機械的な振動の影響があるといった問題点がある。我々はその二つの欠点を補った直行二周光を用いたエリプソメトリー<sup>(1)</sup>に基づいたシステムを構築し、細胞膜の構造変化のリアルタイムモニターに向けての基礎研究を行った。

2. 測定原理

エリプソメトリーとは既知の偏光状態の光(主に直線偏光)を試料に斜入射し、その反射光の偏光状態の変化を計測する(Fig.1)。その情報から薄膜の屈折率や減衰係数、膜厚を求める方法である。偏光状態が変化する理由として入射した光が薄膜内で多重反射を起こして、入射面に対して平行な偏光成分(P偏光)と入射面に対して垂直な偏光成分(S偏光)とは試料面での境界条件が異なることによる。偏光の変化を表す基本式はP偏光とS偏光の複素振幅反射率( $R_p, R_s$ )の比 $\rho$ で表される。

$$\rho = \frac{R_p}{R_s} = \tan \psi \cdot e^{i\Delta} \quad (1)$$

$\tan \psi$ は複素振幅反射率の絶対値の比、 $\Delta$ は反射の際のP偏光とS偏光の位相変化差を表す。このパラメーターを解析し、膜厚と屈折率を求める。

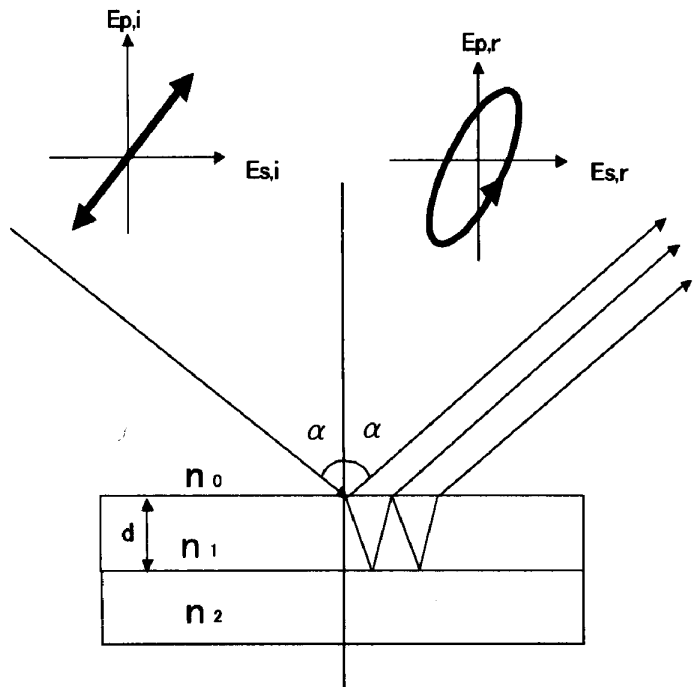


Fig.1 Principle of ellipsometry

d: thickness of film       $n_0$ : refractive index of air  
 $n_1$ : refractive index of film       $n_2$ : refractive index of substrate  
 $\alpha$ : angle of incidence

$(E_{p,i}, E_{s,i})$ : the Jones vector of the incident light  
 $(E_{p,r}, E_{s,r})$ : the Jones vector of the reflected light

本研究ではわずかに周波数が異なる直行二周波光を用いる。直行二周波光を45°の偏光子を通して光を重ね合わせることにより生じた、差の周波数( $\delta\omega$ )の時間的な強度変調(光ビート)を利用する。基準となる参照光と試料の情報を得て偏光状態が変化した信号光の光ビートを比較することにより行う。参照光の光強度 $I_1$ 、試料面により偏光状態の変化を受けた信号光の光強度 $I_2$ は次の式で表される。

$$I_1 = \frac{1}{2}(1 + \cos \delta\omega t) \quad (2)$$

$$I_2 = \frac{1}{4}(1 + \tan^2 \psi + 2 \tan \psi \cdot \cos(\delta\omega t + \Delta)) \quad (3)$$

この2つの光ビートの強度比と位相差を比較することにより  $\tan\psi$  と  $\Delta$  を得ることができる。この方法では、従来より行われている方法と違い、光学素子进行操作することなくパラメータを求めることができるので高精度かつリアルタイム測定に適しているといえる。

### 3. 実験装置

Fig.2 および Fig.3 に透過型および反射型のエリプソメータの概略図を示す。本研究では周波数差がわずかに異なる直交二周波光を得るために安定化横ゼーマンレーザー (STZL) を使用する。ビート周波数は 135 kHz で安定化されている。ゼーマンレーザーから発振された光は  $\lambda/4$  板 (C) で完全に直線偏光に補正し、ビームスプリッター (BS) で参照光と信号光に分離して、各偏光方向に対して  $45^\circ$  に固定した偏光子 (PL) で光を重ね合わせて光ビートを作る。両ビート光は PIN フォトダイオード (PD) で検出する。そして検出した信号の位相差をロックインアンプを用いて測定し、リタデーションを求める。本実験においては  $\tan\psi$  の計測は行わなかった。

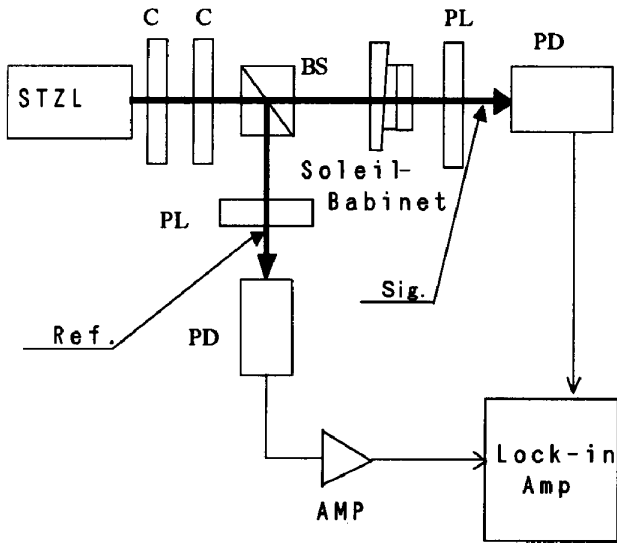


Fig.2 Calibration of ellipsometry

C:  $\lambda/4$  wave plate BS: beam splitter  
PL: polarizer ( $45^\circ$ ) PD: Pin photo diode

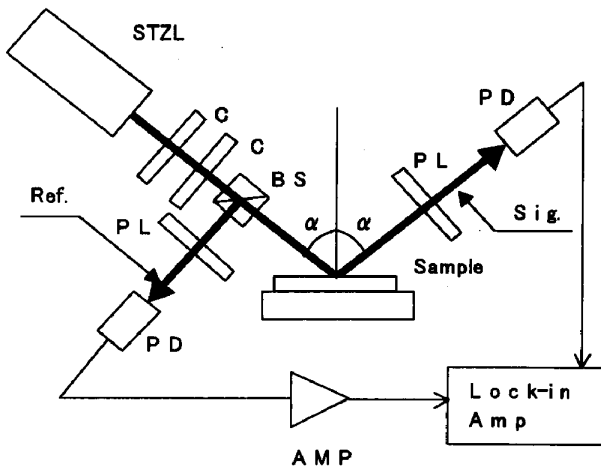


Fig.3. Basic system of ellipsometry

### 4. 実験結果

まず試作した装置の性能を調べるために任意のリタデーションを作り出すことができるバビネソレイユ位相器を使用したシステムの較正を行った。バビネソレイユ位相器は互いに真相軸が直交するように、水晶平面板と水晶で作られた一組の楔を組み合わせたものである。楔の重なり合った厚さを調節することにより任意のリタデーションを作り出すことができる光学素子である。測定は  $1^\circ$  ごとのリタデーションを作り、ビート信号の位相変化からリタデーションを測定した。測定結果の解析データを Fig.4 にしめす。

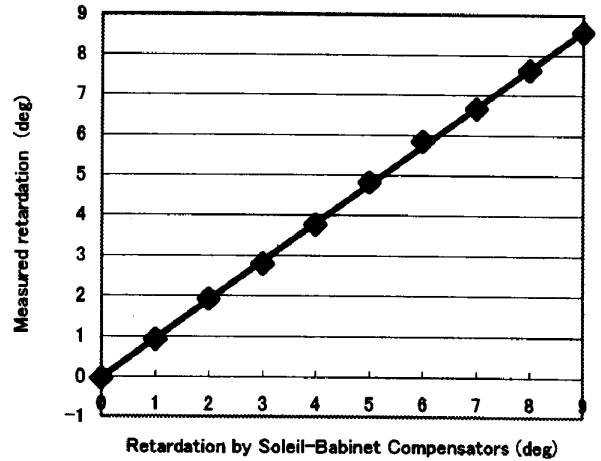


Fig.4 Measurement data

この測定結果より最小二乗法で直線近似したグラフから再現性 (精密さを表す) を求めると  $0.12^\circ$  となった。誤差の要因はゼーマンレーザーのビート周波数の変動や空気の揺らぎによる影響が考えられる。また単純な生体膜のモデルである代表的な水面上単分子膜であるステアリン酸 (屈折率 1.43) の膜厚を計測する場合には  $\pm 1 \text{ \AA}$  以内の誤差で測定が可能である。

### 5. 考察

システムの較正においては満足な結果が得られた。今後はこのシステムにおけるリタデーションの時間的変動に対する評価をする実験を例えば液晶デバイス等を用いて行う予定である。また単純な生体膜のモデルである水面上単分子膜のリタデーション計測を行う予定である

### 参考文献

- (1) 梅田 倫弘 光学 9, 232~237 (1980).

### 謝辞

本研究に対し文部科学省科研費 (B)13480294 の助成を得た。横ゼーマン安定化レーザーおよびバビネソレイユ位相器を提供して下さった日本マイクロ光器株式会社には心から感謝します。