神奈川工科大学

次世代センシングシステム研究所研究報告

第６巻

２０１３

The Memoirs
of
Research Institute of Advanced Sensing System,
Kanagawa Institute of Technology
(1030 Shimoogino, Atugi-shi, Kanagawa, Japan)
Vol. 6 (2013)

次世代センシングシステム研究所は、文部科学省「ハイテク・リサーチ・センター整備事業」研究プロジェクトとして平成１０年度より平成１８年度まで取組んできた次世代センシングシステムに関する技術成果を継承し、本学の研究活動をより活性化するため、平成１９年度からスタートし以下の研究開発に取組んでいる。

研究内容と担当

第１研究室：“環境と健康に関する化学的・生物学的センシングシステムの開発”

研究代表者　　応用バイオ科学科　教授　菊地　幹夫

研究内容	担当
酸性雨による陸水の酸性化および生物影響の早期検出と環境診断	応用バイオ科学科 教　授　　菊地　幹夫
環境水域生物に影響を与える生体関連物質の検出法の開発	応用化学科 教　授　　齋藤　貴
高感度分光法を利用した人体に有害な物質の検出法の開発	応用化学科 教　授　　川嶋　良章
アロステリック酵素を用いたエフェクターのバイオセンシング	応用化学科 教　授　　佐藤　生男
酵素法による生体アミノ化合物の高感度な網羅的測定法の開発と応用	栄養生命科学科 教　授　　松本　邦男

第２研究室：“高機能センシングデバイスの研究開発”

研究代表者　　ホームエレクトロニクス開発学科　教授　黄　啓新

研究内容	担当
３次元集積素子・３次元構造体のプロセス技術に関する研究	ﾎｰﾑｴﾚｸﾄﾛﾆｸｽ開発学科 教　授　　黄　　啓新
新規画像デバイスを対象とした医療画像処理および診断支援機能に関する研究	電気電子情報工学科 教　授　　武尾　英哉
ダイヤモンド薄膜応用と微細加工技術の研究	電気電子情報工学科 教　授　　荒井　俊彦
SiC ショットキーバリア接合ダイオード	電気電子情報工学科 准教授　工藤　嗣友
弾性波、光、磁気等を複合集積化したセンシングデバイスの研究	電気電子情報工学科 教　授　　宇野　武彦

目　次

酸性雨による陸水の酸性化および生物影響の早期検出と環境診断

研究者名： 応用バイオ科学科　菊地 幹夫

1. 研究成果の要約

谷川岳の沢の水質調査から，一部の渓流水は年間を通じて酸性であるが，水質は沢による差が大きいこと等を見いだし，前年の調査結果の特徴を裏付けることができた。また地形が似た中央アルプスでも水質調査を行い，谷川岳と同様に弱酸性の水が流れていることを見いだした。この地域に固有の底生生物（底生昆虫，付着ケイ藻類）の現場調査から，沢によって生物相に差があることを見いだした。これらの渓流水の生物試験結果と合わせると，谷川岳では渓流水の酸性化に伴い，生物相にすでに変化がでている可能性があることを確認した。

2. 研究の目的，必要性及び従来の研究

欧米の一部では，酸性雨によりすでに数十年前から陸水のうち特に山地の湖沼や渓流などが酸性化し，サケなどの内水面漁業が消滅するなど，大きな被害が出ている（日本水環境学会，1984）。日本では欧米と同程度の酸性雨が降りながら，陸水生態系への影響は顕在化していないと環境白書は述べている。しかし最近になって，pHの長期的な低下傾向の見られることが長野県の河川や奈良県のダム湖，岐阜県の湖沼で報告されてきている。また降雨時に河川水でpHの低下が見られることが屋久島と西表島で観測され，福島県会津地方では融雪時にpHが低下して酸性となることが報告されてきた。これらの報告から，日本でも近い将来に河川水の酸性化が顕在化すると懸念されはじめた。

すでに水環境学会誌2012年1月号では，特集テーマとして「越境大気汚染研究の最新動向と水環境への影響」をとりあげている。その中で福原は「酸性雨による陸水生態系への影響」と題した総説の中で，「・・・”acid shock”の起こる河川，山岳地帯の湖沼や屋久島の渓流などでpH 6.5~6.0以下となる例も知られてきている。しかしこれらの地域で生物学的調査はほとんど行われていない。欧米等の研究で一度失った陸水生態系の回復の困難さがうかがえる。酸感受性の高い地域での継続的な調査が望まれる。・・・」と調査研究の必要性を指摘している。

著者らは，このような研究の必要性を早くから認識して本研究を実施してきた。「日本の一部の山岳地帯では，陸水の酸性化がすでに始まり，生息する水生生物へ影響が出始めている」との作業仮説を立てて，化学的・生物学的センシングにより，酸性雨の陸水の水質と生物への影響の程度を検討してきた。具体的には

①モデル地域として選んだ利根川上流の谷川岳の渓流で，水質の酸性化の現状と進行状況を明らかにする。

②谷川岳の渓流水の生物試験と水生生物相の調査から，水生生物への影響の顕在化の現状を明らかにする。

③酸性化と生物影響の先行指標を見いだし，それが中央アルプス駒ヶ岳千畳敷カールなど日本の他の地域にも適用できるか検討する。

3. 期待される効果

酸性化して数十年もたった湖沼や河川の様子は欧米で精力的に研究されてきた。しかし日本ではこれからどの水域で酸性化の恐れがあるか，また日本産のどの生物にどのような影響が出るかは，研究が始まったばかりである。陸水が広範囲に酸性化してしまってからでは，対策も間に合わない。酸性化の兆候の早期検出と生物影響の診断が重要である。

この研究を通じて，酸性化しやすい水域を見いだし，酸性化とその生物影響の予兆をとらえる方法を開発できれば，早期に酸性雨対策を進めることができる。

4. 研究経過および結果

降水量の多いわが国では，これまでの欧米での知見を踏まえると，河川水や湖水が広範囲にわたって酸性化して生物影響がでる前の予兆として，多雨時や融雪時に酸感受性の高い地域の山地渓流水が一時的に酸性化し，まず酸性に弱い生物種が減少すると考えられる。そこでそのような視点から調査・研究を行ってきた。

水質調査から，谷川岳の一部の渓流水はすでに年間を通じて酸性であること，また融雪時に酸性化する渓流水があること，河川水の酸性化に先行する特徴的な水質項目として電気伝導率，アンモニウムイオン濃度等を見いだした。

4.1 谷川岳での調査結果

谷川岳の東側で半径5 km以内の沢（幽ノ沢，一ノ倉沢，マチガ沢，東黒沢）とそれらが流れ込む湯桧曽川（図１）で，7月から11月にかけて５回調査した。この際，流下に伴う水質変化の影響を見るために，幽ノ沢，一ノ倉沢とマチガ沢で調査地点を増やした。

(1) 水質調査

今年の調査でも，同じ雨が降りながらも沢ごとに特徴的な水質が形成されることを確認した。幽ノ沢，一ノ倉沢ではアルカリ度が低く，pHが５付近のことがあり，酸性化している（表１）。これらの地点では他の沢と比べて雨水と土壌との接触が少ないことに原因があるのではないかと考えている。

(2) 生物試験による水質の有害性調査

採取した水についてオオミジンコを用いた急性遊泳阻害試験を行った（表２）。幽ノ沢，一ノ倉沢の低いpHの渓流水では，例年と同様にオオミジンコに遊泳阻害・致死が見られた。したがってある種の水生生物にとっては，これらの沢の水質が有害である可能性が高い。

(3) 底生生物調査による生物多様性の検討

これらの沢で，水生昆虫と水底の岩に付着したケイ藻類の種類と個体数を調査した。

これまでの調査で，水生昆虫と付着ケイ藻類の種類と個体数は，沢ごとに特徴があることを見いだし，それは水質，特にpHと関係がある可能性を見いだした。このため調査地点を増やして調査したが，今年の調査でも同様な特徴があることを確認した。

1) 谷川岳の渓流では，７月～9月にかけてケイ藻類の細胞数が大きく増加している。幽ノ沢での例を図２に示す。その他の沢でも同様な傾向であった。また細胞数を同一調査日で沢ごとに比較すると，一ノ倉沢の２地点では非常に少なく，東黒沢では非常に多く，その他の沢では中位であった。ケイ藻の相を沢ごとに比較すると，弱酸性の水質である幽ノ沢と一ノ倉沢には，酸性を好むケイ藻類が多く見いだされ，中性の水質である東黒沢と湯檜曽川の場合とは明らかに異なった（図３）。

底生昆虫については，幽ノ沢と一ノ倉沢のそれぞれ２地点では，個体数が非常に少なく，また東黒沢と湯檜曽川では非常に多く，マチガ沢の２地点ではその中間である。底生昆虫の相については現在とりまとめ中である。

4.2　中央アルプス駒ヶ岳千畳敷カールでの調査結果（酸性化の先行指標の適用調査）

(1) 昨年度の予備調査を踏まえて，関係県市と国の許可を得て，谷川岳と似た地形の駒ヶ岳千畳敷カールの沢とその下流の日暮の滝で，９月から10月にかけて３回の調査をした。しかしうち２回は雪に降られ，十分な調査はできなかった。このため次年度以降に更なる継続調査が必要である。

(2) これらの地点の水質を表２に示した。千畳敷カールでは，谷川岳と同様な弱酸性で電気伝導率の低い渓流水が見いだされた。また現場で採取した水についてのオオミジンコ急性遊泳阻害試験では，渓流水によってはオオミジンコに遊泳阻害・致死が見られ，これらの渓流の水質が有害である可能性が高い。

さらにこれらの沢で，水生昆虫と付着藻類の種類と個体数を調査した。酸性を好むケイ藻類も見いだされたが，地点間の比較等については更なる調査が必要である。

(3) 千畳敷カールで低い電気伝導率と低いpH（弱酸性）の渓流水を見いだし，谷川岳の渓流水と比較したところ，両者はpH，電気伝導率，代表的なイオンの組成などから見て同様な水質であることがわかった。またオオミジンコ急性遊泳阻害試験を行ったところ，両者でオオミジンコの遊泳阻害・致死も起きた。詳細は次年度以降の調査にゆだねるが，低い電気伝導率は酸性雨による渓流水の酸性化の先行指標になるとともに，渓流水の酸性化が日本の複数の山岳地帯で起きている可能性を見いだした。

5. 今後の計画

(1)　化学的水質調査

谷川岳の東側で半径5 km以内の沢（一ノ倉沢，幽ノ沢，マチガ沢，東黒沢）とそれらが流れ込む湯檜曽川で，初夏から秋にかけて調査する。

(2) 生物試験による水質の有害性調査

現場で採取した水と人工的に調製した（モデルの）酸性水について，オオミジンコを用いた急性遊泳阻害試験，胚発生毒性試験とヨコエビを用いた急性毒性試験を行い，pHと有害性の関係を検討する。

（3）底生生物調査による生物多様性の検討

底生生物のうち，水生昆虫と付着藻類の種類と個体数を調査し，沢による多様性の変動について検討する。

（4）酸性化及び生物影響の先行指標の適用調査

中央アルプス駒ヶ岳千畳敷カール及びその下流域で，水質と生物調査を行い，また生物試験による有害性調査を行う。

6. 研究成果の発表

印刷物

1) 三尋木全子，菊地幹夫，澤井 淳 (2012) *Dunaliella* sp.を用いたスクリーニング藻類生長阻害試験法の開発，環境毒性学会誌, **15**, 11-16.

2) Jun Sawai, Ko-Ichi Sahara, Tamotsu Minami, Mikio Kikuchi (2012) Recovery of Pentachlorophenol from Aqueous Solution via Silicone Rubber Membrane, *Advances in Chemical Engineering and Science* , **2**, 372-378.

3) Jun Sawai, Hitomi Tomizuka, Naoki Hatanaka, Tamotsu Minami, Mikio Kikuchi, Toshimitsu Ishii (2012) Separation and Recovery of Iodine from Aqueous Solution by Permeation and Chemical Desorption (PCD) Using a Silicone Rubber Membrane, *Advances in Chemical Engineering and Science* , **2**, 508-513.

7. 参考文献

1) 川上智規（2012）：越境大気汚染による水環境への影響，水環境学会誌，**35**，20~23.

2) 福原春夫（2012）：酸性雨による陸水生態系への影響，水環境学会誌，**35**，24~28.

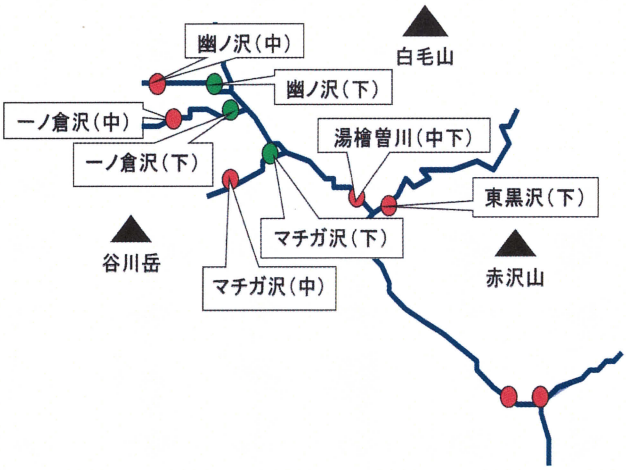


図 1　谷川岳の調査地点

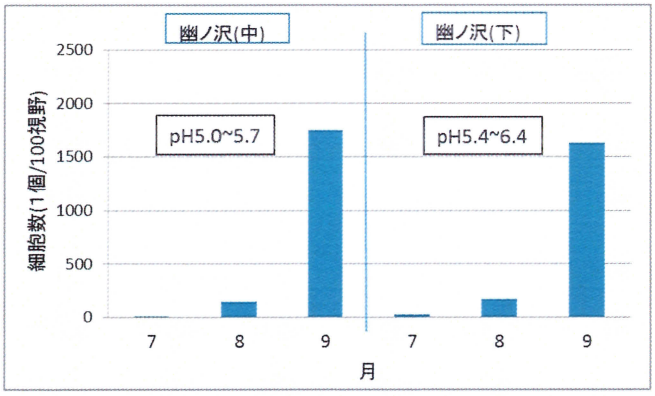


図 2　幽ノ沢でのケイ藻の細胞数（相対量）の月変化

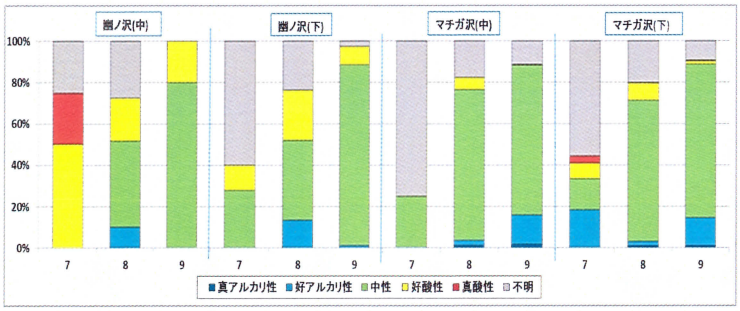


図 3　谷川岳の沢における地点，月別のケイ藻類の pH 特性別存在比率

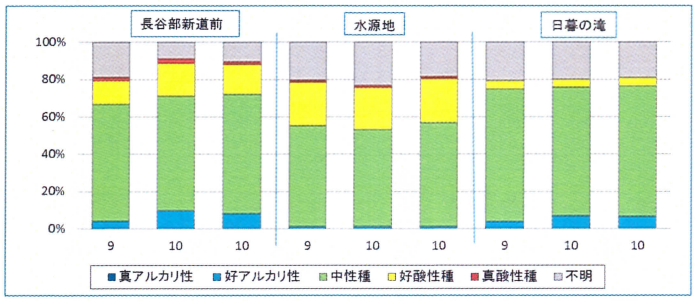


図 4　千畳敷及び下流の沢における地点、月別のケイ藻類の pH 特性別存在比率

表１　谷川岳の渓流８地点の水質

2012/7～11	pH	EC (mS/m)	総アルカリ度 (mg/L)
一ノ倉沢(中)	4.8～6.3	0.35～1.26	0.5～3.0
一ノ倉沢(下)	6.0～6.7	0.79～1.96	3.0～5.4
幽ノ沢(中)	5.0～5.7	0.28～1.34	1.1～2.4
幽ノ沢(下)	5.4～6.4	0.36～1.44	2.5～3.0
マチガ沢(中)	6.0～6.6	1.00～2.03	4.8～7.0
マチガ沢(下)	6.2～7.1	1.29～2.35	7.3～9.0
湯檜曽川	6.3～6.8	1.69～2.36	5.0～7.5
東黒沢	6.8～7.2	4.69～5.98	11.4～17.1

表２　駒ヶ岳千畳敷カール及びその下流の渓流の水質

2012/9～10	pH	EC (mS/m)	総アルカリ度 (mg/L)
剣ヶ池	5.0～6.9	1.21～1.45	2.0～3.9
水源地	5.5～6.5	0.95～1.03	3.0～4.1
長谷部新道	5.7～6.5	0.74～1.04	4.1～5.0
日暮の滝	6.5～7.2	3.35～3.91	7.3～8.0

表３　谷川岳の渓流水でのオオミジンコ急性遊泳阻害試験結果（48 時間後の生存率，%）

採水月日 / 地点	7/5	8/10	9/21	10/16	11/9
一ノ倉沢(中)	0	70	18	15	2
幽ノ沢(中)	20	35	13	0	15
一ノ倉沢(下)	100	70	100	100	－
幽ノ沢(下)	80	100	55	100	－

－：採水できず

環境水域生物に影響を与える生体関連物質の検出法の開発

研究者名：工学部応用化学科　　齋藤　貴

１．研究の目的

(1)目的：生物に対して内分泌攪乱物質である女性ホルモン17β-エストラジオール(β-E2)を対象に、これをテンプレート分子としたナイロン６薄膜を合成し、β-E2の選択的な吸着素材を開発する。さらにこの分子識別吸着素材をデュアル型水晶振動子(QCM)の金電極表面に被覆して重みセンサーを作製し、これを検出部としたフローインジェクション分析法を開発することを目的とする。

(2)研究期間内(平成24年度)に明らかにする事項：β-E2をテンプレート分子とする鋳型高分子薄膜(ナイロン６)の合成を行う。この薄膜をデュアル型水晶振動子の１チャンネル金電極部位に被覆する。そしてこの重みセンサーを液体クロマトグラフの検出部に組み込み、分析分子の荷重より選択的に計測するセンシングシステムを構築する。生体ホルモン物質であるβ-E2、エストロン、エストリオール、等に対する吸着能及び吸着選択性を評価し、応用分析への可能性を具現化する。

２．研究の必要性及び従来の研究

(1)E2鋳型分子ナイロン薄膜の有用性

有害な化学物質の分子形状をインプリントした鋳型分子材料の合成には、従来より懸濁重合法、多段階重合法、シリカ粒子相反転型球状高分子合成法などがある。これらの鋳型分子設計は、それぞれ特徴はあるものの粒子状吸着剤を目指した合成法であり、用途は分離剤としての充填材料に限定される。

一方、鋳型分子素材を薄膜化できれば種々の既存の素材表面への被覆が可能となり、選択的な物質の分離や吸着など特異的な付加価値を付けることができる。

そこで、本法は、水晶振動子センサ(QCM)の重み感応部の検出材料としたフローインジェクション分析法に応用することで、現在の高コストな抗原抗体反応における抗体の機能を人工的に作製した鋳型高分子材料に持たせることが可能となり、汎用性のあるセンシングシステムになり得ると考えた。

(2)ヒトの生体ホルモン物質であるβ-E2の計測法の必要性と応用への展開

ヒトの生体ホルモンであるβ-E2は高いエストロゲン活性を示し、下水処理過程を経てその一部が微生物分解を十分に受けずに河川に流入している例があり、魚類などの水域生態系にオスのメス化現象などを一例として生態系の生物の性ホルモンに影響を与えている。環境省(SPEED98、ExTEND2005、ExTEND2010)においても、それらの物質のモニタリングの必要性を指摘している。

現在、女性ホルモン物質の分析には次のような手法があるが、課題もいくつか残されている。

①液体クロマトグラフ-質量分析法(LC-MS)・ガスクロマトグラフ-質量分析法(GC-MS)による測定は、分析時間や分析技術を要し、多大な設備投資も要求され、汎用性に欠けている。

②動物由来の抗原抗体反応を用いた分析法(ELISA法)も市販されているが、動物産生由来の抗体を用いることから、生産性に乏しく高価(96穴マイクロプレート１枚あたり約８万円以上）で、動物保護の観点からも今後の大きな利便性は期待できない。また保存性が悪く、製造ロット間で感度や選択性も変動し、製造企業間での測定値の統一性は無い。

３．期待される効果

研究の特色・独創的な点と予想される結果と意義

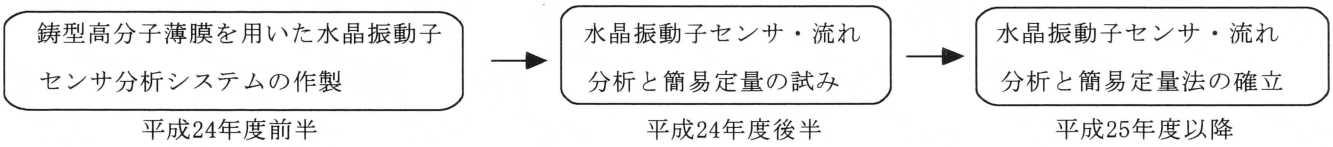
・鋳型高分子材料の薄膜化のメリット

鋳型高分子薄膜は、重みセンサである水晶振動子センサ(QCM)への被覆や抗原抗体反応に基づく人工抗体としてELISA法のプレートセルにコーティングできるなど、素材表面の高機能化に適用できる

ことから、元の素材の形状を維持したまま新たに分子識別能を付加することができる。またテンプレート分子として、様々な生体分子や化学物質を適用することが可能であり、応用面でも期待が持てる。鋳型高分子材料は、現在、LCのカラム充填剤の分離材としての利用が中心であるが、今後、飛躍的な進展が期待できる。

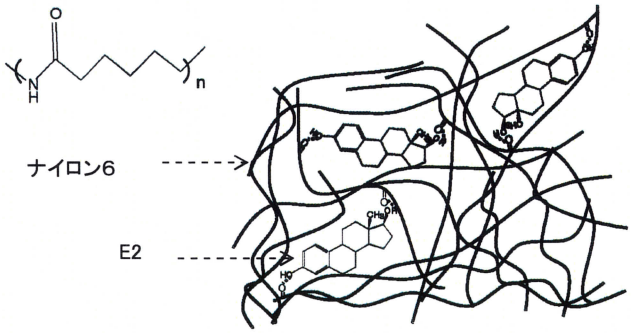
4．研究の経過及び結果

今年度は、次の流れの計画に基づいて研究を進めた。

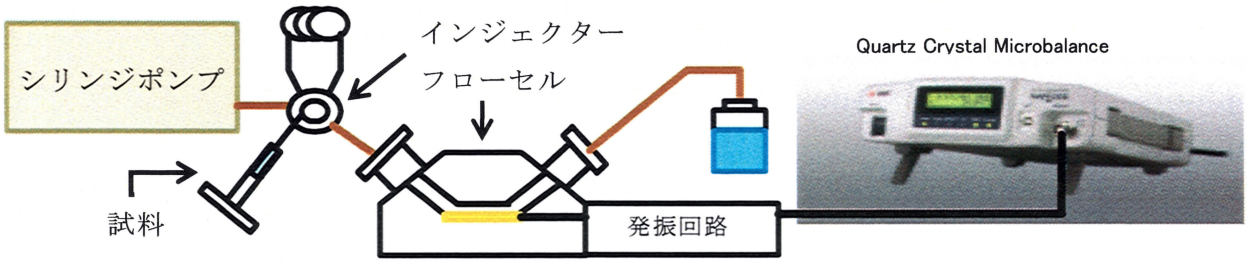


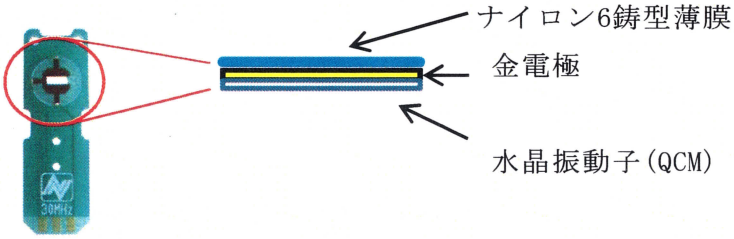
(1)E2鋳型薄膜の作製原理

テンプレート分子を17β-エストラジオール(β-E2)として、ナイロン6をホスト分子とした鋳型薄膜の形成原理を右に示した。ナイロン6をギ酸溶液に溶解し、これにβ-E2を加え、ナイロン6のアミド基と、β-E2の水酸基と水素結合を形成させる。この水晶振動子の金電極表面にコーティングし、溶媒を気散させる。



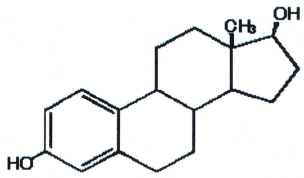
水晶振動子には、デュアル方式30MHz ATカットを用いた。振動子センサをフローセルに設置し、その後、メタノール水溶液を移動相とし、シリンジポンプで送液した。センサの周波数応答を計測することで、分析種の検出と定量を行った。下記にセンシングシステムの概略図を示す。



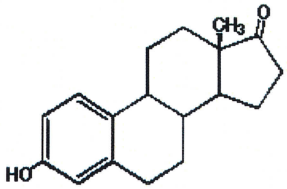


(2)テンプレート分子、ゲスト分子

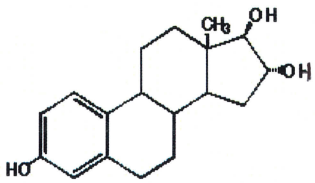
使用したゲスト分子を下記に示した。分子構造の類似したエストロゲン物質を用いた。



17β-エストラジオール(E2)



エストロン(E1)



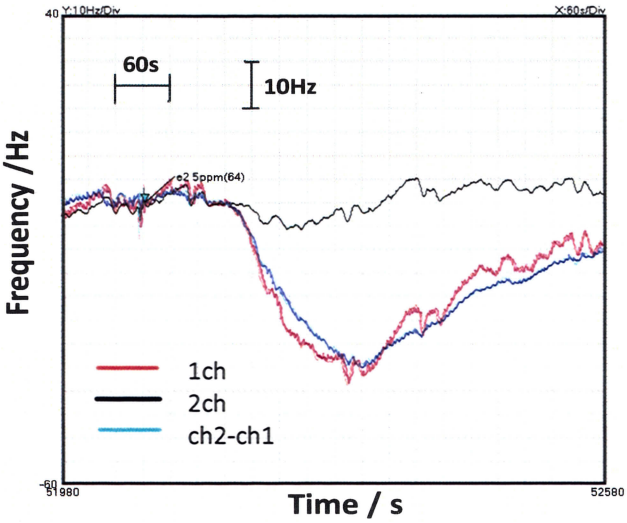
エストリオール(E3)

E2は、E1やE3との分子構造の相違は、水酸基-OH基１個の違いからなり、立体的な構造の違いは非常に小さい物質である。これらは、いずれもエストロゲン活性を示し、河川などの環境水にその一部が流入し、水生生物などへの性ホルモンに影響を与え、オスのメス化などを引き起こしている背景がある。

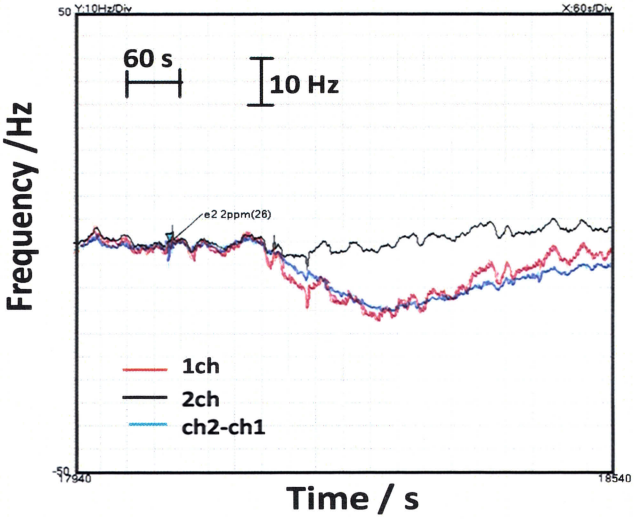
(3)E2分子に対する鋳型ナイロン6薄膜－水晶振動子センサへの応答

下図に、2ppmと5ppmのE2に対して、本検出システムにおいて測定したときの濃度に対する周波数応答について示したものである。図中の１チャンネル(1ch)は、金電極表面にE2鋳型ナイロン6薄膜をコーティングしていない場合で、ノイズは見られるものの大きな周波数変化は見られない。これに対して、2チャンネルは金電極表面に鋳型薄膜を被覆してあるもので、ノイズの少ないもうひとつのライン(ch2-ch1)は、1チャンネルから2チャンネル(ブランク相当)を減算したものである。試料注入後に、時間の経過とともに周波数の減少が見られた。これは薄膜表面の鋳型サイトにE2分子が吸着して捕捉されたことで、水晶振動子に荷重がかかり、振動周波数に重みによる減少を示したことがわかる。

また、両濃度において、E2濃度に対する水晶振動子への荷重変動に差が生じ、周波数の減少に違いが生じていることがわかる。



5 ppmのE2における周波数応答

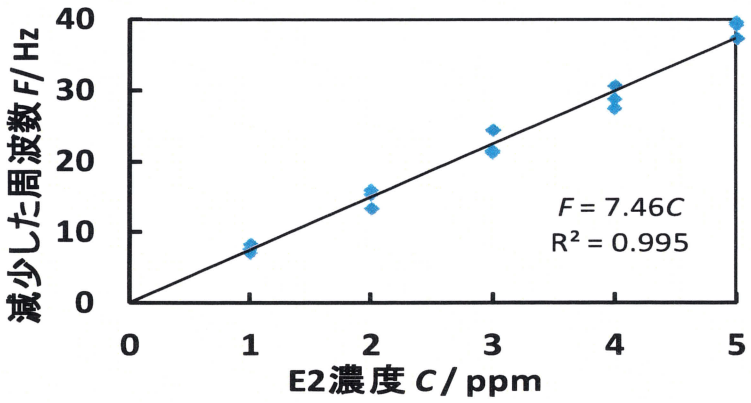


2 ppmのE2における周波数応答

(4)E2濃度と周波数応答の関係

1～5ppmのE2水溶液を調製し、同条件で分析を行った。移動相組成は、5%メタノール注入量は、100μL、温度25℃で測定を行った。

その結果、1～5ppmの範囲で周波数応答が定量的に減少し直線応答を示した。また再現性よく測定できることがわかった。



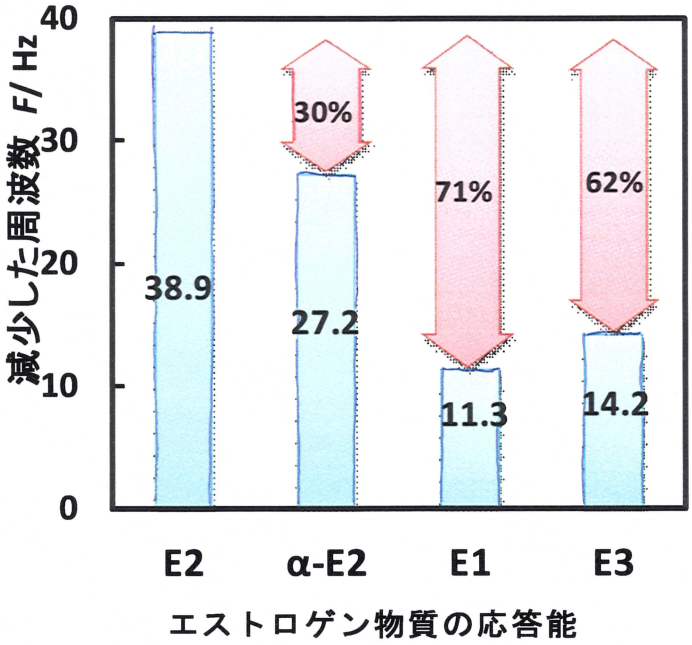
E2-IPM被覆QCMセンサにおけるE2濃度の依存性

(5)ゲスト分子の応答能の比較

ゲスト分子として、E1、E2、E3、及び17α-エストラジオール(α-E2)の4種のエストロゲン物質について応答能の比較をし評価を行った。

E1、E2、E3は前述の分子構造を持ち、E2とE3は-OH基の置換数が異なり、またE1とは-OH基数と=Oとの差で、分子構造からは小さな違いしか見られない。さらに、17α-体はE2の立体異性体で、LC分析における分離定量例はほとんど報告がない。

前述の分離条件で、E2鋳型ナイロン6薄膜－水晶振動子センサによる応答の差を右図に示した。



5ppmのエストロゲン物質について周波数変化を測定したところ、E2分子の周波数減少量38.9Hzに対して、α-E2、E1、E3はそれぞれ、27.2、11.3、14.2Hzの応答となり、それぞれ、E2の応答能に対して-30%、-71%、-62%を示した。E3はE1より約1割程度高い吸着能を示した主な要因は、-OH基のナイロン6基材への水素結合による取り込み(E2分子鋳型サイト以外への基材表面への吸着も含む)が寄与しているものと推測される。いずれにしてもE2分子に対して分子構造が類似するE1とE3をかなり排除的に吸着を抑制していることが明らかとなった。さらに、立体異性体である17α-体とは、約3割の吸着能の差が得られたことは驚きに値する。

5．今後の計画

今年度の検討で、分離選択性については今後改善する必要があるとは言え、真空蒸着など特殊な薄膜作製技術を使うことなく、比較的容易な操作で薄膜コーティングでき、鋳型分子としての特徴を発現できることが明らかになってきたことから、本法をセンシング技術に応用できる見込みがたった。そこで、今後、本法のセンシング手法を構築するために、より詳細な検討をしていく方針である。検討方針としては、(1)定量精度の検討、(2)E2以外のエストロゲン物質やアンドロゲン物質との分離選択性の詳細な検討、(3)応用分析への展開、(4)QCMセンサ部のディスポーザブル型チップ化、などを順に検討していく。

6．研究成果の発表

研究成果の主な公表に関しては次の通りである。本研究の骨子になる研究成果の論文3)は平成2010年度日本材料科学会「論文賞」、研究発表1)はプレゼンテーション賞を受賞し評価されるに至った。

1)「内分泌かく乱物質エストロゲン物質を認識する新規分子インプリントポリマー材料の分離能の評価」、坂井佑輔、斎藤貴、日本材料科学会第18回若手研究者討論会、プレゼンテーション賞、(第32号)、(2011)

2)「内分泌撹乱物質アトラジン分子を認識するインプリントポリマー吸着材の選択的吸着特性」、伊藤光寿、斎藤貴、材料の科学と工学、47巻No6、pp.304～309 (2010)

3)「ビスフェノールA分子インプリントナイロン膜の合成と吸着特性」、斎藤貴、材料の科学と工学、46巻4号、pp.29～34 (2009) (2010年度 日本材料科学会 論文賞)

高感度分光法を利用した人体に有害な物質の検出法の開発

研究者名：　　応用化学科　川嶋良章

１．研究成果の要約

高分解能で高感度な特徴を有する自作のフーリエ変換マイクロ波（FTMW）分光計を用いて、ウィスキーの香料として含まれているウィスキーラクトンの回転スペクトルを測定・帰属し、昨年報告したウィスキーラクトンの回転異性体で新たに 1 種類を帰属した。弱い分子間力を持つ CO_2 とジメチルスルフィド(DMS)錯体や N_2-エチレンスルオキシド(EO)錯体の回転スペクトルを測定・帰属し、解析を行っている。

2. 研究の目的

①FTMW 分光法を用いてアルコールやチオール、環状オキシドやスルフィドさらには生体関連分子に焦点をあて、回転異性体を個別に検出するとともに、前処理をせずにそれらの回転異性体を分離し、微量検出の可能性を試す。

②開発してきた高感度・高分解能な特徴を有するＦＴMW分光計を用いて、炭素原子が 3~5 個を含むアルコール、エーテル、メルカプタンやチオエーテル化合物など人体に有害な分子の検出を行う。また、エチレンオキド、エチレンスルフィドと大気中に含まれる窒素分子や炭酸ガス、CO などとの分子錯体を検出し、酸素原子と硫黄原子での分子構造の相違や反応機構についての検討を行う。

3. 研究の必要性および従来の研究

高感度･高分解能な特徴を有する FTMW 計を製作改良しながら、回転異性体を個別に検出するとともに、前処理をせずに分子を分離し、微量検出の可能性を探る必要がある。製作した FTMW 分光計を用いてファンデルワールス分子やペプチド結合を持つ生体関連分子などこれまでに 40 種類を超える分子種の回転スペクトルを測定し、分子構造や分子内運動に関する知見を得てきた。

4. 期待される効果

FTMW 分光法は、分子種、同位体種、さらには回転異性体を個別に識別できる精密な分光法である。高分解能な分光法なので前処理をせずに同時分析が可能である。地球温暖化で注目浴びている炭酸ガスを含む分子錯体の回転スペクトルを測定・帰属し、分子構造や分子運動を詳細に研究することは、炭酸ガスが地球大気に及ぼす影響を知るうえで重要な役割を果たす。

5. 研究経過および結果

5.1　5-ブチル-4-メチルテトラヒドロフラン-2-オン(ウィスキーラクトン)のフーリエ変換マイクロ波スペクトル

5-ブチル-4-メチルテトラヒドロフラン-2-オン（ウィスキーラクトン）はウィスキーに含まれた香りの成分として知られている。ウィスキーラクトンには 4 個の安定な幾何学的及び光学的異性体 *cis 4S-5S, cis 4R-5R, trans 4S-5R, trans 4R-5S* の存在が予想され、これまでに

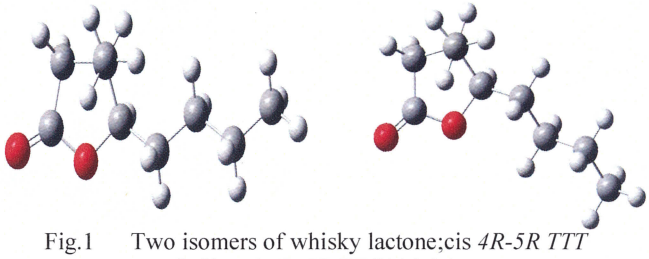


Fig.1　Two isomers of whisky lactone;cis *4R-5R TTT* (left) and *4R-5R TTG'* (right)

Experimental	*cis 4R-5R*	*ab initio* calculation	*cis 4R-5R TTG'*	*cis 4R-5R TTT*
A /MHz	2053.38032(24)	A /MHz	2773.335	2062.890
B /MHz	517.625149(16)	B /MHz	477.192	518.535
C /MHz	446.593515(13)	C /MHz	441.875	448.385
$N(a$-type)	71	μ_a /D	-4.242	-1.158
$N(b$-type)	11	μ_b /D	3.136	4.702
$N(c$-type)	1	μ_c /D	1.861	2.206
Δ_J /kHz	0.022419(36)	ΔE /cm^{-1}	33	0
Δ_{JK} /kHz	0.01671(38)			
Δ_K /kHz	0.9376(50)			
δ_J /kHz	0.004473(24)			
3σ /kHz	0.6			

Table.1　Molecular constants of *cis 4R-5R TTT* of whisky lactone

得られた回転定数から、測定された分子が *cis 4R-5R* の *TTG'*型であることを分子軌道計算との比較から確認した。さらに測定を進めた結果、新しく *cis 4R-5R* の *TTT* 型を帰属した。得られた回転定数と遠心力歪定数、量子化学計算 MP2/6-311++G(*d*, *p*)レベルでの計算結果を表 1 に示す。表 1 から量子化学計算結果の値が実験値をよく再現していることが分かった。計算結果といまだ多くの未帰属線があり、帰属を進めている。

5.2 CO_2 とジメチルスルフィド(DMS)錯体のフーリエ変換マイクロ波分光

分子間力として強い水素結合と弱い Van der Waals 力が知られているが、その中間に位置する分子間相互作用には未解明のことが少なくない。この相互作用における酸素原子と硫黄原子の役割の差を明らかにするため、分子錯体を系統的に研究してきた。測定された遷移周波数を通常の非対称コマ分子のハミルトニアンではフィットすることができなかった。この原因として考えられるのは、CO_2-DMS 錯体では非対称性パラメーターκ が極めて対称コマに近く、わずかな内部回転運動によっても分子主軸を回すこと、および分子間結合が弱く、CO_2 が DMS に対して低周波数の捩れ運動をしているとためと考えられる。より多くのスペクトルを帰属し、遠心力歪定数が通常の分子錯体に比べて 2，3 桁ほど大きなことが分かった。

市販の DMS と CO_2 をアルゴンやネオンで、それぞれ 0.5 %と 1.5 %に希釈、混合したものを背圧 3 atm で分子線噴射ノズルから真空チェンバー内に導入して分子錯体を生成した。測定は 5 ~ 24 GHz の周波数領域を 0.25 MHz おきに 20～50 回積算、掃引して行った。

測定周波数領域に観測した多数の吸収線から DMS 単量体と Ar-DMS 錯体によるものを除き、残った吸収線を CO_2-DMS 錯体に帰属した。和の規則を用いて $J = 9$, $K_a = 0$~3 以下の遷移を帰属することができた。対称コマ分子に近いので、*a* 型以外の遷移が *b* 型あるいは *c* 型いずれの遷移則に従うのか慎重に検討し、最終的に *c* 型遷移であると結論した。 *a* 型 *R* 枝遷移を 43 本および *c* 型 *Q* 枝と *R* 枝遷移を 26 本と 40 本帰属した。測定された遷移周波数を剛体コマ分子の *S*-reduced 非対称コマ回転ハミルトニアンを用いて、回転定数と 4 次に 6 次の遠心力歪定数 H_{JK} を加え、最小 2 乗法解析を行った。CO_2-ES の値と比較すると CO_2-DMS の遠心力歪定数の値が 2~3 桁大きなことが分かる。この原因として考えられるのは、(1)CO_2-DMS 錯体の非対称性パラメーターκ が極めて-1.0 に近く、僅かな内部回転によって *b*, *c* 慣性主軸が大きく回転する。(2)CO_2-DMS 錯体では分子間結合が弱く、CO_2 が DMS に対して低周波数の捩れ運動をしているとためと考えられる。このような内部運動として CO_2 が DMS に対して内部回転するもの（CO_2 の炭素原子と DMS の重心とを結ぶ軸の周りの角 τ で表す）、CO_2 が DMS に対して rocking 的な動きをするもの（角 θ で表す）がある（図 2 を参照）。また、測定された 2 個のメチル基による内部回転の分裂は、通常の内部回転プログラムではフィッテイングできなかった。

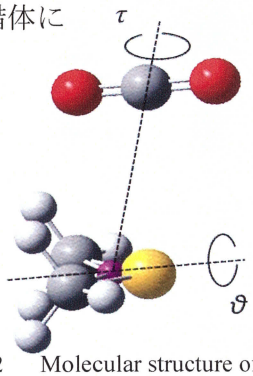


Fig.2 Molecular structure of CO_2-DMS complex

5.3 窒素分子とエチレンオキシド(EO)錯体のフーリエ変換マイクロ波分光

弱い分子間力で結ばれた錯体では、錯体内の大振幅運動が回転スペクトルに大きく反映するため、スペクトル観測から内部運動、錯体の動的構造について詳細な情報をえることができる。今回 N_2-EO (エチレンオキシド) 錯体 (図 3) を取り上げ、回転スペクトルを観測、詳細に解析した。$^{15}N_2$-EO や $^{14}N_2$-EO では 4 組のスペクトルを検出、個別に解析した。

市販の EO と N_2 を Ar ガスでそれぞれ 0.4%と 1.6%に希釈、混合し、背圧 5 atm で分子線噴射パルスノズルから真空装置内に導入した。測定周波数は 3.8~27 GHz である。

eQq 分裂がない $^{15}N_2$-EO の回転スペクトルの帰属から行った。測定周波数を和の法則を用いて帰属を確認しながら、$J = 8$ の $K_a = 2$ まで *a* 型 *R* 枝遷移および *b* 型 *Q* 枝と *R* 枝遷移を帰属した。オルトとパラのグループの遷移は、数 100 kHz に分裂した

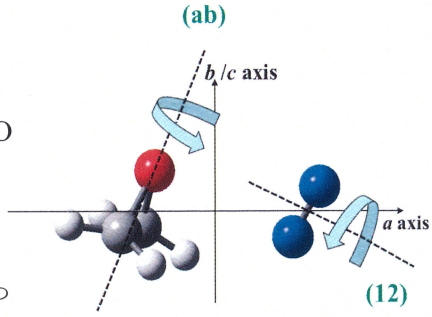


Fig.3 Molecular structure of N_2-EO complex

強度の異なる 2 個のサブグループ(s, w)から成っている。この 4 個のグループについて *S*-reduced 非対称コマ回転ハミルトニアンを用いて、回転定数と 4 次に 6 次の遠心力歪定数 H_{JK} を加え、最小 2 乗法解析を行った。オルトとパラで *K* に関する遠心力歪定数の符号が反対であった。このことは、オルトとパラの間に *a* 軸回りのコリオリ相互作用があることを示唆する。^{15}NN-EO の回転スペクトルを同様に測定した結果、^{15}NN-EO の Inner 型では *a* と *b* 型遷移、Outer 型では *a* と *c* 型遷移があり、さらに相対強度の異なるサブグループ(s, w)から成り立つことを見出した。Inner 型と Outer 型の *eQq* は、χ_{aa} がゼロに近く、$\chi_{bb}-\chi_{cc}$ は約 2.1 MHz で、符号が反対であった。N_2-EO では、$^{15}N_2$-EO と同様に計 4 種類を帰属した。^{15}NN-EO の回転定数と *eQq* の値から窒素原子の置換座標と *eQq* がよく対応している。また、Inner 型の N15N-EO の相対強度は Outer 型の 15NN-EO の強度の約 2 倍であった。この強度異常は、Inner 型に重原子が置換されるとゼロ点振動が低くなるためで説明できることが分かった。

6. 今後の計画

これまで高分解能で高感度な特徴を有する FTMW 分光計を用いて、いろいろな分子の回転スペクトルを測定し、分子構造を決めてきた。炭素原子数が 4 個のアルコールやチオエーテルを研究してきた。この研究をさらに発展させて、炭素数が 5 個以上の化合物(例えば、2-Methyl-1-butanol など)を対象として、回転スペクトルを測定し、数 10 種類ある回転異性体のうち、どの回転異性体が安定であるかを検討する。ウィスキーラクトンで未帰属の回転スペクトルを詳細に測定し、他の回転異性体を帰属し、分子構造を決定することを試みる。イソブチルメチルチオエーテルで低い振動励起状態が測定されているので、同様な現象がイソプロピルメチルエーテル(IPME)で起こっているかを調べるために、IPME を合成し、回転スペクトルを測定する。すでに IPME の *gauche* 型は報告されているが、*trans* 型を探す。弱い分子間力を持つ分子錯体に注目して、未帰属線が多い N_2-DME および CO_2-DMS 錯体について研究を続け、分子軌道計算と実験結果を統一的に比較・検討して、弱い分子間相互作用に対する考え方を提案することを試みる。

レーザー蒸発装置を組み込んだ真空装置での性能を調べ、すでに回転スペクトルが報告されているグリシンなどを試料として使用してレーザー蒸発の実験を試みる。

アロステリック酵素を用いたエフェクターのバイオセンシング

研究者名： 応用化学科　　佐 藤 生 男

1.　研究成果の要約

酵素固定化用の担体として，表面を化学処理した炭素繊維を用いた．昨年度に続き，典型的アロステリック酵素のグリコーゲンホスホリラーゼ *b* を固定化し，フローインジェション計測システムへの適用を試みた．この酵素固定化繊維をプラスチック製ミニカラムに充填し(充填高さ：約 1.5 cm)，本カラムを識別素子とする分光測光法に基づいたフローインジェクション計測システムに組み込み，グリコーゲン（グルコースのポリマー）とグルコース 1-リン酸とを基質とし，触媒反応で遊離されるオルトリン酸をマラカイトグリーンとのイオン会合体の生成に導き，フロー形式の可視分光器で連続的に計測した．その結果，本酵素の触媒活性を指標として，フローインジェクション分析法により，エフェクター（アデノシン一リン酸）を 0.1 ～ 2.0 mM の範囲で分光測光法的に定量することができた．

2.　研究概要

2.1　計測原理

アロステリック酵素は一般に，糖代謝に関る酵素とし広く知られている．反応時に，同一タンパク質のその活性部位とは空間的に異なる部位（エフェクター部位）へ，エフェクター分子が結合することで，本酵素はその触媒活性が調節されることが既知である．代表的なアロステリック酵素として，グリコーゲンホスホリラーゼ *b* がよく知られており，この酵素のエフェクターであるアデノシン一リン酸（AMP）は，エフェクター結合部位に配位，結合することにより，酵素触媒活性が変動する．一方，エレクトロニクスの基本として，電子デバイスのトランジスターが，グリッド電圧の調節を介して増幅作用が行われることも周知の事実である．これらの関係に着目し，電子デバイスの特性を，生物素子に導入した計測法の開発を創案したわけである．具体的には，エフェクターとしてアデノシン一リン酸（AMP）分子を取り上げ，酵素触媒としてグリコーゲンホスホリラーゼ *b* を用い，次の反応で生成される正リン酸を分光測光法でモニタリングすることを企図した．

$$\text{グリコーゲン}_{(n)} + \text{グルコース 1-リン酸} \xrightarrow{\textit{グリコーゲンホスホリラーゼ b}} \text{グリコーゲン}_{(n+1)} + \text{正リン酸}$$

分光測光法によれば，ここで形成された正リン酸をさらに，リンモリブデン酸塩に誘導し，マラカイトグリーンと反応させて発色するイオン会合体を定量すれば，

上記の反応をモニタリングすることで，間接的ながらエフェクターのフロー計測が果たされる．

２．２　グリコーゲンホスホリラーゼの固定化

グリコーゲンホスホリラーゼ *b*（略称GP*b*, EC 2.4.1.1, 11.2 U/mg 固体物，ウサギ筋肉起源，Sigma-Aldrich 社製）を代表的なアロステリック酵素として用いる事とした．

(a)　炭素繊維の酸処理：　まず，ディスク状（内径 6.9 mm，厚さ5.0 mm）にポンチで打ち抜いた炭素繊維（日本カーボン(株)製　No.シ01007-044）20個をアセトン中で超音波洗浄（15分間）し，脱脂・乾燥した．次いで，75℃に保温した 10 mM 硝酸液に 30 分間，浸漬し，ろ過吸引して洗浄，分離後，110℃で乾燥した．

(b)　金酸の含浸：　テトラ金(Ⅲ)酸四水和物（0.33ｇ）を10　mL の純水に溶解した液を50 mL 容の三角フラスコにいれ，先の乾燥した炭素繊維を保冷庫内（4℃）で，一晩(約20時間)ゆっくりと往復振盪（60 rpm，振れ幅25 mm）した．金酸で処理したフェルト状の炭素繊維を保冷庫内で乾燥後，長方形の袋状に加工した50メッシュのナイロンネットの中に投入した．このネットをユニシート（大きさ：B4，チャック付のビニール袋）に入れ，水素ガスを封入後，75℃に設定した恒温槽上で6時間，還元することとした．その後，4℃の保冷庫内で一晩乾燥させた．

(c)　アミノエタンチオール化：　この水素で還元した炭素繊維と20 mMアミノエタンチオール（0.1M リン酸ナトリウム緩衝液，pH 8.0，　50 mL）とを50 mL 容の三角フラスコに入れ，予め室温で気泡を除去し，再び4℃の保冷庫内で往復振盪（16時間以上，60 rpm，振れ幅25 mm）後，吸引ろ過して洗浄（0.05M リン酸ナトリウム緩衝液，　pH 8.0 ，50 mL）し，乾燥した．

(d)　グルタルアルデヒド活性化：　2.5%グルタルアルデヒド溶液（25 mL 容）で架橋法（0.1M リン酸ナトリウム緩衝液，　pH 7.0，60 min）により処理（グルタルアルデヒド活性化）後，0.05 M リン酸ナトリウム液（pH 7.0）で洗浄し，重量値が変化しなくなるまで室温で乾燥した．

(e)　酵素とのカップリング：　この乾燥済みのフェルト状の炭素繊維に対し，10%の重さのGP*b*を最終濃度が0.1Mになるように調整したリン酸ナトリウム液10 mL 中に溶解し，9.0 mL を固定化に適用した．50時間，4℃の保冷庫内で恒温振盪後，0.1 M リン酸ナトリウム，0.5 M塩化ナトリウム，純水の順で各1Lずつ洗浄し，酵素固定化物を得た（固定化収率：少なくとも7%）．なお，シッフの塩基が残存していると，酸性条件下で固定化済の酵素が遊離されることが考えられ．そこで，水素化ホウ素ナトリウムで還元処理後，酵素固定化炭素繊維を3つポリアセタール製のリアクターに詰め，さらにアクリル製の恒温ホルダーに取り付けた．既にリポタンパク質リパーゼ（ＬＤＬ）を同一粒子径（約 200 nm）のＣＰＧ(粒度：120-200　メッシュ)上に固定化した際に，収率は約30パーセントに低下するものの，相対的な比活性はかえって向上することを筆者は30年以上前に報告済みである（*Anal. Chim. Acta* 誌）．さらに，この反応は基質分子として，リポタンパク質という巨大分子を想定している．そのため，グリコーゲンというグルコースの高分子を

基質とする本研究でも，炭素繊維表面への基質分子の拡散効率の向上，ひいては触媒活性の増大を期待した.

2．3　酵素触媒反応のモニタリング

マラカイトグリーンを用いた分光測光法の測定条件の改善を既に図った．酵素触媒反応に適した中性付近のpHで，安定した計測条件を検討した結果，最適計測条件として，キャリヤーの組成が 50 μM グリセロリン酸と 15 mM メルカプトエタノールからなる緩衝液(pH 6.2)の適用が最適であった．一方，発色試薬としては 0.11 M モリブデン酸-0.22 mM マラカイトグリーンを用いる事とした．この条件で，グリコーゲンとグルコース 1-リン酸からなる基質液を注入するとイオン会合体の生成に起因する応答が本計測条件で認められた．次年度以降は，分子量が単分散のグリコーゲン液の濃度を上げることで，または炭素繊維の表面処理法を変えることにより，より高活性な応答を得られやすい測定条件を新たに検討することとしたい.

3．　今後の展望

炭素繊維を担体とする新たなグリコーゲンホスホリラーゼ *b* の分光測光法によるエフェクターのフローインジェクション分析法を提唱し，何とか計測の可能性を例証した.

研究発表リスト

印刷物発表

(1) Ikuo SATOH, Mami HACHINOHE and Yasushi KANZAKI : "Flow-Injection Determination of Hydrogen Peroxide Enzymes Using A Reactor Containing Catalase-Immobilized Carbon Fibers ", *Proceedings of the 54th Chemical Sensors*, **29**, Supplement A, pp.99 - 101, 2013.

(2) Ikuo SATOH, and Yasushi KANZAKI : " Flow-Injection Determination of amounts of Enthalpy Changes in Enzyme-Catalyzed Reactions – Oxidation of Ascorbates –", "*Proceedings of the 54th Chemical Sensors*, **29**, Supplement A, pp.102- 104, 2013.

口頭（ポスター）発表

（1） 佐藤生男，神崎愷：「炭素繊維を利用する酵素固定化物の調製とその計測的応用」，公益社団法人日本分析化学会　フローインジェクション分析研究懇談会　第50回フローインジェクション分析講演会，2012年，11月16日，徳島.

（2） 小松千波，佐藤生男，神崎愷：「炭素繊維へのアスコルビン酸オキシダーゼの固定化とFIAへの応用」，公益社団法人日本分析化学会　フローインジェクション分析研究懇談会　第50回フローインジェクション分析講演会，2012年，11月16日，徳島.

（3） 藤井哲，佐藤生男，神崎愷：「ウレアーゼのカーボンフェルトへの固定化とFIAへの適用」，公益社団法人日本分析化学会　フローインジェクション分析研究懇談会　第50回フローインジェクション分析講演会，2012年，11月16日，徳島.

（4） 田中栄作，佐藤生男，神崎愷：「グリーコーゲンホスホリラーゼ *b* 固定化物を用いるフローインジェクション分析」，公益社団法人日本分析化学会　フローインジェクション分析研究懇談会　第50回フローインジェクション分析講演会，2012年，11月16日，徳島.

（5） 平川優，佐藤生男，神崎愷：「アスコルビン酸の酸化反応に伴うエンタルピー変化量のフローインジェクション分析」，公益社団法人日本分析化学会　フローインジェクション分析研究懇談会　第50回フローインジェクション分析講演会，2012年，11月16日，徳島.

（6） 佐藤生男，八戸真美，神崎愷：「炭素繊維を用いた酵素の固定化とその計測的応用」，社団法人電気化学会　第52回化学センサ研究発表会，2011年，9月10日，仙台.

（7） 佐藤生男，平川優，神崎愷：「酵素触媒反応におけるエンタルピー変化量の計測　－アスコルビン酸の酸化反応－」，公益社団法人電気化学会　第53化学センサ研究発表会，2012年，3月29日，仙台.

酵素法による生体アミノ化合物の高感度な網羅的測定法の開発とその応用
－プトレッシンオキシダーゼの遺伝子クローニングとセンシングへの応用－

研究者名：　応用バイオ科学科　准教授　山村　晃

1．研究の目的

本研究室では，ヒスタミンオキシダーゼ，L-ヒスチジンオキシダーゼ，GABA オキシダーゼ，エチルアミンオキシダーゼなどの生体アミン化合物に作用する酸化酵素を土壌微生物から見出し，酵素の特性評価と実試料の分析などに応用してきた[1)]。

本研究室では，オルニチンを含有する寒天平板にて，土壌微生物を探索したところ，オルニチンが脱炭酸されて生じるプトレッシンに反応するプトレッシンオキシダーゼ産生能が非常に高い菌株を探索することができた。本酵素は，タイなどの白身魚や貝・ウニなどの腐敗過程で生じる腐敗アミンを検出できる重要な酵素であるが，現在のところ市販酵素がないため，本酵素を効率的に産生させ，精製する手法が必要である。しかしながら，現在のところ，本酵素の産生能は高いものの精製は簡便ではなく，遺伝子工学を用いたヒスチジンタグの付着などの改良が必要である。

1) Kiba,N., Koga,A., Tachibana, M., Tani,K., Koyama,T., Yamamura,A., Matsumoto,K., *Anal.Sci.*,**22**,95-98,(2006)

2．研究の必要性及び従来の研究

プトレッシンは，塩基性アミノ酸である L-オルニチンがオルニチンデカルボキシラーゼ（EC 4.1.1.17）によって脱炭酸されて生成される最も単純なポリアミンの一種である。主に発酵食品に多く含まれており，アレルギー様食中毒の起因物質として知られているヒスタミンの毒性は，プトレッシンのようなポリアミン類の共存下でより強くなることが報告されている[2)]。したがって，食品中のプトレッシン含有量を簡便かつ迅速に測定することは，アレルギー様食中毒のより確かな予防にもつながると考えられる。ポリアミン類の測定は高速液体クロマトグラフィーが主流であるが，より簡便で迅速な分析法の一つとして酵素的測定法が注目されている。

現在，プトレッシンに対して基質特異性の高い酵素として，*Micrococcus roseus* 由来のプトレッシンオキシダーゼ（EC 1.4.3.10）[3)] などが知られているが，*Arthrobacter* 属が産生するプトレッシンオキシダーゼの酵素化学的特性に関する報告はほとんどない。本研究室では，土壌微生物よりプトレッシンオキシダーゼ産生能の高い *Arthrobacter* sp. KAIT-B-420 株を見出した。この菌株は高いプトレッシンオキシダーゼ産生能を有しており，得られる酵素はプトレッシンに対して基質特異性が高いため，酵素的測定法によるプトレッシンの測定への応用が期待できる。

2) Chu,C.H., Bjeldanes,L.F., *J.Food Sci.*,**47**,79-80,(1982)
3) Adachi,O., Yamada,H., Ogata,K., *Agric.Biol.Chem.*,**30**,1201-1210,(1966)

3．期待される効果

本研究により，プトレッシンオキシダーゼのアミノ酸配列が明らかになり，同属におけるプトレッシンオキシダーゼの配列と比較でき，遺伝子工学における特性の改変に応用が可能となる。また，プトレッシンオキシダーゼを簡便に産生，分析するシステムを構築することができる。

４．研究の経過及び結果

（１）ヒスタミンオキシダーゼの大量発現系の構築と最適化

ヒスタミンオキシダーゼ(HOD)遺伝子は、*Arthrobacter crystallopoietes* KAIT-B-007 株由来のものを NF（5'-ATCGGATCCATGACCCTTCAGACCGCCTC-3'; 下線は *Bam*HI 認識部位）と CR2（5'-GATAAGCTTTCAGTGCCCGCAGGCGCCCG-3';下線は *Hin*dIII 認識部位）をプライマーとして PCR を用いて増幅した。得られた遺伝子と発現ベクターpCold I を、制限酵素 *Bam*HI と *Hin*dIII で完全消化した後、精製して DNA リガーゼを用いてライゲーションを行い pCold I-HOD(KAIT-B-007)を構築した。構築したプラスミドを大腸菌 BL21(DE 3)株に形質転換して、50 μg/ml アンピシリン含有 LB 培地上に 37℃、12 時間で培養することでコロニーを形成するものを選抜した。選抜した株のコロニーをピックアップして、コロニーPCR にかけて HOD 遺伝子を確認できたものを最終的に選択して、HOD 遺伝子大量発現系の発現条件の検討を行った。

HOD は、活性中心にトパキノン(TPQ)と銅イオンをそれぞれ 1 分子有する単量体のポリペプチドである。銅イオンは、HOD の内部アミノ酸である 3 つのヒスチジン(H437、H439、H598)と配位結合で結合する。銅イオンが結合し、溶存酸素が溶液中に存在すると、その近くに配置されるチロシン(Y388)が酸化して、TPQ に変化する。また、基質であるヒスタミンは、アスパラギン酸(D304、D389)、アスパラギン(N387)、チロシン(Y390)、バリン(V385)、オレオニン(T383、T384)やイソロイシン(I411)と結合することが、他の株が産生する HOD で報告されており、KAIT-B-007 が産生する HOD においても、これらのアミノ酸は変化していなかった（図 1）。

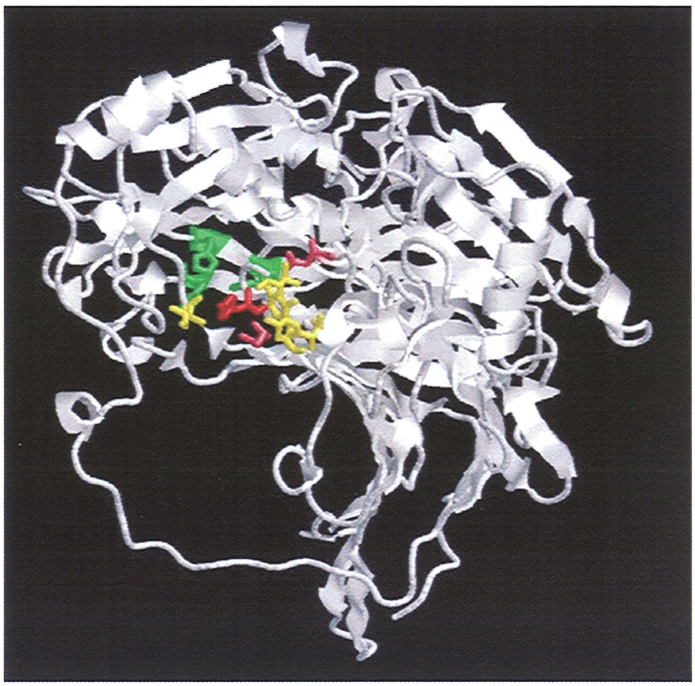


図 1 HOD の推定構造

赤：Y388、緑：H437, 439, H598、

ピンク：D304、D389、黄：N387, V385, T384, T383, I411

したがって、本酵素の活性発現には銅イオンの添加が必須であるため、銅イオンの添加時期と濃度を検討した。

まず、培地中に銅イオンを添加する濃度を検討した。その結果、1.6 mM が最適であった（表 1）。しかしながら、非常に高濃度であり、培養後に残存する銅イオンが高く、培地の処理が困難であるため、酵素抽出液に添加する方法を検討した。その結果、100 μM が最適であることが分かった(表 2)。また、銅イオン濃度が高いと酵素が失活し、ブランクも高くなることがわかった。

表 1　培地中の銅イオン濃度における HOD 活性

	銅イオン濃度(μmol/L)									
	0	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	9600
基質(⊿)	0.060	0.080	0.106	0.126	0.104	0.131	0.185	0.161	0.057	0.047
コントロール(⊿)	0.035	0.034	0.038	0.034	0.035	0.055	0.066	0.072	0.119	0.145

表 2　素酵素液中の銅イオン濃度における HOD 活性

	銅イオン濃度(μmol/L)					
	0	50	100	200	400	800
基質(⊿)	0.133	0.437	0.479	0.373	0.149	0.061
コントロール(⊿)	0.031	0.035	0.036	0.041	0.048	0.064

銅イオン濃度を 100 μM で添加することで、HOD 活性が得られることが明らかになったので、大腸菌 BL21(DE3)における発現条件を検討した。pCold I のタンパク発現条件は、培地の菌濁度 OD_{600} が 0.6 にしてから、16℃の低温で培養し 0.4 mM の IPTG 添加することで遺伝子の発現誘導が行われる。この低温誘導後の時間を検討した。その結果、6 時間以上の誘導で HOD 活性が最大になることがわかった（表 3）。

表 3　低温誘導時間における HOD 活性

	16℃での培養時間（h）					
	0	2	4	6	8	10
基質(⊿)	0.103	0.309	0.479	0.534	0.512	0.521
コントロール(⊿)	0.035	0.034	0.035	0.036	0.033	0.030

次に、HOD の精製について検討した。pCold I-HOD(KAIT-B-007)を発現させると、N 末端に 6 個のヒスチジンタグ(his-tag)が付着した状態で HOD が翻訳される。この his-tag 融合タンパク質は、ニッケル担持キレートカラム(Ni-NTA)を用いると簡単に吸着し、イミダゾール添加のバッファーでカラムから溶出するため、精製が非常に簡単になる。この Ni-NTA によって、精製した結果、活性収率 89.6%で精製できた(表 4)。電気泳動によって、他の不純タンパク質が混入していないことが確認できた。また、HOD は、細胞の可溶分画に移行し、封入体形成による沈殿への移行は見られなかった（図 2）。

表 4　HOD の精製工程

精製工程	全活性(U)	全タンパク質(A_{280})	比活性(U/A_{280})	活性収率(%)
粗酵素	47.3	7,469	0.006	—
Ni - NTA	42.1	10.24	4.11	89.6

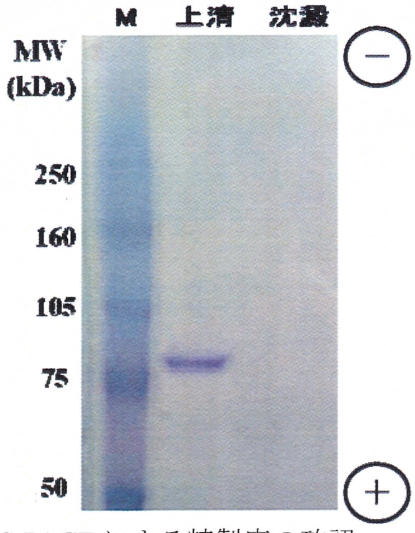


図 2　SDS-PAGE による精製度の確認

上清：酵素抽出液の Ni-NTA カラム精製物

沈殿：封入体の可溶化処理後の Ni-NTA カラム精製物

（2）プトレッシンオキシダーゼの大量発言系の構築と最適化

プトレッシンオキシダーゼ(PUO)遺伝子を発現プラスミドに組み込み、タンパク質の発現に適した大腸菌株に形質転換した。プトレッシンオキシダーゼは、N 末端アミノ酸配列に 6 つのヒスチジンを付加した形の融合タンパク質として、大腸菌中で発現させて、精製を簡便にした。

具体的には、プトレッシンオキシダーゼ遺伝子の 5'末端側に *Sac* I 切断部位を、3'末端側に *Xba* I 切断部位を付加させた DNA プライマー、PUO-*Sac* I-F; AAAGAGCTCATGCTGAACCTGAACCGCGA(下線は *Sac* I 切断部位)、PUO-*Xba* I-R; AAATCTAGATTAGGCCGGAACGGGCAACT(下線は *Xba* I 切断部位)を設計して、PCR によって両端に制限酵素切断部位を有するプトレッシンオキシダーゼを増幅した。pCold I と PCR 産物を *Sac* I と *Xba* I の制限酵素で完全分解した。エタノール沈殿によって制限酵素を失活させ、短い DNA 断片を除去した。同じ制限酵素で処理した pCold I と PCR 産物を混合して、リガーゼによるライゲーションし pCold II-PUO を構築した。この構成したプラスミドを *E.coli* BL21 株のコンピテントセルに形質転換した。50 μg/mL アンピシリン添加 LB 寒天培地に塗布し、37℃で 1 日培養して、コロニー形成が見られたものを単離した。プトレッシンオキシダーゼ遺伝子を有する菌株を、コロニーPCR で確認した。

PUO は、1 つのポリペプチドに対して非共有結合の FAD を補酵素にもつ酵素である。アミノ酸配列から推定される構造を予測すると、他の菌株が産生する PUO と活性中心が一致していた。FAD と非共有結合を行っている部分は、トリプトファン(W60, W389)、ヒスチジン(H436)、アラニン(A394)である。FAD と共有結合する酵素では、このアラニンがシステインであるため、アミノ酸置換を行うことで、補酵素が抜けることによる熱失活が解消できることが示唆される。また、基質であるプトレッシンとは、メチオニン(M173)、リジン(K300)、チロシン(Y399)、グルタミン酸(E328)であると予想できる。特にグルタミン酸は、反応するアミノ基とは逆のアミノ基に結合する部位であり、これをアスパラギン酸（グルタミン酸よりも炭素鎖が 1 つ少ないため、基質結合ポケットが炭素鎖 1 つ分広くなる）に変化させると、認識する分子の長さを長く可能性がある（プトレッシンは NH_2-$(CH_2)_4$-NH_2、カダベリンは NH_2-$(CH_2)_5$-NH_2）。

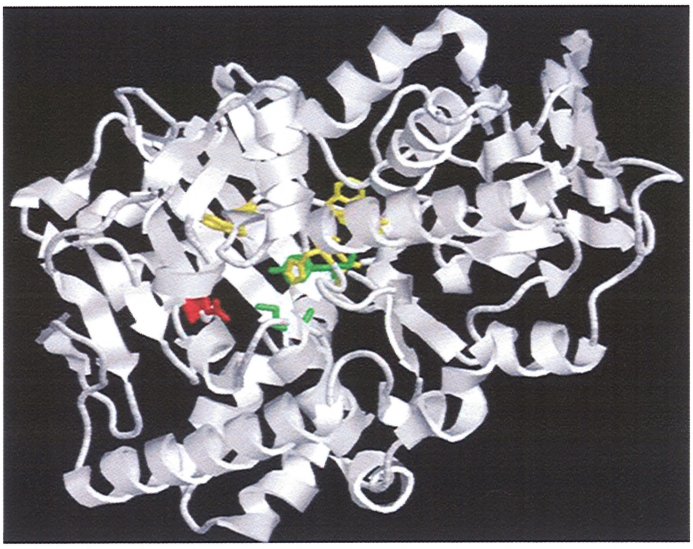


図 3　PUO の推定構造
黄：W60, W389, A394, H436
緑：M173, K300, Y399、赤：E328

次に、FAD の反応液中の最適化を行った。FAD は、非共有結合で結合していても、酵素分子から脱離しにくい分子である。FAD は、pH 5 以下の酸で処理する、あるいは、80℃以上の熱処理することでタンパク質分子から解離した。PUO 活性は、酵素反応液に FAD を 0.2 μM 以上を添加することで最大値を示した。

コロニーPCR でプトレッシンオキシダーゼ遺伝子が確認できた菌株を、50 μg/mL のアンピシリン含有 LB 培地に、植菌して、37℃で、濁度が 0.6 になるまで往復振とう培養した。終濃度 1 mM となるように IPTG を添加して、15℃で 1 日放置して、PUO を発現させた。培養菌体を、遠心分離（4℃、3,000×g、15 分）を行い集菌した。0.1 M リン酸緩衝液（pH 7.0）に懸濁して、氷冷しながら超音波

破砕によって菌を破砕した後、遠心分離（4℃、20,000×g、15 分）を行い、上清を酵素抽出液とした。酵素抽出液の全活性は 3.25 U であり、全タンパク質は 80 mg であった。

酵素抽出液をニッケル担持キレートカラムに通液して、His-tag 融合プトレッシンオキシダーゼを吸着させた。イミダゾール添加緩衝液を通液することで、カラムから溶出させて精製を行った。精製後の全活性は、3.3 U とほとんど失活していないことが確認できた（むしろ活性の妨害物質の除去により活性は向上した）。精製後の全タンパク質は2.75 mg であり、30倍の比活性の向上が見られた。SDS-PAGE によって精製タンパク質を確認した所、約 50,000 の分子質量のタンパク質バンドのみが確認でき、１ステップで精製が行えることが確認できた（図 4）。

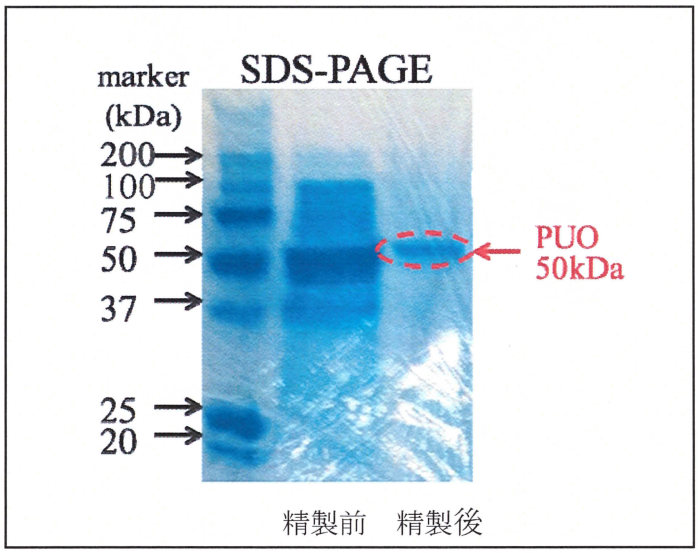


図 4　ニッケル担持キレートカラムによる PUO の精製

（３）本年度の成果のまとめ

①ヒスタミンオキシダーゼは、酵素液に 100 μM の銅イオンを添加することで活性を発現する。

②pCold I-HOD(KAIT-B-007)は、16℃で 6 時間培養することで HOD 活性は最大となる。

③プトレッシンオキシダーゼは、FAD 酵素であり、反応液中に 0.2 μM の FAD を添加する必要がある。

④ヒスタミンオキシダーゼとプトレッシンオキシダーゼの大量発現系が構築できた。

５．今後の計画

プトレッシンオキシダーゼの活性中心をポイントミューテーションにより改変して、FAD を共有結合により固定化するとともに、基質特異性を変化させてカダベリンなどの測定に応用できるか確認する。プトレッシンオキシダーゼは、耐熱性が悪いため、熱安定性を向上させる改変を行う。

これらの酵素を用いて、魚の腐敗検出システムを構築する。測定するシステムとしては，反応で生成する過酸化水素をトリンダー試薬にて検出する吸光光度法，過酸化水素電極で検出する電極法，蛍光を利用する蛍光法，発光法などを用いて高感度検出システムの構築を検討する。

６．研究成果の発表

2013 年電気化学会秋季大会にて発表する。

2013 年日本化学会バイオ関連化学シンポジウムにて発表する。

「次世代センシングデバイスおよび応用システムの研究開発」

―異種材料ボンディング技術による機能センサーモジュール技術の開発―

研究者名：　ホームエレクトロニクス開発学科　黄 啓新

1．研究成果の要約

本研究では、安心・安全な暮らしができる未来の社会や、便利な生活空間や環境にやさしいスマートハウスを実現するために、汎用的なセンサーユニット技術やセンサーモジュール技術を開発することを目的とする。前者は低コストで、スマートフォンやダブレット端末を活用できるユーザーが自由に組み合わせできる複数個センサーを集積するセンサーユニットを実現する。後者、異種薄膜材料ボンディング技術を用いてより小型化や低ことストの特徴を持つ人々の居住環境をモニタータリングできる光・温度・空気の汚れ・音・湿度・降雨量等センサー及び信号処理回路を同一基板上に集積したセンサーモジュール技術を開発する。昨年度、実験室環境整備のため、後者の研究が当初の計画より遅れていたため、今回前者の研究成果を報告する。汎用センサーユニットに関して、以下の成果を上げた。

1）　汎用センサーユニットとユーザーインターフェースを分離したセンシングシステムを提案した。

2）　山登り支援システムを構築するため、GPS センサー、温度センサーや気圧センサー等からなるセンサーユニットや表示等のユーザーインターフェースユニットを実現し、動作確認ができた。

3）　屋内の環境を監視するために、温室度センサー、照度センサーと無線通信モジュールとの接続実験でき、タブレット端末による信号の受信が確認できた。

2．研究経過および結果

2．1　提案したセンサーユニットとユーザーインターフェースを分離したシステム

Fig.1 は提案した新しい汎用性が高いセンサーユニットによるセンシングシステムのイメージである。センサーユニットはセンシングシステムの仕様に応じて、複数センサーからなり、それぞれのユニットには同じカテゴリの複数のセンサーと信号処理回路及び通信部が集積されている。例として、GPS・磁気・気圧・温度センサーの組み合わせで、現在地や簡易天気予報が可能なアウトドア向けの支援システムから、建物内の各部屋における消費電力モニターや照明や気温等の情報を収集し、適正な職場環境などを遠隔操作するシステムまでの構築ができる。本システムの特徴としては、

①　利用者は必要十分なセンサーユニットを用意し、既に所持している汎用情報端末に導入したアプリケーションソフトで、センシングデータを取得・活用すること

ができる。

② 利用者はセンシングしたい対象によって、センサーユニットや制御・表示用のアプリケーションソフトの組み合せだけで、自由なセンシングシステムを構築することができる。

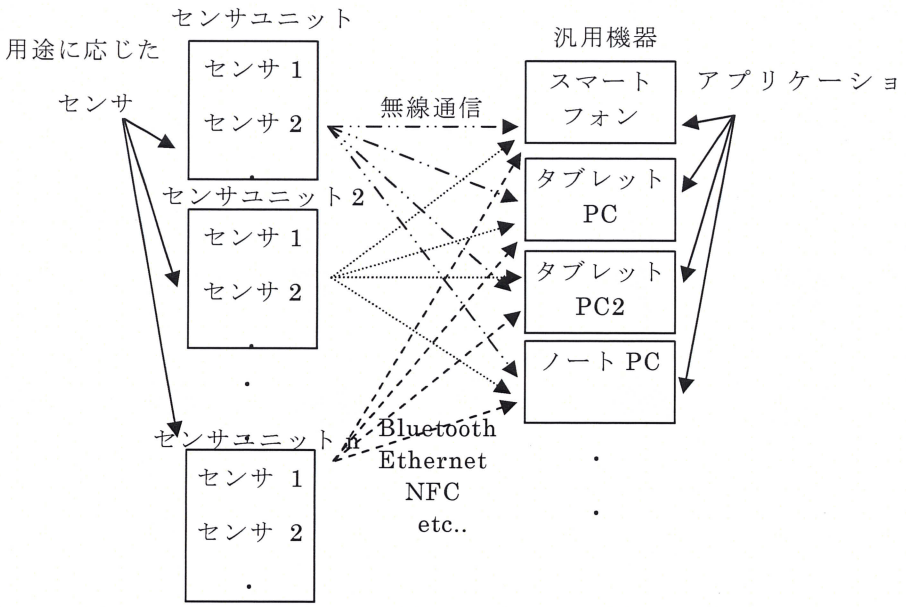


Fig. 1　センサーユニットとUIインターフェースユニットを分離したセンシングシステムの概念図

③ センシング部と表示部が独立し、単独の買い替えも可能、システムの自由度も高くて、全体のコストが低減できる。

2．2　山登り支援システムの構築と動作実験

提案したシステムを実験的に検証するため、山登り支援システムを作製した。近年、中高年を中心とする登山者が年々増加している。同時に、山岳事故の件数も増えて、その中道迷いはトップになっている。専用の山登りナビシステムはプロ並みの性能で、高価なもので、一般の方はなかなか購入できない、使いこなせない。そのため、本提案では、ユーザーが持っているタブレット端末を活用し、単独のセンサーユニットを購入すれば、汎用的な山登り支援システムが実現できる。今回、システムの基本動作を検証するために、すでに通信信号はBluetoothに規格化されたLEGO社のセンサーやNXTコントロールユニット使用した。Fig. 2は構築したシステムの外観である。右側のセンサーユニットでは、GPSセンサーと電子コンパスより、登山者の位置情報、経路等を把握でき、気圧温度センサーはその位置における気圧、温度及び高度を把握す

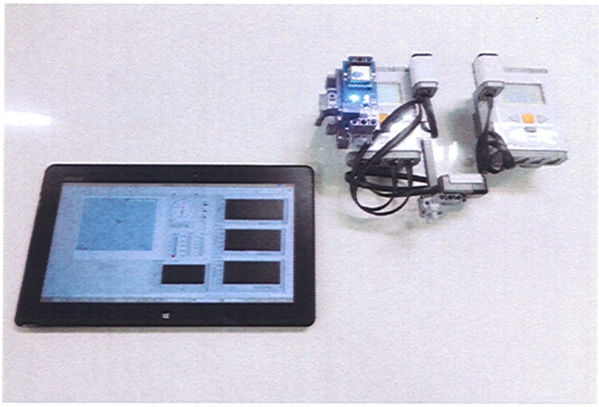


Fig. 2　動作検証用山登り支援システムの外観

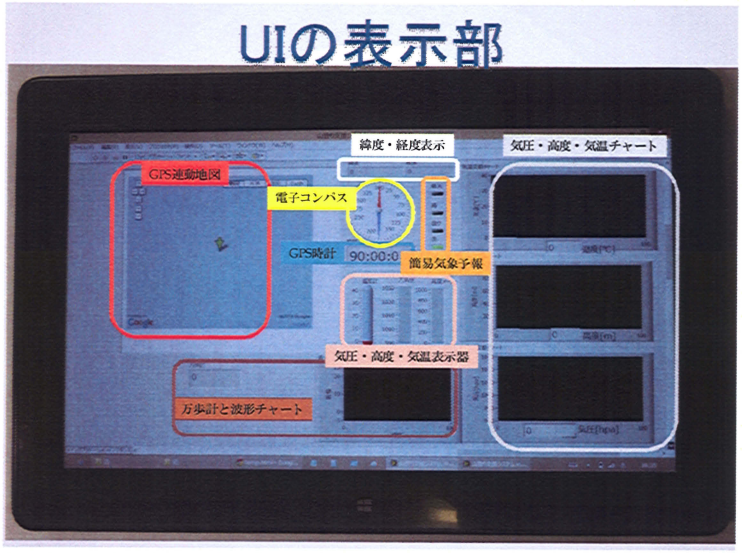


Fig. 3　センサーアレイ用 GaAs パターン

ることができる。センシングデータはまず LabView 信号処理ソフトにより処理加工し、センサーユニットのコントローラに保存する。そして、NXT の制御ソフトで、これらセンサーの情報を 1 秒間隔でパケット化し、ヘッダを付加してペアリングされた Fig. 3 に示したユーザーインターフェースユニットへブロードキャストする形で送信する。そのデータは画面に表示する。また、Bluetooth を持っているアンドロイド携帯電話との信号やり取りも確認できている。

2．3　屋内情報をモニターリングする汎用センサーユニットの構築

室内の温室度、照度や匂い等の情報収集は最適な環境づくり、省エネーに欠かせないことである。そのため、室内の環境情報をを把握するためのセンサーユニットを実現するため、市販された人感センサー、照度センサーや温度センサー使用し、情報端末は ASUS 社の WindowsOS のタブレット PC を使用した。アプリケーションソフトの開発には LabVIEW を用いた。Fig. 3 は実験的に検証するために試作したセンサーユニットである。センサーユニットのメイン基盤に Arduino Softwar 社の Arduino MEGA 2560 を使用した。その他に Ethernet 経由でのセンシングのために、同社の Ethernet Shield を使用し、Bluetooth 経由でのセンシングのために SparkFun Electronics 社の Bluetooth Mate WRL-09358 を使用した。Arduino MEGA 2560 にプログラムを書き込み、Ethernet と Bluetooth 経由でセンシングデータを送信し続け、端末で読み取ることができた。

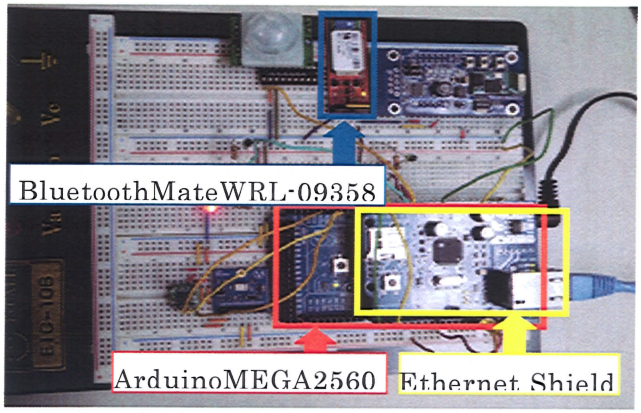


Fig. 4. 試作したセンサーユニット

3．平成 25 年度の計画

平成 25 年に汎用センサーユニットとそのシステムを検討しながら、センサーモジュ

ールの検討も進めていく予定。具体的に

1） 屋内環境情報を関するためにセンサーユニットとタブレット端末による情報収集システムを完成し、実用化するための検討をする。

2） センサーモジュールを実現するための雨センサーの検討及び簡易型の複合機能センサーの作製技術の検討を行う。

論文・国際会議発表

1）森、中島、福代、黄，”センサーユニットとユーザーインターフェースユニットを分離した登山支援システムの構築”, H25電気学会全国大会, 3-115, 2013.3.

次世代センシングデバイスおよび応用システムの研究開発
― 医用画像診断支援システムの高度化に関する研究 ―

研究者名：電気電子情報工学科　武尾 英哉

1．研究の目的

CT，MRI，ディジタルＸ線，超音波診断機などに代表される医療診断機器の高性能化に伴い，一回の撮影で得られる医用画像の毎数は大幅に増大した．例えば，CT 装置では画像あたり 0.5～1mm のスライス精度まで向上し，胸部診断の場合，約５００～１０００枚に及ぶ画像データが収録される．しかしながら，こういった装置の高性能化とは逆に，病変の見落としが心配される．理由は，情報として埋もれている小さな信号（病変を表す情報）を大量の画像情報の中から見落としなく発見（診断）することが難しくなってきているからである．そこで，これら医師の画像診断を支援するコンピュータ支援診断(CAD: Computer Aided Diagnosis)の研究がされている．CAD とは，医用画像をコンピュータを用いて解析し，病変の疑いのある候補を抽出し表示することで，医師の診断をサポートする機能であり，第二の意見（セカンドオピニオン）とも呼ばれる．

ところで，人体における様々な病気を対象として考えている CAD において，現在研究が着手されている領域はまだごく一部にすぎない．一方，最近の CT 装置の進化に伴い，比較的低被爆線量で人体の全身（頭～足のつま先まで）を容易に撮影できるようになった．また，CT 検診車なども登場し，検診で CT が使われるようになってきている．このことから，健常者も含めて全身 CT を撮影し，全身のあらゆる病変を対象とした夢の CAD システムが実現できれば，より早期に病気を見つけることが可能と思われる．そこで本研究では，人工知能による認識技術の高度化を進め，全身 CAD の実現に向けた基礎研究の強化を図る．

2．研究の必要性及び従来の研究

これまで国内外の研究機関では，X 線画像や CT 画像を用いて，乳がん，肺がん，胃がん，肝臓がんなど一部の部位を対象とした CAD が開発されてきたが，これらは人体の疾病（病変）の一部にすぎない．そこで，将来的には全身のあらゆる病変を対象とした CAD システムを開発するために，本研究では，これまで国内外の研究機関ではあまり扱われてなかった以下の部位とモダリティを対象とした CAD の適応領域の拡大を目指す．

（１）CT 画像による心胸部疾患の CAD の基礎技術の確立
（２）細胞画像の CAD の基礎技術の確立
（３）X線画像による転移性がん（骨転移）の CAD の基礎技術の確立
（４）CAD の歯科領域への拡大
（５）CAD システムの FDA・薬事認可のための客観的評価仕組みの確立

そこで，本年度はまずは，上記（１）～（５）のうち，（１）と（２）の CAD の基礎技術の確立と高精度化を目標に研究を進めた．

3．期待される効果

本研究は，医療分野のある単一のモダリティにとどまらず，X 線撮影，CT，MRI，さらには細胞画像（明視野もしくは顕微鏡画像）にまで至っている．また，検診～診断，さらには治療や新薬研究に至るまでの分野にわたっている．このように，CAD の応用領域の拡大化を図っており，医療・医学の発展に大きく寄与している．

なお，本研究を進める上で，市場サイドの声を反映するために，より一層，臨床サイド（医療機関）との連携を強めた．本学に加え，栃木県立がんセンター（黒木医師），国際医療福祉大学病院（縄野医師），（独）国立がん研究センター中央病院（永井臨床放射線技師）と共同研究を進めた．

4．研究の経過及び結果

本研究の特徴は，これまで乳がんを中心に15年間以上研究を進めて築いてきたCAD技術を，広く他部位や他モダリティに展開するとともに，臨床の現場と連携と図りながら実用化（役に立つシステムの開発）を目指していく点にある．研究課題（1）は栃木県立がんセンター，研究課題（2）は(独)国立がん研究センター中央病院および大阪大学と連携を図り，臨床データの収集および臨床評価も進めてきた．そして，その研究成果をCARS2012で海外発表[1], [2]した．現在，さらにこれらの高精度化を図っており[3]，その研究成果を平成25年度中に海外を中心とする学会で発表する予定である（CARS2013や日本医用画像工学会論文誌への投稿を行う計画）．

（1）CT画像による心胸部疾患のCADの基礎技術の確立[1], [4]

近年，心拡大患者は増加傾向にある．心拡大は，心筋の収縮力が低下し，心内腔が拡大して心臓が大きくなる病態である．心拡大は，虚血性心疾患や拡張性心筋症等の終末的な病態で顕著となり，早期の検出が治療において必要となる．従来の単純X線画像を用いた手法は，画像に直接定規を当て心臓と肺の幅の比から病状を判断する手法で，撮影時の状況によって結果に大きな差が出る不正確な診断方法であった．本研究では，CT画像を用いて心臓と肺野の体積抽出を行い，その体積比（心肺ボリューム比と呼ぶ）から心拡大を判定する手法を提案する．3次元データであるCT画像を診断に用いることで，2次元の単純X線画像を用いるときよりも診断の精度が向上するものと期待できる．本研究は，胸部検診においてCTを撮影する場合におけるオプションとしての，心拡大の診断補助を目的としている．

本手法では図1のように1スライスごとに肺，心臓の領域抽出を平面的に行い，各面積を求める．この処理をCT画像のスライス毎に行い，抽出された各臓器の面積を加算することで心臓と肺の体積を計算し，それぞれの体積から比率を求める．

① シード点の決定

シード点とは，臓器抽出を行う際に基準となる点として設定する．この点の座標と画素値を元にラベリング処理や対象臓器の判定を行う．以降のシード点は，抽出した領域から幾何学的図形の重心を求め，その座標を次のスライスのシード点に用いている．脈拍などによって連続したスライスにおいても形状の変化が大きい場合においても重心はほぼ一定であるため，重心を用いることでシード点の大幅なブレを抑制できる．

② 領域抽出

本手法では初めにラベリング処理を行っているが，ラベリング処理を行っただけでは，画像内の穴抜け部分が多く，領域が正しく抽出できていると言えない．よって，円形構造要素を用いたモフォロジー処理の膨張収縮処理（クロージング）により領域の穴埋めを行っている．なお本手法において，肺動脈などの大きい血管等はラベリング処理時に領域から除外している．しかし，クロージングを用いる関係上，細かい血管等は肺領域に含めて抽出を行っている．

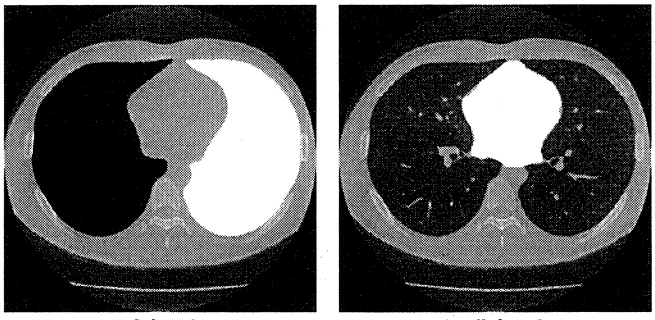
③ 心肺ボリューム比の算出

心臓，両肺の体積共に，各スライスで抽出した各領域の面積（画素数）の総和として計算する．肺野の体積は，左右の肺体積を合計して求める．心肺ボリューム比の算出式を以下に示す．

$$\text{心肺ボリューム比} = \frac{\text{心臓の体積}}{\text{肺野の体積}}\ [\%]$$

上記で示したアルゴリズムを用い健常者のデータ 5 例（A 群），心拡大のデータ 3 例（B 群）の未知データ計 8 例に対して肺領域抽出，心臓領域抽出を行った．その結果をもとに，算出した心肺ボリューム比を表 1 に示す． つぎに，検出性能および質の評価の結果について述べる．心拡大と判断されている症例 3 例を含む未知データ 8 例の画像に適用した．その結果，心拡大患者 3 例において心肺ボリューム比の平均が 32%であるのに対し，他の 5 例での平均が 15%と明確な差異が出るという結果が得られ，この手法による心拡大検出の可能性が示唆できた．

心拡大判定における新手法の提案として，CT 画像から心肺ボリューム比を算出し判定を行う手法を開発した．自動で CT 画像より心肺ボリューム比を算出する処理が開発でき，8 例の未知データを用いた評価実験にてこの手法による心拡大判定の可能性を確認した．



(a)肺領域　　(b)心臓領域

図１．ＣＴスライス画像からの抽出結果

表１．算出した心肺ボリューム比

No	Heart [cm^3]	Lung [cm^3]	Cardiothoracic volumetric ratio [%]
A01	955	4494	21.2
A02	826	5791	12.1
A03	740	5417	13.6
A04	994	5846	16.9
A05	733	5374	13.6
B01	676	2075	32.5
B02	933	3033	30.7
B03	910	2770	32.8

（２）細胞画像の CAD の基礎技術の確立[2]

近年日本では病理医が不足している．一方，早期発見および治療の要請から病理診断の重要性が高まっており，検査の数が増え，病理医の負担は増している．病理検査の現場ではサンプル作成や染色の自動化は進んでいるが，診断の部分は相変わらず医師が顕微鏡をのぞいて細胞を観察するといった目視の判断に頼っている．本研究では検査の効率化と安全性向上のために，領域認識技術による細胞診断の定量化と CAD の有効性を検証をした．疑わしい細胞の数，大きさ，形状特徴を数値化することができ，それが診断に役立つのであれば，検査の客観性を高め，診断ノウハウを蓄積していくことが期待される．

本手法では，通常の細胞診断と同じく，患者からサンプルを採取し，染色を行い顕微鏡撮影した画像を用いる．顕微鏡画像は，領域抽出技術により定量化され（数，大きさ，形状），その数値により，がんの可能性を推定し判定出力する．領域抽出結果は画像表示される．数値，判定，領域抽出画像を医師に見てもらい，医師の判断と比較を行った．

本手法では，まず最初に，サンプルの採取部位と判断したいがんの名称を選択する．この選択により，見つける領域の大きさの範囲，形状特徴，周囲との明るさの差などのパラメータが選択される．

①領域抽出方法

(1)閾値を変え（最大 255 段階）ながら，(2) 2 値化し，(3) 2 値化結果をラベル付けし，(4)各ラベル領域←ラベルが付けられた領域？毎にピクセル数，円形度，周囲との明るさ差を計算し，(5)ピクセル数，円形度，周囲との明るさ差が条件に合致する領域を保持し，(6)閾値が変わるたびにその領域を逐次結合していく．この手法はピクセル数（細胞や核の面積に相当する）を基準とすることにより，

診断に必要な観察対象だけを残すことができ，明るさのばらつきやノイズに強いといった性質を持つ．

②がんの可能性の判定

本実験では，子宮頚部の部位で，扁平上皮癌の有無を調べた，扁平上皮癌の特徴は多々あるが，最も数値化しやすい，核の大きさを判定基準とし，一定サイズ以上のものが一定数以上ある事で，癌の可能性が高いと判断する．判定は，可能性大，疑いあり，疑いなしの３種類である．

③領域抽出結果の表示

細胞，核，核内構成物を想定して領域抽出した結果をわかりやすく画像表示し，疑わしい核の数や領域抽出の状況を医師に確認する．

図２には，本処理を実現させたCADシステムの操作画面と領域抽出結果の一例を示す．

今回は，扁平上皮癌と，異常のないサンプル，癌でない疾病のサンプルを各々３例用意しシステムでの定量化と判定，医師の判断基準，と判定を比較した．さらに領域抽出の画像をみて領域抽出の仕方が正しかったかを聞き取りした．その結果，領域抽出結果に対し，核内構成物や細胞領域の領域抽出の判断は，必ずしも正確ではなかった部分が多かったが，核の領域抽出と大きさの判定においては誤差が少なく，医師の判断とも一致した．９例に関して癌の可能性に関して医師の判断と一致した．

領域抽出の結果が核内構成物や細胞の輪郭の部分で正確でない部分があったが，判定時重要な核の抽出に関して精度が高かったため，診断の支援に役に立つ結果を得ることができ，子宮頚部の癌の診断に関して領域抽出を用いた定量化が効果があることが確認できた．今後，他の部位にも適用していきたい．

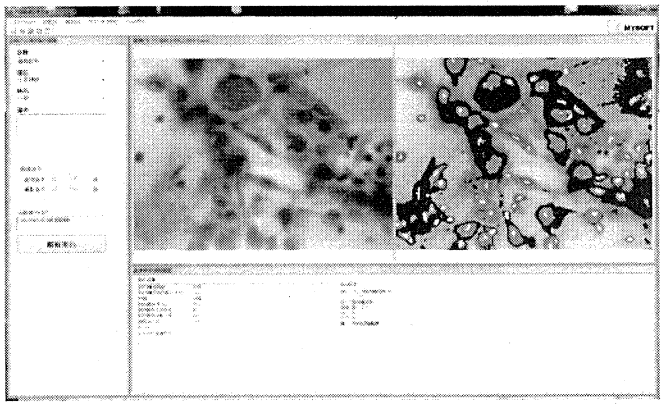


図２．本システムの画面と領域抽出結果

５．今後の計画

今年度の研究成果で得たCAD技術を応用して，来年度はより実用的なシステムまで開発を進め，臨床の現場で評価をいただけるまでレベルを向上させる．本研究の特長は，診断の支援となる付加情報も示すことで医師の診断性能の向上に役立てることである．

６．研究成果の発表

[1] Automation of CT-based measurement of 3-dimensional cardiothoracic volumetric ratio, Computer Assisted Radiology and Surgery 26rd International Congress and Exhibition, CARS2012, pp.S314-S315, 2012 June, Pisa, K. Abe, H. Takeo, Y. Donomae, Y. Kuroki, Y. Nagai

[2] Application of regional extraction technology to pathological image diagnosis and cytoscreening, Computer Assisted Radiology and Surgery 26rd International Congress and Exhibition, CARS2012, pp.S515-S516, 2012 June, Pisa, Y. Donomae, H. Takeo, K. Abe, Y. Nagai

[3] CT画像からの胸水量計測，厚生労働省平成24年度第２回黒木小班会議，(独)国立がん研究センター中央病院，2013年１月25日，安倍和弥，武尾英哉

[4] CT画像からの３次元心肺ボリューム比計測の自動化，厚生労働省平成24年度第１回黒木小班会議，(独)国立がん研究センター中央病院，2012年７月27日，安倍和弥，武尾英哉

炭素系電極材料の電子放出とその微細加工に関する研究

研究者名：　電気電子情報工学科　荒井俊彦

1. 研究成果の要約

本研究は液晶バックライト、照明用ランプ、工業用紫外線ランプの低電圧化を実現するために、ダイヤモンドをベースにした二次電子放出の高い冷陰極の開発を目指している。

そこでダイヤモンドと MgO 薄膜からなる複合電極開発のため、ダイヤモンド電極表面に高アスペクト比の微細針状構造の形成法として、バックスパッタ法を考案した。その後ダイヤモンド表面にスパッタリングにより MgO 粒子のマイクロマスクの形成を検討した。このトップダウンによる方法ではスパッタ時間を制御しても MgO アイランドが生じないため、マイクロマスクの形成は難しいことが示唆された。

一方、MgO 薄膜の形成には Ar/O_2 スパッタガスが用いられている。複合電極の下地となる微細針状に形成したダイモンド面に MgO をコーティングする場合、Ar/O_2 スパッタガスを用いるとダイヤモンドが酸素終端されるとみられる。これを解決するため、酸素以外で二次電子放出率（γ 係数）の高い MgO 薄膜作製についての基礎検討を行った。そして作製した MgO 薄膜の放電評価を行った。次にダイヤモンド薄膜の構造の評価法に光音響法の適用を試みた。

平成 24 年度における研究成果の概要を以下に列記する。

(1) Ar に N_2 を 7%以上添加したスパッタガスで作製した MgO 薄膜の MgO(200)配向面ピーク強度は Ar 単ガスのものより約 2 倍増加した。

(2) Ar に N_2 を 7%以上添加したスパッタガスで作製した MgO 薄膜の γ 係数は Ar 単ガスのものより 2 倍増加した。

(3) 光音響法によりダイヤモンド薄膜の結晶化度分布を示すことができた。

2. 研究経過および結果

2.1 MgO 薄膜の膜質と配向性

図 1 は MgO 薄膜の成膜を行った RF マグネトロンスパッタ装置の概略図を示す。ターゲットには MgO 焼結体（直径 50mm、厚さ 3mm）、基板には石英,Si（共に 10mm 角、厚さ 0.3mm）を用いた。サンプルの成膜条件として RF 電力 100W、ガス圧力 0.5Pa とした。スパッタリングガスは Ar/N_2 混合ガスを使用し、N_2 流量比を 0～100%まで変化させた。全ガス流量は 15sccm 一定とした。薄膜の厚さは、触針式膜厚段差計を用いて測定した。測定した膜厚から成膜レートを算出し、約 3nm/min となった。Si 基板上に 5h 成膜した MgO 薄膜の断面形状は走査型電子顕微鏡（SEM）で観察した。そして石英基板上に 5h 成膜した MgO 薄膜の結晶性評価は X 線回折の強度を X 線回折装置（XRD）により測定した。

図 2 は Ar 単ガスと $Ar/7\%N_2$ で成膜した MgO 薄膜の断面形状の SEM 像と X 線回折強度を

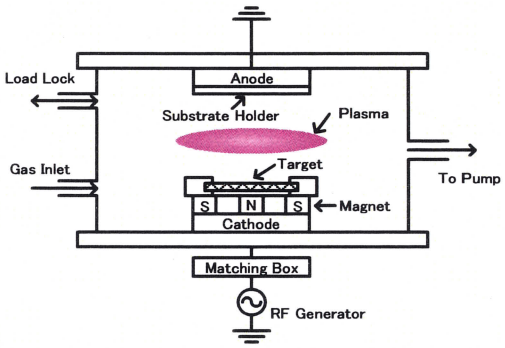


図 1. RF マグネトロンスパッタ装置概略図

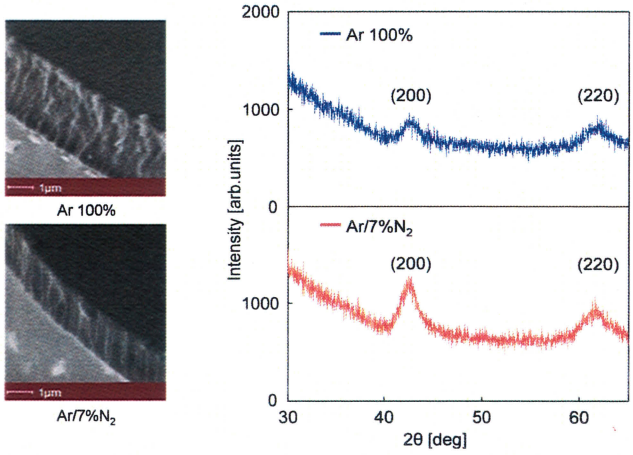


図 2. MgO 薄膜の断面形状の SEM 像と X 線回折強度

を示す。Ar 単ガスで成膜した MgO 薄膜は、不連続な柱状結晶が形成されているのに対して、N_2 ガスを少量添加した MgO 薄膜には、基板界面から明瞭な柱状結晶が形成される。X 線回折による測定で得た MgO(200) 配向面でのピーク強度も約 2 倍増加した。

2.2 MgO 薄膜の放電特性

図 3 は放電開始電圧の測定に用いた装置図を示す。サンプルは、石英基板上に MgO 薄膜を 2h 成膜したものを使用した。スペーサーを用いて電極間距離を 2mm 一定とした。サンプルは対向させて設置した。励起周波数は 1kHz の正弦波を用い、封入ガスは Ne ガスを使用した。今回サンプルとして使用する MgO は誘電体であるため、本実験では、誘電体の壁電荷を考慮した放電開始電圧の測定ができる *V-Q* リサジュー法を用いた。γ 値は、タウンゼントの火花条件式から、測定した放電開始電圧を用い、算出した。

図 4 は測定した放電開始電圧から算出した γ 値と N_2 濃度との関係を示す。一般的にプラズマディスプレイに使用される圧力×電極間距離の *Pd* 値が 8Torr・cm のとき、換算電界 *E/P* は 20 V・cm^{-1}・$Torr^{-1}$ 付近となる。そのときの γ 値は Ar 単ガスによる膜では 0.21、Ar/N_2 混合ガスによる膜では約 0.27 の値が得られた。γ 値は N_2 ガスの添加により、Ar 単ガスのものよりも約 30%増加した。また、N_2 濃度 7%以上で γ 値は飽和する傾向が見られた。

γ 値が増加した理由として MgO(200) 配向面でのピーク強度の増加が影響していると考えられる。

2.3 光音響法によるダイヤモンド薄膜の構造評価

熱フィラメント CVD 法で堆積したダイヤモンド薄膜の構造の評価に光音響法の適用を試みた。

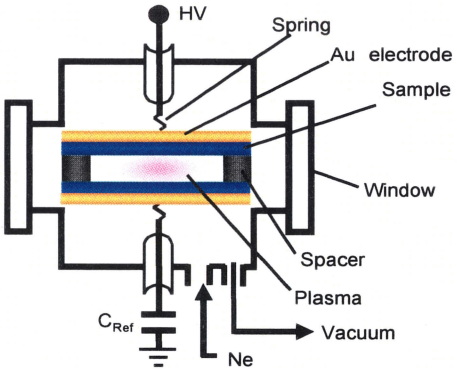


図 3. 放電開始電圧測定装置図

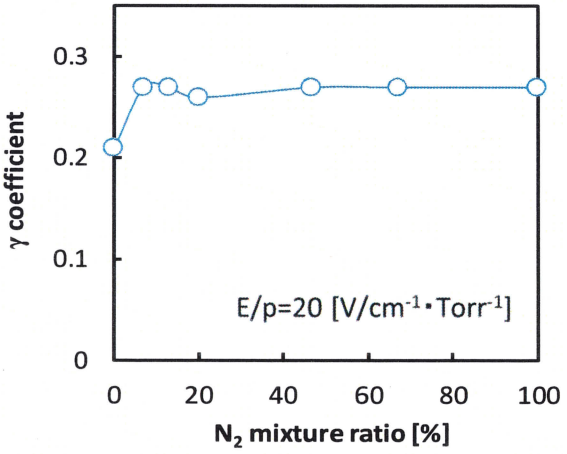
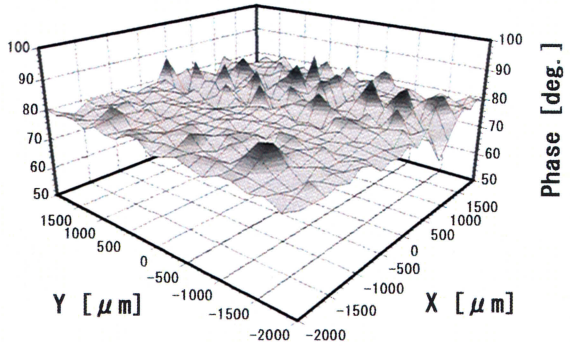


図 4. MgO 薄膜に対する γ 値と N_2 濃度との関係

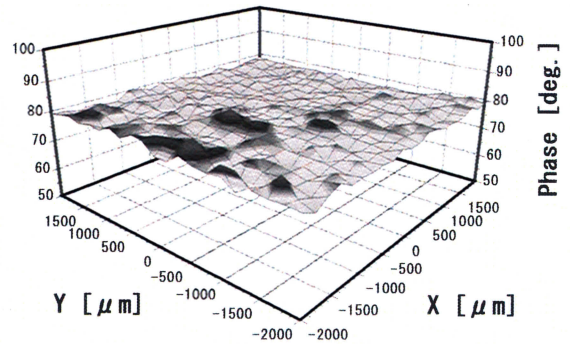
ダイヤモンド薄膜は Si 基板上に堆積させた。原料ガスは CH_4/H_2 を使用した。CH_4 濃度を 1~3%に変化させ、全流量を 300sccm とし、チャンバー内全圧力を 11kPa とした。フィラメント温度を 2000℃、基板温度 650℃とした。成膜は 1h で行った。

光音響法によりダイヤモンド薄膜の結晶性は堆積した薄膜の光の侵入長の違いを光音響信号として測定した。正弦波で強度変調を行なったレーザビームを光音響セル内に封入した試料上に集光した。試料表面に発生する温度波をガスマイクロフォン法により検出し、光音響信号としてロックインアンプを用いて測定した。測定に用いたレーザビームは波長 811nm、出力 100mW、ビーム直径 100μm の半導体レーザを用いた。レーザビームの変調周波数は 2kHz である。

図 5 は CH_4 濃度 1%と 3%で堆積したダイヤモンド薄膜の光音響画像を示す。薄膜表面中心上の 4mm 四方にレーザビームを走査した。CH_4 濃度 1%のとき位相画像は全体に均一でなく、CH_4 濃度 3%のときでは均一となる。CH_4 濃度 1%のときではダイヤモンド領域みられる x 座標マイナス側の半面に平らな部分と、アモルファスカーボンとの混合領域とみられる x 座標プラス側の半面に凸凹が現れる。CH_4 濃度 3%では位相差が現れないため全面がアモルファスカーボン領域を示している。これはラマンスペクトルの測定結果と一致している。



(a) 1% CH_4



(b) 3% CH_4

図 5. CVD ダイヤモンド薄膜の光音響画像

3. 今後の計画

MgO 薄膜の形成には Ar/O_2 スパッタガスが用いられている。複合電極の下地となるダイモンドに MgO をコーティングする場合、Ar/O_2 スパッタガスを用いるとダイヤモンドが酸素終端されるとみられる。これを解決するために，Ar/N_2 スパッタガスが利用できることが可能となった。今後さらに MgO の γ 値向上のために基板加熱による結晶性と放電特性について検討を進める予定である。

4. 研究発表

研究論文

(1) 村上 雅彦，山口 聡，三栖 貴行，後藤 みき，荒井 俊彦「熱フィラメント CVD 法で堆積したダイヤモンド薄膜の構造と二次電子放出」，照明学会誌, 96 巻, 5 号, pp.293-297, 2012.5.

学会発表

(1) T. Misu, T. Higa, M. Goto and T. Arai, "Discharge properties of diamond electrode by reactive ion etching in hydrogen and oxygen plasmas", The 4th International Conference on Microelectronics and Plasma Technology, P016 2012-046, Jeju, Korea, 2012.7.

(2) 中山 玄，三栖 貴行，後藤 みき，荒井 俊彦「マグネトロンスパッタリングで作製した MgO 薄膜の二次電子放出」，平成 24 年度照明学会第 45 回全国大会，1-4, 2012.9.

(3) 比嘉 司，三栖 貴行，後藤 みき，荒井 俊彦「冷陰極放電ランプとしての CVD ダイヤモンドの二次電子放出に関する研究」，平成 24 年度照明学会第 45 回全国大会, 1-5, 2012.9.

(4) 村上 雅彦，山口 聡，高畠 信也，三栖 貴行，後藤 みき，荒井 俊彦「光音響法によるダイヤモンドの二次電子放出に関する研究」，平成 24 年度照明学会第 45 回全国大会, 1-5, 2012.9.

「次世代センシングデバイスおよび応用システムの研究開発」
—Web とセンシング融合による生活支援技術の研究—

研究者名：創造工学部　ホーム・エレクトロニクス学科　　一色正男

１．研究の目的

Web の国際標準化団体 W3C の日本代表（W3C/Keio サイトマネジャー）として、Web 規格策定作業の最前線に居ると、特に、１０年後想定される多くの機器が IP 網内で Web にて情報発信されている「高次な Web ネットワーク生活環境」時代が間違いなく来ると感じる。特にこの、「高次な Web ネットワーク生活環境時代」において、想定されるサービスを先取り研究することで、将来の課題解決に供すべき新技術を検討し提供する。本研究では、皆が検討すべきということを発信することと、実際のサービス可能性を具体的に検討してみることを目指す。また、同時に想定される高齢化社会と高齢者住宅をも想定した場合、Web とセンシング融合によるより豊かな生活を提供できる生活支援技術の研究をすることは大いに期待され価値があるものである。

特に、公知な標準インターフェースで構成された環境（プラットフォーム）でのビジネス構築を研究の基礎に置くことで、従来研究にない、普及普遍的利用可能性を持ったサービス研究を実施していくものである。

２．研究の必要性及び従来の研究

ホーム IT システムは、省エネ推進の一手段として、特に、スマートハウス標準化検討会（経済産業省主催）の HEMS タスクフォース座長などで、HEMS 関係企業と論議しているが、HEMS システムとして最近注目されだした。これは一部機能であり、ネットワーク化された機器が提供できる機能はもっと多くあり、生活者にとって重要な生活支援機能が注目されると想像される。

従来の研究では、独自仕様による機能検討が先行しており、企業を超えた相互接続による普遍的サービスの実現には検討が及んでいなかった。各社独自のプロトコルでの「電力消費状態の見える化」などが研究されてきた。ところが、センサー機器や制御機器が、共通なプロトコル仕様で動作していないため、他社機器やセンサーを接続することが困難な場合が多く、現実社会での普遍的提供が厳しいものであった。

３．期待される効果

本研究では、特にこの機器が「公知で標準なインターフェースを有するネットワーク」で構成された将来型生活シーンに着目し、より高度なサービスが提供する機能や価値を先取りし、生活環境の高度化構造とそのサービスを研究する。共通プラットフォームを基盤としたサービス構築を目指すことで、その中にある課題を明確にして、普遍的利用

への基盤のあるべき姿について研究していく。

将来としては、生活者の高齢化が重要な要素と考えている。ますます６０歳以上の人口が増える日本だからこそ、高齢者に価値を提供できるネットワーク生活環境利用技術の構築を目指すのである。高齢者になると、５感覚が衰える。これらの支援を最終目的とし、ウェアラブル生活支援技術を考える。

４．研究の経過及び結果

★全体計画（経過）：

特に、常時 WiFi ネットワークを介しクラウドサービスと連携する中で、「生活者行動先回り支援指示メガネ」を具体的対象として本研究を進めることにした。例えば、Web センシング機器＋Web センシングサービスの連携で構成されるので、Web 利用の可能性見極めを主眼に、基礎技術確立とサービスの実現手法を検討する。

機器にて Web を使うには、まだ、試作に頼るしかなく、世界中でチップ化を検討している状況である。また、Web の検討でも、新しいインターフェース概念（Web Intents, Web Socket）など、機器チップで Web を使うべく設計しようとしている技術が発生してきている。今回の研究では大きく２つの構成について、５つの技術領域を考える。

[1]Web センシング（支援指示）機器

１、　機器の Web 化対応技術の研究　（HTML5, Web Intents, Web Socket, Web Memory etc）

２、　センシング機器の Web 化の研究（HEMS 連携, ECHONET, DLNA, HTML5）

３、　Web および機器での支援指示機能の研究　（網膜ディスプレー、直観的表示、機能アシスト etc）

[2]Web センシングサービス

１、　Web 上でのサービス構築技術の研究　（HEMS 連携,クラウド連携、MMI 構造）

２、　サービスの構造と内容研究　（高齢者支援、スマート家電、介護ロボット、見守り etc）

上記のうち、1,2 を中心に２４年度は基本構造を検討開始した。

★２４年度検討成果：

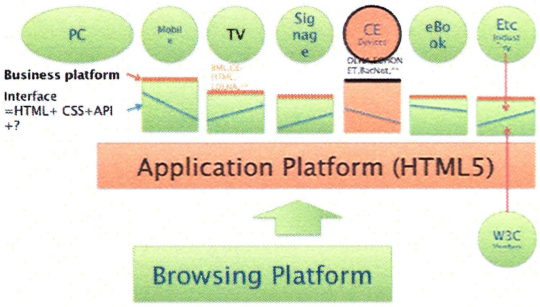
成果１：機器の Web 化対応技術については、W3C での最新規格化提案を調査し、HTLM5 からのプログラミングについて検討した。特に、宅内モビリティ機器を想定した駆動コントロールへの適用を検討した。HEMS 認証支援センターでのテスト環境構築へ適用し公開した。*1)、*2)

成果２：センシング機能の選定と実装検討。

センシング機能実現手法として、既存スマートフォンを利用する手法を選定し、試作実装を検討した。特に、宅内モビリティのコントローラとしての活用を検討する。
同時に、家電機器をセンサとするべく、国際規格 ECHOENT Lite を利用してセンサとしての機能実現を検討し、ECHONET Lite ミドルウェアのマスターソフトを整備した。HEMS 認証支援センター（2013.11.22 公開）にて、順次公開。*3)

成果３：支援指示機能の可能性検討と調査。

図2：Web Application Platformは、
"ビジネスプラットフォーム"へ



指示機能として、当初メガネでの実装を検討したが、まだ、網膜ディスプレーなどは将来技術であることがわかり、当面は、タブレット端末を指示機器とすることとした。

特に、Wｅｂブラウザ上への重畳技術を利用することで、自然な表示ができることが実装検討できた。*4),*5)　本内容を進め、W3C での Open Web Platform 提案の事例になるように、API などを定めて提案していきたい。図２の CE 部分が今後の提案先と考える。*6)

５．　今後の計画

２５年度の計画は、機器単体での試作を実施し、機能確認を実施する。

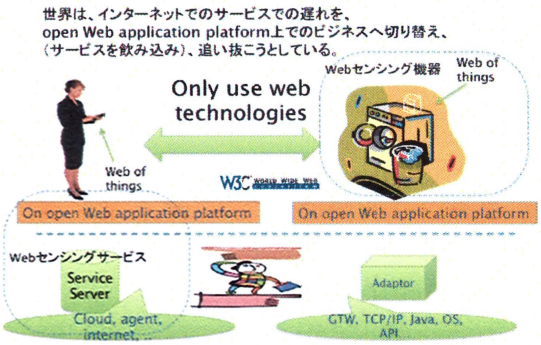
[1]Web センシング（支援指示）機器

１、　機器の Web 化対応技術の研究　（HTML5, etc）：

２、　センシング機器の Web 化の研究（HEMS 連携，ECHONET, DLNA, HTML5 ）特に家電機器 CE－API の検討。

３、　Web および機器での支援指示機能の研究　（タブレット端末、直観的表示、機能アシスト etc）

図3：全てのサービスはWeb Application Platform上へ



目標１：１、２の試作による個別機器機能検証の実施　＜宅内モビリティ機器での実装検討＞

目標２：３の支援指示機能の選定と試作の実施　＜ふわふわリモコンでの実装検討＞

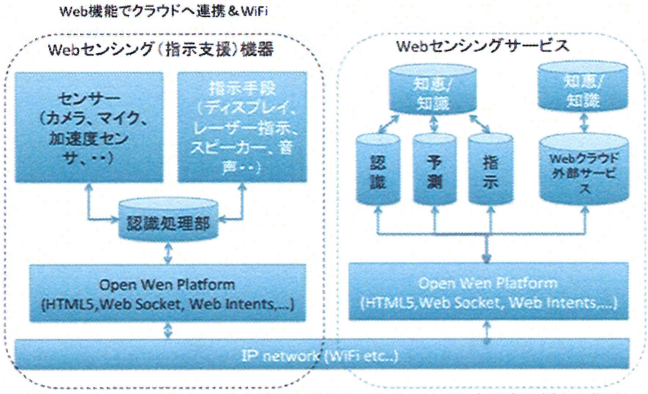
目標３：Web センシングサービスの基本連携設計の実施。＜API 提案の基礎検討＞

本検討は、図３の中で、右側 Web センシング機器部分に相当する。本技術検討は、メガネで検討しているが、基本的には、ＣＥ機器の代表と捉えることもできる。また、同時に、カメラ、マイク、加速度センサ、GPS・・と書くと現在の携帯電話が所有しているセンシング機能とも一致している。このことは、携帯電話をメガネに組み込んだ将来の携帯電話研究とも考えられる。電話以外の用途としての携帯デバイス新機能研究として、Web センシングサービスが提供するサービスは、新生活支援の可能性を示すことを試作にて示したい。

２６年度は、サービスシステム全体での確認による、上記新サービスの可能性を示す。図４へ全体構造を示す。特に、最終年度では、Web センシング機器と Web センシングサービスの統合連携を目指す。

図４で示すように、連携基盤は、Web Platform を活用することで、アプリケーション側で連携可能になるという特性を最大限生かす。(少なくとも、１０年後の未来生活を想定するならば、実用可能性の高い仮定を考える)。研究では、この具体的構造を研究し、実装トライを行い、可能性について知見を得たい。

図4：Webセンシングサービスシステムの構造



リアルな現場で、知識を活用できる情報利用技術を作る。そして、高齢者支援を目指す。

６．　研究成果の発表

２４年度での、関係発表について、下記に示し、参考に一部添付する。

*1)「HEMS 認証支援センタ提供サービスについて」URL: http://sh-center.org/

*2)「Web サーヒ゛スによる HEMS 機器相互接続テスト環境の開発」杉村博、関家 一雄、渡部智樹、一色正男、電気学会論文誌C、Vol.133 No.4, pp.818-819,(2013)

*3) HEMS 認証支援センタ提供 SDK について」URL: http://smarthouse-center.org/

*4) Web 閲覧と連動したアンヒ゛エントな家電操作方式の提案 渡部智樹、青木良輔、小林透、小林稔、一色 正男、情報処理学会論文誌 CDSVol.2、No.2,pp73–80 (July 2012)

*5) 「視聴映像の時間長を考慮した家電制御システム」、渡部智樹，望月理香，杉村博，小林透，一色正男,情報処理学会 CDS 研究発表会，2013/5

*6)「コンシューマが切り拓くディジタル化社会の新しい潮流：1.ソーシャルメディアなどコンシューマ参加型サービスを発展させる標準技術」一色正男，深見嘉明.，情報処理，Vol. 53, No. 10, pp.1014-1020, (2012)

触媒金属/SiC ショットキーバリア接合ダイオードガスセンサの開発

所属学科　電気電子情報工学科　氏名　工藤　嗣友

1．研究の目的

近年、工場、車などから排出される C_xO_y、NO_x、悪臭等のガス規制が高まる中、高度な半導体センサの開発が要求されている。中でも、高温度環境において複数のガス検知、安定動作の信頼性のある半導体を使用する必要がある。そこで本研究では、上記要求を満たすために Si よりも物性値に優れ高温動作可能な材料である SiC に注目し、構造、プロセスともに容易なショットキーダイオード構造を採用したマルチ検知形構造の半導体ガスセンサの開発を目的としている。本構造は、ショットキーバリアダイオードのアノード側に複数の触媒金属を形成したマルチ構造となっており、ガス雰囲気中における電気的特性の違いにより混合ガスの種別の検知に大いに期待が持てる。そこでマルチ検知構造化への可能性を明らかにするために、以下の 3 つに絞って研究を行う。(1)高温環境でもガス検知可能な触媒金属の模索、(2)高温かつガス雰囲気中のショットキー障壁高さの測定と特性解析、(3)1 チップ上でのマルチ検知構造さらにデバイスの高集積化への可能性についてプロセスも含め検討。これらの項目により次世代の半導体ガスセンサの新しい構造の可能性について基礎を確立したい。

2．研究の必要性及び従来の研究

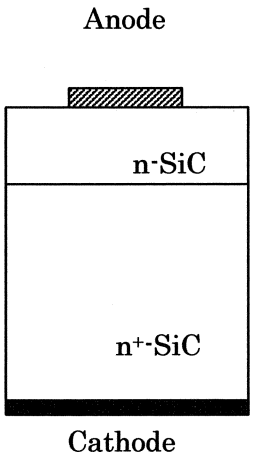


図 1 断面図

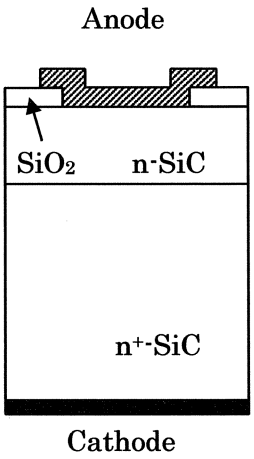


図 2 改良構造

従来 Si 基板を用いたショットキー接合ダイオードセンサは、コスト面で非常に安く従来のプロセスで製作することが出来る。しかし、ショットキーバリアダイオード（以降 SBD）は、順方向電圧降下の低減化のために、センサ側に金属触媒体材料の仕事関数が小さな材料を選択すると、逆方向電流の増加を招き、かつ温度上昇により逆方向電流が増大し熱暴走する問題が有る。図 1 は、簡易型ショットキー接合 4H-SiC ダイオードの断面図を示す。しかしながら、簡易型ダイオードの特性の結果、逆方向リーク電流が大きくダイオードの整流性特性としては好ましくない結果が得た。このリーク電流の改善のために SiO_2 膜を形成する方法でリーク電流の改善を試みた。本研究では、酸化膜を形成する手法が無いため、SiC 用の電気炉を作成し、SiO2 膜の堆積プロセスの確立を行った。

本実験では、Si 系でも採用されている方法と同じ水蒸気を利用した Wet 酸化膜法を用いて厚い酸化膜形成を試みた。図 3 は、製作した SiC 用 Wet 酸化膜用電気炉の図面を示す。電気炉には蒸発した酸素を送り込むため、ボンベから供給された酸素をバブリングさせて電気炉に送り込み堆積させる。バイパス経路を設けて Dry 酸化膜形成も出来るように工夫した。さらに、流量をパルス間隔で供給できるように電磁バルブを採用し、FPGA(Field Programming Gate Array)を用いて電磁バルブをシーケンス的に動作出来るように設計した。

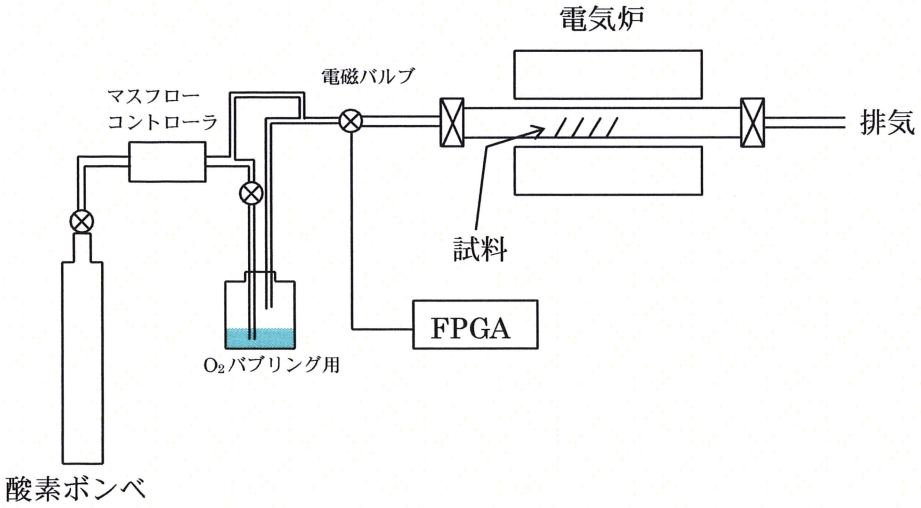


図 3　製作した酸化膜堆積用電気炉

3．期待される効果

執筆者は、これまで加熱した金属触媒材料を用いて接触分解反応の研究を行ってきた。各材料とも反応性ガス中における電気的特性が異なる特性を突き止め、これらの金属触媒体材料を用いた高温用半導体ガスセンサへの可能性を検討してきた。さらに 1 チップ上で複数の金属触媒材料を用いることで、1 度に複数のガス検知にも大きく期待が持てる。本研究では、高温用に適した半導体材料として SiC(Silicon Carbide)に注目し、中でも 4H-SiC は他の SiC 結晶と比較し物性値が優れているので採用した。

本研究では、SiC 基板上に金属触媒体材料を堆積させて簡易的な構造で特性評価を行ってきたが逆方向リーク電流が大きく改善する必要性があった。リーク電流の原因には金属を堆積した後の熱処理工程等の複数が考えられる。本研究では、熱処理温度以外の点で、Si 系デバイスでも採用されてきたコンタクト面以外の部分に SiO_2 膜を形成させリーク電流の改善に大きく改善出来ると期待している。

4．研究の経過及び結果

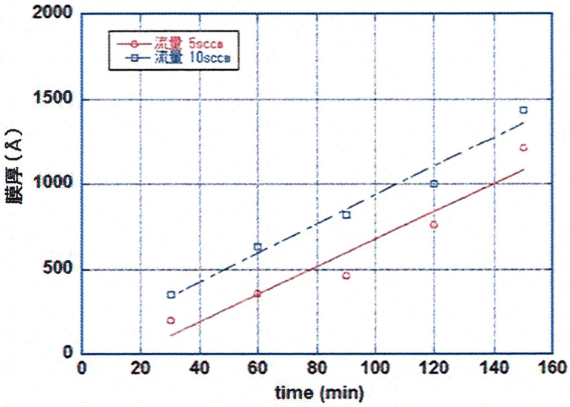


図 4　Wet 酸化膜の膜厚

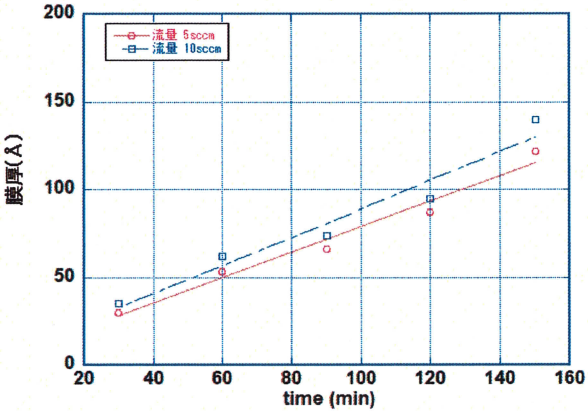


図 5　Dry 酸化膜の膜厚

本研究では、特性改善を目的としているため、始めに図 3 で示す酸化装置を用いて 4H-SiC 基板での酸化膜形成実験を行った。図 4 は、酸素の流量を 5，10sccm、電気炉温度 1100℃で時間を 30～150 分の 30 分ごとにおける酸化膜の堆積結果を示す。最大 150 分まで行い膜厚測定には、段差測定装置を用いた。その結果、10sccm の流量でも約 1500Å程度の厚さしか得られなかった。この原因としては、SiC に SiO_2 膜を形成するとき、高温度において SiC 基板中の炭素 C が表面に表れ SiO_2 膜の形成時における成長を著しく低下させることが知られている。本研究で検討しているデバイスでは、高耐圧化でも十分に絶縁破壊を起こらない膜厚等も考慮する必要があるため、1μm 程度の膜厚が必要である。よって、電気炉の温度の高温化（1200℃以上）、酸素の流量を多く、かつ酸化時間を更に長時間に行う必要がある。

5．今後の計画

本年度は、特性改善に向けて 4H-SiC 構造の検討を行い、ガスセンサ構造に有効である。しかし、SiC を用いたプロセス技術にはまだ解決する部分があるため、以下の項目を今後の計画を進める予定である。

(1) 酸化膜質の電気的評価と XPS による組成分析評価

膜質評価には、MOS 構造の電気的評価で用いられている I-V 特性、C-V 特性による電気的評価を行い検討する。また、膜内、あるいは膜と基板との境界における分析を XPS を用いて分析を行う。

(2) 3 次元構造によるデバイスシミュレーションの動作解析

今年度は 2 次元でのシミュレーションで動作を検討した。今後としては 3 次元シミュレータを導入し奥行きの構造を含む動作検証を行い、更なる高性能な構造を検討する。

(3) SiC プロセスの検討

プロトタイプ構造としてプレーナ型ショットキーバリアダイオードのプロセスを検討する。従来の Si プロセスの流用も可能であるが炭素が含まれるため炭素汚染を防ぐ対応を含むプロセス検討が必要である。異種金属触媒体電極を形成させるためのプロセスの検討も行う。また、熱処理によって金属と SiC 基板の界面に形成されるシリサイドに関するプロセス検討も行う。

(4) マスクパターン設計

ショットキーバリアダイオードの試作にあたり、マスクパターン設計を行う。

(5) SiC ショットキーバリアダイオードの試作

プロセス検討が確立後、酸化膜を堆積した条件での簡易的な SiC ショットキーバリアダイオードを試作し、ガス導入前の諸特性（温度依存性による I-V 特性、スイッチング特性、耐圧）を取り特性評価を行う。

6．研究成果の発表

現在、SiC ショットキーバリアダイオードに関しては、主要学会（応用物理学会）等で発表を予定している。