

戦略的創造研究推進事業 CREST  
研究領域「先進的統合センシング技術」  
研究課題「セキュリティ用途向け超高感度  
匂いセンサシステムの開発」

## 研究終了報告書

研究期間 平成17年10月～平成22年3月

研究代表者: 都甲 潔

(九州大学大学院システム情報科学研究所 主幹教授)

## § 1 研究実施の概要

本研究は、目的分子と選択的に結合する抗体および鋳型分子認識膜を、それぞれ表面プラズモン共鳴 (SPR) センサおよび電気化学センサと組み合わせ、イヌの鼻を超える ppt (parts per trillion) レベルの検出感度を有するセキュリティ用途向け超高感度匂いセンサシステムを開発することを目的として行った。

セキュリティ分野では、爆発物検出の既存装置として現在、据え置き型の X 線型や質量分析型爆発物探知装置が用いられている。また、SPR センサの光学系部分だけであれば、小型のものは開発されているが、アプリケーションを含め、トータルにデザインされたものは存在しない。また、ポータビリティをうたった、本課題とは異なる方式の既存の爆発物探知装置は、感度不足や誤警報が多く、実際の現場では使えないものがほとんどである。

本研究は、関税中央分析所および科学警察研究所の協力関係から得られた知見を元に、主として拭き取り法による爆発物の探知装置の実現を目指した。ターゲットとされやすい空港や駅構内などの公共施設での特定箇所の探知などを想定し、可搬性を重視して約 10 kg の SPR センサの試作を行った。

また、センシング手法については、既存の卓上型 SPR 装置において、TNT に対して間接競合法により検出下限として数 ppt を実現した。より短時間の測定 (数 10 秒) が可能な置換法では、数 100 ppt レベルとなった。

科学警察研究所による知見に基づき、TNT のワイパーによる拭き取り実験を行った。その結果、回収率は 10~30% となり、数十 ppb の溶液が得られた。拭き取り方式のサンプリング方法により、実験室レベルでは、この抽出濃度は数十 ppb と検出下限よりも大幅に高く、指紋に残る微量の TNT を検出可能であることが示唆された。

また、TNT の分解生成物として TNT より高濃度で存在する可能性のある DNT についても間接競合法により 20 ppt という検出下限が得られている。RDX については、モノクローナル抗体が完成し、間接競合 ELISA 法による測定では、サブ ppb の検出下限が得られた。TNT、DNT については、ppt レベルの測定を実現し、RDX についても ELISA の検出下限がサブ ppb であることから、超高感度測定が可能であると予想される。

測定時間の短縮の観点から置換法による測定を試みた。この結果、1 分間の TNT 流通で、検出下限 0.9 ppb を達成することができた。また、TNT 流通 10 秒後のセンサ応答の傾き (微分) を求め、リファレンスの応答との比をとることで、TNT の検出が可能であることがわかった。この時の検出下限は、0.7 ppb となり、十数秒で TNT の検出が可能となった。

また、爆薬マーカーについても、チタニアマトリックスを用いた鋳型薄膜を用いたサイクリックボルタンメトリーにより、0.1 ppm のジメチルジニトロブタン (DMNB) を検出可能にした。さらに、単相カーボンナノチューブと TiO<sub>2</sub> を修飾した電極で電気化学測定を行い、DMNB に対する検出下限は、1.1 ppb と見積もられ、検出感度の向上に成功した。

以上のように、爆薬探知に関する基礎的技術はそろい、22 年 1 月に財務省関税中央分析所に試作装置を持ち込み、実証試験を行った。科学警察研究所からの知見に基づき、爆薬付着状況を作成し、爆薬のサンプリングから検出までを 1 分以内で達成することができた。

また、基本方式である吸い込み法における、気相から液相への TNT の濃縮にも成功し、濃縮管、ヒーター、マスフローコントローラー、ポンプ等から構成されるサンプリング装置の試作も行った。現在、サンプリングに約 8 分を要しており、実用化に向けて、濃縮時間の短縮と濃縮効率の向上を図ると共に、現場における実証試験を繰り返すことが必要である。

## § 2. 研究構想

### (1) 当初の研究構想

武器の密輸やテロの防止のため、公共交通機関等における持ち込み禁止危険物および爆薬を、非接触でその場で物質の同定が可能な匂いセンサシステムを開発する。本申請課題では、主なターゲットをトリニトロトルエン (TNT) やジニトロトルエン (DNT), RDX (Research

and Development Explosive:シクロトリメチレントリニトラミンまたはヘキソゲン) などの爆薬, および ICAO (International Civil Aviation Organization) タガンツ (taggants) と呼ばれる爆薬マーカーであるエチレングリコールジニトレート (EGDN) やジメチルジニトロブタン (DMNB) とし, 超高感度で高選択的に爆発物が検出可能な匂いセンサシステムを構築することを目的とする. なお, ICAO タガンツは高性能爆薬よりも揮発性の高い物質であり, 軍用爆弾などを検出しやすくするため国際条約で混入が義務づけられている. ICAO タガンツは EGDN など数種類あるが, 事実上用いられているのは DMNB のみであるので, タガンツは DMNB のみに絞る.

表面プラズモン共鳴 (SPR) センサおよび電気化学的測定をそれぞれ抗原抗体反応, 鑄型分子認識膜と組み合わせ, 爆薬ならびに爆薬マーカーの双方に対応可能な匂いセンサシステムを開発する. SPR センサおよび電気化学測定法 (サイクリックボルタンメトリー, 表面分極制御法) は高感度トランスデューサならびに検出法であり, また抗体及び鑄型分子認識膜は目的分子と選択的に結合する分子認識部として用いる. 抗体が作製可能な化学物質であれば, その抗体を使用することで, また抗体が作製できない化学物質に対しては分子鑄型法を用いることで, 幅広く様々な化学物質に適応可能である. 開発する探知装置は, 収集部, 濃縮・捕集部, 検出 (SPR, 電気化学的センサ) 部からなり, 空気中に漏れ出る極微量の爆薬を収集し, 検出を行う. 間接競合法と呼ばれる感度増幅技術を用いて超高感度・高選択的検出を実現し, 犬の鼻を超える ppt レベルの感度を実現する.

さらに化学物質に対応した抗体や鑄型分子認識膜を作製することで, 様々な匂い物質の検出が可能になる.

抗体の作製が困難な物質に対しては, 鑄型分子認識膜を適用する. 分子インプリンティング法を用いて, 電極表面に分子構造の型を取り, センサの選択性および感度の向上を図る.

表面プラズモン共鳴センサは, 一種の屈折率計であるが, センサチップ (金薄膜) 上の微量な質量変化を屈折率の変化としてとらえることのできる, 非常に超高感度なトランスデューサである. 金薄膜上に鑄型分子法や抗体で認識膜を作ることで, 微量の化学物質の濃度定量が可能となる.

爆薬である TNT や DNT, RDX に対する抗体を作製し, 分子認識部として用いることで, 爆薬に対して高選択的に検出することが可能となる. また, ICAO タガンツである DMNB に対しては鑄型分子認識膜を作製し, 対応する.

さらに, MEMS (Micro Electro Mechanical System) 技術の適用により, システム全体をポータブルなシステムとする. これにより既存の据え置き型の爆発物検出器とは異なる, 麻薬探知犬や爆発物探知犬が活躍する現場での使用を可能とし, 安全・安心な社会の実現に資するものとなる.

ファーストステップとして, 空港における (据え置き型装置である) X線装置などによる検査 (1次検査) 後の, 2次検査に用いることを想定し, 1分以内の検出を目標として研究を進める. 次のステップでは, さらに感度の向上を目指し, センサ信号の微分値から最終的な濃度を推定し, 10秒以内の検出を目指す. 4年度には, 可搬型の爆発物探知装置の試作に着手し, 最終年度には実証試験を試みる. 本課題終了後2年以内に, 数秒での検出の実現を図る. これは, センサを移動させながら測定を行うことで爆薬の空気中の濃度勾配の把握が可能となることを意味し, 爆発物の位置の特定, すなわち1次検査での使用を可能とするものである.

## (2)新たに追加・修正など変更した研究構想

当初計画では, 爆薬を含んだ空気を吸い込み, 凝縮し, SPR センサを用いた測定を行う計画であったが, 関税中央分析所および科学警察研究所とのディスカッションの結果, 現時点において使い勝手の良さや実現の可能性を考慮し, 拭き取り検査による SPR センサ測定を可能とすることを新たな目標として追加した. H19年度までには, センサ部で1分以内に検出, H21年度までにサンプリングからのトータルで1分以内と設定した. 防衛省の知見から吸い込み法に関する具体的検討項目も定まり, 濃縮管における吸着剤の種類, 吸着時間,

加熱温度、パーミアンドトラップの具体的方法等に関する検討を行い、試作を進めることにした。

拭き取り法による検査は、当初の研究計画にはなかったが、関税中央分析所および科学警察研究所から得られた知見に基づいて、H18年度に実験を試みたものである。その後、研究総括と議論を行い、H19年度に実証試験時のサンプリング方式として採用することに決定した。

SPR センサによる測定では、非特異的吸着と特異的な結合を見分けることができない。現場での測定を考えると、可能な限りセンサ表面への非特異的吸着を抑制する必要がある。非特異吸着を抑制するセンサ表面の周到な検討を行い、その結果、再現性と超高感度を兼ね備えたセンサ表面を作製することができた。

間接競合法は、あらかじめ抗体溶液とターゲット物質の存在する溶液を混合させて、測定を行う。このため、ppt レベルの高感度な測定ができるが、溶液を混合させ、反応させる操作が必要となり、測定時間の短縮に限界がある。そこで、測定時間の短縮を図るため、置換法による測定を試みた。センサ応答の傾き（微分値）を用いることにより、TNT 溶液 10 数秒の測定で検出下限は、0.7 ppb となった。

### § 3 研究実施体制

(○：研究代表者または主たる共同研究者)

#### (1)「九大」グループ

##### ①研究参加者

○	都甲 潔	システム情報科学研究院	主幹教授	17.10～22.3
	松本 清	農学研究院	教授	17.10～22.3
	三浦 則雄	産学連携センター	教授	17.10～22.3
	林 健司	システム情報科学研究院	准教授	17.10～22.3
	松井 利郎	農学研究院	准教授	17.10～22.3
	羽原 正秋	システム情報科学研究院	客員准教授	17.10～22.3
	岩倉 宗弘	システム情報科学研究院	助手	17.10～18.3
	泉 龍介	システム情報科学研究院	特任助手	17.10～18.3
	小野寺 武	システム情報科学研究院	助教	17.10～22.3
	森 陽一	システム情報科学研究院	客員助教	20.4～22.3
	Praveen Singh	システム情報科学研究院	JSPS 特別研究員	17.10～19.9
	Dhesingh Ravi Shankaran	産学連携センター	学術研究員(特任准教授)	17.10～21.3
	川口 俊一	産学連携センター	学術研究員(特任准教授)	18.2～21.10
	中村 順	科学警察研究所爆発研究室	室長・警察庁技官	17.10～22.3
	飯島 武	財務省関税中央分析所	所長	17.10～18.6
	高橋 麻志夫	財務省門司関税	税関長	18.7～20.3
	山岸 一夫	財務省関税中央分析所	主任研究官	20.4～21.7
	水田 完	財務省関税中央分析所. システム情報科学府	研究官/九州大学 D2	18.10～22.3
	岩倉 宗弘	(株)九州計測器	技術部課長	20.4～22.3

##### ②研究項目

- ・セキュリティ用途向け超高感度匂いセンサの開発

(2)「北九州市立大学」グループ

①研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	李 丞祐	北九州市立大学国際環境工学部	准教授	17.10～22.3
	葛西 麻理	北九州市立大学大学院国際環境工学部	テクニカルスタッフ	20.4～21.3
	工藤 義高	北九州市立大学大学院国際環境工学部	テクニカルスタッフ	21.4～22.3

②研究項目

- ・爆薬および爆薬マーカーに対する鋳型分子認識膜の作製

(3)「インセント」グループ

①研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	池崎 秀和	(株)インテリジェントセンサーテクノロジー	代表取締役社長	17.10～19.3
	釘宮 雄一	(株)インテリジェントセンサーテクノロジー 研究開発部 システム開発グループ	プロジェクトマネージャー	17.10～18.6

②研究項目

- ・超高感度匂いセンサシステムの開発設計

## § 4 研究実施内容及び成果

### 4.1 セキュリティ用途向け超高感度匂いセンサの開発(九州大学 都甲グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

##### 「抗体の作製(松本)」

TNT, 2,4-DNT および RDX に対する抗体の作製ならびに間接競合 ELISA 法による性質評価を行った。ポリクローナル抗体については比較的短期間かつ少ない労力で作製することが可能であることから、グループ内への速やかな供給が可能であると判断し作製を行った。一方、モノクローナル抗体は一度ハイブリドーマを樹立すれば、動物を用いることなく細胞培養操作のみによって獲得することが可能である。よって、均一な性質の抗体の安定供給を目的として、ポリクローナル抗体の作製と並行してモノクローナル抗体の作製を進めてきた。以下に述べるように、ポリクローナル抗体の獲得には、ウサギを使用し、モノクローナル抗体の獲得には、ラットを使用した。

##### ・抗 2,4-DNT 抗体の作製

抗 2,4-DNT ポリクローナル抗体については、ウサギ由来抗 DNP-KLH 抗体を作製するとともに、ハプテン密度のより高い免疫原である DNP-KLH-400 を用いてウサギ由来抗 DNP-KLH-400 抗体を作製した。また、抗 2,4-DNT モノクローナル抗体については、従来法である *in vivo* 免疫法他に、*in vitro* 免疫法やラットリンパ節法を用い、より 2,4-DNT に対する親和性の高いモノクローナル抗体の獲得を試みた。

その結果、計 11 株のハイブリドーマを確立するに至った。作製した抗体を用いて間接競合 ELISA 法による 2,4-DNT の測定を行った結果を図 1 に示す。ウサギ由来抗 DNP-KLH-400 抗体を用いた場合、sub-ppb レベルでの 2,4-DNT の検出が可能であったことから、本抗体を SPR センサに応用することで、更なる高感度測定系の構築が可能になると考えられた。

また、ラットリンパ節法により作製したラット由来抗 2,4-DNT モノクローナル抗体は 2,4-DNT に対して特に高い結合性を示した。さらに、本法を用いることで *in vivo* 免疫法や *in vitro* 免疫法よりも短期間で、かつ効率よくハイブリドーマを確立することが可能であった。

これらの結果より、ハイブリドーマの確立における本法の有用性が示されたとともに、以降の実験においてはモノクローナル抗体作製のための第一の手法としてラットリンパ節法を用いることとした。また、ラット由来抗 2,4-DNT モノクローナル抗体の特異性を評価するため、各種爆薬関連化合物について間接競合 ELISA 法により交差反応性を評価した。試験に供した 10 種類の化合物を表 1 に示す。その結果、本抗体は 2,4-DNT に対して最も高い反応性を示し、他の爆薬関連化合物に対しては反応性が概ね低かったことから、ラットリンパ節法による本抗体は 2,4-DNT に対する特異性が高いといえる(表 2)。

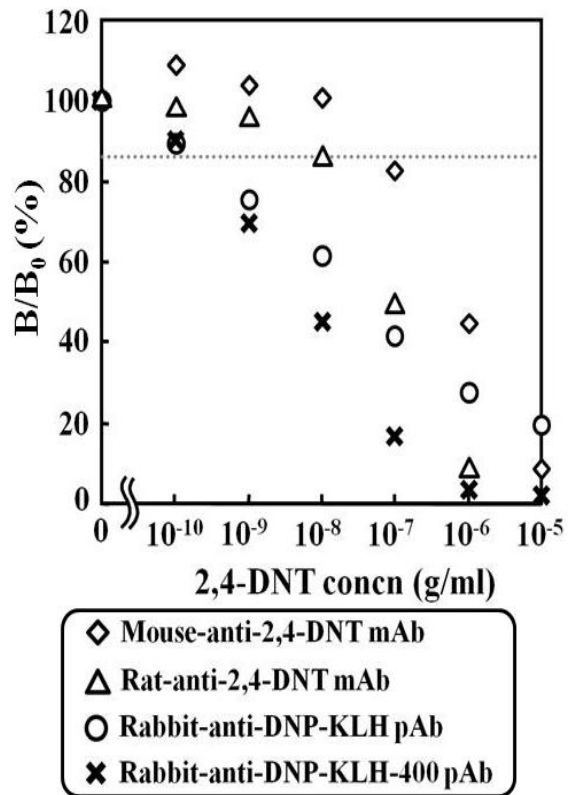


図1 間接競合 ELISA 法による 2,4-DNT の測定結果

表1 交差反応性試験に供した爆薬関連化合物

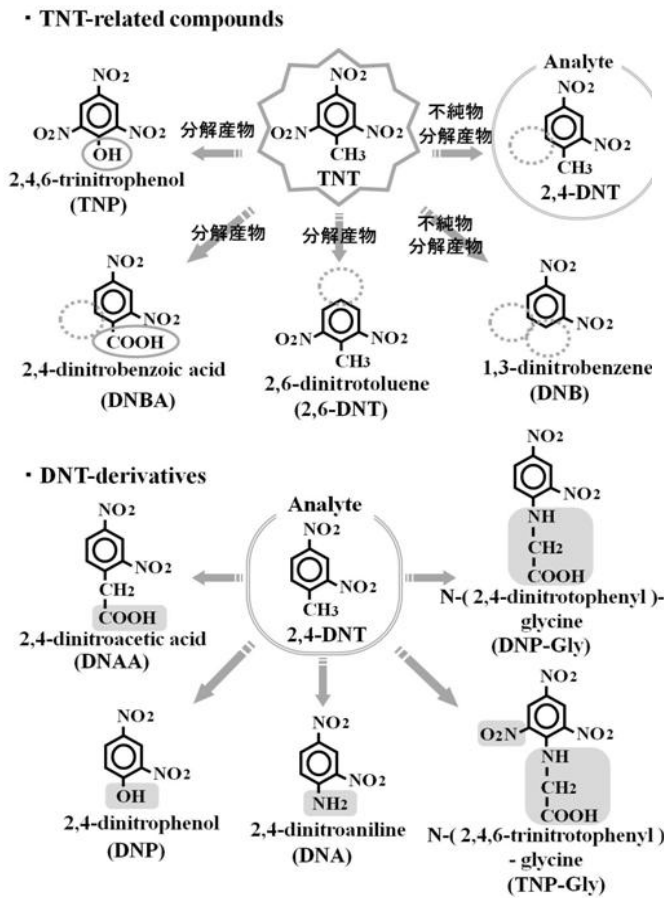


表2 ラット由来抗 2,4-DNT モノクローナル抗体の爆薬関連化合物に対する結合特性

Compounds	IC <sub>50</sub> (M)	C.R.(%) <sup>†</sup>
2,4-DNT	5.00 × 10 <sup>-7</sup>	100
TNP-Gly	1.00 × 10 <sup>-6</sup>	50
DNA	1.30 × 10 <sup>-6</sup>	38.5
DNB	2.30 × 10 <sup>-6</sup>	21.7
TNT	2.40 × 10 <sup>-6</sup>	20.8
2,6-DNT	2.80 × 10 <sup>-6</sup>	17.9
DNP-Gly	4.20 × 10 <sup>-6</sup>	11.9
TNP	8.60 × 10 <sup>-6</sup>	5.8
DNBA	3.20 × 10 <sup>-5</sup>	1.56
DNAA	6.20 × 10 <sup>-5</sup>	0.81
DNP	Not detected	—

<sup>†</sup>: Cross Reactivity  
 = (IC<sub>50</sub> for the 2,4-DNT / IC<sub>50</sub> for the compound tested) × 100

• 2,4-DNT の高感度測定系の構築

作製したウサギ由来抗 DNP-KLH-400 抗体の間接競合 ELISA 法による評価の結果, 2,4-DNT の高感度測定系に向けた応用が可能であると判断されたことから, 本抗体を用いた SPR センサによる測定系の構築を試みた.

ここではハプテンを直接金基板へと修飾し, これをセンサチップとして用いた. まず金基板上に HOOC-EG<sub>6</sub>-alkanethiol (HS(CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>OCH<sub>2</sub>COOH) による自己組織化単分子膜 (SAM) を形成し, 表面にカルボキシル基を導入した. この遊離のカルボキシル基をアミンカップリング法によってさらに修飾した. 模式図を図 2 に示す. すなわち, H<sub>2</sub>N-EG<sub>12</sub>-COOH (H<sub>2</sub>N(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>12</sub>C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>COOH) と ethanolamine の混合溶液を用いて修飾した後, H<sub>2</sub>N-EG<sub>12</sub>-COOH のカルボキシル基にさらに 1,2-diaminoethane を結合させ, 末端構造をアミノ基とした. 最後に 2,4-dinitrobenzoic acid を結合させることによってセンサチップの作製を完了した.

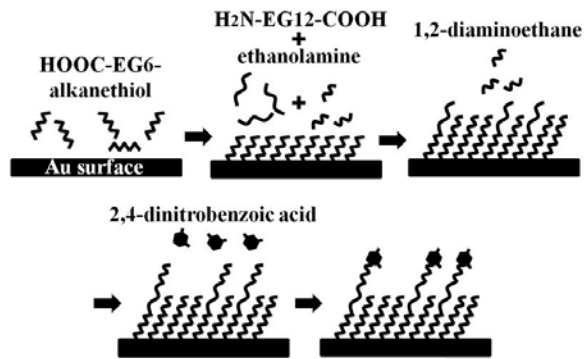


図2 金基板表面修飾の模式図

続いて間接競合法による 2,4-DNT の測定を行った。測定は 20  $\mu\text{g/ml}$  のウサギ由来抗 DNP-KLH-400 ポリクローナル抗体と 2,4-DNT の混合溶液を SPR 測定装置 (ピアコア製) にインジェクションすることで行った。

結果を図 3 に示す。結果より、2,4-DNT の濃度依存的なシグナルの減少が確認され、その検出下限は 20 ppt であった。また、センサチップの再生には 5mM NaOH を用いたが、30 回の測定-再生サイクルを行った後でもベースラインおよびシグナル強度に大きな変動は見られなかったことから、比較的安定なセンサ表面を構築できたと考えている。

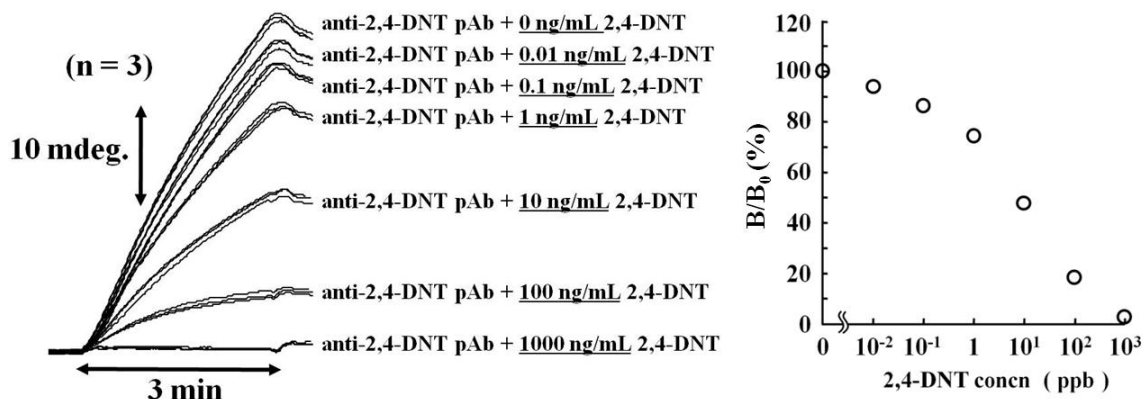


図3 間接競合法による 2,4-DNT の測定結果

### 「間接競合法による測定 (三浦)」

間接競合法による信号および感度の増幅技術に基づいて、抗原抗体反応の最適化を提案、検討した。まず、ガラス基板 (BK7, 20 x 13 x 0.7<sup>t</sup> mm) 上に、約 1 nm の Cr と 50 nm の Au を、順次、スパッタして積層させた。得られた Au 基板を、抗原とタンパク質のコンジュゲート、もしくは抗原を固定化した自己組織化単分子膜で修飾した。この基板を SPR 装置のセンサ素子として爆薬類検知に用いた。測定前に試料溶液中で被検物質と抗体とを反応させるが、試料溶液中に残っている未反応抗体がセンサ表面に固定化した被検物質のタンパク質コンジュゲートと結合する。試料溶液中の被検物質の濃度が増加するにつれて、センサ表面に固定化された被検物質のタンパク質コンジュゲートと結合可能な抗体の数が減少するために、SPR 応答が減少する。作製したイムノ表面の TNT 検出特性評価には、自動溶液導入装置と温度コントローラを付加した SPR 測定装置 (Moritex, SPR-670M) を用いた。また、キャリア溶液としては、リン酸緩衝溶液 (PBS 0.1 M, pH 7.2, 1 vol.% エタノール含有) を用いた。

#### ・抗原抗体反応の最適化

はじめに、TNT 誘導体 (抗原) を固定化したタンパク質コンジュゲートを Au 基板へ物理吸着させたセンサ素子を使って、TNT に対する超高感度検出を検討した。このセンサ素子の利点は、Au 基板へ TNT 誘導体コンジュゲートを短時間、流通させるだけで素子を作製できる簡便さにある。図 4 には、種々のコンジュゲートと抗体とを組み合わせた素子を用いた場合の TNT 検出可能濃度範囲をまとめた。これより、2,4,6-trinitrophenyl-keyhole limpet hemocyanine (TNPh-KLH) ポリクローナル抗体を用いた場合には、高感度な検出下限を示し、コンジュゲートの種類が異なっても、いずれの場合にも目標としていた ppt レベルの検出感度を達成した。特に、コンジュゲートに TNPh-卵白アルブミン (OVA) あるいは TNPh-KLH を用いた場合には数 ppt の超高感度検出が達成できた。



また、この結果から、同じコンジュゲートを固定化したセンサ素子を用いても、用いる抗体によって TNT の検出可能濃度範囲を大きく変化させ得ることが分かった。すなわち、センサ素子表面と抗体の親和性を工夫すれば、爆薬類に対する検出感度を向上させることが可能である。

さらに、TNT の検出に使用したセンサ素子の表面にペプシン-塩酸溶液を2分間流通させるだけで、素子表面を再生し、その後、何度か TNT の検出を行うことができた。これは、ペプシン-塩酸溶液が抗体の-SS-結合を切断して、抗体の構造転換（抗体内部の疎水基と抗体外郭の親水基とが入れ替わる）が生じたために、抗原に対する抗体の結合力が弱まり、結合している抗体のみを素子表面から除去することができたためであると考えられる。

しかしながら、再生溶液であるペプシン-塩酸溶液はセンサ応答の劣化を招いた。繰り返し使用を30回程度行うと、初期感度の約5%の減少が見られた。これは金表面に固定化されているタンパク質コンジュゲートがセンサ素子表面から徐々に洗い流されているためと考えられる。

・自己組織化単分子膜を用いたセンサ素子の改良

上述したように、ペプシン-塩酸溶液のような再生溶液がセンサ特性の劣化をもたらすことがわかったため、素子の再生使用に対する安定性を向上させる方法を検討した。劣化は、コンジュゲートに用いられているタンパク質の金薄膜からはく離に由来すると考えられる。そこで、タンパク質を用いずに、図5の模式図に示すような機能性チオール分子による自己組織化単分子膜（SAM）を用いたセンサ素子の作製を試みた。

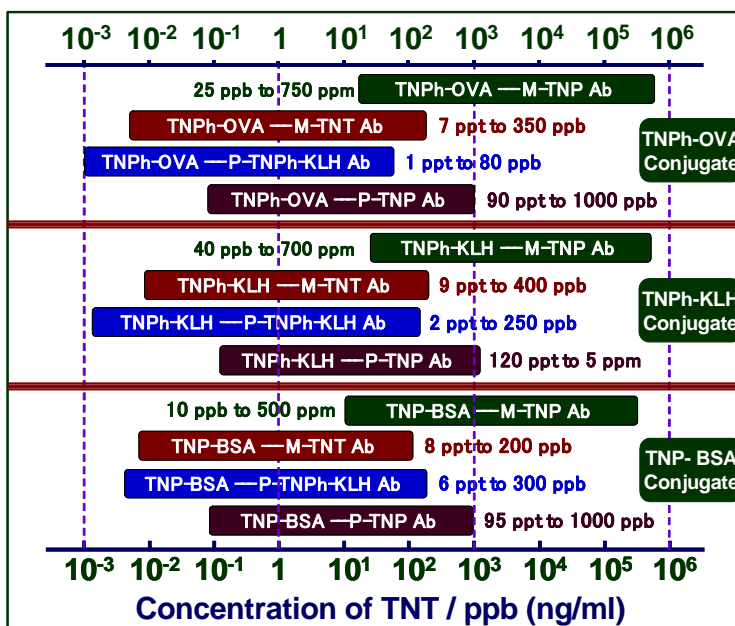


図4 コンジュゲートと抗体との組み合わせを変えた場合の TNT 検出可能範囲: 間接競合の阻害率15%から85%の範囲における直線応答濃度領域



図5 TNT 誘導体固定化チオールの分子構造

機能性チオール自己組織化単分子膜は、末端にチオール基(-SH 基)を有するため、Au 基

板と強固な Au-S 結合を形成する。この機能性チオール分子に含まれるアルキル鎖 (-CH<sub>2</sub>-) は近傍のアルキル鎖同士と分子間力による凝集を起こすため、高い表面密度の機能性チオール単分子膜が Au 基板表面に形成される。次に、機能性チオール分子へポリエチレングリコール鎖を組み込むことによって、タンパク質や被検物質の非特異吸着を抑制することを試みた。すなわち、チオール分子の機能部位へ TNT 誘導体の TNPh-β-alanine をアミドカップリング反応によって固定化することにより、TNT 抗体を選択的に認識する生体物質認識センサ素子を作製した。

図6には、このようにして得たセンサ素子の繰り返し使用に

対する安定性試験の結果を示した。この場合、10 ppm TNT モノクローナル抗体をセンサ素子へ流通させた時の表面プラズモン共鳴角変化量（センサの応答変化量）を、ペプシン-塩酸溶液を使って再生した回数に対してプロットしている。これより、ペプシン-塩酸溶液を使ってセンサ表面を 100 回繰り返して再生しても、センサ応答の変化量は全く減少しないことがわかる。また、TNT モノクローナル抗体を含む試料溶液から PBS 緩衝溶液へ流通溶液を切り替えても、信号の減衰は見られなかった。これは、機能性チオール分子へ組み込んだポリエチレングリコール鎖が、未反応の TNT モノクローナル抗体や被検物質である TNT などの非特異吸着を効果的に阻害することができたために、素子表面の TNT 誘導体と TNT モノクローナル抗体のみを選択的に反応させることができたためである。ただし、この場合、検出可能濃度範囲は 8 ppt~30 ppb と目標を達成してはいるが、最大応答変化量が 27 ミリ度と小さいため、実験誤差がやや大きいという問題が残った。

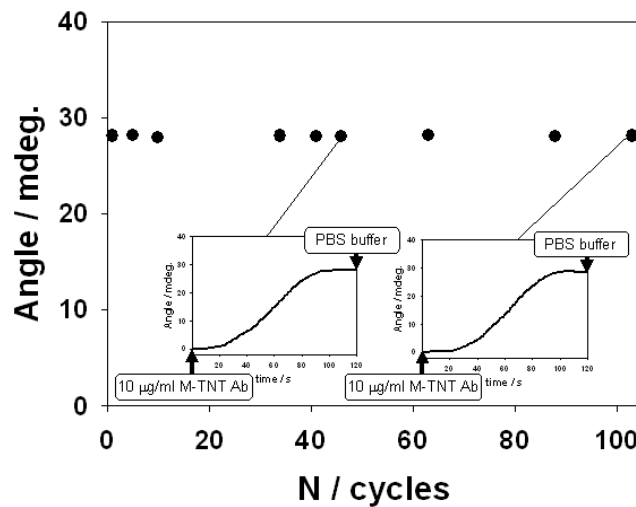


図6 自己組織化単分子層を用いたセンサ素子の繰り返し使用の安定性: 10 ppm TNT 抗体を反応させた時の共鳴角変化量の推移

### 「拭き取り法による SPR 計測システムの開発（小野寺）」

表面プラズモン共鳴センサは既に市販されているが、研究用の据え置き型が中心である。SPR センサを MEMS 技術の導入により、フロー部のマイクロ化を図り、システムの小型化を行う。試作した装置の改良ポイントを洗い出し、ハードウェア、ソフトウェアともに改良、バージョンアップを施す。また、現場における運用方法を検討する。

TNT をワイパーで拭き取って採取し、附着したサンプルを緩衝液に溶かし、SPR センサによる測定を可能とする。税関での使用を念頭におき、試作する匂いセンサシステムの計測にかかるトータルタイムは 1 分以内、感度は 1ppb とする。

#### ・装置の試作

当初計画では、爆薬を含んだ空気を吸い込み、凝縮し、SPR センサを用いた測定を行う計画であったが、関税中央分析所および科学警察研究所とのディスカッションの結果、現時点において使い勝手の良さや実現の可能性を考慮し、拭き取り検査による SPR センサ測定を可能とすることを新たな目標として設定し直した。H19 年度までには、センサ部で 1 分以内に検出、H21 年度までにサンプリングからのトータルで 1 分以内と設定した。

H18年度には、爆薬探知の必要とされる現場で測定が可能な、ポータブルタイプの表面プラズモン共鳴センサの開発を行った。図7にその外観を示す。また、図8に上部を示す。シリンジポンプ、5ポートバルブを備えている。ノートPCで制御可能で、9.5 kg程度である。外装など規格品の組み合わせであるため、大きさ、重量とやや大きいだが、軽量化は可能である。また、検出は5チャンネル測定に対応しており、専用のセンサチップ、フローセルを作製した。

H19年度には、作製した試作装置の改良を行った。図9にその外観を示す。5ポートの電磁弁をフローセルの後ろに配置することにより、電磁弁のコイルの発熱の影響を排除することができた。また、計測制御ソフトウェアの改良を行った。

ショ糖溶液を用いて、共鳴角度変化を既存の卓上形 SPR 装置および本試作装置により、測定を行った。その結果、濃度に対する感度は、既存の卓上 SPR 装置と遜色ない結果が得られた(図10)。ベースのノイズについては、現時点では若干劣るが、ソフトウェアの改良により、改善できると考えられる。H20年度中にソフトウェアのデータ測定のアロリズムを見直し、バージョンアップを行い、ベースノイズの低減を行った。

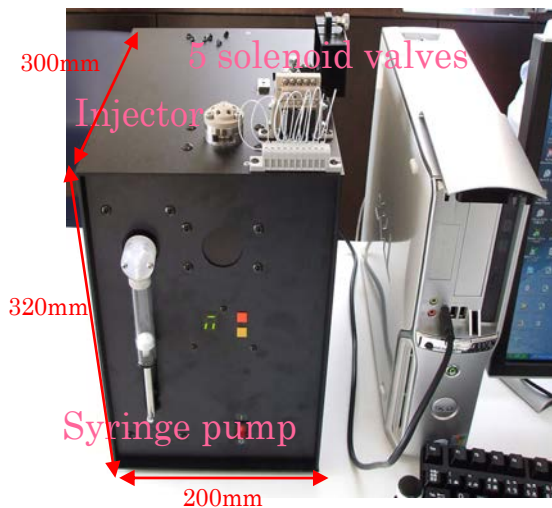


図7 H18年度試作 SPR センサ

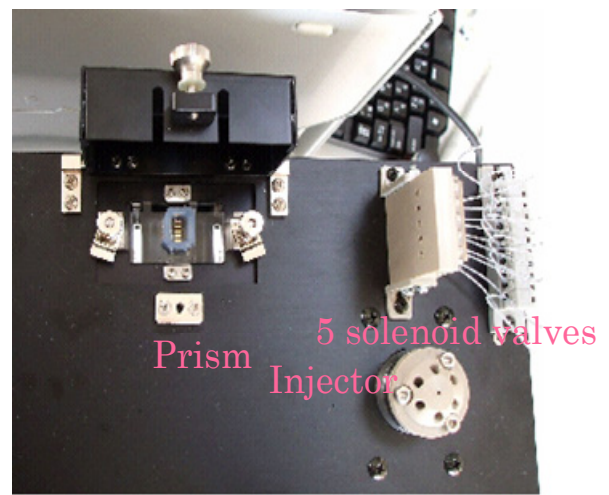


図8 試作 SPR センサシステム(上面)

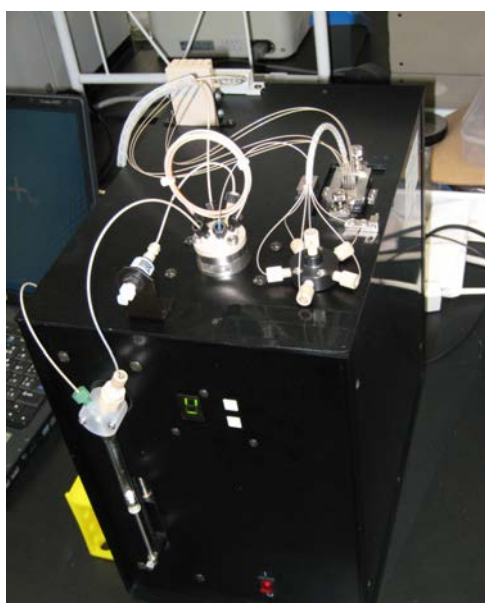


図9 H19年度改良版 SPR センサシステム

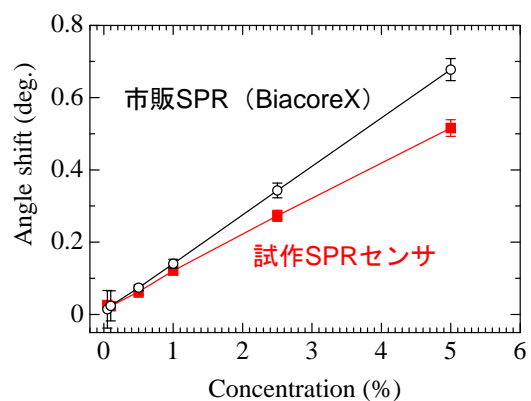


図10 ショ糖溶液に対する共鳴角変化

H21 年度には、これまでの装置を大幅に小型軽量化するための仕様の検討を行った。まず試料の蓄積と注入のための流路とその流れを制御するエアバルブを一体化した部品を PDMS で作製した。Si ウェハ上にフォトリソグラフィによりレジストパターンを作成し、これを型として PDMS のモールドイングを行った。流路と 2 つの試料蓄積部をもつ PDMS と、エアバルブをもつ PDMS を作製した。エアバルブはレジストモールドで型取りした後、スピコートで作製した薄膜 PDMS と酸素プラズマにより接着して作製した。これら 2 枚の PDMS を内向きに重ね合わせ、アクリル板で押さえて一体化した。図 11 にモールドイングに使用したマスクパターンを示す。また、図 12 に作製した部品を示す。

試料の流れの制御は、エアポンプと電磁弁の開閉による空気圧制御でエアバルブを開閉することで行うこととした。また、バッファ送液用のシリンジポンプを小型（約 110g）のマイクロニューラギアポンプに変更した。ポンプ変更後の装置でショ糖に対する共鳴角度変化を測定したところ、変更前と遜色ない測定ができた。

これらの変更点を組み込み、2 次試作器を作製した。その外観を図 13 に示す。流路・バルブ部のチューブ類の接続に改善の余地があるものの、動作そのものには問題はない。今後製品化に向けて、さらに改善を図っていく。

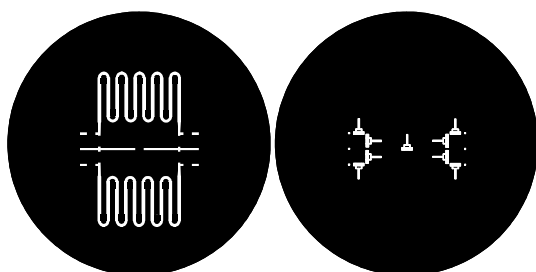


図 11 流路とバルブのマスクパターン



図 12 流路・バルブ部

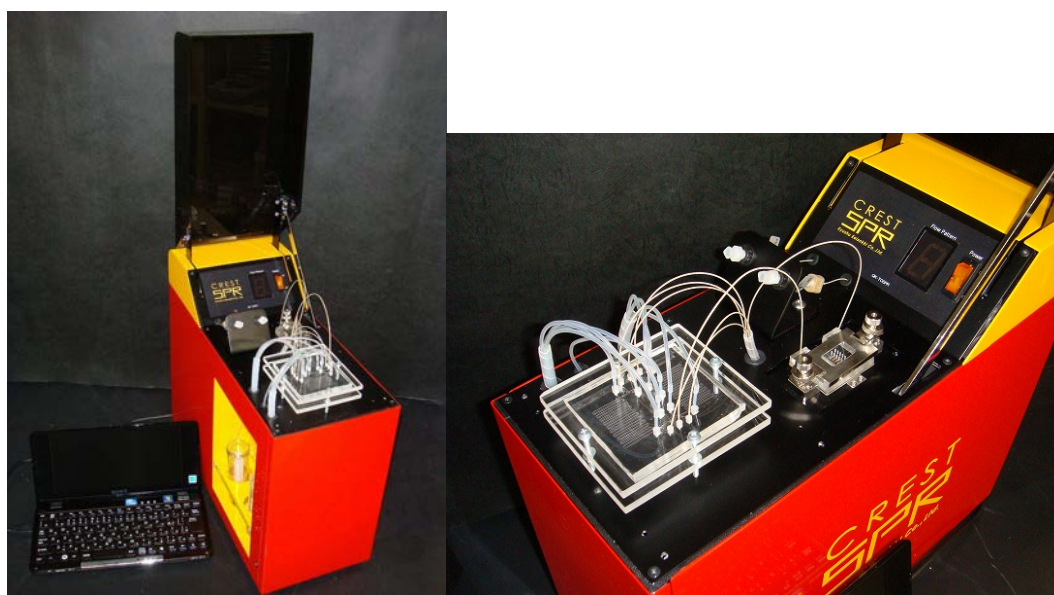


図 13 2次試作器(H21 年度)

#### ・非特異吸着を抑制するセンサ表面の検討

「自己組織化単分子膜を用いたセンサ素子の改良」の箇所で説明したとおり、コンジュゲートの代わりに自己組織化単分子膜を用いることで、センサ素子の劣化を防ぐことがで

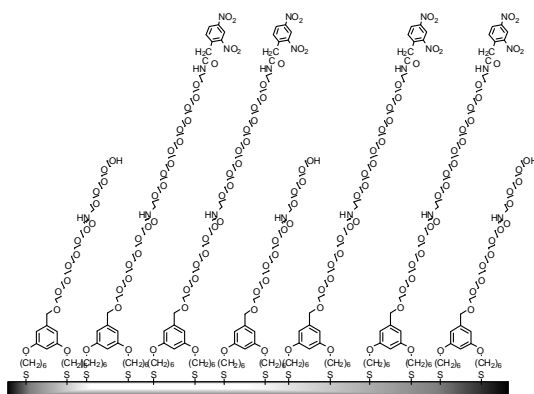


図 14 作製したセンサチップの模式図

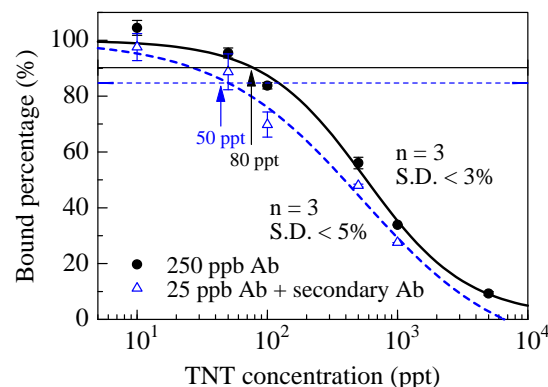


図 15 間接競合法による TNT に対する応答特性

きた。

ところで、SPR センサによる測定では、非特異的吸着と特異的な結合を見分けることができない。現場での測定を考えると、可能な限りセンサ表面への非特異的吸着を抑制する必要がある。50 nm 膜厚の金薄膜上に 1 分子中にエチレングリコール (EG) 基を 6 つ有するカルボキシル基末端の芳香族ジチオール試薬 (PEG6-COOH aromatic dialkanethiol) により自己組織化単分子膜 (SAM) を形成させ、TNT 類似化合物 (ハプテン) であるジニトロフェニル酢酸を、EG 基を 1 分子中に 11 個有する Mono-N-t-boc-amido-dPEG11-amine を介して固定化した。末端がヒドロキシル基の PEG 化合物は、タンパク質の非特異吸着抑制効果が最も優れているため、SAM に結合させる PEG リンカー溶液は、Mono-N-t-boc-amido-dPEG11-amine と Amino-dPEG4-alcohol を 4:1 の比率で混合したものを用いた。これは、「自己組織化単分子膜を用いたセンサ素子の改良」で作製した TNT 類似化合物のみを固定したチップとは異なり、ヒドロキシル基と TNT 類似化合物を混合し固定化したものである。

作製したセンサチップの模式図を図 14 に示す (特許出願)。作製したチップ表面はタンパク質の非特異吸着をほぼ完全に抑制できたため、二次抗体を用いた増幅に用いることができる。

測定溶液中の抗体濃度が 250 ng/ml (250 ppb) または 25 ng/ml (25 ppb) の場合について、それぞれ間接競合法により測定を行い、検量線を作成した。測定は抗体と TNT をあらかじめ 15 分間反応させた後に行った。抗体はマウス由来の抗 TNT モノクローナル抗体 (Strategic Biosolutions 製) を用いた。SPR センサはビアコア製を用い、流量 60  $\mu$ l/min で試料溶液を 5 分間添加した。抗体濃度が 25 ppb の場合は、得られるシグナルが非常に小さいため、試料溶液を 5 分間添加後、続けて 100 ppm の 2 次抗体 (抗マウス IgG 抗体) 溶液を 5 分間添加し、シグナルを増幅した。図 15 に得られた検量線を示す。抗体濃度が 250 ng/ml (250 ppb) の場合の検出下限は 80 ppt (90% 結合率, 3SD に相当) であった。また、25 ng/ml (25 ppb) 濃度の抗体を用い、二次抗体でシグナルを増幅した場合の検出下限は 50 ppt (85% 結合率, 3SD に相当) に向上した。

#### ・置換法による TNT, DNT の測定

間接競合法は、あらかじめ抗体溶液とターゲット物質の存在する溶液を混合させて、測定を行う。このため、高感度に測定できるが、溶液を混合させ、反応させる操作が必要となり、測定時間の短縮に限界がある。そこで、測定時間の短縮を図るため、置換法による測定を試みた。50 nm 膜厚の金薄膜上に 1 分子中にエチレングリコール (EG) 基を 6 つ有するカルボキシル基末端の芳香族ジチオール試薬 (PEG6-COOH aromatic dialkanethiol) により自己組織化単分子膜 (SAM) を形成させ、TNT 類似化合物 (ハプテン) であるジニトロフェニルグリシンを固定化した。置換法は、間接競合法と異なり、抗体とターゲット物質の

存在する溶液を別々に流す方法である。先に抗体をセンサ表面の類似物質に結合させ、次にサンプル溶液を流す。この時、サンプル溶液の濃度が高いほど、抗体の解離が促進される。

SPR センサはピアコア製を用い、25 ppm の抗 TNT モノクローナル抗体を 10  $\mu\text{l}/\text{min}$  で 1 分間流通し、流通後 30 秒経過の後、0.01~100 ppb TNT 溶液を流通した。TNT 流通前後 10 秒の点での共鳴角変化を記録した。図 16 に置換法による測定例を示す。TNT 濃度が高くなるにつれて、TNT 流通時の共鳴角変化の減少が大きくなるのがわかる。3 枚のチップを作

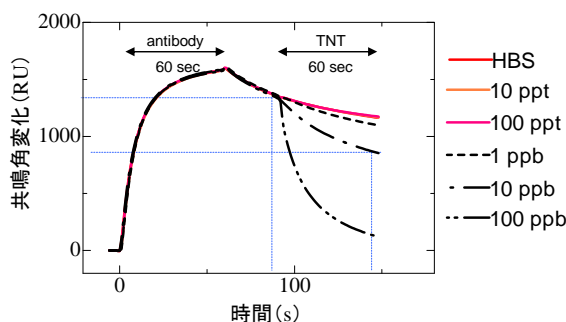


図 16 置換法による TNT 測定例

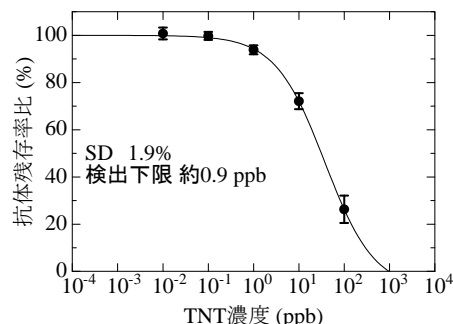


図 17 置換法による TNT に対する応答特性

成し、各 3 回ずつ、合計 9 回の測定を行い、抗体残存率比を算出し、検量線を作成した。

図 17 にその検量線を示す。100 ppt TNT 流通時のエラーバーの 3 倍を考慮し、検出下限は約 0.9 ppb となった。なお、3 枚のチップの 1 枚においては、検出下限が約 0.4 ppb であった。以上より、TNT 溶液の流通時間 1 分間でサブ ppb レベルの感度を達成できた。

また、TNT 測定開始後、10 秒地点のセンサ応答の傾き（応答速度）を求め、リファレンスとの比をとり、検量線を作成した。その結果、0.7 ppb の検出下限となった（図 18）。つまり、センサ応答の傾きを利用することで、迅速な測定を可能とした。

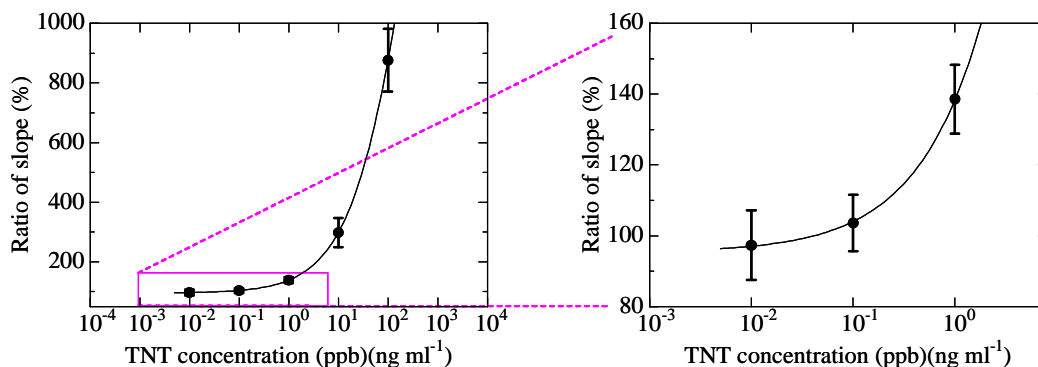


図 18 置換法の傾き検出による TNT に対する応答特性

同様の実験を 1 次試作装置により行い、検証した（図 19）。その結果、図 20 からわかるように、検出下限として約 2 ppb という満足すべき感度を得た。

また、抗 DNT モノクローナル抗体を用い、3,5-ジニトロ安息香酸を固定化した表面で、置換法により、DNT の測定を行った。その結果、検出下限は約 540 ppb となった（図 21）。地雷の場合、DNT は TNT の分解物として、TNT より高い濃度で付近に存在している。爆発物については、そのような知見が得られていないため、今後、現場における検証を続けて明らかにしていく。

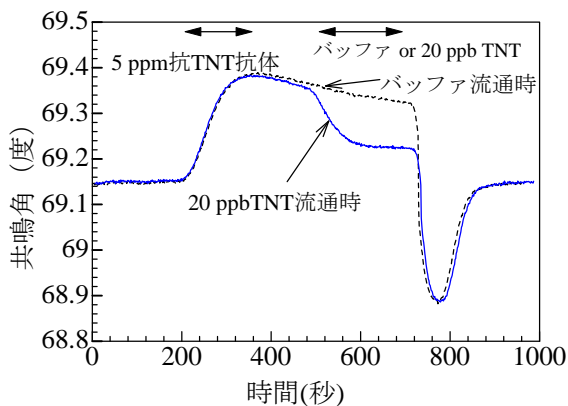


図 19 1次試作器における置換法による TNT 測定例

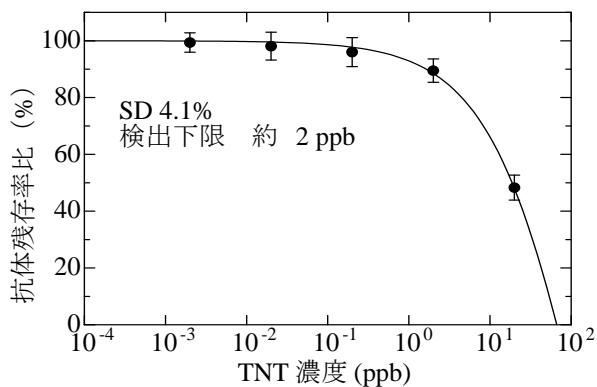


図 20 1次試作器における置換法による TNT に対する応答特性

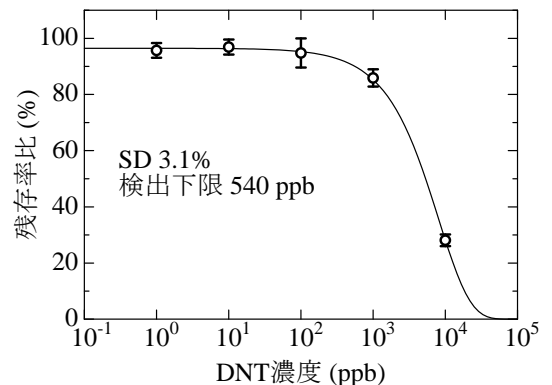


図 21 1次試作器における置換法による DNT に対する応答特性

#### ・ 実証実験

H22年1月25日～27日にかけて、財務省関税中央分析所に1次試作装置2セットを持ち込み、模擬拭き取り実験、実サンプルの測定および妨害物質の測定を行った。

科学警察研究所の知見に基づき、ペリカンボックス(プラスチックケース)に既知濃度の TNT, DNT 標準液を垂らし、溶媒を揮発させ、爆薬付着状況を作成した。TNT については、市販のモノクローナル抗体、DNT については、当研究グループで作製のモノクローナル抗体を用いた。センサチップは、TNT および DNT 測定ともに DNP-グリシン表面のものを用いた。コットンシーガルにより拭き取り、PBS により抽出を行い、フィルタで濾過した後、1次試作装置で測定を行った。その結果、想定される TNT200 ng の拭き取りでは、問題なく検出することができた。DNT については、知見が得られていなかったが、2 μg までは十分に検出することが可能であった。

次に、1分以内での検出が可能であるか、TNT を対象として試みた。事前に判定閾値をソフトウェアに設定した。実験の様子を図 22 に示す。拭き取り、抽出を行い(1)、サンプルをインジェクション(2)、判定画面を表示(3)、緑から赤に変わり「検出」の判定された(4)。1分以内で、TNT の拭き取りによる検出が可能であることを実証できた。

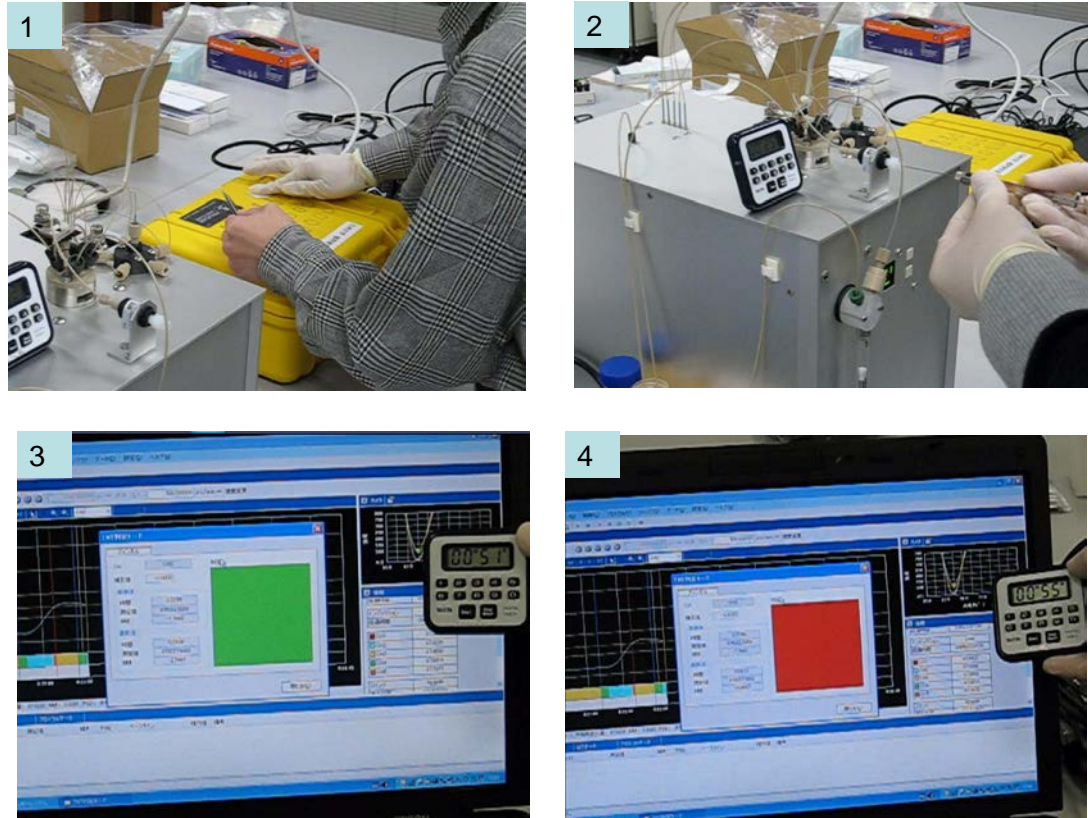


図 22 実証実験の様子. 1:拭き取りから抽出(25 秒) 2:インジェクション(35 秒)  
3:判定モード開始(40 秒) 4:検出(55 秒)

### 「吸い込み法による SPR 計測システムの開発 (サンプリング方法の確立) (小野寺)」

空気中の爆薬成分を収集し、溶液化し、SPR センサによる測定を可能とする方法を確立する。通常、吸着剤やヒーターを用いるシステムは、配管系全体のクリーニングに時間を必要とするか、配管全体をその都度交換する必要があり、コストがかかる。そこで図 23 に示すサンプリングシステムを構築した。

吸着剤として Tenax-TA を用いているが、吸引と追い出しに用いるポンプを切り換えることで、流路内への吸着を極力抑えるシステムとした。爆薬蒸気を吸引し、吸着剤に捕集する。次に吸着剤をヒーターで加熱し、脱離させポンプにより追い出す。追い出した爆薬を冷却器上の容器に再凝集し、バッファに溶解する。図 24 が原理検証用のサンプリングシステムである。

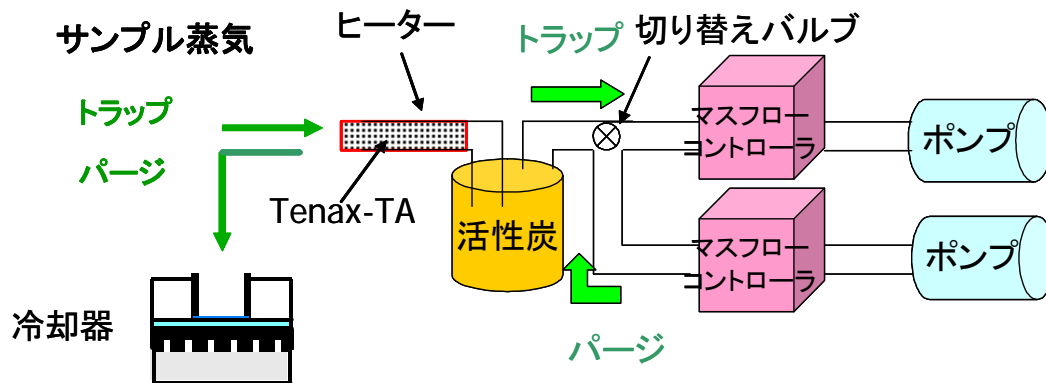


図 23 爆薬濃縮サンプリングシステムの構成



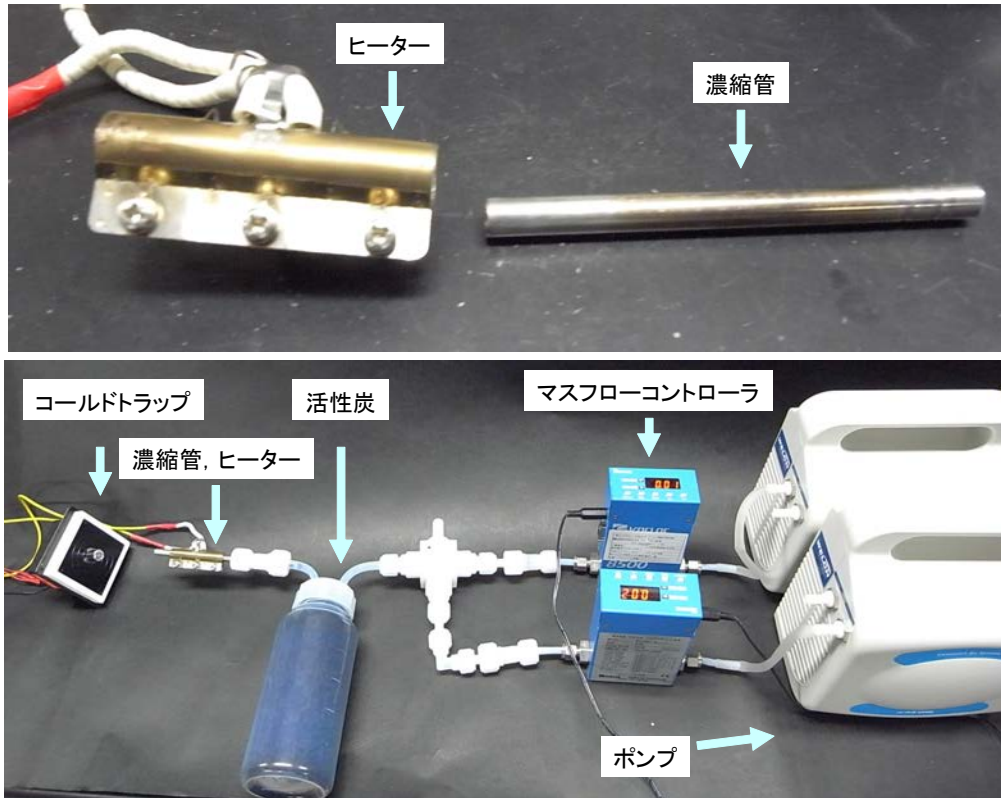


図 24 原理検証用サンプリングシステム

Tenax-TA (多孔性ポリマービーズ), ポリジメチルシロキサン (PDMS), XAD-2(イオン交換樹脂)の各種の吸着剤の評価を行った. 約 20 ppm の TNT 水溶液をフラスコ内で蒸発させ (TNT の飽和濃度約 7 ppb と推定), この蒸気のサンプリングを試み, SPR センサにより, TNT 濃度を測定した. その結果, 約 1 ppb の TNT 溶液を得ることができた (図 25).

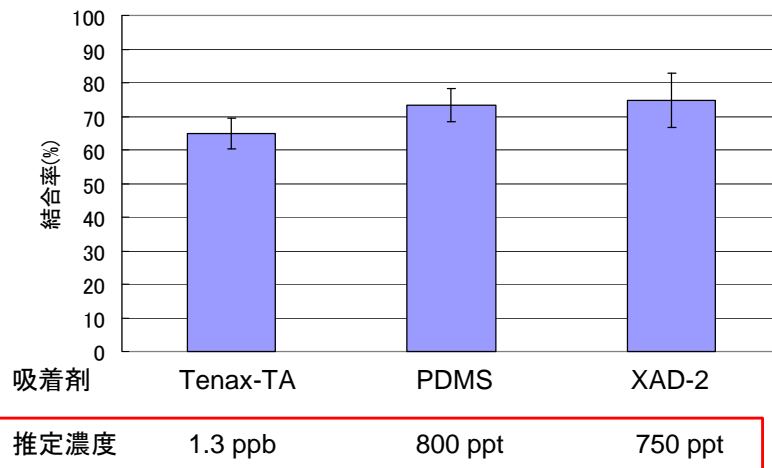


図 25 TNT 蒸気サンプリング結果

各種の検証実験の結果, 流路壁面への TNT の吸着の影響は少ないと考えられた. また, 吸着剤は, エージング (加熱と冷却の繰り返し) を 10 回程度行うことにより, SPR 測定に影響を与えずに測定できるようになることがわかった. これらの成果を元に, 図 26 に示すようにサンプリング装置の試作を行った. 基本的な構成は図 23 と同じであるが, 操作はタッ

チパネルで行う仕様となっている。

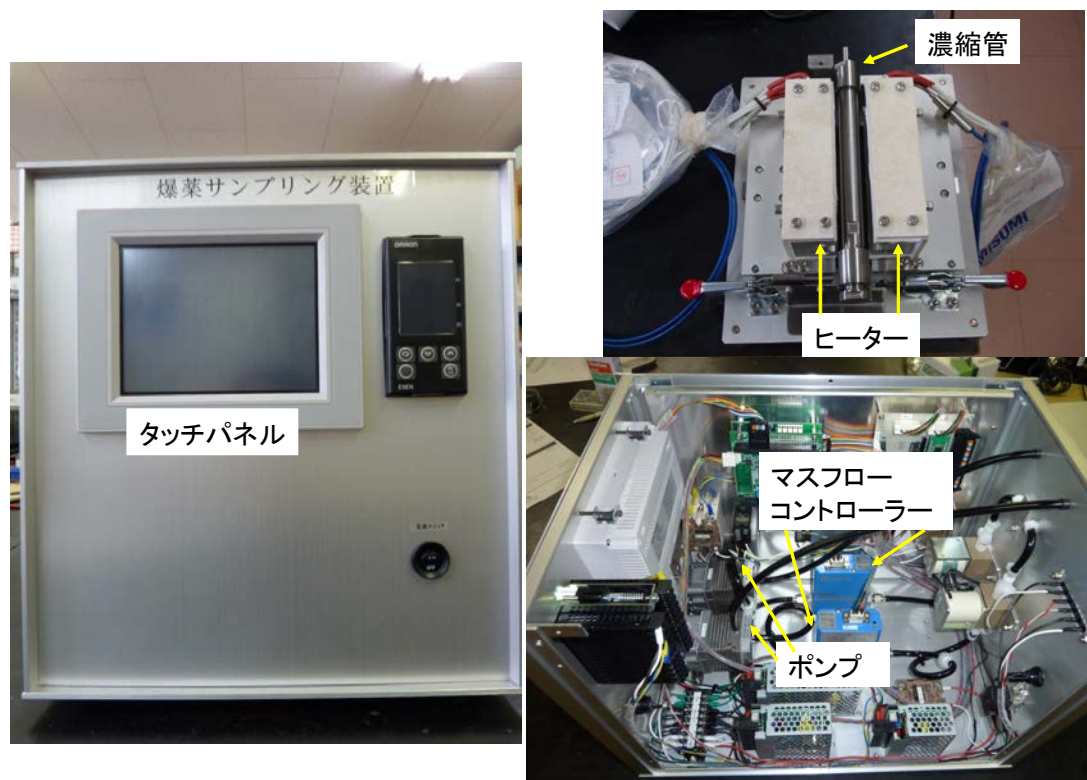


図 26 試作爆薬サンプリング装置

## (2)研究成果の今後期待される効果

今後、これらの成果を活かし、対象薬物を包括的に高い識別能力で検知可能とする装置を開発する。具体的には、プラスチックプリズム・レンズを用いた光学系およびインクジェットプリンタヘッド技術を応用し開発する溶液供給システムにより、装置の小型化を図る。検出部はプラスチックプリズムにより交換可能とする。抗体溶液／キャリア溶液／サンプル前処理部はカセット方式を採用し、メンテナンスを容易にする。センサセルは並列 8ch 以上とし、複数の爆薬や薬物の同時検出（包括的）に対応することにする。

爆発物探知犬や地雷探知犬、麻薬探知犬は、ターゲットとなっている危険・有害物質化学物質を嗅覚で検出しており、その意味においてそれらの物質は匂い物質とも捉えることができる。本提案課題で開発を目指すセンサシステムは、ターゲットを捉える抗体あるいは鑄型分子を作製し採用している。生物に倣い化学物質を匂いで検出するという、今後社会で広く普及すると考えられる方法をとっている。本課題の測定手法は、公共交通機関、税関、警察、消防等、幅広く適用範囲可能である。社会の安全確保に関する分野に対して絶大な効果を発揮するものである。テロの脅威からの解放ならびに麻薬からの青少年保護、不正薬物や武器の密輸の撲滅など、この課題の成功のあかつきに得られる効果は多岐にわたる。爆薬や不正薬物のみならず、食品や香料など快適な生活を創造する「匂い」物質の測定も可能となる。このセンシングシステムの実現は、今後「匂いを測る」という日本発の新しい産業の創出の端緒となりうるものであろう。

## 4. 2 爆薬および爆薬マーカに対する鑄型分子認識膜の作製(北九州市立大学グループ)

### (1)研究実施内容及び成果

ICAO タガンツである DMNB など抗体の作製困難な爆薬マーカーに対して分子鑄型法により分子認識膜を作製し，対象のニトロ化合物に対して ppb レベル以上の超高感度かつ高選択的検出を実現する。

### ・CD固定化TiO<sub>2</sub>薄膜の作製および爆薬分子吸着特性

選択性および感度に優れた分子認識レセプター的设计法として，ホスト分子とゾルーゲル法を組み合わせた新しいレセプター設計を試みた。ホスト化合物の一種であるシクロデキストリン (CD) は，多くの芳香族化合物と強い分子間相互作用を示すことから様々な分野に幅広く用いられ，芳香族ニトロ化合物の爆薬物質に対してもその応用が期待できる。そこで，爆薬マーカー検出の第一歩として，2,4-DNT に的を絞り研究を行った。北九州市立大学の独自技術である気相表面ゾルーゲル法をシクロデキストリンの固定化に用いた有機・無機交互積層化を試みた。認識膜の作製法およびその吸着能力を以下にまとめた。

メルカプトエタノールを修飾した QCM 金電極上に Ti (O-<sup>n</sup>Bu)<sub>4</sub> と CD の交互吸着を行った際の振動数変化を図 27 (a) に示す。この振動数変化から分かるように CD 分子は酸化チタンマトリックスを介して，薄膜中に規則的に導入できる。γ-CD 薄膜への爆薬分子の結合特性を CV 測定により評価した。フェロシアンイド (2mM) と塩化カリウム (1M) 混合溶液を用い，Fe<sup>3+</sup>の酸化還元反応を利用して爆薬の一種である DNT 分子の吸着挙動を追跡した。測定溶液中の DNT の濃度がそれぞれ 2 nM~1 μM の濃度になるように調整した時のサイクリックボルタンメトリー (CV) 測定結果を図 27 (b) に示す。図 27 (b) は通常の CV モードによるフェロシアンイドの酸化・還元プロットであり，図 27 (b) の挿入図は DPV (微分パルスボルタンメトリー) モードの結果である。以上の測定結果から認識膜の結締定数を算出した (6.9×10<sup>7</sup> M<sup>-1</sup>)。β-CD の結果と比較して約 3 倍以上の高い結合力を示すことが分かった。

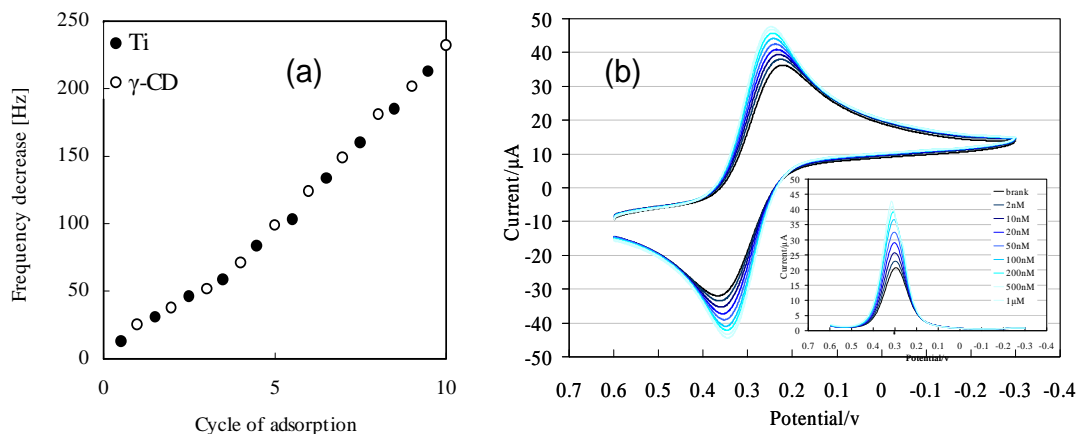


図 27 (a) QCM による TiO<sub>2</sub>/γ-CD 交互積層膜の製膜評価 (b) CV による DNT 結合評価(DNT 濃度: 2 図 nM,10nM,20nM,50nM,100nM,200nM,500nM,1 μM)

CD 固定化 TiO<sub>2</sub> 薄膜の爆薬吸着特性についてより詳細な検討を行うために電解質の濃度，スキャン時間などの実験条件を最適化 (KCl 濃度: 0.1~0.5 M, Scan range: 0 V~-1.2 V, Scan rate: 100 mV/sec) を行うことで芳香族爆薬分子の画期的検出感度を達成した (2 pM, 0.4 ppt)。これは，芳香族ニトロ化合物の分子構造がシクロデキストリンレセプター分子に効率よく結合され，その電子吸引特性が電気化学手法により効果的に評価されたことを意味する。

図 28 は，γ-CD/TiO<sub>2</sub> 膜における 0.002 nM~100 μM の 2,4-DNT 分子の吸着によるサイク

リックボルタグラムの変化を示す。一方、 $\beta$ -CD の膜の場合、1  $\mu$ M 付近から電流値が飽和に達するに対し、 $\gamma$ -CD の膜ではその濃度範囲で規則的な増加が見られ、 $\gamma$ -CD/ $\text{TiO}_2$  膜の方が  $\beta$ -CD/ $\text{TiO}_2$  膜より 2,4-DNT 分子に対する吸着能が大きいことが示唆された。 $\beta$ -CD または  $\gamma$ -CD との錯体構造については、2D  $^1\text{H-NMR}$  および UV-vis 分光法 (Job's plot) を用いて解析を行った。

製膜条件や測定条件の最適化を行うために、FTIR 測定を兼用し、ニトロ官能基の N=O 伸縮振動 ( $1347\text{ cm}^{-1}$  と  $1530\text{ cm}^{-1}$  付近) を利用した爆薬に対する光学測定を試みた。2,4-DNT の除去および再吸着による FTIR のスペクトル変化から本研究で試みた製膜法や吸着サイトの有効性を検討した。

### ・ DMNB 爆薬マーカーの電気化学検出 I : 分子鑄型法の検討

抗原-抗体法が適用できない爆薬マーカーの一つである DMNB (蒸気圧  $2.07 \times 10^{-3}$  Torr at  $25^\circ\text{C}$ , 約 2ppm) に対し、チタニアマトリックスを用いた鑄型薄膜の作製を試みた。 $\text{Ti}(\text{O}-i\text{Bu})_4$  と DMNB が 100 mM : 5 mM となるように Toluene/EtOH(1:1, v/v) 混合溶媒を用いて溶液を調整した。表面研磨したグラシーカーボン電極上に調整した混合液を用いて薄膜を作製し、サイクリックボルタメトリーを用いて分析を行った。DMNB のニトロ基の酸化還元ピーク ( $-1.15\text{V}$ ) からセンサ薄膜中の DMNB の存在と、EtOH 洗浄による DMNB の除去を確認した(図 29(a))。DMNB の濃度を徐々に増加させながら鑄型薄膜へのゲスト分子吸着によるニトロ基のピーク変化 ( $-1.15\text{V}$ ) を図 29(b) に示す。また、その時のピーク変化と濃度相関を図 29(c) に示した。この結果から、DMNB の濃度を増加させることで、膜中に DMNB 分子が吸着し、ピークの変化が現れることが分かった。1  $\mu\text{M}$  (0.2 ppm) の濃度からピークが検出でき、その変化量は DMNB の濃度に強く依存することが分かる。

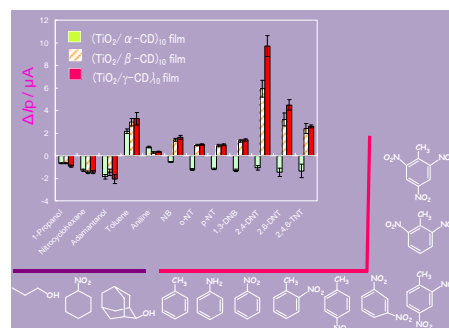
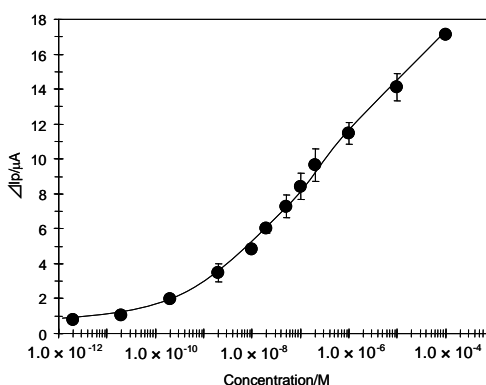
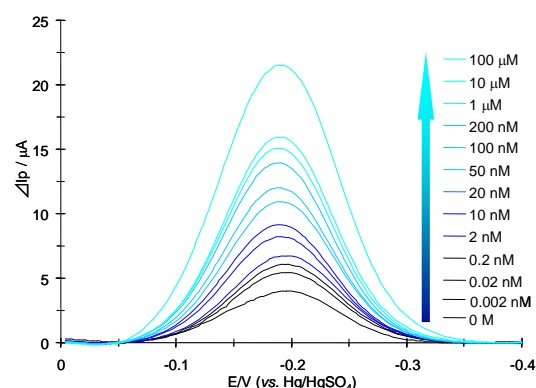


図 28  $\gamma$ -CD/ $\text{TiO}_2$  膜の 2,4-DNT に対するセンサ応答およびゲスト選択性

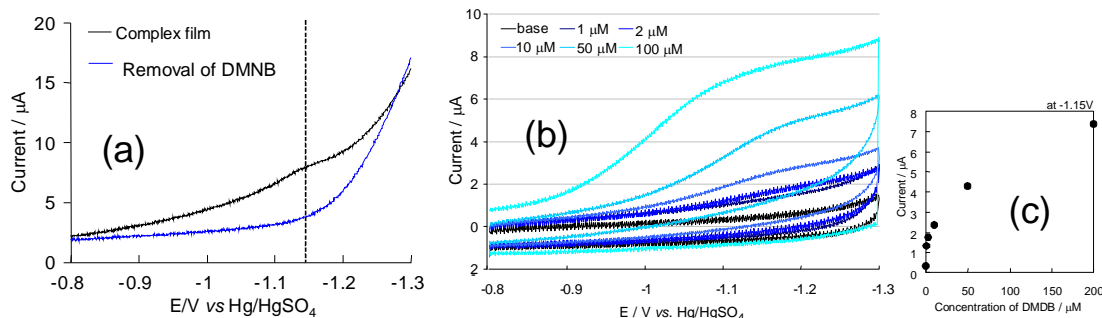


図 29 (a) DMNB/ $\text{TiO}_2$  センサ薄膜の DMNB 除去前後の CV スペクトル, (b)  $\text{TiO}_2$  鑄型膜への DMNB 吸着によるピーク変化, (c) その濃度依存性 ( $-1.15\text{V}$ )

### ・自己組織化 CD 鑄型薄膜の作製および爆薬吸着特性

自己組織化膜 (SAM) を用いた爆薬センサとして、芳香族ニトロ化合物をターゲットとしてチオール化シクロデキストリン (CD) 単分子膜を活用した高感度センサ表面の設計を試みた。まず、チオール化  $\gamma$ -CD の合成を行い、金電極上に以下の図 30(a) に示したように製膜を行った。金表面への膜の吸着 (i から v) には浸漬法を用い、(v) 膜に包接されている 2,4-ジニトロトルエン (2,4-DNT) はメタノールで除去した。(vi) 膜を修飾した金電極を用いて、芳香族ニトロ化合物の検出を CV 測定で行った。2 mM  $K_3Fe(CN)_6$ 、300 mM KCl 溶液を用いた。

図 30(b) は 2,4-DNT 鑄型膜修飾電極を用いて電気化学測定 (CV 測定) を行った結果である。2,4-DNT の濃度を 0 M、 $1.0 \times 10^{-13} \sim 10^{-5}$  M まで増加させると、-0.2 V 付近のピークが上昇している事が分かる。-0.2 V 付近のピークは電気化学マーカーとして加えている  $K_3Fe(CN)_6$  の酸化還元を示すピークである。疎水性を示す 2,4-DNT はチオール化  $\gamma$ -CD の疎水空間に引き込まれ (疎水性相互作用)、金電極と  $K_3Fe(CN)_6$  間の電子移動を助ける役割を果たす。この作用によって -0.2 V 付近の  $K_3Fe(CN)_6$  の酸化還元ピークは上昇したと考えられる。

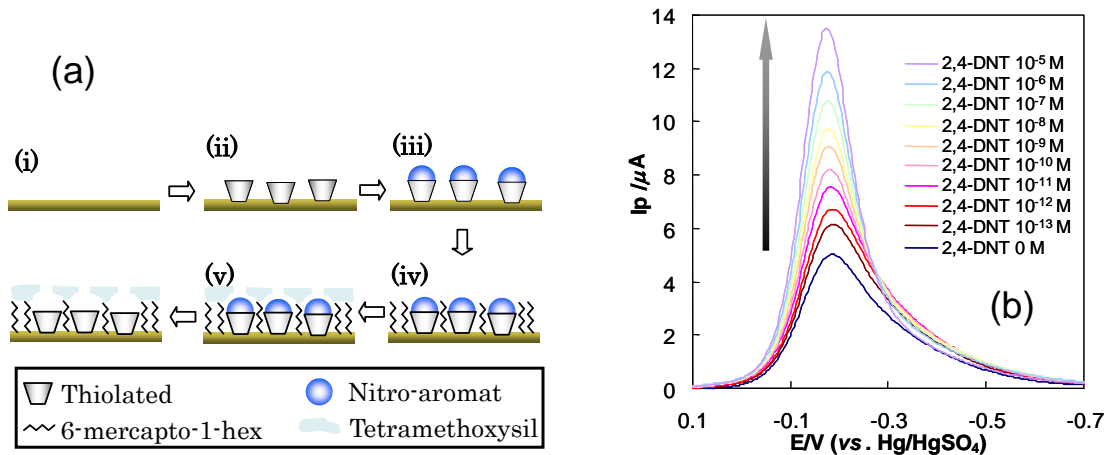


図 30 (a) 製膜の手順と(b) 2,4-DNT 鑄型膜修飾電極への 2,4-DNT の電気化学応答

### (2)研究成果の今後期待される効果

爆薬に含まれる爆薬マーカーは、通常の爆薬分子に比べ蒸気圧が相対的に高いことから爆薬検出の間接的な手法として用いることができる。これまで報告された DMNB 爆薬マーカーの検出限界は、約 100 ppb であり、本研究成果はこれまでの検出限界を遥かに上回る。今後、実験条件や測定システムの最適化を行うことで、空港などのセキュリティを要する環境での実践的な活用が期待できる。

## § 5 成果発表等

(1)原著論文発表(国内(和文)誌 1 件, 国際(欧文)誌 15 件)

1. K. Matsumoto, A. Torimaru, S. Ishitobi, T. Sakai, H. Ishikawa, K. Toko, N. Miura, T. Imato, "Preparation and characterization of a polyclonal antibody from rabbit for detection of trinitrotoluene by a surface plasmon resonance biosensor", *Talanta*, 68, 305-311 (2005)
2. D. R. Shankaran, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, "Development and comparison of two immunoassays for the detection of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) based on surface plasmon

- resonance”, *Sensors and Actuators B*, 114, 71-79 (2006)
3. D. R. Shankaran, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Performance Evaluation and Comparison of Four SPR Immunoassays for Rapid and Label-free Detection of TNT”, *Electrochemistry*, 74, No. 2, 141-144 (2006)
  4. D. R. Shankaran, T. Kawaguchi, S. J. Kim, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Evaluation of the molecular recognition of monoclonal and polyclonal antibodies for sensitive detection of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) by indirect competitive surface plasmon resonance immunoassay”, *Anal. Bioanal. Chem.*, 386, 1313-1320 (2006)
  5. N. Takahara, D. H. Yang, M. J. Ju, K. Hayashi, K. Toko, S. W. Lee, T. Kunitake, “Anchoring of cyclodextrin units on TiO<sub>2</sub> thin layer for effective detection of nitro-aromatics: a novel electrochemical approach for landmine detection”, *Chem. Lett.* 35, 12, 1340-1341 (2006)
  6. P. Singh, T. Onodera, Y. Mizuta, K. Matsumoto, N. Miura, K. Toko, “Novel DNP-KLH Protein Conjugate Surface for Sensitive Detection of TNT on SPR Immunosensor”, *Sensors and Materials*, Vol. 19(5), 261-273 (2007)
  7. M.J. Ju, D.H. Yang, N. Takahara, K. Hayashi, K. Toko, S.W. Lee, T. Kunitake, “Landmine detection: Improved binding of 2,4-dinitrotoluene in a  $\gamma$ -CD/metal oxide matrix and its sensitive detection via a cyclic surface polarization impedance (cSPI) method”, *Chem. Comm.*, 2630-2632 (2007).
  8. D. R. Shankaran, T. Kawaguchi, S.J. Kim, K. Matsumoto, K. Toko, N.Miura, “Fabrication of novel molecular recognition membranes by physical adsorption and self-assembly for SPR detection of TNT”, *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, 87, 771-781 (2007)
  9. T. Kawaguchi, D. R. Shankaran, S.J. Kim, K.V. Gobi, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Fabrication of a novel immunosensor using functionalized self-assembled monolayer for trace level detection of TNT by surface plasmon resonance”, *Talanta*, 72, 554-560 (2007)
  10. T. Kawaguchi, D. R. Shankaran, S.J. Kim, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Surface plasmon resonance immunosensor using Au nanoparticle for detection of TNT”, *Sens. Actuators B*, 133, 467-472 (2008)
  11. Y. Mizuta, T. Onodera, P. Singh, K. Matsumoto, N. Miura, K.Toko, “Development of an oligo(ethylene glycol)-based SPR immunosensor for TNT detection”, *Biosensors and Bioelectronics*, Vol.24, pp.191-197 (2008)
  12. K. Nagatomo, K. Matsumoto, S. Ishitobi, M. Koga, K. Toko, N. Miura, “Preparation of anti-dinitrotoluene polyclonal antibody and effect of the hapten spacer length in coating antigen on immunoassay sensitivity”, *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, Vol.54, pp.165-171 (2009)
  13. K. Nagatomo, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Preparation of anti-2,4-dinitrotoluene monoclonal antibody by using rat medial iliac lymph node cells and its characterization using solid phase enzyme-linked immunosorbent assay”, *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, Vol.54, pp.173-178 (2009)
  14. P. Singh, T. Onodera, Y. Mizuta, K. Matsumoto, N. Miura, K. Toko, “Dendrimer modified biochip for detection of 2,4,6 trinitrotoluene on SPR immunosensor: fabrication and advantages”, *Sensors & Actuators B*, Vol.137, pp.403-409 (2009)
  15. K. Nagatomo, T. Kawaguchi, N. Miura, K. Toko, K. Matsumoto, “Development of a sensitive surface plasmon resonance immunosensor for detection of 2,4-dinitrotoluene with a novel oligo (ethylene glycol)-based sensor surface”, *Talanta*, Vol.79, pp.1114-1148 (2009)
  16. T. Kawaguchi, H. Iwasaka, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, "Prevention of Non-specific Adsorption onto PDMS Micro-channel in Micro Sensor Chip", Accepted in *Journal of Micro/Nanolithography, MEMS, and MOEMS* (2010), Vol.9, No. 1, Page number is not fixed yet.
- (in press) Y. Mizuta, T. Onodera, P. Singh, K. Matsumoto, N. Miura, K.Toko, “Highly sensitive detection of TNT using a poly(amidoamine) dendron-based SPR immunosensor”, *Sensors and Materials*, Vol.22, No.4 (2010)

(2) その他の著作物(総説, 書籍など)

1. 都甲 潔, “超高感度匂いセンサの開発”, *NATURE INTERFACE*, No.31, 70-72, (2006)

2. 小野寺武, 三浦則雄, 松本 清, 都甲 潔, “抗原抗体反応を利用した超高感度においセンサの開発”, 計測と制御, 第 45 巻 第 6 号, 552-557 (2006)
3. 川口俊一, D. R. Shankaran, S. J. Kim, 松本 清, 都甲 潔, 三浦則雄, “爆薬類検出用超高感度 SPR 免疫センサ”, Chem.Sens., 22,146-153 (2006)
4. 小野寺武, 都甲 潔, 松本 清, 三浦 則雄, “セキュリティ用超高感度においセンサの開発”, 検査技術, Vol. 12 No.4, 36-42(2007)
5. D. R. Shankaran, N. Miura, “Trends in interfacial design for surface plasmon resonance based immunoassays”, J. Phys. D. Appl. Phys., 40, 7187-7200 (2007)
6. N. Miura, D. R. Shankaran, T. Kawaguchi, K. Matsumoto, K. Toko, “High-performance surface plasmon resonance immunosensors for TNT detection”, Electrochemistry, 75, 13-22 (2007)
7. 都甲 潔, “においセンサ”, AROMA RESEARCH, Vol.9, 54-57(2008)
8. 都甲 潔, “味と匂いで教え導く”, ファイナンス, Vol.44, No.5, 巻頭言 (2008)
9. 都甲 潔, “感覚を定量化するセンサ技術”, 日経エレクトロニクス NE PLUS, 975 号, 42-53 (2008)
10. T. Onodera, N. Miura, K. Matsumoto, K. Toko, “Development of an “Electronic Dog Nose” based on an SPR Immunosensor for Highly Sensitive Detection of Explosives”, Anti-personnel Landmine Detection for Humanitarian Demining -The Current Situation and Future Direction for Japanese Research and Development- (Editors:K. Furuta, J. Ishikawa), Chapter 12, 193-205, Springer, London (2009)
11. 都甲 潔, 江崎 秀, 林 健司, 上田哲男, 西澤松彦, “自己組織化とは何か 第2版”, pp.1-232(うち該当箇所:pp.192-196), 講談社(2009)
12. 都甲 潔, “においセンサ”, AROMA RESEARCH, Vol.10, 176-180(2009)

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

①招待講演 (国内会議 9 件, 国際会議 4 件)

1. 都甲 潔, “SPR センサーと抗体を用いた超高感度匂いセンサー”, 第 11 回免疫化学測定法研究会, 東京 (2006.6.23)
2. N. Miura, High-performance SPR Immunosensors for Environmental and Biomedical Applications, 7th East Asian Conference on Chemical Sensors, Singapore (2007.12.2-6)
3. T. Kawaguchi, D. Ravi Shankaran, S. J. Kim, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Signal amplification method using Au nanoparticle for detection of explosives by surface plasmon resonance sensor”, PITTCON 2008, New Orleans, USA (2008.3.1-7)
4. T. Kunitake, S.W. Lee, “Molecular imprinting in ultrathin films of metal oxides”, Fifth International Workshop on Molecular Imprinting (MIP 2008), Kobe University (2008. 9.7-11)
5. 都甲 潔, “感性ナノバイオセンサの開発”, セラミックス協会 2008 年秋季シンポジウム, 北九州 (2008.9.17)
6. 都甲 潔, “匂いセンサの開発”, 9th アロマ・サイエンス・フォーラム, 東京 (2008.10.3)
7. K. Toko, “Chemical detection systems”, Chemical and Biological Collaboration Conference, Tokyo (2009.2.17-19)
8. 都甲 潔, “味と匂いのわかるロボット”, ロボティクス・メカトロニクス講演会 2009, 福岡 (2009.5.24-26)
9. 都甲 潔, “感性ナノバイオセンサの開発”, 戦略的商品開発イノベーションセミナー2009, 東京 (2009.10.9)
10. 都甲 潔, “味を目で見る, 匂いを探す”, さくら会定期講演会, 福岡 (2009.11.27)
11. 都甲 潔, “表面プラズモン共鳴センサ, およびそのセンサチップの製造方法”, JST 新技術説明会, 東京(2010.1.29)
12. 都甲 潔, “感性ナノバイオセンサの開発”, 第 6 回ナノバイオ国際シンポジウム, 東京 (2010.2.17)
13. 都甲 潔, “感性ナノバイオセンサ”, 電子情報通信学会・総合大会企画講演, 仙台 (2010.3.18)

②口頭講演 (国内会議 20 件, 国際会議 13 件)

1. 石飛幸子, 鳥丸 亮, 今任稔彦, 三浦則雄, 都甲 潔, 松本 清, “ウサギ由来抗ジニトロトルエン(DNT)抗体の作製と SPR センサーによる DNT のバイオアッセイ”, 第46回 FIA 講演会, 高知(2005.10.6)
2. D. R. Shankaran, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Rapid and highly sensitive SPR immunosensor for explosive compounds”, 第 41 回化学センサ研究会, 首都大学東京, 東京 (2006.4.1-3)
3. D. R. Shankaran, T. Kawaguchi, S. J. Kim, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Surface plasmon resonance immunosensor for TNT using novel molecular recognition membranes”, 7th Workshop on Biosensors and Bioanalytical  $\mu$ -techniques in environmental and clinical analysis. Kusadasi, Turkey (2006.9.10-14)
4. 川口俊一, D. R. Shankaran, S. J. Kim, 松本 清, 都甲 潔, 三浦則雄, “機能性チオール自己組織化膜を用いた SPR センサによる TNT の超超高感度検出”, 第 42 回化学センサ研究会, 同志社大, 奈良 (2006.9.14-15)
5. P. Singh, T. Onodera, Y. Mizuta, K. Matsumoto, N. Miura, K. Toko, “Development of nanoscale biosensor surfaces for electronic nose: explosive detection”, Proceedings of IBS (Indian Biophysical Society)-2007 (National Symposium on Biophysics: Trends in Biomedical Research), New Delhi, India (2007.2.13-15)
6. T. Kawaguchi, D. R. Shankaran, S. J. Kim, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Application of functionalized thiolate self-assembled monolayer to surface plasmon resonance immunosensor for detection of explosive compounds”, PITTCON 2007, Chicago, USA (2007.2.25-3.2)
7. 高原直己, 李 丞祐, 国武豊喜, “CD をアンカーとした TiO<sub>2</sub> 薄膜による爆薬の電気化学検出”, 日本化学会第 87 春季年会, 大阪 (2007.3.25)
8. 川口俊一, D. R. Shankaran, S. J. Kim, 松本 清, 都甲 潔, 三浦則雄, “金ナノ構造制御界面を用いた表面プラズモン共鳴センサによる TNT の超高感度検出”, 第 43 回化学センサ研究会, 東京理科大, 千葉 (2007.3.29-31)
9. T. Onodera, K. Horikawa, P. Singh, N. Miura, K. Matsumoto and K. Toko, “Development of electronic dog nose based on SPR immunosensor using displacement method for detection of 2,4,6-trinitrotoluene”, International Symposium on Olfaction and Electronic Noses (ISOEN) 2007, St. Petersburg, Russia (2007.5.3-5)
10. 小野寺武, 都甲 潔, 三浦則雄, 松本 清, “ポータブル爆薬検知センサの研究開発状況について”, 火薬学会 2007 年度会(2007 年度春季研究発表会\_東京) (2007.5.10)
11. D. R. Shankaran, T. Kawaguchi, S.J. Kim, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Development of immunosensors for highly sensitive and selective detection of TNT using SPR technique”, Japan Society of the Analytical Chemistry Meeting, Utsunomiya University, Japan (2007.5.19-20)
12. 堀川和彦, 小野寺武, 水田 完, 三浦則雄, 松本 清, 都甲 潔, “ハプテン固定化自己組織化単分子膜を用いた置換 SPR 免疫センサによる TNT の高感度検出”, 平成 19 年度 電気関係学会九州支部連合大会(第 60 回連合大会)(2007.9.18)
13. 水田 完, 小野寺武, P. Singh, 三浦則雄, 松本 清, 都甲 潔, “二次抗体を用いた表面プラズモン共鳴(SPR)免疫センサのトリニトロトルエンに対する感度増幅”, 平成 19 年度 電気関係学会九州支部連合大会(第 60 回連合大会)(2007.9.18)
14. 高原直己, 李丞祐, 国武豊喜, “CD/TiO<sub>2</sub> gel 超薄膜における芳香族ニトロ化合物の吸着機構”, 第 56 回高分子討論会, 名古屋工業大学(2007.9.19-21)
15. 川口俊一, D. Ravi Shankaran, S. J. Kim, 松本 清, 都甲 潔, 三浦則雄, “TNT を超高感度検出するための金ナノ粒子を用いた SPR 信号増幅”, 第 44 回化学センサ研究会, 東工大,



- 東京(2007.9.19-20)
16. 長友一剛, 古賀麻央, 都甲 潔, 三浦則雄, 松本 清, “2,4-ジニトロトルエンに対する抗体作製および免疫センサへの応用に関する研究”, 日本分析化学会第 56 年会, 徳島(2007.9.19-21)
  17. 水田 完, 小野寺武, プラビーン シン, 三浦則雄, 松本 清, 都甲 潔, “間接競合 SPR 免疫センサによる TNT の高感度検出のための固定化ハプテンの選択”, 電子情報通信学会・電子デバイス研究会(2007. 9.21)
  18. D. R. Shankaran, T. Kawaguchi, S.J. Kim, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Evaluation of various interfacial biomembranes for highly sensitive and label-free detection of explosives by SPR immunoassay”, Euroanalysis – 2007, Antwerp, Belgium(2007.11. 9-14).
  19. D. R. Shankaran, T. Kawaguchi, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Nano-designed SPR immunosensors for detection of explosives”, Malaysia-Japan International Symposium on Advanced Technology, Kuala Lumpur, Malaysia(2007.11.12-15)
  20. 小野寺武, 水田 完, 松本 清, 三浦則雄, 都甲 潔, “表面プラズモン共鳴 (SPR) 免疫センサを用いたトリニトロトルエンの高感度検出”, 2007 年(平成 19 年度)応用物理学会九州支部学術講演会 (2007.12.2)
  20. 李 丞祐, 高原直己, 国武豊喜, “分子レセプターを有するセラミック超薄膜による爆薬の高感度検出”, 第 20 回セラミックス学会秋季シンポジウム, 名古屋工業大学(2007.9.12-14)
  21. T. Kawaguchi, D. Ravi Shankaran, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Sterically designed SPR immunosensor for detection of TNT”, IMCS12, Columbus Ohio, USA (2008.7.13-16)
  22. Y. Mizuta, T. Onodera, P. Singh, K. Matsumoto, N. Miura, K. Toko, “Development of poly(amidoamine) dendron thiol based SPR sensor surface for highly sensitive detection of TNT”, The 12th International Meeting on Chemical Sensors (Extended Abstracts of the Papers Presented at the International Meeting on Chemical Sensors (IMCS-12)), CBST87, Columbus, Ohio, USA (2008.7. 14-16)
  23. S.W. Lee, T. Yoshio, N. Takahara, T. Kunitake, “Molecular imprinting using sol-gel thin films anchored with molecular hosts.” Fifth International Workshop on Molecular Imprinting (MIP 2008), Kobe University (2008.9. 7-11)
  24. T. Kawaguchi, D. Ravi Shankaran, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Sterically designed SPR immunosensor for detection of TNT”, IMCS12, Columbus Ohio, USA (2008.7.13-16)
  25. 長友一剛, 都甲 潔, 三浦則雄, 松本 清, “ハプテン修飾金基板を用いた SPR イムノセンサによる 2,4-DNT の高感度検出”, 日本分析化学会第 57 年会, 福岡(2008.09.10-12)
  26. 入江達也, 小野寺 武, 水田 完, 三浦則雄, 松本 清, 都甲 潔, “爆薬蒸気のサンプリング方法の検討”, 第 61 回電気関係学会九州支部連合大会, 大分大学旦野原キャンパス, (2008.9.24)
  27. 川口俊一, 松本 清, 都甲 潔, 三浦則雄, “SPR を用いた TNT 検知における間接競合阻害法の速度論的解析”, 第 46 回化学関連支部合同九州大会, 北九州市 (2009.7.4)
  28. 水田 完, 小野寺 武, 松本 清, 三浦則雄, 都甲 潔, “PAMAM デンドリマーを用いた表面プラズモン共鳴 (SPR) 免疫センサによる TNT の高感度検出”, 電気学会 E 部門研究会, 東京工科大学(2009.7.24)
  29. 小野寺武, 水田完, 堀川和彦, 松本清, 三浦則雄, 都甲潔, “置換法を用いた表面プラズモン共鳴免疫センサによるトリニトロトルエンの高感度検出”, 電子情報通信学会電子デバイス研究会 (ED), 大阪大学吹田キャンパス, (2009.7.30)
  30. 金 虎, 小野寺 武, 森 陽一, 三浦則雄, 松本 清, 都甲 潔, “置換法を用いた SPR 免疫センサによるニトロ化合物の検出”, 第 62 回電気関係学会九州支部連合大会, 飯塚市, 九州工業大学, (2009.9.28)

31. 入江達也, 小野寺 武, 水田 完, 三浦則雄, 松本 清, 都甲 潔, “濃縮管と SPR 免疫センサを用いた 2,4,6-トリニトロトルエンの検出”, 第 62 回電気関係学会九州支部連合大会, 飯塚市, 九州工業大学, (2009.9.28)
32. S.-W. Lee, S. Korposh, K. Toko, “Fast and sensitive detection of 2,3-dimethyldinitrobutane (DMNB) as an explosive taggant using corundum based integrated electrochemical chips”, 8th Asian Conference on Chemical Sensors (ACCS 2009), Daegu, Korea (2009.11.11-14)
33. 入江達也, 小野寺 武, 水田 完, 三浦則雄, 松本 清, 都甲 潔, “濃縮管によるトリニトロトルエン捕集条件の検討”, 2009 年応用物理学会九州支部学術講演会, 熊本大学, (2009.11.21)

③ポスター発表 (国内会議 13 件, 国際会議 8 件)

1. K. Matsumoto, A. Torimaru, S. Ishitobi, T. Imato, N. Miura, K. Toko, “Preparation of Anti-DNT Antibody, and a Bioassay of DNT by Surface Plasmon Resonance Biosensor” ,Taipei, Taiwan, (2005.10.16-20)
2. D. R. Shankaran, T. Kawaguchi, S. J. Kim, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Immunosensor for trace detection of explosive molecules based on surface plasmon resonance”, 43rd Chemical Sensor Symposium, Kitakyushu, Japan (2006.7.8)
3. D. R. Shankaran, T. Kawaguchi, S. J. Kim, K. Matsumoto, K. Toko, N. Miura, “Evaluation of surface plasmon resonance based immunoassay for rapid and label-free detection of TNT with ultra-high sensitivity”, 11th International Meeting on Chemical Sensors, Brescia, Italy (2006.7.16-19)
4. 古賀麻央, 石飛幸子, 今任稔彦, 三浦則雄, 都甲 潔, 松本 清, “表面プラズモンセンサによる 2,4-ジニトロトルエンの測定”, 第 43 回 化学関連支部合同九州大会 (2006.7.8)
5. 高原直己, 李 丞祐, 国武豊喜, “CD をアンカーとした TiO<sub>2</sub> 薄膜による爆薬の電気化学検出”, 日本化学会第 87 回春季年会 (2007.3.27-30)
6. 高原直己, 李 丞祐, 国武豊喜, “CD:TiO<sub>2</sub> 超薄膜による芳香族ニトロ化合物の電気化学検出”, 第 56 回高分子年次大会 (2007.5.29-31)
7. 長友一剛, 古賀麻央, 石飛幸子, 都甲 潔, 三浦則雄, 松本 清, “2,4-ジニトロトルエンに対する抗体の作製と結合性評価”, 第 44 回化学関連支部合同九州大会, 北九州市 (2007.7.7)
8. 川口俊一, D. Ravi Shankaran, S. J. Kim, 松本 清, 都甲 潔, 三浦則雄, “金ナノ粒子を用いた爆発物検知のための超高感度 SPR センサ”, 第 44 回化学関連支部合同九州大会, 北九州市 (2007.7.7)
9. N. Takahara, S. W. Lee, T. Kunitake, “Fabrication of Nano-assembled TiO<sub>2</sub>:Cyclodextrin Films for Highly Efficient Detection of Nitro-aromatics”, IUPAC International Symposium on Macro Molecular complex (12th),Fukuoka International Congress Center Fukuoka, Japan (2007.8.27-31)
10. 李 丞祐, 高原直己, 国武豊喜, “分子レセプターを有するセラミック超薄膜による爆薬の高感度検出”, 第 20 回セラミックス学会秋季シンポジウム (2007.9.12-14)
11. 高原直己, 李 丞祐, 国武豊喜, “CD:TiO<sub>2</sub> gel 超薄膜における芳香族ニトロ化合物の吸着機構”, 第 56 回高分子討論会 (2007.9.19-21)
12. 用正朋子, 高原直己, 李 丞祐, 国武豊喜, “芳香族ニトロ化合物のシクロデキストリン自己組織化膜への包接挙動”, 第 56 回高分子討論会 (2007.9.19-21)
13. K. Nagatomo, K. Toko, N. Miura, K. Matsumoto, “Preparation and characterization of an antibody against 2,4-dinitrotoluene and application in surface plasmon resonance immunosensor”, International Symposium on Flow-Based Analysis VII ,Chaing-Mai , Thailand (2007. 12.16-18)
14. 川口俊一, D. Ravi Shankaran, S. J. Kim, 松本 清, 都甲 潔, 三浦則雄, “金ナノ粒子を用いた SPR センサ信号増幅技術の検討”, 第 45 回化学関連支部合同九州大会, 北九州市

- (2008.7.5)
15. K. Nagatomo, K. Toko, N. Miura, K. Matsumoto, "Development of a surface plasmon resonance immunosensor for rapid and sensitive 2,4-DNT detection", 15<sup>th</sup> International Conference on Flow Injection Analysis & 25<sup>th</sup> Anniversary Meeting of the Japanese Association for Flow Injection Analysis, Nagoya Japan (2008.9.28-10.03)
  16. 高原直己, 李 丞祐, 国武豊喜, "CDをアンカーとしたTiO<sub>2</sub>薄膜による爆薬の電気化学検出", 日本化学会第87春季年会, 関西大学千里山キャンパス(2007.3.25)
  17. 高原直己, 李 丞祐, 国武豊喜, "CD.TiO<sub>2</sub>超薄膜による芳香族ニトロ化合物の電気化学検出", 第56回高分子年次大会, 京都国際会館(2007.5.29-31)
  18. 用正朋子, 高原直己, 李 丞祐, 国武豊喜, "芳香族ニトロ化合物のシクロデキストリン自己組織化膜への包接挙動", 第56回高分子討論会, 名古屋工業大学(2007.9.19-21)
  19. N. Takahara, S.W. Lee, T. Kunitake, "Fabrication of Nano-assembled TiO<sub>2</sub>.Cyclodextrin Films for Highly Efficient Detection of Nitro-aromatics.," IUPAC International Symposium on Macro Molecular complex (12th), Fukuoka International Congress Center Fukuoka (2007.7. 27-31)
  20. 川口俊一, D. Ravi Shankaran, S. J. Kim, 松本 清, 都甲 潔, 三浦則雄, "金ナノ粒子を用いた SPR センサ信号増幅技術の検討", 第45回化学関連支部合同九州大会, 北九州(2008.7.5)
  21. K. Nagatomo, K. Toko, N. Miura, K. Matsumoto, "Development of a surface plasmon resonance immunosensor for rapid and sensitive 2,4-DNT detection", 15<sup>th</sup> International Conference on Flow Injection Analysis & 25<sup>th</sup> Anniversary Meeting of the Japanese Association for Flow Injection Analysis, Nagoya, Japan (2008.9.28-10.03)

#### (4)知財出願

##### ① 国内出願(1件)

1. "混合 SAM の作製方法", 発明者 小野寺武, 水田 完, 都甲 潔, 出願人 国立法人九州大学, 特願 2008-059057(2008.3.10)

##### ② 海外出願(0件)

#### (5)受賞・報道等

##### ①受賞

都甲 潔, 応用物理学会 フェロー表彰, 感性バイオセンサーの開発(2008)

##### ②マスコミ(新聞・TV等)報道

2006年9月4日付 日本経済新聞 (テロ防止へ新型爆薬検出)

2007年9月15日付 日本経済新聞 (犬並みの嗅覚で微量の爆薬検出)

##### ③その他

日経エレクトロニクス, 五感センサ:嗅覚, 927号, pp.70-71(2008)

#### (6)成果展開事例

##### ①実用化に向けての展開

##### ②社会還元的な展開活動

- 確立した TNT, DNT, RDX 産生ハイブリドーマ細胞(抗体産生細胞)は, 九州大学の有体物管理センターに登録しており, 同センターを通じて, 所定の手続きを行えば, 一般に利用可能となる予定である.

## § 6 研究期間中の主な活動（ワークショップ・シンポジウム等）

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2005.12.7	板生総括サイトビジット	都甲研究室	9名	研究室の紹介，および研究計画に関するディスカッション
2008.09.14-15	イノベーション・ジャパン2008	東京国際フォーラム	2名	研究成果の公表，展示
2009.11.10	先進的統合センシング技術 研究領域 甲 会シンポジウム	東京大学 弥生講堂	2名	研究成果の発表
2010.1.19	JST 新技術説明会	JST 東京本部	2名	CREST 成果技術の説明

## § 7 結び

まず反省点を述べる。第1に，当初は，目標として ppt レベルの 10 秒内での検出としていた。この 10 秒という値が SPR による計測時間を指すのか，サンプリングを含むトータル時間を指すのか曖昧であった。この点については，自分らでシステムを組んだことのない欠点がまともに出たと思っている。また，爆薬を含む空気を吸って検出する（吸い込み法）予定であったが，これは思ったより難しい作業であった。

プロジェクトをスタートさせて直ぐに関税中央分析所ならびに科学警察研究所の協力が得られることになり，こちらの研究の進捗に合わせ，何回もディスカッションを重ねるうちに，必要な感度に関する情報を得たり，現地での使い方への要望等をまとめることができたため，上記2点について装置のスペックを具体化することができた。その結果が，サンプリングを含むトータル計測時間は1分，感度は1ppb（TNT），拭き取り法，というものであった。この変更については，研究総括の板生教授の英断に依るところが大きく，私どもの提案を許可して頂いたことに対し，何度感謝しても足りないほどである。もちろん上記吸い込み法についても鋭意努力を続けて，それなりの結果を得ることができた。

試作機については，早くから製作に取りかかり，何度も実験を繰り返すことで改良を重ねてきた。改良した1次試作機は現地使用に適し，かつ基本性能は据え置き型のスウェーデン製の装置（ピアコア社）と互角であり，ポータブルタイプとして初めてここまで実現できたと自負している。2次試作機はさらに小型化されており，フロー系にもMEMS技術がふんだんに使われている。今後，この試作機が世界のデファクト・スタンダードになる可能性もあると予想している。

プロジェクト運営については，かなり柔軟に対応することで，本プロジェクトを成功裏に終了させることができたと考えている。九州の地場企業で技術力には定評のある（株）九州計測器が本格的に最後まで協力してくれたことで試作機の完成にこぎ着けることができた。

検出感度の点であるが，当然のことながら，TNTなどの爆薬分子を高感度で検出することは，学会で話題性のある話であり，実際，現在でも数多くの論文が発表されている。この事実は，超高感度爆薬検知センサは研究レベルであり，現地使用に直ぐ結びつくものでは

ないことを意味する。そこで、本プロジェクトでは、「学会レベルのチャンピオンデータを得ること」と「実用化」を意図的に差別化し、かつ前者の基礎研究を行いながら試作機を製作するという実用化研究を遂行した。その際、実用化研究の成果を常に基礎研究にフィードバックし、基礎研究を実用化レベルにどんどん近づけるという方法を取った。

上記のストラテジーの結果、まず基礎研究レベルでは、TNT を数 ppt という超高感度で検出することに早期に成功し（2005 年）、世界 1 のチャンピオンデータを発表することができた。しかしながら、これはあくまでも実験室での結果であり、例えば、センサチップの繰り返し使用ができない、非特異吸着の存在（TNT に対する選択性が低いことにつながる）という欠点を抱えており、本技術の実用化を考える上で是非とも解決しないといけない問題であった。結局、3 年間、幾つかの試行錯誤を繰り返しながら、最終的には自己組織化単分子膜（SAM）を採用することで、繰り返し使用可能で、かつ選択性の高いセンサチップの開発に成功した。本件は、特許出願に至っている。

このように、学会でも高く評価される基礎研究を遂行すると同時に、この成果に実用化を見据えた応用研究を絡めたことは強調するに余りあることであろう。なお、その応用研究に関税中央分析所の所員（水田氏）が多大な貢献をした。

また、本プロジェクトチームは生化学を専門とする松本教授、電気化学を専門とする三浦教授、そして電子工学を専門とする都甲から有機的に構成されていることも大きな特徴と言える。その結果、プロジェクト発足の早い時期から上記チャンピオンデータを生むことができ、それに実用化を加味した形でチャンピオンデータを維持することができた。さらにここで生み出されたモノクローナル抗体は九州大学の有体物管理センターに登録しており、所定の手続きを踏むことで一般に利用可能となる形にしたことも大きな成果と言える。

以上、4 年間の本プロジェクト遂行で、世界初のポータブル超高感度爆薬検知センサを開発することができた。12 月に本装置の実証試験に関税中央分析所で行い、既に述べたとおり満足のいく結果を得ることができた。

今後は、本センサのサンプリングを含む自動化、さらなる計測時間の短縮、空気を吸う方式への対応等の課題が残されており、それについては新たな継続的研究を走らせることを考えており、現在、幾つかのプロジェクトへの申請を完了、そして予定している。

若手研究者の育成について言及する。上記関税中央分析所の水田氏は九州大学の当研究室の社会人ドクターへ入学し、本プロジェクトの研究テーマを遂行している。

加えて、九大の小野寺助教（助手）は、プロジェクト発足当初から技術からチーム構成までの全てを把握し、本プロジェクトの推進に多大な貢献をしてくれた。彼なしでは本プロジェクトは遂行できなかった。今回は基礎研究から応用・実用化研究まで走り、その意味でも、小野寺氏という若手研究者の育成に本プロジェクトは役だったものと信じる。

なお、研究費の使い方については、おおむね順調に遂行したものと考えている。年度途中で、購入備品の変更・追加などができたため、非常に柔軟に研究開発を行うことができた。

本センサの開発は、まさに「日本の技術で世界の安全を守る」突破口をとなるものであり、これまで分析機器や計測機器の多くを海外に頼っていた日本社会に大きな福音ともなるものである。実際、2010 年 1 月 29 日に行われた JST 新技術説明会においては、本研究の成果である「表面プラズモン共鳴センサ、及びそのセンサチップの製造方法」について発表したところ、多数（当日 6 件、その後を含めると 7 件）の相談申込ならびに問い合わせがあり、この技術の他分野への応用、実用化へ向けての展開に対する期待が大きいことが証明された。本センサは低分子化合物の検出に広く適用できることから、昨今話題となっている麻薬等の不正薬物検知へも有効である。テロ対策ならびに不正薬物からの青少年保護、密輸の撲滅など、本センサの生む効果は多岐に渡り、社会の安全確保に関する分野に対し多大な貢献を果たすものである。

加えて、本センサは食品や香料など快適な生活を創造する「匂い」物質の測定も可能とし、今後「匂いを測る」という日本発の新しい産業の創出の端緒ともなり得るであろう。

全世界における匂い関連産業の市場規模は 200 兆円と見積もられており，その社会的・学術的効果には莫大なものがある。