

## 表面弾性波センサーを用いた乳房炎早期検出に関する研究

著者	福田 永, 今井 哲朗, 多田 芳広
雑誌名	室蘭工業大学地域共同研究開発センター研究報告
巻	26
ページ	59-61
発行年	2016-02
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10258/00008950">http://hdl.handle.net/10258/00008950</a>

## 表面弾性波センサーを用いた乳房炎早期検出に関する研究

著者	福田 永, 今井 哲朗, 埴田 芳広
雑誌名	室蘭工業大学地域共同研究開発センター研究報告
巻	26
ページ	59-61
発行年	2016-02
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10258/00008950">http://hdl.handle.net/10258/00008950</a>

# 表面弾性波センサーを用いた乳房炎早期検出に関する研究

福田 永<sup>\*1</sup>, 今井 哲朗<sup>\*2</sup>, 夢田 芳広<sup>\*1</sup>

## 1 はじめに

乳用牛の病気でもっとも多いのが乳房炎で、治療に使われる抗菌性物質が残留し、生乳に混入した事故は平成 25 年度、北海道では 78 件発生している。廃棄乳量は 1154.4 トンにのぼり、被害額ともに年々増加している。現状では生乳に残存する抗生物質を定量的に計測する測定手段が確立されていない。本研究では、生乳中の微量セファゾリン（抗生物質）濃度を検出できるバイオセンサーを開発することを目的とした。

## 2 概要

セファゾリンは、主に家畜における一般的な乳房炎病原菌を含むグラム陽性細菌に抗菌活性を示す物質である。日本では、動物用医薬品として、セファゾリンを主成分とする牛の乳房炎を適応症とした乳房注乳剤及びセファゾリンナトリウム又はその水和物を有効成分とする牛の細菌性肺炎、細菌性下痢症等を適応症とした静脈内及び筋肉内投与の注射剤が承認されている。セファゾリンが含まれた生乳を搾乳するヒューマンエラーが道内で年間約 1,000 トン起きており、農家では多大な損害が起きている。生乳内のセファゾリン濃度を検出できるセンサーが求められており、そのためレイリー型表面弾性波（SAW）溝流路型デバイスを新たに開発し分析を行った。

## 3 実験方法

本研究では水晶基板表面で特定のモードの弾性表面波(SAW)を誘起させ、生体分子間の相互作用をその信号測定でその場検出できるラボオンチップを開発した。

(図 1). 弾性波のモードとしては、ラブ波, SH-SAW, STW, レーリー波が存在することが知られている。この中で特にレーリー波は、深さ方向の変位をもつ横波のほかに波動伝播方向に変位をもつ縦波が励振され、表面を除いた基板内を等方的に広がりながら伝搬していく。このため、レーリー波伝搬面上に液体が存在する場合、波は液体中に縦波を放射してしまうため、その液体が流れたり、攪拌、飛翔したりする現象が生じるため減衰が著しく液体には適用できないとされてきた。本研究では、図 1 に示すように伝播路上に溝を設けたガラス基板を配置し、溝内にセファゾリン溶液を注入して測定を行った。最初に生乳 100%使用した市販の牛乳に質量濃度 0.2wt%になるようにセファゾリン油性乳房注乳剤（共立製薬製、品名セファゾリン LC「KS」）を混入した。セファゾリンを混入させていない

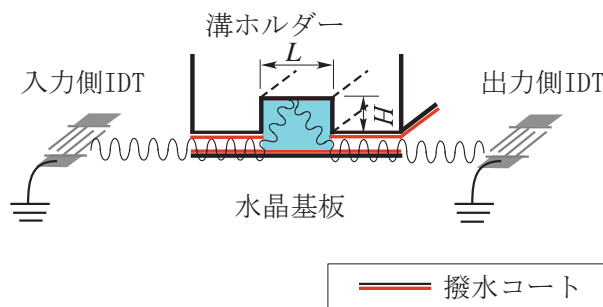


図 1 バイオセンサーの主要部

\*1：しくみ情報系領域 電子デバイス計測ユニット

\*2：今井動物病院 院長

市販牛乳の SAW 信号位相を基準とした測定についてネットワークアナライザを用いて行った。テストした液状のセファズリンは油性成分を含有し、そのため純水または牛乳に均一に混ぜることが困難である。そこで粉末状のセファズリンナトリウムを用いて同様の位相差測定を行った。さらに、生乳の油脂成分を除去するためフィルタを通して位相差測定を行った。

#### 4 実験結果

セファズリンを混入していない市販牛乳の位相を基準とした測定結果を図 2 に示す。比較のため純水についても測定した。図に示すように 0.2wt% のセファズリン溶液で約 36deg の位相変化がある結果を得た。

次に、セファズリン含有有無による生乳を 5 サンプル入手（入手先：北海道留萌振興局）し、位相測定を行った（表 1）。

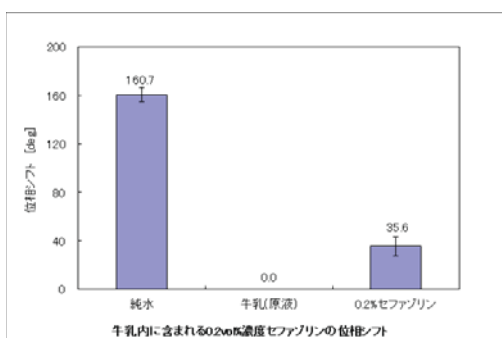


図 2 純水，牛乳，および 0.2%セファズリン含有牛乳の位相差比較

表 1 生乳サンプルの区分

サンプル番号	区分
1	抗生物質入り 乳房炎治療中
2	抗生物質入り 乳房炎治療中
3	分娩後4日目の生乳
4	泌乳後期の生乳(分娩予定6月10日)
5	分娩後80日経過した生乳(2月3日分娩)

生乳サンプル No.1 の位相を基準にし、各サンプルの位相シフト測定結果を図 3 に示す。セファズリンが含まれるサンプルは No.1 と No.2，含まないサンプルは No.3, No.4, No.5 であるが、位相シフト量に一定の傾向が見られなかった。これは、生乳内に含まれるセファズリン以外の脂肪やタンパク質などの成分が SAW 信号に影響したためと考えられる。

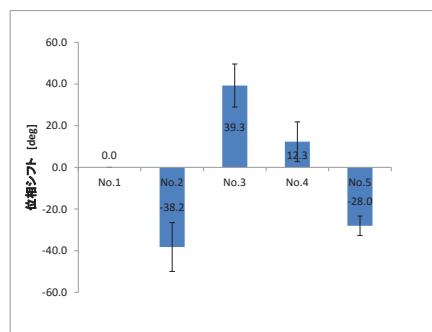


図 3 表 2 のサンプルにおける位相差比較

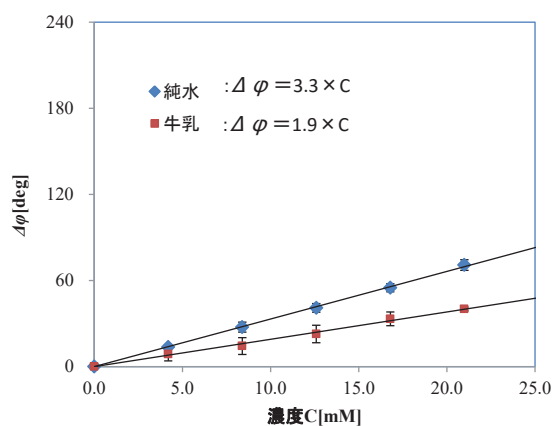


図 4 セファズリンナトリウム濃度による位相シフト（溝幅  $L=0.41\text{mm}$ ，溝高さ  $H=0.26\text{mm}$  の場合）

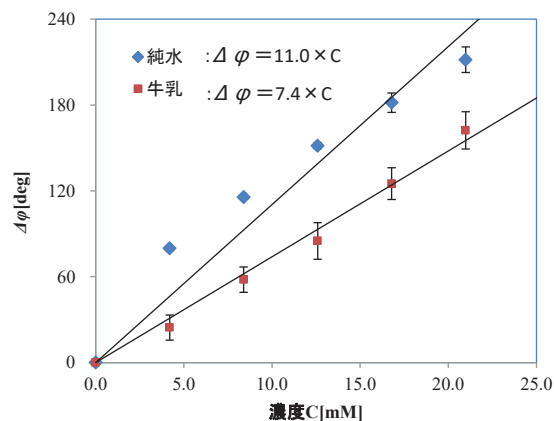


図 5 セファズリンナトリウム濃度による位相シフト（溝幅  $L=1.04\text{mm}$ ，溝高さ  $H=0.795\text{mm}$  の場合）

図 4 および図 5 に示すように、純水と市販牛乳を溶媒として、粉末状のファゾリンナトリウム濃度の位相シフト測定を行った結果、位相シフトが濃度に比例している傾向が示された。

次に生乳をろ過し油脂成分を除去した後、同様の位相測定を行った。ここでは、定性濾紙 (GE ヘルステア社 No.1, No.3, No.4) およびフィルタ (アドバンテック社 メンブレンフィルタ 保持径 0.45 $\mu$ m および 0.8 $\mu$ m を用い、10mM~50mM のサンプルを作製した。その結果、図 6 に示すように、0~20mM 濃度まで直線的に位相が変化し、その範囲内で検量化できることが明らかとなった。

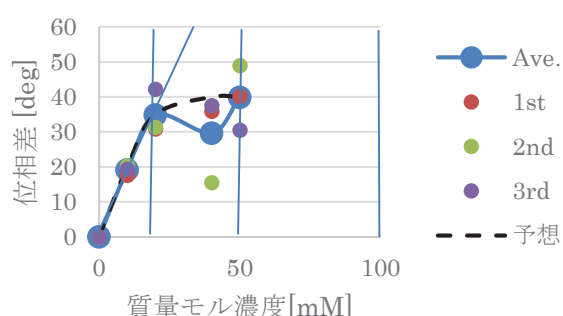


図 6 市販牛乳の位相差におけるセファゾリン濃度依存性

## 5 おわりに

今後は、本研究で明らかにした周波数および溝ホルダーの溝幅  $H$  と溝高さ  $L$  を最適化し、数  $\mu$ L の微量溶液にて  $\mu$ M~nM のタンパク質や抗原抗体反応の検知を目的としたバイオセンサーへの応用を進めていきたい。

開発したレイリー波を用いた溝流路型 SAW センサーは、試料溶液に含まれる特定の物質を検知することができないデメリットがある。特定物質の定量検出する技術として、金薄膜上の自己組織化単分子膜を形成し抗体を固定化する。また特定の抗原検出する方法がある。この技術と溝流路 SAW デバイスを組み合わせた研究を進める方針である。

## 文献

- 1) 平成 26 年度室蘭工業大学博士学位論文, 小川健吾
- 2) 小川健吾, 山田真也, 鳥越俊彦, 澤田 研, 岩佐達郎, 杉山史一, 夢田芳広, 植杉克弘, 福田 永 : 「レイリー型表面弾性波を用いた液相系センサーの動作特性」, 表面

科学, 第 35 巻第 6 号 p.319-323 (2014-6)

- 3) 小川健吾, 鳥越俊彦, 澤田研, 岩佐達郎, 永野宏治, 柴山義行, 夢田芳広, 植杉克弘, 福田永 : 「液相中への縦波放射を利用したレイリー型表面弾性波センサーの開発」, 電気学会 論文誌 E, Vol.135, No.12 (2015-12)
- 4) K. Ogawa, T. Abe, Y. Seino, T. Torigoe, Y. Tada, K. Uesugi, H. Fukuda, K. Sawada, T. Iwasa : Highly Sensitive Analysis of Glutathione and Glutathione S-transferase Reaction in Liquid Phase using Surface Acoustic Wave Biosensors, 7<sup>th</sup> International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics, D-P13, p.231, Fukuoka, Japan (2013-3)
- 5) K. Ogawa, T. Abe, Y. Seino, T. Torigoe, Y. Tada, K. Uesugi, H. Fukuda, K. Sawada, T. Iwasa : Highly Sensitive Analysis of Water-Insoluble Nanoparticles and Soluble Proteins in Liquid by Resonant Surface Acoustic Wave Modulation Measurement Wave Biosensors, 26<sup>th</sup> International Conference on Microprocesses and Nanotechnology, 7P-7-102, Sapporo, Japan (2013-11)
- 6) 特許出願  
出願日 : H25 年 10 月 23 日  
出願番号 : 特願 2013-220407  
発明の名称 : 表面弾性波センサおよび表面弾性波センサ装置  
出願人 : 室蘭工業大学, ファインクリスタル株式会社  
発明者 : 福田永 (室蘭工業大学), 小川健吾 (ファインクリスタル株式会社)