



## 生体機能指向型匂いセンサにおける弾性表面波の伝播特性の解析

|       |   |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: jpn<br>出版者:<br>公開日: 2018-11-21<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 楊, 玉霞<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="https://doi.org/10.15118/00009699">https://doi.org/10.15118/00009699</a>                 |

博士学位論文

生体機能指向型匂いセンサにおける  
弾性表面波の伝播特性の解析

2018年9月

室蘭工業大学大学院 工学研究科 博士後期課程  
生産情報システム工学専攻

楊 玉霞

PhD Thesis

Analysis of surface acoustic wave propagation velocity  
in biological function-oriented odor sensor

Yuxia Yang

Muroran Institute of Technology  
Division of Production and Information Systems Engineering

# 目次

|  |           |
|--|-----------|
| 略語リスト  | 1         |
| パラメータ  | 3         |
| <b>第 1 章 緒論</b>                                    | <b>5</b>  |
| 1.1 生体機能指向型匂いセンサ                                   | 5         |
| 1.2 弾性表面波型匂いセンサ                                    | 10        |
| 1.3 弾性波伝播の基礎理論                                     | 14        |
| 1.4 本研究の目的   | 23        |
| <b>第 2 章 SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播特性の理論計算</b>           | <b>25</b> |
| 2.1 SAW デバイスの構造と伝播する弾性波                            | 25        |
| 2.2 弾性表面波の伝播速度の理論計算                                | 28        |
| 2.2.1 波動方程式と境界条件                                   | 28        |
| 2.2.2 SAW の伝播速度の理論式の導出                             | 31        |
| 2.3 まとめ  | 41        |
| <b>第 3 章 Cp-Lip1 匂い結合タンパク質を用いた SAW 型匂いセンサの特性評価</b> | <b>42</b> |
| 3.1 実験目的および実験条件                                    | 42        |
| 3.1.1 実験目的   | 42        |

|              |                                       |           |
|--------------|---------------------------------------|-----------|
| 3.1.2        | 実験装置 . . . . .                        | 44        |
| 3.1.3        | 試料溶液 . . . . .                        | 50        |
| 3.1.4        | 測定方法 . . . . .                        | 52        |
| 3.2          | 実験データの処理方法 . . . . .                  | 54        |
| 3.3          | SAW デバイスを使った測定実験 . . . . .            | 56        |
| 3.3.1        | エタノール溶液の測定実験 . . . . .                | 56        |
| 3.3.2        | BSA 牛血清アルブミンタンパク質の測定実験 . . . . .      | 61        |
| 3.3.3        | Cp-Lip1 匂い結合タンパク質と匂い分子の測定実験 . . . . . | 65        |
| 3.4          | 実験結果 . . . . .                        | 82        |
| 3.5          | まとめ . . . . .                         | 82        |
| <b>第 4 章</b> | <b>匂い分子を同定するための伝播速度の理論解析</b>          | <b>84</b> |
| 4.1          | 匂い分子の伝播速度の理論解析 . . . . .              | 84        |
| 4.2          | 理論結果と実験結果の比較 . . . . .                | 86        |
| 4.3          | まとめ . . . . .                         | 90        |
| <b>第 5 章</b> | <b>結論</b>                             | <b>91</b> |
|              | 謝辞                                    | 93        |
|              | 参考文献                                  | 95        |
|              | 研究業績                                  | 99        |

## 略語リスト

SAW: Surface Acoustic Wave

MOSFET: Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor

IDT: Interdigital Transducer

SH: Shear Horizontal

SV : Shear Vertical

P-wave: Pressure wave

S-wave: Shear wave

R-wave: Rayleigh wave

L-wave: Love wave

MOS: Metal Oxide Semiconductor

MEMS: Micro Electro-Mechanical Systems

L-H: Length-Height

Cplip1: Cynops pyrrhogaster lipocalin

Cp-Lip1: Cynops pyrrhogaster Lipocalin protein

BSA: Bovine Serum Albumin

Tris: Tris(hydroxymethyl)aminomethane

R-L: R-Limonene

S-L: S-Limonene

Lim: Limonene

Eth: Ethyl butyrate

Iso: 2-Isobutylthiazole

Ben: Benzophenone

Ace: 2-Acetylthiazole

LSM : Least Squares Method

## パラメータ

$\lambda, \mu$  : ラメの定数 (Lame's constants)

$\mu$  : 剛性率、せん断係数

$\rho$  : 媒質の密度

$\nu$  : 媒質のポアソン比

$\rho_\ell$  : 液体の密度

$\rho_s$  : SAW デバイスの基板の密度

$\theta_{LR}$  : 漏洩レーリー角

$c_t$  : 固体中横波の伝播速度

$c_d$  : 固体中縦波の伝播速度

$c_L$  : 液体中縦波の伝播速度 (音速)

$c_R$  : レーリー波の伝播速度

$c_{LR}$  : 漏洩レーリー波の伝播速度

$c_{SAW}$  : SAW の総伝播速度

$D_{IDT}$  : SAW デバイスの IDT 電極間距離

$D_L$  : 液体中縦波の伝播距離

$D_R$  : レーリー波の伝播距離

$D_{LR}$  : 漏洩レーリー波の伝播距離

$m$  : 媒質の質量



$V$  : 媒質の体積

$K$  : 体積弾性率

# 第1章 緒論

## 1.1 生体機能指向型匂いセンサ

人間の五感は視覚、聴覚、触覚、味覚、嗅覚で感じる感覚情報である。この五感の中で、匂いを感じるメカニズムは特に複雑である。生物が匂いを感じる時、匂い分子は嗅覚細胞に存在する受容体に結合して、細胞電位が発生する。その発生した細胞電位は嗅神経を介して伝えられて、匂い情報が脳に送られる [1]。嗅覚器官で得られる情報はいろいろあり、多くの信号が転送されて必要な情報として認識される。

Richard Axel と Linda B. Buck は嗅覚の受容器が G タンパク質共役受容体の一種であることを示し、そのクローンを作った [1]。彼らは嗅覚の受容体に関する約 1000 種類の遺伝子が嗅覚受容体遺伝子の中にあると判断して、嗅覚作用に関する遺伝子と分子の解析に道を開いた [1]。そして、その業績により彼らは 2004 年にノーベル生理学・医学賞を受賞した。

近年、人間と同様に「匂い」を識別できる「匂いセンサ」が開発されているが、その性能は人をはじめとする生体におよばないのが現状である [1]。しかし、匂いセンサの研究は盛んに行われている。人間は鼻を使用して匂いを瞬間的に認識できる。欧米では、このような匂いセンサシステムを電子鼻 (Electronic noses : エレクトロニックノーズ) と呼んでいる。

五感に対応するセンサの中で、匂いセンサの開発が最も遅れている。その理由は、何十万種あるといわれている匂い分子を分類するメカニズムが未解明のためである [1]。しかし、近年、特定の匂いやガスを認識し、検知できる匂いセンサが開発されつつある。

現在、匂いセンサとして研究開発されているセンサには電気化学的手法、光学的手法、音響学的手法等が使われている。一般的には、匂いセンサの検出原理は、半導体的、電気的、熱的、磁氣的、光学的などに分

表 1.1: 電子鼻用匂いセンサの分類 [1]

|     | 分類   | 原理                          | 利点   | 欠点                               |
|-----|--|-----------------------------|--|----------------------------------|
| (1) | 金属酸化物半導体型<br>Metal Oxide Semiconductors                          | 電気伝導度の変化                    | 集積化可能、安い   | 動作温度が高温                          |
| (2) | 有機導電性ポリマー型<br>Organic Conducting Polymer                         | 電気伝導度の変化                    | 集積化可能、室温動作可能   | 湿度に敏感                            |
| (3) | ケモキャパシター<br>Chemocapacitor                                       | 高分子薄膜で匂いの<br>吸着や脱着反応        | CMOS(Complementally<br>Metal Oxide Semiconductor)<br>ベースケモセンサの応用可能 | 湿度に敏感                            |
| (4) | MOSFET 型<br>Metal Oxide Semiconductor<br>Field Effect Transistor | 表面ポテンシャルの変化                 | 集積化可能、<br>CMOS ベースケモセンサ<br>の応用可能                                   | 検出サンプルのゲート<br>への侵入が問題            |
| (5) | 水晶振動子型<br>Quartz Crystal Microbalance                            | 水晶基板で反射する<br>共振周波数の変化       | 高精度で安定な<br>発振素子である   | 集積化が問題、<br>電子回路との<br>インターフェースが問題 |
| (6) | 弾性表面波型<br>Surface Acoustic Wave                                  | 楕形電極上に発振する<br>弾性表面波の伝播特性の変化 | 高波数 (GHz) で動作が可能、<br>選択性の制御が容易である                                  | 電子回路との<br>インターフェースが問題            |
| (7) | 表面プラズモン共鳴型<br>Surface Plasmon Resonance                          | 匂い物質の屈折率<br>(誘電率) の変化       | 電氣的なノイズの<br>影響を受けない  | 高価                               |
| (8) | 蛍光型<br>Fluorescence  | 蛍光強度やスペクトル<br>の変化           | 電氣的なノイズの<br>影響を受けない  | 光源の制限あり                          |

けられる [1]。表 1.1 に電子鼻用として広く利用されている匂いセンサの分類を示す。表に示すように、電子鼻用匂いセンサは金属酸化物半導体型 (Metal Oxide Semiconductors)、有機導電性ポリマー型 (Organic Conducting Polymer)、ケモキャパシター (Chemocapacitor)、MOSFET 型 (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor)、水晶振動子型 (Quartz Crystal Microbalance)、弾性表面波型 (Surface Acoustic Wave)、表面プラズモン共鳴型 (Surface Plasmon Resonance) および蛍光型 (Fluorescence) などに分類される [1]。

表 1.1 の (1) に示した金属酸化物半導体型を用いた匂いセンサでは、半導体表面に物理化学的に酸素が吸着することにより、センサの電気伝導度が増加する。そして、電気伝導度の変化を測定することで匂いを検出する。匂いセンサとして使われる金属酸化物半導体には、主に酸化スズ ( $\text{SnO}_2$ ) や酸化亜鉛 ( $\text{ZnO}$ ) などがある。同表 (2) の有機導電性ポリマーを用いた匂いセンサは、無機材料である金属酸化物半導体型匂いセンサと同様な原理で動作している。しかし、有機導電性ポリマーは無機センサ材料に比べて、低温で動作可能があるため、材料選択の幅が広い。同表 (3) のケモキャパシターを用いた匂いセンサは、高分子薄膜で匂いの吸着や脱着反応により、観測量の変化量を検知できる。同表 (4) の MOSFET 型を用いた匂いセンサは、電界効果トランジスタのゲート作用を利用して、そのゲート電圧による表面ポテンシャルの変化より匂いに対して応答している。同表 (5) の水晶振動子を用いた匂いセンサでは、センサ内で発生する、音波を利用する。この音波は、水晶基板で反射して共振が発生する。匂い物質が付着してその共振周波数が変化することにより、水晶振動の電極上に匂い分子を認識する。同表 (6) の弾性表面波 (SAW : Surface Acoustic Wave) を用いた匂いセンサは、水晶振動子型匂いセンサと同じように、楕円電極上に共振する弾性表面波の伝播特性の変化を検知する。しかし、水晶振動子型匂いセンサに比べて、弾性表面波型匂いセンサは GHz の高い周波数帯で動作の可能性があるため、その感度は優れている。同表 (7) の表面プラズモン共鳴型を用いた匂いセンサは、金属薄膜近傍 (約  $1\mu\text{m}$  以内) において匂い物質の吸着による屈折率 (誘電率) の変化を検知することで、匂いセンサとして動作している。同表 (8) の蛍光型を用いた匂い

センサは、色素を固定化した表面に匂い分子が吸着すると、蛍光強度やスペクトルの変化などから匂い分子を認識する [1]。

弾性表面波型匂いセンサは、気相系に適用可能であるが、液相系での適用可能性は現在までの研究では確定していない。そのため、液相系で人間と同様な匂いを検知・識別できる匂いセンサシステムを実現する方法が検討されている。

一方、弾性表面波型匂いセンサにおいて、生体由来の匂い結合タンパク質を利用する方法がある。匂い分子は、弾性表面波の伝播経路上に配置した匂い結合タンパク質（リポカリンタンパク質）と結合すると、弾性表面波の伝播特性が変化する。一般的に、匂い分子は揮発性の低分子化合物であり、疎水性が多い [2]。両生類では、嗅覚受容体が匂い分子を結合し、その結合がリポカリンタンパク質の働くメカニズムによって、匂い分子を嗅上皮に存在する受容体タンパク質に渡して匂いを感じていると考えられている [3]。両生類では、疎水性分子と結合する匂い結合タンパク質が大量に粘液層に存在している [4]。

岩佐らは両生類のイモリを対象に嗅覚関連タンパク質を研究し、イモリ嗅上皮特異的に発現する *Cynops pyrrhogaster lipocalin* 遺伝子を発見した [2]。岩佐らはこの遺伝子を *Cplip1* と表記して、この遺伝子からできた匂い結合タンパク質を *Cp-Lip1* と呼んでいる。この *Cp-Lip1* 匂い結合タンパク質は嗅粘膜を生成するボーマン腺を構成する細胞で発現された [2]。発現した *Cp-Lip1* 匂い結合タンパク質はリポカリン・ファミリータンパク質に属する。リポカリン類タンパク質は疎水性の低分子の結合や輸送に関する水溶性タンパク質と考えられている [5]。図 1.1 は嗅覚受容体の組み合わせる経過を示している。同図で、岩佐研で作製した *Cp-Lip1* 匂い結合タンパク質をリポカリンタンパク質とした。つまり、*Cp-Lip1* 匂い結合タンパク質は疎水性物質の運搬体として働く。匂い分子の認識メカニズム中、匂い分子は疎水性があるため、本研究で *Cp-Lip1* 匂い結合タンパク質を運搬体として使った。

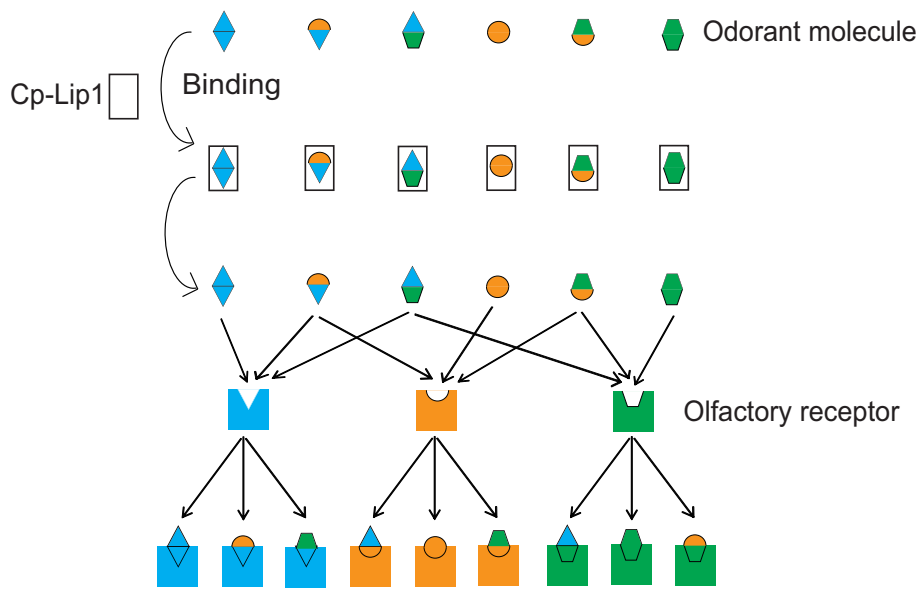


図 1.1: 嗅覚受容体の組み合わせる経過

## 1.2 弾性表面波型匂いセンサ

弾性表面波 (Surface Acoustic Wave、以下 SAW と表記) とは、異なる媒体の界面に沿って伝播する弾性波である [6,7]。SAW は 1885 年に英国の物理学者 Lord Rayleigh によって理論的に報告された [8]。近藤らによれば、1959 年に Sauerbrey は水晶振動子電極表面への物質の吸着や脱着を周波数変化として検出し、その理論式を導出して SAW をセンサとした最初の研究を行った [9]。1965 年に White と Voltmer によって、楕形電極 (IDT: Interdigital Transducer) を利用する高効率励振法が報告された [10]。また、山之内と柴山はすだれ状電極による弾性表面波の励振方法を開発した [11]。彼らは IDT を用いた圧電結晶表面に逆圧電効果により SAW を励振できることを明らかにした。一方、1979 年 Wohltjen と Dessy によって、SAW を用いたセンサの応用が報告された [12]。彼らはレーリー波を使った SAW デバイスでガスクロマトグラフィへの応用と温度によるポリマーの化学的な特性変化などを検出した。さらに、この原理を利用して気相系センサとして匂いセンサ、湿度センサ、ガスセンサなどが提案された [9]。一方、1977 年に中村らは弾性表面波の粒子運動が境界面に平行に伝播する Leaky-SAW があることを報告した [13]。その Leaky-SAW は粒子運動が境界面に平行なため、SH(Shear Horizontal)-SAW と呼ばれている。

SAW 型匂いセンサは楕形電極で発振する周波数の変化を検知し、GHz の高い周波数帯で動作の可能があるため、感度は優れている。それゆえ、一般的には、楕形電極の間の匂い感応領域で、ガスや匂い分子を検出する SAW 型匂いセンサが開発されている [1]。

SAW 型匂いセンサは主に以下の三つの分野で研究や応用が進められている。(1) 匂いセンサは単純な匂いの認識や検知に用いられている。Ballantine らは、SAW 型センサを使って、約 11 種類の匂い物質からの匂いを測定し、主成分分析とクラスター分析より、それらを検知できることを報告した [14]。(2) SAW 型匂いセンサは食品、化粧品および医療など生理学分野に応用されている [1]。Ohnishi らは、SAW 型センサで定量的構造活性相関方法より、細胞質膜に関連する多くの種類の活性を分析することができることを報告した [15]。(3) SAW 型匂いセンサが匂いセンサ材料のインテリジェント化および多機能化先端技術への応

用がある。匂いセンサの主材料の機能設計、作製および匂いセンサの自己修復、分子認識、自己診断など機能を SAW 型匂いセンサにもたせることが可能である [1]。

室蘭工業大学の福田永研究室では、匂いセンサとしてレーリー波型 SAW デバイスを開発した [16]。その開発されたレーリー波型 SAW デバイスでは、レーリー波を液相センサとして応用するために、試料溶液の液漏れを防止できる溝ホルダーを用いている。図 1.2 に示すように、SAW デバイスで使用する溝ホルダーは、内壁が親水性、その周辺が撥水性に表面処理して、固体/液体界面での表面張力を利用する溝流路である。また、溝内に試料溶液を閉じ込めて、溶液の形状を外部環境に影響することなく固定できる。それゆえ、この構造した溝ホルダーを用いたレーリー波型 SAW デバイスにより、試料溶液の物性を位相変化として測定できる [16]。図 1.3 は、弾性表面波型匂いセンサとした SAW デバイスの構造を示している。同図に示すように、SAW デバイスの水晶基板表面ではエネルギーが集中した状態で伝播している。その振動エネルギーの大部分は基板の表面に集中しているため、表面に形成された IDT に測定信号の発生、検出が可能である [7]。

SAW 型匂いセンサは、SAW の伝播経路上に匂い物質に反応する匂い結合物質を含む高分子感応膜を配置する。そして、高分子感応膜を選択することで、多くの匂いに対して応答するセンサを作製できるため、様々な匂い物質を検出できる可能性がある [7,17]。それゆえ、匂い物質を検知・識別するために、著者は「匂いセンサ」として生体物質を利用した SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播特性を研究する。

本研究で構想する匂いセンサは、人間の嗅覚のアルゴリズムを模擬する [18-20]。図 1.4 は生体機能指向型匂いセンサシステムを示している。同図に示すように、嗅覚のアルゴリズムでは、匂いに対して嗅神経細胞から得られる信号を嗅球に集めてパターンとして脳が記憶し、もう一度同じ匂いをかいだ時、記憶したパターンと比較し、識別を行う [1]。同様に、生体機能指向型匂いセンサは、嗅神経細胞として複数種のセンサ素子を使用し、嗅球としてセンサ応答があって、測定するデータをコンピュータ処理と組み合わせる。



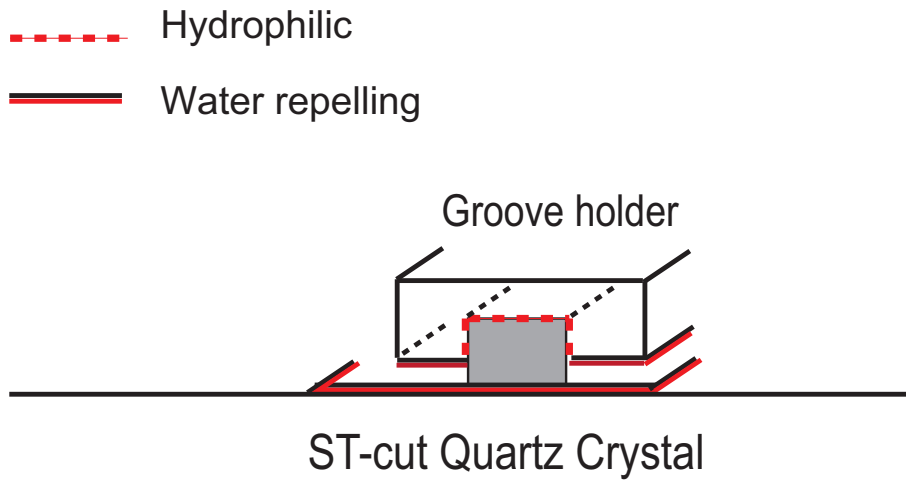


図 1.2: SAW デバイスで使用する溝ホルダーの構造

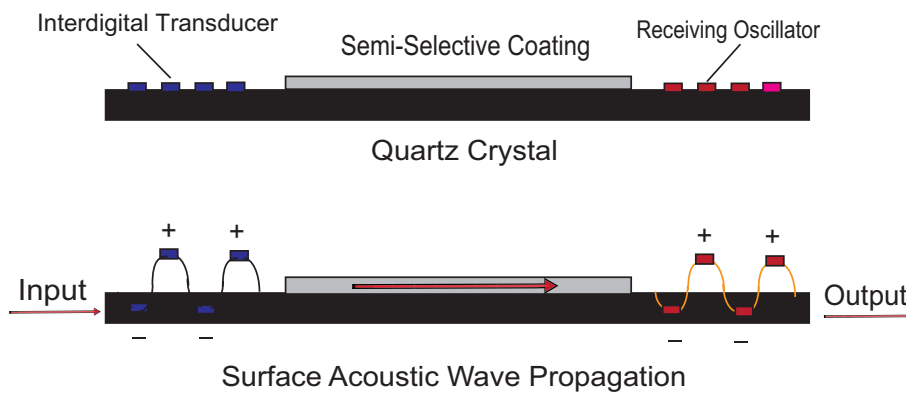


図 1.3: SAW デバイスの構造

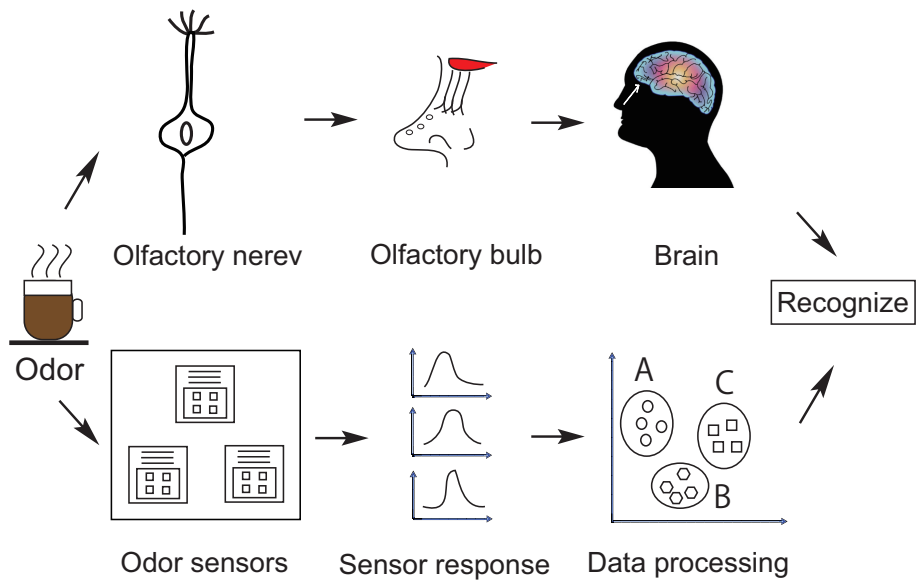


図 1.4: 生体機能指向型匂いセンサシステム

### 1.3 弾性波伝播の基礎理論

弾性波には実体波と表面波がある。表 1.2 に弾性波の分類とそれらの特性を示す。実体波は、無限大の媒体内部で圧縮変形やせん断変形が伝播する弾性波である。圧縮変形が伝わる弾性波を P-波 (Pressure wave) と呼ぶ、せん断変形が伝わる弾性波を S-波 (Shear wave) と呼ぶ。図 1.5 に実体波の P-波と S-波の伝播を示す。同図に示すように P-波は進行方向に平行に振動する。S-波は進行方向と垂直な面内で振動する。一方、境界表面の近くに、境界条件の制約によって、表面波が発生する。図 1.6(a) に示すように、地震学では、粒子運動が境界表面に垂直する波を SV(Shear Vertical) 波、境界表面に平行する波を SH 波と呼ばれている。図 1.6(b) に示すように、表面波は、レーリー波 (Rayleigh wave) とラブ波 (Love wave) の二種類に大きく分れる。これらの弾性波の伝播速度は物質の密度や弾性定数に依存する。半無限媒質では、レーリー波の伝播速度は、S-波の伝播速度の約 0.92 倍である [21]。

実体波と比べると、レーリー波は減衰が少ない。図 1.7 ではレーリー波の粒子運動を示している。図 1.7 に示すように、レーリー波の粒子運動は楕円の軌跡を描いて運動する。その粒子運動は表面に垂直かつ伝播方向に平行な面内で振動し、その大きさは自由表面から遠ざかると指数関数的に減衰する [22]。

固体中を縦波と横波が平面波として伝播しているとする。図 1.8 と図 1.9 では、固体/真空界面と固体/液体界面におけるその 2 つの波の反射を示す。固体/真空界面では、その表面の垂直応力と境界面に平行な応力はゼロである。固体/液体界面では、液体の圧力は、固体の垂直応力に等しい。また、その境界面でのせん断応力がゼロである。

SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播速度は、SAW デバイスの基板の弾性及び密度と匂い媒質の密度および粘弾性に依存する [7]。本研究では、匂い媒質としてニュートン流体を仮定し、その密度と粘弾性に対応する弾性表面波の理論式を計算する。図 1.10 に SAW デバイスで液体の物性値 (粘度、密度、弾性率など) を検出する概念を示す。図 1.10(a) に SAW デバイスの自由表面を示す。また、図 1.10(b) の伝播面上に基準液体、図 1.10(c) の伝播面上に試料液体を負荷する。そして、図 1.10(b) と図 1.10(c) の差動出力

について、ニュートン流体における弾性波伝播の解析から、粘度と密度の関係を求める。図 1.11 にニュートン流動を示す。同図で、ニュートン流動を表現するために、面を流線に平行にとり、流速の方向に  $x$  軸を、面に垂直に  $y$  軸をとって、速度の  $x$  成分を  $u$  とする。接線応力  $\tau_{xy}$  とずり速度  $\frac{\partial u}{\partial y}$  との関係を

$$\tau_{xy} = \mu \frac{\partial u}{\partial y} \quad (1.1)$$

の形に表したとき、 $\mu$  は粘性率で場所と時間によらない [23]。

表 1.2: 弾性波の分類と特性 [6, 24]

ここで、 $\lambda$  と  $\mu$  は媒質のラメの定数である。 $\rho$  は媒質の密度、 $\nu$  は媒質のポアソン比、 $c_t$  は媒質中横波の伝播速度を示す。

| 分類  |                     | 伝播速度                               | 振動形態                |
|-----|---------------------|------------------------------------|---------------------|
| 実体波 | P-波 (Pressure wave) | $\sqrt{\frac{\lambda+2\mu}{\rho}}$ | 進行方向に平行に振動する        |
|     | S-波 (Shear wave)    | $\sqrt{\frac{\mu}{\rho}}$          | 進行方向と直角に振動する        |
| 表面波 | R-波 (Rayleigh wave) | $\frac{0.87+1.12\nu}{1+\nu}c_t$    | 進行方向を含む垂直面内で楕円運動を行う |
|     | L-波 (Love wave)     | -                                  | 表面に平行で伝播方向に垂直する     |

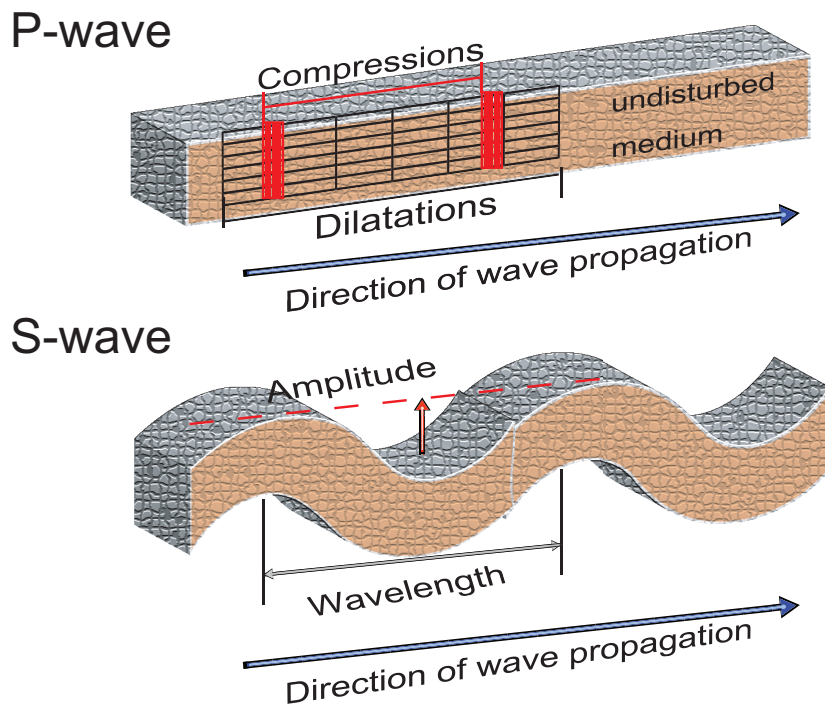
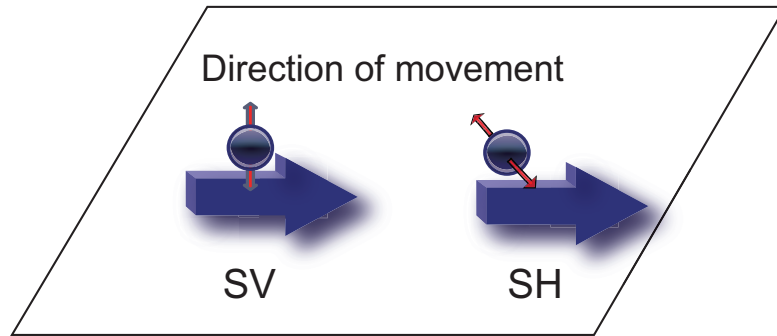
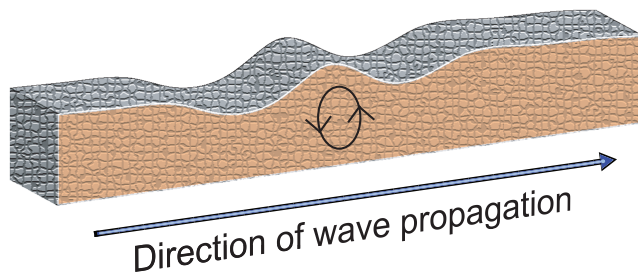


図 1.5: 実体波 : P-波 (Pressure wave) と S-波 (Shear wave) の伝播

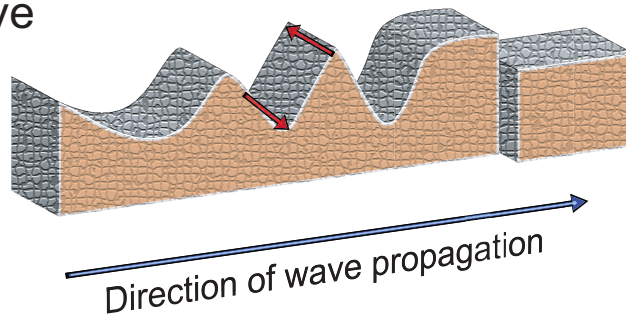


(a)

### Rayleigh wave



### Love wave



(b)

図 1.6: 表面波 : レーリー波とラブ波

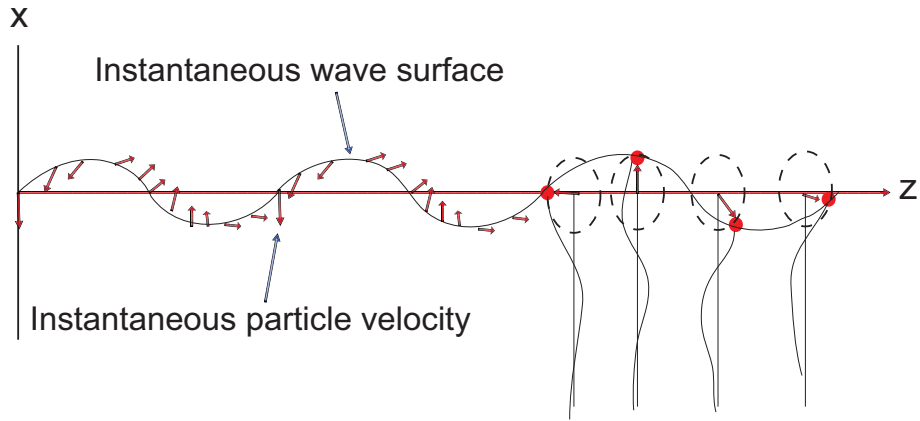


図 1.7: レーリー波の粒子運動

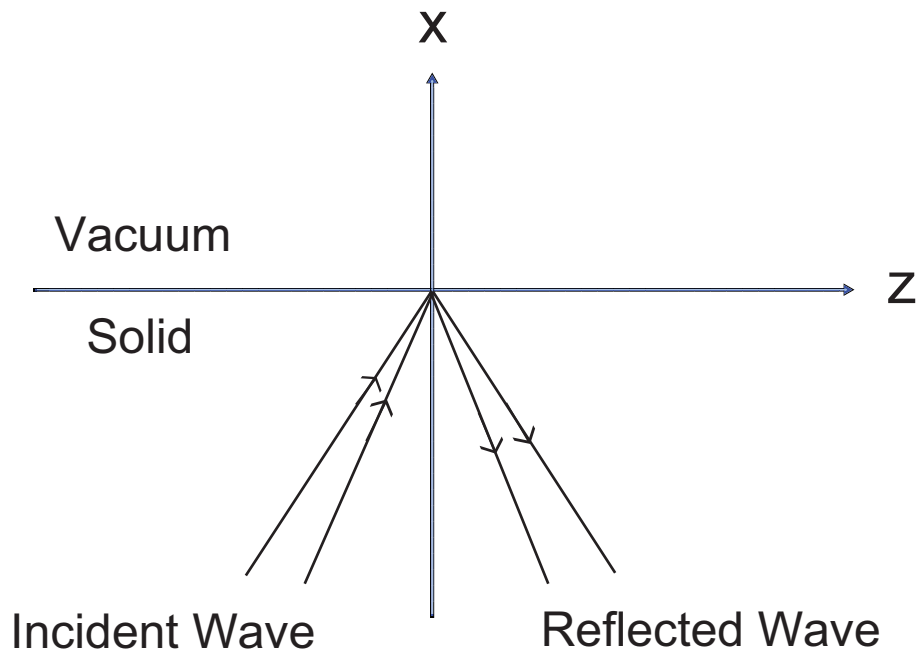


図 1.8: 固体/真空界面における平面波の反射



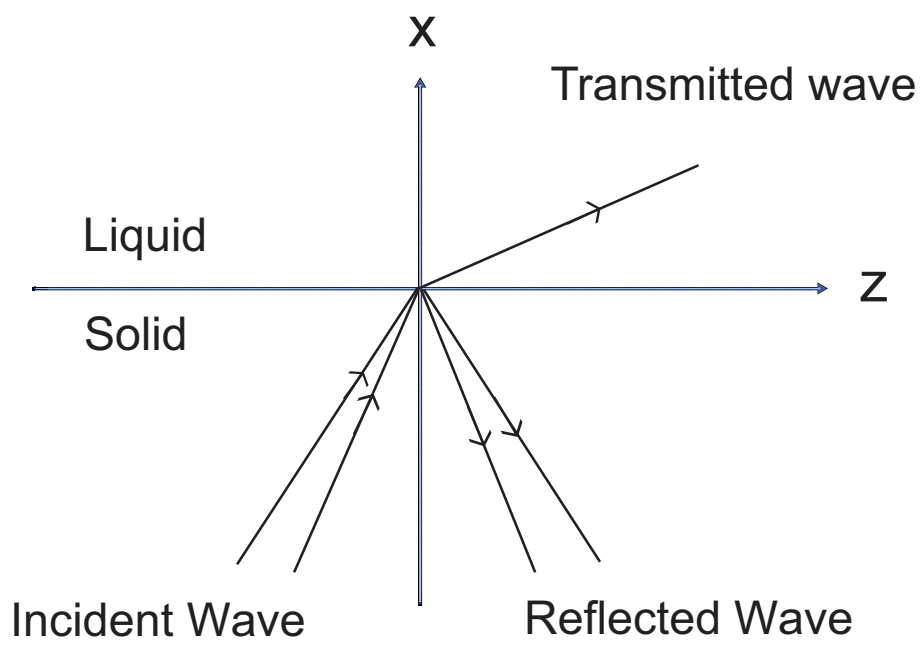


図 1.9: 固体/液体界面における平面波の反射

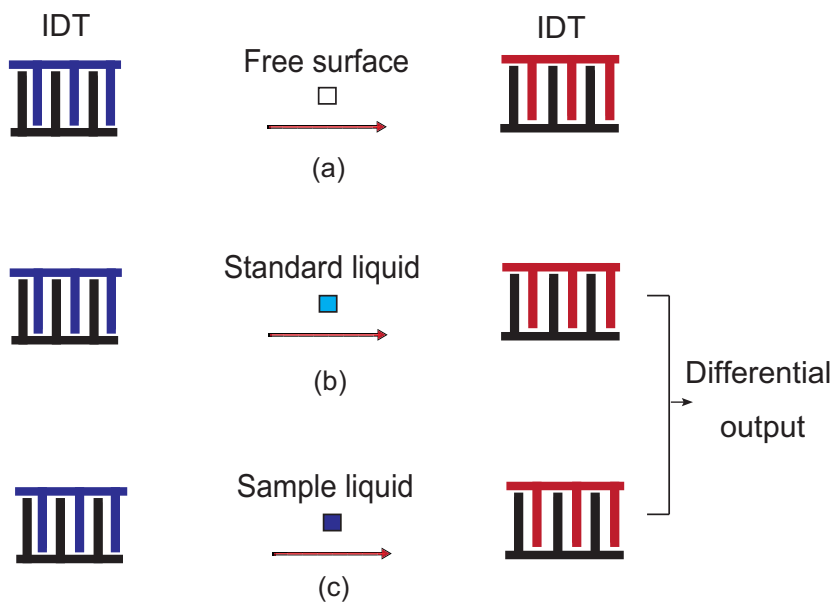


図 1.10: SAW デバイスで匂い媒質の物性値を検出する概念

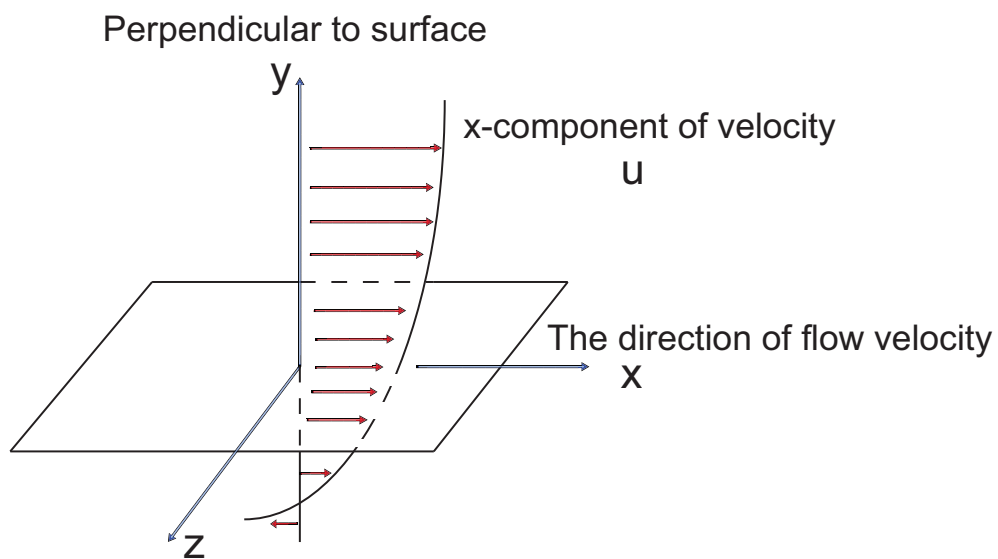


図 1.11: ニュートン流動

## 1.4 本研究の目的

本研究では、生体機能物質を使った匂いセンサを実現することを目的とする。そして、レーリー波型 SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播特性を理論と実験により明らかにする。具体的には、次の研究目的を実現するために本研究を行った。

1. 哺乳動物のフェロモンの受容、識別機構についての最新の研究成果と感性バイオセンサを認識し、「匂いセンサ」からの出力信号の計測方法を確立する。本研究では、ヒトの反応と製作した「生体機能指向性匂いセンサ」の出力信号の関係を明らかにする。また、「匂いセンサ」からの出力信号の計測方法を確立する。
2. 「匂いセンサ」の出力を時間領域と周波数領域で多変量解析し、匂いセンサに対応する反応を出力する信号処理法を開発する。その多成分信号の特徴を表現する信号処理法を提案する。
3. Cp-Lip1 匂い結合タンパク質を用いたセンサにおける弾性表面波の伝播特性を理論計算と実験により調べる。実験結果と弾性波の理論計算結果を比較して、匂い結合タンパク質に反応する匂いセンサのための信号処理法を開発する。そのために、
  - (a) 匂いセンサを伝播する弾性表面波としてレーリー波の伝播特性を計算する。
  - (b) 弾性表面波センサの上に匂い結合タンパク質を入れる時、弾性表面波の伝播特性の変化を計算する。
  - (c) 弾性表面波センサにおいて、匂い結合タンパク質との反応を実験的測定し、理論計算と比較する。
  - (d) 実験結果と弾性表面波の理論結果を比較して、匂い結合タンパク質に反応する匂いセンサのための信号処理法を開発する。

生体由来の匂い結合タンパク質を用いて SAW 型匂いセンサの特性を評価する。SAW デバイスの伝播速度は基板の材料及び SAW に置いた媒質の密度と粘弾性に依存する。著者は、液体媒質を適当な濃度に希釈

して、SAWの伝播速度を実験的に観察した。また、SAWデバイスで伝播する弾性表面波の伝播速度を理論的に計算した。そして、計算した理論速度の有効性について検証を行い、その結果と実験結果を比較した。

本論文の構成では、第2章は匂いセンサに対応する反応を出力する信号処理法を開発するために、SAWデバイスにおける弾性表面波の伝播速度の理論式を導出する方法を述べる。第3章はCp-Lip1匂い結合タンパク質を用いたSAW型匂いセンサの特性を実験的に評価する。第4章は実験的に評価した匂い分子を理論的に解析し、その理論と実験の比較結果を述べる。第5章は本研究の結論を述べる。

## 第2章 SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播特性の理論計算

本研究で匂いセンサとして検討するレーリー波型 SAW デバイスでは、SAW の伝播路上に匂い結合タンパク質を含む液層を配置する。したがって、この SAW デバイス上では、様々な種類の弾性波が変換しながら伝播する。なお、本論文で研究文稿とするレーリー波型 SAW デバイスを SAW デバイスと表わす。

### 2.1 SAW デバイスの構造と伝播する弾性波

福田永研究室で開発した SAW デバイスでは圧電体表面に配置した IDT 電極に高周波を印加する。本研究では、SAW デバイスに、Z 軸を基準に反時計方向に  $42^{\circ} 45'$  傾けて切断した 42Y-45X ST カットを使っている。このカットは圧電係数が小さいながらも、温度による影響が低いため、周波数特性の温度変化が小さくなる [16]。試料溶液の物性値を測定する場合、高周波ほど高感度である [16]。この SAW デバイスでは、漏洩レーリー波が液体中への縦波を放射する現象を利用するため、撥水性と親水性を設けたガラス製の溝ホルダーを SAW デバイス上に設置した。また、溝開口内に試料溶液を閉じ込めることで試料溶液を固定している。図 2.1 に示すように、SAW の伝播経路上に液体があるとき、その伝播経路では、漏洩レーリー波が液体中へ縦波を放射し、溝開口の底で縦波が反射し、圧電材料である水晶基板に戻り、再び漏洩レーリー波に変換する [16]。それゆえ、SAW デバイスでは、匂い分子を測定するとき、レーリー波、漏洩レーリー波 (Leaky Rayleigh wave) と縦波が伝播する。

レーリー波は、圧電基板に沿って伝播し、その粒子運動は波の進行方向に平行な楕円運動を示す。レーリー波の粒子運動は深さ方向に指数関数状に小さくなり、レーリー波のエネルギーは基板表面に集中している [7]。一方、漏洩レーリー波は、エネルギーを漏洩バルク波 (Leaked Bulk Wave) として液層中漏洩しな

がら伝播する。漏洩レーリー波はレーリー波より高速である [7]。

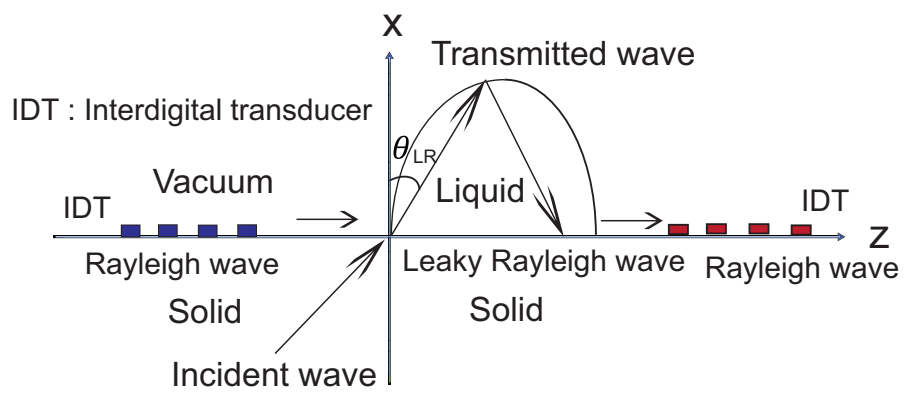


図 2.1: SAW デバイスの波動伝播



## 2.2 弾性表面波の伝播速度の理論計算

### 2.2.1 波動方程式と境界条件

SAW デバイスでは、SAW の伝播経路上に液体が存在すると、その液体がある基板上を漏洩レーリー波が伝播する。図 2.2 は固体/真空、固体/液体界面で伝播する SAW を模式的に示す。固体/真空界面でレーリー波が伝播し、固体/液体界面で漏洩レーリー波が伝播する。液体中に漏洩レーリー波が放射する縦波の放射角度を漏洩レーリー角という。本研究では漏洩レーリー角を  $\theta_{LR}$  と表記する。同図に示すように、液体が SAW デバイスの表面に存在するとき、SAW はスネルの法則に従い、漏洩レーリー角で液体中に縦波を放射する。このような SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播速度は基板及び基板上の液体の密度と弾性定数に依存する。

固体/液体界面で伝播する漏洩レーリー波の伝播速度を計算する。等方性固体中の点の座標を  $P(x,y,z)$  と考え、フックの法則に従う理想的な固体を仮定する。 $\rho_s$  は等方性固体の密度である。固体中  $P$  の  $x$  軸、 $y$  軸、 $z$  軸方向の変位  $u,v,w$  に関する運動方程式より次の 3 式が得られる。

$$\rho_s \frac{\partial^2 u}{\partial t^2} = (\lambda + \mu) \frac{\partial \Delta}{\partial x} + \mu \nabla^2 u \quad (2.1)$$

$$\rho_s \frac{\partial^2 v}{\partial t^2} = (\lambda + \mu) \frac{\partial \Delta}{\partial y} + \mu \nabla^2 v \quad (2.2)$$

$$\rho_s \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = (\lambda + \mu) \frac{\partial \Delta}{\partial z} + \mu \nabla^2 w \quad (2.3)$$

ここで、

$$\Delta = e_{xx} + e_{yy} + e_{zz} = \frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\partial w}{\partial z} \quad (2.4)$$

$$\nabla^2 = \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} \quad (2.5)$$

である。

横波は液体中に存在しないため、波体の剛性率（せん断係数） $\mu$  はゼロである [6]。液体の密度は  $\rho_\ell$  であり、液体の運動方程式は次の3式となる。

$$\rho_\ell \frac{\partial^2 u}{\partial t^2} = \lambda \frac{\partial \Delta}{\partial x} \quad (2.6)$$

$$\rho_\ell \frac{\partial^2 v}{\partial t^2} = \lambda \frac{\partial \Delta}{\partial y} \quad (2.7)$$

$$\rho_\ell \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = \lambda \frac{\partial \Delta}{\partial z} \quad (2.8)$$

スカラーポテンシャル関数  $\phi$  とベクトルポテンシャル関数  $\varphi_i (i = x, y, z)$  は次の波動方程式

$$\nabla^2 \phi = \frac{1}{c_d^2} \frac{\partial^2 \phi}{\partial t^2} \quad (2.9)$$

$$\nabla^2 \varphi_i = \frac{1}{c_t^2} \frac{\partial^2 \varphi_i}{\partial t^2} \quad (2.10)$$

を満たす。ただし、 $c_d$  と  $c_t$  はそれぞれ、SAW デバイスの基板における縦波と横波の伝播速度である。固体/液体界面で境界条件として、

- (1) 液体中の圧力が固体中の垂直応力と等しい
- (2) 境界面の横方向応力がゼロ

が通常仮定される [6]。

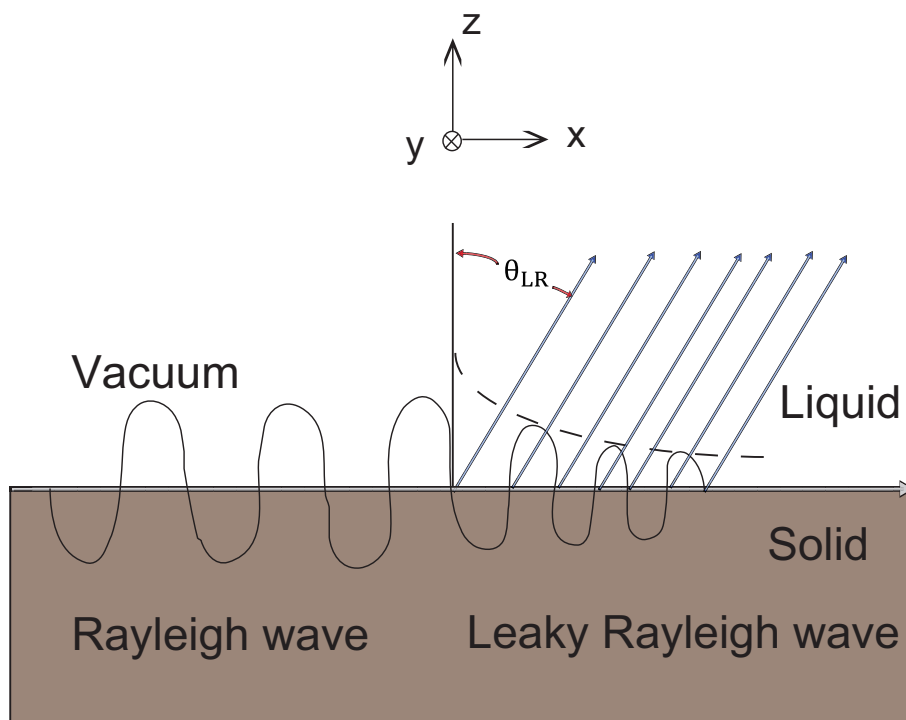


図 2.2: 固体/真空、固体/液体界面で伝播する弾性表面波

### 2.2.2 SAW の伝播速度の理論式の導出

SAW デバイスの基板の弾性は固体のポアソン比  $\nu$  に依存する。漏洩レーリー波の伝播速度  $c_{LR}$  は、漏洩レーリー角  $\theta_{LR}$  および媒質の弾性定数に依存するため、ポアソン比と漏洩レーリー角に対応する漏洩レーリー波の速度の変化を計算する。その関係は、

$$\left(\frac{c_t}{c_d}\right)^2 = \frac{1-2\nu}{2-2\nu} \quad (2.11)$$

$$\frac{c_t}{c_L} = \frac{1}{\sin\theta_{LR}} \quad (2.12)$$

である。ここで、 $c_t$  は固体中の横波の速度、 $c_d$  は固体中の縦波の速度、 $c_L$  は液体中縦波の速度（音速）を示す。その計算した結果を図 2.3 に示す。同図で、漏洩レーリー角はそれぞれ  $30^\circ$ 、 $45^\circ$ 、 $60^\circ$  である。この結果によれば、漏洩レーリー角が大きくなると、漏洩レーリー波の伝播速度は速くなる。

固体/液体界面での境界条件をポテンシャル関数に代入し、漏洩レーリー波の伝播速度  $c$  に関する方程式を導出する。理論解析により導いた SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播速度に関する方程式は

$$8\left(\frac{c_t}{c}\right)^2 \left\{1 - \left(\frac{c_t}{c}\right)^2\right\} \left\{2\left(\frac{c_t}{c}\right)^2 \left(\frac{c_t}{c_d}\right)^2 - 2\left(\frac{c_t}{c}\right)^2 + 1\right\} - 1 = -j \left(\frac{\rho_l}{\rho_s}\right) \frac{(c_t/c)^2 - (c_t/c_d)^2}{(c_t/c_L)^2 - (c_t/c)^2} \quad (2.13)$$

である。式 (2.13) の中で、液体の密度  $\rho_l$  がゼロである時、式の右辺がゼロになり、理論式 (2.13) は真空/固体界面でのレーリー波の伝播を表わす方程式になる。

SAW デバイスにおける漏洩レーリー波の伝播速度  $c$  の理論式 (2.13) は、 $c$  について 8 つの複素数根と 2 つの実数根がある。一方、漏洩レーリー波の伝播速度はレーリー波の伝播速度より速い。そして、この 2 つの実数根の中で、SAW デバイスの固体/液体表面を伝播する漏洩レーリー波の伝播速度を改ためて  $c_{LR}$  とすると

$$\frac{c_{LR}}{c_t} = \frac{1}{\text{Re}[c_t/c]} \quad (2.14)$$

である。その中、伝播速度が速い値が漏洩レーリー波の伝播速度を表わす。これによって SAW デバイスで伝播するレーリー波と漏洩レーリー波の伝播速度を理論的に計算できる。

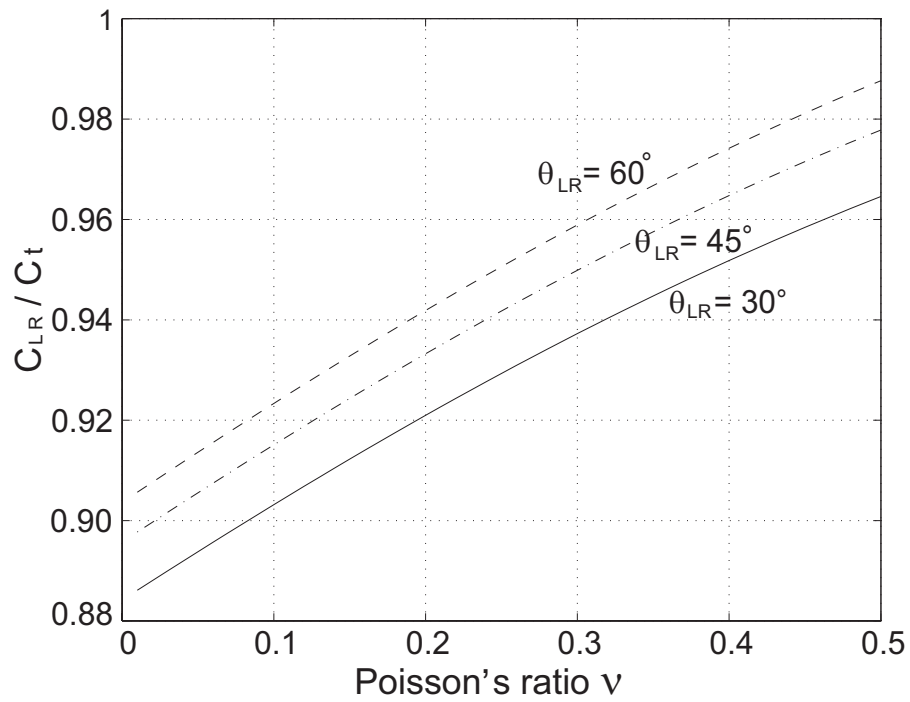


図 2.3: ポアソン比  $\nu$  と漏洩レーリー角  $\theta_{LR}$  に対応する漏洩レーリー波の伝播速度  $c_{LR}$  ( $c_t$  は固体中の横波の伝播速度)

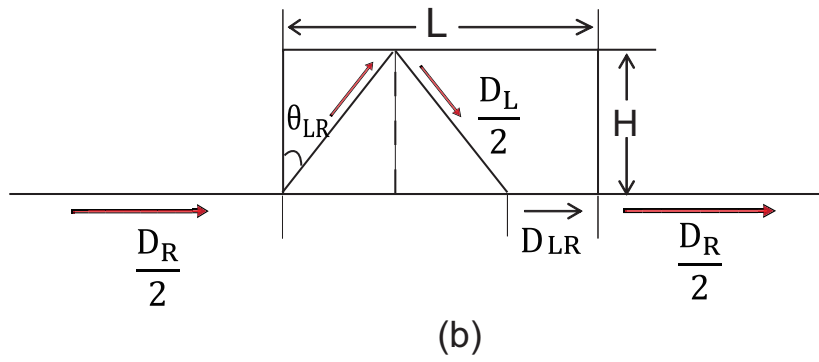
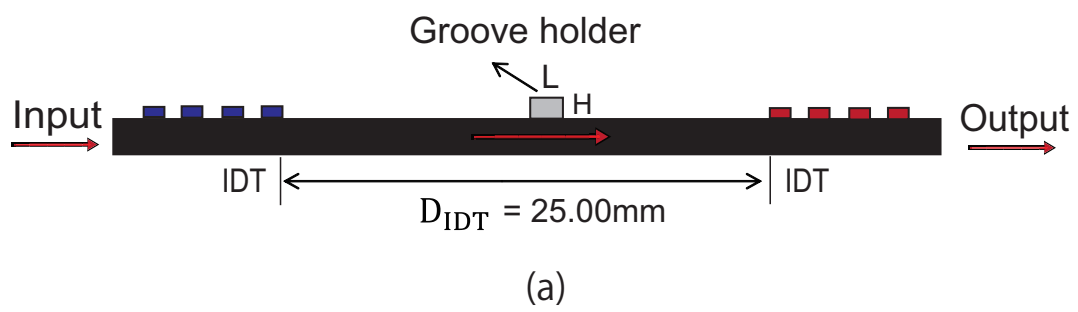


図 2.4: SAW デバイスで伝播する弾性表面波の伝播距離

SAW の伝播距離は SAW デバイスの IDT 電極間距離と溝の形に依存する。図 2.4 は SAW デバイスで伝播する SAW が伝播する経路を示している。本実験で使った SAW デバイスの IDT 電極間距離  $D_{IDT}$  は 25.00mm であり、溝幅-溝高さをそれぞれ  $L$  と  $H$  とする。同図 2.4(b) では、レーリー波の伝播距離  $D_R$ 、液体中縦波の伝播距離  $D_L$ 、漏洩レーリー波の伝播距離  $D_{LR}$  を示す。溝開口内に進む縦波と反射波が励起した漏洩レーリー波の伝播距離の幾何学的な関係を小川が報告している [16]。それらと漏洩レーリー角  $\theta_{LR}$  の幾何学的関係は、

$$D_{LR} = L - 2H \cdot \tan\theta_{LR} \quad (2.15)$$

$$D_L = \frac{2H}{\cos\theta_{LR}} \quad (2.16)$$

である。この三種類の弾性波の伝播距離と SAW の伝播する総距離の関係より SAW の総伝播速度  $c_{SAW}$  は

$$c_{SAW} = \frac{D_R}{D_R + D_L + D_{LR}} c_R + \frac{D_L}{D_R + D_L + D_{LR}} c_L + \frac{D_{LR}}{D_R + D_L + D_{LR}} c_{LR} \quad (2.17)$$

である。

本研究で使った SAW デバイスの液体層には Cp-Lip1 匂い結合タンパク質、トリスヒドロキシメチルアミノメタン (Tris-HCL) 緩衝液 (以下 Tris 緩衝液と略記する) と匂い分子の混合物を置く。一方、この匂い媒質の漏洩レーリー波の伝播速度を理論的に計算する時、Cp-Lip1 と結合した匂い分子溶液の総密度を明らかにする必要がある。匂い分子溶液中 Cp-Lip1 の密度  $\rho_1$  とモル濃度  $c_1$  の関係は

$$\rho_1 = \frac{c_1 M_1}{1000 w_1} \quad (2.18)$$

である。ここで、 $w_1$  は Cp-Lip1 の質量分率 (無次元量)、 $M_1$  は Cp-Lip1 のモル質量 (単位は g/mol) である。なお、g/mol の単位で表わしたモル質量の数値は、その物質の原子量または分子量に等しい [25]。匂い分子溶液の総密度  $\rho$  の計算には、総体積  $V$  および総質量  $m$  を用いた。以上より Cp-Lip1 と結合した匂

い分子溶液の総密度  $\rho$  は

$$\rho = \frac{m}{V} = \frac{m_1 + m_2 + m_3}{V_1 + V_2 + V_3} = \frac{\rho_1 V_1 + \rho_2 V_2 + \rho_3 V_3}{V_1 + V_2 + V_3} \quad (2.19)$$

である。ここで、添字 1 は Cp-Lip1 匂い結合タンパク質、添字 2 は Tris 緩衝液、添字 3 は匂い分子を表す。



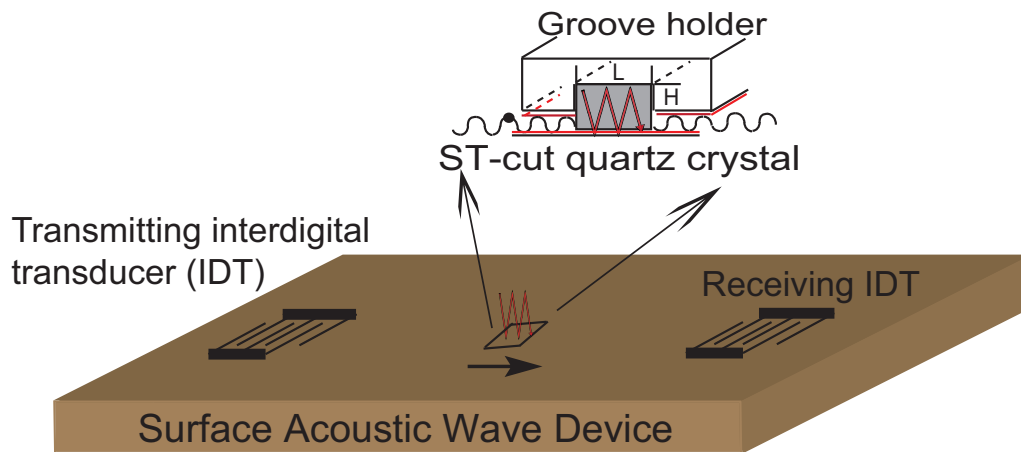


図 2.5: SAW デバイスの構造および SAW の伝播の模式図

図 2.5 は SAW デバイスの構造および SAW の伝播の模式図を示している。この SAW デバイスでは、自由表面を伝播するレーリー波が、液体層に入ると漏洩レーリー波と液体中の縦波として伝播し、再び自由表面上をレーリー波として伝播する。したがって、測定する信号はレーリー波と漏洩レーリー波が互いに変換し合った結果の信号である。一方、匂い物質の影響は漏洩レーリー波に表われる。それゆえ、まず、SAW の伝播特性を解析するために固体/真空界面における波の伝播を理論解析した。SAW デバイスで固体/真空界面を伝播するレーリー波の理論伝播速度  $c_R$  を図 2.6 に示す。なお、使った SAW デバイスでは圧電材料として水晶原石から切り出した水晶基板を用いた。この水晶基板のポアソン比は 0.266 である [26]。その結果、水晶基板のポアソン比  $\nu$  に対するレーリー波の理論伝播速度は約 3120m/s である。これが水晶基板で測定したレーリー波の伝播速度 3158m/s [16] とほぼ一致している。

次に、固体/液体界面で、SAW の伝播特性を解析した。図 2.7 は固体/液体界面で、入射角に対応する反射振幅比を示す。その結果、漏洩レーリー波の無次元伝播速度も基板の材料に依存することを分かった。これは、第 1 章に示している図 1.9 の理論と整合している。

さらに、固体/液体界面で伝播する漏洩レーリー波の伝播速度を計算して、レーリー波の速度と比較した。図 2.8 はポアソン比に対応するレーリー波と漏洩レーリー波の伝播速度を示している。本研究で使った水晶基板の密度は  $2.65\text{g/cm}^3$ 、エタノールの密度は  $0.789\text{g/cm}^3$  であるため、理論検証の液体と固体の密度比を 1:3 に設定した。漏洩レーリー角は  $30^\circ$  に設定した。図 2.8 より SAW デバイスで伝播するレーリー波と漏洩レーリー波の理論伝播速度はそれぞれ約 3140m/s と 3175m/s であることを分かった。この計算結果より SAW デバイスで伝播する SAW のモードの中で、漏洩レーリー波の伝播速度はレーリー波の伝播速度より速いことが分かった。この解析結果は、前に述べた「漏洩レーリー波型 SAW は本質的にレーリー波型 SAW より高速である」ことと整合している。

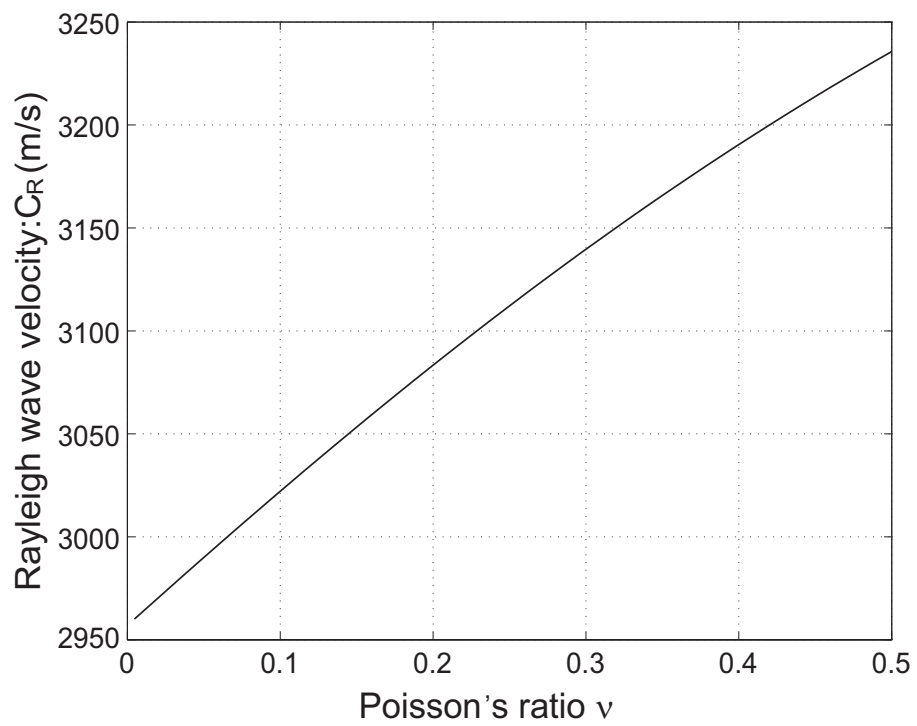


図 2.6: SAW デバイスで固体/真空界面を伝播するレーリー波の理論伝播速度、基板のポアソン比を  $\nu$  とする。

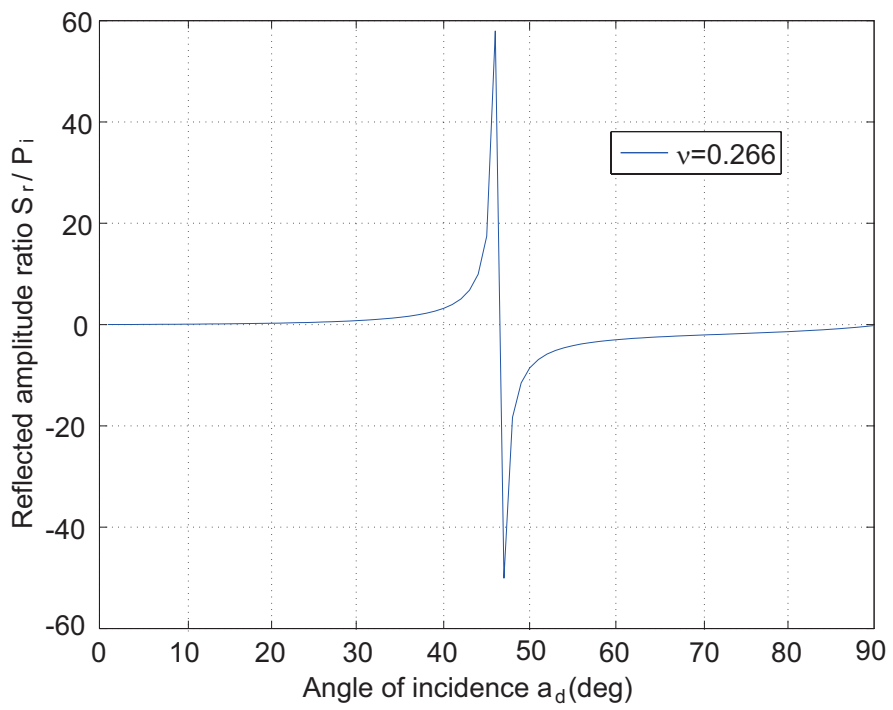


図 2.7: 固体/液体界面で、入射角に対応する反射振幅比

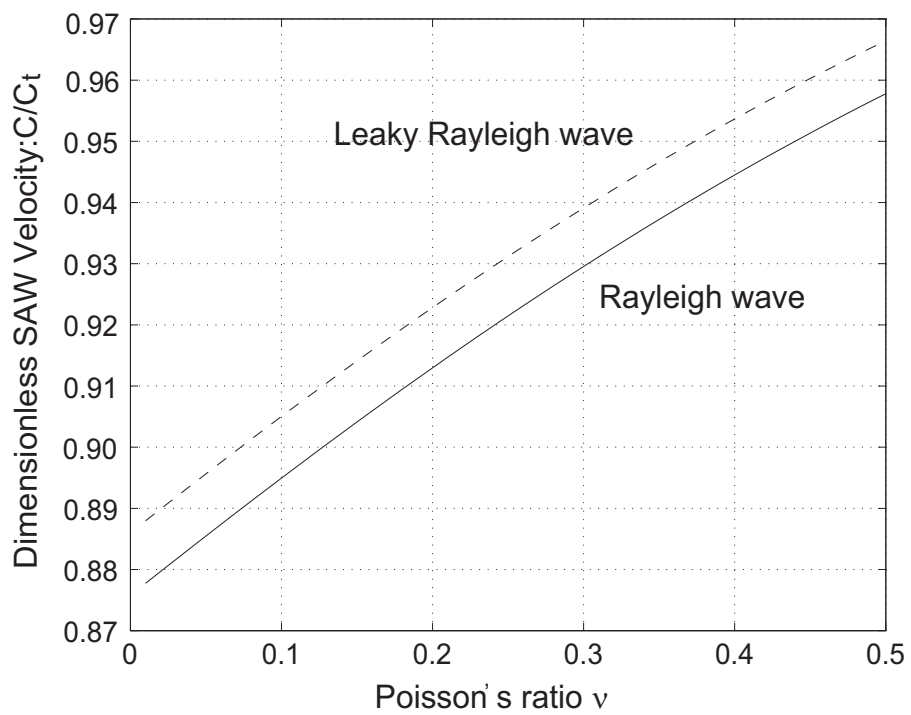


図 2.8: SAW デバイスで、試料溶液と基板の密度比は 1:3、漏洩レーリー角は  $30^\circ$  時、ポアソン比  $\nu$  に対応するレーリー波と漏洩レーリー波の伝播速度

## 2.3 まとめ

本章では、SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播速度の理論式を導出する方法を述べた。解析方法では固体/真空界面と固体/液体界面で伝播する弾性表面波の伝播速度をそれぞれ計算し、それらの伝播速度と伝播距離より弾性表面波の伝播速度を求めた。まず、SAW デバイスで伝播する弾性表面波の種類を調べるため、固体/真空界面と固体/液体界面で伝播する弾性表面波の種類を検討した。次に、SAW デバイスで伝播する弾性表面波の波動方程式と境界条件より、それらの伝播速度の理論式を導出した。さらに、レーリー波と漏洩レーリー波の理論伝播速度を計算して、それらの伝播距離および液体の縦波の伝播距離によって弾性表面波の伝播速度を計算した。

レーリー波型の SAW デバイスで伝播する弾性表面波の伝播速度は SAW の圧電材料と液体の密度および音速に依存する。そのため、基板の密度、基板のポアソン比、試料溶液の密度、試料溶液の音速などを固定すれば、SAW デバイスで伝播する弾性表面波の伝播速度を理論的に計算できる。本研究では、レーリー波と漏洩レーリー波の伝播速度の理論式およびそれらの伝播距離と液体の縦波の伝播距離によって、本研究の SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播速度を導出した。

## 第3章 Cp-Lip1 匂い結合タンパク質を用いた SAW 型匂いセンサの特性評価

### 3.1 実験目的および実験条件

#### 3.1.1 実験目的

本実験では、Cp-Lip1 匂い結合タンパク質を用いた SAW 型匂いセンサの特性を評価するために、次の二つを目的とした。

1. 第2章で導出した SAW デバイスにおける弾性表面波の理論式 (2.13) の有効性を明らかにする。
2. SAW デバイスで Cp-Lip1 匂い結合タンパク質を使って異なる種類の単一匂い分子を同定する。

この目的を達成するため、本実験は2つの段階に分けて行った。図 3.1 に、SAW デバイスを使った測定実験のフローチャートを示す。第1段階では、導出した理論式の有効性および匂い分子の測定実験に使用する溝の適切なサイズを明らかにすることを目的とした。図 3.1 の第1段階に示すように、まず、導出した理論式の有効性を検証する。そのためには、エタノール溶液と BSA タンパク質をそれぞれ試料溶液として SAW デバイスで測定して、理論計算と測定結果を比較する。次に、SAW の受信側 IDT の感度に有効的な溝を調べる。そのためには、異なるサイズにおける二つの溝で BSA タンパク質を測定して、SAW の位相差より第2段階の匂い分子の実験に使用する溝のサイズを明らかにする。

第2段階では、Cp-Lip1 と結合できる匂い分子は SAW デバイスでの伝播特性の評価を目的とした。そのためには、Cp-Lip1 とそれに結合した5種類の匂い分子の伝播速度を比較する必要がある。同図の第2段階に示すように、まず、Cp-Lip1 を含む匂い媒質中の Cp-Lip1 の伝播速度を解析する。この測定実験は以

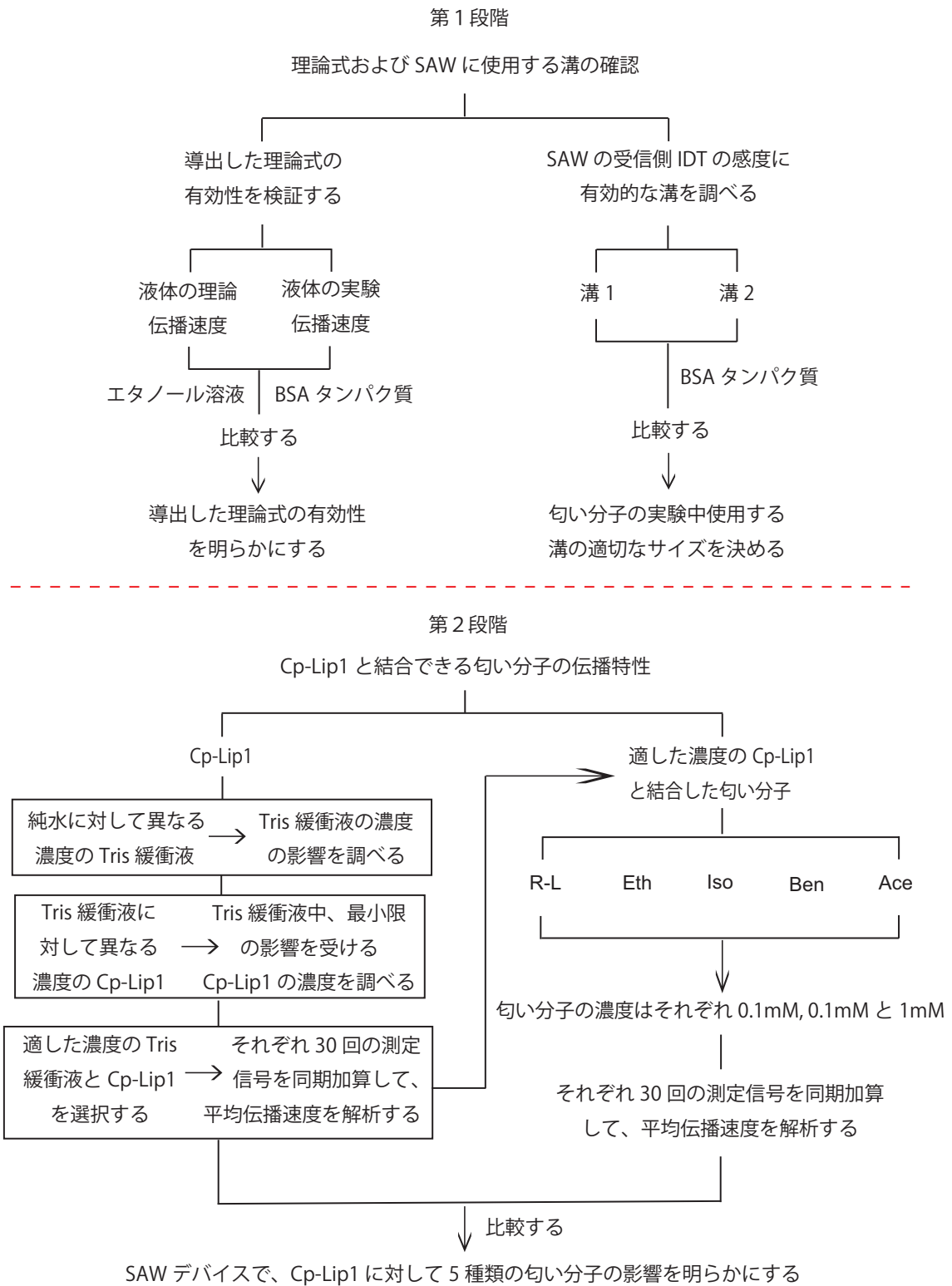


図 3.1: SAW デバイスを使った測定実験のフローチャート



下の手順で行った。

- (1) Cp-Lip1 に対する Tris 緩衝液の濃度の影響を調べるため、純水に対して、0mM(M (モラー) =モル/リットル)、2mM、4mM、6mM、8mM、10mM 濃度の Tris 緩衝液において、弾性表面波の伝播速度を測定する実験を行う。本実験では、匂い媒質の pH を安定化させるために pH が 7.5 の Tris 緩衝液を使った。
- (2) Tris 緩衝液中の伝播速度に対して、Tris 緩衝液の濃度の影響が最小になる Cp-Lip1 の濃度を調べるため、2mM と 10mM 濃度の Tris 緩衝液に対して異なる濃度の Cp-Lip1 の SAW の信号を測定する。
- (3) その二つの結果を比較すると、10mM 濃度の Tris 緩衝液は異なる濃度の Cp-Lip1 による影響が 2mM 濃度の Tris 緩衝液より小さかった。したがって、10mM 濃度の Tris 緩衝液中 10 $\mu$ M 濃度の Cp-Lip1 を溶解した溶液を基準溶液として測定することにした。この信号の測定はそれぞれ 30 回行って、それらの平均伝播速度を解析する。

次に、Cp-Lip1 を含む基準溶液と結合した匂い分子の伝播速度を解析する。そのためには、10 $\mu$ M 濃度の Cp-Lip1 と結合した 5 種類の単一匂い分子をそれぞれ 30 回測定して、それらの平均伝播速度を解析する。最後に、Cp-Lip1 とそれに結合した匂い分子の SAW デバイスで伝播する特性を比較する。

### 3.1.2 実験装置

SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播速度を測定した。この測定は福田永研究室で行った。図 3.2 に福田永研で開発した SAW デバイスの写真を示す。同図で示すように、SAW デバイスの IDT 電極間距離と測定した入力信号と出力信号の差（遅延時間）より SAW の速度を計算した。本研究では、IDT 電極間距離は 25.00mm、圧電材料は水晶基板の SAW デバイスを使った。この SAW デバイスの周波数は 157.6MHz である。図 3.3 に示すように、SAW の溝基板では、二種類の溝開口形状を使った。溝の形はそれぞれ、溝幅 L:0.24mm-溝高さ H:0.25mm と溝幅 L:0.41mm-溝高さ H:0.26mm である。

図 3.4 の写真は本研究で使った SAW の測定装置である。図 3.4 に示すように、株式会社エヌエフ回路設計ブロックのマルチファンクションジェネレータ (Multifunction Generator) WF1968 と岩崎通信機株式会社のデジタルオシロスコープ (Digital Oscilloscope) DS-5652 を用いた。この SAW デバイスでの波動伝播の様子を図 3.5 に示す。同図で、液体が SAW デバイスの表面に存在するとき、SAW の伝播表面波はスネルの法則に従い、漏洩レーリー波はレーリー角で液体中に縦波を放射する。そして、溝壁を反射した縦波が再び水晶表面に入力すると漏洩レーリー波に変換し表面を伝播する。このような SAW デバイスにおける伝播表面波の伝播速度は基板及び基板上的液体の密度と弾性定数に依存する。著者は、試料溶液を溝に置いた時の SAW の伝播特性を測定した。

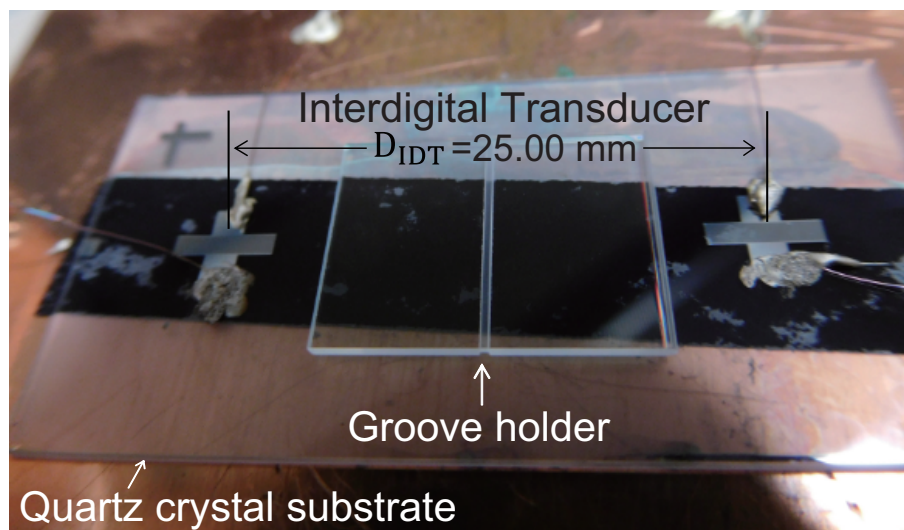


図 3.2: SAW デバイスの写真

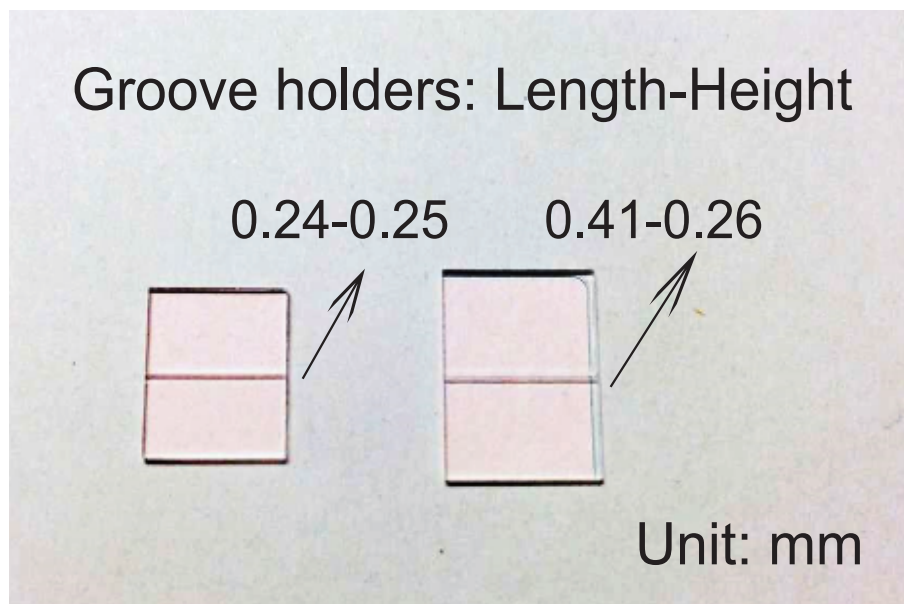


図 3.3: SAW の測定実験中使った溝の写真

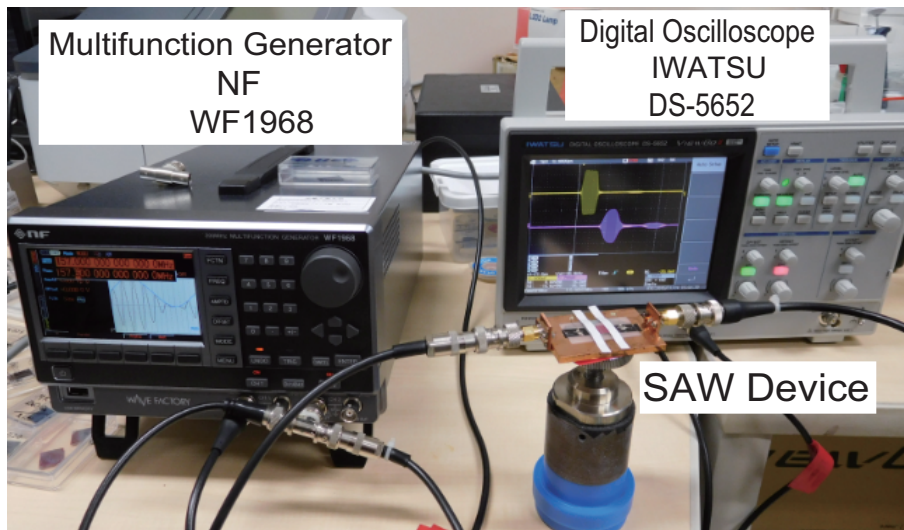


図 3.4: SAW の測定実験装置の写真

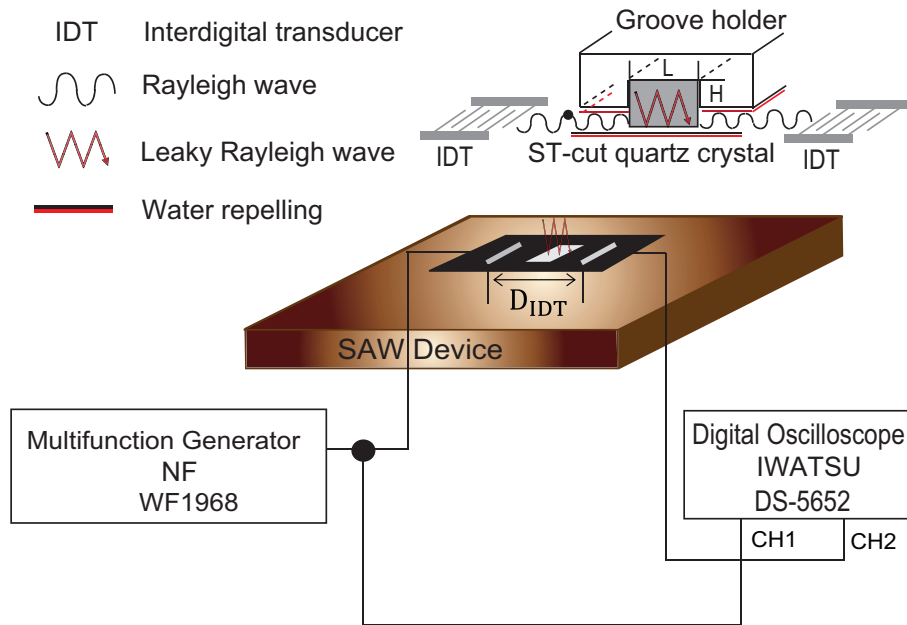


図 3.5: SAW デバイスの実験装置と波動伝播

### 3.1.3 試料溶液

本実験では、基準溶液として純水を使った。第1段階の実験では、SAWの理論式(2.13)の有効性を明らかにするため、製作したSAWデバイスを使って、異なる濃度のエタノールとBovine Serum Albumin (BSA) 牛血清アルブミンタンパク質を試料溶液とした場合のSAWの伝播速度を測定した。また、匂い分子の実験中使用する溝のサイズを明らかにするため、異なる濃度のBSAタンパク質を二種類の溝において、SAWの伝播速度を測定した。第2段階の実験では、岩佐研で作製しているCp-Lip1をSAWデバイス上に置いた時、およびCp-Lip1と結合した5種類の匂い分子をSAWデバイス上に置いた時のSAWを測定した。一方、pHに敏感な生物や化学物質が多いため、取扱い時にはpHの制御が必要となる。緩衝液は酸や塩基によるpHの変化を防ぐ働きがある。本研究では媒質のpHを一定にするためにTris緩衝液を使った。また、10 $\mu$ M濃度のCp-Lip1と結合する0.01mM、0.1mM、1mM濃度の5種類の匂い分子を試料溶液とした。この5種類の匂い分子は、それぞれR-Limonene(以下R-Limと略記する)、Ethyl butyrate(以下Ethと略記する)、2-Isobutylthiazole(以下Isoと略記する)、Benzophenone(以下Benと略記する)、2-Acetylthiazole(以下Aceと略記する)である。表3.1にそれらの匂い分子の化学名およびそれに対応する化学式、分子量と密度を示す。

表 3.1: Cp-Lip1 匂い結合タンパク質と結合する 5 種類の匂い分子

| 匂い分子  | 化学名                | 化学式  | 分子量    | 密度 (g/cm <sup>3</sup> ) |
|-------|--------------------|--|--------|-------------------------|
| R-Lim | R-Limonene         | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>  | 136.24 | 0.840                   |
| Eth   | Ethyl butyrate     | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | 116.16 | 0.879                   |
| Iso   | 2-Isobutylthiazole | C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> NS  | 141.23 | 1.020                   |
| Ben   | Benzophenone       | (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> CO                                   | 182.22 | 1.111                   |
| Ace   | 2-Acetylthiazole   | C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> NOS  | 127.16 | 1.227                   |

注 : Cp-Lip1 匂い結合タンパク質と匂い分子は室蘭工業大学岩佐研究室が提供した。



### 3.1.4 測定方法

SAW の伝播経路上に液体があるとき、その液体層では、漏洩レーリー波と液体の縦波が伝播している。一方、固体/真空界面ではレーリー波が伝播する。その液体層で伝播する弾性表面波の総伝播速度を明らかにするため、SAW デバイスの伝播路上に基準溶液と試料溶液を用意し、それらの遅延時間を測定した。また、その遅延時間のばらつきを評価するために、同じ条件で複数回測定を行った。図 3.6 は SAW デバイスで基準溶液と試料溶液における SAW の伝播時間を測定する時の SAW の伝播する経路を示している。図 3.6(a) は基準溶液を測定するとき、SAW の伝播する様子である。図 3.6(b) は試料溶液を測定するとき、SAW の伝播する様子である。図 3.6(a) と図 3.6(b) では、放射させた漏洩レーリー角の大きさが違い、また SAW デバイスで伝播する弾性表面波の伝播距離も違うことが分かった。したがって、それらの信号の変化を測定して、弾性表面波の伝播特性を解析する。試料溶液が温度の影響を受けないようにするために、すべての実験を室温約 25°C の環境で行った。

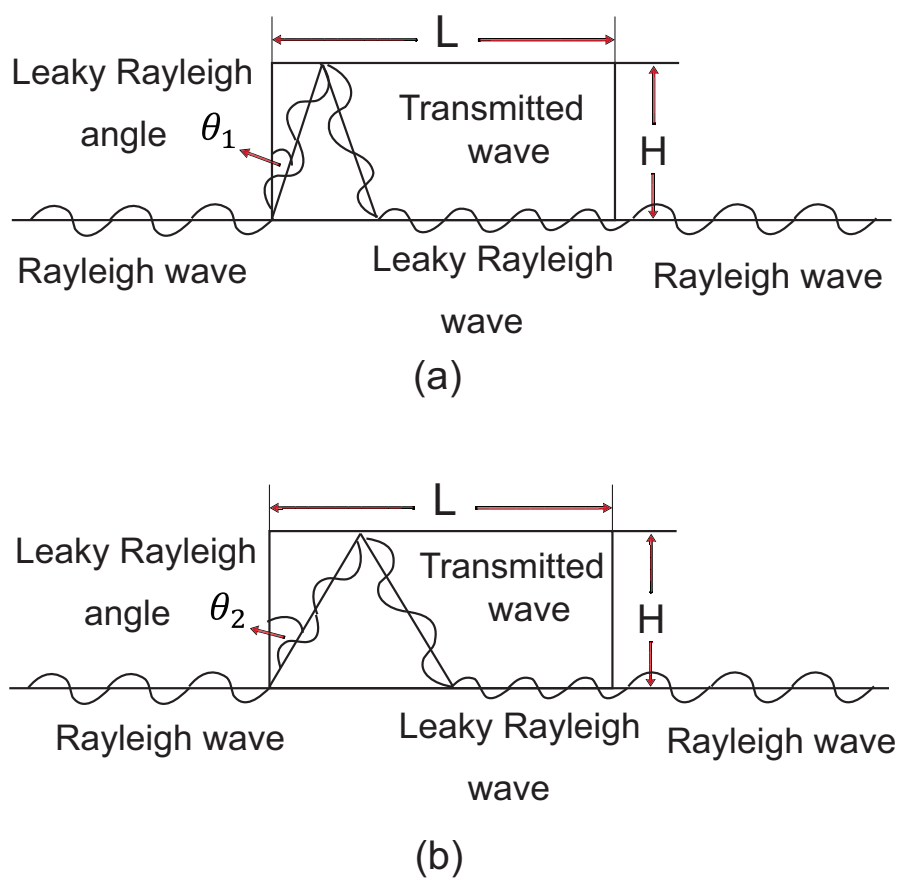


図 3.6: SAW デバイスで溶液を測定する時、弾性表面波の伝播する経路。(a) と (b) では、放射させた漏洩レーリー角の大きさが違い、また SAW デバイスで伝播する弾性表面波の伝播距離も違う。

## 3.2 実験データの処理方法

本実験は、図 3.7 に示すように、信号測定と信号解析の 2 つのステップに分かれている。まず、異なる種類の試料溶液を SAW デバイスに置いて、それらの弾性表面波の信号を複数回測定する。実験によって弾性表面波の伝播速度のばらつきを評価するために、同じ試料溶液を複数回測定する。図 3.8 に示すように、測定する信号の処理方法は以下の手順である。

1. SAW デバイスへの入力信号のタイミングを合せて、測定した試料溶液の表面波の出力信号を複数回測定する。測定回数は実験により 20 回と 30 回にした。
2. 入力信号を同じタイミングにした時の出力信号を加算する。
3. 試料溶液の弾性表面波の入力信号に対する出力信号の遅延時間を相互相関関数を使って求める。
4. SAW デバイスで同じ試料溶液について複数回測定した信号の標準偏差を計算する。
5. 試料溶液を SAW デバイスで伝播する時の SAW の伝播速度を計算する。その後、最小二乗法 (LSM : Least Squares Method) 用いて、異なる濃度の試料溶液に対応する SAW の伝播速度について回帰分析をする。

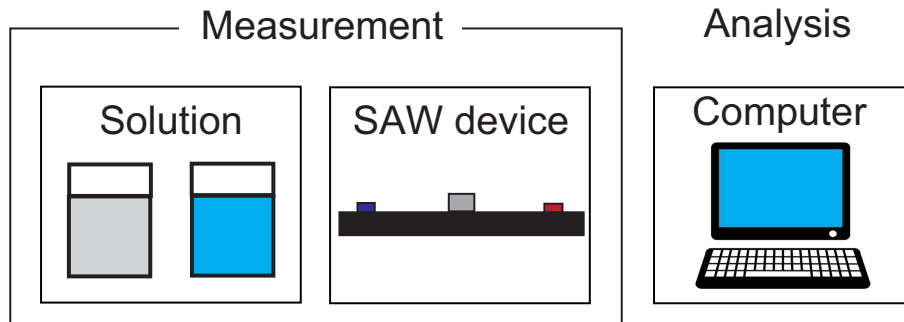


図 3.7: SAW デバイスの情報伝達

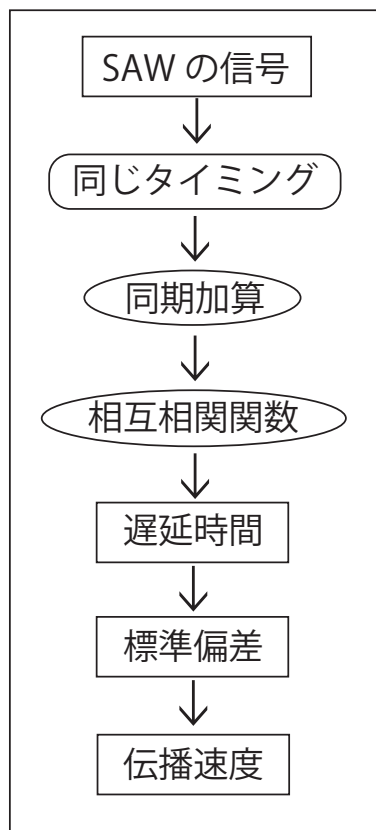


図 3.8: 測定データの処理方法

### 3.3 SAW デバイスを使った測定実験

#### 3.3.1 エタノール溶液の測定実験

本実験では、純水に対して異なる濃度のエタノール溶液を弾性表面波の伝播経路上において、弾性表面波の伝播速度を測定した。図 3.9 に測定した弾性表面波の伝播速度を計算する方法を示す。同図に示すように、SAW デバイスで測定する試料溶液の入力信号と出力信号の相互相関係数が最大になるラグを遅延時間とした。そして、SAW デバイスの IDT 電極間距離と二つの測定信号の遅延時間より SAW の実験速度を求める。図 3.10 に SAW デバイスの周波数が 157.6MHz、溝幅 L-溝高さ H がそれぞれ 0.41-0.26mm である時、基準溶液とした純水を 20 回測定した平均信号および相互相関係数を示す。同図では、測定した基準溶液の遅延時間は  $8.444\mu\text{s}$  であった。したがって、SAW デバイスの IDT 電極間距離は 25.00mm であるため、この実験における純水の伝播速度は 2961m/s である。また、図 3.11 に、試料溶液とした 3%濃度のエタノールを SAW デバイスで測定した入力信号と出力信号およびそれらの相互相関係数を示す。測定した信号の遅延時間は  $8.080\mu\text{s}$  であった。その結果、この実験における 3%濃度のエタノールの伝播速度は 3094m/s になった。図 3.10 と図 3.11 の測定と同様に、溝幅 0.24mm-溝高さ 0.25mm と溝幅 0.41mm-溝高さ 0.26mm である時、1%、2%、3%、4%、5%濃度のエタノールをそれぞれ SAW デバイスに置いて、弾性表面波の信号を測定した。測定はそれぞれ 20 回行い、その平均値を測定値とした。

SAW の理論式 (2.13) よりエタノール溶液の理論伝播速度を計算した。標準温度  $25^{\circ}\text{C}$  で、測定した 1%、2%、3%、4%、5%濃度のエタノール溶液の密度はそれぞれ  $0.995\text{g}/\text{cm}^3$ 、 $0.993\text{g}/\text{cm}^3$ 、 $0.992\text{g}/\text{cm}^3$ 、 $0.989\text{g}/\text{cm}^3$ 、 $0.988\text{g}/\text{cm}^3$  である。また、本研究で使った水晶基板の密度は  $2.65\text{g}/\text{cm}^3$  であるため、エタノール溶液と水晶基板の密度比は 0.371 から 0.376 までの範囲になった。図 3.12 は得られたエタノール溶液の実験結果と理論計算結果の比較を示している。その結果、エタノール溶液の理論計算速度が実験より得られた速度とほぼ一致しているため、第 2 章で導出した SAW の理論式 (2.13) は有効であると考えられる。

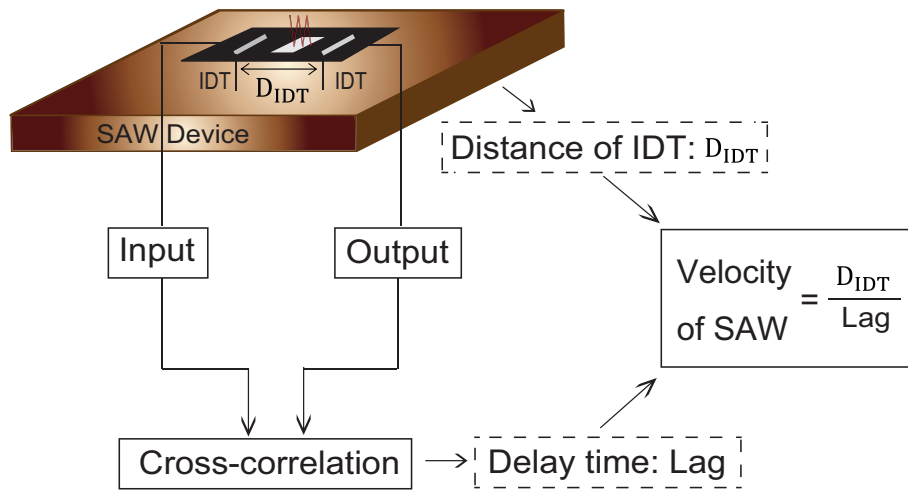


図 3.9: SAW デバイスで伝播する弾性表面波の実験速度の計算する方法

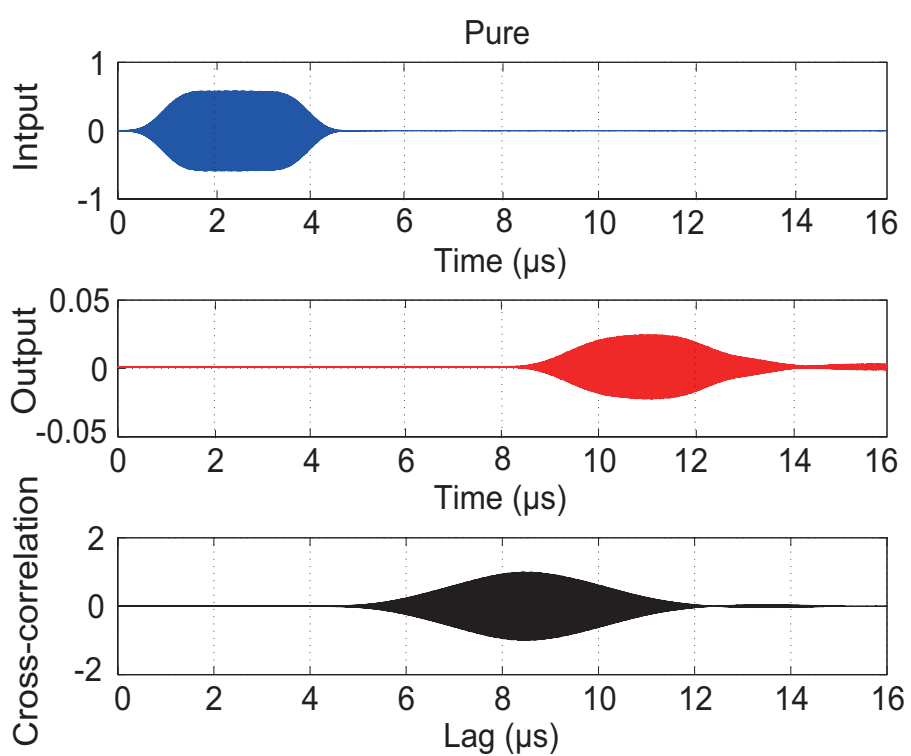


図 3.10: SAW デバイスの周波数が 157.6MHz, 溝幅 L-溝高さ H が 0.41-0.26mm である時、純水を 20 回測定した平均信号および相互相関係数

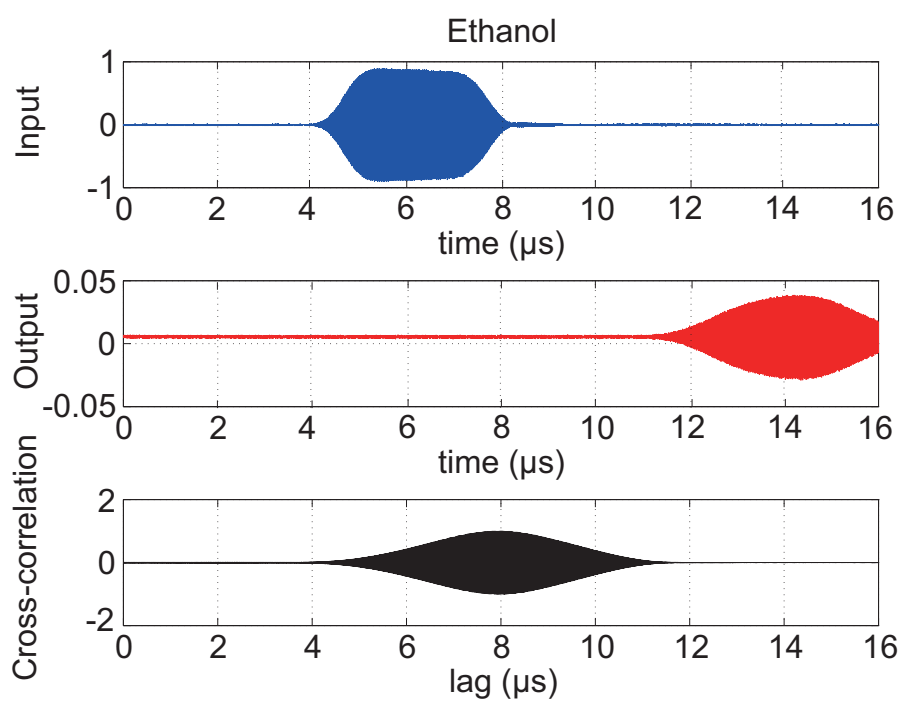


図 3.11: SAW デバイスの周波数が 157.6MHz, 溝幅 L-溝高さ H が 0.41-0.26mm である時、3%濃度のエタノールを 20 回測定した平均信号および相互相関係数



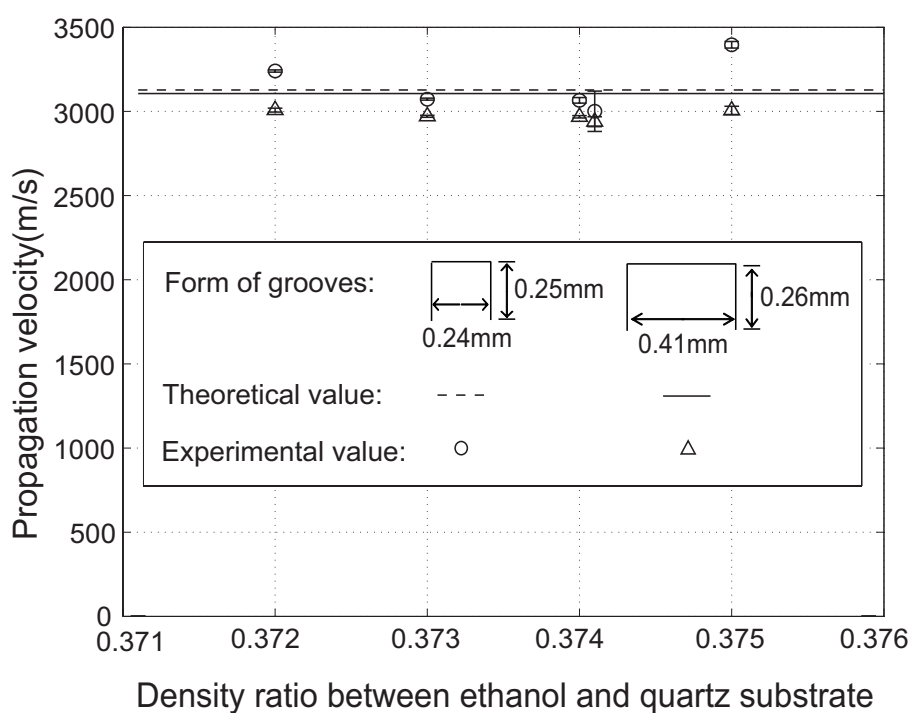


図 3.12: SAW デバイスの周波数が 157.6MHz, 溝幅 L-溝高さ H がそれぞれ 0.24-0.25mm と 0.41-0.26mm である時、エタノール溶液の理論結果と実験結果の比較 (密度比=純水に対して異なる濃度のエタノールの密度/水晶基板の密度)

### 3.3.2 BSA 牛血清アルブミンタンパク質の測定実験

生物媒質を SAW デバイスで測定する時、SAW の理論式 (2.13) の有効性を検討するため、BSA 牛血清アルブミンタンパク質を試料溶液とした。以下は BSA 牛血清アルブミンタンパク質を BSA タンパク質と略記する。本実験では、溝開口形状がそれぞれ、溝幅 L:0.24mm-溝高さ H:0.25mm と溝幅 L:0.41mm-溝高さ H:0.26mm である時、純水に対して  $1\text{mol/m}^3$  (mM, M (モラー) = モル/リットル) と  $2\text{mol/m}^3$  濃度の BSA タンパク質を溝において、SAW の伝播速度を測定した。測定はそれぞれ 20 回行い、その平均値を測定値とした。図 3.13 では溝幅 L-溝高さ H がそれぞれ 0.24-0.25mm と 0.41-0.26mm である時の純水に対して  $1\text{mol/m}^3$  と  $2\text{mol/m}^3$  濃度の BSA タンパク質の理論結果と実験結果を示している。ただし、理論計算中使った BSA タンパク質の音速は  $1920\text{m/s}$  である [27]。その結果、BSA タンパク質の理論計算速度は実験速度よりも速いが、理論式 (2.13) は異なる濃度の BSA タンパク質において有効であると考えられる。

一方、図 3.5 に示している SAW デバイスで溶液を保持する溝開口形状の幅 L が比較的小さい範囲では位相差が生じないことが小川により報告されている [16]。したがって、SAW の受信側 IDT の感度に有効的な溝を調べるために、測定した BSA タンパク質の遅延時間より SAW の位相差変化を観察した。ただし、遅延時間  $\Delta t$  と位相差  $\Delta\phi$  の関係を次の式

$$\Delta\phi = \frac{\Delta t}{T} \times 360(\text{degree}) \quad (3.1)$$

$$T = \frac{1}{f} \quad (3.2)$$

で示す。 $f$  は SAW の周波数； $T$  は信号の周期である。図 3.14 は異なる溝での、BSA タンパク質の濃度に対する SAW の位相差変化を示す。同図で示している位相差は、純水に対して  $1\text{mol/m}^3$  と  $2\text{mol/m}^3$  濃度の BSA タンパク質の位相である。溝幅 0.24mm と溝幅 0.41mm での SAW の位相差は BSA タンパク質の濃度に比例しているが、溝幅 0.41mm での位相差は溝幅 0.24mm での位相差より大きいことが分かった。その結果、溝幅 0.24mm-溝高さ 0.25mm の溝基板より溝幅 0.41mm-溝高さ 0.26mm の溝基板のほうが SAW

の受信側 IDT の感度が良いことを明らかにした。そのため、第2段階の匂い分子を判別する実験中、溝幅 0.41mm-溝高さ 0.26mm の溝基板を使った。

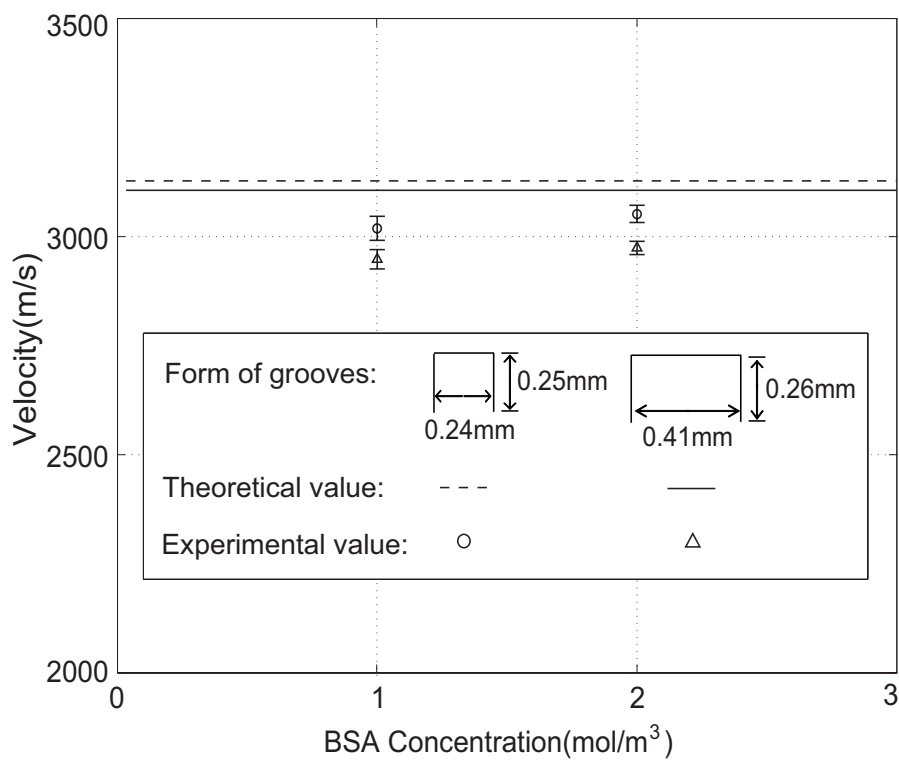


図 3.13: SAW デバイスの周波数が 157.6MHz, 溝幅 L-溝高さ H がそれぞれ 0.24-0.25mm と 0.41-0.26mm である時の純水に対して異なる濃度の BSA タンパク質の理論結果と実験結果の比較

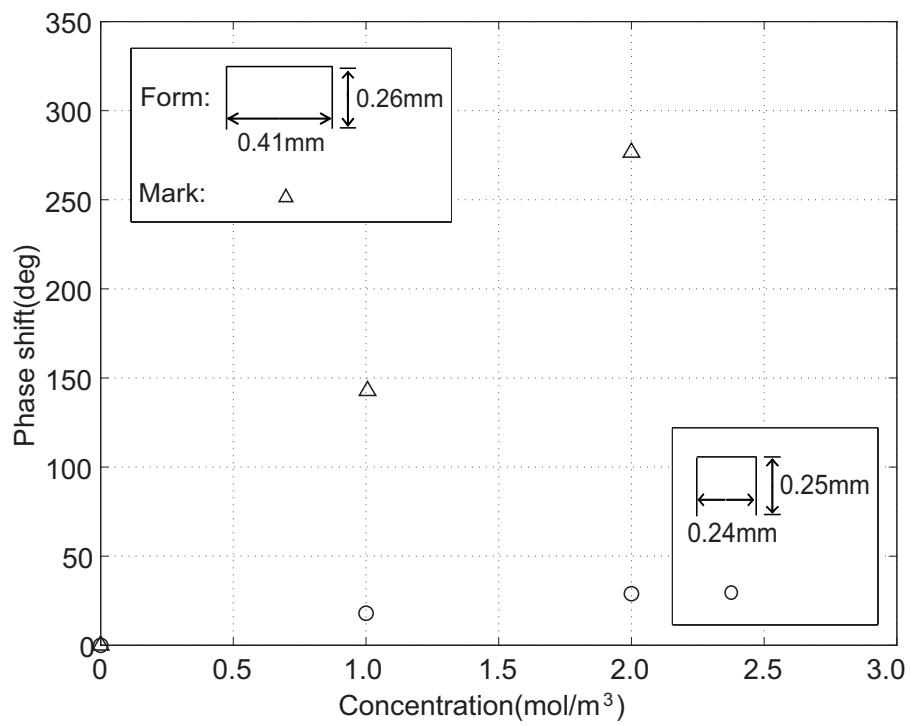


図 3.14: 異なる溝での、BSA タンパク質の濃度に対応する表面波の位相差

### 3.3.3 Cp-Lip1 匂い結合タンパク質と匂い分子の測定実験

日常生活には様々な匂い分子があふれている。人はこのような匂いの基となる化学物質を感知し、数万種類の化学物質を識別することができるといわれる。一般的に、これらの化学感覚に関与する化学物質は揮発性の低分子であり、疎水性である。このような匂い分子を認識するため、動物の化学受容器や感覚子には疎水性低分子と結合する水溶性タンパク質が大量に発現しており、これらのタンパク質が匂い分子やフェロモン分子を水環境中に溶かし込み、受容体まで運ぶと考えられている。その匂い分子結合タンパク質はリポカリン・ファミリーに属するタンパク質である。その匂い結合タンパク質は疎水性低分子リガンドと結合し、輸送する働きを担い、レチノール輸送、フェロモン輸送、匂い分子結合や輸送に関与していると考えられている。

岩佐研究室で発見された Cclip1 はリポカリン・ファミリータンパク質をコードし、ラットの「匂い分子結合タンパク質」遺伝子と高い相同性を示した [28]。そのリポカリン・ファミリータンパク質は特徴的な  $\beta$  バレル (Beta barrel) 構造を持ち、その内腔に種々の疎水性低分子を結合することを明らかにしている。生物学中、 $\beta$  バレルはタンパク質の三次構造の1つであり、大きな  $\beta$  シートがねじれてコイル状になり、両端が水素結合で結合した構造をしている。この構造はタンパク質やリポカリンなどの疎水性リガンドと結合するタンパク質で見られる [29,30]。

本実験では、試料溶液として岩佐研で作製している Cp-Lip1 とそれに結合した R-Lim、Eth、Iso、Ben、Ace 匂い分子の溶液を使って、それらの SAW の伝播特性を測定した。そのため、匂い分子の測定実験中使用する Tris 緩衝液と Cp-Lip1 の濃度を明らかにした。

Tris 緩衝液の濃度は SAW の伝播速度による影響を受けるか確認するために純水を基準溶液として、Tris 緩衝液を適当な濃度に希釈して測定した。0mM、2mM、4mM、6mM、8mM、10mM 濃度の Tris 緩衝液を SAW の伝播経路上において、SAW の伝播速度を測定した。測定はそれぞれ 50 回行い、その平均値を測定値とした。図 3.15 は純水に対して異なる濃度の Tris 緩衝液の SAW の伝播速度を示している。純水の伝

播速度は 2959m/s、異なる濃度の Tris 緩衝液の伝播速度は 2919m/s から 2957m/s までの間にあった。その結果、SAW デバイスで純水に対して Tris 緩衝液の濃度はそれらの SAW の伝播速度による影響が極めて小さいことが分かった。同図では、純水に対して 2mM 濃度の Tris 緩衝液の伝播速度は最大の影響を受けているが、10mM 濃度の Tris 緩衝液は最小限の影響を受けた。そのため、2mM と 10mM 濃度の Tris 緩衝液は異なる濃度の Cp-Lip1 による影響を確認する実験を行った。

SAW デバイスで、2mM と 10mM 濃度の Tris 緩衝液に対して異なる濃度の Cp-Lip1 の SAW の信号を測定した。まず、2mM 濃度の Tris 緩衝液中、0 $\mu$ M、1 $\mu$ M、2 $\mu$ M、3 $\mu$ M、4 $\mu$ M、5 $\mu$ M、6 $\mu$ M 濃度の Cp-Lip1 を溶解して、SAW の伝播速度を測定した。次に、10mM 濃度の Tris 緩衝液中、0 $\mu$ M、1 $\mu$ M、5 $\mu$ M、10 $\mu$ M、20 $\mu$ M、30 $\mu$ M 濃度の Cp-Lip1 を溶解して、SAW の伝播速度を測定した。本実験での測定もそれぞれ 50 回行い、その平均値を測定値とした。図 3.16 と図 3.17 に、それぞれ 2mM と 10mM 濃度の Tris 緩衝液に対して異なる濃度の Cp-Lip1 の SAW の伝播速度を示す。その二つの結果を比較すると、2mM 濃度の Tris 緩衝液は異なる濃度の Cp-Lip1 による影響が 10mM 濃度の Tris 緩衝液より大きいことが分かった。また、10mM 濃度の Tris 緩衝液は 10 $\mu$ M 濃度の Cp-Lip1 に最小限の影響を受けていることを観察した。その結果より、SAW デバイスで匂い分子を認識する実験中、10mM 濃度の Tris 緩衝液中 10 $\mu$ M 濃度の Cp-Lip1 を溶解した溶液を基準溶液とした。匂い分子の測定実験中、この 10mM 濃度の Tris 緩衝液と 10 $\mu$ M 濃度の Cp-Lip1 を溶解した基準溶液を 10 $\mu$ M 濃度の Cp-Lip1 溶液と略記する。

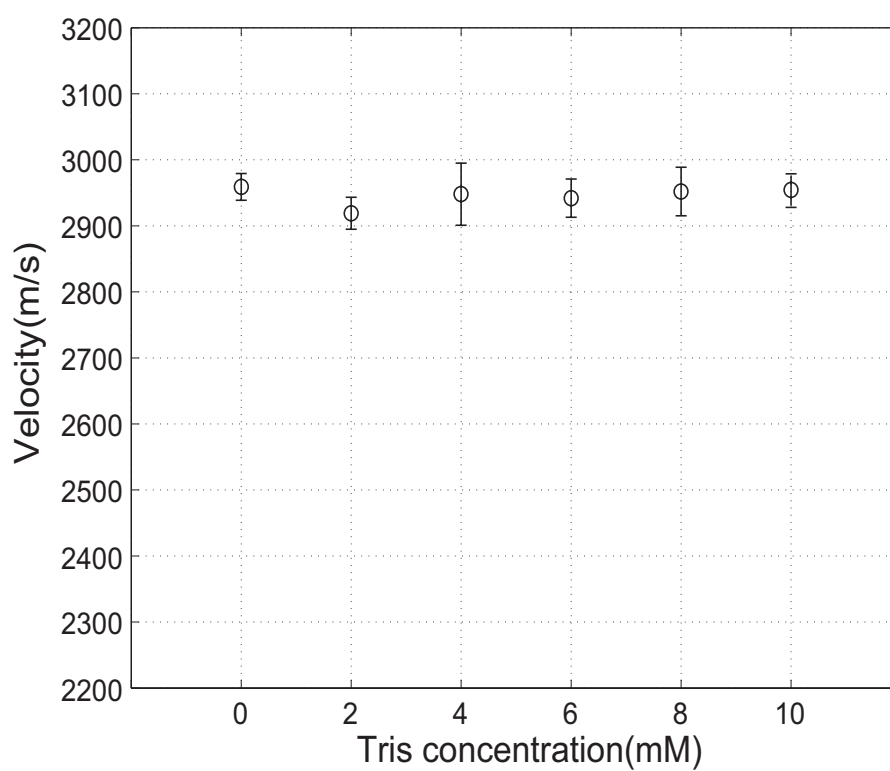


図 3.15: 純水に対して異なる濃度の Tris 緩衝液の弾性表面波の伝播速度、M (モラー) =mol/L



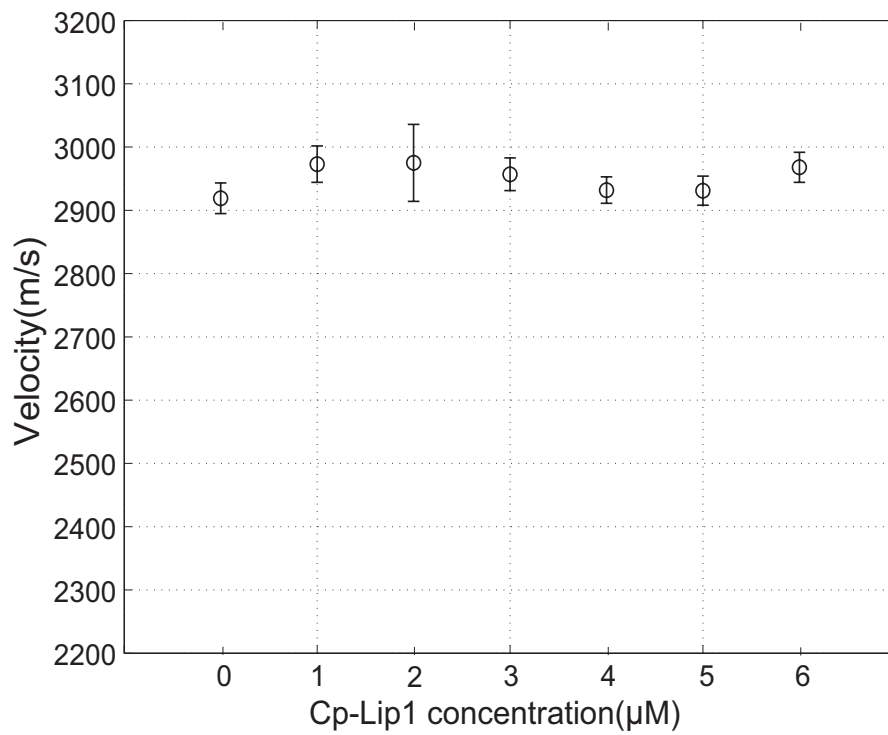


図 3.16: 2mM Tris 緩衝液に対して異なる濃度の Cp-Lip1 の弾性表面波の伝播速度、M (モラー) =mol/L

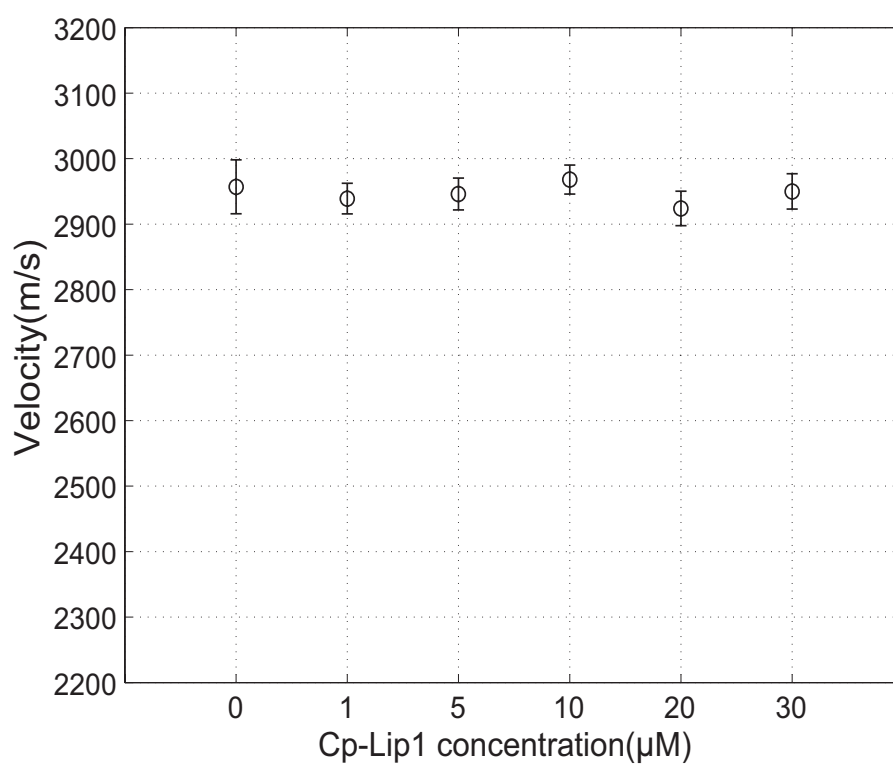


図 3.17: 10mM Tris 緩衝液に対して異なる濃度の Cp-Lip1 の弾性表面波の伝播速度、M (モラー) =mol/L

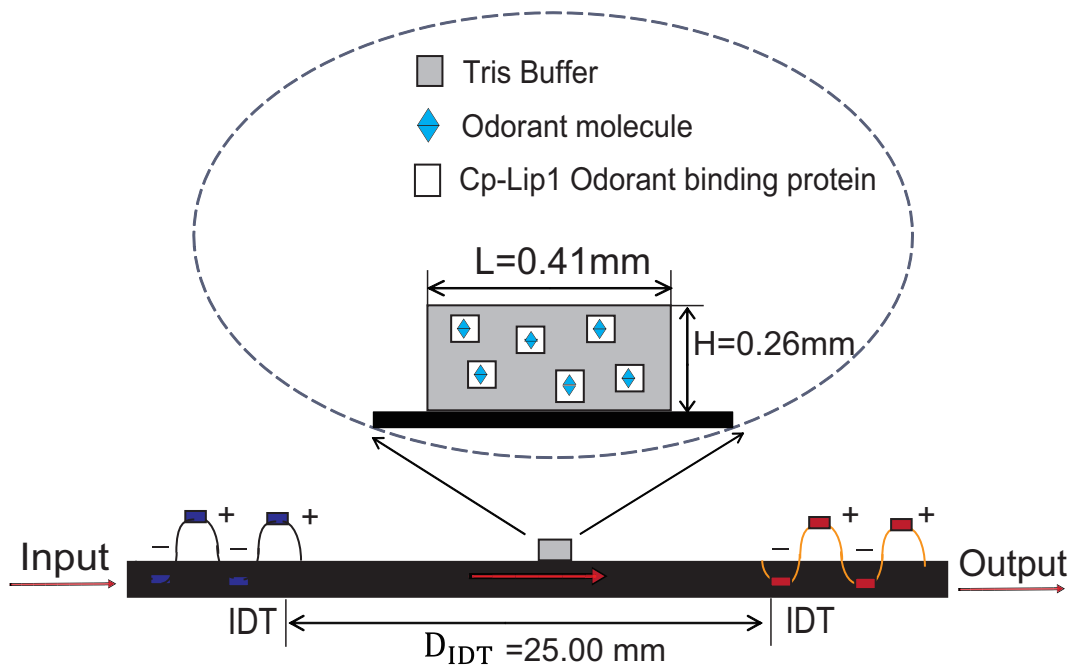


図 3.18: SAW デバイスで Cp-Lip1 と結合した匂い分子の測定様子

図 3.18 に SAW デバイスで  $10\mu\text{M}$  濃度の Cp-Lip1 溶液と結合した匂い分子の測定様子を示す。SAW デバイスの溝幅  $0.41\text{mm}$ -溝高さ  $0.26\text{mm}$  の溝基板内に試料溶液を保持し、弾性表面波の信号を測定した。Cp-Lip1 と結合した 5 種類の匂い分子を SAW デバイスで認識するために、 $10\mu\text{M}$  濃度の Cp-Lip1 を  $0.01\text{mM}$ 、 $0.1\text{mM}$ 、 $1\text{mM}$  濃度の 5 種類の匂い分子とそれぞれ結合した。この結合した試料溶液と  $10\mu\text{M}$  濃度の Cp-Lip1 溶液を SAW の伝播経路上において、SAW の信号を測定した。

SAW デバイスで、レーリー波の伝播速度を実験的に測定して、その結果より漏洩レーリー波の実験速度を計算した。図 3.19 は、SAW デバイスで試料溶液なし時のレーリー波を 30 回測定した平均信号および相互相関係数である。同図に示しているように、入力信号と出力信号の遅延時間は  $8.235\mu\text{s}$  である。その結果により、レーリー波の実験伝播速度は  $3036\text{m/s}$  ことが分かった。レーリー波の実験伝播速度によって、基準溶液と試料溶液の実験伝播速度を計算した。

図 3.20 では、基準溶液とした  $10\mu\text{M}$  Cp-Lip1 溶液の同じ条件で 5 回測定した出力信号を示している。これらの信号情報をもっと詳しく見るため、図 3.21 にその拡大を示した。これらと同様な測定をそれぞれ 30 回行い、それらを同期加算した。図 3.22 では、 $10\mu\text{M}$  Cp-Lip1 の同じ条件で 30 回測定した出力信号の同期加算結果を示している。30 回測定の平均値を測定値とした。SAW デバイスで、 $10\mu\text{M}$  Cp-Lip1 溶液を 30 回測定した平均信号および相互相関係数を図 3.23 に示している。その結果、SAW デバイスで、 $10\mu\text{M}$  Cp-Lip1 溶液を測定した信号の遅延時間は  $8.508\mu\text{s}$  であった。また、SAW デバイスの IDT 電極間距離は  $25.00\text{mm}$  こと、 $10\mu\text{M}$  濃度の Cp-Lip1 溶液の SAW の伝播速度は  $2938\text{m/s}$  になった。

同様に、SAW デバイスで  $10\mu\text{M}$  濃度の Cp-Lip1 溶液とそれに結合した  $0.01\text{mM}$ 、 $0.1\text{mM}$ 、 $1\text{mM}$  濃度の 5 種類の匂い分子を試料溶液として、それぞれ 30 回測定し、それらの実験伝播速度を計算した。図 3.24 に SAW デバイスで、 $10\mu\text{M}$  Cp-Lip1 溶液は  $0.01\text{mM}$  匂い分子と結合した溶液の SAW の伝播速度および標準偏差を示す。同図では、 $10\mu\text{M}$  濃度の Cp-Lip1 と結合した R-Lim、Eth、Iso、Ben 匂い分子は密度が増加するにつれて、弾性表面波の伝播速度が低下する。しかし、 $10\mu\text{M}$  濃度の Cp-Lip1 溶液と結合した Ace 匂い

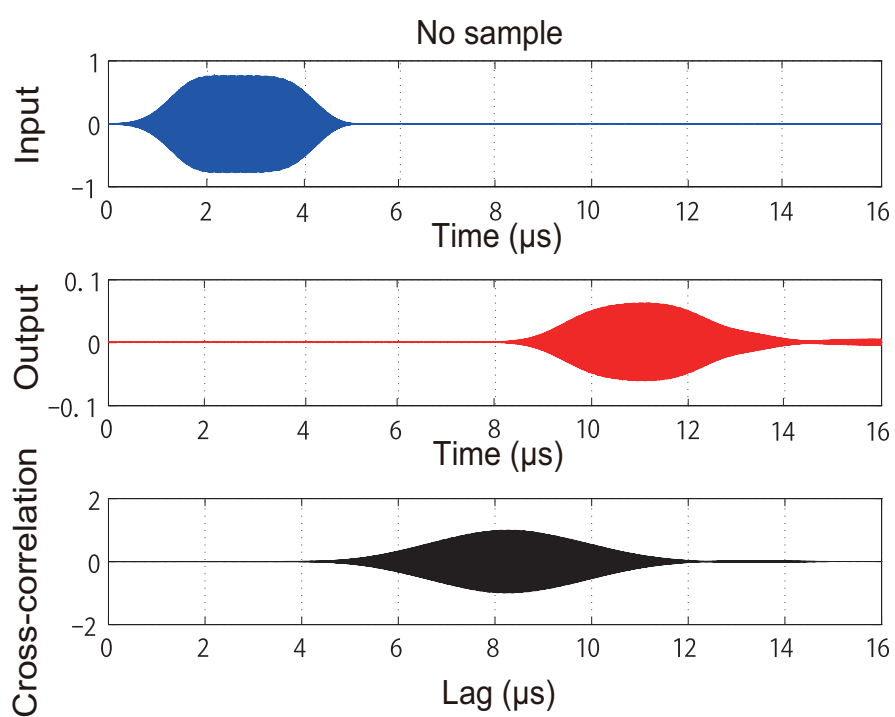


図 3.19: 試料溶液なし時、SAW デバイスで伝播する弾性表面波を 30 回測定した平均信号および相互相関係数

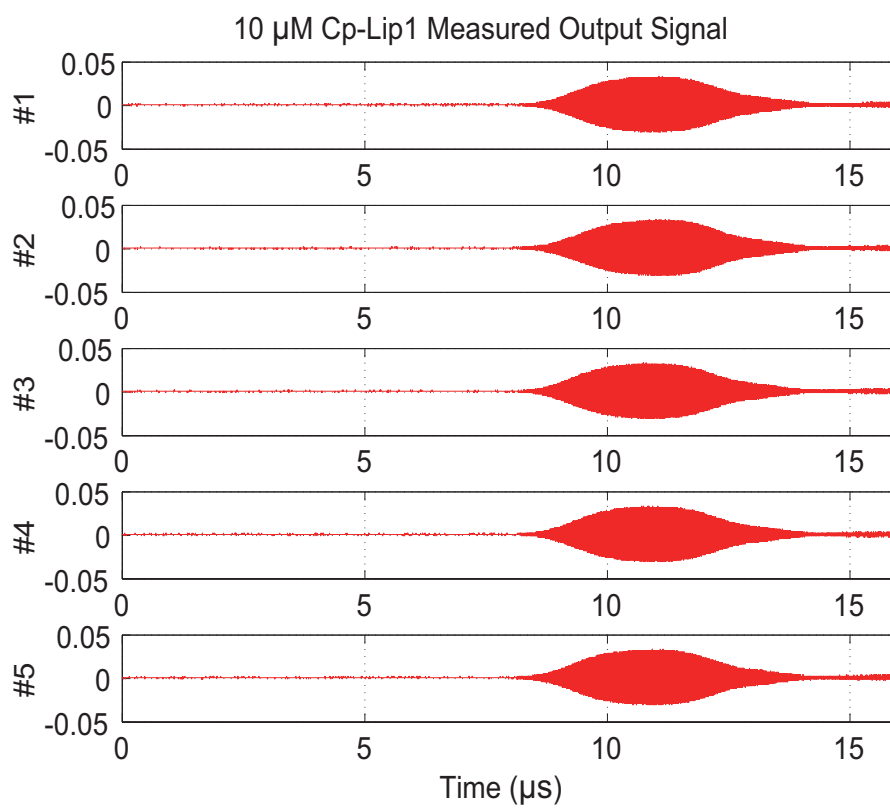


図 3.20: SAW デバイスで、10μM Cp-Lip1 を 5 回測定した出力信号

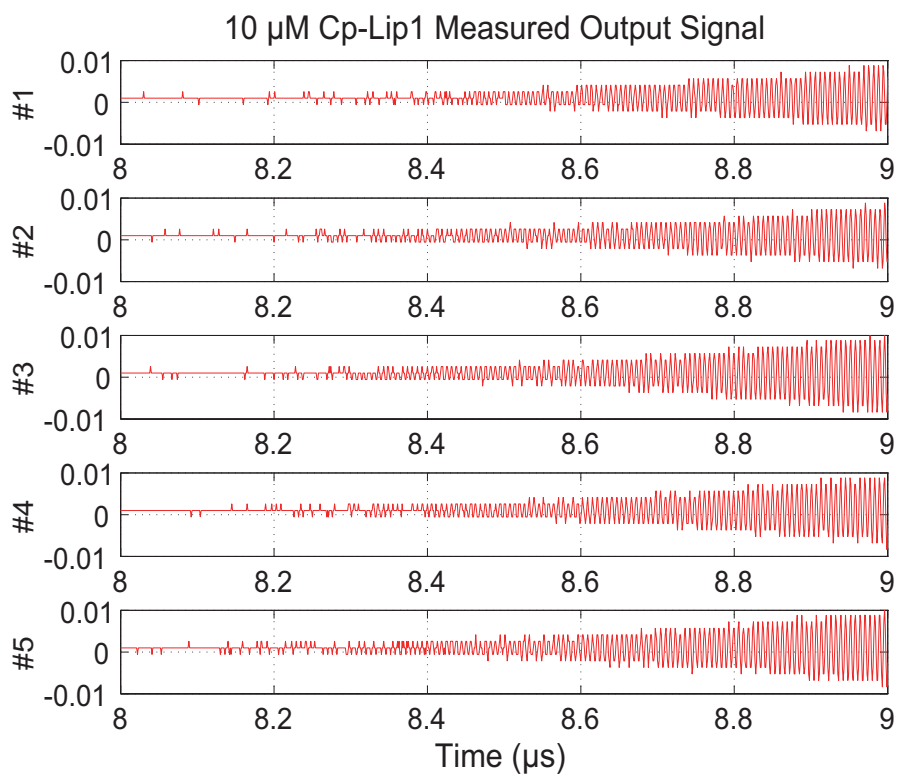


図 3.21: SAW デバイスで、10 $\mu$ M Cp-Lip1 を 5 回測定した出力信号の拡大

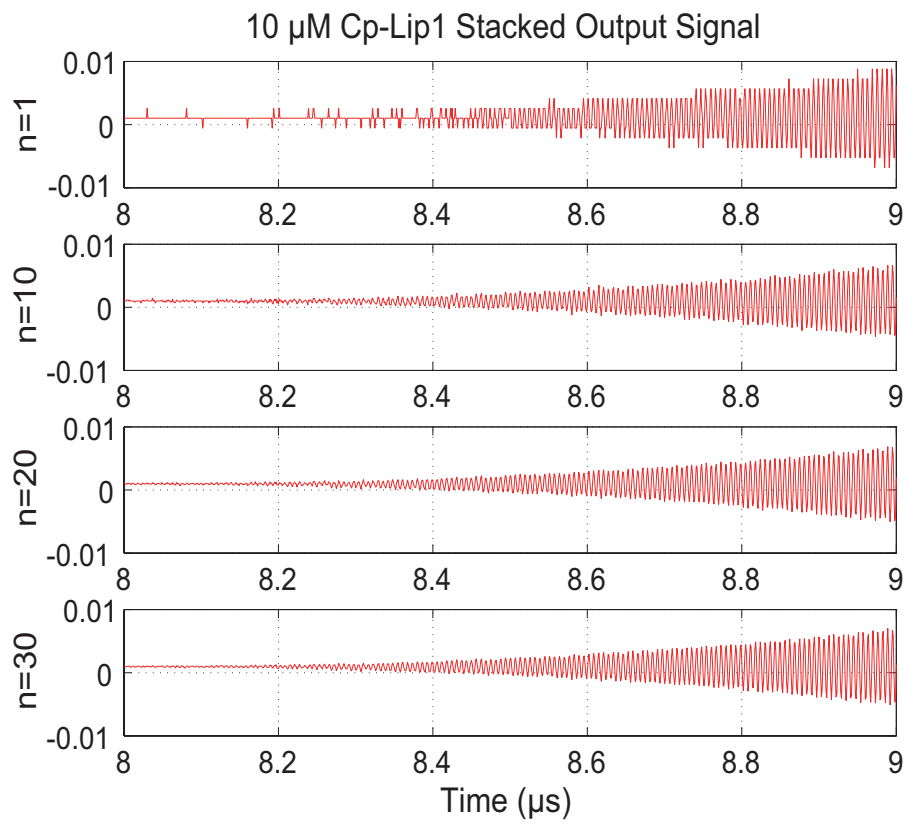


図 3.22: SAW デバイスで、10 $\mu$ M Cp-Lip1 を 30 回測定した出力信号の同期加算



分子の弾性表面波の伝播速度が最も速かった。図 3.25 に SAW デバイスで、 $10\mu\text{M}$  Cp-Lip1 溶液が  $0.1\text{mM}$  匂い分子と結合した溶液の弾性表面波の伝播速度および標準偏差を示す。その結果、 $10\mu\text{M}$  Cp-Lip1 溶液と結合した  $0.1\text{mM}$  濃度の 5 種類の匂い分子溶液は密度が増加するにつれて、弾性表面波の伝播速度が速くなっている。図 3.26 に SAW デバイスで、 $10\mu\text{M}$  Cp-Lip1 溶液が  $1\text{mM}$  匂い分子と結合した溶液の弾性表面波の伝播速度および標準偏差を示す。その結果は、 $10\mu\text{M}$  濃度の Cp-Lip1 溶液と結合した 5 種類の匂い分子は密度が増加するにつれて、弾性表面波の伝播速度が上昇する。それらの結果より、試料溶液の濃度が同じ場合は、匂い分子溶液の弾性表面波の伝播速度は密度に依存することが分かった。Cp-Lip1 とそれに結合できる匂い分子の密度が分かると、SAW デバイスでそれらの 5 種類の匂い分子を判別できる。

図 3.27 は SAW デバイスにおける 5 種類の結合溶液の弾性表面波の伝播速度とその回帰分析を示す。その結果、異なる濃度の時、 $1\text{mM}$  濃度の匂い分子溶液の弾性表面波の伝播速度は  $0.01\text{mM}$  より速いが、 $0.1\text{mM}$  より遅かった。これは匂い分子溶液の内部構造に関連する可能性がある。その結果、匂い分子溶液の濃度も弾性表面波の伝播速度に影響があると考えている。同じ濃度の時、匂い分子溶液の密度が増加すると、5 種類の結合溶液の弾性表面波の伝播速度も上昇している。その結果によれば、Cp-Lip1 と結合した濃度が同じ匂い分子溶液を SAW デバイスによって同定できる。

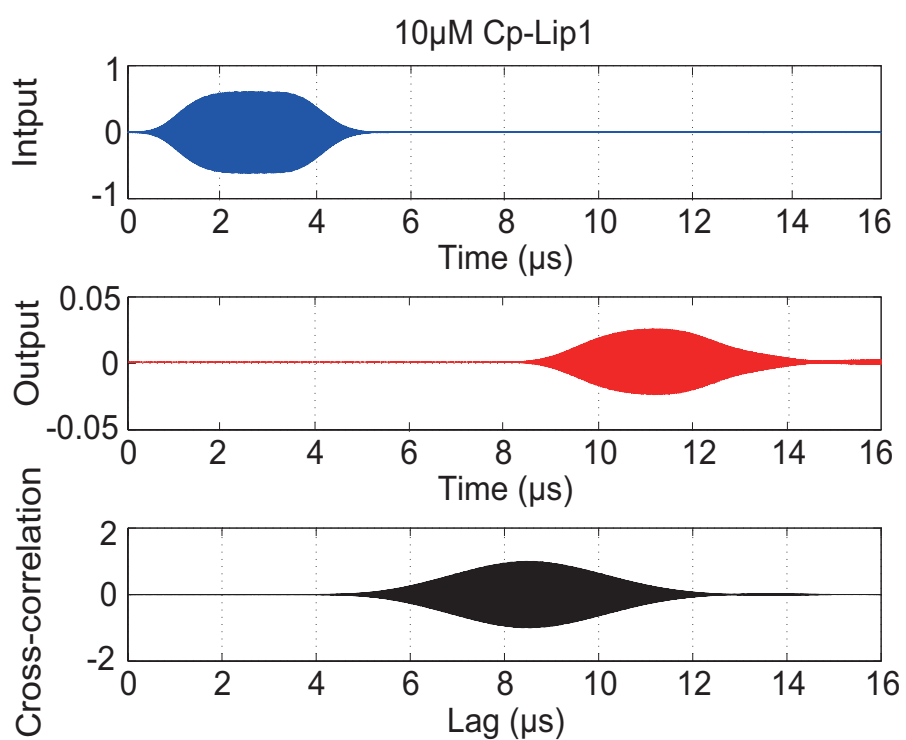


図 3.23: SAW デバイスで、10 $\mu$ M Cp-Lip1 を 30 回測定した平均信号および相互相関係数

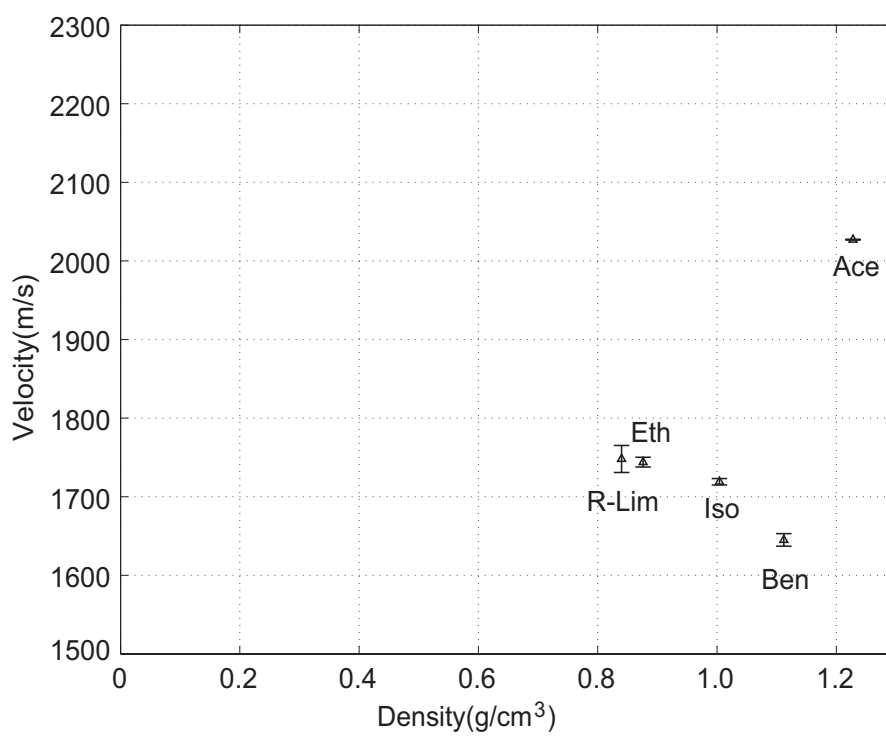


図 3.24: SAW デバイスで、 $10\mu\text{M}$  Cp-Lip1 溶液が $0.01\text{mM}$  匂い分子と結合した溶液の弾性表面波の伝播速度および標準偏差 (R-Lim : R-Limonene、Eth : Ethyl butyrate、Iso : 2-Isobutylthiazole、Ben : Benzophenone、Ace : 2-Acetylthiazole)

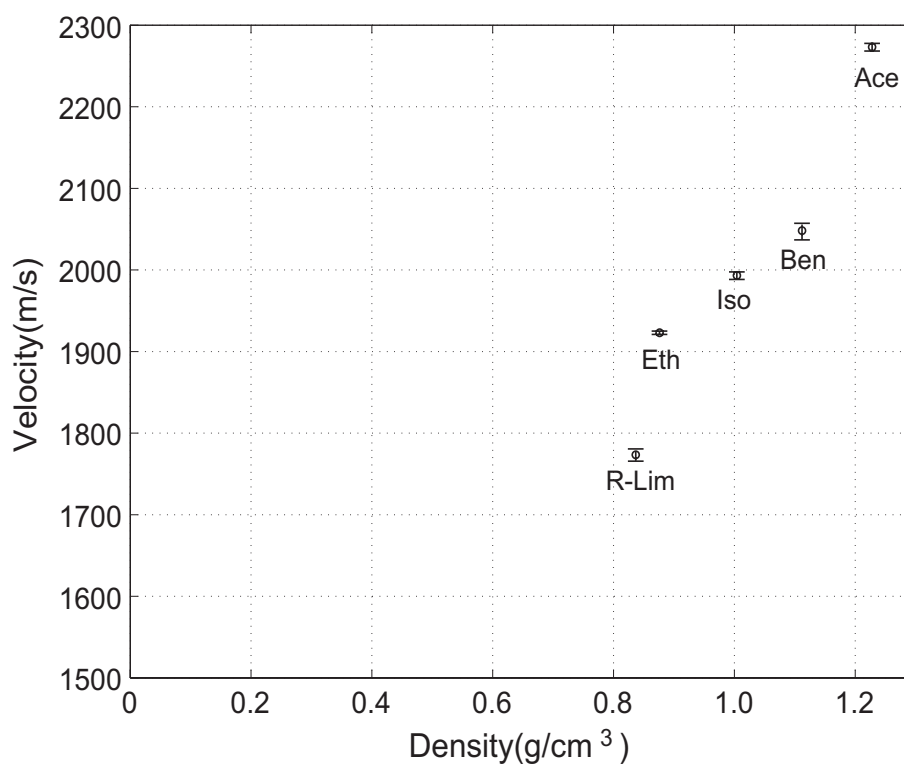


図 3.25: SAW デバイスで、10 $\mu$ M Cp-Lip1 溶液が 0.1mM 匂い分子と結合した溶液の弾性表面波の伝播速度および標準偏差 (R-Lim : R-Limonene、Eth : Ethyl butyrate、Iso : 2-Isobutylthiazole、Ben : Benzophenone、Ace : 2-Acetylthiazole)

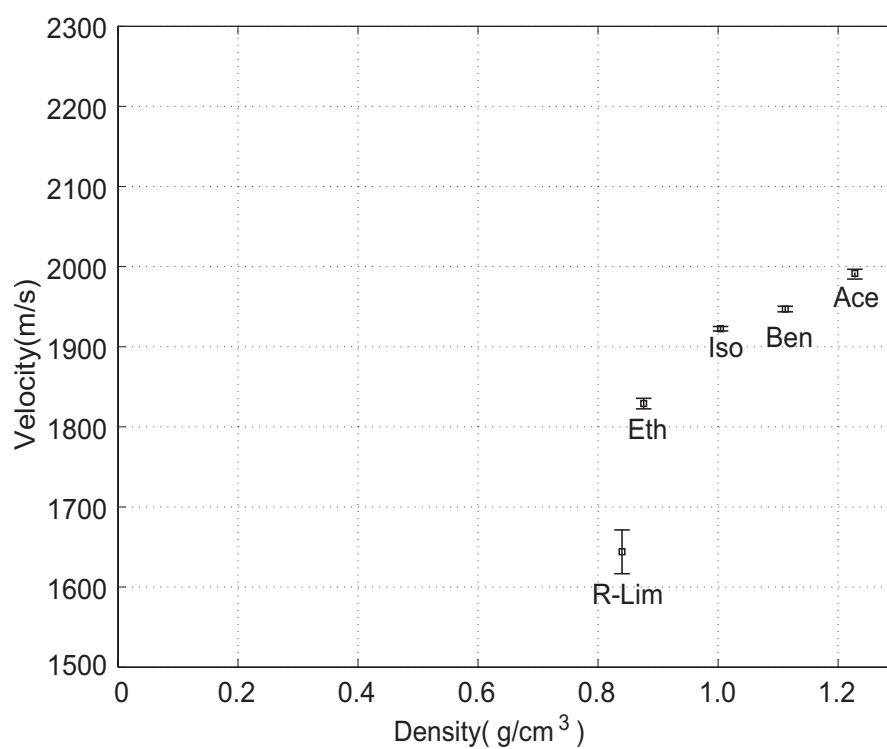


図 3.26: SAW デバイスで、10 $\mu$ M Cp-Lip1 溶液が 1mM 匂い分子と結合した溶液の弾性表面波の伝播速度および標準偏差 (R-Lim : R-Limonene、Eth : Ethyl butyrate、Iso : 2-Isobutylthiazole、Ben : Benzophenone、Ace : 2-Acetylthiazole)

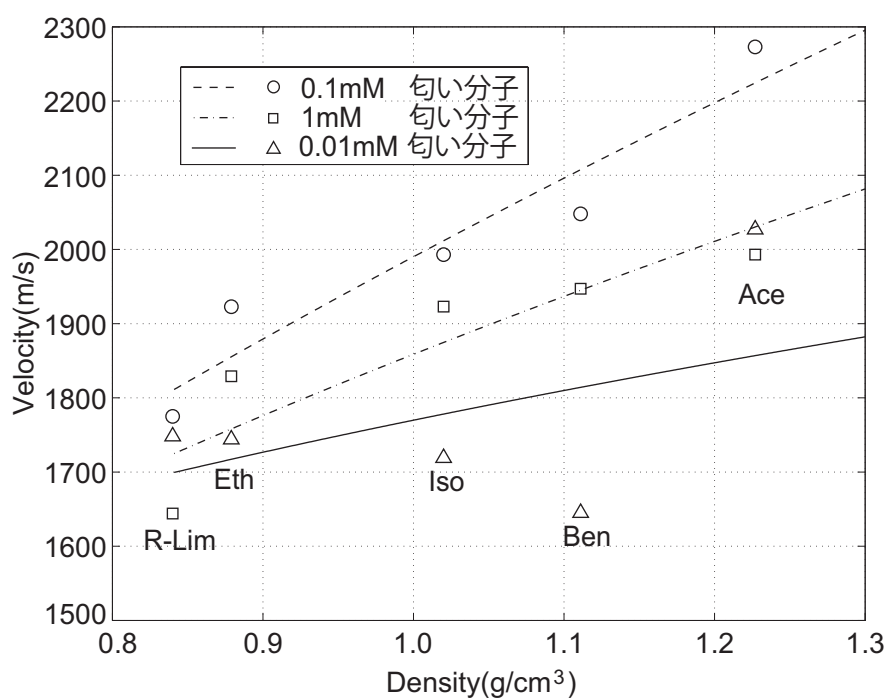


図 3.27: SAW デバイスにおける 5 種類の結合溶液の弾性表面波伝播速度とその回帰分析 (R-Lim : R-Limonene、Eth : Ethyl butyrate、Iso : 2-Isobutylthiazole、Ben : Benzophenone、Ace : 2-Acetylthiazole)

### 3.4 実験結果

予備実験では、福田永研究室で作製した SAW デバイスの受信側 IDT の感度に有効的な溝を調べて、溝幅 0.24mm-溝高さ 0.25mm の溝基板より溝幅 0.41mm-溝高さ 0.26mm の溝基板のほうが SAW の受信側 IDT の感度が良いことを確認した。本実験では、異なる濃度のエタノールと BSA タンパク質を試料溶液とした。純水に対して異なる濃度の試料溶液の理論結果と実験結果の比較より得られた速度がほぼ一致しているため、理論計算は有効であると考えられる。

匂い分子の判別する実験では、純水に対して弾性表面波の伝播速度に影響が最小限の Tris 緩衝液と Cp-Lip1 の濃度を確認して、Cp-Lip1 とそれに結合した 5 種類の匂い分子を SAW デバイス上に置いた時の弾性表面波を測定した。測定結果より、SAW デバイスで、Cp-Lip1 と結合した 5 種類の匂い分子の弾性表面波の伝播速度はそれらの濃度と密度によって違うことを確認した。

### 3.5 まとめ

本章では、SAW デバイスで匂い分子を判別するための実験について述べた。本実験の目的は、SAW デバイスで、Cp-Lip1 匂い結合タンパク質に対して異なる種類の匂い分子の影響を明らかにすることである。そのため、第 2 章で導出した SAW の理論式 (2.13) の有効性および匂い分子の実験で使用する溝のサイズを明らかにした。実験装置は、福田永研究室で開発した SAW デバイスである。匂い分子の判別実験中使った Cp-Lip1 は、岩佐研究室で作製した。Cp-Lip1 とそれに結合した匂い分子が SAW デバイス上にある場合の弾性表面波の伝播特性を測定して匂い分子を同定した。

SAW デバイス上で、弾性表面波の伝播速度は基板の材料および SAW デバイス上に置いた媒質に依存する。SAW デバイスの伝播路上に、異なる濃度のエタノール、BSA タンパク質および Cp-Lip1 と結合した R-Lim、Eth、Iso、Ben、Ace 匂い分子を試料溶液として置いて、それらの弾性表面波の伝播速度を測定した。まず、第 2 章に導出した理論式の有効性を確認するために SAW デバイスを使った予備実験を行った。

弾性表面波の伝播時間は、SAW デバイス装置によって測定した。レーリー波は SAW デバイスの自由表面上に伝播する。したがって、試料なしの弾性表面波を測定した。レーリー波の伝播時間は、測定する入力信号と出力信号の相互相関係数を解析することによって計算できる。相互相関係数の最大になるラグは伝播時間、すなわち遅延時間に対応している。また、SAW デバイスでは、液体が溝に入ったとき、漏洩レーリー波と縦波が伝播する。試料溶液の実験伝播速度は、自由表面のレーリー波と溝の中に伝播している漏洩レーリー波と縦波の総伝播速度である。その結果、溝幅 0.41mm-溝高さ 0.26mm である時異なる濃度のエタノール溶液の理論計算速度が実験より得られた速度とほぼ一致している。BSA タンパク質の実験では、溝幅 0.24mm-溝高さ 0.25mm の溝基板より溝幅 0.41mm-溝高さ 0.26mm の溝基板のほうが SAW の受信側 IDT の感度に適している。次に、SAW デバイスの基板上 Cp-Lip1 とそれに結合した 5 種類の匂い分子を適当な濃度に希釈し、それを SAW デバイス上に配置して、弾性表面波の伝播速度を実験的に観察した。そして、Cp-Lip1 に対応して同じ濃度の 5 種類の匂い分子を SAW デバイス上で Cp-Lip1 に反応させ、SAW の伝播速度を測定した。その測定実験では、弾性表面波の伝播速度より Cp-Lip1 と結合した 5 種類の匂い分子を判別することができた。また、異なる濃度の匂い分子の弾性表面波の伝播速度を比べると、匂い分子の濃度も弾性表面波の伝播速度に影響があることを明かにした。



## 第4章 匂い分子を同定するための伝播速度の理論解析

### 4.1 匂い分子の伝播速度の理論解析

第2章で導出した弾性表面波の伝播速度の理論式が示すように固体/液体界面における弾性表面波の伝播速度は媒質の弾性と密度に依存する。SAWの伝播速度の理論式(2.13)より弾性表面波の伝播速度を求めるには液体の音速 $c_L$ を求める必要がある。液体と固体の体積弾性率および密度は温度と圧力によって変化が小さい。そして、同じ媒質で音速は一定である。第3章の実験に使ったSAWデバイスの水晶STカット基板で伝播する縦波速度は7030m/s、横波速度は3390m/sである[31]。第3章で述べた実験では、純水を基準溶液として使った。純水の音速は1500m/sである[32]。試料溶液の音速 $c_L$ は

$$c_L = \sqrt{\frac{K}{\rho_\ell}} \quad (4.1)$$

である。なお $K$ は試料溶液の体積弾性率、 $\rho_\ell$ は試料溶液の密度である。

SAWデバイスを伝播するレーリー波の伝播路上に液体があるとき縦波を液体中に放射しながら漏洩レーリー波は伝播する。図2.1に示すように、SAWの伝播経路上で匂い分子を測定するとき、その伝播経路上ではレーリー波、漏洩レーリー波と縦波が伝播する。そのため、SAW型匂いセンサでは、レーリー波と縦波の伝播速度より漏洩レーリー波の理論伝播速度を計算する必要がある。表3.1に示しているように、R-Lim、Eth、Iso、Ben、Ace匂い分子の密度はそれぞれ0.840g/cm<sup>3</sup>、0.879g/cm<sup>3</sup>、1.020g/cm<sup>3</sup>、1.111g/cm<sup>3</sup>、1.227g/cm<sup>3</sup>である。漏洩レーリー波の伝播速度 $c_{LR}$ は、漏洩レーリー角 $\theta_{LR}$ および媒質の弾性定数に依存するため、式(2.11)と(2.13)を利用して、漏洩レーリー波の伝播速度の変化を計算した。図4.1はSAW

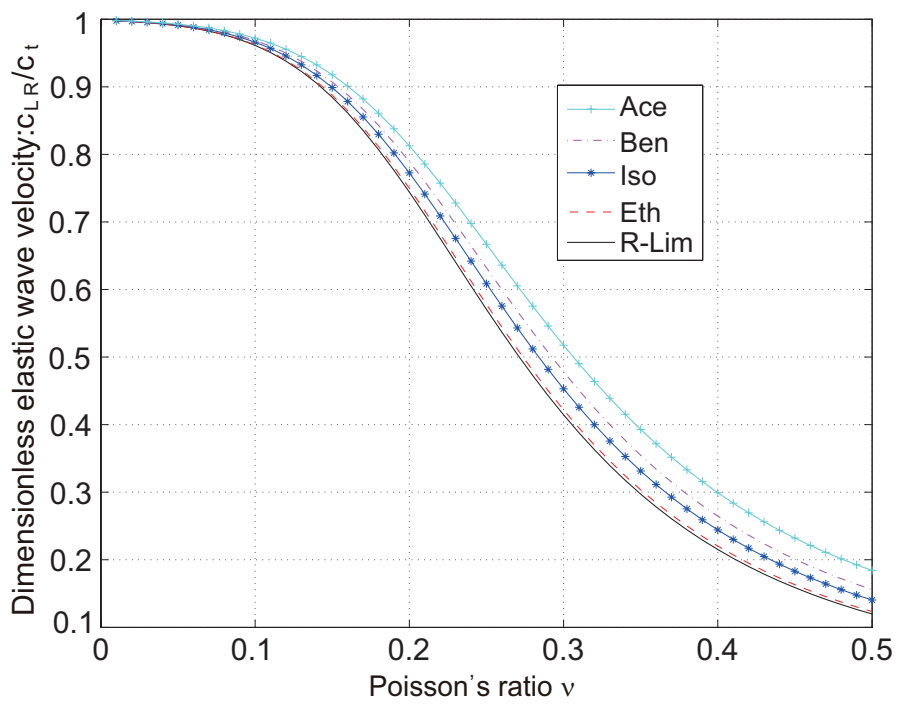


図 4.1: SAW デバイスにおける 5 種類の単一匂い分子の理論伝播速度 (Ace : 2-Acetylthiazole、Ben : Benzophenone、Iso : 2-Isobutylthiazole、Eth : Ethyl butyrate、R-Lim : R-Limonene)

デバイスにおけるこの5種類の単一匂い分子の漏洩レーリー波の理論上の伝播速度を示す。なおその結果、固体/液体界面において弾性表面波の伝播速度は基板の弾性定数に依存する。そして、同図にみられるように水晶基板のポアソン比 0.266 において、この5種類の単一匂い分子の無次元弾性表面波の伝播速度は異なる。また、P51の表 3.1 にみられるように5種類の単一匂い分子の密度は異なる。これらの結果を使うと、SAW デバイスで同じ基板を使って異なる単一匂い分子が同定できる可能性がある。そして、この結果は SAW の伝播速度の理論式 (2.13) によって異なる単一匂い分子を判別できる可能性があることを示している。

## 4.2 理論結果と実験結果の比較

SAW の伝播速度の理論式を実験的に検証するため、異なる濃度の Ben 匂い分子の伝播速度を比較した。Ben 匂い分子では、体積弾性率は  $1.757 \times 10^9 \text{Pa}$  である [33]。したがって、理論式 (4.1) から Ben 匂い分子の音速が  $1258 \text{m/s}$  であった。また、実験的に、 $10 \mu\text{M}$  濃度の Cp-Lip1 と結合した  $0.01 \text{mM}$ 、 $0.1 \text{mM}$ 、 $1.0 \text{mM}$  濃度の Ben 匂い分子を SAW の伝播経路上に置いて、弾性表面波の伝播速度を測定した。測定はそれぞれ 30 回行い、その平均値を測定値とした。図 4.2 は SAW デバイスで、Ben 匂い分子の弾性表面波の比較結果を示す。同図で、理論伝播速度は、純水に対応する異なる濃度の Ben 匂い分子の弾性表面波の伝播速度である。その結果、Ben 匂い分子の弾性表面波の伝播速度は濃度の影響を受けることが分かった。実験伝播速度は、 $10 \mu\text{M}$  Cp-Lip1 は異なる濃度の Ben 匂い分子と結合する溶液の SAW の伝播速度および標準偏差である。この実験結果は、Ben 匂い分子の弾性表面波の伝播速度も濃度の影響を受けることを示している。しかし、 $0.01 \text{mM}$  濃度の Ben 匂い分子の弾性表面波の伝播速度は最も遅いことは、匂い分子溶液の濃度に関連する可能性があると考えている。

そして、 $0.1 \text{mM}$ 、 $1.0 \text{mM}$  濃度の5種類の匂い分子の SAW の伝播速度を比較した。図 4.3 は SAW デバイスにおける R-Lim、Eth、Iso、Ben、Ace 匂い分子溶液の比較結果である。その結果、この5種類の匂い分子の理論伝播速度と実験伝播速度はほぼ一致している。これは、SAW の理論式 (2.13) は、SAW デバ

イスでの異なる種類の匂い分子を判別できることを示す。濃度が同じ場合は、試料溶液の伝播速度は密度に依存する。密度が増加すると、弾性表面波の伝播速度も増加する。SAW デバイスにおいて、弾性表面波の伝播速度と密度が線性的に関連しているため、同じ濃度の異なる匂い分子が同定できることを示している。異なる濃度の場合、0.1mM 濃度の R-Lim、Eth、Iso、Ben、Ace 匂い分子溶液の伝播速度は、1mM 濃度の場合よりも速いことが分かった。濃度が高いほど、弾性表面波の伝播速度は遅くなっている。この5種類の匂い分子溶液の中で、Eth、Iso、Ben、Ace の実験的速度と理論速度は基本的に一致している。しかし、R-Lim の実験速度は理論速度よりやや遅いことが観察された。これは、R-Lim 匂い分子の生物学的な内部構造に関連している可能性があると考えている。これらの結果は、Cp-Lip1 を用いた SAW 型匂いセンサーで、異なる種類の匂い分子を判別できることを明らかにした。

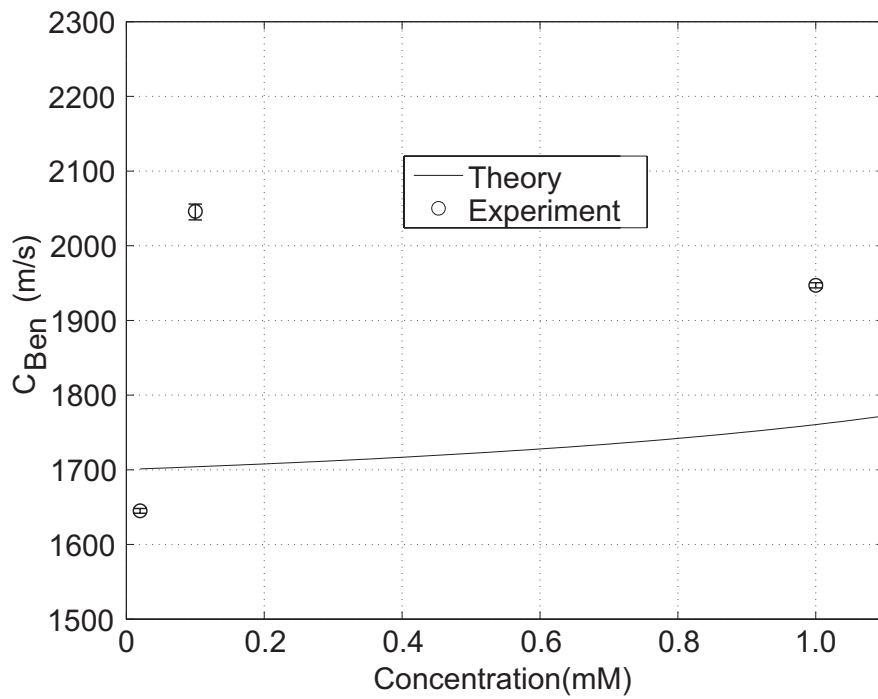


図 4.2: SAW デバイスで、Ben 匂い分子の弾性表面波の比較結果

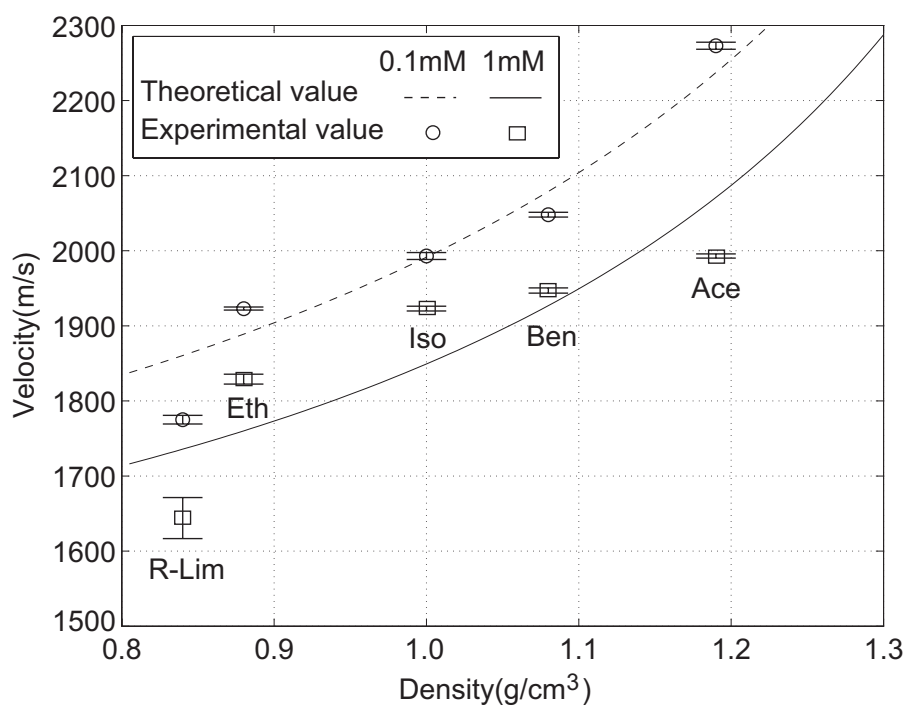


図 4.3: SAW デバイスにおける 5 種類の匂い分子溶液の比較結果 (R-Lim : R-Limonene、Eth : Ethyl butyrate、Iso : 2-Isobutylthiazole、Ben : Benzophenone、Ace : 2-Acetylthiazole)

### 4.3 まとめ

本章では、SAWの理論計算の結果と実験結果を比較して、SAWデバイスで匂い分子を判別できる可能性を示した。まず、SAWデバイスにおけるR-Lim、Eth、Iso、Ben、Ace匂い分子の理論的な伝播速度を計算した。その計算結果は、SAWデバイスで同じ基板を使って異なる匂い分子が同定できることを示した。また、純水に対応する異なる濃度のBen匂い分子のSAWの理論的な伝播速度と10 $\mu$ M濃度のCp-Lip1と結合した0.01mM、0.1mM、1.0mM濃度のBen匂い分子のSAWの実験で得た伝播速度を比較した。その結果、Ben匂い分子のSAWの伝播速度は濃度の影響を受けることが分かった。さらに、SAWデバイスにおける0.1mM、1.0mM濃度の5種類の匂い分子の弾性表面波の伝播速度を理論と実験的に比較した。その結果、この5種類の匂い分子の理論と実験伝播速度はほぼ一致しているため、SAWの理論式(2.13)は異なる種類の匂い分子を判別できることを確認できた。

## 第5章 結論

本論文では生体機能物質を使った匂いセンサを実現するため、SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播速度を理論と実験的な解析を行った。本研究結果から次のことが明らかになった。

匂いセンサは、人間の嗅覚のアルゴリズムを模擬している。同様に、生体機能指向型匂いセンサは、嗅覚細胞として複数種のセンサ素子を使用し、脳としてセンサ応答があって、測定するデータをコンピュータ処理と組み合わせる。それゆえ、匂い物質を検知・識別するために、我々は「匂いセンサ」として生体物質を利用した SAW デバイスにおける弾性表面波の伝播特性を解析した。

福田永研究室で開発した SAW デバイスでは、試料溶液を測定するとき、レーリー波、漏洩レーリー波と縦波が伝播する。それらの伝播速度は弾性表面波の圧電材料と液体の密度および音速に依存する。そのため、基板の密度、基板のポアソン比、試料溶液の密度、試料溶液の音速などによって、SAW デバイスで伝播する弾性表面波の伝播速度を理論的に計算する方法を提案した。解析方法では固体/真空界面と固体/液体界面で伝播する弾性表面波の伝播速度をそれぞれ計算し、それらの伝播速度と伝播距離より弾性表面波の伝播速度を求めた。SAW デバイスで伝播する弾性表面波の波動方程式と境界条件より、それらの伝播速度の理論式を導出した。また、レーリー波と漏洩レーリー波の伝播速度の理論式およびそれらの伝播距離と液体の縦波の伝播距離によって弾性表面波の伝播速度を計算できることが明らかにした。

SAW デバイスで、異なる匂い分子を判別するため岩佐研究室で作製した Cp-Lip1 匂い結合タンパク質を使った。この Cp-Lip1 は嗅粘膜を生成するボーマン腺を構成する細胞で発現された。匂い分子の認識メカニズム中、匂い分子は疎水性があるため、本研究で Cp-Lip1 を運搬体として使った。また、生物や化学物質には pH に敏感なものが多いため、Tris 緩衝液を使って酸や塩基による pH の変化を防ぐ働きをした。



Cp-Lip1 を用いた SAW 型匂いセンサの特性を評価するために予備実験と匂い分子を判別する実験を行った。本研究では、IDT 電極間距離は 25.00mm、圧電材料は ST カット水晶基板の SAW デバイスを使った。この SAW デバイスの周波数は 157.6MHz である。著者は、試料溶液を溝に置いた時の弾性表面波の伝播特性を測定した。予備実験では、エタノールと BSA タンパク質を試料溶液として使って、SAW の理論式は有効であることを明らかにした。また、SAW デバイスで溶液を保持する溝開口形状の幅が比較的小さい範囲では位相差が生じないことが分かった。そのため、二つの異なるサイズの溝を使って SAW の受信側 IDT の感度を調べた。その結果、溝幅 0.41mm-溝高さ 0.26mm の溝は溝幅 0.24mm-溝高さ 0.25mm の溝基板より SAW の受信側 IDT の感度が良いことを明らかにした。匂い分子を判別する実験では、Cp-Lip1 とそれに結合した 0.01mM、0.1mM、1mM 濃度の R-Lim、Eth、Iso、Ben、Ace 匂い分子を試料溶液として使った。その結果、試料溶液の濃度が同じ場合は、匂い分子溶液の弾性表面波の伝播速度は密度に依存することを明らかにした。それゆえ、SAW デバイスでそれらの 5 種類の匂い分子を判別できることが分かった。異なる濃度の場合は、弾性表面波の伝播速度を観察して、匂い分子溶液の濃度も SAW の伝播速度に影響があると考えている。一方、SAW デバイスにおけるこの 5 種類の匂い分子の理論計算結果では、弾性表面波の伝播速度と基板の弾性定数が線形的な関係するため、SAW デバイスで同じ基板を使って異なる匂い分子が同定できることを理論的に検証した。また、SAW デバイスにおける弾性表面波の実験と理論伝播速度はほぼ一致しているため、SAW の理論式 (2.13) によって異なる匂い分子を判別できる可能性があることを確認できた。

本研究で明らかにした SAW の理論式を広く利用し、その生体機能物質を使った匂いセンサでの有効性を検証したいと考えている。また、人間と同様に「匂い」を識別できる「生体機能型匂いセンサ」を実現すること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。将来的には、本研究の成果が弾性表面波を用いた匂いセンサの実現によって、人間の「感性」を客観的にかつ定量的に測れるような時代を期待している。

## 謝辞

本研究を進めるにあたり熱心な御指導御鞭撻を賜りました、室蘭工業大学 永野宏治 教授に心より感謝申し上げます。博士課程への進学および研究全般にわたる多大なご支援とご指導をいただきました。留学生の私に日本語、英語論文の書き方をご指導いただくことや、研究内容について鋭いご指摘をいただくことが何度もありました。特に、休日であるにも関わらず、私の研究に多くのお時間を割いていただきました。深夜まで時間と戦って論文を直したこと、厚意により様々な発表の機会を与えていただいたこと、留学生活までに助けたことにつきましての深く感謝致します。本論文も先生の励ましによって仕上げることができました。重ねてお礼申し上げます。

室蘭工業大学 岩佐達郎 名誉教授に感謝申し上げます。生体機能指向型匂いセンサの実験試料溶液を提供し、それらの反応に関する知識についてご助言を頂きました。また、激励の言葉もいただき、大変勇気付けられました。打ち合わせの中で、研究内容や開発の進め方についてご指導いただきました。

室蘭工業大学 澤田研 准教授に感謝申し上げます。本論文を作成・審査にあたり貴重な御指摘、御意見を賜りまして心より感謝いたします。

室蘭工業大学 福田永 教授に感謝申し上げます。実験装置 SAW デバイスを提供していただき、SAW 励振の基礎と応用についてご指導いただき、SAW センサーへの応用に関する知識についてご助言をいただきました。

室蘭工業大学 福田永研究室を修了したファインクリスタル株式会社の小川健吾 博士に感謝申し上げます。本研究の実験データの提供や SAW 励振の基礎と応用についてご助言いただきました。打ち合わせの中で、SAW デバイスの研究内容や開発の進め方についてご指導していただきました。

室蘭工業大学 永野研究室メンバーの趙培江氏、鈴木郡氏、横堀祥平氏、上田健太氏、星野宗太氏、辻拓真氏など全員に心より感謝いたします。研究及び本論文作成中で、日本語の修正など、様々な面で助けていただきました。

室蘭工業大学 国際交流センターのメンバーの皆様に感謝申し上げます。留学生生活を助けていただいたこと、国際活動に参加させていただいたことに心より感謝いたします。

留学生フレンドシップの皆様や友達に感謝申し上げます。在日生活に大変お世話になり、いつも温かい激励をいただきました。

中国語講座の皆様には感謝申し上げます。中日文化交流の機会を与えていただいたこと、留学生活まで助けていただいたことにつきまして、深く感謝致します。

最後に長い留学生生活を応援してくれた両親と夫に対して深い感謝の意を表し謝辞と致します。

本論文を完成させることができたのはこのような皆様のご協力のおかげです。本当にありがとうございました。

## 参考文献

- [1] 都甲潔. 感性バイオセンサー. 朝倉書店, 2001.
- [2] 岩佐達郎, 満都拉, 浦野和雄, 高橋司, 澤田研, 岡野恵子, 中村整. イモリ嗅上皮ポーマン腺に発現するリポカリンファミリータンパク質. 日本味と匂学会誌, Vol. 15, No. 2, pp. 211–220, Aug. 2008.
- [3] Flower D.R. Beyond the superfamily: the lipocalin receptors. *Biochimica et Biophysica Acta-protein structure and molecular enzymology*, Vol. 1482, No. 1-2, pp. 327–336, Oct. 2000.
- [4] Shida S., Tatsunosuke M., Naoki K., Hiroyuki W., Katsumi M., Sachiko M., and Kaori T. Lectin histochemical study on the olfactory organ of the newt, *Cynops pyrrhogaster*, revealed heterogeneous mucous environments in a single nasal cavity. *Anatomy and Embryology*, Vol. 206, No. 5, pp. 349–356, Apr. 2003.
- [5] 李興, 温都日格, 澤田研, 岩佐達郎. イモリ Cp-Lip1 のリガンド結合と構造変化の解析. 日本味と匂学会誌, Vol. 21, No. 3, pp. 415–418, Dec. 2014.
- [6] Maitin R. *Mechanical waveguides*. Pergamon press, 1960.
- [7] 山之内和彦. 弾性波デバイス技術. 日本学術振興会弾性波素子技術第 150 委員会, 2004.
- [8] Rayleigh L. On wave propagating along the plane surface of an elastic solid. *Proc.London Math*, Vol. 7, pp. 4–11, 1885.

- [9] 近藤淳, 沖山雄介, 松井義和. 超音波センサ 液相系弾性表面波センシングシステムの開発. *超音波 techno*, Vol. 21, No. 3, pp. 76–80, May. 2009.
- [10] White R. and Voltmer F. Direct piezoelectric coupling to surface elastic waves. *Applied Physics Letters*, Vol. 7, No. 12, pp. 314–316, 1965.
- [11] 山之内和彦, 柴山乾夫. すだれ状電極による圧電板に対する弾性表面波の励振について. 東北大通研音響工学研究会, 1965.11.
- [12] Wohltjen H. and Dessy R. Surface acoustic-wave probe for chemical analysis. *Analytical Chemistry*, Vol. 51, pp. 1470–1475, 1979.
- [13] Nakamura K., Kazumi M., and Shimizu H. SH-type and Rayleigh-type surface waves on rotated Y-cut LiTaO<sub>3</sub>. *Proc. IEEE US Symp.*, pp. 819–822, 1977.
- [14] Ballantine D.S., White R., Martin S., Ricco A., Zellers E., Frye G., and Wohltjen H. Acoustic wave sensors-theory, design and physico-chemical applications. *Sensors and Actuators A: Physical*, Vol. 63, No. 1, pp. 79–79, Sep. 1997.
- [15] Ohnishi M., Ishimoto C., and Seto J. The biomimetic property of gas-sensitive films for odorants constructed by the langmuir-blodgett technique. *Thin Solid Films*, Vol. 210, No. 2, pp. 455–457, Apr. 1992.
- [16] 小川健吾, 鳥越俊彦, 澤田研, 岩佐達郎, 永野宏治, 柴山義行, 笏田芳広, 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, pp. 490–495, Jun. 2015.

- [17] Nathalie B., Sophia B., Evelien W., Bert G., Matthias H., and Bart D.S. Surface acoustic wave biosensor as a functional quality method in pharmaceuticals. *Sensors and Actuators B: Chemical*, Vol. 210, pp. 103–112, 2015.
- [18] 毛利義近. においセンサの原理と応用. マイクロメカトロニクス, Vol. 45, No. 4, pp. 13–19, 2001.
- [19] Shaffer R.E., Rose-Pehrsson S.L., and McGill R.A. A comparison study of chemical sensor array pattern recognition algorithms. *Analytica Chimica Acta*, Vol. 384, No. 3, pp. 305–317, Apr. 1999.
- [20] Park S.J., Kwon O.S., Lee S.H., Song H.S., Tai H.P., and Jyongsik J. Ultrasensitive flexible graphene based field-effect transistor (FET)-type bioelectronic nose. *American Chemical Society*, Vol. 12, No. 10, pp. 5082–5090, Oct. 2012.
- [21] Flores M.E., Carbajal R.M., Flores G.N., Sanchez M.R., and Rodriguez C.A. Rayleigh's, Stoneley's, and Scholte's interface waves in elastic models using a boundary element method. *Journal of applied mathematics*, Vol. 2012, No. 313207, pp. 1–15, 2012.
- [22] Martine R. and Gerard M. Rayleigh surface waves and their canonically associated quasi-particles.
- [23] 物理学辞典編集委員会編. 物理学辞典 (改訂版). 培風館, p. 1540, 2002.
- [24] Viktorov I.A. Rayleigh and lame waves. Plenum press · New York, pp. 3,47–50, 1967.
- [25] 長倉三郎, 井口洋夫, 江沢洋, 岩村秀, 佐藤文隆, 久保亮五. 岩波理化学辞典 (第5版). 岩波書店, p. 1386, 1998.
- [26] Peter H. Laser diagnostics of mechanical and elastic properties of silicon and carbon films. *Applied Surface Science*, Vol. 106, pp. 429–437, Oct. 1996.

- [27] Povey M.J.W., Moore J.D., Braybrook J., Simons H., Belchamber R., Raganathan M., and Pinfield V. Investigation of bovine serum albumin denaturation using ultrasonic spectroscopy. *Food Hydrocolloids*, Vol. 25, No. 5, pp. 1233–1241, Jul. 2011.
- [28] 高橋司, 澤田研, 岩佐達郎. アカハライモリ嗅覚特異的リポカリン Cp-Lip1 の低分子化合物結合特性. 日本味と匂学会誌, Vol. 17, No. 3, pp. 417–420, Dec. 2010.
- [29] William W. The versatile  $\beta$ -barrel membrane protein. *Current Opinion in Structural Biology*, Vol. 13, No. 4, pp. 404–411, Aug. 2003.
- [30] Maximilien L.R., Jordi T., Juan T., Eric P., Catherine M., David Z., and Carlos A. Influence of the surrounding environment in re-naturalized  $\beta$ -barre membrane proteins. *Biophysical Chemistry*, Vol. 234, No. 12, pp. 6–15, Mar. 2018.
- [31] 櫛引淳一. 超高品質人工水晶の超音波マイクロスペクトロスコピー. 平成13年度-平成14年度科学研究費補助金 [基盤研究 (B)(2)] 研究成果報告書 (課題番号 13555085), 2003.
- [32] Beilog'skii V.A., Sekoyan S.S., Samorukova L.M., Stefanov S.R., and Levtsov V.I. Pressure dependence of the sound velocity in distilled water. *Measurement Techniques*, Vol. 42, No. 4, pp. 406–413, 1999.
- [33] Balaji G.R., Naganathan G.G., and Veerapandian G. Acoustic and volumetric studies of benzophenone with alcohols and toluene at 303k and atmo-spheric pressure. *International Journal of Technical Research and Applications*, pp. 52–59, 2016.

## 研究業績

### 学術論文（査読付き）

1. **YuxiaYang**, Koji Nagano, Chaoluomeng, Tatsuo Iwasa and Hisashi Fukuda. Analysis of surface acoustic wave propagation velocity in biological function-oriented odor sensor. Journal of Sensors, Vol.2018, pp.1-7, Mar.2018.

### 学会発表

国際会議における発表

口頭発表

1. **YuxiaYang**, Koji Nagano, Tatsuo Iwasa, Hisashi Fukuda and Chaoluomeng. Effect of concentration on surface acoustic wave velocity in a Rayleigh-type biosensor. 2nd International Conference on Communication and Information Systems, Wuhan, China. (2017.11)

ポスター発表

1. **YuxiaYang**, Koji Nagano, Tatsuo Iwasa and Hisashi Fukuda. Propagation velocity of surface acoustic wave in biological function-oriented odor sensor. Joint Seminar on Environmental Science and Disaster Mitigation Research, P-B-3, Muroran, Japan. (2016.3)
2. **YuxiaYang**, Koji Nagano, Tatsuo Iwasa and Hisashi Fukuda. Analysis of surface acoustic wave velocity of a SAW device using Cp-Lip1 odorant binding protein and odorant molecules. Joint Seminar on Environmental Science and Disaster Mitigation Research, P-A-2, Muroran, Japan. (2017.3)



3. **YuxiaYang**, Koji Nagano, Tatsuo Iwasa, Hisashi Fukuda and Chaoluomeng. Theoretical analysis of surface acoustic wave propagation in viscoelastic model for detection of odorant molecules. Joint Seminar on Environmental Science and Disaster Mitigation Research, P-A-1, Muroran, Japan. (2018.3)

国内研究会発表

口頭発表

1. **YuxiaYang**, Koji Nagano, Tatsuo Iwasa and Hisashi Fukuda. Analysis of propagation velocity of surface acoustic waves in SAW device for biofunction-oriented odor sensor. The society of instrument and control engineers, Hokkaido University, Sapporo, Japan, 2017, pp.93-94. (2017. 2)

## 賞 罰

1. 2017年11月: 2nd International Conference on Communication and Information Systems, ICCIS 2017において Effect of concentration on surface acoustic wave velocity in a Rayleigh-type biosensor が<sup>3</sup> The Best Presentation Award を受賞した。