

ORIGINALS (3)

チタン電極表面の改質と生体物質検出の電気応答

中林 一朗*・富田 太平*・川城 克博*・森本 史郎*・阿部 哲**

* 徳島大学工学部化学工学教室 〒 770 徳島市南常三島町 2-1

** 日揮化学株式会社 〒 100 東京都千代田区大手町

(1985年5月10日 受理)

Modification of Titanium Electrode Surface and its Electric Response for Detection of Biological Substances

Ichiro NAKABAYASHI*, Tahei TOMIDA*, Katsuhiro KAWASHIRO*,
Shiro MORIMOTO* and Satoshi ABE**

* Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering,
Tokushima University, Minamijosanjima-cho, Tokushima 770

** Nikki Chemical co., Ltd., Ohtemachi, Chiyoda-ku, Tokyo 100

(Received May 10, 1985)

In developing electrodes to detect biological substances, such as antigens, antibodies and enzymes, several modifications of the surface structure and texture of electrode substrates were carried out by the treatments of rolling, annealing and ion bombardment. With these electrodes, the relation between electric responses and surface properties was investigated in a system of trypsin-trypsin inhibitor.

The potential shift detected with each electrode was expressed by the following equation: $V = V_0(1 - \exp(-kt))$, where V_0 is the terminal potential, t is the response time and k is the rate constant. Results showed that the value of k in the equation depended on the concentration of biological substances as well as the characteristics of the electrode surface developed by the above treatments. Ion bombardment in an argon atmosphere was found to be the most effective for modifying the electrode substrate of a bio-sensor, because it resulted in a rapid response and high potential shift.

1. 緒 言

生体内での抗原-抗体反応は免疫拡散法、電気泳動法、沈降凝集法、蛍光抗体法、radio-immunoassay^{1,2)}などにより、広く利用され、調べられてきたが、操作が難しく、高価な設備や装置を必要とするなど多くの難点があった。

最近、抗原-抗体反応を利用した生体物質の新しい検出法³⁻⁵⁾がいくつか試みられている。山本ら⁶⁻⁸⁾は電極の表面に抗原または抗体を化学的な手法で固定した化学修飾電極を用い、電極表面で抗原-抗体、酵素-酵素阻害剤反応が起こると、この反応により、生体物質の検出が可能なることを報告している。

本研究は山本らと同様の装置を用い、電位応答変化を

調べた。電極基質として、チタン線を圧延、焼鈍、およびイオンボンバードなどの処理をしたもの、またチタン板にアルミニウムを溶射し^{9,10)}、Ti-Al合金板を熱処理して得、これをアルカリ展開した、いわゆる Raney 型チタン板を用い、BrCN 法¹¹⁾にてそれら基質表面にトリプシンあるいはトリプシンインヒビターを化学的に修飾し、電極を作製した。これら化学修飾電極を用いて、酵素-酵素阻害剤反応に基づく電位応答変化を求め、基質の表面状態、結晶性などとの関連性について検討した。

2. 試薬の調製と実験方法

2.1 試薬の調製

酵素として、P-L Biochemicals 製の凍結乾燥トリプシン (185 Units/mg) を用いた。トリプシンは分子量

23,000~24,000 で N を 16.1% 含むタンパク質分解酵素であり、*L*-リジンおよび *L*-アルギニンのカルボキシル基を含むペプチド、アミドおよびエステル結合にのみ特異的に作用し、これを切断する¹²⁾。なお、トリプシン分子中には 14 個の S 原子を含む。酵素阻害剤として SIGMA 製の凍結乾燥されたもので主としてアプロチニン(10,000 Units/mg) を含む。分子量は 6,000~7,000。基準電極の修飾剤として、生化学工業製の Bovine Serum Albumin(BSA)を用いた。純度96~99%、分子量は約 6,7000。緩衝液として和光純薬製のバルビタールナトリウム($C_2H_5O_2CCONHC(ONa)=NCO$)を用い、濃度 0.05mol/l の水溶液として用いた。緩衝液の pH は塩酸で 8.6 に調製した。ブロッキング剤として、キシダ化学製のモノエタノールアミンをバルビタール緩衝液で、濃度 1mol/l に調製し、用いた。radio-immunoassay 法による測定に用いた抗原には human-Immuno globulin G(h-IgG)、抗体に Anti-human-Immuno globulin G(Anti h-IgG)を用いた。その他の試薬 BrCN, NaOH などは市販のものを用いた。電極基質として使用したチタン線($\phi 1mm$)、チタン板(厚さ 0.25 mm)は日本電球工業製の純度 99.9% のものを、溶射アルミニウム線は純度 99% のものを使用した。

2.2 化学修飾電極の作製

電極基質として用いたチタン線を種々加工した。すなわち、歯科用ローラーで圧延したもの、1,300°C までの温度で真空焼鈍したもの、あるいはこれらを酸化処理(600°C, 空気中)した後、アルゴンイオンボンバードしたものなどを用いた。また、Raney 型チタン板は前に報告した触媒作製法^{9, 10)}と同様の方法で行ない、アルカリ展開後、空気酸化し、イオンボンバード処理を行なった。

チタン金属表面の酸化膜を生成させる方法として、上述したような空気中熱処理酸化法以外に、電気化学的な陽極酸化法も試みた。

以上のような酸化チタン表面にイミノ基導入のため、BrCN 法を用いた。すなわち、pH 12 の NaOH 水溶液中に電極基質を浸漬し、BrCN を投入後、20 分間 NaOH

液にて pH 11~12 に保持し、イミノ基を基質表面に固定した。その後、濃度 2g/l のトリプシン、トリプシンインヒビター液中に 2 時間浸し、化学修飾した。修飾されるとき化学変化、模式図などは山本らの論文^{7, 8)}などに詳述されているので省略する。

基準電極はトリプシン、トリプシンインヒビター液中に浸漬しても反応せず、一定電位を指示することが要求される。このため、BSA を作用電極と同一のチタン基質に化学修飾した。また、トリプシン、BSA などは分子量が非常に大きいので、基質上に未結合の OH 基、イミノ基が残存し、測定時に反応が起こるおそれがある。このため、低分子であるモノエタノールアミンをイミノ基と反応させ、作用、基準電極表面とも完全にブロックした。電極表面の改質を目的としたイオンボンバード法は多田らの方法¹³⁾と同様に RF 二極スパッター装置(RF diode sputtering)を用い、印加電圧、照射時間、アルゴン圧を種々変えて行なった。

2.3 電極電位の測定法

電極電位の測定は Fig. 1 に示したように、トリプシンを修飾した作用電極と BSA を化学修飾した基準電極とを 25 ml の測定セル内に固定、セルには 18 ml のバルビタール緩衝液を満たす。その後、トリプシンインヒビター水溶液 2 ml を測定セルに注入後、各電極間の電位変化を測定した。シリコンゴムは注入後の、あるいは攪拌による電極面積変化を防止するためである。

電位変化はタケダ薬研の TR84M 振動容量型電位差計を用いて測定し、松下通信工業製のレコーダーで記録した。系全体はアルミニウム製の暗箱内に設置され、シールドされている。

2.4 修飾電極表面の解析

修飾されたチタン電極の表面組織、表面分析には日立製 H-800 型の electron probe microanalyzer(EPMA)を使用した。radio-immunoassay にはアロカ社製の Well type γ counter を用い、ラベルした¹²⁵I の β 線を検出した。Ti-Al の合金生成、酸化物の種類、結晶性、配向性などを調べるため、理学電機製の X 線回折装置を用いた。

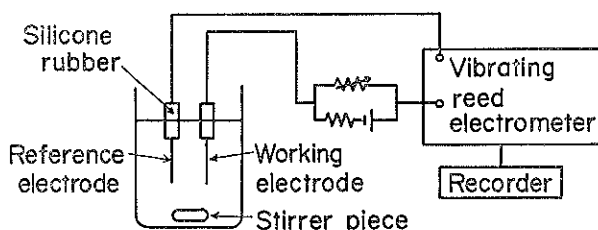


Fig.1 Apparatus for potentiometric measurement.

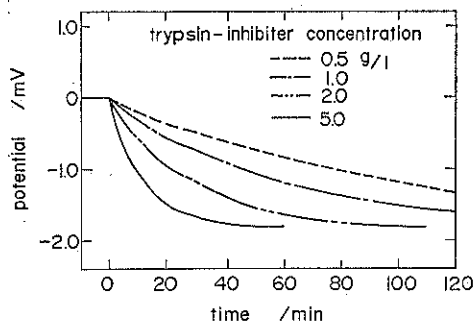


Fig. 2 Change in potential for trypsin electrode (titanium wire)

3. 実験結果と考察

3.1 チタン線を基質に用いた電気応答

チタン線にトリプシンを化学修飾した電極と BSA 基準電極の間の電位がバルビタール液中で安定し、一定電位を示した時に、トリプシンインヒビター液 2 ml (濃度: 0.5, 1, 2, 5 g/l) を測定セルに注入した。この時の電位-時間曲線を Fig. 2 に示した。図から、電位は負の方向に変化し、傾斜は時間とともに小さくなり、濃度 2 g/l の場合、95 分後に一定値 (-1.8 mV) を示した。一定値を示した後、バルビタール緩衝液、その他のタンパク質 (トリプシン、トリプシンインヒビターなど) をさらに注入しても、電位変化は認められず、酵素の特異反応を示しているものと考えられる。また、添加濃度を変えても、最終到達電位が同一であることなどから、この Fig. 2 の電位-時間曲線を、通常、触媒などで用いられる吸着速度式を適用してみた。すなわち、トリプシンインヒビターが基質上のトリプシンと結合した割合を θ とすると、次式のように表わせる。

$$d\theta/dt = k(1-\theta) \quad (1)$$

ここで k は定数

(1) 式を積分して、 $t=0$ のとき、 $\theta=0$ 、 $t=\infty$ のとき $\theta=1$ の条件を考慮すると、

$$\theta = (1 - \exp(-kt)) \quad (2)$$

が得られ、 $\theta = V/V_0$ で表わされるとすると、

$$V = V_0[1 - \exp(-kt)] \quad (3)$$

を得る。

ここで V_0 は最終到達電位を示す。

この(3)式を用いて、Fig. 2 の濃度変化を、semi-log プロットした結果を Fig. 3 に示した。図より、各々のトリプシンインヒビター濃度において、良い直線関係が得られる。つぎに、直線の勾配 k を各々の濃度に対してプロットすると、これもまた良い直線関係が得られ、

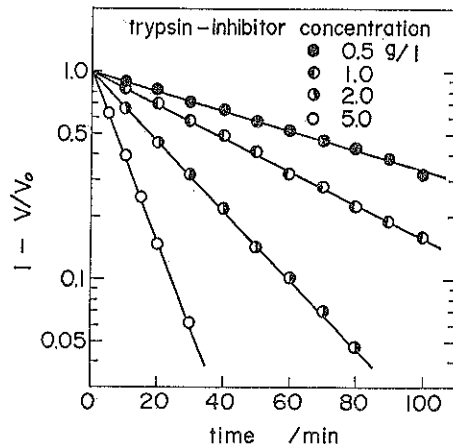


Fig. 3 Semi-log plots of $(1-V/V_0)$ vs. time.

(3) 式中の k は、トリプシンインヒビター添加濃度に対して比例することがわかった。このことは化学修飾電極を用いた場合、酵素-酵素阻害剤反応から、酵素および酵素阻害剤の定量的な測定が可能であることを示している。

一方、チタン線にトリプシンインヒビターを化学修飾し、トリプシン液を注入した場合の電位変化は正の方向に変化し、上述の挙動とまったく逆になる。これは、山本らが報告¹⁴⁾しているように、酵素と酵素阻害剤とが電極表面上で、複合体を作り、その際電荷の偏りを生じ、電気双極子の層が形成され、電位変化として観測されたものと考えられる。

3.2 種々の処理を行なったチタン基質を用いた電気応答

チタン線を圧延した場合、圧延板を焼鈍した場合、Raney 型チタン板を電極とした場合の電気応答について検討した。これらの結果を Fig. 4 に示した。また、最終到達電位 V_0 、 k の値、および平衡電位に達するに要する時間をそれぞれ Table 1 に示した。

1) 圧延処理をした場合

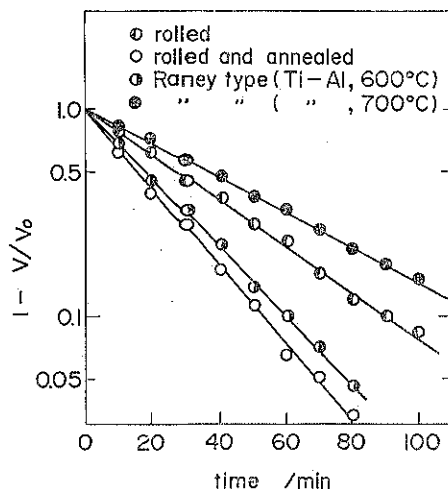
チタン線 ($\phi 1\text{mm}$) を歯科用ローラーにて圧延し、幅 2.7 mm、厚さ 0.25 mm にしたチタン板を 600°C、空气中で処理し、化学修飾した電極の場合、最終電位変化 V_0 は -4.0 mV が得られ、元の線と比べて、かなり電位変化は大きくなった。しかし、応答時間 (平衡に達する時間) は 150 分と長くなる。電位応答は電極表面に生成する OH 基濃度に関係があると考えられる。すなわち、圧延処理を行なった場合の表面には欠陥格子、微細化された結晶粒が生じるため、全体として、OH 基濃度が増大すると考えられる。

2) 圧延板を焼鈍した場合

Table 1 Terminal potential and constant k in Eq.(3)

electrode substrate	V_0/mV	k/min^{-1}	equilibrium time/min (t at $1-V/V_0=0.02$)
rolled	-4.0	0.026	150
rolled and annealed	-3.2	0.043	90
Raney-type (Ti-Al, 600°C)	-1.8	0.038	100
Raney type (Ti-Al, 700°C)	-3.7	0.020	200

Trypsin-inhibitor concentration; 2 g/l

Fig. 4 Semi-log plots of $(1-V/V_0)$ vs. time.
Trypsin-inhibitor concentration; 2 g/l

1,000°C 真空熱処理の場合, Fig. 4, Table 1 にも示したように, V_0 は -3.2 mV, 応答時間は 90 分, k は 0.043/min, となり, 電位変化はやや熱処理によって小さくなるが, 応答時間は短縮され, k の値は増加する。1,300°C で焼鈍した場合, 電位変化 V_0 は 0.1~0.2 mV を示したのみで非常に小さい。これらのことから, 熱処理温度が高くなればなるほど, 表面の OH 基も少なくなり, OH 基濃度はチタンの結晶性と密接な関係があると推定される。

3) Raney 型チタン板を用いた場合

既報^{9,10)}で記述したように, Raney ニッケルおよび Raney 鉄触媒が板状で得られることから, 表面積が非常に大きいと考えられる Raney 型チタン板を作製, 化学修飾し, 電極として用いた。Raney 型 Ti-Al 合金の生成温度は 600, 700°C とし, アルカリ展開後の表面酸化物の生成温度は 400°C, 空气中, 5 分間とした。Table 1 より, 合金生成温度 600°C の場合, V_0 は -1.8 mV, 応答時間は 100 分となり, 通常のチタン線の示した電気応答と比べ, 電位変化はほぼ同一だが, 応答時間はやや長くなることがわかった。合金生成温度 700°C の場合,

V_0 は -3.7 mV, 応答時間は 200 分となり, 電位変化 V_0 は大きくなるが, 応答時間は非常に長時間を要すること, また k の値は小さくなることが示された。

以上の Raney 型チタン板の BET 法による表面積測定の結果, 600, 700°C の場合, それぞれ 0.12, 0.43 m^2/cm^2 という値が得られた。この値は見かけの単位面積当たりであることから, 表面あらさ因子を示し, Raney 型チタンの場合, 異常に大きい。それゆえ, トリプシンのような巨大分子が化学修飾された場合, 未結合のイミノ基が多く残り, 結果的には前述した圧延チタンより電位変化が小さくなったものと考えられる。さらに, トリプシンインヒビターが結合部に到達するのにも, 表面の凹凸がはげしいため, 平衡電位に達するのに長時間要するものと解釈される。以上の事から, 電極の表面あらさから, 電位変化を考察すると, Raney 型のような凹凸のはげしい表面積の大きいものは, 電位変化 V_0 は大きくなるが, 応答時間が長く, 焼鈍した電極は表面積が小さいため, 電位変化 V_0 は小さく, 応答時間はトリプシンインヒビターが結合部に速く達するために短くなる。

3.3 電極表面酸化法と電位応答

前述したように, チタン金属表面に OH 基を生じさせる方法として, 従来のように空気酸化⁷⁾を行なってきたが, アルカリ水溶液中 (NaOH) で陽極酸化を行ない, 表面に酸化物を生成させる方法を試みた。

圧延, 焼鈍したチタン基質については, 空気酸化法と比べ, 電位変化, 応答時間ともに大きな変化を与えず, ほぼ同一の結果を得た。しかし, Raney 型の電極に陽極酸化を行ない, 化学修飾した場合, 合金生成温度, 600, 700°C とともに電位は -4.8, -5.5 mV と大きく変化し, 応答時間も 70, 100 分と, かなり短縮されることがわかった。これは前述したように, Raney 型チタンは表面あらさ因子が大きいというのも, 一つの理由として考えられるが, 酸化法の違いによって生成する酸化物層の微細構造が関連しているものと推察される。すなわち, 陽極酸化において, Raney 型チタン表面の突出部は電気化学的に溶出しやすい。したがって, 表面には比

較的滑らかな酸化被膜が生成し、化学修飾される OH 基の増加、いわゆる大きい電位変化 V_0 を示し、応答時間の短縮になったものと考えられる。この酸化法については、今後さらに検討する必要があるものと考えられる。

3.4 アルゴンイオンのボンバードによる電極表面の改質

アルゴンなどのイオンによるボンバードは一般に、固体物質表面の弱く結合している原子、分子またはイオンの一部をたたき出し、表面被膜などは活性化される。蛍光体材料などではこれが劣下の原因となる¹³⁾ことが知られている。このチタン電極の場合にも、表面の酸化膜が活性化され、表面に生成する OH 基の増加をもたらせると予想される。それゆえ、このイオンボンバードが化学修飾した電極の電気応答にどのような影響をもたらせるか、検討した。

空气中、600°C で酸化された圧延チタン板をアルゴン圧 20 Pa、印加電圧 300 V でイオンボンバードを行ない、その後トリプシンを化学修飾して電気応答を測定した。Fig. 5 にイオンボンバードの照射時間を変えた場合の電気応答を示した。図より、照射時間 5 分で早くも効果があらわれ、電位変化は -3.5 mV と元のチタン (圧延) 板の場合より、0.5 mV ほど変化量は小さくなるが、応答時間は 25 分と、かなり短くなる。式 (3) 中の k の値は、イオンボンバードの照射時間に対して大きく変わり、照射時間 20 分までは増大し、その後また減少する傾向にある。

Fig. 6 は照射時間に対する電気応答の最終電位 V_0 と平衡に達するまでの応答時間の変化を示したものであ

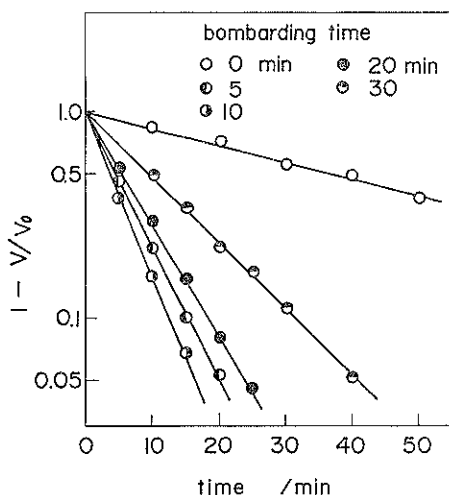


Fig. 5 Semi-log plots of $(1-V/V_0)$ vs. time. Trypsin-inhibitor concentration; 2 g/l

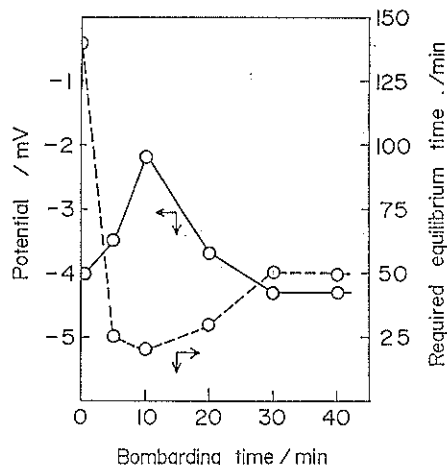


Fig. 6 Influence of bombarding time on potential and required equilibrium time.

る。アルゴンイオンボンバードの効果は Fig. 6 に見られるように非常に大きいことがわかる。一般に、この酵素-酵素阻害剤反応において、電位変化が大きくなると、平衡に達する時間 (応答時間) が長くなるという傾向にあるが、アルゴンイオンボンバードを行なうと、応答時間は電位変化が増大しても、それほど長くならず、センサーとして使用した場合の感度は高いものと考えられる。イオンボンバードの印加電圧が高い場合、照射時間を短縮することができる。すなわち、アルゴンイオンボンバードの印加電圧を 500 V にすると式 (3) 中の k の値は、照射時間 10~15 分で最大となる。

Fig. 5, 6 で使用した圧延チタン板以外の線あるいは Raney 型チタン板なども、アルゴンイオンボンバードによって、電位応答変化があらわれる。特に Raney 型の場合、凹凸がはげしく平衡に達する時間が長かったが、イオンボンバードすることによって、1/2~1/3 に短縮される。また、前述したように、1,300°C にて焼鈍したチタン板の表面はとくに OH 基が少なく、電位変化をほとんど示さなかったが、このアルゴンイオンボンバードによってかなり大きな電位変化が観察され、最高 -2.3 mV の電位変化 V_0 が得られた。多田ら¹³⁾によると、蛍光体材料である Zn_2SiO_4 にアルゴンイオンボンバードを行なうと、2,000~3,000 Å の表面層に非晶質層が形成されることが、RHEED パターンで確認されているが、この酸化チタン表面層にもアルゴンイオンによって、上記の非晶質層が形成され、この活性化された箇所へ OH 基が結合、結果的に電位変化 V_0 の増大をもたらせたものと考えられる。平衡電位までに要する時間 (応答時間) の短縮は Raney 型の場合、特に顕著にあらわれる。これは表面の凹凸がアルゴンイオンの衝突

により、微視的にみて、表面が平滑化されるためと考えられるが、今後、この点について研究する必要があると思われる。

3.5 抗原-抗体反応の Radio Immunoassay

従来から、生体物質の測定法として確立されている radio immunoassay 法により、種々の処理をした化学修飾電極について検討した。この場合、生体反応の一つである抗原-抗体反応を用いて、修飾電極の電気応答変化を求めた。すなわち、BrCN 法によって処理されたチタン表面に抗体に相当する Anti-human Immuno globulin G(Anti h-IgG) を化学修飾し、これに抗原として human Immuno globulin G(h, IgG) を添加し、抗原-抗体反応を起こさせた。さらに、この h-IgG に特異的に結合する¹²⁵I をラベルした Protein A を結合させ、このヨウ素から発生する β 線を測定し、Protein A の量すなわち、h-IgG の量を求めた。この結果、線、圧延、焼鈍 (1,000°C) したチタン電極の電位変化 V_0 がそれぞれ、-4.9、-8.3、-7.8 mV であることがわかった。一方 ¹²⁵I から発する β 線の単位時間当りのカウント数、すなわち h-IgG の分析量が求められた。以上の電位変化 V_0 と β 線のカウント数との間にはほぼ並行関係があることがわかり、この電位変化の値によって、h-IgG の濃度をほぼ定量化できると考えられる。電位応答時間は酵素-酵素阻害剤反応と同様、圧延チタン電極が一番長く、線、焼鈍 (1,000°C) とも 80 分位であった。

一方、Raney 型チタン (700°C, Ti-Al 合金を展開) を使用した場合、電位変化 V_0 は圧延チタンの場合とほぼ同じ -8.0 mV を示したが、radio immunoassay のカウント数は、圧延チタン板と比較して、15~20 倍となり、異常に大きい値を示す。これは Raney 型の場合、通常のチタンと比べ、表面積が異常に大きいためと考えられる。また界面活性剤 TWEEN 20 で洗浄した場合、カウント数が約 2/3 に減少することなどから、物理吸着された h-IgG が 1/3 位は存在することが分かる。

線、圧延、焼鈍のチタンをアルゴンイオンボンバードした場合、電位変化 V_0 はやや増加する傾向にあり、応答時間は酵素の場合と同様、短縮される。また照射条件 (印加電圧、照射時間など) によって、¹²⁵I のカウント数も種々の値をとる。すなわち、抗原-抗体反応を起こし、結合した h-IgG の量も変化する。この場合も、radio immunoassay のカウント数と電位変化 V_0 との間にはほぼ並行関係が存在する。

3.6 X線回折による表面酸化物の構造

化学修飾されるチタン電極表面の酸化物の性状について、X線回折を用いて検討した。X線による酸化物の検出を可能とするため、酸化物生成のための条件はすべ

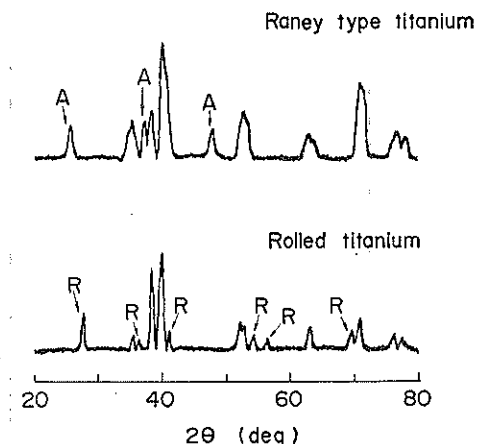


Fig. 7 X-ray diffraction patterns for oxidized titanium surface (600°C, 1 hr).

て、空气中、600°C、1時間とした。Fig. 7 に圧延チタン板と 700°C, Ti-Al 合金板からアルカリ展開して得た Raney 型チタン板の X 線回折図を示した。圧延チタン板の場合、線、あるいは焼鈍した場合と異なり、Ti の (002) 面の回折ピークが強くあらわれ、圧延操作のため、かなり結晶粒は配向していることがわかる。チタンの酸化物は ASTM カードからだけでも、かなりの数の種類が存在するが、線、圧延、焼鈍のチタン表面はルチル型の TiO_2 のみしかあらわれず、他の酸化物は検出されなかった。一方、Raney 型チタン板の回折パターンは他の一般の Raney ニッケル、Raney 鉄触媒などと同様に、ブロードなピークを示し、600°C、空气中の熱処理を行なったにもかかわらず、Scherrer の式¹⁵⁾より求めた結晶子の大きさは 400~500 Å であり、一般のチタン板と比較して、基質は非晶質性をかなりおびているものと考えられる。また、Raney 型チタンの表面に生成した酸化物はアナターゼ型の TiO_2 のみであることが示された。

ルチル型およびアナターゼ型酸化物と修飾電極の電気応答との関連性については、基質の表面状態、処理方法があまりにも異質であるため、化学修飾した場合、ルチル型で OH 基を多く保有できるのか否かは現在のところ不明であり、今後の問題として残される。

3.7 化学修飾電極の表面観察および表面分析

Fig. 8 に圧延処理後、1,300°C、真空中にて焼鈍、さらに 300 V、20 分間、アルゴンイオンボンバードした後、トリプシンを化学修飾したもの (a) と Ti-Al 板を 700°C 熱処理後、20% NaOH 水溶液 (50°C) で展開し、トリプシンを修飾したもの (b) の表面組織、イオウあるいはアルミニウムの線分析を行なった結果をそれぞれ示した。実験の項で記述したように、トリプシン分子中には 14 個のイオウ原子が含まれていることから、イオウ

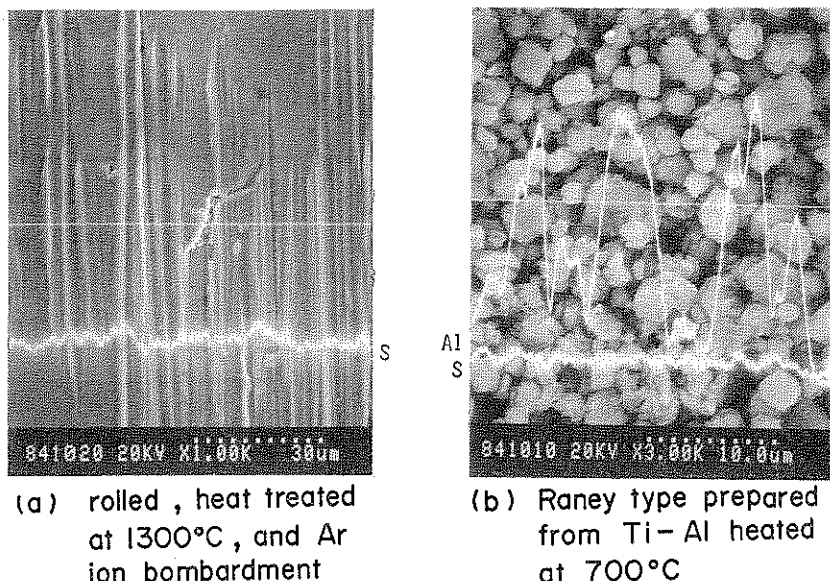


Fig.8 Surface texture and line analyses of titanium modified with trypsin.

の特性 X 線 (S-K α) を検出することにより、化学修飾した表面の線分析を行なった。Fig.8 の (a) において、圧延方向に条線が残る、一部熔融した形跡が観察される。表面組織は、1,300°C の焼鈍のために凹凸が少なく、滑らかになっている。またアルゴンイオンボンバードの効果はこの表面組織像からは観察せず、より微視的な変化をもたらしているものと思われる。

線分析において、電気応答が極端に小さかった 1,300°C 真空焼鈍の表面には、イオウがほとんど検出されず、したがって、修飾されたトリプシン量も少ないと思われる。この焼鈍した表面にアルゴンイオンボンバードし、化学修飾すると、Fig.8 の (a) の線分析結果が示すように、イオウの存在が確認される。(b) の Raney 型チタン表面は、小さな結晶粒が集合しており、表面積測定結果からも予測されたように、表面の凹凸は大きい。また、アルカリ展開した時、X 線回折結果 (Fig.7) からは検出できなかったが、Raney 型チタン表面層には、かなりの量の未溶解アルミニウムが存在している事がわかる。表面に結合したトリプシンも痕跡程度存在しているのが線分析結果から示された。radio-immunoassay では多量のタンパク (h-IgG) が検出されたが、このイオウの特性 X 線分析結果においては、顕著にあらわれていない。

以上のように、電極として使用する基質の性状によって、電気応答が変化することから、化学修飾電極を臨床医学の分野に適用し、生体物質を検出する法としては、なお多くの改良すべき点が残されている。修飾電極の表面は前述したように、分子レベルで生体物質を固定する

ため、基質のチタン金属と表面の酸化物層界面での結合、あるいは吸着などの物理的な力、OH 基などの化学物質によって大きく変化する。このため、物理的にも化学的にも安定、強固な化学修飾電極を作製することが今後の応用を考えていくうえで重要な課題といえよう。また、表面改質法として、特にイオンボンバードはさらに今後も研究していく必要があると考えられる。

終わりに、本研究を行なうにあたり、実験に御助力下さいました斎裕司君、伊藤邦彦君、鶴飼昭仁君に厚く御礼申し上げます。

なお、radio-immunoassay の測定などに御助力下さいました大塚製薬 K. K.、大塚アッセイ研究所野々村英二氏に、また、有益な御教授をいただきました徳島大学医学部富田優美子博士ならびに松島明美先生に厚く感謝致します。

文 献

- 1) 南原利夫：化学と工業，**36**，4，202(1983)。
- 2) 石川栄治：化学と工業，**36**，4，209(1983)。
- 3) M. Aizawa, S. Kato and S. Suzuki: J. Membr. Sci., **2**, 125 (1977); M. Aizawa, A. Morioka and S. Suzuki: J. Membr. Sci., **4**, 221(1978)。
- 4) 八木康夫，太田ゆみこ，化学と工業，**36**，4，198 (1983)。
- 5) 中村弘，化学と工業，**36**，4，218(1983)。
- 6) N. Yamamoto, Y. Nagasawa, S. Shuto, M. Sawai, T. Sudo and H. Tsubomura: Chem. Lett. Japan, **1978**, 245。
- 7) 山本直登，首藤定伸，坪村 宏：日化，**1980**，1562。

- 8) 山本直登, 坪村 宏: 化学, **36**, 538(1981).
- 9) I. Nakabayashi, T. Yoshino and S. Abe: Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev. **22**, 578 (1983).
- 10) 中林一朗, 中嶋正次, 吉野富雄, 阿部 哲: 表面科学, **5**, 122(1984).
- 11) H. H. Weetall and C. C. Detar: Biotech. and Bioeng., **17**, 295(1975).
- 12) 高橋健治: 蛋白質核酸酵素, **8**, 26(1963).
- 13) O. Tada, K. Tominaga, T. Kondo, Y. Kondo and K. Ichinomiya: J. Electrochem. Soc., **131**, 1365(1984).
- 14) N. Yamamoto, Y. Nagasawa, M. Sawai and H. Tsubomura: J. Imm. Methods, **22**, 309 (1978).
- 15) 日本化学学会編, “実験化学講座 4 固体物理化学”, 丸善(1958) p. 239.