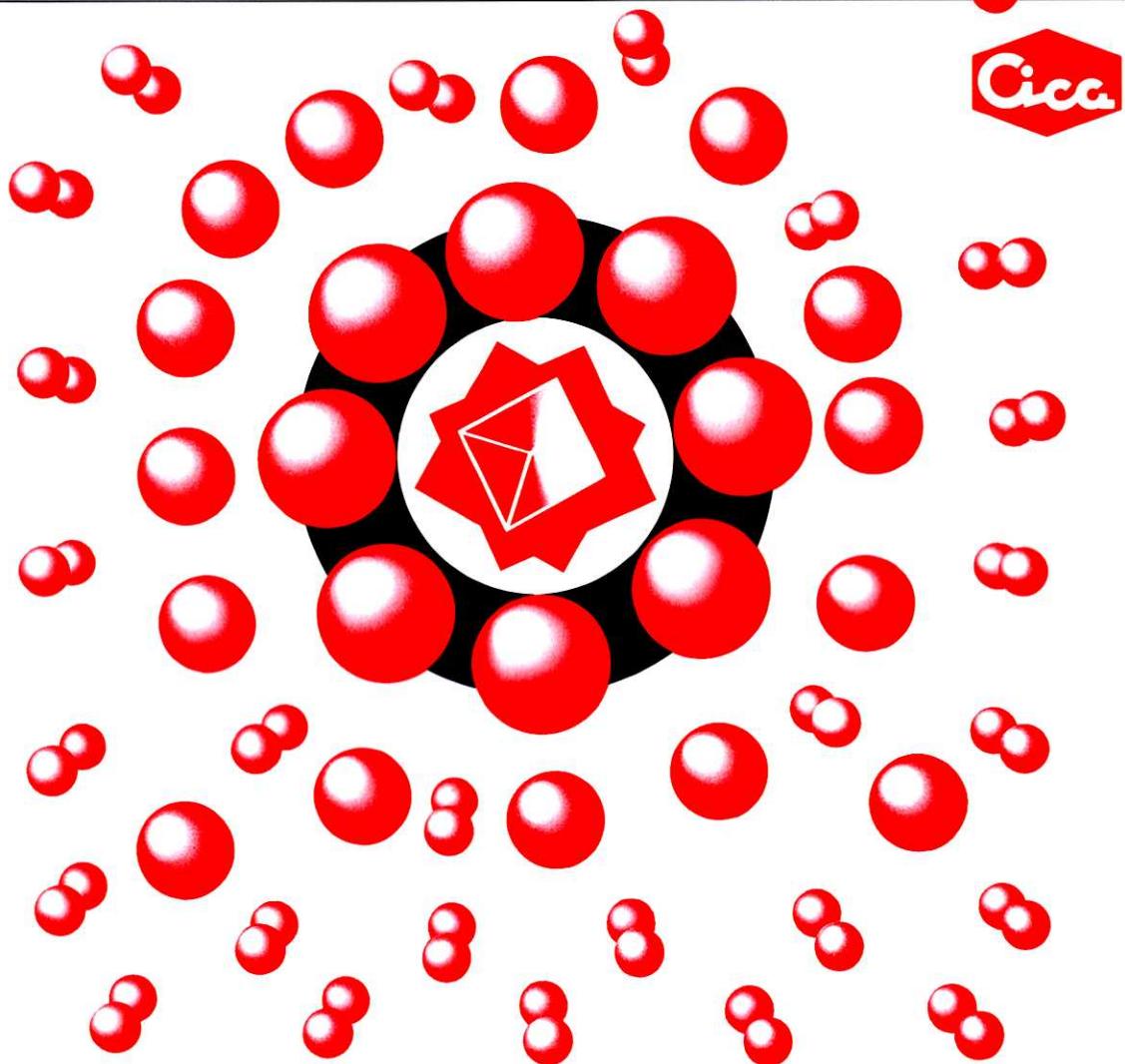


THE

ISSN 0285-2446
KANTO CHEMICAL CO., INC.
1996 No. 2 (通巻160号)

CHEMICAL TIMES



目 次

臨床化学並びに臨床化検査への接近	佐々木 穎一	2
15. 脂質検査の概要 —総脂質、cholesterol および triglyceride—		
発光免疫測定法	今井 利夫	10
検出反応の基礎 —2. 生物発光反応		
電子材料と電子デバイス ; 研究開発とその成果	三宅 清司	19
トランジスタから集積回路への工業的発展(1)		
編集後記		24

臨床化学並びに臨床化学検査への接近

15. 脂質検査の概要—総脂質, cholesterol および triglyceride—

札幌医科大学附属病院 検査部 非常勤講師 佐々木 権一

I. はじめに

最近生体内の糖質代謝と平行して、脂質代謝の様相が広く調べられ、その量的変動や代謝上の異変を、臨床診断的な面から重視している。これに呼応して、生体内の脂質とくに血清中の脂質の測定法も、近年急速な進歩をみせ、現在では臨床診断的ニードに十分応え得るまでに、測定の精度（精密度、正確度、測定感度）が向上している。

今回は臨床化学、並びに臨床化学検査の面から、生体脂質の代謝の様相と、それ等の測定法について解説したい。なお多くの脂質は、血漿中で95%以上が親水性の強いタン白と会合して、リポタン白の状態で存在しているので、個々の脂質のみならずリポタン白の把握も不可欠である。

II. 総脂質 Total lipids

1. 生理的並びに診断的意義：

血清並びに生体内の脂質の分布は、大よそ表1の様である。臨床検査の分野では、個々の脂質を適確に定量で

表1. 脂質の血清並びに体内分布

mg/dl	cholesterol	中性脂肪	リン脂質	脂肪酸
血 清	130~250	50~135	150~230	0.2~0.6 (mEg/l)
皮下脂肪*		6,000		
非肝組織 (筋、脳等)		3,000**	3,000**	
肝 臍	5	20	50	
細胞外液	31	20	53	3.6

* 体重70kgの場合

** 双方まとめての値

きなかった以前、一時血清中の総脂質 total lipid (TL) を測定して、生体内の脂質の代謝の様相を知る手懸りとしていたが、TLは通常測定している cholesterol, 中性脂肪 (triglyceride, TG)*, リン脂質 phospholipids (PL), および遊離脂肪酸 free fatty acids (FFA) の総和である。

ただしこの中でFFAは、他の脂質成分に比べて量的に少ないので、実質的には前三者の和とみなすことができる。

生体内的代謝については、各脂質毎に解説する。

2. 総脂質の測定法：

血清中 TL の測定法（図1参照）は、原則的には有機溶媒で血清中の全脂質を抽出し、以前はそれを重量法、酸化法、あるいは比濁法によって定量してきた。しかしこれ等の方法は特異性や感度の面から問題が多く、その後は sulfo-phospho-vanilic acid (SPV) 法の様な、直接法が用いられる様になった。

いずれにしても抽出に際しての抽出剤の選択や、抽出後の夾雑物の除去等、技術上の課題も多かった。現在では個々の脂質の測定が可能となり、その結果 TL の成績に頼る必要もなくなったといえよう。

図1. 血清中総脂質の測定法

A. 抽出法

- a. 重層法——測定感度は低く、多量の検体量を要する
- b. 酸化法——滴定法(重クロム酸のヨウ素滴定)、比色法
- c. 比濁法——p-dioxane 比濁法、等

B. 直接法

- a. 容量法
- b. 色素結合法——Sudan III, Sudan Black O, Oil Red O, 等を使用
- c. Sulpho-phospho-vanilic acid (SPV) 法——多くの改良法あり。

III. cholesterol

1. 生理的並びに診断的意義：

cholesterol の測定は、各脂質中で最も歴史が古い。

(1) 血清 cholesterol 値の増減する疾患——血清中 cholesterol の増減する疾患の種類は多く、それ等を図2に示したが、以前よりネフローゼ症候群、動脈硬化症、肝疾患、糖尿病、甲状腺機能低下症等では高値を示し、一

* 中性脂肪は大部分が TG であるが、少量の diglyceride (DG), monoglyceride (MG) も含む。しかし量的な面からも、診断的にも、中性脂肪と TG とは通常同じ様に用いていることが多い。

方肝実質障害、中毒症、栄養不良等の際に低下することが知られていた。

(2)肝臓における cholesterol のエステル化反応——cholesterol は図 3 に示した様に、cyclopentanoperhydrophenanthrene 核を基本構造をしており、C-3 に -OH を有する遊離型 cholesterol (free cholesterol; F-C) と、それから主に肝臓内で lecithin : cholesterol acyltransferase (LCAT, EC 2.3.1.43) の働きにより、lecithin から脂肪酸 1 分子 (図 3 中の R₂ · COOH) をもらって、C-3 の位置がエステル化したエステル型 cholesterol (esterified cholesterol; E-C) がある。F-C と E-C を併せて総 cholesterol (total cholesterol; TC) とする。肝実質障害の様な疾患では、肝臓でのエステル化反応が減弱するので、E-C の占める比率 (エステル比) が、健康人の 60~80% に比べて低くなる。

(3) 血漿中での存在様式——血漿中では cholesterol はタン白 (α -および β -globulin) と結合して、リポタン白

図 2. 血清 cholesterol の増減する疾患

A. 増加する疾患

- a. 家族性高コレステロール血症
- b. 代謝異常疾患 — 糖尿病、動脈硬化症
- c. 内分泌疾患 — 甲状腺機能低下症、Cushing 症候群、末端肥大症、ステロイドホルモン等の投与
- d. 肝・胆道疾患 — 閘性黄疸、胆汁性肝硬変
- e. 胆疾患 — 急性胆炎、慢性胆炎
- f. 腎疾患 — ネフローゼ症候群

B. 減少する疾患

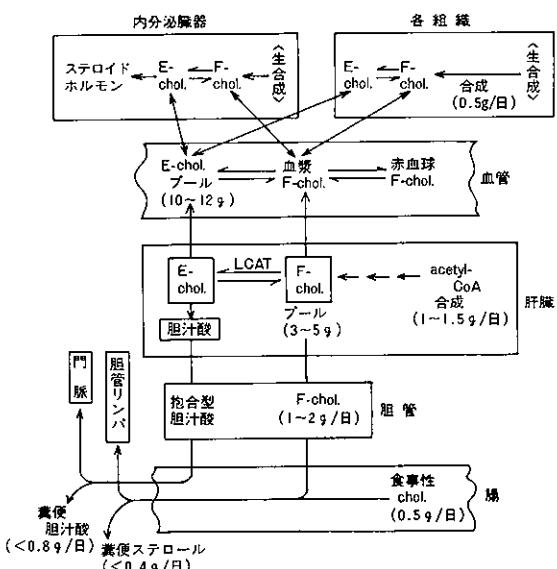
- a. 内分泌疾患 — 甲状腺機能亢進症、Addison 病、下垂体機能低下症
- b. 重症の肝実質障害
- c. 吸収不良症候群 (貧血、飢餓、悪液質、等)
- d. 糖尿病
- e. Tangier 病 (高比重リポタン白欠損症)

を形成している。また E-C に結合している脂肪酸としては、linoleic acid, oleic acid, palmitic acid, stearic acid, arachidonic acid 等が知られている。

(4) 生体内分布と代謝の様相——cholesterol の生体内分布および代謝の様相の詳細を、図 4 に示した。生体内 cholesterol は、食餌由来の外因性 cholesterol もあるが、体内で合成される内因性の cholesterol の量も多い。内因性の cholesterol は、主に肝臓で合成されるが、炭素数 3 の acetyl-CoA と acetoacetyl-CoA, とが縮合して、mevalonic acid, squalene, lanosterol 等を経て cholesterol となる。

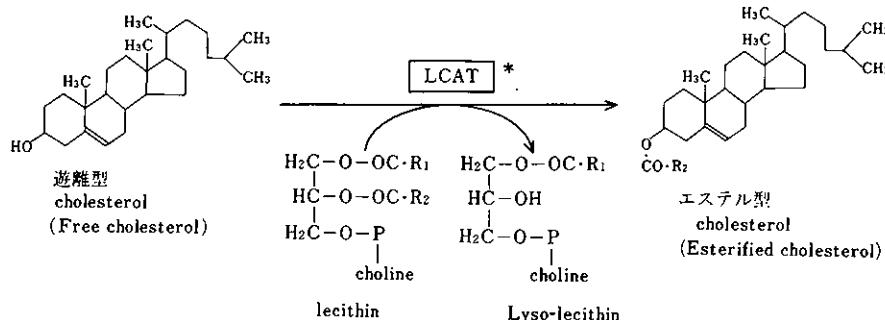
cholesterol は胆道から排泄されるが、例えば胆汁酸

図 4. cholesterol の代謝



—福井 敦：臨床化学 1, 1 (1971) より—

図 3. 遊離型 cholesterol からエステル型 cholesterol の生合成



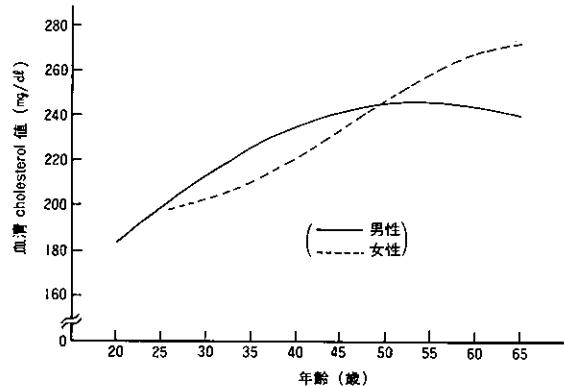
* lecithin : cholesterol acyltransferase

となって腸肝を循環し、腸内細菌により処理されたりし、最後は糞便中に排泄される。

(5) 血清 cholesterol 値の年齢並びに性差による変動と正常値——血清中 TC の増加している高 cholesterol 血症 hypercholesterolemia は、動脈硬化症、特に冠状動脈硬化症や高血圧、その他の原因となる。従って血清 TC 値の上昇は、これ等疾患の代表的危険因子 risk factor として、現在成人病健診時に広く測定されている。

血清 TC の正常値は早くから調べられているが、図 5 に例示した様に性差があり、また年齢增加と共に増加する傾向がある。その男女毎および年齢毎の正常値も種々報告されており、表 2 に示したのもその 1 例であるが、

図 5. 血清総 cholesterol 値の年齢並びに性差による変動 — L. A. Lewis (1957) より改変して引用 —



以前に比べて日本人の正常値も、現在序々に高くなってきた。また以前は欧米人の場合（図 5）に比べて、日本人の血清 TC 正常値は低かったが、戦後日本人の食生活が欧米化されるに応じて高値化してきた。現在血清 TC 上限値“治療目標値”は 220mg/dl とすること* が、強く提示されている。ただし健常者群を母集団として算出設定した正常値（“集団正常範囲、”正常上限値）は、これよりも常に高目である。

表 2. 血清中 TC の性別、年齢別正常値（基準範囲）
— 単位 mg/dl, $\bar{x} \pm SD$ —

年齢(歳)	男 性	女 性	全 体
1 ~ 20	149 \pm 36	154 \pm 43	150 \pm 37
21 ~ 40	173 \pm 39	174 \pm 44	172 \pm 40
41 ~ 60	170 \pm 37	189 \pm 43	178 \pm 41
61 ~ 80	170 \pm 37	188 \pm 45	177 \pm 41
計	167 \pm 38	182 \pm 45	173 \pm 41

(石井暢監修「臨床化学検査診断」、宇宙堂)
(八木書店、p. 48 (1984) より)

2. cholesterol の測定法：

血清試料中の cholesterol の測定法の開発の歴史は古く、血糖測定法の歴史に次ぐものといえよう。当然初期には化学的測定法が中心で、その報告、発表例は極めて多い。

図 6. 血清 cholesterol の化学的測定法の種類

A. 比色法以外の測定法

- a. 重量法 — digitonide 沈殿法
- b. 滴定法 — digitonide 酸化ヨウ素法、赤血球浮遊液滴定法
- c. 比濁法 — digitonide 比濁法、Na-ethylate 比濁法
- d. 紫外部法 — B 環中の C₅ - C₆ 間の二重結合の紫外部吸収をみる方法
- e. 蛍光光度法 — 1, 1, 2-trichloroethane/無水酢酸法
- f. ガス分析法 — digitonide 酸化ガス分析法
- g. 酵素法 (別図参照)
- h. chromatography — gas chromatography (GC), 薄層 chromatography (TLC), 高速液体 chromatography (HPLC), 他
- i. その他

B. 比色定量法

- a. Salkowski 法 — CHCl₃/硫酸試薬
- b. Tschugaev 反応法 — 氷酢酸/acetylchloride/ZnCl₂ 試薬
- c. 糖定量法 — Hagedorn-Jensen 法, anthrone 比色法の利用
- d. Lieberman-Burchard 反応法
 - ①原法 — CHCl₃/無水酢酸/濃硫酸試薬
 - ②dioxane 変法
 - ③Trinder 法 — acetylchloride/硫酸試薬
 - ④Drektor 法 — 氷酢酸/硫酸試薬
 - ⑤Zurkowski 法 — sulfosalicylate 試薬
 - ⑥その他
- e. Pearson 法 — p-toluenesulfonic acid 法
- f. Kiliani 反応法
 - ①原法 — 氷酢酸/FeCl₃/硫酸試薬
 - ②C₂H₅OH/acetone 抽出法
 - ③iso-propanol 抽出法
 - ④Zak-Henly 法
 - ⑤Rosenthal 変法 — 氷酢酸をリン酸へ
 - ⑥Searcy 法 — FeCl₃ を硫酸鉄へ
 - ⑦仁科法
 - ⑧その他 — 過塩素酸/リン酸試薬法, 等
- g. o-phthalaldehyde (OPA) 法 — 硫酸/氷酢酸/OPA 試薬
- h. その他

(1) cholesterol の化学的測定法——これ等の化学的測定法を図 6 にまとめたが、古典的な重量法、滴定法、比濁法から始まり、一時期幾種かの化学的測定法が、臨床検査の目的に使用されていた。オーソドックスな測定法としては、

* 米国 (Framingham Study, N.I.H.) およびわが国の脂質研究グループ (日本動脈硬化学会) から虚血性心疾患の治療を開始すべき値としている (1987 年)

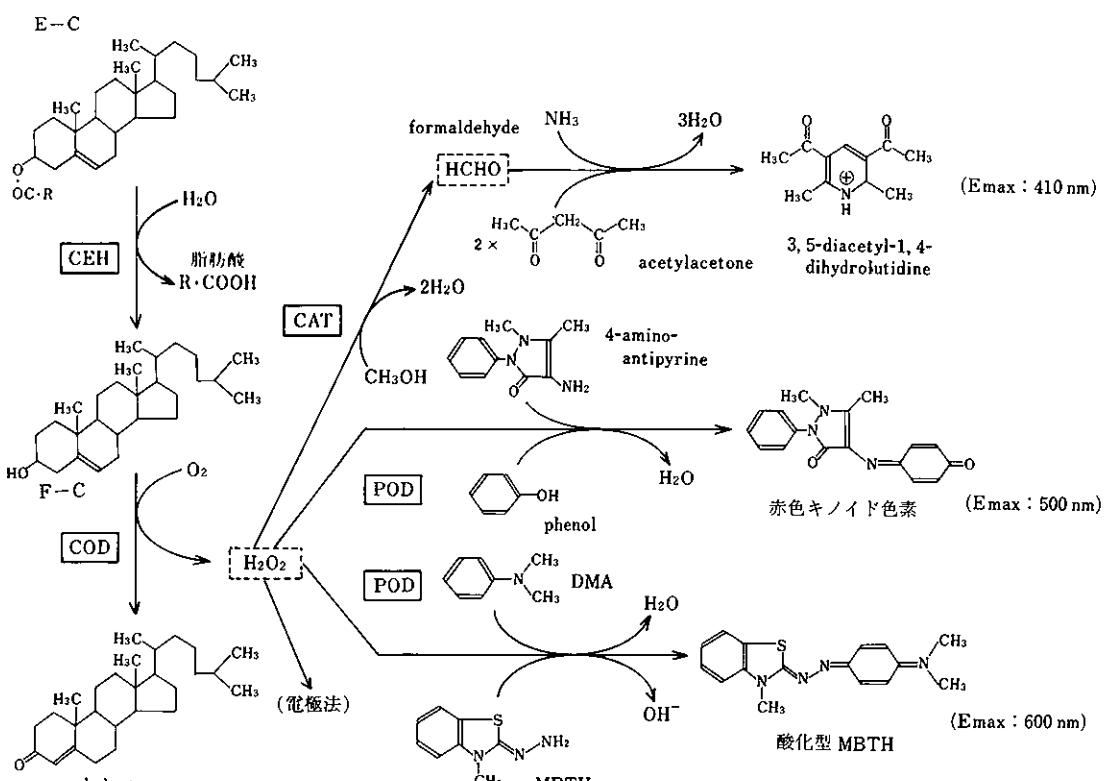
- ①有機溶媒による抽出
- ②抽出液中の E-C の鹼化 saponification による F-C への変換
- ③F-C の digitonide としての沈殿生成と、その分離精製
- ④Lieberman-Burchard 反応による発色
- ⑤および比色測定の操作段階

から成っているものである。現在も標準的測定法として、③の段階を省略した Abell-Kendal 法が評価されている。これ等の中で比較的近年臨床検査の分野で用いられた方法としては、Lieberman-Burchard 反応を利用した Zurkowski 法、Kilian 反応によった Zak-Henly 法、および o-phthalaldehyde (OPA) 法等が、代表的なものである。

(2) E-C および F-C の分別測定 —— 血清中の F-C は digitonine と digitonide を生成して、沈殿として E-C と分別できる。従って沈殿中の cholesterol を定量して F-C とし、TC よりこれを差し引いて E-C とする。

(3) cholesterol の酵素的測定法 —— その後試料中の cholesterol を酵素を用いて特異的に測定する方法が、Richmond (1973), Allain (1974) 等により開発され、その特異性、簡便性、良好な再現性と感度、ならびに安全性の面で、広く普及する様になった。酵素的測定法では、cholesterol oxidase (COD, EC 1.1.3.6) を用いる方法が中心であるが、当初開発された 2~3 の方法の反応原理を図 7 に示した。この測定法では COD により cholestanon と H₂O₂ を生成し、生成した H₂O₂ を catalase

図 7. 当初の cholesterol の酵素的測定法の 4 方法
— 総 cholesterol (T-C) および遊離型 cholesterol (F-C)
の測定 —



(CEH: cholesterol ester hydrolase, COD: cholesterol oxidase, CAT: catalase,
POD: peroxidase, DMA: dimethylaniline, MBTH: 3-methyl-2-benzothiazoline
hydrazone)

(CAT, EC 1.11.1.6) 存在下で acetylacetone を用いた Hantzsch 反応で、或いは peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) の存在下で phenol や aniline の誘導体と 4-aminoantipyrine と、酸化的縮合反応でキノイド色素を形成して、比色定量する方法である。その後同じ反応を利用して多くの方法が報じられ、その大部分を図 8 にまとめた。また生成した H_2O_2 量を H_2O_2 電極で、この反応で消費した O_2 量を O_2 電極で調べる方法もあり、この反応原理は自動化機器 ("Glucoroder" 等の glucose analyzer) に利用され、また最も特異性の高い方法として評価されている。これに対して POD を用いる共役反応系は、還元性物質 (例えば ascorbic acid) 等の干渉を受け、この点特異性に問題がある。

図 8 の 1 および 12 に示した様な cholesterol dehydrogenase (CDH, EC 1.3.1.21) を用いる比色法もある。これ等の COD 法は F-C のみに働くので、TC を測定するには先ず E-C を cholesterol ester hydrolase (CEH, EC 3.1.1.13) により F-C としてから COD を働くとよい。従って TC から F-C を差し引いて E-C を知り、これからエステル比を求める事になる。しかし現在は E-C 値を求めるよりも、F-C → E-C のエステル化反応に関する LCAT (図 3 参照) の活性を測定する様になってきた。

図 8. cholesterol (T-C, F-C) の酵素的測定法

- 1. cholesterol ester hydrolase (CEH, EC 3.1.1.13)/cholesterol oxidase (COD; EC 1.1.3.6)/catalase (CAT; EC 1.11.1.6)/acetylacetone 比色法 (図 7 参照)
- 2. CEH/COD/peroxidase (POD; EC 1.11.1.7)/phenol/4-aminantipyrine (4-AAP) 比色法 (図 7 参照)
- 3. CEH/COD/POD/dimethylaniline (DMA)/MBTH (3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone) 比色法 (図 7 参照)
- 4. CEH/COD/電極 (O_2 電極, H_2O_2 電極) 法 (図 7 参照)
- 5. CEH/COD/3I⁻ UV (365 nm) 測定法
- 6. CEH/COD/POD/leucocyte 比色法
- 7. CEH/COD/glutathione/m-PMS (phenazine methosulfate) /nitrotetrazolium blue (NTB) 比色法
- 8. CEH/COD/NAD (P) H₂/phenol/4-AAP 比色法
- 9. CEH/COD/thiol 化合物/NAD (P) H₂/phenol/4-AAP/NTB 比色法
- 10. CEH/COD/thiol 化合物/NAD (P) H₂/phenol/4-AAP UV 法
- 11. CEH/cholesterol dehydrogenase (CDH; EC 1.3.1.21)/NAD⁺/NTB 比色法
- 12. CEH/CDH/diaphorase (Diaph.; EC 1.8.1.4)/NTB 比色法
- 13. ascorbate oxidase (AOX; EC 1.10.3.3)/CEH/COD/POD/4-AAP/N-ethyl-N-(3-methylphenyl)-N-succinyl-ethylene diamine (EMSE) 比色法
- 14. COD/POD/4-AAP/2, 4, 6-tribromo-3-hydroxybenzoic acid) 比色法

● F-C 測定法に用いられる反応

IV. 中性脂肪或いは triglyceride

既に記述した様に、中性脂肪 neutral fat は glycerol の 1, 2 または 3 分子の脂肪酸が、エステル結合したもので、それぞれ monoglyceride (MG), diglyceride (DG) および triglyceride (TG) と呼ぶ。しかし血清中では TG が 90% を占め、日常 TG と中性脂肪をほぼ同じ意味で使っていることが多い。

1. 生理的並びに診断的意義:

(1) TG の代謝の様相——図 9 に示した様に、TG は lipase により加水分解されて 1 分子の glycerol と 3 分子の脂肪酸となるが、生体内ではこの逆反応により TG が合成されている。食事により摂取された TG は、腸管を通って吸収される。生体内での TG 代謝の概要を図 10

図 9. triglyceride の加水分解と生合成

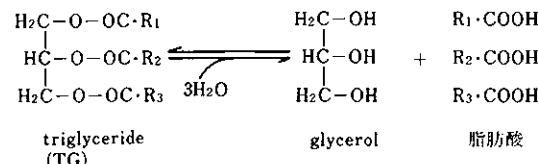
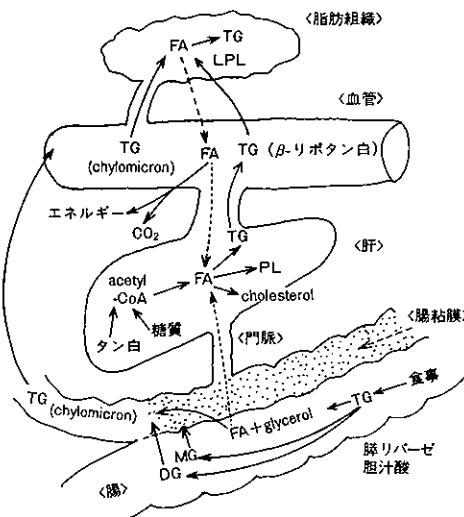


図 10. 中性脂肪代謝の概要



(TG : triglyceride, DG : diglyceride, MG : monoglyceride, LPL : lipoprotein lipase, FA : 脂肪酸, PL : リン脂質)

— 河合 忠、医学のあゆみ 74, 1970 —

に示したが、脂肪組織、血管、肝臓、および腸における TG の代謝と輸送の様相が、他の脂質（脂肪酸、リン脂質、cholesterol, MG, および DG）と対比して理解できる。

(2) 血清 TG 値を増減させる因子——血清中の TG 値は、①食事（通常摂取する食事の脂質中の大半は TG である）、②腸管からの吸収、③肝臓、脂肪組織や末梢組織での摂取、④脂肪組織からの遊離脂肪酸の放出、⑤放出された遊離脂肪酸の組織での利用、⑥肝臓での遊離脂肪酸より TG の合成と放出、⑦内因性 TG の組織での摂取、により増減する。体内では TG は皮下脂肪の大半を占め、体重 70kg の男性ではほぼ 6,000 g になるという。血中では TG は chylomicron や超比重リポタン白 (VLDL) の様なリポタン白中に多く含まれる。

(3) 臨床的意義——血清 TG 値が高くなった場合、高脂血症 hyperlipidemia となる。食事摂取後の高脂血症を除くと、一般的に外因性の TG の TG 量が増加した場合は、脂肪の処理能力が低下したと、また内因性の TG 量が増加した場合は、末梢組織での処理能力の低下が主因と考えられる。動脈硬化症や冠動脈疾患では、血清 TG の上昇が、cholesterol 値よりも良好な指標となり得る。TG 値の変動が注目される疾患としては、本態性脂肪代謝異常、ネフローゼ症候群、内分泌疾患や肝疾患があげられるが、リンや chloroform による中毒、閉塞性黄疸、肺炎でも上昇がみられる。糖尿病でも異常高値を示すが、その程度はまちまちである。甲状腺機能低下症では増加し、亢進症では低下する。また低下する疾患としては、重症の肝実質障害、Addison 病、Basedow 病、慢性副腎不全や心不全がある。

(4) 血清 TG の正常値——血清 TG の正常値を表 3 に示した。加齢に伴う増加傾向がみられるが、数十歳を過ぎると減少傾向を示す。一般的には 35~135 mg/dl ($\bar{x} = 67 \text{ mg/dl}$) が広く用いられている。

表 3. 血清 triglyceride の性別、年齢別正常値

年齢(歳)	男 性			女 性		
	n	\bar{x}^*	$\pm 2 \times SD^*$	n	\bar{x}^*	$\pm 2 \times SD^*$
10~19	42	68	34~135	40	58	31~132
20~29	49	73	35~151	46	64	33~126
30~39	38	78	36~129	38	70	35~138
40~49	60	83	35~142	87	73	31~162
50~59	68	81	32~117	73	76	34~162
60~69	43	75	32~123	39	68	37~138
70~	36	62	21~127	36	65	35~134
計	326	76	24~133	359	71	34~148

* mg/dl, — 福井 崑、他：日老医誌、8、250(1971) より —

2. TG の測定法：

血清中の TG 値の測定は、現在 cholesterol と共に広く実施されているが、その測定法を分類して図11に示した。

(1) 化学的測定法——以前は間接的測定法が用いられてきたが、その後 TG を酸化して遊離の glycerol とし、これをクロモトローブ酸や Hantzsch 反応を利用した比色測定法（図12参照）が、広く用いられる様になった。

(2) 物理化学的測定法——また一時血清中にリポタン白粒子として存在する TG を比濁や比膿で測定する。物理化学的測定法が注目されたことがある。

(3) 酵素的測定法——かっては各種の化学的測定法により、TG を測定していたが、cholesterol 等と同じく最近は酵素的測定法がほとんどである。開発された酵素的測定法の種類は多いが、それ等を図13と図14に概説した。一般的には lipoprotein lipase (LPL, EC 3.1.1.3) で生成した glycerol を、glycerokinase (GK, EC 2.7.1.30), glycerol dehydrogenase (GDH, EC 1.1.1.6), または glycerol oxidase (GOD, EC 1.1.3.21) で処理する 3 種がある。また LPL/GK 反応で生成した glycerol-3-phosphate を glycerol-3-phosphate oxidase (G3POD, EC 1.1.3.21) で処理して、 H_2O_2 を生成する方法があるが、GOD 法と共に現在最もよく利用されている。また最近の傾向としては、内因性の glycerol を消去する反応を併行する様配慮されることが多い。TG の酵素的測定法の例として、LPL/GK/G3PDH (NAD⁺)/NAD⁺ UV 法と、LPL/GOD/POD/4-AAP/phenol 比色法との反応原理を、それぞれ図15および図16に示した。

図11. 血清 triglyceride 測定法の分類

A. 間接測定法

- a. Albrink 法
- b. Bragdon 法

B. 抽出直接測定法

- a. クロモトローブ酸法—Van Handel-Zilversmit 法、一川出変法、一福井変法、Carlson-Wallstrom 法
- b. acetylacetone 法—Fletcher 法、Soloni 法
- c. triazole 法
- d. Randrup 法 (塩酸 phenylhydrazine/フェリシヤン化カリ法)
- e. Mendelsohn 法 (五酸化ヒ素/o-aminophenol 法)
- f. その他—MBTH 法、等

C. 酵素法 (図13、14、15参照)

D. 物理化学的測定法

nephelometry, 等

E. その他

(MBTH : 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone)

図12. 血清中 triglyceride の測定法（化学的測定法）

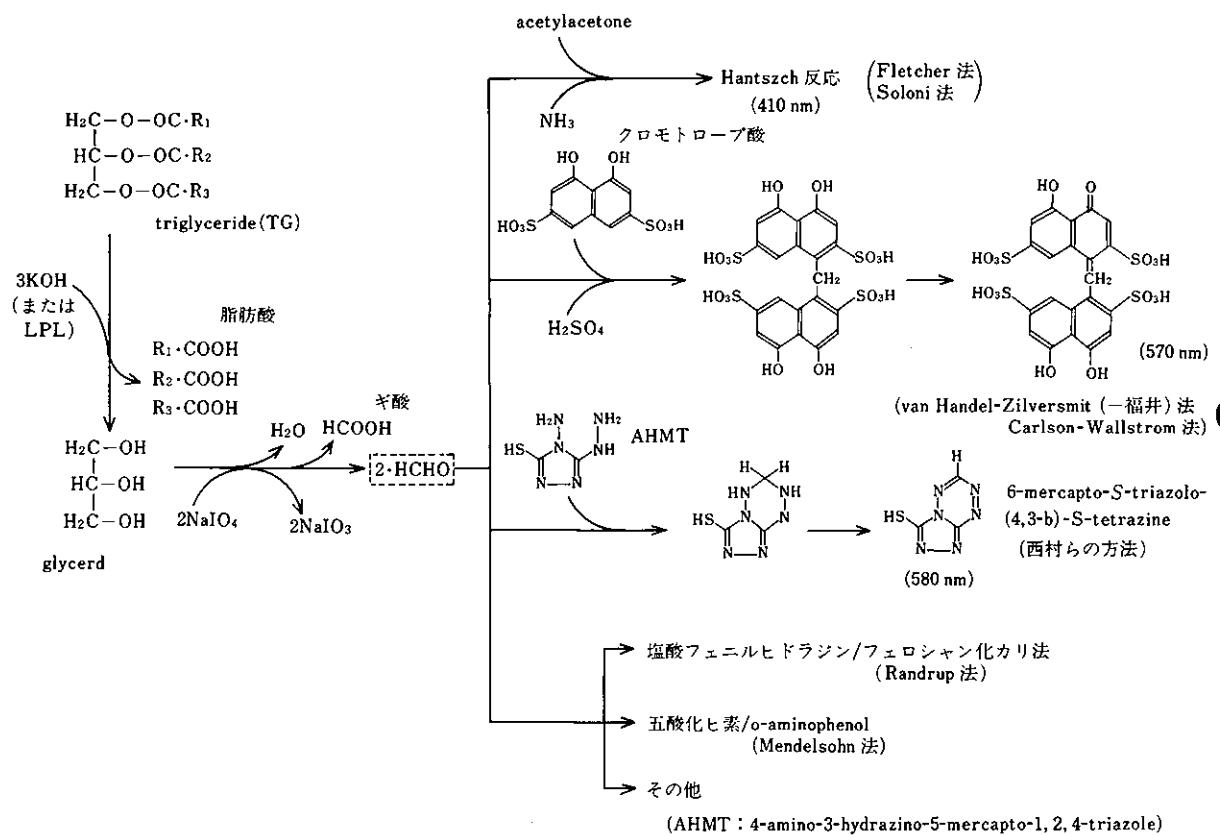
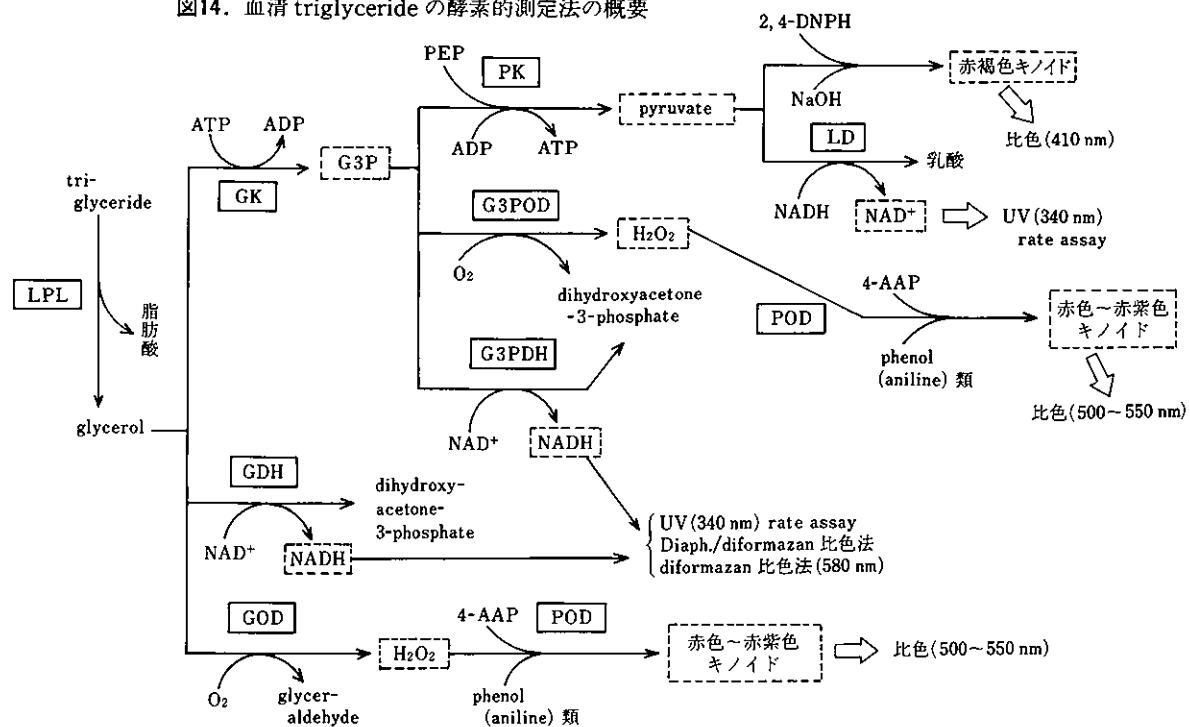


図13. triglyceride の酵素的測定法

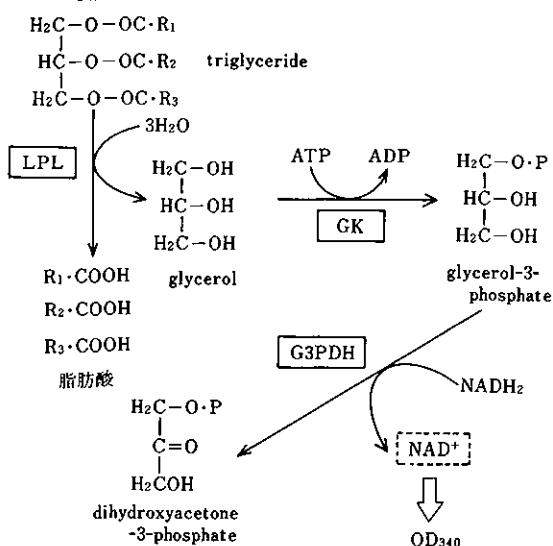
1. lipoprotein lipase (LPL, EC 3.1.1.3)/glycerokinase (GK, EC 2.7.1.30)/glycerol-3-phosphate oxidase (G3POD, EC -,-,-,-)/H₂O₂ 各種反応系
2. LPL/glycerol dehydrogenase (GDH, EC 1.1.1.6)/NAD⁺ UV 法
3. LPL-/GDH/NAD⁺/Diaphorase (Diaph., EC 1.8.1.4)/NTB (或いは INT) 比色法
4. LPL/GDH/dihydroxyacetone → semicarbazone 比色法
5. LPL/GK/phosphoenolpyruvate (PEP)/pyruvate kinase (PK, EC 2.7.1.40)/LD/NADH₂ UV 法
6. LPL/GK/PEP/PK/2, 4-dinitrophenylhydrazine (2, 4-DNPH) 比色法
7. LPL/GK/glycerol-3-phosphate dehydrogenase (NAD⁺) (GPD, EC 1.1.1.8)/NAD⁺ UV 法
8. LPL/GK/GPD/NAD⁺/Diaph./NTB (或いは INT) 比色法
9. LPL/glycerol oxidase (GLO, EC 1.1.3.21)/H₂O₂ 各種反応系
10. LPL/GK/G3POD/peroxidase (POD, EC 1.11.1.7)/4-aminoantipyrine (4-AAP)/EMSE 比色法

(NTB : nitrotetrazolium blue, INT : iodonitrotetrazolium,
LD : lactate dehydrogenase, EMSE : N-ethyl-N-(3-(methylphenyl)-N-succinylethylene diamine

図14. 血清 triglyceride の酵素的測定法の概要

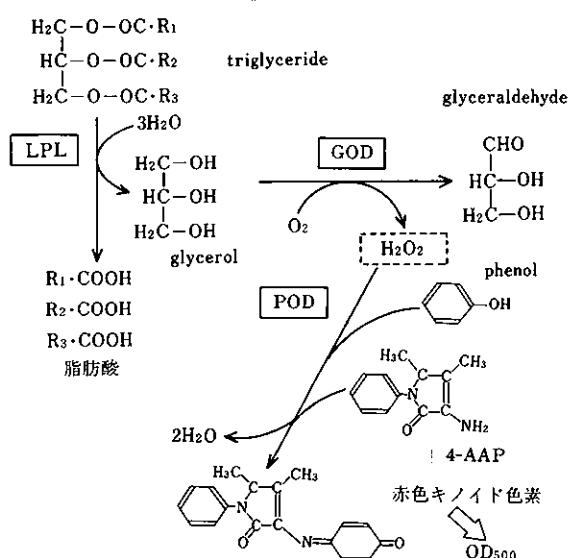


(LPL : lipoprotein lipase, GK : glycerokinase, G3P : glycerol-3-phosphate, PEP : phosphoenolpyruvate, PK : pyruvate kinase, LD : lactate dehydrogenase, 2, 4-DNPH : 2, 4-dinitrophenylhydrazine, G3PDH : glycerol-3-phosphate dehydrogenase, GDH : glycerol dehydrogenase, Diaph. : diophorase, GOD : glycerol oxidase, 4-AAP : 4-aminoantipyrine, POD : peroxidase)

図15. triglyceride の酵素的測定法—LPL/GK/G3PDH/NAD⁺ UV 法—

(LPL : lipoprotein lipase G3PDH : glycerol-3-phosphate dehydrogenase GK : glycerokinase)

図16. triglyceride の酵素的測定法—LPL/GOD/POD/4-AAP/phenol 比色法—



(LPL : lipoprotein lipase POD : peroxidase GOD : glycerol oxidase 4-AAP : 4-aminoantipyrine)

発光免疫測定法

検出反応の基礎—2. 生物発光反応

東邦大学 理学部・生理化学教室 助教授 医学博士 今 利 夫

1. はじめに

化学反応のエネルギーにより発光する現象に生物界に見られる生物発光(bioluminescence)があり、一般に発光量子収率が生物体を介しない化学発光に比べて高い。この際、発光生物から発せられる光(波長)は生物種によってそれぞれ異なるがすべて可視光であり、熱線(赤外線)をほとんど含まないため冷光と呼ばれている。

近年、これら発光反応を用いた分析法は検出感度が高いことから、酵素免疫測定法の検出反応をはじめ多くの生体成分の分析に応用されている。

ここでは、これら分析法に応用されている生物発光反応の基礎的事項について述べる。

2. 発光生物について

生物の発光現象は古くから知られており、現在までに多数の発光生物の存在が報告されている(表1)。特に、その多くは動物界に認められ、原生動物(ヤコウチュウ、ウズオビムシ、他)から脊椎動物(魚類、他)にいたるほとんどすべての動物門で確認されており、なかでも海産のものが圧倒的に多い。

通常、これら生物の発光は自発光(発光生物自らが発光)と共生発光(共生する発光生物により発光)とに分類される。また、その発光様式は発光生物の発光器のみから発せられるもの(体内発光;ホタル、ヤコウチュウ、発光細菌など)と刺激により分泌された発光性物質が体外で発光(体外発光;海ホタル、発光クラゲなど)するものとがある。

現在、これら発光現象の生物学的意義について、ホタル(ゲンジボタル、ハイケボタル、他)では、その明滅現象(パルス発光)が個体間の情報交換や性フェロモン的役割を有するのではないかと推測されている。また、生命を維持するのに必要な生理現象(体内時計(*Gonyaulax polyedra*)など)とも関連することが示唆されているが多くの発光生物についてはその詳細が明らかではない。

表1. 発光生物の分類

分類	おもな発光生物
植物	
細菌植物門	発光細菌
真菌植物門	発光キノコ(ツキヨタケ、ヤコウタケ、他)
動物	
原生動物門	ヤコウチュウ、ウズオビムシ
腔腸動物門	オワンクラゲ、オキクラゲ、ユーレイクラゲ、ウミシイタケ
有柵動物門	オビクラゲ、ウリクラゲ
紐形動物門	ヒカリヒモムシ
環形動物門	ツバサゴカイ、オヨギゴカイ、シリス、発光ミミズ
軟体動物門	ホタルイカ、メヒカリイカ、ダンゴイカ、カモメガイ、ツクエガイ、発光カツムリ、ヒカリウミウシ
擬軟體動物門	ヒカリコケムシ
節足動物門	ホタル、海ホタル、サクラエビ、カグヤヤスデ、ジムカデ、ヒカリコメツキムシ、発光オキアミ
棘皮動物門	ヒカリクモヒトデ
原索動物門	ギボシムシ、ヒカリボヤ、サルバ
脊椎動物門	チョウチンアンコウ、テンジクダイ、ハダカイワシ、マツカサウオ、他

3. 生物発光反応について

生物発光に関する生化学的研究は、Dubois(仏)らのルシフェリン-ルシフェラーゼ(L-Lase)系の発見以降急速に進歩した。すなわち、1885-1887年(明治18-21年)にかけて、彼等はヒカリコメツキムシやカモメガイから得られる発光成分が耐熱性物質と非耐熱性物質の2成分から成ることを見出し、前者をルシフェリン(luciferin、発光素)、後者をルシフェラーゼ(luciferase、発光酵素)と命名した。その後、Duboisらの研究は、Harvey(米国)やMcElroy(米国)らをはじめ多くの研究者に引き継がれ、現在では複数の発光生物からルシフェリンやルシフェラーゼが単離されその構造が明らかにされている。発光反応が生化学的に検索されたものを発光様式によって分類すると表2の様になる。

表2. 生物発光系の生化学的分類

	反応形式	例
A. 酵素反応		
1) 基質が直接酸化される系	$L + O_2 \xrightarrow{E} h\nu$	海タル(465 nm)**, オヨギゴカイ(507 nm), ジンガサガイ(536 nm), 発光魚(チョウチンアンコウ)
2) 基質が活性化された後酸化される系	$L + Mg\cdot ATP \longrightarrow L\text{-AMP} + Mg\cdot PP$ $L\text{-AMP} + O_2 \xrightarrow{E} h\nu$ $L\text{-SO}_3H + 3', 5'\text{-DPA} \xleftarrow[\text{Ca}^{2+}]{\text{ルシフェリン}\cdot\text{スルホキナーゼ}} L + PAPS$ $L + O_2 \xrightarrow{E} h\nu$	ホタル(546~594 nm) ウミシイタケ(485 nm)
3) H_2O_2 で基質が酸化される系	$L + H_2O_2 \xrightarrow{E} h\nu$	ギボシムシ(480 nm), 発光ミミズ(507 nm)
4) 還元後、基質が酸化される系	$FMN + NADH \xrightarrow{E_{FMN}} FMNH_2 + NAD$ $FMNH_2 + O_2 + R\text{-CHO} \xrightarrow{E} h\nu$ $X + NAD(P)H \xrightarrow{?} XH_2 + NAD(P)$ $XH_2 + O_2 \xrightarrow{E} h\nu$	発光細菌(490~495 nm) 発光キノコ(530 nm)
B. 非酵素反応		
1) 特定イオンによる活性化を必要とする系	$P \xrightarrow{\text{Ca}^{2+}} h\nu$ $S \xrightarrow{H^+, O_2} h\nu$	オワンクラゲ(469 nm) ウズオビムシ(470 nm)
2) 共存ケイ光物質による活性化と増感を必要とする系	$P \xrightarrow{F} P\cdot \xrightarrow{F} P\cdot \rightarrow h\nu$	発光エビ

L: ルシフェリン, E: ルシフェラーゼ, E_{FMN}: FMN レダクターゼ, P: 発光タンパク質, S: シンチロン(生物発光活性颗粒), L-AMP: ルシフェリルアデニル酸, L-SO₃H: ルシフェリル硫酸, 3', 5'-DPA: 3', 5'-ジホスホアデノシン, PAPS: 3'-ホスホアデニル硫酸, R-CHO: 長鎖脂肪族アルデヒド, F: ケイ光物質, X: 構造未知

** カッコ内は発光極大波長

いずれも、これら生物の発光反応は化学エネルギーの光エネルギーへの変換反応によるもので一種の化学発光である。事実、ホタルのルシフェリンは、aproticな極性溶媒中では、ルシフェラーゼが存在しなくとも塩基性物質を加えただけでかなり高い収率(生物発光の約10%)で化学発光反応を呈する。このことは生物発光と化学発光の反応機構に本質的な差異がないことを示唆している。しかし、一方では同様の反応を水溶液中で行なおうとするとルシフェラーゼが存在しなければ発光反応がほとんど認められないことも確かめられており単なる化学発光反応とは異なる。この様に、生物発光反応においては水溶液中にもかかわらずルシフェリンが酵素の働きにより化学発光反応のそれに比べて極めて効率よくエネルギー変換される。従って、ルシフェラーゼなどの酵素が水溶

液中にいかなる機構で高効率なエネルギー変換(励起分子の生成)を可能にならしめ、さらに、生成する発光体がどの様な構造を有しているかについては従来から興味が持たれてきた。

一般に、化学発光反応には酸素の関与するものとしないものとが知られており、発光強度の強い反応の多くは前者に属する。一方、生物発光反応の大部分は酸素を必要とすることから、酸素の関与する化学発光反応と生物発光反応とは類似の反応機構で進むことが予想される。酸素分子の関与する反応のうち、発光反応に関係の深いものにペルオキシド開裂反応があり、化学発光反応の項(ロフイン、他)でもふれた様に酸素分子と反応後、中間体に1,2-ジオキセタンが形成され、これが分解して2つのカルボニル基が生ずる際に、一方が一重項の励起状態

となる反応である。従って、酸素が関与する生物発光反応において CO_2 が生成物の1つとして形成される場合は、この様な反応による可能性が高いと推測される。

現在報告されている生物および化学発光反応の多くは、一部の反応（ルミノール、他）を除いてこれら中間体を通る発光機構で説明されるものが多い。

発光反応の中間体と推測される1,2-ジオキセタン類については Woodward-Hoffmann 則によりこれら化合物の分解で励起生成物を生じることが説明できること、ならびに CIEEL 機構 (Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence; 蛍光性触媒からジフェニルペルオキシドへの一電子移動によって始まる発光機構) によって、発光収率の高いジオキセタンの構造上の特徴が合理的に説明されることから、ジオキセタンを経由する化学発光ならびに生物発光もこの発光機構で説明されるに至った。しかし、CIEEL 機構に基づく発光反応機構については、その後 Catalani ら¹¹ および Kaaret ら²¹ をはじめとした研究により、発光反応速度が速くなることは説明できるものの、高い発光収率を達成できるかどうかについては疑問が投げかけられており、今後、ジオキセタンの協奏的な分解機構などを含めて詳細に検討する必要がある。

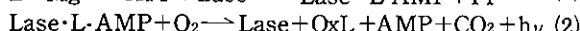
我国は発光生物の宝庫といわれており、近年は1,2-ジオキセタン中間体を経由しない発光機構についても検索されている。今後の研究の展開によっては新たな発光生物や発光機構に関する考え方方が示される可能性も大いにある。

4. 各種生物の発光反応機構

生物の発光機構に関する研究は1960年～70年代にかけて急速に進展³⁻¹⁶⁾ したが、今までのところ有機化学的に論ずることができる発光系はホタル、海ホタル、発光細菌およびオワンクラゲなど一部の生物に限られる。

1) ホタルの発光反応

最もよく研究されており、反応はルシフェリン、ルシフェラーゼ、ATP、 Mg^{2+} イオンおよび酸素を必要とする。



反応はすべて酵素の結合した状態でおこり、また、生成物阻害が認められるなど、その発光機構は後述する海ホタルに比べて複雑だが発光量子収率が極めて高い（0.47～1.0）。発光色（ λ_{max} 546～594 nm）や明滅パターンはホタルの種類によって異なるが、通常、ルシフェリンは

異種のホタル間においても共通の化学構造を有していることから、発光色の違いは酵素・ルシフェラーゼの相違により、ルシフェリンの励起一重項のケト・エノール平衡が異なる為と推測されている。

反応に関与するルシフェリンやルシフェラーゼは、1956年～57年に McElroy らのグループによって抽出・結晶化^{3,4)} され、その後、White ら⁵⁾ はルシフェリンの化学構造について検索し、紫外部吸収スペクトルの解析からベンゾチアゾール環が存在し、かつ、酸加水分解で6-ヒドロキシベンゾチアゾールとシスティンを生成することを確認し、かつ、別途合成による研究からその構造を明らかにしている。一方、ルシフェラーゼについても北米産のホタル (*Photinus pyralis*) から精製^{4,17)} され、最近はこれらルシフェラーゼの cDNA のクローニング（北アメリカ産ホタル、ゲンジボタル (*Luciola cruciata*)、ヘイケボタル (*Luciolao lateralisi*)、東ヨーロッパ産ホタル (*Luciola mingrellica*)、他）^{18,19)} がなされ、一次構造も明らかにされている。

発光反応機構については、先ず、D(-)ルシフェリン(1)が酸素と Mg^{2+} イオンの存在下にルシフェラーゼにより、ATP と特異的に反応（エステル結合）して、ルシフェリルアデニレート(2)とピロリン酸(4)を生成する。この際、(1)は酸化され易く空気酸化されるとデヒドロルシフェリン(3)となる。(3)はホタルの発光器中にも存在している為、当初、この物質が発光生成物でルシフェラーゼとの複合体が発光体であろうと考えられたこともあった。しかし、(3)は酵素でアデニレートにはなるが酸素と反応せず発光しない。生成した(2)は α プロトンを失ってカルバニオン(5)となり、さらに、酸素分子と反応してヒドロペルオキシドアニオン(6)となる。これは、主に1,2-ジオキセタン中間体(7)を経て開裂し、二酸化炭素と一重項励起状態のオキシリルシフェリン(9)を生じ、これが基底状態にもどる際に発光すると考えられている（図1）²⁰⁾。しかし、これら発光反応において(2)以降のジオキシゲナーゼ反応を経る発光過程は直接反応中間体が確認されておらず推定の域をでない。

本反応は ATP 以外に 5'-CTP, 5'-ITP, 3-イソATP(ATP の約15%) などでも弱い発光反応を呈する。UTP, GTP などでも発光するという報告もあるが、これを否定する報告もあり確かではない。 Mn^{2+} イオンの代わりに Mn^{2+} イオンでも発光する。また、無機陰イオンは $\text{SCN}^- < \text{NO}_3^- < \text{Br}^- < \text{Cl}^-$ の順に発光反応を阻害する。

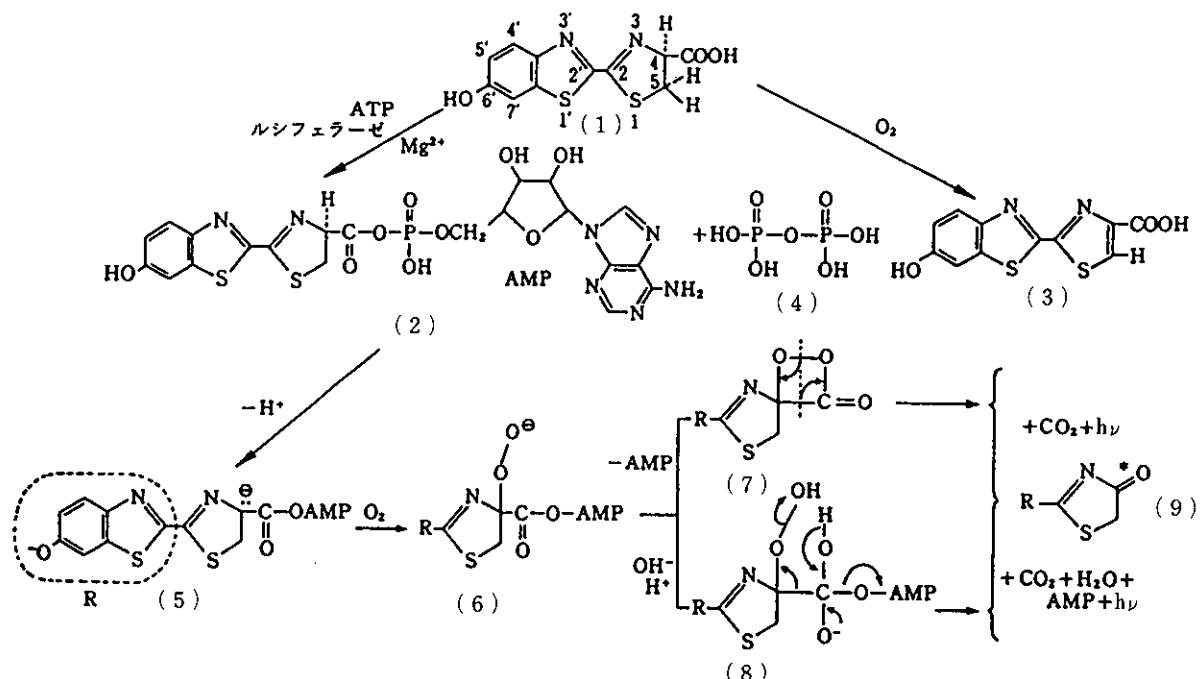
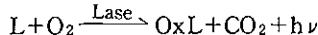


図1. ホタルの生物発光反応機構

* : 勵起状態

2) 海ホタルの発光反応

刺激により海水中に放出されたルシフェリンがルシフェラーゼの存在下に溶存酸素により酸化されて青紫色に発光(465 nm)する。本発光は、ルシフェリン、ルシフェラーゼおよび酸素で発光する単純な系でホタルのようにATPやMg²⁺イオンを必要としない。発光量子収率はホタルのそれに比べて低く([0.31(25°C)]),これはルシフェリンが極めて空気酸化され易い為と考えられている。



反応に関与するルシフェリンの構造やその合成法については、Whiteら²¹⁾やMcCapraら²²⁾などにより検索されており、オワンクラゲや発光ウミシイタケなどと同様にイミダゾピラジノン骨格を有する。現在、海ホタルから分離したルシフェリンを直接研究に使用することは難しいが、比較的高収率(14~31%)でdl-ルシフェリンが化学合成できる。一方、ルシフェラーゼも単離・精製(555アミノ酸残基、一本鎖の糖蛋白質)²³⁾され、発光蛋白質のエクオリンと同様にグルタミン酸やアスパラギン酸の含有率が高く、そのアミノ酸配列においても部分的に(2か所)エクオリンと類似の配列を有していることが知られている。

発光反応は基質ルシフェリンがオキシルシフェリンへ酸化される過程で反応生成物にCO₂を生ずることや取り込み実験(¹⁸O₂, H₂¹⁸O, ¹³CO₂)などによる考察からホタルの発光反応と同様にジオキセタン中間体を通る機構で考えられている。すなわち、先ず、ルシフェリン(10)のピラジン上の水素原子が解離してアニオン(11)を生成する。NHのpK_aはおよそ8.3である為、中性域でも多少解離していると予想されるが、酸素を介する発光反応が極めて速い為、ルシフェラーゼが積極的にプロトンの引き抜きに関与している可能性(酵素分子中のヒスチジン残基、など)もある。次いで、このアニオンに酸素分子が付加してペルオキシアニオン(12)となり、これはさらにジオキセタン中間体(13)を経て、CO₂と一重項励起状態のアシルアミノピラジンアニオン(14)を生成する。(14)は励起状態のまま溶媒からプロトンを取って中性のアシルアミノピラジン(15)となり、これが基底状態(16)にもどる際、そのケイ光に相当する光を放出する(図2)。現在、海ホタルにおいてもジオキセタン中間体は不安定で単離・確認はなされておらず、また、ペルオキシアニオンについても過酸化物型(a)か過酸型(b)かは明らかではない(McCapraら²⁴⁾は(a)、後藤ら²⁵⁾は(b)と推定している)。

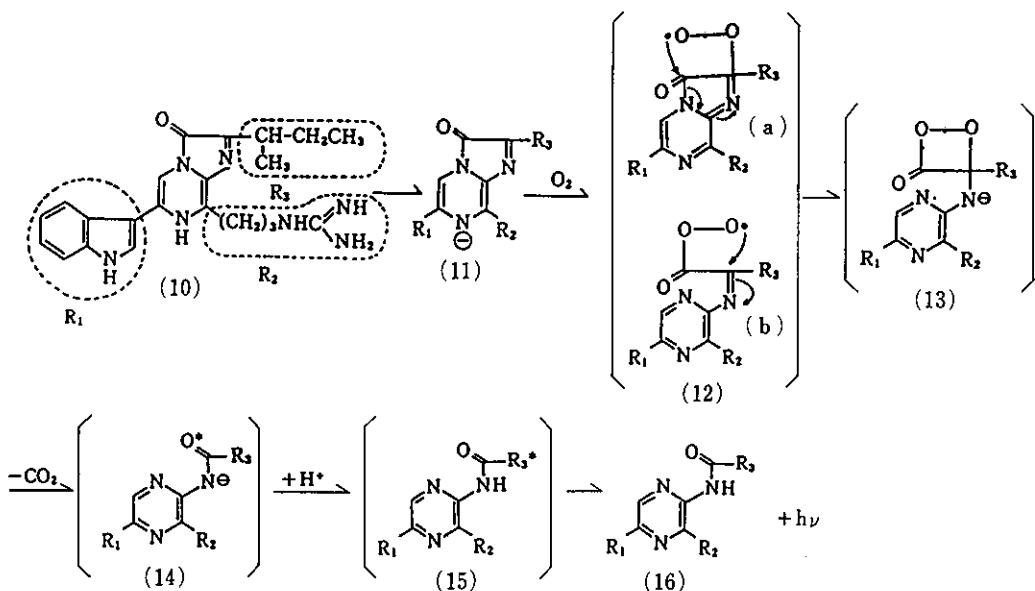


図2. 海ホタルの生物発光反応機構

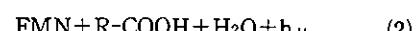
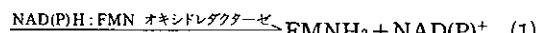
*: 勵起状態

この際、海ホタル・ルシフェリンはルシフェラーゼが存在しても水溶液中では発光しない。これは分子状酸素との反応でヒドロペルオキシドを生成することができず、ラジカル化され2量体になる為と推定されている。一方、有機溶媒(DMSO, DGM)中ではルシフェラーゼが存在しなくとも酸素により化学発光する。下村ら²⁶⁾はこれら

められないことを示している。従って、海ホタルのルシフェリンはルシフェラーゼを用いる生物発光反応と有機溶媒中での化学発光反応とでは、その発光機構が異なり後者では図3の機構で酸化され発光するものと考えられている。従って、生物発光反応における酵素・ルシフェラーゼはルシフェリンとO₂分子との付加反応を容易にし、かつ、ルシフェリンに疎水的環境を与えオキシルシフェリンのケイ光強度を高める役割を演じているものと推測される。

3) 発光細菌の反応

発光細菌は数十種類存在するといわれており、通常、発光反応には FMN, NAD(P)H, FMNH₂, R-CHO, NADH: FMN オキシドレダクターゼ、ルシフェラーゼ(ATPを必要としない)およびO₂を必要とする。



発光機構については古くから多数の研究がなされてきたが、その機構はホタルや海ホタルに比べてさらに複雑である。

発光細菌の L-Lase 反応は、Strehler ら¹¹⁾により見出さ

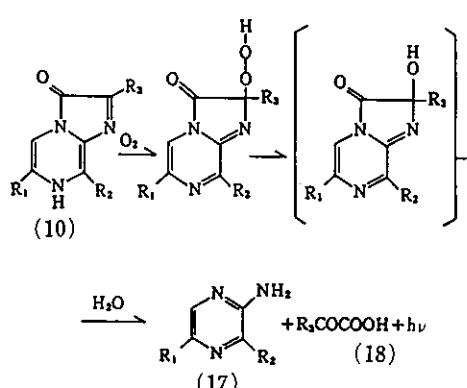


図3. 海ホタル・ルシフェリンの化学発光反応

発光反応の生成物を分析し、生物発光反応ではほぼ定量的にオキシルシフェリンとO₂が生成するのに対し、有機溶媒中ではエチオルシフェリン(17)やα-ケト酸(18)[CH₃CH₂CH(CH₃)CO-COOH]が生成し、CO₂はほとんど認

れ、NADH が本発光反応に重要なことが示された。彼らはバクテリアの煮沸懸濁液中に発光を強める因子のあることも確認し、C₇～C₈ の直鎖アルデヒドが有効なことを認めている¹²⁾。また、McElroy ら¹³⁾も FMN の重要性を指摘し、FMN が NADH で還元され FMNH₂ (バクテリアのルシフェリンに相当する) となり発光することを示した。

近年、*Vibrio harveyi* のルシフェラーゼは大量精製法が確立され結晶化もなされており²⁷⁾、さらに、*Photobacterium phosphoreum* はフラビンの存在の有無を異にするルシフェラーゼが単離されている²⁸⁾。また、*Vibrio harveyi*、*Vibrio fischeri*、*Xenorhabdus luminescens*、*Photobacterium leignathi* および *Photobacterium phosphoreum* 等の発光細菌はルシフェラーゼの遺伝子が明らかにされており²⁹⁾、これら発光遺伝子の部位特異的変異法を用いた構造・活性相関の研究も続けられている^{30,31)}。この際、*Vibrio harveyi* と *Xenorhabdus luminescens* の α と β -サブユニットから再構成された混合型ルシフェラーゼの研究から

α -サブユニットが活性発現や熱安定性に寄与している可能性も示唆されている³²⁾。

発光反応について最もよく研究されている *Vibrio harveyi* はルシフェラーゼ [VLase, フラビンモノオキシゲナーゼの一種、異種蛋白質 (α -サブユニット・40kDa- β -サブユニット・36kDa) の二量体] が長鎖アルキルアルデヒド (RCHO) をカルボン酸に酸化して緑青色 (λ_{max} ; 490nm) に発光させると推測されている(図4)。

Hastings ら³³⁾は、R-CHO と中間体21(フラビン 4-ヒドロペルオキシド中間体)の発光反応より酸化型FMA中間体(20)に変化する過程で2種類の中間体の存在を確認し、これらはフラビン 4-ヒドロキシド中間体(24)と仮想的中間体(23)であると報告している。一方、中間体23から励起一重項フラビン 4-ヒドロキシド中間体(24*)への反応機構については蛍光物質を用いた検索もなされている³⁴⁾。この際、発光直後に24から RCOOH が脱離し、さらに FMN が解離して VLase を再生する反応はこれらルシフェラーゼが関与する発光系の律速段階(発光速度の約1/15)

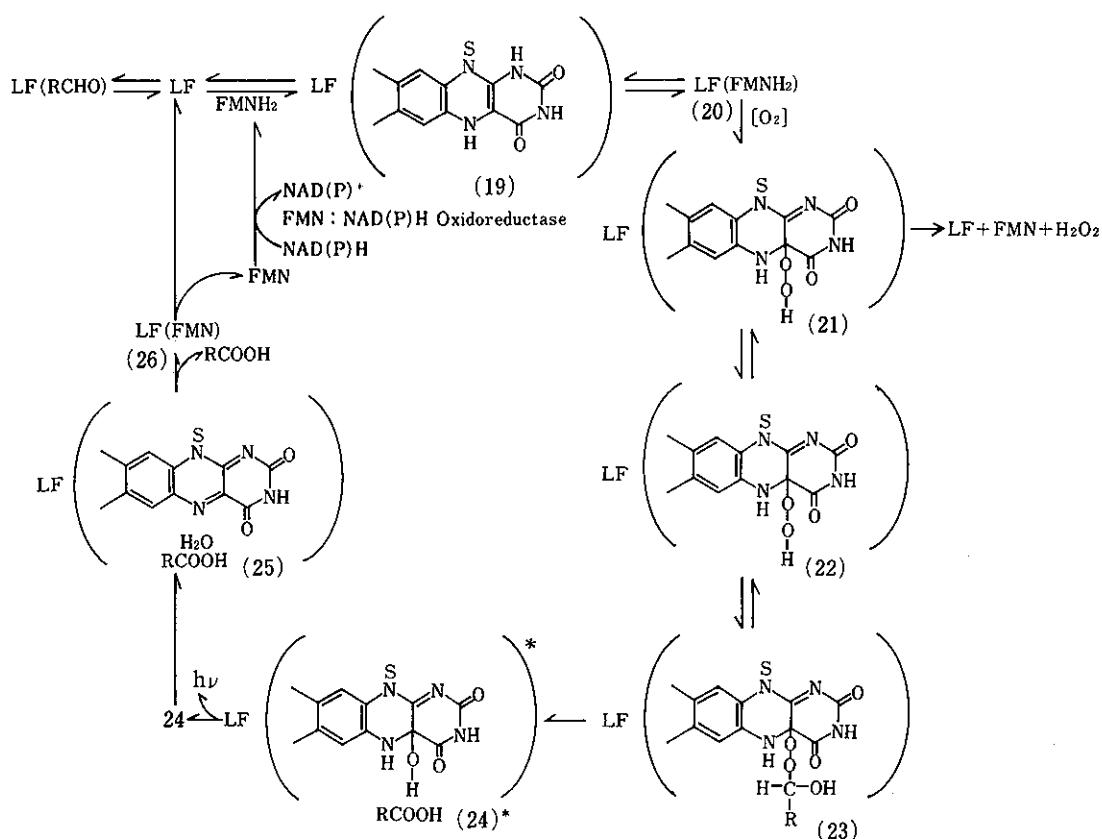


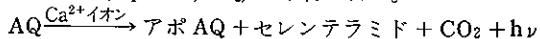
図4. 発光細菌の反応

である。

これら反応機構に対して、従来から示されている CIEEL 機構に基づく研究（フラビンモデル）も報告³⁵⁾されている。

4) オワンクラゲの発光反応

刺激によって触手の根元から発光タンパク質を分泌し、これが海水中の Ca^{2+} と反応して青色 (465 nm) の発光を示す。このタンパク質は下村ら¹⁷⁾により最初に抽出され、エクオリン (aquaorin, AQ) と命名された。



AQ はアポ AQ (分子量 21.4 kDa) に基質であるセレンテラジンと分子状酸素が結合して生じる複合蛋白質である。アポ AQ はアミノ酸数が 189 個 (N 末端-Val, C 末端-Pro) の蛋白質で一次構造の解析結果³⁶⁾ から多くのカルシウム結合蛋白質と同様、分子内にカルシウムイオンと結合し得るドメイン [EF バンド構造 (α -ヘリックスとそれにはさまれたループ構造)] が 3ヶ所存在することが明らかにされている³⁷⁾。

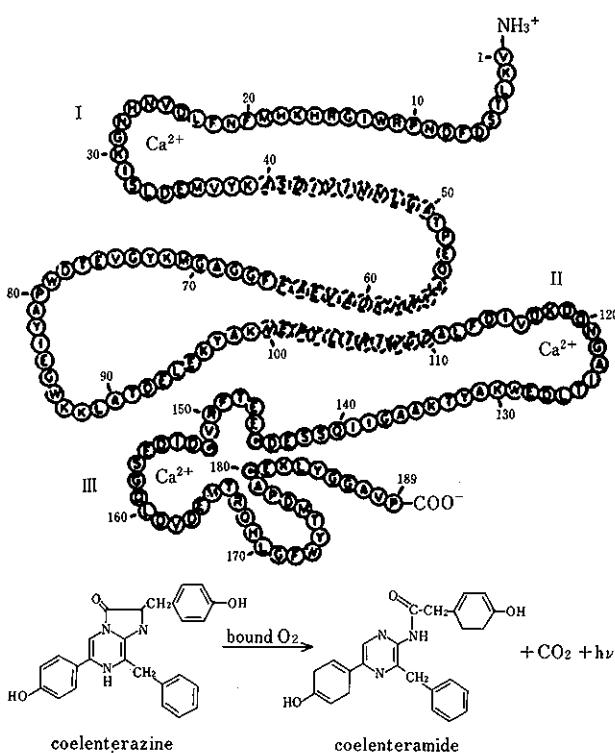


図 5. アポ AQ の 1 次構造とセレンテラジンの反応
(文献41より)

発光反応は AQ にカルシウムイオンが結合すると AQ の高次構造が変化し、分子状酸素によるセレンテラジンの酸化を触媒（酸素添加酵素）^{38,39)} して青色の発光蛋白質を形成する（図 5）。

この際、発光スペクトルが *in vitro* (465 nm) と *in vivo* (509 nm) とでは異なるが、その原因として、*in vivo* では AQ と共存する緑色蛍光蛋白質 (509 nm) の存在が考えられている。現在、この緑色蛍光蛋白質は単離・同定されていない為、発光機構の詳細は明らかではないが、Forster 型のエネルギー移動による発光の可能性が示唆されている⁴⁰⁾。一方、発光反応に関与するカルシウムイオンの数（2個または3個？）も推測の域を出でていないが、最近、Ohmiya ら^{41,42)}は、EF バンド構造においてよく保存されているグリシン残基（ループの折り返し構造に必須）をアルギニン残基に部位特異的に変異させ検索した結果、ドメイン I および II が発光反応に重要であることを示唆している。しかし、カルシウムの結合による AQ の高次構造の変化等、今後、さらに詳細に検討する必要がある。

5) その他の発光反応

発光ウミシイタケ、発光キノコ、発光イカ、発光ミミズ、渦鞭毛藻（ヤコウチュウなど）および発光オキアミなど種々の発光生物が検索されており、これら生物を含め発光機構の解明が待たれる興味ある生物も多い。

発光ウミシイタケ (*Renilla reniformis*) は L-Lase 反応により青色に発光 ($\lambda_{\max} = 482 \text{ nm}$) する。ルシフェリンの構造も明らかにされ化学合成もなされている。一方、ルシフェラーゼ（分子量 35 kDa）は、*in vitro* でセレンテラジンを基質として青色に発光するが、*in vivo* では共存する緑色蛍光蛋白質により緑色発光 ($\lambda_{\max} = 509 \text{ nm}$) を呈する。

ルシフェラーゼの cDNA もクローニングされ、大腸菌での発現やその精製法も確立されており⁴³⁾、リコンビナント・ルシフェラーゼ（発光量子収率；0.13~0.16、発光触媒サイクル回転数；120/min）は熱安定性にも優れている。

発光キノコの反応は古くから知られており、ツキヨタケの発光体（ランプテロフラビン）に関する研究報告⁴⁴⁾ はなされているもののルシフェラーゼについては不明である。Shimomura ら⁴⁵⁾は、発光キノコ (*Panellus stipticus*) ルシフェリン前駆体 (1-o-decanoylpanal, 1-o-dodecanoylpanal) を単離しており、これら化合物は陽イオン性界面活性剤を含む中性溶液中で酸素やスーパーオキシドと反応して発光する。

発光イカもトビイカ (*Symplectoteuthis oualaniensis*)

についてはデヒドロセレンテラジンを発光素とする発光系が検索され、発光蛋白質（膜結合性）の部分精製法も報告されている^{46,47)}。

発光反応はこれら蛋白質にデヒドロセレンテラジンが結合〔蛋白質中の求核官能基（チオールなど）がデヒドロセレンテラジン分子の2位のexo-メチル炭素に求核付加〕し、ジヒドロイミダゾピラジノン骨格が形成され、これが分子状酸素により発光するのではないかと考えられている。

渦鞭毛藻（単細胞藻類と原生動物に分類）もL-Lase反応により発光(474 nm)する。

現在、多数の発光種が知られており、それぞれの発光

反応には互いに交差性が認められることから基本的には反応に関与するルシフェリンやルシフェラーゼの構造は同じであると考えられている⁴⁸⁾。現在、*Pyrocystis lunula* のルシフェリンは単離され、その構造が決定（テトラピロール誘導体）されており、別種の渦鞭毛藻 *Gonyaulax polyedra* ルシフェラーゼによっても発光⁴⁹⁾することが知られている。また、*Gonyaulax polyedra* ルシフェラーゼのcDNAはクローニングされ、一次構造(分子量130 kDa、一本鎖蛋白質)も明らかにされており、また、これら遺伝子を大腸菌で発現させたりコンビナントルシフェラーゼは発光活性を有する⁵⁰⁾。

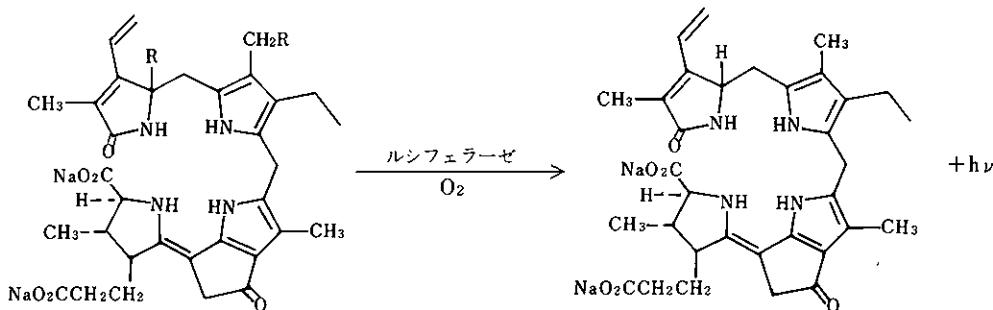
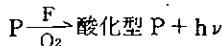


図6. 渦鞭毛藻ルシフェリンの構造とその酵素酸化生成物
R=H: ルシフェリン, R=OH: オキアミケイ光物質F、

オキアミの発光は、通常のL-Lase反応とは異なり蛋白質性の化合物(P)が酸化される際に触媒として存在するケイ光性物質(F)にそのエネルギーが移行し、Fよりそのケイ光に相当する光(476 nm)が放出される。



Euphausia pacifica (カナダ産オキアミ)から単離されたケイ光物質と *Pyrocystis lunula* (室内培養)のルシフェリンの構造^{51,52)}を比較すると両者は著しく類似(図6、ケイ光物質はA環4位のメチルとB環7位のメチル基が酸化され水酸基に変換)しており、これら化合物はクロロフィルやそれらの関連化合物から合成されると考えられている。

このようにオキアミの発光反応は、渦鞭毛藻とは発光様式が異なるにもかかわらず、渦鞭毛藻ルシフェリンと化学的性質が著しく類似した物質が発光に関与している。さらに、本発光は反応中間体にジオキセタンを経由しない新しい発光系であることも興味深い。

6. おわりに

今までに報告された生物発光反応のうち、生体成分の分析に応用されている反応を中心にふれた。

従来より多数の発光生物の存在が確認されているが、生化学的に検索された発光生物の数は今までのところ著しく少ない(全発光生物の数%程度)。その主な理由として、研究材料に用いるこれら生物を大量に採集することが困難なうえ、含まれる発光性物質の量が微量なことおよび発光系が不安定な場合が多いことなどがあげられる。しかし、近年の生化学的研究の進歩により生物発光反応に関与する蛋白成分の構造(一次構造、高次構造)やその性質が明らかにされると共に発光現象の生物学的意義などについても活発に研究されている。

今後も発光生物に関する基礎的研究が進展し、新規な発光反応や発光系の制御機構が解明されれば新たな分析化学的応用面が開かれる可能性が大きいにある。

文 献

- 1) Catalani, L. H. et al ; J. Am. Chem. Soc., 111, 2633, 1989.
- 2) Kaaret, T. W. et al ; Photochem. Photobiol., 52, 629, 1990
- 3) Bitler, B. et al ; Arch. Biochem. Biophys., 72, 358, 1957.
- 4) Green, A. A. et al ; Biochim. Biophys. Acta, 20, 170, 1956.
- 5) White, E. H. et al ; J. Am. Chem. Soc., 85, 337, 1963.
- 6) Shimomura, O. et al ; Bull. Chem. Soc. Jpn., 30, 929, 1957.
- 7) Kishi, Y. et al ; Tetr. Lett., 34, 27, 1966.
- 8) Kishi, Y. et al ; ibid, 34, 45, 1966.
- 9) Shimomura, O. et al ; J. Cell. Comp. Physiol., 58, 113, 1961.
- 10) Tsuji, F. H. et al ; ibid, 58, 125, 1961.
- 11) Strehler, B. L. et al ; J. Am. Chem. Soc., 75, 1264, 1953.
- 12) Strehler, B. L. et al ; J. Biol. Chem., 211, 213, 1954.
- 13) McElroy, W. D. et al ; Science, 118, 385, 1953.
- 14) Nakamura, T. et al ; J. Biochem., 70, 35, 1971.
- 15) Yoshida, K. et al ; ibid, 74, 915, 1973.
- 16) Shimomura, O. et al ; J. Cell. Comp. Physiol., 59, 223, 1962.
- 17) Wood, K. V. et al ; Biochem. Biophys. Res. Commun., 124, 592, 1984.
- 18) Tatsumi, H. et al ; Biochem. Biophys. Acta, 1131, 161, 1992.
- 19) Devine, J. H. et al ; ibid, 1173, 121, 1993.
- 20) Plant, P. J. et al ; Biochem. Biophys. Res. Commun., 31, 98, 1968.
- 21) Karpetsky, T. P. et al ; Tetrahedron, 3761, 1973.
- 22) McCapra, F. et al ; J. C. S. Chem. Commun., 894, 1972.
- 23) Thompson, E. M. et al ; Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 86, 6567, 1989.
- 24) McCapra, F. et al ; J. C. S. Chem. Commun., 1011, 1967.
- 25) 後藤俊夫編著；動的天然物化学，講談社，1983。
- 26) Shimomura, O. et al ; Biochem. Biophys. Res. Commun., 44, 340, 1971.
- 27) Lang, D. et al ; Enzym. Microbiol. Technol., 14, 470, 1992.
- 28) Kasai, S. ; J. Biochem., 115, 670, 1994.
- 29) Meighen, E. A. ; FASEB J., 7, 1016, 1993.
- 30) Xin, X. et al ; ibid, 33, 12194, 1994.
- 31) Li, Z. et al ; Biochim. Biophys. Acta, 1158, 137, 1993.
- 32) Xin, X. et al ; Biochemistry, 33, 12194, 1994.
- 33) Macheroux, P. et al ; Biochemistry, 32, 14183, 1993.
- 34) Cho, K. W. et al ; Photochem. Photobiol., 57, 396, 1993.
- 35) Eckstein, J. W. et al ; Biochemistry, 32, 404, 1993.
- 36) Inouye, S. et al ; Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 82, 3154, 1985.
- 37) Tuffy, R. H. et al ; Science, 187, 167, 1975.
- 38) Shimomura, O. et al ; Biochemistry, 13, 3278, 1974.
- 39) Shimomura, O. et al ; Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 75, 2611, 1978.
- 40) Morise, H. et al ; Biochemistry, 13, 1656, 1974.
- 41) Ohmiya, Y. et al ; FEBS Lett., 332, 226, 1993.
- 42) Tsuji, F. I. et al ; Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 83, 8107, 1986.
- 43) Loreng W. W. et al ; "Bioluminescence and Chemiluminescence", p. 191, John Wiley & Sons, New York, 1993.
- 44) 磯部 稔；日農誌, 66, 376, 1992.
- 45) Shimomura, O. et al ; J. Biolumin. Chemilumin., 8, 201, 1993.
- 46) Takahashi, H. et al ; Chem. Lett., 1994, 843.
- 47) Isobe, M. ; Pure Appl. Chem., 66, 765, 1994.
- 48) Schmitter, R. et al ; J. Cell Physiol., 87, 123, 1976.
- 49) 中村英士；日農誌, 66, 748, 1992.
- 50) Bee, Y. M. et al ; Biochim. Biophys. Acta, 1219, 449, 1994.
- 51) Nakamura, H. et al ; J. Am. Chem. Soc., 110, 2683, 1988.
- 52) Nakamura, H. et al ; ibid, 111, 7607, 1989.

超高純度試薬“Utrapur”が生まれ変わりました!!

塩酸 ふつ化水素酸 硝酸 過塩素酸 硫酸 超純水

精製技術の向上により、更に高純度になりました。不純物含量の保証は
ppb から ppt へとグレードアップしております。

New

〈分析値例：硝酸〉

単位：ppt

含量 60%	Li 0.0010 ↓	Be 0.003 ↓	Na I.I	Mg 0.6	Al 3.7
K 1.3	Ca 3.8	Cr 1.4	Mn 0.07	Fe 5.03	Co 1.4
Ni 1.7	Cu 2.2	Zn 1.3	Ge 0.33 ↓	Rb 0.004 ↓	Sr 0.02
Mo 0.34	Rh 0.05	Ag 0.07 ↓	Cd 0.20 ↓	Sn 0.4	Sb 0.4
Ba 0.07 ↓	Eu 0.03 ↓	Ta 0.06 ↓	W 0.9 ↓	Pt 0.3 ↓	Au 0.2 ↓
Pb 0.5	Bi 0.02 ↓	Th 0.04	U 0.0002 ↓		

詳細につきましては下記までお問い合わせ下さい。



関東化学株式会社 試薬事業本部

〒103 東京都中央区日本橋本町 3-11-5 03(3663)7631
〒551 大阪市中央区瓦町 2-5-1 06(222)2796
〒812 福岡市博多区山王1-1-32 博多城ビル 092(414)9361

電子材料と電子デバイス；研究開発とその成果

トランジスタから集積回路への工業的発展(I)

- 技術開発と工業化の条件
- MOS 集積回路の開発と工業的発展
- MOSFET の複合化と集積化

元帝京大学教授 理学博士 三宅 清司

1. まえがき

エレクトロニクスと云う言葉は1930年代、電子管が通信以外の分野で利用されるようになり始めて使われるようになり、マイクロエレクトロニクスなる言葉は、1960年頃から文献にも見られるようになった。1990年半ばである現在も、なお、生きている言葉である。その電子管が工業的規模で製造されるようになったのは、第二次大戦中、大量生産の必要性から生じたものと思われるが、その信頼性とエネルギー効率の改善から、工業的規模でトランジスタにとってかわるものと推測されたのは当然の事であった。

他方、マイクロサーキット(microcircuit)なる言葉が文献に見られるようになったのは1960年の頃で、まだ、ゲルマニウムを材料としたトランジスタの時代であって、合金接合型ゲルマニウムトランジスタが発明された1952年からようやくその工業化が進み、1960年に至る約10年の間はゲルマニウムトランジスタの性能の改善と量産工業への努力がされていたのである。^{1~6)} 電子回路の超小型化(microminiaturization)が要求され始めたのは米国における軍事的要望からであり、その調査研究が始まられたのは1960年頃であって、^{7~9)} その開発は必ずしも成功したとは云えない。本文では、ゲルマニウムトランジスタの開発に次ぐシリコントランジスタ、特に、現在の集積回路の開発に至る1960年代、如何なる経過を通り抜けたかを工業的観点から時系列的に述べる事に努め、技術、あるいは、科学の進歩は突然変異的には発生しない事を、出来るだけ多くの方々に知って頂くため多少の重複も含め述べる事とした。

このため、副題も新たにし、現在ある多くの図書、文献では、その詳細についてはふれていない電子部品、能動素子、受動素子の複合化、集積化の初期が何うであったかを出来るだけ述べる事とし、行き詰っている現在のマイクロエレクトロニクスの進展に役立てたいと思う。

KIYOSHI MIYAKE Dr. Sci.
Former professor, TEIKYO Univ.

2. 技術開発と工業化の前提条件

筆者の経験によると、我が國のみならず、エレクトロニクスの先進国である米国においてすら、多量生産を必要とする電子部品の研究開発において、その調査、立案、着手に対する姿勢に疑問を持つ事が多い。それは；

- (i) 必要な新技術の事前調査が、その着手時期と、製品の完成時期との関係で充分なされているか。
- (ii) 開発試作、パイロットプラントでの量産試作が工業生産と云う立場で事前に検討されていたか。
- (iii) その製品の多量生産に必要な装置、材料、技術などに関する検討が前もって充分なされていたか。
- (iv) 自動製造の概念があるか。

である。例えば、(i)の例はシリコンプレナートランジスタの集積化に先行した複合化は、小型真空管の複合化に類似し、当初は一つの金属ケース(can)に複数のトランジスタチップ、ダイオードチップを封入する極めて幼稚なものであった。これらは、新しいデバイス、あるいは製品の研究開発担当者の仕事に対する安易な姿勢のもたらす結果であって、担当者の先見性の無さに原因するものである。

(ii)の例は内外共に極めて多く、その最も古く有名なものではあるが、W. Schokely の成長接合(grown junction)型ゲルマニウムトランジスタの発明である。その生産性は極めて低い。一つの単結晶の塊から一枚のpn接合片しか利用することしか出来ないからである。このような例は、今なお、多くの研究開発担当者の工業生産に対する知識の低さに原因し生じている筈である。

(iii)の事例は教育の欠陥に原因するものである。例えば、システム化、総合化すべき個々の知識の不足にある。システム工学と称し、大学、企業などで教育されてはいるが、対象となるシステム化すべき材料、器具、装置と

その製法に関する知識が前以て教えられていないからである。半導体工学の例で云えば、素子の集積度が高くなるに従い、トランジスタ、ICなどのチップの大きさを同じとすると、電極や接続導線(interconnection)のサイズも必然的に小さくなる。モノリシックICで云えば、ウエハーで処理する製作工程の各段階で使用する液体、気体などの材料、また、器具、装置などから発生する微塵が歩留の大小に影響する。残念ながら、これらの事柄が教育されていたとは云い難い。

これらの事柄から、量産工業の設計担当技術者の留意すべき不可欠の要件は製品設計の次の思想である。すなわち、(iv)は製造の機械化、自動化(automation)ではなく、自動製造(automated production)の概念があるか、である。この概念は量産工業の何れにも適用すべきものであって設計担当者の適性に関係する。

3. MOS 集積回路の開発と工業的発展

ゲルマニウムトランジスタの製造が室内作業的であった事は周知の事実であるが、当時の技術者が小型真空管の製造装置を知っていたら、機械化や自動化は行なわなかつたと推測する。図1は、外国貿易との関連でよく報道に利用されるMOSトランジスタを集積したモノリシック記憶装置の相互接続導線の最小線幅(設計ルール)と集積密度との関係を極めて大雑把に示したものである。すなわち、示したICのチップの大きさは、いずれも、約

10mmの四角で、使用する電圧は数V、一つ一つのICチップが消費する電力は約300mWである。

図から判る事は、設計ルールが1Mの集積密度を境にして異なる両者の関係を示している事である。この関係を作成したのは約10年前の1985年頃であったが、折れ曲った直線が64Mの密度で約2500Åとなる事が推測され、シリコン単結晶ウエハーの結晶の完全性の限界に近い事を示した。なお、両者の関係が1Mを境にして異なる理由は先に述べた前提条件が異なるためであって、MOSICの構造が異なる事が原因である。図2は図1に示した相互接続導線の最小線幅、設計ルールを示したものである。図中、電極とした部分は、半導体装置のp, nの領域に接続する金属部分を示したものである。また、基板はSiO₂など、基体シリコンの上にある単結晶シリコンの表面を保護する皮膜である。最小寸法の大きさは、現在の技術でlとhで示すのが普通である。

図2. 相互接続導線幅(設計ルール)。*l*は線幅、*h*は線の厚さ、電極は半導体のp, nの領域から接続された金属導線。

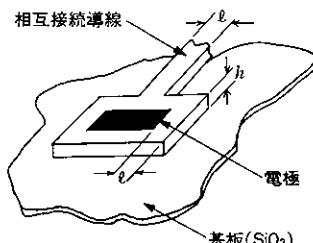


図1. 設計ルールとDRAM集積度との関係。16M, 64Mの集積度はIBMの推定値。

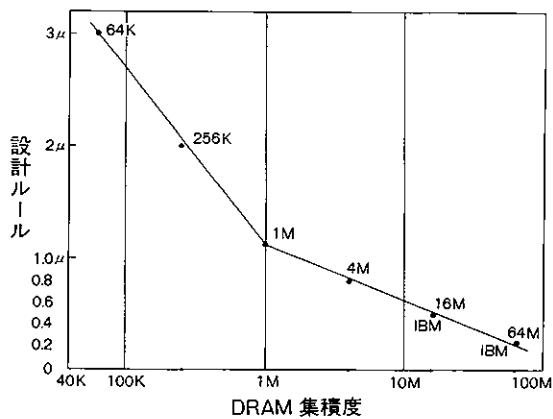


図1に示した横軸の集積密度は、いわゆる隨時読み書き可能な記憶用ICチップ、DRAM(dynamic random access memory)の1チップ当たりの集積度、つまり、同じ大きさの約1cm四角のチップ当たりの記憶素子数を示したものである。縦軸は図2に示した相互接続導線の最小線幅*l*、すなわち、設計ルールである。導線の厚さ*h*は、通常、1μ程度であり、その材料は、通常、Alである。

図1の関係を作成したのは1985年頃であるが、この図からわかるように、集積密度と設計ルールとの関係が1 Mega byte(メガバイト、通常、100万文字分の素子数)で折れ曲り異なる事を示唆している。すなわち、4Mバイトのメモリーは、当時、開発の段階にあり、それに使用されるコンデサーは平面のコンデサーではなく、三次元、つまり、トレンチ(trench)型と云われる溝型のもの

で、前提条件が異なるためであった。⁷⁾ また、最小線幅が2500Åと推測されるのは64Mバイトであるが、これ以下の線幅でICを製作する事は技術的に見て歩留の点から推測すると望ましくないと考えられた。

以上の事柄から明らかのように、量産製品の工業化に当っては、その前提条件として何を考えるべきかは対象とする製品によって決まるものであるが、一般的には、何れの製品であっても、その前提条件を充分に検討することが重要である事は云うまでもない。

1960年前後から始まった電子回路の超小型化の努力は個別素子の複合化から集積化へ発展し集積回路となつたが、それはモノリシック、ハイブリッドの如何を問わず、それは主として製造技術と装置の進歩によるものであつて、集積度の増加に伴う回路素子とその相互作用に関する技術を対象とした研究の成果により得られたものである。

例えば、集積回路の製造に使用する純水、その他の液体、酸素ガス、その他の気体に含まれる不純物、また、器具、装置、製造環境から発生する、または、存在する不純物を取り除く技術の進歩によるものである。さらに、集積化された一つのICチップをウェハーの状態で製作する際、回路の複雑さに応じて、電極、導線、またIII、V属の不純物拡散に必要なマスクと光学装置などの機械的、光学的精度の向上などがある。しかしながら、現在の集積回路工業に発展した技術の大半は、1970年までの10年間に生まれたものであると云つてよい。

この間の材料およびトランジスタの発展については、R. L. Petritzが“Contribution of Materials of Technology to Semiconductor Devices”、の論文で、⁸⁾ また、J. M. Carrollが、“What News in Semiconductors”の論文でその両者について詳細に述べている。⁹⁾ 他方、K.

Miyakeは“Atomic Buttery および Solar Batteryの研究”的題名にてトランジスタの発明以後、1954年に至るまでの研究状況を半導体に与える放射線の効果を含め記述している。¹⁰⁾ さらに、C. T. SahはMOSFETの歴史から現在のVLSI(very large scale integrated circuit)に至るまでの詳細について論文を発表し、技術開発の成果を工業化に結びつける事が如何に困難であるかを述べている。^{11, 12)} Sahの記憶によると、彼が在籍した1969年当時、Fairchild(社)が重点を置き生産していたのはバイポーラーモノリシックICであつて、それによる企業収益優先のため、MOSFETを利用したデバイスの集積化に着手することが許されなかつたと述べている。

他方、1961年当時、Hitachi(社)に在ったK. MiyakeがMOSFETを利用した集積回路の開発を始めたのは、

プレナー型でpn接合が化学的に不活性な酸化シリコン膜で保護されたモノリシック・シリコン集積回路が発表されたからである。Miyakeがこの集積回路の開発に着手したのは、Fairchild(社)と同様、始めはバイポーラーシリコントランジスタのものであった。Texas Inst.(社)のJ. S. Kilbyの発明がモノリシックではなく、R. Noyceの発明がプレナーモノリシックである事を考慮し、シリコンを用い開発する事にした。1961年の事である。

当時、通商産業省には企業で計画している工業化の可能性の高い技術を支援する目的で、その費用の補助を試験研究費の名目でその半額を支出する制度があった。Miyakeはその制度を利用して、当時、部下であったM. OhnoにMOSFETを用いる集積回路の開発に着手する事を指示した。シリコンと酸化シリコン膜との境界面に生じるチャンネルを利用するもので不安定との反対意見もあったが、Hitachi(社)がMOSFETを利用した一般目的の集積回路の開発に着手した時と、Fairchild(社)がそれに着手しようとしたのと、ほぼ、時を同じくしているが、多分、Fairchild(社)より具体的には早かったと記憶している。

通産省の補助を受け着手した試験研究の題目は、“昭和39年度応用研究；MOS型電界効果トランジスタを利用した集合部品に関する研究”であつて、回路設計と製作の具体的な作業にあたったのはM. Ohno, T. Momoi, M. Kubo、その他であつて、MOSFETを用いたNORゲート(gate)の開発にあつたとの事である。¹³⁾ Hitachi(社)の半導体ハンドブックに初めてMOSICが記載されているのは、1970年発行のHITACHI Semiconductor Hand Bookであつて、それ以前の状況については、現在、不明である。上に述べたように、Hitachi(社)が開発を試みたMOSFETの集積化はFairchild(社)の計画とは異なり、一般的電子機器に用いる事を目的としたメモリーであつて、それを使用し、Miyakeの示唆によって、K. Nomiyaが卓上式電子計算機を我が国で始めて試作したと記憶している。関連してMOSFETの複合化、集積化した開発途中の電子回路などに関する発明もあるが、その状況について、通産省、国会図書館で調査したが、現在のところ、関係資料は得られていない。

4. MOSFETの複合化と集積化

1959年、Danko *et al* が予測した幾つかの超小型電子回路のうち、工業化に成功したのは、マイクロモジュールではなく、バイポーラーモノリシックICとユニポーラーモノリシックICのMOSICであった。いづれも、1970年の半ばの事である。技術的には一番進んでいたと思われるP. Weimerの試みたユニポーラーの薄膜ICは、1967

年、IBM(社)が同社の計算機370系に使用した三次元の厚膜ハイブリッドIC(写真1)に先を越され、これも、1995年には多くのエレクトロニクスの分野で使用されている三次元のハイブリッドIC(写真2)に発展した。⁴⁾



写真1.
厚膜回路のセラミック基板の積み上げ状態。⁵⁾

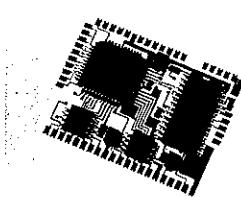


写真2.
厚膜回路によるハイブリッドICの一例。レジン封止のICなどがセラミック基板に取り付けである。

1960年、D. Kahng と R. Noyce により発表された MOS型電界効果トランジスタを利用した IC は、先に述べたように、Fairchild(社)と Hitachi(社)とが別個に開発し、複合化、集積化とその製品化に成功したのは1970年以降と思われるが、複合化されたものとして第一にあげられるものは図3に示した相補型(complemental type)の MOSFETと云える。^{14, 15)} 図3はその断面構造を示したものであり、図4は回路図として示したものである。図4に示された複合化した MOSFET は図3に示した酸化シリコン膜とシリコンとの境界に生じるチャンネルの電気伝導を利用した型のもので、それを回路図としては図4のように表現し、ゲート電極を示す矢印の方向でチャンネルを流れる電荷担体を区別してあらわす。

図3に示したように、基板にはn型のシリコン結晶を用い、p-diffusion¹⁶⁾で示した領域を基板の中に不純物拡散法を利用して作る。通称、この領域をウエル(well)と呼んでいる。現在の技術では、この部分の領域はイオン打込み法(ion implantation)を用いて作る。¹⁶⁾ この方法は基板がn型シリコンの場合は、V属の不純物を低い真空中でイオン化し、高電圧で加速して作りたいウエルの領域に打込む。MOSFETとバイポーラートランジスタの

複合化の試みも初期にはされているが、前節でも述べたように、国内外ともに、その内容は工業的には価値が低く、実用されないで終った。¹⁷⁾ 少なくとも、一つの発明から思いつきで出される着想は多量生産と云う工業的に最も必要な設計思想が抜けている事がその価値の低さの原因である事を研究者、技術者は忘れてはならない。

図3. 複合化された MOSFET の断面; well の領域は III属不純物を熱拡散で作る。

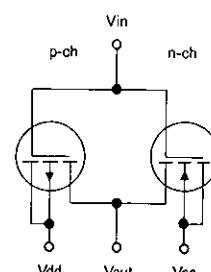
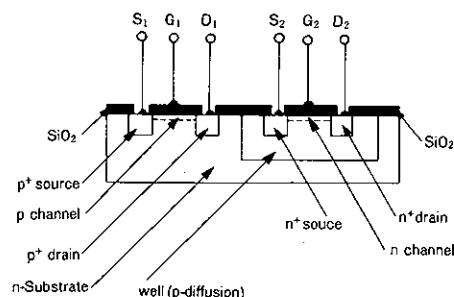


図4.
複合化された
MOSFET の回路
図の表示。

さて、現在のマイクロエレクトロニクス、集積回路に発展した初期の個別トランジスタの複合化の例としてはバイポーラートランジスタがある。プレナー型モノリシックでの製法として最も有利である事は、1960年の頃、直径数10mmであったシリコンウェハーの中に数mm角の極めて特性の近い一つのバイポーラーシリコンチップが得られる事であった。もちろん、その歩留は低いものではあったが。

このような複合化はシリコン・プレナー型モノリシックであるが故に得られるものであって、Texas Inst.(社)の Kilby の特許の明細書に図示されているように、回路素子を細い導線でそれらを結合する初期の個別素子の製作方法と異なる。つまり、Kilby の原出願にはプレナー型のモノリシックの設計思想に対する改良が目的として強調されている。これは逆であって、それが故に彼の発明は MOSIC の技術に発展したものとは云い難い。

1990年の半ばである現在、シリコン単結晶のウエハーの直径は約20cmの大きさのものが作れるようになり、図1に示した設計ルールが 0.2μ に近いものが作れる事も予測される。図1に示した集積密度が64Mバイト程度と考えられているDRAMのシリコンチップの大きさは、16Mバイトまでの大きさの2倍、約10mm×20mmのものであるとの報告もある。したがって、図1は64Mバイトの近くで、設計ルールの条件が異なる事になる。

いずれにしても、Noyceの発明によるプレナー・モノ

も同様であるが、表1は1960年以前、表2は1960年以後のものをまとめたものである。C.T.SahおよびK.Miyakeの記憶によるものもあるので必ずしも正確とは云えない点があるのはやむ得ないと思う。

5. あとがき

以前にも述べた事があるが、科学技術の歴史には、一般に知られていると思われている事とは違う事が多くある事に多くの人々が気付いている筈である。何故このよ

表1. 半導体デバイスの工業的発展に寄与した初期の発明、技術

年代	工業的発展に寄与した初期の発明、技術	発明、技術者名
1951	合金接合型ゲルマニウムトランジスタ	J. Saby
1957	不純物の気相拡散と酸化シリコン膜のマスク効果	C. Frosch & L. Derik
1958	プレナー型モノリシック・バイポーラー・シリコントランジスタの発明	J. A. Höerni
1959	pn接合によるモノリシック集積回路の素子分離	R. N. Noyce
1960	MOS型電界効果トランジスタの発表	D. Kahng & M. Atalla
1960	モノリシック・バイポーラー集積回路の開発	IBM(社)
1960*	小規模集積回路の開発 (1チップ100素子未満: Small Scale IC)	—
1961	バイポーラー・プレナー型モノリシック集積回路の特許	R. N. Noyce
1961	薄膜型電解効果トランジスタと集積技術の発表	R. K. Weimer
1962	半導体デバイスの自動製造用リードフレームの着想	K. Miyake
1962	半導体チップ腐食防止アンダーコートの特許	K. Miyake
1962	MOS電界効果トランジスタを用いた集積回路の着想	C. T. Sah
1962	MOS型電界効果トランジスタを用いた集積回路の開発	K. Miyake

* ref. 18) 参照

表2. 半導体デバイスの工業的発展に寄与した初期の発明、技術

年代	工業的発展に寄与した発明、技術	発明、技術者名
1964	スクリーンプリントによる厚膜ハイブリッドIC技術 (IBM計算機用: solid logic Tech; SLT)	E. M. Davis et al
1965	プレナー型モノリシック・集積回路の定義	Motorola(社)
1965	ハイブリッド集積回路の定義	Motorola(社)
1966*	中規模集積回路 (MSI; middle scale IC; 1チップ, 100個以上)	—
1967	複数の半導体チップの厚膜ハイブリッド技術 (advanced solid logic Tech)	R. H. Lloyd; IBM(社)
1969*	大規模集積回路 (LSI; large scale IC; 1チップ, 1,000~10,000個)	—
1970	MOS型FETを用いた集積回路の多量生産; Fairchild(社)	C. T. Sah
1975*	超大規模集積回路 (VLSI; very large scale IC) の開発	—

* ref. 18) 参照

リシックICが現在の集積回路に発展する前にバイポーラー・モノリシックシリコンのデバイスの複合化があり、その技術が集積化をもたらした事になる。表1は、現在のモノリシックICの工業的技術への発展をもたらしたと思われる発明、発明、特許などの列挙したもの、表2

うな事が起るかは、その対象によって異なる事は云うまでもないが、筆者がこのような記録を残す動機となったのは、その冒頭に述べたように、事実に反する、または、事実を充分に記るすることを故意にしない事が多くある事を知っているからである。少なくとも、科学技術の進歩に

役立つ担当の人達は、研究開発が自らの使命であるとの自覚を持つ人達であるべきであって、それは売名行為であってはならない。

残念ながら、現今の我が国民、特にサラリーマンはその職業が適職であるからとして求められてはいない。研究開発の仕事は、第一に苦痛に耐えても続けられるだけの好きな仕事でなければならない。下手の横好きでも無理である。第二には、その仕事を楽しむほど好きである事が大切である。我が国は技術的には先進国ではない。その最大の理由は、担当者の、世界の、特に、ヨーロッパの技術の内容に対する留意が不足しているからである。21世紀をひかえて、若い研究者、技術者が自らの適職として仕事、職業を選らび、また、その指導者もその事に気付き指導して貰いたいと思う次第である。

なお、Miyake の指示により通産省の試験研究費の補助を受け MOS の集積化、複合化に着手した当時の参考資料がその後入手できたので、その事については別途のべる事にしたい。また、本稿の執筆に当たり、多くの私信を頂いた方々に心からの謝意を表したい。

参考文献

- 1) W. Shockley, "Electrons and Holes in Semiconductors", D. Van Nostrand Company, Inc., New York, (1950).
- 2) G. L. Pearson & W. H. Brattain, "History of Semiconductor Research", Proc. IRE, December, p. 1794, (1955).

〈編集後記〉

毎日が忙しく過ぎていくなかで、季節の移り変わりは滞ることなく、梅から桜の時期となっていました。これから当分の間は新しく社会に巣立ってきた若い人達の新鮮さに触れるときもあります。

弊社の国内にある5工場のうち、メインの草加工場の所在地は埼玉県草加市であり、試薬、電子工業用薬品、化成品などの生産を行っております。中央研究所もこの敷地内にあり、全国への配送の拠点の一つである草加物流センターはそこから数百メートルほどのところにあります。

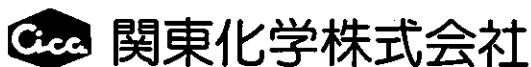
草加市は、日本橋から16km北に位置し、昔は日光街道の宿場町であったということです。現在も町の中の旧国

- 3) J. N. Shive, "Semiconductor Devices",
- 4) S. F. Danko, W. L. Doxey & J. P. Mc Naul, Proc. IRE, May, p. 894, (1959), "The Micro-Module : A Logical Approach to Microminiaturization".
- 5) R. L. Petritz, Proc. IRE, May, p. 1025, (1962), "Contributions of Material Technology to Semiconductor Devices".
- 6) S. M. Sze, "Physics of Semiconductor Devices", John Wiley & Sons, New York, (1969).
- 7) 赤坂洋一他、電通学会誌、Vol. 72, p. 1417, (1989).
- 8) P. L. Petritz, Proc. IRE, Vol. 50, No. 5, p. 1025, (1962); J. Watkins, Electronic Industries, Sept. p. 92, (1961), "A Survey of Thin-Film Technology"; ibid, Oct. p. 102, (1961).
- 9) J. M. Carroll, electronics, Sept. 29, p. 89, (1961), "What's new in Semiconductors".
- 10) K. Miyake, 電々公社、電気通信研究所、解説資料、No. 153, (1954) (現 NTT, LSI 研究所).
- 11) Private communication from Dr. T. Asakawa ; ref. 8 ; ref. 11 ; ref. 12.
- 12) C. T. Sah, Proc. IEEE, Vol. 76, No. 10, p. 1280, (1988).
- 13) Private communication from Y. Oketa.
- 14) D. J. Hamilton & W. G. Howard, "Basic Integrated Circuit Engineering", p. 530, (1975), McGraw Hill LTD. (London).
- 15) F. M. Wanlass & C. T. Sah, Tech. Digest IEEE, p. 32, 1963, ISCC Conf.
- 16) G. Carter & W. A. Grant, "Ion Implantation of Semiconductors", Edward Arnold Ltd. (1976) (London).
- 17) C. T. Sah, IRE, Nov. p. 1623(1961) ; U. S. Patent 3,243,699.
- 18) J. Millman, MICROELECTRONICS', p. xix, (1979), McGraw Hill LTD. (New York).

道4号線と綾瀬川に沿って松並木が残っており、そこに松尾芭翁の文学碑が立っています。その碑には「奥の細道」から“其日漸早加と云宿に着にけり”の一文を含む前後の文章が刻まれていて、元禄2年3月27日、芭翁翁が奥羽長途の行脚に旅立たれた当時が偲ばれます。

また、正岡子規に草加と関係する次の句があります。

梅をみて野をみて行きぬ草加まで
因に、他の4工場は伊勢原(神奈川県)、棚原(岡山県)、大牟田(福岡県)、岩手(岩手県)の各工場であり、さらに、昨年12月、アメリカ合衆国オレゴン州ポートランドに生産拠点として現地法人カントー・コーポレーションの工場であるポートランド・ファシリティが竣工し、本格的な操業も間近となっております。
(青井)



〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
電話 (03) 3279-1751 FAX (03) 3279-5560
編集責任者 青井 克夫 平成8年4月1日 発行