SQUID を用いたバイオ免疫診断

円福 敬二

九州大学 福岡市東区箱崎 6-10-1 (E-mail: enpuku@sc.kyushu-u.ac.jp)

(2003 年 5 月 8 日受理)

Biological Immunoassay with a SQUID Magnetometer

Keiji ENPUKU

Kyushu University, Higashi-ku Hakozaki 6-10-1, Fukuoka 821-8581

(Received May 8, 2003)

Synopsis: A SQUID system for application to the biological immunoassay process is shown. In this system, the biological binding-reaction between an antigen and its antibody is detected using a magnetic marker and a SQUID magnetometer; that is, the binding reaction is detected by measuring the magnetic field from the marker. A so-called SQUID microscope was used in order to achieve a close distance between the cooled SQUID and the room-temperature sample. Three methods have so far been developed for measurement: susceptibility, relaxation and remanence. The measurement method is chosen by the properties of the magnetic marker. It is pointed out that a marker that is optimized for the immunoassay should be developed. For this purpose, we have developed a new marker made of an Fe_3O_4 particle having a diameter of 25 nm. Since the new marker can keep a remanence after a field of 0.1 T is applied, we use the remanent field of the marker to detect the binding reaction. We conducted an experiment to detect an antigen called Interleukin 8 (IL8). It was shown that the present system can detect IL8 at a weight of 0.1 pg.

Keywords: SQUID, immunoassay, magnetic nanoparticle, remanence, relaxation

1. はじめに

免疫反応は、病原菌・ガン細胞の検出、DNA 遺伝子解析、環境有害物質の検出、等のバイオ計測の広い分野で用いられている。この免疫反応は測定すべきバイオ物質（抗原）とこれに選択的に結合する検査試薬（抗体）との結合を測定し、抗原の種類と量を測定するものである。近年、微量な抗原-抗体の結合反応を高感度で高速に検出する要求が非常に高まっているが、従来用いられてきた光学的な手法ではこの要求を満たせなくなっている。

このため種々の検査装置の開発がなされているが、その中の一つに SQUID 磁気センサと磁気マーカーを用いた磁気的な免疫反応検出システムがある¹⁻⁹⁾。本稿では磁気的免疫検査法の原理とそのためのシステム開発の現状について述べる。磁気マーカーからの信号磁

界の測定法としては、磁化率¹⁻³⁾、磁気緩和⁴⁻⁷⁾、及び残留磁気^{8, 9)}を測定する方法がこれまでに開発されており、これらの測定法について紹介する。どの測定法を用いるかは磁気マーカーの磁気特性に大きく依存するため、磁気微粒子の特性について述べる。また、本システムを用いた免疫検査実験についても紹介する。本システムにより従来の光学的方法に比べて 10 倍以上高感度に免疫検査が可能であることが既に示されており、さらなる高感度化も可能である。本システムが実現すれば、バイオ分野における画期的な検査装置となることが期待できる。

2. 磁気的免疫反応検出法

Fig. 1(a) に磁気的手法による免疫反応の検出の模式図を示す。抗原が検出すべきバイオ物質であり、この抗原に選択的に結合する抗体を用いて、抗原と抗体を

結合させる。この際に抗体は磁気微粒子で標識されており、この抗体を磁気マーカーと呼ぶ。抗原と抗体の結合反応は、磁気マーカーからの磁気信号を用いて検出する。なお、従来の光学的手法では抗体を蛍光酵素などで標識し、光信号により結合の検出を行っている。

本方法においては、磁気信号の大きさは抗原に結合した磁気マーカーの量に比例するため、微量の反応を検出するためには微弱な磁気信号を測定しなければならない。SQUID は超高感度な磁気センサとして知られており、ピコテスラ以下の磁界まで検出できる。従って、SQUID を用いることにより極めて微量な反応の検出が期待できる。

Fig. 1(b) に測定システムの概略を示す。磁気微粒子（磁気マーカー）を磁化するためには外部から励起用の磁界 B_{ex} を印加している。この際、SQUID の性能を劣化しないように、磁界は SQUID に対して平行に印加される¹⁰⁾。この磁界により微粒子が磁化され、磁化信号の垂直成分を SQUID で信号磁束 Φ_s として検出する。なお、環境磁気雑音を除去するためには SQUID マグネトメータよりは SQUID グラディオメータの方が有効である。

測定システムは、励起磁界 B_{ex} の印加法と信号磁束 Φ_s の検出法の違いにより、Table 1 に示すような3つのタイプに分類される。

2.1 磁化率測定¹⁻³⁾

Fig. 1(b) で励起磁界 B_{ex} を用いて試料（磁気マーカー）を磁化する。なお、励起磁界としては直流磁界を用いる場合と 10 Hz 程度の交流磁界を用いる場合がある。磁化した試料は電動スライダにより移動され、試料が SQUID の真下を通過する時に試料の磁化を SQUID で検出する。SQUID の出力波形の例を Fig. 1(c) に示す。この磁気信号の振幅が試料内の磁気微粒子の量に比例することになる。なお、磁気信号は SQUID センサで検出した磁束 Φ_s で表している。これは、試料からの磁界が空間的に大きく変化するため、磁界よりは磁束で表した方が信号の大きさを正確に表せるためである。また、磁束の単位 $\Phi_0 = 2.07 \times 10^{-15} \text{ Wb}$ は磁束量子である。

この方法では、信号磁束 Φ_s の大きさは励起磁界 B_{ex} に比例するため、大きな信号を得るためには磁界 B_{ex} を大きくすることが重要である。ただし、磁界を大きくしすぎると SQUID 性能が劣化してしまうという問題がある。これは励起磁界と SQUID が完全には平行でないため、磁界の垂直成分が SQUID に鎖交するた

Fig. 1 Biological immunoassay utilizing a SQUID and magnetic marker. (a) Principle of magnetic immunoassay. (b) Schematic illustration of the measurement system. (c) Waveform of the detected signal when the sample is moved. Peak signal is obtained when the sample passes beneath the SQUID.

めである。

磁界の垂直成分により、SQUID の検出コイルには数 $\text{mA}/\mu\text{T}$ の周回電流が流れる。この周回電流が薄膜の臨界電流に比べて無視できない場合には、電流により磁束が薄膜内に侵入し、その結果 SQUID の低周波雑音が増加することが知られている¹¹⁾。従って、この問題

を避けるためには磁界の垂直成分を μT 以下に押さえる必要があり、垂直成分を補償するための補償磁界が一般に用いられている。

Fig. 2 に補償磁界を用いない場合と、用いた場合の SQUID の雑音出力を示す。Fig. 2(a) に示すように、補償磁界を用いない場合には SQUID に大きな雑音が発生する。これに対して、補償磁界を用いて垂直成分を 100 nT 以下に押さえた場合には Fig. 2(b) に示すように SQUID の雑音増加が防止されている。この補償磁界を用いることにより、 $B_{\text{ex}}=2\text{ mT}$ 程度まで磁界を印加することができる。なお、フラックスダムやジョセフソン素子を用いたスイッチを検出コイルに挿入することにより、垂直磁界による雑音増加を抑えることも可能である^{12,13)}。

2.2 磁気緩和⁴⁻⁷⁾

この方法では、Fig. 1(b) で試料を SQUID の下に固定し、 1 mT 程度のパルス磁界を印加する。このパルス磁界により磁気微粒子は磁化され、磁界印加後には微粒子に残留磁気が発生する。この残留磁気は、磁気微粒子のサイズが小さい場合には、熱雑音のため時間とともに減少する。この磁気緩和を測定し、緩和前と後の磁気信号の差から磁気微粒子の量を測定する。

磁気微粒子の磁化の緩和の様子は次式で与えられている¹⁴⁾。

$$\Phi(t) = \Phi_s \ln \left\{ 1 + \tau_{\text{mag}} / (t - t_0) \right\} \quad (1)$$

ここで、 τ_{mag} は励起用のパルス磁界が印加されている時間であり、通常 1 秒 程度である。また、 t_0 は実験と(1)式を合わせる際の調整パラメータである。なお、(1)式は励起用のパルス磁界が数 mT 以下と小さい場合にのみ有効なものであることを注意しておく。

(1)式で Φ_s が磁気微粒子の量に比例する磁気信号となる。この値は励起用のパルス磁界 B_{ex} の大きさにも比例するため、この場合も大きな磁界を用いることが有効である。現在、 1 mT 程度のパルス磁界が用いられているが、磁界をさらに増加するためには垂直成分の補償が重要である。

2.3 残留磁気^{8,9)}

磁気微粒子のサイズが大きくなると、微粒子の残留磁気は緩和しなくなる。このため、この場合には測定は上述の2つの方法に比べて簡単になる。すなわち、Fig. 1(b) において SQUID から離れた場所で磁気微粒子に $0.01\text{--}0.1\text{ T}$ 程度の大きな磁界を印加し、微粒子に残留磁気を生じさせる。この後、磁化した試料を電動

Table 1 Methods to detect magnetic nanoparticles.

Method	Excitation field	Requirement for particle	Ref.
susceptibility	dc or ac field (typ. 1 mT)	any particle	1-3
relaxation	pulse field (typ. 1 mT)	$KV/k_B T > 20$	4-7
remanence	outside the system (typ. 0.1 T)	$KV/k_B T > 25$	8, 9

Fig. 2 Noise of the SQUID system when the excitation field $B_{\text{ex}}=1\text{ mT}$ is applied. (a) Without and (b) with compensation field. Vertical component of B_{ex} is less than 100 nT in the case of (b). Output of the SQUID is shown as a function of time.

スライダにより移動し、磁気信号を測定する。この方法では測定時に SQUID に磁界が印加されないため、システムが簡単になるとともに、励起磁界の垂直成分の問題が無く低雑音化が容易である。ただし、現状では残留磁気を示す磁気マーカーがほとんど無いため、マーカーの開発が重要である。

なお、どの測定法を用いるかは使用する磁気微粒子の磁気特性に大きく依存する。また、微粒子の磁気特性はそのサイズに大きく依存するため、どのようなサイズの磁気微粒子を使うかによって測定法を選定する必要がある。Table 1 に測定法と微粒子の関係を示しているが、この点については4節で詳しく議論する。

3. SQUID 顕微鏡²⁾

Fig. 1(b) において、SQUID センサは高温超伝導体を

Fig. 3 Dependence of the magnetic signal Φ_s on the distance d between the SQUID and the sample. The distance should be less than 1 mm in order to avoid a decrease in the signal flux.

用いたものであり、センサを動作させるためには液体窒素温度に冷却しなければならない。一方、測定すべき試料は室温にあり、試料からの磁気信号は試料からの距離とともに急激に減少する。従って、試料からの信号を感度良く検出するためには、冷却された SQUID センサと室温の試料との距離 d を近接する必要がある。

Fig. 3 に 試料からの距離 d に対して信号磁束の大きさ Φ_s がどのように変化するかを計算した結果を示す。計算では試料のサイズを $3\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ とし、SQUID の検出コイルの大きさを $3\text{ mm} \times 6\text{ mm}$ とした。同図に示すように、距離 d の増加とともに信号磁束は減少する。ただし、距離が 1.5 mm 以下の場合には信号の大きさは距離に依存しなくなる。従って、試料からの信号を高感度に測定するためには、両者の距離を 1 mm 程度に近接できる、いわゆる SQUID 顕微鏡が必要になる。

Fig. 4 に試作したシステムの模式図を示す。SQUID は顕微鏡ヘッドにマウントされており、サファイアロッドを通して伝導冷却により液体窒素温度に冷却されている。また、顕微鏡ヘッドは厚さ 0.3 mm のサファイアウインドウを用いて真空断熱されており、室温の試料と SQUID の距離は 1.5 mm 程度である。環境磁気雑音をシールドするため、SQUID 顕微鏡は 2 重の円筒磁気シールド内に設置されており、磁気シールド率は $1/100$ 程度である。試料移動用の電動スライダはシールド外に設置しており、シールドにかけた窓から試料の出し入れを行っている。なお、電動スライダを含めた装置全体の大きさは $70\text{ cm} \times 50\text{ cm} \times 60\text{ cm}$ 程

Fig. 4 Schematic figure of the SQUID system for the immunoassay measurement.

度であり、コンパクトな仕様となっている。

本システムでは試料を電動スライダで移動し、この時の SQUID センサの出力波形を測定する。測定波形は **Fig. 1(c)** のようになり、試料が SQUID の真下を通過するときにピーク信号が得られる。このピーク値が試料からの磁気信号となる。なお、SQUID センサの出力は $1 \sim 20\text{ Hz}$ のバンドパスフィルターを通してゐる。また、試料の移動を 10 回行い測定波形の加算平均をとることによりシステム雑音を改善している。環境雑音と電動スライダの雑音を含んだシステム雑音は現状では $0.4\text{ m}\Phi_0$ であるが、さらなる低雑音化は可能である。

4. 磁気マーカー

抗原-抗体の結合反応を高感度に検出するためには、磁気マーカーから発生する磁気信号が大きいたことが望ましい。市販の磁気微粒子は抗原の磁気分離や精製のために開発されており、この場合にはいわゆる超常磁性を持たせるために、微粒子としては直径が 15 nm 程度の Fe_2O_3 が用いられている。しかしながら、この磁気微粒子を免疫検査に代用した場合には磁気信号が小さいという問題がある。従って、免疫検査用に最適化された磁気マーカーの開発が重要な課題となっている。以下に、微粒子の磁気緩和と粒子サイズの関係について述べ、この結果を基に我々が開発している免疫検査用磁気マーカーについて紹介する。

4.1 微粒子の磁気緩和

磁気微粒子の磁気特性は熱雑音の影響を強く受けることが知られている。これは粒子サイズが小さくなる

と粒子の磁気エネルギーが小さくなり、熱雑音のエネルギーが無視できなくなるためである。すなわち、一つの磁気微粒子に注目すると、ある方向を向いていた微粒子内の磁化 M が熱エネルギーによりその方向が時間的に変化し、いわゆる磁化回転が発生するようになる。この場合には最初の方の磁化成分は時間とともに $M(t)=M(0)\exp(-t/\tau)$ のように減少し、磁化の緩和現象が観測される。熱雑音による磁化の緩和時間 τ は以下のように与えられている^{15,16)}。

$$\tau = \tau_0 \exp(KV/k_B T) \quad (2)$$

ここで、 $\tau_0=10^{-9}$ s は特性時間、 K は磁化を特定の方向に保つための磁気異方性エネルギー、 $V=(\pi/6)d^3$ は微粒子の体積、 k_B はボルツマン定数、 T は絶対温度である。

(2)式に示すように緩和時間は粒子の体積 V に強く依存する。一例として、直径が $d=15$ nm の Fe_2O_3 を考えてみる。異方性エネルギーとして $K=13$ kJ/m³ を取ると、この場合の緩和時間は $\tau=2.6 \times 10^{-7}$ s となる。すなわち磁化は極めて短時間で緩和してしまう。この場合には磁気微粒子は常磁性体と同様な振る舞いを示すため、いわゆる超常磁性体と呼ばれている。これに対して、粒子の直径を $d=25$ nm とした場合には、緩和時間は $\tau=140$ s となる。この場合には磁化はかなりの時間にわたって緩和しないことになる。このように、微粒子の磁気緩和時間は粒子サイズに非常に強く依存することになる。

なお、実際の微粒子の集合体では粒子径に分布があることを注意しておく。このため、Fig. 5 に模式的に示すように、集合体内では規格化したエネルギー $KV/k_B T$ が分布することになる。上述したように緩和時間は規格化エネルギーに強く依存するため、粒子の集合体では種々の緩和時間が存在することになる。このため、粒子1個の磁気緩和と粒子の集合体としての磁気緩和には大きな相違が出てくる。粒子径に分布がある場合には、集合体としての緩和は(1)式で示されるような時間変化を示すことを注意しておく。

磁気緩和の観点から、2 節で述べた磁気微粒子の検出法について述べる。磁化率の測定においては、励起磁界を印加した状態で測定するため、磁気緩和の影響はほとんど受けない。従ってどのようなサイズの微粒子にも適用できる測定法である。また、粒子の直径が分布していても全ての微粒子から磁気信号が得られるため、粒子径の均一性に対する要求はそれほど強くない。

Fig. 5 Distribution of the magnetic energy in the assembly of magnetic nanoparticles. Distribution is caused by those of anisotropy constant K and volume V of the particle.

磁気緩和を用いる方法では、測定時間と同程度の緩和時間を持った粒子からの信号が測定される。測定時間を1秒とすると、(2)式から $KV/k_B T \sim 20$ を満たす粒子からのみ磁気信号が測定されることになる。すなわち、粒子径に分布がある場合には、Fig. 5 に模式的に示すように上述の条件を満足する一部の粒子からのみ信号が得られることになる。従って、この場合に大きな磁気信号を得るためには、粒子径の均一性に対する要求は厳しくなる。

残留磁気を用いる方法では、粒子の緩和時間が測定時間に比べて長いことが必要である。(2)式から $KV/k_B T > 25$ の場合には緩和時間は100秒以上になるため、この条件を満たす粒子を用いる必要がある。この場合も粒子径をそろえる必要があるが、Fig. 4 に示すようにかなりの粒子から信号が得られるため、均一性に対する要求は磁気緩和の場合ほど厳しくない。

4.2 残留磁気を示す磁気マーカー⁹⁾

現状では残留磁気を示すマーカーがほとんど無い。このため、残留磁気を有する磁気マーカーを新規に開発した。Fig. 6 に開発した磁気マーカーの模式図を示す。磁気微粒子としては直径が25 nm の Fe_3O_4 を用いており、この磁気微粒子を直径が80 nm の高分子で包みその表面にカルボキシル基 (COOH) を結合させている。抗体はカルボキシル基と結合し、磁気マーカーが形成されており、磁気マーカー1個当たり表面に20個の抗体が結合されている。この磁気マーカーに0.1 T の磁界を印加することにより、残留磁気を発生することができる。

なお、磁気マーカーとして使用する場合には、磁気

Fig. 6 Schematic illustration of the new marker that can keep remanence. An Fe_3O_4 particle with a diameter of 25 nm is used.

特性に加えて凝集や沈殿が発生しない等の、溶液中での分散性の良さも重要となる。今回開発した磁気マーカーはこの点も満足している。

5. 免疫検査実験

Fig. 7 に免疫検査実験の模式図を示す。実験の手順は以下の通りである。最初に基板に固定用の抗体を結合させる。この後に、抗原を固定用抗体と結合させる。最後に、磁気標識された検出用抗体（磁気マーカー）を抗原に結合させる。この状態では、溶液中には抗原と結合した磁気マーカーと未結合の磁気マーカーが共存している。

抗原と結合した磁気マーカーを検出する方法としては以下の2つの方法がある。一つは未結合の磁気マーカーを洗い流す方法である。この方法は光学マーカーの場合も用いられており、試料は乾燥した状態で測定される。他の方法は、未結合の磁気マーカーを洗い流さず、溶液の状態で測定する方法である。未結合の磁気マーカーは溶液中ではブラウン運動しているため、その磁化は時間的にランダムな方向を向くことになる。従って、未結合の磁気マーカーからの磁化のベクトル和はゼロとなり、全体としては磁気信号を発生しない。これに対して、抗原に結合した磁気マーカーは固定されているため、磁化は同じ方向を向いており全体として磁気信号を発生する。溶液中での免疫反応の検出は光学的手法では不可能であり、磁気的手法の大きな利点である。

磁気マーカーを用いた免疫検査実験はこれまで数例報告されている。これらについて紹介するとともに、我々の最近の結果について述べる。

5.1 磁化率測定^{1,2)}

抗原の磁気分離や精製用に開発された市販の磁気微粒子（MACS : Miltenyi Biotec, Germany）を用いた免疫

Fig. 7 Schematic illustration of the magnetic immunoassay. Magnetic signal from the marker that couples to the antigen is detected. The unbound markers were washed out or remained in the solution. Note that the unbound markers did not generate a magnetic signal as a sum due to random Brownian motion in the solution.

反応測定が行われている。この磁気微粒子はいわゆる超常磁性を示すため、励起用の直流磁界として $B_{ex}=0.8$ mT を印加している。抗原としては human interferon β と呼ばれるものを用いており、抗原-抗体の結合反応の後に、未結合の磁気マーカーを洗い流している。抗原の量と測定信号の間には良い比例関係が得られており、従来の光学的方法に比べて10倍高感度に免疫反応を検出している。

5.2 磁気緩和^{4,6)}

磁気微粒子としては直径が15 nmの Fe_3O_3 (Quantum Mangetics, U.S.A.) を用いており、 $B_{ex}=1$ mT 程度のパルス磁界印加直後から1秒後までの磁気緩和を測定している。測定は未結合の磁気マーカーが共存した溶液で行っており、 4×10^3 個の結合した磁気マーカーを検出している。従来の光学的方法では 10^5 個のマーカーしか検出できておらず、この結果は従来法に比べて数10倍高感度に検出が可能であることを示している。

なお、上述の2つの測定では磁気分離や精製用に開発された磁気微粒子を代用していることを注意しておく。免疫反応検出に磁気マーカーを最適化すれば、システム感度を1桁改善することは可能である。

5.3 残留磁気

4.2 節で示した残留磁気を示す磁気マーカーを用いた免疫実験について紹介する。Fig. 7 の模式図で抗原としては、ガンなどの診断の際に用いられる Interleukin 8 (IL8) と呼ばれる蛋白質を用いた。また、磁気標識された MAB208 を検出用抗体（磁気マーカー）として用いた。なお、結合反応が終了した後に未結合の磁気

Fig. 8 Waveform of the detected signal when the sample is Interleukin 8 (IL8) at a weight of 1 pg. The marker shown in Fig. 6 was used, and the remanent field of the marker was detected when the sample was moved.

マーカーは洗い流している。

この結合反応の後に、永久磁石により 0.1 T の磁界で磁気マーカーを磁化し、マーカーに残留磁気を発生させる。この後に、試料を Fig. 4 に示す装置にセットし、試料を移動し試料からの残留磁気を SQUID センサにより測定する。Fig. 8 に抗原 (IL8) の重さが 1 pg の時の、検出波形の例を示す。試料が SQUID の真下を通過するとき大きな磁気信号が得られている。図では信号の振幅として 10 mΦ₀ が得られており、この信号振幅が抗原と結合した磁気マーカーの量に比例することになる。

Fig. 9 に抗原 (IL8) の重さを変化したときの、重さと磁気信号Φ_sの関係を示す。抗原の重さは 0.1 pg から 150 pg まで変化させており、この範囲で両者には良い相関関係が得られている。なお、磁束信号Φ_sは抗原の重さ w に対して $w^{0.65}$ で増加しており、完全な比例関係にはならない。同様の依存性は文献 8 でも報告されている。この依存性の原因としては磁気微粒子間の磁氣的相互作用が考えられるが、現時点では不明である。

Fig. 9 に示すように、本実験では 0.1 pg までの抗原 (IL8) が検出できている。IL8 の分子量は 10,000 であるため 0.1 pg は 10 amol に相当する。なお、本システムでは 0.4 mΦ₀ までの磁束信号の検出が可能である。Fig. 9 の結果を外挿すると、本システムにより 0.01 pg (1 amol) までの抗原の検出が期待できる。Fig. 9 の中の○印は、正常人の血清 200 μl 中に含まれる IL8 の量を、本システムにより測定した結果である。この場合には血清中に 1.5 pg の IL8 が含まれていることが分かる。この値は正常人としては妥当な値であり、この結

Fig. 9 Relationship between the weight of IL8 w and the detected signal Φ_s . The system can detect IL8 at a weight of 0.1 pg. The open circle shows the signal when IL8 present in the serum of a healthy human is detected.

果は、本システムの妥当性を示している。

なお、残留磁気を用いて溶液中で免疫反応を検出した報告もなされている¹⁷⁾。比較的大きな磁気マーカー (高分子径 140 nm) を用いて、IL-6 と呼ばれる抗原を検出しており、40 amol の IL-6 を検出している。この測定感度は従来の光学的方法に比べて 100 倍程度高感度であるとのことであるが、詳細については不明である。

6. まとめ

磁気ナノ粒子と SQUID センサを用いた免疫検査システムについて述べた。SQUID センサの高感度性を利用することにより、従来不可能であった極微量なバイオ物質の検出が期待できる。本システムの性能を改善するための、SQUID 磁気顕微鏡、診断用磁気マーカー、及び磁気信号の測定法について、開発の現状と問題点を述べた。特に、診断用磁気マーカーの開発が遅れており、今後の重要な課題である。

これまでの実験により、本システムは従来の光学的方法に比べて 10 倍以上高感度に免疫反応の検出が可能であることが示されている。我々の実験においても、0.1 pg までの抗原 (IL8) が検出できており、0.01 pg までの抗原 (IL8) の検出も期待できる。これが実現できれば、従来に比べて 100 倍以上高感度となり、バイオ免疫検査分野における画期的な装置となることが期待される。

参 考 文 献

- 1) K. Enpuku, T. Minotani, T. Gima, Y. Kuroki, Y. Itoh, M. Yamashita, Y. Katakura and S. Kuhara: Jpn. J. Appl. Phys. **38** (1999) L1102
- 2) K. Enpuku, T. Minotani, M. Hotta and A. Nakahodo: IEEE Trans. Appl. Supercond. **11** (2001) 661
- 3) S. Tanaka, A. Hirata, Y. Saito, T. Mizoguchi, Y. Tamaki, I. Sakita and M. Monden: IEEE Trans. Appl. Supercond. **11** (2001) 665
- 4) Y.R. Chemla, H.L. Grossman, Y. Poon, R. McDermott, R. Stevens, M.D. Alper and J. Clarke: Proc. National Acad. Sciences of U. S. A. **97** (2000) 14268
- 5) R. Kotitz, W. Weitschies, L. Trahms, W. Brewer and W. Semmler: J. Magn. Magn. Mat. **194** (1999) 62
- 6) A. Haller, H. Matz, S. Hartwig, T. Kerberger, H. Atzpadin and L. Trahms: IEEE Trans. Appl. Supercond. **11** (2001) 1371
- 7) Seung Kyun Lee, W.R. Myers, H.L. Grossman, H.-M. Cho, Y.R. Chemla and J. Clarke: Appl. Phys. Lett. **81** (2002) 3094
- 8) R. Kotitz, H. Matz, L. Trahms, H. Koch, W. Weitschies, T. Rheinlander, W. Semmler and T. Bunte: IEEE Trans. Appl. Supercond. **7** (1997) 3678
- 9) K. Enpuku, D. Kuroda, T.Q. Yang and K. Yoshinaga: IEEE Trans. Appl. Supercond. **13** (2003) 371
- 10) S. Kumar, R. Matthews, S.G. Haupt, D.K. Lathrop, M. Takigawa, J.R. Rozen, S.L. Brown and R.H. Koch: Appl. Phys. Lett. **70** (1997) 1037
- 11) F.P. Milliken, S.L. Brown and R.H. Koch: Appl. Phys. Lett. **71** (1997) 1857
- 12) R.H. Koch, J.Z. Sun, V. Foglietti and W.J. Gallagher: Appl. Phys. Lett. **67** (1995) 709
- 13) K. Enpuku, D. Kuroda, D. Tokomizu and T.Q. Yang: J. Appl. Phys. **92** (2002) 4751
- 14) D.V. Erkov and R. Kotitz: J. Phys. Condens. Matter **8** (1996) 1257
- 15) 新井敏弘 : 日本応用磁気学会誌 **26** (2002) 51
- 16) J.L. Dormann, D. Fiorami and E. Tronc: Advance in Chemical Physics (ed. I. Prigogine and S.A. Rice), Vol. 98, Wiley, New York (1997) 283
- 17) M.S. Dilorio, et al: Applied Superconductivity Conference (Houston), paper no.1EL01 (2002)