

論文内容要旨 (和文)

平成 30年度入学 大学院博士後期課程

有機材料システム専攻

氏 名 佐々木 開



論文題目 Development of Bio-Organic Composite Membranes for Biomarker Sensing Devices
(バイオマーカー検出デバイスのための生体・有機分子複合膜の創成)

近年、生活空間や生産現場でオンサイト測定可能な小型の化学センサーデバイスの開発が望まれている。動植物の生命活動や代謝によって体液中や生体ガス中に現れる化学物質のうち生体の状況を反映する物質はバイオマーカーと呼ばれ、医療分野や農業分野で検出が求められている。例えば、ポイントオブケア検査(PoCT)によるセルフ健康管理や、代謝モニタリングによる高品質な農作物生産が期待される。また、情報通信技術を活用し現場の化学物質情報をデータベース化することができれば、病気の原因・治療法の探索や地域の農業生産能力の予測に役立てることができる。従来の化学物質検出手法である高速液体クロマトグラフィー(HPLC)やガスクロマトグラフィー(GC)は大型な装置であったため、現場で取得したサンプルを特定の施設に輸送し測定する必要があり、変質しやすい代謝産物や日々検出が求められる疾病マーカーの測定は困難であった。化学センサーとして特定のバイオマーカーを検知できる高選択な分子認識素子(レセプター)と、オンサイト測定に向けた小型な信号変換素子(トランスデューサー)が求められている。本論文では、気相液相中のバイオマーカー検出に向けた小型なトランスデューサーとして、電気化学センサーおよび水晶振動子微量天秤(QCM)センサーに着目した。気相もしくは液相中のバイオマーカーに対する選択的なレセプター材料として生体由来である酵素およびシクロデキストリンに注目し、検出デバイスに応じて有機材料と融合させたセンシング表面の設計および開発を行い、情報化社会に実装することのできる化学センサーについて議論することを目的とした。

本論文は下記の5章より構成されており、その内容は以下の通りである。

第1章では、研究背景と本論文の目的に関して、化学センサーの社会的意義と学術的背景、および研究コンセプトについて述べた。

第2章では、液相中のバイオマーカーのモデルとして肝疾患の血液バイオマーカーであるアンモニアに注目した。センサーとして、薄いプラスチック基板に印刷された電極上に酵素と有機分子ベースの複合膜を組み合わせた電気化学センサーを構築した。センシング表面は、L-グルタミン酸脱水素酵素(LGDH)およびL-グルタミン酸酸化酵素(LGOX)を含む混合膜をプルシアンブルー電極上に薄膜として固定化することで調製した。この2つの酵素は、アンモニアに反応してカスケード反応で過酸化水素を生成する。また生じた過酸化水素がプルシアンブルー電極に含まれる2価の鉄イオンを酸化することで電位差を生じる。調製した電極を電位差測定に供したところ従来のアンモニア検出手法と比較して高い選択性と低い検出限界を示すことを明らかにした。また、酵素反応により過酸化水素を電荷の蓄積として検出することで、従来の主な電気化学測定手法である電流測定よりも非常に高感度であることを述べた。疾患バイオマーカー検出に求められるセンサー性能を印刷電極センサーで実現できることを明らかにした。

第3章では、第2章で開発した酵素膜の構造を任意にデザインすることで、電気化学センサーの応答性に与

える影響について検討した。2つの酵素の位置関係に関わる膜構造の相違はセンサーの応答性に影響を与えることを明らかにした。また酵素膜構造を酵素反応経路に沿った積層構造にすることで、酵素間での中間体の変換効率が改善され、さらに低い検出限界を達成することに成功した。

第4章では、気相中のバイオマーカーのモデルとして果実の熟成度に関する匂い成分である酢酸エチルとリモネンの検出を試みた。匂い分子レセプターとして糖の数に応じて異なる空洞径を有する環状オリゴ糖分子である α -、 β -、および γ -シクロデキストリンを用い、質量変化に敏感なQCMセンサー上に有機分子である架橋剤によりネットワーク形状で官能膜として固定化した。気相中の匂い分子は架橋された多数のシクロデキストリンに包接されることでQCMセンサーの大きな質量変化として検出できた。センサーの応答性はシクロデキストリンの空洞サイズに依存していることを明らかにした。各シクロデキストリン膜の応答パターンを比較することにより、分子サイズによる匂い分子のパターンセンシングについて議論した。

第5章では、本研究により得られた結果をまとめ、総括した。

本論文では、ヘルスケアおよび農業分野応用を想定した気相および液相中のバイオマーカーを検出するためのセンシング表面の設計および開発をトランスデューサー特性を考慮して行なった。調製されたセンシング表面は、モデルバイオマーカーであるアンモニアおよび匂い分子を選択的な検出可能であった。トランスデューサーである電気化学センサーおよびQCMセンサーは、ポケットに入れられるほどのサイズが実現でき、調製したセンサーチップのサイズは厚さ数mm程度の板状で切手よりも小さいサイズのもので十分であることを明らかにした。小型化学センサーは情報化社会で化学情報を収集するためのツールとして十分な可能性があると結論づけた。

論文内容要旨（英文）

平成 30年度入学 大学院博士後期課程

有機材料システム専攻 氏 名 Kai Sasaki



論文題目 Development of Bio-Organic Composite Membranes for Biomarker Sensing Devices

In recent years, development of a pocketable chemical sensor, which can measure chemical substances on-site for healthcare and agriculture, is desired. A biomarker is a chemical substance that reflects biological condition because of relation to a vital activities and metabolism in interstitial fluids and biogas of animals and plants. A chemical sensor to detect biomarkers is expected for applications to self-health management by point-of-care testing (PoCT) and high-quality agricultural production by metabolic monitoring. In addition, the pocketable chemical sensor combined with IoT technology is useful for building-up of a chemical substance database, which can be applied to exploration of therapeutic approach and prediction of agricultural production capacity. Previously, high-performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography (GC) have been used as conventional methods for chemical substance detection. These methods require sample transportation to and the measurement in laboratories, which were difficult to measure unstable and degradable biomarkers. Therefore, the chemical sensors for on-site measurements require a highly selective molecular recognition element (receptor) and a small signal transduction element (transducer). In this thesis, an electrochemical sensor and a quartz-crystal microbalance (QCM) sensor were adopted as a small transducer for detection of biomarkers in a gaseous phase and liquid phase. Furthermore, enzymes and cyclodextrins as a biomolecule were functionalized by compositing with organic materials as selective receptor membranes to capture biomarkers. It was revealed that sensing surfaces optimized for each chemical sensor, which had a postage stamp-sized sensor chip, were able to detect biomarkers in gaseous phase and liquid phase with sufficient sensitivity for practical use.

学位論文の審査及び最終試験の結果の要旨

令和 3 年 2 月 1 0 日

有機材料システム研究科長 殿

課程博士論文審査委員会

主査 時任 静士 印
副査 森 秀晴 印
副査 東原 知哉 印
副査 古澤 宏幸 印
副査 印

学位論文の審査及び最終試験の結果を下記のとおり報告します。

記

論文申請者	有機材料システム専攻 氏名 佐々木 開		
論文題目	Development of Bio-Organic Composite Membranes for Biomarker Sensing Devices (バイオマーカー検出デバイスのための生体-有機分子複合膜の創成)		
学位論文審査結果	合格	論文審査年月日	令和3年1月22日～ 令和3年2月5日
論文公聴会	令和3年2月5日	場 所	工学部10号館4階 会議室
最終試験結果	合格	最終試験年月日	令和3年2月5日
学位論文の審査結果の要旨 (1,000字程度)			
本論文は、身の周りに存在する化学分子や生体の状態を反映するバイオマーカーをその場で選択的に検出するための小型デバイス作製に向けたセンシング膜の開発に関して記述され、生体-有機分子複合材料を用いた膜調製およびその機能評価について議論されたものであり、以下の計5章から構成されている。 第1章では、研究背景と本論文の目的、および各章の概要について記載され、センシング小型デバイスの現状について俯瞰的に述べた後に化学分子センサーの重要性および課題について述べられている。 第2章では、肝疾患の血中バイオマーカーであるアンモニア分子を電気化学的な計測手法に基づいて選択的に高感度検出を可能とする酵素-有機分子ベースの複合膜の調製法および検出能評価について記述され、ポテンシオメトリー法と組み合わせた二酵素-キトサン複合膜が血中アンモニア濃度域で測定可能な高感度性能を達成したことが述べられている。 第3章では、第2章で開発された二酵素膜内における2つの酵素の位置関係とセンサー応答性能との関係性についての考察が記述されており、二酵素膜構造を反応経路に準じた積層構造とした場合は中間体の移送に優れ最も応答効率が良いことを明らかにし、最適な複合膜の作製方法論について述べられている。 第4章では、気相中の化学分子として果実の成熟度の分子マーカーとなる酪酸エチルとリモネンの検出について記述され、サイズの異なる3つの環状オリゴ糖分子の有機複合膜を質量センサーに塗布することでこれらの気化分子を応答パターンによって識別可能であることが述べられている。 第5章では、研究全体を総括し、選択的かつ小型の化学分子センサーの実現可能性について記載されている。 以上、本論文は、新しい生体-有機分子複合膜の創成という観点、およびその機構解明に取り組んだ学術的探求という観点から、新規性・独自性があり博士(工学)の学位を授与するのに十分であると判断された。学位論文の記載内容、構成、体裁、論理性は適切で明確な結論が述べられていた。また、本研究成果は学術論文(3報掲載済み)に基づいてまとめられており、当該専攻の審査基準を満たしている。これらを総合的に判断し、研究成果および研究内容ともに工学的貢献が十分に認められたために合格と判定した。なお、本論文は、研究倫理又は利益相反等に係る学内規則に基づく手続きは必要ありません。			
最終試験の結果の要旨			
最終試験は、学位論文の内容に関する約50分間の口頭発表および約30分間の口頭試問により実施した。発表では、研究背景に続いて課題と目的について述べられた後、詳細な研究内容についての説明がなされた。口頭試問では、複合薄膜作製の方法、界面および表面の状態、密着性の問題、材料の安定性や特性、さらには実用性に関する質問があった。これらに対し、申請者は適切かつ具体的に回答した。以上より、博士(工学)の学位を授与するのに十分な知識と能力を有していると判断し、最終試験の結果を合格と判定した。			