

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12060

研究課題名(和文) 無臭ガスの情報コード化と知覚画像化(無臭ガス用カメラ)

研究課題名(英文) Odorless chemical code and imaging (Camera for odorless volatiles)

研究代表者

三林 浩二 (MITSUBAYASHI, Kohji)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：40307236

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：無臭ガスの情報化を目指し、無臭ガス成分である過酸化水素、乳酸、コリンについて、各酸化還元酵素を利用したガスセンサを開発した。3種のガスセンサは互いにクロストークすることなく、過酸化水素、乳酸、コリンの選択的なガス計測が可能で、インクジェットプリンタにより印刷した3成分のガス情報コード(3ビット、8パターン)の認識に成功し、過酸化水素ガスの可視化も実現し、新規な情報システムの可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：In order to develop a novel odorless code system, several biochemical gas sensors for hydrogen peroxide, lactate and choline were developed using each redox enzyme, respectively. As the results, the sensors allowed to individually recognize the odorless volatiles (3 bit code: 8 patterns) printed by an ink-jet printer without any chemical cross-talk and to image hydrogen peroxide in the gas phase, thus showing the possibility of the novel chemical code system.

研究分野：生体情報学

キーワード：無臭ガス 情報コード 画像化 酵素

1. 研究開始当初の背景

近年、半導体型ガスセンサ(東工大・中本ら)や QCM 素子(産総研・野田ら)を使った人工嗅覚が盛んに研究され、また生物の嗅覚レセプターを利用した匂いセンサ(東大・神埼ら)も、精力的に研究されている。一方、画像や音声などの物理情報は高度化・デジタル化され、「紙幣の透かし」や「バーコード」、「顔識別」など認証が可能な情報コードへと発展している。しかし、匂いなどの揮発性化学成分では、情報コードや認証に利用しうるレベルに達していない。

一方、研究代表者らは薬物代謝酵素や抗体などの生体認識素子を利用し、ガス成分に特異的(選択的)な生化学式ガスセンサ(バイオスニファ)を多数開発し、疾病臭や VOC(揮発性有機化合物)などのガス(匂い)の情報化研究を進めてきた(Biosensors and Bioelectronics 26 (2010) 854-858)。このガスセンサで用いるバイオセンシングの技術では、血液や尿などのように多様な化学成分(イオン、タンパク質、脂質、血球、核酸)が含まれる体液においても、対象成分を特異的に検出することができる。つまり研究代表者らが開発したガスセンサも同様に、気体中に存在する他の成分の影響(クロストーク)を受けることなく、対象ガス成分だけを検知できる。つまり既存のセンサとは異なり、ガス成分を極めて高度な情報として捉えることができる。

加えて、このガスセンサでは人の嗅覚機能に基づかず、ガス成分を測定することから、人では知覚できない無臭ガスについても、酵素を選定しセンシング(知覚化、情報化)することができる。例えば、3種類の無臭ガスを印刷した無臭情報コードを作り、それぞれを検知できる生化学式ガスセンサを3種作製することで、ガスの有無だけを検知するとしても、3ビット(8パターン)の化学情報コードシステムが構築できる。そして無臭ガス成分が無臭で印刷できれば、その存在さえも気づかれない秘匿性に優れた情報コードを確立できる。さらに無臭ガスを生化学手法にて発光や蛍光へと変換し、高感度カメラで撮像することで、無知覚な情報である無臭ガスを知覚画像化(可視化、情報化)することが可能となり、「新たな情報化社会」を創生できるものと考えられる。

2. 研究の目的

研究代表者らはこれまでに、肝臓の薬物代謝酵素等を用い、匂い成分を高感度に測定する生化学式ガスセンサを開発した。そして疾病臭や有害な VOC を sub-ppb レベル(100 億分の一)で、特異的に連続計測することに成功した。このセンサ原理は、嗅覚の機能に基づかないことから、人が知覚できない無臭ガスも計測可能で、印刷技術を融合することで「無臭の透かし」のような新規な情報コードシステムを構築できると想起した。そこで

本課題では「無色・無臭の化学成分」と「その成分を認識する酵素」を実験にて検討し、次に高感度な光計測へと展開する。そして産業用インクジェットプリンタを用い、無臭ガス成分での情報コード印刷を進め、その光スキャニングを検討する。さらに無臭ガスを、生化学的に発光や蛍光へと誘導し、高感度カメラで撮影することで、知覚画像化する。つまり本課題では、無臭ガスを使った秘匿性の高い、化学的な情報コードシステムを構築すると共に、人では知覚できない無臭ガスを知覚化することで「新たな情報化社会」を創生することを目的とする。

3. 研究の方法

初年度では、無臭成分バイオ測定について、無臭ガス成分について分析装置を用いて、認識酵素の選出を早期に実施し、また複数の無臭成分について無臭ガスの光ファイバ計測を始めた。

ガス成分の中には人の嗅覚では認識できないものの、生体触媒である酵素を利用することで、認識できる無臭成分がある。例えば乳酸やコリン、過酸化水素、ウルソル酸、バルプロ酸、安息香酸などは人の嗅覚で認識できず、知覚することができない。しかし、体内や生物にはこれら成分を特異的に認識する酵素がある。本課題ではまず乳酸やコリン、過酸化水素の3種の揮発性を有する成分について、それぞれを触媒する酵素として、乳酸酸化酵素(LOD)、コリン酸化酵素(COD)、カタラーゼ(catalase)について、そのセンシング利用が可能か検討した。LOD と COD は酸素を電子受容体として、「乳酸」と「コリン」を酸化することで、ピルビン酸とベタインをそれぞれ生成する。この酸素濃度の減少を酸素分析装置で測定することで、乳酸とコリンの検出が可能かを調べることにした。一方、カタラーゼは「過酸化水素」を基質として、水と酸素を生成することから、酸素濃度の増加を酸素分析装置で測定することで、過酸化水素の検出の可能性を評価することとした。また乳酸やコリンでは各酸化酵素での酸素消費を検知し、過酸化水素では酵素反応での酸素産生をセンサにて検出することで、無臭ガス成分である乳酸やコリン、過酸化水素を特異的に光学測定した。

なお酵素を光ファイバ感応部に固定化する必要があり、研究代表者らがこれまで高分子材料として光架橋性樹脂を、また担持膜として透析膜を利用してきた。しかし、本課題での蛍光計測においては、これら材料自身の自家蛍光が高感度計測においてノイズを発生する要因となる。そこで担持膜としては、蛍光特性が少ない H-PTFE 膜を選択し、包括固定化用の高分子材料(MPC-co-EMHA)は独自に合成・改良した。このポリマーの基材である MPC は酵素固定化に優れた生体適合性材料で、細胞膜と同様な両親媒性の高分子材料で、自家蛍光が少ない光学特性を有しており、開

発する蛍光計測センサでの酵素包括固定化に適した材料である。そこで MPC モノマーをベースに疎水性 EHMA モノマーを加えて、ラジカル重合を行い、透析分離と乾燥工程を経てポリマーを合成することとした。この MPC-co-EMHA で酵素触媒を H-PTFE 膜に包括固定化し、その酵素膜を光ファイバの感応部に装着して、無臭ガス用センサとした。

次年度には前年度の結果を踏まえ、複数の無臭成分での無臭ガスの光ファイバ計測を実証すると共に、ガス成分用インクジェットプリンタを導入し、複数の無臭成分にて無臭情報コード印刷を行った。

センサシステムでは、MPC-co-EMHA にて固定化した酵素膜を先端感応部に装着して用いた。しかしながら、そのままでは感応部に無臭ガス成分（乳酸、コリン、過酸化水素）やその代謝産物が蓄積して、光学出力値の初期値へのシグナル復帰機能が得られない。そこで自作の洗浄システムを光ファイバ先端に取り付け、無臭成分の連続的な計測を可能とすることとした。実験では、導入した光学センサの最適化を実施し、無臭ガス成分の高感度計測を個別に行い、無臭ガスの光ファイバ計測を実証した。

また無臭情報コードを媒体に印刷するためにインクジェットプリンタを導入し、無臭ガス成分の印刷を実施した。対象成分は揮発性を有することから非加熱型のプリンタが必要で、加えて長期保存可能な無臭コードとするため無臭ガス成分を樹脂と混合したジェルを印刷できること、また複数の成分を印刷できること、PC で印刷を制御できることなどの諸条件を考慮して選定を行った。印刷実験については溶液濃度と揮発ガス濃度の関係や、揮発ガス成分の保持時間、媒体の選択を検討するほか、成分の独立したパターンと成分を混合したパターンでの影響などについて評価を実施した。

最終年度では、無臭ガスの光ファイバ計測にて、無臭コード印刷したガス情報コードの認識（スキニング）を確認し、無臭ガスの知覚画像化（可視化）を試みた。実験では、構築した無臭ガス（乳酸、コリン、過酸化水素）の光ファイバ型ガスセンサを利用し、インクジェットプリンタで印刷作製した無臭情報コードについて、ガス情報コードの認識（スキニング）を実施した。また3種の無臭ガスを検出できるように、3種の無臭ガスを検出できる酵素センサを準備した。そして予め、3種の無臭ガスを印刷した媒体8パターン（3ビット）を用意し実験を行った。

続いて、無臭ガスの知覚画像化として、高感度 CCD カメラを導入して、無臭ガスによる発光を動画撮影して、知覚化を実施した。

4. 研究成果

初年度には無臭成分バイオ測定について、無臭情報コードのための無臭ガス成分につ

いて、認識酵素の選出を実施した。本課題ではまず乳酸、過酸化水素の2種の揮発性を有する成分について、それぞれを触媒する酵素として、乳酸酸化酵素（LOD）とカタラーゼ（catalase）について、そのセンシング利用が可能か検討した。LOD は酸素を電子受容体として、「乳酸」を酸化することで、ピルビン酸をそれぞれ生成する。この酸素濃度の減少を酸素分析装置で測定したところ、無色無臭成分である乳酸の検出が可能であった。一方、カタラーゼは「過酸化水素」を基質として、水と酸素を生成することから、酸素濃度の増加を酸素分析装置で測定した結果、カタラーゼにて無臭の過酸化水素の検出が可能であることがわかった。

次に、他の無臭成分（コリンなど）及び酵素の選択を実施し、混合ガスでの相互作用を調べると共に、インクジェットプリンタを導入し、複数の無臭成分にて無臭情報コードの印刷を行った。初年度に無臭ガス成分である乳酸と乳酸酸化酵素の組み合わせ、また過酸化水素とカタラーゼの組み合わせを確認しており、同様な手法にて無臭成分であるコリンについて、コリン酸化酵素を利用した無臭ガス計測の可能性を調べた。また無臭ガスのコード化では、互いのガス成分が他のセンサに影響をしないことが重要である。各酵素はその立体構造で基質成分を構造認識することから、高い基質特異性が有するが、基質以外の成分が影響を示すかを実際の無臭ガス（複数種）とガスセンサ（複数種）を用いたところ、互いにクロストークをしないことを確認した。また、無臭情報コードを媒体に印刷するためにインクジェットプリンタにて、無臭ガス成分の印刷を実施した。実験では、複数の無臭ガス成分の溶液を対象にカートリッジ内に装填して、PC 制御を行うことで、無臭ガスコードの印刷が可能であった。

最終年度ではこれまでの結果をもとに、複数の無臭ガス（乳酸、コリン、過酸化水素）のセンサを構築し、インクジェットプリンタで印刷作製した無臭情報コードについて、ガス情報コードの認識を実施した。実験では、3種の無臭ガスを検出できるように、センサプローブを複数購入し、3種の無臭ガスを検出できる酵素センサをそれぞれ準備した。そして予め、3種の無臭ガスを印刷した紙片（8パターン）を作製し十分に気化させ、ガス検知を実施した。実験の結果、3種の無臭ガスを選択的に検知し、それぞれがクロストークすることなく、8パターン（3ビット）を読み取ることができた。

また無臭ガスの知覚画像化として、無臭成分である過酸化水素をペルオキシダーゼの触媒反応にてルミノール発光を発生させ、高感度 CCD カメラを用いて撮影した。実験では、酵素メッシュをルミノール溶液に浸漬した後に、高感度カメラの前面に設置し、過酸化水素のミストおよびガスに負荷したところ、発光現象を撮像し、無臭ガスの可視化が

可能であった。しかしながら、乳酸とコリンについてはガス濃度が低く、可視化には至らなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

三林浩二、非侵襲・無拘束生体計測のためのキャピタス(窩腔)バイオセンサと生体ガス用バイোসニファ、日本分析化学会第66年会：シンポジウム7「センサ IoT と分析化学の融合展開」(招待講演) 2017年

ナセデン ムニラ、佐藤 敏征、飯谷 健太、當麻 浩司、荒川 貴博、三林 浩二、アルコール代謝評価を目的とした蛍光法を用いた呼気用探嗅カメラ、第77回応用物理学会秋季学術講演会、2016年

飯谷 健太、佐藤 敏征、岸川知里、當麻 浩司、荒川貴博、三林浩二、エタノールガス可視化計測のためのバイオ蛍光式探嗅カメラ、第59回化学センサ研究発表会、2015年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.tmd.ac.jp/i-mde/www/inst/inst-j.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

三林 浩二 (MITSUBAYASHI, Kohji)
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授
研究者番号：40307236

(2)研究分担者

無し

(3)連携研究者

荒川 貴博 (ARAKAWA, Takahiro)
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・講師
研究者番号：50409637

當麻浩司 (TOMA, Koji)
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・助教

研究者番号：40732269

(4)研究協力者

無し