

令和 4 年 6 月 29 日現在

機関番号：32410

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06605

研究課題名（和文）リガンド安定化酵素を固定化した炭素繊維を用いる自己駆動式ウェアラブルバイオセンサ

研究課題名（英文）Wearable self-powered biosensors using stabilized enzyme-immobilized carbon-felt.

研究代表者

長谷部 靖（Hasebe, Yasushi）

埼玉工業大学・工学部・教授

研究者番号：20212144

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：汗に含まれる代謝物（乳酸およびブドウ糖）を非侵襲的かつ連続的に日常生活の中で測定できるウェアラブル（身体装着型）バイオセンサの開発を目的とした。柔軟性が高く・軽量で高い導電性を持つ炭素繊維（カーボンフェルト：CF）に、乳酸酸化酵素（乳酸オキシダーゼ）、ブドウ糖脱水素酵素（グルコースデヒドロゲナーゼ）、ビリルビン酸化酵素を固定化し、これらをアノードおよびカソードとするバイオ電池を作製して基本性能を評価した。さらにこの発電量を指標として乳酸やブドウ糖の量を測定する自己発電型バイオセンサを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

身体装着型（ウェアラブル）デバイスに関する研究がデジタルヘルスケアの観点から注目されており、心拍数や呼吸量、運動量、カロリー消費量などの生体情報を計測する到着型の生体物理情報計測デバイスが開発・実用化されている。汗、涙、唾液などの生体サンプル中の代謝物を、酵素反応などの生化学的手法に基づいて計測するウェアラブルバイオセンサは、身に着けるだけで日常生活における体調・健康状態を「見える化」することができ、健康維持・健康管理・病気の予防にとどまらず、将来起こりやすい病気を疾患の発症前に診断・予測し介入する先制医療を実現するための次世代ヘルスケア機器として期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to develop wearable biosensors that detect metabolites (lactic acid and glucose) in sweat non-invasively and continuously in daily life. Lactate oxidase (LOD), glucose dehydrogenase (GDH) and bilirubin oxidase (BOD) were immobilized on carbon felt (CF). Enzymatic biofuel cells were fabricated using LOD-CF and GDH-CF (bioanode) and BOD-CF (biocathode)., and their the basic performances were evaluated. Based on the relationship between glucose and lactate concentration and power density, the self-powered glucose and lactate biosensors were developed.

研究分野：電気化学分析、酵素機能電極、バイオセンサ

キーワード：ブドウ糖 乳酸 酵素型バイオ電池 身体装着型バイオセンサ

### 1. 研究開始当初の背景

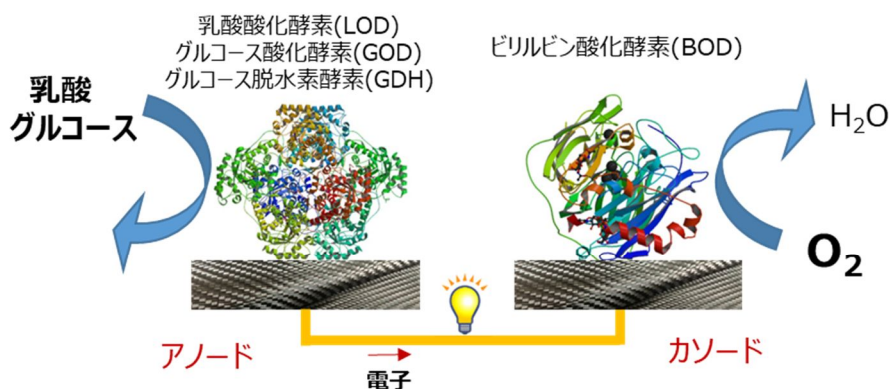
高齢化社会が進むと同時に、生活習慣病の発症リスクも高まっている今日、自分の健康を自身で管理するセルフケアの重要性が増している。こうした中、個々人の1日の行動や生体情報などを日常的に継続して記録し続ける携帯型・装着型の計測器が注目されている。中でも、汗、涙、唾液など、非侵襲で採取が容易な生体サンプル中の疾病マーカーを日常生活の中で継続的に分析する身体装着型バイオセンサ(ウェアラブルバイオセンサ)の開発・実用化が期待されている。

### 2. 研究の目的

本研究では、汗に含まれる代謝物(乳酸、グルコース)を非侵襲的かつ連続的に測定する自己駆動式のウェアラブルバイオセンサの開発を目的とした。本センサは、酵素型バイオ燃料電池の原理に基づき、アノードに固定化する酵素の燃料となる基質(乳酸・グルコース)濃度と発電量(センサ出力)の相関関係をセンシングに応用するため、外部電源が不要であり小型化が容易であるという特徴がある。

### 3. 研究の方法

柔軟性が高く・軽量で高い導電性を持つ炭素繊維(カーボンフェルト:CF)に乳酸酸化酵素(LOD)、グルコース酸化酵素(GOD)、グルコース脱水素酵素(GDH)、ビリルビン酸化酵素(BOD)を、本研究室で見出した手法により固定化した。これらの酵素固定化CFの電解触媒活性をサイクリックボルタンメトリー(CV)により評価し、より大きな発電量、起電力を得るための諸条件を最適化した。これらのバイオ機能電極(バイオアノード・バイオカソード)を用いた自己駆動式のバイオセンサを設計し、乳酸およびグルコース濃度と発電量の相関関係を利用する自己駆動式のバイオセンサを開発した。



**【測定原理】** 汗や体液の健康指標分子の量に依存して、発電量が変化  
自己駆動式 → 電源不要・小型化

#### 4. 研究成果

電池式センサのバイオアノードに利用する 3 種の酵素 (LOD、GOD、GDH)、およびバイオカソードに利用する酵素 (BOD) を安定に CF に固定化する方法を見出すことができた。当初予定していなかった耐熱性グルコースデヒドロゲナーゼ (tGDH) を用いるバイオアノードや、GOD や LOD とペルオキシダーゼ (POD) を組み合わせた 2 種酵素同時固定化バイオカソードの作製にも成功した。これらの酵素を固定化した CF の電解触媒活性を評価し、良好な触媒電流応答を得るための電子メディエーター固定化条件、作動 pH、温度などを最適化した。

LOD、GDH 固定化 CF をバイオアノード、BOD 固定化 CF (または LOD-POD 固定化 CF) をバイオカソードとする酵素型バイオ電池を構築して、電池性能 (最大出力、最大電流密度、安定性など) を評価した。

図 1 に電池式グルコースセンサ (GDH アノード、BOD カソード) の分極曲線と出力曲線を示す。グルコース濃度 5 mM における開回路電圧は 0.628 V、最大出力密度は  $186 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 、最大電流は  $939 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  であった。電解液に含浸させるグルコースの濃度を変化させて、発電特性を評価した結果、グルコース濃度 0.1 ~ 5mM の範囲で最大出力とグルコース濃度との間に有意な相関関係が認められ、最大電流はグルコース濃度 0.1 ~ 5mM の範囲で直線的に増加することがわかった。

図 2 に電池式乳酸センサ (LOD アノード、LOD-POD カソード) の出力曲線の乳酸濃度依存性を示す。乳酸濃度 0.01mM ~ 1mM の範囲で最大出力と乳酸濃度との間に有意な相関関係が認められ、比較的高感度な乳酸センサとして機能することがわかった。LOD アノードと BOD カソードからなる乳酸センサも、基本的に類似した応答を示した。

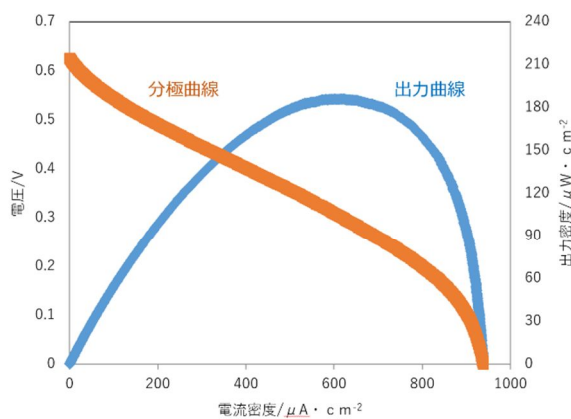


図1 グルコースバイオ電池の分極曲線と出力曲線

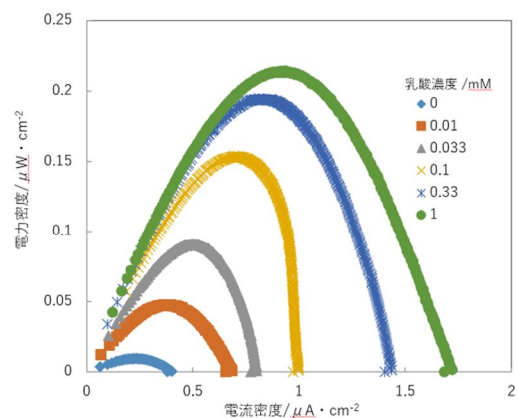


図2 乳酸バイオ電池の出力曲線の乳酸濃度依存性

研究期間内に、身体装着型のウェアラブルデバイスを実現し、ヒトの汗の代謝物を検出するまでには至らなかった。しかし、今後、柔軟性の高いフィルム状基盤への CF の埋め込み加工技術や、小型ポテンショスタット (Bluetooth 発信型) を取り入れることにより、汗に含まれる疾病マーカーを日常生活の中で長期間連動的にモニターできる次世代型ヘルスケア機器開発も可能であると期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件/うち国際共著 12件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 T. Ma, Y. Wang, Y. Hou, E. Wang, G. Yin, Y. Hasebe, Z. Zhang	4. 巻 -
2. 論文標題 An amperometric glucose biosensor based on electrostatic force induced layer-by-layer GOD/chitosan/pyrite on a glassy carbon electrode	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Analytical Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2116/analsci.21P250	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Y. Zhang, Y. Wang, Z. Zhang, A. Sobby, S. Sato, M. Uchida, Y. Hasebe	4. 巻 6
2. 論文標題 Natural molybdenite- and tyrosinase-based amperometric catechol biosensor using acridine orange as a glue, anchor, and stabilizer for the adsorbed tyrosinase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 13719-13727
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsomega.1c00973	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Y. Wang, J. Zhao, T. Yang, Y. Zhang, D. Tao, Y. Hasebe, Z. Zhang	4. 巻 894
2. 論文標題 Electrochemical evaluation of sulfide mineral modified glassy carbon electrode as novel mediated glucose biosensor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Electroanalytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 115357
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jelechem.2021.115357	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 R. Zhao, Y. Wang, Y. Hasebe, Z. Zhang, D. Tao	4. 巻 15
2. 論文標題 Determination of glucose using a biosensor based on glucose oxidase immobilized on a molybdenite-decorated glassy carbon electrode	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Electrochemical Science	6. 最初と最後の頁 1595-1605
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.20964/2020.02.45	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Y. Zhang, Y. Wang, Y. Hasebe, Z. Zhang, D. Tao	4. 巻 191
2. 論文標題 A sensitive electrochemical ascorbic acid sensor using glassy carbon electrode modified by molybdenite with electrodeposited methylene blue	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Biochemistry and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 1533-1544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12010-020-03255-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Y. Wang, Y. Hasebe	4. 巻 31
2. 論文標題 Phenazine dye- and enzyme-modified plastic formed carbon electrode for amperometric dihydronicotineamide adeninde dinucleotide and glucose sensing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 1181-1190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM.2019.2177	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Y. Wang, L. Chen, Y. Zhang, Q. Wang, R. Ma, Y. Hasebe, Z. Zhang, Z. Hu	4. 巻 31
2. 論文標題 Carbon-blak-doped polyimide-modified glassy carbon electrode for sensitive nonenzymatic amperometric determination of hydrogen peroxide	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 1191-1203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM.2019.2179	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 L. Chen, Y. Wang, Y. Hasebe, X. Yang, D. Zhang, Z. Zhang, Z. Hu	4. 巻 14
2. 論文標題 Copper(II) ion-doped polyimide composite for nonenzymatic electrochemical hydrogen peroxide sensing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Electrochemical Science	6. 最初と最後の頁 4891-4902
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20964/2019.02.61	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 R. Zhao, Y. Wang, Z.Q. Zhang, Y. Hasebe, D. Tao	4. 巻 35
2. 論文標題 A glassy carbon electrode modified with molybdenite and Ag nanoparticle composite for selectively sensing of ascorbic acid	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Science	6. 最初と最後の頁 733-738
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.19P012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 T. Yang, Y. Wang, Y. Hasebe, L. Chen, Z. Zhang, Z. Hu	4. 巻 14
2. 論文標題 Electrochemical sensor for detection of ascorbic acid using a methylene blue-doped polyimide-modified glassy carbon electrode	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Electrochemical Science	6. 最初と最後の頁 8494-8505
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20964/2019.09.03	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Wang Yue, Zhai Fengge, Hasebe Yasushi, Jia Hongmin, Zhang Zhiqiang	4. 巻 122
2. 論文標題 A highly sensitive electrochemical biosensor for phenol derivatives using a graphene oxide-modified tyrosinase electrode	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioelectrochemistry	6. 最初と最後の頁 174 ~ 182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bioelechem.2018.04.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Wang Yue, Yang Tian, Hasebe Yasushi, Zhang Zhiqiang, Tao Dongping	4. 巻 11
2. 論文標題 Carbon Black-Carbon Nanotube Co-Doped Polyimide Sensors for Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Uric Acid, and Dopamine	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 1691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma11091691	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Yasushi Hasebe, Yue Wang
2. 発表標題 Biomolecules functionalized carbon-felt for amperometric flow-through biosensors
3. 学会等名 13th Asian Conference on Chemical Sensors (ACCS 2019) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasushi Hasebe, Shinchi Seki, Yue Wang
2. 発表標題 Amperometric flow-through biosensor for uric acid using enzyme-modified carbon-felt based on oxidase and peroxidase-bienzyme system
3. 学会等名 22nd Topical Meeting of the International Society of Electrochemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasushi Hasebe, Yue Wang
2. 発表標題 Biocatalyst-modified carbon-felt for amperometric flow-biosensor
3. 学会等名 2018 International Conference on Novel Functional Materials (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長谷部靖、王月
2. 発表標題 ヘミン吸着電極の酸素還元触媒活性を利用する溶存酸素および呼吸毒のFIA
3. 学会等名 第55回フローインジェクション分析講演会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 長谷部 靖 (分担執筆、第11章担当)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 304
3. 書名 酵素トランスデューサーと酵素技術展開 三林浩二監修	

〔産業財産権〕

〔その他〕

埼玉工業大学 工学部 生命環境化学科 長谷部研究室ホームページ <a href="https://www.sit.ac.jp/user/hasebe/">https://www.sit.ac.jp/user/hasebe/</a>
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------