

機関番号：17102

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20360185

研究課題名 (和文) 微小電気化学セルアレイによる匂いコードセンシング

研究課題名 (英文) Odor code sensing with micro electrochemical cell array

研究代表者

林 健司 (HAYASHI KENSHI)

九州大学・システム情報科学研究所・教授

研究者番号：50202263

研究成果の概要 (和文)：微小電気化学セルアレイを構築するための基礎技術として、自己組織化単分子膜電極の電気化学インピーダンススペクトル測定と匂い物質と分子認識部位の候補であるペプチドやその基本要素である蛍光性プローブとの相互作用を蛍光スペクトルにより測定した。その結果、匂い分子の部分構造を認識するナノスペースを有する自己組織化表面の構築、蛍光プローブによる異なる相互作用を行う匂い物質を検知できることが可能となった。

研究成果の概要 (英文)：For the basic technology to construct micro electrochemical cell array, electrochemical impedance spectrum of self-assembled monolayer electrodes and optical spectrum fluorescence probe such as peptides to recognize odor molecular substructure were examined. As a result, constructing nanospaces inside monolayers were realized and could recognize substructure of odor molecules, and fluorescence probe could detect different interaction with various odor substances.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	8,400,000	2,520,000	10,920,000
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
総計	13,200,000	3,960,000	17,160,000

研究分野：電子計測・電子デバイス工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・計測工学

キーワード：匂いセンサ、匂いコード、センサアレイ

1. 研究開始当初の背景

匂いのセンシングデバイスは食品、医療、セキュリティ、環境、防災など、我々の安全と安心に関わる重要で広範な分野への応用が可能である。その必要性からこれまでに多くの匂いセンサの研究・開発が行われてきたが、極めて多数の化学物質を高い感度で検出、識別、認識できる生物の嗅覚に匹敵する能力を持つセンサは存在しなかった。一方で、生物の嗅覚生理学は分子生物学の急速な発展により、匂い物質が数百種類の匂い受容タンパク質により認識され、匂い物質により活性化された受容体の組み合わせ (匂いコード)

が匂い情報であることが明らかとなっている。様々な化学物質をその特徴により識別することができる生物の嗅覚は化学物質に満ちあふれた世界 (ケミカルワールド) を認識する優れた化学センサである。ナノ構造により分子を認識する匂いコードセンサはケミカルワールドをイメージ化するキーデバイスであり、退化した人の嗅覚では対応できない分野も含めて化学物質に関連する広い応用分野への波及効果を持つ。

匂いコードは匂い物質により活性化された匂い受容体の組み合わせであり、匂い受容体はゆるやかな分子認識により、似通った特徴

を持つ複数種の化学物質に応答する。化学物質情報は、匂い受容体により捕捉される特定分子構造というフィルタに掛けられ、個々の化学物質種情報は匂いコードという中間コードに圧縮される。このように匂いコードにより化学物質をグルーピングし、抽象化されたコーディング情報を用いることで匂いのセンシング、匂い情報通信、さらに匂いの合成が可能になる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生物が行っている匂いの受容・識別機構で匂い情報の中間コードとなっている匂いコードを検知する匂いコードセンサを実現する。そのために、匂いコードをもたらす化学物質の特定分子構造である **olfactophore** あるいは **odotope** を認識する化学物質の部分構造情報を検出できるナノ構造配位場を持つセンサ表面を作成し、嗅粘液に覆われた嗅細胞に相当する微小電気化学セルを構築し、さらに嗅上皮に相当する微小電気化学セルアレイへと集積化する。

生物における受容体による分子の受容と認識は、分子をその形状と静電的な特徴により受容するという意味で、高度に機能化した典型的なナノ構造表面となっている。タンパク質の受容認識部位は化学物質が持つ疎水性部位と様々な極性基の立体配置を認識しており、図1に示すような疎水相互作用、静電相互作用、水素結合などにより匂い物質とゆるやかな相互作用で結合する。

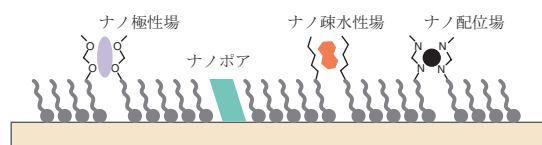


図1 匂い分子を認識するナノ構造表面

本研究において開発を行う匂いコードセンサのデバイス表面は、生物が行っている化学物質認識機構を模倣し、さらに分子の特定構造を認識するナノ構造配位場を用いることで、多くの化学物質を比較的少数のセンサ群により、多元・包括的に受容・識別する。開発する人工の受容体においては、受容体で生じる多重分子間相互作用に加え、 π 電子吸着、配位結合、電荷移動錯体形成など、多様な分子間相互作用機構を盛り込んだセンサ表面のアレイ化により人工嗅上皮により匂いコードセンサを実現する。また、表面極性やナノポアサイズを電極電位により動的に変調する **cSPI (cyclicSurface Polarization Impedance)** 法を用いることで表面で相互作用する部分構造を制御し、より豊富な分子の部分構造情報を取得する。このようにして匂いコードセンサでは、比較的少数の単純で明確な受容機構に基づくセンサ表面を高度に

組み合わせることで、高機能の化学分析を行う。

3. 研究の方法

本研究の目的を達成するためには、その基礎として分子の部分構造を認識するために設計されたナノ構造表面と分子の吸着相互作用メカニズムを明らかにすることが必要である。電極表面に自己組織化単分子膜 (SAMs) と分子鋳型により構築されたナノ構造を有する吸着サイトは分子の部分構造との高い吸着相互作用エネルギーを有している。また、ターゲット物質の表面への π 電子共有による吸着や修飾表面との間に形成される電荷移動錯体を吸着・検出メカニズムとして持つセンサ表面は、その高い吸着エネルギーにより化学物質の超高感度検出を可能とする。匂いコードセンサに求められる様々な分子の部分構造認識能は、生物の分子認識よりさらに多様な分子間相互作用を用いる表面のナノ構造配位場により実現でき、様々な化学物質を包括的に検出できるセンサデバイスとなりうる。さらに、匂いセンサの大規模アレイ化を実現するために光学的な検知方法も候補となる。光学的な匂い物質検知は、匂い物質と光学プローブのごく短距離での相互作用が関与するため、多くの化学センサが持つ非特異的吸着による偽のセンサ出力を抑制できるという特徴も持つ。

以上の観点から、次のような匂いセンシングデバイスを開発し、その受容部位の基本特性を測定した。

(1) 匂い分子の匂いコード情報を認識する自己組織化単分子膜の作成

分子認識を行う表面ナノ構造をアルカンチオール自己組織化単分子膜 (SAMs) 上に作成した。匂いコードとして、分子サイズと官能基を候補とし、ナノスペースにおいてそれらの匂いコードの要素情報を検知した。まず、自己組織化単分子膜に競合吸着により複数の異なるアルカンチオールを吸着させ、混合SAMsにおいてナノスペースを形成させた(図2)。用いたアルカンチオールは異なる炭素鎖を持つC8, C10, C12, C14, C16, C18であり、これらを組み合わせることで炭素数が2, 4, 6, 8, 10に相当するナノスペースを形成できる。これらmixed SAMsの作成方法として、競合吸着あるいは置換吸着法を採用した。また、アルカンチオールの機能性末端に水酸基を持つ分子を用いることで、表面、あるいはナノスペース内に親水性場、あるいは疎水性場のナノスペースを構築した。

(2) 表面のナノ構造の評価

原子間力顕微鏡、分光エリプソメータ、電気化学インピーダンススペクトロスコピー、電

気化学表面プラズモン共鳴，接触角により，表面形状，表面の多層有機薄膜の膜厚，原子レベルのラフネスなどの構造に関する情報を得た。また，水晶振動子マイクロバランスにより吸着分子の動的挙動を測定し，吸着量より表面の特性を推定した。

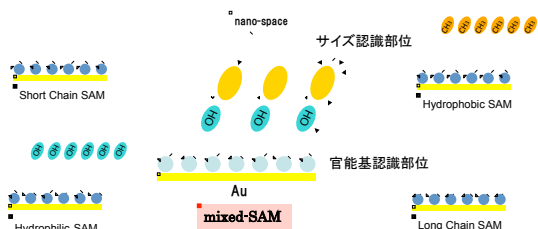


図 2 mixed SAMs によるナノ構造

(3) 電気化学センサアレイの作製

金薄膜表面に異なる SAMs 領域を作成し，それらの領域をアドレスできる電気化学インピーダンスのピックアップを作製した。すなわち，SAMs 表面に 2mm 間隔で表面特性が異なるセンサ受容部を作製し，それに対向させた電気化学的な導電性を持ち柔軟性があるピックアップを接触させ，大規模化が可能なマルチチャネル電極を作製し，その基本特性を測定した。

(4) 匂いコード分子認識部位の作成と光学的検知

匂い分子が持つ様々な匂いコードを検知する光学的なプローブを作製した。このプローブにより電気化学センサアレイをさらに大規模化できるセンサシステムが構築できる。そのために，キニーネ硫酸塩，トリプトファン，アクリジンオレンジ，ピレン，フルオレセイン，ANS などの様々な蛍光プローブを用い，匂い分子とプローブが相互作用することで生じる蛍光変化を測定した。また，匂い分子の構造認知に向けて蛍光性ペプチドを用いた匂い分子検知実験も行った。

(5) 匂い分子検知

電気化学インピーダンスおよび水晶振動子マイクロバランスにより匂い分子の吸着を測定した。また，光学的な手法の場合は分光蛍光光度計あるいは高感度 CCD カメラにより匂い物質による蛍光プローブの蛍光強度変化を測定した。

4. 研究成果

(1) 表面ナノスペースの作成と評価

まず，図 3 に分光エリプソメトリーによる mixed SAMs の膜厚を示す。C10 アルカンチオール SAM からの差分を示すが，混合することで単体の SAMs の間の膜厚を示すようになり，mixed SAMs がその差に相当するナノスペースを有していることを確認できた。これは膜厚

の縦方向のナノスペースのサイズ，つまりナノポアの深さに相当するが，横方向のサイズは不明である。また，動的接触角と電気化学インピーダンススペクトルによって表面のラフネスの評価を行い，mixed SAMs が凹凸に持ち，分子を取り込むことができるナノスペースを持つ SAMs を形成していることが確認できた。

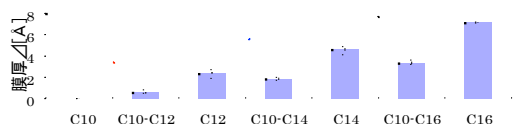


図 3 mixed SAMs のエリプソメトリーによる膜厚評価

(2) 表面ナノスペースによる匂い分子の分子サイズの検出

次にこれらの SAMs を用いて匂い物質としてエタノール (C2)，ブタノール (C4)，ヘキサノール (C6) を水晶振動子マイクロバランスにより測定した結果を図 4 に示す。この結果より分子サイズに応じて mixed SAMs の応答が変化しており，ナノスペースのサイズによって匂い分子のサイズ認識能力が異なることが分かった。この結果は匂いコードの重要な要素情報である匂い分子の分子サイズをこの受容部位によって構築が可能であることを示している。

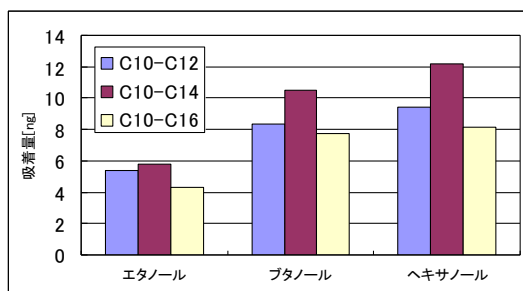


図 4 異なる分子サイズを持つ匂い物質検出

(3) 表面ナノスペースによる匂い分子の極性部位の検出

匂い分子を検出する mixed SAMs の構成要素に単純なメチル基末端を持つアルカンチオールと水酸基末端を持つアルカンチオールを組み合わせ，メチル基末端の疎水性と水酸基の親水性の両方を持つナノスペースを構築した。図 5 にそれらの電極表面を持つ水晶振動子マイクロバランス素子の匂い物質 (フェネチルアルコール) の吸着応答を示す。図から分かるように，フェネチルアルコールは適切なナノポア深さに親水性の水酸基を持つ C8OH-C12 SAMs において最も高い応答性を

持ち、分子サイズと極性の検知がこのナノ構造表面によって検知できることが分かった(図6)。

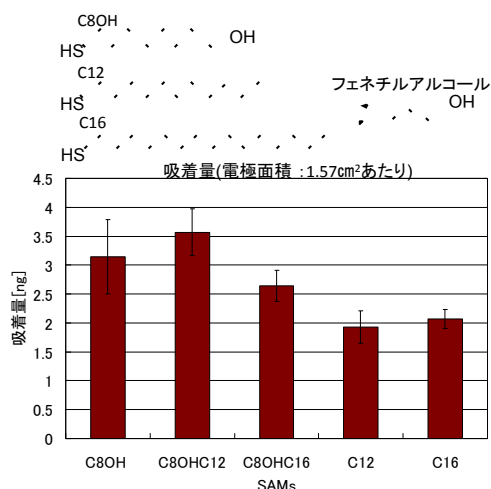


図5 異なる極性を持つナノスペースによる匂い物質検出

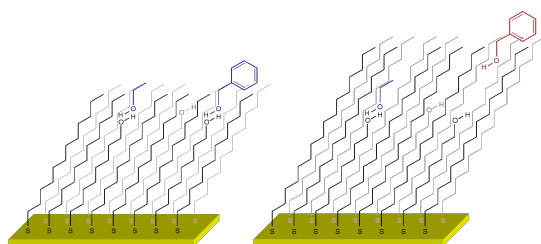


図6 匂い物質の吸着状態

(4) アドレッシング可能なマルチチャネルセンサアレイの構築

表面にSAMsを形成し、表面を部分的にUV照射することで光学的にダメージを与え、表面のナノ構造を変化させた電極を作成した。この電極の電気化学表面インピーダンスを測定し、匂い物質に対して異なる応答特性を得ることができた。また、単純なピックアップによって表面の位置を指定できるアドレスラブルな電極の構築に成功した。

(5) 匂い分子の光学プローブによる検知

4種類の蛍光プローブに対する4種類の匂い物質を作用させた場合の蛍光変化を図7に示す。用いた蛍光プローブは疎水性領域を持ち、やはり疎水性部位を持つ匂い物質と近傍で相互作用し、蛍光共鳴エネルギー移動などの機構によって蛍光強度が変化する。結果から分かるように、プローブと匂い物質の組み合わせによって応答が異なっており、やはりマルチチャネルセンサアレイ化することで匂いコード検出ができる可能性がある。また、立体構造を持つ蛍光性ペプチドによっても

匂い物質の検知が可能で、より高次の匂い分子認識ができる可能性を示すことができた。

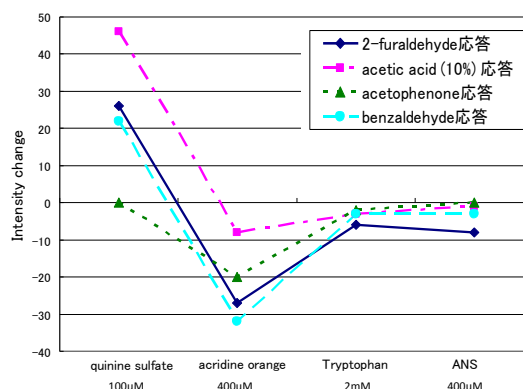


図7 蛍光プローブによる匂い検知

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 8件)

- ① 松尾洋孝, 今西 将, 内田誠一, 林 健司, 蛍光を用いた匂い可視化センシング, 電子情報通信学会技術研究報告, 査読無, Vol.110, 2011, pp.33-38
- ② Hiroataka Matsuo, Kenshi Hayashi, Detection of odor map image using optical method, Proceeding of International Conference on Advanced Mechatronics, 査読有, 2010, pp.165-170
- ③ 林 健司, 山川邦彦, 劉 傳軍, 松尾洋孝, 金ナノ粒子を用いた有機薄膜電極によるケミカルセンサの構築, センサ・マイクロマシンと応用システムシンポジウム論文集, 査読有, 2010, pp.605-610
- ④ 佛淵 祐太, 林 健司, 都甲 潔, 陳 榮剛, 池崎 秀和, ペプチドを用いた匂いセンサの作製, 電気学会論文誌 E, 査読有, Vol.130, No.7, 2010, pp.282-287
- ⑤ 山川邦彦, 劉 傳軍, 林 健司, 都甲 潔, Au-NPsを用いた有機薄膜電極の作製とガス応答, 電子情報通信学会技術研究報告, 査読無, Vol.109, No.406, 2010, pp.25-30
- ⑥ 佛淵祐太, 林 健司, 都甲 潔, ペプチドを用いた匂いセンサの作製, 電気学会研究会資料(ケミカルセンサ研究会), 査読無, Vol.CHS-09, No.7, 2009, 33-38
- ⑦ Yu Sasaki, Kenshi Hayashi, Kiyoshi Toko, Fabrication of Odor Sensor Surface Recognizing Substructure of Odorant, Sensors and Materials, 査読有, Vol.21, No.4, 2009, pp.191-199
- ⑧ Kenshi Hayashi, Development of Odor

Code Sensor Recognizing Substructure of Odor Molecules, Proceedings of 25th Sensor Symposium, 査読有, 2008, pp. 607-610

〔学会発表〕(計 16件)

- ① 松尾 洋孝, 今西 将, 内田 誠一, 林 健司, 蛍光を用いた匂い可視化センシング, ME とバイオサイバネティクス研究会, 2011. 01. 28, 鹿児島
- ② 松尾洋孝, 林 健司, 蛍光色素による匂いの可視化, 応用物理学会九州支部学術講演会, 2010. 10. 28, 福岡
- ③ Hiroataka Matsuo, Kenshi Hayashi, Detection of Odor Map Image Using Optical Method, International Conference on Advanced Mechatronics, 2010. 10. 05, Osaka
- ④ 林 健司, 山川邦彦, 劉 傳軍, 松尾洋孝, 金ナノ粒子を用いた有機薄膜電極によるケミカルセンサの構築, 第 27 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 2010. 10. 14, 島根
- ⑤ 松尾洋孝, 林 健司, 蛍光色素を用いた匂いの可視化に関する研究, 電気関係学会九州支部連合大会, 2010. 09. 25, 福岡
- ⑥ 松尾洋孝, 佛淵祐太, 林 健司, 都甲 潔, 蛍光色素による匂い物質の検出, 電気学会全国大会, 2010. 03. 18, 東京
- ⑦ 佛淵祐太, 林 健司, 都甲 潔, 匂い認識ペプチドの作製に関する研究, 2009 年応用物理学会九州支部学術講演会, 2009. 11. 21, 熊本
- ⑧ 佛淵祐太, 林 健司, 都甲 潔, ペプチドを用いた匂い物質のセンシング, 電気関係学会九州支部連合大会 (第 62 回連合大会), 2009. 09. 28, 福岡
- ⑨ 松尾洋孝, 佛淵祐太, 林 健司, 都甲 潔, 蛍光色素による匂い物質の検出, 電気関係学会九州支部連合大会 (第 62 回連合大会), 2009. 09. 28, 福岡
- ⑩ 佛淵祐太, 林 健司, 都甲 潔, ペプチドを用いた匂いセンサの作製, 2009 年度電気学会センサ・マイクロマシン部門総合研究会, 2009. 07. 24, 筑波
- ⑪ 甲斐啓之, 佐々木 優, 林 健司, 都甲 潔, 匂いセンサ用マルチチャネル表面電気化学インピーダンス検出器, 2008 年応用物理学会九州支部学術講演会, 2008. 11. 29, 宮崎
- ⑫ 佐々木 優, 林 健司, 都甲 潔, 分子サイズ認識能を持つ匂いセンサ表面ナノ構造の作成, 2008 年応用物理学会九州支部学術講演会, 2008. 11. 29, 宮崎
- ⑬ Kenshi Hayashi, Development of Odor Code Sensor Recognizing Substructure

of Odor Molecules, 第 25 回 センサ・マイクロマシンと応用システムシンポジウム, 2008. 10, 東京

- ⑭ 甲斐啓之, 佐々木 優, 林 健司, 都甲 潔, 匂いセンサ用マルチチャネルインピーダンス検出器の作製, 電気関係学会九州支部連合大会 (第 61 回連合大会), 2008. 09. 25, 大分
- ⑮ 佐々木 優, 林 健司, 都甲 潔, 匂い分子サイズ認識能を持つナノ構造の作成, 電気関係学会九州支部連合大会 (第 61 回連合大会), 2008. 09. 25, 大分
- ⑯ 佛淵祐太, 佐々木 優, 林 健司, 都甲 潔, ペプチドを用いた匂いセンサ表面の作成, 電気関係学会九州支部連合大会 (第 61 回連合大会), 2008. 09. 25, 大分

〔その他〕

ホームページ等

<http://o.ed.kyushu-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 健司 (HAYASHI KENSHI)

九州大学・システム情報科学研究院・教授
研究者番号: 50202263

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

羽原 正秋 (HABARA MASAOKI)

九州大学・システム情報科学研究院・准教授
研究者番号: 70372745

小野寺 武 (ONODERA TAKESHI)

九州大学・システム情報科学研究院・助教
研究者番号: 50336062