

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：82670

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18092

研究課題名（和文）金属有機構造体を用いたバイオマーカー検出システムの基盤構築

研究課題名（英文）Construction of a foundation for a biomarker detection system using metal-organic frameworks

研究代表者

月精 智子（GESSEI, Tomoko）

地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・研究開発本部機能化学材料技術部バイオ技術グループ・主任  
研究員

研究者番号：80520220

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：近年の超高齢化社会に加えて、新型コロナウイルス感染症の流行による新しい生活様式に対応するため、センサ技術を用いた健康管理による疾患予防や病態予測の実現が求められている。本研究では、高い吸着性能と分子ふるい特性を有する金属有機構造体に着目し、高い選択性を有するバイオセンサを開発した。開発したバイオセンサは対象物質を変えることで様々なバイオマーカーに応用できるため、医療ビッグデータとAI・IoT技術を用いた健康長寿社会の実現にも繋がる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、金属有機構造体の吸着性能や分子ふるい特性に着目し、バイオセンサにおける金属有機構造体の新しい用途開拓に繋がった点である。本研究で得られた成果は、センサを用いた疾患予防や病態予測への活用が期待でき、社会的意義を有する。

研究成果の概要（英文）：In order to cope with the recent super-aging society and new lifestyles due to the epidemic of novel coronavirus infection, we are required to realize disease prevention and disease condition prediction through health management using sensor technology. In this study, we focused on metal-organic frameworks with high adsorption performance and molecular sieving properties to develop a biosensor with high selectivity. The developed biosensor can be applied to various biomarkers by changing the target substance, which will lead to the realization of a healthy and long-lived society using medical big data and AI/IoT technology.

研究分野：人間医工学

キーワード：金属有機構造体 バイオセンサ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

新型コロナウイルス感染症の世界的なパンデミックにより、死者数は90万人を超え、我々はこれまでの生活スタイルを見直し、新しい生活様式へと転換せざるを得ない状況となっている。NEDOによる「コロナ禍後の社会変化と期待されるイノベーション像」によれば、医療サービス分野では、医師が患者と接触せずに診断するオンライン診療や、センサ技術・AI技術を用いた検査・疾患予防が求められている。

本研究では、センサ技術を用いた健康管理による疾患予防や病態予測の実現を目指し、金属有機構造体(MOF)を用いたバイオマーカー検出システムを構築する。MOFは、金属イオンと有機リガンドが配位結合を介してネットワーク構造を形成する多孔質材料であり、ガス吸着特性などで近年注目されている。また、MOFは酵素の担持材料としても注目され、酵素を内包させることにより、酵素の安定性や耐久性が向上することが報告されている。さらに、均一な細孔を有するMOFは、分子ふるいとしても有用であることが報告されている。これまでも酵素担持MOFを用いたセンサ自体は報告されているが、MOFの吸着特性や分子ふるい特性による効果についてはよく分かっていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、センサ材料としてのMOFの優位性を見出し、バイオマーカーを電気化学的に計測する簡便なセンサを開発することを目的としている。

### 3. 研究の方法

#### (1) MOFの合成

本研究では代表的なMOFであるZIF-8(図1)に着目し、Zhipingらの論文を参考にZIF-8を合成した。ZIF-8の合成ではまず、2-メチルイミダゾール溶液(3.46 mol/l)と硝酸亜鉛溶液(0.5 mol/l)を室温で5分間混合した後、6500 rpmで30分間遠心分離を行った。遠心分離により得られた沈殿物を、純水で2回、エタノールで1回洗浄し、ドラフト内で自然乾燥させ、ZIF-8を得た。

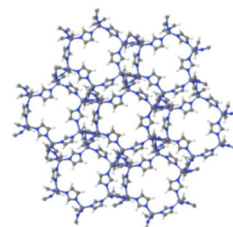


図1 ZIF-8の構造

#### (2) バイオセンサの作製

バイオセンサの作製には、プルシアンブルーが修飾されたスクリーン印刷電極を使用した。プルシアンブルー修飾電極は、-0.1Vを印加することにより過酸化水素を電気化学的に計測することができる。そこで本研究では、プルシアンブルー修飾電極上に酸化酵素を固定化し、酵素反応により生成した過酸化水素を電気化学的に計測するという原理にて、尿酸及びグルコースセンサを作製した。また、各種酵素と一緒にZIF-8を固定化したセンサも作製し、ZIF-8がセンサ特性に与える影響及び効果を検証した。実験ではまず、電極上にウリカーゼ(2.0 mg/mL)及びグルコースオキシターゼ(2.0 mg/mL)を10 µl滴下して冷蔵庫で一晩乾燥させた。滴下部分に0.5%のキトサン溶液を10 µl滴下し、さらに冷蔵庫で一晩乾燥させ、バイオセンサを作製した。また、酵素とZIF-8の同時固定化電極は、酵素溶液の代わりにZIF-8の懸濁液(2.0 mg/mL)と酵素溶液(2.0 mg/mL)を1:1で混合した溶液10 µlを電極上に塗布して作製した。

### 4. 研究成果

#### (1) MOFの基本特性評価

合成したZIF-8は、XRDにより結晶構造、SEMにより結晶形状、BETより比表面積をそれぞれ評価した。合成したZIF-8のSEM画像及びXRDスペクトルを図2に示す。SEM画像より合成したZIF-8は多面体形状をしており、NordinらのZIF-8のXRDスペクトルと同様のスペクトルが観察されたことから、ZIF-8が合成できたものと考えられる。また、BET測定の結果、ZIF-8の比表面積は1814 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>であった。

合成したZIF-8のアスコルビン酸、尿酸、グルコースに対する吸着特性を調べたところ、尿酸及びアスコルビン酸は吸着するものの、グルコースには吸着しないことが分かった。

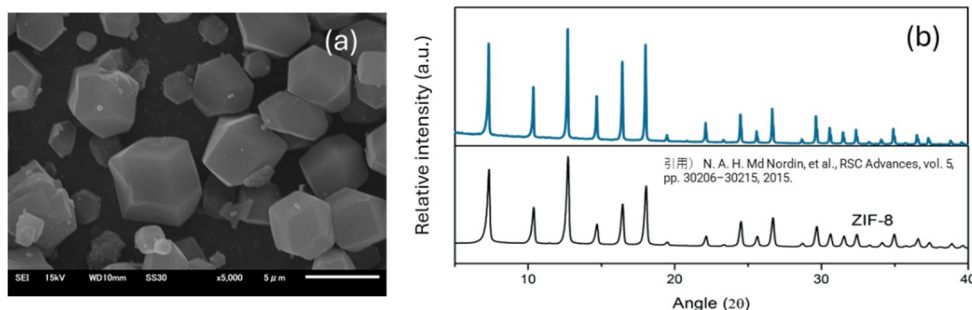


図2 合成したZIF-8の(a)SEM画像,(b)XRDスペクトル

## (2) バイオセンサの評価

作製した尿酸及びグルコースセンサについて、作製した電極上に尿酸及びグルコース溶液を 100  $\mu\text{l}$  滴下したのち、作用極に -0.1V の電圧を印加し、電圧の印加に伴う電流値の変化を 70 秒間測定した。その結果、尿酸及びグルコース濃度に応じた電流値の増加が確認され、濃度に対する 60 秒後の電流値をプロットしたところ、尿酸では 0.0156 ~ 0.5 mmol/L、グルコースでは 0.01 ~ 1.0 mmol/L の範囲で線形性が得られ、一定の濃度範囲で定量可能なセンサが作製できた。

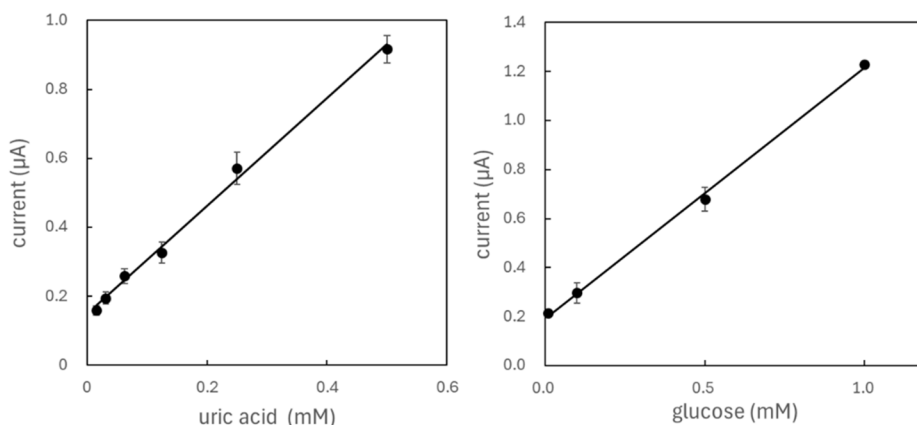


図3 作製したバイオセンサの検量特性 (左:尿酸センサ、右:グルコースセンサ)

## (3) MOF による影響調査

各種酵素と ZIF-8 の同時固定化センサについて、各種溶液に対する電流値の応答性を確認したところ、尿酸センサについては高濃度域において出力の低下が確認された。一方で、グルコースセンサでは、ZIF-8 の有無に関わらず、濃度に応じた電流値の増加が確認された。ZIF-8 の尿酸に対する吸着特性の結果を踏まえると、尿酸センサでは ZIF-8 に尿酸が吸着したことによりウリカーゼによる酵素反応が抑制され、過酸化水素の発生も抑制されたと考えられる。この結果より、ZIF-8 は電気化学バイオセンサにおいて干渉物質となり得る尿酸やアスコルビン酸を吸着し、ZIF-8 に吸着しない測定対象物を高選択的に測定できる可能性が示唆された。

そこで、ZIF-8 を同時固定したグルコースセンサにおいて、アスコルビン酸及び尿酸に対する干渉影響を調べた。その結果、図 4 に示すとおり、グルコースセンサはグルコースだけではなく、アスコルビン酸にも大きく応答し、センサ出力に影響を及ぼすことが分かった。これは、アスコルビン酸自体の酸化還元反応が影響していると考えられる。一方で、ZIF-8 を同時固定したグルコースセンサでは、アスコルビン酸に対する出力が大きく減少した。これは、ZIF-8 にアスコルビン酸が吸着し、アスコルビン酸自体の酸化還元反応が抑制されたためと考えられる。この結果より、ZIF-8 を酵素と同時に固定化することにより、アスコルビン酸による干渉を抑えたグルコースセンサを作製することができた。今後、ZIF-8 などの MOF を用いて吸着特性を制御することにより、電気化学バイオセンサの選択性向上に寄与できる可能性がある。

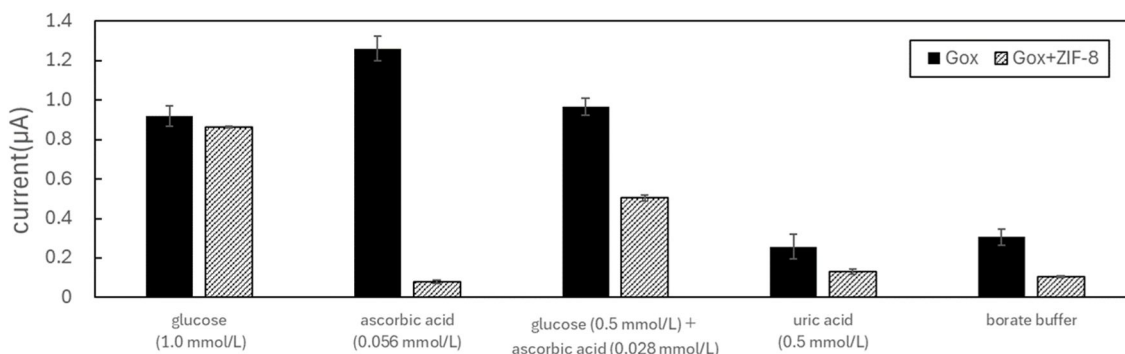


図4 ZIF-8 の有無によるグルコースセンサの干渉影響調査

## < 引用文献 >

Paolo Falcaro et al., Biomimetic mineralization of metal-organic frameworks as protective coatings for biomacromolecules, nature communications, 2015, DOI: 10.1038/ncomms8240.

Zhiping Lai et al., Rapid synthesis of zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8) nanocrystals in an aqueous system, Chem. Commun., 2011, 47, 2071-2073.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kinoshita Mariko, Yanagida Sayaka, Gessei Tomoko, Monkawa Akira	4. 巻 600
2. 論文標題 Precursor concentration effects on crystallite size and enzyme immobilization efficiency of Enzyme@ZIF-8 composite	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Crystal Growth	6. 最初と最後の頁 126877 ~ 126877
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jcrysgro.2022.126877	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 -

1. 著者名 Takimoto Yuki, Monkawa Akira, Nagata Kohki, Gessei Tomoko, Kobayashi Masahiro, Kinoshita Mariko, Mori Toshiya, Kagi Hiroyuki	4. 巻 383
2. 論文標題 Localized surface plasmon resonance sensing of SO2 and H2S using zeolitic imidazolate framework-8	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Sensors and Actuators B: Chemical	6. 最初と最後の頁 133585 ~ 133585
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.snb.2023.133585	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究協力者	安藤 恵理  (ANDO Eri)		

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
---------	---------