



プレス通知資料（研究成果）

報道関係各位

2022年7月20日

国立大学法人東京医科歯科大学

学校法人早稲田大学

**「エレクトロスピニング法で紡いだ酵素系メッシュでガス成分の直接可視化に成功」
—簡単につくれて、すぐにつかえる、バイオセンシング酵素メッシュ—**

【ポイント】

- 高分子溶液をマイクロ・ナノ繊維化するエレクトロスピニング法でガス測定用酵素メッシュを開発しました。
- 通常は溶液中ではたらく酵素でも、乾燥したエレクトロスピニング酵素系中では気相サンプルに対しても活性が得られ、バイオセンサへと応用できることを示しました。
- 本技術により、生体ガス計測用バイオセンサデバイスの実用化促進が期待できます。

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 センサ医工学分野の三林教授と飯谷助教の研究グループは、早稲田大学 先進理工学部 生命医科学科 武田教授の研究グループとの共同研究で、非侵襲に疾患診断や代謝評価を行うための「生体ガス計測用の新規バイオセンサ用酵素メッシュ」を開発しました。酵素や補酵素を含んだ水溶性高分子溶液をエレクトロスピニング法により繊維化することで、通常は溶液中で活性を示す酵素を、乾燥した「エレクトロスピニング酵素系」中で用いることが可能となり、生体ガス計測用バイオセンサの実用化の促進が期待できます。この研究は文部科学省科学研究費補助金ならびに生体医歯工学共同研究拠点、大川情報通信基金研究助成、三菱マテリアル株式会社—早稲田大学理工学術院包括協定研究助成、早稲田大学特定課題研究助成費、JST・SCORE 大学推進型の支援のもとで行われた内容で、その研究成果は、国際科学誌 *Biosensors and Bioelectronics* (バイオセンサーズアンドバイオエレクトロニクス) に、2022年6月7日にオンライン版で発表されました。

【研究の背景】

呼吸や皮膚を介して放出される生体ガス中には、血中に存在する揮発性有機化合物(VOCs)^{※1} が含まれており、疾患や代謝の状態に応じて、経時的にその濃度が変動したり、特異的なガス成分が放出されたりすることが知られています。その生体ガス中の VOCs を測定することで、血液を採取せずに体内の生化学的な状態変化をモニタリングできることから、次世代の疾病及び健康状態モニタリング方法として、期待が寄せられています。

一方で、生体ガスは数百種類の VOCs にて構成され、対象となるガス成分を検出するには高い選択性が必要です。そのため、生体ガスの測定には、一般的にガスクロマトグラフィー質量分析装置^{※2}などの大型の分析装置が用いられます。そこで本研究グループでは、これまで酵素の基質特異性に着目し、生体ガスを気相サンプルとして計測する生化学式ガスセンサの開発を進めてきました。しかしながら、酵素を用いるバイオセンサの一般化に対する共通の課題として、「分子認識機能を担う酵素固定化膜の作製には時間と労力を要すること」、「酵素が機能するような温かな溶液中で用いること」などがあり、バイオセンサの製品化の障壁となっていました。

【研究成果の概要】

上述の課題を解決するため、高分子を繊維状に加工するエレクトロスピンニング法^{※3}にて、基質特異性を有する酵素および補酵素を含む水溶性高分子を材料として「エレクトロスピンニング酵素糸」を紡ぎ、「作ったその場で、すぐに使える酵素糸メッシュ」を開発しました(図 1A)。エレクトロスピンニング法では、材料とする高分子溶液に印加した高電圧に起因する電気的な反発力によって高分子溶液を糸状に高速で引き出し、その際に液体が瞬間的に揮発することで微細な繊維を作製する技術です。このような「エレクトロスピンニング酵素糸」は見かけ上は乾燥状態ですが、水溶性高分子を用いることで、気相中でのガス検出にそのまま利用できます。この現象について研究グループでは「水溶性高分子が有する極性官能基」と「エレクトロスピンニング過程での瞬間的な繊維形成」の二つの要素によって、高分子でできた繊維の中でも、酵素の立体構造および触媒活性を維持することが可能であるためと考えています。研究グループではこの新規な「エレクトロスピンニング酵素糸」を積層し、広い比表面積を有する「酵素糸メッシュ」を用いることで、エタノールガスを選択的かつ視覚的に検出するガスイメージングに成功しました。バイオセンサでありながら溶液の添加などの前処理を必要とすること無く、直接利用することも可能です。

酵素糸メッシュがエタノールガスを検出する仕組みでは、補酵素ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)依存型アルコール脱水素酵素(ADH)の触媒反応を用いたバイオ蛍光法^{※4}を用いています。カメラの前方に酸化型 NAD (NAD⁺)および ADH を含む酵素糸メッシュを設置し、エタノールガスを負荷すると酵素反応により還元型 NAD (NADH)が生じます。この NADH は波長 340 nm の紫外光照射により波長 490 nm の蛍光を生じ、蛍光の強度が負荷されたエタノールガス濃度と相関することから ADH 酵素糸メッシュ上の蛍光強度分布をカメラで撮像することで、エタノールガス濃度分布の動画像化が可能となります(図 1B, C)。

【研究成果の意義】

一工程で作製できる「エレクトロスピンニング酵素糸」の生産ラインへの組み込みは容易であり、利用する際にも面倒な前工程が不要なため、生化学式ガスセンサの社会実装に資する技術と考えられます。今回、ガスイメージングを行ったエタノールガスは、アルコール代謝のモニタリングに有用です。また、酵素の種類を選択し変更することで、他のガス成分のイメージングにも応用が可能です。本研究グループではこれまでも、脂質代謝に応じて生体ガス中の濃度変化が生じるアセトンガスをはじめ、イソプロパノールガス、ホルムアルデヒドガス、メタノールガス、アセトアルデヒドガスなど様々な VOCs の選択的な計測を進めており、今後はこれらガス検

出のための「酵素系メッシュ」の開発や、非侵襲な代謝評価デバイスへの開発応用が期待されます。

また、高分子基質中でタンパク質の活性を維持しながら、気相中でも使用可能な複合材料を作製する方法を提供する点でも意義が高く、様々なタンパク質と水溶性高分子からなる複合材料の構築への展開が期待されます。

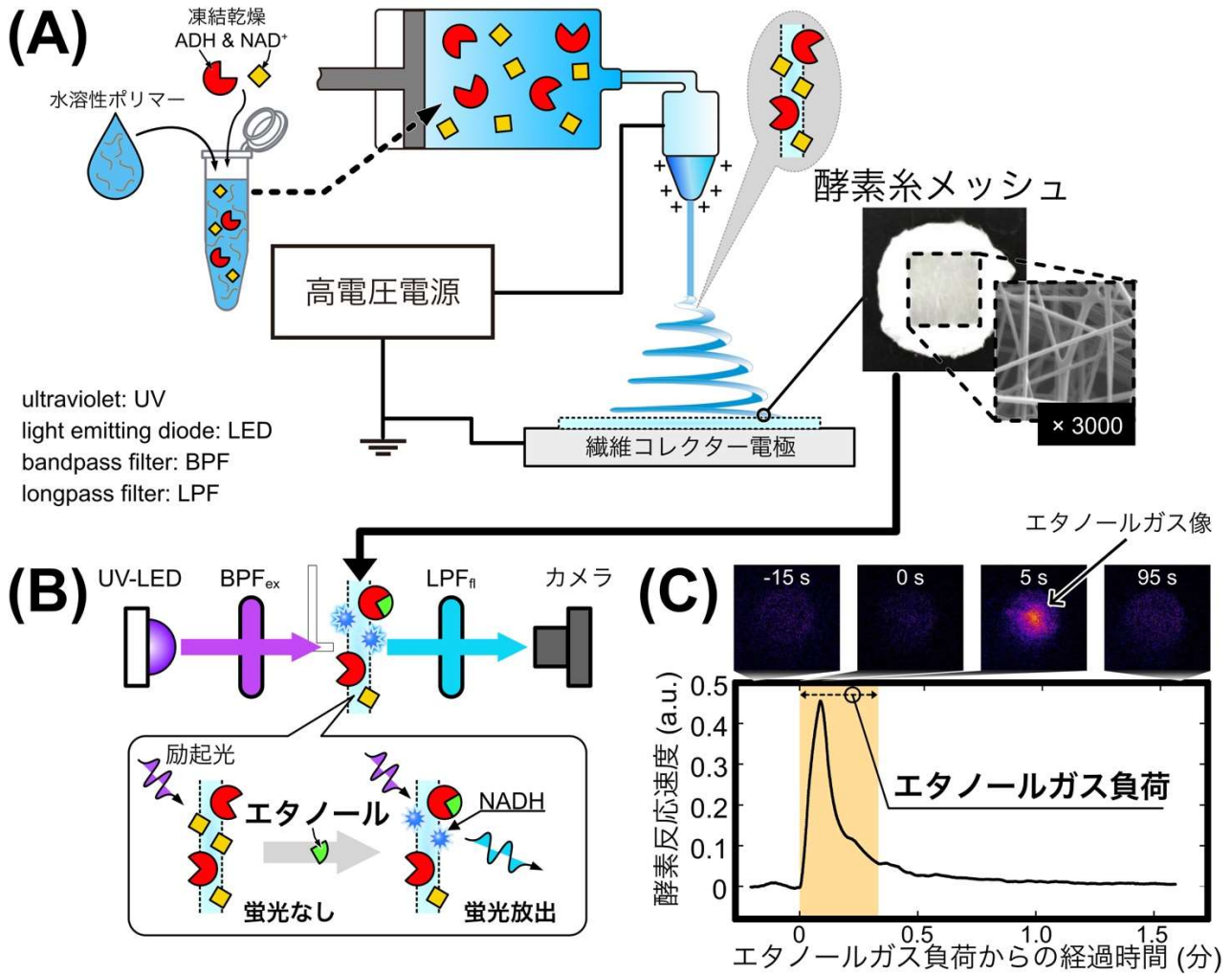


図 1 (A)エレクトロスピンニング酵素系の作製方法、(B)エタノールガスをイメージするための実験系、(C)エタノールガスを負荷した際の蛍光画像より算出したガス分布の時空間変化

【本研究における各研究者の役割】

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 センサ医工学分野 教授 三林浩二…生化学式ガスセンサの検出原理の考案、実験装置の提案、論文執筆、研究統括、等

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 センサ医工学分野 助教 飯谷健太…エレクトロスピンニング酵素系の作製手法検討、蛍光イメージング実験系構築、論文執筆、研究費獲得、等

早稲田大学 理工学術院 先進理工学部 生命医科学科 (TWins) 教授 武田直也…タンパク質を包含するエレクトロスピンニング法の提案、高分子材料の選定、実験指導、論文執筆、研究費獲得、研究統括、等

【用語解説】

※¹ 揮発性有機化合物(VOCs)……………常温常圧で容易に揮発する有機化合物の総称。

※² ガスクロマトグラフィー質量分析装置……………複数の成分から成る混合気体をカラムと呼ばれる成分分離装置を介して分離し、後段の質量分析装置で濃度を定量するガス分析装置。

※³ エレクトロスピンニング法……………高分子溶液と繊維回収用コレクター電極間に数十 kV 程度の高電圧を印加し、溶液の表面張力よりも帯電した高分子溶液の反発力が大きくなることで引き出され、直径がナノメートルからマイクロメートルの繊維を得る手法。

※⁴ バイオ蛍光法……………酵素反応の結果として増減する分子を蛍光検出することで目的となる基質分子の定量を行う分子計測手法。

【論文情報】

掲載誌: Biosensors and Bioelectronics

論文タイトル: Enzyme-embedded electrospun fiber sensor of hydrophilic polymer for fluorometric ethanol gas imaging in vapor phase

掲載日: 2022 年 6 月 7 日

掲載 URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956566322004936>

DOI: 10.1016/j.bios.2022.114453

【研究者プロフィール】

三林 浩二 (ミツバヤシ コウジ) Kohji Mitsubayashi

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 センサ医工学分野 教授

<研究領域>

分析化学

バイオセンサ

生体ガス計測



飯谷 健太 (イタニ ケンタ) Kenta Iitani

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 センサ医工学分野 助教

<研究領域>

バイオセンサ

ガスイメージング



武田 直也 (タケダ ナオヤ) Naoya Takeda

早稲田大学 理工学術院 先進理工学部 生命医科学科(TWIns) 教授

<研究領域>

バイオマテリアル

高分子材料

細胞・組織工学



【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

センサ医工学分野 三林 浩二(ミツバヤシ コウジ)

E-mail: m.bdi@tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL: 03-5803-5833 FAX: 03-5803-0272

E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp

早稲田大学 広報室広報課

〒169-8050 東京都新宿区戸塚町 1-104

TEL: 03-3202-5454 FAX: 03-3202-9435

E-mail: koho@list.waseda.jp