

氏名	藤井 朗
授与した学位	博士
専攻分野の名称	工学
学位授与番号	博甲第3404号
学位授与の日付	平成19年 3月23日
学位授与の要件	自然科学研究科生体機能科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	新規バイオセンサのための酸化還元酵素の機能検出法および人工機能付与法の研究
論文審査委員	教授 宍戸 昌彦 教授 山田 秀徳 教授 中西 一弘

学位論文内容の要旨

酵素センサは、酵素反応を電極を用いて電気化学的に測定するものである。本研究では走査型電気化学顕微鏡を酵素アレイに応用することにより、多成分同時測定を可能にした。また新しい半導体センサを酵素反応に応用して、高速、高感度のバイオセンサ実現への道を開いた。

本論文の第2章では走査型電気化学顕微鏡を用いて、酵素のマルチアレイを測定する手法を示した。走査型電気化学顕微鏡は、マイクロ電極をプローブとして微小領域の酸化還元応答を測定する機器である。本研究ではPQQ依存性グルコース脱水素酵素とPQQ依存性フルクトース脱水素酵素からなる酵素アレイを作製した。さらにその酵素アレイを走査型電気化学顕微鏡で走査した。その結果、基質特異性や基質濃度依存性を持つ酵素センサとして十分な応答を示すことが明らかになった。

本論文の第3章では新規の半導体表面電位センサであるケミカル CCD を用いた酵素センサについて述べた。金電極と直接電子移動が可能なフルクトース脱水素酵素を用いることで、金ゲートと酵素との間の直接電子移動に基づくケミカル CCD の出力電圧の変化を検出することに成功した。すなわちケミカル CCD を用いて、メディエーターを用いることなしに直接酵素反応を検出することができた。

本論文の第4章では蛋白質に電子メディエーション機能をもつ機能基を導入し、蛋白質中の電子移動を直接観測することを試みた。p-アミノフェニルアラニンの側鎖にスパーサーを介してフェロセニル基を導入したアミノ酸を新規に合成し、モデル蛋白質であるストレプトアビジンに導入した。その結果、このモデル蛋白質は溶液中で電子の授受を行うことが確認できた。

以上のように、本研究では走査型電気化学顕微鏡を応用したマルチセンシングが可能な酵素センサの開発を行った。またメディエーターを用いない酵素センサとしてケミカル CCD と酵素反応の組み合わせを検討した。これは半導体は小型化が可能であるので、将来的には高速で多成分測定可能なセンサに発展することが期待できる。さらに遺伝子工学的に蛋白質中に酸化還元機能基を位置特異的に導入する手法を検討した。この方法で将来的には遺伝子工学的に酸化還元機能基を酵素に導入し、メディエーターを必要としない新規酵素センサーが開発できると期待できる。これらの研究により次世代酵素センサを開発していくための道筋を示すことができた。

論文審査結果の要旨

本論文では酵素センサについて、いくつかの課題を解決する手法を提案した。第 2 章では基板上に酵素アレイを作製し、その上を走査型電気化学顕微鏡で走査することにより、多成分の酵素反応の同時測定が可能であることを示した。第 3 章では新しい半導体センサであるケミカル CCD 素子と酵素電極とを結線することによって、高速、高感度のバイオセンサ実現への道を開いた。特に電子メディエーターを介さずに、酵素反応で生じた電流を酵素電極で読み出す手法に成功し、これによって高速読み出しへの道を開いたことは特筆される。第 4 章では蛋白質に電子メディエーション機能をもつ機能基を導入し、蛋白質中の電子移動を直接観測することを試みた。電子メディエーション機能をもつフェロセニル基を導入した非天然アミノ酸を新規に合成し、それをモデル蛋白質であるストレプトアビジンに導入した。このモデル蛋白質は溶液中で電子の授受を行うことが確認できた。以上のように、本研究では走査型電気化学顕微鏡を応用した多成分同時測定、メディエーターを介さない酵素電極とケミカル CCD の組み合わせによる高速高感度センサ、さらに遺伝子工学的手法によるメディエーター機能の蛋白質内への組み込みについて、新規な方法を提案した。これらの研究は次世代酵素センサを開発していくための道筋を示すものである。以上のように本研究は生物工学的に興味深く、また独創性の高い研究であると評価される。

以上の結果より、本論文は博士（工学）に十分値するものと判定される。