

中山人間科学財団活動報告書 2016

平成 28（2016）年度研究助成

生体情報関連分子の唾液モニタリング・チップの開発

古澤 宏幸

山形大学大学院理工学研究科

【緒言】

近い将来に高齢化社会が訪れることは世界的な潮流となっており、2050年には世界人口の18%が65歳以上となると予測されている^[1]。日本においても例外ではなく、国民の健康問題と共に医療費の高騰が懸念されている。実際に国民医療費は右肩上がりで増加しており、2013年には初めて40兆円を越えたことが新聞等でも報道された^[2]。

そうした中、『予防医療』という考え方が提言されている。これまでの医療のように病気・疾患患者に投薬・治療を実施するだけではなく、健康な人が健康を維持・増進できるように支援するというコンセプトである。成人病などの病気・疾患を予防するには個々の生活習慣の改善が重要であることに加え、病気を早期に発見し治療に取り組むことや、病後の再発防止のケアに取り組むことも有効である。定期的な健康診断や人間ドックの活用がそれに該当するが、大型検査装置を用いる必要があるため受診機会が年に一度しかなかったり施設に出向く必要があるなど、敷居が高いのがネックとなっている。誰でも気軽に家庭などで健康診断できる装置があれば、予防医療に資すると期待される。

近年、有機半導体材料を柔らかいシート基板に印刷し有機トランジスタ回路を搭載した軽くて柔軟なデバイス開発の研究が盛んに行われている。こうしたデバイスは安価なディスプレイ回路チップとして利用でき、バイオセンサーとしての利用も検討されている(図1)^[3]。従来、血液検査で測定されていた生体情報関連分子(バイオマーカー)がこうした安価で簡便なデバイス・チップで測定できれば、誰でも簡便に各家庭において日々の健康状況を客観的に評価するための健康診断デバイスとして利用でき、パーソナル診断が実現できる。そのためには有機トランジスタ上でバイオマーカーの存在を電気シグナルに変換するしくみを構築する必要がある。

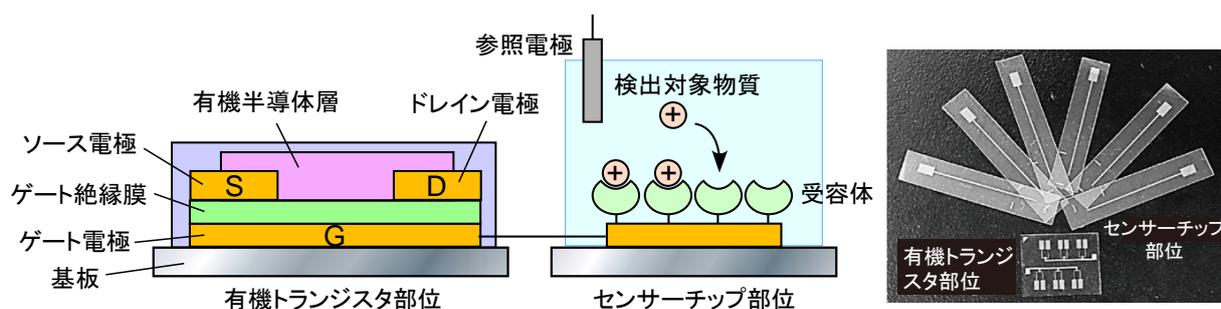


図1 有機トランジスタ型バイオセンサーの模式図^[3]

本研究課題では、バイオマーカーの存在を酵素の分子特異性、反応性を活用して電気シグナルに変換する酵素膜を開発し、印刷型有機トランジスタ型デバイスと組み合わせることによって、大型検査装置を用いることなく様々な特定の低分子を手軽に自身で検出できる生体情報関連分子モニタリング・チップを開発することを目指した。将来的には非侵襲に測定可能なように唾液から測定することを想定し開発を行った。

【研究計画】

本研究では、疾病として日本で 700 万人以上の患者がいると言われている糖尿病に着目し、糖尿病モニタリング・チップの構築を検討した。糖尿病のモニターには、糖尿病のバイオマーカーの一つである 1,5-アンヒドログルシトール (1,5AG) や血中のグルコースを検出する方法などがある^[4,5]。ここでは、1,5AG もしくはグルコースと反応する酵素^[6]を利用して酵素膜を構築し、有機トランジスタ型デバイスと組み合わせ、電気信号としてバイオマーカーを検出可能か検討を行った (図 2)。

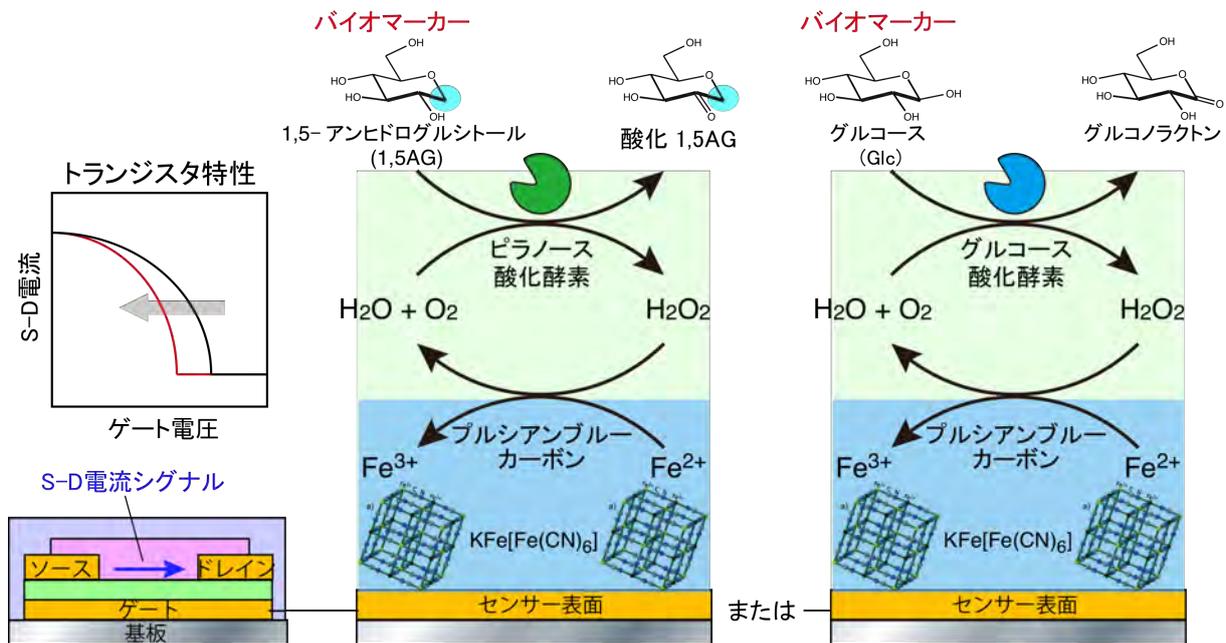


図 2 酵素を用いて 1,5 アンヒドログルシトールおよびグルコースを電気シグナルに変換する酵素変換膜の模式図

検出機構は、1,5AG およびグルコースが酸化酵素により酸化されると過酸化水素 (H_2O_2) が生成されるため基板上の 2 価の鉄 (Fe^{2+}) を含むプルシアンブルーカーボンが酸化を受けて 3 価の鉄 (Fe^{3+}) に変換されることを利用する。センサー表面の荷

電状況の変化がトランジスタのゲート電極に影響を与え、その結果、絶縁層を介してゲート電極上にある2つの電極間、ソース電極からドレイン電極への電流量 (S-D 電流) が変化する。こうした変化は、ゲート電圧の値に対して S-D 電流量をプロットしたトランジスタ特性曲線のシフトとして観察することができる (図2左)。

【進捗状況】

大きさ数センチ程度のプラスチック基板の片側に金を蒸着したセンサーチップを作成した。プルシアンブルーカーボン・ペーストを薄く塗布し乾燥させ、この上にピラノース酸化酵素もしくはグルコース酸化酵素溶液を高分子溶液との混合溶液として塗布して酵素膜を調製した。

印刷型有機トランジスタのゲート電極に酵素膜をもつセンサーチップを電氣的に接続し、センサー表面を水溶液に浸漬して印加するゲート電圧を変えながら有機トランジスタのソースとドレイン間に流れる S-D 電流値の測定を行い、トランジスタ特性を観察した。続いて、センサーチップをバイオマーカーである 1,5AG もしくはグルコースの溶液に浸漬し、同様にトランジスタ特性を観察し、特性曲線がシフトしたかどうか比較した。

結果を図3に示す。ピラノース酸化酵素 (POx) は、1,5AG およびグルコースのどちらも酸化することができる。実際にピラノース酸化酵素を含む酵素膜を塗布したセンサー上に 1,5AG の溶液を滴下したところ、トランジスタ特性を示す曲線が 1,5AG の濃度に応じて左側にシフトする様子が観察された (図3左)。このことは有機トランジスタで糖尿病のバイオマーカーである 1,5AG を電氣的に検出できたことを示している。グルコースに対しても同様の結果が得られた (図3右)。

次に、酵素の種類を変えてグルコース酸化酵素 (GOx) を含む酵素変換膜センサーで実験を行ってみた (図4)。この酵素はグルコースのみ酸化する。実際に 1,5AG の溶液を測定したところ特性曲線にシフトは見られず、一方、グルコース溶液の場合には特性曲線のシフトが観察された。このことはセンサー上の酵素膜が分子の種類を識別できていることを示している。

以上の結果を踏まえると、グルコース酸化酵素 (GOx) 膜を用いるとグルコースの量のみ測定でき、一方ピラノース酸化酵素 (POx) 膜はグルコースと 1,5AG の合計量が測定できるため、グルコースと 1,5AG が混在しているような体液中でも二つの酵

素膜の差分から 1,5AG の量を測定することができることになる。

有機トランジスタ型デバイスと酵素膜をもつセンサーチップを組み合わせること
で、特定の生体情報をもつバイオマーカー（1,5AG）をモニタリング可能であること
がわかった。

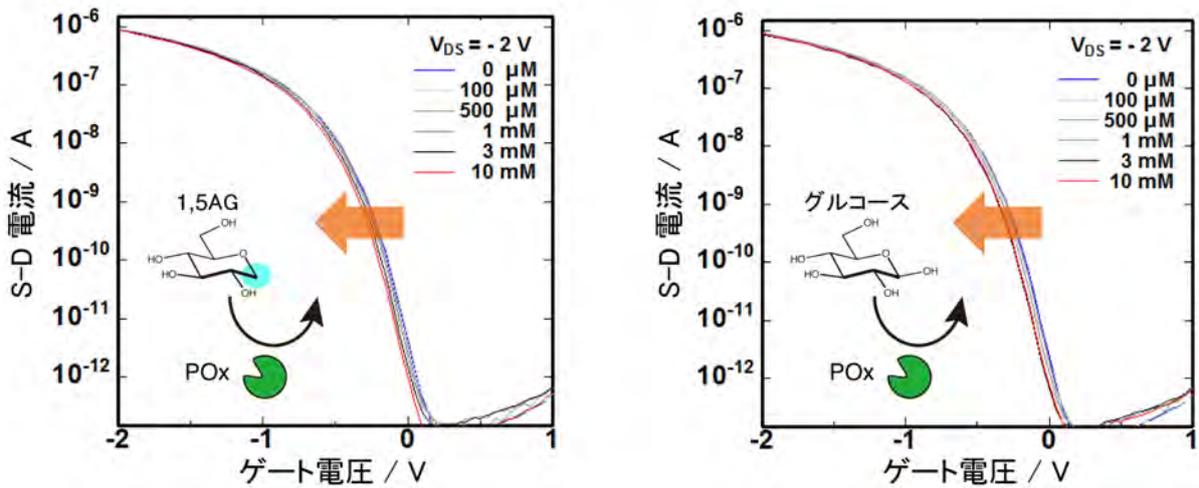


図3 ピラノース酸化酵素（POx）膜上に 1,5 アンヒドログルシトール（1,5AG）（左）
およびグルコース（右）溶液を所定濃度、滴下したときのトランジスタ特性
曲線のシフトの様子

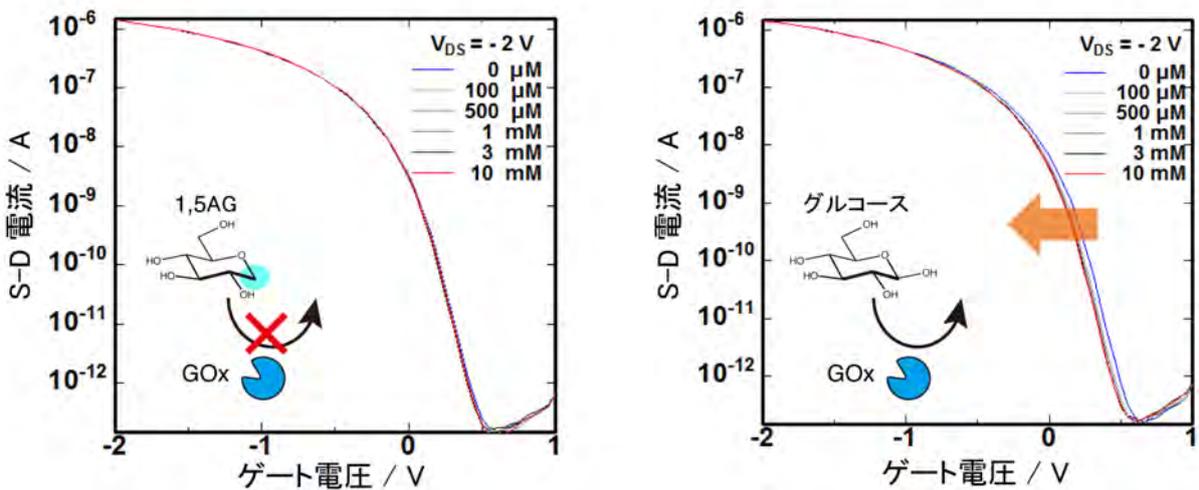


図4 グルコース酸化酵素（GOx）膜上に 1,5 アンヒドログルシトール（1,5AG）（左）
およびグルコース（右）溶液を所定濃度、滴下したときのトランジスタ特性
曲線のシフトの様子

【今後の展望】

本研究ではフィルム形状のデバイスがバイオマーカー検出に利用可能であることが示された。このことは安価で気軽に利用できる健康診断デバイスとして利用することが期待できることを示唆している。それに加えて、パーソナル診断デバイスは非侵襲であることが望まれる。そのためには唾液や尿などからバイオマーカーを検出する必要がある。体液中の夾雑物の影響を受けずにバイオマーカーを検出できる技術と組み合わせたデバイス開発が継続して必要であると考えている。

謝辞

本研究は、公益財団法人 中山人間科学振興財団から研究助成をうけて実施されました。ここに深く感謝いたします。また、本研究の遂行にあたり、時任静士教授（山形大学・有機エレクトロニクス研究センター）並びに市村祐介氏（山形大学・工学部）のご協力をいただきました。ここに御礼申し上げます。

参考文献：

- [1] https://ja.wikipedia.org/wiki/高齢化社会#cite_note-WPA-UN-1
- [2] http://www.nikkei.com/article/DGXLASFS07H2V_X01C15A0000000/
- [3] 古澤宏幸、時任静士：有機トランジスタを用いたバイオセンサー応用、工業材料、Vol. 65(2)、35–37 (2017).
- [4] T. Yamanouchi, S. Minoda, M. Yabuuchi, Y. Akanuma, H. Akanuma, H. Miyashita, and I. Akaoka, “Plasma 1,5-anhydro-D-glucitol as new clinical marker of glycemic control in NIDDM patients”, *Diabetes*, 38(6), 723–729 (1989).
- [5] W. Nowatzke, M. J. Sarno, N. C. Birch, D. F. Stickle, T. Eden, and T. G. Cole, *Clinica Chimica Acta*, 350, 201–209 (2004).
- [6] Y. Fukumura, S. Tajima, S. Oshitani, Y. Ushijima, I. Kobayashi, F. Hara, S. Yamamoto, M. Yabuuchi, “Fully enzymatic method for determining 1,5-anhydro-D-glucitol in serum”, *Clinical Chemistry*, 40(11), 2013–2016 (1994).