

平成18年 2 月 7 日

氏名 四反田 功



21世紀COEプログラム

拠点：大学院工学系研究科
応用化学専攻、化学システム工学専攻、
化学生命工学専攻、マテリアル工学専攻

“化学を基盤とするヒューマンマテリアル創成”

平成17年度リサーチ・アシスタント報告書

ふりがな 氏名	したんだ いさお 四反田 功	生年月日
所属機関名	東京大学生産技術研究所 立間研究室	
所在地	東京都目黒区駒場 4-6-1 東京大学生産技術研究所 Fe405	
申請時点での 学年	博士課程3年	
研究題目	鞭毛藻類の走光性を利用したバイオセンシングシステムの開発	
指導教員の所属・氏名	東京大学生産技術研究所助教授 立間 徹	

I 研究の成果 (1000字程度)

単細胞鞭毛藻類であるクラミドモナスの遊泳と反重力走性を利用した全く新しい原理のバイオセンシングシステムを開発した。クラミドモナスの鞭毛運動により溶液が攪拌される効果を、溶液に加えたレドックスマーカを用いて電気化学的にモニタリングし、トルエン、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} などの遊泳阻害剤を検出・定量する方法を確立した。また、反重力走性を観測することで、より低濃度(3 μM)のトルエンを検出できた。しかし、反重力走性を検出するシステムは、重力というトリガーの on/off ができなかった。また、得られる応答が単一のため、その応答が鞭毛打活性、反重力走性、その他の電極反応のうちどれを示しているのか、直ちには区別ができないという問題があった。そこで、鞭毛打活性の変化とともにトリガーの on/off が容易な走光性の変化をモニタリングできるシステムを開発した。光源の近くと遠くにそれぞれ電極を配置した電気化学セルを用いた(図 1)。鞭毛打活性の変化は、両方の電極に同様の変化をもたらすが、走光性の変化は、異なる変化をもたらす。

細胞懸濁液中の作用極(W. E.1, 2)に+0.3 V vs. Ag/AgCl の電位を印加し、測定途中から走光性を引き起こす青緑色光を照射したときの典型的な電流応答を図 2 に示す。W. E. 1 は、酸化電流が大きく減少した後、徐々に増加した。定常電流値は、光照射前よりも大きくなった。W. E. 2 も、電流値が減少した後増加するが、定常電流値は光照射前よりも小さかった。一過的な電流値の減少は、クラミドモナスの一過的な強い正の走光性(光源方向に集まる性質)のためであると考えられる。定常電流が W. E. 1 で増加し、W. E. 2 で減少するのは、用いた細胞が定常状態において正の走光性を持つことを示す。次に、細胞懸濁液中に阻害剤を添加した溶液を用いて、走光性阻害試験を行った。ジルチアゼムを含む溶液では、両方の電極ともに電流値が定常にならず徐々に減少した。これは、藻類細胞の鞭毛運動が阻害されたことを示す。アジ化物イオンを含む溶液では、最終的な電流値は W. E. 2 の方が W. E. 1 よりも大きくなった。これは、走光性が正から負に反転したことを示す。エタノールを含む溶液では、一過的な電流値の減少が著しく抑制された。これにより、エタノールが一過的な強い正の走光性に対する阻害作用を持つことが分かった。このように、本システムによって、少なくとも 3 種類以上の異なる化学物質の毒性を見分けられることが分かった。また、走光性生物の性質や活動機構の解析にも有効であることが示された。

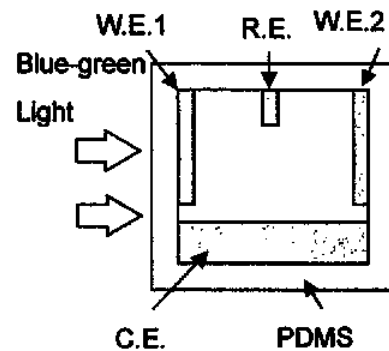


図 1 電気化学セル(上方図)

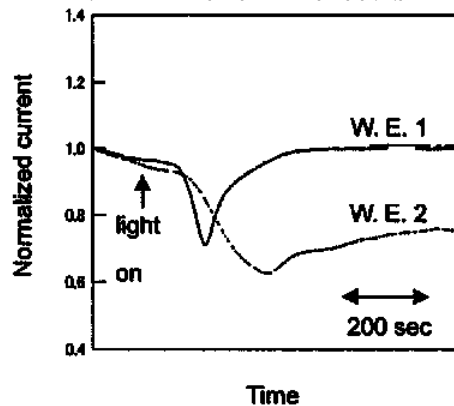


図 2 走光性による電流応答

II (1) 学術雑誌等に発表した論文A (掲載を決定されたものを含む.)

共著の場合、申請者の役割を記載すること.

(著者、題名、掲載誌名、年月、巻号、頁を記入)

1. Isao Shitanda, Kazutake Takada, Yasuyuki Sakai, Tetsu Tatsuma

"Amperometric Biosensing Systems based on Motility and Gravitaxis of Flagellate Algae for Aquatic Risk Assessment"

Anal. Chem., 77 (20), 6715-6718 (2005).

2. Isao Shitanda, Tetsu Tatsuma

"An Electrochemical System for the Simultaneous Monitoring of Algal Motility and Phototaxis"

Anal. Chem., 78 (1), 349-353 (2006).

3. 四反田功, 高田主岳, 酒井康行, 立間徹

"藻類細胞を用いた有害物質評価用バイオセンシングシステム"

生産研究, 印刷中.

3報ともに、申請者は実験・論文執筆を行うなど、研究において中心的な役割を果たした.

II (2) 学会において申請者が口頭発表もしくはポスター発表した論文

(共同研究者 (全員の氏名)、題名、発表した学会名、場所、年月を記載)

1. 四反田功, 高田主岳, 酒井康行, 立間徹,

「藻類の鞭毛を利用した環境毒性物質検出法の開発」

2005年電気化学会第72回大会, 熊本大学, 2005年4月.

2. 四反田功, 高田主岳, 酒井康行, 立間徹,

「藻類の鞭毛を利用した環境毒性物質検出法の開発」

2005年電気化学秋季大会, 千葉大学, 2005年9月.